

PENGARUH PENAMBAHAN SUKROSA PADA PEMBUATAN GAS HIDROGEN DAN METAN LIMBAH CAIR INDUSTRI ALKOHOL

Paryanto*, Endang Mastuti

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret
Jl. Ir. Sutami no. 36 A, Surakarta 57126 Telp/fax: 0271-632112

*Email: paryanto_ftuns@yahoo.com

Abstract: *The fast production, easy conversion and environmental friendly of renewable energy sources is very important to be realized immedietly. Converting of biomass waste to renewable energy is an alternative way. Aim of this study was to understand the process of producing combustible gas from liquid waste of ethanol industry. This waste was then fermented anaerobically with no light to produce gas. In this study, we used three variation of liquid waste i.e original waste, and waste with addition of 5% and 10% sucrose. Result of the experiment showed that the longer reaction time will lower the permanganat value of substrat and higher the conversion. The highest value of conversion was obtained from waste with 5% sucrose addition at 51.3 mL/second of liquid volumetric rate for three days operation time.*

Keywords: *fermentation, sucrose, liquid waste*

PENDAHULUAN

Ketergantungan pada konsumsi minyak yang bersumber dari bahan bakar minyak (BBM), yang memang dari proses alami dari fosil, dapat menjadi bumerang bagi manusia ketika terbentur pada kenyataan akan terbatasnya cadangan minyak.

Menipisnya cadangan minyak dunia dapat menimbulkan pengaruh yang sangat besar di hampir semua sektor kehidupan. Kehidupan sosial ekonomi masyarakat sangat rentan akan isu kelangkaan bahan bakar minyak yang bersumber dari alam. Sektor industri sebagai produsen kebutuhan hidup masyarakat, juga sangat menggantungkan aktivitasnya pada suplai BBM, sehingga pada akhirnya juga akan mempengaruhi aspek produksi dan jasa yang dikonsumsi masyarakat.

Biomassa (bahan organik) merupakan sumber energi alternatif yang mempunyai berbagai keuntungan. Selain tersedia dengan jumlah banyak, biomassa merupakan sumber energi yang bersifat *renewable* (terbaharukan). Biomassa dapat diperoleh dari sampah maupun limbah organik seperti limbah peternakan, limbah pertanian, limbah industri makanan, dan masih banyak lagi. Biomassa dapat diubah menjadi bahan bakar dengan berbagai cara antara lain pembakaran, pirolisa, gasifikasi, atau dikonversi menjadi gas metan dan hidrogen.

Energi alternatif yang cepat pembuatannya dan dapat diperbaharui, mudah dikonversi menjadi segala kebutuhan energi, dan ramah terhadap lingkungan sangat penting

untuk segera diwujudkan, karena kebutuhan akan energi dan pemulihan kerusakan lingkungan sudah tidak dapat ditunda lagi. Gas metan dan hidrogen merupakan salah satu pilihan sebagai energi alternatif karena mudah dikonversi dan tidak merusak lingkungan baik dalam proses pembuatannya ataupun penggunaannya.

Pembuatan gas secara komersial dilakukan dengan proses kimia-fisika yaitu *steam reformation* gas alam, gasifikasi batu bara, oksidasi parsial bahan bakar minyak, dan elektrolisa air. Proses tersebut membutuhkan energi eksternal untuk menghasilkan gas. Disamping itu, proses tersebut selain elektrolisa air menghasilkan CO₂ dan berbagai polutan lainnya.

Selain itu gas dapat dihasilkan melalui proses bioteknologi yaitu melalui proses fermentasi, baik secara anaerobik atau aerobik, gas hidrogen dapat pula dibuat secara biologis yaitu dengan cara fermentasi biomassa baik dengan sinar (*photo fermentation*) maupun tanpa sinar (*dark fermentation*), sehingga menjadikannya lebih ekonomis.

Di Indonesia khususnya di daerah Jawa Tengah terdapat industri pembuatan alkohol yang limbahnya dapat mencemari lingkungan, limbah ini merupakan biomassa yang dapat diolah menjadi gas.

