



Effecten van waterdesinfectie met ozon op algenoverleving

Bepaling van minimale dosering en blootstellingstijd voor een waterbehandelingssysteem gebruik makend van ozon

Auteur(s): M.C. Keur

Wageningen University &
Research rapport C034/21

Effecten van waterdesinfectie met ozon op algenoverleving

Bepaling van minimale dosering en blootstellingstijd voor een waterbehandelingssysteem gebruik makend van ozon

Auteur(s): M.C. Keur

Wageningen Marine Research

Wageningen Marine Research
Den Helder, April 2021

VERTROUWELIJK Nee

Wageningen Marine Research rapport C034/21

Keywords: Ozondesinfectie, algenoverleving, zeewater

Opdrachtgever: Orange Aqua B.V.
T.a.v.: Jeroen Noordermeer
Industrieweg 38
6702DR Wageningen

Dit rapport is gratis te downloaden van <https://doi.org/10.18174/544569>
Wageningen Marine Research verstrekt geen gedrukte exemplaren van rapporten.

Wageningen Marine Research is ISO 9001:2015 gecertificeerd.

© Wageningen Marine Research

Wageningen Marine Research, instituut
binnen de rechtspersoon Stichting
Wageningen Research, hierbij
vertegenwoordigd door
Dr.ir. J.T. Dijkman, Managing director

KvK nr. 09098104,
WMR BTW nr. NL 8113.83.696.B16.
Code BIC/SWIFT address: RABONL2U
IBAN code: NL 73 RABO 0373599285

Wageningen Marine Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor
gevolgschade, noch voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de
resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van Wageningen
Marine Research. Opdrachtgever vrijwaart Wageningen Marine Research van
aanspraken van derden in verband met deze toepassing.
Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag weergegeven en/of
gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier gebruikt worden
zonder schriftelijke toestemming van de uitgever of auteur.

A_4_3_1 V31 (2021)

Inhoud

Samenvatting	4
1 Inleiding	5
2 Methoden	6
2.1 Ozon systeem	6
2.1.1 Werking van het systeem	6
2.1.2 Bepaling testconcentraties en validatie meetmethoden	6
2.2 Overlevingstest met algen	8
2.2.1 Testwater	8
2.2.2 Blootstelling van de algen en telmethode	8
3 Resultaten	9
3.1 Water parameters	9
3.2 Algen overleving	10
4 Conclusies	11
5 Kwaliteitsborging	12
6 Literatuur	13
Verantwoording	14

Samenvatting

Voor de ontwikkeling van een waterbehandelingssysteem door Orange Aqua, is inzicht nodig in de effectiviteit van ozon bij het afdoden van algen in zeewater.

In dit onderzoek is met een door de klant geleverde experimentele opstelling zeewater met ozon gedoseerd en vervolgens bepaald wat de minimale blootstellingsconcentratie en blootstellingstijd is om 100% sterfte te bereiken voor drie verschillende mariene algensoorten (*Tetraselmis suesica*, *Rhodomonas salina* en *Skeletonema costatum*).

De laagst geteste blootstellingsconcentratie, met een redoxpotentiaal van 381 mV en een TRO (Total Residual Oxidants concentratie) van 1.0 mg/l Cl₂ equivalenten, veroorzaakte na 5 minuten blootstelling reeds 99.95% sterfte van alle algen. In de volgende testconcentratie met redoxpotentiaal 526 mV en TRO 2.4 mg/L Cl₂ equivalenten, was de sterfte absoluut (100%). De gemeten ozon concentraties van deze monsters waren respectievelijk 0.04 en 0.07 mg O₃/l, maar deze waarden lijken minder betrouwbaar omdat zij niet correleren met de hoeveelheid ozon die aan het water is toegevoegd. TRO lijkt een betrouwbaarder maat voor de hoeveelheid gedoseerde ozon.

Aangezien bij de laagste blootstellingsconcentratie en kortste blootstellingstijd al vrijwel volledige sterfte werd bereikt is het goed mogelijk dat lagere concentraties en kortere blootstellingstijden ook voldoende effectief zijn. Met het aangeleverde testsysteem was het echter niet mogelijk om op betrouwbare wijze lagere testconcentraties te produceren.

1 Inleiding

Voor de ontwikkeling van een door Orange Aqua te bouwen waterbehandelingssysteem is inzicht nodig in de effectiviteit van ozon (O_3) in het doden van (mariene) algen in zeewater.

De onderzoeksvraag was om te bepalen wat de laagste ozon dosering en kortste blootstellingstijd is waarbij 100% mortaliteit van 3 algensoorten wordt bereikt.

