

# 厌氧细菌 *Acetanaerobacterium elongatum* 从葡萄糖的产氢特性研究

陈双雅, 牛莉莉, 东秀珠\*

(中国科学院微生物研究所 微生物资源国家重点实验室 北京 100080)

**摘 要:** 为了了解影响厌氧发酵产氢细菌 *Acetanaerobacterium elongatum* Z7 产氢效率的因素, 采用生理学方法对其进行了研究。结果表明: 乙醇型发酵菌 *A. elongatum* Z7 的最适产氢温度为 37°C, 最适产氢的起始 pH 为 8.0。该菌发酵葡萄糖和阿拉伯糖产氢的能力较强, 氢气产率分别为 1.55 mol H<sub>2</sub>/mol 葡萄糖和 1.50 mol H<sub>2</sub>/mol 阿拉伯糖。酵母粉是菌株 Z7 生长和产氢所必需的生长因子, pH 影响菌株的生长和葡萄糖利用率, 氢压则影响电子流的分配, 从而改变代谢产物乙酸和乙醇的比例; 当产氢菌与甲烷菌共培养以维持发酵体系低的氢压时, 可使氢的理论产量提高约 4 倍。培养基中乙酸钠浓度 > 60 mmol/L 明显抑制产氢。另外, 一个只利用蛋白类物质的细菌能够促进菌株 Z7 对葡萄糖的利用, 进而提供氢产量, 为生物制氢的工业化生产提供理论参考。

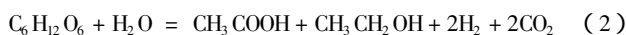
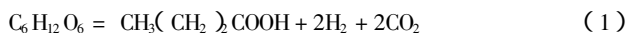
**关键词:** 产氢细菌; *Acetanaerobacterium elongatum*; 产氢特性

中图分类号: Q935 文献标识码: A 文章编号: 1001-6209(2006)02-0233-05

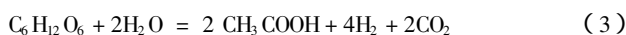
氢能以其燃烧值高、清洁无污染、储量大、后续性强、储存形式多等诸多优点, 被认为是未来最理想的能源 (Claassen *et al.*, 1999)。在众多的制氢技术中, 厌氧发酵产氢技术可利用农业废料、城市垃圾、工业有机废水、废料和其它生物质制取氢气, 不但产氢成本可以大幅度降低, 而且反应条件温和, 具有废物利用、节省能量消耗、净化环境和生态平衡的重要意义 (Benemann, 1996)。

发酵复杂有机质产氢的微生物有多种, 包括严格厌氧的 *Clostridium* 和 *Ruminococcus*, 兼性厌氧的 *Enterobacter aerogenes* 和 *Escherichia coli*, 以及好氧菌如 *Alcaligenes* 和 *Bacillus* 等 (Nandi & Sengupta, 1998)。虽然目前厌氧发酵细菌的产氢效率较光合产氢的低, 但通过优化厌氧发酵条件和对发酵菌进行代谢工程改造, 厌氧发酵制氢将具有很大的应用潜力。

厌氧葡萄糖发酵产氢主要有两种代谢类型——丁酸型发酵 (方程式 1) 和乙醇型发酵 (方程式 2):



目前厌氧发酵最大理论产氢率是 4 mol H<sub>2</sub>/mol 葡萄糖 (方程式 3), 即当葡萄糖发酵的产物只有乙酸时, 化学反应为:

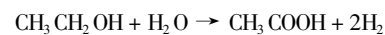


因此, 在生产实践中, 如果葡萄糖能够全部转化

为乙酸, 则能够提高氢的转化率。虽然丁酸型发酵和乙醇型发酵的产氢效率都是 2 mol H<sub>2</sub>/mol 葡萄糖, 但根据丁酸和乙醇分别转化为乙酸的标准自由能变 (方程式 4 和 5), 显然乙醇比丁酸更容易转化为乙酸, 因此乙醇型代谢类型更有改造前景。



