



NIBIO

NORSK INSTITUTT FOR
BIOØKONOMI

Løkbiogass

Vurdering av energieffektivitet av biogassanlegg og effekt av biogassprosessen på overlevelse av løkhvitråte

NIBIO RAPPORT | VOL. 5 | NR. 116 | 2019



Roar Linjordet¹ Vinh, Hong Le², Belachew Asalf²

Divisjon for Miljø og naturressurser¹, Divisjon for Bioteknologi og plantehelse²

TITTEL/TITLE

Vurdering av energieffektivitet av biogassanlegg og effekt av biogassprosessen på overlevelse av løkhvittråte (Løkbio-gass)

FORFATTER(E)/AUTHOR(S)

Roar Linjordet¹; Vinh Hong Le² og Belachew Asalf²

¹Divisjon for Miljø og naturressurser; ²Divisjon for Bioteknologi og plantehelse, NIBIO

DATO/DATE:	RAPPORT NR./ REPORT NO.:	TILGJENGELIGHET/AVAILABILITY:	PROSJEKTNR./PROJECT NO.:	SAKSNR./ARCHIVE NO.:
16.10.2019	5/116/2019	Åpen	51145	19/00289
ISBN:	ISSN:	ANTALL SIDER/ NO. OF PAGES:	ANTALL VEDLEGG/ NO. OF APPENDICES:	
978-82-17-02508-8	2464-1162	11		

OPPDRA GSGIVER/EMPLOYER:

Lena-Valle Videregående skole

KONTAKTPERSON/CONTACT PERSON:

Morten Henry Kleven

STIKKORD/KEYWORDS:

Biogass, husdyrgjødsel, løk, samråtning, løkhvittråte

FAGOMRÅDE/FIELD OF WORK:

Bioressurser

SAMMENDRAG/SUMMARY:

Dette forsøket hadde som primærformål å undersøke produksjonshastighet og energiutbyttet av en blanding av storfegjødsel og løk ved to ulike temperaturer, 41 og 55 grader. Det var liten forskjell på metanutbyttet ved de to temperaturer som betyr at energiutbyttet var høyest ved 41 grader. Hvis belastningen kan økes ved 55 grader kan dette forholdet endres, men høyt svovelinnhold kan gjøre det nødvendig å ta noen forbehold. Et annet, og minst like viktig formål var å gjøre et innledende forsøk med en planteskadegjører. Løkhvittråte, forårsaket av *Stromatinia cepivora* syn. *Sclerotium cepivorum*, er en karanteneskadegjører i Norge, og løkhvittråte er funnet hos flere løkprodusenter i landet. Vi fant ingen spiring av soppen på syntetisk og spesielt ved 41 grader var soppsporene sterkt angrepet av andre mikroorganismer. Det syntetiske mediet inneholder ikke nødvendigvis alle faktorer som kan trigge vekst til skadet sopp så vi kan ikke garantere biogassprosessen effektivitet på overlevelse av soppsporer før effekt på overlevelse av løkhvittråte er undersøkt i pottforsøk med løk.

**NIBIO**NORSK INSTITUTT FOR
BIOØKONOMI

LAND/COUNTRY: Norge
FYLKE/COUNTY: Oppland
KOMMUNE/MUNICIPALITY: Østre Toten Kommune
STED/LOKALITET: Lena-Valle

