

# Fundamentele kennis over biofilms belangrijk voor toepassen microbiologische processen

**Citation for published version (APA):**

Heuvel, van den, J. C., & Ottengraf, S. P. P. (1990). Fundamentele kennis over biofilms belangrijk voor toepassen microbiologische processen. *Biotechnologie in Nederland*, 3, 87-89.

**Document status and date:**

Gepubliceerd: 01/01/1990

**Document Version:**

Uitgevers PDF, ook bekend als Version of Record

**Please check the document version of this publication:**

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

**General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.tue.nl/taverne](http://www.tue.nl/taverne)

**Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[openaccess@tue.nl](mailto:openaccess@tue.nl)

providing details and we will investigate your claim.

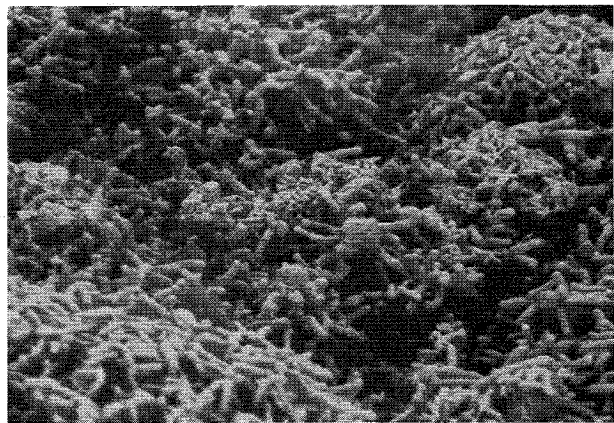
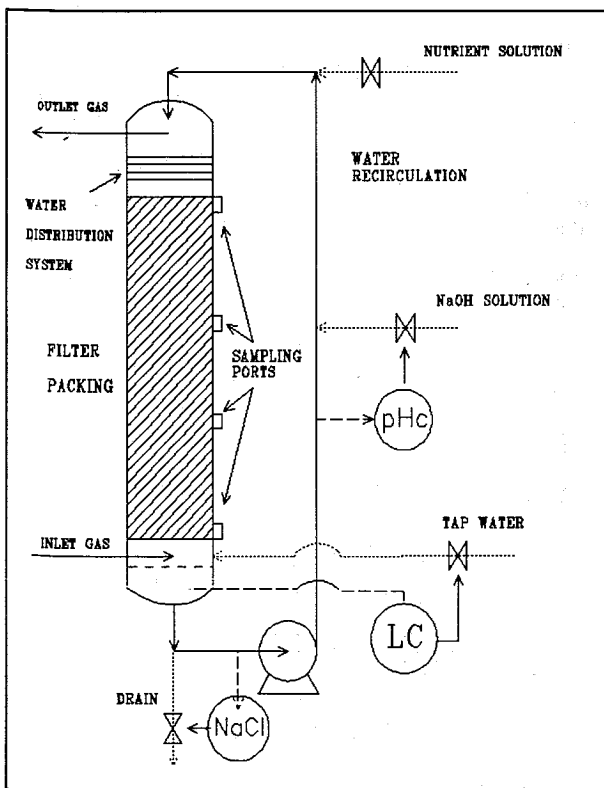
met name in het lage concentratie gebied (<10000 ppm) zekere voordelen.

In de jaren tachtig heeft het onderzoek naar biologische gasreinigingssystemen zich toegespitst op het ontwikkelen van de zogenoemde 'biofiltratiebedden', met name ten aanzien van geschikte dragermaterialen en het toepassen van speciale cultuures voor de afbraak van specifieke componenten. Een dergelijk gas/vast filterbed bestaat uit een pakking (b.v. compost of turf al dan niet gemengd met structuurverbetersaars) waarop een microbiële flora is geïmmobiliseerd, die in innig contact wordt gebracht met de verontreinigde gasfase. Vanuit deze gasfase vindt overdracht plaats van verontreinigende componenten naar de biolaag, gevolgd door een diffusioneel transport en simultane afbraak in deze laag. De drijvende kracht voor stoftransport wordt op deze wijze in stand gehouden, waardoor in tegenstelling tot b.v. actief-koolfilters een voortdurende regeneratie van het filtermateriaal plaatsvindt.

Uitgebreid onderzoek op laboratorium- en semitechnische schaal heeft in de afgelopen tien jaar geleid tot optimalisatie van het proces en het opstellen van betrouwbare ontwerpregels. Op basis hiervan zijn inmiddels vele tientallen installaties op commerciële schaal in verschillende takken van de industrie gerealiseerd, o.a. in de voedings- & genotmiddelenindustrie, de chemische & farmaceutische industrie, de geur- & smaakstoffenindustrie en in rioolwaterzuiveringsinstallaties.

