

基于ADM1动力学模型的光发酵制氢过程优化研究

任昌鹏 姜秋实 刘鑫 曹稳 郭烈锦

(西安交通大学动力工程多相流国家重点实验室, 710049, 西安)

摘要: 为了系统阐明光发酵制氢过程中各主要代谢路径的动力学特征, 本研究建立并优化了一种基于厌氧消化一号模型 ADM1 的光发酵制氢模型, 以葡萄糖为标准底物进行描述与分析。模型以物质守恒为基础, 将底物按照一定比例分配给细胞生长、产物合成和细胞代谢消耗三个途径。充分考虑了光发酵制氢过程中发生的 12 个关键代谢反应, 保持化学计量比不变, 通过调整反应速率反映不同代谢路径的变化。基于微生物糖酵解的反应顺序, 采用“两步法”快速确定动力学参数。模型利用不同初始浓度葡萄糖的光发酵实验数据进行了参数校准与验证。同时改进了模型, 将乳酸和乙醇纳入中间代谢产物中, 并引入 pH 与光照强度对底物转化、生物量积累及产氢性能的影响, 并考虑了 pH 对于碳代谢流影响。结果表明, 改进后的光发酵制氢动力学模型成功提高了预测的准确性, 在预测不同浓度葡萄糖运行条件下氢气生产、光合细菌生长、有机酸的生产以及光强和 pH 的变化时, 拟合系数均超过 0.96。利用模型结合曲面响应法, 快速确定了光发酵最佳的初始 pH 为 8, 最佳的光照强度为 5000 lx。该研究可为制氢反应器开发与制氢过程控制提供重要的理论依据与建模方法支持。

关键词: 光发酵; 制氢动力学模型; 有机酸; 厌氧消化模型; 过程优化

中图分类号: TQ116.2+9 **文献标志码:** AA

文章编号: 0253-987X(XXXX)XX-0001-17

Optimization of Photo-fermentative Hydrogen Production Process Based on the ADM1 Kinetic Model

REN Changpeng, JIANG Qiushi, LIU Xin, CAO Wen, GUO Liejin

(State Key Laboratory of Multiphase Flow in Power Engineering, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Abstract: To comprehensively elucidate the kinetic characteristics of major metabolic pathways involved in photo-fermentative hydrogen production, this study developed and optimized an (Anaerobic Digestion Model No. 1) ADM1-based photo-fermentation model with glucose as the reference substrate. The model is grounded in mass conservation principles and allocates the substrate to three key pathways: cell growth, product synthesis, and cellular maintenance. Twelve critical metabolic reactions were incorporated, maintaining stoichiometric consistency, and variations in metabolic fluxes were represented by adjusting reaction rates. A "two-step" approach was used to efficiently determine

收稿日期: XXXX-XX-XX。

the kinetic parameters based on microbial glycolysis. Experimental data from photo-fermentation with varying initial glucose concentrations were used for model calibration and validation. The model was further refined by including lactate and ethanol as intermediate metabolites and by considering the effects of pH and light intensity on substrate conversion, biomass accumulation, and hydrogen production. Additionally, the impact of pH on carbon metabolic flux was accounted for. Results showed that the improved model significantly enhanced predictive accuracy, with correlation coefficients exceeding 0.96 for hydrogen production, bacterial growth, organic acid production, and the variation of light intensity and pH under different glucose concentrations. Utilizing response surface methodology, optimal conditions for photo-fermentation were determined, with an initial pH of 8 and light intensity of 5000 lx. This work provides important theoretical support and a modeling framework for the development and control of hydrogen production reactors.

Keywords: photo-fermentative; hydrogen production kinetics model; organic acid; ADM1; process optimization

面对全球能源危机与气候变化的严峻挑战,开发清洁、可再生的替代能源已成为当务之急。氢能,因其能量密度高、燃烧产物清洁无污染、用途广泛等优势,被视为未来能源体系的支柱之一^[1]。在众多制氢技术路径中,生物制氢,因其能够转化生物质或有机废弃物、过程温和、环境友好而展现出巨大潜力^[2]。

光发酵过程中,光照作为能量的主要来源,其强度、波长和周期直接影响光合细菌的光合产氢效率、细胞生长和固氮酶的活性^[3,4]。过低的光强限制能量供给,而过高的光强则可能导致光抑制效应^[5]。与此同时,pH作为另一个核心环境变量,不仅通过 H^+ 浓度直接影响固氮酶的活性与稳定性,更深刻调控着碳代谢流的走向。研究表明,pH的波动可改变乙酸、丁酸等关键底物的降解优先顺序和最终产物分布,进而决定氢气的最终得率^[6]。这种多变量且非线

性的特性,使得通过传统的“试错法”实验来优化光发酵过程变得异常困难且效率低下。

尽管多年来已经发表了各种关于发酵制氢模型的研究,但对光发酵过程动力学建模的研究相当有限^[7]。大量研究仍采用修正的 Gompertz、Logistic 等经验或半经验模型描述产氢累积曲线,因其形式简单、参数易得^[8,9],通过调整了其中三个模型参数来拟合实验过程中测量的产氢数据^[10]。Grazia^[11]通过一个抑制函数模拟光发酵过程中的光遮蔽和底物抑制等现象,从而动态连接细菌的不同生长阶段。Abhishek^[12]将流量、光强和反应器几何等多种参数整合进发酵动力学模型成功预测生物量浓度。

国际水协会开发的厌氧消化一号模型(ADM1)因其对有机物降解代谢路径的详细描述^[13],已成为构建发酵产氢模型的经典框架^[14]。近年来,ADM1模型的内容不断拓展,其应用已从产甲

烷^[15, 16]延伸至厌氧环境下氢气生产^[17]、挥发性脂肪酸生产^[18]及废弃物处理^[19, 20]等多个方向的模拟研究。Lin 开发了暗发酵制氢模型, 能够准确描述生物质、丁酸盐、乙酸盐、乙醇和氢气的产生^[21]。在针对蔗糖发酵制氢的模拟研究中, Ntaikou 等在模型中引入了甲酸盐, 同时还考虑了底物的抑制效应^[22]。通过将异戊酸、异丁酸等代谢产物纳入发酵模型, Bułkowska 有效提升了模型对发酵过程的预测精度^[23]。Huang 在模拟酸性 pH 下含糖废水的“乙酸型发酵”时, 成功采用了 pH 依赖的化学计量系数, 提高了模拟产氢系统的准确性^[24]。针对产氢系统中乳酸和乙醇的积累现象, Antonopoulou 将这两种关键中间体作为状态变量引入模型, 并定义了其生成与消耗动力学^[25], 这一改进改善了对发酵产物分布的预测精度。但是该模型忽视了细胞维持自身所消耗的能量。Luedeking - Piret 模型从底物能量分配的角度进行模型构建, 充分考虑到底物被完全氧化, 用于维持细胞温度以及代谢的消耗^[26]。在 ADM1 模型中引入维持系数, 可以提高模型预测的精度。

