

УДК 66.098:546.11

К.О. Щурська, Є.В. Кузьмінський

СПОСОБИ ПРОДУКУВАННЯ БІОВОДНЮ*

The present paper describes biohydrogen production methods according to the classification of energy sources used by microorganisms. We also conduct the comparative analysis of these processes. We describe the microorganism-producers, hydrogen formation reaction and optimal environmental parameters for every method of biohydrogen production. All these methods have their advantages and disadvantages. Crucially, we define the most optimal biohydrogen production way. Photobiological hydrogen production and biomass production should take place on the first stage. The formed biomass should be fermented on the second dark stage and its products will be used to produce biohydrogen by the bioelectrochemical method.

Вступ

Вичерпність традиційного палива та пов'язані з його масштабним використанням природоохоронні проблеми приводять до усвідомлення людством необхідності переходу до екологічно толерантних видів енергоносіїв. Ключове місце в розв'язанні цієї проблеми, на думку багатьох фахівців, займе воднева енергетика – виробництво водню і його використання на основі паливних елементів у промисловості, будівництві, енергетиці, транспорті, житлово-комунальному господарстві й інших сферах економіки. Крім енергетики, водень як хімічна сировина використовується в багатьох інших галузях промисловості. Тому розроблення дешевих технологій отримання водню забезпечить не лише збереження природних ресурсів, а й стрімке економічне зростання держави. В наш час значна увага приділяється розробленню екологічно чистих технологій отримання водню з різноманітних відходів і перш за все новітнім біотехнологічним способам [1–9, 37, 38].

Продукувати біоводень здатні як автотрофні, так і гетеротрофні мікроорганізми. Біохімічний шлях утворення молекули водню, ефективність та необхідні умови процесу в першу чергу залежать від мікроорганізмів-продуцентів. За джерелами енергії, які використовуються організмами під час продукування біоводню, мікробіологічні процеси можна поділити на такі [1]:

- темнове анаеробне виділення біоводню, в процесі якого енергія хімічних зв'язків молекул субстрату перетворюється в енергію хімічних зв'язків водню;

- світлозалежне виділення водню, при якому мікроорганізми конвертують світлову енергію в енергію хімічних зв'язків молекул водню;

- біоелектрохімічне продукування водню за використання модифікованих мікробних паливних елементів, в яких електрична енергія, а також енергія хімічних зв'язків органічного субстрату акумулюється в молекулах водню.

Постановка задачі

Метою цієї оглядової статті є опис способів продукування біоводню мікробіологічним способом за наведеною вище класифікацією та проведення порівняльного аналізу цих процесів.

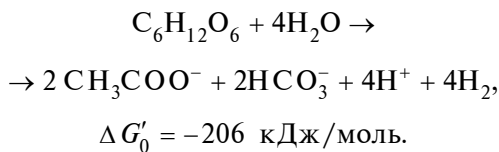
Процеси темного анаеробного виділення біоводню

Темнове виділення водню є розповсюдженим явищем в аноксидних або анаеробних умовах (тобто за відсутності кисню – акцептора електронів). Велика кількість бактерій використовує процес відновлення протонів до молекул водню з метою накопичення відновлених еквівалентів, які є результатом первинного метаболізму. Іншими словами, коли бактерії ростуть на органічних субстратах (гетеротрофний ріст), ці субстрати розкладаються і внаслідок окиснення забезпечують клітину “будівельними блоками” та метаболічною енергією для росту. За такого процесу окиснення генеруються електрони, які мають бути нейтралізовані. У аеробних умовах при цьому відновлюється ки-

*Матеріали статті є теоретичним обґрунтуванням роботи, яка була підтримана грантом, отриманим на VI-му конкурсі на одержання фінансової підтримки науково-дослідних робіт студентів та аспірантів НТУУ “КПІ” на 2009/2010 навчальний рік, і удостоєна Премії Національної академії наук України для молодих учених і студентів вищих навчальних закладів (постанова Президії НАН України від 16.02.2011 р.).

сень і утворюється вода. В аноксидних або анаеробних умовах як акцептор електронів виступають інші сполуки, наприклад протони, які, з'єднуючись з електронами, утворюють молекулярний водень (H_2).

Хоча існує багато органічних сполук, які можуть бути використані для продукування водню під час темної ферментації, оцінку потенційного виходу в основному проводять на основі перетворення гексоз:



Одночасно може утворюватися максимум 4 моль H_2 на моль глюкози з продукуванням енергії у 206 кДж/моль глюкози, чого достатньо для підтримки росту мікроорганізмів.

Інша частина водню з гексоз включається у побічний ацетат, а за несприятливих умов – у такі більш відновлені продукти як етанол, лактат або аланін. Повне окиснення глюкози до CO_2 і H_2 дає стехіометричні 12 моль H_2 на моль глюкози, але в цьому випадку відсутня можливість отримання енергії для метаболічних потреб клітини [1].

Вихід водню під час темного бродіння значною мірою залежить від парціального тиску продукту. При високих значеннях парціального тиску водню метаболізм зміщується у бік виробництва більш відновлених продуктів – таких як лактат [2] або аланін [3], тим самим знижуючи вихід H_2 .

Для продукування водню цим способом можна використовувати як аеробні й анаеробні бактерії, так і їх суміші.

Строгі анаероби представлені рядом бактерій (*Clostridia*, *Ruminococcus* (бактерії рубця великої рогатої худоби), *Anaerocellum*, *Caldicellulosiruptor*, *Clostridium*, *Dictyoglomus*, *Fervidobacterium*, *Spirocheta*, *Thermotoga*, *Thermoanaerobacter*, *Pyrococcus* (термофільні)).

