

Immobilisatie en afvalwaterbehandeling

– macrokinetiek en proceskundige aspecten –

Voordracht gehouden tijdens het NVA-NBV-symposium 'Immobilisatie en afvalwaterbehandeling', op 2 april 1987 te Rotterdam

Samenvatting

Voor een effectieve afvalwaterbehandeling door middel van micro-organismen is een hoge biomassabelading van het reactor-systeem gewenst. Celretentie door middel van immobilisatie, op natuurlijke of kunstmatige wijze, kan een bijdrage leveren tot verhoging van de omzetting capaciteit per volume-eenheid. Meer en meer worden in reactoren dragermaterialen toegepast waarop zich een laag micro-organismen (biofilm) afzet. Steeds meer wordt ook ervaring opgedaan met het creëren van zodanige



K. Ch. A. M. LUYBEN
Vakgroep Bioprocestechnologie
TU-Delft

J. J. D. VAN DER STEEN
Vakgroep Bioprocestechnologie
TU-Delft

omstandigheden in de reactor dat een biofilm ontstaat, hoewel het mechanisme van de hechting nog steeds slecht begrepen is. Het beschrijven van de omzetting kinetiek in dergelijke heterogene systemen is in principe goed mogelijk. Hiermee is de mogelijkheid aanwezig modellen te ontwikkelen voor de bepaling van externe en interne stof-transportlimiteringen. Ook de interactie van menggedrag en kinetiek evenals invloeden van 'slough' (afbrokkelen van de biofilm), 'shear' (afschuifkrachten die werken op de biofilm) en attritie (afslijting door botsing van deeltjes) zijn redelijk te modelleren.

Het gebruik van geïntegreerde modellen bij de optimalisatie van systemen is echter beslist nog geen gemeengoed. De ontwikkeling die gaat in de richting van een toenemend gebruik van moderne fermentatietechnieken voor de behandeling van afvalwater, kan

hieraan mogelijk een positieve bijdrage leveren.

Inleiding

Afvalwater kan afhankelijk van de vervuiling zowel fysisch, chemisch als biologisch gezuiverd worden. Bij de hier te bespreken biologische processen zijn het micro-organismen die de organische verontreinigingen afbreken. Voor de behandelingsprocessen is het wenselijk dat de micro-organismen in een zo hoog mogelijke concentratie in de reactor aanwezig zijn en ook blijven. Bij conventionele aërobe zuiveringssystemen groeien de micro-organismen als vlokken in het te behandelen afvalwater. Ze bewegen zich min of meer vrij door de reactor en moeten in grote bezinkbassins worden afgescheiden en in de reactor worden teruggevoerd. Er is evenwel een aantal manieren om de micro-organismen in het reactorsysteem te houden. In tabel I is hiervan een indeling gegeven.

TABEL I – Celretentie systemen.

Immobilisatie:	– auto-immobilisatie (natuurlijke immobilisatie)
	– hechting aan een drager
	– insluiting in dragermateriaal
Cell recycle:	– externe of interne bezinker
	– celscheiding door membranen
	– centrifugeren, flocculeren etc.

We zullen in dit artikel voornamelijk aandacht besteden aan beschouwingen die geldig zijn voor systemen waarbij door hechting aan een drager of door insluiting in een drager de micro-organismen 'gevangen' worden gehouden.

Ontwikkeling van een biofilm op een drager

De ontwikkeling van een 'biofilm' op een drager is een complex van fysische, chemische en biologische processen, te weten [1]:

- Transport naar en adsorptie van organische moleculen aan het drager-oppervlak;
- Transport van microbiële cellen naar het oppervlak;

- Aanhechting van deze micro-organismen aan het oppervlak;
 - Microbiële transformaties (groei en produktie van een exopolymeer als 'plak-middel') resulterend in de opbouw van een biofilm.
- In afb. 1 zijn deze stappen schematisch weergegeven.

