

Mikrobiologiczne i biochemiczne ujęcie wytwarzania wybranych biopaliw

Marcin Bizukojć

Politechnika Łódzka, Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska, Katedra Inżynierii Bioprocessowej, ul. Wólczańska 213, 90-924 Łódź

e-mail: marcin.bizukojc@p.lodz.pl

Streszczenie

W niniejszym artykule przedstawione zostały zagadnienia wytwarzania biopaliw ciekłych i płynnych od strony mikrobiologiczno-biochemicznej. Uwzględniono bioetanol, biobutanol oraz biogaz zawierający metan oraz biowodór. Podane zostały mikroorganizmy zdolne do wytwarzania tych biopaliw, szlaki biochemiczne, tryb pracy bioreaktorów oraz warunki procesowe ich biosyntezy. Dodatkowo poruszone zostało zagadnienie pozyskiwania substratów węglowych do produkcji tychże biopaliw.

1. Wprowadzenie

Na miano biopaliw zasługują te paliwa, które są pochodzą ze współczesnych surowców biologicznych. Określenie współczesne oznacza, że nie są to paliwa kopalne, to znaczy takie, które powstały również w wyniku wegetacji i późniejszego rozkładu materii żywej, ale miało to miejsce we wcześniejszych epokach geologicznych. Ropa naftowa, gaz ziemny czy węgiel kamienny pochodzą od mikroorganizmów (okrzemków) i roślin, żyjących w epoce prekambryjskiej i paleozoicznej. Węgiel kamienny jest młodszy i powstał w wyniku rozkładu materii roślinnej epoki trzeciorzędu.

Biopaliwa wytwarzane obecnie, na skalę przemysłową a także te wytwarzane w skali pilotowej można podzielić na dwie grupy. Pierwsze z nich to biopaliwa w postaci biomasy roślinnej (słoma, drewno odpadowe, drewno specjalnie hodowane do celów energetycznych) oraz biopaliwa ciekłe i gazowe będące efektem metabolicznej działalności niektórych mikroorganizmów. Tym ostatnim poświęcony będzie niniejszy artykuł. Będą to alkohol etylowy (bioetanol), alkohol n-butyłowy (biobutanol) oraz biogaz (zawierający albo metan jako główny składnik albo wodór).

2. Substraty wykorzystywane do mikrobiologicznej produkcji biopaliw

Wybór substratu do wytwarzania konkretnego biopaliwa ciekłego lub gazowego jest szczególnie ważny i na jego podstawie dokonuje się podziału biopaliw na biopaliwa pierwszej, drugiej i trzeciej generacji.

Dla każdego procesu z udziałem mikroorganizmów niezbędne jest zapewnienie przede wszystkim źródła węgla, azotu i fosforu. Te dwa ostatnie pierwiastki nie sprawiają problemu, gdyż wiele substratów pochodzenia naturalnego je zawiera, albo i też łatwo i tanio jest je dostarczyć w postaci, np. soli amonowych, azotanowych czy fosforanowych. Dodać również należy, że pierwiastkowa zawartość węgla w podłożu dla wzrostu mikroorganizmów (bakterii czy drożdży) jest zazwyczaj trzydziestokrotnie większa niż azotu.

Optymalnym źródłem węgla są oczywiście węglowodany, najlepiej glukoza. Może być ona przetworzona bezpośrednio w każdy produkt metaboliczny przez wszystkie mikroorganizmy, z wyjątkiem czystej kultury bakterii metanowych.

Substrat można zatem pozyskać z roślin jadalnych jak burak cukrowy czy trzcina cukrowa (sacharoza, dwucukier złożony z glukozy i fruktozy), zbóż albo ziemniaków. Zboża i ziemniaki jako materiał zapasowy zawierają skrobię, będącą polimerem glukozy. reszty glukozy połączone są wiązaniami 1,4- α -glikozydowymi. Rozkład skrobi zachodzi łatwo i jest znany od wieków jako przygotowywanie zacieru do produkcji alkoholu etylowego. każde biopaliwo wytwarzane z cukrów pochodzących z wyżej wspomnianych roślin nazywamy biopaliwem pierwszej generacji. Przetwarzanie tych roślin na alkohol etylowy, n-butylowy lub biogaz wiąże się jednak z dużymi kontrowersjami, gdyż w wielu krajach ludzie głodują, a społeczeństwa bogate chcą przerabiać żywność na paliwo dla swoich samochodów lub też w innych celach energetycznych.

