



**ONTWIKKELING VAN EEN
ELEKTRODYNAMISCHE BALANS
LEVITATOR VOOR HET BESTUDEREN
VAN AEROSOLEN**

Ontwikkeling van de aerosol levitator

Programmaliijn 6 Transmissieroute
Projectnummer 060.51323

DATUM

28 juli 2025

AUTEURS

Marthe Meskers (TNO), Abilash Ravi (TNO/EMC), Luc Hornstra (TNO),
Arjan van Wuijckhuijse (TNO)

MANAGEMENT SAMENVATTING

Verschillende ziekteverwekkende virussen, zoals bijvoorbeeld SARS-CoV-2, het influenza virus, het RS-virus en andere virussoorten worden door ademen, zingen, praten, hoesten of niezen van besmette mensen als kleine deeltjes in de lucht gebracht. Deze aerosolen blijven in de lucht hangen, en kunnen middels inademing of aanraking met slijmvliezen iemand anders besmetten. Het is niet bekend hoe lang virussen in deze aerosolen besmettelijk blijven. Dit varieert tussen minuten en uren. In dit project werd onderzocht welke omstandigheden effect hebben op het verlies van besmettelijkheid van de virussen in aerosolen, omdat dit belangrijke informatie is bij het bepalen van kans op besmetting van mens op mens.

Om te kunnen bestuderen hoe lang virusdeeltjes in aerosolen levensvatbaar zijn, moeten deze aerosolen op een gecontroleerde manier in de lucht gehouden worden. In dit onderzoek werd een zogenaamde aerosol levitator gebouwd, op basis van een recent ontwikkeld systeem aan de Universiteit van Bristol. Omdat dit systeem compact is, is het eenvoudig om omgevingsfactoren, zoals relatieve luchtvochtigheid en CO₂-concentratie te variëren, zodat het effect hiervan op virussen in aerosolen kan worden onderzocht en de inactivatie karakteristieken van virussen onder verschillende omstandigheden kunnen worden vastgesteld.

Met behulp van Computer-aided design (CAD) zijn de verschillende componenten ontworpen, en in samenwerking met elektrotechnici, natuurkundige experts en microbiologen is het systeem gebouwd. In het systeem kunnen aerosoldeeltjes voor een gewenste tijd tussen de elektroden in de lucht gehouden worden. Vervolgens worden de deeltjes op een geladen plaat opgevangen. De aantallen kunnen zowel in de lucht als op de plaat worden vastgesteld. Met geladen aerosoldeeltjes bleken de aantallen in de lucht en op de plaat nagenoeg gelijk.

De werkzaamheid van de opstelling met aerosoldeeltjes met influenza virus kon nog niet worden aangetoond, omdat de generatie van het aerosol uit virusmedium lastiger bleek dan verwacht. De optimalisatie van de opstelling om dit te realiseren zal worden opgepakt in een vervolgproject, zodat experimenten naar levensvatbaarheid van virussen in aerosolen kunnen worden gedaan.

INHOUD

Management samenvatting	2
1 Hoofdstuk 1	4
1.1 Introductie aerosol levitatorsysteem	4
2 Ontwikkeling van de aerosol levitator	6
2.1 Genereren van geladen aerosolen	6
2.2 Aerosol deeltjes leviteren	7
2.3 Aerosol deeltjes visualiseren	8
2.4 Aerosol deeltjes opvangen	9
2.5 Aansturingshardware	9
3 Resultaten	11
3.1 Aerosol trapping	11
3.2 Aerosol collectie	13
3.3 Testen van de aerosol levitator met micro-organismen	14
4 Toepasbaarheid in experimenten	15
5 Conclusie	16
6 Referenties	17

1 HOOFDSTUK 1

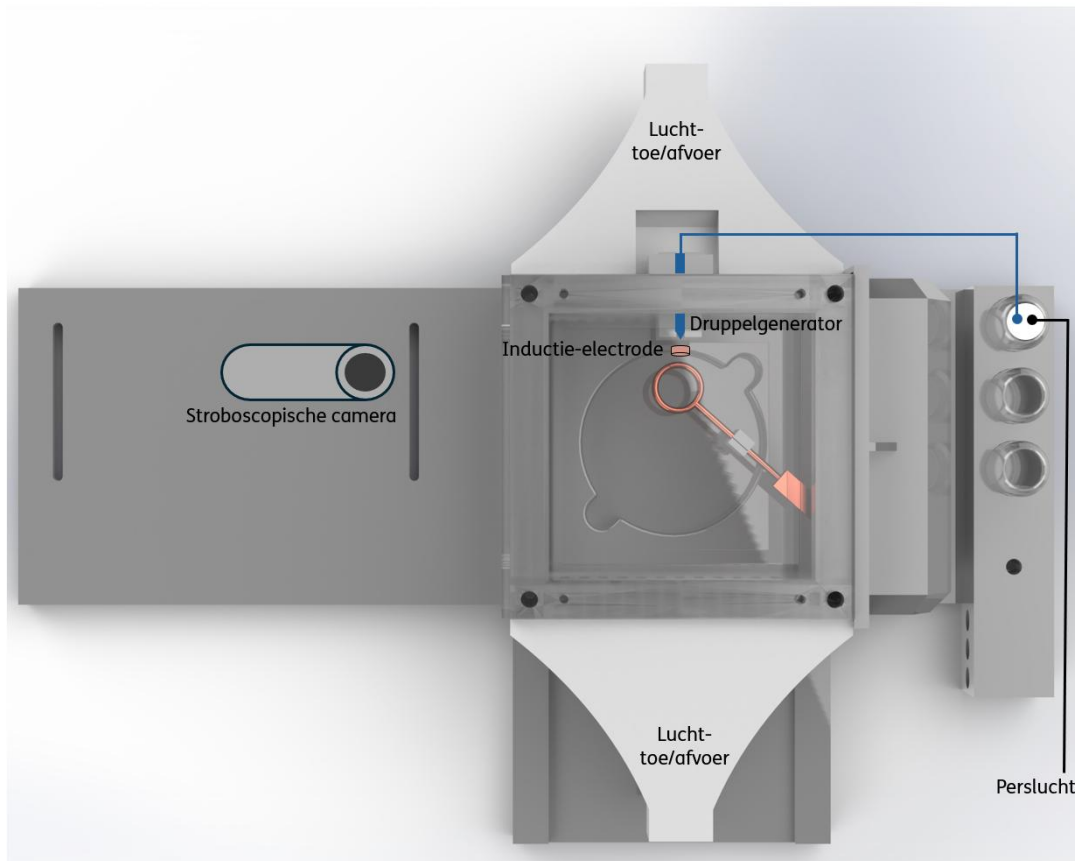
1.1 Introductie aerosol levitatorsysteem