2 Methoden

2.1 Ozon systeem

2.1.1 Werking van het systeem

Om de onderzoeksvraag te kunnen beantwoorden is door de opdrachtgever, Orange Aqua, een ozon systeem geleverd aan WMR. Het systeem pompt een volume van circa 60 Liter zeewater rond langs een ozondoseringsapparaat waarbij de ozonconcentratie van het water stijgt met de tijd. Het systeem is uitgerust met een redox/ORP meter, Jumo Aquis 500, waarvan een elektrode, in-line, in het systeem is ingebouwd. Het systeem heeft de mogelijkheid om de ozondosering doormiddel van de stroomtoevoer te reguleren tussen 0.10 en 1.05 Ampère.

Om het testwater te produceren werd het ozonsysteem gevuld met circa 60 Liter schoon natuurlijk zeewater dat vooraf was gefilterd over 0.45 µm om zwevend stof en organismen te verwijderen. Vervolgens werd het ozonsysteem gestart waardoor continu ozon aan het water werd toegevoegd. Door over verschillende tijdstippen na het opstarten water uit het systeem te verzamelen werd een concentratiereeks verkregen voor de testen.

2.1.2 Bepaling testconcentraties en validatie meetmethoden

Vooraf zijn een aantal voortesten uitgevoerd om de vier testconcentraties te bepalen voor de daadwerkelijke proef.

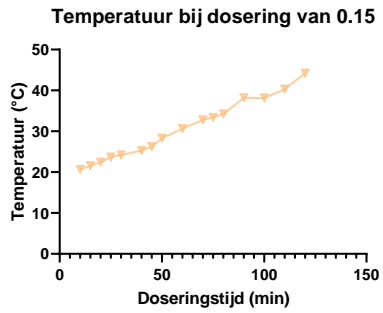
Het ozon systeem is daarvoor meerdere malen opgestart met verschillende stroomtoevoer / ozondosering. Tijdens de eerste trials bleek dat bij een hoge stroomtoevoer de ozondosering enorm hoog is. Daarom is ervoor gekozen om met een lage stroomtoevoer van 0.20 en 0.15 Ampère verschillende parameters in de tijd te monitoren, om te onderzoeken of met deze doseringen een goede concentratiereeks is op te zetten

Het redoxpotentiaal van water loopt op bij doorgaande ozondosering en is een veelgebruikte maatstaf voor de bepaling van ozondosering. Het nadeel van een redoxmeting is dat deze in dit systeem snel een maximum waarde bereikt van circa 700-800mV.

Op verzoek van de klant is de ozonconcentratie in het water gemeten met de Hach Dr890 colorimeter met Hach accuvac ampules. Reeds bij de eerste metingen bleken deze meetwaarden weinig overeen te komen met de doseringstijd en met de redoxmetingen, zij waren waardoor moeilijk te interpreteren (Figuur 3).

Als alternatief zijn ook TRO (total residual oxidants) metingen uitgevoerd. Tijdens de ozon dosering loopt de TRO waarde geleidelijk op en anders dan de redoxmeting wordt niet zo snel een maximum bereikt. De TRO meting werd uitgevoerd met een Hach Dr900 colorimeter waarbij de TRO wordt uitgedrukt in mg/l Cl₂-equivalenten. Deze waarde kan indicatief worden omgezet naar toegevoegde hoeveelheid O₃ (mg/l) met een omrekenfactor van 0.68 (Buchan, 2005).

Naast de bovengenoemde parameters werd ook de watertemperatuur gemeten omdat bleek dat door de pomp van het ozonsysteem de temperatuur van het circulerende water snel toeneemt (Figuur 1).

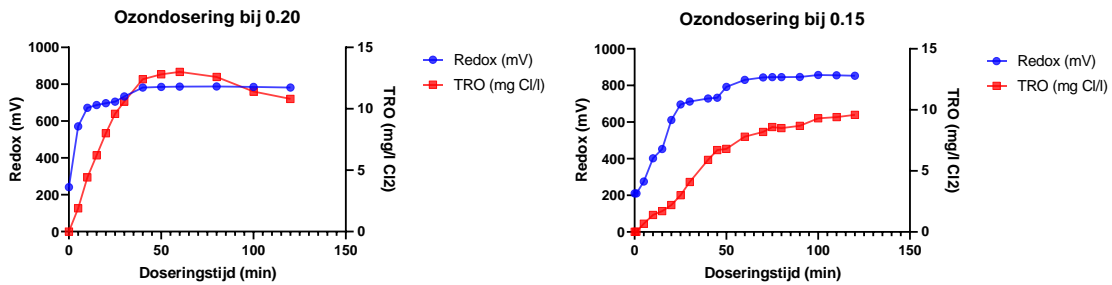


Figuur 1 Verloop van de watertemperatuur in de tijd bij een dosering van 0.15 Ampère

