

19



Bureau voor de
Industriële Eigendom
Nederland

11 1005345

12 C OCTROOI²⁰

21 Aanvraag om octrooi: 1005345

51 Int.Cl.⁶
C02F3/02, C02F3/34

22 Ingediend: 21.02.97

41 Ingeschreven:
24.08.98

47 Dagtekening:
24.08.98

45 Uitgegeven:
02.11.98 I.E. 98/11

73 Octrooihouder(s):
Technische Universiteit Delft te Delft.

72 Uitvinder(s):
Joseph Johannes Heijnen te Rijen
Marinus Cornelis Maria van Loosdrecht te De
Lier

74 Gemachtigde:
Drs. A. Kupecz c.s. te 1000 HB Amsterdam.

54 Werkwijze voor het verkrijgen van korrelvormige groei van een micro-organisme in een reactor.

57 De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor het verkrijgen van korrelvormige groei van een micro-organisme in een reactor met een vloeibaar medium. Volgens de uitvinding kunnen verrassenderwijs ook aërobe micro-organismen tot korrelvormige groei worden gebracht door het aanhouden van specifieke kweekomstandigheden. Tijdens een eerste stap wordt een zuurstofhoudend gas toegevoerd waarbij de reactorinhoud in een turbulente toestand wordt gehouden. In een tweede stap wordt een korte bezinktijd aangehouden, waarna het bovenste deel van het reactormedium wordt afgetapt.

NL C 1005345

De inhoud van dit octrooi komt overeen met de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekeningen.

Werkwijze voor het verkrijgen van korrelvormige groei van een micro-organisme in een reactor

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor het verkrijgen van korrelvormige groei van een micro-organisme in een reactor met een vloeibare, een substraat bevattende fase, waarbij in een eerste stap het sub-
5 straat door het micro-organisme wordt omgezet terwijl de vloeibare fase wordt gemengd onder vorming van en aangroei op een in de vloeibare fase gesuspendeerde vaste, het organisme-bevattende fase, in een tweede stap het mengen in de reactor wordt stopgezet voor het laten bezinken van een deel van de
10 vaste fase en in een derde stap de reactor gedeeltelijk wordt geledigd door het afvoeren van het bovenste deel van de reactorinhoud uit de reactor die vervolgens met substraat-bevattende vloeistof wordt aangevuld, waarna de stappen 1 tot 3 worden herhaald.

15 Een dergelijke werkwijze is beschreven door Sung S. et al. (Laboratory studies on the anaerobic sequencing batch reactor, in Water Environment Research, 67 (3), blz. 294, 1995). Hierbij wordt onder anaërobe omstandigheden een omzetting uitgevoerd, wordt vervolgens de reactorinhoud in ken-
20 merkend 10 - 30 minuten geklaard waarna het bovenste deel van de reactorinhoud uit de reactor wordt weggenomen. Volgens deze publikatie is het werken met anaëroob geactiveerd granulvormig slib sinds lange tijd bekend, ofschoon in het aller-eerste begin (1966) nog niet werd ingezien dat "granulatie"
25 of korrelvorming van de biomassa optreedt. Korrelvorming onder methanogene condities (dat wil zeggen onder afwezigheid van zuurstof) wordt veelal verklaard uit specifieke behoefte van de betrokken organismen om substraten uit te wisselen "de zgn. interspecies hydrogen transfer", of om de toxiciteit van
30 zuurstof te verminderen.

Aanvraagster heeft verrassenderwijs gevonden dat ook onder aërobe en turbulente omstandigheden granulatie kan optreden.

Derhalve wordt de werkwijze volgens de uitvinding
35 gekenmerkt doordat het micro-organisme een aëroob micro-orga-

nisme is, tijdens ten minste de eerste stap een derde fase aanwezig is, welke derde fase zuurstofhoudend gas omvat dat tijdens de eerste stap aan de reactor wordt toegevoerd waarbij de reactorinhoud in een turbulente toestand wordt gehouden en in de tweede stap het bezinken geschiedt gedurende een tijd van minder dan de vloeistofhoogte in de reactor aan het einde van de eerste stap gedeeld door een bezinkingssnelheid van ten minste 5 meter per uur.

