



Der sechste Newsletter

In diesem Newsletter geht es um neue Rohstoffe aus grünen Abfallströmen.

Eine der Techniken, die im Projekt untersucht werden sollen: die hydrothermale Karbonisierung.

Dimitri Georganas van Biodys b.v. aus Noordhorn in Groningen beschreibt die Zusammenarbeit zwischen den deutschen und niederländischen Partnern, dies ist ein gutes Beispiel für die Ziele der Grüne Kaskade.

Mit freundlichen Grüßen,

Meis van der Heide

Projektleiter GRÜNE KASKADE

In diesem Newsletter

- Erläuterung der HTC-Forschung im Teilprojekt "Poröse Kohle".
- Animationen einiger Teilprojekte

Grüne Kaskade

Das Projekt Interreg **Grüne Kaskade** zielt darauf ab, die Chancen für die Weiterentwicklung der Bio-Wirtschaft im deutsch-niederländischen Grenzgebiet zu nutzen, indem alle Ein- und Ausgangsströme, die Teil der Biogaskette sind, besser genutzt und aufgewertet werden.

Zu diesem Thema arbeitet ein Konsortium von über 20 Partnern in elf innovativen Teilprojekten zusammen, die darauf abzielen, die Wertschöpfungskette mit besonderem Fokus auf eine wirtschaftlich wertvollere Nutzung der Input- und Outputströme, die Teil der Biogaskette sind, zu verbessern.



Bioenergie und neue Rohstoffe aus grünen Abfallströmen

Im Rahmen des Projekts Grüne Kaskade **Bioclear Earth** werden eine Reihe von Weißgesteinspilzen auf ihre Eignung hin untersucht, Lignocellulose abzubauen, um Cellulose aus Grünabfallströmen verfügbar zu machen. Ziel dieses Projekts ist es, eine pilzbasierte Vorbehandlungstechnik zu entwickeln, die für verschiedene Arten von Biomasse und verschiedene Anwendungen (Rohstoffe und Bioenergie) geeignet ist, und zu untersuchen, ob dieser Prozess wirtschaftlich interessant ist.

Für diese Forschung testen wir verschiedene holzige Materialien: wie Straßenrasen, Naturgras, Schilf und Miscanthus. Neben der Optimierung der Fermentationsprozesse, die bereits zur Erzeugung von Bioenergie aus Biomasse genutzt werden, prüfen wir auch die Möglichkeit, durch Verzuckerung der Cellulosefaser grüne Chemikalien herzustellen. Wir betrachten auch die direkten Einsatzmöglichkeiten der Cellulosefaser als Rohstoff.

Warum ist es wichtig, Lignocellulose abbauen zu können?

Lignocellulose Biomasse ist einer der häufigsten organischen Rohstoffe auf der Erde. Lignin ist der "Klebstoff", der Bäume und Pflanzen fest macht. Es ist ein sehr komplexes Biopolymer, das aus vernetzten Strukturen besteht. Diese komplexe Struktur ist der Grund dafür, dass faserige Restströme wie Gräser, Holz und Schilf schwer wiederverwendbar sind, da sie nicht einfach so abgebaut werden können. Jährlich produzieren wir 50.000 Tonnen an faserigen Bioabfallströmen in einem Gebiet mit einem Radius von 30 km, indem wir Ortsgänge, Naturschutzgebiete, Deiche mähen, Bäume entlang öffentlicher Straßen pflegen usw. Das sind enorme Mengen an Rohstoffen, die wir problemlos als Biokraftstoffe, neue Rohstoffe und grüne Chemikalien verwenden können.

Ligninspaltung ist nicht gerade ein Kinderspiel. Nehmen Sie ein Alltagsprodukt wie Papier. Um Zellstoff für die Papierherstellung zu gewinnen, wird eine ganze Reihe von physi-



kalischen und chemischen Prozessen durchlaufen. Um die komplexe Struktur von Lignin zu entschlüsseln, wird Holz mit verschiedenen Chemikalien unter hohem Druck und hoher Temperatur behandelt, mechanisch und mit viel Wasser bearbeitet.

