

Opschaling van een nieuw geïntegreerde oliewinningsmethode bij olie fermentaties



Project no.
Project periode
Datum

TEBE116147
Jan. 2017 - Dec. 2018
Juli 5, 2019





Maatwerkbeschikkingen 2012: "Het project is uitgevoerd met subsidie van het Ministerie van Economische Zaken, voor het TKI BBEG uitgevoerd door Rijksdienst voor Ondernemend Nederland."

Verlening 2013 en verlening 2014 (tot 10 juli 2014): "Het project is uitgevoerd met subsidie van het Ministerie van Economische Zaken, Subsidieregeling energie en innovatie (SEI), Topsector Energie uitgevoerd door Rijksdienst voor Ondernemend Nederland."

Vanaf verlening 2014 (vanaf 11 juli 2014): "Het project is uitgevoerd met subsidie van het Ministerie van Economische Zaken, Nationale regelingen EZ-subsidies, Topsector Energie uitgevoerd door Rijksdienst voor Ondernemend Nederland."

Voor additionele kopieën van deze rapportage of voor aanvullende informatie kan er contact opgenomen worden met Fabienne Feskens-Snoeck via het volgende email adres; info@DAB.Bio.

Uitgever en contact persoon
Delft Advanced Biorenewables BV
Molengraaffsingel 10
2629 JD Delft
T: +31 15 203 6008
W: www.dab.bio

Auteurs:

Fabienne Feskens-Snoeck, Nancy Schaeper, Arjan Oudshoorn, Kirsten Herben-Steinbusch, DAB

• Spin off binnen en buiten de sector

Samenvatting

Door de stijgende prijzen van fossiele brandstoffen gepaard met onzekerheden over de energievoorraden wordt er wereldwijd steeds meer aandacht gevestigd voor hernieuwbare brandstoffen, gemaakt uit biomassa: Bio-brandstoffen. Genetisch gemanipuleerde micro-organismen die significante hoeveelheden "hoge waarde moleculen" produceren kunnen gebruikt worden als productie middel voor geavanceerde biobrandstoffen. Echter, productscheiding in deze biotechnologische productie van brandstoffen en chemicaliën is nog steeds een technologisch en kostbaar probleem. Tijdens deze productiewijze (fermentatie) wordt het product (oliedruppeltjes) afgescheiden van het fermentatie beslag (voornamelijk water). Componenten in dit fermentatiebeslag, zoals de micro-organismen en de chemicaliën die het organisme nodig heeft om te groeien, veroorzaken druppel stabilisatie. Dit leidt tot de vorming van een stabiele emulsie en belemmert de terugwinning van het product. Deze emulsies vereisen energie-intensieve centrifugaties of de noodzaak om chemicaliën of hulpoplosmiddelen toe te voegen om de producten weer over te brengen naar de gewenste fase (extractie). Het gebruik van extra scheidingseenheden kan (ten minste gedeeltelijk) worden voorkomen bij het gebruik van In-Situ-Product Removal (ISPR) -technologie.

Dit project was gericht op het demonstreren van een ontwikkelde ISPR-methode die kan worden toegepast op industriële schaal (pilootschaal) om de productie van geavanceerde biobrandstoffen meer economisch haalbaar te maken. Het concept zelf is heel eenvoudig, ook wat betreft het ontwerp en de constructie van de reactor, wat moet leiden tot aanzienlijk lagere investeringen voor het bouwen van productie installaties op grote schaal in vergelijking met de momenteel gebruikte installaties. Al met al zou dit leiden tot kosten- en energiebesparingen in de biobrandstoffen, chemicaliën en aanverwante sectoren.

Onze wetenschappelijke doelstellingen waren (I) Een robuuste stam ontwikkelen met een reproduceerbaar protocol voor de productie van een tussenproduct dat ook brandstofachtige fysisch-chemische eigenschappen heeft (Partner, DAB); (II) Het kunnen voorspellen van de prestaties van het fermentatie- en product terugwinningsproces van een geïntegreerde meefasenscheiding in een opgeschaalde reactor (TUD, DAB); (III) Het demonstreren van de in-situ recovery-technologie op pilootschaal voor fermentatie van een representatief Food & Fragrance tussenproduct dat ook brandstofachtige fysisch-chemische eigenschappen heeft (BPF, DAB, Partner); (IV) Technisch-economische evaluatie van het geïntegreerde bioreactorconcept voor biobrandstof- en Food & Fragrance-ingrediënten productie (DAB, SkyNRG, Partner).