De vorming van granules onder turbulente aërobe omstandigheden is onverwacht, aangezien in een granule de organismen onder zeer sterke druk staan daar nutriënten slechts door diffusie over relatief grote afstanden, gezien de grootte van de granule, in het inwendige van de granule terecht kunnen komen. Daar aërobe organismen daarenboven ook nog zuurstof behoeven is de druk nog hoger en zou voor dergelijke aërobe organismen alleen vlokvorming mogen worden verwacht. Daarnaast zou de deskundige verwachten dat de korrels als gevolg van de door turbulentie optredende grote afschuifkrachten zouden desintegreren.

In de onderhavige aanvraag wordt onder een aëroob micro-organisme zowel een obligaat als een facultatief aëroob micro-organisme verstaan.

De verbinding wordt bij voorkeur pulsgewijs aan de reactor toegevoerd. Hierdoor worden de organismen in een granule overspoeld met verbinding. Aangezien de organismen nabij de buitenzijde van de granule deze toevoer van de om te zetten verbinding niet kunnen verwerken, krijgt de verbinding de kans naar het inwendige van de granule te diffunderen. Dit is met name van belang als de om te zetten verbinding een nutriënt is. Een voorbeeld hiervan is koolhydraatfermentatie voor de bereiding van melkzuur.

Volgens een gunstige uitvoeringsvorm wordt de reactorinhoud tijdens de eerste stap althans nagenoeg continu gemengd.

Sung et al. geven de voorkeur aan periodieke menging waarbij slechts kleine afschuifkrachten optreden, om de vorming van aggregaten te bevorderen. Echter, volgens de uitvinding worden vlokken door continu turbulent mengen aan mengkrachten onderworpen waardoor zij gemakkelijker worden

afgevoerd in de derde stap. Daarenboven heeft de aanvrager
 proefondervindelijk vastgesteld dat indien micro-organismen
 aan hoge afschuifkrachten worden blootgesteld als respons een
 stevigere granule wordt verkregen. Aldus wordt volgens de
 5 uitvinding sneller bereikt dat de organismen zich in de vorm
 van granules in de reactor bevinden.

Met voordeel geschiedt het turbulent mengen door het
 toevoeren van het zuurstofhoudende gas, bijvoorbeeld in een
 air-lift-reactor of bellenkolomreactor.

10 Een interessante toepassing van de werkwijze volgens
 de uitvinding wordt gekenmerkt doordat de omzetting een
 nitrificatie-denitrificatie-omzetting is waarbij het zuur-
 stofhoudende gas alleen tijdens het eerste deel van de eerste
 stap wordt toegevoerd voor het voltooiën van de nitrificatie
 15 en de reactor gedurende de rest van de eerste stap onder in
 hoofdzaak anaërobe omstandigheden wordt bedreven voor het
 voltooiën van de denitrificatie. Indien gewenst kan het gas
 gedurende deze eerste stap over de reactor worden gerecircu-
 leerd. Door het recirculeren wordt alle zuurstof verbruikt en
 20 kan een turbulente toestand worden gehandhaafd.

Voor het opstarten van de reactor bij het toepassen
 van de werkwijze volgens de uitvinding dienen de organisme-
 bevattende granules aanwezig te zijn of ten minste de vorming
 van granules bevorderende omstandigheden te worden aangelegd.
 25 Zo kunnen met voordeel dragerdeeltjes aan de reactor worden
 toegevoegd waaraan de organismen zijn gehecht of waarop zij
 zich kunnen hechten. Gebleken is dat als drager ook een
 myceliumvormende schimmel kan worden toegepast.

