

Biofotolyse - produksjon av hydrogengass via fotosyntetiske mikroorganismer

Av Olav M. Skulberg

Olav M. Skulberg er seniorforsker ved Norsk institutt for vannforskning

Bakgrunn

Oppdagelsen av at alger kan produsere hydrogengass ligger nesten hundre år tilbake i tid. I 1896 ble det i Massachusetts, USA, påvist at materiale av blågrønnalgen *Anabaena* som ble oppbevart i en tett flaske, kunne danne molekylært hydrogen (Jackson & Ellms 1896). Det skulle gå omlag åtti år før fenomenet ble tatt opp i vitenskapelig forskning.

Så snart nitrogenfiksering var påvist hos blågrønnalger (Drewes 1928), ble nitrogenaseaktivitet et viktig interesseområde i algefysiologi. Ved University of Chicago ble det i slik sammenheng eksperimentert med kulturer av bl.a. grønnalgen *Scenedesmus* (Gaffron & Rubin 1942). I en nitrogen-atmosfære ble det observert at algene kunne utvikle molekylært hydrogen. Produksjonen foregikk under så vel lys- som mørkebetingelser, men utbyttet av hydrogengass var omlag 10 ganger større i lys sammenliknet med i mørke. Dette pionerarbeidet innledet en omfat-

tende forskningsaktivitet for å trenge til bunns i fenomenet.

Lysavhengig hydrogengassproduksjon hos fotosyntetiske bakterier ble tidlig tatt opp til undersøkelser. Prosessen var først blitt påvist hos *Rhodospirillum* (Gest & Kamen 1949). Imidlertid kunne den bare finne sted ved tilstedeværelse av molekylært nitrogen. Observasjonen førte til oppdagelsen av at også fotosyntetiske bakterier gjennomførte nitrogenfiksering (Ormerod & Gest 1962).

Problemstilling

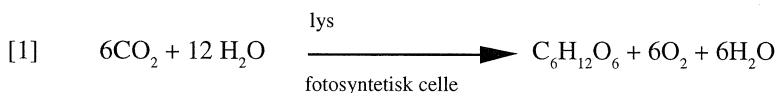
Fornybare energikilder var et hovedtema på United Nations Conference on Environment and Development (UNCED) i Rio de Janeiro i 1992. Primære og sekundære konsekvenser av den omfattende bruk av fossilt brensel ble erkjent som en hovedtrusel mot en bærekraftig utvikling av menneskesamfunnet (Keating 1993). En hovedkonklusjon var behovet for gjennom

forskning og utviklingsarbeid å kunne innordne industrisamfunnet som del av et økologisk kretsløp. Dette innebærer den vesentlige bestrebelsen å stabilisere konsentrasjonen av klimagasser på et nivå som vil forhindre farlig, menneskeskapt påvirkning av klimasystemet (Miljøverndepartementet 1998, Wigley et al. 1998).

Naturprosesser, kjemiske og fysiske reaksjoner

De biologiske prosesser knyttet til

karbonkretsløpet er hovedfaktorer for reguleringen av CO₂-konsentrasjonen i atmosfæren. Den fundamentale posisjon som fotosyntesen inntar i stoffomsetningen i biosfæren er godt undersøkt og dokumentert (Schlegel 1985). Fotosyntesen adskiller seg fra andre lysavhengige biologiske prosesser ved at den absorberte strålingsenergi blir benyttet til syntese av organiske forbindelser med et høyt energiinnhold. Utgangsstoffene er karbondioksid og vann. Bruttolikningen for fotosyntesen illustrerer dette:

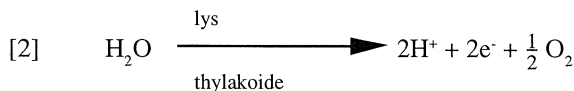


Innholdet av karbondioksid i atmosfæren har hovedsakelig holdt seg konstant - ca 12 µmol/l - gjennom jordklodens forhistorie. Dette er betinget bl.a. av de biologiske prosesser knyttet til respirasjon. Levende organismer tar opp oksygen og omdanner karbohydrater og andre organiske innholdsstoffer til karbondioksid og vann. Dette skjer under samtidig frigjøring av energi til livsprosessene (se FIGUR 1).