GODKJENT /APPROVED



TRINE EGGEN

PROSJEKTLEDER /PROJECT LEADER



ROAR LINJORDET



Innholdsfortegnelse

1 Innledning.....	5
2 Materialer og metoder	6
3 Resultater og diskusjon	9

1 Innledning

Alle drøvtyggere går rundt med en biogassreaktor i magen. Uten tilgang på luft brytes organisk materiale ned til sukker, organiske syrer (fettsyrer og aminosyrer), alkoholer, og biogass (99 % karbondioksid og metan) i vomma til kua. Kua gjør seg nytte av en stor del av det fordøyelige materialet så mye av metanpotensialet i fôret blir borte underveis, men kumøkka inneholder alle de mikroorganismene som trengs i en menneskeskapt biogassreaktor. Fersk kumøkk er derfor ypperlig egnet som startkultur for en biogassreaktor. Kumøkka inneholder fortsatt mye organisk materiale, men en stor del er tungt fordøyelig, og en god del er ikke fordøyelig uten tilgang på oksygen, slik at biogassproduksjonen vil være relativt beskjeden. Ved tilsetning av lettomssettelige avlingsrester som ikke egner seg til mat eller fôr kan imidlertid biogassproduksjonen økes betydelig. Jo høyere temperatur dess forttere går prosessen opp til ca 60 grader celsius. Et annet, og minst like viktig formål var å gjøre et innledende forsøk med en planteskadegjører. Det er velkjent at innholdet av både ugrasfrø og sykdomsfremkallende organismer reduseres betydelig i en biogassprosess, selv ved omgivelsestemperatur. Løkhvitråde, forårsaket av *Stromatinia cepivora* syn. *Sclerotium cepivorum*, er en av de mest ødeleggende skadegjørere på løkvekster i hele verden. Det er en karanteneskadegjører i Norge, og løkhvitråde er funnet hos flere løkprodusenter i landet. Det er viktig å unngå spredning av soppen med organisk gjødsel. Løkhvitråtesoppen danner små hvileknoller (sklerotier) 0.25-0.6 mm i diameter. Hvileknollene til løkhvitråde kan overleve i jorda i minst 20 år, og de er vanskelige å bekjempe. Faktorer som påvirker overlevelse av plantepatogener generelt er temperatur, fuktighet, giftige stoffer, flyktige stoffer, organiske syrer, ammonium og andre klima og jord forhold. Mikrobiell antagonisme i kombinasjon med nevnte faktorer kan være veldig viktig. Parasittiske og patogene organismer vil ofte tape i kampen mot saprofyttiske organismer som lever av dødt organisk materiale. En fordel med en biogassreaktor er at temperaturen vil være den samme i hele reaktoren. I tillegg produseres en god del flyktige organiske syrer, og ved pH over 7,5 vil mye av nitrogenet foreligge som ammoniakk. Dette motiverte til nærmere undersøkelse av biogassprosessens virkning på overlevelse av løkhvitråde og om denne prosessen kan være en metode som vil være bedre egnet enn kompostering til å redusere risiko for spredning av soppen ved bruk av ferdig utrånnet materiale, også kalt digestat, som biogjødsel.

2 Materialer og metoder

Forsøkene ble delvis gjennomført i Biogasslaboratoriets lokaler på Vollebekk i Ås, mens dyrking av løkhvitråtesopp ble gjennomført ved Avdeling for soppsjukdommer i jord, skog og hagebruk ved Divisjon for bioteknologi og plantehelse.

Storfegjødsel var fra Tomb videregående skole som ble oppbevart ved 4°C.

Løkvfall var fra Johan Arild Hveem. Dette ble malt opp, veid opp i daglige doser, lagt i plastposer og frosset ved -18 °C.

Reaktorbeskrivelse

Dette forsøket hadde som primærformål å undersøke produksjonshastighet og energiutbyttet av en blanding av storfegjødsel og løk ved to ulike temperaturer, 41 og 55 grader. I tillegg ble det kjørt en kontrollreaktor med ren storfegjødsel ved 41 grader. Forsøket ble gjennomført i 20 liters reaktorer (15 liter arbeidsvolum) som ble foret og tappet en gang om dagen. Det ble kjørt med en oppholdstid på 15 dager (18 dager for kumøkk) og en organisk belastning på 3 gram per liter per dag der løken bidro med 30%. Det er vanlig å beregne en driftstid på minst 3 oppholdstider, dvs 45 dager i dette tilfellet.



Figur 1. Biogassreaktorer brukt i forsøket (foto Roar Linjordet).

Tabell 1. Mengder tilført reaktoren daglig og totalt.