Ziekteverwekkende micro-organismen kunnen worden overgedragen door de lucht van mens op mens. Overdracht vindt plaats via aerosolen, die in de lucht komen door respiratoire activiteiten zoals ademen, zingen, praten, hoesten, etc., en die infectieuze virussen kunnen bevatten. De stabiliteit van virussen in aerosolen speelt een belangrijke rol in hun overdrachtspotentieel van gastheer naar ontvanger, want als een virus in een aerosol na een bepaalde tijd wordt geïnactiveerd, dan is het niet meer in staat iemand te besmetten. Factoren die de stabiliteit van virussen in aerosolen in lucht beïnvloeden zijn onder andere de eigenschappen van het virus zelf, de samenstelling van het aerosol en de eigenschappen van de omgeving zoals onder andere temperatuur, luchtvochtigheid, CO₂-niveau, etc.. Hoe deze factoren de stabiliteit van het virus, en daarmee kans op overdracht, beïnvloeden, is nog grotendeels onbekend. Deze factoren verschillen ook per virusstam. In het kader van het P3venti-project hebben we daarom een bioaerosol-levitator ontwikkeld en gebouwd om de stabiliteit van micro-organismen in aerosolen onder verschillende omstandigheden te kunnen bestuderen, waarbij ook deeltjes in de inhaleerbare groottefractie van 4-6 micron kunnen worden gevangen.

De levitator maakt gebruik van een elektrodynamische balans (EDB) om virusbevattende aerosoldeeltjes, die worden gegenereerd met een "druppel on demand generator" en vervolgens elektrisch worden geladen, op te vangen. Na een zelf te bepalen zweeftijd worden de aerosolen op een vast oppervlakte verzameld en kunnen de daarin aanwezige virussen op cellen van een cellijn worden gebracht om de levensvatbaarheid van deze virussen te onderzoeken.

De EDB voor het laten zweven van geladen deeltjes werd voor het eerst beschreven in 1953 (Paul & Steinwedel, 1953). In de daaropvolgende decennia zijn verschillende apparaten ontwikkeld om (sub)micron-grootte geladen deeltjes in een elektrodynamisch veld te laten zweven. Hoewel deze techniek al uitgebreid is toegepast om de fysische eigenschappen van aerosolen te bestuderen, werd EDB pas recentelijk ingezet voor onderzoek naar aerosolen die virussen bevatten, de zogenaamde bioaerosolen (Santarpia et al., 2020). Aan de Universiteit van Bristol werd het systeem CELEBS (Controlled Electrodynamic Levitation and Extraction of Bioaerosol onto a Substrate) ontwikkeld, zoals beschreven in het proefschrift van Fernández (Fernandez et al., 2019). Dit systeem diende als belangrijke referentie en inspiratie voor het ontwerp van de aerosol levitator bij TNO.

Na het ontwerpen en assembleren van onze aerosol levitator hebben we een beperkt aantal experimenten uitgevoerd om de functionaliteit ervan te testen; in dit geval het vangen en de daaropvolgende verzameling van aerosoldeeltjes om de werking te evalueren. Dit rapport beschrijft de ontwikkelde opstelling, de uitgevoerde experimenten en de toepassingen en mogelijkheden voor toekomstige studies met behulp van de aerosol levitator.



Figuur 1: schematisch bovenaanzicht van de ontworpen aerosol levitator. Aan de boven en onderkant zijn toevoeren voor lucht gemaakt, zodat de omgevingscondities in de aerosol levitator kunnen worden gecontroleerd.

