

文章编号: 1000-5013(2010)02-0121-05

# 固定化细胞生物制氢研究进展

蔡剑伟, 方柏山

(华侨大学 工业生物技术福建省高校重点实验室, 福建 泉州 362021)

**摘要:** 综述现有的生物制氢技术研究中,利用光合生物制氢和利用厌氧菌发酵制氢的研究进展.其中,固定化细胞生物制氢菌类包括光合细菌、发酵细菌和混合菌培养等.阐述固定化细胞生物制氢中包埋法和吸附法载体及发酵制氢所用的原料,最后展望固定化细胞生物制氢的发展方向.

**关键词:** 固定化;生物制氢;光合细菌;厌氧菌;混合菌;包埋;吸附

**中图分类号:** Q 814.2; TQ 116.2<sup>+</sup>9

**文献标识码:** A

随着经济的发展,人类对能源的需求量日益增加,而作为主要能源的石油、煤等却日渐枯竭,且其产生的 CO<sub>2</sub> 等废气是导致全球气候变化的主要原因.因此,寻找一种可再生的绿色能源成为当务之急.生物能以其独特的可再生优势,逐步成为世界能源发展的新方向.氢气是生物能中一种最清洁的能源,其燃烧完只产生水,实现真正的“零排放”.目前所有的氢能制备工艺中,生物制氢技术能最大限度保护环境、节约不可再生能源.其中,固定化细胞生物制氢成为生物制氢技术研究的热点.

## 1 固定化细胞生物制氢菌类

### 1.1 固定光合生物制氢

现有的生物制氢技术研究中,主要集中在利用光合生物制氢和利用厌氧菌发酵制氢两大类.产氢的光合生物包括光合细菌和藻类.较早发现光合产氢的是美国生物学家 Gest<sup>[1]</sup>.他发现,深红红螺菌(*Rhodospirillum rubrum*)在厌氧光照下,能以谷氨酸或天冬氨酸为氮源,以有机酸如丙酮酸、乳酸、苹果酸为底物进行光照产氢.

Seon 等<sup>[2]</sup>通过固定 *Rhodospirillum rubrum* KS-301 细胞,以葡萄糖为底物连续制备氢气,在 0.4 h<sup>-1</sup>时的产氢速率可达 91 mL · (L · h)<sup>-1</sup>; Younesi 等<sup>[3]</sup>固定 *Rhodospirillum rubrum* KS-301 细胞,采用连续发酵方式,发酵液流速保持在 0.65 mL · min<sup>-1</sup>,转化 CO 与 H<sub>2</sub> 的混合气体,产氢速率可达 358 mL · (L · h)<sup>-1</sup>. Francou 等<sup>[4]</sup>固定 *Rhodopseudomonas capsulata* 细胞,以乳酸为底物,最大产氢速率为 54 mL · (g · h)<sup>-1</sup>. Eroglu 等<sup>[5]</sup>固定 *Rhodobacter sphaeroides* 细胞,利用橄榄厂的废水生产氢气,从原先每升废水的氢产量 16 L 提高至 31.5 L. Filer 等<sup>[6]</sup>固定 *Rhodopseudomonas palustris* 细胞,利用芳香酸生产氢气,氢产量比游离细胞的高一倍.

许多光合细胞中普遍存在着产氢系统,除了前面提到的光合细菌还有一些藻类. Laurinavichene 等<sup>[7]</sup>固定莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)达到与游离细胞产氢能力相当的情况下,产氢的持续时间延长至 4 周. Hahn 等<sup>[8]</sup>同样固定此种衣藻并证明固定培养更有利于氢气的累积.蓝藻是产氢藻类中研究最多的一种,固定化蓝藻往往比其游离状态的产氢能力强,持续时间也更长<sup>[9]</sup>. Sergei 等<sup>[10]</sup>固定蓝藻 *Anabaena variabilis* 在中空纤维反应器中可持续产氢达 1 a,产氢速率为 20 mL · (g · h)<sup>-1</sup>.藻类是利用水作为氢供体,在光照下直接将水分解为氢气和氧气.反应只需要有水和阳光,就能够释放氧气.从环保的角度看,此反应非常具有发展前景.但是,由于复杂的反应系统需要克服较大的自由能(237

收稿日期: 2008-10-22

通信作者: 方柏山(1957-),男,教授,主要从事合成生物学的研究. E-mail:fangbs@hqu.edu.cn.

