



De zesde Nieuwsbrief

Deze nieuwsbrief gaat over nieuwe grondstoffen uit groene afvalstromen.

Een van de technieken die in het project worden onderzocht: Hydrothermale Carbonisatie.

Dimitri Georganas van Biodys b.v. uit Noordhorn in Groningen beschrijft de samenwerking tussen de Duitse en Nederlandse partners, dit is een goede illustratie van Groene Kaskade beoogt.

Met vriendelijke groet,

Meis van der Heide

Project manager GROENE KASKADE

In deze nieuwsbrief

- Uitleg over het HTC onderzoek in deelproject "Poreuze Kolen"
- Animaties van enkele deelprojecten

Groene Kaskade

Het Interreg project **Groene Kaskade** wil de kansen benutten voor het verder uitbouwen van de bio-economie in de Duits-Nederlandse grensregio door het beter gebruiken en verwaarden van alle input- en outputstromen die onderdeel uitmaken van de biogasketen.

Rond dit onderwerp werkt een consortium van ruim 20 partners samen aan elf innovatieve deelprojecten, gericht op het verbeteren van de waardeketen met een specifieke focus op een economische waardevollere benutting van de input- en outputstromen die onderdeel uitmaken van de biogasketen.



Bio-energie en nieuwe grondstoffen uit groene afvalstromen

In het project Groene Kaskade screent **Bioclear earth** een aantal witrotschimmels op hun geschiktheid om lignocellulose af te breken om zo cellulose beschikbaar te maken uit groene afvalstromen.

Het uiteindelijke doel van dit project is om een schimmel gebaseerde voorbehandelingstechniek te ontwikkelen, die geschikt is voor verschillende types biomassa en verschillende toepassingen (grondstof en bio-energie) en daarnaast te onderzoeken of dit proces economisch interessant is.

Voor dit onderzoek testen we diverse houtachtige materialen: zoals bermgras, natuurgras, riet en Miscanthus. Naast het optimaliseren van de vergistingsprocessen, die nu al toegepast worden voor het opwekken van bioenergie uit biomassa, kijken we naar de mogelijkheid om groene chemicaliën te produceren via het versuikeren van de cellulosevezel. Daarnaast kijken we naar de directe toepassingmogelijkheden van cellulosevezel als grondstof.

Waarom is het belangrijk om lignocellulose af te kunnen breken?

Lignocellulose biomassa is één van de meest voorkomende organische grondstoffen op aarde. Lignine is de "lijm" die bomen en planten stevig maakt. Het is een zeer complex biopolymeer bestaande uit gecrosslinkte structuren. Deze complexe structuur is de reden waarom vezelige reststromen zoals grassen, hout en riet lastig herbruikbaar zijn, want het laat zich niet zomaar afbreken. Elk jaar produceren we 50.000 ton groene vezelige reststromen in een gebied met een straal van 30 km door het maaien van bermen, natuurgebieden, dijken en het onderhouden van bomen langs de openbare weg etc. Dat zijn enorme hoeveelheden grondstoffen die we prima kunnen gebruiken als biobrandstoffen, nieuwe grondstoffen en groene chemicaliën.

Lignine kraken is niet bepaald een koud kunstje. Neem een alledaags product als papier. Om cellulose te winnen voor de productie van papier wordt een hele serie fysische en



chemische processen uit de kast getrokken. Om de complexe structuur van lignine te ontsluiten wordt hout behandeld met verschillende chemicaliën, onder hoge druk en temperatuur, mechanisch bewerkt en behandeld met heel veel water.

In het kader van dit project bekijken we of het mogelijk is lignine te kraken en cellulose te winnen met behulp van een natuurlijke methode, namelijk schimmels.

Biopulping: ligninekrakers uit de natuur

In de natuur bestaat een heel effectieve manier om lignine af te breken, zonder de noodzaak van extreme condities. Witrot-schimmels produceren hun eigen chemicaliën gewoon in de buitentemperatuur en onder normale luchtdruk. Deze schimmels zijn eigenlijk een soort kleine papierpulpfabriekjes die in staat zijn biomassa zoals hout voor te behandelen - door hun eigen gereedschap in de vorm van hydrolytische en oxidatieve enzymen te produceren - om zo lignine af te breken. Dankzij de manier waarop hun mycelium groeit, zijn ze in staat voedingsstoffen voor hun verdere groei tot diep in het koolstofrijke hout te transporteren. De cellulose die vrijkomt, gebruiken ze in hun reproductiefase voor de vorming van hun vruchtlichamen die wij kennen als paddenstoelen. Deze natuurlijke methode om cellulose te winnen noemen we biopulping.