$$\Delta G^\circ = +48.3 \text{ kJ/mol} \quad (4)$$



$$\Delta G^\circ = +9.6 \text{ kJ/mol} \quad (5)$$

厌氧发酵产氢过程很容易受环境因子, 如 pH、温度、氮源、产物浓度的影响, 通过调控这些因素可能能够提高厌氧产氢反应的产氢效率。本实验室分离到一个新的发酵葡萄糖产氢的乙醇型发酵的严格厌氧细菌菌株 *Acetanaerobacterium elongatum* Z7 (Chen & Dong, 2004), 它可能是一个经代谢途径改造后具有潜力的发酵产氢生产菌株。本文对影响该菌株产氢的因素, 包括培养条件、培养基成分、产物抑制等进行了实验, 旨在为提高发酵产氢效率寻找可行的途径。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 菌株:** 菌株 *A. elongatum* Z7 分离自北京西南章造纸厂废水污泥, 菌株 *Proteiniphilum acetatigenes* TB107 分离自清华大学啤酒废水厌氧反应器 (Chen

基金项目: 国家“973 项目”——重点基础研究发展计划项目(2004CB719602); 中国科学院创新基金领域前沿项目

\* 通讯作者。Tel/Fax: 86-10-62558320; E-mail: dongxz@sun.im.ac.cn

作者简介: 陈双雅 (1970 - ) 女, 江苏镇江人, 博士研究生, 主要从事细菌分子系统学研究。E-mail: shuangyach@yahoo.com

收稿日期: 2005-07-21; 接受日期: 2005-08-23; 修回日期: 2005-12-12

& Dong, 2005), *Methanobacterium formicicum* DSM 1535<sup>T</sup> 由荷兰 Wageningen 大学微生物系 Stams A. J. M. 教授惠赠。

**1.1.2 培养基:** *A. elongatum* Z7 生长和产氢所用的培养基是预还原的 PYG (Holdman, 1966), 甲烷菌的培养采用一种寡营养的互营菌培养基 (Stams et al., 1992), 重要成分是磷酸盐缓冲液、0.05% 的酵母粉和 0.025% 的蛋白胨, 以及维生素和微量元素。除培养甲烷菌的气相为 H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80/20) 外, 其余的实验均以 100% N<sub>2</sub> 为气相。所有试验均在 23mL 试管中进行, 培养基为 3 ~ 5mL。除特别说明, 培养温度均为 37℃。

**1.1.3 主要试剂和仪器:** 酵母粉、蛋白胨和维生素购于 Oxifod 试剂公司。气相色谱 GC-14B 购于日本岛津 (Shimadzu) 公司。

## 1.2 最适培养条件的测定

接种 pH 4 ~ 10 的不同 pH 值的 PYG 培养基 (1% 葡萄糖), 37℃ 培养 3d 后测定氢浓度以确定最适初始 pH; 接种 pH 7.2 的 PYG 培养基 (1% 葡萄糖), 分别置于 20℃, 25℃, 28℃, 31℃, 34℃, 37℃, 39℃, 42℃ 和 46℃ 培养 3d 后测定氢浓度以确定最适培养温度。

## 1.3 培养基成分对产氢的影响

分别配制含 1% 阿拉伯糖、果糖、半乳糖、木糖、蔗糖、麦芽糖和纤维二糖以及不同葡萄糖浓度的 PY 培养基, 接种培养 3d 后测定氢浓度以确定不同底物和葡萄糖浓度对产氢的影响; 以 PYG 培养基为基础, 调整氮源含量, 使其分别含 0.2% 酵母粉或 1% 酵母粉, 0.1% 蛋白胨或 0.5% 蛋白胨, 接种培养 3d 后测定氢浓度以确定氮源对产氢的影响。

## 1.4 代谢产物对产氢的影响

**1.4.1 乙酸钠和乙醇对产氢的影响:** 分别配制含 0 ~ 25mmol/L 乙酸钠和 0 ~ 600mmol/L 乙醇的 PYG 培养基 (1% 葡萄糖, pH 7.5), 接种培养 3d 后测定氢浓度以确定不同浓度的乙酸钠和乙醇对产氢的影响。

**1.4.2 氢分压对产氢的影响:** 通过产氢菌与甲烷菌共培养的方式以保持培养体系内低的氢压。每管接种产氢菌 0.1mL 和甲烷菌 *M. formicicum* 2mL, 同时以不接种甲烷菌为对照。37℃ 培养, 检测 CH<sub>4</sub> 的生成和代谢产物的变化。

