



城市水资源与水环境国家重点实验室优秀成果

发酵法生物制氢原理与技术

任南琪 李建政 著



科学出版社

城市水资源与水环境国家重点实验室优秀成果

发酵法生物制氢原理与技术

任南琪 李建政 著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书以发酵法生物制氢理论研究和技术创新为主线,系统总结了任南琪教授及其团队 30 余年来在发酵法生物制氢领域取得的理论与技术成果。在阐述生物制氢技术基本理论和研究现状基础上,重点介绍了发酵产氢菌种资源开发,发酵产氢细菌的生理生态学和分子生物学机制,发酵产氢微生物的生态学以及群落演替的定向调控策略,代表性发酵制氢设备 CSTR 的研制、调控运行、化学与生物强化技术,以及在此基础上开展的中试研究和规模化生产试验等成果,最后分析了技术发展面临的瓶颈和关键科学问题,并介绍了问题解决的思路和探索性研究成果。

本书可供资源与环境、环境科学与工程、资源管理与开发以及微生物等专业的科技工作者、研究生和管理者等参考。

图书在版编目(CIP)数据

发酵法生物制氢原理与技术/任南琪,李建政著. —北京:科学出版社, 2017.10

(城市水资源与水环境国家重点实验室优秀成果)

ISBN 978-7-03-054881-8

I. ①发… II. ①任… ②李… III. ①发酵工程—应用—制氢
IV. ①TE624.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 256487 号

责任编辑:朱丽 杨新政 / 责任校对:韩杨
责任印制:肖兴 / 封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京通州皇家印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2017 年 10 月第 一 版 开本: 720×1000 1/16

2017 年 10 月第一次印刷 印张: 26 3/4 插页: 1

字数: 520 000

定价: 160.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)



《城市水资源与水环境国家重点实验室优秀成果》

编辑委员会

顾 问：李圭白 张 杰

主 任：任南琪

副主任：马 放 冯玉杰 陈忠林

委 员（按姓氏汉语拼音顺序排列）：

崔福义 韩洪军 李一凡 马 军

南 军 祁佩时 汤 洁 田 禹

王 鹏 尤 宏

上善若水，天道酬勤

——《城市水资源与水环境国家重点实验室优秀成果》丛书序

随着我国城市化进程的加快，尤其是当前我国的社会经济进入快速发展轨道，我国面临着资源需求增加、能耗水平高、水资源缺乏以及水生态环境改善缓慢等问题，城市水环境存在着巨大的、难以预测的风险，严重制约着城市化进程的发展及和谐社会的建设，也严重影响着我国居民用水安全及健康。城市水系统相关理论和保障技术也越来越受到高度重视，是我国经济社会可持续发展的重要方面和保障之一。

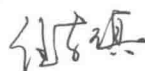
哈尔滨工业大学环境科学与工程学科和市政学科的发展最早可以追溯到 20 世纪 50 年代建立的卫生工程专业，在半个多世纪的发展过程中，该方向一直处于学科发展的前沿，为我国在该领域的发展做出了重要贡献，并为国家培养了大批优秀人才。进入新世纪，我国环境与生态问题面临着前所未有的挑战，经济发展和生态环境保护之间的矛盾与冲突也越来越大，全球环境问题以及由此带来的一些经济摩擦也对我国环境生态保护及经济发展提出了新的要求，传统的污染治理模式亟需改革与突破，以适应循环经济、低碳、可持续发展等国际化发展主题。在周定、李圭白、王宝贞、张杰等老一代专家的指导下，在新一代中青年学者共同努力下，近十年来哈尔滨工业大学相关学科发展迅速，科学研究水平取得了重要进展。于 2007 年开始建设的城市水资源与水环境国家重点实验室正是在这一背景下发展起来的一个新的重要的国家级研究平台。

