

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ АНАЭРОБНОГО ПОЛУЧЕНИЯ БИОВОДОРОДА**В.В КОВАЛЕВ, О.В КОВАЛЕВА, В.А. БОБЕЙКА, В.Э. НЕННО, Г.Г. ДУКА***Научно-исследовательский центр прикладной и экологической химии*

A fost studiată influența substanțelor biologice active asupra cineticii de degajare în procesele de fermentare anaerobă a borhotului din producerea alcoolului. S-a stabilit rolul biohidrogenului în procesele de metanogeneză. Au fost determinate condițiile de stimulare a proceselor de obținere a hidrogenului molecular, condițiile de inhibare a stadiului metanogen pentru dezvoltarea tehnologiei de biohidrogen.

The influence of natural bioactive substances on the kinetics of gas evolving has been studied during the anaerobic fermentation of the distillery grains, the role of biohydrogen in the methanogenesis process was revealed, the conditions were determined for stimulation of the molecular hydrogen obtaining under the conditions of the methanogenic stage inhibition, in view of the development of the biohydrogen technology.

Введение

В связи с сокращением запасов на Земле сырьевых источников природного углеводородного топлива, в последние годы во всем мире предпринимаются усилия по поиску новых альтернативных, нетрадиционных источников энергии. Отходы сельскохозяйственного и перерабатывающих производств могут составить основу биологических процессов получения биогаза как эффективного источника энергии. Так, в Молдове действуют 32 спиртовых производства, на которых при получении 1 л спирта ректификата образуется 10-13 л барды. Ежегодно в окружающую среду сбрасываются десятки тысяч тонн токсичной барды, тогда как из этих отходов можно генерировать свыше 42 млн. м³/год биогаза.

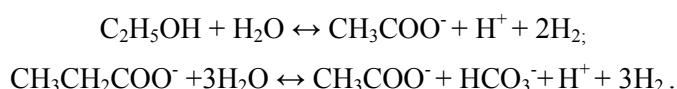
В последнее время особое внимание уделяется водородной энергетике, являющейся наиболее экологически чистой [1]. Водород считается многообещающим источником топлива с высоким энергетическим выходом (122 кДж/г). Как правило, сырьевым источником получения водорода является вода, которая практически полностью возвращается в природную среду после получения энергии в энергетических системах при сгорании водорода до конечного продукта воды [2]. Изыскиваются различные способы удешевления процессов электролиза воды [3]. Среди них – одна из наших разработок, включающая новые процессы и установки с использованием специальных объемно-пористых электродов с низким перенапряжением выделения водорода [4]. Достоинством этой разработки, в частности, является возможность получения чистого водорода и более низкие энергетические затраты. Более дешевым является биохимический путь получения водорода и метана, где сырьем является вода и разлагаемые органические отходы, а источником энергии служат газы, вырабатываемые микроорганизмами в процессе их жизнедеятельности.

В общем виде, микробиологический процесс, влияющий на состав биогаза, образующегося в результате брожения органического субстрата, можно представить исходя из условий [5], что продукты расщепления органического субстрата служат одновременно и донорами, и акцепторами водорода. В этих условиях клетка микроорганизмов избавляется от окисленного углерода, выделяя CO₂. Отдельные этапы окисления представляют собой процессы дегидрирования, при которых водород переносится на никотинамид аденин динуклеотид (NAD). При сбраживании углеводов и ряда других органических веществ образуются (по отдельности или в смеси) такие продукты, как этанол, лактат, пропионат, формиат, бутират, сукцинат, капронат, ацетат, *n*-бутанол, 2,3-бутандиол, ацетон, 2-пропанол, CO₂ и H₂. В этом случае акцепторами водорода, содержащегося в составе NADH₂, служат промежуточные продукты расщепления субстрата. При регенерации NAD последние восстанавливаются, а продукты восстановления выводятся из клетки.

