doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2014.12.033

能源草酶解光合生物制氢实验研究*

张全国 张丙学 蒋丹萍 李亚猛 荆艳艳 路朝阳 (河南农业大学农业部可再生能源新材料与装备重点实验室,郑州 450002)

摘要:利用王草、象草、柳枝稷、紫花苜蓿这 4 种常见能源草的纤维素酶酶解液作为产氢底物,对其光合生物制氢性能进行了实验研究,以累积产氢量和产氢速率为考察指标,对比了不同类型能源草的产氢能力,并利用修正的Gompertz 方程对产氢过程进行回归分析,验证了能源草作为光合制氢原料的技术可行性。结果表明,当产氢工艺条件为光合细菌接种量 30%、温度 30℃、光照度 2 000 lx、发酵时间 120 h 时,紫花苜蓿产氢性能最好,王草次之,而象草和柳枝稷的产氢性能较差。王草、象草、柳枝稷和紫花苜蓿的累积产氢量分别为 75.3、27.2、26.1 和 81.6 mL,最大产氢速率分别为 7.83、3.5、4.33、14.75 mL/(h·L)。

关键词:能源草 纤维素酶 生物制氢 酶解

中图分类号: S216.2; TK91 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2014)12-0224-05

引言

以能源草作为生物能源的原材料成本低、效率高,不占用耕地,可利用山坡地,兼具水土保持的功效,燃烧后产生的污染物也很少,可有效减轻温室效应、降低环境污染^[1-2]。相比木本植物,更便于管理,而且在大面积种植情况下,更易于实现机械化作业^[3-4]。我国有大量的干旱半干旱以及低洼易涝和盐碱地等土地,在这些不适宜耕作的边际土地上种植能源草,不仅能够起到防沙固沙保护环境的作用,还能用于生产生物质能源,具有显著的经济效益。目前国内外对能源草的转化利用方面多集中于直接燃烧发电^[5-6]或经发酵生产燃料乙醇^[7-9]和甲烷等^[10-11],而对于利用能源草发酵进行产氢的研究较少。

氢气因其清洁无污染、能量密度高、可再生和应用形式多等特点,被认为是一种最具吸引力的替代能源^[12-13]。传统的化学制氢方法基本上都伴随着化石能源的消耗和环境污染。光合生物制氢因其节能环保、转化效率高、可利用多种工农业废弃物等优点,是一种非常有发展前景的制氢技术^[14-16]。并且光合细菌能利用的原料来源非常广泛,可以利用包括有机废水、畜禽粪便和农作物秸秆等各种工农业废弃物。

由于光合细菌对纤维素、半纤维素、淀粉等结构

复杂的大分子有机物利用效率较差,对于乙酸、丁酸、丙酮酸、葡萄糖、果糖等挥发性小分子酸及单糖类利用较好^[17],所以能源草原料必须经过预处理,将原料中的纤维素和半纤维素经水解糖化之后才能为光合细菌所利用。本文利用纤维素酶对柳枝稷、王草、象草、紫花苜蓿等 4 种能源草进行酶解预处理,以累积产氢量以及最大产氢速率为指标通过实验考察这 4 种能源草的产氢性能,分析评价利用能源草作为光合生物制氢原料的潜在可行性,旨在优化能源草光合生物制氢工艺技术,为实现生物质高效低成本能源转化提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用能源草分别为王草和象草(产地均为 江西新余,收割时间为 10 月中旬)、柳枝稷(产自北 京市农林科学院试验田,收获时间为 11 月初)、紫 花苜蓿(产自河南农业大学试验田,收获时间为 10 月底),能源草原料均在粉碎机中粉碎 2 min 后过 80 目筛(孔径约 0. 178 mm),然后放入 60℃干燥箱中 干燥 12 h 后保存备用。

1.2 实验菌种

实验所用 HAU-M1 光合产氢混合细菌由农业 部可再生能源新材料与装备重点实验室提供,各菌 种 质 量 分 数 分 别 为 深 红 红 螺 菌

收稿日期: 2014-07-30 修回日期: 2014-08-09

^{*}国家自然科学基金资助项目(51376056)、国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(2012AA051502)和教育部博士点基金优先领域资助项目(20134105130001)

作者简介: 张全国,教授,博士生导师,主要从事可再生能源工程研究,E-mail: zquanguo@163.com

(Rhodospirillumrubrum) 27%、荚膜红假单胞菌(R. capsulata) 25%、沼泽红假单胞菌(R. pulastris) 28%、类球红细菌(Rhodobactersphae-roides) 9%、荚膜红细菌(Rhodobactercapsulatus) 11%等[18]。