Mempertimbangkan potensi yang cukup besar dari limbah cair industri alkohol sebagai penghasil gas serta potensi gas sebagai energi alternatif yang ramah lingkungan, maka perlu

dilakukan penelitian mengenai pembuatan gas dari limbah cair industri alkohol.

Tujuan penelitian adalah mengetahui hasil analisis baku mutu limbah cair industri alkohol dan mengetahui konversi gas yang dihasilkan.

Manfaat penelitian sebagai sumber energi alternatif yang ramah lingkungan, mengurangi dampak polusi lingkungan akibat adanya limbah industri alkohol, meningkatkan kualitas ekonomi masyarakat dengan memanfaatkan gas hasil pengolahan limbah industri alkohol, sehingga menghemat pengeluaran untuk keperluan konsumsi bahan bakar sehari-hari

Biogas adalah campuran gas-gas dari biomassa (bahan-bahan organik) termasuk diantaranya kotoran manusia dan hewan, limbah domestik (rumah tangga), sampah *biodegradable* atau setiap limbah organik *biodegradable* yang mudah terbakar dan dihasilkan dengan mendayagunakan bakteri melalui proses fermentasi bahan organik dalam keadaan tanpa oksigen atau kedap udara (anaerobik) dan merupakan sebuah rangkaian proses yang sangat kompleks, yang melibatkan banyak sekali parameter - parameter yang berpengaruh, serta melibatkan ratusan senyawa mikroorganisme yang sangat penting (Harahap, 1980).

Hidrogen dapat diperoleh dengan berbagai macam cara, seperti proses elektrokimia, termokimia, fotokimia, fotokatalitik, atau proses fotoelektrokimia, maupun secara biologis (Han dan Shin, 2004).

Proses termokimia antara lain, proses gasifikasi, pirolisis dan *aqueous phase reforming*, sedangkan proses biologis antara lain proses fermentasi dan digesti anaerobik

Produksi hidrogen terjadi melalui fenomena alam dibawah kondisi kekurangan oksigen atau pada kondisi anaerob. Banyak jenis bakteri, dapat mengubah bahan organik menjadi hidrogen dan CO₂ serta dapat menghasilkan asam asetat, laktat, dan alkohol (Wijffels dan Barton, 2003)

Produksi hidrogen dapat menggunakan limbah organik sebagai bahan baku. Mikroorganisme dapat menghasilkan hidrogen melalui fotosintesis maupun fermentasi. Fermentasi lebih banyak dipilih, karena secara teknis lebih sederhana daripada fotosintesis, fermentasi menghasilkan hidrogen dari material karbohidrat yang didapat dari limbah (Han dan Shin, 2004)

Produk lain dari produksi hidrogen dengan menggunakan fermentasi anaerobik tanpa cahaya dari karbohidrat adalah asam asetat, propionat dan butirir. Pembentukan asam laktat dapat terjadi bila laktosa dan molases (sukrosa)

digunakan sebagai substrat (Kapdan dan Kargi, 2005)

Sludge limbah dapat digunakan sebagai inokulum setelah dipanaskan (diberi perlakuan panas) pada suhu 100°C selama 15 menit. Bakteri penghasil hidrogen memiliki kemampuan untuk membentuk endospora tahan panas selama proses pemanasan dan membantu mematikan bakteri pemakan hidrogen yang tidak dapat membentuk spora seperti bakteri metanogen, dan memungkinkan pertumbuhan bakteri pembentuk spora seperti spesies *Clostridium* (Sung, 2004)

Hidrogen yang dapat diperoleh dari biomassa. Biomassa merupakan sumber energi terbarukan dan jumlahnya yang tidak terbatas. Ada beberapa metode mengolah biomassa menjadi hidrogen antara lain gasifikasi termokimia, pirolisis biomassa, konversi syngas dari biomassa, dan konversi mikrobial biomassa. Gasifikasi termokimia, pirolisis, dan konversi syngas membutuhkan panas yang tinggi dan proses yang panjang untuk mendapatkan hidrogen, serta hasil samping yang tidak diinginkan sehingga tidak efektif. Konversi dengan mikrobial merupakan proses sederhana dan murah (Nath dan Das, 2003).

