

University of Groningen

**Microbial degradation of volatile halogenated aliphatic compounds, use of specialized cultures for waste gas treatment**

Wijngaard, Abraham Jan van den

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

1993

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Wijngaard, A. J. V. D. (1993). *Microbial degradation of volatile halogenated aliphatic compounds, use of specialized cultures for waste gas treatment*. s.n.

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

## SAMENVATTING

De wereldproductie van de 10 meest gevraagde gechloreerde alifatische verbindingen ligt in de ordegrootte van miljoenen tonnen per jaar. De verbindingen zijn schadelijk voor het milieu door hun toxiciteit en slechte afbreekbaarheid. Gechloreerde alifatische koolwaterstoffen zijn bijzonder vluchtig, waardoor grote hoeveelheden via de lucht vrijkomen bij diverse industriële processen of andere toepassingen. Deze emissie kan tegengegaan worden door behandeling van industriële afgassen. Biologische filtratie waarbij micro-organismen de gechloreerde verbindingen verwijderen zou een vrij goedkope en milieuvriendelijke optie kunnen zijn. Het doel van het onderzoek is dan ook het in handen krijgen van bacteriën die zich kunnen vermeerderen ten koste van gechloreerde alifatische verbindingen die in grote hoeveelheden geproduceerd worden. Daarnaast worden de afbraakroutes bestudeerd en wordt onderzocht of enkele van de stammen geschikt zijn voor toepassing in filtersystemen en welke biochemische eigenschappen deze toepasbaarheid beïnvloeden.

Het onderzoek heeft zich gericht op de afbraak van drie verschillende gechloreerde verbindingen: epichloorhydrine, 1,2-dichloorethaan en 2-chloorethylvinylether. Het bleek mogelijk bacteriën uit verontreinigd slib te isoleren die zich vermeerderen ten koste van deze verbindingen. Hierbij wordt de gechloreerde verbinding enzymatisch omgezet tot zoutzuur, CO<sub>2</sub> en water. De belangrijkste omzetting bij de afbraak is de afsplitsing van het chloor, dat in de vorm van zoutzuur vrij komt. Het zoutzuur kan worden geneutraliseerd door toevoeging van loog. De afsplitsing van het chloor kan worden gezien als een detoxificatie en wordt gekatalyseerd door een dehalogenase. In het geval van epichloorhydrine is eerst een omzetting nodig naar 3-chloor-1,2-propaandiol. Vervolgens wordt zoutzuur afgesplitst door een haloalcohol dehalogenase waarbij een epoxide gevormd wordt (1,2-epoxy-3-propanol). Het enzym is gezuiverd en bestudeerd. Het is zeer stabiel en kan een breed scala aan verschillende chloor- en broom-bevattende alcoholen afbreken.

De stammen die in staat zijn te groeien op 2-chloorethylvinylether blijken ook te kunnen groeien op 1,2-dichloorethaan. De oorzaak hiervan is dat dezelfde enzymen betrokken zijn bij de afbraak van 2-chloorethylvinylether en 1,2-dichloorethaan. De dechlorering van deze verbindingen wordt gekatalyseerd door het haloalkaan dehalogenase. Hierbij wordt het corresponderende alcohol gevormd. Opmerkelijk is dat in alle onderzochte bacteriën het gen dat codeert voor het haloalkaan dehalogenase identiek is. Het lijkt er dus op dat het haloalkaan dehalogenase gen door de bacteriën onderling wordt doorgegeven. Het belang van dergelijke dechlorerende enzymen is milieubiotechnologisch gezien groot. Omdat sommige bacteriën over deze sleutel-enzymen beschikken is afbraak mogelijk. Het is vaak moeilijk om deze gespecialiseerde micro-organismen in handen te krijgen en afbraak komt niet altijd spontaan op gang. Filterinstallaties voor de eliminatie van gechloreerde alifatische verbindingen moeten dan ook bij aanvang beënt worden met in het laboratorium opgekweekte cultures.

