

**MONIKA SUCHOWSKA-KISIELEWICZ,  
SYLWIA MYSZOGRAJ\***

**PRODUKCJA BIOWODORU  
W PROCESACH BIOLOGICZNYCH**

*Streszczenie*

*Badania prowadzone w ciągu dwóch ostatnich dziesięcioleci dają obiecującą perspektywę produkcji biowodoru. Jednak z punktu widzenia ekonomii procesu jego wydajność musi być znacząco zwiększona. Celem badań powinno być poszukiwanie nowych metod umożliwiających odzysk wodoru z substratów organicznych na jak najwyższym poziomie. Produkcja biowodoru na drodze fermentacji jest wskazywana najczęściej, jako najbardziej efektywna metoda jego pozyskiwania.*

Słowa kluczowe: produkcja biowodoru, fermentacja, biofotoliza, fotosynteza anoksygenowa

**WPROWADZENIE**

W ostatniej dekadzie rozważano możliwość wykorzystania wodoru jako źródła energii bezpiecznej dla środowiska. Wodór magazynuje dużą ilość energii chemicznej w przeliczeniu na jednostkę masy (142 MJ/kg), którą można uwolnić, bez emisji ubocznych produktów spalania do atmosfery. Duże zainteresowanie pozyskiwaniem energii z wodoru związane jest przede wszystkim z [Tenca i in. 2011, Wei i in. 2009]:

- zmniejszeniem wykorzystywania paliw kopalnianych, jako podstawowego źródła energii oraz emisji gazów cieplarnianych,
- zwiększeniem udziału surowców odnawialnych w ogólnym bilansie surowcowym – zwiększenie bezpieczeństwa energetycznego,
- brakiem niekorzystnych produktów spalania (ostatecznym produktem spalania jest woda),
- wykorzystywaniem biopaliw zgodnie z polityką zrównoważonego rozwoju,
- wysoką efektywnością biokonwersji wodoru w ogniwach paliwowych (na poziomie 45-60%),

- przetwarzaniem odpadów organicznych do produktu mniej uciążliwego dla środowiska,
- stosowaniem recyklingu ekologicznego.

Obecnie jest wiele metod stosowanych do produkcji biowodoru, które różnią się efektywnością i energochłonnością.

Pozyskiwanie biowodoru na drodze biologicznej w porównaniu z innymi metodami jest najbardziej uzasadnione ekonomicznie. Stąd, wielu naukowców prowadzi intensywnie badania nad pozyskiwaniem wodoru przy wykorzystaniu metabolicznych szlaków mikroorganizmów.

Podstawowym wyzwaniem związanym z pozyskiwaniem wodoru na drodze biologicznej jest zwiększenie efektywności tych przemian. Produkcja biowodoru w wyniku procesów biochemicznych w istniejących rozwiązaniach technicznych umożliwia odzysk biowodoru na poziomie około 30% [Show i in. 2011]. Z punktu widzenia opłacalności procesu efektywność ta musi być znacząco zwiększona. Jest to możliwe dzięki przetworzeniu substratów wykorzystywanych do produkcji biowodoru do postaci łatwo-przyswajalnej przez mikroorganizmy biorące udział w procesie.

Obecnie badania produkcji wodoru na drodze biologicznej obejmują procesy: biofotolizy wody przy udziale glonów i cyjanobakterii, fotorozkładu materii organicznej przy użyciu bakterii fotosyntezujących (fotosynteza anoksygenowa) i beztlenowej fermentacji. Procesy te stosowane są najczęściej w układach: fermentacja kwaśna + fotosynteza anoksygenowa i fermentacja kwaśna + fermentacja mezofilowa [Show i in. 2011].

Produkcję wodoru przy udziale mikroorganizmów można podzielić na dwie kategorie: na produkcję biowodoru przy udziale mikroorganizmów, które do przemian metabolicznych wykorzystują energię świetlną (fotoliza i fotosynteza anoksygenowa) oraz energię chemiczną (fermentacja mezo- i termofilowa).

