

"OVER-LEVEN AAN DE ONDERKANT VAN HET BESTAAN"

Door Prof. Dr. Ir. Alfons J.M. Stams



WAGENINGEN UNIVERSITEIT

Inaugurele rede uitgesproken op 14 november 2002 in de
Aula van Wageningen Universiteit

Over-leven aan de onderkant van het bestaan

Mijnheer de Rector Magnificus, Dames en Heren,

Iedereen kent wel de puzzeltjes waarbij men uit het bestaande denkpatroon moet stappen om tot een goed antwoord te komen. Op de vraag om met 4 lijnen 9 punten in een vierkant te verbinden zonder de pen van het papier te halen, is men in eerste instantie geneigd de oplossing binnen de geplaatste punten te zoeken. De oplossing wordt echter enkel gevonden wanneer men op het idee komt om de lijnen buiten het kader van de 9 punten te plaatsen. De vraag om met behulp van 6 lucifers 4 gelijkzijdige driehoeken te maken kan enkel opgelost worden wanneer men zich uit de tweede dimensie begeeft en in de ruimte een vierzijdige piramide bouwt. Het antwoord is bijna kinderlijk eenvoudig, en men is achteraf verbaasd dat men dat niet eerder had kunnen bedenken. Het probleem bij het oplossen van dat soort puzzeltjes is het conformistisch denken, het zichzelf opleggen van beperkingen die er niet zijn. Enkel wanneer men afstand kan nemen van het probleem en een voorondersteld kader kan loslaten wordt de oplossing duidelijk. Dat vereist creativiteit en fantasie. Conformistisch denken komt men op allerlei niveaus in de maatschappij tegen. Tijdens de voorbereiding van deze rede stuitte ik op het recent verschenen boek *Ontsnappingskunst* van Hans van de Braak. Dit boek handelt over de evolutie van creativiteit, en de factoren die creativiteit positief en negatief beïnvloeden. Hij stelt: *“Om orde te scheppen in de chaos van het leven zoeken mensen houvast in spelregels, wereldbeelden en theorieën. Maar denkkaders die betekenis aan de*

wereld geven, veranderen makkelijk in kooien. Als denkkaders ons gevangen houden, moeten we ons zelf bevrijden". Ik vind dit een zeer interessante redenering omdat het aangeeft dat bijvoorbeeld wetenschappers, die geacht worden vernieuwend bezig te zijn, beperkt worden door hun eigen denkkaders. Wanneer ze al in staat zijn om zichzelf te bevrijden dan worden ze wel beperkt door het conceptuele beeld dat door anderen opgelegd wordt. Interessant is de discussie hoeveel er nog te ontdekken valt. Hieraan werd aandacht besteed in de laatste uitzending van Noorderlicht. John Horgan is in "The end of science" van mening dat we uitontdekt zijn, terwijl John Maddox in zijn boek "What remains to be discovered" een indrukwekkende lijst presenteert van hetgeen nog te ontdekken valt. In feite hebben beide gelijk. Het boek van Maddox is een opsomming van dingen die nog aan te vullen zijn uitgaande van de huidige kennis. Nieuwe denkkaders worden nauwelijks gegeven. Daarentegen gaat Horgan totaal voorbij aan het feit dat grote nieuwe ontdekkingen achteraf wel verklaarbaar maar vooraf niet voorspelbaar zijn.

Er bestaan grotere en kleinere problemen waarover onderzoekers zich soms jaren kunnen buigen en waarbij het antwoord achteraf bezien voor de hand ligt en maar al te vaak wordt de oplossing gesierd door eenvoud. In de 20 jaar dat ik Microbiologie doe ben ik meerdere van dit soort voorbeelden tegen gekomen. Het zijn deze Kopflanger, zoals de Duitsers het noemen, die voor mij een extra dimensie geven aan de wetenschap. Ik wil hier twee voorbeelden noemen waarbij ik zelf betrokken ben geweest.