## 1.5 菌株间的协同作用对产氢的影响

在含有维生素和 1% 葡萄糖的、添加或不添加酵母膏和/或蛋白胨的互营菌培养基中, 同时接种 *A. elongatum* Z7 和 *Proteiniphilum acetatigenes* TB107

各 0.1mL 培养 3d 后测定氢浓度、葡萄糖的消耗和产物的浓度。

## 1.6 代谢物测定方法

用气相色谱检测细菌发酵葡萄糖的产物。分离柱为填充了 GDX-401 (60 ~ 80 目) 的不锈钢柱。载气均为 N<sub>2</sub>。有机酸和乙醇的检测用 FID 检测器。挥发酸测定参数: 柱温 220℃, 进样室温度 250℃, 检测器温度 280℃; 非挥发酸测定参数: 柱温 150℃, 进样室温度 180℃, 检测器温度 200℃; 乙醇测定参数: 柱温 130℃, 进样室温度 170℃, 检测器温度 200℃; 气体的检测用 TCD 检测器, 测定参数: 柱温 30℃, 进样器温度 50℃, 检测器温度 100℃, TCD 室 100℃, 电流 70mA。葡萄糖的测定采用斐林试剂比色法 (Somogyi, 1952)。

## 2 结果和讨论

*A. elongatum* Z7 是一个严格厌氧、中温生长的革兰氏阳性细菌, 发酵葡萄糖产生 1mol 的乙酸、乙醇和 H<sub>2</sub>。生长环境的温度、pH、生长因子, 以及产物都可能显著影响其代谢过程。

### 2.1 培养温度和起始 pH 对 *A. elongatum* Z7 产氢的影响

将 *A. elongatum* Z7 分别在 pH 为 4 ~ 10 培养基培养后测定氢产量, 结果显示其产氢的最适初始 pH 为 8.0, 高于其最适生长 pH 6.5 ~ 7.0, 最适产氢温度为 37℃ 和最适生长温度相同 (图 1)。在最适生长条件下, 产氢效率为 1.55mol H<sub>2</sub>/mol 葡萄糖, 达到理论值 (2mol/mol 葡萄糖) 的 77.5%。

由于在厌氧发酵产氢过程中积累的有机酸会引起 pH 的降低从而抑制产氢菌的生长, 并降低葡萄糖的利用和产氢。因此我们通过调节发酵液的 pH 来观察 pH 对产氢的影响。

接种 *A. elongatum* Z7 至 pH 7.5 的含不同葡萄糖浓度的 PYG 培养基, 以滴加 NaOH 的方式维持 pH

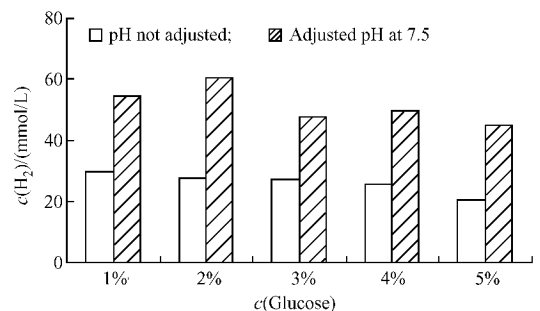


图 1 控制 pH 对 *A. elongatum* Z7 产氢的影响

Fig. 1 Effect of pH on hydrogen production by *A. elongatum* Z7

至 7.5 连续 4 d,以不调节 pH 的含不同葡萄糖浓度的 PYG 培养基为对照,测定氢气产量和葡萄糖消耗。结果(图 1)显示,不调节 pH 时,1% 葡萄糖为底物时产氢量最高,而维持培养基中性时,葡萄糖利用率可提高至 2%(未显示数据),同时产氢量提高 1 倍。