Tilført	kumøkk	løk	ku+løk
gram våtvekt/reaktor/dag	841,3	130,6	971,9
gram tørrstoff/reaktor/dag	43,6	14,3	57,8
gram OM/reaktor/dag	31,5	13,5	45
Sum gram OM 43 dager	1355	581	1935
gram OM/L reaktor/dag	2,1	0,9	3

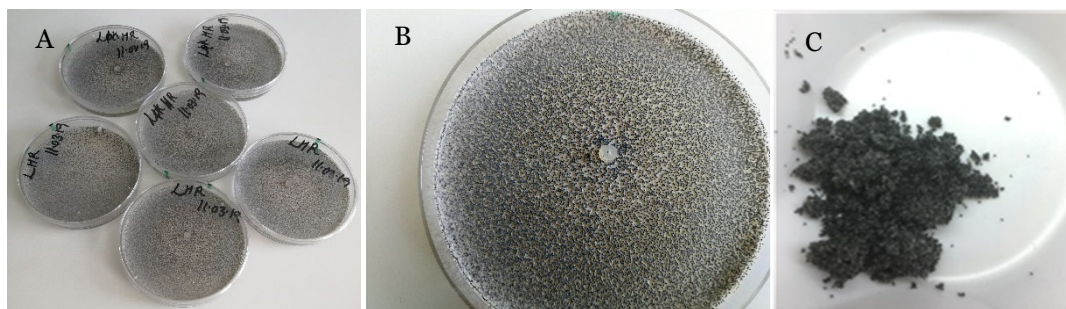
Kritisk parameter er mengde organisk materiale (OM) pr liter reaktor (arbeidsvolum 15 L) pr dag. I en totalomrørt reaktor ligger den vanligvis på 3 g OM pr liter pr dag.

Framstilling av løkhvitråtepreparater

Hvileknoller (sklerotier) av løkhvitråtesopp var fra NIBIOs kultursamling. Det ble laget sklerotier av løkhvitråte, og testet for overlevelse. Antec reaktoren som er en «plug flow» reaktor med oppholdstid

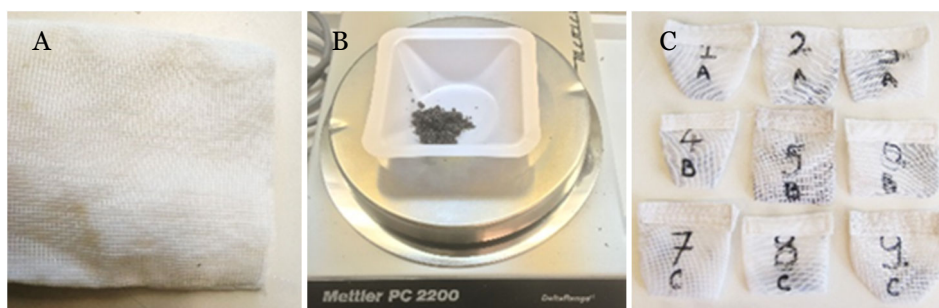
på 10 dager ble simulert ved å tilsette sporepreparatet 10 dager før slutt slik at alle sklerotier fikk en oppholdstid på 10 dager også i våre totalomrørte laboratoriereaktorer.

Dyrking av sklerotier: To forskjellige årganger av friske nye (2 måneder gammel), og friske gamle (4 år) sklerotier av løkhvitråte ble brukt i forsøket. «Gammel» løkhvitråte sklerotier var dyrket i 2015, tørket og lagret ved rom temperatur hos NIBIO. Friske sklerotier var dyrket på potet dekstrose agar (PDA) i 2019 (Figur 2). Løkhvitråte mycel var overført på PDA i skåler den 11.03.2019.



Figur 2. A og B) sklerotier i PDA (foto: Belachew A.) og C) sklerotier etter tørking i rom temperatur (foto: Vinh).

Plassering av sklerotier i nylonposer: Nylonpose var spesielt laget til forsøket. Posen var dobbelt lags. Inn- og ytterlaget har maskevidder henholdsvis $250 \times 250 \mu\text{m}$ og $700 \times 900 \mu\text{m}$ (figur 3A). Sklerotier ble veid ut (figur 3B) og plassert inne i posene før åpningen ble sydd sammen (figur 3C).



Figur 3. A) Nylonpose. B) Innveiling av Sklerotier C) Sklerotier plassert inne i poser, sydde og klar for forsøket (foto: Vinh).

