



Enzymatisk fjernelse af CO₂ i blandede gasser

Kulsyre anhydrase hjælper os med at trække vejret – kan dette enzym være med til at reducere CO₂-udledning til atmosfæren?

Af Martin Simon Borchert, Novozymes A/S, Danmark og Paria Saunders, Novozymes North America Inc., USA

Isolering og opbevaring af kuldioxid, ("Carbon capture and storage", CCS) er en proces, som bliver nævnt oftere og oftere for at adressere de stigende udledninger af CO₂ til atmosfæren. I årevis er CCS blevet brugt til naturgas"rensning", f.eks. i Stat-oils Sleipner West-felt i Nordsøen. Her fjernes en betragtelig del af den naturligt forekommende CO₂, for at undgå korrosionsproblemer og for at naturgasen kan opfylde kravene til renhed. Røggas, der dannes ved afbrænding af fossile brændsler, har et lavt CO₂-indhold sammenlignet med naturgas. Derfor er det nødvendigt, at CO₂-koncentrationen øges betragteligt inden komprimering, transport og opbevaring. CO₂-opkoncentrering sker i dag ved brug af forskellige aminbaserede solventer (f.eks. monoethanolamin MEA) ved opgradering af naturgas og ved ammoniakproduktion. En stor ulempe ved aminbaseret CO₂-fjernelse er, at processen forventes at forbruge cirka 30% af den producerede energi på et kulkraftværk. Det vil selvsagt resultere

re i en stor økonomisk belastning for det enkelte kulkraftværk. Selve CO₂-isoleringen fra røggas estimeres til at udgøre mellem 70-80% af de samlede udgifter forbundet med CCS, og målet er en reduktion til 10-20 euro pr. ton CO₂, samtidig med at mere end 90% CO₂ fjernes fra røggassen [1].

Andre ulemper ved CO₂-fjernelse er langsomme processer, udslip af miljøskadelige og giftige stoffer (både solventer og solventnedbrydningsprodukter) og behov for et stort procesapparat. Hvis isolering af CO₂ virkelig skal vinde frem, er der behov for alternative teknologier, der nedbringer omkostningerne ved CCS og for en samtidig reduktion af miljøpåvirkningerne.

En mulig teknologi til bæredygtig CO₂-fjernelse fra røggasser kan være enzymatisk CO₂-fjernelse [2,7]. Denne teknologi er stadig under udvikling og er endnu ikke testet i industriel skala. Biokatalysatoren, som potentielt kan anvendes til enzymatisk

Faktaboks 1 Kulsyre anhydrase, et enzym med adskillige funktioner i naturen

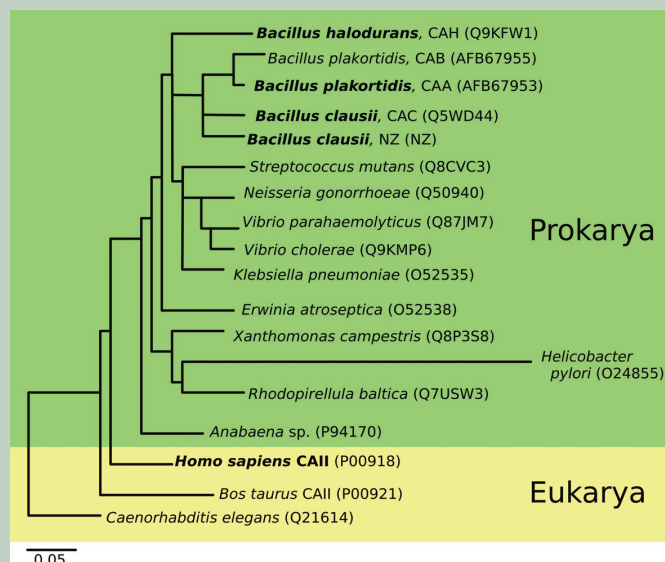
I 1933 blev en kulsyre anhydrase opdaget i blodet fra en ko, og siden er enzymet blevet fundet i mange forskellige organismer [3]. Enzyms funktion er at hydrere CO₂, så der dannes bikarbonat:



En KA er et zink metalloenzym, og i dag opdeles disse enzymer i tre hovedklasser (alfa, beta og gamma). KA'er har udviklet sig uafhængigt og parallelt i forskellige organismer, hvilket ses fylogenetisk i figur 1.

