

iStockphoto



AUTEURS



Michel Mulders
(Arcadis)



Jelmer Tamis
(Paques biomaterials)



Gerben Roelandt Stouten en Robbert
Kleerebezem
(TU Delft)

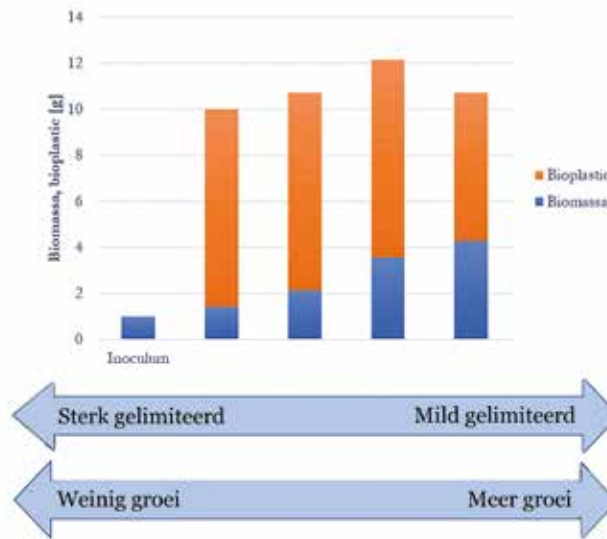


MEER UIT MINDER, PRODUCTIE BIOPLASTIC UIT AFVALWATER

Wat is het effect van de aanwezigheid van nutriënten op het productieproces van polyhydroxyalkanoaten (PHA) uit afvalwater? Dat is de centrale onderzoeksvraag in een onderzoek dat een belangrijke bijdrage levert aan de definitie van de gewenste afvalstroomkarakteristieken voor de productie van bioplastic.

Het imago van afvalwaterstromen schuift meer en meer richting een bron van energie- en grondstoffenstroom. Afvalwaterstromen die veel organisch koolstof bevatten kunnen, door het anaeroob te behandelen, meerwaarde worden gegeven door methaan te produceren uit de aanwezige vluchtige vetzuren (VFA). Door slim gebruik te maken van wat de natuur te bieden heeft kunnen er ook andere, potentieel waardevollere, producten worden gemaakt in plaats van methaan uit deze VFA.

Figuur 1. De hoeveelheid bioplastic en biomassa geproduceerd na 12 uur accumuleren met verschillende verhoudingen van CZV:nutriënt. Sterk gelimiteerd houdt in dat de CZV:nutriënt verhouding hoog is



Een van deze alternatieve producten kan de polymergroep 'polyhydroxyalkanoaten' (PHA) zijn, beter bekend als een bioplastic door zijn eigenschappen die overeenkomen met die van reguliere plastics, met als belangrijkste onderscheid dat ze biologisch afbreekbaar zijn. Er zijn twee bekende routes ontwikkeld voor het produceren van bioplastic uit afvalwater:

1. Het PHARIO-proces, waarbij de natuurlijke PHA-opslagcapaciteit van actief slib uit de rioolwaterzuivering wordt ingezet om overtollig zuiverings-slib nuttig in te zetten.
2. De tweede optie, welke gebruikt is in dit artikel, is gebaseerd op het kweken van specifieke bioplastic producerende micro-organismen.

Voor de productie van methaan is de voornaamste truc het creëren van een anaerobe omgeving, dit ligt complexer voor de productie van bioplastics. Het productieproces van bioplastic volgens route 2 kan worden verdeeld over 2 processen. In het eerste proces wordt een deel van een VFA-rijke stroom gebruikt om bioplastic producerende micro-organismen te kweken. De kernwoorden die de selectietruc omschrijven zijn 'snel eten en dik worden'. Een omgeving waar dit tot zijn recht komt is het zogeheten 'feast-famine' regime. Substraat (VFA) wordt in de kweek batchgewijs gevoed, hierdoor worden er periodes gecreëerd waar veel substraat aanwezig is (feast) en periodes waar geen substraat aanwezig is (famine). Een bacterie die het snelst het aanwezige voedsel opeet en genoeg opslag kan maken om in de voedselarme periode te groeien wint de competitie. Vandaar 'snel eten en dik worden'. Een kampioen 'snel eten en dik worden' is de bacteriesoort

Plasticumulans acidivorans. Deze bacteriesoort is in staat om 9 keer zijn eigen gewicht intern op te slaan als PHA. Oftewel je hebt een dikke buik die 9 keer je eigen lichaamsgewicht is!