## 2.2 不同底物对产氢的影响

葡萄糖、蔗糖、淀粉及纤维素等是研究发酵产氢的主要基质。Oh 等<sup>[9]</sup>(2002 年)在研究 *Rhodospseudomonas palustris* P4 利用不同基质产氢时发现,双糖(乳糖和蔗糖)的产氢效率要远远低于单糖(葡萄糖、半乳糖和果糖)的产氢效率。本试验选择 *A. elongatum* Z7 可利用的单糖和双糖作为底物研究其浓度对产氢的影响。结果是当起始 pH 为 8.0 时,菌株产氢效率分别为 1.55mol H<sub>2</sub>/mol 葡萄糖,1.50mol H<sub>2</sub>/mol 阿拉伯糖,1.0mol H<sub>2</sub>/mol 果糖,0.6mol H<sub>2</sub>/mol 半乳糖,0.7mol H<sub>2</sub>/mol 木糖,2.2mol H<sub>2</sub>/mol 蔗糖,2.0mol H<sub>2</sub>/mol 麦芽糖和 2.4mol H<sub>2</sub>/mol 纤维二糖。本试验结果表明,*A. elongatum* Z7 发酵葡萄糖和阿拉伯糖产氢的能力较强,发酵果糖、半乳糖和木糖产氢的能力较弱。

## 2.3 氮源对产氢的影响

为了检测不同有机氮源对 *A. elongatum* Z7 产氢的作用,以不加蛋白胨和酵母粉的 PYG 为基础培养基,测定分别添加不同浓度的蛋白胨和酵母粉对菌株产氢的作用。结果如图 2 显示,酵母粉而不是蛋白胨对 *A. elongatum* Z7 的产氢是必须的,而且 0.2% 酵母粉已足够。

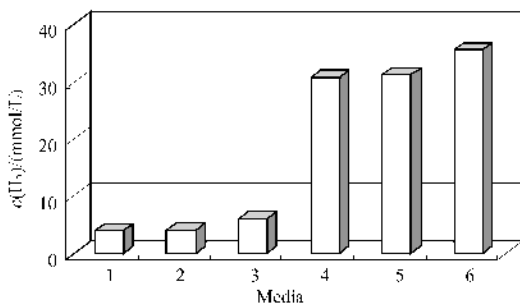


图 2 氮源对 *A. elongatum* Z7 产氢的影响 (pH 7.5, 37°C)

Fig. 2 Effect of nitrogen sources on hydrogen production by *A. elongatum* Z7. 1. Basic medium; 2. Adding 0.1% Peptone; 3. Adding 0.5% Peptone; 4. Adding 0.2% Yeast extract; 5. Adding 1% Yeast extract; 6. Adding 0.5% Peptone and 1% Yeast extract.

## 2.4 产物对 *A. elongatum* Z7 产氢的影响

产物抑制是葡萄糖发酵的一个重要影响因素,试验研究了乙酸钠、乙醇和氢分压对产氢的影响。

2.4.1 乙酸钠浓度对 *A. elongatum* Z7 产氢的影响:乙酸和其它有机酸的累积对生长的抑制在微生

物发酵中普遍存在,但耐受力在不同菌种之间差异很大(Lasko *et al.*, 2000)。研究表明乙酸的解离态和非解离态均可作为生长的解偶联剂(Wang & Wang, 1984)。虽然乙酸抑制作用普遍存在,据报道 192mmol/L 乙酸钠抑制菌株 *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* 的生长和产氢(Van Niel *et al.*, 2003),而 *T. ethanolicus* 可耐受 450mmol/L 乙酸钠(Wiegel & Ljungdahl, 1981)。

试验结果表明(图 3), < 60mmol/L NaAc 对菌株 Z7 的产氢没有影响, > 60mmol/L NaAc 明显抑制其产氢; 80mmol/L NaAc 使菌株 Z7 产氢降低至 80%, 180mmol/L NaAc 完全抑制其生长和产氢。生长试验证实, *A. elongatum* Z7 能耐受 2% 的 NaCl (约 342mmol/L) 生长,因此推测 NaAc 的抑制实质是乙酸根离子的抑制作用。

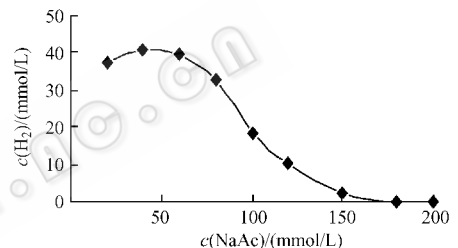


图 3 乙酸钠浓度对 *A. elongatum* Z7 产氢的影响

Fig. 3 Effects of NaAc concentration on hydrogen production by *A. elongatum* Z7.