Humant isozym II (hCAII) findes i menneskets lunger, og det er bl.a. vha. dette enzym, vi kan trække vejret.

hCAII er et af de hurtigste enzymer, man kender. Det har en hydreringshastighed på mindst 1,4 mio. molekylere CO₂ pr. sekund pr. molekyle enzym. Den modsatte reaktion, hvor bikarbonat omdannes til CO₂, er temmelig langsom. Sodavand mister ikke sit brus i glasset, men først når drikken kommer ind i munden. Her findes KA bl.a. i smagsløgene, hvor det registrerer surhed [4]. KA inhibitorer bruges farmaceutisk for at modvirke grøn stær (glaukom), og mod højdesyge, hvor inhibitorerne forhindrer optaget af CO₂, hvilket fører til en reduktion i mængden af bikarbonat i blodet. Alger, cyanobakterier og planter bruger KA til at fiksere CO₂. Bakterier, herunder de



Figur 1. Udklip af fylogenetisk træ over alfa-klasses kulsyre anhydraser (i dag findes der ca. 1300 alfa-KA-sekvenser ud af i alt 2300 KA-sekvenser). Proteinsekvenser fra bakterier (grønne) og eukaryoter (gule) kan ses i et fylogenetisk træ pga. den tætte evolution af disse enzymer [3]. KA'er med fed skrift indgik i dette studie.

metanogene arkebakterier, bruger KA ved dannelsen af metan fra brint og kuldioxid.



Abonnementsrabat til studerende - spar kr. 731,-

dansk kemi



**67%
rabat**

fjernelse af CO₂, er enzymet kulsyre anhydrase (KA). Det kan fungere sammen med både alkaliske og aminbaserede solventer.

Vi har konstrueret en reaktor i laboratorieskala for at karakterisere forskellige KA'er for deres effektivitet og for deres stabilitet under lang tids drift. Det blev vist, at tilstedeværelse af KA øger absorption i væsken, således at 94% af CO₂ i den indkomne gas bliver fjernet mod 34% uden biokatalysator.

Opdagelsen af en termostabil kulsyre anhydrase

KA'er fra pattedyr, planter eller bakterier virker ofte ved fysiologisk temperatur (37°C) eller lavere. Ved enzymatisk fjernelse af CO₂ fra varm røggas udgør den højere temperatur således en stor potentiel ulempe, da enzymerne inaktiveres, med mindre røggassen afkøles væsentligt inden CO₂-fjernelsen. Afkølingsprocessen vil kræve en relativt stor mængde energi, som "spildes". Derfor er der i enzymatisk CO₂-fjernelse behov for en mere termostabil KA. Tidligere har vi fundet flere termostabile enzymer fra *Bacillus* (f.eks. proteaser såsom Alcalase® og Subtilisin® og alfa-amylaser såsom BAN™ og Duramyl®). Disse enzymer har vist sig at være egnede i flere forskellige og krævende industrianvendelser. Desværre er det kun enkelte *Bacillus*-specier, der har et gen, som koder for en KA, der kan transporteres over cellemembranen.

Set fra et industrielt synspunkt som enzymproducent, så er sekretion af proteinet nødvendig, da det muliggør adskillelse af det ønskede protein og produktionsorganismen. Gener, der koder for alfa-KA'er, er hidtil kun fundet i de alkalitolerante specier *B. plakortidis* [6], *B. halodurans* og *B. clausii*. I andre *Bacillus*-specier findes der gener (ofte multiple) for intracellulære, ikke-sekretede beta-klasse KA'er.