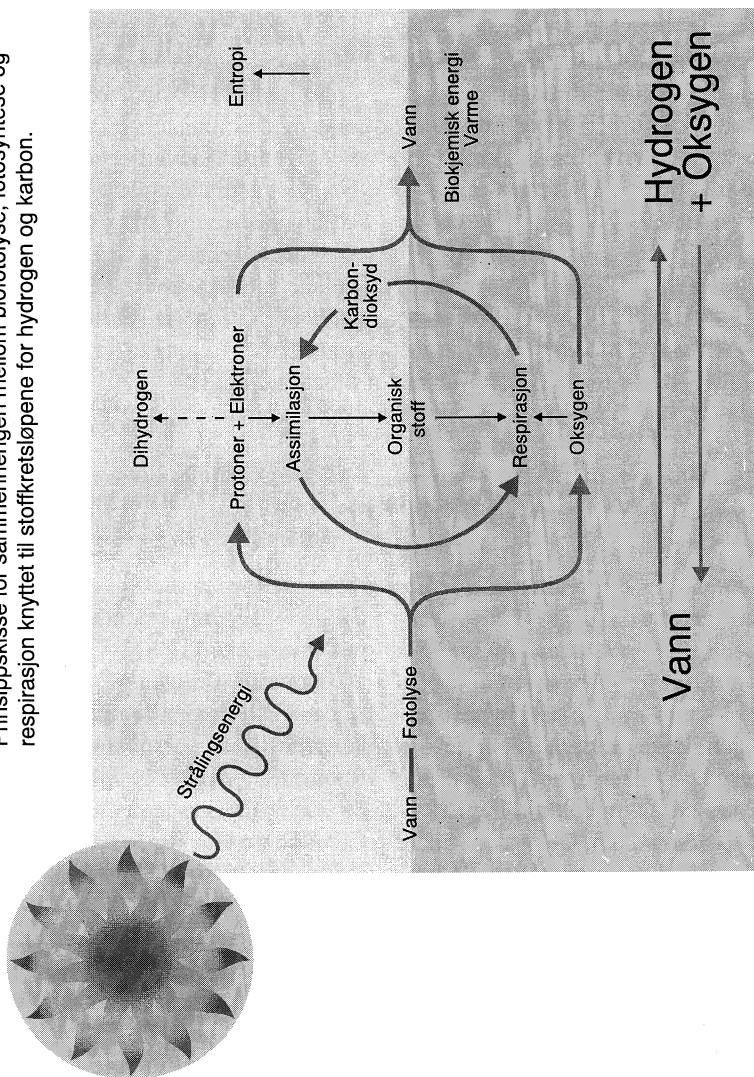
Siden den industrielle revolusjon (1700-tallet) har det vært en økning på ca 27% av atmosfærens innhold av karbondioksid på grunn av forbrenning av karbonholdig materiale. For å illustrere

mektigheten i omsetningsprosessen dreier seg om, kan noen fakta nevnes. Hvert sekund inngår i gjennomsnitt 10.000 tonn oksygen på verdensbasis til dannelsen av karbondioksid. Og all karbondioksid i atmosfæren blir via fotosynteseprosessene sirkulert i løpet av 300 år (Johansson et al. 1993, IEA Greenhouse Gas R&D 1995).

Det første trinnet i fotosyntesen (Ormerod 1992) omfatter spalting av vann i oksygen og hydrogen. Ved hjelp av bestemte pigmenter i fotosyntetiske organismer kan energien i den synlige del av lysspekteret utnyttes til spaltingen av vann i sine elementære bestanddeler:



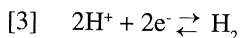
Prinsippskisse for sammenhengen mellom biofotolyse, fotosyntese og respirasjon knyttet til stoffkretsøpene for hydrogen og karbon.



