

光照度对猪粪污水条件下红假单胞菌光合产氢的影响

张军合^{1,2}, 张全国¹, 杨群发¹, 王艳锦¹

(1. 河南农业大学农业部可再生能源重点开放实验室, 郑州 450002; 2. 河南科技学院, 新乡 453003)

摘要: 研究了猪粪污水条件下, 光照度对红假单胞菌 (*Rhodobacter sphaeroides*) 1. 1737 菌株进行光合产氢的影响, 结果表明球形红假单胞菌的产氢活性随着光照度的增大而增大, 在高于1000 lux 光照度下比在低于1000 lux 光照度下产氢活性显著提高, 在1600 lux 光照度下产氢速率达到最大, 而在1200, 1600 和2000 lux 光照度下产氢量差别相对比较小时, 说明光照度增加到一定程度后对细菌产氢活性的影响将会逐渐减少, 对产氢量和产氢速率的提高无明显作用。

关键词: 光照度; 猪粪污水; 光合细菌; 产氢

中图分类号: S216

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2005)09-0134-03

张军合, 张全国, 杨群发 光照度对猪粪污水条件下红假单胞菌光合产氢的影响[J]. 农业工程学报, 2005, 21(9): 134- 136
Zhang Junhe, Zhang Quanguo, Yang Qunfa, et al Influence of the degree of light intensity on hydrogen production of *Rhodobacter sphaeroides* from pig dejecta wastewater[J]. Transactions of the CSAE, 2005, 21(9): 134- 136 (in Chinese with English abstract)

0 引言

随着社会的不断进步和工业化程度的不断提高, 人类对能源的需求日益增加, 有限的化石能源已经不能满足世界各国对能源的需求。能源短缺, 环境污染是人类未来面临的难题, 寻找可再生的清洁能源已成为世界范围内能源界及其相关领域关注的焦点问题。氢气以其能量密度高, 洁净燃烧, 而被认为是矿石燃料的最佳替代能源。氢气本身是可再生的, 氢气燃烧时只生成水, 不产生任何污染物, 可以实现真正的“零排放”; 生产氢气的途径多种多样, 生物制氢^[1-3]作为一种符合可持续发展战略的课题, 已在世界上引起广泛重视^[4], 迄今为止, 已有的生物制氢方法有发酵细菌产氢^[5,6]、蓝细菌和绿藻产氢^[6-8]、古细菌类群产氢^[8,9]、酶法产氢^[10]、生物质气化制氢^[11]、光合细菌产氢^[11-14]等多种。

光合细菌简称PSB (Photosynthetic Bacteria), 是一群能在厌氧光照或好氧光照条件下利用有机物作供氢体兼碳源, 进行光合作用的细菌, 而且具有随环境条件变化而改变代谢类型的特性。光合细菌可利用的底物范围很广, 在诸多已有的PSB 产H₂ 试验中, 大部分是以各种工业有机废水作为PSB 处理的底物, 以畜禽粪便作为底物的研究尚不多见, 畜禽粪便污染已成为中国农村仅次于小造纸废水污染的第二大污染源。而畜禽粪便中含有大量的氮、磷等有机物质, 可提供PSB 生长所需的

营养物质, 如将其作为制氢原料, 既得到清洁能源氢气, 又实现了废弃物的资源化, 对缓解能源危机, 减少环境污染等方面具有积极的现实意义。本文选用繁殖快, 易于人工培养的红螺菌科细菌——球形红假单胞菌 (*Rhodobacter sphaeroides*) 1. 1737 菌株为产氢菌, 用最常见的畜禽粪便污染源——猪粪污水为实验底物, 研究光照度对红假单胞菌 (*Rhodobacter sphaeroides*) 1. 1737菌株光合产氢影响的规律。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1) 试验用底物

本试验所用原料为在有光照地方堆积的湿猪粪, 全部取自郑州市东郊的新大牧业种猪场。喂猪所用的饲料主要为谷壳、玉米及菜叶, 主要理化性质如表1所示。

表1 本试验所用湿猪粪的理化性质

Table 1 Physical and chemical characteristics of swine manure used in the experiment

