应用与环境生物学报 2008, **14** (6): 871~876
Chin J Appl Environ Biol=ISSN 1006-687X
2008-12-25
DOI: 10.3724/SP.J.1145.2008.00871

光合细菌生物制氢反应器研究进展*

廖 强** 张 川 朱 恂 田 鑫 王永忠 刘大猛
(重庆大学工程热物理研究所 重庆 400030)

摘 要 光合细菌生物制氢技术, 是将太阳能利用和环境治理结合起来的可再生能源生产技术, 具有良好的环境效益、社会效益和经济效益. 光合细菌制氢反应器研究是将该技术引向产业化的关键步骤. 本文列举了目前光合细菌制氢研究中典型的反应器型式, 分析了各自的优缺点; 总结了反应器高效产氢所必需保证的运行操作条件, 如光照强度、温度、pH值等, 指出了目前研究中存在的不足; 给出了规模化光合细菌生物制氢时需要用到的反应器性能评价指标. 并针对目前反应器的研究现状, 提出了后续研究应当遵循的方向. 参68

关键词 光合细菌; 制氢; 光生物反应器; 可再生能源
CLC TK91

Advance in Research of Bioreactors for Hydrogen Production Using Photosynthetic Bacteria*

LIAO Qiang**, ZHANG Chuan, ZHU Xun, TIAN Xin, WANG Yongzhong & LIU Dameng
(*Institute of Engineering Thermophysics, Chongqing University,* Chongqing 400030, China)

Abstract Biological hydrogen production by using photosynthetic bacteria (PSB) offers the advantage of combining the use of solar energy with production of clean fuel H_2 in connection with wastewater treatment, and is a promising process for renewable energy production. The use of photobiological hydrogen evolution method can offer additional benefit for today's industrial production and environmental protection. The study on photobioreactors using PSB is the key step for industrial production of hydrogen and its large–scale utilization in the future. In this paper, typical reactors for hydrogen production are enumerated firstly, and their advantage and disadvantage are discussed. Then, the effects of operation parameters, such as light intensity, temperature and pH for sufficient hydrogen production are summarized. The deficiencies in the present research are also indicated. The criteria to evaluate the performance of the reactors for large-scale hydrogen production are presented. Based on the present research status, this paper suggests the strategies for future research in this field. Ref 68

Keywords photosynthetic bacterium; PSB; hydrogen production; photobioreactor; renewable sources
CLC TK91

世界经济的发展主要依靠不可再生化石燃料的开发和利用, 由此造成了严重的能源危机和环境危机. 寻找可再生的环境友好型替代能源是一项紧迫的任务. 许多国家正在加紧致力于开发太阳能、氢能、风能、生物质能、海洋能、地热能等替代能源. 氢能具有能量密度高(122 kJ/g), 热转化效率高, 输送成本低, 燃烧产物不含温室性气体的清洁能源特点, 受到许多国家的广泛关注, 被誉为“未来的能源”[1].

光合细菌是光合成原核生物的一种, 细胞含有光合色素——细菌叶绿素, 在厌氧、光照条件下能进行光合生长, 固氮代谢; 并通过这一重要的生化反应产生氢气. 由于光合菌具备能源自立式转化系统, 可以汇集和利用太阳光和废水中的有机成分等大量分散的能源, 通过代谢产生清洁新能源氢气. 该技术是将太阳能利用和环境治理结合起来的可再生能源生产技术, 环境效益、社会效益和经济效益显著, 是一个值得提倡的研究与开发方向[2]. 光合细菌生物制氢技术, 只需常温常压的操作环境, 具备实现规模化生产的前景, 正在成为当前生物制氢研究的热点[3, 4].

光合细菌生物制氢反应器是用于光合细菌大规模培养并产氢的装置. 保持反应器中光合细菌的生理活性和代谢稳定性, 实现连续, 稳定和高效的产氢, 是光生物制氢反应器研究的目标. 光合细菌生物产氢在光生物制氢反应器中的放大, 是其走向应用的必经环节, 光生物制氢反应器产氢特征的研究将为光合细菌大规模产氢提供依据, 也是光生物制氢技术最终实现产业化的关键. 近些年来, 随着光生物制氢研究的逐渐升温, 有关光合细菌生物制氢反应器的研究也正日益受到重视[5].