Z tego powodu w końcu XX wieku zrodziła się koncepcja wykorzystania biomasy innych roślin w celu pozyskania substratów cukrowych. Tutaj próbuje się wykorzystać takie rośliny jak miskant, trzcina czy konopie. Problemem jest jednak forma w jakiej związana jest w tych roślinach glukoza. Łodygi czy liście roślin zawierają trzy związki wielkocząsteczkowe: celulozę, hemicelulozę oraz ligninę. Tylko te dwa pierwsze polimery zawierają glukozę oraz inne cukry. W porównaniu z materiałem zapasowy nasion zbóż czy ziemniaków, czyli skrobią, celuloza jest znacznie trudniej rozkładalna. jej struktura jest włóknista, a celuloza jest nierozpuszczalna w wodzie. Wiąże się to z innym typem wiązań między resztami glukozy (wiązania 1,4- β -glikozydowe). Hemiceluloza ma podobną strukturę, ale poza tym zawiera inne cukry jak ksyloza czy arabinoza. Wiele mikroorganizmów nie potrafi ich wykorzystywać jako jedyne źródła węgla dla wzrostu i wytwarzania metabolitów. Lignina zaś jest związkiem fenolowym i nie zawiera żadnych cząsteczek węglowodanów. Dodatkowym problemem jest to, że te trzy polimery są ściśle ze sobą powiązane w biomacie roślinnej, co dodatkowo utrudnia ich hydrolizę i uzyskanie pożądanej glukozy.

Biopaliwa trzeciej generacji są związane z wytwarzaniem substratu węglowego w postaci żywej biomasy glonów. Glony jako organizmy fotoautotroficzne wymagają jedynie dwutlenku węgla jako źródła węgla co niezmiernie pozytywnie wpływa na bilans tego związku chemicznego, zaś sama biomasa glonów jest łatwo hydrolizowalna i może zawierać zależnie od gatunku różne materiały zapasowe, między innymi tłuszcze czy polisacharydy.

3. Mikrobiologiczne wytwarzanie biopaliw ciekłych i gazowych

Mając do dyspozycji substrat, niezależnie od jego pochodzenie, trzeba zastosować właściwy sposób jego przetworzenia na biopaliwo. Względy metaboliczne sprawiają, że przy wytwarzaniu biopaliw wykorzystuje się wyłącznie mikroorganizmy beztlenowe. Jedynym wyjątkiem jest tu alkohol etylowy, wytwarzany przez tlenowe z natury drożdże, które w tym przypadku są zdolne do wzrostu w warunkach beztlenowych wytwarzając alkohol etylowy.

3.1. Biosynteza alkoholu etylowego

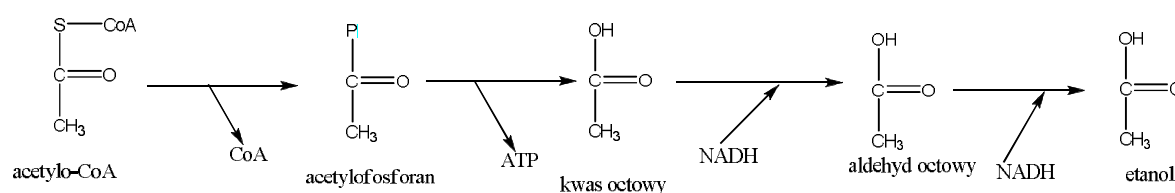
Do wytwarzania alkoholu etylowego zdolne drożdże żyjące w warunkach beztlenowych oraz niektóre bakterie. Technologia fermentacji alkoholowej z udziałem drożdży jest najstarszym znanym ludzkości procesem biotechnologicznym. Dominują drożdże *Saccharomyces cerevisiae*, ale również inne gatunki mają podobne zdolności. W tabeli 1 zestawione zostały gatunki mikroorganizmów zdolnych do produkcji alkoholu etylowego wraz z wykorzystywanymi przez nie źródłami węgla.