Første gang en KA er produceret i en Gram-positiv værtsorganisme

KA-generne fra *B. plakortidis*, *B. halodurans* og *B. clausii* har vi klonet og produceret i *B. subtilis*. Efterfølgende er disse KA'er blevet oprenset til homogenitet, før de blev karakteriseret. Så vidt man ved, er det første gang, at en KA er blevet udtrykt i en Gram-positiv vært, hvilket er strengt nødvendigt for kommerciel storskala-produktion.

Alle de oprensede kulsyre anhydraser blev undersøgt for deres termostabilitet for at finde den mest robuste KA, der potentielt kan virke i røggasrensning. Tidligere videnskabelige studier har anvendt en KA fra koblod og en modificeret human CAII [7], men ingen af disse KA'er er i dag tilgængelige i industriel skala. Figur 2, side 26 viser stabiliteten af hCAII og af de fire heterologt udtrykte KA'er i dette studie. Både hCAII og *B. plakortidis* KA er ustabile ved højere temperaturer. KA ▶

Er du studerende får du Dansk Kemi et helt år for kun kr. 366,- (inkl. moms).

Normal abonnementspris er kr. 1.097,-. Du sparer kr. 731,-. Dansk Kemi bringer aktuel og dybde-gående information om kemien og dens udvikling inden for industri, forskning og undervisning.

Bladet orienterer om kemiens berøringsflader til farmaci, levnedsmiddelindustri, bioteknologi, miljø, grøn teknologi m.m. Dansk Kemi er medlemsblad for kemiingeniører i Ingeniørforeningen i Danmark (IDA) og kemikere i Kemisk Forening.

Med venlig hilsen

TechMedia

JA TAK,

som studerende ønsker jeg at spare kr. 731,- på et 12 måneders studieabonnement på Dansk Kemi. Min pris for et helt år er kr. 366,- (inkl. moms).

Navn: _____

Adresse: _____

Postnr.: _____

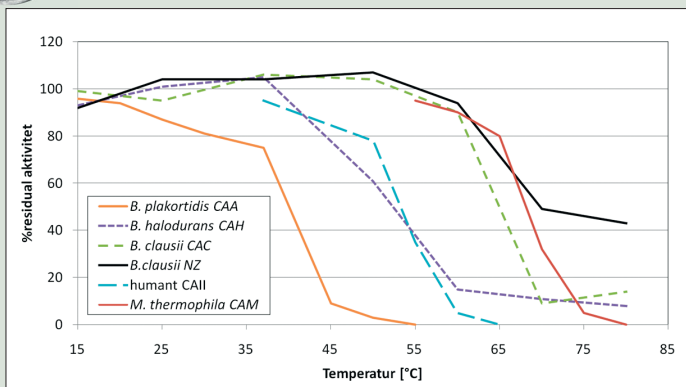
By: _____

Telefon: _____

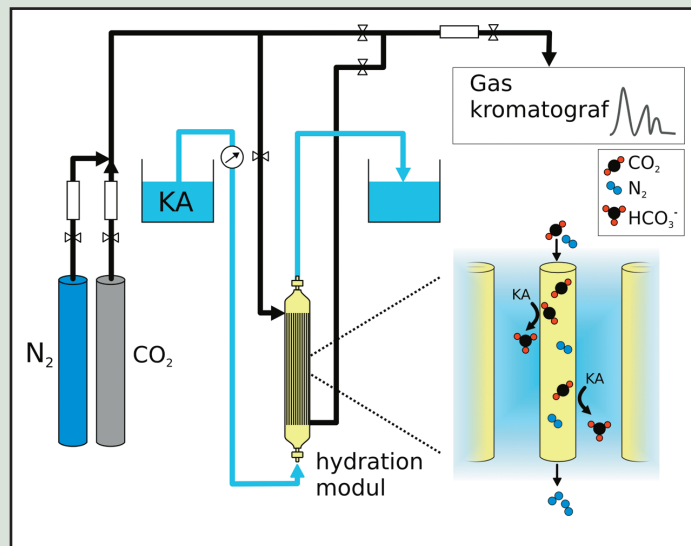
Studerende ved: _____

evt. linje: _____

Bestil bladet på: <http://shop.techmedia.dk> eller send kuponen til TechMedia A/S, Naverland 35, 2600 Glostrup.