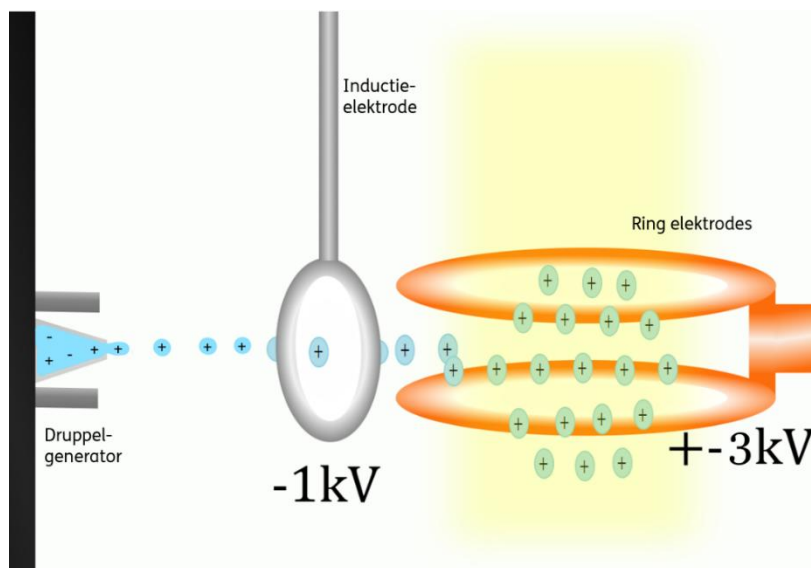
2 ONTWIKKELING VAN DE AEROSOL LEVITATOR

De aerosol levitatoropstelling is ontworpen voor de vereiste functionaliteiten en bijbehorende ontwerpeisen, zoals hieronder uiteengezet. Op basis van deze criteria werd een CAD-model ontwikkeld en ge-3D-print. Twee iteratieve ontwerprondes resulteerden in de versie die wordt weergegeven in figuur 1 en figuur 3.

2.1 Genereren van geladen aerosolen

Voor de generatie van een aerosolstroom werd, naar voorbeeld van Bristol, gekozen voor een "droplet-on-demand"-dispenser. Via een slangetje is de dispenser verbonden met een fles die een ionische vloeistof (zoutoplossing met elektrisch geladen deeltjes) bevat. De gegenereerde druppels van deze oplossing passeren een ringvormige inductie-elektrode die op een negatief elektrisch potentiaal staat. Dit verstoort het ionenevenwicht, waardoor de druppels aan het druppeloppervlak een kleine netto positieve lading verkrijgen, zoals geïllustreerd in figuur 2.

De aerosol levitatoropstelling moet voorzien zijn van een mechanisme om de druppelgenerator en de inductie-elektrode t.o.v. elkaar te positioneren. Daarnaast dient een houder voor de te vernevelen agentia in het ontwerp te worden opgenomen. De integratie van deze elementen in het ontwerp is weergegeven in figuur 1.

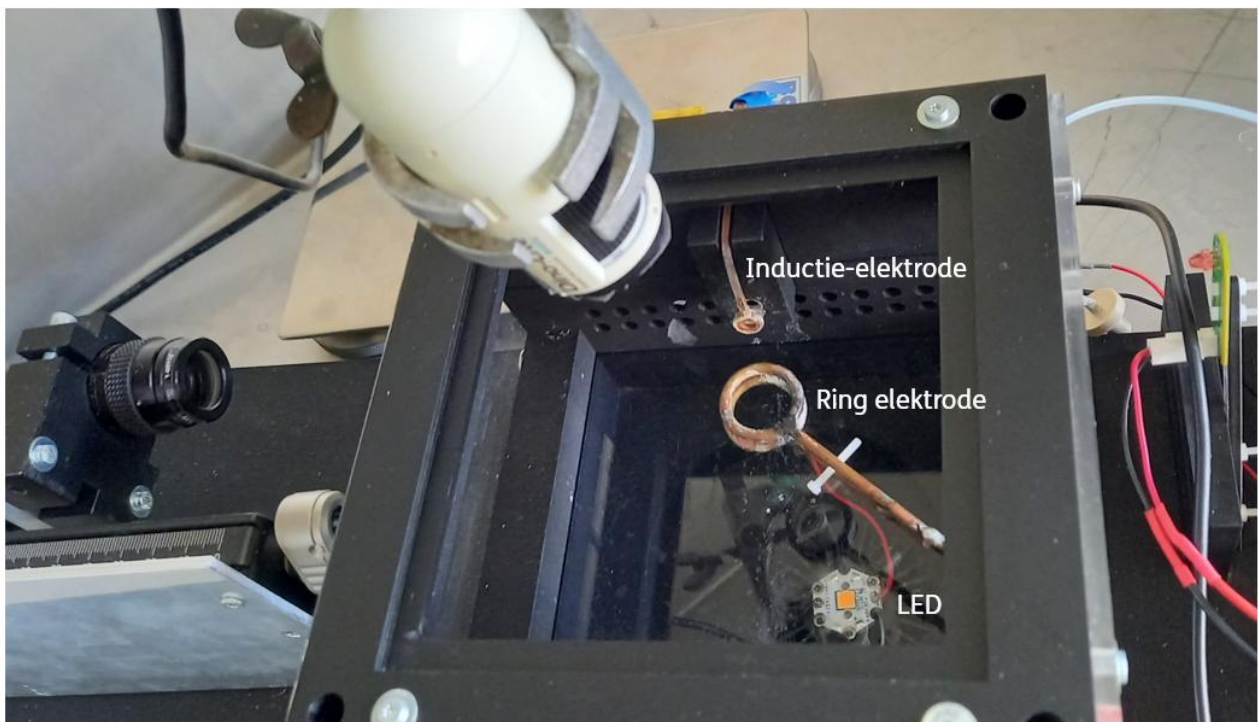


Figuur 2: Schematisch zijaanzicht binnenin de levitatiekamer, waarin de generatie van een stroom positief geladen aerosoldeeltjes wordt getoond met behulp van een druppelgenerator en een inductie-elektrode. De toegepaste spanningen op de inductie- en ringelektrode zijn aangegeven. Dit zijn respectievelijk een gelijkspanning en een wisselspanning.