Volgens een zeer gunstige uitvoeringsvorm geschiedt
 30 het bezinken in de tweede stap gedurende een tijd van minder
 dan de vloeistofhoogte in de reactor aan het einde van de
 eerste stap gedeeld door een bezinkingssnelheid van ten
 minste 10 meter per uur, bij voorkeur ten minste 15 meter per
 uur. Aldus wordt de aanwezigheid van granules in de reactor
 35 sterk bevoordeeld ten opzichte van de aanwezigheid van vlok-
 ken. Zoals hierboven genoemd beschrijven Sung et al. een
 klaringsstap die kenmerkend 10 tot 30 minuten is. Daarbij is
 de bezinksnelheid slechts 1 meter per uur, en toegepast op
 aërobe organismen zal met een dergelijke werkwijze geen

korrelvorming worden verkregen. Daar waar onder anaërobe condities de klaringsstap slechts dient ter scheiding van organismen en behandeld water, is bij de werkwijze volgens de uitvinding ook de klaringsstap van essentieel belang om

5 korrelvorming te induceren.

De uitvinding zal thans worden toegelicht aan de hand van een uitvoeringsvoorbeeld en onder verwijzing naar de tekening, waarin

fig. 1 een grafische weergave voorstelt van het

10 percentage kooldioxide tijdens een cyclus van de werkwijze volgens de uitvinding in uit een bellenkolomreactor afgevoerd gas; en

fig. 2 een afbeelding voorstelt van een uit aërobe organismen opgebouwde korrel.

15 Voorbeeld 1

Een bellenkolomreactor (2,5 liter; hoogte/diameter - 20) werd gevoed met 1,25 liter van een als model voor afvalwater dienende oplossing, bestaande uit 8,7 mM ethanol, 5 mM ammoniumchloride, 4,7 mM kaliumfosfaat, 2,4 mM magnesiumsulfaat, 0,48 calciumchloride en 1,5 ml per liter oplossing van

20 een standaard sporenelementoplossing. De oplossing werd beënt met aëroob actief slib met een waterzuiveringsinstallatie. Het modelafvalwater in de bellenkolomreactor werd bij een pH van 6-8 en een temperatuur van 20°C aan een cyclische behan-

25 deling onderworpen. De behandeling bestond uit i) het gedurende 4 uur beluchten met een debiet van 1,5 liter lucht per minuut (fig. 1 laat het percentage kooldioxide zien in het tijdens deze fase uit de bellenkolomreactor afgevoerde gas. Dit percentage is een maat voor de omzetting van de ethanol),

30 ii) het gedurende 1 minuut staken van de luchttoevoer, en iii) het op de halve vloeistofhoogte uit de bellenkolomreactor aftappen van het modelafvalwater. Alle biomassa die zich tijdens het aftappen in de bovenste helft van de oplossing bevond, wordt met het effluent afgevoerd. Tenslotte werd iv)

35 de bellenkolomreactor aangevuld met een volume modelafvalwater gelijk aan dat van het afgevoerde effluent. Hierna werd de cyclus hervat met het gedurende vier uur beluchten van de oplossing.

Fig. 2 laat de uit aërobe micro-organismen opgebouw-

de korrels verkregen met de werkwijze volgens de uitvinding
zien. De gemiddelde grootte is 3 mm.

CONCLUSIES

1. Werkwijze voor het verkrijgen van korrelvormige groei van een micro-organisme in een reactor met een vloeibare, een substraat bevattende fase, waarbij in een eerste stap het substraat door het micro-organisme wordt omgezet
5 terwijl de vloeibare fase wordt gemengd onder vorming van en aangroei op een in de vloeibare fase gesuspenderde vaste, het organisme-bevattende fase, in een tweede stap het mengen in de reactor wordt stopgezet voor het laten bezinken van een deel van de vaste fase en in een derde stap de reactor ge-
10 deeltelijk wordt geledigd door het afvoeren van het bovenste deel van de reactorinhoud uit de reactor die vervolgens met substraat-bevattende vloeistof wordt aangevuld, waarna de stappen 1 tot 3 worden herhaald, **met het kenmerk**, dat het micro-organisme een aëroob micro-organisme is, tijdens ten
15 minste de eerste stap een derde fase aanwezig is, welke derde fase zuurstofhoudend gas omvat dat tijdens de eerste stap aan de reactor wordt toegevoerd waarbij de reactorinhoud in een turbulente toestand wordt gehouden en in de tweede stap het bezinken geschiedt gedurende een tijd van minder dan de
20 vloeistofhoogte in de reactor aan het einde van de eerste stap gedeeld door een bezinkingssnelheid van ten minste 5 meter per uur.