Figur 2. Temperaturstabilitet for de fire *Bacillus* KA'er, humant ISOZYM-CAII og gamma-KA fra *M. thermophila* (data for hCAII og CAM er fra [10]). Enzymopløsningerne blev inkuberet 30 min ved de forskellige temperaturer ved pH 8,0, og residualaktiviteten blev målt med Wilbur-Andersson assay (Faktaboks 2).



Figur 3. Skematisk oversigt over laboratorieskala-reaktor til bestemmelse af CO₂-fjernelse og til karakterisering af de enkelte KA'er. "Hydration modulet" er et hollow fiber module, som tilføres en gasblanding (84±1%vol N₂ og 14±1%vol CO₂). I modulet omdannes CO₂(g) til bikarbonat i væskefasen. Bikarbonat kan så igen omdannes til CO₂ på lignende vis i et andet modul (dvs. i et dehydrationsmodulet, ikke tegnet), hvorefter den oprensede CO₂ kan komprimeres og lagres som på normal vis ved aminbaseret fjernelse. Tilsætning af en KA øger CO₂-transporten ind i væskefasen betragteligt. Afhængig af den enkelte KA's egenskaber kan KA-opløsningen anvendes flere gange.

fra *B. clausii* (CAC) udviste samme termostabilitet som den hidtil mest termostabile KA (gamma-KA fra *M. thermophila* (CAM))[10]. Yderligere viste karakteriseringen, at en KA fra en anden *B. clausii*-stamme (fra Novozymes' stammesamling) havde en endnu højere termostabilitet. Begge *B. clausii* KA'er var aktive ved applikationsrelevante pH-værdier, dvs. pH 9,0-10,0. Det betyder, er disse KA'er interessante til industriel CO₂-fjernelse ud fra en teknisk synsvinkel.

Reaktordesign til enzymatisk CO₂-fjernelse

Anvendelsen af en KA til CO₂-fjernelse er tidligere blevet beskrevet i litteraturen og forskellige reaktordesign er blevet foreslået. Disse reaktordesign er bl.a. "hollow fiber contained liquid membrane" reaktorer (HFCLM) [8], "contained liquid membranes" [2] eller søjle-pakkede absorbere/desorbere [7]. Det generelle princip i disse design er, at en absorptionsopløsning bringes i kontakt med gassen, samtidig med at der er en KA til stede, enten i opløsning eller immobiliseret.

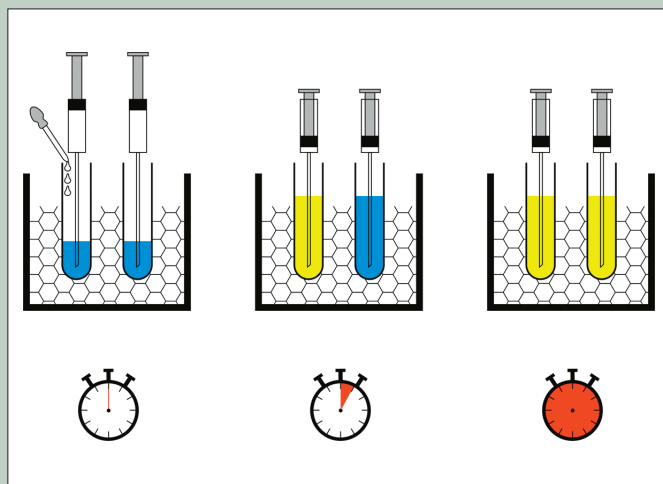
Vores laboratoriereaktor er en "hollow fiber contained liquid membrane" (ca. 15 cm høj), hvor et gasflow af nitrogen og kuldioxid bringes i kontakt henover membranen med absorberopløsningen, der indeholder KA. Herved omdannes CO₂ til bikarbonat ved gas-væske-overgangen ved membranen (figur 3). Ud-gassen analyseres ved gaskromatografi. De enkelte *Bacillus* KA'er blev testet i dette system [9], og vi viste, at alle de nævnte *Bacillus* KA'er kunne fjerne CO₂ fra gasblandingen. I forsøg ved rumtemperatur, hvor absorberopløsningen var en bikarbonatbuffer indeholdende KA, var det muligt at reducere CO₂-indholdet i gasblandingen fra 15%vol til 0,1%vol, hvilket svarer til en fjernelse på 99% (figur 4). Kontrolleksperimentet uden KA fjernede 34% af CO₂'en.