Behandlings kombinasjoner: Digestat av storfe gjødsel og løk (ca 300-350 ml) fra reaktorene ble overført til 500 ml flasker (figur 4A). Kontrollflasker inneholdt bare vann. Den 02.05.2019, ble poser som inneholdt løkhvitråte sklerotier plassert inne i flaskene og inkubert på 41 eller 55 grader (figur 4 C og D). Behandlings kombinasjoner var:

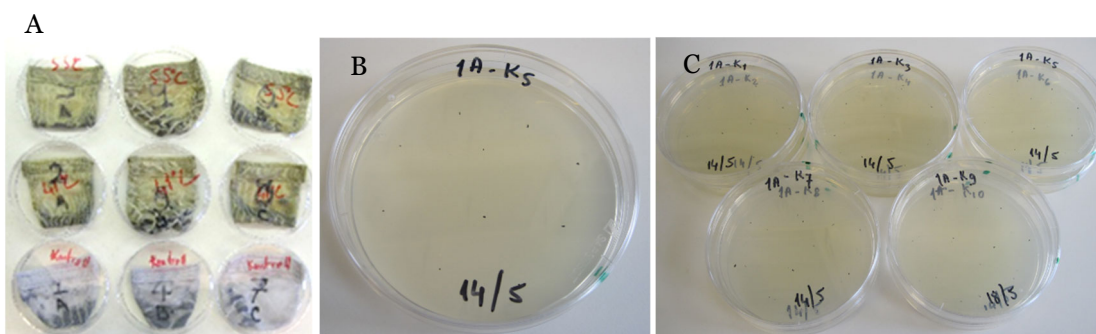
- 4 år gammel sklerotier + storfe gjødsel + 41 °C
- 2 måneder sklerotier + storfe gjødsel + 41 °C
- 4 år gammel sklerotier + storfe gjødsel + 55 °C
- 2 måneder sklerotier + storfe gjødsel + 55 °C
- Kontroll (4 år gammel sklerotier + vann + 55 °C)
- Kontroll (2 måneder gammel sklerotier + vann + 55 °C)



Figur 4. A) Flasker med digestat og poser med sklerotier. B) Flasker med vann og poser med sklerotier. C) Flasker og sklerotier i 41 °C ovn. D) Sklerotier i vann (kontroll) og i digestat i 55 °C ovn. E) inkubatorskap brukt i forsøket.

Utprøving av overlevelse av løkhvitråde: Etter 11 dager behandling i simulert bio-reaktor ble poser med sklerotiene tatt ut 13.05.2019. Posene var vasket i rennende springvann for å kvitte seg med grovt materialer fra bio-reaktor før de ble åpnet (figur 5 A). Sklerotiene ble først overflatedesinfestert i 1 minutt vha 75% alkohol og etterfulgt av 2 ganger skylling i sterilt destillert vann før de ble lagt til luft tørking i sterilbenk. Deretter ble et tilfeldig utvalg på 150 sklerotier overført til PDA vekstmedium og inkubert under laboratoriebetingelser for å sjekke overlevelse. Det var ca.15 sklerotier per Petriskål (figur 5B). Det var 10 skåler med pseudogjentak/parallell (figur 5C). Spiring eller myceldannelse og infeksjon av sklerotier med andre organismer (bakterier) ble registrert den 20., 24., og 27.mai, samt 3. juni 2019. Totalt ble ca. 900 løkhvitråtesklerotier overført til PDA for testing av spiring.

I tillegg til sklerotier fra løkhvitråde, ble også sklerotier fra storknolla råtesopp testet for spireevne på dette mediet.



Figur 5. A) Posene etter vask i rennende springvann. B) sklerotier på PDA i Petriskåla. C) pseudogjentak/parallell 10 skål per behandling.