基金项目: 国家高技术研究发展(863)计划项目(2006AA020103);国家自然科学基金资助项目(20676048)

$\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ), 所以该方式产氢速率并不高<sup>[11]</sup>. 另外, 如何将氢氧分离仍是一个尚未解决的问题.

光合细菌产氢不是利用水而是利用一些有机酸或碳水化合物作为产氢的底物, 与藻类相比, 反应需要较少的自由能( $8.5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 对于乳酸), 并可使有机质全部降解. 但是, 该过程需要较高能量来驱动氢化酶, 所以转化效率也不比藻类细菌高<sup>[11]</sup>. 因此, 氢产率低、所需能量高及产氢代谢过程的稳定性差等问题, 始终是制约光合生物产氢技术发展的主要障碍.

### 1.2 固定发酵细菌制氢

在生物制氢被提出后很长时间内, 生物制氢技术的研究主要集中在光合细菌上. Benemann<sup>[12]</sup>认为, 利用厌氧发酵细菌产氢比光合细菌更具前景. 厌氧菌利用碳水化合物作为能量来源, 并将其转化为氢气, 过程不需要太阳能. 能够进行发酵产氢的微生物有许多, 如 *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Bacillus*, *Desulfovibrio* 和 *Methanogen* 等<sup>[13-14]</sup>, 但目前的研究主要集中在前两个属. Yokoi 等<sup>[15-16]</sup>固定 *Enterobacter sp.* B Y-29 细胞, 经过培养基优化, 其连续产氢能力优于游离产氢, 用多孔玻璃珠固定细胞产氢速率可达  $850 \text{ mL} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ . Kumar 等<sup>[17-18]</sup>分别利用椰子壳、稻米秸秆和甘蔗渣固定 *Enterobacter cloacae* 细胞, 其中, 用椰子壳的产氢速率最高, 达到  $62 \text{ mmol} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ .

不同种类的微生物对同一有机底物的产氢能力是不同的, 通常严格厌氧的 *Clostridium sp.* 高于兼性厌氧的 *Enterobacter sp.*<sup>[19]</sup>. Yokoi 等<sup>[20]</sup>利用多孔玻璃珠固定 *Clostridium butyricum* 细胞连续发酵, 产氢速率最高可达  $1.15 \text{ L} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ . Karube 等<sup>[21]</sup>固定 *Clostridium butyricum* 细胞, 利用葡萄糖生产氢气的转化率为 45%, 用聚丙烯酰胺固定细胞在 5℃ 下保存一个月而不影响细胞产氢能力. Ji 等<sup>[22]</sup>固定 *Clostridium butyricum* 细胞, 其产氢速率可达  $300 \text{ mL} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ , 当葡萄糖质量浓度为  $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 氢气产量可达  $223 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ . 此外, Ishikawa 等<sup>[23]</sup>固定 *Escherichia coli* 细胞, 以葡萄糖为底物, 其产氢速率最高可达  $6.7 \text{ L} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ , 每摩尔葡萄糖的氢气转化量达  $1.2 \text{ mol}$ .

### 1.3 固定混合菌制氢

在采取纯培养还是混合培养产氢问题上存在过很大的分歧, 其根本原因是尚未明确混合培养时菌种间的协同作用机理, 但目前有较成功的混合菌培养制氢例子. Thompson 等<sup>[24]</sup>将 *Enterobacter cloacae* 和 *Citrobacter freundii* 细胞固定混合, 其产氢速率达  $180 \text{ mmol} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ . 厌氧菌与兼性厌氧菌的混合固定也被用于产氢, 兼性厌氧可以移除反应环境中残留的氧气, 为厌氧菌创造无氧条件. Yokoi 等<sup>[25]</sup>固定厌氧菌 *Clostridium butyricum* 和兼性厌氧菌 *Enterobacter aerogenes*, 其连续发酵的产氢速率可达到  $1.3 \text{ L} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ , 每摩尔葡萄糖的氢气转化量可达  $2.6 \text{ mol}$ .