In 1988 werd door Tholozan en medewerkers (Appl Environ Microbiol 54: 441-445) beschreven dat in

anaërobe ophopingscultures butyraat gevormd kon worden uit propionaat. Doordat 3-¹³C gelabeld propionaat werd omgezet in 4-¹³C butyraat werd een mechanisme van reductieve carboxylering voorgesteld. Het mechanisme van deze omzetting bleef jarenlang onopgehelderd. In de groep van David Boone werd jaren later een bacterie, *Smithella propionica*, beschreven die in staat bleek om butyraat uit propionaat te vormen (Int J Syst Bacteriol, 1999, 49: 545-556). Deze bacterie kon mogelijk verantwoordelijk zijn voor de eerder waargenomen reductieve carboxylering. De bacterie bleek echter helemaal niet in staat om een reductieve carboxylering uit te voeren, maar bleek te beschikken over een nieuwe route waarbij twee propionaat moleculen aan elkaar gekoppeld worden en vervolgens weer gesplitst wordt in acetaat en butyraat (Appl Environ Microbiol, 2002, 67: 1800-1804). Zoals U ziet een zeer voor de hand liggende oplossing. Kennelijk was het moeilijk om de gedachte los te laten dat één butyraat uit één propionaat gevormd wordt.

Een tweede voorbeeld betreft een extreem thermofiel micro-organisme, *Pyrococcus furiosus*. Dit micro-organisme is in staat suikers af te breken. Er zijn verschillende biochemische routes voor de afbraak van suikers. Een daarvan is de glycolyse. Een enzym dat fructose-6-fosfaat omzet in fructoses-1,6-diphosfaat is zeer karakteristiek voor deze route. Omdat men dat enzym niet kon aantonen in *Pyrococcus* werd verondersteld dat dit micro-organisme een gemodificeerde Entner-Doudoroff route zou bezitten (Arch Microbiol, 1992, 158: 188-202). Door gebruik te maken van gelabelde verbindingen kan men heel gemakkelijk onderscheid maken tussen de twee routes. De uitkomst van een dergelijk experiment was dat *Pyrococcus* de glycolyse bezit. Echter het fosfofructokinase werkt niet

met ATP maar met ADP (J Biol Chem, 1994, 269: 17537-17541). Het idee dat kinases met ATP werken heeft kennelijk geleid tot een verkeerde interpretatie van gegevens en het opstellen van totaal verkeerde route.

Je kunt je afvragen hoeveel verkeerde interpretaties van meetgegevens er gepubliceerd zijn, vervolgens in overzichtsartikels opgenomen zijn, en uiteindelijk door iedereen voor waar aangenomen worden. Onbedoelde dwalingen in de wetenschap boeien me zeer. Zowel het ontdekken en rechtzetten van verkeerde interpretaties als ook het voorkomen daarvan vereist veel fantasie en creativiteit. In dit opzicht is wetenschap te vergelijken met kunst. Helaas is het bestaan van de moderne wetenschapper zodanig veranderd dat van reflectie niet veel meer terecht komt.

Valsheid bestaat in een gemis van kennis dat inadequate, ofwel gebrekkige en verwarde voorstellingen kenmerkt (Spinoza; Ethica, II, stelling 35)

In de afgelopen 15 jaar heb ik me met name bezig gehouden met biotransformaties van organische en anorganische verbindingen door microbiële consortia onder zuurstofloze omstandigheden. Het onderzoek was gericht op de rol van anaërobe micro-organismen in de kringloop van elementen, en op de toepassing van deze micro-organismen bij het oplossen en voorkomen van milieuproblemen. Met name ben ik geboeid door anaërobe consortia die onder sterk gereduceerde condities methaan maken. Methaan is een zeer interessante verbinding. Het bestaat uit een koolstofatoom en 4 waterstofatomen en is daarmee