Im Rahmen dieses Projekts untersuchen wir die Möglichkeit, Lignin zu spalten und Cellulose mit einem natürlichen Verfahren, nämlich Pilzen, zu gewinnen.

Biopulping: Ligninschneider aus der Natur

In der Natur gibt es eine sehr effektive Möglichkeit, Lignin abzubauen, ohne dass extreme Bedingungen erforderlich sind. Weißfäulepilze produzieren ihre eigenen Chemikalien einfach bei der Außentemperatur und unter normalem Luftdruck. Diese Pilze sind eigentlich eine Art kleine Papierfabriken, die in der Lage sind, Biomasse wie Holz - durch die Herstellung eigener Werkzeuge in Form von hydrolytischen und oxidativen Enzymen - zum Abbau von Lignin vorzubereiten. Durch das Wachstum ihres Myzels sind sie in der Lage, Nährstoffe für ihr weiteres Wachstum tief in das kohlenstoffreiche Holz zu transportieren. Aus der in der Fortpflanzungsphase freigesetzten Cellulose bilden sie ihre Fruchtkörper, die wir als Pilze kennen. Diese natürliche Methode der Cellulosegewinnung wird als Biopulping bezeichnet.

Struktur der Untersuchung

Der Proof-of-Principle der Technik wurde von Bioclear Earth im Labormaßstab nachgewiesen.

Um ein solides Fundament für diese schimmelbasierte Technologie zu schaffen, wurde eine umfangreiche Studie über Holzschimmelpilze gewählt. Ziel dieser Forschung ist die Auswahl der am besten geeigneten Arten und die Bestimmung der optimalen Wachstumsbedingungen.

Diese Forschung wurde in Phasen durchgeführt:

Phase 1 Basierend auf einer Literaturstudie wurden die Mechanismen des Holzabbaus durch Pilze untersucht. Wir untersuchten die Physiologie, das Wachstum und die Vermehrung verschiedener Holzschimmelpilze sowie die Abbauewege von Lignin, die je nach Art unterschiedlich sein können. Darauf aufbauend wurden ein Dutzend interessanter Pilze ausgewählt. Um diese Pilze bei der Gestaltung einer Vor-

behandlung nutzen zu können, wurde eine Reihe von Faktoren berücksichtigt. Der Pilz darf unter anderem nicht pathogen sein, denn sonst kann der bei der anaeroben Vergärung von Biomasse freigesetzte Gärrest nicht mehr als Dünger für die Landwirtschaft verwendet werden. Wir haben auch untersucht, welche Nährstoffe eine wichtige Rolle für das Wachstum der Pilze spielen, um ihr Wachstum zu beeinflussen. Es hat sich gezeigt, dass ein optimales Pilzwachstum nicht unbedingt mit einem optimalen Abbau von Lignin korreliert. Für die Entwicklung einer Vorbehandlung müssen wir das optimale Gleichgewicht zwischen Wachstum und Abbau finden.

Phase 2 Als Fortsetzung unserer Suche nach den besten Pilzen basieren die Ergebnisse der Phase 1, zwölf Pilze aus Kultursammlungen auf der ganzen Welt.

Phase 3 Dann entwickelten wir eine Screening-Methode und untersuchten die Pilze auf Wachstumsrate, Produktion der richtigen Enzyme für den Abbau von Lignin und auf natürliche Selektivität. Die natürliche Selektivität ist wichtig, denn wir bevorzugen Arten, die fast nie Fruchtkörper produzieren, weil dies auf Kosten der Celluloseausbeute geht.

Stand der Dinge: Erfolge, neue Herausforderungen und Rückschläge

Erfolg

Der aktuelle Zwischenstand ist, dass aus diesem Screening vier interessante Kandidaten hervorgegangen sind. Basierend auf weiteren Wachstumstests haben wir diese Zahl auf zwei Schimmelpilzstämmen reduziert.

Neue Herausforderungen

Im Nachgang wollen wir daher nun den angestrebten Prozess mit den beiden besten Kandidaten entwickeln.

Betrachten Sie zu diesem Zweck die folgenden Faktoren:

- Wie können wir das Wachstumsmedium optimieren?
- Wie stimulieren wir die Pilze, mehr Enzyme zu produzieren?
- Wie können wir verhindern, dass Bakterien, Hefen oder andere Pilze den Prozess infizieren?

