

# RE: SOURCE

Slutrapport för projekt

---

## Produktion av biopolymer av skogsindustriella avfall. P bioP

---

Projektperiod: juli 2018 till mars 2021  
Projektnummer: 44205-2

Med stöd från

**VINNOVA**  
Sveriges innovationsmyndighet

 **Energimyndigheten**

**FORMAS** 

Strategiska  
innovations-  
program

## Produktion av biopolymer av skogsindustriella avfall. P bioP

## Production of biopolymers from forest industrial waste materials. P bioP

Titel på projektet – svenska Produktion av biopolymer av skogsindustriella avfall. P bioP
Titel på projektet – engelska Production of biopolymers from forest industrial waste materials. P bioP
Universitet/högskola/företag Karlstads universitet
Adress Universitetsgatan 2
Namn på projektledare Maria Sandberg
Namn på ev övriga projektdeltagare David Sandström, Lars Sandberg
Nyckelord: 5-7 st Polyhydroxyalkanoat PHA, fermentering, flyktiga fettsyror, processavlopp, massa- och pappersbruk



## Förord

Stort tack till RE:SOURCE som finansierade projektet och haft stort tålamod när tidplanen behövde förlängas. Stort tack till BillerudKorsnäs som lagt mycket tid och resurser för att finansiera den andra hälften av projektet. Samarbetet mellan Maria Sandberg Karlstads universitet och David Sandström och Lars Sandberg från BillerudKorsnäs har varit tätt och gått smidigt. Vi har haft samma mål och lika stort engagemang för att driva projektet framåt.

Stort tack till Simon Bengtsson och Alan Werker från Promiko AB. Simon och Alan är de i Sverige som har störst erfarenhet om PHA produktion och dess möjligheter. Tack för alla snabba svar på våra frågor när vi var vilsna och för era värdefulla utredningar som hjälpte oss att föra projektet framåt.

Stort tack till SACMI som testat våra material och kommit med värdefulla insikter om polymerers egenskaper.

Tack till alla studenter som på olika sätt bidragit i stort och smått till kunskaper vi haft nytta av i projektet. Projektet behandlar ett mycket spännande område och det har alltid funnits studenter som velat fördjupa sig i någon del av PHA-framställning. Många studenter, både från Karlstads universitet och inresande utbytesstudenter från Mexico, Tyskland och Frankrike har varit involverade.

Extra tack till examensarbetare Hanna Wänglöv, Joakim Eriksson, Andreas Hedin, Jimmy Augustsson, Jonathan Högfeldt, Philip Larsson och Karl Fredriksson Utbytesstudenter Franziska Diebel från Münchens tekniska universitet och Jeanne LE GUERN från EIGSI école D'ingénieurs La Rochelle som gjorde sin forskningspraktik i projektet. Antonis Brouziotis Erasmus praktikant från Grekland som deltog ett helt år som forskningsassistent.

## Innehållsförteckning

Sammanfattning .....	4
Summary .....	6
Inledning och bakgrund .....	8
Genomförande .....	10
Kartering av industriella kolkällor.....	10
Fermentering.....	10
Kriterier för ny reaktor för PHA-ackumulering.....	11
PHA ackumulering, generell beskrivning av försökens genomförande .....	12
Provtagning och analyser.....	13
Fluorescensmikroskopering.....	13
Fourier transform Infrared Spectroscopy FTIR.....	13
Acetonextraktion.....	14
Blekning av PHA-biomassa.....	15
Miljöbedömning med avseende på klimatavtryck .....	15
Examensarbeten .....	15
Klimatavtryck för två fall, extraherad PHA och blekt PHA-komposit .....	15
Hållbarhetsanalys Lighter .....	19
Utvärdering av polymerens kvalitet och tillämpning .....	19
Resultat och diskussion.....	21
Karakterisering av delflöden.....	21
Fermentering .....	21
Utformning av reaktorer för PHA-ackumulering .....	23
PHA ackumulering .....	24
Selektionsförsök för att öka biomassans förmåga att ackumulera PHA.....	26
Blekning av PHA-innehållande biomassa .....	27
Miljöbedömning.....	29
Hållbarhetsanalys Lighter .....	31
Analys av kvalitet- och tillämpning.....	32
Extraherbar PHA .....	32
Blekt PHA-komposit .....	33
Affärsmodell.....	34
Slutsatser, nyttiggörande och nästa steg .....	35
Projektkommunikation .....	36
Referenser .....	37
Bilagor .....	38

## Sammanfattning

För att minska miljöbelastningen av plast, beslutade EU 2019 om ett engångsplastdirektiv vilket kommer att leda till att vissa engångsplast artiklar kommer att förbjudas. Sommaren 2020 beslutade Sveriges regering om en nationell strategi för cirkulär ekonomi. Det är Sveriges strategi för att långsiktigt ställa om till ett hållbart och fossilfritt samhälle.

Karlstads universitet har tillsammans med BillerudKorsnäs undersökt möjligheten att upparbeta det organiska materialet i brukets processavlopp till biologiskt nedbrytbar polymer. Ett projekt som stämmer väl överens med de nya politiska direktiven.

När bakterier, från exempelvis reningsverket vid BillerudKorsnäs Gruvöns bruk, får tillgång till överskott på kolkälla, kan de ta upp mer kolkälla än de behöver. Överskottet polymeriserar de till polymeren polyhydroxyalkanoate PHA. När bakterierna senare upplever svält, kan de bryta ner PHA och använda det som energi- och kolkälla igen. Om vi i stället utvinnet PHA ur biomassan och tillverkar plast av det, blir även plasten helt biologiskt nedbrytbar.

För att producera PHA behövs lättnedbrytbar kolkälla i form av flyktiga fettsyror (VFA) Fiberförande processavlopp från Gruvöns bruk, fermenterades under anaeroba förhållanden vid pH 5, 7, och 9. Vid pH 9 omvandlades det organiska materialet mest effektivt och 95% av det fiberförande processavloppets organiska materialet anses kunna omvandlas till VFA. Vid fermentering av fiberinnehållande processavlopp innehöll den producerade VFA-mixen ca 7 % VFA med ojämnt antal kolatomer. Hög inblandning av VFA med ojämnt antal kolatomer, ger en mjukare polymer med lägre smältpunkt.

Mixad mikrobiell kultur (MMC) från Gruvöns reningsverk ackumulerade som mest 26 vikts% PHA. Det är troligtvis för låg halt för att uppnå extraktion med bra utbyte och ekonomiskt möjlighet att upparbeta. Det finns fortfarande möjligheter att påverka kulturen genom mindre förändringar i reningsverket och fortsatt utveckling av ackumuleringssteget. Därför bör man på sikt kunna nå drygt 30% ackumuleringsgrad.

Fr att uppnå högre halt av PHA, undersöktes möjligheten att bleka biomassan med hypoklorit. Vid blekningen bryts bakteriernas biomassa ner medan polymeren blir kvar. Den blekta PHA-kompositen kan sedan extraheras med högre utbyte eller användas direkt för lämpliga produkter.

Samtidigt som processavlopp uppgraderas till PHA-polymerer, minskar belastningen på det nuvarande reningsverket. Det innebär att behovet av energi och resurser för att driva reningsverket inklusive PHA-produktion minskar. Dessutom minskar användningen av fossil olja för att producera motsvarande mängd fossila polymerer. Totalt minskar CO<sub>2</sub>-avtrycket för rening av avlopp från 55 till -22 CO<sub>2</sub>-eq /ton COD som leds till reningsverket, när PHA produktion inkluderas i systemet.

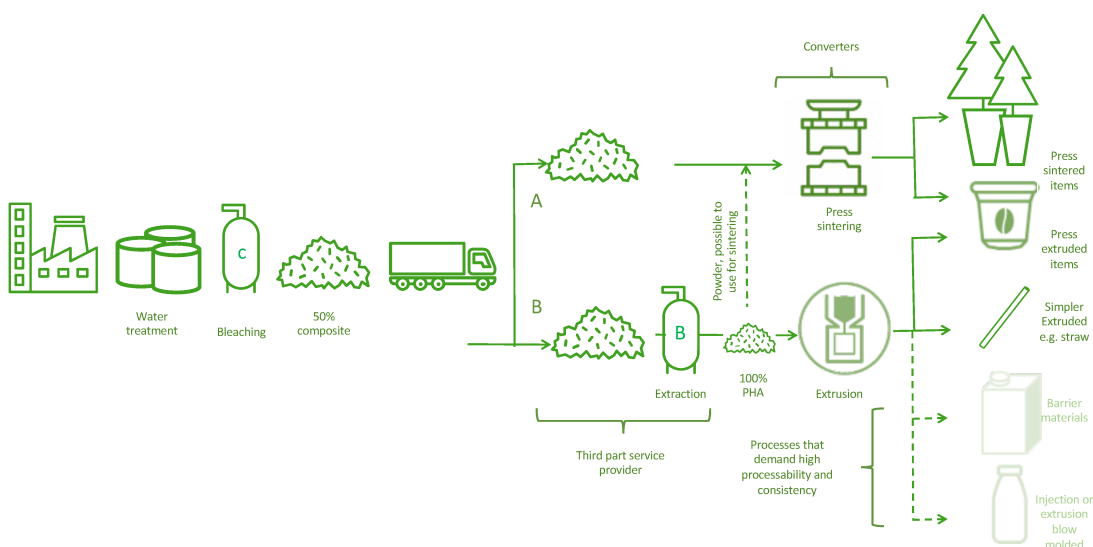
Genom att forma produkter genom sintring, av PHA-komposit eller rent PHA-pulver, kan intressanta produkter skapas. Vår hypotes är att den pulverformiga kompositen på sikt kan utvecklas till att fungera som råmaterial för bionedbrytbara produkter inklusive förpackningar.

Under de senare åren har fokus i värdekedjan flyttats från bionedbrytbarhet till återvinning. Idag finns ingen fungerade återvinningskedja för PHA. Därför är det rimligt att använda PHA i applikationer där bionedbrytbarhet är en direkt funktion eller där det är av större sannolikhet/risk att föremålet hamnar i naturen eller kompostering istället för återvinning. Följande produkter anses vara lämpliga att tillverka av PHA eller blekt PHA-komposit.

Sugrör återvinns sällan idag men de löper stor risk att hamna i naturen.

En Nespresso-kompatibel kaffekapsel är en möjlig slutprodukt. Idag tillverkas de flesta kaffekapslar av aluminium där kaffesumpen stannar kvar i förpackningen efter användning. Om kapseln är tillverkad av PHA kan den komposteras tillsammans med kaffesumpen.

Ett exempel på produkter av sintrad blekt PHA-komposit är planteringsrör för skogsnäringen. Kravet är att röret ska vara helt biologiskt nedbrytbart så att det försvinner när behovet att skydda plantan inte längre behövs.



## Summary

To reduce the environmental impact of plastics, the EU commission has decided in 2019 on a single-use plastic directive, which will lead to certain disposable plastic articles being banned. In the summer of 2020, the Swedish government decided on a national strategy for the circular economy. This is Sweden's strategy for a long-term transition to a sustainable and fossil-free society.

Karlstad University, together with BillerudKorsnäs, has investigated the possibility of processing the organic material in the mill's process effluent into biodegradable polymer. A project that is in line with the new political directives.

When bacteria, for example from the treatment plant at BillerudKorsnäs Gruvön's mill, have access to a surplus of substrate, they can take up more than they need. The excess is polymerized into polyhydroxyalkanoate PHA. When the bacteria later experience starvation, they can break down PHA and use it as an energy and carbon source again. If we instead extract PHA from the biomass, and make plastic from it, the plastic will also be completely biodegradable.

To produce PHA, readily degradable carbon source in the form of volatile fatty acids (VFA) are needed. VFA has been produced by anaerobically fermenting selected process effluent from Gruvön's mill. When fermenting fiber-containing process effluents, the VFA mix produced contained about 7% VFA with an uneven number of carbon atoms. High blend of VFA with uneven number of carbon atoms, gives softer PHA-polymer with lower melting point.

Mixed microbial culture (MMC) from Gruvön's treatment plant accumulated at most 26% PHA. It is probably too low to achieve extraction with good yield and is not economically feasible to process. There are still opportunities to influence the culture through minor changes in the treatment plant and continued development of the accumulation stage. Therefore, in the long run it should be possible to reach just over 30% accumulation rate.

To achieve a higher content of PHA, the possibility of bleaching the biomass with hypochlorite was evaluated. During bleaching, the bacteria biomass is degraded while with the polymer remains. The bleached PHA composite can then be extracted in higher yields or used as is for suitable products.

At the same time as process effluent is upgraded to PHA polymers, the load on the current treatment plant is reduced. This means that the need for energy and resources to run the treatment plant, including PHA production, is reduced. In addition, the use of fossil oil to produce the corresponding amount of fossil polymers decreases. In total, the CO<sub>2</sub> footprint for sewage treatment decreases from 55 to -22 CO<sub>2</sub>-eq / ton COD that is led to the treatment plant, when PHA production is included in the system.