2.2 Aerosol deeltjes leviteren

De geladen aerosolstroom moet vervolgens een symmetrisch, wisselspanningsveld binnentreden, waarin de deeltjes omhooggehouden worden door een aantrekkende/afstotende elektromagnetische kracht. Een dergelijk veld kan worden opgewekt door een wisselspanning (AC) aan te brengen op twee identieke, geleidende ringen die boven elkaar zijn geplaatst (zie figuur 1 en figuur 2). We hebben ringen met verschillende diameters vervaardigd uit koperdraad en messingdraad, met uiteenlopende diktes, om te testen welke configuratie de meest stabiele levitatie mogelijk maakt. Daarnaast is een bevestigingssysteem ontwikkeld waarmee de ringen op variabele afstand van de druppelgenerator kunnen worden geplaatst. Op deze manier kan worden gecompenseerd voor variaties in de afstand tot de inductie electrode of de hoogte van de aerosolstroom.

De stabiliteit, dat wil zeggen hoe stabiel de aerosolen in het elektrische veld verblijven, wordt niet alleen bepaald door het elektrische veld, maar ook door de omringende luchtstromingen. Om deze luchtstromingen te minimaliseren en een gecontroleerde omgeving te creëren, zijn de dispenser en elektroden geplaatst in een gesloten kamer. Aan weerszijden van deze kamer kunnen luchtinlaten magnetisch worden bevestigd, zodat de condities, zoals bijvoorbeeld luchtvochtigheid, temperatuur en CO₂-concentratie in het aerosol levitator systeem kunnen worden geregeld.

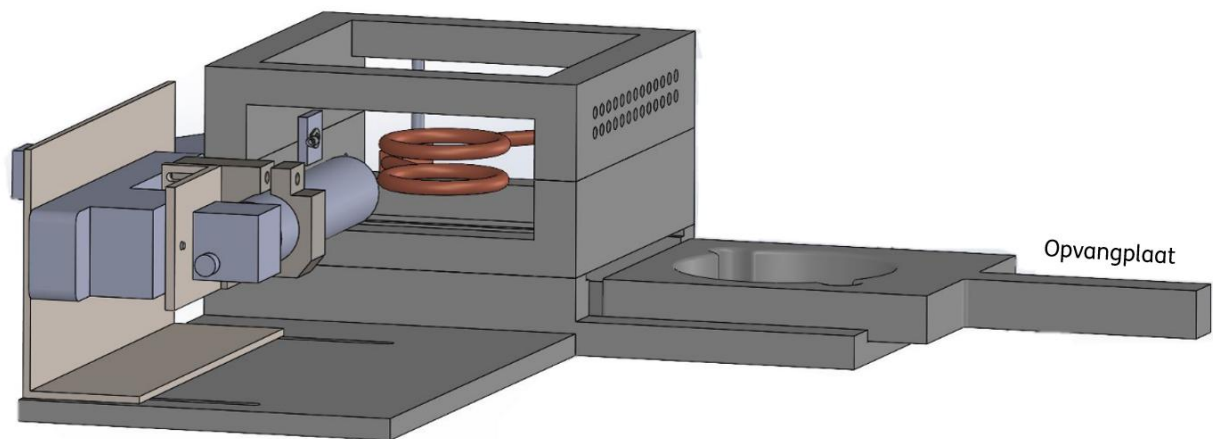


Figuur 3: Bovenaanzicht van de aerosol levitator. Zowel aan de bovenkant als aan de zijkant is een camera aanwezig om de aerosolen ook visueel zichtbaar te kunnen maken. De LED verlichting onder in de aerosol levitator kamer is beschermd door een transparante plaat.

2.3 Aerosol deeltjes visualiseren

Tijdens de levitatie moeten de aerosol deeltjes worden gevisualiseerd om succesvolle “trapping” te bevestigen en het aantal gevangen deeltjes te kunnen tellen. Dit is essentieel voor het bepalen van zowel de opvangefficiëntie als de levensvatbaarheid van de micro-organismen. Daarom moet het deksel van de kamer transparant zijn en dient er een camera boven de ringelektroden te worden geplaatst. Daarnaast moet een LED tegenover de camera worden gepositioneerd – in dit geval aan de onderzijde van de aerosol levitator – om de deeltjes te verlichten. Ter bescherming van de LED tegen contact met vloeistof en om decontaminatie van de binnenzijde van de kamer te vereenvoudigen, is een transparante plaat boven de LED geplaatst.

De aerosoldeeltjes zijn van micrometer grootte en vertonen snelle oscillaties met de zelfde frequentie als het wisselende elektrische veld. Om deze deeltjes effectief te visualiseren, moet de LED een hoge lichtintensiteit hebben en moet de framerate van de camera aanzienlijk lager zijn dan de oscillatiefrequentie. Hierdoor ontstaat er een lijn per deeltje op het beeld, aangezien meerdere momenten binnen één oscillatie worden vastgelegd. Niet alleen de zwevende deeltjes, maar ook de druppelgenerator en de gegenereerde aerosolstroom worden met een camera gemonitord. Dit is essentieel om storingen in de druppeldispenser – bijvoorbeeld door verstopping – tijdig te detecteren. Een stroboscopische camera en LED worden hiervoor tegenover elkaar geplaatst, zijdelings ten opzichte van de aerosolstroom. Om dit mogelijk te maken, moeten ook de zijkanten van de kamer transparant zijn (Figuur 4). Aangezien een homogeen elektrodynamisch veld vereist is en de opstelling hier niet door beïnvloed mag worden (en omgekeerd), moeten alle materialen – met uitzondering van de elektroden – zowel niet-geleidend als antistatisch zijn. Daarom is gekozen voor antistatisch plexiglas voor de transparante zijwanden van de kamer.