2. Werkwijze volgens conclusie 1, **met het kenmerk**, dat de om te zetten verbinding pulsgewijs wordt toegevoerd.

25 3. Werkwijze volgens één der voorgaande conclusies, **met het kenmerk**, dat de omzetting een nitrificatie-denitrificatie-omzetting is waarbij het zuurstofhoudende gas alleen tijdens het eerste deel van de eerste stap wordt toegevoerd voor het voltooien van de nitrificatie en de reactor gedurende de rest van de eerste stap onder in hoofdzaak anaërobe omstandigheden wordt bedreven voor het voltooien van de denitrificatie.

30 4. Werkwijze volgens één der voorgaande conclusies, **met het kenmerk**, dat het mengen geschiedt door het toevoeren
35 van het zuurstofhoudende gas.

1005345

5. Werkwijze volgens één der voorgaande conclusies, **met het kenmerk**, dat de reactorinhoud tijdens de eerste stap althans nagenoeg continu wordt gemengd.

5 6. Werkwijze volgens één der voorgaande conclusies, **met het kenmerk**, dat bij het opstarten van de reactor een dragerdeeltje aanwezig is voor het organisme.

7. Werkwijze volgen conclusie 9, **met het kenmerk**, dat het dragerdeeltje een myceliumvormende schimmel omvat.

10 8. Werkwijze volgens conclusie 1 of 2, **met het kenmerk**, dat in de tweede stap het bezinken geschiedt gedurende een tijd van minder dan de vloeistofhoogte in de reactor aan het einde van de eerste stap gedeeld door een bezinkingssnelheid van ten minste 10, en bij voorkeur ten minste 15 meter per uur.

15 9. Werkwijze volgens conclusie 3, **met het kenmerk**, dat het bezinken geschiedt gedurende een tijd van minder dan de vloeistofhoogte in de reactor aan het einde van de eerste stap gedeeld door een bezinkingssnelheid van ten minste 15 meter per uur.

