

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号: X200426002

UDC

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

产纤维素酶菌株青霉 T24-2 降解甘蔗渣及  
糖化液发酵产氢的研究

Study on the Bagasse Degradation by Cellulase Producing Strain

*Penicillium* sp. T24-2 and Hydrogen Production using

Saccharification Mixture

孟庆祥

指导教师姓名: 龙敏南 教授

专业名称: 植 物 学

论文提交日期: 2010 年 月 日

论文答辩时间: 2010 年 月 日

学位授予日期:

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2010 年 6 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（）课题（组）的研究成果，获得（）课题（组）经费或实验室的资助，在（）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。）

声明人（签名）：

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

## 目 录

中文摘要.....	1
英文摘要.....	2
第 1 章 前言.....	33
1.1 能源的发展现状和发展前景.....	3
1.1.1 能源的发展现状.....	3
1.1.2 可再生能源替代石化能源.....	4
1.1.3 能源的发展前景.....	5
1.2 纤维素.....	9
1.2.1 纤维素的结构.....	9
1.2.2 纤维素的预处理.....	10
1.3 纤维素酶.....	13
1.3.1 纤维素酶的来源.....	13
1.3.2 纤维素酶的组成.....	15
1.3.3 纤维素酶的作用机理.....	16
1.3.4 纤维素酶的活力测定.....	17
1.3.5 纤维素酶的生产.....	19
1.3.6 纤维素酶的前景.....	19
1.4 纤维素酶的固态发酵和糖化条件.....	20
1.4.1 原料的预处理.....	21
1.4.2 种子制备优化.....	21
1.4.3 培养基优化.....	21
1.4.4 产酶条件优化.....	22
1.4.5 发酵方法的选择.....	23
1.4.6 糖化条件优化.....	23
1.4.7 发酵工艺的选择.....	23
1.5 混合菌发酵.....	23

1.5.1 微生物混菌发酵.....	23
1.5.2 混菌发酵的微生态原理.....	25
1.5.3 混菌发酵工艺.....	27
1.5.4 混菌发酵在资源和能源方面的应用.....	29
1.5.5 混菌发酵的前景.....	30
<b>1.6 本论文的研究内容及意义 .....</b>	<b>31</b>
<b>第 2 章 青霉 T24-2 降解甘蔗渣糖化条件优化.....</b>	<b>33</b>
<b>2.1 材料和方法.....</b>	<b>33</b>
2.1.1 实验材料.....	34
2.1.2 主要仪器.....	34
2.1.3 实验方法.....	34
<b>2.2 结果和分析.....</b>	<b>36</b>
2.2.1 青霉 T24-2 降解甘蔗渣的糖化条件分析.....	36
2.2.2 青霉 T24-2 糖化条件优化.....	39
<b>2.3 结论和讨论.....</b>	<b>43</b>
<b>第 3 章 青霉 T24-2 和灰绿曲霉 EU7-22 降解甘蔗渣产糖的研究... 45</b>	<b>45</b>
<b>3.1 材料和方法.....</b>	<b>45</b>
3.1.1 实验材料.....	45
3.1.2 主要仪器.....	45
3.1.3 实验方法.....	45
<b>3.2 结果和分析.....</b>	<b>46</b>
3.2.1 青霉 T24-2 和灰绿曲霉 EU7-22 的混合培养特性.....	46
3.2.2 青霉和灰绿曲霉菌悬液混合培养对糖化的影响.....	47
3.2.3 培养时间对青霉和灰绿曲霉产酶的影响.....	47
3.2.4 糖化时间对青霉和灰绿曲霉糖化的影响.....	49
3.2.5 青霉曲酶和灰绿曲霉曲酶混合糖化.....	49
<b>3.3 结论和讨论.....</b>	<b>50</b>
<b>第 4 章 青霉 T24-2 和克雷伯氏菌 HP1 的发酵产氢.....</b>	<b>52</b>

4.1 材料和方法.....	52
4.1.1 实验材料.....	52
4.1.2 主要仪器.....	52
4.1.3 实验方法.....	52
4.2 结果和分析.....	53
4.3 结论和讨论.....	54
第 5 章 结论和展望.....	55
参考文献.....	58
致谢.....	65