Tabela 1. Mikroorganizmy zdolne do wytwarzania alkoholu etylowego i wykorzystywane przez nie źródła węgla

Drożdże:	Substraty:
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	glukoza, fruktoza, galaktoza
<i>Saccharomyces uvarum</i>	sacharoza, maltoza, maltotrioza
<i>Saccharomyces diastaticus</i>	glukoza maltoza, skrobia
<i>Saccharomyces rouxii</i>	glukoza fruktoza, maltoza, sacharoza
<i>Kluyveromyces fragilis</i> oraz <i>K. lactis</i>	glukoza, galaktoza, laktoza
<i>Candida tropicalis</i>	glukoza, ksyloza, ksyluloza
<i>Candida pseudotropicalis</i>	glukoza, galaktoza, laktoza
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	cukry proste, maltoza, dekstryny, kwas jabłkowy
<i>Schwanniomyces alluvius</i> oraz <i>S. castelli</i>	dekstryny, skrobia
<i>Endomycopsis fibuliger</i>	dekstryny skrobia

Bakterie:	
<i>Zymomonas mobilis</i>	glukoza, fruktoza, sacharoza
<i>Clostridium thermocellum</i>	glukoza, celobioza, celuloza
<i>Clostridium thermohydrosulphuricum</i>	glukoza, ksyloza, celobioza, sacharoza, skrobia
<i>Thermoanaerobium brockii</i>	glukoza, sacharoza, celobioza, skrobia
<i>Thermobacterioides acetoethylicus</i>	glukoza, sacharoza, celuloza

Podstawowym ograniczeniem od strony substratu co również wynika z tabeli 1 wytwarzania alkoholu etylowego jest to, że najwydajniej jest on wytwarzany na glukozie, fruktozie lub sacharozie. Biochemiczne przemiany prowadzące do uzyskania alkoholu etylowego przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Szlak metaboliczny biosyntezy alkoholu etylowego

Centralny metabolit pośredni szlaków katabolicznych acetylo-CoA jest przetwarzany alkohol etylowy w celu uzyskania energii w postaci ATP oraz utlenienia nadmiaru zredukowanych nukleotydów nikotynoadeninowych (NADH).

Alkohol etylowy jest oczywiście wytwarzany na skalę przemysłową w bioreaktorach o objętości setek metrów sześciennych, najczęściej w procesie okresowym lub ciągłym. Maksymalne stężenie uzyskiwane w brzeczce fermentacyjnej osiąga około 180 g/l czyli 18%. Większych stężeń nie da się uzyskać ze względu na toksyczne działanie alkoholu etylowego. Mikroorganizmy po prostu giną. Odzysk etanolu odbywa się poprzez rektyfikację. Pozwala ona uzyskać mieszaninę alkoholu etylowego i wody w stosunku objętościowym 96:4. Jest to tak zwany rektyfikat. Nie ma możliwości uzyskania 100% alkoholu etylowego przez prostą rektyfikację, gdyż tworzy on z wodą tak zwaną mieszaninę azeotropową. Oznacza to, że para uzyskana z takiej mieszaniny nie jest bogatsza w składnik bardziej lotny. Rektyfikat jest bezużyteczny jako biopaliwo dodawane do benzyn, gdyż powodowałby rozwarstwienie benzyny. Stąd pojawia się konieczność jego odwadniania przez destylację azeotropową w układzie trójskładnikowym z dodatkiem np. benzenu.