Fermentasi anaerobik banyak dipelajari. Menurut McCarty (1982), fermentasi anaerobik bahan organik kompleks (karbohidrat, protein, lemak, selulosa dll) melalui 3 langkah proses sehingga terbentuk gas metan. Terdapat satu tahapan proses fermentasi anaerobik yang menghasilkan gas hidrogen dan satu tahapan lain yang menghasilkan gas metan. Tahapan produksi gas hidrogen tersebut dapat dilakukan menggunakan kelompok bakteri yang biasa disebut *hydrogen producing bacteria*, sedangkan tahapan pembentukan metan dilakukan oleh bakteri metanogenik. Bakteri penghasil hidrogen atau penghasil metan diantaranya dapat diisolasi dari feses sapi, kompos, dan lumpur aktif (*sludge*) pengolahan limbah anaerobik.

Dekomposisi anaerobik merupakan rangkaian berbagai reaksi yang berlangsung secara seri dikatalisasi oleh campuran kelompok bakteri, yang mana pada proses ini bahan organik dikonversi menjadi gas metan dan karbon dioksida. Polimer (selulosa, hemiselulosa, pectin, pati, dll) dihidrolisa menjadi oligomer atau monomer. Kemudian oleh metabolisme bakteri fermentatif akan dihasilkan hidrogen (H₂), karbon dioksida (CO₂), dan asam organik volatil seperti asam asetat, propionat, dan butirir. Asam organik volatil selain asetat dikonversi menjadi prekursor metanogenik (H₂, CO₂, asetat) oleh bakteri asetogen sintropik. Akhirnya, bakteri metanogenik memproduksi gas

metan dari asetat atau dari CO₂ dan H₂ (Wilkie dan Colleran, 1987)

Fermentasi metanogenik berlangsung secara anaerobik. Pembentukan gas metan dilakukan oleh 3 kelompok bakteri metanogenik: *methano-bacterium*, *methanosarchina*, dan *methanococcus*. Bakteri-bakteri anaerob ini mampu mengubah asam format, metanol, karbon monoksida, asam asetat, hidrogen, dan karbon dioksida menjadi metan (Lee, Jr. et al., 1989)

Beberapa bakteri fotosintetik non sulfur berpotensi menghasilkan gas hidrogen, menggunakan asam organik, seperti asam laktat, susinat, butirat, atau alkohol, sebagai elektron donor. Karena sinar tidak diperlukan untuk oksidasi air, maka efisiensi konversi energi sinar menjadi hidrogen oleh bakteri fotosintetik lebih tinggi dari cyanobakteria. Produksi hidrogen oleh bakteri fotosintetik dimediasi oleh aktifitas nitrogenase. Dalam percobaan laboratorium, efisiensi konversi energi pembakaran hidrogen terhadap sinar yang dimanfaatkan bakteri *Rhodobacter sp.* mencapai 6 – 8 % (Miyake dan Kawamura, 1987).

Proses fermentasi penghasil gas hidrogen dari limbah organik dapat dilakukan menggunakan kultur mikrobial yang ada di alam. Kultur mikrobial campuran terdapat dalam kompos, *sludge* digester anaerobik, dan tanah pertanian kentang atau kedelai. Kultur yang kaya bakteri penghasil hidrogen, seperti *clostridia*, dapat diperoleh melalui perlakuan panas (*heat treatment*), kontrol pH, dan kontrol *hydraulic retention time* (HRT) terhadap kultur tersebut. Populasi dalam bioreaktor didominasi oleh spesies *clostridium* dan *bacillus*. Ada hubungan positif antara jumlah populasi *clostridium* dengan produksi hidrogen (Sung et al., 2002).

Wang et al. (2003a) melakukan percobaan fermentasi anaerobik secara berturutan antara hidrogenasi dan metanasi menggunakan bakteri *clostridium bifermentans* pada effluen pengolahan limbah organik. Fermentasi metanogenik pada cairan limbah yang telah mengalami fermentasi hidrogenasi mampu meningkatkan produksi gas metan.