本实验室紧密结合国家战略需求和经济社会发展需要，围绕城市水系统中的关键科学与技术问题，以“格物穷理，知行合一，海纳百川”的实验室文化为基础，在应用基础理论研究方面取得了一批重要研究成果，为我国污染控制与节能减排做出了重要贡献。为总结实验室在过去十几年取得的研究成果，实验室整理出版了这套《城市水资源与水环境国家重点实验室优秀成果》丛书，丛书从多尺度阐述了可持续发展的城市水资源与水环境理论与技术。丛书汇集了城市水资源与水环境国家重点实验室在城市水生态安全、城市水水质保障、城市水健康循环、多元生物质能源化与资源化、城市水环境系统节能及优化理论与技术等方面的研究成果。丛书系统总结了实验室人员在环境化学、环境生物学等理论方面的一些重要研究进展和新的发现，以及实验室研究人员在水与

废水处理及保障技术方面的成果、工程实践，还涵盖了实验室近年来在新兴污染物检测与去除、环境风险评价与预警等方面的研究进展与实用技术。

本套丛书在策划和出版过程中，得到了实验室许多前辈的指导和帮助，以及实验室成员的大力支持，也得到了科学出版社等出版机构的大力支持，在此一并表示感谢。

“半世纪风雨兼程，六十载春花秋实”。本套丛书的出版，既是对以往实验室成果的总结，也是对未来实验室发展的鞭策。实验室将秉承“以人为本，自主创新，重点跨越，引领未来”的方针，继续为我国城市水系统可持续发展做出应有的贡献。



2011年10月

序

生物制氢是可从自然界获取氢气的重要途径之一，众多国家都将之作为保障国家能源安全的战略技术大力研发。生物制氢技术在全世界虽然已历经半个多世纪的研究，但至今未能实现产业化。任南琪教授及其团队，自 20 世纪 90 年代初提出利用发酵法生物制氢技术处理有机废水以来，历经近 30 年的持续努力，在发酵生物制氢理论和关键技术研究方面不断取得突破，前后完成了世界上首例采用发酵法生物制氢技术处理有机废水的中试研究和工程示范，率先将发酵法生物制氢技术推进到规模化生产水平。

本人有幸在 1994 年评阅了由任南琪完成的我国第一篇以生物制氢为主题的博士学位论文，其后还评阅过由李建政完成的发酵法生物制氢技术处理有机废水中试研究的博士学位论文，也曾到他们的发酵法生物制氢示范工程基地参观，该团队的创新精神和丰硕成果给我留下了深刻印象。

该书是任南琪团队对几十年研究成果的汇集和整理，对发酵法生物产氢理论进行了系统介绍，书中还有大量技术研发及工程示范的成果，这些对从事本领域研究的科研人员具有极重要的参考价值。

Handwritten signature in black ink, consisting of two characters: '钱' (Qian) and '易' (Yi).

2017 年 10 月 18 日

前 言

自 20 世纪 70 年代首次爆发能源危机以来,世界能源基础——化石资源(石油、煤炭、天然气)迅速枯竭,以及开采和使用过程引起日益严峻的环境问题,促生了后续清洁能源技术的研发与应用。为提高国家的能源安全保障力,维持社会经济的可持续发展,改善生存环境,众多国家,尤其是发达国家对清洁可再生能源研发力度的支持越来越大,谋求在这一具有战略意义的前沿领域占据技术制高点,为潜在市场的开发与拓展提供技术支撑。氢气被誉为“绿色能源”,通过生物制氢可实现氢气的循环再生。对生物制氢技术的研究,虽然已历经半个多世纪,但至今仍未达到产业化水平。我国的生物制氢技术研究虽然起步较晚,但在发酵法生物制氢理论与技术研发方面已处于国际先进行列。课题组历经 30 多年的持续努力,在发酵法生物制氢理论研究方面不断取得突破,支撑了技术的创新发展,在世界上率先完成了有机废水发酵法生物制氢技术中试研究,并成功进行了生产性试验,将该技术推进到了规模化生产水平。

尽管发酵法生物制氢在世界范围内得到了持续而广泛的研究,但仍未建立相对完善的发酵产氢理论体系,造成了技术创新的乏力。课题组借助学科交叉优势,不断加深理论探讨力度,在发酵产氢菌种资源以及产氢的生理生态机理、反应动力学、流体力学、发酵系统的调控等方面开展了广泛而深入的研究,夯实了发酵法生物制氢的理论基础,持续推动着发酵法生物制氢技术的进步,不断向产业化水平迈进。本专著系统总结了课题组几十年来的主要成果,展示了发酵法制氢理论与技术的创新发展历程,可为生物制氢科研人员提供第一手参考资料,希望能引导更多的青年人投身于这一技术的研发,为推动我国生物制氢技术的发展和产业化进程做出一份贡献。