Het reactorconcept dat werd getest, wordt FAST (Fermentation Acceleration by Separation Technology) genoemd. Twee verschillende soorten gaststammen werden getest in de FAST-technologie - een aërobe *Escherichia coli* stam die een tussenproduct dat ook brandstofachtige fysisch-chemische eigenschappen produceert (ontwikkeld door Partner) en als een extra productieproces een anaërobe bacterie. Het belangrijkste was dat de extra stam werd gebruikt om het unieke potentieel van FAST aan te tonen om de productiviteit van productgeremde fermentaties te verhogen.

Met de ontwikkelde stam van de partner kon binnen het consortium een fermentatierun uitgevoerd worden met geïntegreerde terugwinning tot 96% van de productfase. De pilot werd opgeschaald naar een 1m³-niveau door het FAST100-prototype aan te sluiten op een bestaande 1 m³-reactor bij de Bio Process Pilot Facility (BPF) in Delft. Het succesvolle proof-of-concept op pilootschaal en de positieve technoeconomische evaluatie toont het enorme potentieel voor een brede toepassing van de voorgestelde technologie in de sector van biobrandstoffen en van biotech afgeleide chemicaliën.

Inhoudsopgave

Samenvatting	3
1 Introductie	5
1.1 Motivatie van het project.....	Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.
1.2 Doelstellingen	6
2 Aanpak en methodologie	6
2.1 Activiteiten en werkpaketten	6
2.2 Mijlpalen.....	7
2.3 Concept.....	7
3 Resultaten.....	8
3.1 Proof of principle	9
3.2 Proof of concept FAST100	9
3.3 Piloting FAST-100.....	9
3.4 Modelering	10
3.5 Scaling up to m3 level.....	10
4 Conclusies.....	11
5 Referenties	11
5.1 Scientific publications	11
5.2 Congresses with oral presentations about FAST in 2018	11
5.3 Patent application	11

1 Introductie

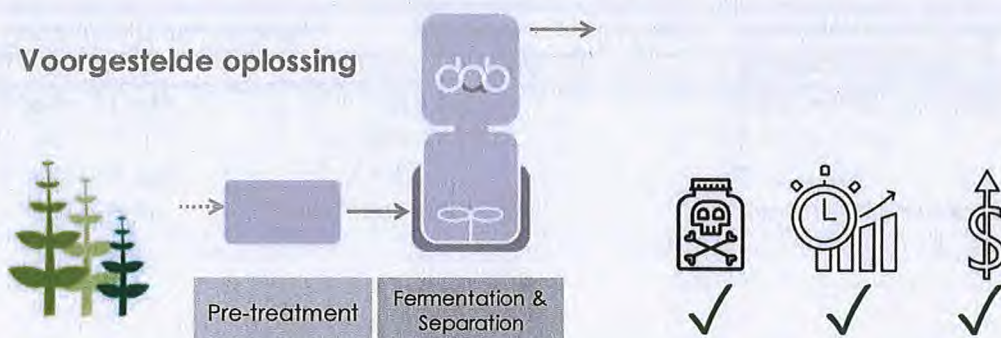
Hernieuwbare grondstoffen als biomassa gebruikt worden om bouwstenen voor chemicaliën en brandstoffen te maken. In de afgelopen tien jaar zijn er allerlei innovatieve en duurzame biotechnologische processen ontwikkeld voor de productie van veel verschillende 'bio-based chemicaliën'. Voor de productie van deze bio-based chemicaliën worden genetisch gemodificeerde organismen gebruikt. Organismen als bacteriën, celculturen of schimmels zetten suikers (eerste- of tweede generatie) tijdens een fermentatie naar producten. De voordelen van fermentatie is dat organismen hele specifieke producten maken in een stap. Echter kleven aan fermentatie een aantal nadelen; 1) het product is verdund in veel water en een kosteneffectieve scheidingsmethode is er niet; 2) de conversiesnelheden zijn laag vergeleken met Chemische conversies. Dit leidt tot grote fermentoren in fabrieken en als gevolg zijn de operationele en kapitaalskosten hoog. Meestal is voor de optimalisatie van deze micro-organismen die de fermentatie componenten produceren veel aandacht gevestigd, maar voor het kosteneffectief scheiden van deze componenten uit het fermentatiebeslag niet. Productscheiding in de biotechnologische productie van brandstoffen en chemicaliën is momenteel een technologisch probleem en vereist meerdere kostbare en energie-intensieve processtappen.