然而, 尽管 ADM1 在暗发酵制氢领域取得了长足进步, 将其直接应用于光发酵系统, 仍存在巨大的空白和挑战: 首先, 现有的模型未考虑光照对于光合细菌产氢的影响; 其次, 现有模型简单地将 pH 作为抑制因子, 未考虑 pH 对于碳代谢流影响^[27]; 同时, 现有模型参数多来自于产氢梭菌或混合菌群的数

据, 缺乏针对光合细菌利用单一底物的动力学参数。针对上述研究现状与挑战, 本研究旨在构建一个描述光照与 pH 影响下的光合细菌产氢过程的数学模型。本研究选择葡萄糖作为模式底物, 通过一系列在严格控制光照和 pH 条件下的批次实验, 以甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、乳酸等为单一底物, 测定光合细菌利用不同底物时的最大比产氢速率、半饱和常数、生物量得率等核心动力学参数, 为模型提供可靠的数据基础。利用拟合获得的参数集, 将经批次实验验证的光发酵制氢模型扩展应用于不同浓度葡萄糖光发酵反应器的模拟中, 评估模型的鲁棒性和预测能力, 为未来反应器设计和放大奠定基础。

1 材料和方法

1.1 实验设计

以 10 mL 医用透明注射器为厌氧反应器, 有效反应体积为 4 mL。取实验室自主分离的高性能光合产氢细菌 *R. sphaeroides* HY01, 使用 Med A 改良产氢培养基进行实验。第一组实验以 0.03 M 的甲酸, 乙酸, 丙酸, 丁酸和乳酸为底物, 第二组实验以 0.04、0.03、0.02、0.01 M 的葡萄糖为底物, 两组实验均 1.12 g/L 的谷氨酸钠为氮源, 在 4000 lx 的恒定光强下进行光发酵产氢。光源为 20W 的卤素灯, 每种底物同时进行 4 组实验, 三组作为实验平行性验证, 一组用于取样, 基于不同底物对 HY01 的产氢特性进行分批测

试。初始pH为7.0, 添加的磷酸盐缓冲液的浓度为0.02 M, 光合细菌HY01的接种浓度为1.81g/L, 接种比例为1: 10 (v/v), 使反应器维持在厌氧环境。定期进行气体体积读取、气体成分确定和发酵液取样, 测定光合细菌生物量、液相成分含量和pH。

1.2 模型建立

光厌氧发酵过程, 主要包括糖酵解、TCA循环, 光合磷酸化等过程, 除了目标产物氢气之外, 还会产生甲酸、乙酸、丙酸、丁酸和乳酸等副产物, 而这些副产物在一定情况下, 会继续进入TCA循环被氧化, 为产氢过程提供电子。对光发酵产氢过程建模时, 需要充分考虑产氢的途径。由于之前的研究多采用 Monod 模型对于细菌生物量进行拟合, 未考虑过程产物, 本文采用 Luedeking - Piret 模型, 从能量和物质分配的角度来对光发酵的过程进行建模。

1.2.1 基质消耗动力学模型

使用 Luedeking - Piret 模型用于构建光发酵过程中底物消耗的模型, 该模型很好的描述了发酵过程中, 一部分底物用于细胞生长, 一部分用于产物合成, 剩余部分用于维持细胞代谢的消耗的情况。

$$-\frac{dc_s}{dt} = Y_{su} \cdot \frac{dc_x}{dt} + Y_i \frac{dc_i}{dt} + m_i \cdot c_x (1.1)$$

式中, C_s 是底物浓度, Y_{su} 是细菌生长部分的分配系数, Y_i 是不同产物的分配系

数, c_i 是不同产物的浓度, c_x 是光合细菌的生物量, m_s 是细胞代谢的分配系数。

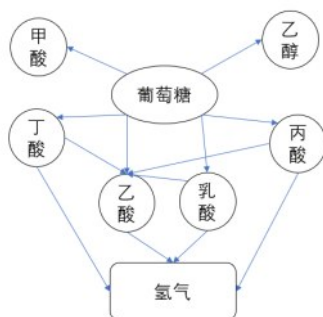


图1 葡萄糖转化为各种最终产物的路径的示意图。

Fig. 1 Schematic diagram of the metabolic pathways for glucose conversion.

底物的消耗速率遵循 Monod 动力学规律, 并以公式 1.2 的形式表示。该公式的前半部分表示的是不受抑制的 Monod 型消耗速率, 而 I_{pH} 和 I_{ILL} , I 则分别代表了由于 pH 值影响以及光强影响以及有机酸含量生长限制的影响:

$$F_i = \frac{dc_s}{dt} = k_m \cdot \frac{S_i}{K_s + S_i} \cdot X \cdot I \cdot I_{pH} \cdot I_{ILL} (1.2)$$

式中, K_m 是光合细菌 HY01 对于不同底物的最大比消耗速率(1/h), K_s 是光合细菌 HY01 对于不同底物的半饱和常数(g/L)。

1.2.2 光合细菌生长动力学

基于 Luedeking - Piret 模型来构建光合细菌生物量生长动力学模型, 该模型共描述了在光发酵制氢过程中影响生

物量的两个方面,一方面为光合细菌描述了在多种底物中的生长,另一方面描述了不同阶段光合细菌的衰亡。

$$\frac{dc_x}{dt} = \sum_{i=1}^n Y_i \cdot \frac{dc_i}{dt} - K_{dec} \cdot X \quad (1.3)$$

式中, K_{dec} 是光合细菌的衰亡系数,在本模型中假设为与 pH 等环境条件无关的常数, X 为光合细菌的生物量浓度。

1.2.3 氢气生产动力学

基于能量守恒和物质守恒定律,构建了氢气的生产模型,表面氢气通过分解多种有机酸和糖生成。

$$\frac{dc_{H_2}}{dt} = \sum_{i=1}^n (1 - Y_i - m_i) \cdot \frac{dc_i}{dt} \cdot c \quad (1.4)$$