Limbah pabrik alkohol mempunyai peluang untuk menghasilkan gas hidrogen dan metan. Selama ini, limbah pabrik alkohol dimanfaatkan sebagai pupuk organik cair (Baan, 1994) dan dalam jumlah sedikit sebagai adsorben (Nur et al., 2005). Kondisi lingkungan adalah parameter utama yang dapat dikontrol dalam produksi hidrogen. pH medium mempengaruhi yield produksi hidrogen, kandungan biogas, tipe asam organik yang diproduksi dan kecepatan spesifik produksi

hidrogen. Kisaran pH untuk yield hidrogen maksimum atau kecepatan spesifik produksi hidrogen adalah antara pH 5,0 – 6,0. pH juga mempengaruhi tipe asam organik yang diproduksi. Asam butirat lebih banyak diproduksi pada pH 4,0 – 6,0. Konsentrasi asetat dan butirat hampir setara pada pH 6,5 – 7,0. (Kapdan dan Kargi, 2005).

Sung (2003) meneliti bahwa efisiensi konversi karbohidrat, seperti sukrosa, dapat mencapai sekitar 99% jika menggunakan bakteri penghasil hidrogen dengan konsentrasi sukrosa rendah. Namun demikian, efisiensi konversi hidrogen menurun dengan meningkatnya konsentrasi sukrosa yang digunakan. Sebaliknya, hasil asam lemak volatil meningkat dengan meningkatnya konsentrasi sukrosa. Asam lemak volatil menghambat proses pembentukan hidrogen.

Limbah pabrik alkohol mempunyai peluang untuk menghasilkan gas hidrogen dan metan. Selama ini, limbah pabrik alkohol dimanfaatkan sebagai pupuk organik cair (Baan, 1994) dan dalam jumlah sedikit sebagai adsorben (Nur et al., 2005).

Proses pembuatan hidrogen dari limbah organik hampir sama dengan pembuatan biogas pada umumnya. Perbedaannya terletak pada tahapan prosesnya. Pada pembuatan biohidrogen tidak sampai pada proses metanogenesis. Justru tahapan tersebut harus dicegah dengan langkah pasteurisasi yaitu pemanasan pada suhu tertentu sehingga bakteri metanogenesis mati sedangkan bakteri pembentuk hidrogen masih dapat bertahan.

Limbah cair alkohol kaya akan zat-zat organik seperti karbohidrat sehingga sesuai digunakan sebagai bahan baku bioreaktor.

Dari uraian di atas dapat disimpulkan bahwa pembuatan hidrogen terdapat pada tahap asetasenesis yang berarti dalam kondisi asam. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menyebutkan bahwa pembuatan biohidrogen menghasilkan konversi optimum pada pH 5,5.

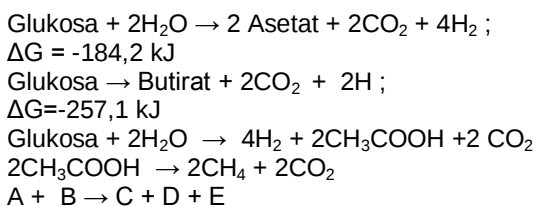
Bakteri metan sangat mendominasi dalam substrat organik di alam bebas. Oleh karena itu pertumbuhan bakteri metan perlu ditekan seminimal mungkin pada proses pembuatan biohidrogen, sehingga hidrogen yang dihasilkan tidak terkonversi menjadi metan. Hal ini dapat dilakukan dengan melakukan pemanasan awal pada substrat sebelum dimasukkan ke dalam digester sehingga bakteri metan dapat diminimalisir.