In dit project wordt gekeken naar fermentaties waarvan het product een olie is. Olie scheidt zich van water als een aparte vloeistof laag boven op het water door de lagere dichtheid van olie. Als micro-organismen kleine oliedruppeltjes maken zouden deze druppeltjes idealiter naar boven drijven en als een drijflaag boven op het fermentatie beslag liggen. Echter, andere componenten in dit fermentatiebeslag, zoals de micro-organismen en de chemicaliën die het micro-organisme nodig heeft om te groeien, veroorzaken stabilisatie van de druppeltjes. Dit leidt tot de vorming van een stabiele emulsie en belemmert de makkelijke drijflaag terugwinning van het product. In huidige processen wordt voor deze product scheiding demulgatoren toegevoegd, noodzakelijke toevoegingen gedaan van co-oplosmiddelen voor extractie, het toevoegen van verwerkingshulpmiddelen en gebruik gemaakt van scheidingsprocessen zoals centrifugaties en destillaties. Het gebruik van extra scheidingseenheden kan (ten minste gedeeltelijk) worden voorkomen bij het gebruik van In-Situ-Product Removal (ISPR) -technologie.

Huidige proces



Voorgestelde oplossing



Dit project was gericht op het demonstreren van een nieuw ontwikkelde ISPR-methode die kan worden toegepast op industriële schaal om de productie van geavanceerde biobrandstoffen meer economisch haalbaar te maken. Het concept zelf is heel eenvoudig, ook wat betreft het ontwerp en de constructie van de reactor, wat moet leiden tot productiviteit verbetering van de fermentatie en het verminderen van aantal scheidingsstappen. Dit zou moeten leiden tot aanzienlijk lagere investeringen voor het bouwen van productie installaties op grote schaal in vergelijking met de momenteel gebruikte installaties. Al met al zou dit leiden tot kosten- en energiebesparingen in de biobrandstoffen, chemicaliën en aanverwante sectoren.

Doelstellingen

Het algemene doel van het BBEG project is het ontwikkelen van een opschalingsmodel en het demonstreren van een nieuwe kosteneffectieve in-situ scheidingstechnologie op pilotschaal voor de fermentatie van afgeleide olie producten zoals geavanceerde biobrandstoffen of chemicaliën.

Onze wetenschappelijke doelstellingen waren (I) Een robuuste stam ontwikkelen met een reproduceerbaar protocol voor de productie van een tussenproduct dat ook brandstofachtige fysisch-chemische eigenschappen heeft (partner, DAB); (II) Het kunnen voorspellen van de prestaties van het fermentatie- en product terugwinningsproces van een geïntegreerde multifasenscheiding in een opgeschaalde reactor (TUD, DAB); (III) Het demonstreren van de in-situ recovery-technologie op pilotschaal voor fermentatie van een representatief Food & Fragrance tussenproduct dat ook brandstofachtige fysisch-chemische eigenschappen heeft (BPF, DAB, partner); (IV) Technisch-economische evaluatie van het geïntegreerde bioreactorconcept voor biobrandstof- en Food & Fragrance-ingrediënten productie (DAB, SkyNRG, partner).