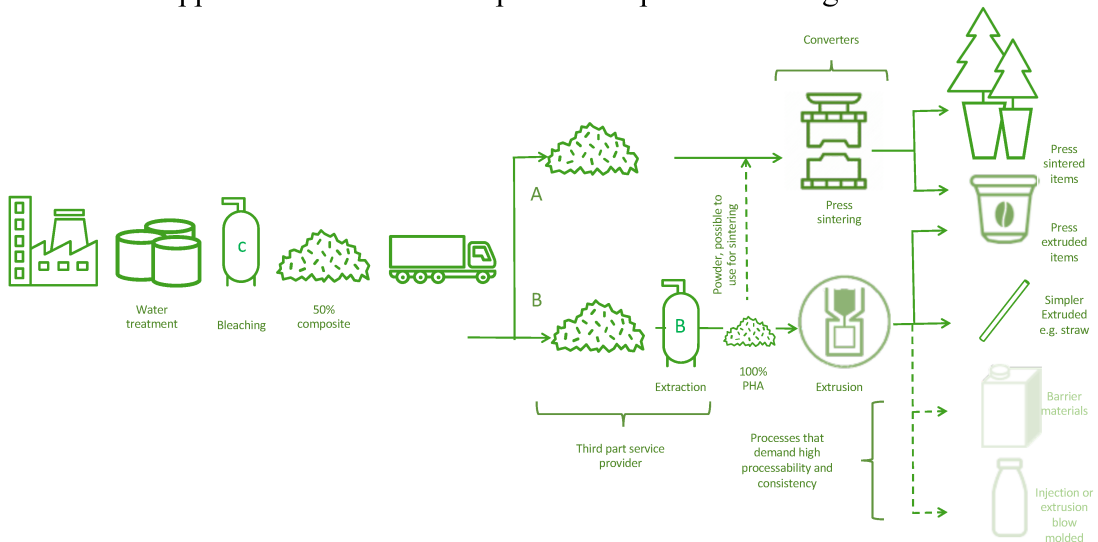
By shaping products by sintering, from PHA composite or pure PHA powder, interesting products can be created. Our hypothesis is that the powdered composite can be used as a raw material for biodegradable products, including packaging.

In recent years, the focus in the value chain has shifted from biodegradability to recycling. Today, there is no functioning recycling chain for PHA. Therefore, it is reasonable to use PHA in applications where biodegradability is a direct function or where it is of greater probability / risk that the object ends up in nature or composting, instead of recycling. The following products are considered suitable for manufacture of PHA or bleached PHA composite.

Straws are rarely recycled today, but they run a high risk of ending up in nature.

A Nespresso-compatible coffee capsule is a possible end product. Today, most coffee capsules are made of aluminum, where the coffee grounds remain in the package after use. If the capsule is made of PHA, it can be composted together with the coffee grounds.

An example of sintered bleached PHA composite products is planting tubes for the forestry industry. The requirement is that the tube must be completely biodegradable so that it disappears when the need to protect the plant is no longer needed.



## Inledning och bakgrund

För att minska miljöbelastningen av plast, beslutade EU 2019 om ett engångsplastdirektiv vilket kommer att leda till att vissa engångsplast-artiklar kommer att förbjudas<sup>1</sup>. Lagkraven kommer att öka stegvis med början 2021. Sommaren 2020 beslutade Sveriges regering om en nationell strategi för cirkulär ekonomi<sup>2</sup>. Det är Sveriges strategi för att långsiktigt ställa om till ett hållbart och fossilfritt samhälle. Dessa viktiga politiska styrmedel visar hur aktuell och viktig projektets frågeställning är.

Skogs- och förpackningsindustrin i allmänhet och BillerudKorsnäs i synnerhet strävar efter att utmana existerande fossilbaserade system med nya biobaserade system. Detta kan göras genom att utveckla fiberbaserade produkter så att de kan ersätta fossila plastprodukter men också genom att utveckla nya biobaserade plaster och kompositier för speciella applikationer, till exempel barriärer eller förslutningar. Detta kan göras på många olika sätt. De mest attraktiva, är att utnyttja de restströmmar som redan finns i produktionsanläggningarna eftersom man då inte behöver avsätta ny råvara. Samtidigt minskar resurs- och energibehov för rening av processavlopp reningskostnader.

I ett tidigare projekt finansierat av Re:Source lilla utlysning ”Ämnesöverskridande samverkansprojekt för nya biomaterial ur skogsindustriella restprodukter med biotekniska system i kaskad ” (projektnummer 44205-1), utvärderades möjligheten att producera biopolymeren polyhydroxyalkanoat (PHA) i överskottslam från skogsindustriella reningsverk. Enligt förstudien är det teoretisk möjlig att producera ca 1000 ton PHA per år med hjälp av överskottslam från BillerudKorsnäs Gruvöns bruk. Samtidigt minskade behovet av el och inköp av närsalter för drift av reningsverket. 1000 ton är en ansevärd mängd polymer som är värd att utvärdera ytterligare. Det är därför ett naturligt nästa steg att verifiera förstudiens resultat och utvärdera polymerens möjligheter att användas i förpackningsapplikationer.

Beroende på vilken massaprocess som används och vilken ålder massa- och pappersbruket har, används mellan 20 – 100 m<sup>3</sup> vatten för att producera 1 ton papper. Innan processavloppet kan släppas till omgivande recipient behöver det renas. Oftast renas skogsindustriella avloppsvatten med aeroba biologiska processer. Det organiska materialet i processavloppen används av bakterier som kol- och energikälla. Det organiska materialet bryts ner till CO<sub>2</sub> och bakterierna delar sig och blir fler. Biologiskt slam som motsvarar bakterietillväxten tas ut som överskottslam. Vid Gruvöns bruk produceras ca 3000 ton bioslam per år. Bioslam är en restprodukt som är svår att avvattna och att destruera. Att göra sig av med slammet innebär ofta en kostnad och en miljöbelastning.

<sup>1</sup> <https://www.naturvardsverket.se/Miljoarbete-i-samhallet/Miljoarbete-i-Sverige/Uppdelat-efter-omrade/Plast/Engangsplast--nya-krav-for-flera-produkter/>

<sup>2</sup> [https://www.regeringen.se/4a3baa/contentassets/619d1bb3588446deb6dac198f2fe4120/200814\\_ce\\_webb.pdf](https://www.regeringen.se/4a3baa/contentassets/619d1bb3588446deb6dac198f2fe4120/200814_ce_webb.pdf)



Bioslammet består av bakterier och andra mikroorganismer från reningsverket. En del av dessa bakterier har förmågan att lagra lättnedbrytbara föreningar i inuti cellen. När bakterier upplever fest (överskott av substrat) så kan de ta in flyktiga fettsyror (VFA) i celler och polymerisera dem till långa polyesterkedjor. Gruppen av polymerer som bakterier kan bygga går under samlingsnamnet polyhydroxyalkanoater (PHA). När bakterien senare upplever svält så kan den bryta ner polymeren och använda den som kol- och energikälla. Om man istället utvinnet PHA ur cellerna och gör plast av den, kommer även plasten att vara biologiskt nedbrytbar.

För att producera PHA behövs stora mängder VFA. Under anaeroba förhållanden bryter bakterier ner organiskt material i flera steg. Under hydrolysen sönderdelas de största organiska föreningar till mindre. Under acidogenesen och fermentering sönderdelas de vidare till VFA. Fettsyror med upp till 6 kol i kedjan, ättiksyra (C2), propionsyra (C3), smörsyra (C4), valeriansyra (C5) och karbonsyra (C6) räknas till VFA. De är alla lättnedbrytbara och användbart substrat för andra biologiska processer. Om den anaeroba processen får fortsätta omvandlas VFA till metangas. För att producera den mer ekonomiskt viktiga produkten Polyhydroxyalkanoat (PHA) är det smartare att avbryta fermenteringen innan metanogenesen börjar.

Traditionellt har vi skapat ny energi och nya värden ur organiskt material genom att röta dem och producera biogas (metan) Om organiskt avfall rötas kan ett kg COD bilda ca 1 Nm<sup>3</sup> metangas. Men om fermenteringen avbryts innan metangasbildningen startar, kan VFA i stället bilda 1 kg PHA. Priset för PHA är i dag 5 €/kg medan priset för metan är ca 0,6 €/Nm<sup>3</sup>.

Beroende på vilka VFA bakterierna har tillgång till, så bygger de upp olika polymerer. Använder de endast ättiksyra bildas Polyhydroxybutyrat (PHB). Om de har tillgång till en kolkedja med ojämnt antal kolmolekyler som valeriansyra, så bildas i stället polyhydroxyvalerat (PHV). Får bakterierna en blandning av VFA skapas olika polymerer med lite skilda egenskaper. Förenklat kan man säga att hög andel av PHB ger en hårdare och sprödare plast. Högre andel PHV ger mjukare plast med lägre smältpunkt.(1, 2)

Idag framställs PHA i industriell skala med monokulturer av bakterier som kan ackumulera höga halter PHA i cellen. Vissa bakterier kan ackumulera upp till 80% av sin vikt som PHA. När monokulturer används behöver processen ske sterilt och endast syntetiska VFA kan användas. Det gör att priset för polymeren blir högt. Genom att använda mixade bakteriella kulturer och VFA från restprodukter kan produktionskostnaderna sänkas. Det finns sedan länge väl utvecklade processer för att använda mixade mikrobiella kulturer som odlats fram av VFA från restprodukter. Men inget initiativ har ännu utvecklats i stor skala. Det är vanligt att grödor och avfall från livsmedelsindustri används för att producera VFA och sedan PHA. Det är få som studerar möjligheten att göra det av skogsindustriella avfall. (1)(3) I Sverige har vi stora mängder skogsindustriella restprodukter som har potentialen att upparbetas till värdefulla polymerer.



Biopolymererna PHA är både förnybara och biologiskt nedbrytbara och kan tillsammans med andra ingredienser formuleras till bioplaster med ett brett spann av tillämpningar.

I det här projektet har följande frågeställningar undersökts.

- 1) Experimentellt uppskatta till vilken halt biomassa från Gruvöns bruk kan ackumulera Biopolymerer (PHA) under kontrollerade former. Målet är att biomassans torrsvikt efter ackumulering består till 60% av PHA.
- 2) Undersöka vilka kolkällor, syntetiska och industriella, som biomassa från Gruvöns bruk kan ackumulera för att producera PHA.
- 3) Analysera vilken kvalitet den bildade polymeren har och i vilka tillämpningar och blandningar dessa kvaliteter har störst kommersiell potential.
- 4) Uppskatta vilka miljöeffekter i ett LCA-perspektiv storskalig produktion av PHA har.
- 5) Med hjälp av metoden "Lighter", utreda vilken effekt storskalig produktion av PHA har ur ett hållbarhetsperspektiv.

## Genomförande

### Kartering av industriella kolkällor.

När projektet startade 2018 renade Gruvön sitt processavlopp med en flerstegs aerob biologisk process av typen MultiBio. Processavlopp från barrsulfatlinjen, två blekerier för barr och lövmassa, renseri, deponi, pappersmaskin 6 (PM6) och rejekt från avvattnat fiberslam leds till reningsverket. I medel reduceras 45 ton COD i reningsverket varje dag samtidigt som det bildas ca 9 ton TS bioslam.

Till Under projektets gång har ytterligare ett reningsverk startat för att rena processavlopp från den nya kartongmaskinen (KM7). Eftersom det tar tid att starta upp och nå jämna driftförhållanden i ett nytt reningsverk har det här projektet fokuserat på strömmar som leder till det gamla MultiBio-reningsverket och biomassa därifrån.

Tillsammans med kunnig personal från Gruvöns bruk samlades historiska processdata från de olika delströmmarna till reningsverket. Delflöden med hög halt organiskt material i form av TOC alternativt högt flöde, valdes ut för fortsatt utvärdering. De mest intressanta flöden fermenterades för att ta reda på VFA-potentialen.

### Fermentering

Under anaeroba förhållanden bryter bakterier ner organiskt material i flera steg. Under hydrolysen sönderdelas de största organiska föreningar till mindre. Under acidogenesen och fermentering sönderdelas de vidare till flyktiga fettsyror (VFA). Fettsyror med upp till 6 kol i kedjan, ättiksyra (C2), propionsyra (C3), smörtsyra

(C4), valeriansyra (C5) och karbonsyra (C6) räknas till VFA. De är alla lättnedbrytbara och användbart substrat för andra biologiska processer. Om den anaeroba processen får fortsätta omvandlas VFA till metangas. För att producera den mer ekonomiskt viktiga produkten PHA är det smartare att avbryta fermenteringen innan metanogenesen börjar.

Fermentering i batch-försök genomfördes i ”Automatic Methane Potential Test System AMPTS® 2”. Utrustningen är avsedd för att ta bestämma biogaspotential för olika typer av substrat men passar också för att göra andra typer av anaeroba experiment med god repeterbarhet. Under projektets gång har olika typer av processavlopp fermenterats i 500 ml gastäta reaktorer med pulsvis omrörning (20 sek omrörning 40 sekunder stilla). Fiberförande processavlopp gav bäst resultat därför redovisas de försöken och resultaten i den här rapporten. Fermentering vid tre olika pH 5, 7 och 9 testades.

Potentialen att producera VFA undersöktes i batch-försök där processavlopp blandades med en liten mängd ymp av anaeroba mikroorganismer från tidigare experiment. Under försökets gång växer antalet mikroorganismer. Tiden det tar att nå maximal VFA-produktion är därför lång och kan inte jämföras med hastigheten för ett system i steady state som alltid har hög halt bakterier.

Under försökets gång analyserades den totala halten VFA omräknad som ättiksyra (Hach LCK 387). Fermenteringsförsöken avslutades efter 30 dagar i god tid innan biogasproduktionen startade. När försöken avslutades analyserades halten av de enskilda fettsyrorerna i provet av Eurofins för att bestämma den aktuella mixen av VFA.

### **Kriterier för ny reaktor för PHA-ackumulering**

I det här projektet undersöktes möjligheten att låta mixad mikrobiell kultur (MMC) från Gruvöns reningsverk ackumulera polymeren PHA. Eftersom systemet inte behöver inte vara sterilt, kan en enklare reaktorer byggas.

