

MAŁGORZATA WALIGÓRSKA
MAREK ŁANIECKI

Wydział Chemii, Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Poznań

Fotobiologiczna produkcja wodoru z mieszaniny alkoholi i lotnych kwasów tłuszczowych

Wprowadzenie

Energia wytwarzana ze źródeł odnawialnych będzie w niedalekiej przyszłości jednym z bardziej dynamicznie rozwijających się sektorów gospodarki. Wśród alternatywnych źródeł energii coraz większą uwagę przyciąga wodór, który można otrzymać między innymi podczas fermentacji gliceryny. Produktami w tym procesie są także lotne kwasy tłuszczowe oraz alkohole, a ich rodzaj i stężenie zależy od stosowanych mikroorganizmów oraz warunków procesu [1–6]. Związki te mogą być wykorzystane w następnym etapie produkcji wodoru – w procesie fotofermentacji.

Celem prezentowanej pracy było określenie wpływu mieszaniny możliwych produktów fermentacji gliceryny i rodzaju związków azotu na wydajność procesu produkcji wodoru w obecności purpurowych fotosyntetyzujących bakterii *Rhodobacter sphaeroides*.

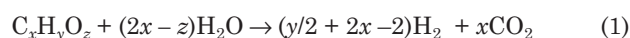
Materiały i metody

Bakterie *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001 (ATCC 49419) aktywowano na zmodyfikowanej pożywce *Biebla* i *Pfenniga* zawierającej kwas jabłkowy i glutaminian sodu w stosunku 15/2 (mM/mM), makro i mikroelementy oraz 0,17 g/dm³ ekstraktu drożdżowego jako źródło witamin [7]. W procesie produkcji wodoru kwas jabłkowy zastąpiono mieszaniną lotnych kwasów tłuszczowych i alkoholi o składzie: kwas octowy 10 mM, kwas masłowy 14 mM, kwas mlekowy 4 mM lub 33 mM, kwas propionowy 1 mM, etanol 11 mM, propanol 2 mM oraz w niektórych doświadczeniach propano-1,3-diol 50 mM. Jako źródło azotu stosowano glutaminian sodu (1 lub 2mM), jony amonowe (1 lub 10 mM) oraz albuminę wołową (0.3 g/dm³).

Proces prowadzono w butelkach ze szkła sodowego o objętości 50 cm³, w których umieszczano 25 cm³ medium zaszczipionego odwirowanymi bakteriami (0,15 g s.m./dm³). Butelki zamknięte korkiem, przedmuchano argonem technicznym, zaklejano folią i zakapslowano. Temperatura procesu wynosiła 28±2 °C, a wartość pH pożywki po sterylizacji i zaszczipieniu 7,0–7,2. Próby naświetlano światłem o natężeniu 116 W/m² stosując lampę *Ultra-Vitalux* (*Osram*).

Pomiar wodoru i CO₂ wykonano metodą chromatografii gazowej (kolumna kapilarna *Carboplot P7*). Zawartość propano-1,3-diolu (PD) także mierzono chromatograficznie stosując kolumnę *CP-Wax 57CP*. ChZT oznaczono metodą dwuchromianową po odwirowaniu biomasy [8]. Suchą masę oznaczono metodą wagową [9], a zawartość PHB spektrofotometrycznie zgodnie z metodą opracowaną przez *Low* i wsp. [10]. Intensywność światła mierzono za pomocą pyranometru *CMP3* (*Kipp & Zonen*).

Obliczono wydajność przekształcenia substratu organicznego do wodoru (%), czyli stosunek wytworzonego wodoru do stechiometrycznej ilości wyliczonej w oparciu o równanie



gdzie C_xH_yO_z oznacza określony substrat organiczny.

Wyniki i dyskusja

Skład mieszaniny alkoholi i kwasów stosowanych w obecnych badaniach był zbliżony do otrzymanego w procesie fermentacji 10 g/dm³ gliceryny [1], a wykonane doświadczenia pozwoliły określić wpływ składników podłoża na proces fotofermentacji. Wyniki przedstawiono w tablicy 1. Na początku do pożywki zawierającej sole mineralne i glutaminian sodu dodano 20, 40 i 100% obj. mieszaniny badanych alkoholi i kwasów (eksperyment 5, 6, 7). Nie obserwowano inhibicji substratowej, a proces charakteryzował się ponad 60% wydajnością przekształcenia substratów organicznych do wodoru. Jednakże wysokie wartości ChZT po procesie wskazują, że nie wszystkie substraty zostały przyswojone. Metodą chromatografii gazowej stwierdzono, że stężenie propano-1,3-diolu nie zmieniło się w czasie procesu, co sugeruje, że prawdopodobnie nie jest on metabolizowany przez bakterie *Rhodobacter sphaeroides*. Propano-1,3-diol nie wykazywał efektu inhibicyjnego: dodany do pożywki z kwasem jabłkowym nie wpływał na wzrost biomasy i ilość wydzielonego wodoru (eksperyment 1 i 2).