Первые исследования анаэробных процессов, проведенные в начале XX века В.Л. Омелянским [6], выявили, что брожение биомассы не всегда начиналось с выделения метана, а задерживалось на стадии образования промежуточных соединений, при этом вместо метана образовывался водород, поэтому он назвал это брожение *водородным*. Он показал, что метановое брожение можно затормозить

и перевести его на выделение водорода. Так, в результате нагревания или под влиянием других факторов происходят изменения условий и снижение ферментативной активности возбудителей процесса метанового брожения, при этом микроорганизмы продолжают существовать за счет неполного разложения органических веществ. Метанобразующие бактерии при этом не погибают, а лишь частично или временно утрачивают свою ферментативную активность. В дальнейшем, когда процесс становится интенсивным, водородное брожение затухает и происходит выделение метана.

Описание особенностей этих процессов, в зависимости от многих факторов и механизмов их протекания, нашло отражение во многих исследованиях. Отмечается [7,8], что водород является сопутствующим элементом во многих биохимических реакциях. В метаногенной технологии он выделяется на ацетогенной стадии брожения. Ацетогенные бактерии, которые составляют относительно небольшую группу, среди которых можно отметить *Methanobacillus omelianskii*, в процессе метаногенеза расщепляют спирты и жирные кислоты с образованием уксусной кислоты, водорода и углекислого газа:



Вместе с тем, было отмечено [9], что накопление водорода в составе биогаза, превышающее 1 %, ингибирует метаногенное брожение и выделение метана. Результатом быстрого аккумуляирования H_2 в биогазе объясняют, в частности, технологические сложности увеличения содержания в нем метана более чем на 70% [10,11]. Этим же объясняется относительно низкое содержание водорода в составе биогаза.

Однако преимущества биохимической водородной технологии делают необходимыми поиски новых путей преодоления трудностей, возникающих при получении водорода.

Стимулирующим фактором для развития этой технологии является дешевизна биохимических процессов по отношению к другим, наличие недорогого возобновляемого растительного сырья и производственных отходов и снижение зависимости от ископаемых видов топлива, а также получение энергоносителя с суммарным нулевым выбросом парниковых газов. Развитие биохимической водородной технологии связано также с необходимостью решения других смежных проблем, таких как необходимость увеличения содержания водорода в составе биогаза, интенсификации процесса выделения водорода и определения путей управления этим процессом, оптимизации конструкций биореакторов, создания эффективных и недорогих систем очистки биоводорода, безопасных систем его хранения и распределения, а также совершенствования топливных элементов. Имеется ряд сообщений об успехах в этой области [9], однако, несмотря на высокую перспективность этой технологии, в настоящее время производство биоводорода не вышло за пределы опытных (пилотных) установок, а технология требует дальнейшего развития и совершенствования [12].

Наши предыдущие исследования по влиянию природных биологически активных веществ на процессы биогазовой технологии при анаэробном сбраживании биомассы [13] выявили новый подход к решению этих проблем. Так, некоторые из исследованных нами соединений изопреноидной природы (сквален, бетулинол и другие) позволили увеличить в 2-3 раза производительность процессов анаэробного сбраживания и содержание метана до 90 % и более в составе биогаза, что является существенным. В то же время некоторые соединения этого класса, в зависимости от их молекулярного строения и функциональных групп, наоборот, ингибировали метаногенный процесс, направляя его в сторону водородного брожения и выделения биоводорода [14]. Перспективность этого направления предопределила постановку специальных исследований.