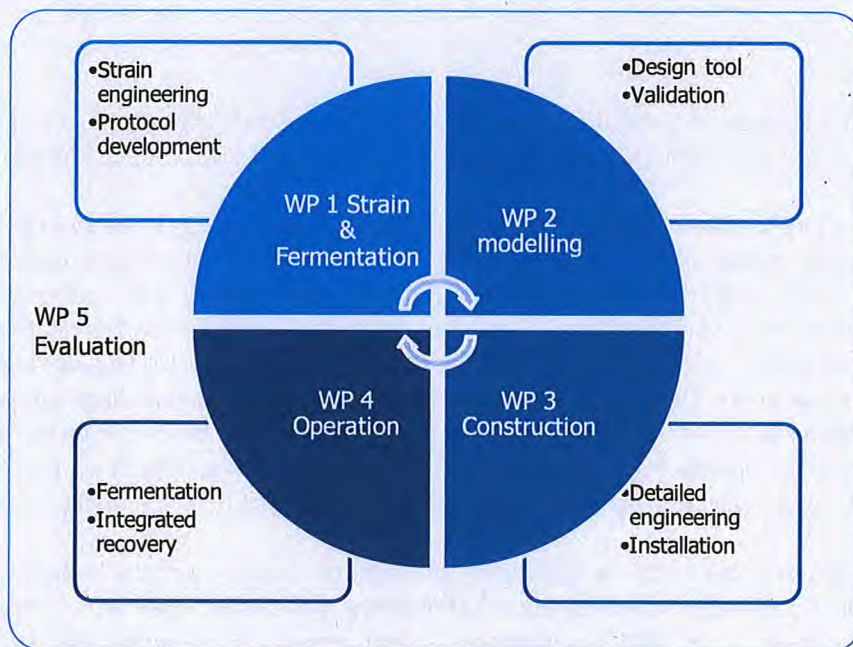
2 Aanpak en methodologie

2.1 Activiteiten en werkpakketten

Dit project maakt deel uit van het ERA-NET Bio-energieproject, gefinancierd door 3 nationale financieringsinstrumenten. Het ERA-NET-project loopt parallel met een ander langdurig gefinancierd project van de Nederlandse overheid het deelproject 5 van het TKI AMBIC project "Geïntegreerde bioreactor voor de productie van biobrandstoffen. Alle fondsen staan vermeld in Tabel 1 **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.** en Figuur 1 geeft een overzicht van de totale structuur van de gecombineerde projecten: onder meer stam ontwikkeling, pre-engineering van reactoren, gedetailleerde engineering, constructie, modellering, operaties en evaluatie.

Tabel 1: Activiteiten en werkpakketten gefinancierd door verschillende nationale financieringsinstrumenten.

Activiteiten/Werkpakketten	Gefinancierde institutie	Periode van financiering
<i>Pre-engineering opgeschaalde reactor</i>	TKI BBI toeslag 2013	Jan '16 - Juli'17
<i>R&D Ontwikkel ISPR reactor</i>	BE-Basic part 1	Apr '12 - Mar'19
<i>WP 1, 2,3 + 5</i>	TKI BBEG	Jan '17 - Dec'18
<i>WP 1 en 5</i>	SFOE	Jun '16 - Dec'18
<i>WP 4 Operations ISPR reactor</i>	BE-Basic part 2	Jul' 17 - Mar'19



Figuur 1: Gedefinieerde werkpakketten van de geïntegreerde projecten voor de ontwikkeling, demonstratie, modellering en opschaling van de geïntensifieerde bioreactor voor kosteneffectieve productie van biobrandstoffen en chemicaliën.

2.2 Mijlpalen

In het project werden 9 mijlpalen vastgesteld, die gezamenlijk werden bereikt binnen de looptijd van het project (Tabel 2).

Tabel 2: Bepaalde mijlpalen per werkpakket met de huidige status.

No.	Mijlpaal	WP no.	Hoofd partner	Afgerond
1	1e verbeterde stam klaar voor protocol optimalisatie	1	Partner	May '17
2	Fermentatie protocol klaar en getest op 100L	1	DAB	Jan '18
3	BOD en model	2	TUD	July '18
4	Gedetailleerde engineering (2maal door de nieuwe set-up met een 1 m3 fermentor i.p.v. 8 m3 bellen kolom)	3	DAB	Jun '17 en Dec. '17
5	Fermentor geïnstalleerd	3	BPF	May '18
6	Proces validatie	4	DAB	Jun-Nov'18
7	Model validatie	2	TUD	Aug '18
8	Technology evaluatie	5	DAB/Sky	Mar '19
9	Verspreiding	5	All	Mar. 2018