Figur 1. Prinsippskisse for sammenhengen mellom biofotolyse, fotosyntese og respirasjon knyttet til stoffkretsøpene for hydrogen og karbon.

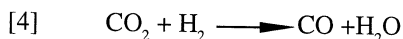
Biofotolyse av vann består i en simultan utskillelse av hydrogen og oksygen ved organismeaktivitet betinget av lys-

energi. Elektroner og protoner genererer molekylært hydrogen i den reversible prosess:



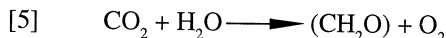
Karbondioksid er ikke nevneverdig kjemisk reaktiv under vanlige temperaturbetingelser, det er en termo-dynamisk meget stabil forbindelse. I katalytiske

prosesser kan karbondioksid bli redusert på flere måter ved høye temperaturer, f.eks.:



Fotosyntetiske organismer kan imidlertid i sitt stoffskifte benytte vann som

reduksjonsmiddel, og prosessen foregår ved lave temperaturer.



Denne CO_2 -fiksering blir katalysert av enzymet RuBisCO. Dette enzymet katalyserer også den reverse reaksjon - fotorespirasjon - som bl.a. bidrar til å redusere nettoutbyttet av fotosyntesen.

alger og/eller anoxyfotobakterier) til produksjon av algebiomasse/dihydrogen. Integrerte separasjons- og renseprosesser tilpasses de komponenter - ekstracellulære og intracellulære - som skal utvinnes og anrikes (hovedprodukter og biprodukter). To kategorier produkter har praktisk interesse å fremstille:

Algekulturteknologi og H_2 -produksjon

Algekulturteknologi (AKT) går ut på å nyttiggjøre fotosyntetiske mikroorganismers evne til å gjennomføre reaksjonene [2], [3] og [5] under kontrollerte betingelser i prosesser for å fremstille eller modifisere stoffer som det er samfunnsmessig behov for. Sollyset er energikilde, de stofflige forutsetninger er i første rekke karbondioksid og vann sammen med mineralske næringsstoffer.

I bioreaktorer dyrkes mikroalger og fotosyntetiske prokaryoter (blågrønn-

- verdifulle komponenter i små kvantiteter (f.eks. farmasøytika)
- lavpriskomponenter i store kvantiteter (f.eks. fôr, hydrogengass).

Ved å koble konvertering av CO_2 via mikroalger til å fremstille essensielle varer med en likeløpende produksjon av molekylært hydrogen, vil algekulturteknologi kunne få en ekstra økonomisk og samfunnsmessig betydning (Greenbaum 1988, Bolton 1994, Bergene 1995).

Biologisk produksjon av hydrogengass

Den teknologiske anvendelse av biofotolyseprosessen til hydrogengass-produksjon i forsøkssammenheng omfatter foreløpig tre forskjellige fremgangsmåter:

- bruk av blågrønnalger (klasse Cyanophyceae) eller grønnalger (klasse Chlorophyceae) i aktive kulturer med simultan dannelse av molekylært hydrogen og oksygen via spaltning av vann
- bruk av algenes isolerte CFH-system (kloroplast, ferredoxin, hydrogenase-system), eller substituerte analoger til dette systemet, i *in vitro*-oppstillinger.
- bruk av fotosyntetiserende bakterier (underklasse Anoxyphotobacteriae, f.eks. svovelbakterier - orden Rhodospirillales, eller "grønne svovelbakterier" - orden Chlorobiales), med organisk stoff eller hydrogensulfid som hydrogenkilde.

Når det gjelder den tredje nevnte gruppen av fremgangsmåter, så er de fotosyntetiserende bakteriene ikke i stand til å spalte vann. Da de vokser på energirike stoffer (heterotrof metabolisme), er de heller ikke netto energiprodusenter ut fra betraktningen biologisk hydrogenproduksjon (utnyttelse av solenergi).