式中, m_i 为光合细菌在不同底物上的细胞代谢分配系数, c 为不同底物的产氢系数。

1.2.4 pH 动力学模型

由于初始培养基内存在磷酸盐缓冲液,不仅可以补充磷源,更对 pH 的稳定起到了很大的作用。该模型描述了有机酸生成和磷酸盐的缓冲作用两部分的影响。但大量有机酸的生产,会破坏缓冲作用,从而导致 pH 的剧烈变化。

$$\begin{aligned} \frac{d[H^+]}{dt} = & \frac{d[OH^-]}{dt} + \sum_i \frac{d[c_x]}{dt} \cdot \frac{ka}{H^+ + ka} \\ & + \frac{d[H_2PO_4^-]}{dt} + 2 \frac{d[HPO_4^{2-}]}{dt} + 3 \frac{d[PO_4^{3-}]}{dt} \end{aligned} \quad (1.5)$$

式中, K_a 表示不同有机酸的电离常数。

1.2.5 pH 抑制和光抑制

模型引入了 pH 抑制因子 I_{pH} 和光抑

制因子 I_{ILL} , 两者通常用一个对称的高斯函数表示: 这一处理基于之前的研究^[28, 29]。

$$I_{pH} = e^{\left(-10.54 \times \left(\frac{pH-7}{7}\right)^2\right)} \quad (1.6)$$

$$I_{ILL} = e^{\left(-3.908 \times \left(\frac{ILL-5000}{5000}\right)^2\right)} \quad (1.7)$$

1.2.6 发酵动力学模型构建

光合细菌产氢是一个涉及多底物、多产物、且受环境因子严格调控的复杂生物过程。构建一个能够准确预测其动态行为的数学模型,对于深入理解机理、优化操作条件、实现过程放大至关重要。本研究基于 ADM1 模型和 Luedeking - Piret 模型,搭建了一个机理性的动力学模型,该模型耦合了葡萄糖的分解产酸和有机酸发酵产氢两部分,并引入了光强和 pH 抑制机制,显著提升了对有机物浓度、氢气产量的预测精度。在这个框架下,底物消耗所释放的碳和电子,被定向分配至以下几个主要方向:生物量合成,目标产物合成,副产物合成,维持代谢(以热等形式耗散),如图 2 所示。

该生化反应过程共包含 12 个反应,包含糖的分解以及有机酸的分解,详细的生物过程、动力学速率方程以及成分的化学计量相互作用均列于表 1 中,式中的 F_i 根据公式 1.6 计算。在这些速率表达式分别代表了葡萄糖生成各种有机酸和氢气的速率 R1-R6,以及甲酸盐的摄取速率 (R7),乙酸盐的摄取率 (R8),丙酸盐的摄取率 (R9),丁酸盐的摄取率 (R10), X 表示产光合细菌

HY01 的生物量的浓度。R1-R6 描述了葡萄糖的摄取速率,该系列生化反应基于葡萄糖的摄取动力学描述,这些动力学经过修改以加入适当的抑制因子。根据 Infantes 等人的报告,涉及产酸生物质的途径的反应速率遵循 Monod 型动力学描述^[30]。本文基于 Nabaterega 的研究,更新了葡萄糖糖酵解后的产物分配系数,在低 pH 条件下,微生物为维持体内氧化还原平衡,会显著上调还原性代谢路径(如产丙酸 R3 或产乳酸 R5)的通量,同时下调产氢路径(R2, R4, R6)的通量^[31]。该机制是本模型能够精准预测不同 pH 条件下有机酸生成与氢

气产量的关键所在。明显提高了对于有机酸浓度和氢气产量预测的准确性。R7-R11 是根据 Maria 的研究进一步进行补充,主要描述了有机酸在光合细菌进一步分解生成氢气的化学反应过程^[32],该过程受到 pH 和光强的双重影响。R12 描述了光合细菌在不同底物情况下的生长和衰亡,光合细菌生物质的衰变用一阶动力学来描述,而死生物质则在后续发酵在不宜底物的形式存在,在生物量衰亡率表达式中, Y_i 是每种底物发酵过程中生物量所占比例, K_{dec} 是衰亡率,假设不同底物条件下具有相同的衰亡速率。

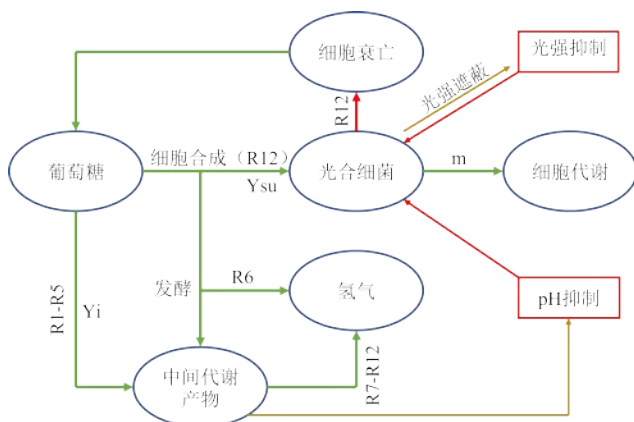


图2 光发酵底物能量转换模型结构示意图。

Fig. 2 Schematic diagram of the structure of the energy conversion model for photo-fermentation substrates.

1.3 敏感性分析

为了确定光发酵产氢过程中最敏感的参数,进行了参数敏感性分析。分析了最大比底物摄取速率,包括 k_m (最大比消耗速率)、 k_s (半饱和常数)、各种有

机酸的分配系数和生物转化系数。以氢气产量作为测量灵敏度的聚焦变量,敏感性指数 (SI) 定义如下:

$$SI = p \cdot \frac{\partial y}{\partial p} \quad (1.8)$$

表1 模型中葡萄糖光发酵过程中碳源代谢的生化反应过程

Table 1 The biochemical reaction process of carbon source metabolism during the photo-fermentation of glucose in the mode