本书共 6 章。第 1 章为概述,主要介绍生物制氢技术的发展历程、基本原理和研究现状;第 2 章在介绍发酵产氢菌种资源开发进展的基础上,重点阐述暗发酵产氢细菌的生物化学机制,从发酵产氢微生物的胞内平衡体系、细菌产氢发酵的生物化学机理,以及哈尔滨产乙醇杆菌氢化酶的克隆表达、发酵产氢代谢关键酶基因的表达与调控等方面介绍发酵制氢机制研究的新成果;第 3 章从生态因子、种群生态学和群落生态学方面,重点介绍发酵产氢微生物的主要影响因子及其作用的一般规律、菌群的生长模式、种间竞争、群落演替,以及在限制因子主导下的群落演替调控策略;第 4 章在介绍典型的连续流发酵制氢工艺与设备基础上,重点介绍以活性污泥为基础的 CSTR 发酵工艺的设备研制、调控运行,以及化学

与生物强化技术；第5章重点介绍发酵法生物制氢中试研究以及规模化生产试验的成果，并从能值和综合效率方面对技术进行评估；第6章为发展与展望，重点介绍了发酵法生物制氢技术发展面临的技术瓶颈问题和需要解决的科学问题，以及解决这些关键问题的思路和可行性。

本书由中国工程院院士任南琪教授和哈尔滨工业大学李建政教授联合主笔。王爱杰博士（第1、6章）、丁杰博士（第2、3、4章）、刘冰峰博士（第2、3、6章）、邢德峰博士（第3章）、郭婉茜博士和周雪飞博士（第4章）分别参加了各具体章节的初稿撰写工作，最后由李建政博士负责全书的统稿工作。本书还获得了中国科学院科学出版基金的资助，谨此深表感谢。

本书是国内第一部系统介绍发酵法生物制氢理论、技术研发及示范的专著，其突出特点是紧密结合课题组的最新研究成果，基于实验事实和论证分析，对发酵法生物产氢理论与创新技术进行系统介绍。无论是理论研究还是技术研发，与微生物资源、微生物生态学、分子生物学和废水生物处理技术与设备都有非常紧密的联系，对这些学科或研究方向的研究也具有良好的借鉴意义，可供资源与环境、环境科学与工程、资源管理与开发以及微生物等专业的科技工作者、研究生和管理者等参阅。由于技术发展的日新月异，以及作者水平有限，疏漏、错误和不足之处在所难免，如不吝赐教，不胜感激。

像其他书一样，本书的出版也直接或间接地得到许多人的帮助。第一，我们要感谢恩师王宝贞教授，是他的睿智和高瞻远瞩为我们确定了生物制氢的研究方向；第二，我们要感谢中国工程院院士钱易教授，她始终关注着课题组的研究进展，对本书创作给予了莫大关怀和支持；第三，我们要感谢课题组的历届研究生们，他们在生物制氢方向的研究积累，是本书得以成稿出版的基础；第四，真诚感谢所有直接参与本书出版的工作人员，他们的帮助使本书最终得以顺利出版；第五，感谢城市水资源与水环境国家重点实验室（哈尔滨工业大学）对本书出版的大力支持，感谢中国科学院科学出版基金的资助。本书出版之际，向所有给予我们支持、关心和帮助的长者、朋友、同事和研究生们表达最衷心的感谢。

哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室

任南琪，李建政

2017年8月7日于哈尔滨



目 录

丛书序

序

前言

第1章 概述	1
1.1 生物制氢技术的发展历程	1
1.1.1 产生背景	1
1.1.2 生物制氢的内涵和方法	2
1.2 生物制氢技术原理	4
1.2.1 光解水制氢	4
1.2.2 光发酵制氢	5
1.2.3 暗发酵制氢	6
1.3 发酵法生物制氢技术的发展现状	7
1.3.1 技术优势	7
1.3.2 研究进展	8
参考文献	13
第2章 生物化学机制	20
2.1 发酵产氢微生物及其生理特性	20
2.1.1 光发酵产氢微生物	20
2.1.2 暗发酵产氢微生物	26
2.1.3 产乙醇杆菌属微生物	28
2.2 发酵产氢系统的平衡体系	34
2.2.1 氧化还原电位	34
2.2.2 有机酸的电离平衡	35
2.2.3 细胞内碳酸氢盐缓冲系统	37
2.3 细菌发酵产氢代谢途径	40
2.3.1 发酵类型的形成机制	40
2.3.2 发酵途径	43
2.3.3 产氢机制	52
2.4 发酵产氢酶基因的克隆与表达	59

2.4.1	氢化酶	60
2.4.2	氢化酶基因的克隆与表达	61
2.4.3	乙酸激酶基因的克隆与表达	68
2.4.4	乙醇脱氢酶及乙醛乙醇脱氢酶基因的克隆与表达	74
2.4.5	L-乳酸脱氢酶基因的克隆与表达及敲除载体构建	88
2.5	产氢代谢关键酶基因表达的生理调控	97
2.5.1	亚铁离子的调控作用	97
2.5.2	镁离子的调控作用	101
2.5.3	L-半胱氨酸的调控作用	105
	参考文献	108
第3章	生理生态学	117
3.1	生态因子及作用	117
3.1.1	光发酵产氢细菌	117
3.1.2	暗发酵产氢细菌	125
3.1.3	生态因子的综合作用	159
3.2	种群生态学	169
3.2.1	产氢微生物的增长模式	169
3.2.2	混合菌群发酵系统的种群多样性	177
3.2.3	种间关系	178
3.3	群落生态学	188
3.3.1	微生物群落与群落演替	188
3.3.2	定向演替与限制因子	195
3.3.3	pH 主导的群落演替	196
3.3.4	ORP 主导的群落演替	199
3.3.5	pH 和 ORP 协同的群落演替	201
3.4	顶极群落的产氢性能与稳定性	204
3.4.1	产氢性能	204
3.4.2	pH 影响下的运行稳定性	209
3.4.3	容积负荷影响下的稳定性	212
	参考文献	217
第4章	发酵法生物制氢工艺及过程调控	222
4.1	连续流发酵制氢工艺	222
4.1.1	连续流搅拌槽式反应器	223

4.1.2 膨胀颗粒污泥床反应器	225
4.1.3 厌氧折流板反应器	226
4.2 CSTR 制氢反应器的放大	229
4.2.1 流场数值模拟	229
4.2.2 放大准则	252
4.2.3 反应器放大	253
4.3 接种污泥的预处理	255
4.3.1 好氧活性污泥的预处理	255
4.3.2 厌氧颗粒污泥的预处理	262
4.3.3 污泥预处理对 ACR 系统产氢性能的影响	268
4.4 反应器启动的污泥负荷调控	273
4.4.1 首次启动	274
4.4.2 降低负荷启动	276
4.4.3 分析与讨论	278
4.5 容积负荷的过程调控	281
4.5.1 HRT 调控	281
4.5.2 HRT 与 COD 浓度的联合调控	286
4.5.3 过酸状态的恢复调控	288
4.6 发酵产氢系统的化学强化	292
4.6.1 亚铁离子	292
4.6.2 半胱氨酸	298
4.7 发酵产氢系统的生物强化	302
4.7.1 可行性试验	303
4.7.2 CSTR 发酵制氢系统的生物强化	308
参考文献	312
第 5 章 发酵法生物制氢中试研究与示范工程	320
5.1 中试研究	321
5.1.1 装置及运行调控	321
5.1.2 启动与运行	323
5.1.3 发酵产氢特征	326
5.2 有机废水发酵法生物制氢示范工程	328
5.2.1 工程概况	329
5.2.2 工艺流程及运行控制	329