Багато анаеробів виробляють водень із гексоз в процесі оцтовокислого, маслянокислого і пропіоновокислого бродіння. Максимальний вихід становить 4 моль H_2 з 1 моль глюкози і є результатом оцтовокислого бродіння. Виробництво інших, більш відновлених органічних кислот або спиртів, знижує вихід H_2 . Напри-

клад, перетворення 1 моль глюкози в бутират супроводжується виробництвом тільки 2 моль H_2 . Зазвичай суміш продуктів утворює *Clostridia* і водень із глюкози визначається співвідношенням сполук бутират/ацетат.

C. butyricum, *C. welchii*, *C. pasteurianum*, *C. beijerincki*, нещодавно виділені *Clostridium SPP.* і суміші *Clostridia* були використані в дослідженнях, присвячених виробництву великої кількості водню. Ф. Тагучі та його колеги виділили нові штами *Clostridia*. Культура *C. beijerincki* AM21, виділена з термітів, виробляла від 1,8 до 2,0 моль H_2 на моль глюкози [4]. Штам також здатний використовувати багато інших вуглеводів, таких як ксилоза, арабіноза, галактоза, целобіоза, сахароза, фруктоза з ефективністю від 15,7 до 19,0 ммоль/г субстрату в процесі періодичного культивування протягом 24 год [5].

H_2 також може вироблятися при використанні крохмалю як субстрату, але при цьому не досягається стабільне виробництво водню. Інший штам *Clostridium Sp.* штам № 2, також виділений з термітів, продукує H_2 ефективніше, використовуючи ксилозу й арабінозу (13,7 і 14,6 ммоль/г, або 2,1 і 2,2 моль/моль), порівняно з глюкозою (11,1 ммоль/г, або 2,0 моль/моль) [6].

Ці результати дають змогу припустити, що обидва штами *Clostridia SPP.* можуть бути використані для виробництва H_2 як із целюлози, так і з геміцелюлози, наявних у рослинній біомасі. При цьому можливим є використання біомаси для виробництва водню з попереднім процесом оцукрювання рослинних полімерів, а також одночасне оцукрювання та ферментативне утворення водню. І хоча така здатність бактерій роду *Clostridia* виробляти H_2 видається перспективним біотехнологічним напрямом, отримувати на сьогодні об'єми водню та швидкість його виділення потребують подальших детальних досліджень для оптимізації умов процесу.

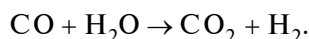
Іншим представником строгих анаеробних бактерій, здатних продукувати водень, є бактерії рубця великої рогатої худоби. *Ruminococcus albus* давно відомий як продуцент H_2 разом з іншими продуктами – такими як ацетат, етанол, форміат із вуглеводів. Як повідомляє Е. Інотті [7] при безперервному культивуванні культура продукує 2,4 моль водню на моль глюкози. Проте продукування водню культурою *R. albus* не стало предметом подальших досліджень.

Термофіли *Pyrococcus furiosus*, архебактерії виробляють H_2 , органічні кислоти і CO_2 з вуглеводів [8]. Підвищення ефективності виробництва ними водню не досліджувалося. Після вивчення питань утилізації субстратів і продукування водню було знайдено багато екстремальних та гіпертермофільних бактерій, здатних продукувати водень з вуглеводів [9].

Целюлолітичні термофіли, екстремальні й гіпертермофільні бактерії, що виробляють водень, представлені видами *Anaerocellum*, *Caldicellulosiruptor*, *Clostridium*, *Dictyoglomus*, *Fervidobacterium*, *Spirocheta*, *Thermotoga* і *Thermoanaerobacter*. Вихід H_2 становив 4 моль на моль глюкози, що дорівнює максимальному (теоретичному) об'єму. Проте спостерігалось низьке споживання глюкози (1,6 мМ) і низька густина клітин ($1,4 \times 10^8$ мл). Максимальна швидкість виробництва водню становила близько 10 ммоль/л-год [10].

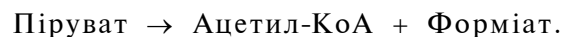
Нещодавно були опубліковані результати з продукування водню двома іншими екстремальними термофілами під час ферментації цукру [11]. У культурах *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*, вирощених на сахарозі при $70^\circ C$, і *Thermotoga elfii*, вирощеній на глюкозі при температурі $65^\circ C$, отримано 3,3 моль H_2 на моль гексози, що становить 83% від теоретичного. Було визначено максимальні швидкості виробництва водню, які становили 8,4 і 2,7 ммоль/л-год відповідно. Ці результати свідчать, що більш високі значення виходу водню з гексоз порівняно з мезофільними факультативними та строгими анаеробами можна отримати через використання екстремальних і гіпертермофільних бактерій.

Метаногени характеризуються наявністю гідрогенази, що зазвичай бере участь в процесах окиснення H_2 , які присутні у виробництві CH_4 і перетворенні CO_2 . Однак в умовах інгібування процесу утворення CH_4 , як повідомляють М. Ботт [12] та ін., можливим є продукування H_2 і CO_2 у стехіометричних кількостях з CO і H_2O штамом *Methanosarcina barkeri*, це так звана шифт-реакція:

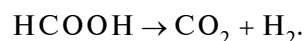


Факультативні анаероби за рахунок власної стійкості до кисню швидко його споживають і відновлюють анаеробні умови безпосередньо в реакторах, що є значною їх перевагою. Ця група продуцентів водню представлена бактеріями родів *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Citrobacter*.