生化反应过程	速率方程	
$C_6H_{12}O_6 + 3H_2O \rightarrow CH_3COOH + 3HCOOH + H_2 + 2CO_2$	$F_{su} \cdot (1 - Y_{su} - m_{su}) \cdot f_{for}$	R1
$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$	$F_{su} \cdot (1 - Y_{su} - m_{su}) \cdot f_{ac}$	R2
$1.5C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2COOH + CH_3COOH + CO_2 + H_2O$	$F_{su} \cdot (1 - Y_{su} - m_{su}) \cdot f_{pro}$	R3
$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2$	$F_{su} \cdot (1 - Y_{su} - m_{su}) \cdot f_{bu}$	R4
$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CHOHCOOH$	$F_{su} \cdot (1 - Y_{su} - m_{su}) \cdot f_{la}$	R5
$C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 6CO_2 + 12H_2$	$F_{su} \cdot (1 - Y_{su} - m_{su}) \cdot f_{H_2}$	R6
$HCOOH \rightarrow CO_2 + H_2$	$F_{for} \cdot (1 - Y_{for} - m_{for})$	R7
$CH_3COOH + 2H_2O \rightarrow 2CO_2 + 4H_2$	$F_{ac} \cdot X \cdot (1 - Y_{ac} - m_{ac})$	R8
$CH_3CH_2COOH + 4H_2O \rightarrow 3CO_2 + 7H_2$	$F_{bu} \cdot (1 - Y_{pro} - m_{pro})$	R9
$CH_3CH_2CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow 4CO_2 + 10H_2$	$F_{bu} \cdot (1 - Y_{bu} - m_{bu})$	R10
$CH_3CHOHCOOH + 3H_2O \rightarrow 3CO_2 + 6H_2$	$F_{la} \cdot (1 - Y_{la} - m_{la})$	R11
细菌生长和衰亡	$\sum_{i=1}^n F_i \cdot Y_i - K_{dec} \cdot X$	R12

式中 y 是氢气产量, p 是分析的参数。 SI 表示 p 变化 100% 时 y 的绝对变化。当 SI 值为正时, 表示参数 p 与目标变量 y 呈正相关; 否则, 它表现出负相关。

1.4 动力学模型参数测定

在本模型中, 假设每次光发酵过程都具有固定的化学计量系数和生物量产量, 这些系数是根据生物能量学和生化反应方程确定的, 如 Hassam 等人中所报道的。简而言之, 化学计量计算基于各自的半反应^[33], 不同的反应具有不同的反应速率以及产物合成、生物量合成和维持细胞代谢的比例系数。

本文以单一的有机酸为底物, 光合细菌 HY01 为单一产氢细菌, 进行光合产氢, 来计算不同有机酸下的摄取的动力学参数。根据实验拟合出的有机酸发酵的动力学模型系数, 进一步拟合以葡

萄糖为底物的光发酵动力学模型系数。

1.5 模型评价

拟合系数(R^2)是模型评价的重要指标, 用来评价模拟数据与实验数据的拟合程度。计算公式如式 1.9 所示:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - z_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i)^2} \quad (1.9)$$

式中: y_i 为实验值; z 为模拟值; R^2 取值范围在 0~1 之间, 数值越接近 1, 其拟合程度越高。在本文中拟合优度用于分析所得到的模型对于实验值的拟合情况, 得到拟合优度较高的模型。

2 结果与讨论

2.1 动力学参数的测定

如前所述,该模型考虑了发生的关键代谢反应,共包含12个生化反应和38个参数,直接使用葡萄糖发酵数据进行拟合会有很大的不稳定性。在本研究中使用两步法进行模型参数确定,分别用不同的酸为底物进行发酵,确定了有机酸的代谢模型,在此步骤共估算25个参数。在确定后利用糖发酵的实验数据估算剩余的13个参数。

2.1.1 有机酸光发酵的动力学参数

利用不同有机酸(甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、乳酸)获得的实验数据,采用非线性最小二乘法参数估计,估计了模型的主要动力学参数。根据不同有机酸盐的实验数据,估算不同的底物下的光发酵动力学常数(有机酸的最大比摄取率及半饱和常数),具体参数如下表所示。

图3展示了以不同有机酸为底物光发酵过程中的底物浓度变化,生物量浓度变化以及氢气产量的模拟和实际数据对比。在以甲酸为底物的发酵过程中,发现并没有产生氢气,甲酸却在缓慢消耗,所以甲酸除了维持光合细菌的基础代谢外,电子都被转移至光合细菌生物量增长的部分。*R. sphaeroides* HY01利用甲酸的最大比摄取率和半饱和常数分别为0.14 g/h和1 g/(g生物量·h),同时以乙酸为单一底物产氢效果较差,有55%的底物被用于光合细菌生物量的合

成,仅有40%的电子被转移至产氢路径。但是,乙酸最大比摄取率较高,达到0.14 g/h,可以快速提升光合细菌生物量,缩短光发酵周期。以丙酸,丁酸为底物时,大量电子被转移至产氢途径,产氢量均高于3000 mL H₂/L,但存在摄取速率较低,光合细菌生长缓慢,60 h才能结束光发酵。对比模拟结果和实验结果发现,该模型中可准确预测甲酸、乙酸、丙酸和乳酸的光发酵产氢过程,其浓度变化趋势、生物量变化趋势和产氢趋势的决定系数R²均大于0.96。在Maria提出的改进的制氢模型中报道的的乙酸,丙酸和丁酸的最大比摄取率应分别处于0.22-1.94、0.08-0.70和0.16-0.67 g/h,符合本模型估计的参数^[34]。

乳酸和乙醇是厌氧消化过程中的两种重要中间产物,通常被排除在ADM1模型之外。然而,这些代谢物在葡萄糖发酵过程中是重要的副产物,同时乳酸的电离常数相对较低,对pH值有很强的影响,因此,最好在ADM1模型中同时包含乳酸和乙醇^[25]。乳酸消耗的动力学参数, k_m 和 K_s 通过将模型拟合到实验结果来估计,发现 $k_m = 0.28$ g/h和 $K_s = 0.9$ g生物量·h。在Antonopoulou提出的ADM1模型中,发现乳酸消耗的最大比摄取率 k_m 分别为0.24 g/h,是本研究2.1倍。对这种差异的一个可能解释可能是两个反应系统的运行参数之间的差异,以及两种建模方法之间的差异。在实验条件下,接种物、pH值、底物

和初始底物浓度不同,从而影响代谢产物的平衡以及相关过程的速率。

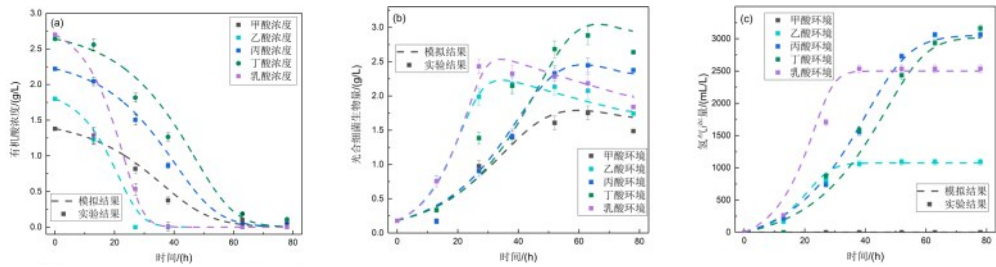


图3 以不同有机酸为底物时 (a) 底物浓度变化、(b) 生物量浓度变化以及 (c) 产氢量的模拟及实验值。

Fig. 3 Simulated and experimental values of (a) substrate concentration, (b) biomass concentration, and (c) hydrogen production using different organic acids as substrates.