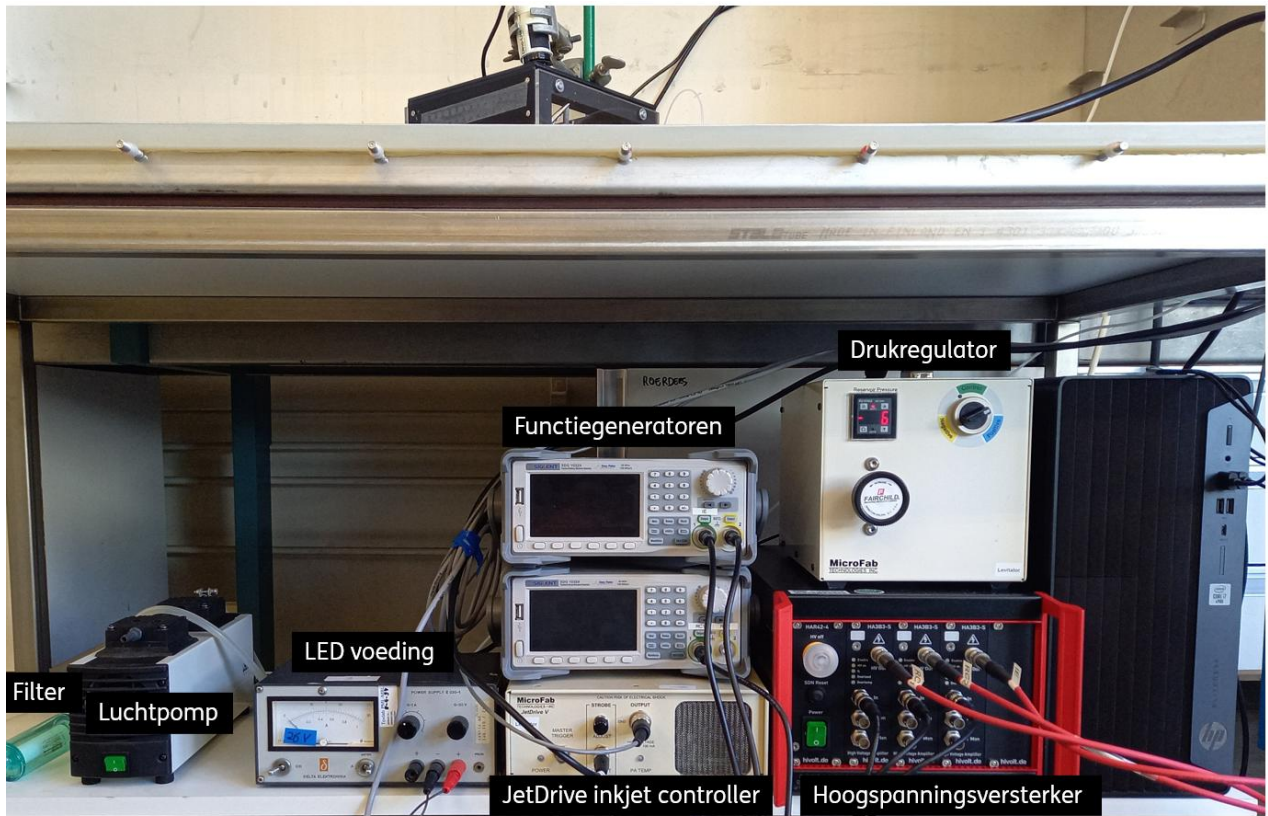
Figuur 4: Schematische tekening van de aerosol levitator, met links de zijcamera en rechts de opvangplaat. De opvangplaat wordt na een experiment uit de aerosol levitator geschoven, waarna de daarop aanwezige micro-organismen kunnen worden onderzocht.

2.4 Aerosol deeltjes opvangen

Om de aerosoldeeltjes na een verblijf van een bepaalde tijd in lucht te beoordelen, moeten deze worden opgevangen en moet worden bepaald of de daarin aanwezige virussen nog infectieus zijn. Hiervoor is een opvangplaat in de opstelling geplaatst, tussen de transparante plaat onder de ringelektrodes en de LED, zoals weergegeven in figuur 4. Op de plaat is een laag geleidend materiaal aangebracht, waarop een antistatische petrischaal met voedingsmedium wordt geplaatst. Door de transparante afdekplaat terug te schuiven en een negatieve elektrische potentiaal op het geleidende materiaal aan te leggen, worden de positief geladen, in het electro-dynamische veld zwevende deeltjes naar de petrischaal getrokken.

2.5 Aansturingshardware

Om spanning aan de elektroden en LED-verlichting te leveren en perslucht aan de vloeistoffles toe te voegen, zijn de hardwarecomponenten zoals weergegeven in figuur 5 noodzakelijk. Twee functiegeneratoren in combinatie met een hoogspanningsversterker voorzien in de elektrische potentiaal voor de elektroden en de opvangplaat. Een luchtpomp, luchtfilter en drukregelaar leveren gefilterde perslucht aan de droplet-on-demand generator. Dit zorgt ervoor dat de oplossing uit de fles het uiteinde van de dispenser bereikt en dat vloeistof kan worden doorgespoeld. De dispenser wordt elektrisch aangestuurd via een JetDrive inkjetcontroller. Daarnaast voorziet een standaard voedingsbron de ledverlichting aan de onderzijde van de kamer van stroom.