目前, 较理想的菌体混合培养是由非光合细菌和光合细菌混合. 前者可利用各种形式的大分子有机物来发酵产氢, 并且不需要光照; 发酵生成的有机酸可被后者作为电子供体利用来产氢<sup>[26]</sup>. 这两类细菌的组合不但减少光合细菌的光能需求, 也提高了氢气的产量. Madamwar 等<sup>[27-28]</sup>固定 *Halobacterium halobium*, *Phormidium valderianum* 和 *Escherichia coli*, 其产氢速率稳定在  $18 \text{ mmol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ , 并可持续 60 d. Yasuo 等<sup>[29]</sup>固定 *Lactobacillus* 和 *Rhodobacter sphaeroides* 混合菌, 每摩尔葡萄糖的氢气最大转化量为  $7.1 \text{ mol}$ . 该方法是最理想的微生物产氢模式, 但有关混合菌在系统中的平衡及合适的培养条件尚需进一步的研究.

### 1.4 活性污泥发酵制氢

活性污泥发酵制氢也是混合菌制氢的一种, 且能实现产能与排污双重目的. 任南琪等<sup>[30-32]</sup>以厌氧活性污泥为菌种来源, 以糖厂废糖蜜废水为原料, 采用两相厌氧反应器制得氢气. 在小试研究成果的基础上, 利用驯化的厌氧活性污泥进行中试规模的生物制氢, 获得  $1.25 \text{ mmol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$  的持续产氢能力, 有望实现工业化生产<sup>[30-32]</sup>. Lin 等<sup>[33]</sup>用硅树脂固定活性污泥在循环管流化床中连续产氢, 最高产氢速率达到  $2.27 \text{ L} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ , 每摩尔蔗糖的最高产氢量为  $4.98 \text{ mol}$ . Wu 等<sup>[34]</sup>利用连续搅拌反应器产氢, 其污泥产氢速率达  $0.97 \text{ L} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ . Jaime 等<sup>[35]</sup>对下水道污泥进行热处理与酶激活处理, 其产氢速率达  $225 \text{ mL} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ . Hu 等<sup>[36]</sup>利用活性污泥产氢, 得出用氯仿处理过的污泥产氢能力最强, 其最大产氢速率为  $483 \text{ mL} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ . Xie 等<sup>[37]</sup>利用热休克污泥产氢, 产氢速率可达  $39.4 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ .

活性污泥制氢技术最有可能首先实现工业化生产. 但这项技术涉及活性污泥, 其所含微生物群落及各自功能作用、优势菌群种类和生态关系, 以及产氢的持续性、稳定性仍值得进一步探究.

## 2 固定化细胞生物制氢载体

### 2.1 包埋法固定

包埋法是细胞固定化最常用的方法.该方法操作简单,对细胞活性影响较小,制作的固定化细胞球的强度较高.生物制氢包埋固定细胞使用的载体通常有琼脂、海藻酸钙、聚丙烯酰胺、聚乙烯醇、醋酸纤维素和角叉胶等.其中,20世纪80年代至90年代,琼脂的应用最为广泛<sup>[3-4,21]</sup>.

Francou等<sup>[4]</sup>利用琼脂与角叉胶混合固定细胞,其产氢速率可达 $54\text{ mL}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$ .Ishikawa等<sup>[23]</sup>用琼脂固定 *Escherichia coli*,每毫升琼脂固定8 mg干重细胞,产氢速率可达 $6.7\text{ mL}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ ,每摩尔葡萄糖的氢气转化量为 $1.2\text{ mol}$ .Seon等<sup>[2]</sup>用海藻酸钙固定细胞,产氢速率可达 $91\text{ mL}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$ .Madamwar等<sup>[27]</sup>的研究表明,海藻酸钙固定细胞产氢优于琼脂固定细胞产氢.Bagai等<sup>[28]</sup>用聚乙烯醇固定细胞,产氢速率稳定在 $18\text{ mmol}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$ ,并可持续60 d.