2.4.2 乙醇对 *A. elongatum* Z7 发酵产氢的影响:试验结果表明(图 4), < 270mmol/L (1.25%) 乙醇不会对 *A. elongatum* Z7 产氢发生影响。说明乙醇不是发酵产氢的最主要抑制因子。

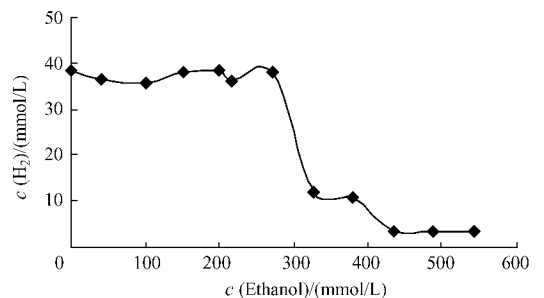


图 4 不同乙醇浓度对 *A. elongatum* Z7 产氢的影响

Fig. 4 Effect of ethanol concentration on hydrogen production

2.4.3 氢分压对 *A. elongatum* Z7 产氢的影响:在厌氧发酵过程中,氢的浓度是影响还原当量[H]分配、进而改变发酵产物类型的一个重要因素。氢压低时,发酵代谢更倾向于生成氧化还原电势高的产物如乙酸,而氢压高时则倾向于生成氧化还原电势较低的产物如醇类、丙酸和乳酸等(Bagley & Brodtkorb, 1999)因而产生少量的氢。所以,要提高

氢的产量就必须保持体系中低的氢分压 (Hallenbeck & Benemann, 2002)。

已知氢营养型的产甲烷菌能将体系中的氢分压保持在很低的水平(10Pa),因此本试验通过产氢菌 Z7 与甲烷菌 *M. formicicum* 共培养的方式研究了降低氢分压对产氢量的影响。

氢压对产氢菌生长的影响:接种 0.1mL 的 *A. elongatum* Z7 至 pH7.5 的 PYG 培养基中,气相分别为 100% H<sub>2</sub>, 100% CO<sub>2</sub> 和 100% N<sub>2</sub>。培养 3d,测定 OD<sub>600</sub> 和葡萄糖的利用。结果表明,*A. elongatum* Z7 在 3 种气相中的生长和葡萄糖的消耗没有明显差别。而且在 N<sub>2</sub> 为气相的条件下生长活跃的菌株,加入 H<sub>2</sub> 不改变其生长速率和葡萄糖的降解速率。

产氢菌与甲烷菌共培养降低氢压对产氢的影响:在含有 1% 葡萄糖的互营菌培养基中,同时接种

*A. elongatum* Z7 和 *M. formicicum* 培养 3d 后测定葡萄糖的消耗和产物的生成。其中 H<sub>2</sub> 的产量根据 4mol H<sub>2</sub> 合成 1mol 甲烷的化学计量学,以甲烷生成量进行计算。表 1 显示,当 *A. elongatum* Z7 与 *M. formicicum* 共培养时,葡萄糖的消耗和 Z7 单一培养时的无显著差异,但根据共培养物产生的 11.0mmol/L 的甲烷计算其 H<sub>2</sub> 产量为 44.0mmol/L,比 Z7 纯培养的氢的产量提高 4 倍多。同时共培养物的乙酸产量提高,乙醇下降。

由于生成 1mol 乙醇较生成 1mol 乙酸多消耗 1mol H<sub>2</sub>,而试验中氢的理论产量的提高与乙醇的降低所包含的氢的质量数相符,证明降低氢的分压,改变了电子的流动方向,使生成更多的乙酸和较少的乙醇,从而提高氢的产量。

表 1 产氢菌与甲烷菌共培养对产氢的影响

Table 1 Effect of co-cultivation of hydrogen-producing bacterium and methanogen on hydrogen production

Experiment	Acetate (mmol/L)	Ethanol (mmol/L)	Glucose consumption (mmol/L)	H <sub>2</sub> (mmol/L)	CH <sub>4</sub> (mmol/L)
Z7	23.05	21.3	25	10	-
Z7 + <i>M. formicicum</i>	31.8	7.3	27	(44)	11.0