Oprócz drożdży do produkcji bioetanolu mogą być stosowane bakterie, co wynika z tabeli 1. najbardziej obiecujące są bakterie *Zymomonas mobilis*. Porównanie wydajności oraz szybkości procesów biosyntezy etanolu z udziałem tych organizmów przedstawia tabela 2

Tabela 2. Porównanie procesów biosyntezy etanolu z udziałem drożdży i bakterii

Parametr kinetyczny	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Z. mobilis</i>
maksymalna właściwa szybkość wzrostu biomasy, h ⁻¹	0,41	0,43
właściwa szybkość asymilacji glukozy, g GLU gX h ⁻¹	10,5	1,75
Właściwa szybkość produkcji etanolu, g _{EtOH} gX h ⁻¹	5,67	0,67
Wydajność etanolu na glukozie g _{EtOH} g _{GLU} ⁻¹	0,47	0,43
Wydajność jako % wydajności teoretycznej	92	85
Maksymalne stężenie etanolu		
- w fermentacji ciągłej	do 50 g l ⁻¹ (5%)	55-60 g l ⁻¹ (5.5-6.0%)
- w fermentacji okresowej	do 200 g l ⁻¹ (20%)	do 100 g l ⁻¹ (10%)

Analizując tabelę 2 zwrócić należy uwagę, że nie ma istotnej różnicy między tymi organizmami, co do możliwości produkcji bioetanolu. W fermentacji okresowej w odniesieniu do końcowego stężenia produktu, które jest najważniejsze z punktu widzenia jego odzysku, drożdże są bezkonkurencyjne. W procesie ciągłym bakterie zyskują przewagę. Dodajmy, że procesy ciągłe są szczególnie chętnie stosowane przez przemysł ze względu na ich łatwą automatyzację i pracę całej instalacji w stanie ustalonym.

Bioetanol jest obecnie powszechnie dodawanym biokomponentem benzyn w ilości kilku procent objętościowych w Europie do nawet 20% w Brazylii. Brazylia zresztą od dawna przoduje w wykorzystywaniu tego biopaliwa, a wiąże się to z charakterem rolnictwa w tym kraju. Bardzo duży areal obejmuje trzcina cukrowa, a cukier z niej uzyskiwany jest fermentowany do bioetanolu. Jest to zatem w przypadku Brazylii biopaliwo pierwszej generacji.

3.2. Biosynteza alkoholu butylowego

Alkohol butylowy (n-butanol) ma dużą przewagę nad alkoholem etylowym jako biopaliwem. Przede wszystkim nie tworzy azotropu z wodą co obniża ryzyko rozwarstwiania się paliwa niż w przypadku etanolu. Jego właściwości fizykochemiczne są bardziej zbliżone do właściwości węglowodorów benzyn. Wartość opałowa butanolu jest zbliżona do wartości opałowej benzyny. Niższa prężność pary ułatwia jego dodawanie do benzyn. Można bez problemu dodawać więcej butanolu do paliw niż etanolu (tabela 3)