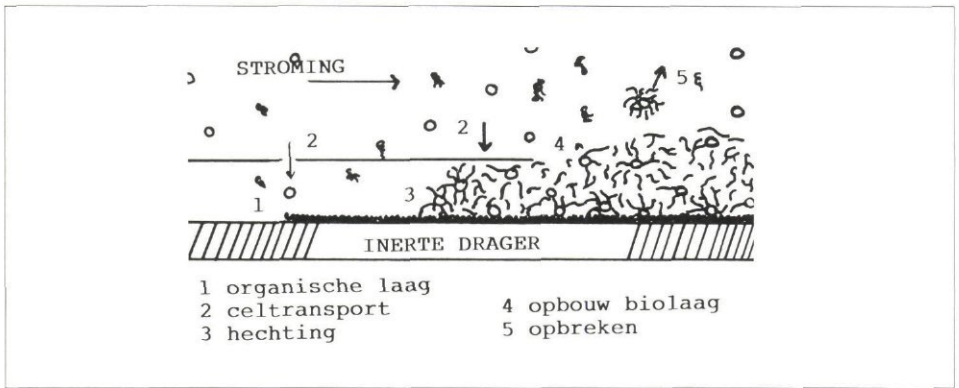
De adsorptie van een organische monolaag vindt plaats onmiddellijk nadat de oorspronkelijk 'schone' drager in contact is gekomen met een vloeistofstroom die gedispergeerde micro-organismen, organische moleculen en andere nutriënten, bevat. Er wordt hierbij verondersteld dat zo'n organische adsorptie een voorwaarde is voor de immobilisatie van micro-organismen op de drager [2]. Het transport van micro-organismen vanuit de bulk van de vloeistof naar de drager hangt ondermeer af van de vloeistofstroming. De microbiële aanhechting zelf is nog een slecht begrepen proces. Verscheidene krachten kunnen verantwoordelijk zijn voor microbiële aanhechting. Hierbij kan sprake zijn van zowel relatief zwakke krachten, zoals elektrostatische krachten, van-de-Waals-krachten en hydrofobe krachten, als relatief sterke krachten zoals polymeerbruggen tussen de micro-organismen en de drager. Sterke krachten zullen vereist zijn om te zorgen dat de micro-organismen aangehecht blijven onder turbulente condities. Welke krachten een hoofdrol spelen hangt bijvoorbeeld af van de volgende zaken: het type micro-organisme; het type drager-oppervlak en de hoeveelheid turbulentie in de reactor.

Micro-organismen zullen zich gaan hechten op een drager als de verdunningssnelheid D (gedefinieerd als verhouding van de volumetrische doorstromingsnelheid en het reactorvolume) groter is als of gelijk is aan de maximale specifieke groeisnelheid van de micro-organismen: $D \geq \mu_{max}$ [3]. De verklaring is dat bij een te kleine verdunningssnelheid competitie kan blijven bestaan tussen de gesuspendeerde en de gehechte micro-organismen. Naast concurrentie om het substraat kunnen gesuspendeerde micro-organismen ook de aanhechtingspolymeren van de reeds gehechte micro-organismen hydrolyseren. De gehechte micro-organismen domineren evenwel bij $D \geq \mu_{max}$ omdat de gesuspendeerde micro-organismen worden uitgespoeld.

Voorbeelden van biofilm-reactoren

Er is inmiddels een aantal bioreactoren ontwikkeld waarbij van het principe 'micro-organismen op een drager' gebruik wordt gemaakt. Voorbeelden van toegepaste dragermaterialen zijn o.a. zand, lavabrokken, steen en plastic materialen. Zand biedt als

Afb. 1 - Processen die bijdragen tot de ontwikkeling van een biofilm.



dragermateriaal de volgende voordelen: een groot specifiek oppervlak, een hoge dichtheid en goedkoop.

Een tweetal klassen van bioreactoren waarbij micro-organismen gehecht op een drager benut worden zijn:

– fixed-film reactoren: deze reactoren kunnen zowel aëroob als anaëroob bedreven worden.