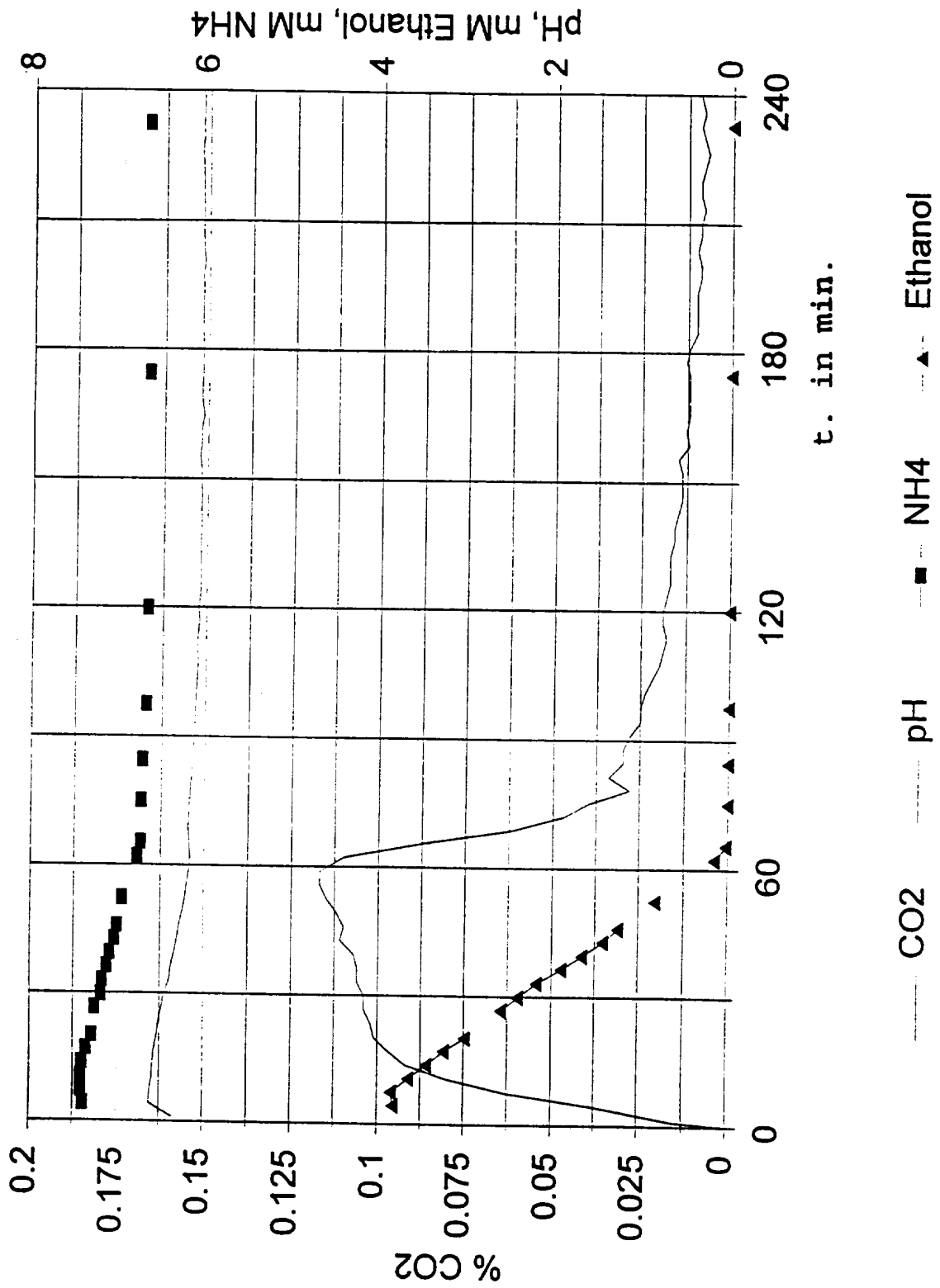


FIG. 1

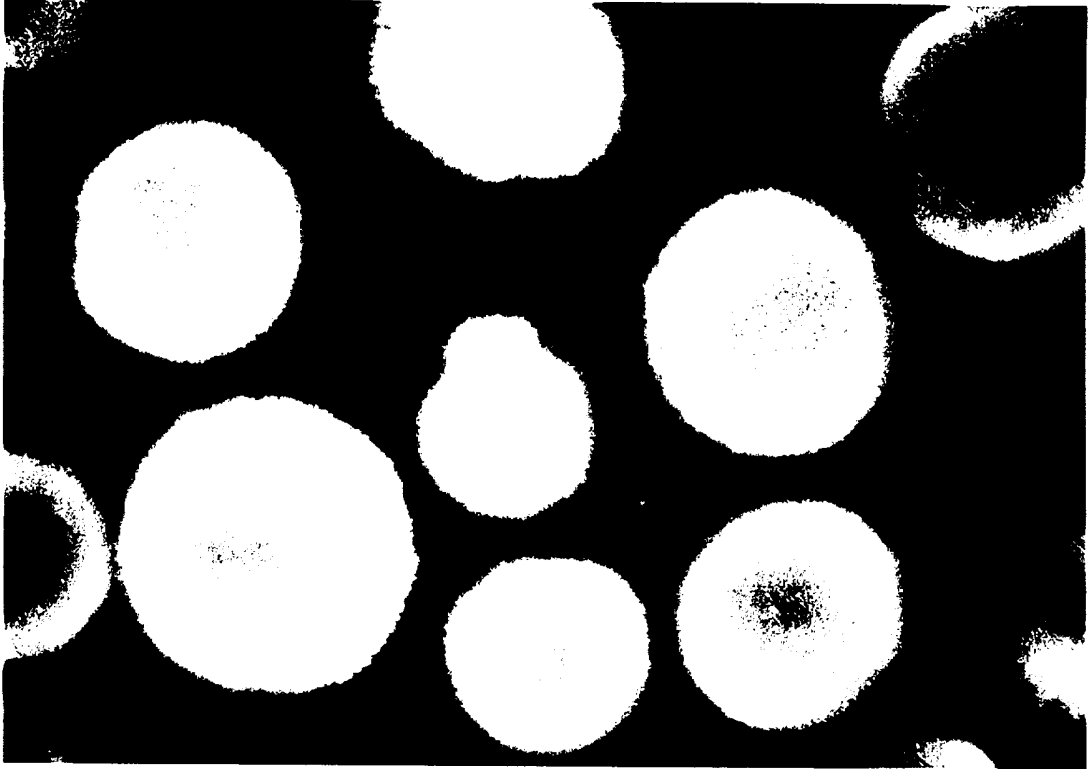


Fig. 2



RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK

Octrooiaanvraag Nr.:

NO 133865

NL 1005345

VAN BELANG ZIJNDE LITERATUUR			
Categorie	Vermelding van literatuur met aanduiding voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde passages	Van belang voor conclusie(s)Nr.	Internationale classificatie (toegekend door de Octrooiraad)
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 018, no. 176 (C-1183), 25 Maart 1994 & JP 05 337492 A (MITSUBISHI KAKOKI KAISHA LTD), 21 December 1993, * kolom 3, regel 0016; figuur *	1	C02F3/12 C02F3/20 C02F3/30
A	WO 93 15025 A (SANKYO CO) * samenvatting *	1	
A	CZ 9 602 056 A (BIOTHANE SYSTEMS INT BV) 15 Januari 1997 & EP 0 776 864 A (BIOTHANE SYSTEMS INT BV) 4 Juni 1997	1	
A	NL 9 301 791 A (BIOTHANE SYSTEMS INTERNATIONAL)	1	
D,A	SUNG S ET AL: "LABORATORY STUDIES ON THE ANAEROBIC SEQUENCING BATCH REACTOR" WATER ENVIRONMENT RESEARCH, deel 67, nr. 3, 1 Mei 1995, bladzijden 294-301, XP000506681	1	
			Onderzochte gebieden van de techniek
			C02F
Indien gewijzigde conclusies zijn ingediend, heeft dit rapport betrekking op de conclusies ingediend op			
Plaats van onderzoek 'S-GRAVENHAGE		Datum waarop het onderzoek werd voltooid 12 November 1997	Vooronderzoeker (EOB) KASPERS, H
CATEGORIE VAN DE VERMELDE LITERATUUR			