Når arter av grønnalger i slekter som *Scenedesmus* og *Chlamydomonas* blir

gitt karbondioksidfri og anaerobe miljøbetingelser, er de i stand til å syntetisere enzymet hydrogenase og skille ut molekylært hydrogen. Hydrogenase-aktivitet er dokumentert i omlag halvparten av alle undersøkte algearter fra ulike systematiske grupper (Kessler 1974). Algeartene som inneholder hydrogenase omfatter både encellede og flercellede former. Men det er likevel en vesentlig forskjell mellom encellede og flercellede alger når det gjelder hydrogenase-aktivitet med mulighet for dannelse av dihydrogen.

Encellede alger kan katalysere et utvalg av hydrogen-relaterte prosesser, som inkluderer bl.a. utskillelse eller opptak av molekylært hydrogen. Dette er eksperimentelt verifisert. Men tilsvarende er ikke tilfelle for flercellede alger. Det er ikke kjent et eneste eksempel på at makroskopiske alger (f.eks. arter av slekten *Ulva*) har fotolytisk produksjon av dihydrogen. Dette tross for at enzymet hydrogenase er påvist å være til stede i disse algene (Greenbaum & Ramus 1983).

Blågrønnalgene har fordeler når det gjelder produksjon av molekylært hydrogen med cellekulturer bl.a. ved at deres enzymer og fotosynteseapparat generelt er mer stabile sammenliknet med grønnalgenes. Hydrogenstoffsiftet til blågrønnalgene er katalysert av tre typer enzymer (Lambert & Smith 1981, Nandi & Sengupta 1998):

- reversibel hydrogenase som forekommer så vel i vegetative celler som i heterocyster.
- opptak - hydrogenase som forekommer hovedsakelig i heterocystene

- nitrogenase som forekommer i heterocystene.

Enzymet nitrogenase kan katalysere dihydrogendannelse med forbruk av ATP (adenosintrifosfat). Ved fotosyntesebetinget hydrogengassproduksjon via intakte blågrønnalgeceller er det enzymene knyttet til nitrogenfiksering som gjennomfører prosessen.

Med hensyn til praktisk hydrogenproduksjon ved hjelp av blågrønnalger, kommer hydrogenase i begrenset betraktning. Den høyeste oppnådde hydrogenasebaserte hydrogengassutskillelse fra intakte celler har vært av størrelsesorden 1 ml/time per g tørrvekt alger (Kentemich et al. 1990). Dette er for minimal hastighet av gassdannelse praktisk vurdert. Det er betydelig større gassmengder som dannes av blågrønnalger ved hjelp av nitrogenase.

Teknologiske løsninger

Det finnes til nå ingen kommersielle produksjonssystemer for en praktisk/økonomisk fremstilling av molekylært hydrogen med grunnlag i biofotolyse (Benemann 1998). Men intensiv faglig virksomhet fremmer denne forskning og utvikling i mange laboratorier verden over (Zaborsky 1998).

Biofotolytisk produksjon av hydrogengass i algekulturateknologi anvender egnede mikroalger (blågrønnalger eller grønnalger) i spesielle dyrkingssystemer. Mikroalgene dyrkes i optimale næringsløsninger under kontrollerte miljøbetingelser (Skulberg & Skulberg 1990). Ved teknisk å tilrettelegge forutsetningene for hydrogenutskillelse fra

algecellene, og med oppsamling av molekylært hydrogen, kan systemet utgjøre en funksjonell reaktor til formålet. To hovedprodukter kan høstes, algebiomasse og gasser (hydrogen, oksygen, i støkiometriske forhold).

Et eksempel på et dyrkingssystem for hydrogengassproduksjon med cellekulturer av grønnalger kan omtales.

Dyrkingssystemet er basert på arter av grønnalger med hydrogenase-aktivitet. Grønnalgekulturen binder CO₂ via fotosyntese i reservestoffer som glykogen eller stivelse. Disse stoffene kan gjennom et etterfølgende trinn konverteres til molekylært hydrogen. Dette siste omdannelsestrinn kan foregå utført av grønnalgene selv, eller ved hjelp av fotosyntetiske bakterier, i en fermenteringsprosess. Det blir antatt at anvendelsen av grønnalgene til gjennomføring av begge de fysiologiske prosessene er praktisk/økonomisk fordelaktig, og at de to prosessene blir tilrettelagt romlig adskilt (Benemann 1998).