de meest gereduceerde vorm van koolstof op aarde. Methaan is een zeer sterk broeikasgas. De broeikaswerking van methaan is vele malen sterker dan die van kooldioxide. Methaan is ook een brandbaar gas. De biologische productie van methaan is een manier om energie te winnen uit organisch afval. Deze twee facetten maken zowel de biologische vorming als de biologische omzetting van methaan belangrijke en interessante onderzoeksthema's. Wanneer ik U een aantal methanogene milieus laat zien zal duidelijk worden waarom methaanvorming in Wageningen bestudeerd wordt. In de pens van de koe wordt het voedsel verteerd door anaërobe micro-organismen. Bij deze vertering wordt een deel van het organisch materiaal omgezet in methaan. Bij het bulken komt deze methaan in de atmosfeer terecht. De rijstteelt vindt veelal onder water plaats. De rijstvelden worden bemest met organische mest. Een deel daarvan worden in de zuurstofloze bodem omgezet naar methaan, dat vervolgens in de atmosfeer komt. De natte rijstbouw draagt voor een groot deel bij aan het broeikaseffect. In de afgelopen jaren heb ik echter met name onderzoek gedaan aan methaanvorming in anaërobe bioreactoren, die gebruikt worden voor de zuivering van afvalwater van de agro-industrie, zoals suikerfabrieken, bierbrouwerijen, aardappelverwerkende bedrijven, papierfabrieken etc. Een van de pioniers op het gebied van de anaërobe waterzuivering was Gatze Lettinga. Hij heeft met zijn UASB reactor, waarin de micro-organismen spontaan aggregeren, duidelijk een denkkader in de waterzuivering verlegd. In anaërobe bioreactoren wordt niet alleen het water gezuiverd, maar wordt tevens de chemische energie in organische verbindingen met een grote efficiëntie vastgelegd in biogas. Doordat hierdoor minder energie voor de micro-organismen overblijft, wordt er ook minder slib geproduceerd.

Deze aspecten maken dat anaërobe waterzuivering een zeer duurzame technologie is.

Veel wetenschappers beginnen vanuit een gevoel van verwondering, maar vervolgens worden ze jarenlang opgeleid (Rupert Sheldrake; Natural grace)

Voor een microbioloog is methaanvorming bijzonder omdat de vertering van organische verbindingen een perfecte samenwerking is van verschillende groepen van micro-organismen. Dit noemen we een syntrofe (samenvoedende) interactie. In sommige methanogene milieus is die samenwerking zo sterk dat de micro-organismen letterlijk aan elkaar vastgekluisterd zitten. Dit is onder andere het geval in anaërobe bioreactoren. Er zijn theorieën waarin verondersteld wordt dat dergelijke syntrofe consortia van micro-organismen de oorsprong vormden van het ontstaan van het eukaryote leven. Methanogene consortia danken hun bestaan aan het feit dat de ene groep micro-organismen iets produceert dat de andere groep micro-organismen kan gebruiken. Waterstof is zo'n verbinding die voor het ene micro-organisme een eindproduct en voor het andere een substraat is. Het zal duidelijk zijn dat hierdoor de micro-organismen er de voorkeur aan geven om dicht bij elkaar te zitten. Syntrofe omzettingen worden niet door veel microbiologen bestudeerd. Men zou daardoor de indruk kunnen krijgen dat ze dan ook wel niet zo belangrijk zijn. Niets is minder waar. In mesofiele milieus wordt zo'n 30 % van alle methaan door dergelijke syntrofe consortia gevormd. In thermofiele milieus is dat zelfs 100 %. We hebben bij het laboratorium van Microbiologie in de afgelopen jaren een aantal van dit soort consortia