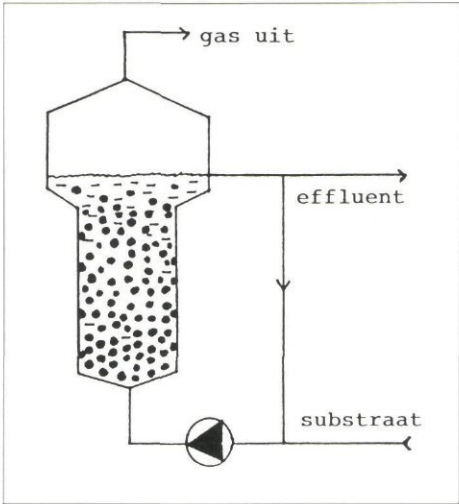
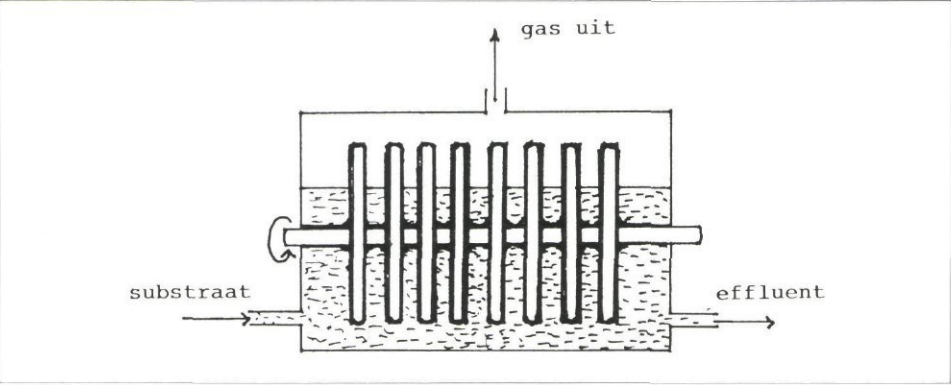
Een voorbeeld is de biorotor; hierbij draait het met micro-organismen bedekte dragermateriaal, bijvoorbeeld speciaal gevormde platen gemonteerd op een as, langzaam in de vloeistof rond (zie afb. 2 voor een schematische weergave).

– fluïde-bed reactoren: zoals gezegd kan zand als dragermateriaal gebruikt worden. Een gepakt bed met zand verstopt echter snel. Daarom wordt zand ook wel in gefluidiseerde vorm gebruikt. De opwaartse watersnelheid is daarbij zo hoog, dat het bedekte zand wordt opgetild en in de waterkolom gaat zweven (afb. 3).

Dit systeem wordt door Gist-brocades sinds begin 1984 toegepast als anaërobe zuivering. Bij de afbraak van de verontreinigende stoffen ontstaat biogas dat voor 80-90% uit methaan bestaat. Het systeem kan beschouwd worden als een vervolg op de ontwikkeling van het UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket)-proces, waarbij de organische verontreiniging door anaëroob slib verwijderd wordt. Het slib in de UASB-reactor ontstaat door auto-immobilisatie (onderlinge hechting) of door hechting op vaste deeltjes uit het afvalwater.

Een andere manier om micro-organismen te immobiliseren is het insluiten van micro-organismen in calciumalginaatbolletjes volgens een methode beschreven door Klein en Wagner [4]. Het is onwaarschijnlijk dat deze methodiek zal leiden tot grootschalige toepassingen in verband met prijs en instabiliteit van het materiaal. Wel zouden er mogelijkheden kunnen liggen bij meer specifieke toepassingen op scherp omschreven industriële afvalwaterstromen.

Afb. 2 - Schematische weergave van een anaërobe biorotor.



Afb. 3 - Schematische weergave van een fluïde-bed reactor.

Gericht op dergelijke toepassingen wordt hieraan dan ook onderzoek verricht.