生长培养基: NH₄Cl 0. 1 g/L; NaHCO₃ 0. 2 g/L; K₂HPO₄ 0. 02 g/L; CH₃COONa 0. 3 g/L; MgSO₄·7H₂O 0. 02 g/L; NaCl 0. 2 g/L; 酵母膏 0. 1 g/L。

产氢培养基: NH₄Cl 0.4 g/L; MgCl₂ 0.2 g/L; 酵母膏 0.1 g/L; K₂HPO₄ 0.5 g/L; NaCl 2 g/L; 谷氨酸钠 3.5 g/L。

实验所用纤维素酶购自上海源叶科技有限公司,酶活在35 u/mg以上。

1.3 实验装置与实验方法

1.3.1 实验装置

能源草光合生物制氢实验装置如图 1 所示,制 氢反应器置于恒温箱中,光合细菌在厌氧光照条件 下进行产氢,所产气体经气体净化器后进入集气瓶 中保存,每隔一定时间取出气体测量其成分。

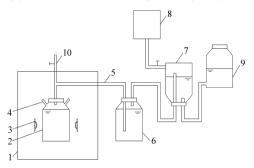


图 1 光合制氢实验装置

Fig. 1 Experimental facility of photo-hydrogen production
1. 恒温箱 2. 制氢反应器 3. 白炽灯 4. 料液测试口 5. 导气管 6. 气体净化器 7. 集气瓶 8. 气相色谱仪 9. 水封瓶 10. 氩气

1.3.2 原料成分测定

原料的总固形物和挥发性固形物采用 101℃加热干燥和 550℃煅烧法测定,纤维素、半纤维素以及木质素含量采用改良王万玉法测定^[19]。

1.3.3 还原糖产量的测定

取酶解处理后的反应液上清液离心分离,按一定倍数稀释后,利用 DNS 法(即 3,5-二硝基水杨酸比色法)分光光度计在 540 nm 波长下测定其 OD 值,从标准曲线读出相应还原糖质量浓度,计算其还原糖含量,每组实验均做 2 组平行对照实验,取平均值。

1.3.4 氢气含量的测定

采用 GC-14B 型气相色谱仪进行氢气含量的测定,色谱柱填料为 5A 分子筛,氮气作载气,流量 45 mL/min,采用 99.999% 的高纯氢气作标准气。色谱条件:进样口温度 100%,柱温 800℃,TCD 检测

器 150℃, 进样量 500 µL, 保留时间 2 min。

1.3.5 纤维素酶水解

分别取 4 种能源草原料 2.5 g 放入 250 mL 锥形瓶中,再加入 pH 值 4.8 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液 100 mL, 然后加入 250 mg 纤维素酶,酶负荷为 100 mg/g 能源草;封口后放入 50℃ 水浴锅中,反应时间为 48 h,每组实验均做 2 组平行对照实验,取平均值。

1.3.6 光合细菌制氢

将酶解后的料液用质量分数 50% 的 KOH 溶液滴定至中性,按比例加入 100 mL 产氢培养基,取处于对数生长期的光合细菌接种,接种量为 30%。将锥形瓶密闭然后通入氩气吹扫 2 min,营造厌氧环境,将装置置于 30℃、平均光照强度为 2 000 lx(光源为白炽灯)的恒温培养箱中进行产氢反应。用排饱和食盐水集气法测量产气量,并利用气相色谱仪测量其成分。每组实验均做 2 组平行对照实验,取平均值。

2 结果与分析

2.1 能源草的组分分析

利用 1.3.2 节所示方法对这 4 种能源草的主要成分进行了测定,其结果如表 1 所示。

表 1 能源草试样成分构成

Tab. 1 Composition of energy grasses samples

能源草 种类	总固形	挥发性固	杂质	纤维素	半纤维	木质素
	物质量	形物质量	质量	质量分	素质量	质量分
	分数	分数	分数	数	分数	数
王草	97. 69	93. 74	24. 27	36. 11	20. 08	19. 54
象草	98.04	90.66	27. 31	35. 49	18.65	18. 55
柳枝稷	97. 86	92. 26	16.69	41. 15	19. 96	22. 20
紫花苜蓿	97.67	90. 24	30. 50	33. 21	23. 92	12. 36