## Catalogue

<b>Abstract</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	<b>3</b>
<b>1.1 Present stuation and prospects of energy</b> .....	<b>3</b>
1.1.1 Present stuation of energy.....	13
1.3.2 Renewable energy instead of fossil energy.....	4
1.3.3 Prospects of energy.....	5
<b>1.2 Cellulose</b> .....	<b>9</b>
1.2.1 The structure of cellulose.....	9
1.2.2 Pretreatment of cellulose.....	10
<b>1.3 Cellulase</b> .....	<b>13</b>
1.3.1 Soure of cellulase.....	13
1.3.2 Classification of cellulase.....	15
1.3.3 Mechanism of cellulase.....	16
1.3.4 Mensuration to activity of cellulase.....	17
1.3.5 Production of cellulase.....	19
1.3.6 Prospects of cellulase.....	19
<b>1.4 The solid state fermentation and saccharification conditions</b> .....	<b>20</b>
1.4.1 Pretreatment of materials.....	21
1.4.2 Optimization of preparation of germs.....	21
1.4.3 Optimization of medium.....	21
1.4.4 Optimization of cellulase-producing conditions.....	22
1.4.5 Choice of fermentation conditions.....	23
1.4.6 Optimization of saccharification conditions.....	23
1.4.7 Choice of fermentation technology.....	23
<b>1.5 Mixed fermentation</b> .....	<b>23</b>
1.5.1 Mixed fermentation of microorganism.....	23
1.5.2 Microbial principles of mixed fermentation.....	25

1.5.3 Technology of mixed fermentation.....	27
1.5.4 Application of mixed fermentation in resources and energy .....	29
1.5.5 The prospects of mixed fermentation .....	30
<b>1.6 Content and purpose of this research.....</b>	<b>30</b>
<b>Chapter 2 The optimal conditions of saccharification of bagasse</b>	
<b><i>Penicillium</i> sp. T24-2.....</b>	<b>33</b>
<b>2.1 Materials and methods .....</b>	<b>33</b>
2.1.1 Experiment materials .....	34
2.1.2 Main instruments.....	34
2.1.3 Experiment methods .....	34
<b>2.2 Results and analysis .....</b>	<b>36</b>
2.2.1 Analysis the conditions of solid-state fermentation .....	36
2.2.2 Optimize the conditions of solid-state fermentation.....	39
<b>2.3 Conclusion and discussion.....</b>	<b>43</b>
<b>Chapter 3 Study on Saccharification of Bagasse with <i>Penicillium</i></b>	
<b>sp.T24-2 and <i>Aspergillus glaucus</i> EU7-22 .....</b>	<b>45</b>
<b>3.1 Materials and methods .....</b>	<b>45</b>
3.1.1 Experiment materials .....	45
3.1.2 Main instruments.....	45
3.1.3 Experiment methods .....	45
<b>3.2 Results and analysis .....</b>	<b>46</b>
3.2.1 Characteristics of mixed culture .....	46
3.2.2 Effect of mixed suspension on saccharification.....	47
3.2.3 Effect of growth time on cellulase-producing.....	47
3.2.4 Effect of time on saccharification .....	49
3.2.5 Effect of mixed cellulase on saccharification .....	49
<b>3.3 Conclusion and discussion.....</b>	<b>50</b>

**Chapter 4 Degradation of Sugarcane bagasse by *Penicillium* sp.**

**T24-2 for Biohydrogen Production by *Klebsiella oxytoca* HP1...52**

<b>4.1 Materials and methods</b> .....	<b>52</b>
4.1.1 Experiment materials .....	52
4.1.2 Main instruments.....	52
4.1.3 Experiment methods .....	52
<b>4.2 Results and analysis</b> .....	<b>53</b>
<b>4.3 Conclusion and discussion</b> .....	<b>54</b>
<b>Chapter 5 Conclusion and prospect</b> .....	<b>55</b>
<b>Reference</b> .....	<b>58</b>
<b>Acknowledgements</b> .....	<b>65</b>

## 摘要

能源结构亟待从以石化能源为主的模式向以可再生能源为主的模式转变。纤维素物质是自然界中最丰富的可再生资源,为未来大规模制备生物燃料提供了丰富的原料。本研究对产纤维素酶菌株的产酶或糖化条件进行优化,以提高纤维素的分解和糖化效率,实现对纤维素生物质的资源化利用。选用了实验室筛选的两株产纤维素酶菌株,进行了单菌株与双菌株混合固态发酵产酶及糖化实验,并利用产氢菌对糖化液进行发酵制氢研究。