När projektet startade 2018 renade Gruvön sitt processavlopp med en flerstegs aerob biologisk process, MultiBio. I slutet av reningsverket avskiljs slammet från det reade vattnet i en sedimentationsbassäng. En del av slammet tas ut som överskottslam för avvattning, indunstning och förbränning. Resten av slammet pumpas tillbaka till reningsverket för att rena vattnet igen. Returslammet användes för alla ackumuleringsförsök i den här studien. Koncentrationen av MMC är hög ca 10 g/l i returslammet vilket innebär att behovet av syresättning är relativt stor.

I MultiBio-anläggningen är temperaturen ca 37°C. Därför är det lämpligt att även ackumuleringsreaktorerna håller samma temperatur.

Det behöver vara lätt att sätta till VFA och ta ut prover ur reaktorn.

Utifrån de kriterierna konstruerades två reaktorer som rymmer 70 liter vardera.

## PHA ackumulering, generell beskrivning av försökens genomförande

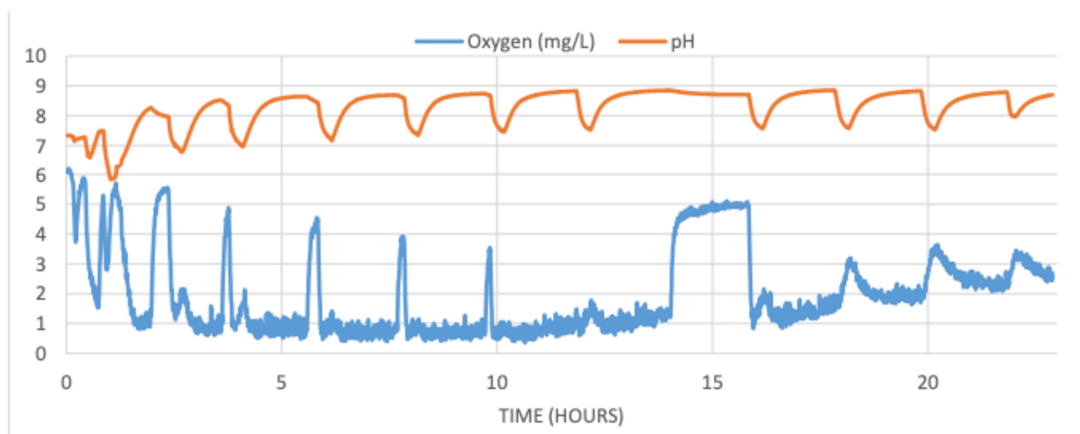
I den här studien har MMC från Gruvöns bruk använts för att ackumulera PHA. Ett 30-tal försök har gjorts. Här beskrivs generellt hur ett experiment går till.

Försöken inleddes med att reaktorerna fylldes med returslam från Gruvöns reningsverk. Slammet innehöll 8 – 10 gpl TS. Tryckluft tillsattes 5 – 10 l/min för att syresätta slammets och för att blanda om lösningen. Reaktorerna lämnades över natten för att säkerställa att all tillgänglig kolkälla är förbrukad innan försöket startades.

Eftersom det inte finns möjlighet att fermentera så stora mängder VFA som behövs för att genomföra ett ackumuleringsförsök blandades VFA-lösning i form av Ättiksyra (6 eller 12 %) eller i form av en blandning av ättiksyra, propionsyra, smörtsyra och valeriansyra (6 eller 12 %) av syntetiska källor. Genom att använda VFA-källa med relativt hög koncentration (6 eller 12 %) späds inte reaktorlösningen ut så mycket under försökets gång.

VFA-lösningen tillsattes i mindre doser till reaktorlösningen. För att undvika för stor pH-sänkning när VFA tillsattes till reaktorn, justerades pH i VFA-lösningen till ca 5.

När en dos VFA (10 -50 ml) tillsattes till reaktorn sjönk pH. Samtidigt sjönk halten löst syre (DO) eftersom mikroorganismerna använder mer syre medan de förbrukar det lättnedbrytbara materialet i form av VFA. I samma takt som VFA förbrukas stiger pH i reaktorlösningen. När dosen VFA är helt förbrukad stiger koncentrationen DO hastigt. Det indikerar att den första dosen är slut och att bakterierna väntar på nästa. För att nå så snabb PHA-ackumulering som möjligt behöver nästa dos tillsättas så fort den första är slut.



Figur 1: Exempel på DO och pH profil under ett ackumuleringsförsök. Vid ca 14 timmar missades en dosering vilket gav upphov till högt DO och pH tills nästa dos vid ca 16 timmar.

Ju större dos som tillsätts, desto längre tid tar det för bakterierna att förbruka den. Under försökens första timmar ändras dosen till dess att det tar en given tid (en eller två timmar) att förbruka en dos. Därefter kan doseringspumpen ställas in för

automatisk dosering vid given tidpunkt. Den automatiska doseringen driva försöket även på natten. Det tar ofta mer än 24 timmar att nå mättnad hos bakterierna. Försöket avbryts när det tar längre tid att förbruka en dos. Det indikerar att bakterierna inte kan ackumulera mer PHA utan kolkällan endast används för endogen respiration.

För att konservera biomassan och undvika risken att PHA bryts ner, sänks pH till 2 med svavelsyra. Biomassan filtreras och torkas i ugn vid 60°C.

#### *Provtagning och analyser.*

Under försökets gång tas prover ut för att följa halten PHA i biomassan.

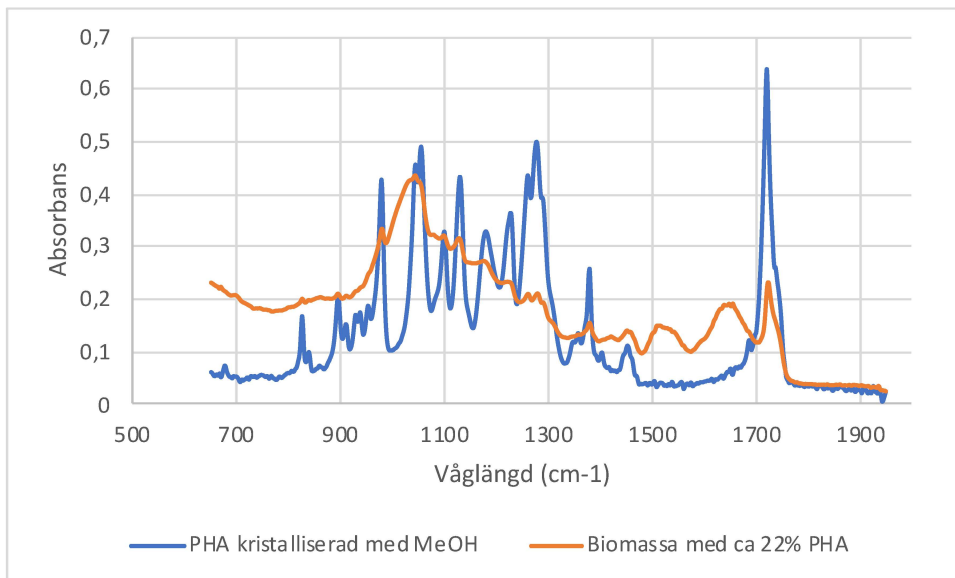
#### *Fluorescensmikroskopering*

1 ml bioslam blandas med en droppe Nile blue och inkuberas i 37°C i ca 15 minuter. Färgämnet i Nile Blue fäster starkare till i PHA-polymeren än till cellerna. Provet stryks ut på ett objektglas och belyses med ljus av??? Nm våglängd. Elektronen i färgämnet exciteras och när de faller tillbaka till sitt elektronskal avger de fluorescerande ljus. I mikroskopet lyser därför de celler som innehåller höga halter PHA starkt.

För att analysera hur halten PHA ökar under försökets gång tas prover ut med jämna mellanrum. Proverna surgörs med svavelsyra, centrifugeras för att avskilja vätskan, torkas och mals innan analys med FTIR och acetoneextraktion.

#### *Fourier transform Infrared Spectroscopy FTIR*

När ett prov bestrålas med infraröda våglängder adsorberas de våglängder som adsorberas i molekylerna bindningar. Resultatet blir ett spektrum av toppar som motsvarar de kemiska bindningar som finns i provet. PHA är en polyester. Esterbindningarna adsorberas vid våglängd 1752 cm<sup>-1</sup>. Toppen för PHA är därför en spetsig topp lätt att känna igen. Bakterierna som omger PHA innehåller proteiner med amidbindningar. Amidbindningarna motsvarar koncentrationen av bakterier, figur 2. Genom att jämföra adsorptionen av esterbindningar i förhållande till amidbindningarna kan halten PHA/g bakterier uppskattas.(4)



Figur 2: FTIR spektrum av ren PHA kristalliserad med Metanol och biomassa innehållande ca 22% PHA. Esterbindning adsorberas starkast vid  $1750\text{ cm}^{-1}$

### Acetonextraktion

0,3 gram av torkad och mald biomassa blandas med aceton i ett provrör med skruvkork. Provet kokas i  $120^{\circ}\text{C}$  i två timmar. Aceton har kokpunkt vid  $65^{\circ}\text{C}$  så provrör med kork måste tåla ett visst tryck. Provet skakas om med jämna mellanrum. Efter två timmar centrifugeras provet och röret under 4 minuter vid 4000 rpm. Efter centrifugeringen öppnas försiktigt korken och den klara acetonlösningen dekanteras i en i förväg vägd kristallisationskål. Resterna av biomassan ligger som en liten pellets i botten på provröret. När acetonet svalnar bildas gel-aktig PHA i flockar. När all aceton drivits av ligger PHA som flagor på botten av kristallisationskålen. Den kan då vägas och utbytet beräknas. Det utfällda PHA är ofta mörkt färgat. Figur 3.

Om den klara acetonlösningen efter centrifugeringen i stället blandas med iskall Metanol, faller PHA ut som vita kristaller. Figur 3





*Figur 3: Efter acetoneextraktionen är PHA löst i aceton. När det svalnar faller PHA ut i gelaktig form. (a) när acetonet avdunstat ligger PHA kvar som en torr film. (b) Om den varma aceton-lösningen i stället blandas med iskall metanol faller PHA ut som ljusa kristaller. (c)*

### **Blekning av PHA-biomassa**

För att öka halten PHA i biomassan och för att skapa en ny produkt i form av en PHA-rik komposit, blektes biomassan med hypoklorit.

Biomassa blandas med hypoklorit i olika koncentrationer mellan 0,4 och 1,6 g Cl/g biomassa. De fick reagera i 60 minuter i 50°C. Därefter centrifugerades proverna (4 min 4000 rpm) för att avskilja blekvätskan. Den blekta biomassan tvättades med avjoniserat vatten och centrifugerades igen. Biomassan torkades maldes och analyserad med FTIR.

### **Miljöbedömning med avseende på klimatavtryck**

Under projektets gång har nya erfarenheter och kunskaper erhållits och därför har olika scenarier för produktion av PHA vid Gruvöns bruk utvärderats.

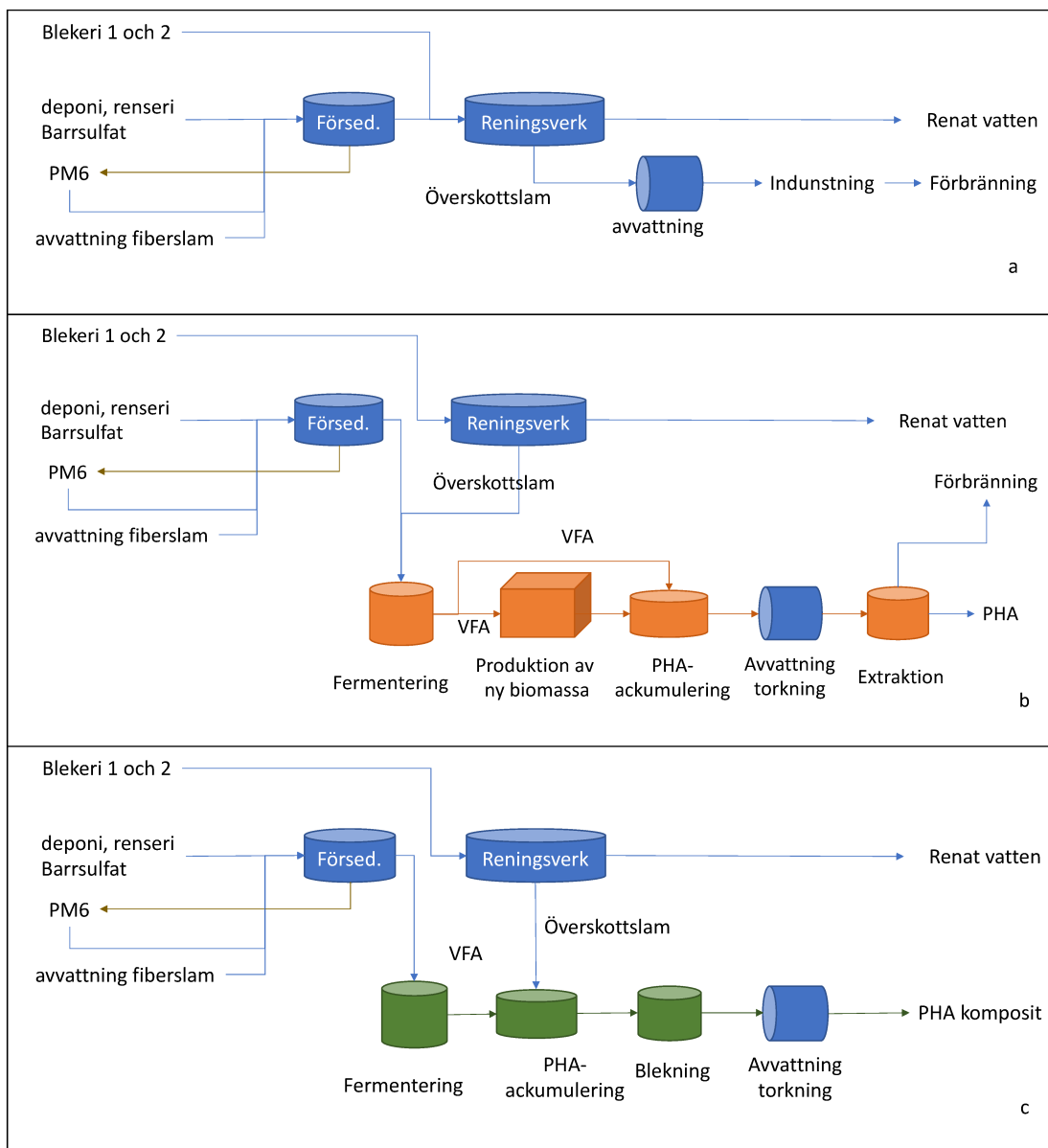
#### *Examensarbeten*

Joakim Eriksson och Andreas Hedelin undersökte energi- och miljöeffekter samt gav en kostnadsuppskattning för produktion av PHA vid Gruvöns bruk (5, 6). De undersökte ett system där olika processavlopp fermenterades med extrem termofil bakteriekultur för att producera vätgas och VFA. PHA ackumulerades sedan i biomassa från befintligt reningsverk. Den producerade PHA används sedan för att tillverka sugrör till juiceförpackningar.