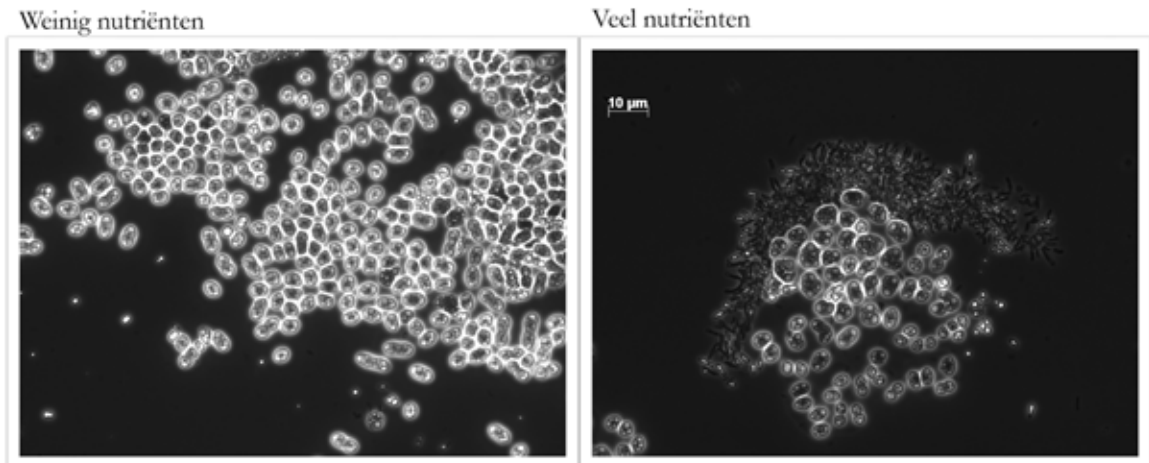
Accumulatieproces

Wanneer de cultuur uit zoveel mogelijk van deze kampioentjes bestaat (nu nog zonder dikke buik) wordt het naar het tweede proces gestuurd, de accumulatie. In het accumulatieproces wordt het substraat zoveel mogelijk gebruikt om dik te worden en zo min mogelijk om te groeien. Een manier om dit te forceren is door een afvalwaterstroom te pakken die arm is aan een essentieel groei-nutriënt zoals ammonium of fosfaat. Doordat er geen ammonium en/of fosfaat aanwezig is in de accumulatie kan er geen groei plaatsvinden. Wanneer het substraat wordt toegevoegd aan de bacteriecultuur kan dit alleen nog richting opslag gaan, oftewel de bioplastic productie en vreet de bacterie zich vol tot eerdergenoemde 9 keer het eigen lichaamsgewicht.

Er zijn afvalwaterstromen die door een hoog chemisch zuurstof verbruik (CZV) potentieel interessant zijn voor de productie van bioplastic. Echter, de aanwezigheid van groei-nutriënten maakt het uitdagender om hier efficiënt bioplastic uit te maken omdat groei niet uitgesloten kan worden in de accumulatie. Om meer inzichten te verkrijgen over het effect van de aanwezigheid van nutriënten in het accumulatieproces is hier in het lab onderzoek naar gedaan. Hiertoe is er een parallel reactorsysteem gebruikt

Impact nutriënten
op productie
bioplastic

28



Figuur 2. Dezelfde startcultuur na 12 uur accumuleren in de aanwezigheid van veel of weinig nutriënten

waarbij een vooraf bestemde hoeveelheid CZV met een variërende hoeveelheid ammonium en/of fosfaat werd gedoseerd aan een cultuur verrijkt met *Plasticumulans acidivorans*. Hiermee kan onder andere worden onderzocht of minimale groei echt schadelijk is voor het bioplastic productieproces en hoe lang de kampioen het volhoudt omdat met groei ook opportunisten op de loer liggen.