光合细菌生物制氢反应器大体上由光源、反应器主体、动力循环装置、气液分离装置、检测和调节装置等部分组成. 根据光合细菌生理代谢的需要, 对光生物制氢反应器的要求通常是: 能封闭并建立厌氧环境, 材质透明便于接受光照, 耐高温可灭菌等[6]. 目前, 光合细菌生物制氢反应器的研究尚

收稿日期: 2007-11-01 接受日期: 2008-01-04
*国家自然科学基金项目(Nos. 90510020, 50576107, 20876183)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 90510020, 50576107, 20876183)
**通讯作者 Corresponding author (E-mail: lqzx@cqu.edu.cn)

停留在实验室阶段，研究内容也多是围绕着反应器在特定的产氢工艺条件下各种影响因素与产氢性能的关系而展开的. 研究内容涉及反应器的结构形式、运行操作条件、性能评价等多个方面.

1 光 源

光是光合细菌产氢的必备条件. Debabrata Das等对产氢机理的研究表明，光合细菌可在光合磷酸化提供能量和有机物降解提供还原力的情况下，由固氮酶和氢酶共同催化进行代谢产氢[7]. Tatsuki Wakayama等对反应器产氢的研究也表明，光照强度、波长和光照时间等均影响光放氢活性[8~12]. 光源本身的结构形式、光源与反应器本体的配合关系、光源的光质及调节等都是反应器研究的重要内容.

1.1 光源的本体结构与配合

反应器的光源类型从光源本身的结构形式上可分为线光源、面光源等[10, 13~15, 52, 61]. 反应器光源的选择，需考虑反应器主体与光源之间的配合关系，以保证反应器的受光均匀性；从安装方式上反应器光源可分为内光源、外光源和内外组合式[15, 61]. 当采用外光源时，光源和反应器本体两者相互独立. 光强的调节简便，可通过改变光源和反应器本体之间的距离实现. 由于不存在结构上的配合关系光源故障对反应器的影响较小. 然而，采用外光源时无法将光源发射的光能全部投射到反应器中. 相比之下内光源的光能利用率较高，但光强调节相对复杂，需配备调压装置，另外尚需解决光源与反应器本体之间结构上的配合问题.

1.2 光源的光质

Chun-Yen Chen等在光合细菌生物制氢反应器的研究中，所使用的光源从光质上已经包括了白炽灯、氙灯、钨灯、卤素灯、金属卤化物灯、高压汞灯、LED光电板，乃至全光谱的太阳光等. 不同光质的光源所发射光的波长范围不相同，而不同产氢微生物体内所含的光合色素也不同，不同的光合色素在光合作用中吸收的光谱是具有选择性的[15, 16]. 因此，反应器光源的选择尚需考虑使光源光质与光合微生物的光吸收特性相一致，以提高光能利用效率，减少光能损失[15~20].

1.3 反应器光调节

Yasuo Asada等开展的反应器光传输特性的研究表明，反应器中沿光照方向会发生因细胞之间的相互遮挡作用而使穿透光强衰减的现象. 光强衰减的程度与光程、培养基中的悬浮细胞浓度等因素有关[21, 22]. Tatyana Laurinavichene等的研究还表明，只是在一定的范围内，提高光照强度能增加光合微生物产氢力，过高的光照强度反而会抑制甚至伤害微生物，该现象称为“光饱和效应”[23].

反应器光调节的目标是使反应器内光强分布在合适的范围. 既要限制当培养基中的光合微生物浓度增加时产生的光衰减，确保向光合微生物提供足够的光能，又要有效防止高光照强度下光饱和效应的发生. 增加光照面积、采用短光程、特殊的内光源构造方式等都可以减小光衰减效应. 高速搅拌、稀释培养基表面的光强度、筛选和培育具有较低叶绿素含量(绿藻)、较少光接受触角(光合细菌)的变异菌种以及在反应器的不同深度采用多种对光强度要求不同的菌种等措施能降低“光饱和效应”对太阳能光合微生物的影响[24~26].

因此，反应器光源的选择是涉及与反应器本体结构合理配合、与产氢微生物的光波吸收选择性相适应、光调节性能等众多因素有关的问题.

2 反应器主体

产氢机理研究表明，光合细菌主要经环式光合磷酸化作用将光能转变成ATP，在环式电子传递系统中，铁氧还蛋白的催化活动只能在严格无氧条件下进行. 因而氧气的存在抑制光合磷酸化的进行，从而抑制光合细菌的放氢反应[8]. Ashock K等发现，O_2对固氮酶活性有抑制作用，在振荡培养条件下，当O_2浓度大于0.25%时，固氮酶的活性急剧降低，而当O_2浓度达20%时则完全失活；同样，O_2对氢酶的产氢活性也有抑制作用[27~30]. 目前，光生物制氢反应器研究中都采用了封闭式的反应器，以建立严格厌氧环境. 由于反应器的分类角度很多，故分类方法不一.