水分 /%	COD /mg · g ⁻¹	总氮 /mg · g ⁻¹	总磷 /mg · g ⁻¹	料液pH 值
79	178.6	8.4	2.9	7.0~8.0

发酵液为湿猪粪与自来水以一定的比例配制而成。配制时, 以一定量的自来水稀释, 浸泡猪粪, 然后用40目的筛子过滤猪粪污水, 滤去稻草、泥沙等杂质, 配制出的污水浓度接近从该猪厂二级沉淀池出来的污水浓度, 其COD 值为5687 mg/L, 所得污水为光合细菌制氢的底物。为使接入菌液的生长不受其他杂菌的干扰, 并有利于产氢, 发酵前将猪粪污水在灭菌锅中进行高温灭菌, 灭菌温度为121℃, 时间为0.5 h, 而且经过灭菌, 污水中的部分大分子有机物转变为小分子有机物, 更有利于光合细菌的分解利用。灭菌后冷却到25℃, 将一定量菌液接到污水中, 进行培养。由于污水中只有光合细菌单一菌种, 根据光合细菌产氢的机理, 污水发酵产生的

收稿日期: 2004-10-08 修订日期: 2005-03-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(50476087); 国家高技术研究发展计划(863)资助项目(2004AA 515010)

作者简介: 张军合(1972-), 男, 讲师, 博士生, 郑州 河南农业大学农业部可再生能源重点开放实验室, 450002. Email: zjh335@126.com

通讯作者: 张全国(1958-), 男, 副主任, 教授, 博士生导师, 河南农业大学农业部可再生能源重点开放实验室, 河南省太阳能学会理事, 从事农业生物环境与可再生能源方面的研究。郑州市文化路95号 河南农业大学, 450002. Email: zqguo@public.zz.ha.cn

气体主要成分为H₂和CO₂。

2) 试验用菌株
菌株

球形红假单胞菌 (*Rhodobacter sphaeroides*)

1. 1737菌株(= ATCC 17023), 购于中国科学院微生物研究所。

培养基

牛肉提取物 1.5 g, 酵母提取物 1.5 g, 胰蛋白胨 5.0 g, 葡萄糖 1.0 g, NaCl 3.5 g, K₂HPO₄ 4.8 g, KH₂PO₄ 1.32 g, 琼脂 15 g, 蒸馏水 1.0 L, pH 值 7.0, 70 Pa 灭菌 20 min。

培养条件及方法:

培养温度为30℃, pH 值为7.0, 60W 白炽灯做光源, 光源离培养物的距离为20~ 30 cm, 微好氧。因以菌液作为原料发酵的接种物, 所以培养时先在试管(用胶塞密封)中进行斜面培养, 然后在 100 mL 的盐水瓶(带可加封铝盖的反口橡皮塞)中培养, 其中液体培养基为 50 mL, 接种量为 2%, 培养条件均为上述条件。如果两次培养不是连续进行, 则每次培养菌液之前, 需要在斜面上活化菌种。斜面培养时间以菌种颜色鲜红为准, 一般为 48 h 左右, 盐水瓶培养时间以菌体均匀, 不出现菌体沉淀为准, 一般为 50 h 左右。

1.2 试验方法

1) 试验装置及仪器

设计流程如图1所示。采用分批试验, 产氢过程中猪粪污水定期进行人工搅拌。污水装在1000 mL 的玻璃瓶中, 待接种后用胶塞密封, 将导气管插入到反应瓶上部余留空间, 导气管上有一阀门。为控制一定的温度, 反应瓶置于恒温箱内。为保证光合细菌受光均匀性, 在反应瓶的周围均匀地布置四个白炽灯。每次处理的污水体积是 900 mL, 考虑实际应用时方便, 反应瓶中剩余空间的气相条件不予考虑, 一律为空气, 由于玻璃瓶为密封, 所以产氢仍可近似认为是在厌氧的条件下进行的^[8,9]。产生的气体用排水集气法收集, 并定时用RD-2059G 型氢分析器进行测定。因为红色细胞进行光合作用所吸收的光谱波长为 800~ 900 nm, 主要是红外区, 白炽灯的光谱中含有很多红外线, 而荧光灯的光谱中缺少红光, 所以本文在试验中采用白炽灯。