Факультативні анаероби здійснюють бродіння змішаного типу за участі піруват-форміат-ліази:



Форміат за участі форміатдегідрогеназного комплексу розкладається з утворенням водню [13]:



Enterobacter, а також інші члени *Enterobacteriaceae* мають кілька корисних властивостей, сприятливих для продукування H_2 . Крім високих темпів зростання і використання широкого діапазону джерел вуглецю, виробництво H_2 ентеробактером не інгібується високим тиском H_2 [14]. Тим не менше, вихід H_2 на моль глюкози, як правило, нижчий, ніж у *Clostridia*.

С. Танішо та ін. [15] виділили штам *E. aerogenes* E. 82005 з листя *Mirabilis Jalapa*. Під час періодичного культивування швидкість виробництва водню становила 21 ммоль/л-год протягом 23 год. Вихід H_2 становив 1,0 моль/моль глюкози. Під час безперервного культивування водень виділявся протягом 42 діб при використанні тієї ж культури і меляси як субстрату. Середня швидкість продукування водню дорівнювала близько 17 ммоль/л-год. Середній вихід H_2 по сахарозі 1,5 моль. На відміну від періодичного культивування бродіння, в цьому випадку лактат є основним продуктом, а бутират і оцтова кислота були вироблені в меншій кількості [16].

Хоча виробництво H_2 ентеробактеріями не інгібується його високим тиском, пропускання аргону через культуральне середовище збільшує вихід H_2 до 1,6 моль/моль глюкози. Вважається, що саме видалення CO_2 сприяє збільшенню виходу [17].

Х. Йокої та ін. [18] виділили ацидофільні бактерії *E. aerogenes* штаму HO-39, які могли рости та виробляти водень при низьких значеннях рН 4,5. У безперервній культурі без контролю рН продукування водню відбувалося зі швидкістю приблизно 5 ммоль/л-год протягом 26 діб з виходом 0,8 моль на моль глюкози. Для підвищення виходу H_2 були створені мутанти *E. aerogenes* і *E. cloacae*. Метаболізм цих мутантів було заблоковано на стадії виробництва інших метаболітів, спиртів і органічних кислот, які зазви-

чай зменшують вихід водню. Такі культури мутантів, які продукували меншу кількість етанолу та бутандіолу, виділяли в два рази більше водню, ніж культури дикого типу [19].

Escherichia coli здатна виробляти H_2 і CO_2 з форміату за відсутності кисню. Каталітична активність забезпечується дією форміат-воденьліази, що є зв'язаним з мембраною мультиферментним комплексом, який складається з форміатдегідрогенази та гідрогенази [20].

Стійке розкладання форміату потребує блокування інших анаеробних редуктаз [21]. Також було відзначено виробництво водню з вуглеводів. Молярний вихід H_2 на глюкозу становить 0,9 при використанні неімобілізованих клітин *E. coli* [22] та 1,2 – імобілізованими клітинами.

Культура *Citrobacter*, *Citrobacter Sp. Y19*, виділена зі шламу варильних котлів, здатна продукувати водень з CO і H_2O шляхом шифт-реакції в анаеробних умовах [23]. Виробництво H_2 спостерігається при періодичному та безперервному культивуванні. В останньому випадку швидкість продукування H_2 становить близько 15 ммоль/л-год. Кількість виділеного водню була еквімолярна кількості спожитого CO , проте, ефективність перетворення CO , яка становила близько 20 %, була відносно низькою.

Аеробні бактерії здатні продукувати водень і за анаеробних умов. Представниками цієї групи бактерій є *Alcaligenes eutrophus* та *Bacillus licheniformis*.

Коли штами та мутанти строгих аеробних бактерій *Alcaligenes eutrophus* вирощуються гетеротрофно на глюкозаті або фруктозі, а згодом потрапляють в анаеробні умови у присутності органічних субстратів, виділяється молекулярний водень. Виділення водню відбувається відразу ж після пропускання азоту через суспензію клітин. Додавання кисню до культури, що розвивається, а також додавання нітрату до клітин, які вже сформували систему дисимільаторної нітрат редуктази протягом попереднього росту, викликає негайне припинення виділення водню. Форміат не є джерелом утворення H_2 . Швидкість виділення водню при використанні форміату як субстрату була нижчою, ніж при використанні глюкозату. Форміат гідрогенліазна система не була виявлена в інтактних клітинах або в екстрактах клітин. Швидше за все цитоплазматична, НАД-відновлювана гідрогеназа бере участь у процесі звільнення над-

мірної кількості відновлених еквівалентів в анаеробних умовах при відсутності відповідних акцепторів електронів [24].

Продуцент водню *Bacillus licheniformis* був виділений з гною великої рогатої худоби [25]. Ця культура здатна виробляти 0,5 моль H_2 /моль глюкози. Імобілізація клітини цієї культури дає можливість отримувати 1,5 моль H_2 на моль глюкози, стабільність клітин зберігається протягом 60 днів [26].

Використання змішаної культури *Clostridium butyricum* і *Enterobacter aerogenes* при безперервному культивуванні, в якому підвищене виділення водню строгими анаеробами було поєднано зі споживанням кисню факультативними анаеробами, має ряд своїх переваг. Внаслідок такого поєднання зникає необхідність у дорогих відновлювальних агентах, оскільки присутність *E. aerogenes* є достатньою для швидкого відновлення анаеробних умов у ферментері після короточасного впливу кисню. Безперервне бродіння імобілізованих змішаних клітин на пористих скляних бусах і крохмальному субстраті забезпечує виділення водню зі швидкістю приблизно 50 ммоль/л-год і вихід H_2 у 2,6 моль на моль глюкози. Мікрофлора для змішаної культури була виділена з різних джерел, таких як осад з анаеробного зброджування муніципальної каналізації або органічних відходів. У промислових масштабах застосування змішаних культур для виробництва водню з органічних відходів може стати вигіднішим, оскільки чисті культури можуть бути легко контаміновані бактеріями, що споживають водень.