由于前期经过了干燥处理,这4种能源草的总固形物达到了97.67%~98.04%,而其挥发性固形物占总固形物的90.24%~93.74%,表明这4种能源草的可发酵组分非常高,有利于光合细菌产氢。王草、象草、柳枝稷和紫花苜蓿的纤维素+半纤维素含量分别为56.19%、54.14%、61.11%和57.13%,说明这4种能源草均具有较好能源转化的物质基础。紫花苜蓿与其他3种能源草相比,其木质素含量明显较低(12.36%),而其他3种能源草的木质素质量分数均为20%左右,其中柳枝稷的木质素质量分数稍高(22.20%),说明紫花苜蓿的酶解处理效果可能稍好一点,柳枝稷的效果可能稍差,王草与象草介于两者之间。与常用作光合产氢原料的农作物秸秆相比[20-22],这4种能源草的主要成分与之相

差不大,常见的小麦、玉米、水稻等农作物秸秆的纤维素质量分数大约为34%~36%,半纤维素质量分数约为24%~29%,木质素质量分数为12%~17%。

2.2 能源草经过酶解处理后的还原糖质量浓度

4种能源草(王草、象草、柳枝稷和紫花苜蓿)经过48h的酶解后,王草的还原糖质量浓度达到了5.14 mg/mL,象草为4.04 mg/mL,柳枝稷为2.27 mg/mL,紫花苜蓿为5.34 mg/mL。可见王草和紫花苜蓿这2种能源草经过纤维素酶处理过后的还原糖产量比其他2种要高一些,其中紫花苜蓿略高,但是与王草相差不大,而象草还原糖产量比这2种稍低,柳枝稷还原糖产量最低,可能原因如2.1节组分分析中所示,柳枝稷木质素质量分数比其他3种大,由于木质素的包裹,阻碍了纤维素酶对纤维素的水解作用,增加了酶解难度,相对其他3种能源草来说柳枝稷的还原糖产量就低了,而紫花苜蓿的木质素含量最少,所以其酶解的效果也最好。

2.3 累积产气量与累积产氢量

经过 120 h 的产氢周期后,王草、象草、柳枝稷和紫花苜蓿的累积产气量和累积产氢量随时间的变化如图 2 和图 3 所示。可以看出,所选择的 4 种能源草都能实现氢气的有效生产,产氢延迟期结束后,产氢量迅速上升,并逐渐趋于稳定。累积产气量分别为王草 252 mL、紫花苜蓿 232 mL、象草 140 mL、柳枝稷 121 mL。王草、紫花苜蓿、象草和柳枝稷的累积产氢量分别为 75.3、81.6、27.2、26.1 mL。王草的总氢气体积分数为 29.8%,紫花苜蓿的总氢气体积分数为 35.2%,象草和柳枝稷的总氢气体积分数分别为 19.4% 和 21.6%。造成它们氢气含量不同的原因可能是经过酶解处理的不同草种营养物质不同,光合细菌对其利用的方式也不同。王草和紫花苜蓿的酶解产物可能更利于制氢,而象草和柳枝稷的酶解产物可能更利于制氢,而象草和柳枝稷的酶解产物更适于光合菌群的产氢过程。

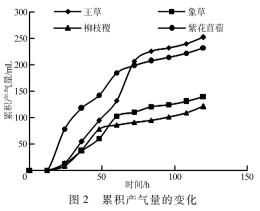


Fig. 2 Variation of cumulative gas production

紫花苜蓿累积产氢量最大,王草次之,且其产氢

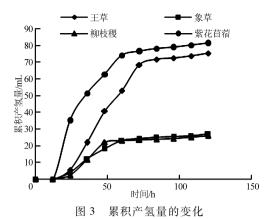


Fig. 3 Variation of cumulative hydrogen production

延迟时间短,较快地进入了产氢高峰期,说明这2种能源草较柳枝稷和象草,更适宜用于光合生物制氢。 其累积产氢量大小与各能源草酶解预处理后的还原糖产量大小规律基本一致,说明能源草酶解后的还原糖产量为产氢过程的限制性因素,产糖量越高,累积产氢量越高。不同种类能源草的酶解还原糖产量不同的原因可能是因为其纤维素、半纤维素含量的不同,以及木质素对其纤维素、半纤维素等物质的包裹,阻碍了酶解反应的进行。

同时,对于光合细菌的产氢过程,一定程度上其 累积产氢量是微生物生长的一个函数,可以使用修 正的 Gompertz 方程来拟合产氢曲线(图3),即

$$P(t) = P_m \exp\left(-\exp\left(\frac{eR_m}{P_m}(\lambda - t) + 1\right)\right) \quad (1)$$