In het huidige onderzoek is de aandacht vooral gericht op het elimineren van milieuvreemde, 'recalcitrante' verbindingen uit afgassen, waartoe o.a. gehalogeneerde koolwaterstoffen behoren. Weliswaar is men er in toenemende mate in geslaagd stammen te adapteren en isoleren die voldoende stabiel en actief zijn om toe te passen in gasreinigingssystemen, maar de zaak is hier extra gecompliceerd door het ontstaan van zure, inhiberende producten (o.a. HCl). Toepassing van alkalische toeslagstof-

**Schematische weergave van EEN BIOLOGISCH TRICKLINGFILTER. De resultaten op laboratoriumschaal (met de systemen dichloor-methaan/*Hyphomicrobium* sp. en 1,2 dichloor-ethaan/*Xanthobacter*, *Pseudomonas*, zijn uitermate bemoedigend.**



**HYPHOMICROBIUM GJ21, geïmmobiliseerd op een drager. Op laboratoriumschaal kan dit micro-organisme gasvormig dichloormethaan afbreken**

fen (bijvoorbeeld  $\text{CaCO}_3$ ) aan het pakkingsmateriaal van een biofilter is slechts effectief bij een geringe belasting met verzurende componenten. Op termijn leidt de accumulatie van het neutralisatieproduct echter eveneens tot inhibitie (bij een concentratie  $\text{CaCl}_2$  groter dan 50mM).

Om aan deze bezwaren tegemoet te komen, vindt op dit moment onderzoek plaats naar de ontwikkeling van een biotrickling filter (zie onderstaande figuur), waarin een waterige fase continu wordt gerecirculeerd over een inerte pakking met een geïmmobiliseerde biolaag. Hierdoor is een continue controle en regulatie van de pH van het waswater mogelijk, en een afvoer van het gevormde neutralisatieproduct ( $\text{NaCl}$ ). De resultaten op laboratorium-schaal met de systemen dichloormethaan/*Hyphomicrobium* sp. (zie bovenstaande figuur) en 1,2-dichloorethaan/*Xanthobacter*, *Pseudomonas* zijn uitermate bemoedigend. Aandachtspunten in het onderzoek zijn o.a. de stabiliteit, effectiviteit en optimalisatie van het proces, de invloed van de fysische parameters (o.a. de gas- en vloeistofsnelheid, organische belasting, temperatuur, pH), het bestuderen van inhibitie-effecten, het opstellen van schaalvergrotingsregels etcetera.

In de loop van het jaar zal onze vakgroep in samenwerking met Clairtech bv te Utrecht een demo-project starten op semitechnische schaal

Prof.ir. Simon P.P. Ottengraf & ir. Rob M.M. Diks,  
Vakgroep Chemische Proceskunde, TU Eindhoven.

## Fundamentele kennis over biofilms belangrijk voor toepassen microbiologische processen

Veel (semi-)continue biotechnologische processen worden economisch interessant door selectieve retentie van de actieve biokatalysator in de reactor via spontane of kunstmatige immobilisatie. Hierdoor zijn enerzijds hoge volumebelastingen mogelijk, terwijl anderzijds relatief eenvoudige scheidingsprocessen zijn toe te passen voor de opwerking van het product. De uitwisseling van reactanten tussen de fluïde fase en de biofilm draagt in de regel een zuiver diffusioneel karakter en vormt daardoor vaak de snelheidsbeperkende stap in het proces. De afdeling Bioprocesskunde van de vakgroep Chemische Technologie aan de Universiteit van Amsterdam verricht onderzoek naar transportverschijnselen in dergelijke heterogene biologische systemen. Uitgangspunt daarbij is dat de

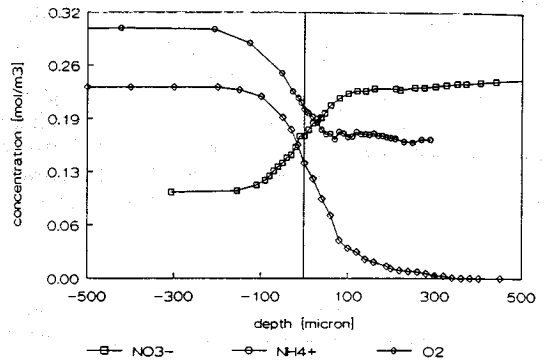
Op de een of  
andere manier  
heb ik altijd  
tijd voor m'n  
vakbladen...

Dit is een publicatie van de Nederlandse Organisatie van Tijdschrift-Uitgevers



'N BLAD IS EEN RELATIE.