2.3 Concept

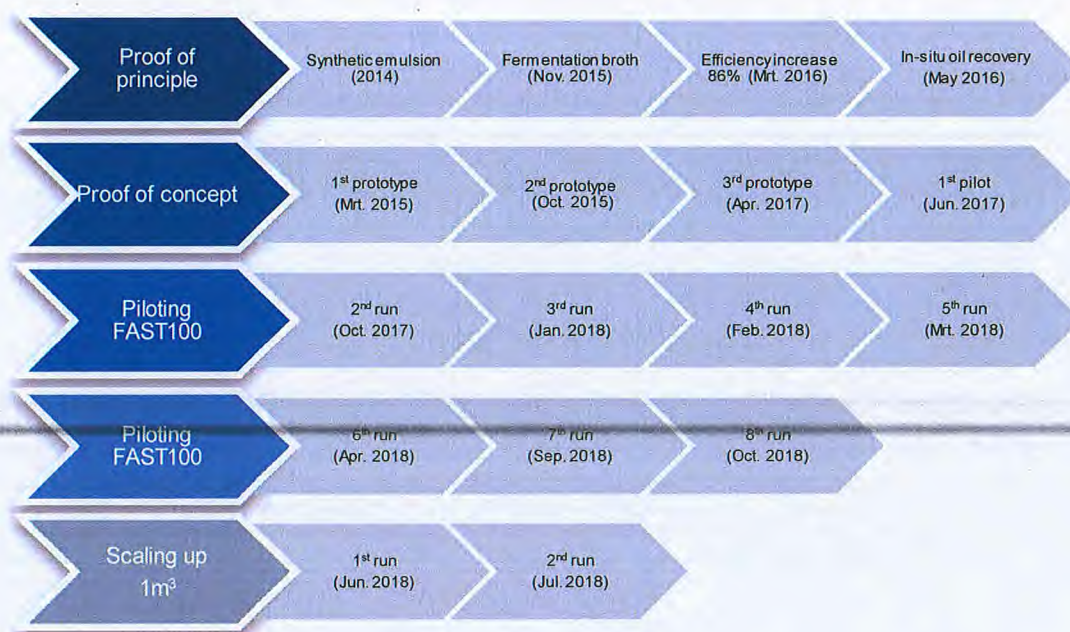
De scheidingstechnologie is ontwikkeld in het deelproject van AMBIC door de betrokken partners Technische Universiteit Delft (TUD) en Delft Advanced Biorenewables (DAB). Dit resulteerde in uiteindelijk het derde prototype een bioreactorinstallatie met geïntegreerd scheidingscompartiment. De zogenaamde FAST-reactor (Fermentation Acceleration by Separation Technology). Vooral voor productgeremde fermentaties kan deze aanpak significante verhogingen van de fermentatieduur en algehele fermentatie productiviteit mogelijk maken.

3 Resultaten

In dit hoofdstuk worden de behaalde resultaten beschreven samen met de knelpunten en het perspectief van de nieuwe geïntegreerde oliewinningsmethode voor de toepassing op olie productie fermentaties.

Sinds de start van het project heeft een partner voornamelijk gewerkt aan het ontwikkelen van een stabielere stam. De focus van de Nederlandse partners DAB en TUD lag op het ontwikkelen van een scheidingstechnologie die makkelijk en schaalbaar geïntegreerd kon worden in bioreactoren. Daarmee werkten ze toe naar de richting van proof-of-principle op emulsies hetzij van modelsystemen hetzij op fermentatiebeslag en ontwerpen op de geïntegreerde reactor. Technologieontwikkeling werd uitgevoerd in een gezamenlijk project van de TU Delft, DAB en BPF dat sinds 2012 wordt gefinancierd via de BE-Basic-stichting binnen het AMBIC-subproject 5 "Geïntegreerde bioreactor voor de productie van geavanceerde biobrandstoffen". De wetenschappelijke resultaten en mijlpalen van het afgelopen jaren van beide projecten AMBIC als het BBEG project Scaling up zijn samengevat in figuur 2 en zichtbaar gemaakt in hoofdstuk 5.

Het project Scaling up gaat met name om de opschaling en de toepassing van het derde prototype ook wel de FAST (Fermentation Acceleration by Separation Technology) genoemd. Twee verschillende soorten gaststammen werden getest in de FAST-technologie - een aërobe *Escherichia coli* stam die een tussenproduct dat ook brandstofachtige fysisch-chemische eigenschappen heeft geproduceerd (ontwikkeld door partner) en als een extra productieproces een anaërobe bacterie. Het belangrijkste was dat de extra stam werd gebruikt om het unieke potentieel van FAST aan te tonen om de productiviteit van productgeremde fermentaties te verhogen.



Figuur 2: Samenvatting van resultaten uit de verschillende fases van het gecombineerde AMBIC deelproject 5/ Scaling-up project.