bestudeerd, o.a. de omzetting van vetzuren, aminozuren, aromaten en recentelijk ook C1 verbindingen zoals methanol, methaanthiol en koolmonoxide. De tijd is te kort om alles de revue te laten passeren. Doordat we bij ons onderzoek uit gingen van het belang van syntrofie hebben we dingen kunnen ontdekken die anders niet mogelijk waren geweest. Microbiologen hebben sterk de neiging om micro-organismen als zelfstandig opererende eenheden te zien. Hierdoor wordt een verkeerd beeld van de werkelijkheid verkregen. "Wat ziet zo'n bacterie" en "Wat heeft zo'n bacterie eraan" waren standaardvragen van mijn promotor Prof. Hans Veldkamp. Het is heel duidelijk wat zo'n bacterie ziet, namelijk een bacterie van een andere soort. Wanneer syntrofie als uitgangspunt genomen wordt, dan blijkt dat er nieuwe typen micro-organismen geïsoleerd kunnen worden, en dat de micro-organismen in elkaars aanwezigheid een ander metabolisme vertonen. Zonder rekening te houden met syntrofie zouden veel micro-organismen als 'niet cultiveerbaar' aangemerkt worden. Het bestuderen van syntrofe interacties is daarom bijzonder dankbaar werk, en er valt daaraan nog jaren zinvol onderzoek te doen. Het ontrafelen van de microbiologie van syntrofe omzettingen in methanogene milieus is zeer boeiend en het levert ook een beter begrip van hoe dergelijke processen te optimaliseren zijn. Daarnaast biedt het de mogelijkheid om waterstofvormende en waterstof-consumerende processen te ontkoppelen. Samen met het ATO zijn we bezig om waterstofvorming door fermentatieve micro-organismen te optimaliseren, zodat de 'schone brandstof, waterstof uit biomassa geproduceerd kan worden.

De omzetting van propionaat in methanogene milieus

heeft altijd mijn bijzondere belangstelling gehad. In methanogene milieus zijn micro-organismen die propionaat kunnen omzetten naar acetaat, kooldioxide en waterstof. Dit is een reactie met een standaard Gibbs vrije energie verschil van zo'n + 76 kJ. Een dergelijke reactie kan niet verlopen omdat het evenwicht niet naar rechts ligt. Toch kunnen anaërobe bacteriën deze reactie uitvoeren. De ligging van het evenwicht wordt in sterke mate bepaald door de concentratie van de reactanten en producten. In de buurt van propionaat-oxiderende bacteriën zijn methanogenen die de producten wegnemen. Een groep methanogenen kan groeien door kooldioxide met waterstof te reduceren naar methaan en een andere groep splits acetaat in methaan en kooldioxide. De overall reactie is derhalve dat een propionaat molecuul omgezet wordt in 1,75 methaan en 1,25 kooldioxide. Het Gibbs vrije energie verschil is zo'n -60 kJ. Zoals u aan het minteken kunt zien is deze reactie wel in de goede richting aflopend. Echter de hoeveelheid energie die vrijkomt is zeer klein. Uit fysiologische studies is gebleken dat een energiever-schil van zo'n 60 kJ nodig is om de biologische energiedrager ATP uit ADP te kunnen vormen. Bij een eerlijke verdeling van die ene ATP zou elk van de micro-organismen 1/3 ATP uit de omzetting kunnen halen. Dit blijkt inderdaad het geval te zijn. Zo ver als we nu weten is zo'n 20 kJ energiever-schil het minimum dat micro-or-ganismen nodig hebben om te kunnen groeien. Het biochemische mechanisme dat aan dit samen delen van ATP ten grondslag ligt is eveneens zeer fascinerend en vernuft. Dit wordt duidelijk wanneer de biochemische route bekeken wordt. In de laatste stap van propionaat omzetting wordt ATP gevormd, maar 2/3 ATP blijkt nodig te zijn om middels een omgekeerd elektronentransport de

omzetting van succinaat naar fumaraat te drijven.