### BIOFOTOLIZA

Biofotoliza jest procesem, w którym produkcja biowodoru przebiega przy współudziale glonów i cyjanobakterii. Polega on na rozkładzie wody na wodór i tlen zgodnie z reakcją [Sikora 2008]:



Podczas produkcji biowodoru na drodze biofotolizy wymaga jest odpowiednia ilości światła, które pochłaniane jest przez transbłonkowy kompleks polipeptydów (fotosystem II) katalizujący transport pobranych z wody elektronów. Elektrony pobierane z wody przenoszone są do plastochinolu, następnie za pośrednictwem cytochromu *bf* do plastocyjaniny i dalej przez inny transbłonkowy

kompleks polipeptydów (fotosystem I) do ferredoksyny. Po zredukowaniu ferrodoksyny elektrony odbierane są przez hydrogenazę – enzym białkowy, który po redukcji protonów uwalnia wodór [Show i in. 2011, Sikora 2008, Turner i in. 2008].

Czynnikiem inhibitującym hydrogenazę jest tlen powstający podczas rozkładu wody [Kapdan i in. 2006].

W celu zwiększenia efektywności produkcji biowodoru w wyniku biofotolizy należy rozwiązać problemy związane z:

- zapewnieniem odpowiedniej powierzchni reaktorów gwarantującej wystarczający dostęp światła,
- ograniczeniem inhibitacyjnego wpływu tlenu na hydrogenazę,
- stworzeniem warunków do ciągłej produkcji wodoru w warunkach tlenowych,
- wyselekcjonowaniem odpowiedniej grupy glonów i bakterii mniej wrażliwych na obecność tlenu w reaktorze.

### FOTOSYNTeza BAKTERYJNA

W odróżnieniu od produkcji biowodoru na drodze fotolizy bezpośredniej i/ lub pośredniej produkującej biowodór z wody, fotosynteza bakteryjna umożliwia produkcję biowodoru z substancji organicznych. Proces ten jest atrakcyjny szczególnie z powodu możliwości pozyskiwania biowodoru bez konieczności dostarczania dużej ilości światła oraz przy wykorzystaniu różnych substratów organicznych i grup mikroorganizmów [Show i in. 2011].

Najczęściej do produkcji biowodoru wykorzystuje się bakterie purpurowe, które wytwarzają wodór na drodze fotosyntezy anoksygenowej.

Fotosyntetyczne bakterie purpurowe wykorzystują, jako donor elektronów proste kwasy organiczne wytwarzane w warunkach beztlenowych z substratów organicznych [Akkerman i in. 2003]. Elektrony wyodrębnione z substratów organicznych transportowane są przez kompleks cytochromu  $bc_1$ . Pozyskiwanie energii u tych bakterii odbywa się w wyniku cyklicznej fosforylacji, podczas której energia świetlna zamienia się na energię wzbudzenia wysokopotencjałowych przenośników elektronów, a następnie wykorzystywana jest do pompowania protonów z udziałem kompleksu cytochromianu  $bc_1$ . Podczas tego procesu na każdy elektron dwa protony transportowane są do przestrzeni peryplazmatycznej umożliwiającą wytworzenie wystarczającej siły protonomotorycznej do syntezy ATP [Stryer 2003]. Nadwyżka wytworzonej energii wykorzystywana jest do transportu elektronów na ferrodoksynę, z której elektrony po jej redukcji przenoszone są do hydrogenazy, gdzie następuje uwolnienie wodoru [Akkerman i in. 2003].

### FERMENTACJA

Produkcja biowodoru na drodze fermentacji jest najczęściej wskazywana, jako najbardziej efektywna metoda jego pozyskiwania. Charakteryzuje się ona wysokim współczynnikiem produkcji biowodoru przy jednocześnie niskich kosztach oraz możliwością wykorzystywania szerokiego spektrum substratów organicznych zawartych w odpadach oraz ściekach [Prakasham i in. 2009]. W fermentacji największą rolę odgrywają bakterie beztlenowe, ale glony mogą być również wykorzystywane szczególnie w warunkach dużej dostępności łatwo-rozkładalnych węglowodorów [Kapdan i Kargai 2006].