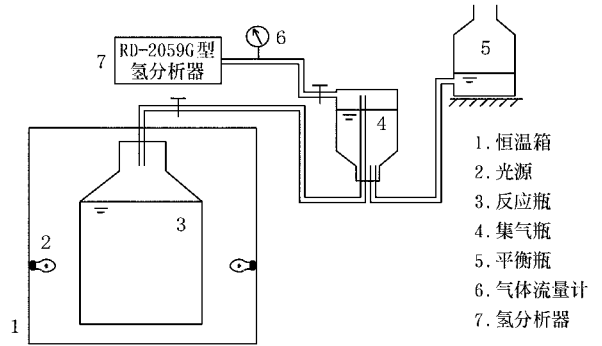


图1 产氢试验装置

Fig 1 Equipment for hydrogen photoproduction

2) 测定方法

原料浓度用化学需氧量 COD (Chemical Oxygen Demand) 来表示, 采用重铬酸钾滴定法测定。菌株光合产氢能力用产氢量 (mL)、体积产氢率 (mL H₂ · L⁻¹ 污水 · d⁻¹) 和 COD 产氢率 (mL H₂ · gCOD⁻¹ · d⁻¹) 三个指标来表示, 并用排水集气法和 RD-2059G 型氢分析器测定产氢量。光照度用 TES 数位式照度计测定。

2 试验结果与分析

在微生物发酵工业中, 接种量一般为 5%, 考虑到该试验处于初级研究阶段, 为使试验结果明显, 本试验接种量为 10%。在反应制氢的过程中, 均可观察到反应液颜色起初由猪粪污水的颜色 (黑色) 和球形红假单胞菌菌液的颜色 (红色) 构成, 随反应时间延长红色加深, 黑色变浅或消失, 从上述颜色变化可反映出球形红假单胞菌在猪粪污水中生长良好, 产氢顺利进行。

光照度和光照时间影响着光合细菌所捕获的光能量与形成的 ATP (Adenosine Triphosphate 腺苷三磷酸) 及质子梯度。本试验中光源为白炽灯, 分别于 300、600、900、1200、1600 和 2000 lux 的光照度下进行试验, 其他条件分别为温度 30℃, 原料初始 pH 值 7.0, 接种物为培养 60 h 的菌液, 采用分批培养产氢时, 观察到产氢时间基本上为 5 d, 所以本文实验的记录结果均为 5 d 时间内的产氢量, 记录值为 3 次重复实验的平均值, 体积产氢率为总产氢量除以污水体积及天数, COD 产氢率为总的产氢量除以 COD 的去除量及天数。

表2 光照度对累积产氢量的影响

Table 2 Effect of light intensity on accumulated hydrogen production

时间/h	光照度/lux					
	300	600	900	1200	1600	2000
24	8.3	10.8	11.2	14.3	14.0	13.5
48	18.6	21.2	28.3	33.4	34.2	30.8
72	33.4	40.5	45.8	58.1	57.3	55.6
96	42.0	61.3	71.8	79.0	80.9	78.4
120	51.0	70.5	84.6	98.5	103.2	96.0
体积产氢率/mL H ₂ · L ⁻¹ 污水 · d ⁻¹	11.3	15.7	18.8	21.9	22.9	21.3
污水最终COD 值/mg · L ⁻¹	3725	3638	3523	3516	3450	3508
COD 产氢率/mL H ₂ · gCOD ⁻¹ · d ⁻¹	5.8	7.6	8.7	10.1	10.2	9.8

在充足的光照条件下,暗反应速度成为限制光合产氢微生物的主要影响因素,暗反应速度是光合微生物细胞色素捕获光子速度的1/10左右,造成光合器官所捕获光子的90%不仅不能用于光合微生物的光合作用,反而会转化为热能导致光合微生物细胞的腐烂,造成光能的巨大浪费^[12,13],试验结果如表2和图2所示。从图2可见,在一定光照度范围内,球形红假单胞菌的产氢活性随着光照度的增大而增大,在高于1000 lux光照度下比在低于1000 lux下产氢活性显著提高。在1600 lux光照度下产氢速率达到最大,而在1200 lux、1600 lux和2000 lux光照度下产氢量差别相对较小,说明光照度增加到一定程度后对细菌产氢活性的影响将会逐渐减少,对产氢量和产氢速率的提高无明显作用。因此,在1200~1600 lux光照度下进行产氢比较适宜。光合细菌产氢对光照度的依赖性说明直接从光源中吸收能量在光合细菌内部的氧化还原过程或电子传递过程中发挥了重要作用。