Отримання водню через конверсію чадного газу (CO) засновано на унікальній реакції, виявленій Р. Уффеном [27] у фотосинтетичної пурпурової бактерії. Культури штаму пурпурової бактерії, описаної ним, виділяють водень у результаті шифт-реакції.

Утворення водню в цьому випадку відбувається з води, що було показано у дослідях з використанням 3H_2O . На відміну від ціанобактерій і водоростей, пурпурні бактерії не використовують для розкладання води сонячну енергію, і наведена вище реакція перебігає в темряві.

Великою перевагою порівняно з подібною хімічною реакцією, яка потребує високих температур і кількох стадій, є те, що ця реакція відбувається при кімнатній темпера-

турі та в одну стадію. Виділення водню каталізується двома ферментами: гідрогеназою та специфічною СО-гідрогеназою, які функціонують разом.

Численні штами пурпурових бактерій, включаючи *Rubrivivax gelatinosus* CBS2, були виділені в чисту культуру в Національній лабораторії поновлюваних джерел енергії в США і досліджені на предмет продукування ними водню. Швидкість виділення водню цими бактеріями варіюється від 140 до 700 мл/год на грам сухої клітинної біомаси [28].

На шляху практичного застосування шифт-реакції є ряд проблем. Одна з них – токсичність чадного газу. Інша – наявність достатньої кількості чадного газу – при практичному застосуванні цієї реакції для масового отримання водню може стати самостійною проблемою. Нині передбачуваним джерелом СО є газ, що отримується термальною газифікацією біомаси та містить велику кількість чадного газу.

Як підсумок, можна зазначити, що темнове виділення водню є природним явищем, але в природному середовищі воно часто непомітне через швидке споживання виділеного водню іншими видами.

Альтернативою темновому бродінню є фотобіологічне виробництво водню. Отримання водню з води водоростями та ціанобактеріями під дією сонячного світла є дуже перспективним, тому що запаси води і сонячної енергії практично невичерпні й відновлювані.

Процеси світлозалежного продукування водню

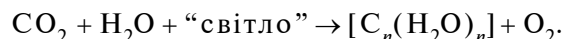
Світлозалежне виробництво водню можуть здійснювати фотоавтотрофні та фотогетеротрофні мікроорганізми. В процесі фотоавтотрофного продукування водню сонячна енергія вловлюється фотосистемами і використовується для виробництва водню та кисню з води (біофотоліз води). Основним недоліком цього процесу є те, що водень і кисень виробляються одночасно, а це призводить до кисневого гальмування ферментів виробництва водню. Ефективність процесу може бути збільшена на 3–10 % при негайному видавленні кисню. На сьогодні такі розробки направлені на мінімізацію кисневого гальмування тимчасовим або просторовим розділенням потоків водню і кисню. При фотогетеротрофному виробництві водню використовується сонячна енергія й органічні сполуки як субстрат. Мікрободорості

та ціанобактерії є фотоавтотрофними організмами, оскільки вони можуть використовувати світло як джерело енергії та діоксид вуглецю як єдине джерело вуглецю.

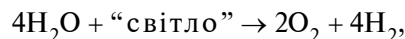
Бактерії, що називаються фотогетеротрофними мікроорганізмами, незважаючи на свою здатність використовувати світло як джерело енергії, потребують органічний вуглець як джерело вуглецю.

Мікрободорості та ціанобактерії здатні використовувати сонячне світло для метаболічного перетворення вуглекислого газу в багаті енергією органічні сполуки $[C_n(H_2O)_nN]$ з водою як додатковим субстратом.

Звичайні фотоавтотрофні мікрободорості ростуть за такою схемою (шлях А):

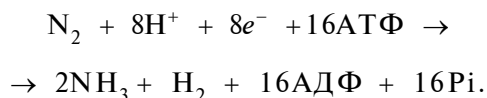


В анаеробних умовах мікрободорості можуть виробляти H_2 фотолізом води, використовуючи світло як джерело енергії. Каталізатором виступає гідрогеназа, фермент, який є надзвичайно чутливим до дії кисню, побічного продукту фотосинтезу (шлях В):

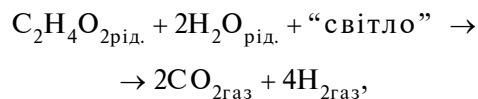


$$\Delta G^0 = 1498 \text{ кДж.}$$

Здатність до азотфіксації фотогетеротрофних бактерій або ціанобактерій (гетероцист) каталізується ферментом нітрогеназою. Фермент нітрогеназа каталізує також виділення H_2 , зокрема за відсутності N_2 . Загальна реакція споживання енергії має такий вигляд:



Перетворення органічного субстрату (приклад ацетату наведено нижче) у водень потребує енергії, яка отримується від світла:



$$G^0 = +75,2 \text{ кДж.}$$

Особливості, недоліки та переваги фотоавтотрофного та фотогетеротрофного процесів продукування водню подано в табл. 1.