Материалы и методы исследований

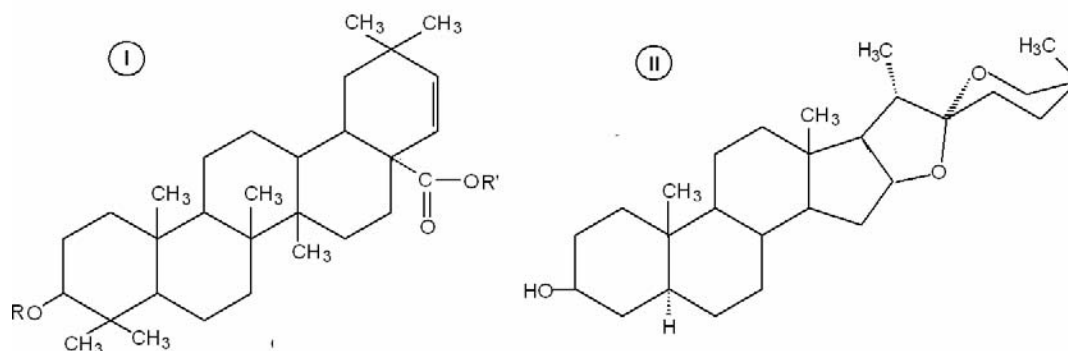
Изучение влияния биологически активных веществ на процесс метаногенеза проводили на специально разработанной установке, описанной нами в [13]. Для исследований была взята послеспиртовая барда от переработки некондиционного зерна следующего химического состава [14], в %:

Растительные вещества	0,51 ÷ 0,53
Фурфурол и оксиметилфурфурол	0,0645 ÷ 0,067
Органические кислоты, включая левулиновую кислоту	0,932 ÷ 1,071
Абсолютно сухие вещества	1,46 ÷ 1,49

Моносахариды, арабиноза, ксилоза	0,856±0,071
Альдегиды	0,3 ÷ 0,5
ХПК (химическое потребление кислорода), мг/дм ³	22333 ÷ 23040
БПК (биологическое потребление кислорода), мг/дм ³	18300 ÷ 19233

Влияние биологически активных веществ (БАВ) на биохимический процесс оценивалось по изменению скорости выделения биогаза и содержанию в нем водорода. Исследовалось их влияние на стимулирование микробиологической активности для ускорения биохимических процессов и повышения выхода биогаза, а также их селективное действие для управления процессом выделения биогаза. БАВ выбирали из числа природных соединений растительного происхождения, с учетом их биологической активности, простоты экстракционного выделения и доступности сырья. В качестве *стимулирующих микродобавок* из класса биологически активных растительных веществ использовали соединения изопреноидной структуры. Их достоинством является возможность ввода микроколичеств в пределах $10^{-3} \dots 10^{-5}$ масс.% в состав обрабатываемой биомассы. При этом, процесс селективного получения молекулярного водорода проводили при pH = 7,2 -7,5 в мезофильных условиях при 33 ± 2 °C, при перемешивании биомассы и непрерывном отводе водорода из биореактора.

Для исследования были взяты природные соединения [15]: гипсогенин (или гликозиды гипсогенина, где R и R' – H, или углеводные функциональные группы) (I), и сапонин неотигогенина – стероид C₂₇-спиростанового ряда (II) со следующими структурными формулами, соответственно:



Гипсогенин является белым и слабо-жёлтым порошкообразным веществом, состоящим из смеси тритерпеновых гликозидов корней растений (ботанических видов) рода *Gypsophila*. Обладает многими физиологическими свойствами и применяется в медицине. Сапонин содержится во многих видах растений рода *Jussiaea*, имеющих ареал распространения в субтропических и тропических зонах и культивируемых во всех частях земли, к примеру – в томатах, и извлекается экстракцией. Из растительного сырья гипсозид выделяется экстракцией водно-спиртовой смесью.

Состав образующегося биогаза определяли газохроматографическим методом на анализаторе марки «Газохром-3101» в аналитической лаборатории Экологического Агентства Минэкологии Молдовы*.

Результаты исследований и их обсуждение

Кинетика начальных стадий процесса анаэробного сбраживания барды. Исследование процесса анаэробного брожения исходной барды в отсутствие биологически активных веществ (БАВ) свидетельствует о достаточно сложном сочетании различных биохимических редокс-процессов.