Sobald wir die oben genannten Faktoren bestimmt haben, werden wir die Pilze in einem Reaktor im Litermaßstab vorzüchten und auf verschiedene Arten von Biomasse testen.

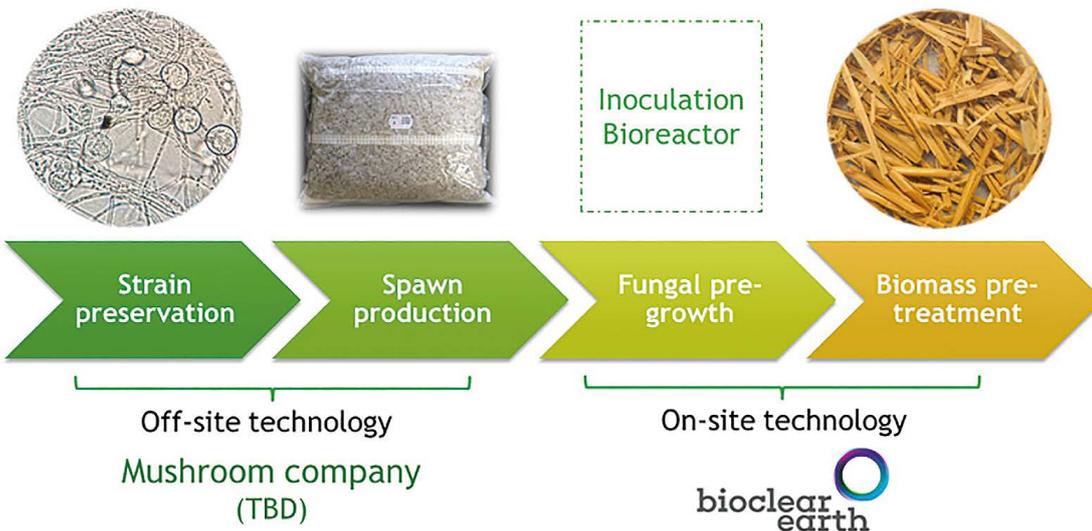
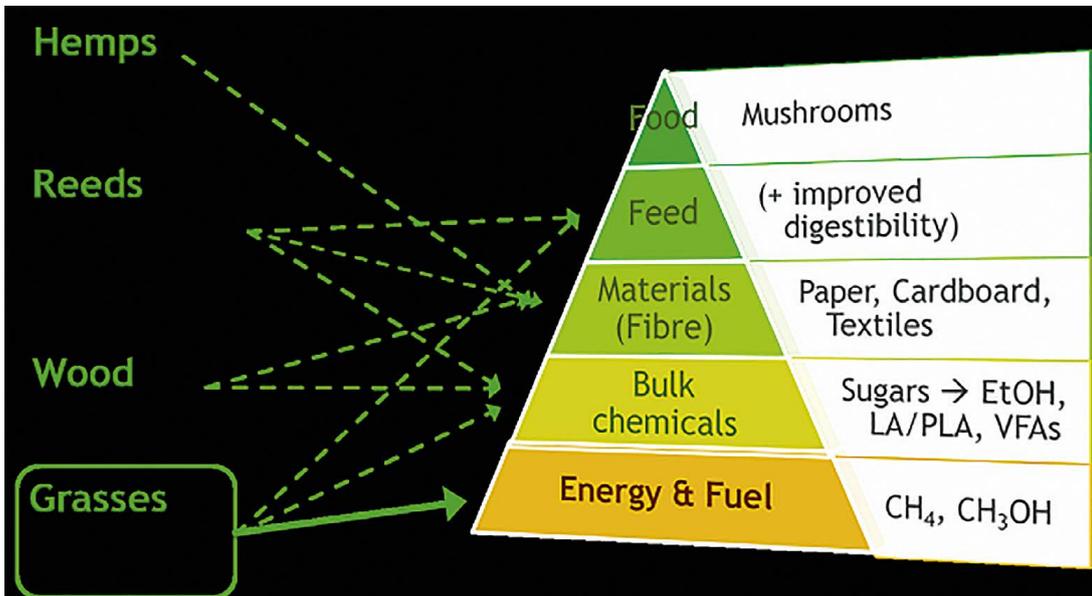
Rückschlag

Das Konsortium stellte die Frage, ob es möglich ist, diese Technik auf Gülle und Gärreste aus Fermentern anzuwenden. Dies wurde im Labormaßstab getestet. Leider sind die Pilze in beiden Fällen nicht gewachsen. Dies ist auf den hohen Stickstoffgehalt von Gülle und Gärresten zurückzuführen.