Wetenschap is een autonoom sociaal proces in de zin dat het inhoudelijk niet onderworpen mag zijn aan enige restrictie afkomstig uit andere sociale processen of verschijnselen, zoals religie, economie, politiek en dergelijke (Wim van de Grind; Natuurlijke intelligentie)

Methaanvorming door complexe anaërobe consortia wordt gemakkelijk verstoord door anorganische verbindingen die als terminale elektronenacceptoren kunnen optreden. In dat geval kunnen micro-organismen die een anaërobe ademhaling uitvoeren eveneens de organische verbindingen omzetten. In de afgelopen jaren hebben we de metabole interacties tussen methanogene consortia en bacteriën met een anaërobe ademhaling bestudeerd. Een van de verbindingen die zowel in de natuur als in anaërobe bioreactoren verstorend werkt is sulfaat. Sulfaat leidt tot een lagere methaanopbrengst bij anaërobe zuivering en leidt tevens tot de vorming van het toxische en stinkende sulfide. In eerste instantie was het onderzoek er op gericht om uit te zoeken hoe sulfaatreductie onderdrukt kan worden. Het sulfaatreductie onderzoek heeft uiteindelijk geleid tot de ontwikkeling van de zwaveltechnologie door Paques in Balk, de Technische Universiteit in Delft en Wageningen Universiteit. Door sulfaatreductie te optimaliseren kunnen zware metalen uit grondwater gehaald worden. Hierbij wordt gebruik gemaakt van de chemische eigenschap van sulfide om neerslagen te vormen met zware metalen. Een dergelijk concept wordt o.a. toegepast bij Budel Zink. Sulfaatreductie in combinatie met partiële oxidatie van sulfide kan ook gebruikt worden om afvalwater of rookgassen te ontzwavelen. Bij een dergelijk proces

worden eerst geoxideerde zwavelverbindingen gereduceerd naar sulfide, dat dan vervolgens omgezet wordt naar elementaire zwavel.

Andere elektronenacceptoren die we bestudeerd hebben zijn gechlloreerde organische verbindingen. Gechlloreerde organische verbindingen, zoals bijvoorbeeld tetrachlooretheen en dichloorethaan, zijn belangrijke bodemverontreinigende verbindingen. Gebleken is dat anaërobe bacteriën in staat zijn om gechlloreerde verbindingen als terminale elektronenacceptor te gebruiken. Bij bodembioremediatie is het nodig om een elektronendonor toe te dienen zodat de micro-organismen de gechlloreerde verbinding kunnen omzetten. Het zal duidelijk zijn dat in een bodem ook andere micro-organismen zijn deze verbindingen kunnen omzetten, o.a. methanogene consortia. De elektronendonor moet bij voorkeur gebruikt worden voor dechlorerende bacteriën en niet leiden tot de vorming van methaan. Een interessant aspect hierbij is dat methanogenen zelf ook kunnen dechloreren, maar die omzetting is niet gekoppeld aan groei.

Onderzoek van o.a. Derek Lovley in de VS heeft laten zien dat anaërobe micro-organismen een groot scala aan metaalionen als terminale elektronenacceptor voor groei kan gebruiken. Daartoe behoren o.a. ijzer en mangaan, maar ook meer exotische verbindingen zoals seleen-, arseen-, chroom-, uranium-, goud-, zilver- en kwikverbindingen. Van deze biologische reductieprocessen is nog maar zeer weinig bekend. Lovley was ook de eerste die aantoonde dat humusverbindingen als terminale elektronenacceptor voor groei van anaërobe micro-organismen kunnen fungeren. Deze waarneming is met name interessant omdat humusverbindingen veel voorkomen in de bodem en deze verbindingen ijzer, mangaan en zuurstof kunnen