青霉 (*Penicillium sp.*) T24-2 能利用甘蔗渣进行固态发酵产纤维素酶。对青霉 T24-2 制曲的蔗麸比、曲酶糖化时间、加水比和曲料比等影响糖化效率的因素进行优化。确定了该菌株制曲的合适蔗麸比为 4:6; 曲酶糖化时的曲料比为 1:3, 加水比 1:3, 糖化 20 h, 该条件下的糖化率为 43.6%, 比未优化时的糖化率 32.4% 有较大的提高。

利用青霉 T24-2 与灰绿曲霉 (*Aspergillus glaucus*) EU7-22 混合菌悬液制备曲酶, 其糖化率仅为 18.5% (W/W), 大大低于两个菌株单独制备曲酶时的糖化率, 表明混合培养产酶不利于提高糖化率。其可能的原因是真菌与真菌混合培养时, 存在竞争性抑制作用。故可采取先单独制备曲酶, 然后再混合糖化来提高糖化率。

当以甘蔗渣为底物, 单独用青霉曲酶糖化 20 h 时, 糖化率为 31.4% (W/W), 单独用灰绿曲霉曲酶糖化 30 h 时, 糖化率为 34.1% (W/W)。两种曲酶以 1:1 比例进行混合糖化, 糖化 18 h 时, 糖化率可达 51.3% (W/W)。先将两菌株单独接种制备纤维素酶, 然后将其曲酶进行混合糖化, 因其纤维素酶酶系较齐全, 糖化率可大大提高, 并且糖化时间缩短。

以青霉 (*Penicillium sp.*) T24-2 和产氢克雷伯氏菌 (*Klebsiella oxytoca*) HP1 降解甘蔗渣发酵产氢, 1 g 甘蔗渣可产氢 41.0 mL。

关键词: 青霉; 灰绿曲霉; 产纤维素酶; 甘蔗渣; 糖化

## Abstract

The energy consumption of world will change from fossil fuel-based model to a renewable energy-based model. Cellulosic biomass is the most abundant renewable resource on the earth. To comprehensive utilization of cellulosic biomass, the cellulase production and saccharification of *Penicillium* sp. T24-2 and *Aspergillus glaucus* EU7-22 were studied in this research.

The cellulase production by solid state fermentation using *Penicillium* sp. T24-2 was studied in this paper. The suitable ratio of bagasse to bran for cellulase production was obtained as 4:6. The optimal saccharification conditions were achieved through orthogonal experiment as: starter material and bagasse (1:3), material and water(1:3), with a saccharification yield of 43.6%(w/w) after 20 h hydrolysis.

When use the cellulase produced by co-culture of *Penicillium* sp. T24-2 and *Aspergillus glaucus* EU7-22 for saccharification, the saccharification yield was only 18.5% (W/W), which was much lower than the saccharification using the cellulase produced by separated strain. This result showed that co-culture of both strain would inhibit the production of cellulase.

The saccharification yield after 20 h hydrolysis using the cellulase from *Penicillium* sp. T24-2 was 31.4%. The saccharification yield after 30 h using cellulase from *Aspergillus glaucus* EU7-22 was 34.1%. When the two cellulases mixed in a ratio 1:1, the saccharification yield reached 51.3% (w/w) after 18 h hydrolysis. This result suggested that constitute of mixed enzyme might be more conducive for saccharification.

When the bagasse was saccharified with cellulase produced by *Penicillium* sp. T24-2 and used for hydrogen production, a yield of 41.0 mL H<sub>2</sub>/g sugarcane bagasse was acquired when using *Klebsiella oxytoca* HP1 as the hydrogen producer.