Opzet van het onderzoek

Proof-of-principle van de techniek is door Bioclear earth aangetoond op labschaal.

Om een degelijk fundament te leggen onder deze op schimmelgebaseerde technologie is gekozen voor een uitgebreide studie naar houtrotschimmels. Doel van dit onderzoek is de selectie van de meest geschikte soort (en) en de vaststelling van de optimale groeicondities.

Dit onderzoek is gefaseerd uitgevoerd:

Fase 1 Op basis van literatuurstudie is gekeken naar de mechanismen van houtafbraak door schimmels. Hierbij hebben we gekeken naar de fysiologie, groei en reproductie van diverse houtrotschimmels en daarnaast naar de afbraakroutes van lignine, die per soort kunnen verschillen. Op grond daarvan is een twaalfstal interessante schimmels geselecteerd. Om

deze schimmels te kunnen gebruiken in het ontwerp van een pre-treatment zijn een aantal factoren meegenomen. Onder andere mag de schimmel geen pathogeen zijn, omdat anders het digestaat dat vrijkomt bij de anaerobe vergisting van biomassa niet meer gebruikt kan worden als meststof voor de landbouw. Ook is gekeken naar welke nutriënten een belangrijke rol spelen bij de groei van de schimmels, om zo de groei te kunnen beïnvloeden. Gebleken is dat optimale groei van de schimmels niet noodzakelijk correleert met optimale afbraak van lignine. Voor de ontwikkeling van een pre-treatment moeten we zoeken naar de optimale balans tussen groei en afbraak.

Fase 2 Als vervolg op onze zoektocht naar de beste schimmels zijn op grond van de resultaten van fase 1, twaalf schimmels besteld uit culture collecties overal ter wereld.

Fase 3 Vervolgens hebben we een screeningsmethode ontwikkeld en de schimmels gescreend op groeisnelheid, op productie van de juiste enzymen voor de afbraak van lignine en op natuurlijke selectiviteit. Natuurlijke selectiviteit is van belang, omdat onze voorkeur uitgaat naar soorten die bijna nooit vruchtlichamen produceren, want dit gaat ten koste van de celluloseopbrengst.

Stand van zaken: successen, nieuwe uitdagingen en tegenvallers

Succes

De huidige tussenstand is dat uit deze screening vier interessante kandidaten naar voren zijn gekomen. Op basis van verdere groeitesten hebben we dit aantal teruggebracht naar twee schimmelstammen.

Nieuwe uitdagingen

Als vervolg willen we daarom nu met de beste twee kandidaten het beoogde proces gaan ontwikkelen.

Daarvoor kijken naar de volgende factoren:

- Hoe kunnen we het groeimedium optimaliseren?
- Hoe zetten we de schimmels aan tot het produceren van meer enzymen?
- Hoe kunnen we voorkomen dat bacteriën, gisten of andere schimmels het proces besmetten?