## 2.5 菌株间的协同作用对菌株 Z7 产氢的影响

*Proteiniphilum acetatigenes* TB107 是分离自清华废水处理器颗粒污泥丙酸富集物的一株革兰氏阴性杆菌,不利用葡萄糖,能够分解蛋白胨和酵母膏产生乙酸和丙酸,但不产氢。TB107 能够促进丙酸互营菌对丙酸的降解 (Chen & Dong, 2005)。本实验测定了在不同氮源存在时,菌株 TB107 对 *A. elongatum* Z7 产氢的作用,以推测 *A. elongatum* Z7 所必需的营养因子。

从表 2 给出的试验结果发现,在无酵母膏而含有维生素和蛋白胨的培养基(3)和(6)中,*P. acetatigenes* TB107 显著提高 *A. elongatum* Z7 的产氢量,可达到对照的 3.62 倍和 2.79 倍;而在含有酵母膏的培养基(1)(2)和(7)中则没有这种促进作用;比较处理(3)和(5)可知,维生素对于这种刺激作用是必须的,而蛋白胨的浓度与 TB107 对菌株 Z7 的促进作用成正相关(培养基 3 和 6)。

表 2 *P. acetatigenes* TB107 对 *A. elongatum* Z7 产氢 (H<sub>2</sub> mmol/L) 的影响

Table 2 Effect of *P. acetatigenes* TB107 on the H<sub>2</sub> production by *A. elongatum* Z7

Media	Strain Z7	Coculture of Strain Z7 and Strain B107
(1) V + 0.5% P + 1% Y + 1% G	40.4	40.0
(2) V + 1% Y + 1% G	36.3	38.0
(3) V + 0.5% P + 1% G	9.20	33.3
(4) V + 1% G	3.88	4.05
(5) 0.5% P + 1% G	6.00	8.64
(6) V + 0.05% P + 1% G	8.60	24.0
(7) 1% Y + 1% G	31.3	32.9

V: Vitamin solution; P: Peptone; Y: Yeast extract; G: Glucose.

试验测定了处理(6)中葡萄糖的消耗和各产物的浓度,发现 *P. acetatigenes* TB107 的加入促进了菌株 Z7 对葡萄糖的利用率,从而提高了氢的产量(表 3)。但 TB107 并没有提高菌株 Z7 的 H<sub>2</sub> 转化率,原因是葡萄糖代谢生成了更多的乙醇。

表 3 菌株 TB107 与 *A. elongatum* Z7 共培养对葡萄糖代谢和产氢的影响

Table 3 Effects of co-cultivation of *P. acetatigenes* TB107 and *A. elongatum* Z7 on hydrogen production

Strain	Acetate production (mmol/L)	Ethanol production (mmol/L)	Glucose Consumption (mmol/L)	H <sub>2</sub> Production (mmol/L)
TB107	11	-	-	-
Z7	26.6	21.3	20.3	8.60
Z7 + TB107	38.2	74.3	55.5	24.0

从上述试验亦可推测, *A. elongatum* Z7 的产氢需要酵母粉, 因为在酵母粉缺乏但蛋白胨存在时, *P. acetatigenes* TB107 的刺激作用显著, 但这种刺激作用需要维生素, 因此推测 *P. acetatigenes* TB107 分解蛋白胨产生了类似酵母粉中除维生素以外的某些营养因子, 如氨基酸和肽等。但我们用 20 种单一氨基酸, 或氨基酸组合试图代替 TB107, 但都不能产生对 Z7 产氢的促进作用。因此 Z7 所需的具体生长促进因子还需进一步研究。该结果说明自然界中微生物物种间的协同代谢作用普遍存在。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Claassen PAM, van Lier JB, Lopez Contreras AM, et al. Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1999, **52**: 741 – 755.
- [ 2 ] Benemann J. Hydrogen biotechnology: progress and prospects. *Nature Biotech*, 1996, **14**: 1101 – 1103.
- [ 3 ] Nandi R, Sengupta S. Microbial production of hydrogen: an overview. *Crit Rev Microbiol*, 1998, **24**: 61 – 84.
- [ 4 ] Chen S, Dong X. *Acetanaerobacterium elongatum* gen. nov., sp. nov., from paper mill wastewater. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2004, **54**: 2257 – 2262.
- [ 5 ] Chen S, Dong X. *Proteiniphilum acetatigenes* gen. Nov., sp. Nov. from an UASB reactor treating brewery wastewater. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2005, **55**: 2257 – 2261.
- [ 6 ] Holdeman LV, Cato EP, Moore WEC. *Anaerobe Laboratory Manual*.