Key words: *Penicillium* sp. T24-2; *Aspergillus glaucus* EU7-22; cellulase production; sugarcane bagasse; saccharification

## 第 1 章 前言

### 1.1 能源的发展现状和前景

众所周知,不可再生石化能源的使用带来了温室效应、水体污染等一系列环境问题。迫使世界范围内的能源结构亟待从以石化能源为主的模式向以可再生能源为主的模式转化。于是,可再生资源木质纤维素的利用受到世界各国的关注。如何有效地将纤维素水解为葡萄糖等可溶性发酵糖是纤维素转化为清洁燃料以及乙醇的关键,这对于解决人类目前所面临的能源短缺与环境污染等问题有重要意义。

#### 1.1.1 能源的发展现状

据专家预测,如果按照当前的利用水平,天然气可开采 50~60 年,石油将在 100 年后被耗尽,煤炭可开采 100 年<sup>[1]</sup>。1999 年,埃及宣布:本国的化石燃料资源在未来的 20 年内就会耗尽;2001 年,作为主要石油输出国的阿拉伯联合酋长国宣布:本国将在 2015 年无法满足石油的需求。中国做为世界上第二个能源需求大国,原油供求矛盾日益突出,从 1993 年以来,就从原来的石油出口国转变为石油进口国,而且石油的进口数量逐年上升。2006 年,进口需求占 45%,2009 年 51%的石油需要进口,到 2010 年,这一数字将会增长到 45%~55%,到 2020 年石油对外依存度将达到 60%以上<sup>[2]</sup>。

能源、材料、信息被称为近代工业的三大支柱。然而以煤、石油、天然气为代表的常规能源,虽然支持了 20 世纪工业的快速发展,但是近年来,随着全球能源消费的不断增长,石油价格的节节攀升,也给人类带来了一系列的问题。

一方面,长期过度使用石化能源带来了环境污染、气候变化、自然灾害、生态环境恶化等问题。大量的 CO<sub>2</sub>、SO<sub>2</sub>、NO<sub>x</sub> 气体以及其他污染物,导致了温室效应的产生和酸雨的形成,是造成环境恶化的直接原因。目前,我国 SO<sub>2</sub> 排放量居世界第一位,酸雨的覆盖面积已达国土总面积的 30%。我国二氧化碳排放量已位居世界第二,甲烷、氧化亚氮等温室气体的排放量也居世界前列。而且据预测,到 2025 年,我国的二氧化碳排放总量很可能超过美国,居世界第一位<sup>[3]</sup>。

现在全球平均气温在近百年内升高了 0.74 °C,特别是近 30 年来升温明显。全

球气候变暖将导致地球海平面变化, 温带北移, 引发一系列社会经济和政治外交问题。随着环境的破坏, 地球上的生物正在加速灭绝, Pounds等<sup>[4]</sup>在2004年1月出版的《自然》杂志称, 半个世纪后, 约有100 万个物种从地球上消失。石化燃料的污染, 生态环境的破坏也使人类的生存受到了威胁, 据环境学专家分析, 在我国每年因大气污染超过国家标准而死亡的人数就达15~20万。

另一方面, 由于石化燃料的不可再生性和有限性, 日益增长的能源需求带来了严重的能源危机。资源的有限和能源需求的增加导致石油价格不断上涨, 2008年7月达到149美元, 创下历史最高, 引发了一系列的经济问题。2008年的金融危机席卷全世界, 其爆发与人类长期使用石化能源不无关系<sup>[5]</sup>!

世界石化能源的储量有限, 将来必将耗尽。能源与粮食安全、气候变化、自然灾害、生态环境恶化、金融危机等问题, 使世界面临崩盘的危险。虽然各国正在从各个方面制定计划, 来减少石化能源带来的损失, 但是无法从源头上解决问题。因此能源结构亟待从以石化能源为主的模式向以可再生能源为主的模式转化, 金融危机已给传统工业造成了巨大的损失, 我们与其去救一个旧的污染的能源系统, 远不如去建设一个新的、清洁的、可持续发展的能源系统, 用新能源体系代替旧能源体系势在必行!

### 1.1.2 可再生能源替代石化能源

随着能源危机的加剧, 生物质能源的生产受到了世界各国的高度重视。美国巴西欧盟等国家和国际组织的发展经验表明, 以玉米甘蔗薯类甜高粱等为原料生产氢气和燃料酒精等能源物质, 对于建立持续发展的能源系统, 促进社会经济的发展 and 生态环境的改善都具有重大意义<sup>[6]</sup>。2000年我国也将纤维素发酵生产酒精引入国家发展计划, 国务院正式批准了在国内发展燃料酒精的试点。

我国新能源和可再生能源是指除常规石化能源、大中型水力发电及核裂变发电之外的太阳能、风能、生物质能、地热能、海洋能等一次能源以及氢能、燃料电池等二次能源。其中生物质能、氢能因其是储量丰富的清洁能源, 越来越受到人们的重视。