2.1 反应器的结构特征

Ela Eroglu等人在研究中分别采用了柱(罐)式、板式、管式以及一些特殊的类型如多层式、环流型和线圈式盘状反应器等[14, 31~37, 49, 53, 66]. 这些反应器除了其外型和内部结构不同外，主要差别还在于它们拥有不同的表面积体积比(比表面积). 从光生物制氢的需要来看，比表面积大的反应器可接受的光照面积大，单位体积的反应器上接受的光能也多. 以上几种反应器，板式反应器的比表面积最大，其次是管式和罐式.

2.2 光合细菌在反应器中的存在方式

按光合细菌在反应器中的存在方式的不同可分为固定化(包埋或生物膜形式)光生物制氢反应器和非固定化(悬浮)光生物制氢反应器. 固定化光合细菌是通过一定的技术手段将光合细菌固定在载体上，避免菌体流失，提高菌体利用率的方法. 固定化光合细菌解决了非固定化制氢工艺中存在的光合细菌流失和固液分离困难的问题. 采用细胞固定化技术，在一定程度上可提高反应器内的生物持有量，使单位反应器的产氢率和运行稳定性有所提高，并利于实现产氢的连续化[38, 39]. 另外，微生物细胞经固定化后，其产氢酶系统的稳定性提高，连续产氢能力增加. 李捷等对胶质红假单胞菌的光合产氢行为的研究表明，固定化细胞在产氢活性的保持和反应稳定性等方面明显优于游离细胞. 连续培养时，平均产氢速率达到每克干细胞每小时产氢9.75 mL[39]. 徐向阳等分别利用琼脂和海藻酸钙固定化红假单胞菌菌株D (*Rhodopseudomonas* sp. D) 处理有机废水，结果琼脂固定化细胞的产氢率为28.5 mL g^{-1} h^{-1}，海藻酸钙固定化细胞的产氢率为20.3 mL g^{-1} h^{-1}，而悬浮细胞的产氢率仅为17.7 mL g^{-1} h^{-1} [40]. 不过，虽同为固定化技术方法，包埋法和生物膜方法又有各自的特点，其中按包埋法所固定的细胞的活性受包埋制剂配方的影响很大，包埋颗粒的机械强度、透光性以及传质特性等，也直接影响反应器的稳定运行时间和产氢性能. 包埋工艺本身也成为影响反应器特性的一个因素[41~43]. 生物膜方法则是通过使微生物细胞吸附着于反应器中的固定载体上而实现固定化的一种工艺方法. 该法操作简单，固定化条

件温和，细胞活性损失小，载体可反复使用，但需要反应器内的比表面积较大，以使固定的细胞量增加. 同样该方法的固定化效果也受载体材料的影响，并且存在微生物与载体结合不牢易脱落、运行条件的要求严格等缺点[44].

2.3 反应器的动力提供方式

Sebastiaan Hoekema等人分别采用了：机械搅拌式、鼓泡式和连续流动式等反应器[45~47]. 由于反应器的动力提供方式不同，在机械搅拌式和鼓泡式的反应器中需要另设搅拌装置、气体分布器和气体分离回收等装置. 采用机械搅拌和鼓泡式反应器时，往往通过叶片的机械转动和惰性气体的剧烈扰动作用，使培养基与悬浮光合细菌充分混合，提高底物的利用率. 但因扰动和剪切作用较大时，容易对生物膜或包埋颗粒造成物理损伤. 目前仍多见于非固定化的产氢工艺. 连续流动式的反应器结构上较为简单，培养基的连续流动状况由泵实现，如将光合细菌固定在反应器空间，便可实现连续性的产氢. 该方式宜于固定化产氢工艺联合使用. 反应器的产氢性能与流动状况密切相关.

3 反应器的运行操作条件

光合细菌的光合放氢涉及细胞的光合作用、氢的代谢、碳和氮代谢等诸多方面. 凡与产氢过程有关的因素均可调控光合放氢过程. 从反应器的可控参数出发探求保持反应器中光合微生物产氢代谢高效、稳定的运行操作条件，是光生物制氢反应器研究的重要内容.