Как свидетельствуют данные (рис.1), полученные на основе газохроматографических исследований количественного состава выделяющегося биогаза, кинетика биохимического процесса в отсутствие БАВ после его инокуляции характеризуется первоначальным выделением водорода, содержание которого в выделяющемся биогазе постепенно возрастает до максимума 7-10% через 4-6 суток, остальное составляет CO₂.

Затем количество биоводорода начинает снижаться, и в составе биогаза появляется угарный газ (CO), содержание которого на 9-11 сутки процесса также проходит через максимум (около 7%). И только на третьей стадии процесса (через 10-12 суток), по мере снижения содержания H₂ и CO, в составе биогаза появляется метан, количество которого в газе постепенно возрастает и через 16-20

* Авторы выражают благодарность инж. И. Драгуцану за проведение анализов биогаза.

суток стабилизируется на уровне 62-65%. При этом биологически потребляемый кислород (БПК) обрабатываемой среды снижается в биореакторах с 23200 мгО₂/л до 2500-2800 мгО₂/л.

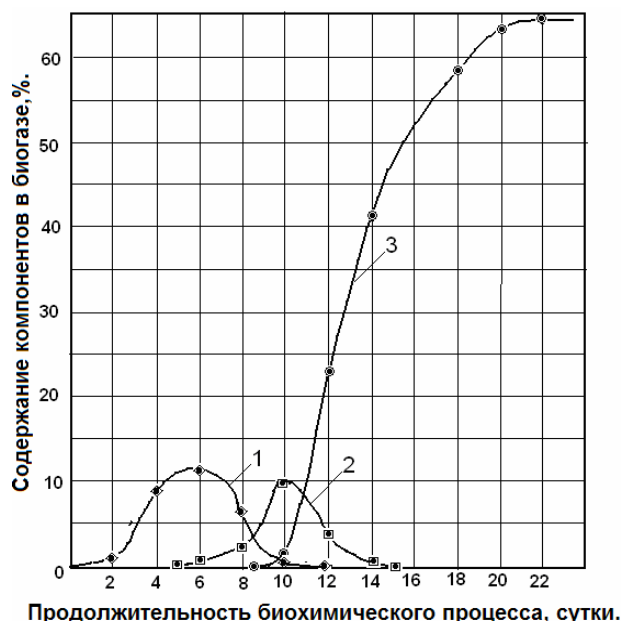
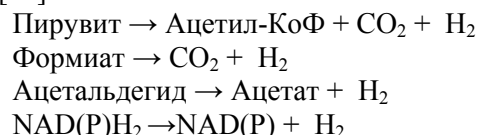


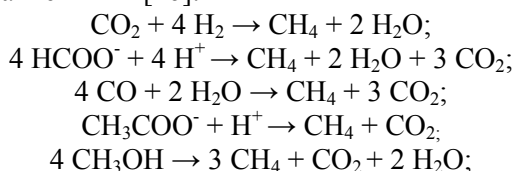
Рис.1. Изменение состава выделяющегося водорода (крив.1), монооксида углерода (кривая 2) и метана (крив.3) в составе биогаза с течением времени анаэробного сбраживания исходной зерновой барды спиртового производства.

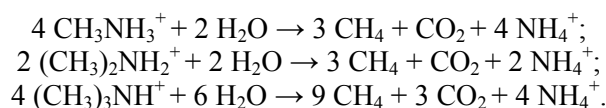
Эти процессы, протекающие в анаэробных условиях на первоначальной ацетогенной стадии биохимических реакций, можно связать с образованием промежуточных продуктов брожения – пирувата, формиата, ацетальдегида и восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфатов (NAD(P)H₂). В результате, консорциум микроорганизмов способен при брожении восстанавливать протоны, избавляясь от избытка восстановителя. В результате происходит выделение водорода (H₂) и CO₂ согласно схемам [16]:



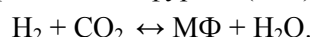
При этом выделение водорода катализируется одновременно двумя ферментами: гидрогеназой и специфической СО-гидрогеназой. В связи с этим, в отсутствие конечного акцептора электронов (кислорода, нитратов и нитритов и др.), начинает выделяться угарный газ (СО). Для протекания этих реакций анаэробного брожения консорциум бактерий использует органические соединения. Среди их представителей найдено 25% родов бактерий, таких как *Escherichia coli*, а также патогенные для человека бактерии *Salmonella*, представленных в определителе бактерий Берги. Наряду с выделением водорода часть высвобожденной энергии, выделяющейся в процессах брожения органического вещества, расходуется на образование других побочных продуктов, среди которых уксусная кислота, обуславливающая некоторое смещение рН среды в кислую сторону.

Затем, по мере развития биохимического процесса происходит метаногенная трансформация CO₂ и водорода с другими промежуточными соединениями с выделением метана, выход которого становится превалирующим. В процессах метанообразования бактерии используют ограниченное количество субстратов, среди которых самым важным является ацетат (до 75 %), а также углекислый газ, формиат, метанол, метиламины, окись углерода. Протекающие биохимические процессы могут быть представлены следующими уравнениями [16]:





Другие углеродные соединения процесс роста метаногенных бактерий не поддерживают. При этом до 90-95% используемого углерода они трансформируют в метан, остальная часть расходуется на рост биомассы. Согласно данным изотопного анализа, было установлено, что при восстановлении CO_2 принимает участие его молекулярная форма, а не карбонат-ионы, а водород для образования молекул метана микроорганизмы получают из воды. Первичной стадией этого процесса является их взаимодействие, стимулированное бактериями *Mb.Termoautotrophicum*, с образованием промежуточных соединений – метанофурана и формилметанофурана (МФ):



Под влиянием большого количества метаногенов CO_2 восстанавливается до CH_4 , при этом расход биомассы варьирует от 1,6 до 2,7 г сухого веса на 1 моль CH_4 для организмов, которые растут только на H_2 и CO_2 . Другие микроорганизмы, такие как *Mb.formicicum* и *Ms.barkeri*, дают более высокий выход метана, составляющий 3,5 и 6,4-8,7 г/моль, соответственно.

Термодинамически эти реакции протекают более эффективно при удалении водорода, осуществляемом метаногенными бактериями. Значения парциального давления водорода, выше которого деятельность ацетогенных микроорганизмов прекращается, находятся (для разных соединений) в пределах от $9,10^{-5}$ атм до 0,15 атм. Таким образом, низкое парциальное давление водорода является необходимой предпосылкой для оптимального функционирования анаэробных микробных систем и конверсии ацетата в метан. Одной из причин этого является то, что водород ингибирует рост чистых культур метаногенов, использующих ацетат, так как ацетокластическая реакция является менее энергетически выгодной, чем восстановление CO_2 водородом.

Влияния биологически активных веществ на выделение биоводорода Учитывая характер влияния БАВ на дегидрогеназную активность, проведены исследования процессов в присутствии добавок, ингибирующих метаногенез и стимулирующих биохимическое выделение биоводорода. Эти процессы представляют практическую важность для развития биоводородной энергетики [17, 18].

Как следует из полученных экспериментальных данных (рис.2), в присутствии добавок гипсозида и спиростана содержание водорода в течение первых 10 суток нарастало и достигло значений 67,8 и 40,2% для гипсозида и спиростана соответственно.



Рис.2. Изменение содержания водорода в составе биогаза в присутствии БАВ, $5 \cdot 10^{-3}$ масс.%.
1 – гипсозид; 2 – спиростан.

Следует отметить, что, в отличие от данных по исследованию кинетики процесса в отсутствие БАВ, выделение водорода не приводит к большому снижению БПК: значение БПК в этих условиях за 24 суток изменилось с 23200 $\text{мгO}_2/\text{л}$ лишь до 19500 $\text{мгO}_2/\text{л}$. Оценка баланса количества выделенного водорода и элементов органических соединений в биомассе явно свидетельствует в пользу того, что отщепление водорода происходит не столько вследствие их биохимического расщепления и минерализации органических веществ, а преимущественно с участием атомов водорода молекул воды в этом процессе.