生物质能是太阳能以化学能形式贮存在生物中的一种能量形式, 它来源于植物的光合作用, 是可再生能源。我国生物质资源十分丰富, 资源总量不低于30亿吨干物质/年, 经专家测算的数据为: 如能利用我国生物质资源的一半, 就相

当于建设一个年产 5000 万吨的“绿色油田”；可节省能源进口外汇 150 亿美元；年产值将达万亿元。与此同时，还可减排 1.6 亿吨二氧化碳<sup>[7]</sup>。生物质作为能源，其含氮量和含硫量都比较低，灰分也很少，更为有优势的是因为其生长过程吸收 CO<sub>2</sub>，使得整个循环的 CO<sub>2</sub> 排放量几乎为零，可从源头上治理白色污染。因此世界各国都把高效利用生物质能列为能源利用中的重要课题。

燃料酒精就是指按照一定比例加入到汽油或柴油中的酒精，它可以提高汽油的辛烷值，使其燃烧完全，同时又减少了汽车废气中焦油、二氧化碳、氧化氮等物质的排放。现在燃料酒精的生产主要以糖类作物（巴西）和玉米（美国）作为原料，因受粮食资源的限制，原料成本高达总成本的 40%，难以长期满足能源需求，必须寻找丰富且廉价的原料来源<sup>[8]</sup>。而纤维素是自然界中最丰富的生物质资源，据统计木质纤维素原料占地球总生物量的 50%，利用纤维素制取燃料酒精就是变废为宝，不仅解决了生物液体燃料的原料来源和降低成本的问题，而且还可以缓解废弃物带来的环境污染压力，缓解能源供需不足带来的危机。

目前大部分生物质主要用于燃烧，由于其燃烧热值不高，无法适应现代的能源供应体系，而将生物质能转变为热值很高的氢能，不但能解决这个问题，还可以解决人类用能与环境污染的矛盾。氢能主要优点有<sup>[9,10]</sup>：（1）燃烧热值高：其能量释放过程为： $2\text{H}_2(\text{g})+\text{O}_2(\text{g})\rightarrow\text{H}_2\text{O}(\text{g})+483.20\text{ kJ}$  单位质量氢气可以获得的能量很大。（2）环保性：燃烧的产物是水，不产生任何有害物质，对环境无任何污染，而且水又是制氢的原料。（3）可储存性：适用管道输送，可以和天然气共用输送系统，将其用于太阳能（风能）——氢能系统，可以解决可再生能源时空分布不均的问题。（4）地域与资源的无限性：氢在宇宙中是最丰富的物质，在构成宇宙的物质中约占 75%。其可由各种一次能源制取，没有地域的限制。如果把水中的氢都提炼出来，约有  $1.4\times 10^{17}\text{t}$ ，所产生的热量是地球上化石燃料的 9000 倍！（5）高效性：燃料电池的发电效率最差也有 35%~45%（通常都高出很多），高过诸多内燃机（20%~30%）。（6）适用范围广：贮氢燃料电池既可用于汽车、飞机、宇宙飞船，又可用于其他场合供能。

### 1.1.3 能源的发展前景

发达国家发展可再生能源的主要目的在于：应对气候变化，减排温室气体；保护环境，减少大气污染；使能源来源多样化，保障能源安全；保持技术优势，

扩大出口。发展中国家发展可再生能源的主要目的则是：解决农村能源问题，扩大能源供应和缓解能源短缺。

法国宣布到 2010 年可再生能源的使用量将占一次能源使用量的 7%；泰国的目标是到 2011 年，可再生能源使用量达到 8%；荷兰宣布到 2020 年可再生能源使用量达到 10%<sup>[11]</sup>；中国的目标是到 2020 年可再生能源用量达到 16%（包括大型水力发电），到 2035~2040 年，这一比重将占到一次能源总量的 25%以上，2050 年将新能源和可再生能源在总的能源消费中的比例将提高 50%<sup>[7]</sup>。2050 年将从根本上改变我国能源的消费结构，减轻对石化能源的依赖，也将更有利于保护生态和环境。