式中 P—t 时刻的累积产氢量,mL

P_m——最大累积产氢量,mL

 R_m ——最大产氢速率, mL/h

λ——产氢延迟期,h

t——产氢反应进行的时间,h

利用非线性回归方程直接进入非线性最小二乘拟合,采用使用试样法使得参数平方和最小而进行循环迭代估计参数 P_m 、 R_m 和 λ ,收敛标准为 10^{-6} 。

如图 4 所示,利用修正的 Gompertz 方程对产氢过程进行拟合, R^2 (决定系数)均在 0.99 以上,表明拟合结果很好(表 2)。根据表 2 的拟合参数,王草与紫花苜蓿的最大累积产氢量分别为 76.05 mL 和79.54 mL,象草和柳枝稷的最大累积产氢量分别为26.35 mL和24.73 mL。从累积产氢量来看,王草和紫花苜蓿的产氢能力相较于其他 2 种能源草明显较好。最大产氢速率从大到小依次为:紫花苜蓿10.65 mL/(h·L)、王草 8.35 mL/(h·L)、柳枝稷5.1 mL/(h·L)、象草 3.35 mL/(h·L)。而且紫花苜蓿的产氢延迟期只有10.52 h,比其他3种能源草分别提前了12.68、7.93、13.28 h。所以从最大累积产氢量、最大产氢速率和产氢延迟期来看,光合细菌利

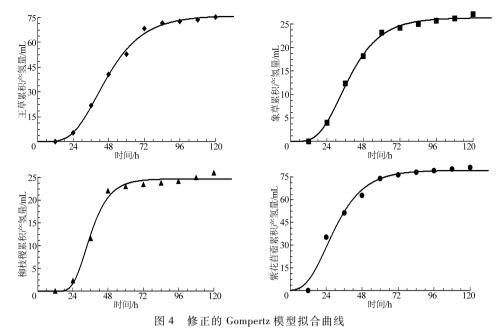


Fig. 4 Modified Gompertz equation fitting curves

用紫花苜蓿的酶解液产氢的效果最好,王草次之,象草和柳枝稷的产氢性能不理想。

表 2 修正的 Gompertz 模型拟合参数

Tab. 2 Modified Gompertz equation fitting parameters

能源草种类	P_m/mL	$R_m/(\mathrm{mL} \cdot \mathrm{h}^{-1})$	λ/h	R^2
王草	76. 05	1. 65	23. 20	0. 998
象草	26. 35	0. 67	18. 45	0. 999
柳枝稷	24. 73	1.02	23.80	0. 997
紫花苜蓿	79. 54	2. 13	10. 52	0. 994

2.4 产氢速率的变化

4 种能源草光合生物制氢实验时的产氢速率如 图 5 所示。可以看出,紫花苜蓿的产氢延迟期较短, 接种光合细菌后 12 h 即开始产氢,并且其在 24 h 时 出现了最大产氢速率,为 14.75 mL/(h·L)。其产氢 启动较快的原因可能是其酶解后得到的产物组分更 有利于光合细菌生长,光合菌群迅速达到稳定期,随 后即开始产氢过程。而王草、象草、柳枝稷的产氢启 动较慢,基本上都是24 h左右后才开始产氢,象草 在产氢进行到 36 h 时才出现了最大产氢速率 (3.5 mL/(h·L)), 王草和柳枝稷在 48 h 出现最大 产氢速率,分别为 7.83 mL/(h·L)和 4.33 mL/(h·L)。 产氢过程进行到60h后象草、柳枝稷和紫花苜蓿组 的产氢基本上停止,王草组在84h后才逐渐停止, 其产氢期相较于其他3种较长。可能原因是由于王 草经过酶解后的还原糖产量比象草和柳枝稷 2 组 高,在这2组的还原糖组分被光合细菌消耗殆尽时 王草组的还原糖质量浓度还能达到光合细菌可利用 产氢的范围,所以其产氢期相较于这2组长。而由 于紫花苜蓿组的启动较快,其还原糖被消耗得也快,