Объяснение механизма действия таких биологически активных добавок с изопреноидной молекулярной структурой связано, по-видимому, с селективным ингибированием деятельности метаногенных бактерий, которые снижают активность дегидрогеназы. В связи с этим водород, который в отсутствие БАВ используется метаногенами для выделения метана, переориентируется на выделение в молекулярной форме.

Одна из основных биохимических реакций, связанных с выделением водорода в результате так называемой *шифт*-реакции (т.е. реакции конверсии), обусловлена протеканием в биохимических условиях взаимодействия СО с молекулами воды по уравнению: $\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2$. Микроорганизмы в данном случае используют эту реакцию для дополнительного получения энергии. По мере развития биохимического процесса, количество выделяющегося СО в составе биогаза сокращается, вплоть до его полного отсутствия, в результате его взаимодействия с молекулами воды, и начинает выделяться только водород.

Ингибирующая способность предложенных изопреноидных соединений в качестве стабилизаторов биоводородного процесса заключается, по-видимому, в сильной ненасыщенности их молекул, структура которых характеризуется наличием двойных связей: (до двух-трех в молекулах монотерпеноидов и до семи-восьми – в тетратерпеноидах (каратеноидах)). Другой особенностью является разнообразие циклических структур: от 1 цикла до 5-6 циклов в структуре их молекул в различных сочетаниях: сочлененных, конденсированных, трех-, пяти- и шестичленных циклов и гетероциклов, содержащих кислород.

Еще одной особенностью молекулярного строения изопреноидов является сочетание в одной и той же молекуле различных функциональных групп и структурных группировок, например в спирокетальной группировке – стероидных сапогенинов. Благодаря такому разнообразию химических структурных элементов, соединения предложенных нами биологически активных добавок из класса растительных веществ изопреноидной природы выполняют роль переносчиков кислорода и электронов в биохимических процессах, а также способствуют проявлению мембранотропной активности, способствующей изменению проницаемости мембран микроорганизмов и их электрического потенциала. В свою очередь, изменение проницаемости клеточных мембран приводит к нарушению гомеостаза клеток микроорганизмов, вследствие чего некоторые органеллы и ферменты утрачивают свои функции, которые в процессах метаногенного брожения приостанавливают функционирование гидрогеназ и ингибируют процесс метаногенеза, что приводит к переориентации процесса метанообразования на конверсию СО и H_2O для выделения молекулярного биоводорода. При этом, только 20% биомассы используется в биоводородной технологии, остальное количество биоводорода выделяется из молекул воды по вышеприведенной *шифт*-реакции.

Вследствие этого, основным источником получаемого молекулярного биоводорода является вода, так как до 80% энергии биомассы не используется в этом процессе. Поэтому целесообразно проводить биохимический процесс в две стадии: на первой стадии осуществлять стабилизированный процесс получения биоводорода, поддерживая концентрацию стимулирующих микродобавок на оптимальном уровне, а на второй стадии процесса, для более полного использования энергии биомассы, переключить работу биореактора на метаногенный биохимический процесс для получения биометана по известной технологии, и этот процесс проводить в отдельном биореакторе.