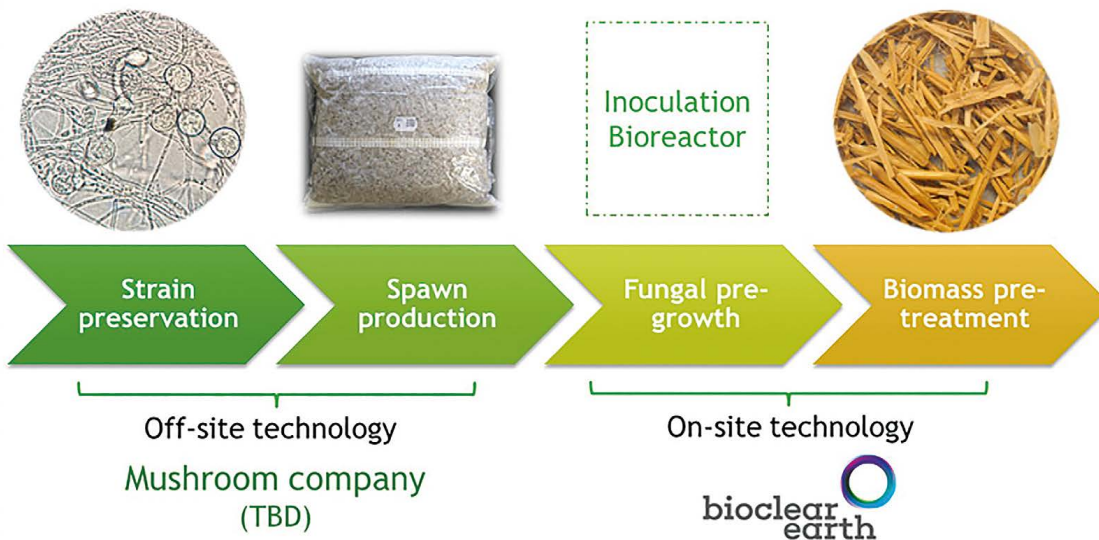
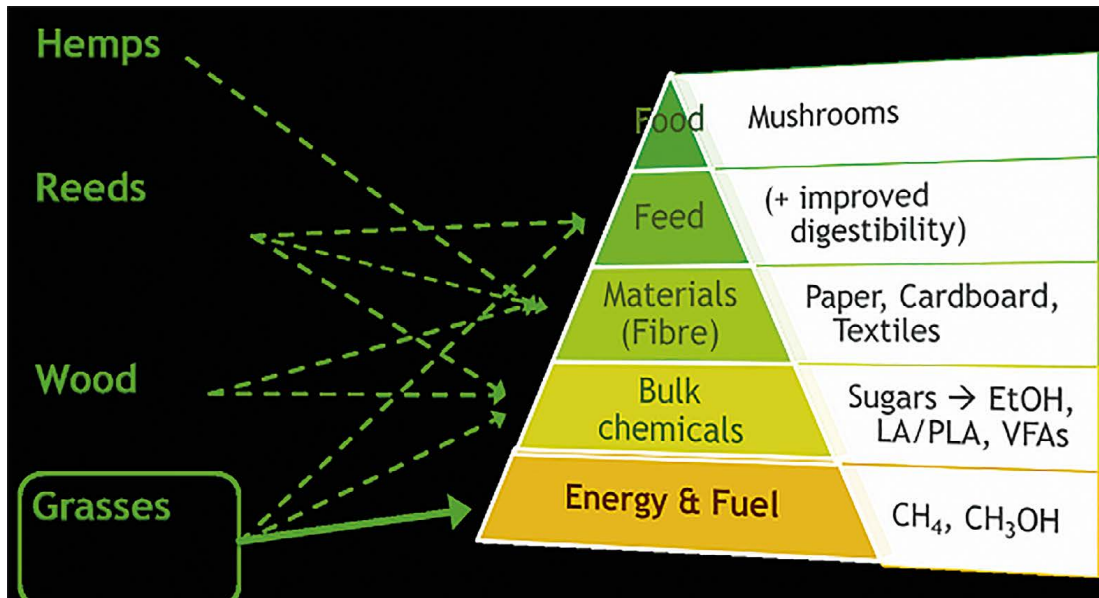
Als we bovenstaande factoren hebben bepaald, gaan we de schimmels in een reactor op literschaal voortkweken en gaan we ze testen op verschillende types biomassa.

Tegenvaller

Vanuit het consortium werd de vraag gesteld of het mogelijk is om deze techniek toe te passen op mest en digestaat uit vergisters. Dit is op labschaal getest. Helaas bleek in beide gevallen dat de schimmels niet groeiden. Dit is te wijten aan het hoge stikstof gehalte van zowel mest als digestaat.

Kansen voor biopulping

Als we in staat zijn de techniek van biopulping op grotere schaal toe te passen zijn er legio gebruiksmogelijkheden voor deze technologie. Bijvoorbeeld voor de verbetering van bestaande vergistingssystemen van biomassa.