3.1 底物对产氢的影响

刘双江等选择了14 种有机物作为氢菌株光照放氢的底物碳源，结果表明葡萄糖有利于氢菌株的放氢[48]. Maria J等分别用乳酸、苹果酸、醋酸和丁酸为底物进行了两种光合细菌产氢实验研究，结果表明产氢效果最好的分别是醋酸和丁酸[49]. 不同碳源所表现的产氢差异主要是由于碳源是以不同方式进入光合细菌内部代谢过程的，并且在厌氧条件下作为供氢体形成H^+的能力不同，而H^+积累所形成的还原力吸收光激活的电子直接导致了氢分子的释放，从而影响光合细菌的产氢活性. 乳酸是荚膜红假单胞菌放氢较好的底物，并且乳酸盐同时还具有缓解氨盐抑制的作用，而沼泽红假单胞菌则以乙酸作为底物时，产氢活性最高[50~52]. 孙琦等的研究还表明，同一底物的不同浓度对不同菌株的产氢动态变化的影响是不同的，底物浓度只有控制在适当的水平时才具有较高的底物转化产氢效率[41]. Margaritis研究球形红假单胞菌(*R. sphacroides*) VM81菌株发现，葡萄糖的最适浓度为38 mmol L^{-1}，而乳酸、乙酸和丁酸的最适浓度为22~33.4 mmol L^{-1}[53]. 另外，对于固氮酶催化的光合放氢反应，底物氮源不足会因妨碍固氮酶的合成而抑制产氢. 实验表明，在无氮源供给情况下，5 d 后产氢几乎全部停止[54]. Hillmer和Gest最先研究了*R. capsulatus*在谷氨酸上的放氢. 除赖氨酸和半胱氨酸以外的氨基酸都支持放氢，最高产氢效率达到了每毫升培养基每小时5.80 μmol [55].

3.2 温度对产氢的影响

Deliang等对两种紫色非硫菌的研究表明，温度对光合细菌的生长、产氢以及底物的转化效率都有影响. 当温度为30 ℃时底物转化效率最高，分别为52.7%和68.2% [56]. 张全国等就温度对光合细菌产氢的影响进行了研究，结果表明，在25~34 ℃之间，随着温度的升高，光合细菌的产氢速度和产氢量明显增大；但是，25 ℃下的最高氢气产量只有34 ℃下最大产氢量的48.4%；36 ℃产氢量开始大幅度下降；温度选择在28~34 ℃之间较为合适；34 ℃以下最大产氢量为1.65 mL/g，达到最高[57].

3.3 pH值对产氢的影响

Tsygankov等的研究表明，培养基的pH值对光合细菌的产氢过程有明显作用. 当pH值在7~9之间时，产氢比较稳定[58]. 孙琦等用13 株红螺菌科的光合细菌菌株进行了研究，结果表明当pH值在4.0~5.0 时，菌株基本不产氢，或产氢量很低；当pH值保持在7.0 左右时产氢量最佳[41].

3.4 HRT (水力停留时间)对产氢的影响

有机物在反应器中的水力停留时间(HRT)是反应器运行的主要参数之一，它反映了有机底物在反应器中停留时间的长短，其平均值可用反应器容积与流量的比值来计算. 有机底物进入生物制氢反应器后，在光合细菌作用下通过生理代谢作用释放H_2，HRT值的大小对这一代谢过程发生的程度有直接制约作用. HRT过短，有机底物得未被充分降解就被排出；HRT过长，又限制了光合细菌的降解能力. Chun-Yen Chen等用连续搅拌槽反应器对紫色非硫菌产氢的研究表明，当HRT=36 h时，产氢率稳定在最大值44.0 mL L^{-1} h^{-1}；当HRT=48 h时，产氢率仅为31.7 mL L^{-1} h^{-1}[59].

Mi-Sun Kim等分别就光照强度、波长、温度、pH值、HRT等影响因子对光合菌株的产氢性能做了研究，分别找到了各自产氢最优的参数值[57~67]. 范廪等在对光合细菌产氢能力的研究中，除了得到适宜产氢的pH值、温度和光照强度的范围外，还发现，在诸如自然界的水环境这样一类光照强度较低的条件下，光合细菌仍具有一定产氢能力[68]. 以上研究为采用各种类型的光合细菌生物制氢反应器，实现规模化高效产氢，提供了设计和运行的参考依据.

综上，影响光合细菌产氢的因素有很多，但目前关于各因素之间的相互作用对产氢效果的影响研究还较少. 另外，产氢机理的研究尚在进行中，与之相对应而进行的大规模的制氢工艺和制氢设备的研究还需不断调整. 这也说明，要使光合细菌生物制氢反应器的研究满足工业化生产还需多年的努力.