3 Resultater og diskusjon

Biogass

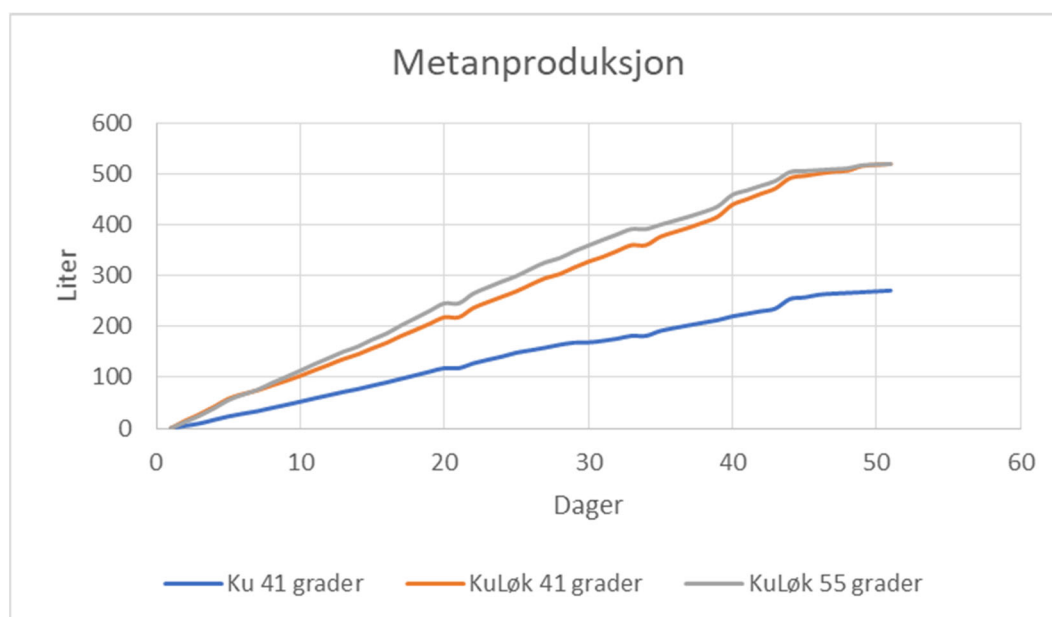
Legg merke til at løken gir mer enn dobbelt så høyt utbytte som ren storfe gjødsel (Tabell 2). Dette skyldes delvis at kumagen også er en biogassreaktor, men er også avhengig av hvordan og hvor lenge gjødsla er lagret. Kolonnen løk inneholder tall beregnet på grunnlag av tall fra høyre og venstre kolonne. Da har vi forutsatt at vi ikke får samspillseffekter når vi blander kumøkk og løk. Vi har ikke kjørt løk alene (det er antagelig ikke mulig).

Tabell 2. Volum metan produsert pr reaktor pr dag og utbyttet pr gram OM

Produsert	Temperatur	kumøkk	løk	ku+løk
Liter Metan produsert/reaktor/dag	41	5,4	5,1	10,5
Milliliter Metan produsert/g OM/dag	41	172	375	233
Liter Metan produsert/reaktor/dag	55	5,7	5,1	10,8
Milliliter Metan produsert/g OM/dag	55	181	375	239

Gassvolum ved STP betingelser (1 atm, 0 °C)

Vi hadde ingen ren husdyrgjødselreaktor som gikk på 55 grader, men antar at løken ble omtrent like fort nedbrutt ved 41 grader som ved 55 grader. I så fall har høyere temperatur først og fremst betydning for nedbrytning av storfe gjødsel. Et metanutbytte på 230 mL/gram OM tilsvarer ca. 2300 kWh/tonn OM eller 106 kWh/tonn våtvekt i dette tilfellet. Med litt mindre vanninnhold i husdyrgjødsel vil energiutbyttet på våtvektbasis øke tilsvarende. Hvis vi f.eks. regner om til 10% tørrstoff av blandingen så tilsvarer dette ca. 180 kWh/tonn. For å sikre 10 dagers oppholdstid for hele biomassen i en Antec reaktor vil det være nødvendig å unngå en tyntflytende husdyrgjødsel. Grisemøkk beatår gjerne av en tyntflytende del og en fastere del og bør blandes med storfe gjødsel for å lage en mer homogen masse.



Figur 6. Akkumulert metanproduksjon i 52 dager. Etter dag 43 ble det ikke foret mer