#### *Klimatavtryck för två fall, extraherad PHA och blekt PHA-komposit*

För att utvärdera hur reningsverkets och slamhanteringens klimatavtryck påverkas när nya processer och nya materialflöden införs för att producera PHA, har tre olika modeller byggts upp. I figur 4a visas en schematisk bild över referenssystemet.

I figur 4b visas schematisk bild över massflöden när PHA produceras genom att använda fiberförande processavlopp och bioslam för att producera VFA. För att bygga upp ny biomassa med goda PHA-ackumuleringssegenskaper (60% PHA/g biomassa) används 1/3 av det VFA som bildats under fermentering. Resterande VFA tillsätts till biomassan i nästa steg för ackumulering. I analysen tas även hänsyn till miljöeffekter av extraktion av PHA med butanol som lösningsmedel. Resterande mängd biomassa bränns för att återvinna värme. Eftersom produkten är ren PHA som utvunnits genom extraktion kallas fallen hädanefter ”extraherad PHA”. Indata för analysen är teoretiska och bygger på beräkningar i delrapport Gruvön. Strategier och potential för integrering av PHA-produktion vid BillerudKorsnäs Gruvöns bruk (Simon Bengtsson och Alan Werker Promiko AB, bilaga).



Figur 4 a, b, c: Schematisk beskrivning av massflöden för miljöbedömning av två olika processer att producera PHA: extraherad PHA och blekt PHA-komposit.

I figur 4c visas schematisk bild över massflöden när befintlig biomassa från reningsverket används för PHA-ackumulering. VFA produceras genom att fermentera fiberförande processavlopp. Biomassan i det befintliga reningsverket används för att ackumulera PHA. Den PHA-rika biomassan bleks sedan med hypoklorit. Biomassan bryts ner men lämnar PHA intakt. Efter blekningen är det lättare att avvatta och torka materialet. Det PHA-rika pulvret kan sedan användas för att pressas till PHA-komposit. Det här fallet kallas hädanefter ”blekt PHA-komposit”. Analysen bygger på indata som erhöles från experiment gjorda inom projektet. Med det här fallet produceras PHA med färre nya processer jämfört med ”extraherad PHA”.

Indata för att beräkna miljöeffekter av de bägge fallen finns redovisade i tabell 1.

Tabell 1: Indata för energi- och massflödesanalysen.

Faktor	värde	enhet
N tillsatt i reningsverk	0,09	g N/g cell
P tillsatt i reningsverk	0,01	g P/g cell
Slamproduktion i reningsverk	0,21	g VSS/g CODred.
Syrebehov	1,05	g SOTR/g COD red.
Utbyte fermentering löst COD	0,95	g VFA/g COD
Utbyte fermentering fast COD	0,4	g VFA/g COD
Utbyte av VFA	0,3	g PHA/g VFA
Ackumulerad halt PHA ny biomassa	0,6	g PHA/g biosludge
Ackumulerad halt PHA biomassa från reningsverk	0,3	g PHA/g biosludge
Lösningsmedel förlust	0,01	g/g PHA
butanol värmekapacitet	0,660	MJ/ton*K
Vatten värmekapacitet	4,18	MJ/ton*K
Energibehov luftning	0,33	MWh/ ton SOTR
Energibehov avvattning	75	kWh/ton TS
Energibehov trumtork	4,16	MWh/ton TS

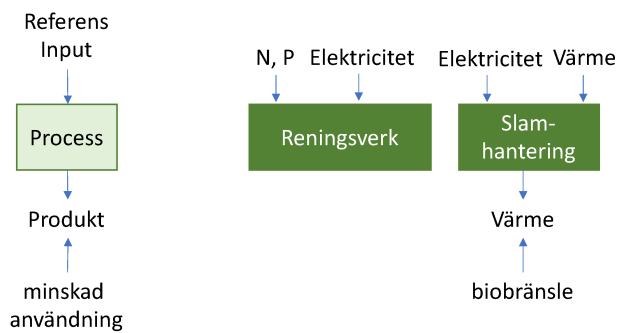
För att utvärdera de två olika processerna att producera PHA beräknades processerna klimatavtryck. När en del av processavloppsvattnet avleds för att behandlas med anaerob fermentation, minskar belastningen på nuvarande reningsverk. Minskad belastning innebär minskad användning av el-energi för att driva luftare. När det bildas mindre slam minskar även behovet av närsalter som man idag måste tillsätta för att få effektiv rening.

Fermenteringen sker vid 40°C. På ett massabruk finns flera källor av värme. Men i den här analysen har klimateffekter för tillförd värme eller återvunnen värme när överskottslam bränns beräknats som trädbränsle.

Den el som använts för att driva luftare och avvattning av slam har antagits ha samma klimateffekt som svensk elmix. Klimatdata för använda kemikalier i form av närsalter, förluster av lösningsmedel som behöver ersättas samt blekmedel i form av hypoklorit finns beskrivna i tabell 2. För att uppskatta miljövinsten att använda en biopolymer i jämförelse med en fossil polymer, har klimateffekten av minskad användning av LDPE beräknats.

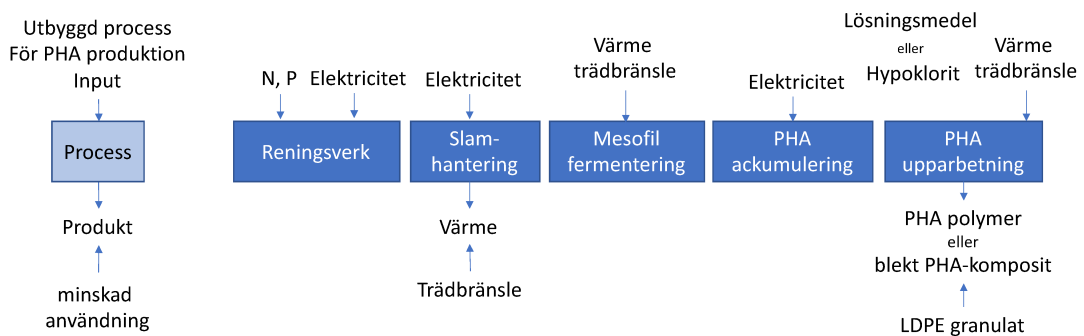
Figur 5 visar en schematisk bild över processer, material- och energiflöden som bidrar till referensfallets, d.v.s. nuvarande reningsverks klimatavtryck.





Figur5: Schematisk beskrivning över processer och materialflöden för referensfallet.

När processen byggs ut för PHA produktion kan systemet beskrivas som i figur 6.



Figur6: Schematisk beskrivning över energi- och materialflöden som påverkar processens klimatavtryck. I processen extraheras PHA ur biomassan med butanol eller bleks med hypoklorit. Slutprodukten kan användas i stället för polyetylen granulat.

Tabell 2: indata till bedömning av processernas klimatavtryck.

	enhet	källa
Svensk elmix	13 kg CO <sub>2</sub> /kWh	<a href="https://www.svk.se/sok/?search-field=elmix">https://www.svk.se/sok/?search-field=elmix</a>
trädbränsle	8,28 kg CO <sub>2</sub> /MWh	<a href="https://energiforskmedia.blob.core.windows.net/media/17907/miljoefaktaboken-2011-vaermeforskrappport-1183.pdf">https://energiforskmedia.blob.core.windows.net/media/17907/miljoefaktaboken-2011-vaermeforskrappport-1183.pdf</a>
HNO <sub>3</sub>	3,18 kg CO <sub>2</sub> /kg	<a href="https://www.winnipeg.ca/finance/findata/matmgt/documents.pdf">https://www.winnipeg.ca/finance/findata/matmgt/documents.pdf</a>
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	1,45 kg CO <sub>2</sub> /kg	<a href="https://www.winnipeg.ca/finance/findata/matmgt/documents.pdf">https://www.winnipeg.ca/finance/findata/matmgt/documents.pdf</a>
Klorit 15%	0,92 kg CO <sub>2</sub> /kg	<a href="https://www.winnipeg.ca/finance/findata/matmgt/documents.pdf">https://www.winnipeg.ca/finance/findata/matmgt/documents.pdf</a>
Iso Butanol	2,27 kg CO <sub>2</sub> /kg	<a href="https://www.winnipeg.ca/finance/findata/matmgt/documents.pdf">https://www.winnipeg.ca/finance/findata/matmgt/documents.pdf</a>
LDPE	1,01 kg CO <sub>2</sub> /kg	<a href="https://www.winnipeg.ca/finance/findata/matmgt/documents.pdf">https://www.winnipeg.ca/finance/findata/matmgt/documents.pdf</a>

När det fiberförande processavloppet som innehåller totalt 22 ton COD/d, avleds från reningsverket får det stora konsekvenser. Det innebär att belastningen på reningsverket minskar med 30%. Det betyder att mindre syre och mindre el-energi behövs för att syresätta bassängerna. Det produceras mindre slam och därför behövs mindre närsalter tillsättas och mindre energi går åt för att avvattna och torka slammet innan det bränns tillsammans med svartlut i sodapannan. Samtidigt kan mindre värmeenergi återvinnas när mindre mängd slam bränns.

I studien beräknas också hur mycket CO<sub>2</sub> som kan undvikas genom att undvika att använda en fossil polymer.

### Hållbarhetsanalys Lighter

För att undersöka de nya processerna i ett större hållbarhetsperspektiv analyserades användning av nya råmaterial, förhållanden under tillverkningen, vilka effekter de nya produkterna kan ha medan de används och när de återvinns eller resterna av produkten hanteras. De effekter som beaktades var miljömässig hållbarhet, arbetsmiljö och hälsa, mänskliga rättigheter, jämställdhet och mångfald.

### Utvärdering av polymerens kvalitet och tillämpning

Möjliga tillämpningar av PHB och blekt PHA-komposit har utvärderats tillsammans med samarbetspartner SACMI i Italien. (<https://www.sacmi.com>). SACMI har pressat polymeren och kompositen till olika förpackningar och former. Särskilt

intressant har varit att undersöka Nespresso-kompatibel kaffekapsel och förpackningsförslutningar. Här är tillämpningen relevant utifrån att förslutningar, till exempel skruvkorkar, ofta hamnar i naturen. Förslutningar utgör tredje till fjärde vanligaste föremålet när EU räknat typer av skräp på stränder (7).

En affärsmodell har utarbetats av BillerudKorsnäs Innovations manager. Denna utgår från uppgradering till ett 50% kompositpulver i geografisk närhet till reningsanläggningen. Fördelen är att det torra pulvret är lätt att transportera oavsett om tillämpningen är direkt sintring eller vidare upparbetning till ren PHA.

För det senare finns flera metoder. En lovande sådan tas fram av den lundabaserade start-upen Bioextrax

Promiko AB har givit sin syn på möjligheten för BillerudKorsnäs Gruvöns bruk att producera PHA.