Kinetiek

Bioreactoren waarin gewerkt wordt met celretentiesystemen, zoals micro-organismen op drager, hebben de volgende voordelen ten opzichte van reactoren met vrije micro-organismen: hogere celconcentraties, hogere produktiviteit en een betere stabiliteit van de reactor. Daarnaast kunnen hogere doorstromsnelheden worden gebruikt omdat de micro-organismen teruggehouden worden. Om de kinetiek van de processen, die plaatsvinden in de biofilm, te beschrijven wordt veelal gebruik gemaakt van de modellen ontwikkeld voor heterogene katalyse in de procestechnologie. Als we de verschillende factoren analyseren die de snelheid van substraatverbruik door biofilms bepalen, kunnen we het totale proces vereenvoudigen tot drie belangrijke stappen [5].

1. Diffusie van substraat vanuit de bulk van de vloeistof naar het grensvlak van vloeistof en biologische film.
 2. Diffusie van substraat in de biofilm.
 3. Consumptie van substraat in de biofilm.
- Wanneer we aannemen dat de consumptie van substraat door gesuspenderde micro-

organismen verwaarloosbaar is vergeleken bij het verbruik door de biofilm, kan de transportsnelheid van de bulk naar het biofilm-vloeistof grensvlak goed worden beschreven met de zogenaamde 'één-film' theorie. Volgens deze theorie is de flux van de bulk naar het grensvlak recht evenredig met de concentratiegradiënt (het verschil in bulk- en grensvlakconcentratie). De evenredigheidsconstante hierbij is de stofoverdrachtscoëfficiënt, meestal aangeduid met K_L . Afhankelijk van de grootte van de stofoverdrachtscoëfficiënt kunnen zich twee extreme situaties voordoen [6]:

a. Voor een hoge waarde van de stofoverdrachtscoëfficiënt geldt dat voor een bepaalde flux slechts een geringe concentratiegradiënt nodig is. In deze situatie ontvangen de micro-organismen in de biofilm de maximaal aanwezige hoeveelheid substraat uit de bulk van de vloeistof en dus wordt de snelheid van het overall-proces bepaald door de snelheid waarmee de micro-organismen van de biofilm het substraat verbruiken. Bij elke waarde van de bulkconcentratie hangt de reactiesnelheid dan alleen af van de kinetiek van het interne diffusie- en reactieproces.

b. In de omgekeerde situatie, waarbij de waarde van de stofoverdrachtscoëfficiënt laag is en diengevolge de concentratiegradiënt steil, nadert de waarde van de substraatconcentratie aan het grensvlak van de biofilm naar nul. Onder deze condities wordt het overall-proces voornamelijk bepaald door de snelheid waarmee het substraat vanuit de bulk naar de biofilm getransporteerd kan worden (externe-diffusielimitatie).

Het verminderen van de weerstand voor stoftransport van de bulk naar het grensvlak van de biofilm is mogelijk door het verhogen van de vloeistofsnelheid langs het oppervlak. In de situatie dat de omzettingssnelheid bepaald wordt door hetgeen in de biofilm gebeurt, is de diffusieweerstand van de biofilm voor verontreinigingen van belang voor de overall-activiteit van de geïmmobiliseerde micro-organismen. Als gevolg van het feit dat gelijktijdig met de diffusie de consumptie van het substraat door de micro-organismen plaatsvindt, stelt zich in de biofilm een concentratieprofiel van substraat in, hetgeen betekent dat micro-organismen dieper in de biofilm aan een lagere substraatconcentratie worden blootgesteld dan die aan de buitenkant van de film. De mate waarin dit leidt tot een vermindering van de effectiviteit van de biofilm wordt veelal met behulp van een effectiviteitsfactor gekwantificeerd. Deze effectiviteitsfactor is het quotiënt van de werkelijke reactiesnelheid en de reactiesnelheid die zou optreden indien alle micro-organismen in de biofilm aan dezelfde concentratie worden blootgesteld

als die aan de buitenkant, ofwel de werkelijke reactiesnelheid gedeeld door de reactiesnelheid in het geval van verwaarloosbare diffusielimitering.

Het al of niet optreden van diffusielimitering kan experimenteel als volgt worden bepaald:

1. Een verhoging van de effectiviteit wanneer de dikte van de biofilm wordt verminderd; dit betekent een verkorting van de diffusieweg.