Studierne viste, at en velvalgt KA kan øge raten af både absorption og desorption (også i blanding med MEA), hvilket kan

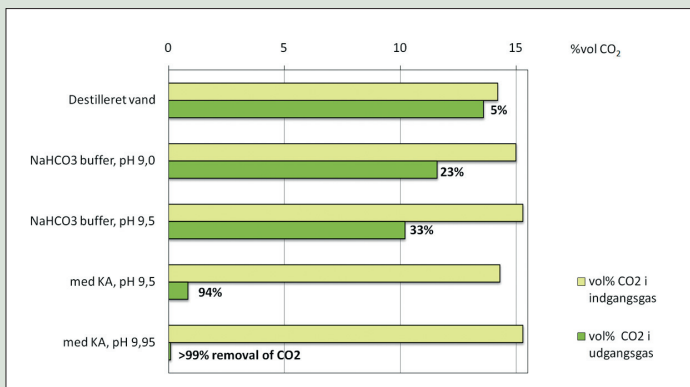
Faktaboks 2

Gør-det-selv kulsyre anhydrase aktivitetsmåling

Det grundlæggende princip i aktivitetsmålingen er, at dannelsen af bikarbonat resulterer i dannelsen af hydrogenioner [5]. Iskoldt destilleret vand mættes med CO₂ ved gennembobling med CO₂-gas. Alternativt kan et stykke tøris kommes ned i destilleret vand (det ser også underholdende ud). Således udføres selve eksperimentet: lav en 25 mM Tris-HCl buffer pH 8,3, tilsæt bromothymolblåt indtil farven er klart blå, 2 ml af denne buffer kommes i to reagensglas, der står i isvand. Til det ene rør tilsættes KA (eksempelvis fra Sigma-Aldrich®), og et tilsvarende væskevolumen uden KA tilsættes det andet reagensglas som kontrol. Med en sprøjte med lang nål, tilsættes hurtigt den CO₂-mættede opløsning på bunden af hvert reagensglas. Samtidig startes et stopur, og tidspunktet registreres, når opløsningen skifter farve fra blå til gul (omslagsintervallet for bromothymolblåt er pH 6,0-7,6). Den tid, det tager, før opløsningen skifter farve til gul, er omvendt proportional med KA-aktiviteten. Dvs. jo højere aktivitet des



flere hydrogenioner frigives pr. tid, hvilket medfører, at pH falder hurtigt, og omslaget sker inden for kortere tid.



Figur 4. CO₂-fjernelse i laboratoriskala-reaktor med og uden *B. clausii* KA. Vandfasen indeholdende bikarbonat ved forskellige pH-værdier. Jo højere pH-værdi (fra pH 6,5 i destilleret vand til pH 9,5), desto mere CO₂ kunne der fjernes ved ren kemisk absorption. Ved de KA-katalyserede processer kunne absorptionsraten øges fra 33% til 94% CO₂ ved pH 9,5 og mere end 99% ved pH 9,95.

være med til at reducere størrelsen på en reaktor til CO₂-fjernelse. Desuden viste studierne, at desorptionsprocessen kan køre ved lavere temperatur sammenlignet med desorptionprocessen fra aminbaserede solventer (~120 °C), dog skal der bruges f.eks. svagt vakuum til desorptionsprocessen, hvilket skal medregnes i det samlede energiforbrug. Inden for produktion af biogas har indledende eksperimenter vist, at reaktoren også kan bruges til at fjerne CO₂ fra en metan-kuldioxid blanding (60/40%vol) [9].