表2 不同有机酸的发酵动力学模型参数数值以及拟合系数

Table 2 Parameter values and model fitting coefficients derived from the fermentation kinetics models using different organic acids as substrates.

参数	甲酸	乙酸	丙酸	丁酸	乳酸
K_s	1.00	0.95	1.20	1.00	0.90
K_m	0.14	0.25	0.15	0.12	0.28
Y	0.68	0.55	0.25	0.35	0.30
m	0.32	0.05	0.10	0.2	0.08
c	1.20	1.30	2.80	2.10	1.80
浓度 R^2	0.98	0.99	0.97	0.97	0.95
生物量 R^2	0.96	0.97	0.97	0.94	0.98
氢气 R^2	1.00	0.96	0.99	0.98	0.95

2.1.2 敏感性分析

敏感性分析结果如图4所示, 参数 $K_{m,su}$ 和 K_{dec} 表现出较高的SI值。 $K_{m,su}$ 和 $K_{s,su}$ 是决定产氢速率的主要参数, 分别表示光合细菌对底物的最大利用速率和微生物对底物的亲和力, 其与底物类

型、底物浓度及微生物种类密切相关^[14]。在发酵的前期阶段, $K_{m,su}$ 和 $K_{s,su}$ 对产氢量影响较大, Y_{su} 影响微生物生长, 从而间接影响产氢。在发酵中期, 产物分配对产氢量的影响逐渐增加; 微生物进入稳定期, 维持系数 m_{su} 对产氢几乎没有影响。由图4可见, 最大SI值出现在反应中后期(57 h), 随后迅速降低; 同时, 发现 K_{dec} 的SI是负值, 在反应后期达到最小值, 为-4.96, 其变化趋势与 $K_{m,su}$ 相反。除上述两个明显的灵敏度参数外, 与光发酵产氢过程的氢气分配系数, 随着反应时间的推移逐渐增大, 其中 f_{su,H_2} 的敏感性系数最大, 在80 h时达到了0.88。

2.1.3 葡萄糖光发酵动力学参数

葡萄糖的光发酵的过程非常复杂, 包含着高达38个动力学参数, 在完成单一有机酸光发酵的过程后, 确定了

25个参数后,通过对于葡萄糖在4000 lx的光强下进行光发酵产氢,来确定葡萄糖通过不同路径产氢的比例。与其他发酵制氢模型不同,采用相同的单动力学描述葡萄糖向乙酸盐、丙酸盐、丁酸盐、乙醇和乳酸盐转化,在本模型

中,假设光合细菌对不同代谢产物的消耗是通过不同的途径进行的,具有不同的单动力学速率。下表给出了模型拟合实验数据后使用的主要模型动力学常数。

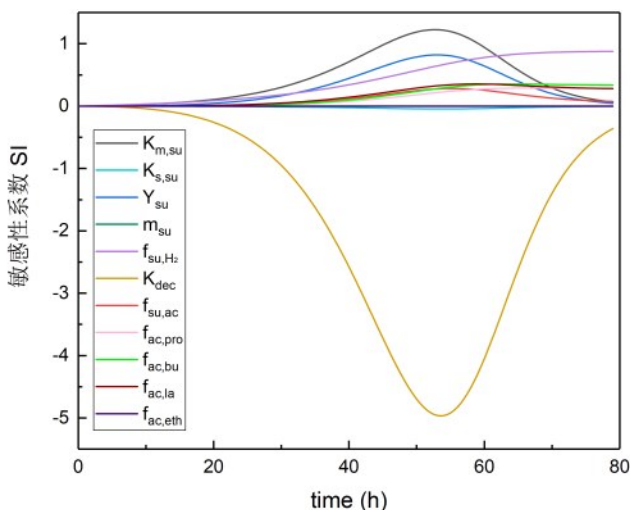


图4 基于绝对相对灵敏度分析的 $K_{m, su}$ 、 $K_{s, su}$ 、 Y_{su} 、 m_{su} 、 K_{dec} 和有机酸分配系数的灵敏度指数。

Figure 3 Based on an absolute relative sensitivity analysis, the sensitivity indices for the parameters $K_{m, su}$ 、 $K_{s, su}$ 、 Y_{su} 、 m_{su} 、 K_{dec} , and the organic acid distribution coefficients.

其中,比例系数的 i 由pH来决定:

$$i = \frac{7 - pH}{80} \quad (1.10)$$

2.2 模型验证

为了验证糖消耗动力学参数的估计值,使用不同浓度的葡萄糖进行批量实验获得的实验数据。初始葡萄糖浓度为0.04、0.03、0.02、0.01 M。

2.2.1 生长与产氢模型验证

以不同浓度葡萄糖为底物进行光发酵的产氢特性如图5所示。当葡萄糖浓度较低时,菌体生长迅速,但因营养不足,很快会进入稳定期并随后进入衰亡期,最终生物量较低;同时,产氢启动快,但总产氢量低,因为底物不足限制了菌体的总量和产氢的潜力。随着葡萄糖浓度的升高,发酵结束所残余的葡萄糖浓度在逐渐升高,是由于在光发酵过

程中会产生大量有机酸，pH 的降低会导致固氮酶活性的降低，从而导致底物利用不完全和大量有机酸的积累。

表3 葡萄糖光发酵发酵制氢动力学模型参数

Table 3 Kinetic model parameters for hydrogen production by glucose photo-fermentation

参数	定义	数值
$K_{s,su}$	葡萄糖半饱和常数 (g/L)	1.8
$K_{m,su}$	葡萄糖最大比消耗速率 (1/h)	0.23
Y_{su}	生物量得率系数 (g/g 葡萄糖)	0.21
m_{su}	生物维持系数 (1/h)	0.128
c_{su}	生物系数 (g/g 葡萄糖)	1.8
K_{dec}	生物死亡系数(g/h)	0.006
$f_{su,for}$	产甲酸比例	0.1
$f_{su,ac}$	产乙酸比例	0.01
$f_{su,pro}$	产丙酸比例	0.07+i
$f_{su,bu}$	产丁酸比例	0.03
$f_{su,la}$	产乳酸比例	0.1+i
$f_{su,eth}$	产乙醇比例	0.002
$f_{su,H2}$	产氢气比例	0.35-2i