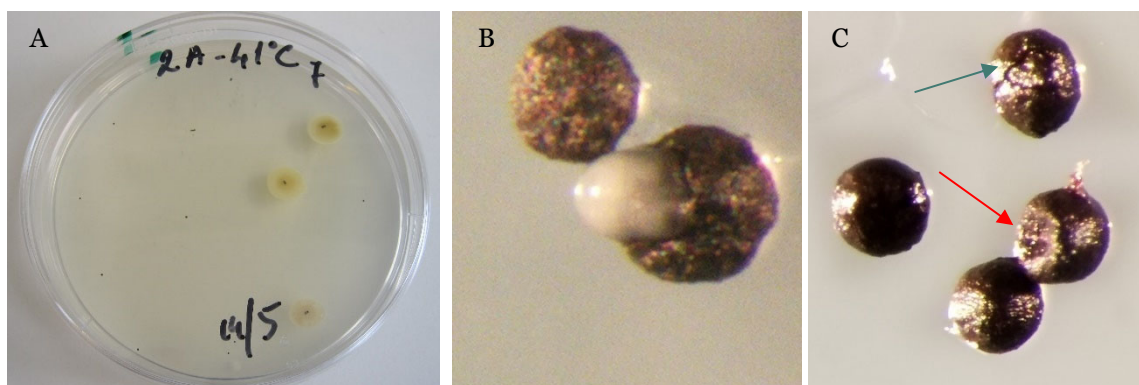
At det er så liten forskjell mellom de to temperaturene tyder på at vi kjører med overkapasitet (figur 6). I utgangspunktet hadde vi tenkt å kjøre med en oppholdstid på 20 dager, men dette ville antagelig gitt enda mindre forskjell mellom de to temperaturene. Liten syreproduksjon i den termofile reaktoren tyder på at vi kunne kortet ned oppholdstiden eller økt belastningen. Askeinnholdet i fersk kumøkk ligger vanligvis på ca 15%. Den vi hadde til rådighet hadde et askeinnhold på ca 28% som kunne tyde på at den var nesten ferdig utrånnet. Dette var uventet og ble testet flere ganger med samme resultat. Likevel var gassutbyttet like høyt som det vi får med fersk kumøkk (33-37%). Dette kan bety at den har ligget og gjæret og produsert mye bra substrat godt egnet til biogassproduksjon.

Den siste uka ble det ikke foret og vi ser da at 41 graders reaktoren nesten tar igjen 55 graders reaktoren. Dette skyldes først og fremst at «maten» i 55 graders reaktoren blir raskere omsatt enn maten i 41 graders reaktoren. Men det kan også se ut til at det er noe avtagende produksjon i 55 graders reaktoren etter 35 dager. En mulig forklaring på dette er det høye svovelinnholdet i løken. Biogassen inneholdt derfor 2500 ppm hydrogensulfid (H_2S), mens den for storfe gjødsel vanligvis ligger på under 1500 ppm. H_2S er en svak syre og sulfid (S^{2-}) bindes så sterkt til divalente metallioner at disse blir lite tilgjengelige for bakterier og metanproduserende arker (en arke ser ut som en bakterie, men utgjør en helt egen gruppe). For metanproduserende arker kan det fort bli mangel på jern, kobolt og nikkell hvis substratet inneholder mye svovel. Denne virkningen kan i mange tilfeller motvirkes ved å tilsette jernklorid, eventuelt en blanding av spormetaller. I forsøk vi har gjennomført med matavfall kunne vi kjøre med belastninger helt opp i 12 g OM/L/dag i over et år før prosjektet måtte avsluttes. Løk virker såpass lett omsettelig at vi kan få for mye syreproduksjon hvis belastningen økes for mye.

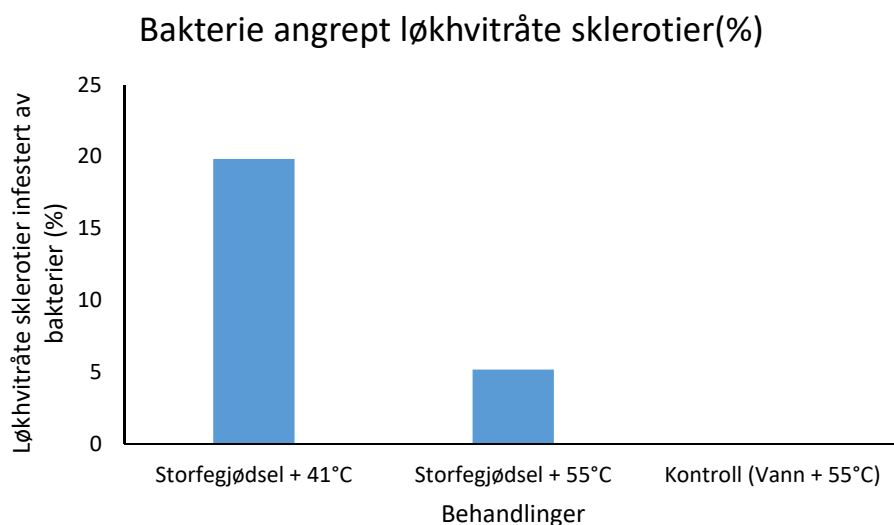
Løkhvitråte

Nylonposer med hvileknollene (sklerotier) ble inkubert ved 41 og 55 grader i flasker med rent vann, råtnerest fra 41 grader og 55 grader i 10 dager.