Таблиця 1. Порівняння фотоавтотрофного та фотогетеротрофного процесів продукування водню [1]

Показник	Тип продукування Н ₂		Фотогетеротрофне продукування водню (фотоферментативний розклад органічних кислот)
	Фотоавтотрофне продукування водню (біофотоліз води)		
Реакція	4Н ₂ О + "сонячне світло" → 2О ₂ + 4Н ₂		С ₂ Н ₄ О ₂ рід. ¹ + 2Н ₂ Орід. + "сонячне світло" → 2СО ₂ газ + 4Н ₂ газ
	Прямий біофотоліз	Непрямий біофотоліз ²	
Фермент	Гідрогеназа	Гідрогеназа	Нітрогеназа
АТФ-залежність реакцій	Ні	Ні	Так
О ₂ інгібування	Так	Так	Так
Виділення кисню протягом фази продукування Н ₂	Так	Ні ²	Ні
Субстрат	Вода	Переважно вода ²	Органічний субстрат, зазвичай органічні кислоти (ацетат)
Додаткове виробництво СО ₂	Ні	Ні ²	Так – з органічного субстрату ³
Склад газового продукту	Н ₂ + О ₂	Н ₂ + СО ₂	Н ₂ + СО ₂

¹ Оцтова кислота як приклад.

² Непрямий біофотоліз передбачає часове або просторове розділення етапів фотосинтетичного виділення О₂ і анаеробного продукування Н₂, у такий спосіб виключаючи кисневе гальмування. Етапи процесу зв'язані за допомогою фіксації СО₂ та його виділення. На першому етапі СО₂ фіксується і зберігається у вигляді вуглеводів за допомогою фотосинтезу; вуглеводи розкладаються до Н₂ і СО₂ в анаеробній стадії виробництва Н₂.

³ Так як у результаті кількість СО₂, що виділяється з біомаси, дорівнює кількості поглинутого СО₂, то у зв'язку з цим не відбувається забруднення атмосфери додатковим вуглекислим газом, крім того, що виділяється внаслідок використання енергії для виробництва первинної біомаси.

Швидкість виділення водню певними мікроорганізмами наведено в табл. 2.

Таблиця 2. Швидкість виділення водню водоростями та бактеріями [28]

Мікроорганізм	Швидкість виділення водню, мл Н ₂ /г сухої клітинної біомаси за годину
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	до 5,5
<i>Anabaena variabilis</i>	до 20
<i>Enterobacter aerogenes</i>	до 400
<i>Rubrivivax gelatinosus</i>	до 700

Фермент нітрогеназа також інгібується при дії іонів амонію. Це пояснює, чому біореактори, як правило, мають працювати в анаеробних умовах, без N₂, з додатковим освітленням і обмеженою концентрацією джерел азоту.

Біотехнологічне продукування водню має ряд переваг порівняно з іншими способами отримання водню. Одна з них – це низькі енергетичні витрати, особливо при виробництві з

водоростей і бактерій, які використовують сонячне світло як джерело енергії. Технологія отримання водню, яка ґрунтується на використанні сонячної енергії, може бути впроваджена в практику, якщо знайти шлях ефективного споживання сонячного світла водоростями та бактеріями. Потенційно фотосинтезуючі водорості та бактерії можуть перетворювати сонячну енергію в енергію водню з 30–40 %-ною ефективністю [29]. Проте донині максимальна ефективність конверсії сонячної енергії у водень водоростями сягає лише 24 % [30]. Тим не менше це набагато більше, ніж ефективність конверсії сонячної енергії в інші біологічні палива, такі як біоетанол і біодизель (на сьогодні менше 4 %).

Біоелектрохімічне продукування водню

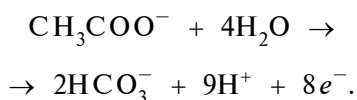
Альтернативою описаним вище процесам може бути одержання водню біоелектрохімічним шляхом за допомогою модифікованих мікробних паливних елементів (ММПЕ) (табл. 3),

які працюють на органічних відходах. В таких пристроях катодна камера підтримується в анаеробних умовах, а на катод подається додаткова напруга $\sim 0,25$ В. За таких умов на катоді протони H^+ відновлюються до молекули водню.

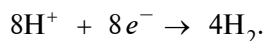
Хоча біоелектрохімічний спосіб потребує додаткових витрат енергії для виробництва водню, вони незначні та становлять менше 20 % від енергії, яка запасується у вигляді водню. Субстратом для мікробного паливного елемента (МПЕ) можуть слугувати стічні води й будь-які органічні розчинні сполуки [31].

Перетворення органічної речовини на водень можна розділити на дві електродні напівреакції.

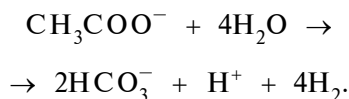
Анод:



Катод:

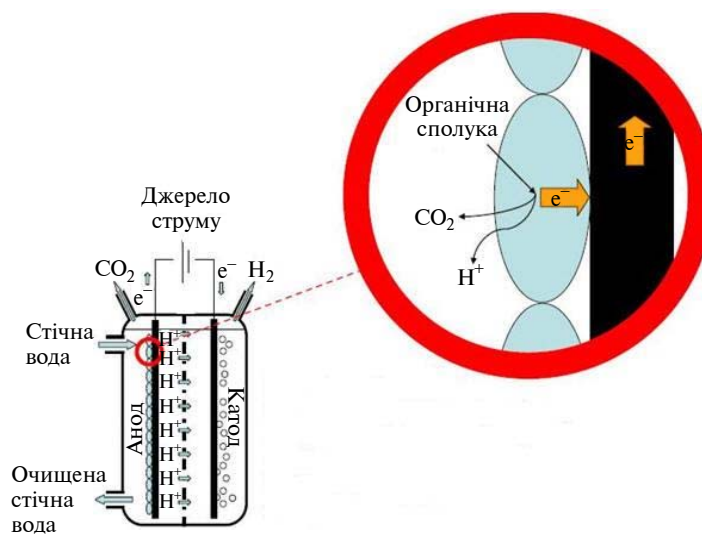


Сумарна реакція:



Теоретичне значення напруги, необхідної для біокаталітичного електролізу органічних речовин, становить близько $-0,12$ В. Негативне значення електрорушійної сили МПЕ свідчить про необхідність введення в систему додаткової електричної енергії для забезпечення перебігу біоелектрохімічної реакції. Ця додаткова електрична енергія забезпечується введенням в електричне коло ще одного джерела живлення. При цьому розчинений органічний субстрат трансформується в карбонат і водень електрохімічно активними мікроорганізмами, які виступають як каталізатор.