Pemeliharaan biomassa dilakukan pada pencernaan anaerob (*anaerobic digester*) dengan volume 4 L dan volume kerja 2 L. Pencerna anaerob terdiri dari gelas erlenmeyer yang

ditutupi dengan penutup karet dan dilengkapi dengan dua buah pipa berbentuk L terbalik serta leher angsa. Salah satu pipa L tersebut berfungsi untuk pemasukan gas nitrogen yang berguna untuk mengusir oksigen di dalam pencernaan dan satunya lagi berfungsi untuk pengeluaran sampel dari sistem, sedangkan leher angsa berfungsi sebagai tempat keluarnya biogas yang terbentuk.

Untuk memperoleh kondisi anaerob dialirkan gas nitrogen melalui salah satu pipa L, sedangkan pengambilan sampel untuk dianalisis dilakukan dengan mengalirkan gas nitrogen melalui salah satu pipa L tersebut dan menutup aliran keluar gas melalui leher angsa. Aliran gas melalui leher angsa dibuka kembali setelah volum sampel cukup.

Reaksi-reaksi yang terlihat dalam produksi gas:



Jika x adalah konversi pada reactor batch, dan reaksinya dianggap reaksi orde 1, maka,

$$-r_A = -dC_A/dt = k C_A$$

dengan,

$$\begin{aligned} C_A &= C_{A0}(1-x) \\ -dC_A &= C_{A0}d(1-x) \end{aligned}$$

Dari persamaan diatas didapat,

$$-\ln(1-x) = k.t + 1$$

$$\text{dengan, } x = \frac{[C_{A0} - C_A]}{C_{A0}}$$

Bila dibuat grafik $-\ln(1-x)$ terhadap waktu (t) berupa garis lurus (linier), maka proses fermentasi mengikuti reaksi orde 1 dan nilai tetapan kecepatan reaksi dapat dihitung berdasarkan nilai *slope* atau kemiringan garis $-\ln(1-x)$ terhadap waktu (t) menit.

METODE PENELITIAN

Sterilisasi alat bertujuan untuk membunuh bakteri dan spora bakteri yang menempel pada alat, agar tidak mengkontaminasi. Inoculum didapat dari lumpur sisa proses pembuatan biogas, yang kemudian dipanaskan sampai mendidih (100°C) selama 15 menit. Hal ini bertujuan untuk mematikan bakteri selain bakteri penghasil hidrogen seperti *Clostridium sp.*

Limbah cair yang digunakan dalam percobaan ini adalah limbah cair yang berasal dari pabrik alkohol. Limbah cair tersebut berasal

dari sisa larutan alkohol yang tidak teruapkan (terdistilasi).

Limbah alkohol berbau menyengat, seperti alkohol dan masih terasa bau dari fermentasi tetes tebu. Berwarna merah kehitaman dan berwujud cair.

Biomassa yang digunakan adalah limbah alkohol yang ditambahkan dengan sludge kotoran sapi yang telah dipanaskan untuk mendapatkan bakteri *Clostridium sp.*, setelah itu memvariasi biomassa menjadi 3 yaitu murni limbah alkohol, limbah alkohol 5% sukrosa, dan limbah alkohol 10% sukrosa. Hal ini dilakukan untuk membandingkan variabel yang didapat nantinya.

Pemeliharaan biomassa dilakukan pada pencernaan anaerob (*anaerobic digester*) dengan volume 4 L dan volume kerja 2 L. Pencerna anaerob terdiri dari gelas erlenmeyer yang ditutupi dengan penutup karet dan dilengkapi dengan dua buah pipa berbentuk L terbalik serta leher angsa. Salah satu pipa L tersebut berfungsi untuk pemasukan gas nitrogen yang berguna untuk mengusir oksigen di dalam pencernaan dan satunya lagi berfungsi untuk pengeluaran sampel dari sistem, sedangkan leher angsa berfungsi sebagai tempat keluarnya.

Bahan yang digunakan adalah limbah alkohol, sludge kotoran sapi, sukrosa, aquadest, KMnO_4 , H_2SO_4 , Asam oksalat, $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Pada percobaan awal, reaktor dioperasikan secara batch, untuk hari pertama inoculum disedihkan sebanyak 120 mL dan pada hari yang sama campuran limbah dimasukkan ke dalam reaktor masing-masing 60 mL/hari, dengan komposisi yang sama.