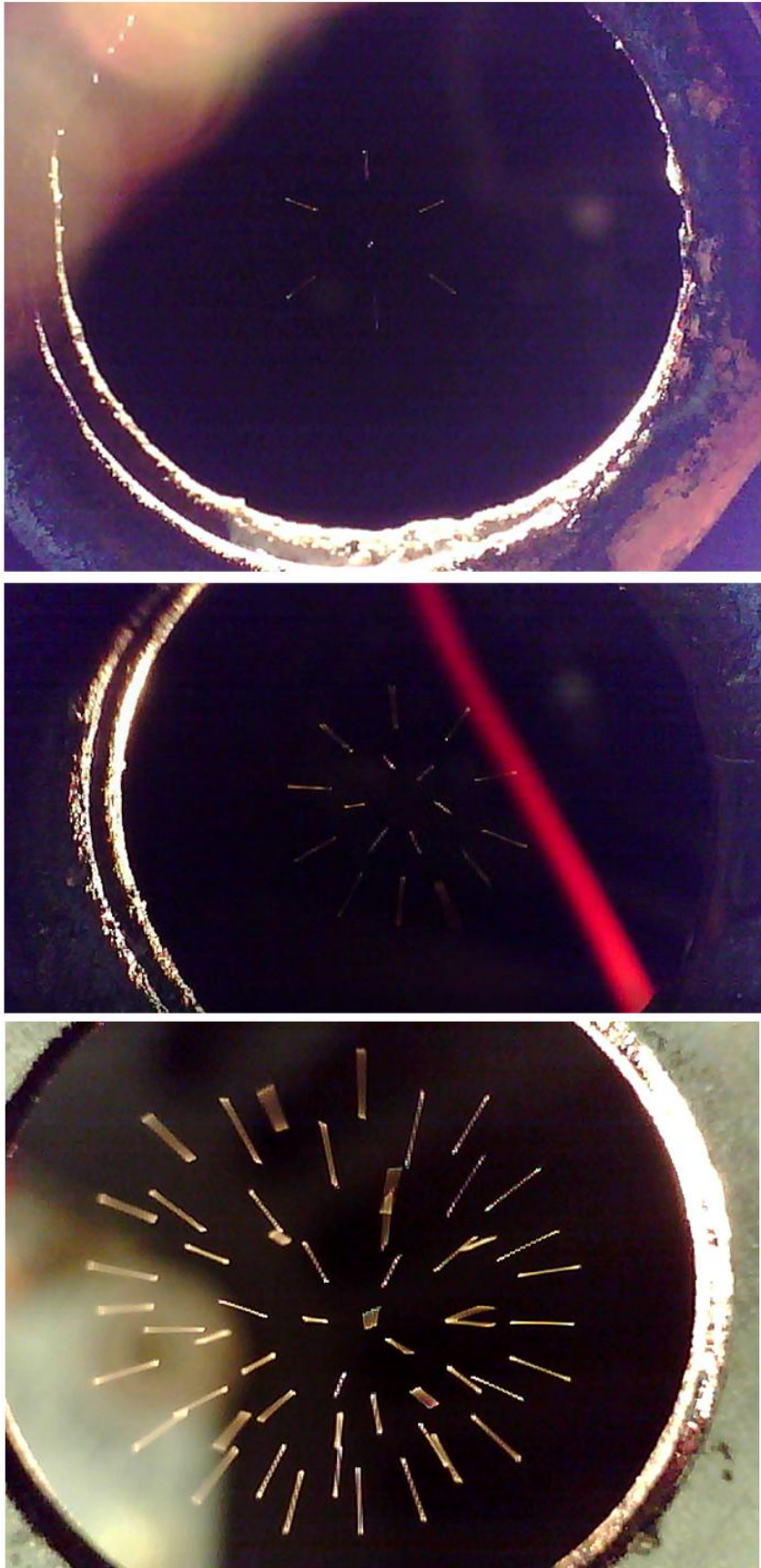


Figuur 5: De benodigde apparatuur voor het aansturen van de aerosol levitator.