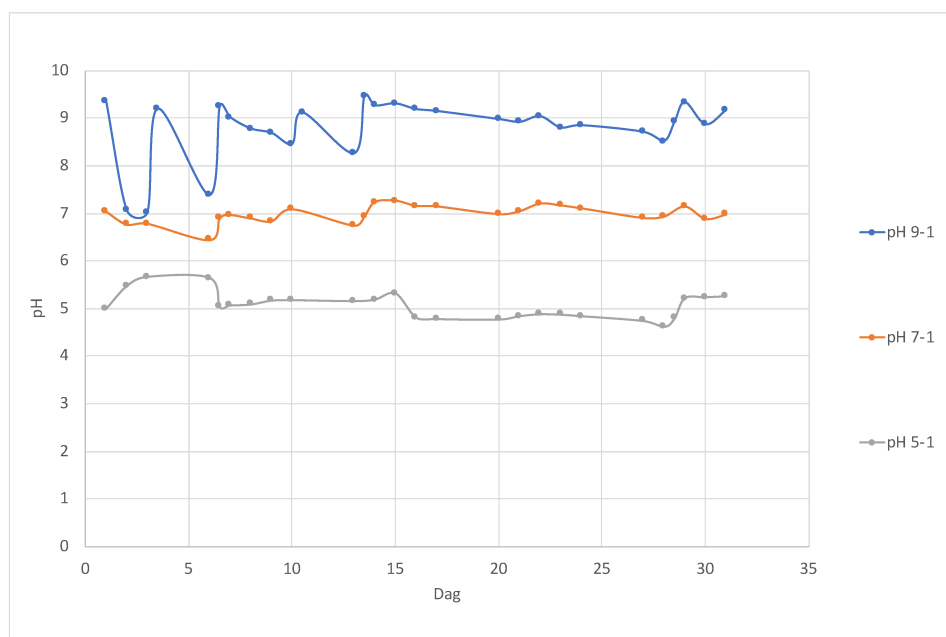
## Resultat och diskussion

### Karaktärisering av delflöden

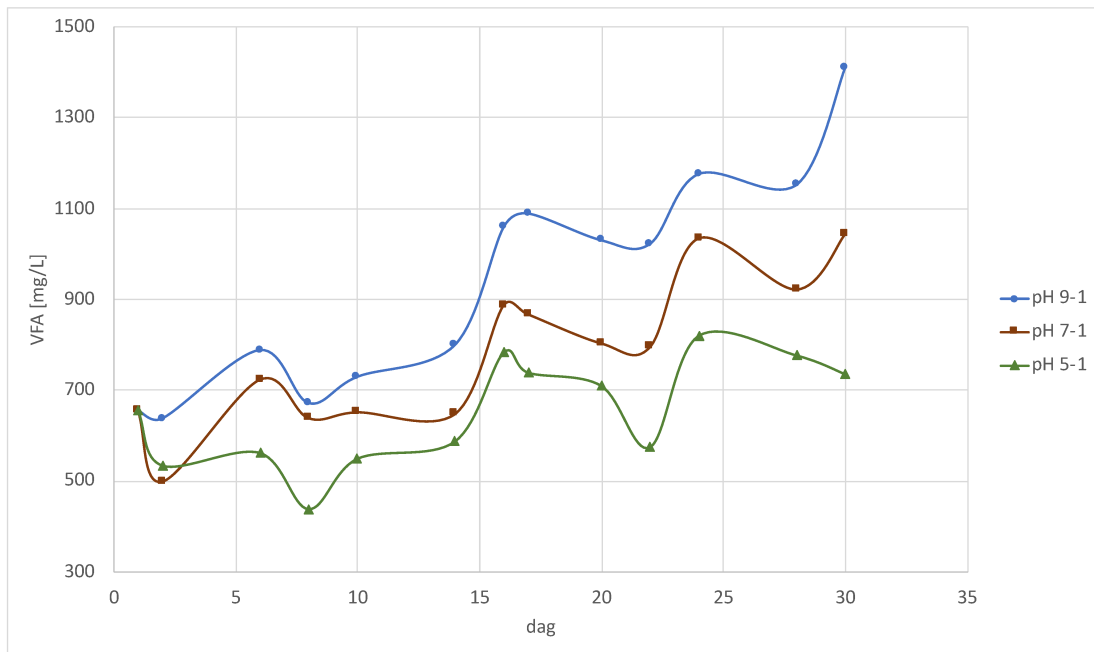
Det processavlopp som passade bäst innehåller höga halter TOC från PM6 pappersmaskin som använder fibrer från andra delar av bruket.

### Fermentering

Inom projektet har en lång rad fermenteringsförsök gjorts. Här redovisas resultat från försök med fiberförande processavlopp. Under fermenteringen bildades flyktiga fettsyror vilket leder till att pH sjönk. pH justeras därför vid varje provtillfälle. Fermentering vid pH 9 producerade mest VFA och pH varierade kraftigare än för försöken som gjordes vid pH 5 och 7.



Figur 7: pH vid fermentering av fiberförande processavlopp.



Figur 8: Halt VFA vid fermentering av fiberförande processavlopp vid olika PH.

Det testade provet av fiberförande processavlopp innehöll 750 mg TOC/l. Efter 30 dagars fermentering hade halten sjunkit i proverna med pH 7 och 5 till 600 respektive 510 mg/l. Vilket tyder på att det skett en viss bildning av metan som gasat av från provet. Försöket vid pH 9 innehöll 740 mg TOC/l även i slutet av det här försöket. Innehållet av sammanlagda halten av organiskt kol i de olika typerna av VFA var 400 mg/l. Det indikerar att utbytet av g VFA/ g TOC är ca 55% efter 30 dagar. I figur 8 syns att halten VFA fortfarande stiger. Halten BOD efter 30 dagar var 690 mg/l. Det indikerar att 95% av det organiska materialet är lättnedbrytbart och att ca 95% omvandling av det organiska materialet i det fiberförande processavloppet kan omvandlas till VFA.

Tabell 3: Fördelningen av olika typer av fettsyror efter 30 dagars fermentering vid pH 9.

ättiksyra	760 mg/l
propionsyra	48 mg/l
smörsyra	18 mg/l
iso-valeriansyra	12 mg/l

Beroende på vilka VFA bakterierna har tillgång till så bygger de upp olika polymerer. Använder de endast ättiksyra bildas Polyhydroxybutyrat (PHB). Om de har tillgång till en kolkedja med ojämnt antal kolmolekyler som propionsyra eller valeriansyra, så bildas i stället polyhydroxyvalerat (PHV). Får bakterierna en

blandning av VFA skapas olika polymerer med lite skilda egenskaper. Förenklat kan man säga att hög andel av PHB ger en hårdare och sprödare plast. Högre andel PHV ger mjukare plast med lägre smältpunkt. (1, 2, 8)

Den aktuella blandningen av VFA som bildades vid fermentering av fiberförande processavlopp förväntas polymeriseras till en blandad polymer PHB och PHV med ca 7% PHV.

Resultaten finns i sin helhet i bilaga 4.

I de här batch-försöken utvecklades mikroorganismerna under försökets gång. När rätt kultur av mikroorganismer byggts upp kan fermenteringen ske kontinuerligt och fermenteringen sker då fortare. Uppskattningsvis räcker 5 – 10 timmar.

### Utformning av reaktorer för PHA-ackumulering

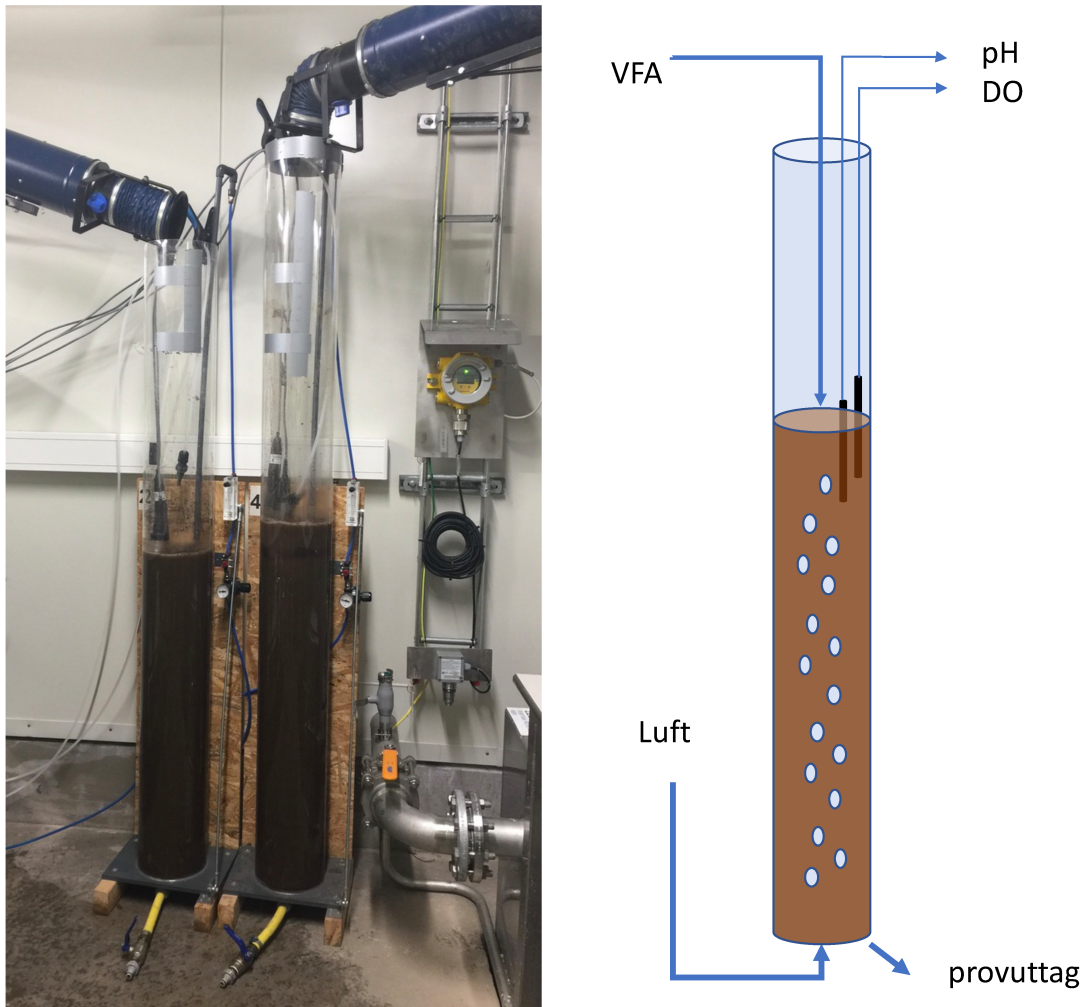
För att kunna syresätta höga koncentrationer av mikroorganismer användes höga och smala reaktorer. 2 meter höga med 23 cm diameter. Reaktorerna rymmer ca 70 liter vardera. Tryckluft tillsätts i botten av reaktorerna genom keramiska diffusorer. Luftflödet kan justeras för att nå lämplig koncentration av löst syre (DO) i reaktorn. Luftbubblorna ger även god omrörning i hela reaktorn.

Biomassa från skogsindustriella reningsverk kan innehålla bakterien *Legionella*. Under luftning kan aerosoler med bakterier spridas i luften. Om *Legionella* kommer in i andningsvägarna kan de ge förkylnings symptom hos friska personer men lunginflammation och även leda till döden för äldre och svagare individer. För att undvika spridning av aerosoler placerades reaktorerna direkt under luftutsug.

För att värma ca 70 liter reaktorlösning till 35°C användes doppvärmare avsedda för akvarier (350W).

För att slippa hantera utspädning av biomassan under försökets gång användes koncentrerade lösningar av VFA som pumpades in i toppen av reaktorerna med två doseringspumpar. Eftersom VFA luktar kraftigt tillsattes VFA-lösningen en bit under ytan.

I botten av reaktorerna finns ventiler för provuttag.



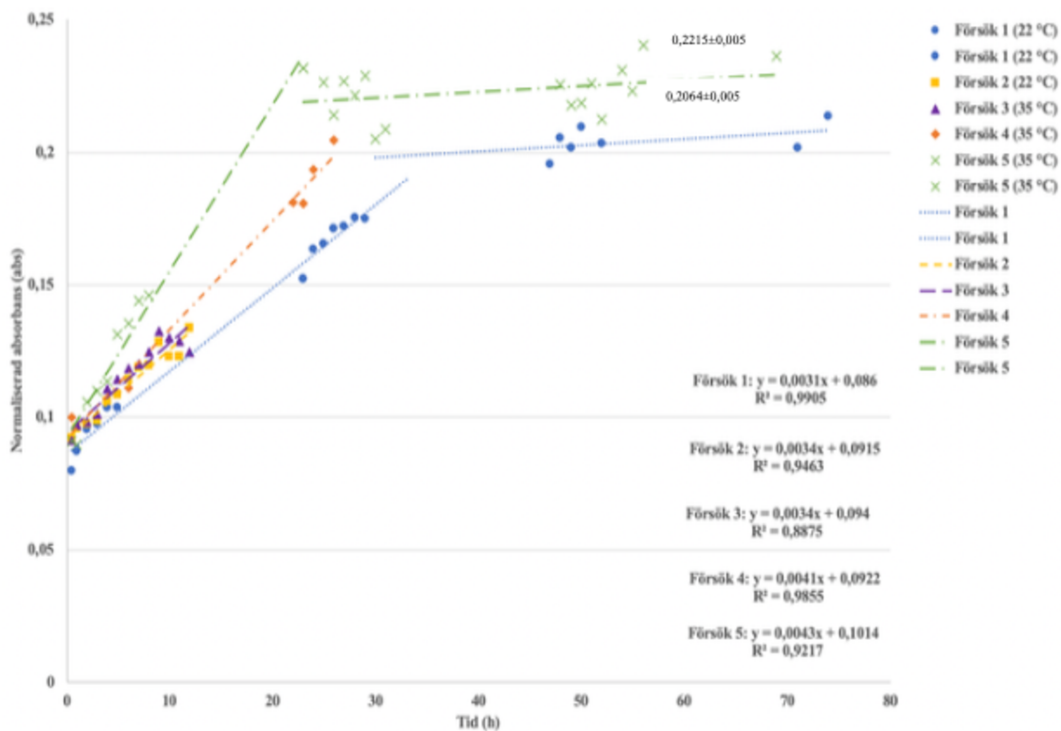
Figur 9: Principskiss och bild på två reaktorer för PHA ackumulering. Reaktorerna rymmer 70 liter lösning. På bilden innehåller de ca 30 liter.