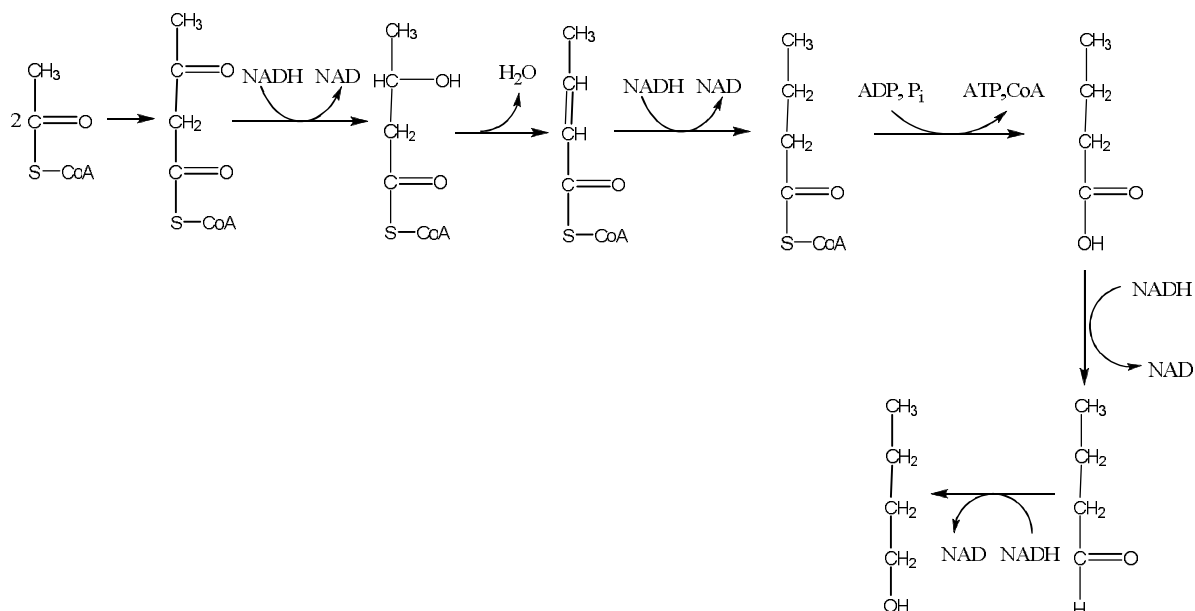
Tabela 3. Porównanie właściwości niższych alkoholi alifatycznych jako dodatku do benzyn

Parametr	benzyna	butanol	etanol	metanol
	C ₄ -C ₁₂	C ₄ H ₉ OH	C ₂ H ₅ OH	CH ₃ OH
Temp. wrzenia (°C)	32-210	118	78	65
wartość opałowa (MJ/kg)	44.5	33.1	26,9	19,6
Liczba oktanowa	91-99	96	129	136
Ciepło parowania (MJ/kg)	0.36	0.43	0,92	1,20

Powszechne stosowanie biobutanolu jest jednak ograniczone ze względu na jego koszt, a ten wynika z niskiej wydajności procesu jego biosyntezy. Biosynteza biobutanolu jest niestety silnie ograniczona biochemicznie i mikrobiologicznie.

Butanol jest wytwarzany w fermentacji ABE (aceton-butanol-etanol) przez bakterie z rodzaju *Clostridium*, najczęściej *Clostridium acetobutylicum* lub *Clostridium beijerinckii*. Te przetrwalnikujące laseczki są bezwzględnie beztlenowcami (tlen w atmosferze jest dla nich trucizną), co stwarza pewne problemy przy prowadzeniu procesu bioreaktorowego. Stosunek objętościowy wytwarzanych rozpuszczalników najczęściej wynosi 3:6:1. W szczepach bakterii specjalnie selekcjonowanych bądź modyfikowanych genetycznie nawet 90% wytworzonych rozpuszczalników może stanowić butanol.