Med den nye enzymbaserede teknologi har hele processen således potentiale til at være mere miljøvenlig. Enzymer laves hovedsageligt ud fra fornybare ressourcer, og dertil kan absorptionsvæsken være bikarbonat, som er væsentligt mere ufarlig end aminbaserede solventer.

E-mail-adresser

Martin Simon Borchert: mtbo@novozymes.com

Paria Saunders: prsa@novozymes.com

Referencer

1. European Commission. "A vision for zero emission fossil fuel power plants." *RTD info magazine*, Zero Emission Fossil Fuel Power Plants Technology Platform (2006)
2. R. M. Cowan, J.-J. Ge, Y.-J. Qin, M. L. McGregor og M. C. Trachtenberg. "CO₂ Capture by Means of an Enzyme-Based Reactor." *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 984 (2003): 453-469.
3. K. Smith og J. Ferry. "Prokaryotic carbonic anhydrases." *FEMS Microbiol Rev* 24, no. 4 (2000): 335-366.
4. G. Miller. "Enzyme lets you enjoy the bubbly." *Science* 326, no. 5951 (2009): 349.
5. K. M. Wilbur og N. G. Anderson. "Electrometric and Colorimetric Determination of Carbonic Anhydrase." *J Biol Chem* 176 (1948): 147-154.
6. M. S. Borchert, P. Nielsen, I. Graeber, I. Kaesler, U. Szewzyk, T. Pape, G. Antranikian og T. Schäfer. "*Bacillus plakortidis* sp. nov. and *Bacillus murimartini* sp. nov., novel alkalitolerant members of rRNA group 6." *IJSEM*, (2007): 2888-2893.
7. R. Daigle, M. Desrochers og R. Blais. Patentnr. US0257990 og US6524843. (2006 og 2000)
8. S. Majumdar. "A new liquid membrane technique for gas separation." *AIChE* 34, no. 7 (1988): 1135-1145.
9. M.S. Borchert og P. Saunders. Patentnr. WO2008/095057. (2008)
10. B. Alber og J. Ferry. "Characterization of heterologously produced carbonic anhydrase from *Methanosarcina thermophila*." *J Bacteriol* 178, no. 11 (1996): 3270-3274.

C. I-Analyse

Gasanalyse – Gasalarmer – CEM systemer – Rådgivning – Service – Nanopartikler – Aerosoler – IAQ

Det komplette instrument for indeklimate og immissionsmålinger



Aeroqual IQM 60

Måler op til 6 gasser samtidig
CO₂, CO, VOC, NO₂, O₃ samt non metan (for andre gasser kontakt os)
Temperatur, RH
Partikel måling Option
Vedligehold, check / rutine hver 6 til 12 måned
RS232/USB Kommunikation
PC data logging software
Data SD kort 1GB
Trådløs kommunikation Option, GSM modem 900/1800 MHz
Display 4x20 vakuum florescent
Nul & span kalibrering, eksternt via PC interface
Vægt 2,1 kg
Mål H x B x D 236 x 132 x 278
Spændingsforsyning 12 VDC, 250 VAC

Nyhed



Servomex 2900

SERVOTOUGH LASER
Process analyser
In-situ/ekstraktivt gasanalyser
Teknik: TDLAS (single line laser diode spectroscopy) (Neo)
Applikationer: O₂- Process
Eksempelvis: CO- Forbrændingskontrol
Termisk oxidation
HCl - Forbrændingsanlæg
NH₃-Ammoniumslip, DeNOx systemer
H₂S/ H₂O i Naturgas
Emissioner
Flare stack mm.

For yderligere informationer kontakt

Claus Ihle-Andersen