4 反应器的性能评价

目前，反应器研究中用到的评价指标有：光转化效率(%，=氢气的产率×氢气的焓值/吸收的光能)、底物的能量代谢效率(%，=实际得到的能量/底物完全分解得到的能量)、底物降解效率(%，=底物降解量/底物总量)、产氢率等[1, 6, 7, 12, 18, 64, 67]. 其中，前两个指标表征的是PSB 光合产氢的能量转化涉及的两个方面的内容：一方面指PSB 在光合产氢中的光能转化效率；另一方面是还原性底物在PSB 光合产氢时的能量代谢效率. 在进行规模光生物产氢时利用上述指标，对衡量产氢成本有重要的意义

然而，由于光生物制氢反应器的性能除了与反应器本身

的结构特性有关外，还与研究者所使用的微生物本身的生理特性，以及产氢所使用的底物原料等诸多因素直接相关. 因此以上指标都是某一反应器在特定条件下的性能表现，很难找出一个单从反应器本身的角度来对不同的反应器进行横行比较的指标. 这正说明光生物制氢反应器研究具有很强的针对性.

5 结语

氢能是洁净、高效、可再生的二次能源，用途广泛. 随着氢能逐步进入社会生活的各个领域，其需求量必然会大幅增加. 从长远来看，采用生物制氢技术是实现氢能大规模开发的必然趋势. 光合细菌生物制氢反应器的研究，是将光合细菌生物制氢技术引向产业化的关键步骤，正在逐步成为研究的热点. 现有的研究多为实验室的小型实验，采用批次培养的方法居多，利用连续流培养产氢的报道较少. 实验数据亦为短期的实验结果，缺乏连续稳定运行的研究. 另外，多数研究得到的产氢率都较低. 在目前研究的基础上，应当加强从产氢的角度出发，以提高产氢量和产氢率为目标来优化反应器设计和运行的研究工作；同时，从实用性和能源利用全生命周期分析的角度，应增加直接利用太阳光作为反应器光源的研究工作，加强提高太阳能利用率和底物转化率的基础研究，加速制氢的规模化进程. 展望未来，那些结构简单、易于制造、运行操作简便、传质性能好、光分布特性优良、光能和底物利用率高、能长期良好的保持微生物活性和代谢稳定性的反应器是未来光合细菌生物制氢反应器发展的方向.

References

1 Akkerman I, Janssen M, Rocha J, René HW. Photobiological hydrogen production photochemical efficiency and bioreactor design. *Intern J Hydrogen Energy*, 2002, **27**: 1195~1208

2 Fascetti E, D'Addario E, Todini O, Robertiello A. Photosynthetic hydrogen evolution with volatile organic acids derived from the fermentation of source selected municipal solid wastes. *Intern J Hydrogen Energy*, 1998, **23**: 753~760

3 Kapdan IK, Kargi F. Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme & Microb Technol*, 2006, **38**: 569~582

4 Miura Y, Akano T, Fukatsu K, Miyasaka H, Mizoguchi T, Yagi K, Maeda I, Ikuta Y, Matsumoto H. Hydrogen production by photosynthetic microorganisms. *Energy Conv & Manag*, 1995, **36**: 903~906

5 Miura Y, Akano T, Fukatsu K, Miyasaka H, Mizoguchi T, Yagi K, Maeda I, Ikuta Y, Matsumoto H. Stably sustained hydrogen production by biophotolysis in natural day/night cycle. *Energy Conv & Manag*, 1997, **38**: 533~537

6 Li P (李鹏), Long MN (龙敏南). **Advancement on the research of** photobiological hydrogen production. *J Xiamen Univ Nat Sci* (厦门大学学报自然科学版), 2004, **43**: 159~165

7 Das DT, Veziroglu N. Hydrogen production by biological processes: A survey of literature. *Intern J Hydrogen Energy*, 2001, **26**: 13~28

8 Koku H. Aspects of the metabolism of hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides*. *Intern J Hydrogen Energy,* 2002, **27**: 1315~1329

9 Nakada E, Asada Y, Arai T, Miyake J. Light penetration into cell suspensions of photosynthetic bacteria and relation to hydrogen production. *J Ferment & Bioengin*, 1995, **80**: 53~57

10 Wakayama T, Miyake J. Light shade bands for the improvement of solar hydrogen production efficiency by *Rhodobacter sphaeroides* RV. *Intern J Hydrogen Energy*, 2002, **27**: 1495~1500