För att mäta pH och DO kontinuerligt under försöken gång användes HACHs Claros system för kontinuerlig mätning och styrning av DO och pH.

### PHA ackumulering

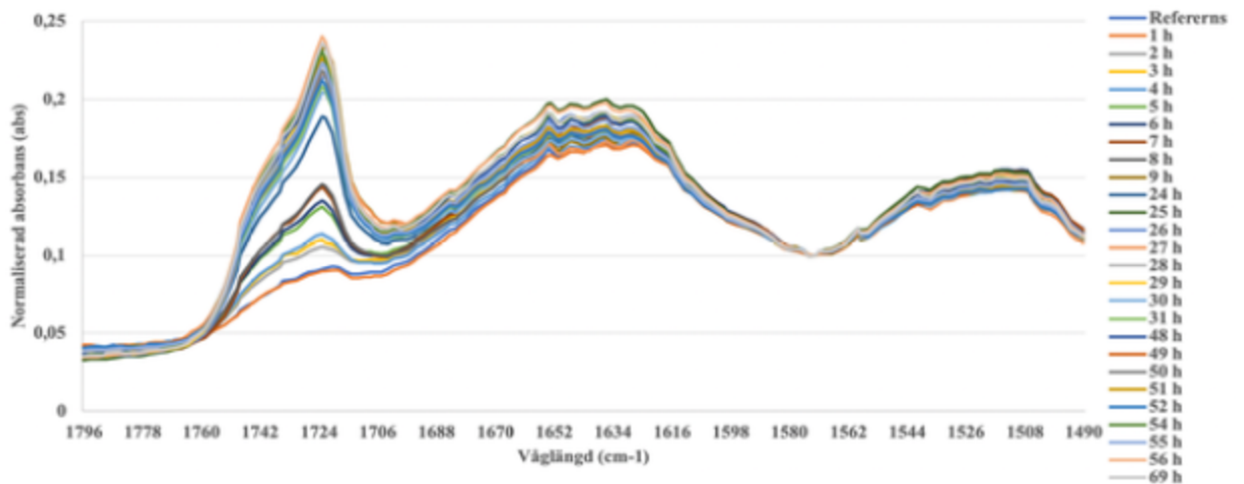
Biomassa från Gruvöns reningsverk hämtades vid ett 30-tal tillfällen under de tre år som projektet hållit på. Ackumuleringshastigheten och den maximala koncentrationen av PHA har varierat mellan de olika provtillfällena. Det beror troligtvis på att reningsverket har renat processavlopp med varierande kvalitet och därför har processbetingelserna varierat i reningsverket. Vilka betingelser som ger biomassa mest lämpad för PHA-ackumulering behöver utredas bättre.

Det tar mellan 8 och 24 timmar att nå mättnadskoncentration av PHA. Därefter stiger halten ytterligare men det går mycket långsamt, figur 10. (9)



Figur 10: Ackumuleringshastighet vid fem olika försök, temperatur 22 och 35 °C, med biomassa från Gruvöns reningsverk.

I figur 10 syns också att PHA ackumuleringshastigheten ofta är högre vid 35°C jämfört med vid 22°C.

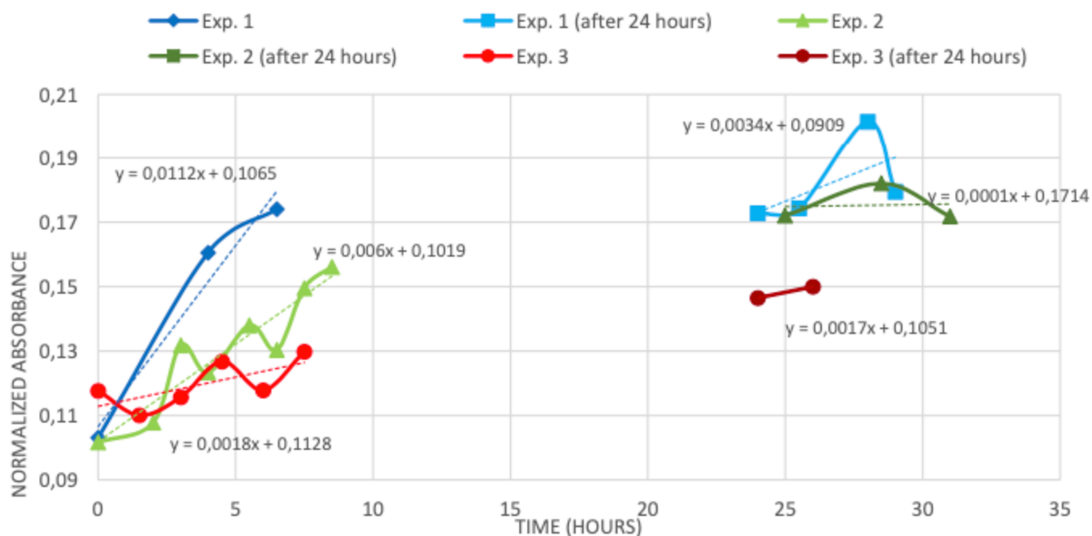


Figur 11: FTIR visar hur halten PHA ökar i biomassan under försökets gång. Efter 50 timmar innehåller biomassan ca 26% PHA.



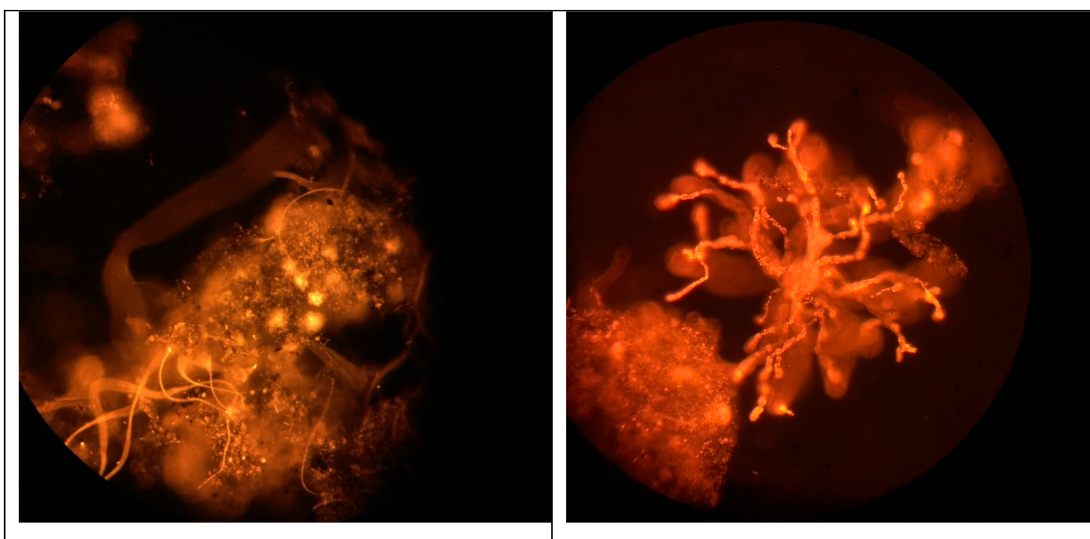
### Selektionsförsök för att öka biomassans förmåga att ackumulera PHA

För att undersöka om det var möjligt att selektera biomassan genom att endast tillsätta en dos VFA om dagen under tre veckor. De bakterier som kan ackumulera VFA borde ha större möjlighet att överleva de långa perioderna av svält. Biomassans förmåga att ackumulera PHA testades direkt efter att det hämtats från Gruvöns bruk, efter två veckor och efter fyra veckor. Tyvärr visade resultaten att biomassans ackumuleringskapacitet inte ökade med den behandlingen figur 12. (Bilaga 3)



Figur 12: PHA ackumuleringshastighet vid tre tillfällen. Experiment 1 skedde direkt efter att provet hämtats från Gruvöns bruk. Försök 2 efter 2 veckor och försök 3 efter 4 veckor.

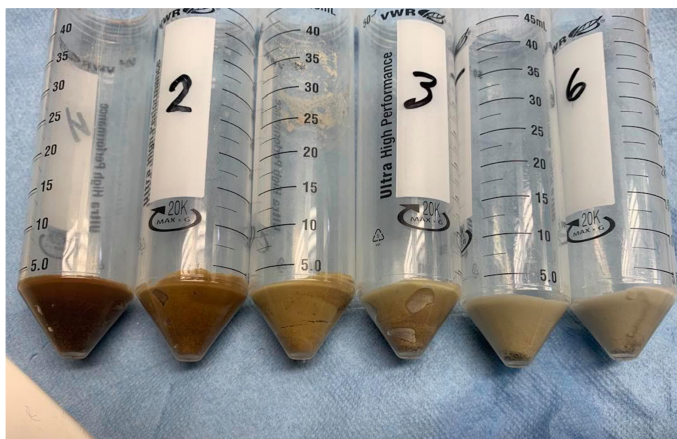
I figur 13 syns bilder från fluorescensmikroskopet. Figur 13 a visar flockar av bakterier i den form som förekommer i reningsverket. Några kolonier i flocken lyser kraftigt och ser ut att innehålla högre halt PHA än de andra. Även de filamentbildande bakterierna ser ut att innehålla höga halter PHA. Efter ett par dagars selektion under näringsfattiga förhållanden brukar fingerliknande kolonier av Zoogloea dyka upp, figur 13b.



Figur 13: Bakteriekolonier med hög halt PHA adsorberar färgämnet Nile Blue och fluorescerar med strakare ljus.

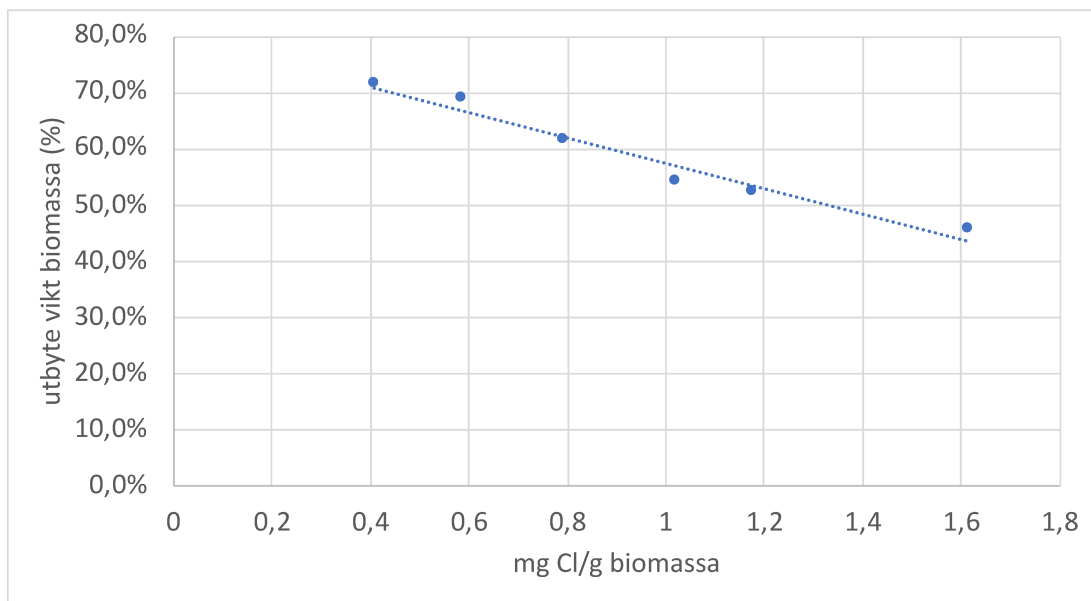
### Blekning av PHA-innehållande biomassa

För att öka halten PHA i biomassan blektes den med olika koncentrationer av hypoklorit. Den bruna biomassan bleknar betydligt under reaktionen med hypoklorit, figur 14.



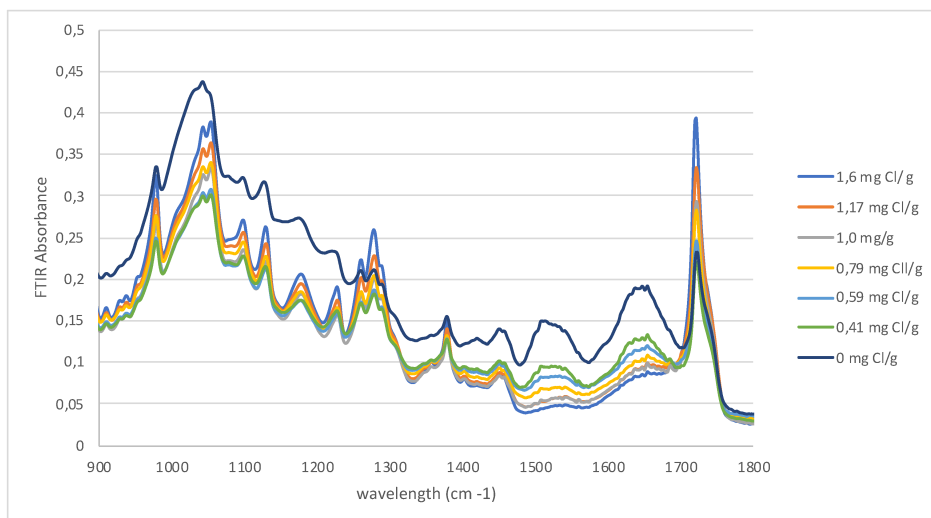
Figur 14: Färgen i provet ljusnar tydligt med ökande koncentration hypoklorit.

Utbytet efter blekning med olika koncentrationer av hypoklorit i 60minuter och 50°C finns redovisat i figur 15. Vid höga koncentrationer av hypoklorit bröts stora delar av biomassan ner. Endast 45 % av ursprungliga vikten av biomassan var kvar.