Den praktiske fremgangsmåten for hydrogengassproduksjon basert på et slikt prinsipp kan i grove trekk beskrives å omfatte følgende stadier og urustninger:

- I en åpen massedyrkingsenhet blir det produsert (assimilasjon) biomasse med høyt organisk tørrstoffinnhold (reservenæring).
- Mikroalgene konsenteres i et høstingssystem til en tykflytende masse. Dette utføres uten lystilgang og anaerobt for å stimulere dannelsen av

hydrogenase i algecellene, og tilrettelegge betingelsene for fermentering av organisk stoff.

- Mikroalgenes innhold av reserve-næring omdannes i en egen fotobioreaktor (lystilgang, anaerobt) til hydrogengass og karbondioksid.
- Gassene blir separert, og hydrogen-gass går til oppsamlingenheter. Den dannede karbondioksid kan eventuelt tas hånd om i et separat fotobioreaktorsystem til produksjon av blågrønnalger (Skulberg 1995).

I FIGUR 2 er det gjengitt en skisse av et hypotetisk anlegg knyttet til et gasskraftverk hvor karbondioksid konverteres via mikroalger til biomasse og hydrogengass.

Effektivitet

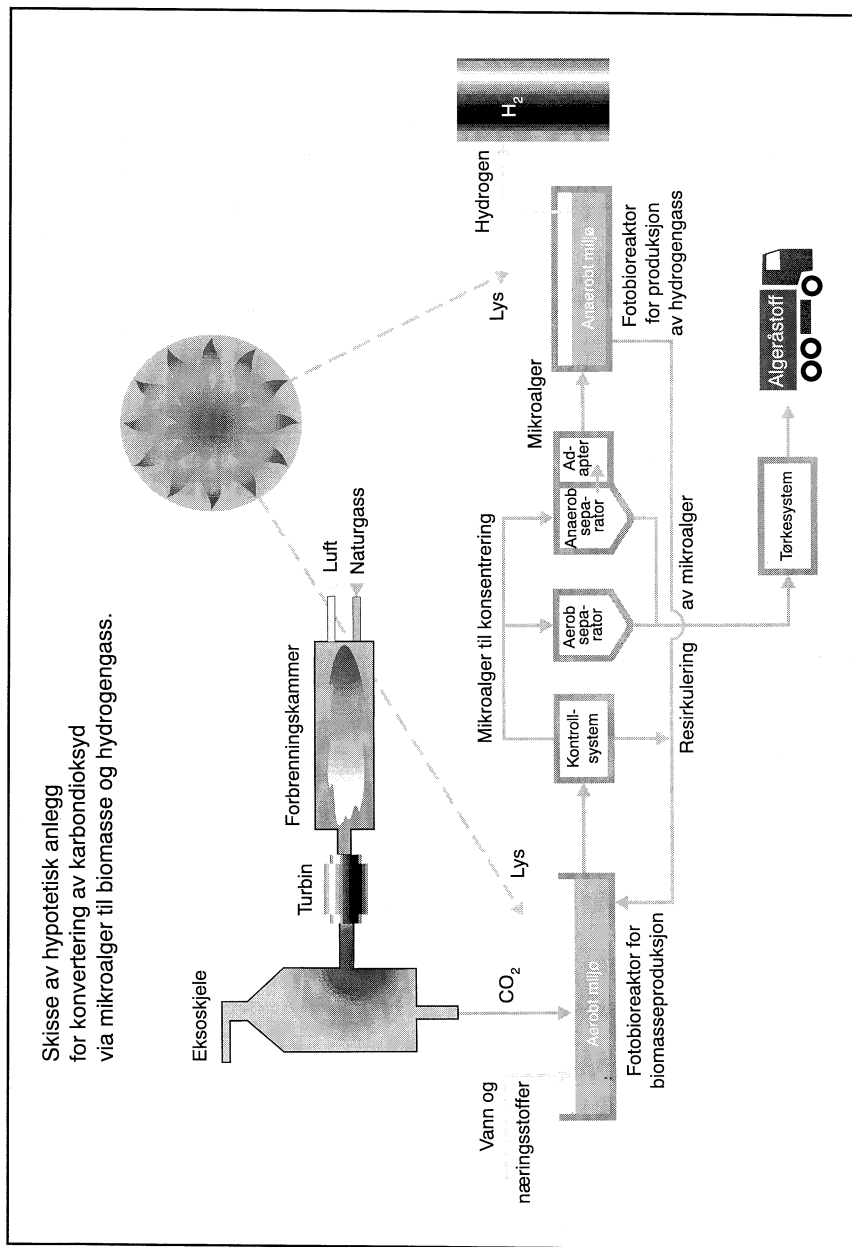
En vesentlig problemstilling for praktisk biofotolytisk produksjon er effektiviteten de aktuelle prosessene har til fremstilling av hydrogengass (Johansson et al. 1993). Med effektivitet menes da forholdet mellom lagret energi i form av dihydrogen og energien som inngår i prosessen for å fremstille gassen. Det skal ikke her bli gitt noen gjennomgåelse av de omfattende studier som er utført for å belyse dette forholdet (Bell & Gudkov 1993, Hall & Rao 1994). Men noen hovedbetragtninger kan nevnes.