3 RESULTATEN

3.1 Aerosol trapping

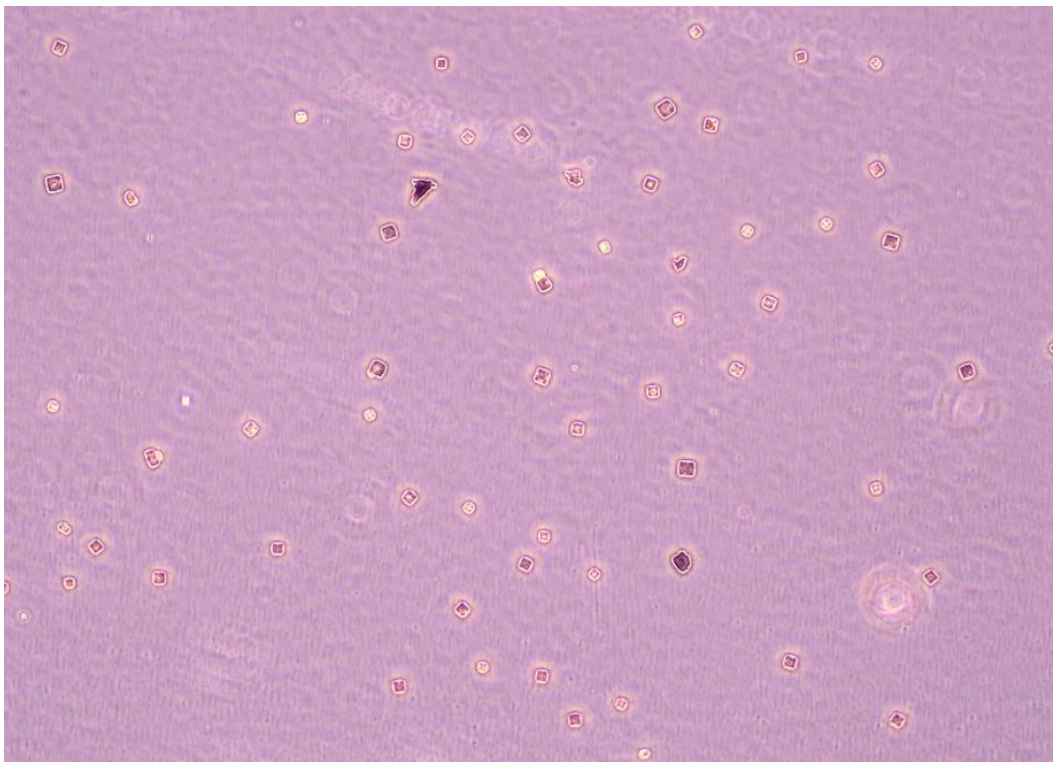
In een reeks experimenten met fosfaat gebufferde zoutoplossing (PBS) is aangetoond dat het mogelijk is om groepen van deeltjes – variërend van 1 tot circa 60 deeltjes– gedurende een willekeurige tijdsduur te laten zweven in het electrodynamische veld. Afbeeldingen van verschillende configuraties van zwevende deeltjes zijn weergegeven in figuur 6. Zoals in deze figuur te zien is, vormen de zwevende deeltjes een symmetrische configuratie en coalesceren ze niet, dankzij onderlinge elektrostatistische afstoting. Tijdens deze experimenten werden luchtvochtigheid en temperatuur nog niet gereguleerd. Optimale parameters en condities voor levitatie zijn onderzocht en vastgelegd in een protocol.



Figuur 6: Voorbeelden van verschillende aantallen zwevende aerosolen (7, 17 en 55).

3.2 Aerosol collectie

Om het opvangsysteem voor de deeltjes te testen, werd de petrischaal waarin deeltjes opgevangen zijn onder een optische transmissiemicroscoop geïnspecteerd en werden de zoutkristallen van individuele aerosoldeeltjes geteld. Om dit proces te vergemakkelijken, werd een natriumchloride-oplossing met hoge concentratie gebruikt, zodat grote zoutkristallen gevormd werden. Een voorbeeld van de NaCl-kristallen, waargenomen onder de microscoop na levitatie, is weergegeven in figuur 7. De vierkante vorm van de kristallen maakt ze onderscheidbaar van andere (stof)-deeltjes op de petrischaal. Er zijn procedures ontwikkeld om de aerosoldeeltjes stabiel te laten zweven tijdens het inbrengen van de opvangplaat en om alle deeltjes effectief op de plaat te verzamelen. Binnen de onzekerheidsmarge die gepaard gaat met het tellen van deeltjes – die enkel onder een microscoop zichtbaar zijn – werd volledige opvang efficiëntie bevestigd. Zowel kleine groepen van 1-5 deeltjes als grotere groepen tot 20 aerosol deeltjes werden volledig opgevangen op de schaal.



Figuur 7: Microscopopname van zoutkristallen die na levitatie zijn opgevangen.

Een volgende stap in het valideren van de aerosolcollectiemethode is het leviteren van bacteriën en virussen en het vergelijken van het aantal gevormde koloniën (CFUs) met het aantal gevangen aerosoldeeltjes. Binnen dit project is dit helaas nog niet gelukt.

3.3 Testen van de aerosol levitator met micro-organismen

In de laatste fase van het project zal het aerosol levitatorsysteem worden gevalideerd. Een belangrijk aspect dat nader onderzocht moet worden, is het effect van het elektrodynamisch veld op micro-organismen. Haddrell et al. modelleerden het effect van het elektrische veld binnen aerosoldeeltjes en concludeerden dat het veld geen schade aan virussen in de aerosoldeeltjes kan veroorzaken (Haddrell et al., 2023). Door de geleidbaarheid van de druppels is er geen elektrisch veld aanwezig binnenin de druppel; enkel het oppervlak ervaart een veld, dat naar verwachting een factor 10^6 lager is dan het veld dat nodig is om schade aan virale spike-eiwitten te veroorzaken (Luisetto et al., 2023). Experimenteel is dit nog niet geverifieerd. Verder is niet onderzocht of mechanische krachten, veroorzaakt door de snelle oscillatie van de aerosolen, een effect kunnen hebben op de levensvatbaarheid van de micro-organismen.