### 2.2 吸附法固定

在固定化生物制氢中,部分吸附载体产氢效果比包埋载体高<sup>[9,16,20]</sup>.Hahn等<sup>[8]</sup>利用硅土颗粒固定衣藻,认为固定浓缩培养更有利于氢气的累积.Markov等<sup>[9]</sup>利用聚乙烯塑料、中空纤维、玻璃珠和绵织物固定化蓝藻,结果表明,几种载体固定化产氢能力都比游离强,持续产氢时间也更长.Ji等<sup>[22]</sup>利用聚亚安酯泡沫塑料固定 *Clostridium butyricum* 细胞,其产氢速率可达 $300\text{ mL}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ .Yokoi等<sup>[16,20,25]</sup>利用多孔玻璃珠固定 *Enterobacter* 细胞,其氢气产率可达 $850\text{ mL}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ ;固定 *Clostridium butyricum* 细胞连续发酵产氢速率最高达 $1.150\text{ L}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$ ,而固定 *Clostridium butyricum* 和 *Enterobacter aerogenes* 混合菌,其连续发酵产氢速率可达 $1.3\text{ L}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$ .Kumar等<sup>[17,18]</sup>分别利用椰子壳、稻米秸秆和甘蔗渣固定 *Enterobacter* 细胞,椰子壳产氢速率最高达 $62\text{ mmol}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$ .

## 3 展望

到目前为止,从事生物制氢的大多数研究者都是利用成本较高的纯底物如葡萄糖、蔗糖等<sup>[15-22,25,34,36,38]</sup>,利用成本较低的底物不多.真正要达到可持续的工艺,就必须满足可持续利用的底物来进行可再生能源生产,糖作物如甜菜、甘蔗、甜高粱、玉米和小麦等一般作为首选.但是,随着世界粮食供应紧张,以木质素和纤维素为基础的植物利用更是提上研究的日程.若能同时解决工业生产产生的废水、废弃物,那就能达到产能与排污的双重获益.

综上所述,固定化细胞生物制氢的研究正在不断推进.细胞固定化技术的使用,提高了反应器内的生物量,以及单位反应器的比产氢率和运行稳定性.固定化细胞与非固定化细胞相比有着耐低pH值、持续产氢时间长、减轻氧气扩散、防止细胞流失等优点,但目前固定化细胞生物制氢基本上处在实验室研究阶段.从近年生物制氢研究报道中可以发现,大多的研究集中在活性污泥发酵制氢及其与工业废水、废弃食物等结合利用产氢.

因此,要实现工业化产氢除了提高菌种的产氢能力外,还应该考虑以下4点问题.(1)降低底物成本,尽量选“非粮”原料,同时能利用工业生产排放的废水、废弃物,实现产能与治污双赢.(2)提高固定化细胞载体重复利用能力,并稳定在一个较高的产氢水平.(3)发酵产氢细菌多为厌氧菌,这对发酵过程中厌氧条件的满足要求较高,对固定反应器等发酵设备的设计是一个挑战.除此之外,兼性厌氧菌与严格厌氧菌的混合产氢,发酵细菌与光合细菌混合产氢,以及包埋固定化细胞产氢,都是对厌氧条件要求较高等实际操作难题的一种解决思路.(4)产氢的同时与其他化学品联产将能大大提高效益,如利用产氢菌代谢甘油产氢的同时生产1,3-丙二醇等化工原料<sup>[38]</sup>.

### 参考文献:

- [1] GEST H,ORMEROD J G,ORMEROD K S,et al. Photometabolism of *Rhodospirillum rubrum*: Light-dependent dissimilation of organic compounds to carbon dioxide and molecular hydrogen by an anaerobic citric acid cycle[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics,1962,97:21-33.
- [2] SEON Y H,LEE C G,PARK D H,et al. Hydrogen production by immobilized cells in the nozzle loop bioreactor[J].