reduceren. Dit betekent dat micro-organismen welke humuszuren kunnen reduceren eveneens in staat zijn om ijzer en mangaan en mogelijk zelfs zuurstof te reduceren. Onderzoek, o.a. hier in Wageningen heeft laten zien dat heel veel verschillende micro-organismen humusverbindingen kunnen reduceren. Daartoe behoren o.a. dechlorerende bacteriën, sulfaatreducerende bacteriën en verbazingwekkend genoeg ook methanogenen. De betekenis van deze waarnemingen zijn nog allerminst duidelijk. Duidelijk is wel dat we voorzichtig moeten zijn met het toekennen van fysiologische eigenschappen aan phylogenetische groepen. Dat sulfaatreducerders niet alleen sulfaat reduceren is al langer bekend, maar dat methanogenen geen methaan hoeven te produceren en dechlorerders niet hoeven te dechloreren dringt maar zeer langzaam door. Een andere terminale elektronenacceptor die we bestuderen is chloraat, een verbinding die niet van nature voorkomt. Biologische chloraatreductie is bij ons in laboratorium geïntroduceerd in een samenwerking met Akzo. Chloraatreductie is een merkwaardig proces. In de laatste stap wordt chloriet gesplitst in chloride en moleculaire zuurstof. In dit opzicht verschilt chloraatreductie van bv. sulfaatreductie of nitraatreductie. Je kunt je echter afvragen of dat ook wel zo is. Er wordt algemeen aangenomen dat de reductie van nitraat verloopt via nitriet en NO en N_2O . Er is echter geen reden te bedenken waarom bijvoorbeeld NO niet omgezet zou kunnen worden in N_2 en O_2 . Het lijkt me zinvol om hierover na te denken. Bovendien zou het een belangrijke implicatie kunnen hebben voor de anaërobe omzetting van verbindingen die in aërobe micro-organismen met zuurstof-afhankelijke enzymen (oxygenases) omgezet worden. Methaan en benzeen zijn twee verbindingen waarop

dat van toepassing is.

Er is - geloven wij - genoeg aangevoerd om aan te tonen dat "de mens niet vrij is in zijn denken, voelen en doen" maar "even oorzakelijk bepaald is als de sterren in hun beweging" (Albert Einstein, 1932)

Aan de titel van mijn rede "Over-leven aan de onderkant van het bestaan" zal een ieder wellicht een eigen betekenis geven. Sommigen zullen associaties hebben met hoe ze de touwtjes aan elkaar moeten knopen met alle op handen zijnde bezuinigingen. Anderen zullen hun gedachten laten gaan naar alle politieke en economische vluchtelingen die soms tevergeefs aankloppen bij de rijke westerse landen. Ik heb deze titel gekozen om aan te geven dat syntrofe methanogene consortia leven op de grens van wat nog net thermodynamisch mogelijk is. Daarnaast wil ik met de titel ook de richting van mijn toekomstige onderzoek aangeven, namelijk syntrofe microbiële levensgemeenschappen in de diepe ondergrond. Het leven zoals wij dat kennen en om ons heen kunnen zien wordt direct of indirect gedreven door zonlicht. Zonne-energie wordt gebruikt om CO_2 om te zetten in biomassa, welke vervolgens de energiebron is voor mens, dier en micro-organisme. Echter er zijn ook milieus waarin chemische reacties de energie leveren voor de synthese van biomassa. Voorbeelden zijn de diepe oceanbodems waar de aërobe oxidatie van sulfide en de anaërobe oxidatie van methaan met sulfaat energie leveren voor de vorming van biomassa. De diepe ondergrond is meer dan een opslagplaats van fossiele brandstoffen (aardolie, steenkool, bruinkool, gas).