Biowodór podczas fermentacji produkowany jest w obecności specyficznych koenzymów przy wykorzystaniu dwóch ścieżek:

- w wyniku rozkładu kwasów organicznych – równanie (2):



oraz

- podczas utlenienia dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADH) – równania (3) i (4) (Show i in., 2011):



Produkcja biowodoru w wyniku fermentacji jest możliwa pod warunkiem zatrzymania procesu fermentacji metanowej na etapie fazy kwaśnej poprzez celowe zahamowanie rozwoju bakterii metanowych. Do najczęstszych metod umożliwiających inhibicję metanogenów zalicza się: wstępne termiczne przetworzenie substratów, utrzymanie pH środowiska na odpowiednio niskim poziomie (5,0-6,0) oraz stosowanie krótkich czasów retencji (8-12 h) [Jędrzejewska-Cicińska i Kozak 2007].

Biowodór podczas fermentacji kwaśnej może być produkowany zarówno w warunkach fermentacji mezofilowej jak i termofilowej [Tenca i in. 2011]. Substratem do fermentacji mogą być wszystkie odpady organiczne bogate w węglowodany. Najczęściej stosowanymi substratami są odpady z przemysłu spożywczego. Zakres produkcji biowodoru z takich odpadów waha się od 5 do 150 ml/g s.m. zależnie od podatności na rozkład biologiczny i złożoność substratów [Li i in. 2008, Shin i Youn 2005].

Równie atrakcyjnym źródłem biowodoru są ścieki z przemysłu spożywczego charakteryzujące się wysokimi ładunkami węglowodanów łatwo-rozkładalnych na drodze biologicznej [Jędrzejewska-Cicińska i in. 2007]. Z jednego kilograma

węglowodanów (1,06 kg ChZT) można uzyskać około 4,41 kWh energii oraz 0,5 dm<sup>3</sup> etanolu, 1,2 m<sup>3</sup> gazowego wodoru, 0,36 m<sup>3</sup> gazowego metanu lub 0,5 m<sup>3</sup> biogazu. Pozwala to uzyskać średnio około 1 kWh użytecznej energii [Rabey i in. 2005].

Również ligninocelulozy są ważnym substratem w produkcji biowodoru [Wei i in. 2010].

Spośród cukrów prostych szeroko przebadanych przez naukowców najwyższą produkcję biowodoru uzyskiwano dla sacharozy (przy udziale *Enterobacter cloacae* otrzymując 6 moli H<sub>2</sub>/mol substratu oraz z kultur mieszanych 8 moli H<sub>2</sub>/mol substratu) i z celobiozy – 5,4 moli H<sub>2</sub>/mol substratu [Kumar i Das 2000]. Zbliżoną do tych wartości produkcję biowodoru ustalono również dla skrobi i celulozy. Rozkład glukozy, l-arabinozy, fruktozy, maltozy, d-ksylozy, dekstrozy charakteryzował się znacznie mniejszymi zakresami produkcji biowodoru z przedziału 0,5-3,8 moli H<sub>2</sub>/mol s.m. [Burczyk 2009].

O efektywności produkcji biowodoru na drodze fermentacji kwaśnej decydują stabilne warunki rozkładu zależne od szeregu czynników biochemicznych oraz warunków operacyjnych prowadzenia procesu. Do istotnych czynników inhibitujących lub spowalniających przebieg fermentacji kwaśnej zaliczamy wysokie stężenia niezdysoncjowanych LKT produkowanych w dużych ilościach podczas fermentacji kwaśnej z łatwo-rozkładalnych substancji organicznej. Wysokie ich stężenia wpływają na wyczerpywanie pojemności buforowej powodując obniżenie wartości pH, która ma duże znaczenie w efektywności przemian biochemicznych prowadzonych przez bakterie produkujące biowódór [Tenca 2011]. Zgodnie z danymi literaturowymi [Wu i in. 2010, Sikora 2008] optymalne wartości pH gwarantujące wysoką efektywność produkcji biowodoru powinny mieścić się w zakresie od 5 do 6. Wartości pH poniżej 4,5 prowadzą do niskiej aktywności enzymu hydrogenazy [Van Ginkel i in. 2001] powodując, że metabolizm mikroorganizmów przebiega innymi drogami biochemicznymi. Natomiast pH w zakresie neutralnym i słabo zasadowym prowadzi do szybkiego rozwoju bakterii metanowych, które zużywają wodór na drodze procesów biochemicznych. Utrzymywanie stałych zakresów pH jest jednym z czynników gwarantujących poprawny przebieg produkcji biowodoru.