5.2.3 CSTR 的启动	333
5.2.4 CSTR 的常规运行	335
5.2.5 CSTR 的生物强化	337
5.2.6 成本分析	339
5.3 技术综合效率评价	342
5.3.1 评价方法	342
5.3.2 接种污泥预处理	345
5.3.3 反应器	348
5.3.4 发酵物料	353
5.4 示范工程综合效率评价	359
5.4.1 基本数据	359
5.4.2 能值计算	360
5.4.3 综合效率计算与评价	360
参考文献	363
第 6 章 发展与展望	369
6.1 关键问题	369
6.2 联合工艺技术	372
6.2.1 暗发酵-光发酵联合工艺	372
6.2.2 暗发酵-微生物电化学系统联合工艺	376
6.2.3 氢气-甲烷联产工艺	386
6.3 展望	389
参考文献	391
附录 缩略语(英汉对照)	399
术语索引	404
微生物学名索引	408
彩图	

第 1 章 概 述

目前，世界能源结构仍然是以石油、煤炭和天然气等化石能源为基础。化石能源的可开采储量是有限的，且在其开采、运输和使用过程中，还产生了严重的环境问题。能源短缺和环境污染问题，是人类可持续发展必须解决的重大问题，开发绿色、可再生新型能源，改变以化石能源为主体的能源结构是必由之路。氢能具有清洁、高效、可再生的特点，是一种极具发展潜力的化石燃料替代能源形式。与传统的热化学和电化学制氢技术相比，生物制氢技术具有能耗低、污染少等优势，受到人们的广泛关注。为对发酵法生物制氢技术有一个基本的认识，本章主要介绍该技术的发展历程、基本原理及研究现状。

1.1 生物制氢技术的发展历程

1.1.1 产生背景

由于不可再生的化石燃料的大量开发与利用，带来了严重的能源危机和环境污染，使得以氢气 (H_2) 作为燃料具有重要的现实意义。早在 18 世纪，有关藻类和微生物产氢的研究已经开始，但是直到 20 世纪 70 年代世界性的能源危机爆发，生物制氢的实用性及可行性才得到高度的重视，至 80 年代能源危机结束前，人们已对各种氢源及其应用技术进行了大量开发研究。石油价格回落以后， H_2 及其他替代能源技术的研究热潮曾一度回落。到了 90 年代，人们对由以化石燃料为基础的能源生产所带来的环境问题有了更为深入的认识，清醒地认识到由化石燃料造成的大气污染，其危害不仅仅是区域性的，而且对全球气候的变化也会产生显著影响。此时，世界再次把目光“聚焦”在生物制氢技术上，成为能源领域持续关注热点课题 (Benemann, 1996)。

氢能被誉为“绿色能源”，具有清洁环保、能量密度高、来源广泛等诸多优点 (Bockris, 2002; Lee D H & Lee D J, 2008; Das & Veziroglu, 2008; Das, 2009):

- ① H_2 在通过燃烧或燃料电池等方式转化为能量的过程中，仅有 H_2O 生成，无污染物和温室气体二氧化碳 (CO_2) 的排放。
- ② H_2 的单位质量含能高达 142 kJ/g，其能量密度约为汽油的 2.68 倍、石油的 3 倍、乙醇的 3.9 倍、焦炭的 4.5 倍，是自然界存在的单位质量含能最高的燃料物质。
- ③ H_2 的来源非常广泛，其主要储存

库是水，地球上水的储量约为 21018 万 t。 H_2 可以通过石油、煤炭和天然气等化石燃料制取，也可以通过太阳能、风能、生物质能、潮汐能、地热能等可再生能源或者二次能源来制取。④氢可以以气态、液态或者固态金属氢化物形式存在，可以适应各种应用环境及储运的要求。⑤ H_2 适用于管道运输，可共用天然气输送系统，而且输送成本低、损失小，优于输电。⑥氢能应用范围广泛。 H_2 的密度小，在沸点时的液体密度只有 0.07 g/mL，用于航天、航空等高速运输工具，可以使载重与自重比成倍地提升。