Setelah 1 hari, digester mulai dioperasikan secara kontinyu dengan mengumpankan campuran limbah sebanyak 60 mL/hari, percobaan kontinyu dilakukan selama 4 minggu dengan 7 hari per minggu dan 8 jam proses per hari. Pengambilan data dilakukan setiap hari, di akhir percobaan data yang diambil yaitu laju alir recycle dan volume total gas yang dihasilkan.

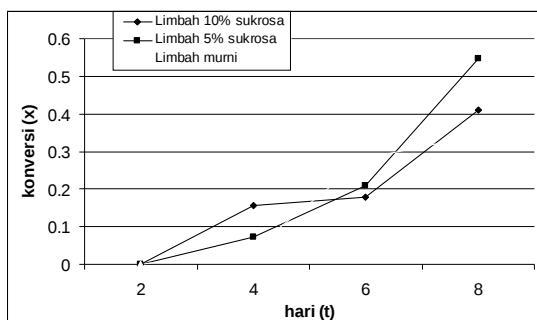
HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian pembuatan gas ini, variabel yang dipelajari adalah penambahan glukosa pada feeding (pemasukan umpan), yaitu limbah murni (tanpa sukrosa), limbah 5% sukrosa, dan limbah 10% sukrosa. Sedangkan variabel yang dibuat tetap adalah pH, suhu, dan komposisi substrat.

Dari hasil percobaan yang dilakukan dapat diketahui bahwa semakin lama waktu reaksi maka angka permanganat dari substrat semakin turun dan konversi yang dihasilkan

semakin besar. Waktu tinggal yang semakin lama memberikan kesempatan yang lebih luas kepada molekul-molekul substrat untuk bereaksi.

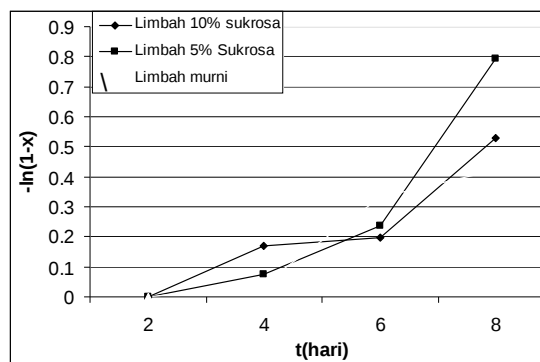
Konversi penurunan angka permanganat untuk berbagai penambahan sukrosa dapat dilihat pada grafik konversi (x) terhadap waktu (t) pada gambar berikut



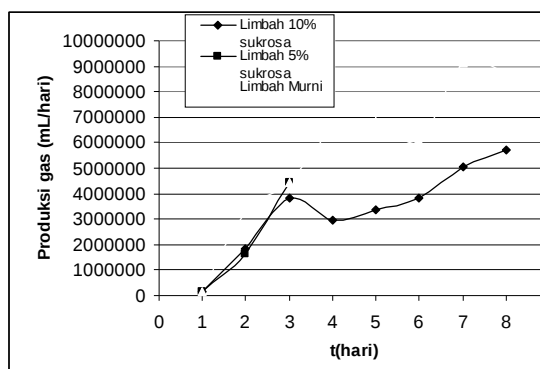
Gambar 1. Grafik konversi(x) terhadap waktu (t)

Dari Gambar 1 dapat dilihat bahwa konversi penurunan angka permanganat optimum pada limbah 5 % sukrosa yaitu 0,54736 atau 54,736%

Hubungan antara $-\ln(1-x)$ dengan waktu (t) dapat dilihat pada Gambar 2. Pada penelitian ini, produksi gas yang dihasilkan oleh ketiga varian selama proses ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 2. Grafik $-\ln(1-x)$ terhadap waktu (t)