**NITRIFYING BACTERIAL AGGREGATES  
OXYGEN, AMMONIUM AND NITRATE GRADIENTS**



**GRADIËNTEN VAN NITRAAT, AMMONIUM EN ZUURSTOF, met micro-elektroden gemeten in aggregaten van nitrificerende bacteriën.**

fundamentele kennis over de mechanismen die een rol spelen in biofilms, van doorslaggevend belang zijn voor het ontwerp, de schaalvergroting en de uitvoering van microbiologische processen.

**Intern stoftransport in enzymsystemen en biofilms**

Voor het meten van gradiënten in biofilms is gebruik gemaakt van gedeeltelijk zelf ontwikkelde micro-elektroden voor H<sup>+</sup>, O<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, met een tipdiameter van 1 micrometer. De experimentele techniek is getest aan agarbolletjes met daarin geïmmobiliseerde urease; de metingen waren geheel in overeenstemming met macro-kinetische metingen. Er zijn gradiënten gemeten in een aantal biologische systemen: zuurvormers, methaanvormers, meerbodems, biologische gasfilters en

Willy,  
aren't you supposed  
to sequence today?

Yes,  
I'm busy

**APPLIED BIOSYSTEMS  
TAKES WORK OUT OF  
YOUR HANDS.**

(de)nitrificerende aggregaten (zie bijgaande *figuur*). De verkregen resultaten maken het mogelijk de biologische activiteit nauwkeurig te lokaliseren, te kwantificeren en mechanistisch te interpreteren. Door de unieke mogelijkheden van micro-elektroden is er veel belangstelling voor dit type onderzoek, en wordt er (inter)nationaal samengewerkt met andere onderzoeksinstituten. Recent onderzoek naar de miniaturisering van enzym-elektroden voor andere relevante substraten heeft geresulteerd in een ook onder anaërobie omstandigheden goed werkende glucose micro-elektrode met een tipdiameter van 8 micrometer.

### Convectieve versnelling van stoftransport

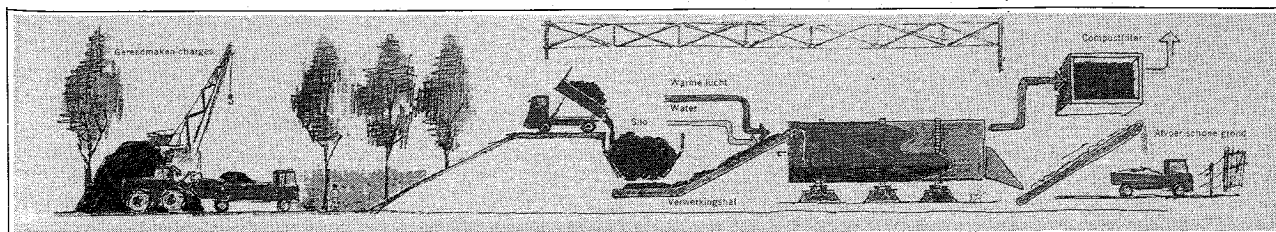
In diffusie-gelimeerde biologische systemen is versnelling van stoftransport onder andere mogelijk doordat gasbelletjes een convectieve vloeistofstroming in de tegenovergestelde richting tot gevolg hebben. Dergelijke effecten zijn zowel in de biofilm zelf, als in de stagnante diffusiegrenslaag aan de vloeistofzijde te verwachten. Doordat metingen in een biologisch systeem worden gecompliceerd door groei, afsterven en het uiteenvallen ten gevolge van gasproductie, is eerst een *anorganisch* modelstelsel bestudeerd. De invloed van de CO<sub>2</sub>-productie door een sterk zure ionwisselaar in een bicarbonaat oplossing is onderzocht in verschillende reactorotypen. Daarbij zijn voor het externe stoftransport in de diffusie-grenslaag versnellingen gevonden van een factor 4. De daarvoor benodigde gasflux aan het oppervlak van het deeltje is te hoog voor een significante bijdrage in systemen met een gesuspendeerde biokatalysator, maar zou wel van belang kunnen zijn voor fixed-film reactoren. □

Dr. J.C. van den Heuvel & Prof.dr. Simon P.P. Ottengraf,  
Laboratorium voor Chemische Technologie & Biotechnologisch  
Centrum UvA.