Багато в чому цей процес подібний до того, що є у традиційному МПЕ, а саме: два напівелементи, розділені протонселективною мембраною. Але, на відміну від традиційних МПЕ, ММПЕ мають дві важливі відмінності: анодна камера має бути повністю анаеробною, до електричного ланцюга має бути під'єднано додаткове джерело електричної енергії. Схематичне зображення такого модифікованого МПЕ наведено на рисунку.



Модифікований МПЕ для біоелектрохімічного отримання водню [32]: ■ – електрод; ○ – електрохімічно активні бактерії; ! – протон обмінна мембрана; e⁻ – електрон; H⁺ – протон; ○ – бульбашка водню

На аноді розчинені органічні сполуки зі стічних вод окиснюються електрохімічно активними мікроорганізмами, які передають електрони від окиснених розчинених сполук на анод за допомогою механізмів позаклітинного перенесення електронів. Через зовнішнє електричне коло електрони передаються на катод, де використовуються в реакції утворення молекулярного водню. Електронейтральність системи забезпечується транспортом катіонів (переважно протонів) з анодної камери в катодну через катіонообмінну мембрану чи спеціальний сольовий місток.

Теоретичне значення необхідної доданої напруги для здійснення цього процесу становить приблизно $0,12$ В, що еквівалентно енергії у $0,26$ кВт·год/м³ H₂. Це значення значно нижче порівняно зі значенням у $4,4$ кВт·год/м³ H₂, яке необхідне для промислового електролізу води. Очевидно, що метаболічні втрати мікроорганізмів, а також інші можливі втрати (в т.ч. омичні втрати та перенапруга на електродах) на практиці збільшують значення необхідної енергії, але воно не перевищить значення в 1 кВт·год/м³ H₂. Така незначна потреба у додатковій енергії є важливою перевагою процесу біоелектрохімічного отримання водню порівняно із промисловим електролізом, оскільки вартість електричної енергії є визначальною у сумарній вартості водню, отриманого при електролізі [33].

Біоелектрохімічним шляхом водень може бути вилучений із побічних продуктів бродін-

ня, підвищуючи цим загальний вихід водню при поєднанні бродіння з біокаталітичним електролізом. Враховуючи, що можна отримувати від 2 до 3 моль водню на моль глюкози при бродінні, а з кінцевих продуктів бродіння – 3 моль H_2 /моль ацетату, можна дійти висновку, що поєднання бродіння з біокаталітичним електролізом дає можливість отримувати 8–9 моль H_2 /моль глюкози.

Порівняно з іншими процесами біологічного виділення водню біоелектрохімічне отримання водню має ряд важливих переваг. У ході низки досліджень було показано, що біологічні аноди можуть ефективно працювати за нестерильних умов, так як електрохімічно активне угруповання селекціонується природним шляхом з широкого кола мікроорганізмів. Більше того, таке угруповання здатне до утилізації різноманітних субстратів (в т.ч. цукрів, жирних

кислот, білків) з високою ефективністю [34–36]. Інші біологічні процеси синтезу водню часто зазнають негативного впливу від сторонніх біологічних агентів при нестерильних умовах і є більш обмеженими у доступних субстратах, які вони здатні утилізувати (наприклад, при темновому бродінні). Крім того, під час біоелектрохімічного отримання водню в катодній камері утворюється практично чистий водень, на відміну від суміші водню та вуглекислого газу при бродінні. Таким чином, біоелектрохімічний процес може бути не лише наступним етапом після бродіння, а й повною заміною бродіння в окремих випадках (наприклад, при очищенні стічних вод).

Для наочності викладеної вище інформації в табл. 3 узагальнено мікробіологічні процеси продукування водню залежно від виду перетворення енергії.

Таблиця 3. Порівняння мікробіологічних способів продукування водню

Вид перетворення енергії	Вид процесу	Назва процесу	Мікроорганізми-продуценти	Реакція, за якої синтезується водень
Сонячна → → хімічна	Світло-залежне виділення біоводню	Фотоавтотрофне продукування водню – біофотоліз	<i>Synechococcus</i> , <i>Scenedesmus</i> , <i>Chlamydomonas</i>	$4H_2O + \text{“сонячне світло”} \rightarrow 2O_2 + 4H_2$
		Фотогетеротрофне продукування водню – фотоферментативний розклад органічних кислот	<i>Rhodospseudomonas</i> , <i>Rhodobacter</i> , <i>Rhodospirillum</i> , <i>Rubrum</i> , <i>Rhodovulum</i>	$C_2H_4O_{2\text{рід.}} + 2H_2O_{\text{рід.}} + \text{“сонячне світло”} \rightarrow 2CO_{2\text{газ}} + 4H_{2\text{газ}}$
Хімічна → → хімічна	Темнове анаеробне виділення біоводню	Бродіння	<i>Clostridium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Sarcina</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Selenomonas</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Streptococcus</i>	$C_6H_{12}O_6 + 4H_2O \rightarrow 2CH_3COO^- + 2HCO_3^- + 4H^+ + 4H_2$
		Шифт-реакція	<i>Methanosarcina</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Rhodospseudomonas</i>	$CO + H_2O \rightarrow CO_2 + H_2$
Біоелектрична → → хімічна	Виділення біоводню в ММРЕ	Біоелектрохімічне продукування водню	<i>Geobacter</i> , <i>Shewanella</i> , <i>Pseudomonas</i>	Анод: $C_2H_4O_2 + 2H_2O \rightarrow 2CO_2 + 8e^- + 8H^+$ Катод: $8H^+ + 8e^- \rightarrow 4H_2$