Möglichkeiten des Biopulping

Wenn wir Biopulpingtechnik in größerem Maßstab anwenden können, gibt es viele Einsatzmöglichkeiten für diese Technologie. Zum Beispiel zur Verbesserung bestehender Biomasse-Fermentationssysteme.

Der Engpass bei der Fermentation von Lignocellulose ist



derzeit die Gesamtfermentationskapazität und die relativ geringe Gasausbeute und nicht die verfügbare Menge an Biomasse. Nur ein Teil (ca. 25%) der Kapazität eines Fermenters kann für die Anwendung von Fasermaterial genutzt werden, oberhalb dessen Probleme bei der Ausführung auftreten. Bei der Fermentierung von Gräsern und Schilf kann das Biopulping sowohl mehr Ertrag bringen (potenziell auf 25-50% geschätzt) als auch beschleunigen (potenziell auf 2-3x geschätzt). Diese kombinierten Effekte ergeben eine potenzielle zusätzliche Produktion von 2,5-4,5x der Menge an Biogas aus Grasmaterial bei gleicher Gärleistung. Diese Effizienzsteigerung macht den Einsatz von preiswerteren und alternativen Rohstoffen für die Erzeugung erneuerbarer Energien attraktiver und wirtschaftlicher. Biopulping ist die einzige Möglichkeit, etwa 6 Petajoule (PJ) Grüngas aus Gräsern zu produzieren. Das sind 8% der gesamten in den Niederlanden im Jahr 2016 produzierten Bioenergie. In den Niederlanden verbrauchen wir etwa 300 PJ Gas pro Jahr, um unsere Häuser zu heizen.

Bei der Erforschung der Möglichkeiten der Biopulping betrachten wir nicht nur die Anwendungen zur Erzeugung von Biogas, sondern auch die Möglichkeit, diese Technologie in Zukunft für die Herstellung von Papierfasern, grünen Chemikalien und Zuckern der zweiten Generation einzusetzen.

Zusammenarbeit bei der Entwicklung neuer Technologien

Der nächste Schritt ist die Umsetzung der Ergebnisse in eine praxistaugliche und breit anwendbare Technologie. Wir nutzen geschickt die Techniken, die bereits im Bereich der Pilzzucht entwickelt wurden.

Wenn Sie weitere Informationen zu diesem Thema wünschen, wenden Sie sich bitte an Jeroen Tideman.

Tideman@bioclearearth.nl



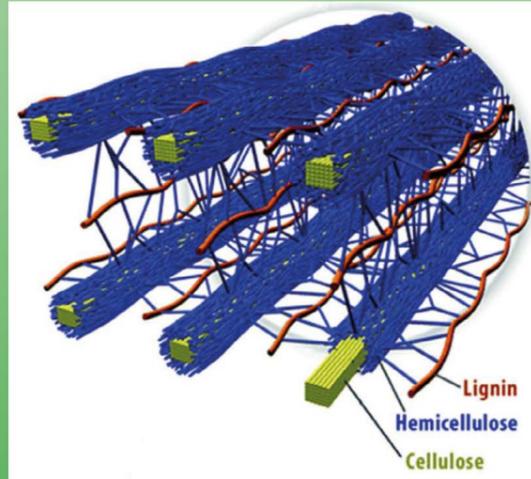
PRETREATING BIOMASS WITH WHITE-ROT FUNGI FOR ENHANCED ANAEROBIC DIGESTION

Elisa Rasca, MSc

Plant biomass is the most abundant organic resource on our planet, a widely-available renewable feedstock for the production of bio-fuels as ethanol and methane, but also bio-based chemicals, materials and animal feeds. Yet this valuable resource is little exploited due to its complex chemical structure, which makes it recalcitrant to degradation.