Een beetje groei, veel bioplastic

Een verrijkte cultuur met *Plasticumulans acidivorans* heeft 8 tot 12 uur nodig in een 'klassieke nutriënt gelimiteerde' accumulatie om 90% drooggewicht (wt%) PHA te bereiken. Praktijkonderzoek heeft aangetoond dat een optimum gebaseerd op opbrengst eerder rond de 4 uur accumuleren is. In de praktijk zijn er echter geen ideale omstandigheden, zo kunnen er dus groei-nutriënten aanwezig zijn. Aangezien het gewenst is om de VFA zo efficiënt mogelijk in te zetten is het dus waardevol om uit te zoeken wat het effect is van deze nutriënten op het bioplastic proces. Door gebruik te maken van een parallel reactorsysteem zijn met een verrijkte *P. acidivorans* cultuur meerdere verhoudingen CZV:nutriënt getest. Een voordeel hiervan is dat het startpunt hetzelfde is voor ieder experiment. Aangezien er verschillende verhoudingen CZV:nutriënt gekozen zijn, strekkend van zeer nutriënt gelimiteerd tot mild nutriënt gelimiteerd zijn er kaders gevonden waarin bioplastic productie mogelijk is onder verschillende omstandigheden. Meerdere eigenschappen van het proces zijn met deze studie beter in kaart gebracht. Ten eerste is het duidelijk dat *P. acidivorans* onder verschillende omstandigheden lang standhoudt. Alle culturen

produceerden en behielden significante hoeveelheden bioplastic tijdens accumulaties van 12 uur, waarbij de verhouding CZV:nutriënt in het substraat direct invloed had op de zuiverheid die behaald kon worden - zoals geïllustreerd in figuur 1.

Te zien in figuur 1 is dat de hoeveelheid bioplastic die geproduceerd wordt onder verschillende omstandigheden grotendeels overeenkomt. Echter, de zuiverheden gaan drastisch omlaag van 85 naar 60 wt% in de aanwezigheid van voldoende nutriënten. Er is aangetoond dat bioplastic zuiverheden van 60 wt% of hoger behaald kunnen worden ongeacht de aanwezigheid van nutriënten. Hierbij is het wel zaak dat het productieproces niet langer dan 6 uur duurt. Na deze 6 uur nemen de zuiverheden af wanneer er voldoende nutriënten aanwezig zijn en wordt het proces minder rendabel. Dit zal speelruimte geven aangezien er dus een productietijd bestaat die onafhankelijk is van de nutriëntenconcentratie. Dit fenomeen van 6 uur constante productie heeft waarschijnlijk plaatsgevonden omdat de bioplastic bacteriën net als in de kweek, getraind zijn in het heel snel kunnen eten. Hiermee kapen ze het meeste voedsel weg voor opportunisten, wanneer de bioplastic bacteriën redelijk vol zijn gaan ze langzamer eten en is er meer ruimte voor opportunisten. Daarnaast groeien de opportunisten exponentieel en is het een kwestie van tijd voordat ze de bioplastic cultuur eruit concurreren. Een voorbeeld van de aanwezigheid van opportunisten is weergegeven in figuur 2.

In figuur 2 zijn microscopie foto's van twee culturen weergegeven, na 12 uur accumuleren met ver-

schillende substraten. In de situatie waar er weinig nutriënten aanwezig zijn lijkt *P. acidivorans* de cultuur nog te domineren. Dit is niet het geval indien er voldoende nutriënten aanwezig zijn. Er lijkt een andere soort de bioplastic producent eruit te concurreren.