Er komen tal van groeigekoppelde microbiële oxidatie en reductie reacties voor, waarvan nog maar nauwelijks iets bekend is. Het is uitdagend de verantwoordelijke micro-organismen te isoleren en hun fysiologische eigenschappen verder te bestuderen. Tevens zijn veel micro-organismen die reeds uit de diepe ondergrond geïsoleerd zijn onvoldoende fysiologisch onderzocht. Daardoor zijn veel van hun eigenschappen nog onbekend. Een voorbeeld wil ik hier geven. We hebben een aantal jaren geleden thermofiele sulfaatreductie met methanol in bioreactoren bestudeerd. Het werd al snel duidelijk dat methanol omgezet werd door een syntroof consortium van micro-organismen. We konden twee nieuwe methanol-afbrekende bacteriën isoleren. Een van die bacteriën hebben we vernoemd naar Gatzke Lettinga. Deze *Thermotoga lettingae* bleek in staat om op acetaat, methanol en waterstof te groeien met thiosulfaat als terminale elektronenacceptor. Daarnaast kon dit micro-organisme syntroof op acetaat en methanol groeien in cocultuur met sulfaatreducerders of methanogenen. De meeste *Thermotoga* stammen en stammen van verwante geslachten die beschreven zijn komen uit oliebronnen en heetwater bronnen. Echter tot nu toe werd aangenomen dat deze micro-organismen enkel kunnen groeien op gemakkelijk afbreekbare verbindingen, zoals suikers en gist extract. We hebben inmiddels kunnen aantonen dat ook andere *Thermotoga* stammen methanol en acetaat kunnen omzetten. Interessant is het gegeven dat het hele genoom van *Thermotoga maritima* al enkele jaren beschikbaar. Kennelijk is het nog niet zo gemakkelijk om genoominformatie te vertalen naar simpele fysiologische eigenschappen zoals groei op methanol of acetaat. Het lijkt me uitdagend om uit te zoeken hoe belangrijk bepaalde omzettingen zijn. Daarbij kan genoominformatie wel zeer behulpzaam zijn.

Wie een ware voorstelling heeft, wéét tevens dat hij een ware voorstelling heeft en kan aan de waarheid ervan niet meer twijfelen. (Spinoza; Ethica, II, stelling 43)

Aan het eind van mijn rede wil ik een aantal mensen bedanken die me in wetenschappelijk opzicht gevormd hebben:

In de eerste plaats wil ik Theo Hansen bedanken. Beste Theo, je bent een strenge maar uitstekende leermeester geweest. Ik denk met plezier terug aan mijn promotieperiode in Haren. Manuscripten die jouw kritiek konden doorstaan behoefden nauwelijks revisie door mijn promotoren Hans Veldkamp en Wim Harder.

Syntrofie was meteen een bindend element tussen Alex Zehnder en mij. Beste Alex, ik wil jou bedanken dat je me naar Wageningen gehaald hebt en me in staat stelde een eigen werkgroep op te bouwen. Het onderzoek aan anaërobe biotransformaties kon ik gelukkig bij je opvolger Willem de Vos verder voortzetten.

In 1995 heb ik een aantal maanden met veel plezier op het laboratorium van Prof. Fernando Polanco gewerkt aan denitrificatie met methaan. Don Fernando, recuerdo muy bien mi año sabatico en el departamento de ingeniería química de la Universidad de Valladolid. Gracias por tu hospitalidad. Me gustó mucho trabajar en tu departamento. Espero que podamos continuar la colaboración sobre procesos estraños.

Ik wil zonder namen te noemen de vele AIO's, Post-docs, analisten, gastmedewerkers en studenten bij het Laboratorium voor Microbiologie danken voor hun inzet bij het ontrafelen van de fysiologie en biochemie van anaërobe micro-organismen en consortia. Ik ben blij met zoveel enthousiasme om me heen.

In de afgelopen jaren zijn een aantal samenwerkingsverbanden zeer belangrijk geweest. Met Gatze Lettinga en zijn onderzoeksgroep heb ik intensief samengewerkt. De combinatie van technologie en microbiologie is bijzonder sterk gebleken. Veel van dat onderzoek is mede geïnitieerd door onderzoekers van Paques in Balk. Ik heb de samenwerking met Milieutechnologie en Paques altijd bijzonder plezierig en creatief gevonden. Bij het oplossen van de metabole routes en het bestuderen van enzymen uit die routes hebben we veel baat gehad bij de spectroscopische voorzieningen in Wageningen en Delft. Ik wil Fred Hagen, Cor Dijkema en Maarten Posthumus danken voor hun bijdrage.

Tot slot wil ik U allen danken voor de aandacht en aanwezigheid.