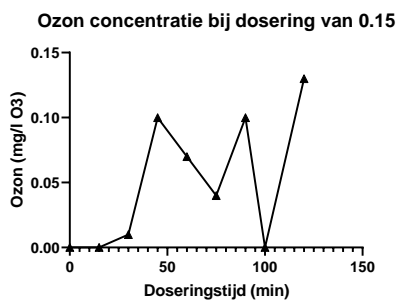
Voor de testen werd het systeem gevuld met circa 60 Liter natuurlijk zeewater van circa 30‰, dat vooraf 0.45 µm gefilterd was om eventuele micro organismen te verwijderen. Na het vullen is het systeem opgestart zoals geïnstrueerd door de klant.

De TRO meting bleek de beste maatstaf om concentraties te bepalen. Met een stroomtoevoer van 0.20 Ampère neemt zowel het redoxpotentiaal als de TRO waarde te snel toe om goede concentraties te verkrijgen (Figuur 2, links). Bij een stroomtoevoer van 0.15 Ampère nemen beide parameters meer geleidelijk toe. Om deze reden is er voor gekozen om met een stroomtoevoer van 0.15 Ampère te werken bij de daadwerkelijke proef (Figuur 2, rechts).

Tevens is bij een stroomtoevoer van 0.15 Ampère ook de ozonconcentratie gemeten (Figuur 3). De ozonconcentratie is laag en toont een grote variatie in de tijd zonder duidelijke correlatie met de redoxpotentiaal of de TRO.



Figuur 2 Verloop in de tijd van het redoxpotentiaal en TRO in het water van het ozon systeem bij stroomtoevoer van 0.20 Ampère (links) en 0.15 Ampère (rechts).



Figuur 3 Verloop in de tijd van de ozon concentratie in mg/l O₃ van het ozon systeem bij een stroomtoevoer van 0.15 Ampère

2.2 Overlevingstest met algen

Na het uitvoeren van de voortesten is de daadwerkelijke proef uitgevoerd waarbij 3 mariene algensoorten zijn blootgesteld aan een controlemonster en de 4 verschillende ozon dosering concentraties.

2.2.1 Testwater

Voor de daadwerkelijke proef is het ozonsysteem opnieuw gevuld met 0.45 µm gefilterd natuurlijk zeewater en is, na het nemen van een controlemonster, de ozondosering gestart met een stroomtoevoer van 0.15 Ampère.

Op 10, 20, 40 en 60 minuten na de start van de dosering is er een watermonster genomen uit het systeem. Deze monsters worden hieronder weergegeven als OZON-10, OZON -20, OZON -40 en OZON -60.

Direct na het nemen van ieder monster is de redoxpotentiaal afgelezen en zijn de TRO, ozonconcentratie en watertemperatuur gemeten zoals beschreven in paragraaf 2.1.

2.2.2 Blootstelling van de algen en telmethode

Een mengsel van drie mariene algensoorten *Tetraselmis suecica*, *Rhodomonas salina* en *Skeletonema costatum* in gelijke dichtheden zijn blootgesteld aan de geproduceerde water monsters. Deze algen werden geleverd door de Hogeschool Zeeland en zijn een aantal weken voor de start van het experiment bij WMR in kweek gebracht om voldoende aantallen voor de proef te garanderen.

Na het meten van de waterparameters zijn de algen toegevoegd aan de monsters. Hiervoor is 1,5 ml van een geconcentreerde mix van de drie algensoorten toegevoegd aan 100 ml monster, waardoor er in totaal 24000 algencellen/ml aanwezig waren, 8000 cellen/ml per algensoort.

Dit monster werd in het donker bij kamertemperatuur weggezet. Vervolgens werd na circa 5, 10, 20 en 30 minuten een sub-monster van 2 ml genomen waarin het aantal levende algencellen is bepaald.

Het aantal levende algencellen werd vastgesteld doormiddel van een microscopie celtelling. Aan 2 ml sub-monster werd 20 µl CMFDA (5-chloromethylfluoresceïn diacetate) toegevoegd. Door een enzymatische werking die alleen in levende cellen actief is, gaat het CMFDA fluoresceren. De tellingen van het aantal fluorescerende (dus levende) cellen zijn uitgevoerd onder een fluorescentie microscoop met gebruik van een 'Sedgewick Rafter' telraam. In dit telraam past precies 1 ml monster en het heeft een interne structuur van horizontale en verticale lijnen, waardoor een raster van 1000 vakjes ontstaat. Elk vakje heeft een volume van 1 µm. Er werden minstens 200 levende cellen geteld, via het raster werd bepaald hoeveel vakjes, dus welk volume, bekeken was zodat het aantal cellen/ml kon worden berekend. Als er minder dan 200 levende cellen/ml aanwezig waren werd het hele sub-monster (1 ml) geteld.