Om de impact van een elektrisch veld en hiermee het elektrisch laden van de aerosoldruppels op de levensvatbaarheid van virus te beoordelen, wordt een vergelijkende studie uitgevoerd met de vernevelaar van de door het Erasmus MC ontworpen aerosol kamer (Ardbaan systeem). In deze studie wordt het geaerosoliseerde virus door de inductie-elektrode gestuurd en vervolgens direct opgevangen. In de helft van de experimenten wordt de inductie-elektrode van spanning voorzien, met een elektrische lading op de aerosoldeeltjes tot gevolg, en in de helft van de experimenten wordt er geen spanning aangebracht. Deze studie is echter nog niet afgerond, omdat er bij deze experimenten met het H1N1 virus telkens problemen optraden, die waren gerelateerd aan verstoppingen van de druppelgenerator. Herhaaldelijk bleken celresten in het medium met virus de oorzaak van verstopping van de druppelgenerator. Het toevoegen van een extra filtratiestap heeft dit nog niet volledig kunnen oplossen, waardoor dit op dit moment nog steeds een probleem is waar we mee bezig zijn. Deze experimenten hebben desalniettemin tot waardevolle kennis en ervaring over het aerosoliseren van virus met de aerosol levitator geleid. In een vervolgproject zal dit experiment nogmaals herhaald worden om de invloed van elektrische lading op geaerosoliseerd virus te kunnen onderzoeken. Hierbij zouden we idealiter een zelfde type druppelgenerator met een andere aansluiting gebruiken. Hierdoor zou het virus sample direct aan de druppelgenerator verbonden kunnen worden en is een slang die niet verwisseld kan worden niet nodig en is perslucht ook niet benodigd.

4 TOEPASBAARHEID IN EXPERIMENTEN

De ontwikkelde aerosol levitator is nog niet volledig getest en verfijnd, maar vormt potentieel een veelzijdig instrument om aerobiologische micro-organismen – waaronder bacteriën, virussen en schimmels – te onderzoeken. Zweeftijden variërend van enkele seconden tot meerdere uren kunnen worden gerealiseerd, gevolgd door een efficiënte opvang van de deeltjes voor verdere analyse. Door de micro-organismen te incuberen en het aantal *colony forming units* (CFU's) of *plaque forming units* (PFU's) te kwantificeren ten opzichte van het totaal aantal zwevende deeltjes, kan de overleving in lucht worden bepaald.

De aerosol levitator ondersteunt de aerosolvorming van microbiële populaties uit zowel ionische oplossingen als mucusmonsters, waardoor een realistische simulatie van luchtgedragen transmissie mogelijk is. Bioaerosoldeeltjes kunnen in onze opstelling worden opgevangen op diverse substraten, zoals kweekmedia of longepitheelcellen, wat een breed scala aan levensvatbaarheids- en infectiviteitsstudies mogelijk maakt.

Inzicht in de inactivatiekarakteristieken en daarmee de transmissieroutes van pathogenen is cruciaal om te bepalen welke niet-farmaceutische interventies het meest effectief zijn om uitbraken te voorkomen. In toekomstige studies met de aerosol levitator kan de duur van de infectiviteit van verschillende respiratoire virussen in lucht worden bepaald om de invloed van omgevingsfactoren op luchtgedragen transmissie te onderzoeken. Omgevingscondities om te bestuderen zijn onder andere de relatieve luchtvochtigheid, de koolstofdioxideconcentratie, de temperatuur en het type oplossing (mucus of zoutoplossing). Resultaten van zulke studies kunnen tot nieuwe en waardevolle informatie over de verspreiding van virussen via de lucht leiden. Dit zal bijdragen aan de ontwikkeling van onderbouwde maatregelen om de verspreiding van respiratoire virussen te beperken.

5 CONCLUSIE

Tijdens dit project is een elektrodynamische aerosol levitator gebouwd ten behoeve van studies met (bio)aerosolen. De bouw hiervan is multidisciplinair en een nauwe samenwerking tussen natuurkundigen, electrotechnici en microbiologen. De gebouwde levitator is getest met aerosolen met zoutkristallen. In de laatste fase zijn testen gedaan met het influenza virus, maar deze experimenten zijn door verstopping van de droplet generator nog lopend, en worden voortgezet in een ander project. De verwachting is dat de huidige problemen zullen worden opgelost, waarna de levitator beschikbaar is voor het bestuderen van virussen in aerosolen.

6 REFERENTIES

- Fernandez, M. O., Thomas, R. J., Garton, N. J., Hudson, A., Haddrell, A., & Reid, J. P. (2019). Assessing the airborne survival of bacteria in populations of aerosol droplets with a novel technology. *Journal of The Royal Society Interface*, 16(150), 20180779. <https://doi.org/10.1098/rsif.2018.0779>
- Haddrell, A., Otero-Fernandez, M., Oswin, H., Cogan, T., Bazire, J., Tian, J., Alexander, R., Mann, J. F. S., Hill, D., Finn, A., Davidson, A. D., & Reid, J. P. (2023). *Supplementary Information from Differences in airborne stability of SARS-CoV-2 variants of concern is impacted by alkalinity of surrogates of respiratory aerosol.* <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.23442782.v1>
- Luisetto, M., Almukhtar, N., Edbey, K., Tarro, G., R, A., Cipelli, R., Cagianca, L., Abdul Hamid, G., & Mashori, G. (2023). *Sars-COV-2 Spike Protein Derivates -ACE LINK -Graphene and Wireless Communications Radiation: Epidemiological - Chemico Physical and Toxicological Aspects -Scientific Evidence and other Interesting Documents-INDEXED BY SCILIT and SEMANTIC SCHOLAR- WORLDCAT- INDEXED BY SORBONNE UNIVERSITY LIBRARY.*
- Paul, W., & Steinwedel, H. (1953). Ein Neues Massenspektrometer Ohne Magnetfeld. *Zeitschrift Naturforschung Teil A*, 8, 448. <https://doi.org/10.1515/zna-1953-0710>
- Santarpia, J. L., Ratnesar-Shumate, S., & Haddrell, A. (2020). Laboratory study of bioaerosols: Traditional test systems, modern approaches, and environmental control. *Aerosol Science and Technology*, 54(5), 585–600. <https://doi.org/10.1080/02786826.2019.1696452>

