

文章编号:1672-058X(2011)06-0631-04

光合细菌生物制氢研究进展

张桂芝^{1,2}

(1. 重庆大学 动力工程学院, 重庆 400030; 2. 重庆工商大学 环境与生物工程学院, 重庆 400067)

摘要:介绍了光合细菌产氢机理;综述了光合细菌制氢相关的菌种选育、工艺条件、固定化技术、光生物反应器以及物质和能量输运过程等方面的研究现状;阐述了光合细菌制氢技术存在的问题与应用前景。

关键词:光合细菌;生物制氢;固定化微生物

中图分类号:0621.22

文献标志码:A

促进经济和环境协调发展,实施可持续发展战略已是当今社会人们所形成的共识。寻求能源合理利用的新途径,开发新能源,已成为人类迫切需要解决的课题。氢能作为一种公认的清洁、高效、可再生能源,有着十分光明的应用前景^[1]。传统的化学制氢方法均需消耗大量的不可再生能源,不适应社会的可持续发展。而微生物制氢却是一种有效的解决方法,它符合社会的可持续发展战略。

生物制氢是利用微生物自身新陈代谢放氢的特性来制取氢气,生物制氢具有成本低廉、转化效率较高、环境友好的特点。微生物制氢可将能源生产与废弃物利用、太阳能转化、环境污染治理等相结合,在生产氢气的同时净化了环境,一举多得,因而被认为是目前最具发展潜力的制氢方法之一^[2]。

1 光合细菌产氢机理

光合细菌是一类具有原始光能合成体系的原核生物,属于细菌门、真细菌纲、红螺菌目。光合细菌产氢是该类微生物利用太阳能分解有机物时维持质子和电子平衡的代谢过程^[3]。1937年, Nakamura 观察到光合细菌(photosynthetic bacteria, PSB)放氢的现象,这是关于 PSB 产氢最早的报道。1949年 Gest 在《Science》上报了深红螺菌在光照厌氧条件下,可以产生分子氢,并建议利用紫色光合细菌制氢^[4]。

光合细菌产氢是光裂解有机酸所致,而不是光解水。光合产氢是在固氮酶或氢酶催化下,将光合磷酸化和还原性物质代谢耦连利用吸收的光能及代谢产生的还原力形成氢气的过程。在光照厌氧条件下,光合细菌通过自身复合体上的细菌叶绿素和类胡萝卜素捕获高能光子,并将能量传递到光合反应中心,使高能光子发生电荷分离产生高能电子。高能电子经过环式磷酸化将光能转化成三磷酸腺苷(ATP),为产氢过程提供能量。产氢过程中所需要的还原力来自有机物的氧化代谢,由细胞内还原性的铁氧蛋白水平所决定。固氮酶是光合细菌光合产氢的关键酶,在细胞提供足够的 ATP 和还原力的前提下,固氮酶以将氮气转化成氨气,同时质子化生成氢气。产氢是光合细菌调节其机体内剩余能量和还原力的一种方式,对其生命活动非常重要^[5]。在光合细菌内参与氢代谢的酶有 3 种:固氮酶、氢酶和可逆氢酶,催化光合细菌产氢的主要是固氮酶^[6]。

许多光合细菌在黑暗条件下也可以通过厌氧发酵产氢,氢酶在厌氧暗发酵产氢过程中起主要作用。氢酶是一种含有金属的蛋白^[7]。根据功能的不同,氢酶可分为吸氢酶和可逆氢酶。在光照条件下,氢酶催化吸收 H₂,通过逆电子传递,分解为质子和电子并释放 ATP,以补充固氮反应的能量及细胞内还原力的损失。

收稿日期:2010-09-15;修回日期:2011-01-20.

作者简介:张桂芝(1982-),男,湖南浏阳人,助理实验师,从事能源生物技术研究.

在黑暗条件下,PSB 主要在氢酶的催化作用下发酵产生氢气^[8]。研究证实,光合细菌的厌氧暗发酵产氢机制与严格厌氧菌很相似^[9],都是以葡萄糖、有机酸、醇类物质为底物,在氢酶代谢过程中产生氢气,该过程不需外加光能。光合细菌厌氧暗发酵产氢过程相对简单,但是在黑暗条件下有机物降解不彻底,分解速度缓慢,产氢效率较低。