Висновки

Напрацювання біотехнологічних способів одержання водню ведеться із застосуванням різних мікроорганізмів-продуцентів. Усі перелічені способи мають свої переваги та недоліки. Найоптимальнішим є варіант поєднання цих способів, коли на першій стадії буде відбуватися фотозалежне виділення водню та виробництво біомаси, яка буде ферментована на другій темновій стадії, а продукти останньої будуть використані для продукування водню за біоелектрохімічним способом.

В Україні розроблення водневих технологій перебуває на початковій стадії, незважа-

ючи на наявність значної кількості наукових установ, які займаються цією проблемою. Разом з тим, за успішного розвитку технологій виробництва водню Україна могла б раціонально використати свою багату (у т.ч. нетрадиційну) енергоресурсну базу, диверсифікувати джерела енергії, зменшити рівень енергетичної залежності і, як підсумок, поліпшити енергетичну й екологічну ситуацію в країні.

На майбутнє авторами заплановано досліджувати процеси продукування водню із застосуванням ММПЕ, використовуючи як субстрат ацетат натрію (головний продукт бродіння) та інші органічні сполуки.

1. *Kuzminskiy Ye., Shchurska K., Samarukha I., Lagód G.* Sposoby konwersji energii dla produkcji wodoru z wykorzystaniem procesów biochemicznych // Srodkowo-europejska Konferencja ESOpole, Люблін, Польща, 8–10 вересня 2010. – С. 18.
2. *Janssen P.H., Morgan H.W.* Heterotrophic Sulfur Reduction by *Thermotoga* sp. strain FjSS3.B1. FEMS // *Microbiol Lett.* – 1992. – N 96. – P. 213–218.
3. *Kengen S.W., Stams A.J.* Formation of L-alanine as a Reduced Endproduct in Carbohydrate Fermentation by the Hyperthermophilic Archaeon *Pyrococcus Furiosus* // *Archives of Microbiology.* – 1994. – N 161. – P. 168–175.
4. *Taguchi F., Chang J.D., Takiguchi S., Morimoto M.* Efficient Hydrogen Production from Starch by a Bacterium-Isolated from Termites // *J. of Fermentation and Bioengineering.* – 1992. – N 73. – P. 244–245.
5. *Taguchi F., Chang J.D., Mizukami N. et al.* Isolation of a Hydrogen Producing Bacterium, *Clostridium beijerinckii* strain AM 21B from Termites // *Canad. Journal of Microbiology.* – 1993. – N 39. – P. 726–730.
6. *Taguchi F., Mizukami N., Hasegawa K., Saito-Taki T.* Microbial Conversion of Arabinose and Xylose to Hydrogen by a Newly Isolated *Clostridium* sp. No.2. // *Ibid.* – 1994. – N 40. – P. 228–233.
7. *Innotti E.L., Kafkawitz D., Wolin M.J., Bryant M.P.* Glucose Fermentation Products of *Ruminococcus Albus* Grown in Continuous Culture with *Vibrio Succinogenes*: Changes Caused by Interspecies Transfer of H₂ // *The Journal of Bacteriology.* – 1973. – N 114. – P. 1231–1240.
8. *Godfroy A., Raven N.D.H., Sharp R.J.* Physiology and Continuous Culture of the Hyperthermophilic Deep-Sea Vent Archaeon *Pyrococcus abyssi* ST549 // *FEMS Microbiology Letters.* – 2000. – N 186. – P. 127–132.
9. *Tamagnini P., Axelsson R., Lindberg P. et al.* Hydrogenases and Hydrogen Metabolism of Cyanobacteria // *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* – 2002. – 66, N 1. – P. 880–890.
10. *Dietrich G., Weiss N., Winter J.* *Acetothermus Paucivorans*, gen. Nov., sp. nov, a Strictly Anaerobic, Thermophilic Bacterium from Sewage Sludge, Fermenting Hexoses to Acetate, CO₂ and H₂ // *Systematic and Applied Microbiology.* – 1988. – N 10. – P. 174–179.
11. *Van Niel E.W.J., Budde M.A.W., de Haas G.G. et al.* Distinctive Properties of High Hydrogen Producing Extreme Thermophiles, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* and *Thermotoga elfi* // *Intern. Journal of Hydrogen Energy.* – 2002. – N 27. – P. 1391–1398.
12. *Bott M.* Coupling of Carbon Monoxide to Carbon Dioxide and Hydrogen with the Phosphorylation of ADP in Acetate Grown *Methanosarcina barkeri* // *Europ. J. of Biochemistry.* – 1986. – N 159. – P. 393–398.
13. *Голуб Н.Б., Жураховська Д.І., Нікуліна К.В., Нікуліна Н.В.* Одержання біоводню в анаеробних процесах // *Відновлювальна енергетика.* – 2009. – 17, № 2. – С. 65–73.
14. *Tanisho S., Suzuki Y., Wakao N.* Fermentative Hydrogen Evolution by *Enterobacter aerogenes* strain E.82005 // *Intern. Journal of Hydrogen Energy.* – 1987. – N 12. – P. 623–627.
15. *Tanisho S., Wakao S., Kosako Y.* Biological Hydrogen Production by *Enterobacter aerogenes* // *J. of Chem. Engineering of Japan.* – 1983. – N 16. – P. 529–530.
16. *Tanisho S., Ishiwata Y.* Continuous Hydrogen Production from Molasses by the Bacterium *Enterobacter aerogenes* // *Intern. Journal of Hydrogen Energy.* – N 19. – P. 807–812.
17. *Tanisho S., Kuromoto M., Kadokura N.* Effect of CO₂ Removal on Hydrogen Production by Fermentation // *Ibid.* – 1998. – N 23. – P. 559–563.
18. *Yokoi H., Ohkawara T., Hirose J. et al.* Characteristics of Hydrogen Production by Aciduric *Enterobacter aerogenes*