Når det gjelder kvantebehovet, vil ett foton av sollys bli absorbert for hvert elektron som føres til reaksjonssenteret

i mikroalgenes fotosynteseapparat. Maksimum energieffektivitet til fotosyntesen er teoretisk beregnet til 26% (termodynamisk maksimum energieffektivitet, $\eta_m = 0,32$, Bell & Gudkov 1993). Under praktiske forhold vil imidlertid netto energieffektivitet sjelden kunne overstige 5% (Hall & Rao 1994). Teknologiske prosesser basert på biofotolyse må regne med effektiviteter som ligger nede på dette nivå (Bergene & Skulberg 1994). Utviklingspotensialet er imidlertid betydelig større. I en totrinns produksjonsprosess for hydrogengass er f.eks. det teknologiske siktepunktet å oppnå en energieffektivitet på ca 10% (Benemann 1998). Dette forutsetter at det inngår ett foton per molekyl dihydrogen som dannes, og at en tredel av hydrogengassen kan gjenvinnes under den anaerobe fermentering i produksjonsreaktoren. Det stiller samtidig spesielle algekulturateknologiske krav, bl.a. fordelaktige høstingsbetingelser. Trichale blågrønnalger, eller grønnalger som enkelt lar seg flokkulere, kan gi muligheter for dette (Aasgaard et al. 1995).

Relevant norsk forskning

Det har hittil i Norge i bare beskjeden utstrekning vært gjort teoretiske og eksperimentelle studier av fotosyntetiske mikroorganismer med siktepunkt hydrogenproduksjon via biofotolyse. Imidlertid er det i grunnforskningssammenheng blitt foretatt vesentlige forskningsarbeider knyttet til molekylærbiologiske studier av foto-



Figur 2. Skisse av hypotetisk anlegg for konvertering av karbondioksid via mikroalger til biomasse og hydrogen.

syntetiske prokaryote og eukaryote mikroorganismer (Knutsen & Lien 1981, Ormerod 1992). Resultatene av denne virksomhet har bl.a. bidratt til å tilrettelegge utviklingen av mulighetene for å nyttiggjøre biofotolyseprosessen til praktiske formål (Madigan 1992, Skulberg 1992).