2. Een daling van de effectiviteit wanneer de hoeveelheid actieve biomassa wordt verhoogd; dit betekent dat de biofilm dikker wordt, hetgeen gepaard gaat met een grotere weerstand voor diffusie.

Er zal dus geen significante interne diffusielimitatie optreden wanneer hoge substraatconcentraties kunnen worden gebruikt, geïmmobiliseerde micro-organismen een lage activiteit hebben of wanneer het een dunne biofilm op het oppervlak van de drager betreft.

In het voorgaande is stilzwijgend het organische substraat van de micro-organismen als groeibeperkend verondersteld. Echter een identieke beschouwing geldt natuurlijk ook voor andere nutriënten die groeibeperkend kunnen zijn, zoals zuurstof in aërobe systemen of stikstofverbindingen etc. De gradiënten van nutriënten die zo optreden in de biofilm kunnen verantwoordelijk zijn voor een heterogeniteit van levende micro-organismen binnen de geïmmobiliseerde biokatalysator na blootstelling aan het medium.

Enkele proceskundige aspecten

Voor de reactor 'performance' zijn naast de overall-activiteit van de biokatalysator (zie hiervoor) van belang de stabiliteit van de biofilm en de mate van menging in de reactor. Wanneer we kijken naar de stabiliteit van de biofilm spelen effecten als 'slough', 'shear' en attritie een belangrijke rol.

Ook de substraatconcentratie op een bepaalde plaats in de reactor en dus het menggedrag (verblijftijdsspreiding) is belangrijk in verband met snelheid van omzetting op een bepaalde plaats.

Menging

Voor de beschrijving van het menggedrag in een reactor wordt vaak gebruik gemaakt van de volgende extremen: ideale menging en propstroom. De omzetting van substraat naar produkt is mede afhankelijk van dit menggedrag. Het gewenste menggedrag is dus afhankelijk van de kinetiek van de omzetting.

In het geval van een goed gemengde reactor heeft de concentratie aan de uitgang dezelfde waarde als in de reactor. In het geval van een propstroomreactor evenwel stelt zich over de reactor een concentratieprofiel in.

Een essentieel verschil tussen een ideaal

gemengde reactor en een propstroomreactor is dan ook dat de concentratie van substraat overal in de ideaal gemengde reactor laag is. Omdat in een propstroomreactor zich een concentratieprofiel heeft ingesteld bij een bepaalde conversie blijft de substraatconcentratie hierin, vergeleken met een goed gemengde reactor langer op een hoge waarde.

Wanneer we te maken hebben met nulde-orde kinetiek (reactiesnelheid is onafhankelijk van de concentratie) is er geen verschil tussen een goed gemengde reactor en een propstroomreactor omdat in de reactiesnelheidsvergelijking de concentratie van het substraat geen rol speelt. In het geval van eerste-orde kinetiek (de reactiesnelheid is lineair afhankelijk van de concentratie) wordt de voorkeur gegeven aan een propstroomreactor omdat in de snelheidsvergelijking de concentratie van substraat tot de eerste macht voorkomt; de reactiesnelheid is hoger bij een hogere concentratie aan substraat. In een propstroomreactor is de concentratie substraat langer op een hoge waarde, en deze reactor heeft dan ook de voorkeur in het geval van eerste-orde kinetiek.

Een ander verschijnsel dat vaak optreedt bij bio-chemische processen is de zogenaamde inhibitie. Er kan zowel substraat- als produktinhibitie plaatsvinden. Dit betekent dat in het eerste geval een hoge concentratie aan substraat de omzetting van substraat naar produkten hindert, omdat door de hoge substraatconcentratie de micro-organismen in hun activiteit worden geremd. In het geval van produktinhibitie worden de micro-organismen juist door een hoge produktconcentratie in hun activiteit geremd. Duidelijk is dat wanneer we te maken hebben met substraat-inhibitie de reactiesnelheid hoger is wanneer de substraatconcentratie niet te hoog is. Dit is het beste te verwezenlijken met een goed gemengde reactor. Hebben we daarentegen te maken met produktinhibitie dan is het streven om zolang mogelijk een lage concentratie aan produkt te hebben; dit is het beste te verwezenlijken in een propstroom reactor.