2 光合细菌制氢研究现状

2.1 光合细菌菌种的选育

光合细菌自身的产氢能力是光合细菌生物产氢技术的基础,为了得到高产氢效率的光合细菌,可以通过传统的方法从自然菌种中筛选高产菌种,为高效生物产氢技术提供优质菌种资源。目前,光合放氢菌株的选育,不仅仅局限于筛选不同的优质光合细菌,从细胞、分子水平上对光合细菌产氢机制进行深入研究,利用遗传诱变、选择培养技术、遗传工程技术改造产氢菌株和构建多功能基因工程菌是未来发展的方向^[10]。以此来改进细菌的光合系统,提高光捕获效率,从而筛选出具有高产氢能力和更宽的底物利用范围的变异菌株。

Kondo 通过诱变技术分离得到了一株 *R. sphaeroides* Rv 突变株,在 350 ~ 1 000 nm 的波长范围内吸收的光比野生菌株的少,其色素含量也比野生菌株的少,但产氢量却比野生菌株提高了 50%^[11]。氢酶的吸氢活性会影响产氢率,利用基因改造获得吸氢活性缺失的氢酶可以提高光合细菌的产氢能力。Ooshima^[12] 等获得了 *R. capsulatus* ST410 的吸氢酶缺失菌株,其产氢活性较野生菌株高得多。殷幼平^[13] 利用自杀性载体敲除 *R. palustris* CQU01 吸氢酶 *hupL* 基因,得到高效产氢突变菌株 *R. palustris* CQU012。PCR 检测结果和吸氢酶活性的降低验证了基因敲除的成功。突变株经过 20 次传代后仍表现出稳定的遗传特性。突变株产氢量较原始菌株提高了约 50%,证明吸氢酶的敲除可以显著提高菌株的产氢能力。

2.2 光合细菌制氢工艺条件

产氢工艺条件的研究是生物制氢研究中研究最多的方面,工艺条件的研究是确定特定的菌种产氢的最佳环境参数,是生物制氢工业化应用的基础性研究。由于不同的菌种要求的生长条件各不相同,不同的研究者采用的菌种不同、使用的产氢基质不同,所以都需要首先确定各自研究对象产氢的最佳工艺条件。工艺条件的研究主要包括菌种的培养和产氢两个方面的研究,主要涉及温度、光照度、气液相成分及含量、氮源种类和添加量、培养基成分和含量、pH 值、接种量、菌龄等各方面的内容。

光合细菌制氢主要有 2 种方式:非固定化悬浮菌种制氢和固定化细菌制氢。悬浮制氢系统存在菌液被洗出、细胞浓度无法提升及制氢效率低等缺点。不利于大规模制氢。产氢机理的研究多以非固定化悬浮菌种序批式制氢为主。连续制氢试验多以固定化技术进行生物制氢研究为主,其优点是固定化微生物可以提高单位体积的细胞量及制氢酶的制氢稳定性的提高,从而可实现较高的制氢率和连续稳定的制氢^[14]。另外,连续培养技术和混合培养技术以及胞外酶产氢技术都被应用于产氢研究中^[15-17]。

2.3 固定化光合细菌产氢

固定化光合细菌产氢是将特选的光合细菌固定在载体上,限制或定位于限定的空间区域,使其高度密集并保持生物活性,在适宜条件下能够快速、大量增殖来产氢。它浓度易控制、耐毒害能力强、菌种流失少、产物易分离、运行设备小型化等特点。光合细菌的固定需要依附于一定的载体材料,适用于光合细菌固定的载体材料很多,但是性能不一。根据所固定光合细菌种类的不同和固定化方法的不同,需要选用或制备不同的固定化载体材料。

固定化载体材料主要有三大类:无机载体、有机高分子载体和复合载体。用于制备固定化细胞的方法种类繁多,常见的固定化方法有吸附法、包埋法、共价结合法、交联法^[18]。除常见的固定化方法外,最近挂膜法也引起了人们的重视。张全国^[19] 等利用大粒径陶粒吸附光合细菌,并以消化预处理后的猪粪为底物进行光合产氢,固定化培养后,细菌产氢量是对照组游离态细菌产氢量的 2.16 倍。廖强^[20] 等在固定化填充床产氢实验中发现,增加培养基流量能够消除外扩散传质阻力,但是无法消除由固定化材料造成的内扩散传质阻力。

2.4 光合细菌制氢反应器

光合细菌制氢反应器是光合细菌利用外界环境条件进行生产和产氢的场所。对于光合细菌生物制氢系统来说,光合生物反应器是关键设备,目前光合制氢反应器的设计和开发主要集中在反应器的结构、材料、光源及反应器的大型化设计和反应器连续性生产运行等方面^[21]。