Da Norges teknisk-naturvitenskapelige forskningsråd (NTNF) tok initiativ til å belyse forsknings- og utviklingsmuligheten knyttet til hydrogen som energibærer i 1989, innledet Norsk institutt for vannforskning arbeidet med oppgaver for å anvende mikroalger i kulturtekniske systemer til hydrogenproduksjon. Forskningsprogrammet Utnyttelse av Solenergi - Industri og energi (IE), Norges forskningsråd - ga støtte til fremdrift av oppgaven. Arbeidet med et forprosjekt ble avsluttet i 1995 med konklusjonen at videreføringen av praktiske og eksperimentell biofotolyseforskning skulle knyttes til FoU av algekulturteknologi i Norge (Skulberg 1995, Aasgaard et al. 1995).

Konklusjon

Algekulturteknologi omfatter flere praktiske løsninger for produksjon av viktige stoffer og varer. Spesielt interessant er imidlertid algekulturteknologien som en helhetlig operasjon der flere formål blir tilgodesett. Gjennom integrerte systemer, hvor fremstilling av verdifulle stoffer er koblet med nyttiggjøring f.eks. i renseprosesser eller til miljøforbedrende tiltak, kan løsninger av viktige samfunnsoppgaver kombineres på hensiktsmessig måte.

I et perspektiv om bruk av fornybare energisystemer (Rio Declaration on Environment and Development, juni 1992) inntar algekulturteknologi en sentral plass i den forestående utvikling. Bruken av hydrogen som energibærer i hydrogenenergisystemet åpner for praktiske, globale løsninger som ut fra en teknisk og miljømessig synsvinkel vil være epokegjørende. Fotobiologisk fremstilling av hydrogengass ved spalting av vann via mikroalger vil kunne bli en viktig fremtidig nisje for algekulturteknologi.

Litteratur

- Bell, L.N. & Gudkov, N.D.* 1993. Thermodynamics of light energy conversion. - SPB Academic Publishing. The Hague. 204 pp.
- Benemann, J.R.* 1998. Process analysis and economics of biophotolysis of water.
- IEA Agreement on the Production and Utilization of Hydrogen. IEA/H2/10/TR2-98. 27 pp.
- Bergene, T.* 1995. Efficiencies and physical principles of various solar energy conversion processes leading to the photolysis of water. Thesis for Dr. Scient. degree. Department of Physics, University of Oslo. 87 pp.
- Bergene, T. & Skulberg, O.M.* 1994. Naturen som veiviser mot morgendagens energisamfunn. - Naturen 118(1): 14-19.
- Bolton, J.R.* 1994. Solar photoproduction of hydrogen. - International Energy Agency, Paris, Annex 10, p. 1-19.