11 Lata DB, Chandra R, Kumar A, Misra A. Effect of light on generation of hydrogen by *Halobacterium halobium* NCIM 2852. *Intern J Hydrogen Energy*, 2007, **32** (15): 3293~3300

12 杨素萍, 曲音波. 光合细菌生物制氢. 现代化工, 2003, **23** (9): 17~22

13 Katsuda T, Arimoto T, Igarashi K, Azuma M, Kato J, Takakuwa S, Ooshima H. Light intensity distribution in the externally illuminated cylindrical photo-bioreactor and its application to hydrogen production by *Rhodobacter capsulatus*. *Biochem Engin J*, 2000, **5**: 157~164

14 Kondo T. Efficient hydrogen production using a multi-layered photobioreactor and a photosynthetic bacterium mutant with reduced pigment. *Intern J Hydrogen Energy*, 2006, **31**: 1522~1526

15 Chen CY, Lee CM, Chang JS. Hydrogen production by indigenous photosynthetic bacterium *Rhodopseudomonas palustris* WP3-5 using optical fiber-illuminating photobioreactors. *Biochem Engin J*, 2006, **32**: 33~42

16 Miyake J, Wakayama T, Schnackenberg J, Arai T, Asada Y. Simulation of the daily sunlight illumination pattern for bacterial photo-hydrogen production. *J Biosci & Bioengin*, 1999, **88** (6): 659~663

17 Agalidis I, Ivancich A, Tony A, Mattioli FRH. Characterization of the *Rhodocyclus tenuis* photosynthetic reaction center. *Biochim et Biophys Acta* (*BBA*) - *Bioenergetics*, 1997, **1321**: 31~46

18 Yang SP (杨素萍), Zhao CG (赵春贵), Qu YB (曲音波), Qian XM (钱新民). Progress in the research on hydrogen production by photosynthetic bacteria. *Acta Hydrobiol Sin* (水生生物学报), 2003, **27** (1): 85~91

19 Miyake J, Miyake M, Asada Y. Biotechnological hydrogen production: Research for efficient light energy conversion. *J Biotechnol*, 1999, **70**: 89~101

20 Kondo T. Hydrogen production by combining two types of photosynthetic bacteria with different characteristics. *Intern J Hydrogen Energy*, 2002, **27**: 1303~1308

21 Hata J, Taya M, Tani K, Nasu M. Photoautotrophic cultures of the host and transformed cells of *Marchantia polymorpha* under controlled incident light intensity. *J Biosci & Bioengin*, 1999, **88**: 582~585

22 Asada Y, Miyake J. Photobiological hydrogen production. *J Biosci & Bioengin*, 1999, **80**: 1~6

23 Laurinavichene T, Tolstygina I, Tsygankov A. The effect of light intensity on hydrogen production by sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii*. *J Biotechnol*, 2004, **114**: 143~151

24 Patrick C. Hallenbeck, John R. Benemann. Biological hydrogen production: Fundamentals and limiting processes. *Intern J Hydrogen Energy*, 2002, **27**: 1185~1193

25 Vasilyeva L, Miyake M, Khatipov E, Wakayama T, Sekine M, Hara M, Nakada E, Asada Y, Miyake J. Enhanced hydrogen production by a

mutant of *Rhodobacter sphaeroides* having an altered light-harvesting system. *J Biosci & Bioengin*, 1999, **87**: 619~624

26 Kondo T, Arakawa M, Hirai T, Wakayama T, Hara M, Miyake J. Enhancement of hydrogen production by a photosynthetic bacterium mutant with reduced pigment. *J Biosci & Bioengin*, 2002, **93**: 145~150

27 Li DM (李冬敏), Chen HZ (陈洪章), Li ZH (李佐虎). Research and development of hydrogen production by biological technology. *Biotechnol Bull* (生物技术通报), **2003 (4)**: 1~5

28 Wenk SO, Qian DJ, Wakayama T, Nakamura C, Zorin N, Rögner M, Miyake J. Biomolecular device for photoinduced hydrogen production. *Intern J Hydrogen Energy*, 2002, **27**: 1489~1493

29 Morozov SV, Voronin OG, Karyakina EE, Zorin N A, Cosnier S, Karyakin AA. Tolerance to oxygen of hydrogen enzyme electrodes. *Electrochem Commun*, 2006, **8**: 851~854