该光发酵厌氧模型对葡萄糖发酵体系的模拟结果见图 5，各底物浓度、生物量和产氢量的预测曲线与实验值对应的 R^2 值在 0.96 ~ 0.99 之间，表明该模型对葡萄糖浓度变化、生物量浓度变化和产氢量具有较好的预测能力。

2.2.2 有机酸生产模型验证

葡萄糖的发酵产物不仅包括乙酸盐、丙酸盐、丁酸盐，还包括甲酸盐、乳酸盐和乙醇。这些发酵产物作为中间代谢产物，在一定条件下会被继续消耗用于生产氢气。除乙醇外，其余中间产物生成和消耗对于 pH 具有很强的影响。

有机酸的积累对于光合细菌的生长和代谢有很强的影响。Huang 等人通过热力学计算解释了有机酸生产的 pH 依赖性，随着 pH 的降低，葡萄糖生产丁酸盐和乙酸盐的自由能升高，导致产丁酸和乙酸的比例系数下降^[24]。该模型通过引入动态变化的产酸比例系数，更准确地刻画了发酵过程中各类有机酸的比例变化，所有有机酸的拟合系数均达到 0.88 以上。事实上，由于只考虑了 pH 对于比例系数的影响，在发酵过程中可能会出现光强和抑制物对于比例系数的影响等因素，这会导致酸浓度预测误差增大。

在高浓度葡萄糖发酵中，由于有机酸快速生产，pH 快速降低形成 pH 抑制现象，进一步导致有机酸的积累，该模型很好的预测了低 pH 情况下的光发酵产氢。如图 6 所示，模型的拟合系数保持在 0.92 以上。

2.2.3 模型适用性

本模型基于葡萄糖代谢路径构建，但其基于 Luedeking - Piret 模型的框架具有一定的通用性，在诸如底物分配、产酸产氢动力学、pH 和光强调控机制都具有一定的参考性。未来研究可考虑拓展至其他常见产氢底物，如果糖、蔗糖、甘油和有机废水等，但需要重新构建生化动力学模型。同时本次模拟的生化模型参数主要来源于 *R. sphaeroides* HY01 的实验数据，不同光合细菌在代谢特性、光适应能力、pH 耐受性等方面可能存在差异，对于不同的光合细菌

需要通过参数调整或引入菌种特异性因子才能够提高模型的预测精度。

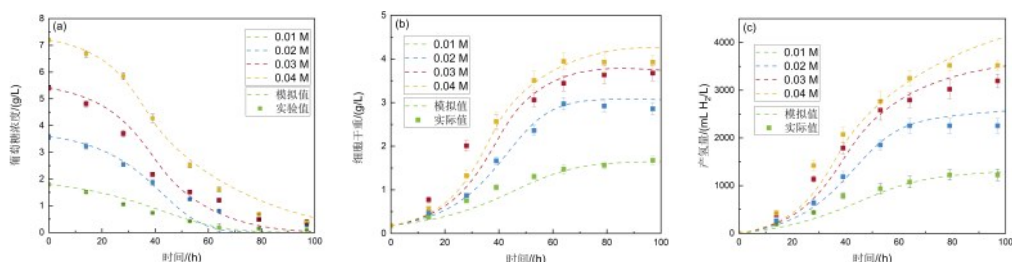


图5 以不同浓度葡萄糖为底物时 (a) 底物浓度变化、(b) 生物量浓度变化以及 (c) 产氢量的模拟及实验值

Figure 5 The simulated and experimental results for (a) substrate concentration, (b) biomass concentration, and (c) cumulative hydrogen production obtained using different initial glucose concentrations.

表4 不同浓度葡萄糖光发酵发酵制氢动力学模型拟合系数

Table 4 Model fitting coefficients for hydrogen production from glucose via photo-fermentation.

拟合系数 R^2	底物浓度	生物量	产氢量
0.01M	0.98	0.97	0.96
0.02M	0.98	0.96	0.98
0.03M	0.98	0.98	0.98
0.04M	0.98	0.99	0.99

2.2.4 最佳发酵条件

在光发酵制氢中, pH和光强是影响产氢效率的重要因素, 因此, 以0.03M的葡萄糖浓度为底物的情况下, 对光合细菌 *R.sphaeroides* HY01 的在不同的发酵条件进行了模拟, 结果如图7所示。由图7可知, pH对于光合细菌的产氢和生长有着十分重要的影响。pH在8左右时, 可获得最高的产氢量, 这是由于葡萄糖被代谢成为小分子有机

酸后, 导致发酵过程中的pH会下降, 而较高的pH可以缓解这种现象。但是过高或者过低的初始pH会直接导致光合细菌的死亡, 从而无法进行光合制氢。同时, 光强对于产氢和生长的影响也十分重要, 低光强下, 产氢量随着光强的增加而增加, 这是由于固氮酶活性增加, 维持其自身生理需要所需的代谢份额减少导致的。随着光强的进一步提高, 产氢速率明显降低, 这是由于过高的光强下发生了光饱和抑制作用, 使得固氮酶活性降低的结果^[31]。通过响应面拟合发酵数据, 可获得最佳的pH为8, 最佳的光强为5000 lx。

由图8可知, 实际产氢量为3582.5 mL/L, 较模拟结果低了10.2%, 生物量较模拟值低了8.89%, 表明该模型对于光合细菌产氢量和生物量的具有较好的预测效果。