Kip-ei situatie

Met grote zekerheid kan worden gezegd dat uit veel vetzuurhoudende afvalwaterstromen bioplastic kan worden geproduceerd. Deze stelling wordt bekrachtigd door verscheidene pilot-studies uitgevoerd op afvalwaterstromen die sterk nutriënt gelimiteerd zijn tot aan afvalstromen die nutriëntenrijk zijn. Zo zijn op de afvalwaterstromen van een papierfabriek, een chocoladefabriek en op percolaatwater van groente-, fruit- en tuinafval (GFT) bioplastic zuiverheden behaald van 70 wt% tot aan 80 wt%. Hiermee is aangetoond dat de vertaalslag van de technieken gebruikt in lab experimenten ook succesvol kunnen worden toegepast onder omstandigheden met echt afvalwater en op een grotere schaal.

Tot slot

Afvalstromen kunnen nutriënt gelimiteerd zijn, dit is voordelig voor het bioplastic proces omdat groei van (andere) bacteriën uitgesloten kan worden. Echter, niet alle afvalstromen die aantrekkelijk zijn om bioplastic uit te maken zijn nutriënt gelimiteerd. In deze studie is het effect van de aanwezigheid van nutriënten op het bioplastic productieproces onderzocht. Het belang van een goed inoculum is aangetoond aangezien voor een periode van 6 uur minstens 60 wt% bioplastic behaald kon worden ongeacht de aanwezigheid van nutriënten. Verder kan al op voorhand beter worden ingeschat hoe gemakkelijk het is om bioplastic te produceren gebaseerd op de karakteristieken van de afvalwaterstroom.

Michel Mulders (*Arcadis*), Jelmer Tamis (*Paques biomaterials*), Gerben Roelandt Stouten en Robbert Kleerebezem (*TU Delft*)

Referentie

Simultaneous growth and poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) accumulation in a *Plasticumulans acidivorans* dominated enrichment culture <https://doi.org/10.1016/j.btex.2020.100027>

SAMENVATTING

Veelal wordt anaerobe vergisting toegepast om waarde te creëren uit agrarische afvalstromen in de vorm van methaan houdend biogas. Er worden nieuwe processen verkend waarmee waardevollere producten worden geproduceerd in plaats van biogas uit deze afvalstromen. Een veelbelovend proces is de productie van biologisch afbreekbare plastics. Bij dit soort processen is het de kunst om zo veel mogelijk bioplastic producerende bacteriën te hebben, en de wildgroei van andere bacteriën te minimaliseren. Dit artikel laat de resultaten zien van een onderzoek waarbij de invloed van groei macronutriënten (in dit onderzoek ammonium en fosfaat) op het bioplastic productieproces werd onderzocht.

Vaak zijn afvalstromen niet strikt groei nutriënt gelimiteerd, waardoor bacteriën kunnen kiezen tussen groeien en bioplastic maken. Hoe de beschikbaarheid van nutriënten de distributie tussen groei en bioplastic productie beïnvloedt, was de centrale onderzoeksvraag in dit onderzoek. Experimenten zijn uitgevoerd in een multi-reactor set-up, met een verrijkte microbiële cultuur gedomineerd door de bacterie *Plasticumulans acidivorans* (een bioplastic productiespecialist). Verschillende hoeveelheden groei nutriënten (ammonium en/of fosfaat) werden toegevoegd bij een constante hoeveelheid vluchtige vetzuren.

Aangetoond is dat met de aanwezigheid van een minimale verhouding van ammonium (117 gCZV:gNH₄-N) of fosfaat (1055 gCZV:gPO₄-P) bioplastic zuiverheden van minimaal 80% op drooggewicht basis behaald kunnen worden in de eerste 12 uur van het productieproces. Aangezien het percentage bioplastic per eenheid drooggewicht een cruciale factor is in de economische haalbaarheid van het proces, levert dit onderzoek een belangrijke bijdrage aan de definitie van de gewenste afvalstroomkarakteristieken voor bioplasticproductie.

Impact nutriënten
op productie
bioplastic