Det var ingen spiring eller myceldannelse av løkhvitråtesklerotier i digestat, verken ved 41°C eller 55 °C innenfor forsøksperioden på tre uker. Det var ingen spiring i kontrollen (Vann + 55 °C). Det ble observert bakterieinfeksjon av sklerotier lagret i digestat ved begge temperaturer (figurer 7A og B, figur 8), og i større grad på 41 °C enn 55 °C (figur 8). Kontrollen var ikke infisert (figur 8). Det var en tendens at friske (2 måned gammel sklerotier) var mer utsatt for bakterie infeksjon enn 4 år gamle sklerotier. Noen sklerotier ser ødelagt, sprukket eller deflatert ut (figur 7 C).



Figur 7. A) Løkhvitråte sklerotier og bakterieinfiserte sklerotier på PDA i skål. B) Bakterie på løkhvitråte sklerotie. C) Løkhvitråte sklerotier sprukket (blå pil) eller deflatert (ser ut som flat ball, rød pil).



Figur 8. Bakterie angrepet løkhvitråte sklerotier (%).

Resultatene tyder på at begge temperaturer alene tar knekken på soppen ved inkubering i 10 dager. Forsøket ble gjennomført på syntetiske media (PDA) på korttids observasjon, så det vil være viktig å bekrefte effekt av behandlinger på overlevelse av løkhvitråte på løk.

Konklusjon

Biogass

Selv om syrenivået i reaktorene tyder på at belastningen og/eller andelen løk kan økes, spesielt ved 55 grader, bør man være forsiktig med dette på grunn av det høye svovelinnholdet og økt syreproduksjon. Det kan gjøres forsøk i laboratoriet med tilsetning av jernklorid og andre spormetaller. Deretter kan det gjennomføres forsøk med økt belastning i fullskala. Noen ganger kan sjokkbelastning være en vellykket strategi til å dyrke fram en syretolerant mikroflora, men den må også få sjansen til å «restituere». Andre ganger kan en langsom tilpasning til økt belastning være bedre.

Løhvitråte

Når det gjelder forsøk med løkhvitråte bør det også gjøres pottforsøk med løk. PDA mediet inneholder ikke nødvendigvis alle faktorer som kan trigge vekst til skadet sopp så vi kan ikke garantere biogassprosessens effektivitet på overlevelse av sopp sporer før en slik studie er gjennomført. Det kan ikke utelukkes at hvileknollene kan spire i jorda etter stimulans fra løkvekster ved at de for eksempel kan avgi di-propyl disulfid. Resultatene fra denne studien kan tyde på at 41 grader kan være en sikrere prosessstemperatur siden en får dyrket fram en mer mangfoldig mikroflora som kan angripe skadelige inntrengere.

Norsk institutt for bioøkonomi (NIBIO) ble opprettet 1. juli 2015 som en fusjon av Bioforsk, Norsk institutt for landbruksøkonomisk forskning (NILF) og Norsk institutt for skog og landskap.

Bioøkonomi baserer seg på utnyttelse og forvaltning av biologiske ressurser fra jord og hav, fremfor en fossil økonomi som er basert på kull, olje og gass. NIBIO skal være nasjonalt ledende for utvikling av kunnskap om bioøkonomi.

Gjennom forskning og kunnskapsproduksjon skal instituttet bidra til matsikkerhet, bærekraftig ressursforvaltning, innovasjon og verdiskaping innenfor verdikjedene for mat, skog og andre biobaserte næringer. Instituttet skal levere forskning, forvaltningsstøtte og kunnskap til anvendelse i nasjonal beredskap, forvaltning, næringsliv og samfunnet for øvrig.

NIBIO er eid av Landbruks- og matdepartementet som et forvaltningsorgan med særskilte fullmakter og eget styre. Hovedkontoret er på Ås. Instituttet har flere regionale enheter og et avdelingskontor i Oslo.