- Biotechnol Lett,1993,15(12):1275-1280.
- [3] YOUNESI H,NAJAFPOUR G,SYAHIDA H K,et al. Biohydrogen production in a continuous stirred tank bioreactor from synthesis gas by anaerobic photosynthetic bacterium: *Rhodospirillum rubrum*[J]. Bioresource Technology, 2008,99(7):2612-2619.
- [4] FRANCOU N,VIGNAIS P M. Hydrogen production by *Rhodopseudomonas capsulata* cells entrapped in carrageenan beads[J]. Biotechnol Lett,1984,6(10):639-644.
- [5] EROGLU E,EROGLU I,GUNDUZ U,et al. Effect of clay pretreatment on photofermentative hydrogen production from olive mill wastewater[J]. Bioresource Technology,2008,99(15):6799-6808.
- [6] FILER J,KOHRING G W,GIFFHORN F. Enhanced hydrogen production from aromatic acids by immobilized cells of *Rhodopseudomonas palustris*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology,1995,44(1/2):43-46.
- [7] LAURINAVICHENE T V,FEDOROV A S,GHIRARDIET M L,et al. Demonstration of sustained hydrogen photoproduction by immobilized, sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* cells[J]. International Journal of Hydrogen Energy,2006,31(5):659-667.
- [8] HAHN J J,GHIRARDI M L,JACOB Y W A. Immobilized algal cells used for hydrogen production[J]. Biochemical Engineering Journal,2007,37(1):75-79.
- [9] MARKOV S A,BAZIN M J,HALL D O. The potential of using cyanobacteria in photobioreactors for hydrogen production[J]. Biochemical Engineering,1995,52:59-86.
- [10] SERGEI A,MARKOV,MICHAEL J,et al. Hydrogen photoproduction and carbon dioxide uptake by immobilized *Anabaena variabilis* in a hollow-fiber photobioreactor[J]. Enzyme and Microbial Technology,1995,17(4):306-310.
- [11] 王建龙,文湘华. 现代环境生物技术[M]. 北京:清华大学出版社,2000:360-364.
- [12] BENEMANN J R. The technology of biohydrogen[M]. New York: Springer Publishing Company,1999.
- [13] DEBABRATA D T,VEZIROG N. Hydrogen production by biological processes: A survey of literature[J]. International Journal of Hydrogen Energy,2001,26(1):13-28.
- [14] NANDI R,SENGUPTA S. Microbial production of hydrogen: An overview[J]. Critical Reviews in Microbiology, 1998,24(1):61-84.
- [15] YOKOI H,ARATAKE T,HIROSE J,et al. Simultaneous production of hydrogen and bioflocculant by *Enterobacter* sp. BY-29[J]. World of Journal of Microbiology & Biotechnology,2001,17(6):609-613.
- [16] YOKOI H,TOKUSHIGE T,HIROSE J,et al. Hydrogen production by immobilized cells of aciduric *Enterobacter aerogenes* strain HO-39[J]. Journal of Fermentation and Bioengineering,1997,83(5):481-484.
- [17] KUMAR N,DAS D. Electron microscopy of hydrogen producing immobilized *Enterobacter cloacae* T-BT 08 on natural polymers[J]. International Journal of Hydrogen Energy,2001,26:1155-1163.
- [18] KUMAR N,DAS D. Continuous hydrogen production by immobilized *Enterobacter cloacae* T-BT 08 using lignocellulosic materials as solid matrices[J]. Enzyme and Microbial Technology,2001,29(4/5):280-287.
- [19] HAWKES F R,DINSDALE R,HAWKES D L,et al. Sustainable fermentative hydrogen production: Challenges for process optimisation[J]. International Journal of Hydrogen Energy,2002,27(11/12):1339-1347.
- [20] YOKOI H,MAEDA Y,HIROST J,et al. H<sub>2</sub> production by immobilized cells of *Clostridium butyricum* on porous glass beads[J]. Biotechnology Techniques,1997,11(6):431-433.
- [21] KARUBE I,UKANO N,MATSUNAGA T,et al. Hydrogen production from glucose by immobilized growing cells of *Clostridium butyricum*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology,1982,16(1):5-9.
- [22] JI H J,LEE S D,PARK D,et al. Biological hydrogen production by immobilized cells of *Clostridium tyrobutyricum* JM1 isolated from a food waste treatment process[J]. Bioresource Technology,2008,99(14):6666-6672.
- [23] ISHIKAWA M,YAMAMURA S,TOMIYAMA M,et al. Development of a compact stacked flatbed reactor with immobilized high-density bacteria for hydrogen production[J]. International Journal of Hydrogen Energy,2008,33(5):1593-1597.
- [24] THOMPSON L J,GRAY M V,KALALA B,et al. Biohydrogen production by *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii* in carrier induced granules[J]. Biotechnol Lett,2008,30(2):271-274.
- [25] YOKOI H,TOKUSHIGE T,HIROSE J,et al. H<sub>2</sub> production from starch by a mixed culture of *Clostridium butyricum* and *Enterobacter aerogenes*[J]. Biotechnol Lett,1998,20(2):143-147.