Szlak biosyntezy n-butanolu przedstawiony został na rys. 2



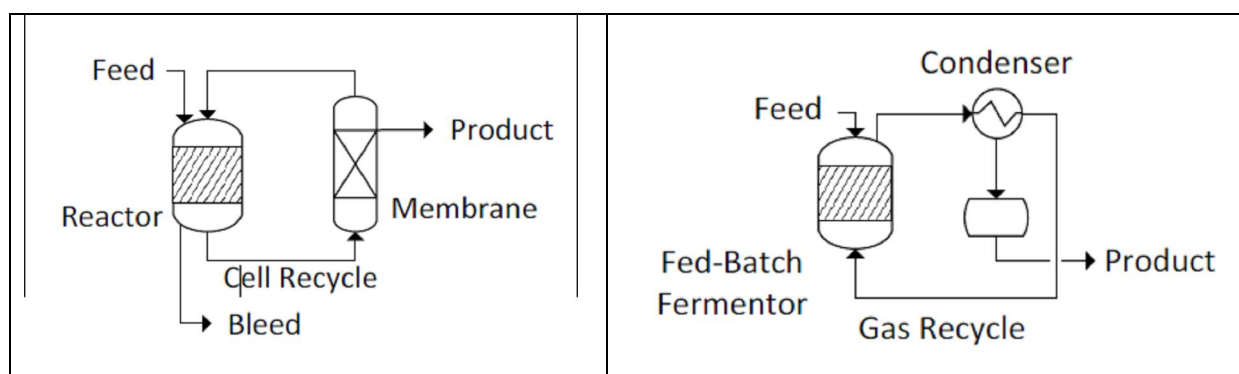
Rys. 2 Szlak biosyntezy n-butanolu

Dwie cząsteczki acetylo-CoA kondensują tworząc czterowęglowy szkielet dla butanolu, czyli acetoacetylo-CoA. Grupa karbonylowa jest następnie redukowana do hydroksykwasu, usuwana jest woda z wytworzeniem podwójnego wiązania, które w końcu jest redukowane do prostego łańcucha alkilowego. Tak utworzony butyrylo-CoA jest następnie źródłem energii postaci ATP dla komórek w reakcji fosforylacji substratowej. Uzyskany w ten sposób kwas masłowy jest z kolei redukowany poprzez aldehyd masłowy do n-butanolu (biobutanolu)

Klasyczny proces wytwarzania biobutanolu to fermentacja okresowa w bioreaktorach bezmieszadłowych (barbotażowych) o objętości 100-200 m³. Stężenie fermentowalnego cukru (najlepiej glukozy powinno wynosić 50-75 g l⁻¹). Konieczny jest dodatek organicznego lub nieorganicznego źródła azotu oraz fosforanów. Bardzo istotne jest przedmuchiwanie hodowli dwutlenkiem węgla i tworzenie nad cieczą ochronnej atmosfery CO₂. Wynika to ze ściśle anaerobowego charakteru laseczek *Clostridium*. Niezbędna jest też termiczna aktywacja spor bakterii *Clostridium* sp. (100°C) zaś temperatura prowadzenia procesu to 29-35°C

Procesie konwencjonalnym uzyskuje się jednak stężenie produktu (suma rozpuszczalników ABE) na poziomie do 33 g l⁻¹ czyli zaledwie 3,3%. Jest to nieporównywalnie mniej niż etanolu. Wynika to oczywiście w oksyczości rozpuszczalników, przede wszystkim pożądanego butanolu. Niskie jego stężenie automatycznie podnosi koszty jego odzysku poprzez rektyfikację.

Z tego powodu zaproponowane zostały procesy ciągłe bądź okresowe z zasilaniem substratem węglowym połączone z jednoczesnym odzyskiem produktu. Najprostsza metoda to *stripping* rozpuszczalników, bardziej wyrafinowane jest zastosowanie modułu membranowego do usuwania produktów fermentacji (rys. 3)



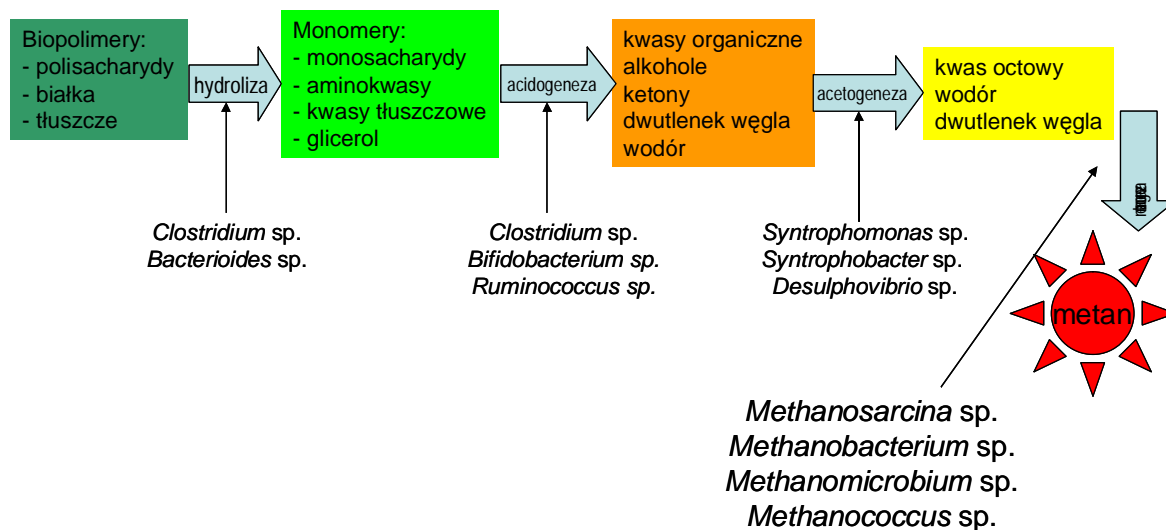
Rys. 3 Alternatywne metody produkcji biobutanolu