'Slough', 'Shear' en Attritie

Met 'slough' wordt het effect bedoeld dat optreedt wanneer stukken biofilm van de drager vallen, hetgeen kan optreden als diep in de geïmmobiliseerde laag voor de micro-organismen een gebrek aan substraat, zuurstof (in het aërobe geval) of nutriënten ontstaat. Behalve delen van de biofilm die niet actief zijn vallen er dan ook delen af die wel actief zijn; dit omdat actieve micro-organismen 'vastgehecht' zitten aan de niet-actieve. De ontstane lege plek op de drager wordt vervolgens weer opgevuld door nieuwe micro-organismen. Het effect van 'slough' wordt vaker waargenomen bij dikkere en

meer compacte biofilms, die zich ontwikkelen onder condities van geringere afschuifkrachten.

Met het effect van 'shear' bedoelen we hier een continu verwijderingsproces aan de buitenkant van de laag geïmmobiliseerde micro-organismen. Dit proces is sterk afhankelijk van de hydrodynamische condities. De snelheid van de verwijdering van micro-organismen neemt toe met toenemende afschuifkrachten van de vloeistof op de biofilm. Resultaten verkregen door Zelfer [7] wijzen erop dat shear door vloeistofstroming, met name in het turbulente vloeistofregime, de maximale hoeveelheid aangehechte micro-organismen op de drager kan limiteren.

Een derde effect dat o.a. plaats vindt in een fluid-bed reactor is attritie. De zich op een drager (bijvoorbeeld zandkorrels) bevindende micro-organismen kunnen naast aantasting als gevolg van afschuifkrachten veroorzaakt door de vloeistofstroming ook afgeslagen worden door botsingen van de biokatalysatordeeltjes onderling.

Conclusie

Bioreactoren waarbij in een of andere vorm gebruik wordt gemaakt van celretentie door middel van natuurlijke (auto-)immobilisatie worden in de praktijk van zowel de aërobe als anaërobe afvalwaterbehandeling toegepast. Voor de toepassing zijn het ontbreken van gedetailleerde kennis over hechting van micro-organismen en het beperkte gebruik van modellen betreffende stoftransport en de interactie van kinetiek en reactorhydrodynamica blijkbaar niet prohibitief. Voor een verdere optimalisatie echter is het wenselijk deze kennis en gereedschappen verder te ontwikkelen en vooral toe te passen op de bestaande en in ontwikkeling zijnde systemen. Met name door het toenemende gebruik van moderne fermentatietechnieken voor de afvalwaterbehandeling is de ontwikkeling van deze kennis en gebruik van de genoemde gereedschappen een 'must'.

Literatuur

1. Trulear, M. G. and Characklis, W. G. (1982). *Dynamics of biofilm processes*. Journal WPCF, 54, 9, 1288-1301.
2. Baier, R. E. (1972). *Influence of the initial surface condition of materials on bioadhesion*. Proc. 3rd Int. Congr. Mar. Corros. Biofouling, Gaithersburg, Md.
3. Heynen, J. J. (1984). *Biological industrial waste water treatment, minimizing biomass production and maximizing biomass concentration*. Academisch proefschrift, Vakgroep Bioprocetechnologie, TU Delft.
4. Klein, J. and Wagner, F. (1978). *Proc. of the first congress of Biotechnology*. Dechema Band 82, Verlag Chemie, Weinheim, 142-164.
5. LaMotta, E. J. (1976). *Internal diffusion and reaction in biological films*. Environ. Sci. Technol., 10, 8, 765-769.
6. LaMotta, E. J. (1976). *External mass transfer in a biological film reactor*. Biotechnol. Bioeng., 18, 1359-1370.
7. Zelfer, N. (1979). *Biofilm development and associated energy losses in water conduits*. M.Sc. thesis, Rice Univ., Houston, Texas.