3.1 Proof of principle

Proof of principle van de Gas Enhanced Oil Recovery (GEOR) technologie werd geleverd op zogenoemde modellemulsies (AS Heeres et al. Chem. Eng. 2016, 145, 31-44) en op fermentatiebouillon in kolomproeven aan het einde van 2015. In een van de eerste testen op een fermentatiebeslag van een olie water fermentatie met 6% (volume/ volume) oliefractie na 100 h fermentatie, werd een duidelijk olieproduct teruggewonnen door 4 van de 5 beluchtingsomstandigheden. Helaas werd door verzakking van de olie fase (door de zwaartekracht) geen olie teruggewonnen. De hoogste oliewinstopbrengst was na 12 uur 44% van de totaal toegevoegde olie fractie (100%). Optimalisatie door DAB van de instellingen in de proof-of-principle-tests verhoogde het oliewinningspercentage tot 86% en nog belangrijker met een herwinningspercentage dat hoger is dan de productiesnelheid. (Figuur 3, deze resultaten werden gepresenteerd op World BIO biotechnology congres, San Diego april 2016).



Figuur 3: Optimalisatie van de GEOR oliewinningsmethode op echte fermentatiebeslag (rechts). Oliewinning van 86% kon worden bereikt met een superficiële gassnelheid A belucht met één van de drie verschillende mondstuktypen.

3.2 Proof of concept FAST100

Proof-of-concept op laboratoriumschaal werd uitgevoerd door een herwinningskolom in een recirculatielus met de fermentor te koppelen. Tijdens de fermentatie werd een significante olielaag terug gewonnen. DAB vertaalde alle bevindingen hierboven in een reactorontwerp voor geïntegreerd productherwinning tijdens de fermentatie. Dit heeft geleid tot het proof-of-concept van de reactortechnologie op een 1e en 2e prototype van resp. 100 en 1000 L schaal. Het derde (steriliseerbare) reactor-prototype van 100 L werd geleverd in april 2017, genoemd de FAST100 (zie figuur 4).

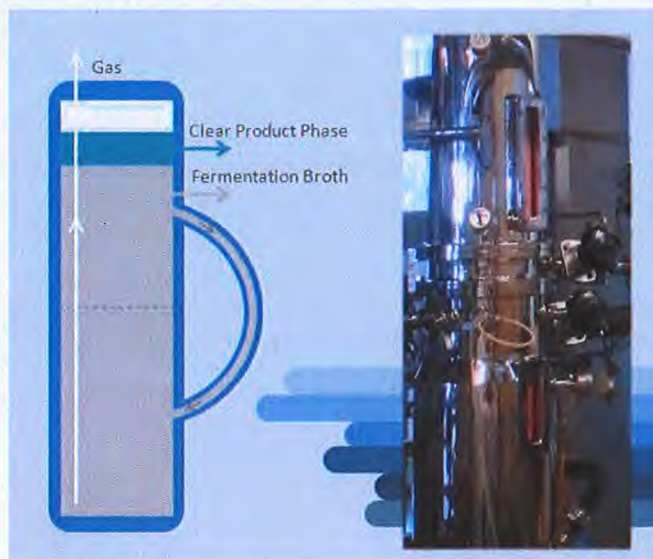
3.3 Piloting FAST-100

In anderhalf jaar fermenteren met de FAST is aangetoond middels acht runs dat de productfasescheiding in een fermenter haalbaar is onder de juiste combinatie van fermentatieprotocol, organische fase en operationele omstandigheden van de FAST100-reactor. Met de ontwikkelde stam van een partner kon binnen het consortium DAB, BPF en TU Delft een fermentatierun uitgevoerd worden met geïntegreerde terugwinning tot 97% van de productfase. Een hoge maximale verwijderingssnelheid van 140 g / L / uur werd bereikt. In de periode zijn er drie verschillende microbiële stammen gebruikt die twee type producten maakten: twee geur- en smaakstoffen en een bulk chemicalie die voor biobrandstoffen gebruikt zou kunnen worden.

3.4 Modelering

Een platform model is opgesteld door TU delft onder begeleiding van DAB en gevalideerd om de vertaling te maken van de experimentele data naar een productie schaal. De optimale fasescheiding die werd bereikt tijdens het bedrijven van de pilot was hoog en dicht bij de voorspelde theoretische maximumwaarden van het opgesteld model.

Het succesvolle proof-of-concept op pilootschaal en de positieve techno-economische evaluatie toont het enorme potentieel voor een brede toepassing van de voorgestelde technologie in de sector van biobrandstoffen en van biotech afgeleide chemicaliën.