Figur 15: utbyte efter blekning med hypoklorit 60 minuter och 50°C.

Analys med FTIR visar att cellerna ( $1530$  och  $1650\text{ cm}^{-1}$ ) bryts ner medan halten PHA ( $1752\text{ cm}^{-1}$ ) ökar i provet med ökande koncentration hypoklorit vid blekningen, figur 16. Halten PHA ökar proportionellt när halten Cl ökar till  $1\text{ mg/g}$  biomassa. Då är halten PHA till  $40\%$ . Därefter ökar halten något långsammare i förhållande till tillsatt hypoklorit. När  $1,6\text{ mg Cl/g}$  biomassa har tillsatts är halten PHA ca  $50\%$ .



Figur 16: FTIR spektra för PHA-innehållande biomassa som behandlats med olika doser hypoklorit.

Efter blekningen var pulvret lätt att mala och lätt att pressa till plattor.

Det finns många olika blekmedel som kan lämpa sig för att framställa en PHA-komposit. Exempelvis peroxid och ozon som inre riskerar att lämna klorerade

restprodukter. Ytterligare forskning behövs för att bestämma vilket blekmedel och under vilka förhållanden som lämpar sig bäst för att producera blekt PHA-komposit.

### Miljöbedömning

Koldioxidutsläpp (CO<sub>2</sub>-eq) för att driva reningsverket vid Gruvöns bruk beräknades till netto 55 CO<sub>2</sub>-eq / ton COD som leds till reningsverket.

Tabell 4: Energi- och massflöden för de tre olika fallen

		referens	extraherad PHA	Blekt PHA-komposit
elektricitet	MWh	0,24	0,19	0,18
Värme	MWh	0,37	0,37	0,30
NH <sub>3</sub>	kg	14,85	7,44	7,44
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	kg	4,30	2,15	2,15
Värme prod	MWh	0,57	0,11	0,02
lösningsmedel	kg		0,35	
Hypoklorit	kg			0,22
extraherad PHA	kg		35	
Blekt PHA komposit	kg			54

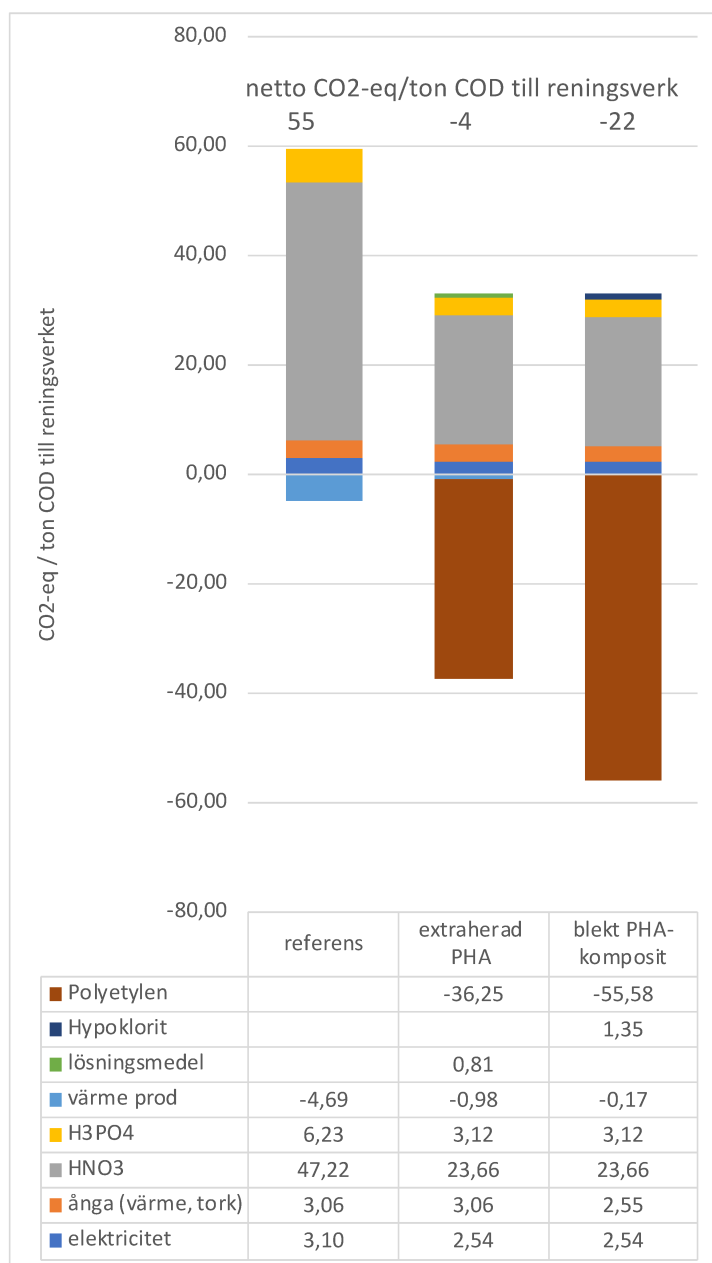
I tabell 4 och figur 16 syns att när hela processflödet renas med det befintliga reningsverket referensfallet krävs mer el och närsalter jämfört med när delar av processflödet behandlas med anaerob fermentering. Därför har referensfallet det högsta netto-koldioxidavtrycket, 55 kg CO<sub>2</sub>-eq /ton COD till reningsverket.

I figur 16 syns att tillsats av salpetersyra som kvävekälla ger det största bidraget till det totala CO<sub>2</sub> avtrycket. I den här modellen användes salpetersyra med 3,18 CO<sub>2</sub>-eq/kg. För andra kvävekällor varierar CO<sub>2</sub>avtrycket mellan 2,11 – 4,19 CO<sub>2</sub>-eq /kg. Om en annan kvävekälla används, kommer skillnaden mellan de olika fallen att bli något mindre eller större. Men referensfallet kommer alltid att ha det största netto avtrycket.

Det som har enskilt störst påverkan på CO<sub>2</sub>-avtrycket är möjligheten att byta ut en fossil polymer mot PHA. I fallet extraherad PHA är den beräknade produktionen 845 ton PHA per år minskar avtrycket av CO<sub>2</sub>-eq med 36 kg CO<sub>2</sub>-eq /ton COD till reningsverket. I fallet Blekt PHA-komposit är den beräknade produktionen av PHA-komposit 1320 ton/år. Kompositen innehåller 978 ton ren PHA/år. Ju större mängd

fossil polymer som kan ersättas med ren PHA eller PHA-komposit desto mindre blir det totala CO<sub>2</sub>-avtrycket. För fallet extraherad PHA är nettor avtrycket -4 kg CO<sub>2</sub>-eq/ton COD och för fallet Blekt PHA-komposit - 22 kg CO<sub>2</sub>-eq/ton COD.

Andra fossila polymerer ger liknande eller större effekt. I den här studien beräknades CO<sub>2</sub>-eq för undviken användning av Polyeten -1,01 kg CO<sub>2</sub>-eq /kg. Om modellen i stället hade beräknat miljöeffekten av att byta ut Polypropylen (1,95 kg CO<sub>2</sub>-eq/kg) hade miljövinsten blivit ännu större.



Figur 16: De olika komponenternas inverkan på processernas netto CO<sub>2</sub> avtryck.

## Hållbarhetsanalys Lighter

Genom att använda organiskt material i processavlopp som råvara för att tillverka polymerer minskar de flesta utsläpp både från använda råvaror och under produktionen, jämfört med att producera samma mängd fossil polymer. Även användning av energi och tillsatskemikalier minskar när belastningen minskar på det befintliga reningsverket. De nya undersökta processerna ger därför minskad miljöpåverkan under tillverkningen jämfört med dagens process.

Ren PHA och den blekta PHA-kompositen är båda helt biologiskt nedbrytbara. Och ger inte upphov till något avfall eller utsläpp under tiden produkten används. Medan fossil plast kan hamna i naturen och ge upphov till nedskräpning och mikroplaster.

Idag finns inget utbyggt system för att återvinna PHA. Därför rekommenderar vi att PHA används för produkter som kan hamna i naturen av misstag och som sällan sorteras för materialåtervinning. Sugerör är en sådan produkt. En annan typ av produkt är kaffekapslar som innehåller kaffesump. En kaffekapsel tillverkad av PHA kan istället komposteras utan risk för spridning av mikroplaster till naturen. Andra produkter som ska användas i jordbruk eller skogsbruk är lämpliga produkter.

När produkterna av PHA bränns med sopor eller bryts ner i naturen bidrar de inte till ökade CO<sub>2</sub>-utsläpp, vilket dess motsvarighet av fossila plast gör.

Produkter av PHA behöver inte innehålla något giftigt eller hälsofarligt.

På ett massa- och pappersbruk sker många olika kemiska processer vid högt tryck och höga temperaturer. Det finns ett väl utbyggt säkerhetssystem för att undvika olyckor. För att producera PHA i närhet av ett befintligt skogsindustriellt reningsverk, behöver få nya kemikalier användas. Om biomassan bleks på plats används samma processer som redan används för att bleka massan. Det blir därför inga nya moment som behöver öka risken för olycksfall och arbetsmiljörisker. Om biomassan extraheras på plats behövs nya rutiner för att undvika olyckor vid arbete med lösningsmedel. Det ses som en mindre förändring utan större risker.

PHA är giftfri och skapar inga farliga nedbrytningsprodukter, därför anses risken att skadas när produkten används eller bränns som minimal.

I det här projektet utreder vi möjligheten att producera PHA vid svenska massa- och pappersbruk. Med svenska lagstiftning finns liten risk för korruption, barnarbete eller annan negativ påverkan på mänskliga rättigheter.

PHA som råvara eller de produkter som kan tillverkas av PHA har ingen inverkan på jämställdhet eller någon form av diskriminering. Könsfördelningen vid svenska massa- och pappersbruk är fortfarande sned. Antalet kvinnor i ledningsposition ökar men på golvet är massabruken fortfarande mansdominerade. Traditionellt har kvinnor visat större intresse för miljö, kemi och biologiska processer. Det är därför möjligt att produktion av PHA kan öka antalet kvinnor på massa- och pappersbruk i framtiden.



## Analys av kvalitet- och tillämpning

### *Extraherbar PHA*

När mixad mikrobiell kultur (MMC) från Gruvöns reningsverk användes under den här studien för ackumulering av PHA, nåddes en maximal halt av 26% PHA. Det är troligtvis för låg halt för att uppnå extraktion med bra utbyte och i förlängningen inte ekonomiskt möjligt att upparbeta. Det finns fortfarande möjligheter att påverka kulturen genom mindre förändringar i reningsverket och fortsatt utveckling av ackumuleringssteget. Därför bör man på sikt kunna nå drygt 30% ackumuleringsgrad.

Vid fermentering av fiberinnehållande processavlopp innehöll VFA-mixen ca 7 % VFA med ojämnt antal kolatomer. Hög inblandning av VFA med ojämnt antal kolatomer, ger mjukare polymer med lägre smältpunkt. Förhållandet kan variera beroende på om innehållet i de fiberförande processavloppen varierar med tiden. Vilket kan ge något varierande reologiska egenskaper.

En PHA-produkt med varierande reologiska egenskaper är mindre sannolik att den kan extraheras eller gjutas till hög-kvalitativa produkter eller användas som barriärmaterial i livsmedelsförpackningar. Däremot är det sannolikt att den går att använda i enklare applikationer som till exempel pressformning eller extrudering av sugrör.

Extraktion av polymer är den process som mest avviker från brukets nuvarande processer. Det är därför troligt att biomassan kommer att transporteras till tredje part för extraktion. Inom projektet har samarbeten med företaget Bioextrax (<https://bioextrax.com>) inletts för att undersöka möjligheten att använda deras biologiska extraktionsmetoder utan lösningsmedel.

Under de senare åren har fokus i värdekedjan flyttats från bionedbrytbarhet till återvinning, helst i samma produkter som startprodukten. Även om produkter av PHA skulle vara möjliga att återvinna så finns idag ingen fungerade återvinningskedja. Polymeren, som i många fall är blandbar med andra polystrar kan därför som bäst förväntas återvinnas tillsammans med fossila och ej nedbrytbara polymerer i nedgraderad form. Typiska applikationer kan vara asfalt eller utomhuskonstruktioner så som möbler eller golv. Därför är det rimligt att använda PHA i applikationer där bionedbrytbarhet är en direkt funktion eller där det är av större sannolikhet/risk att föremålet hamnar i naturen eller kompostering istället för återvinning.

En Nespresso-kompatibel kaffekapsel är en möjlig slutprodukt för ren PHA. Konceptet är relevant utifrån att PHA har relativt bra barriäregenskaper och att använda kaffekapslar (som innehåller kaffesump) lämpar sig väl för industriell- eller hemkompostering. Idag tillverkas de flesta kaffekapslar av aluminium där kaffesumpen stannar kvar i förpackningen efter användning.

Polymeren har också utvärderats som förslutning. Här är tillämpningen relevant utifrån att förslutningar, till exempel skruvkorkar, ofta hamnar i naturen. Förslutningar utgör tredje till fjärde vanligaste föremålet när EU räknat typer av skräp på stränder (7).

Det samma gäller för sugrör som idag sällan återvinns men som löper stor risk att hamna i naturen.

Tillsammans med företaget SACMI ( <https://www.sacmi.com> ) har kaffekapslar pressats av PHB med bra resultat. Figur 17



Figur 17: kommersiell PHB och kaffekapsel pressad av SACMI.