Momenteel is de bottleneck bij de vergisting van lignocellulose de totaal aanwezige vergistercapaciteit en de relatief lage gasopbrengst en niet de beschikbare hoeveelheid biomassa. Slechts een gedeelte (circa 25%) van de capaciteit van een vergister kan benut worden voor toepassing van vezelmateriaal, daarboven ontstaan uitvoeringstechnische problemen. Biopulping kan in de vergisting van grassen- en rietachtigen zowel een meeropbrengst opleveren (potentieel geschat op 25-50%) als een versnelling bewerkstelligen (potentieel geschat op 2-3x). Deze opgetelde effecten geven een potentiële meerproductie van 2,5-4,5x de hoeveelheid biogas uit grasmateriaal, bij gelijkblijvende vergistercapaciteit. Door deze efficiencyverbetering wordt het gebruik van meer laagwaardige en alternatieve grondstoffen aantrekkelijker en rendabeler voor de productie van duurzame energie. Alleen uit grassen kan dankzij Biopulping circa 6 petajoule (PJ) groen gas worden geproduceerd. Dit is 8% van alle geproduceerde bio-energie in 2016 in Nederland. In Nederland verbruiken we ongeveer 300 PJ gas per jaar om onze huizen te verwarmen.

Bij het onderzoek naar de kansen voor biopulping kijken we niet alleen naar de toepassingen voor het opwekken van biogas, maar ook naar de mogelijkheid om deze technologie in de toekomst toe te passen voor de productie van papiervezel, groene chemicaliën en tweede-generatie suikers.

Samenwerken aan nieuwe technologie

De vervolgstap is het vertalen van de resultaten naar een praktische en op grote schaal toepasbare technologie. Hierbij maken wij slim gebruik van de technieken die al ontwikkeld zijn in de paddenstoelenkweeksector.

Wilt u meer informatie over dit onderwerp neem dan contact op met Jeroen Tideman.

Tideman@bioclearearth.nl



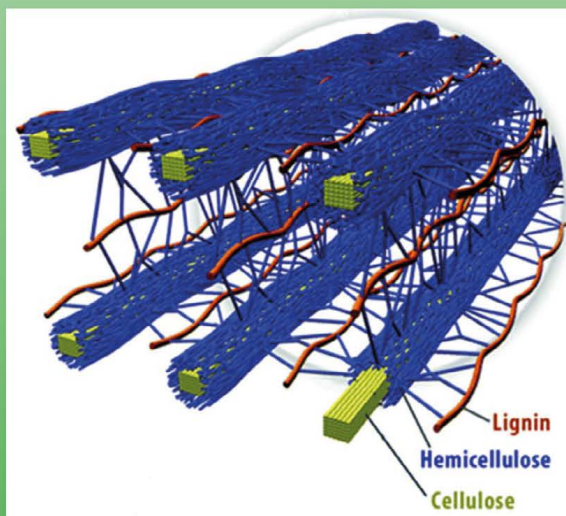
PRETREATING BIOMASS WITH WHITE-ROT FUNGI FOR ENHANCED ANAEROBIC DIGESTION

Elisa Rasca, MSc

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.

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



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 H_2O_2 -producing enzymes—they can completely mineralize lignin into CO_2 .



A white-rot fungus, *Coriolus versicolor*

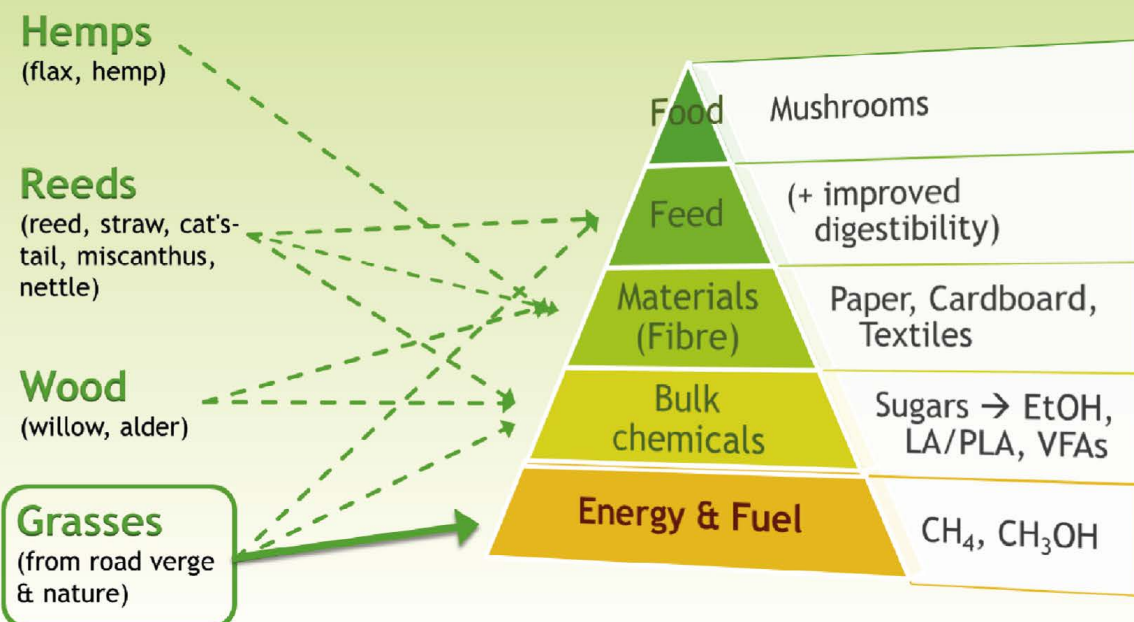


White rot on wood

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.

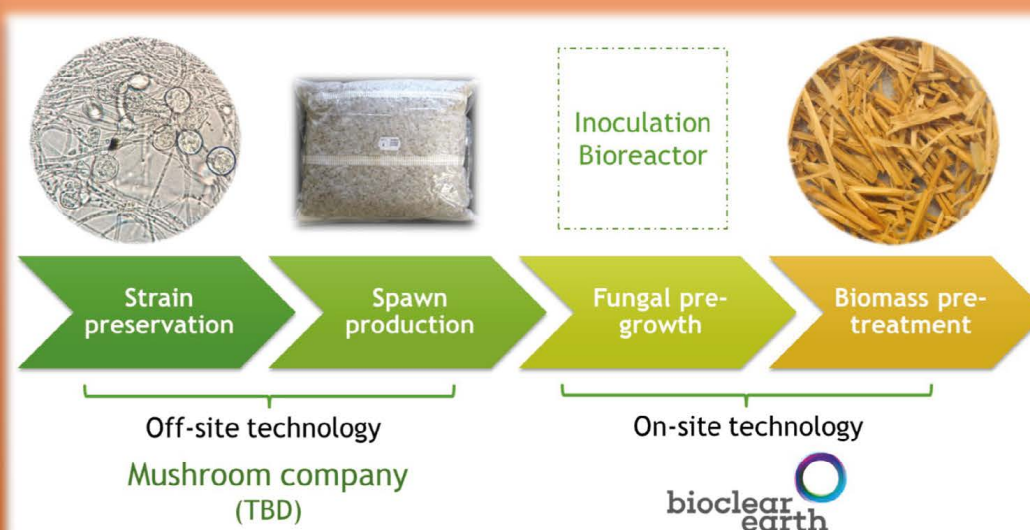
Objectives

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).

GRÜNE GROENE KASKADE

INTERREG Deutschland Nederland



bioclear earth



Een film over het Groene Kaskade project

Samen met projectpartner 3N en een Duitse filmmaker wordt een korte film over het project voorbereid. Deze wordt in 2019 beschikbaar gemaakt via de website www.gr-kaskade.eu

Groene Kaskade Contactgegevens

De projectleider:
dh. Dr. Meis van der Heide.

Mail:
M.vander.Heide@provinciegroningen.nl

De tweetalige Website:
www.gr-kaskade.eu

De nieuwsbrief redactie:
info@gr-kaskade.eu

Twitter: @groene_kaskade



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
groningen

provincie Drenthe

provincie Overijssel

Het project **Groene Kaskade** wordt mogelijk gemaakt door het EU programma: Interreg Deutschland Nederland, en het ministerie van Economische Zaken; de provincies Fryslân, Groningen, Drenthe en Overijssel en de Duitse deelstaten Niedersachsen en Nordrhein-Westfalen