Figuur 4: FAST100 - DIRC Integrated Bioreactor

3.5 Scaling up to m3 level

Binnen het BBEG project hebben twee engineering trajecten plaats gevonden hoe de FAST opgeschaald kon worden naar m3. Uiteindelijke werkbare ontwerp naar 1m3-niveau is geworden door een koppeling van het FAST100-prototype aan een bestaande 1 m3-reactor bij de Bio Process Pilot Facility (BPF) in Delft. In juni- en juli 2018 waren er twee gekoppelde runs (opschaling naar 1m3) uitgevoerd. Deze koppeling bleek uitvoerbaar, en betaalbaar en de juiste vertaalslag naar een eerste volgende demonstratie schaal te zijn. De olie oogstpercentages kwamen overeen met voedingsnelheden en de olieopbrengstvolume bereikte meer dan 100 L per dag voor de FAST100.

Gedurende het opschalingswerk werd onder andere duidelijk dat het FAST-systeem kan worden gebruikt voor bulkchemicaliën moleculen die interessant zijn voor de industrie, zoals biobrandstoffen en smaak- en geurstoffen (weergegeven voor productie van humuleen). Het gevormde product kon worden teruggewonnen tijdens doorlopende fermentatie met een hoge terugwinningssnelheid, hoge productconcentratie in de organische fase en doseringsstrategieën voor 3 bepaalde oplosmiddelen zijn geoptimaliseerd. De FAST100 was gekoppeld aan een 1m3 fermentor, wat aantoont dat de scheidingscapaciteit geschikt is voor hogere gistingsvolumes.

Een milieu-impactanalyse werd gedeeltelijk uitgevoerd voor een bepaald proces. Nutsbesparingen werden hiermee bepaald in vergelijking met een professioneel industrieel proces. De besparingen lagen tussen 65-80% voor elektriciteits-, stoom- en koelwatergebruik. Hogere productiviteit kan worden bereikt met het geïntegreerde reactorsysteem, wat een efficiënter gebruik van het reactorvolume betekent. Er zijn dus minder reactoren nodig om dezelfde productiecapaciteit te verkrijgen.

4 Conclusies

De vooruitzichten voor opschaling van het bestaande systeem (FAST100) naar nog grotere vaatafmetingen om organische fasescheiding tijdens fermentatie uit te voeren, zijn zeer goed. Efficiënte keuzes in organische vloeistoffase maakt organische fasescheiding door de reactor in een dergelijke mate mogelijk, het is schaalbaar tot grotere systemen. Afhankelijk van de organische fasefractie in het vat dat men wenst te herwinnen gedurende een dag van fermenteren (bijvoorbeeld 5% organische fase-inhoud) kan de huidige FAST-100 worden opgeschaald tot 200 m³. Opschalingsberekeningen uit WP 3 op de FAST vertonen een hoog potentieel met betrekking tot de verwijderbaarheid van de organische fase zolang het product kan worden overgebracht (geëxtraheerd) naar de olie fase. De huidige beperking voor het intensiveren van de fermentatie is zuurstofoverdracht voor sommige aërobe systemen.

5 Referenties

5.1 Scientific publications

- Pedraza-de la Cuesta, S., Keijzers, L., van der Wielen, L.A.M., Cuellar, M.C. Integration of Gas Enhanced Oil Recovery in Multiphase Fermentations for the Microbial Production of Fuels and Chemicals (2018) 13 (4), art. no. 1700478.
- Cuellar, M.C., Straathof, A.J.J. CHAPTER 4: Improving Fermentation by Product Removal (2018) 2018-January (55), pp. 86-108.
- Heeres, A.S., Heijnen, J.J., van der Wielen, L.A.M., Cuellar, M.C. Gas bubble induced oil recovery from emulsions stabilised by yeast components (2016) 145, pp. 31-44.

5.2 Congresses with oral presentations about FAST in 2018

- ECO-BIO by Kirsten Steinbusch, Dublin 3-6 March 2018.
- Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals Kirsten Steinbusch et al., Florida USA April 29 - May 2, 2018.
- Nederlandse Biotechnologen Congres NBC-18, Marina Elisiário et al. in Ede, Netherlands, May 22, 2018.
- World BIO industrial biotechnology, Kirsten Steinbusch et al., Philadelphia, USA by July 2018

5.3 Patent application

- Gepland voor indiening July 2019