X : op zichzelf van bijzonder belang Y : van bijzonder belang in samenhang met andere documenten van dezelfde categorie A : achtergrond van de stand van de techniek O : verwijzend naar niet op schrift gestelde van de techniek P : literatuur gepubliceerd tussen voorrangs- en indieningsdatum		T : niet tijdig gepubliceerde literatuur over theorie of principe ten grondslag liggend aan de uitvinding E : andere octrooipublicatie maar gepubliceerd op of na indieningsdatum D : in de aanvraag genoemd L : om andere redenen vermelde literatuur & : lid van dezelfde octrooifamilie, corresponderende literatuur document	

**AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE
HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK,
UITGEVOERD IN DE OCTROOIAANVRAGE NR.**

NO 133865
NL 1005345

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenaamde leden van dezelfde octroofamilie), die overeenkomen met octrooischriften genoemd in het rapport.
De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per
De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door de Octrooiraad gegarandeerd ;
de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

12-11-1997

In het rapport genoemd octrooigeschrift	Datum van publicatie	Overeenkomend(e) geschrift(en)	Datum van publicatie
WO 9315025 A	05-08-93	AU 3367093 A JP 5261385 A	01-09-93 12-10-93
CZ 9602056 A	15-01-97	EP 0776864 A NO 962905 A PL 315219 A	04-06-97 13-01-97 20-01-97
NL 9301791 A	01-05-95	GEEN	