30 Yang DQ (杨大庆), Song HY (宋鸿遇). Hydrogenase activity and synthesis in whole cells of *Rhodobacter sphaeroides* and its GOGAT mutant. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), **1990, 16 (**3): 220~226

31 Eroglu E, Gündüz U, Yücel M, Türker L, Eroglu I. Photobiological hydrogen production by using olive mill wastewater as a sole substrate source. *Intern J Hydrogen Energy*, 2004, **29**: 163~171

32 Redwood MD, Macaskie LE. A two-stage, two-organism process for biohydrogen from glucose. *Intern J Hydrogen Energy*, 2006, **31**: 1514~1521

33 Yetis M, Gündüz U, Eroglu I, Yücel M, Türker L. Photoproduction of hydrogen from sugar refinery wastewater by *Rhodobacter sphaeroides* O.U. 001. *Intern J Hydrogen Energy*, 2000, **25**: 1035~1041

34 Nakada E, Nishikata S, Asada Y, Miyake J. Photosynthetic bacterial hydrogen production combined with a fuel cell. *Intern J Hydrogen Energy*, 1999, **24**: 1053~1057

35 Modigell M, Holle N. Reactor development for a biosolar hydrogen production process. *Renewable Energy*, 1998, **14**: 421~426

36 He D, Bultel Y, Magnin J, Roux C and John C. Willison. Hydrogen photosynthesis by *Rhodobacter capsulatus* and its coupling to a PEM fuel cell. *J Power Sourc*, 2005, **141**: 19~23

37 Zabut B, Kahlout KE, Yücel M, Gündüz U, Türker L, Eroğlu İ. Hydrogen gas production by combined systems of *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001 and *Halobacterium salinarum* in a photobioreactor. *Intern J Hydrogen Energy*, 2006, **31**: 1553~1562

38 Zhu TQ (朱铁群), Lei QD (雷庆铎), Li WZ (李卫忠), Sun L (孙蕾). Studies and application on immobilized photosynthetic bacteria. *Reservoir Fish* (水利渔业), 2006, **26** (6): 4~7

39 Li J (李捷), Yang DQ (杨大庆), Zhu ZY (朱章玉). Photoproduction of hydrogen by free or immobilized cells of *Rhodobacter gelatinosa* strain J2. *J Shanghai Jiaotong Univ* (上海交通大学学报), 1994, **28 (**2): 76~82

40 Xu XY (徐向阳), Yu XE (俞秀娥), Zheng P (郑平), Chen W (陈蔚), Feng XS (冯孝善). Kinetics of substrate utilization for hydrogen production with immobilized cell of *Photosynthesis bacteria*. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), **1995, 11 (**1): 51~57

41 Sun Q (孙琦), Xu XY (徐向阳), Jiao YW (焦杨文). Studies on the conditions of hydrogen-photoproduction by *Photosynthesis bacteria*. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), **1995, 35 (**1): 65~73

42 Ke SZ (柯水洲), Ma JW (马晶伟). Progress of biological hydrogen production (Ⅱ): Application and prospect. *Chem Ind & Engineer Prog* (化工进展), **2006, 25 (**9): 1006~1010

43 任南琪, 李建政. 生物制氢技术. 太阳能, 2003 (2): 4~6

44 戚以政, 汪叔雄. 生化反应动力学与反应器. 第2版. 北京: 化学工业出版社, 1999

45 Hoekema S, Bijmans M, Janssen M, Tramper J, Wijffels RH. A pneumatically agitated flat-panel photobioreactor with gas re-circulation: Anaerobic photoheterotrophic cultivation of a purple non-sulfur bacterium. *Intern J Hydrogen Energy*, 2002, **27**: 1331~1338

46 Shi XY, Yu HQ. Continuous production of hydrogen from mixed volatile fatty acids with *Rhodopseudomonas capsulate*. *Intern J Hydrogen Energy*, 2006, **31**: 1641~1647

47 Xu JX (许进香), Yan LC (颜立成). Culture of Photosynthetic bacteria on a large scale. *J Microbiol* (微生物学杂志), **2000, 20 (**3): 25~29

48 Liu SJ (刘双江), Sun Y (孙燕), Yang HF (杨惠芳), Zhou PJ (周培瑾). Hydrogen photoevolution by growing cultures of *Rhodopseudomonas* sp.H. *Micobiology* (微生物学通报), **1994, 21 (**5): 259~263

49 Barbosa MJ, Rocha JMS, Tramper J, René H. Wijffels. Acetate as a carbon source for hydrogen production by photosynthetic bacteria. *J Biotechnol*, 2001, **85**: 25~33