1970 年，美国通用汽车公司的技术研究中心就提出了“氢经济”（hydrogen economics）的概念，1976 年美国斯坦福研究院开展了氢经济的可行性研究。国际能源署（International Energy Agency, IEA）于 1977 年启动了“氢能生产及利用协定”，其目标是在 21 世纪开创“氢经济新时代”。世界各国也纷纷将氢能的发展利用列入本国能源发展规划。于是，有关氢能生产技术的研发在世界各地迅速展开。中国是世界上生产氢气量最多的国家之一，2008 年，全世界最大的煤制氢工厂神华集团建成，每小时可以生产氢气 625 t（毛宗强，2009）。我国的氢能，有 97% 都来自化石能源，在产出氢气的同时一般会伴随环境污染问题。研发清洁高效的氢气生产技术，是实现氢能可持续发展的必由之路。

目前的商业氢气主要以天然气、石油和煤炭为原料进行生产，产量分别占到商业化氢气总量的 40%、30% 和 18% 左右，另有约 4% 来自于水电解（Suzuki, 1982; Nath & Das, 2003）。工业制取氢气的方法主要有甲烷裂化法、水煤气转化法、水电解法等，不仅能耗大，需要消耗大量化石能源和矿物质资源，生产过程排放的多种污染物所造成的环境问题也很严重（Das & Veziroglu, 2008; Lin et al., 2008; Das, 2009）。对于微生物产氢现象的认识，由来已久。但直至 20 世纪 70 年代第一次世界能源危机爆发后，生物制氢作为一种实用能源生产技术才受到广泛关注和研究（张明，史家梁，1999）。在能源危机和环境污染的双重压力下，生物制氢技术因其低能耗、可再生、无污染等突出优点而受到热捧，尤其是其可利用各种廉价且储量丰富的生物质为原料的特点，顺应了可持续发展的战略需求，相关研究不断深入，发展迅速（Das, 2009; Ren et al., 2009a, 2009b）。

1.1.2 生物制氢的内涵和方法

如图 1-1 所示，利用可再生资源生产 H_2 有多种途径。其中，生物制氢（biohydrogen production）是对微生物在生理代谢过程中产生分子氢过程的统称，依照微生物及其代谢机制可分为光解水制氢（photocatalytic hydrogen production from water）、光发酵制氢（photo-fermentative hydrogen production）和暗发酵制氢（dark-fermentative hydrogen production）（李建政，任南琪，2001；任南琪等，

2010; Das & Nejat, 2001)。

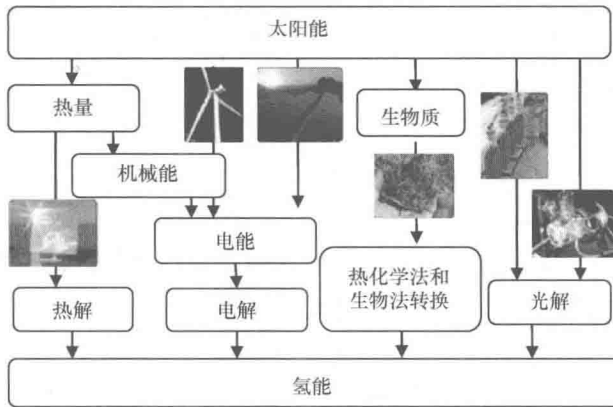


图 1-1 可再生氢气的制取模式

光解水制氢主要是指绿藻和蓝细菌，在厌氧光照条件下，利用自身特有的产氢酶系，将水裂解为 H_2 和 O_2 的过程，此过程没有 CO_2 的产生。其产氢机理和绿色植物光合作用机理相类似，但放氢机制却截然不同。这两类微生物的生长只需空气（ CO_2 和 N_2 分别作为碳源和氮源）、水（电子和质子）、简单的无机盐和光，就能直接光解水产生 H_2 ，将太阳能转化为氢能。绿藻在光照和厌氧条件下的产氢，由氢酶催化，而蓝细菌的产氢则是在固氮酶和氢酶的共同催化下完成。

光发酵制氢是在厌氧光照条件下，光发酵细菌利用小分子有机物、还原态无机硫化物等为供氢体，光驱动产氢，产氢过程没有 O_2 的释放，产氢效率高于光解水法。

暗发酵制氢是异养型厌氧细菌利用碳水化合物等有机物，通过厌氧发酵作用产生 H_2 。这一发酵过程无需光照，为区别于光发酵而被称为暗发酵。农业废料（秸秆、牲畜粪便等）、食品工业废液、发酵工业废水、造纸工业废水等均可作为暗发酵制氢的原料，在更加经济地获取洁净能源 H_2 的同时，对工农业废弃物的污染也起到了防治作用。