Produkty ciemnej fermentacji zawierały od 0,9 do 3 g/dm³ kwasu mlekowego, który jest uważany za jeden z najbardziej wydajnych substratów do wytwarzania wodoru. Wyniki eksperymentów 3 i 5, w których trzykrotne zwiększenie stężenia kwasu w pożywce spowodowało proporcjonalny wzrost wydajności wodoru potwierdzają tę tezę. W procesie fotofermentacji bardzo istotny jest także rodzaj związków azotu i stosunek C/N. Powszechnie stosowane jony amonowe, obecne wśród produktów ciemnej fermentacji, są inhibitorami nitrogenazy. Wydzielanie wodoru rozpoczyna się dopiero po ich wykorzystaniu. Ponadto część związków organicznych zostaje wbudowana w biomasę komórek, a tym samym zmniejsza się pula substratów dostępnych do wytwarzania wodoru. Przebieg procesu zależy od ilości jonów amonowych. W podłożu zawierającym 1 mM N-NH₄⁺ wydajność wynosiła 34% natomiast, gdy zastosowano 10 mM nie obserwowano wytwarzania wodoru (doświadczenia 8, 9). W eksperymencie 9 zbyt wysokie pH zahamowało wzrost biomasy. Gdy korygowano pH w trakcie procesu biomasa wzrosła do 1,35 g s.m./dm³ a jednocześnie wydzieliło się 2,9 dm³ wodoru. Białka zawarte w mieszaninie poreakcyjnej mogą być także źródłem azotu dla bak-

Tablica 1

Stosowane podłoża i wyniki eksperymentów

Nr eksp.	Źródło węgla i wodoru	Źródło azotu	H ₂ [dm ³ /dm ³]	Wydajność [%]	Biomasa po procesie [g s.m./dm ³]	PHB [%]	ChZT końcowe [g O ₂ /dm ³]	pH końcowe
1	KJ	Gl	2,08	87	0,72	18	0,42	7,2
2	KJ + PD	Gl	2,05	87	0,71	18	7,5	7,3
3	20% A	Gl	0,24	22	0,65	25	1,7	9,3
4	20% A	Gl ^a	0,23	21	0,64	39	1,7	9,1
5	20% B	Gl	1,15	67	0,63	22	1,5	7,6
6	40% B	Gl	2,37	69	0,71	30	2,8	7,5
7	100% B	Gl	5,72	67	0,80	40	7,5	7,2
8	100% B	NH ₄ ^{+b}	2,91	34	0,68	43	7,3	7,8
9	100% B	NH ₄ ^{+c}	0	0	0,38	1	13,2	9,8
10	100% B	albumina	3,81	44	0,96	33	7,4	7,9
11	100% B	albumina NH ₄ ^{+b}	3,3	38	1,07	30	7,5	7,9
12	20% C	Gl ^a	0,72	65	0,40	5	1,5	7,7
13	100 % D	NH ₄ ^{+c}	2,9	34	1,35	4	7,4	7,5

KJ – kwas jabłkowy, PD – propano-1,3-diol, Gl – glutaminian sodu

A – mieszanina zawierająca 4 mM kwasu mlekowego,

B – mieszanina zawierająca 33 mM kwasu mlekowego, C - mieszanina zawierająca 4 mM kwasu mlekowego, pH korygowano w trakcie procesu,

D – mieszanina zawierała 33 mM kwasu mlekowego, pH korygowano w trakcie procesu.

a – 1 mM glutamianu sodu, b – 1 mM N-NH₄⁺, c – 10 mM N-NH₄⁺.

terii (doświadczenia 10 i 11), ale najbardziej odpowiednim substratem azotowym jest glutaminian sodu. W pożywce zawierającej 2 mM tego związku uzyskano największą ilość wodoru równą 5,72 dm³/dm³.

Z danych przedstawionych w tablicy 1 wynika, że podłoże zawierające mieszaninę alkoholi i lotnych kwasów może służyć do wytwarzania wodoru w procesie fotofermentacji w obecności bakterii *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001.

LITERATURA

1. K. Seifert, M. Waligórska, M. Wójtowski, M. Łaniecki: Int. J. Hydrogen Energy (2009) in press.
2. T. Ito, Y. Nakashimada, K. Senba, T. Matsui, N. Nishio: J. Biosci. Bioeng. **100**, 260 (2005).
3. A.-P. Zeng, H. Biebl, H. Schlieker, W.-D. Deckwer: Enzyme Microb. Technol. **15**, 770 (1993).
4. Y. Dharmadi, A. Murarka, R. Gonzales: Biotechnol. Bioeng. **94**, 821 (2006).
5. M. F. Temudo, R. Poldermans, R. Kleerebezem, M.C.M. van Loosdrecht: Biotechnol. Bioeng. **100**, 1088 (2008).
6. A. Murarka, Y. Dharmadi, S. S. Yazdani, R. Gonzales: Appl. Environ. Microbiol. **74**, 1124 (2008).
7. M. Waligórska, K. Seifert, K. Szymańska, M. Łaniecki: J. App. Microbiol. **101**, 775 (2006).
8. Standards Methods for the examination of Water and Wasterwater. (1992) 18th edit., 5220.
9. M. Waligórska, K. Seifert, K. Górecki, M. Moritz, M. Łaniecki: J. App. Microbiol (2009) in press.
10. J. H Low, R. A. Slepecky: J. Bacteriology. **82**, 33-36 (1961).

Badania finansowane były z grantu KBN N204 031 32/0793.