- Drewes, K.* 1928. Über die Assimilation des Luftstichstoffs durch Blaualgen. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. (Abt. II). 76: 88-101.
- Gaffron, H. & Rubin, J.* 1942. Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae. J. gen. Physiol. 26: 219-240.
- Gest, H. & Kamen, M.D.* 1949. Photoproduction of molecular hydrogen by *Rhodospirillum rubrum*. Science 109: 558-559.
- Greenbaum, E.* 1988. Hydrogen production by algal water splitting. In: C.A. Lembi, & J.R. Waaland (eds.), Algae and Human Affairs, p. 283-304. - Cambridge University Press, Cambridge.
- Greenbaum, E. & Ramus, J.* 1983. Survey of selected seaweeds for simultaneous photoproduction of hydrogen and oxygen. - J. Phycol. 19: 53-57.
- Hall, D.O. & Rao, K.K.* 1994. Photosynthesis. Studies in biology. Fifth edition. - Cambridge University Press. Cambridge. 211 pp.
- IEA Greenhouse Gas R & D Programme* 1995. Carbon Dioxide Utilisation. - Report by W. Ormerod, P. Riemes & A. Smith. ISBN 1-898373-17-5. Cheltenham. 31 pp.
- Jackson, D.D. & Ellms, J.W.* 1896. On odors and tastes of surface waters, with special references to *Anabaena* a microscopical organism found in certain water supplies of Massachusetts. Report of the Massachusetts State Board of Health. pp. 410-420.
- Johansson, T.B., Kelly, H., Reddy, A.K.N. & Williams, R.H.* (eds.) 1993. Renewable energy. Sources for Fuels and Electricity. - Earthscan Publications Ltd. London. 1160 pp.
- Keating, M.* 1993. The earth summit's agenda for change. - Centre for Our Common Future, Geneva. ISBN 2-940070-00-8. 35 pp.
- Kentemich, T., Haverkamp, G. & Bothe, H.* 1990. Die Gewinnung von molekularem Wasserstoff durch Cyanobakterien. - Naturwissenschaften 77: 12-18.
- Kessler, E.* 1974. Hydrogenase, photoreduction and anaerobic growth. - In: W.D.P. Stewart (ed.), Algal Physiology and Biochemistry, p. 456-473. - University of California Press, Berkeley.
- Knutsen, G. & Lien, T.* 1981. Properties of synchronous cultures of *Chlamydomonas reinhardtii* under optimal conditions, and some factors influencing them. - Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 94(3): 599-611.
- Lambert, G.R. & Smith, G.D.* 1981. The hydrogen metabolism of cyanobacteria (blue-green algae). - Biol. Rev. 56: 589-660.
- Madigan, M.T.* 1992. The family Heliobacteriaceae. - In: A. Balows, H.G. Trüpes, M. Dworkin, W. Harder & K.H. Schleifer (eds.), The Prokaryotes. Second Edition, p. 1981-1992. - Springer Verlag, Berlin.
- Miljøverndepartementet* 1998. Norges oppfølging av Kyotoprotokollen. - St. meld. nr. 29 (1997-1998). Oslo. 90 pp.

- Nandi, R. & Sengupta, S.* 1998. Microbial production of hydrogen: An overview. - *Critical Reviews in Microbiology* 24: 61-84.
- Ormerod, J.G.* 1992. Physiology of the photosynthetic prokaryotes. - In: N.H. Mann & N.G. Carr (eds.), *Photosynthetic prokaryotes*, p. 93-120. - Plenum Press, New York.
- Ormerod, J.G. & Gest, H.* 1962. Hydrogen photosynthesis and alternative metabolic pathways in photosynthetic bacteria.. *Bacteriological Reviews* 26: 51-66.
- Schlegel, H.G. & Schneider, K.* 1978. Hydrogenases: Their Catalytic Activity, Structure, and Function. - Erich Goltze KG, Göttingen.
- Schlegel, H.G.* 1985. *Allgemeine Microbiologie*. - Georg Thieme Verlag, Stuttgart. 571 pp.
- Skulberg, O.M.* 1992. Hydrogen som energibærer. Biofotolytisk produksjon av hydrogen med bruk av blågrønn-alger/alger. Norsk institutt for vannforskning, Oslo. ISBN 82-577-2198-0. 27 pp.
- Skulberg, O.M.* 1995. Biophotolysis, hydrogen production and algal culture technology. - In: Y. Yürüm (ed.), *Hydrogen Energy System*, p. 95-110. - Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Skulberg, R. & Skulberg, O.M.* 1990. Forskning med algekulturer. NIVAs kultursamling av alger. Research with algal cultures. - NIVA's Culture Collection of Algae. - Norsk institutt for vannforskning, Oslo. ISBN 82-577-1743-6. 32 pp.
- Wigley, T.M.L., Smith, R.L. & Santer, B.D.* 1998. Anthropogenic Influence on the Autocorrelation Structure of Hemispheric-Mean Temperatures. - *Science*, 27 November 1998, 282: 1676-1679.
- Zaborsky, O.R.* (ed.) 1998. *BioHydrogen*. Plenum Press, New York. 552 pp.
- Aasgaard, G.F., Englund, G., Hansen, H.E., Källqvist, T., Skulberg, O.M. & Skulberg, R.* 1995. Professional background for development of algal culture technology - a perspective on progress. - Norwegian Institute for Water Research. ISBN 82-577-2900-0. Oslo. 21 pp.