从而导致其产氢期较王草组短。

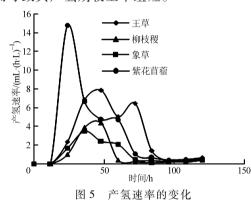


Fig. 5 Variation of hydrogen production rate

3 结论

- (1)利用王草、象草、柳枝稷和紫花苜蓿的酶解液光合制氢,其累积产气量分别为 252、140、121 和232 mL。累积产氢量分别为 75.3、27.2、26.1 和81.6 mL。最大产氢速率分别为 7.83、3.5、4.33、14.75 mL/(h·L)。
- (2)利用修正的 Gompertz 方程对产氢曲线拟合的结果显示,利用紫花苜蓿进行产氢的最大累积产氢量和最大产氢速率均比其他 3 种能源草的高,而且其产氢延迟期也较短,所以光合细菌利用紫花苜蓿的产氢性能比其他 3 种要好,王草次之,而象草和柳枝稷的产氢性能较差。
- (3)利用王草、紫花苜蓿等能源草为原料来进行光合制氢是可行的,将能源草这种绿色生物质资源同光合生物制氢技术结合起来,既能改善生态环境,又能产生清洁的氢能源,具有显著的社会、环境和经济效益。

参考文献

- 1 Venturi P, Venturi G. Analysis of energy comparison for crops in European agricultural systems [J]. Biomass and Bioenergy, 2003, 25(3):235-255.
- 2 李高扬,李建龙,王艳,等. 优良能源植物筛选及评价指标探讨[J]. 可再生能源,2007,25(6):84-89. Li Gaoyang, Li Jianlong, Wang Yan, et al. Study on the selection and evaluation on fine energy plants[J]. Renewable Energy Resources,2007,25(6):84-89. (in Chinese)
- 3 李峰. 北方能源草的筛选及其评价[D]. 兰州:甘肃农业大学,2009.
- 4 罗煜,赵立欣,孟海波,等.不同温度下热裂解芒草生物质炭的理化特征分析[J].农业工程学报,2013,29(13):208-217. Luo Yu, Zhao Lixin, Meng Haibo, et al. Physio-chemical characterization of biochars pyrolyzed from miscanthus under two different temperatures[J]. Transactions of the CSAE, 2013,29(13):208-217. (in Chinese)
- 5 Kryzeviciene A, Zaltauskas A, Jasinskas A. Assessment of the feasibility plant biomass cultivation and utilization as fuel [C] // Proceedings of the 9th International Conference on Ecological Energy Resources in Agriculture, 2004: 72 78.
- 6 Prins M J, Ptasinski K J, Janssen F J J G. Exergetic optimization of a production pr Fischer-Tropsch fuels from biomass[J]. Fuel Processing Technology, 2004, 86(4):375 389.
- 7 张兴龙. 狼尾草属能源植物乙醇转化技术初步研究[D]. 广州:华南农业大学,2011.
- 8 段仰凯,田沈,于泳,等.改进的柳枝稷预处理方法及乙醇发酵研究[J].太阳能学报,2009,30(12):1709 1712.

 Duan Yangkai, Tian Shen, Yu Yong, et al. Modified technology of switchgrass pretreatment for ethanol production [J]. Acta
 Energiae Solaris Sinica, 2009,30(12):1709 1712. (in Chinese)
- 9 Hamelink C N, Hooijdonk G V, Faaij A P C. Ethanol from lingocellulosic biomass: techno-economic performance in short-middle-and long-term [J]. Biomass and Bioenergy, 2005, 28(4):384-410.
- 10 李连华,孙永明, 孔晓英,等. 刈割时间对杂交狼尾草成分及厌氧性能影响试验[J]. 农业机械学报,2014,45(1):155 161.

 Li Lianhua, Sun Yongming, Kong Xiaoying, et al. Effect of growth stages on performance of anaerobic digestion and physico-

chemical properties of pennisetum hybrid [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45 (1): 155-161. (in Chinese)

- 11 Zaki-ul-Zaman A, Tjalfe G P, Abdul-Sattar N, et al. How can we improve biomethane production per unit of feedstock in biogas plants? [J]. Applied Energy, 2011,88(6):2013-2018.
- 12 Kapdan I K, Kargi F. Bio-hydrogen production from waste materials [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2006,38(5):569 582.
- 13 毛宗强. 氢能——21 世纪的绿色能源[M]. 北京:化学工业出版社,2005:155.
- 14 张全国,尤希凤,张军合,等.生物制氢技术研究现状及其进展[J].生物质化学工程,2006,40(1):27-31.