在新能源和可再生能源的发展计划中，生物质能和氢能被提到很重要的位置。很多发达国家正大力发展生物燃料酒精的研究，即先把纤维素原料水解为葡萄糖（糖化），再发酵生产酒精。美国的“能源农场计划”，预估 2016 和 2017 年度生产酒精的玉米使用量将超过玉米总产量的 30%。巴西的“酒精能源计划”，计划南部和中西部地区的一些土地被改种甘蔗，到 2016 年生物燃料总生产量将从目前的 5200 万加仑增长到 9200 万加仑；此外还有日本的“阳光计划”、印度的“绿色能源工程”等<sup>[1]</sup>。据专家预测估计，到 2010 年，我国年生产生物燃油约为 600 万吨，其中生物燃料酒精 500 万吨，生物柴油 100 万吨；到 2020 年，生产生物燃油将达到 1900 万吨，其中生物燃料酒精 1000 万吨，生物柴油 900 万吨<sup>[7]</sup>。现在需要有更多有关利用植物纤维生产燃料酒精的技术研究，包括原料预处理的方法、适宜菌种的分离筛选、发酵条件的优化和工艺路线的摸索等等，从而促进燃料经济的可持续发展。

在氢能的研发方面，美国一直很重视，布什总统将氢能定位于石化燃料的主导替代能源。美国利用太阳能制氢，每年用于生物制氢技术研究的费用平均为几百万美元；日本每年在此研究领域的投资则是美国的 5 倍左右，由能源部主持的“太阳能计划”，从 1993 年到 2020 年共 28 年，其最终目标是建立一个世界范围的能源网络，实现对氢生产、运输和利用的一体化；北欧国家如冰岛、丹麦等已在筹划建立国家氢能系统；加拿大正在利用丰富的水力资源电解水制氢。

目前制氢有多种方法，既可通过化学方法对化合物进行重整、分解、光解、水解和电解等方式获得，也可通过生物制氢，即以碳水化合物为供氢体，利用产

氢微生物，如厌氧细菌或者光合细菌，进行发酵或者光合作用来制得氢气。生物制氢的原料较丰富，目前已有牛粪、豆制品废水、乳制品废水、酿酒废水、麦麸、酒糟、淀粉废水、精制糖废水、玉米秸秆等农业固体废弃物以及餐厨垃圾可以生成氢气，其中以葡萄糖、可再生的生物质（纤维素）为原料的研究居多，其生产过程不消耗石化燃料。

2000 年 9 月在德国慕尼黑举行的首届全球替代能源氢能大会上，与会代表强烈呼吁替代能源的重要性和紧迫性，使氢能成为 21 世纪的新能源。2004 年我国氢气产量已达 800 多万吨，成为仅次于美国的世界第二大氢气生产国。

生物制氢主要有以下 3 种方法：

(1) 发酵细菌产氢：即利用异养型的厌氧菌或固氮菌分解小分子的有机物制取氢。目前已发现的细菌包括专性厌氧菌和兼性厌氧菌。

(2) 光合生物产氢：即利用光合细菌或微藻将太阳能转化为氢气。目前已发现的能进行光合产氢的微生物有光合细菌和微藻两类。

(3) 发酵细菌与光合生物的混合产氢：即同时利用光合细菌与发酵细菌针对复杂底物产氢。据报道 Yokoi H 等人采用丁酸梭菌、产气肠杆菌和类红球菌共同培养，已从甜土豆淀粉残留物中制取了氢气<sup>[12]</sup>。

使用酶水解法生物转化纤维素类生物质用来发酵生产燃料酒精及其他发酵产物的过程涉及 4 步生物催化反应：纤维素酶的生产，纤维素在酶催化作用下水解产还原糖（主要是己糖和戊糖），己糖发酵生产最终发酵产物和戊糖发酵生产最终发酵产物。具体的生物反应工艺过程，有如下 5 种<sup>[13]</sup>。

#### (1) 分步水解发酵工艺

分步水解发酵技术就是将纤维素先用纤维素酶糖化，产生还原糖后再用发酵微生物发酵生产最终产物的方法，即所谓的分步水解发酵( separated hydrolysis and fermentation, SHF )。

#### (2) 同步糖化发酵工艺

同步糖化发酵技术( simultaneous saccharification and fermentation, SSF )就是利用菌株混合，使纤维素水解和微生物发酵在同一反应器内同时进行。该工艺优点是工艺简单，操作费用和设备投资费用都较低，但也同时存在水解和发酵的最适条件不同的问题。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库