#### *Blekt PHA-komposit*

Genom att bleka biomassen som innehåller ca 25% PHA bryts cellerna som omger PHA ner, medan polymeren ligger kvar intakt (10). Försök med PHA-rik biomassa från Gruvön gav ca 50% PHA i den blekta kompositen.

Genom att forma produkter genom sintring, av komposit eller PHA pulver, kan utmaningar med varierande reologiska egenskaper undvikas.

Om det går att använda kompositen direkt, ökas utbytet från processen med 100% jämfört med extraktion av ren PHA. Dessutom slipper man kostnaden för tredjepartsextraktion. Initiala tester tillsammans med SACMI i Italien visar att enklare geometrier av cylindriska block kan sintras kallt eller varmt med god homogenitet och hårdhet. Den blekta PHA-kompositen har också utvärderats med varm sintring (150 °C) till tunnväggiga behållare. Initiala tester visar på god sammansmältning men ett initialt resultat som bedöms för sprött och som behöver utvärderas vidare med avseende på mjukgörare och formningsmetod.

Generellt är bedömningen att sintring, dvs att utgå från ett pulver istället för en smält polymer är speciellt intressant för PHA och kompositerna baserade på denna. Vår hypotes är att den pulverformiga kompositen på sikt kan utvecklas till att fungera som råmaterial för bionedbrytbara produkter inklusive förpackningar.



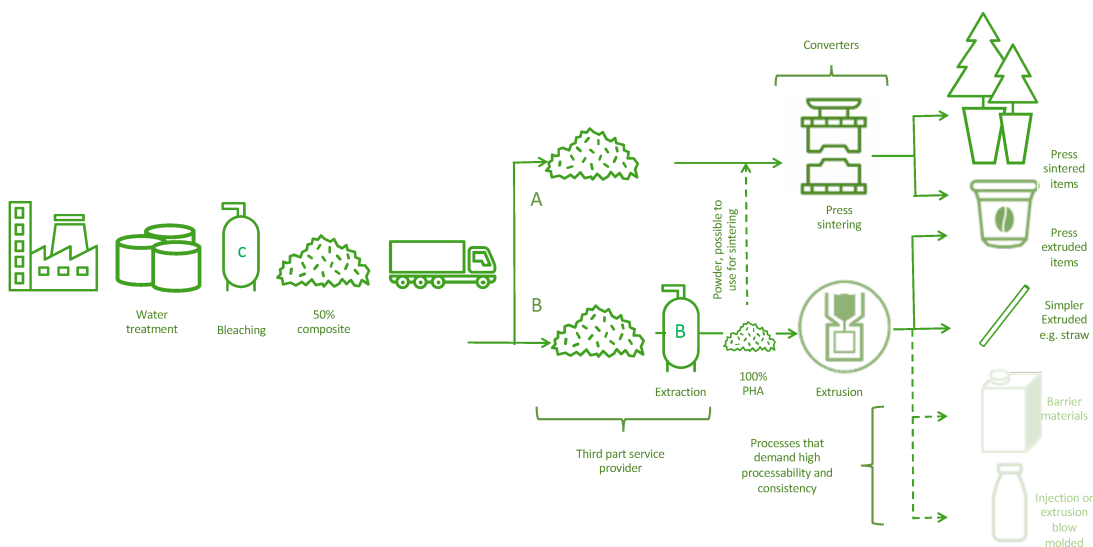
Ett exempel på produkter som borde kunna produceras av sintrad blekt PHA-komposit är planteringsrör för skogsnäringen. Samarbeten har inletts med företaget Scandinavian forest farming som tillverkar ett såddrör för tall och granplantor. Såddröret går under namnet Tubesprout™. Såddröret är idag producerat av fibrolon och bioflex. Det finns en önskan att hitta nya material som gärna är återvunnet. Kravet är att det ska vara helt biologiskt nedbrytbart så att röret försvinner när behovet att skydda plantan inte längre behövs.



Figur 18: Såddrör Tubesproute™. Det vänstra röret innehåller en liten granplanta.

### Affärsmodell.

En affärsmodell för de båda produkterna har utarbetats med metoden Business Model Canvas (bilaga med sekretess). I figur 19 syns modellen visualiserad.



Figur 19: Visualisering av affärsmodell för produktion av olika typer av produkter av PHA eller blekt PHA.komposit.

Enligt Bengtsson och Werker på företaget Promiko finns möjlighet att producera upp till 3500 ton PHA per år om alla organiska strömmar tas till vara. Det går att nå den produktionen i flera steg.

Utdrag ur rapport Strategier och potential för integrering av PHA-produktion i processvattenreningen vid BillerudKorsnäs Gruvöns bruk.

” Produktion av PHA som en del av processvattenreningen vid Gruvöns bruk skulle kunna implementeras stegvis med ökande produktionspotential för lägsta möjliga risk med avseende på dagens verksamhet. Ett förslaget första steg, där bioslam som produceras i de biologiska reningsanläggningarna används som råvara, skulle kunna leda till ca 250 ton PHA/år utan ytterligare ingrepp i befintliga processer för vattenreningen. Därefter uppskattas att det finns möjlighet att stegvis utvidga produktionen upp till ca 3 000 ton PHA/år utifrån idag tillgängliga restflöden av organiskt material. Ifall även fiber utnyttjas som råvara, till exempel fiberrikt slam som i nuläget återförs till produktion av fluting, blir potentialen större än så. Potentialberäkningarna utgår från antaganden baserade på erfarenheter från tidigare undersökningar. Av dessa är det framförallt önskvärt att fastställa omvandlingsfaktorerna för mycket av det organiska materialet som kan omvandlas VFA vid fermentering av de olika strömmarna av processvatten och bioslam. Detta kan göras experimentellt vid laboratorie- eller pilotförsök.” utdrag ur rapport Strategier och potential för integrering av PHA-produktion i processvattenreningen vid BillerudKorsnäs Gruvöns bruk.

## Slutsatser, nyttiggörande och nästa steg

Genom möjligheten att få arbeta med det här projektet har vi lärt oss mycket om möjligheter och begränsningar att producera PHA ur skogsindustriella restflöden. Det är lockande att utveckla processer som så tydligt kan leda till cirkulär ekonomi genom att ta tillvara resurser som idag ses som ett problem. Samtidigt som nya biologiskt nedbrytbara produkter produceras, minskar resursanvändning och miljöpåverkan av de befintliga reningsprocesserna. Vi nådde inte hela vägen fram för att presentera ett färdigt koncept. Men när det lyckas kan flera kretslopp slutas och fossila råvaror stanna i marken.

Det var inte möjligt att nå tillräckligt hög halt PHA i befintlig biomassa från Gruvöns bruk för att kunna extrahera polymeren med högt utbyte och ekonomisk vinst. Det finns möjligheter att påverka bakteriekulturen genom mindre förändringar i reningsverket och fortsatt utveckling av ackumuleringssteget. Därför bör man på sikt kunna nå drygt 30%. Fortsatt forskning behövs för att nå högre ackumulerade halter.

Ett annat sätt att nå höga halter av PHA är att först bryta ner befintlig biomassa och sedan bygga upp ny under kontrollerade former som gynnar PHA-ackumulerande bakterier. Andra studier visar att det går att nå 60% ackumuleringsgrad i kommunala

slam med den metoden. Ytterligare forskning behövs för att utreda om det går att åstadkomma lika goda resultat med skogsindustriella bioslam.

Extraktion av PHA av tredje part behöver utredas ekonomiskt och kvalitetsmässigt. När projektet avslutas är Bioextrax det mest intressanta valet att samarbeta med.

Möjligheten att bleka biomassa som innehåller PHA behöver utredas mer. I den här studien användes beprövad hypoklorit som blekmedel. Andra blekmedel bör utvärderas för att nå så låg miljöpåverkan som möjligt.

Möjligheten att pressa och sintra pulver av blekt PHA-komposit är en process med många möjligheter. De tidiga resultaten ser lovande ut och det finns förslag på produkter att utvärdera i ett första steg. Såddrör för skogsplantor är en rimlig produkt med rimliga kvalitetskrav som det nya materialet bör kunna leva upp till. Kontakter med företaget som producerar såddröret är tagen och nya projekt utvecklas samtidigt som den här rapporten skrivs. Om materialet håller rätt kvalitet är det nära till marknad för den produkten.

Och vi behöver fortsätta utvärdera framtida produktion och affärsmodeller

## Projektkommunikation

Att tillverka biopolymer ur skogsindustriella avfall intresserar många. Bl.a studenter, media och branschorganisationer. Vi har blivit inbjudna att berätta om det i flera olika media och vi har spridit generell information om projektet.

### **Inom BillerudKorsnäs**

8 april 2019 hölls ett större informationsmöte på Gruvöns bruk. Vi presenterade bakgrund och förklarade hur PHA-produktion går till. Vi informerade också om var vår pilotanläggning skulle stå och vilka behov av analyser mm som projektet vi skulle få. (Men under våren 2020 stängdes Gruvöns bruk för besökare och försöken flyttades till Kau)

**Barnens universitet.** På Karlstads universitet bjuder vi in barn 8 - 12 år till barnens universitet. Hösten 2018 berättade jag om bakteriers förmåga att producera biologiskt nedbrytbar plast. Barnen fick också ge förslag på nytt namn till polymeren för att skilja den från vanlig plast. Vi fick > 100 olika förslag :0)

**Filmer för gymnasieelever.** Varje år marknadsför universiteten sina utbildningar mot gymnasieelever. I årets (2021) digitala informationskampanj valde Kau att låta Bulldozer reklambyrå att göra film om två av Kaus forskningsområden varar vår polymerforskning var den ena. Filmen publicerades på den nationella hemsidan och kan ses av landets alla gymnasieelever.

<https://digitala-utställningen.ungaforskare.se/partner/biologiskt-nedbrytbar-plast---sa-funkar-det/>

I oktober 2019 besökte dåvarande **klimat- och miljöminister** Isabella Lövin miljöpartiet i Karlstad. I hennes program ingick en presentation av vårt projekt. De besökte Gruvöns bruk och fick en visning av pilotanläggningen.

Resultaten från projektets omfattande experimentella ... håller på att bearbetas för att publiceras i **vetenskapliga** tidskrifter. Hittills har resultaten redovisats vid 6<sup>th</sup> Mixed Culture PHA WorkshoPp at the 3rd IWA Resource Recovery Conference I Venedig September 2019. Titeln för presentationen var: PHA production from pulp and paper wastewater.

I lokalpressen har vi förekommit i bl.a Nya Wermlands tidning. Bioplast med slam som råvara inte olja. 2018-12-13. <https://www.nwt.se/2018/12/13/bioplast-med-slam-som-ravara-inte-olja/>

## Referenser

1. Sabapathya PC, Devaraj S, Meixner K, Anburajan P, Kathirvel P, Ravikumar Y, et al. Recent developments in Polyhydroxyalkanoates (PHAs) production – A review. *Bioresource technology*. 2020;306:123132.
2. Simon B, Alan W, Visser C, Korving L. PHARIO: STEPPING STONE TO A SUSTAINABLE VALUE CHAIN FOR PHA BIOPLASTIC USING MUNICIPAL ACTIVATED SLUDGE Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer; 2017.
3. Sandberg M, Bengtsson S, Pawar S, Werker A, Willquist K, Govindarajan V. Novel biotechnical cascade concept to upgrade pulp and paper residues to hydrogen gas and polyhydroxyalkanoate (PHA). In: Elsevier, editor. *ECO-BIO 2018*; Dublin Ireland: Elsevier; 2018.
4. Arcos-Hernandez MV, Gurieff N, Pratt S, Magnusson P, Werker A, Vargas A, et al. Rapid quantification of intracellular PHA using infrared spectroscopy: An application in mixed cultures. *Journal of Biotechnology*. 2010;150:372-9.
5. Eriksson J. Miljöpåverkan av bioplast från skogsindustriellt avloppsvatten. och kemivetenskaper; 2020.
6. Andreas H. Bioplastproduktion från skogsindustriellt avloppsvatten. Karlstads universitet: ingenjör- och kemivetenskaper; 2020.
7. Maria AA, Perrine L, Hanke HG. Top Marine Beach Litter Items in Europe A review and synthesis based on beach litter data A review and synthesis based on beach litter data. European Commission; 2018. Contract No.: Report number: EUR29249.
8. Kourmentza C, Placido J, Venetsaneas N, Burniol-Figols A, Varrone C, Gavala HN, et al. Recent Advances and Challenges towards Sustainable Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production. *Bioengineering (Basel)*. 2017;4(2):55.

9. Hanna W. Produktion av polyhydroxyalkanoater (PHA) från massa- och pappersindustriellt avloppsvatten  
Temperaturens inverkan på bakteriernas förmåga att ackumulera PHA. Karlstads universitet, ingenjör- och kemivetenskaper; 2020.
10. Simona O, Luisa CA, Cristian T, Chiara S, Paola G, Claudia V, et al. Innovative and Sustainable Production of Biopolymers. In: Tolio T, Copani G, Terkaj W, editors. Factories of the future The Italian Flagship Initiative 2019.

## Bilagor

- Bilaga 1 Administrativ bilaga
- Bilaga 2 Examensarbeten av Hanna Wänglöf,
- Bilaga 3 rapport Franziska Diebel
- Bilaga 4 rapport Jeanne Le Guern
- Bilaga 5 med sekretess. Affärsmodell utarbetad med Business Modell Canvas
- Bilaga 6 med sekretess. Simon Bengtsson och Alan Werker Promiko AB. ”Strategier och potential för integrering av PHA-produktion i processvattenreningen vid Gruvöns bruk”