 Zhang Quanguo, You Xifeng, Zhang Junhe, et al. The present situation and research progress in bio-hydrogen production technology[J]. Biomass Chemical Engineering, 2006,40(1):27-31.(in Chinese)
- 15 尤希凤,郭新勇.生物制氢技术的研究现状及发展趋势[J].河南化工,2003(10):4-6.
 You Xifeng, Guo Xinyong. Development trend and present situation of hydrogen production by biotechnology [J]. Henan Chemical Industry, 2003(10):4-6. (in Chinese)
- 16 汤桂兰,孙振钧. 生物制氢技术的研究现状与发展[J]. 生物技术, 2007,17(1):93-97.

 Tang Guilan, Sun Zhenjun. Study and development of hydrogen production by biological technology[J]. Biotechnology, 2007, 17(1):93-97. (in Chinese)
- 17 王毅. 光合细菌产氢基质代谢实验研究[D]. 郑州:河南农业大学, 2009.
- 18 韩滨旭. 光合产氢菌群的分离鉴定及其产氢特性分析[D]. 郑州:河南农业大学, 2011.
- 19 申翔伟. 农作物秸秆光合细菌产氢原料的乙酸预处理技术实验研究[D]. 郑州:河南农业大学,2010.
- Talebnia F, Karakashev D, Angelidaki I. Production of bioethanol from wheat straw: an overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation [J]. Bioresource Technology, 2010, 101 (13):4744 4753.
- Binod P, Sindhu R, Singhania R R, et al. Bioethanol production from rice straw: an overview[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(13):4767-4774.
- 22 Guo P, Mochidzuki K, Cheng W, et al. Effects of different pretreatment strategies on corn stalk acidogenic fermentation using a microbial consortium [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(16): 7526-7531.

(下转第261页)

Effect of Pressure and Temperature on Water Distribution in Fresh Shrimp Using LF-NMR

Yu Yong Ge Lingyan Su Guangming Gan Xiaoling Zhu Songming (College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Fresh shrimp (*Penaeus monodon*) was treated by either high pressure processing (HPP) or heat for comparison. The changes of water states and distribution were detected by low field nuclear magnetic resonance (LF-NMR). Relaxation times T_2 and distribution areas were calculated and compared to investigate the treatment effects on shrimp samples. Pressure levels of HPP ranged from 100 MPa to 600 MPa, and pressure holding time was set as constant, i. e. 10 min. The initial temperature of pressure transient medium was 25 °C, while 40, 60 and 90 °C were selected and the treatments time was set as 10 min during heat treatments. For both HPP and heat treatments, treatment conditions of untreated control samples were at 0.1 MPa and 25 °C. Experimental results showed that both HPP and heat treatment could alter, to some extent, relaxation times T2 and relative contents of different states of water in shrimp samples. A kind of bound water with high capacity of combining with macromolecules in meat was induced when samples were treated at pressures in excess of 100 MPa or at temperatures in excess of 60℃, with relaxation time located between 0.1 ms and 1 ms. The content of combined water in meat, which was highly related to product water holding capacity, was significantly influenced by heat treatment but not by pressure. The content of combined water decreased significantly with the temperature rising. The changes of combined water content after HPP and heat treatments suggested that HPP was a superior method for producing fresh shrimp to retain the water holding capacity than heat treatment.

Key words: Shrimp Water High pressure processing Heat treatment LF-NMR

(上接第228页)

Photo-hydrogen Production of Energy Grasses Pretreated by Enzymatic Hydrolysis

Zhang Quanguo Zhang Bingxue Jiang Danping Li Yameng Jing Yanyan Lu Chaoyang (Key Laboratory of New Materials and Facilities for Rural Renewable Energy of China's Ministry of Agriculture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: This paper mainly studied the photo-hydrogen production capability of using enzymatic hydrolysate to four different energy grasses, king grass, witchgrass, grassiness and alfalfa, as substrates. The cumulative hydrogen production and hydrogen production rate were taken as the indexes to contrast photo-hydrogen production capability of different energy grasses. Then modified Gompertz equation was used to perform regression analysis of hydrogen production process, and the technical feasibility using energy grasses as raw materials for photo-hydrogen production was verified. The results showed that among these four energy grasses, the hydrogen producing capability of alfalfa was the best followed closely by king grass, and the hydrogen producing capabilities of witchgrass and grassiness were feeblish, in the circumstances of 30% inoculum size, 30%, 2 000 lx illuminance, 120 h of fermentation time. The cumulative hydrogen production of king grass, witchgrass, grassiness and alfalfa was respectively 75.3, 27.2, 26.1, and 81.6 mL. The maximal hydrogen production rate was 7.83, 3.5, 4.33, and 14.75 mL/(h·L) respectively.

Key words: Energy grass Cellulose Bio-hydrogen production Enzymolysis