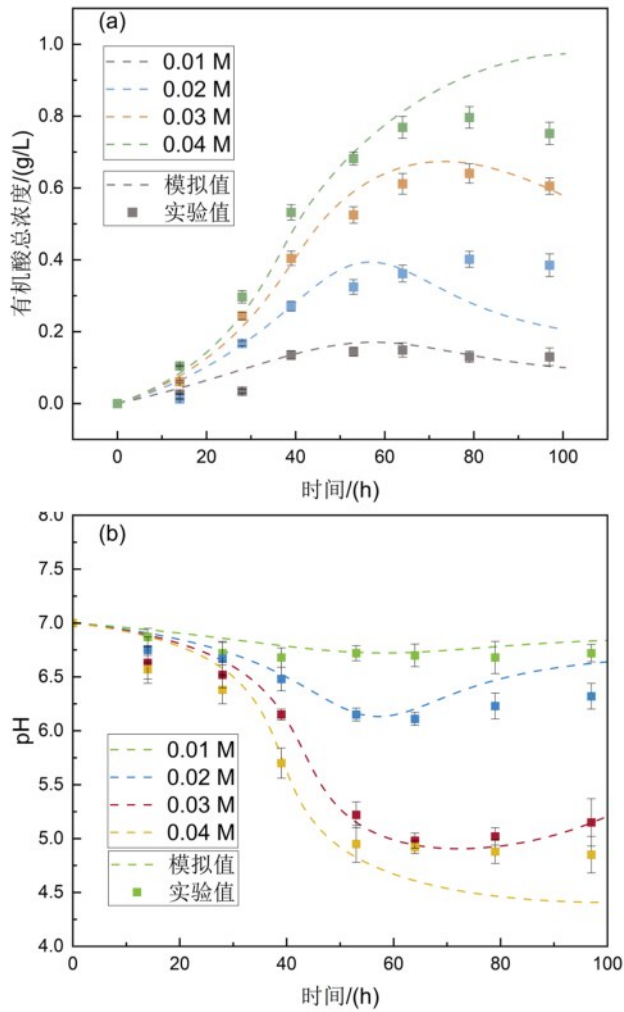


图6 以不同浓度葡萄糖为底物时 (a) 有机酸总含量以及 (b) pH变化的模拟及实验值

Figure 6 The simulation and experimental values of (a) total organic acid content and (b) pH change at varying initial glucose concentrations.

3 结论

本文基于 ADM1 模型和 Luedeking - Piret 模型, 在考虑了 pH 和光强对于产氢过程的影响下, 构建了光发酵产氢动力学模型, 并阐明了反应动力学和多

种发酵途径。得到主要结论如下。

(1) 通过两步法可快速构建葡萄糖的光发酵产氢模型, 先建立多种单一酸的厌氧消化模型, 通过拟合葡萄糖光发酵数据, 可快速估算动力学模型的参数。

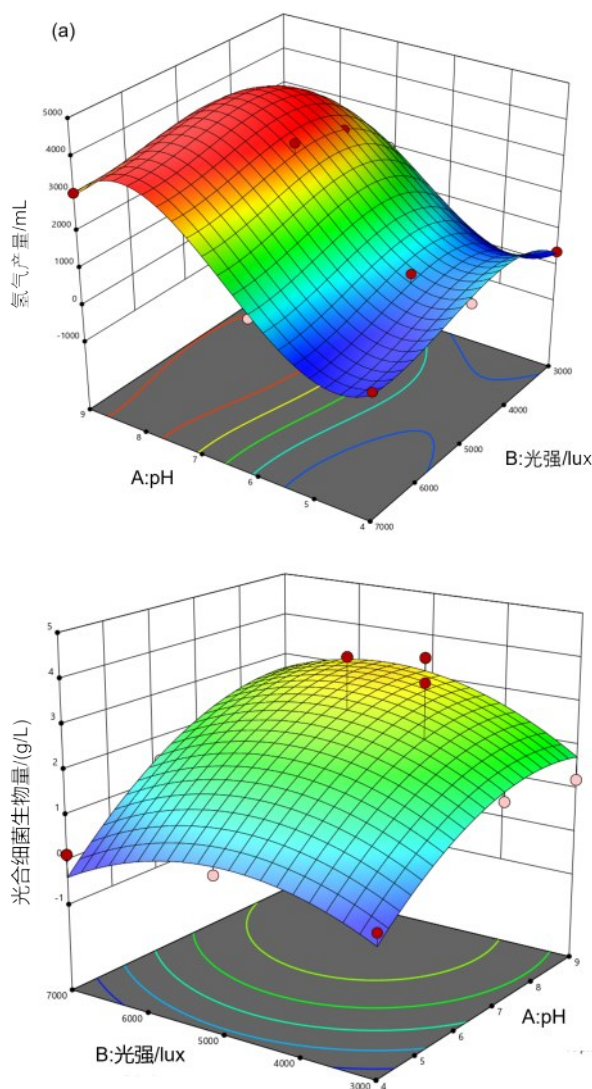


图7 pH和光强的影响下的光发酵模型的 (a) 产氢和 (b) 生物量响应曲面
Figure 7 Model Response Surfaces showing (a) Hydrogen Yield and (b) Biomass Concentration as functions of pH and Light Intensity.

(2) 建立的光发酵产氢模型通过光强和pH抑制因子, 成功提高了预测的准确性, 拟合系数范围为 0.96 到 0.99。结果表明, 修正模型可用于预测不同浓度葡萄糖运行条件下氢气和有机酸的

生产。

(3) 敏感性分析可得, 对光发酵产氢参数灵敏度分析表明, 动力学参数 $K_{m, su}$ 、 K_{dec} 和 f_{su, H_2} 是氢气生产最敏感的参数。

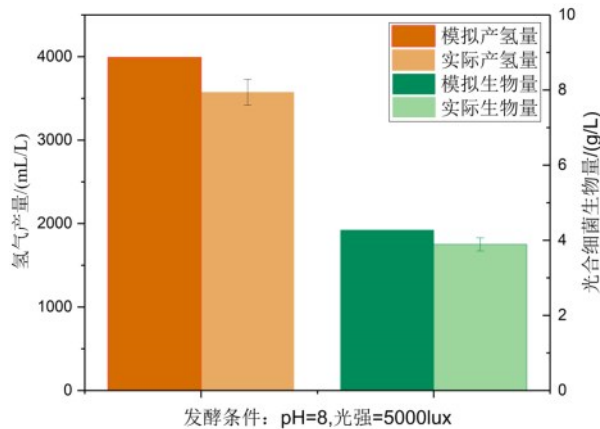


图8 最佳发酵条件下光发酵产氢量和生物量的模拟值和实验值

Figure 8 Comparison of Simulated and Experimental Values for Hydrogen Production and Biomass under Optimal Fermentation Conditions.