- strain HO-39 // *J. of Fermentation and Bioengineering*. – 1995. – N 80. – P. 571–574.
19. *Rachman M.A., Furutani Y., Nakashimada Y. et al.* Enhanced Hydrogen Production in Altered Mixed Acid Fermentation of Glucose by *Enterobacter aerogenes* // *Ibid.* – 1997. – N 83. – P. 358–363.
20. *Gray C.T., Gest H.* Biological Formation of Molecular Hydrogen // *Science*. – 1965. – N 148. – P. 186–192.
21. *Nandi R., Sengupta S.* Involvement of Anaerobic Reductases in the Spontaneous Lysis of Formate by Immobilized Cells of *E. coli* // *Enzyme and Microbial Technology*. – 1996. – N 19. – P. 20–25.
22. *Blackwood A.C., Neish A.C., Ledingham G.A.* Dissimilation of Glucose at Controlled pH Values by Pigmented and Non-Pigmented Strains of *Escherichia Coli* // *The Journal of Bacteriology*. – 1996. – N 72. – P. 497–498.
23. *Jung G.Y., Kim J.R., Park J.Y., Park S.* Hydrogen Production by a New Chemoheterotrophic Bacterium *Citrobacter* sp. Y19 // *Intern. Journal of Hydrogen Energy*. – 2002. – N 27. – P. 601–610.
24. *Kuhn M., Steinbüchel A., Schlegel H.G.* H₂ Evolution by Strictly Aerobic H₂ Bacteria under Anaerobic Condition // *The Journal of Bacteriology*. – 1984. – N 159. – P. 633–639.
25. *Kalia V.C., Jain S.R., Kumar A., Joshi A.P.* Fermentation of Biowaste to H₂ by *Bacillus licheniformis* // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 1994. – N 10. – P. 224–227.
26. *Kumar A., Jain S.R., Sharma C.B. et al.* Increased H₂ Production by Immobilized Microorganisms // *Ibid.* – 1995. – N 11. – P. 156–159.
27. *Uffen R.L.* Anaerobic Growth of a *Rhodospseudomonas* species in the Dark with Carbon Monoxide as Sole Carbon and Energy Substrate // *The Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1996. – N 73. – P. 3298–3302.
28. *Markov S.A., Weaver P.F., Seibert M.* Potential of Using Microorganisms in Hollow-Fiber Bioreactors for Hydrogen Production // *Biomedical and Life Sciences*. – 1999. – N 8. – P. 383–390.
29. *Prince R.C., Kheshgi H.S.* The Photobiological Production of Hydrogen: Potential Efficiency and Effectiveness as a Renewable Fuel // *Critical Reviews in Microbiology*. – 2005. – N 31. – P. 19–31.
30. *Greenbaum E.* Energetic Efficiency of Hydrogen Photoevolution by Algal Water Splitting // *Biophysical Journal*. – 1988. – N 54. – P. 365–368.
31. *Кузьмінський Є.В., Щурська К.О.* Біоелектрохімія – невід’ємна складова нового технологічного укладу // *Наук. вісн. Чернів. ун-ту*. – 2010. – Вип. 526. – С. 9–20.
32. *Щурська К.О.* Біотехнологічне отримання водню в біопаливному елементі: магістер. дис. 19.06.2010 / НТУУ “КПІ”. – К., 2010. – 122 с.
33. *Кузьмінський Є.В., Щурська К.О.* Біоелектрохімічне генерування водню в мікробному паливному елементі. 1. Загальна частина // *Відновлювальна енергетика*. – 2010. – № 4 (23). – С. 87–97.
34. *Rabaey K., Ossieur W., Verhaege M., Verstraete W.* Continuous Microbial Fuel Cells Convert Carbohydrates to Electricity // *Water Science and Technology*. – 2005. – N 52. – P. 515–523.
35. *Heilmann J., Logan B.E.* Production of Electricity from Proteins Using a Single Chamber Microbial Fuel Cell // *Water Environment Research*. – 2006. – N 78. – P. 531–537.
36. *Rabaey K., Lissens G., Siciliano S.D., Verstraete W.* A Microbial Fuel Cell Capable of Converting Glucose to Electricity at High Rate and Efficiency // *Biotechnology Letters*. – 2003. – N 25. – P. 1531–1535.
37. *Кузьмінський Є.В., Голуб Н.Б., Щурська К.О.* Стан, проблеми та перспективи біоенергетики в Україні // *Відновлювальна енергетика*. – 2009. – 17, № 4. – С. 64–80.
38. *Фундаментальні проблеми водневої енергетики [Електронний ресурс] / За ред. В.Д. Походенка, В.В. Скорохода, Ю.М. Солоніна. – Режим доступу: <http://www.nas.gov.ua/programs/hydrogen/UA/news/Documents/monograph.pdf>.*

Рекомендована Радою
факультету біотехнології і біотехніки
НТУУ “КПІ”

Надійшла до редакції
28 лютого 2011 року