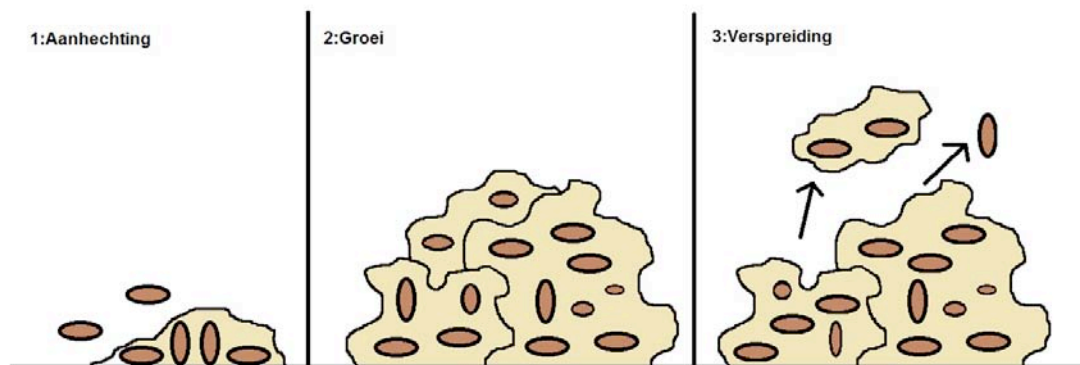


## Ultrageluid houdt leidingen langer schoon

*Tessa Steenbakker, Hans Cappon en Niels Groot (HZ University of Applied Sciences)*

Het beperken van bacteriegroei is een belangrijk thema in bijvoorbeeld de drinkwatervoorziening, het legionella-vrij houden van koeltorens of het schoonhouden van kweekbassins voor aquacultuur. Een methode waar onderzoek naar gedaan wordt, is ultrageluid (ultrasound, US). Tot nu toe worden vooral zware US-units beproefd, die met hoog vermogen werken. Deze systemen zijn vaak effectief, maar niet erg zuinig in gebruik. US kan echter ook toegepast worden bij een lager vermogen. In schone leidingen heeft US met laag vermogen een uitstellend effect op de biofilm-aangroei. Wanneer er al een biofilm aanwezig is, heeft US juist een stimulerend effect.

Of het nu gaat om onze drinkwatervoorziening, het legionella-vrij houden van koeltorens of het schoonhouden van kweekbassins voor aquacultuur, het beperken van microbiologische groei speelt in veel natte systemen een rol. Bacteriën kunnen leidingen verstoppfen, opslagtanks vervuilen en op de wanden van bassins groeien (biofilm-vorming), waardoor de schoonmaakkosten en het chemicaliëngebruik vaak hoog zijn. Bovendien kan een biofilm ziekteverwekkende bacteriën bevatten. Een biofilm ontstaat doordat individuele bacteriën zich hechten aan een oppervlak en zich daar vermenigvuldigen (afbeelding 1).



**Afbeelding 1. De vorming van een biofilm weergegeven in drie fasen: 1) de hechting van individuele bacteriën aan een oppervlak, 2) de groei van een kolonie bacteriën die een slijmerige laag afscheiden, en 3) de verspreiding van loskomende bacteriën uit die kolonie**

Voor het schoonhouden van al die natte systemen is het van belang dat veel water tegelijk gezuiverd kan worden, zonder chemicaliën of geavanceerde filters. Ultraviolet licht (UV) is een veel toegepaste techniek in leidingen, maar wordt vrijwel niet gebruikt in bassins of tanks. Zeker niet als daarin nog andere macro-organismen leven, zoals in de aquacultuur het geval is. Een alternatieve methode waar onderzoek naar gedaan wordt, is ultrageluid (ultrasound, US).

In waterzuiveringssystemen worden vooral zware-US units beproefd. Deze veroorzaken cavitatie: imploderende luchtbellen als gevolg van snelle drukwisselingen, die op hun beurt

biologische cellen stuk scheuren. Deze systemen zijn vaak effectief, maar niet erg zuinig in gebruik. US kan echter ook toegepast worden bij een lager vermogen (zonder cavitatie), waardoor het energieverbruik beduidend lager is. In ons onderzoek is US met laag vermogen getest in leidingen, bassins en opslagtanks. Daarbij is gekeken naar de effecten op algen, zoöplankton en biofilm. In dit artikel richten we ons op biofilm-vorming in kunststof leidingen in zout water, zoals toegepast in de aquacultuur.

### **US in zout water**

We onderzochten de biologische aangroei in zout water, zoals dat gebruikt wordt in de aquacultuur. Hierbij werden vier doorzichtige buizen gebruikt in een continu stromend systeem. De leidingen waren een meter lang en hadden een diameter van 5 cm. Aan het begin van twee buizen was een US-unit (VAM Sonic) geïnstalleerd, bij de twee andere buizen niet (blanco). Aan het zoute water dat gebruikt werd voor de experimenten werden voedingsstoffen toegevoegd om een optimale biofilm-aangroei te kunnen waarborgen. De transparante buizen werden verduisterd om algengroei (i.p.v. bacteriëngroei) te voorkomen. Afbeelding 2 toont een foto van de opstelling.



**Afbeelding 2. De proefopstelling, bestaande uit twee aparte systemen**

Eén systeem (twee buizen rechts) bevatte de ultrasone units, het andere systeem (links) niet (blanco). Elk systeem werd gevoed door een eigen voorraadtank. In deze tanks bevonden zich ook de pompen. De voedingsstoffen werden direct in de tanks toegevoegd. De leidingen

werden tijdens het experiment afgedekt om het licht buiten te houden, ook het gedeelte waar de debietmeters zich bevinden. Het debiet kon per buis geregeld worden met de oranje afsluiters aan de bovenzijde. Het water stroomde van beneden naar boven.

De doorgelaten hoeveelheid licht neemt af naarmate de biofilm dikker wordt. De aangroei van de biofilm kon daarom gemonitord worden door de lichtdoorlaatbaarheid van de leidingen te meten (afbeelding 3). Dit werd gedaan door:

1. eerst de lichttransmissie te meten van helder water (zout water zonder voedingsstoffen) in een schone, verduisterde testleiding. Deze waarde gaf de maximale transmissie aan.
2. vervolgens de lichttransmissie te meten van de vloeistof uit de tanks (zout water met toegevoegde voedingsstoffen) in de aparte testleiding. Deze transmissie wordt bepaald door de biologische vervuiling (vrije bacteriën) in de waterkolom.
3. ten slotte de lichttransmissie te meten door de vier grote leidingen. Door het verschil in transmissie tussen testleiding en de grote leidingen te bepalen, kon de lichtabsorptie die veroorzaakt werd door de biofilm berekend worden.

De lichtintensiteit werd gemeten met een lichtsensor (in  $\mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$ , range 0-20.000). De lichtbron was een power-LED met een stralingshoek van slechts  $3^\circ$ ; hierdoor was de verstrooiing van het licht in de leidingen minimaal en straalde het licht direct op de lichtintensiteitsmeter.

Bij elke buis werd de lichtdoorlating op drie punten gemeten. Hiervoor waren op drie plaatsen (begin, midden, eind) afsluitbare gatenparen gemaakt aan weerskanten van de leidingen. De lichtmeter ging in het ene gat en de lichtbron in het tegenoverliggende. De afstand tussen elk paar gaten was 20 cm. De metingen vonden om de dag plaats. Tijdens elke meting werden in totaal 12 punten gemeten (3 voor elke leiding). Per punt werd de meting twee keer gedaan. Na de metingen werden de leidingen weer bedekt.

Voor het verwerken van de resultaten werd de wet van Lambert-Beer toegepast: de hoeveelheid doorgelaten licht neemt exponentieel af. De afname wordt bepaald door de uitdovingscoëfficiënt, die afhankelijk is van het absorberende materiaal (hier de biomassa in de buis: aangroei plus vrije bacteriën):

$$I_{UIT} = I_{IN} * e^{-Kx}$$

- $I_{UIT}$  = het doorgelaten licht; in dit experiment afhankelijk van de biofilm-aangroei en de bacteriën in de vrije waterkolom.
- $I_{IN}$  = de maximale waarde die gemeten kon worden (aparte testleiding met helder water). Dit is een vaste waarde:  $0,42 \mu\text{mol}/\text{sec}/\text{m}^2$
- $K$  = de lichtuitdovingscoëfficiënt; deze wordt verondersteld evenredig te zijn met de biomassa in/aan de buis. Dit was de onbekende in dit experiment.
- $x$  = het lichtpad, ofwel de diameter van de buizen (0,05 m).

De lichtuitdoving die veroorzaakt wordt door de biofilm-aangroei en de bacteriën in de vrije waterkolom ( $K(m^{-1})$ ) is te berekenen door deze formule om te schrijven tot:

$$K(m^{-1}) = - \ln(I_{uit}/I_{in}) * 1/x$$

Om te bepalen hoeveel van de lichtuitdoving veroorzaakt wordt door biofilm-aangroei en hoeveel door bacteriën in de vrije waterkolom werd het volgende gedaan:

- berekenen van de K van de totale biomassa (aangroei en bacteriën in de vrije waterkolom samen) uit de metingen in de grote leidingen:  $K_T$
- berekenen van de K van enkel de bacteriën in de vrije waterkolom uit de meting in de testleiding met water uit de tanks:  $K_W$
- de K van alleen de biofilm-aangroei is dan:  $K_B = K_T - K_W$



**Afbeelding 3. Detail van de meetsopstelling**

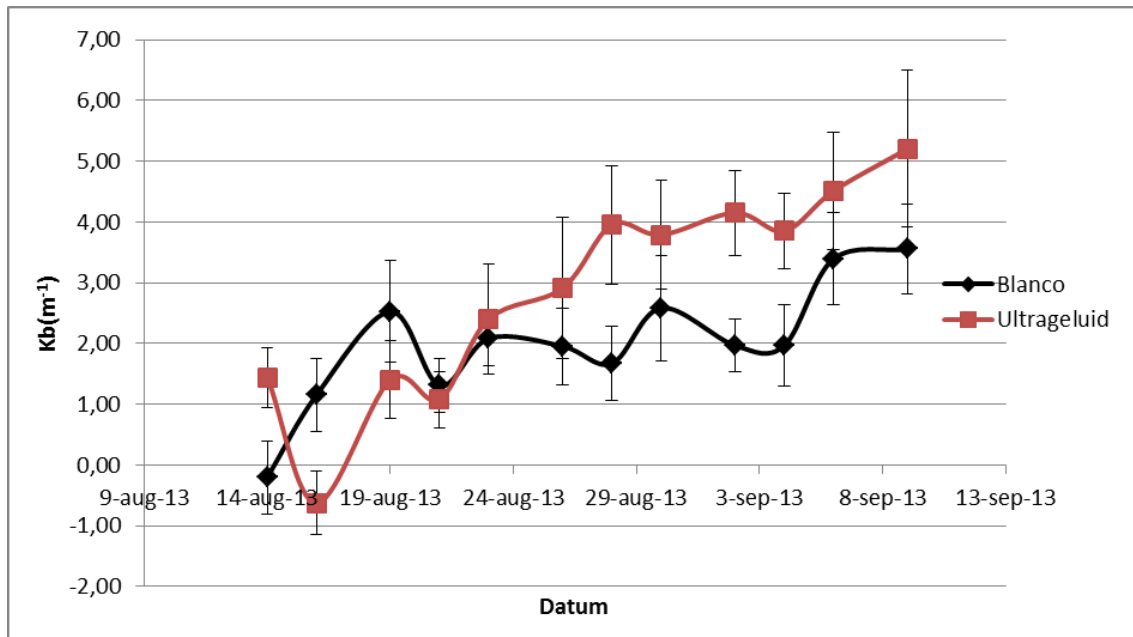
*Aan de linkerkant is de LED lamp te zien, aan de rechterkant de lichtsensor. Voor de meting werd een speciale hoes gemaakt, waardoor altijd op dezelfde punten gemeten werd.*

## **Resultaten**

### **Het eerste experiment**

De metingen zijn gedaan in een periode van ongeveer 3 weken (14-8-2013 tot 9-9-2013, zie afbeelding 4). Voordat het experiment begon, werd het systeem schoongemaakt en gedesinfecteerd. Op dag 1 van het experiment werd de waterstroom gestart, de US-units werden pas ingeschakeld op dag 2. Omdat de aanhechting van bacteriën erg snel kan gaan, kon er zo op de eerste dag van het experiment al een biofilm ontstaan. De eerste meting werd

gedaan op de tweede dag van het experiment, net vóór het inschakelen van de US-units. Er is te zien dat er toen al biofilm aanwezig was, ook al is die niet in alle buizen even sterk – biofilmgroei blijft een enigszins onvoorspelbaar biologisch proces. Wel is duidelijk dat de aanwezige biofilm een klap kreeg door het US. Na het inschakelen van de US-units was er in de leidingen met US in ieder geval geen biofilm meetbaar. De aangroei herstelt echter snel en lijkt juist gestimuleerd te worden door het US. Aan het einde van het experiment is de biofilmaangroei in de US-buizen significant groter dan in de blanco.