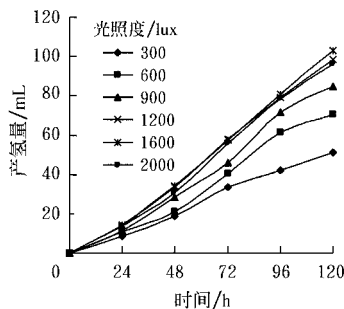


图2 光照度对光合产氢的影响

Fig 2 Effect of light intensity on hydrogen production

3 结论

红假单胞菌 (*Rhodospirillum rubrum*) 1.1737 菌株能很好的分解猪粪污水中的有机质产生氢气,光照度是影响红假单胞菌在猪粪污水条件下光合产氢的重要因素,光照度在1000 lux 以下产氢活性较低,在1600 lux 达到最大,光照度再提高对产氢量和产氢速率的提

高无明显作用。

[参 考 文 献]

- [1] Smith G D, Ewart G D, Tucker W. Light penetration into cell suspensions of photosynthetic bacteria and relation to hydrogen production [J]. Int J of Hydrogen Energy, 1992, 17: 695- 698
- [2] Boichenko V A, Hoffman P. Light penetration into cell suspensions of Photosynthetic bacteria and relation to hydrogen production [J]. J Fement, 1994, 30: 527- 552
- [3] Markov S A, Bazin M, Hall D O. Adv Biochem Eng [J]. Biotechnol, 1995, 52: 61- 86
- [4] 王艳辉, 吴迪, 迟建, 等. 氢能及制氢的应用技术现状及发展趋势 [J]. 化工进展, 2001, (1): 6- 8
- [5] 李建政, 任南琪. 生物制氢技术的研究与发展 [J]. 能源工程, 2001, (2): 18- 20
- [6] 元英进, 史春梅, 韩金玉, 等. 生物法制氢 [J]. 现代化工, 1995, (7): 8- 11
- [7] 李冬敏, 陈洪章, 李佐虎, 等. 生物制氢技术的研究进展 [J]. 生物技术通报, 2003, (4): 1- 5
- [8] 杨素萍, 赵春贵, 钱新民, 等. 生物产氢研究与进展 [J]. 中国生物工程杂志, 2002, 22(4): 44- 48
- [9] 任南琪, 王宝贞. 有机废水处理生物制氢技术 [J]. 中国环境科学, 1994, 14(6): 412- 41
- [10] 谭天伟, 王芳, 邓利. 生物能源的研究现状及展望 [J]. 现代化工, 2003, 23(9): 8- 12
- [11] To shihiko Kondo, Masayasu Arakawa, Tatsuki Wakayama, et al. Hydrogen production by combing two types of photosynthetic bacteria with different characteristics [J]. Int J of Hydrogen Energy, 2002, 27: 1303- 1308
- [12] Maria J, Jorge M S, Rene H. Acetate as a carbon spurce for hydrogen production by photosynthetic bacteria [J]. J biotechnology, 2001, 85: 25- 33
- [13] Nakakima Y, Tsuzuki M, Ueda R. Improved productivity by reduction of the content of light harvesting pigment in chlamydomonas perigrannulata [J]. J Appl Phycol, 2001, 13: 95- 101
- [14] 杨艳, 卢滇楠, 李春, 等. 面向21世纪生物能源 [J]. 化工进展, 2002, 21(5): 299- 302

Influence of the degree of light intensity on hydrogen production of *Rhodospirillum rubrum* from pig dejecta wastewater

Zhang Junhe^{1,2}, Zhang Quanguo¹, Yang Qunfa¹, Wang Yanjin¹

(1. Energy Engineering Laboratory, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2 Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract The influence of light intensity on (*Rhodospirillum rubrum*) 1.1737-thus hydrogen production was investigated under the condition of pig dejecta wastewater. It turns out that, with the increase of light intensity, the activity of *Rhodospirillum rubrum* is getting stronger. When the light intensity is above 1000 lux, its activity can be improved drastically; When it comes to 1600 lux, the rate of hydrogen production reached the biggest value. As to 1200 lux, 1600 lux and 2000 lux, the difference in the amount of hydrogen production is relatively low. It indicates that the influence on activity of hydrogen production would decline if light intensity is increased to a certain degree, the influence on the hydrogen production activity of the bacteria would reduce, so there is no obvious influence on the amount and rate of hydrogen production.

Key words: light intensity; pig dejecta wastewater; photosynthetic bacteria; hydrogen production