为提高基质的氢气产率，利用厌氧暗发酵产氢细菌和光发酵产氢细菌的优势和互补协同作用，将二者联合起来组成的暗发酵-光发酵耦合生物制氢技术（任南琪等，2010），以及微生物电解池（microbial electrolysis cell, MEC）产氢技术等新兴制氢技术得到开发和研究，丰富了生物制氢的内涵（Lu et al., 2009）。本书将重点介绍笔者研究团队（后叙简称为课题组）在发酵法生物制氢技术方面的研究成果。

1.2 生物制氢技术原理

1.2.1 光解水制氢

一些绿藻 (green alga) 和蓝细菌 (cyanobacteria) 能够通过光解水作用产生 H_2 。这些绿藻含有 2 个位于类囊体膜上的光合系统 I (PS I) 和光合系统 II (PS II), PS I 的作用主要是生成还原剂以还原 CO_2 , PS II 的功能是裂解水并释放 O_2 。绿藻类囊体膜上的捕光色素所吸收的光能被迅速传递到 PS II (P680) 的反应中心, 将水分解为 H^+ 和 O_2 , 并释放电子。 O_2 透过叶绿体膜进入线粒体, 参与呼吸作用, 固定 CO_2 。 H^+ 被 ATP 合成酶泵入基质, 以确保膜内外的质子梯度与平衡。电子按氧化还原电位依次升高的顺序, 由类囊体膜上的质体醌、细胞色素等一系列传递体组成的电子传递链, 传递至光系统 PS I (P700), 在光照条件下获得能级跃迁后, 经铁氧还蛋白 (ferredoxin, Fd) 最终传递给 Fe-Fe 氢酶的活性中心 (HC) (Florin et al., 2001)。在氢酶的催化下, 基质中的 H^+ 和从膜上传来的电子结合生成 H_2 , 但产氢过程仅能维持几秒至几分钟 (Gaffron, 1936; Gaffron & Rubin, 1942)。

O_2 对氢酶活性有强烈抑制作用, 氧分压达到 2% 时氢酶就会失去活性, 释氢停止 (潘丽霞等, 2007; Ghirardi et al., 1997)。通过一定手段来增加氢酶对氧气的耐受能力, 可延长产氢时间, 提高 H_2 产量。2000 年, Melis 等通过“剥夺”莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 培养物中的硫, 使该藻的 CO_2 固定、放氧过程和碳消耗、产氢过程得以分离, 在光照条件下通过光呼吸消耗 O_2 , 而 O_2 的消除则保证了氢酶催化的产氢反应顺利进行 (Zhang et al., 2002)。根据这种合成代谢与分解代谢相分离的技术思想, 分步培养莱茵衣藻, 产氢时间可延长到 70 h, 大幅提高了产氢效能 (Anastasios et al., 2000; Anastasios & Thomas, 2001)。Seribert 等 (2002) 根据氢酶的可逆催化特性, 通过化学诱变, 成功筛选到 2 株耐氧性高出野生藻株 10 倍左右的诱变藻株, 解决了 H_2 和 O_2 不可兼容的难题, 避免 O_2 对氢酶的抑制, 是绿藻产氢领域的重大突破。值得注意的是, 绿藻在光照条件下通过光合作用积累的有机物, 在黑暗条件下也可通过氢酶催化发酵产氢, 但产氢效率较低 (Zhu et al., 1986)。

蓝细菌亦称蓝藻 (blue alga) 或蓝绿藻 (blue-green alga), 是另一类可光解水产氢的微生物, 如鱼腥藻 (*Anabaena*)。其光解水产氢过程需要固氮酶和氢酶的共同催化, 其中固氮酶催化产氢, 而氢酶则吸收产生的 H_2 。有异形胞的蓝细菌主要通过固氮产氢 (才金玲等, 2007)。这些蓝细菌的营养细胞含有 PS I 和 PS II, 可进行 CO_2 的还原和 H_2O 的光解, 释放 O_2 并产生还原性物质。产生的还原性物