Lignocellulose, the major component of plant biomass, is composed of three main tightly-interlinked components: cellulose (25-60%), hemicellulose (10-35%) and lignin (15-30%). While the carbohydrate fraction (cellulose and hemicellulose) represents a valuable source for further processing, lignin—a complex, variable and insoluble aromatic polymer—confers lignocellulose

its strength and recalcitrance, acting as a shield against degradation. For this reason, a pretreatment step is crucial to attack this shield and enhance the sugar availability, improving rate and yield of the following conversion. Although several chemical and physical pretreatment methods have been developed for this purpose, these imply a cost in the form of energy and equipment investment and/or the generation of waste streams and fermentation inhibitors. On the other hand, exploiting the natural ability of microorganisms to degrade the plant cell wall by the introduction of biological pretreatment step represents a sustainable alternative to these methods and a promising technology for the enhancement of biogas production through anaerobic digestion.



3D structure of lignocellulose

White-rot Fungi

Fungi are Nature's most efficient wood-decomposers. Based on their degradation pattern, wood-decay fungi have been classified into **soft-**, **brown-** and **white-rotters**. The latter are especially attractive from a biotechnological point of view for their unique capability of degrading lignin, the most recalcitrant component of lignocellulose. Thanks to their array of redox enzymes—which comprise several heme-peroxidases, laccases and H₂O₂-producing enzymes—they can completely mineralize lignin into CO₂.



A white-rot fungus, *Coriolus versicolor*

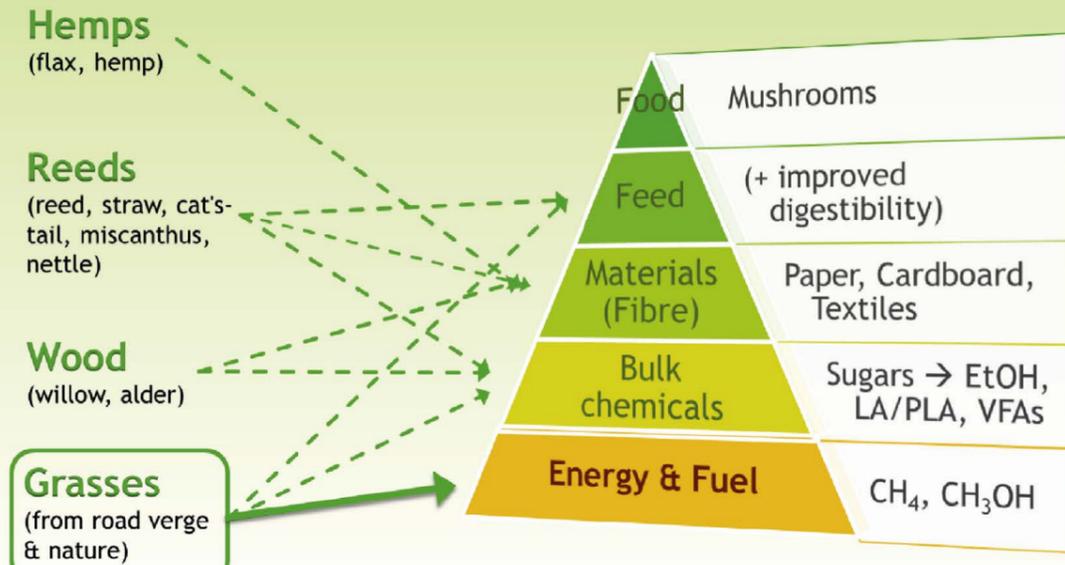


White rot on wood

Moreover, white-rotters can degrade the lignocellulose components either simultaneously or sequentially, starting from the lignin fraction. This decay pattern, referred to as **selective delignification**, causes the lignin-deprived wood to turn into a softer and white cellulose-enriched material (hence the name white rot). This phenomenon holds a great potential for the biotechnological removal of lignin from plant biomass, causing white-rot fungi and their degradation mechanisms to be widely investigated.