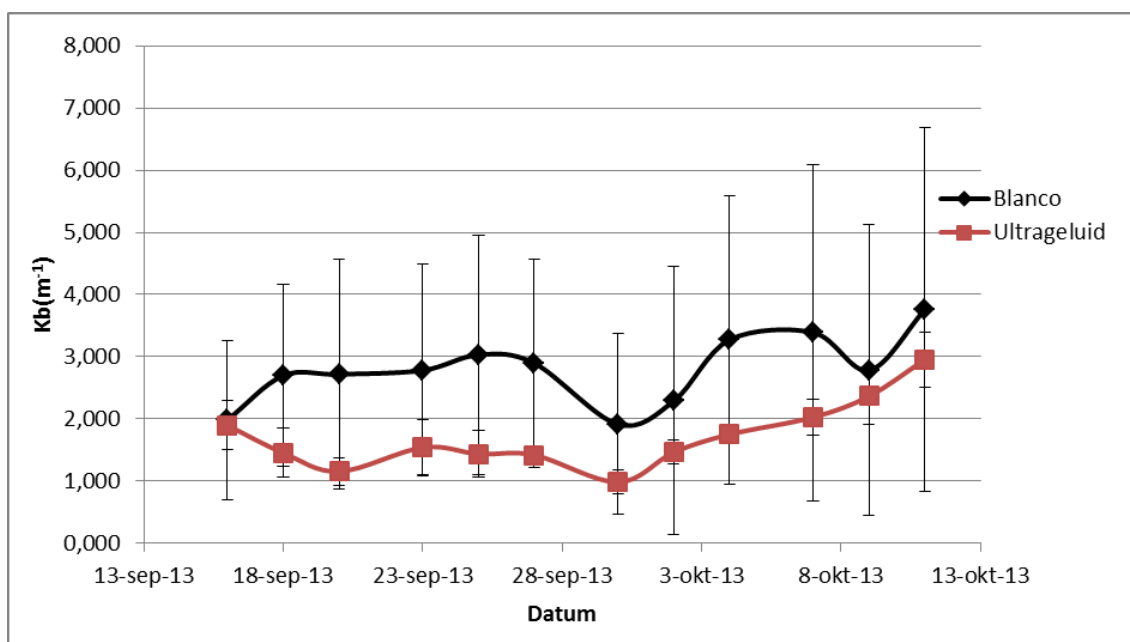


**Afbeelding 4.** Het verloop van de lichtuitdovingscoëfficiënt  $K_b$  van de biofilmaangroei met ultrageluid (rood) en zonder ultrageluid (zwart); ultrageluid ingeschakeld op dag 1.

#### **Het tweede experiment**

Als voorbereiding op het tweede experiment (van 13-9-2013 tot 11-10-2013) werd het systeem opnieuw schoongemaakt. Om directe aangroei te voorkomen werden deze keer de US-units direct ingeschakeld. Afbeelding 5 laat duidelijk zien dat de biofilm-aangroei in de blanco leidingen direct begint. In de leidingen met US lijkt dit pas halverwege het experiment te gebeuren. Vanaf dat punt lijkt US wederom een stimulerend effect te hebben op de aangroei.

Aan het einde van dit experiment lijkt de biofilm niet significant verschillend in de buizen met of zonder US. De standaardafwijking van de blanco is echter groot, door een grotere biofilm-aangroei op één bepaald punt in die leidingen. De standaardafwijking van de aangroei in de leidingen met US is veel kleiner, die aangroei lijkt dus egaler te zijn dan in de blanco leidingen.



**Afbeelding 5.** Het verloop van de lichtuitdovingscoëfficiënt  $K_b$  van de biofilmaangroei met ultrageluid (rood) en zonder ultrageluid (zwart); ultrageluid ingeschakeld op dag 1.

### Discussie en conclusie

De ontwikkeling van de biofilm is niet in alle buizen gelijk, ondanks gelijke groeiomstandigheden. De aangroei van biofilm blijft een biologisch proces en is in die zin lastig te voorspellen.

Het is duidelijk dat toepassing van US in een vieze, niet gedesinfecteerde leiding een ongewenst effect heeft (eerste experiment). De biofilm-aangroei wordt dan juist gestimuleerd. Dit is eerder ook door anderen gevonden [1]. Maar in een schone leiding wordt de aangroei een paar weken uitgesteld door US (tweede experiment); dit resultaat is vergelijkbaar met [2]. Dit betekent dat met US de schoonmaakfrequentie van de leidingen verlaagd kan worden. Bacteriën moeten zich blijkbaar eerst aanpassen aan het US, voordat ze zich kunnen hechten aan het oppervlak van leidingen. Zodra ze gehecht zijn, wordt de biofilm-aangroei gestimuleerd. Een mogelijke verklaring is dat US het transport van voedingsstoffen en afvalstoffen in en uit de biofilm vergroot, waardoor er een betere groei plaatsvindt. Of verschillende bacteriesoorten verschillend reageren op US kan niet uit deze studie opgemaakt worden. Afgezien van de onderzoeken in [1] en [2] hebben we geen wetenschappelijke literatuur kunnen vinden over het effect van US met een laag vermogen.

### Literatuur

1. Pitt, W. G. (2003). ULTRASOUND INCREASES THE RATE OF BACTERIAL CELL GROWTH. *Biotechnol Prog.*(19(3)), 1038–1044.
2. G.Hutchinson. (2008). *Sound Water Practices Ultrasonic Technology Controls Algae and Biofilm*. Algae Control US.