3 Resultaten

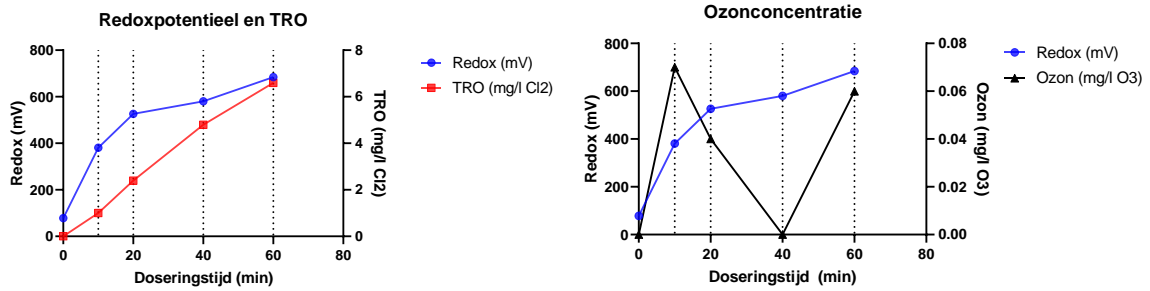
3.1 Water parameters

In Tabel 1 zijn de uitkomsten van de watermetingen op een rij gezet. Vanaf het starten van de ozon dosering liep het redoxpotentiaal in het water op van 78 mV tot bijna 700 mV (Figuur 4). Dit proces verliep snel in de eerste 20 minuten en vlakke daarna af. De TRO is gedurende het experiment vrijwel lineair toegenomen tot een maximaal gehalte van 6.6 mg/l Cl₂ equivalenten (Figuur 4). Volgens de formule van Buchan (2005) zou deze waarde overeenkomen met een toevoeging van 4.49 mg/l O₃. De gemeten ozonconcentratie schommelde gedurende het hele experiment tussen de 0.00 en 0.07 mg/l O₃ (Figuur 4). Naast het feit dat deze gemeten ozonconcentraties heel laag zijn, is er geen duidelijk patroon met oplopende dosering zichtbaar en kan er geen correlatie met de redoxwaarden of de TRO gehalten worden gemaakt.

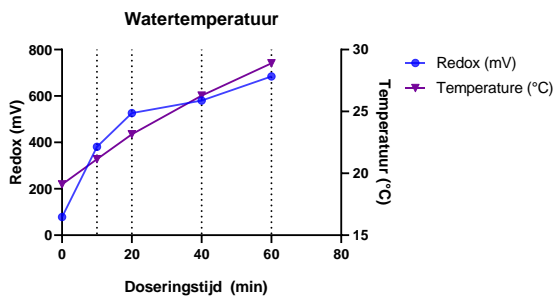
De watertemperatuur van de monsters nam gedurende het experiment lineair toe van 19 naar 29°C (Figuur 5), hoogstwaarschijnlijk veroorzaakt door de pomp waarmee het water in het systeem wordt gecirculeerd.

Tabel 1 Waterparameters van de monsters die gebruikt zijn voor de algen overlevingstest

Code	Doseringstijd (minuten)	Redox (mV)	TRO (mg/l Cl ₂)	Ozon (mg/l O ₃)	Temp (°C)
OZON-0	0	78	0.0	0.00	19.1
OZON-10	10	381	1.0	0.07	21.1
OZON-20	20	526	2.4	0.04	23.2
OZON-40	40	580	4.8	0.00	26.3
OZON-60	60	684	6.6	0.06	28.9



Figuur 4 Redoxpotentiaal en TRO (links) en ozonconcentratie (rechts) gedurende het blootstelling experiment



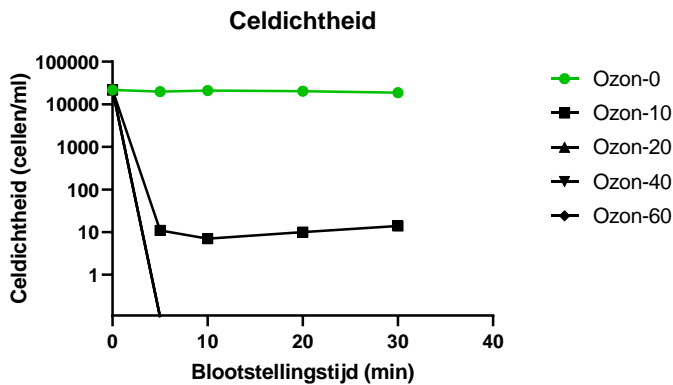
Figuur 5 Gemeten watertemperatuur gedurende het blootstelling experiment