Aangezien de concentraties van gechloreerde alifatische verbindingen die via de lucht geloosd mogen worden erg laag zijn, is voor de verwijdering niet alleen de grootte van

het filter belangrijk, maar ook de kinetische eigenschappen van de micro-organismen. Gebleken is dat bacteriën die veel haloalkaan dehalogenase synthetiseren een betere affiniteit voor deze verbinding hebben en daardoor een betere verwijdering geven. *Ancylobacter aquaticus* AD25 verwijderd om deze reden het meest efficiënt 1,2-dichloorethaan. Daarnaast produceert deze stam extracellulaire polymeren die fibers vormen, waardoor deze bacterie uitstekend kan hechten aan dragermaterialen van glas of staal. Dit is een belangrijke eigenschap omdat in de biologische filters die gebruikt worden voor afgasreiniging immobilisatie van de cellen noodzakelijk is.

Naast de kinetische eigenschappen van een organisme is ook de interactie met andere micro-organismen van groot belang. Zo kon een bijpopulatie van een chloorethaan afbrekende *Pseudomonas* de groei van een 1,2-dichloorethaan afbrekende *Xanthobacter* stimuleren, maar niet van een *Ancylobacter* stam, die in feite gunstiger eigenschappen heeft. De uitscheiding van vitamines, met name biotine, speelde daarbij een belangrijke rol.

Een aantal veel geproduceerde gechloreerde alifatische verbindingen zoals trichloorethyleen, *cis*-1,2-dichloorethyleen en *trans*-1,2-dichloorethyleen kunnen tot nog toe niet door micro-organismen gebruikt worden als groeisubstraat. De afbraak van deze verbindingen is wel beschreven en verloopt cometafisch, hetgeen betekent dat er een ander substraat nodig is waar de bacteriën wel op kunnen groeien. Hierdoor is toepassing van deze micro-organismen voor afgasreiniging minder interessant. Daarnaast is de afbraak oxidatief, er wordt zuurstof ingebouwd, waarbij gechloreerde epoxiden ontstaan. Deze verbindingen zijn instabiel en kunnen indirect aanleiding geven tot vergiftiging van de cellen. Dit gebeurt bijvoorbeeld als trichloorethyleen wordt afgebroken. Een deel van het onderzoek was gericht op de vraag of de epoxiden van bovengenoemde verbindingen biologisch afbreekbaar zijn, waardoor op die manier het vergiftigings-effect ondervangen kan worden. Uiteindelijk bleek dat micro-organismen die groeien op isopreen in staat zijn de epoxiden van *cis*- en *trans*-1,2-dichloorethyleen af te breken. De snelheid hiervan is nog vrij laag maar het resultaat geeft aan dat bacteriële groei op de boven genoemde chloorethylenen niet onmogelijk hoeft te zijn, temeer daar deze verbindingen energierijk zijn.

De onderzoeksresultaten suggereren dat de natuur bezig is een antwoord te geven op de toegenomen vervuiling van het milieu met gehalogeneerde alifatische verbindingen. Blijkbaar ontwikkelen zich micro-organismen die in staat zijn milieuvreemde verbindingen af te breken. Genetische adaptatie speelt een belangrijke rol bij het ontstaan van micro-organismen met nieuwe afbraakcapaciteiten. Vaak zijn deze organismen en hun enzymen nog primitief, zoals het haloalkaan dehalogenase dat niet efficiënt gereguleerd wordt en een lage affiniteit heeft voor 1,2-dichloorethaan. Mogelijk wordt door gerichte verbeteringen van dergelijke enzymen een betere verwijdering haalbaar. Tevens kunnen enzymen geschikt gemaakt worden voor de afbraak van milieuschadelijke gehalogeneerde alifatische verbindingen waarvoor de natuur op dit moment nog geen oplossing biedt.