## Biotechnologische grondreiniging volgens de wet nog niet toereikend

In het kader van de ontwikkeling van bio(techno)logische grondreinigingsmethoden heeft Witteveen+Bos Raadgevende ingenieurs te Deventer onderzoek gedaan naar de reiniging van oliehoudende grond in een biologische trommelreactor (BTR) op praktijkschaal. Doel was het ontwikkelen van een methode waarbij verontreinigde grond onder geconditioneerde omstandigheden bij veldcapaciteit in korte tijd kan worden gereinigd. Het onderzoek was gefaseerd opgezet. Op het laboratorium van Microbiologie van de LU Wageningen is in de periode juli tot november 1988 eerst een *haalbaarheidsonderzoek* uitgevoerd. In die experimenten is gekeken naar de optimale milieucondities voor de biologische afbraak. Uit de experimenten komt naar voren dat de mesofiele afbraak van olie optimaal plaatsvindt bij een temperatuur van 30-35 °C, een vochtgehalte van ca. 10 gewichtsprocent en een stikstofbemesting van 150 mgN

### Het processchema van de GRONDREINIGING IN EEN BIOLOGISCHE TROMMELREACTOR.



per kg droge stof bij een oliegehalte van 5.000 mg/kg d.s.. Onder deze omstandigheden vindt op laboratoriumschaal een volledige olieafbraak plaats (tot minder dan 100 mg/kg d.s.) binnen een tijdsbestek van 2 weken.

Na het opknappen van de trommelreactor door Broerius bv is in juli 1989 de *ontwikkelingsfase* opgestart. De hierbij gebruikte reactor is een voormalige huisvuilcomposteringsinstallatie, aangepast voor grondbehandeling. In deze roterende reactor wordt de grond gemengd en gehomogeniseerd. Een warmeluchtkanon zorgt voor een geschikte temperatuur en voldoende zuurstof. Tevens is een sproeiinstallatie aangebracht. Nutriënten worden op een transportband toegevoegd. (Zie bijgaand *schema* van het reinigingsproces).

In de ontwikkelingsfase zijn batch-gewijs 5 charges van elk 50 ton (natgewicht) met olie verontreinigde grond in de trommel behandeld. Het betrof één benzinehoudende grond, drie dieselhoudende gronden en één grond die verontreinigd was met zowel diesel als motorolie. Daarnaast zijn met 'dieselgrond' twee semi-continue proeven uitgevoerd, met een doorzet van 3,5 ton grond per dag. De totale verblijftijd in de trommel was hierbij gemiddeld 14 dagen. De olieconcentraties in de verschillende gronden varieerden van 1.000 tot 6.000 mg/kg d.s.. Het microbiële afbraakproces in de trommel werd gevolgd en beheerst door middel van periodieke analyses van grond- en luchtmonsters uit de trommel. Op de grondmonsters werden, behalve (chemische) analyses zoals droogrest, humusgehalte, pH, olie, vluchtige aromaten en PAK's, ook (MPN)-tellingen uitgevoerd van de olie-afbrekende microflora. De luchtmonsters werden onderzocht op olie en vluchtige aromaten ten behoeve van het opstellen van een massabalans (afbraak versus vervluchting).

Uit de praktijkproeven komt naar voren dat de olie bij een grondtemperatuur van circa 22 °C gemiddeld binnen een periode van een week wordt afgebroken tot een eindconcentratie variërend van minder dan 50 tot 350 mg/kg droge stof. De microbiële activiteit is hierbij het hoogst in de eerste dagen.

Op grond van de resultaten van de praktijkproeven kunnen we niet garanderen dat met de BTR de A-waarde voor olie wordt gehaald (50 mg/kg d.s.). Hetzelfde geldt in nog sterkere mate voor de landfarmingtechniek, waarbij na twee jaar de olieconcentratie tussen de 500 en 1000 mg/kg d.s. ligt.

Op basis van het huidige beleid moeten we daarom concluderen dat er géén praktische toepassing is voor de bio(techno)logische reiniging van oliehoudende grond. Verder onderzoek is echter beslist aan te bevelen, omdat het in vergelijking met andere methoden een milieuvriendelijke en energie-zuinige techniek is, met als eindproduct een levende en bemeste grond. Het is aan te bevelen in dit verdere onderzoek naast *microbiologische* aspecten ook aandacht te schenken aan een milieuhygiënische *kwaliteitsbeoordeling* van biologisch gereinigde oliegrond. Dit is noodzakelijk omdat bij het afbraakproces aard en samenstelling van de olie verandert. In dit verband is het van belang dat goede ecotoxiciteitstests (bio-assays) en uitloogbaarheidstests worden ontwikkeld om te komen tot een meer genuanceerde en milieuhygiënisch beter onderbouwde normstelling. □

Ir. Ger. P.M. van den Munckhof & drs. Martin F.X. Veul,  
Witteveen+Bos, Raadgevende Ingenieurs, Deventer.