3.2 Algen overleving

In het controlemonster (OZON-0) bleef het aantal levende cellen gedurende de 30 minuten blootstelling gelijk zodat zeker is dat geobserveerde sterfte in de met ozon behandelde monsters aan deze behandeling te wijten is.

Het monster met de laagste ozonconcentratie (OZON-10) veroorzaakte na 5 minuten blootstelling reeds 99.95% sterfte van alle algen (Figuur 6). Een langere blootstellingstijd leidde niet tot een nog hoger sterftepercentage. Dit lijkt erop te duiden dat de sterfte direct optreedt, waardoor met een nog kortere blootstelling tijd wellicht hetzelfde effect bereikt kan worden.

Bij alle hogere ozonconcentraties was sprake van volledige sterfte na 5 minuten blootstelling.



Figuur 6 Aantal levende cellen/ml voor de controle en de vier dosering concentraties tijdens de volledige blootstellingstijd

4 Conclusies

Het doel van dit experiment was om te bepalen wat de minimale blootstellingsconcentratie en blootstellingstijd is om met ozon 100% sterfte te bereiken voor drie verschillende mariene algensoorten.

De laagst geteste blootstellingsconcentratie, met een redoxpotentiaal van 381 mV en een TRO van 1.0 mg/l Cl₂ equivalenten, veroorzaakte na 5 minuten blootstelling reeds 99.95% sterfte van drie geteste algensoorten, *Tetraselmis suesica*, *Rhodomonas salina* en *Skeletonema costatum*. In de volgende testconcentratie met redoxpotentiaal 526 mV en TRO 2.4 mg/L Cl₂ equivalenten, was de sterfte absoluut (100.00%). De gemeten ozon concentraties van deze monsters waren respectievelijk 0.04 en 0.07 mg/l O₃, maar deze waarden lijken minder betrouwbaar omdat zij niet correleren met de hoeveelheid ozon die aan het water is toegevoegd. TRO lijkt een betrouwbaardere maat voor de hoeveelheid gedoseerde ozon.

Aangezien bij de laagste blootstellingsconcentratie en kortste blootstellingstijd al vrijwel volledige sterfte werd bereikt is het goed mogelijk dat lagere concentraties en kortere blootstellingstijden ook voldoende effectief zijn. Met het aangeleverde testsysteem was het echter niet mogelijk om op betrouwbare wijze lagere testconcentraties te produceren.

5 Kwaliteitsborging

Wageningen Marine Research beschikt over een ISO 9001:2015 gecertificeerd kwaliteitsmanagementsysteem. Dit certificaat is geldig tot 15 december 2021. De organisatie is gecertificeerd sinds 27 februari 2001. De certificering is uitgevoerd door DNV GL.

6 Literatuur

Buchan, K. A. (2005). Measurement of dissolved ozone in sea water: Measurement of dissolved ozone in sea water:.. *Aquacultural engineering*(33), 225-231. doi:10.1016/j.aquaeng.2005.02.002

Verantwoording

Rapport C034/21
Projectnummer: 431.51001.61

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het verantwoordelijk lid van het managementteam van Wageningen Marine Research

Akkoord: Dr. E.M. Foekema
Onderzoeker

Handtekening:



31 maart 2021

Datum:

Akkoord: Drs. J. Asjes
Manager integratie

Handtekening:



31 maart 2021

Datum:

Wageningen Marine Research
T: +31 (0)317 48 70 00
E: marine-research@wur.nl
www.wur.nl/marine-research

Bezoekers adres:

- Ankerpark 27 1781 AG Den Helder
- Korringaweg 7, 4401 NT Yerseke
- Haringkade 1, 1976 CP IJmuiden

Wageningen Marine Research levert met kennis, onafhankelijk wetenschappelijk onderzoek en advies een wezenlijke bijdrage aan een duurzamer, zorgvuldiger beheer, gebruik en bescherming van de natuurlijke rijkdommen in zee-, kust- en zoetwatergebieden.



Wageningen Marine Research is onderdeel van Wageningen University & Research. Wageningen University & Research is het samenwerkingsverband tussen Wageningen University en Stichting Wageningen Research en heeft als **missie**: 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'