- 4<sup>th</sup> eds. Blacksburg, VA: Virginia Polytechnic Institute and State University, 1977.
- [ 7 ] Stams AJM, Grolle KCF, Frijters CTM, et al. Enrichment of thermophilic propionate-oxidizing bacteria in syntrophy with *Methanobacterium thermoautotrophicum* or *Methanobacterium thermoformicum*. *Appl Environ Microbiol*, 1992, **58**: 346 – 352.
- [ 8 ] Somogyi M. Notes on sugar determination. *J Biol Chem*, 1952, **195**: 19 – 23.
- [ 9 ] Oh YK, Seol EH, Lee EY, et al. Fermentative hydrogen production by a new chemoheterotrophic bacterium *Rhodospseudomonas palustris* P4. *Int J Hydrogen Energy*, 2002, **27**: 1373 – 1379.
- [ 10 ] Lasko DR, Zamboni N, Sauer U. Bacterial response to acetate challenge: a comparison of tolerance among species. *Appl Environ Biotechnol*, 2000, **54**: 243 – 247.
- [ 11 ] Van Niel EWJ, Claassen PAM, Stams AJM. Substrate and product inhibition of hydrogen production by the extreme thermophile, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. *Biotechnol Bioeng*, 2003, **81**: 255 – 262.
- [ 12 ] Wiegel J, Ljungdahl LG. *Thermoanaerobacter ethanolicus* gen. nov., spec. nov., a new extreme thermophilic, anaerobic bacterium. *Arch Microbiol*, 1981, **128**: 343 – 348.
- [ 13 ] Wang G, Wang DIC. Elucidation of growth inhibition and acetic acid production by *Clostridium thermoaceticum*. *Appl Environ Microbiol*, 1984, **47**: 294 – 298.
- [ 15 ] Bagley DM, Brodtkorb TS. Modeling microbial kinetics in an anaerobic sequencing batch reactor Model development and experimental validation. *Water Environ Res*, 1999, **71**: 1320 – 1332.
- [ 15 ] Hallenbeck PC, Benemann JR. Biological hydrogen production; fundamentals and limiting processes. *Int J Hydrogen Energy*, 2002, **27**: 1185 – 1193.

## Hydrogen production from glucose by *Acetanaerobacterium elongatum*

CHEN Shuang-ya, NIU Li-li, DONG Xiu-zhu\*

(State Key Laboratory of Microbial Resources, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

**Abstract**: Studying the possible factors affecting hydrogen production from glucose by *Acetanaerobacterium elongatum*, an acetate-ethanol fermenting anaerobe isolated from sludge of wastewater of a papermill. The results revealed that the maximum hydrogen production could be achieved in PYG liquid at 37°C and initial pH 8.0. The strain produced more hydrogen from glucose and arabinose, with the hydrogen yields of 1.55 mol H<sub>2</sub>/mol glucose and 1.50 mol H<sub>2</sub>/mol arabinose, respectively. pH and hydrogen partial pressure were the most severe inhibitors in hydrogen production from glucose, by controlling the broth at neutral pH during the fermentation period could increase hydrogen yield twice, concomitantly glucose consumption for 2.8 times. Hydrogen was another inhibitor for fermentative H<sub>2</sub> production, and removing hydrogen by cultivating *Acetanaerobacterium elongatum* Z7 with a H<sub>2</sub>-trophic methanogen resulted in higher deduced H<sub>2</sub> production for about 4 times. Yeast extract stimulated H<sub>2</sub> production by strains Z7. Coculturing *A. elongatum* Z7 and *P. acetatigenes* TB107, a proteino-trophic bacterium, increased the conversion of the glucose and thereby increased the H<sub>2</sub> production on peptone. Moreover, acetate when at higher concentration (> 60 mmol/L) in the medium inhibited the hydrogen production by strain Z7.

**Keywords**: Hydrogen producing bacterium; *Acetanaerobacterium elongatum*; Hydrogen producing characteristics