Optymalne zakresy pH można utrzymać dodając egzogenne kwasy i zasady do reaktorów, jednakże sterowanie procesem tym sposobem jest trudne i nieefektywne. Stąd, należy szukać nowych rozwiązań technologicznych wpływających na poprawę właściwości buforowych środowiska procesu. Zgodnie z doniesieniami literaturowymi, odchody zwierzęce są cennym źródłem zasadowości i substancji odżywczych, a ich wspólne fermentowanie z odpadami przeznaczonymi do produkcji biowodoru w znaczny sposób poprawia ten proces, dzięki uniknięciu nadmiernych wahań pH [Tenca i in. 2011].

### WYZWANIA I PERSPEKTYWY

Badania prowadzone w ciągu dwóch ostatnich dziesięcioleci dają obiecującą perspektywę w produkcji biowodoru. Istotnie poprawiono wydajność i szybkość produkcji biowodoru podczas beztlenowej fermentacji. Jednakże, z punktu widzenia ekonomii procesu jego wydajność musi być znacząco zwiększona. Celem badań powinno być poszukiwanie nowych metod umożliwiających odzysk wodoru z substratów organicznych na jak najwyższym poziomie.

Dużym problemem w produkcji biowodoru na skalę przemysłową jest zapewnienie ciągłości w dostawie substratów do reaktorów.

Biorąc to pod uwagę z dużym prawdopodobieństwem odpady zielone będą w coraz większym zakresie wykorzystywane jako jeden z ważniejszych substratów w tym procesie. Jest to substrat bardzo atrakcyjny z punktu widzenia korzyści środowiskowych i ekonomicznych wynikających z ich wykorzystywania. Szczególnie istotny jest fakt, że korzystanie z odpadów zielonych jako źródła energii odnawialnej nie narusza, w odróżnieniu od skrobi, naturalnych zasobów żywnościowych świata, z tego względu, że zawarte w nich węglowodany nie są wykorzystywane jako pożywienie dla ludzi [Buczek 2009].

Zawarte w odpadach zielonych ligninocelulozy w zasadzie składają się z 35-45% z celulozy (polimer glukozy), 25-40% hemicelulozy (główne składniki to heteropolimer z heksozy i pentozy z ksylozy) i 20-35% ligniny. Składniki te wchodzi w skład złożonych związków chemicznych, trudno-rozkładalnych na drodze biologicznej. Dopiero rozkład ich do związków łatwo-przyswajalnych pozwala na osiągnięcie wysokiej efektywności produkcji biowodoru. Wymaga to wstępnego przetworzenia ligninoceluloz przed fermentacją oraz zapewnienia optymalnych warunków do rozwoju mikroorganizmów biorących udział w procesie. Ustalenie efektywnej metody przygotowywania substratów przed procesem pozyskiwania wodoru jest bardzo ważnym i obecnie będącym w fazie poszukiwań zagadnieniem.

Produkcja biowodoru na drodze fermentacji jest ekonomicznie uzasadniona, gdy odzysk energetyczny z substratów będzie wynosić około 60-80%. W praktyce odzysk biowodoru jest na poziomie około 15-30%. W celu poprawy warunków ekonomicznych procesu pozostały po procesie odzysku biowodoru substrat organiczny, powinien być rozłożony na drodze innych procesów biologicznych [Prakasham i in. 2009]. Przyszłościowym rozwiązaniem może być odzysk pozostałej energii z substratu organicznego w mikrobiologicznych ogniwach paliwowych, w których substancje organiczne są utleniane w obecności bakterii, jako katalizatorów rozkładu [Buczek 2009].