(4) 葡萄糖产酸途径会随着pH的波动而变化,通过建立可变的葡萄糖产酸比例系数可以提高对于有机酸浓度的预测。

参考文献

- [1] SHAHZAD S, ALRUMAYH O, ALMUTAIRI A, et al. Green hydrogen: A review of technological innovations, economic viability, and global prospects [J]. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 2026, 225.
- [2] 张明 史. 光合细菌光合产氢机理研究进展 [综述] [J]. *应用与环境生物学报*, 1999, (S1): 25-9.
- [3] 姜淑敏, 汪吉霞, 王悦佳, et al. 光合细菌产氢研究进展 [J]. *现代农业科技*, 2023, (19): 136-42.
- [4] 张凯, 王毅, 路朝阳, et al. 光照波长对HAU-M1 光合菌群产氢影响的研究 [J]. *太阳能学报*, 2021, 42(04): 10-5.
- [5] TIANG M F, HANIPA M A F, ABDUL P M, et al. Recent advanced biotechnological strategies to enhance photo-fermentative biohydrogen production by purple non-sulphur bacteria: An overview [J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2020, 45(24): 13211-30.
- [6] HU J, YANG H H, WANG X Q, et al. Strong pH dependence of hydrogen production from glucose by *Rhodobacter sphaeroides* [J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2020, 45(16): 9451-8.
- [7] 郝晓地, 金铭, 曹达啟. 厌氧消化数学模拟技术发展历程与应用现状 [J]. *中国给水排水*, 2016, 32(10): 1-10.
- [8] 荆艳艳, 李芳, 王毅, et al. 底物浓度对光合产氢过程动力学的影响 [J]. *河南科学*, 2020, 38(07): 1052-6.
- [9] 王毅, 张川, 荆艳艳, et al. 光合细菌混合菌群HAU-M1 产氢动力学实验研究 [J]. *太阳能学报*, 2016, 37(06): 1547-53.
- [10] YUAN X Z, SHI X S, ZHANG P D, et al. Anaerobic biohydrogen production from wheat stalk by mixed microflora: Kinetic model and particle size influence [J]. *Bio-*

- resource Technology, 2011, 102(19): 9007-12.
- [11] POLICASTRO G, LUONGO V, FRUNZO L, et al. A mechanistic mathematical model for photo fermentative hydrogen and polyhydroxybutyrate production [J]. Mathematical Biosciences and Engineering, 2023, 20(4): 7407-28.
- [12] SIVARAM A, MEHRDADFAR A, EULER C, et al. A dynamical model towards continuous single-cell cultivation using photobioreactors [J]. Chemical Engineering Science, 2025, 306.
- [13] 左剑恶 凌, 顾夏声. 厌氧消化 1 号模型 (ADM1) 简介 [J]. 环境科学研究, 2003, (01): 57-61.
- [14] BATSTONE D J, KELLER J, ANGELIDAKI I, et al. The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1) [J]. Water Science and Technology, 2002, 45 (10): 65-73.
- [15] 刘慧敏, 王进, 张勋, et al. 基于针铁矿强化乙酸产甲烷过程的 ADM1 模型修正与模拟研究 [J]. 环境科学研究, 2020, 33 (02): 455-64.
- [16] SONG Y C, KIM M, SHON H, et al. Modeling methane production in anaerobic forward osmosis bioreactor using a modified anaerobic digestion model No. 1 [J]. Bioresource Technology, 2018, 264: 211-8.
- [17] 曾创斌, 黄福川. 葡萄糖和蔗糖废水厌氧发酵制氢的 ADM1 模拟 [J]. 当代化工, 2025, 54(03): 705-10+30.
- [18] 白杰, 刘和, 殷波, et al. C/N 比调控污泥厌氧发酵产酸的数学模型研究 [J]. 中国环境科学, 2015, 35(11): 3303-9.
- [19] 吴云, 张代钧. 厨余垃圾厌氧消化产甲烷速率经验模型的修正研究 [J]. 中国环境科学, 2011, 31(05): 789-94.
- [20] RAZAVIARANI V, BUCHANAN I D. Calibration of the Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1) for steady-state anaerobic co-digestion of municipal wastewater sludge with restaurant grease trap waste [J]. Chemical Engineering Journal, 2015, 266: 91-9.
- [21] TULUHONG A, CHANG Q P, XIE L R, et al. Current Status of Green Hydrogen Production Technology: A Review [J]. Sustainability, 2024, 16(20).
- [22] NTAIKOU I, GAVALA H N, LYBERATOS G. Application of a modified Anaerobic Digestion Model 1 version for fermentative hydrogen production from sweet sorghum extract by *Rumino-coccus albus* [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2010, 35(8): 3423-32.
- [23] BULKOWSKA K, BIALOBRZEWSKI I, POKÓJ T. Kinetic modeling and optimization of biogas production from maize silage for sustainable energy systems [J]. Sustainable Energy Technologies and Assessments, 2025, 80.
- [24] HUANG L, PAN X R, WANG Y Z, et al. Modeling of acetate-type fermentation of sugar-containing wastewater under acidic pH conditions [J]. Bioresource Technology, 2018, 248: 148-55.
- [25] ANTONOPOULOU G, GAVALA H N, SKIADAS I V, et al. Modeling of fermentative hydrogen production from sweet sorghum extract based on modified ADM1 [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2012, 37(1): 191-208.
- [26] WANG J L, WAN W. Kinetic models for fermentative hydrogen production: A review [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2009, 34(8): 3313-23.

- [27] PARK J H, YOON J J, KUMAR G, et al. Effects of acclimation and pH on ammonia inhibition for mesophilic methanogenic microflora [J]. *Waste Management*, 2018, 80: 218-23.
- [28] GADO J E, KNOTTS M, SHAW A Y, et al. Machine learning prediction of enzyme optimum pH [J]. *Nature Machine Intelligence*, 2025, 7(5): 716-29.
- [29] POLICASTRO G, LUONGO V, FRUNZO L, et al. A comprehensive review of mathematical models of photo fermentation [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2021, 41(4): 628-48.
- [30] INFANTES D, DEL CAMPO A G, VILLASEÑOR J, et al. Kinetic model and study of the influence of pH, temperature and undissociated acids on acidogenic fermentation [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2012, 66: 66-72.
- [31] NABATEREGA R, NAZYAB B, ESKICIOGLU C. Modification and calibration of anaerobic digestion model 1 to simulate volatile fatty acids production during fermentation of municipal sludge [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2023, 194.
- [32] ALEXANDROPOULOU M, ANTONOPOULOU G, LYBERATOS G. A novel approach of modeling continuous dark hydrogen fermentation [J]. *Biore-source Technology*, 2018, 250: 784-92.
- [33] HASSAM S, FICARA E, LEVA A, et al. A generic and systematic procedure to derive a simplified model from the anaerobic digestion model No. 1 (ADM1) [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2015, 99: 193-203.
- [34] ALEXANDROPOULOU M, ANTONOPOULOU G, LYBERATOS G. Modeling of continuous dark fermentative hydrogen production in an anaerobic up-flow column bioreactor [J]. *Chemosphere*, 2022, 293.