Gambar 3. Produksi gas selama proses

Tabel 1. Hasil pengukuran beberapa parameter limbah cair

No	Parameter	Satuan	Hasil Analisis				Metode
			Murni tanpa sukrosa	Sucrosa 5%	Sucrosa 10%	Baku mutu	
1.	BOD	mg/L	127166	129839	131366	100	SNI 06-6989.14-2004/APHA 1998: 5210 B
2.	COD	mg/L	287950	332021	377929	300	SNI 06-6989.2-2004
3.	TSS	mg/L	283	274	291	100	SNI 06-6989.3-2004
4.	TDS	mg/L	2131	1893	1604	-	SIN 06-2413-1991

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik kesimpulan bahwa penambahan sucrosa mempengaruhi konversi yang dihasilkan pada pembuatan gas bio dari limbah cair industri alkohol. Konversi gas paling tinggi diperoleh pada limbah 5% sucrosa yaitu 54,736 %

DAFTAR PUSTAKA

Baan, S., 1994, "Evaluasi Pemanfaatan Limbah Pabrik Alkohol sebagai Pupuk Organik Cair pada Tanah Entisol", Tesis Penelitian Pascasarjana UGM, Jogjakarta

Kapdan, I.K., and Kargi, F., 2005, BioHydrogen Production From waste Material, Dozkus Eylul University, Buca Izmir.

Lee, Jr., J.W., Peterson, D.L., and Stickey, A.R., 1989, "Anaerobic Treatment of Pulp and Paper Mill Wastewater". Enviromental Prog., 8, 74

Machigan, M.T., 1997, Biology of Microorganism, 8th ed., Prentice Hall International, New Jersey.

McCarty, P.L., 1982, In "Anaerobic Digestion 1981" Eds. Hughes, D.E., et al., 3-22, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, New York, Oxford.

-
- Miyake, J., and Kawamura, S., 1987, Int. J. Hydrogen Energy, **39**, 147-149.
- Nath, K. and Das, D., 2003, "Hydrogen from Biomass", **85**, 3, Current Science
- Nur, A., Lukman, I., dan Sudarman, P., 2005, "Adsorpsi Limbah Logam Berbahaya dengan Biomassa Bekas Fermentasi Pabrik Alkohol" Laporan Penelitian Jurusan Teknik Kimia Fak. Teknik UNS.
- Reith, J.H., Wijffels, R.H. and Barten, H., 2003, Bio-Methane and Bio-Hydrogen : Status and Perspective of biological methane and hydrogen production, Dutch Biological Hydrogen Foundation, Petten.
- Schlegel, H.G., 1994 "Microbiologi Umum", Gadjah Mada University Press.
- Shin, H.S., and Han, S.K., 2004, Performance of an Innovative Two-Stage Process Converting Food Waste to Hydrogen and Methane, Department of Civil and Environmental Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Daejeon.
- Sung, S.H., 2004, Biohydrogen Production From Renewable Organic Waste, Department of Civil, Construction and Environmental Engineering, Ames
- Sung, S., 2003, "Biohydrogen Production From Renewable Organic Wastes", Progress Report for January 2003, DOE Cooperative Agreement No. DE-FC36-00GO10530.
- Sung, S., Bazyliniski, D.A., and Raskin, L., 2003, "Biohydrogen Production from Renewable Organic Wastes", FY 2003 Progress Report.
- Sung, S., Raskin, L., Duangmanee, T., Padmasiri, S., and Simmons, J.J., 2002, "Hydrogen Production By Anaerobic Microbial Communities Exposed To Repeat Heat Treatments", Proc. of the 2002 U.S. DOE Hydrogen Program Review.
- Wang, C.C., Chang, C.W., Chu, C.P., Lee, D.J. and Chang, B.V., 2003a, "Sequential Production of Hydrogen and Methane from Wastewater Sludge Using Anaerobic Fermentation", **34**, 6, pp. 683-687, J. Chin. Inst. Chem. Engrs.
- Wilkie, A. and Colleran, E., 1987, "Microbiological Aspects of Anaerobic Digestion. In: Anaerobic Treatment of Industrial Wastewaters". ANL/CNSV-TM-188. Argonne National Laboratory, Argonne, IL, pp. 37-50
www.chem-is-try.com