Таким образом, вводимые в биомассу барды в процессе ее анаэробного сбраживания биологически активные добавки из класса растительных веществ изопреноидной природы избирательно снижают активность дегидрогеназы, ингибируют работу метаногенных микроорганизмов и предотвращают развитие метаногенного процесса ферментации. В этих условиях процесс ферментации избирательно переключается на реакции, связанные с биохимическим взаимодействием первоначально образующегося СО с молекулами воды по схеме: $\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2 + \text{CO}_2$, а также и на другие реакции, которые обеспечивают преимущественное выделение биоводорода. При этом за счет торможения процессов метаногенеза практически происходит полное прекращение выделения метана. Источником получаемого водорода является главным образом вода и в меньшей степени – органический субстрат. В суммарном биохимическом процессе не используемый в этих условиях метаногенами водород выделяется в свободном молекулярном виде (H_2) в повышенных количествах. Более того, в этих условиях более активизируется часть консорциума микроорганизмов, ответственных за реакции биохимического выделения водорода, способствуя повышению общей эффективности этих процессов.

Таким образом, повышается производительность процесса биохимического получения молекулярного биоводорода и его выход в составе биогаза увеличивается почти до 70 %. Использование органического субстрата, содержащегося в составе барды ввиду дистилляции виноматериалов и спиртоперегонки, удешевляет процесс его биохимического получения. Стабилизация процесса выделения водорода в этом случае может быть достигнута поддержанием концентрации предложенных БАВ на заданном уровне.

Следует отметить, что выделяющийся в биореакторе молекулярный водород блокирует активность микроорганизмов, поэтому при разработке биореакторов необходимо предпринять соответствующие меры по интенсификации процессов массообмена и массопереноса и непрерывного отвода из реакторов повышенных количеств биоводорода.

Получаемый биоводород составляет 50-70% содержания его в биогазе, остальное – преимущественно CO_2 , может использоваться в своем исходном состоянии без специальной подготовки как эффективное энергетическое средство для получения тепловой и электрической энергии посредством промышленных когенерационных установок, либо как газовое топливо для автомобильного транспорта, а также в качестве сырьевой базы в химической промышленности. Получаемый биоводород, после его очистки от примесей других газов (CO_2 , CO , H_2S), можно также применять для энергетических топливных элементов.

Выводы

1. Изучены особенности кинетики ацетогенного и метаногенного процессов биохимического сбраживания послеспиртовой барды, выявлены условия формирования водорода до 7-10 об.% на первичной стадии, количество которого затем снижается и параллельно начинается выделение угарного газа (CO), с последующим развитием метаногенной стадии, результатом которой является взаимодействие H_2 и CO с выделением биометана до 62-65 об.%, при одновременном снижении на порядок значений ХПК и БПК.

2. Рассмотрен механизм процессов, связанных с образованием промежуточных продуктов, при которых консорциум микроорганизмов способен при брожении восстанавливать протоны, избавляясь от избытка восстановителя, в результате чего на первой стадии происходит выделение H_2 и CO_2 .

3. Обнаружено, что при введении микроколичеств изопреноидных соединений, структура которых характеризуется ненасыщенностью их молекул и наличием в их молекулах двойных связей, стабилизирует биоводородный процесс, в результате чего содержание молекулярного водорода в течение первых 10 суток достигает значений 67,8 и 40,2% для гипсозида и спиростана, соответственно. В этих условиях метаногенный процесс ингибируется и выделение метана не происходит. На основе структурных характеристик стимулирующих БАВ и их ингибирующего воздействия на метаногенные микроорганизмы, предложен механизм стабилизации процесса биоводородной технологии.

4. Установлено, что только 20% биомассы используется в биоводородной технологии, остальное количество биоводорода в биохимических условиях выделяется из молекул воды за счет взаимодействия CO с молекулами воды по *шифт*-реакции: $\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2$, при этом до 80 % биомассы в этом процессе не участвует. В связи с этим, предложено проведение биохимического процесса сбраживания барды в две стадии, на первой стадии которого в отдельном биореакторе осуществлять стабилизированный процесс получения биоводорода, а для более полного использования энергии биомассы на второй стадии, проводимой в следующем биореакторе, переключить его работу на метаногенный биохимический процесс для получения биометана, что обеспечивает более высокую эффективность этого процесса.

Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке Фонда STCU # 5393 и Государственной Программы по науке и инновациям 11.820.08.93.STCU.A/5393 "Combined Bioreactor with Useful Products and High Efficiency of Biomethane as Alternative Energy Source".

Литература:

1. Das D, Veziroglu T.N. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature // International Journal of Hydrogen Energy, vol.26, Issue 1, 2001, p.13-28.
2. Ковалев В.В., Унгурияну Д.В., Ковалева О.В. Теоретические и практические аспекты совершенствования процессов биогазовой технологии // Проблемы региональной энергетики, 2012, №1.
3. INTERNET: WO 2009-101528 din 2009.08.20 Method for ecologising food industry technologies and a system for carrying out said method.
4. Ковалев В.В., Ковалева О.В., Дука Г.Г., Иванов М.В. Совершенствование электрохимических процессов для водородной энергетики // Проблемы региональной энергетики, 2011, №1, с.3-15.
5. Шлегель Г. Общая микробиология / Пер. с нем. – Москва: Мир, 1987, с.194-197.
6. Никитин Г.А. Метановое брожение в биотехнологии. - Киев: Выща школа, 1990, с.15-16.
7. Добрынина О.М., Калинина Е.В. Технологические аспекты получения биогаза // Вестник Пермского государственного технического университета: Охрана окружающей среды, транспорт, безопасность жизнедеятельности, 2010, №2, с. 33-40.
8. Корзникова М.В., Блохин А.Ю., Козлов Ю.П. Оценка степени конверсии органического вещества отходов животноводства и птицеводства в биогаз (на примере РФ) // Вестник ВГУ. Серия: химия, биология, фармацевтика, 2008, №2, с.108-111.
9. Шеина О.А., Сысоев В.А. Биохимия процесса производства биогаза как альтернативного источника энергии // Вестник ТГУ, 2009, т.14, вып.1, с. 73-76.
10. Speece R.E. Anaerobic Biotechnology. - Tennessee: Published by Archae Press, USA, 1996. -393p.
11. Heckey R.F., Vanderwielen J. and Switzenbaum M.S. The Effect of Organic Toxicants on Methane Production and Hidrogen Gas levels Duing tht Anaerobic Digestion of Waste Activated Sludge // Wat.Res., vol.21, 1987, p.1417.
12. Марков С.А. Биоводород: Возможное использование водорослей и бактерий для получения молекулярного водорода // Sc.J. for Alternative Energy and Ecology, 2007, no.1(45), p.30-35.
13. Стимулирование процессов метаногенного брожения жидких органических отходов / Ковалев В.В., Ненно В.Э., Бобейка В.А., Сеньковская И.А., Ковалева О.В., Унгурияну Д.В. // Studia Universitatis, Seria: Științe reale și ale naturii, 2012, no1(51).
14. ИНТЕРНЕТ: badus.ru/...etilovogo.../ximicheskiie-sostav-poslespirtovoie-bardi.htm
15. Cerere pentru brevetarea MD №2012-0010 din 23.01.2012. Procedeu pentru obținere anaerobă a hidrogenului molecular din biomasa. Autorii: V.Covaliov, V.Bobeica, O.Covaliova, V.Nenno, Gh.Duca, D.Ungureanu.
16. Калюжный С.В., Пузанков А.Г., Варфоломеев С.Д. Биогаз: Проблемы и решения // Биотехнология, 1988, т.21, М: ВИНТИ. - 190 с.
17. Цыганков Ф.Ф. Получение водорода биологическим путем // Ж. Рос. Хим. об-ва им. Д.И.Менделеева, 2006, т.L, №6, с.26-33.
18. Percival Zhang Y.-H., Evans B.R., Mielenz J.R., Horkins R.C., Adams M.W.W.. High-Yield Hidrogen Production from Starch and Water by a Syntetic Enzymatic Pathway// Internet: www.plosone.org/article/fetRArticle.ction?article URI=info:doi/101371/journal.pone.0000456.

Prezentat la 07.03.2012