- [26] SINGH S P, SRIVASTAVA S C, PANDEY K D. Hydrogen production by *Rhodospseudomonas* at the expense of vegetable starch, sugar cane juice and whey[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 1994, 19(5): 437-440.
- [27] PATEL S, MADAMWAR D. Continuous hydrogen evolution by an immobilized combined system of *Phormidium valderianum*, *Halobacterium halobium* and *Escherichia coli* in a packed bed reactor[J]. International Association for Hydrogen Energy, 1995, 20(8): 631-634.
- [28] BAGAI R, MADAMWAR D. Long-term photo-evolution of hydrogen in a packed bed reactor containing a combination of *Phormidium valderianum*, *Halobacterium halobium*, and *Escherichia coli* immobilized in polyvinyl alcohol[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 1999, 24(4): 311-317.
- [29] YASUO A, MASARU T, YASU YU KI A, et al. Hydrogen production by co-cultures of *Lactobacillus* and a photo-synthetic bacterium, *Rhodobacter sphaeroides* RV[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2006, 31(11): 1509-1513.
- [30] 任南琪, 王宝贞, 马放. 厌氧活性污泥工艺生物发酵产氢能力研究[J]. 中国环境科学, 1995, 15(6): 401-405.
- [31] LI Jian-zheng, REN Nan-qi, LI Bai-kun, et al. Anaerobic biohydrogen production from monosaccharides by a mixed microbial community culture[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(14): 6528-6537.
- [32] 李建政, 任南琪, 林明, 等. 有机废水发酵法生物制氢中试研究[J]. 太阳能学报, 2002, 23(2): 252-256.
- [33] LIN C N, WU S Y, CHANG J S. Fermentative hydrogen production with a draft tube fluidized bed reactor containing silicone-gel-immobilized anaerobic sludge[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2006, 31(15): 2200-2210.
- [34] WU S Y, HUNG C H, CHANG J S, et al. HRT-dependent hydrogen production and bacterial community structure of mixed anaerobic microflora in suspended, granular and immobilized sludge systems using glucose as the carbon substrate[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33(5): 1542-1549.
- [35] JAIME M N, RICHARD D, ALAN G. Hydrogen production from sewage sludge using mixed microflora inoculum: Effect of pH and enzymatic pretreatment[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(14): 6325-6331.
- [36] HU Bo, CHEN Shu-lin. Pretreatment of methanogenic granules for immobilized hydrogen fermentation[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2007, 32(15): 3266-3273.
- [37] XIE Bin-fei, CHENG G Jun, ZHOU Jun-hu, et al. Production of hydrogen and methane from potatoes by two-phase anaerobic fermentation[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(13): 5942-5946.
- [38] 刘飞, 方柏山. 克雷伯杆菌利用生物柴油副产物甘油生产氢气和1,3-丙二醇的菌种选育和发酵条件的研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(10): 1-4.

## Progress of Biological Hydrogen Production by Immobilized Cell Technology

CAI Jian-wei, FANG Bai-shan

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology of Fujian Province, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

**Abstract:** Advances of the studies on biological hydrogen production with photosynthetic and fermentation bacteria are reviewed. Among them, the strains of hydrogen production by immobilized cell include photosynthetic bacteria, fermentation bacteria and mixed bacteria. The immobilized carriers and the substrates used in hydrogen production are summarized. Finally, the prospect of future development in this field is presented.

**Keywords:** immobilization; biological hydrogen production; photosynthetic bacteria; anaerobic bacteria; mixed bacteria; entrapping; adsorption

(责任编辑: 黄仲一 英文审校: 陈国华)