Zastosowanie biosyntezy z jednoczesnym odzyskiem produktu pozwala na uzyskanie stężenia względnego (czyli nie tego realnego w danej chwili bioreaktorze) biobutanolu (przeliczonego

na całkowitą objętość brzezki) na poziomie 233 g l^{-1} (bioreaktor okresowy z zasilaniem) albo nawet 460 g l^{-1} (bioreaktor o działaniu ciągłym) przy zastosowaniu *strippingu* oraz 165 g l^{-1} przy użycie membrany do perwaporacji w procesie okresowym z zasilaniem

3.3 Wytwarzanie biogazu bogatego w metan

Wytwarzanie biogazu bogatego w metan to domena kultur mieszanych, czyli tak zwanego osadu beztlenowego. W takim osadzie zachodzi ekwencja przemian biochemicznych którą najlepiej ilustruje rys. 4.



Rys. 4. Przemiany zachodzące w osadzie beztlenowym

Na rys. 4 podane zostały nazwy rodzajowe bakterii odpowiedzialnych za poszczególne etapy przemian biochemicznych. Fakt stosowania kultury mieszanej umożliwia przetwarzanie prawie każdego odpadowego substratu węglowego. Zatem biogaz bogaty w metan wyłamauje się z podziału biopaliw na trzy generacje. W praktyce najczęściej stosowanymi substratami są odpady organiczne, osady ściekowe i gnojowica. Wartość opałowa biogazu uzyskiwanego z fermentacji odchodów zwierzęcych wynosi $21-23 \text{ MJ/m}^3$, zaś z odpadów komunalnych $16-19 \text{ MJ/m}^3$. Skład biogazu przedstawia się następująco: metan CH_4 55-75% dwutlenek węgla CO_2 25-45% azot N_2 0-0,3%, wodór H_2 1-5% siarkowodór H_2S 0-3% oraz tlen O_2 0,1-0,5%. Skład biogazu może być różny zależnie od stosowanego substratu. Wydajność procesu jest głównie związana z aktywnością bakterii metanowych. Wcześniejsze etapy przemian powinny dostarczyć tym bakteriom pożądaných przez nie substratom węglowym. A należy tu podkreślić, że te bakterie mają bardzo wąski zakres asymilowalnych substratów. Są to związki C_1 jak CO_2 (w połączeniu z wodorem, metanogeneza autotroficzna), związki metylowe i kwas mrówkowy, a także dwuwęglowy kwas octowy. Stechiometrię różnych

rodzajów metanogenezy przedstawia tabela 5. Od tego jak skutecznie w trzech pierwszych etapach przemian beztlenowych będą one wytwarzane, zależy wydajność produkcji biogazu bogatego w metan.