## LITERATURA

1. Akkerman I., Janssen M., Rocha J.M.S., Reith J.H., Wijffels R.H., *Photobiological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design*. In: Show K., Lee D., Chang J., *Bioreactor and process design for biohydrogen production*. Bioresources Technology, 102, 8524-8533, 2011
2. Burczyk B., *Biorafinerie ile w nich chemii*, Wiadomości chemiczne, 63, 9-10, 2009
3. Jędrzejewska-Cicińska M., Kozak K., *Produkcja bioenergii ze ścieków z przemysłu spożywczego*. Polityka Energetyczna Tom 10, Zeszyt 1, 1429-6675, 2007
4. Kapdan I.K., Kargi F., *Bio-hydrogen production from waste materiale*. Enzym. Microbial Technology, 38, 569-582, 2006
5. Kumar N., Das D., *Continuous hydrogen production by immobilized Enterobacter cloacae II T-BT 08 using lignocellulosic materials as solid materials*. Process Biochemistry, 35, 589, 2000
6. Li M., Guo Q., Qian X., Niu D., *Bio-hydrogen production from food waste and sewage sludge in the presence of aged refuse excavated from refuse landfill*. Renewable Energy 33, 2573-2579, 2008
7. Prakasham R., Brahmaiah P., Sathish T., Sambasiva Rao K., *Fermentative biohydrogen production by mixed anaerobic consortia: Impact of glucose to xylose ratio*. International Journal of Hydrogen Energy 34, 9354-9361, 2009
8. RABEY K., VERSTRAETE W., *Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation*. Trends in Biotechnology 23/6, 291-298, 2005
9. Show K., Lee D., Chang J., *Bioreactor and process design for biohydrogen production*. Bioresources Technology, 102, 8524-8533, 2011
10. Shin H., Youn H., *Conversion of food waste into hydrogen by thermophilic acidogenesis*. Biodegradation, 16, 33-44, 2005
11. Sikora A., *Produkcja wodoru w procesach prowadzonych przez drobnoustroje*. Postępy Mikrobiologii, 47, 465-482, 2008
12. Stryer L., *Biochemia*. Wydawnictwo naukowe PWN, 2003
13. Tenca A., Schievano A., Perazzolo F., Adani F., Oberti R., *Biohydrogen from thermophilic co-fermentation of swine manure with fruit and vegetable waste: Maximizing stable production without pH control*. Bioresources Technology 102, 8582-8588, 2011
14. Turner J.: Sverdrup G., Mann M.K., Maness P.C., Kroposki B., Ghirardi M., Evans R.J., Blace D., *Renewable hydrogen production*. International Journal of Energy Research 32, 379-407, 2008
15. Wei J.: Liu Z., Zhang X., *Biohydrogen production from starch wastewater and application in fuel cell*. Science Direct 35, 2949-2952, 2010

16. WU X., YAO W., ZHU J., *Effect of pH on continuous biohydrogen production from liquid swine manure with glucose supplement using an anaerobic sequencing batch reactor*. Journal of Hydrogen Energy 35, 6592-6599, 2010.
17. VAN GINKEL S., SUNG S., LAY J.J., *Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration*. Environmental Science and Technology 35, 4726-4730, 2001

## **PRODUCTION OF BIOHYDROGEN IN BIOLOGICAL PROCESSES**

### *S u m m a r y*

*Studies carried out over the past two decades, gives a promising perspective biohydrogen production. However in terms of economy process its efficiency must be significantly increased. A current research goal should be to find new methods of recovery of hydrogen from organic substrates at the highest level. Biohydrogen production by fermentation is the most frequently indicated as the most effective method.*

Key words: biohydrogen production, fermentation, biophotolysis, photosynthesis