管式反应器是早期开发的最简单光合制氢反应器。反应器由一支或多支透光管组成。该类反应器的主要优点在于结构简单,容易满足光照要求,通过适当的连接形式可获得较大体积的反应器。但反应液在管内的流动阻力大,不易控温,光转化效率低。相对于管式反应器容积受加工材料及采光面积的限制,温度不易控制等问题,板式反应器一般采用硬性材料做骨架,仅使用透光材料做采光面,非采光面可以进行保温处理。类型反应器的主要缺点反应器厚度受限,反应器内溶液混合性差。柱状反应器是在管式反应器的基础上进行改进设计,通过多级串联或并联实现得到大容积反应器。多柱回流式反应器可通过不同柱间料液的分离和回流实现料液搅拌、菌株的回收利用,提高了料液处理能力和产气率^[22]。

光源是光合细菌制氢不可缺少的。目前光合制氢研究的主要光源均为人工光源。人工光源基本都是热辐射型光源,这类光源不但能耗大而且光照时产生大量的红外热辐射造成反应器局部温度升高。而且在反应器采光面的光照度较大,容易造成采光面附近光合细菌的光饱和现象,降低产氢率。许多研究者在研究了光合细菌对光谱的吸收特性的基础上开发了低能耗 LED、石英发光体和光纤导入自然光为光源的多种反应器^[23]。

2.5 光合细菌制氢过程中物质和能量的运输

不同来源的生物膜虽然在功能上有很大差别,但它们却有相同的脂双分子层结构。不同种类的物质穿越光合细菌生物膜输运有自由扩散、促进扩散和主动运输3种不同的机制。前两种机制是被动过程,原则上不需要吉布斯自由能的供应,物质沿着浓度梯度被运输。但是促进扩散是需要以载体为中介的,在物质运输过程中需要特定的载体或跨膜蛋白,而自由扩散是分子运输,在化学势能差的驱动下进行。主动运输机制允许物质逆着浓度梯度进行运输,但需要吉布斯自由能的参与以及特定的膜定位蛋白或渗透酶调节。除了底物的跨膜输运外,底物有时还必须穿越载体的阻力。刘大猛^[24]建立了包埋细胞颗粒填充床内含生化反应的多元多相流动及传输特性的多相混合模型,并发展了包埋细胞颗粒光生物制氢反应器底物降解和光合产氢的理论计算方法。王永忠^[25]分析了不同操作条件下固定化光合细菌包埋颗粒内的底物传输特性,得到了不同操作参数对包埋颗粒内底物传输 Thiele 模数、内扩散有效因子的影响。较低的 Thiele 模数表明包埋颗粒内底物消耗主要为反应控制过程。

光能是光合细菌参与的制氢过程中不可缺少的能量,因此光的传输过程研究也非常重要。光转化效率是衡量生物制氢过程中光转化利用效果的重要参数^[26],目前生物制氢中光转化效率仍比较低,这是生物制氢向工业化推进的重要障碍。光生物反应器中光的传输方式和提供方式研究也是目前提高光转化效率的重要研究内容。另外,生物生长的热效应也是不可忽视的。王素兰^[27]用热动力学的方法对光合产氢菌生长代谢过程中产热规律进行了分析,获得了太阳能光合产氢菌生长代谢的热动力学信息,建立了表征光合产细菌生长情况的热动力学特征的模型。

3 展 望

资源短缺与环境问题是人类在 21 世纪所面临的两大主要问题。光合细菌生物制氢无疑提供了一种解决之道。氢能作为高品质的清洁能源被认为是未来能源的主要载体形式,开发氢能技术也是各国政府能源战略发展的重点。随着对能源需求量的日益增加,必将推动氢气工业生产的研究,生物制氢技术因其具有的种种优势也必将得到更大的发展。光合细菌产氢在各种生物制氢技术中具有产氢效率高、产物抑制小、可使用有机废弃物作原料等优势使之成为生物制氢技术发展的重点方向。新型高效光合细菌工业制氢设备的开发是实现光合细菌制氢由实验室向生产实际关键,而利用太阳能光合细菌产氢是降低运行成本的重要途径。

参考文献:

- [1] 毛宗强. 氢能:21 世纪的绿色能源[M]. 北京:化学工业出版社,2005
- [2] 丁福臣,易玉峰. 制氢储氢技术[M]. 北京:化学工业出版社,2006
- [3] 朱章玉,俞吉安,林志新,等. 光合细菌的研究及其应用[M]. 上海:上海交大出版社,1991
- [4] 任南琪,李建政. 生物制氢技术[J]. 太阳能,2003(2):4-5
- [5] HUSTED E,STEINBUCHER A,SCHLEGEL H G. Relationship between the photoproduction of hydrogen and the accumulation of PHB in non-sulfur purple bacteria[J]. Microbiology,1993,64(39):39-87
- [6] 杨素萍,曲音波. 光合细菌生物制氢[J]. 现代化工,2003,23(9):17-22
- [7] 钱东金,刘安. 氢酶分子聚集体薄膜的组装及其在催化产氢中的应用[J]. 化学进展,2009,21(10):2009-2017
- [8] 吴永强,陈秉俭,仇哲. 浑球红假单胞菌在暗处发酵生长时的固氮酶吸氢酶以及放氢机制的研究[J]. 微生物学通报,1991,18(2):71-74
- [9] 杨素萍,赵春贵,曲波钱,等. 光合细菌产氢研究进展[J]. 水生生物学报,2003,27(1):87-88
- [10] 杨素萍,赵春贵,李建波,等. 高效选育产氢细菌的研究[J]. 山东大学学报,2002,27(4):353-358
- [11] KONDO T, ARAKAWA M, et al. Enhancement of hydrogen production by a photosynthetic bacterium mutants with redcent pigment[J]. Journal Bioengineer,2002,93(2):145-150
- [12] OOSHIMA H, TAKAKUWA S, KATSUDA T. Production of hydrogen by a hydrogenase-deficient mutants of Rhodospirillum rubrum[J]. Journal Ferment Bioeng,1998,85(5):470-475
- [13] 殷幼平,张宝鹏,廖强,等. 沼泽红假单胞菌高效产氢 hupL 缺失突变株的构建[J]. 中国环境科学,2009,29(4):413-418
- [14] 罗欢,黄兵,包云. 固定化微生物制氢技术的研究进展[J]. 江西农业学报,2007,19(4):89-93
- [15] 叶姜瑜,刘婧,廖强. 混合培养对沼泽红假单胞菌产氢及代谢的影响[J]. 环境科学与技术,2009,32(1):59-63
- [16] 师玉忠,张全国,王毅,等. 生物质制氢的光合细菌连续培养技术实验研究[J]. 农业工程学报,2008,24(6):218-221
- [17] KODO T, ARAKAWA M, WAKAYAMA T, et al. Hydrogen production by combining two typof photosynthetic bacteria with different characteristics[J]. International Journal Hydrogen Energy,2002,27:1303-1308
- [18] 陈娜丽,冯辉霞,王冰,等. 固定化细胞载体材料的研究进展[J]. 化学与生物工程. 2009,26(10):13-18
- [19] 张全国,荆艳艳,周雪花,等. 吸附法固定光合细菌技术产氢能力的研究[J]. 农业工程学报,2008,24(9):199-201
- [20] 廖强,王永忠,田鑫,等. 固定化光合细菌光生物制氢填充床产氢特性研究[J]. 工程热物理学报,2009,30(1):150-152
- [21] 廖强,张川,朱恂,等. 光合细菌生物制氢反应器研究进展[J]. 应用与环境生物学报,2008,14(6):871-876
- [22] 李德峰,周雪花,李刚,等. 光合细菌制氢试验装置及其技术研究进展[J]. 生物质化学工程,2009,43(4):56-59
- [23] 李刚,张全国. 光合细菌生物制氢反应器的现状分析[J]. 化工进展,2009,28(1):141-46
- [24] 刘大猛,廖强,朱恂,等. 固定化包埋细胞颗粒填充床光生物制氢反应器内的多相传输模型[J]. 自然科学进展,2009,19(12):1386-1793
- [25] 王永忠,廖强,朱恂,等. 固定化光合细菌包埋颗粒内底物传输特性[J]. 工程热物理学报,2009,30(3):487-489
- [26] 王永忠,廖强,朱恂,等. 序批式培养沼泽红假单胞菌光照产氢的能量分析[J]. 太阳能学报,2009,30(3):390-397
- [27] 王素兰,张全国,周雪花. 光合生物制氢过程中系统温度变化实验研究[J]. 太阳能学报,2007,28(11):1253-1255

Research Progress in Biological Hydrogen Production by Photosynthetic Bacteria

ZHANG Gui-zhi^{1,2}

(1. College of Power Engineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China;
2. College of Environmental and Biological Engineering, Chongqing Technology and
Business University, Chongqing 400067, China)

Abstract: Hydrogen production mechanism of photosynthetic bacteria is introduced. The research progress in hydrogen production by photosynthetic bacteria on relevant strain screening, technological conditions, immobilization, photobioreactor, transport process of substance and energy and so on is reviewed. The existing problems and application foreground of hydrogen production by photosynthetic bacteria are discussed.

Key words: photosynthetic bacteria; biological hydrogen production; immobilized microorganism