Tabela 5 Stechiometria i termodynamika metanogenezy

Metanogeneza wodorotroficzna $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 = \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	$\Delta G_0 = -130 \text{ kJ mol CH}_4^{-1}$
Metanogeneza formylotroficzna $4\text{HCOOH} = 3\text{CO}_2 + \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	$\Delta G_0 = -119 \text{ kJ mol CH}_4^{-1}$
Metanogeneza metylotroficzna $4\text{CH}_3\text{OH} = 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	$\Delta G_0 = -106 \text{ kJ mol CH}_4^{-1}$
Metanogeneza acetoklastyczna $\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ = \text{CH}_4 + \text{CO}_2$	$\Delta G_0 = -36 \text{ kJ mol CH}_4^{-1}$

3.4 Wytwarzanie biowodoru

Wodór jest teoretycznie najlepszym biopaliwem, gdyż podczas jego spalania nie powstaje dwutlenek węgla. Jednak uzyskanie biogazu bogatego w wodór jest znacznie trudniejsze niż bogatego w metan. Mikroorganizmy i procesy biochemiczne, w których potencjalnie może powstawać wodór można sklasyfikować następująco:

1. Bezpośrednia biofotoliza – zdolne są do niej glony: zielenice *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella fusca*, i *Scenedesmus obliquus*. Polega ona na tym, że warunkach deficytu tlenu i ciemności te fotoautotroficzne organizmy wydzielają nadmiar związanego wodoru przez ferredoksynę w postaci gazowej;
2. Pośrednia biofotoliza – zdolne są do niej sinice (prokariotyczne fotosyntetyzujące organizmy); polega na tym, że w ciemności następuje fermentacja wytworzonych w fazie świetlnej cukrów do wodoru. Dodatkowo zdolność sinic do wiązania azotu cząsteczkowego z atmosfery wiąże się z wydzielaniem wodoru. Wydajność produkcji biowodoru jest jednak niska
3. Fermentacja bakteryjna – ABE (aceton, butanol, etanol) oraz fermentacja bakteryjna – kwasów mieszanych – bezwzględnie beztlenowe bakterie *Clostridium* sp.; mechanizm w obu fermentacjach jest podobny: gazowy wodór jest wydzielany poprzez utlenianie zredukowanej ferredoksyny. Zredukowana ferredoksyna powstaje w wyniku

utleniania kwasu pirogronowego do acetylo-CoA lub rozkładu kwasu mrówkowego. Wydajność produkcji biowodoru jest w tym przypadku największa.

4. Fotofermentacja – fotosynteza prowadzona przez bakterie beztlenowe *Rhodospirillaceae* (bakterie purpurowe i zielone, siarkowe i bezsiarkowe) – mechanizm wydzielania wodoru jest tutaj związany z wiązaniem azotu atmosferycznego oraz rozkładem kwasu mrówkowego; wydajność tych procesów jest przeciętna.

Dodać jeszcze należy, że pewne ilości wodoru można uzyskiwać z tego samego osadu beztlenowego jak do produkcji metanu. Wodór pojawia się w nim jako efekt działania bakterii acetogennych. Problemem jest tylko zahamowanie metanogenezy, dla której wodór jest substratem (autotroficzna metanogeneza). Dokonuje się tego poprzez zakwaszenie fermentowanej mieszaniny. Wydajność wodoru jest tutaj również przeciętna, gdyż wodór jest silnie toksyczny dla acetogenów.

Podsumowanie

Chociaż teoretycznie istnieje wiele możliwości mikrobiologicznej produkcji biopaliw płynnych i gazowych, napotyka się istotne ograniczenia na poziomie ich metabolizmu. Należą do nich toksyczność pożądaných produktów (biopaliw), czego przykładem jest n-butanol i wodór oraz ograniczenia w asymilacji niektórych substratów, co jest problemem produkcji bioetanolu drugiej generacji. Dlatego też do tej pory z sukcesem na skalę przemysłową wytwarzany jest bioetanol pierwszej generacji oraz biogaz bogaty w metan.

Zalecana literatura przedmotu:

Chmiel A.: Biotechnologia. Podstawy mikrobiologiczne i biochemiczne. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa, 1998.

Praca zbiorowa.: Biotechnology. Environmental processes, vol. 11a, 2nd ed. H.-J. Rehm, & G. Reed, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1999.

Kączkowski J. Podstawy biochemii, PWN 2005