50 Ke SZ (柯水洲), Ma JW (马晶伟). Progress of biological hydrogen production (Ⅰ): Mechanism and development. *Chem Ind Engin Progr*, 2006, **25 (**9): 1001~1005

51 Yang SP (杨素萍), Zhao CG (赵春贵), Liu RT (刘瑞田), Qu YB (曲音波), Qian XM (钱新民). Hydrogen photoproduction from acetate by *Rhodopseudomonas palustris*. *Chin J Biotechnol*, 2002, **18 (**4): 486~491

52 Peng YL (彭玉麟). Studies on the hydrogen production mechanism of *Rhodobacter sulfidophilus* and the comparision with *Rhodobacter capsulatus*. *Acta Energ Solaris Sin*, 1989, **10 (**1): 43~48

53 Zhu HG (朱核光), Shi JL (史家樑). Progress of biological hydrogen production. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), **2002, 8** (1): 98~104

54 Ji SF (计红芳), Chen XS (陈锡时), Wang AJ (王爱杰). Advance in photosynthetic production of hydrogen by photosynthetic bacteria. *J Microbiol* (微生物学杂志), **2002, 22 (**5): 44~46

55 Liang JG (梁建光), Wu YQ (吴永强). Advances of research in bioproduction of hydrogen. *Micobiology* (微生物学通报), **2002, 29** (6): 81~85

56 He D, Bultel Y, Magnin J, Willison JC. Kinetic analysis of photosynthetic growth and photohydrogen production of two strains of *Rhodobacter capsulatus*. *Enzyme & Microbial Technol*, 2006, **38**: 253~259

57 Zhang QG (张全国), Wang SL (王素兰), You XF (尤希凤). Effects of the inffluencing factors of photosynthetic bacteria group on hydrogen production. *Transactions CSAE*, 2006, **22 (**10): 182~185

58 Tsygankov AS, Serebryakova LT, Sveshnikov DA, Rao KK, Gogotov IN, Hall DO. Hydrogen photoproduction by three different nitrogenases in whole cells of *Anabaena variabilis* and the dependence on pH. *Intern*

J Hydrogen Energy, 1997, **22**: 859~867

59 Chen CY, Chang JS. Enhancing phototropic hydrogen production by solid-carrier assisted fermentation and internal optical-fiber illumination. *Proc Biochem*, 2006, **41**: 2041~2049

60 Kim MS, Baek JS, Yun YS, Sim SJ, Park S, Kim S C. Hydrogen production from *Chlamydomonas reinhardtii* biomass using a two-step conversion process: Anaerobic conversion and photosynthetic fermentation. *Intern J Hydrogen Energy*, 2006, **31**: 812~ 816

61 Liu JG, Bukatin VE, Anatoly A. Tsygankov. Light energy conversion into H2 by Anabaena variabilis mutant PK84 dense cultures exposed to nitrogen limitations. *Intern J Hydrogen Energy*, 2006, **31**: 1591~1596

62 Mu Y, Zheng XJ, Yu HQ, Zhu RF. Biological hydrogen production by anaerobic sludge at various temperatures. *Intern J Hydrogen Energy*, 2006, **31**: 780~785

63 Khanal SK, Chen WH, Li L, Sung S. Biological hydrogen production: Effects of pH and intermediate products. *Intern J Hydrogen Energy*, 2004, **29**: 1123~1131

64 Zhang ZP, Show KY, Tay JH, Liang DT, Lee DJ, Jiang WJ. Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community. *Proc Biochem*, 2006, **41**: 2118~2123

65 Zhang YF, Shen JQ. Effect of temperature and iron concentration on the growth and hydrogen production of mixed bacteria. *Intern J Hydrogen Energy*, 2006, **31**: 441~ 446

66 Zhang JH (张军合), Zhang QG (张全国), You XF (尤希凤), Liu ZB (刘振波). Operation parameters of photosynthetic hydrogen production by loop Photo- bioreactor. *J Agro-Environ Sci* (农业环境科学学报), **2005**, **24** (6): 1217~1220

67 Zhang M (张明), Shi JL (史家梁). Mechanism of hydrogen photoproduction by photosynthetic bacteria. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), **1999**, **5** (Suppl): 25~29

68 Fan A (范鏖), **Wang XP** (王西愊), **Liu ZH** (刘之慧). Gaseous metabolism of phototrophic bacteria and their influence on methane production of methanogens. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), **1995**, **1** (2): 181~187