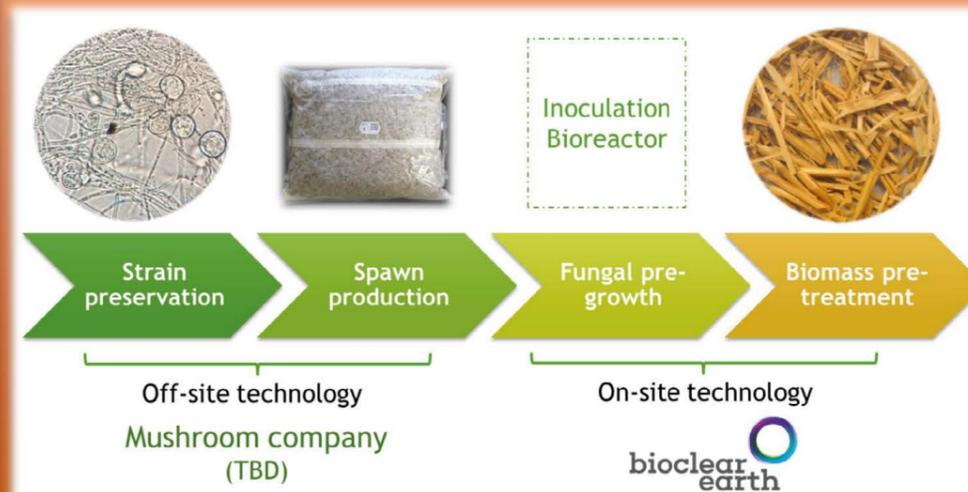
Objectives

Fungal pretreatment is suitable for a broad range of feedstocks and applications at different level of the bio-based value pyramid. Below are shown biomass sources widely available in the province of Groningen and their possible application after fungal pretreatment. The first and main focus of Bioclear earth will be the pretreatment of grasses for enhanced biogas production.



Prospective value-chain

The value-chain we envision involves external partners to store the fungal strain best suited for the pretreatment and provide the organism in the form of axenic spawn (i.e. inoculated substrate). This mother inoculum will be amplified on-site in a liquid bioreactor to produce high amounts of fungal mycelium at affordable cost. The liquid mycelial suspension can then in turn be used to inoculate the feedstock.



Current research goals

Our current research involves the selection of suitable fungal strains based on experimental results and literature studies. We are also investigating the optimal lab-scale conditions for growing white-rot fungal strains in liquid medium. The knowledge acquired will help us designing an inoculation bioreactor.

Next steps will include the scale-up of liquid culturing and biomass pretreatment test in order to establish the amount of inoculum and incubation time required for an effective delignification of the feedstock.



Dit project wordt uitgevoerd als deelproject van de 'Groene Kaskade' in het kader van het INTERREG V- programma Deutschland-Nederland met subsidiëring door de Europese Unie, in het bijzonder door het Europees Fonds voor Regionale Ontwikkeling (EFRO).





Ein Film über das Grüne Kaskade Projekt

Zusammen mit dem Projektpartner 3N und einem deutschen Filmemacher wird ein Kurzfilm über das Projekt erstellt. Diese wird 2019 über die Website www.gr-kaskade.eu zur Verfügung gestellt.

Kontaktdaten Grüne Kaskade



Projektmanager:
Dr. Meis van der Heide
 M.vander.Heide@provinciegroningen.nl



Website: www.gr-kaskade.eu



Twitter: @Groene_Kaskade



Redaktion Rundschreiben:
 info@gr-kaskade.eu



Ministerie van Economische Zaken
 en Klimaat

Ministerium für Wirtschaft, Innovation,
 Digitalisierung und Energie
 des Landes Nordrhein-Westfalen



Niedersächsisches Ministerium
 für Bundes- und Europaangelegenheiten
 und Regionale Entwicklung

provinsje fryslân
 provincie fryslân



provincie Drenthe



Das Projekt **Grüne Kaskade** wird durch das EU-Programm ermöglicht: Interreg Deutschland Nederland und das Wirtschaftsministerium; die Provinzen Friesland, Groningen, Drenthe und Overijssel sowie die Bundesländer Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen.