



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

Masteroppgave 2016 30 stp  
Fakultet for miljøvitenskap og teknologi  
Institutt for matematiske realfag og teknologi

## **Transport og skjebne av Escherichia coli og somatiske bakteriofager i mettetsone(morenejord) i en 6 m lang Pleksiglassrenner**

Transport and fate of Escherichia coli and somatic  
bacteriophages in the saturated zone (moraine soil) in a 6  
m long column)

Honar Ahmed Said  
Vann- og miljøteknikk

## **Sammendrag**

Infiltrasjon med utslipp av forurensing avløpsvann kan utgjøre en fare for spredning av mikroorganismer og dermed føre til forurensing av jord, vann og miljøet. Avløpsvannets negative egenskaper avhengige av avløpsvannets innhold av avløpsvannets innhold av mikroorganismer og avstanden til nærmeste vannresipient

Det ble utført renneforsøk. Forsøksrennen var 6 meter lang, hadde en bredde på 0.4 meter og en dybde på 0,5meter. Renneforsøket ble utført for å undersøke skjebnen og transport av bakteriofag St 28B og bakterier som funksjon av oppholdstid og transportavstand i mettetsone og i morenejord. I tillegg ble det klorid (NaCl) anvendt som en konservativ sporstoff for å bestemme transportegenskaper.

Fire  $\log_{10}$  av S.t 28 ble fjernet ved adsorpsjon og inaktivering i løpet av 20 dager oppholdstid, under en transport avstand på 5 meter. Den totale fjerning med hensyn til E. coli var over 5  $\log_{10}$  og under en transport avstand på 5 meter og en oppholdstid i løpet av 20 dager.

Størst fjerning oppnås de første meterne av transportstrekningen. Etter bare 0.5 meter ble fjernet omtrent 3  $\log_{10}$  for E.coli. Som var 1.6  $\log_{10}$  lavere enn fjerning av S.t 28B dette gjør at en kan si at bakteriofager er et bedre indikator enn E.coli for fjerning av virus

**Inaktivering eksperimenter** ble utført for tre forskjellige temperaturer i området fra 4 til 20

### **Oppbevaringsmetode av virusprøver**

Resultatet av utførte forsøket viser at den faktiske reduksjonen av virusprøver som ble frosset ned i perioden var mye større enn et en kunne tenke seg. Det ser ut at reduksjonen bakteriofaget var i initialfasen større enn reduksjonen over tid av bakteriofager og betydelig større enn inaktiveringseffekt.

## Abstract

Groundwater acts as a recipient for supplying of infiltrating water passing through the unsaturated zone. Accurate knowledge of the processes that control the fate and transport of viruses in saturating zone therefore it is necessary to assess the pollution potential and designing setback distances for water production wells / water sources

Column of Plexiglas experiments in a 6 m long  $\times$  0.2 m<sup>2</sup> (0.5 $\times$ 0.4) meter column were performed to investigate the fate and transport of bacteriophage S.t 28B and bacteria as a function of distance and residence for the saturated zone in moraine soil after the graywater soil infiltration systems. In addition, chloride (Cl) was used as a conservative tracer to determine transport characteristics.

Inactivation experiments were performed for three different temperatures ranging from 4 to 20°C and for Storage Method of water samples

Four log<sub>10</sub> of S.t 28 was removed by adsorption and inactivation during 20 days residence time, during a transport distance of 5 meters. The total removal with respect to E.coli was over five log<sub>10</sub> and during a transport distance of 5 meters and a residence time during 20 days. The greatest removal is achieved the first few meters of transport after only 0.5 meters was removed about 3log<sub>10</sub> for E.coli. Which was 1.6 log<sub>10</sub> lower than removal of S.t 28B

The result of the experiment performed shows that the actual reduction of samples that were frozen during the period was much larger than one could imagine. It appears that the reduction of bacteriophage was in the initial phase greater than the reduction over time of bacteriophages and considerably larger than inactivation

## Forord

Dette er en masteroppgave som er skrevet ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet på Ås. Oppgaven utgjør det avsluttende arbeidet på det to årige sivilingeniørstudiet vann og miljøteknikk ved Institutt for matematiske realfag og teknologi. Masteroppgaven har blitt utført og skrevet våren 2016, og har et omfang på 30 studiepoeng.

Oppgaven var en del av et større prosjekt. Prosjektet er et ledd i et langsiktig arbeid som har omfattet utvikling av renseløsninger for gråvann, patogentransport og smitterisikovurdering.

” Hundre ganger om dagen påminner jeg meg selv om at mitt indre og ytre liv avhenger av andre menneskers strev, levende som døde, og at jeg må anstrenge meg for å gi i samme utstrekning som jeg har fått og fortsatt får” (Albert Einstein).

Dette har vært et innholdsrikt semester hvor vi har lært mye. Vi kunne ikke klart det uten hjelp fra mange og svært viktige støttespillere.

Først og fremst vil vi rette en stor takk til veilederen min Arve Heistad og min biveileder Fasil Ejigu Eregno veiledet meg gjennom semesteret. Takk for deres gode tilbakemeldinger og faglige innspill. En stor takk går til alle min «kollegaer» på vann- og miljøteknikk for godt samarbeid gjennom studietiden. En ekstra takk går til Efraim Le-Tiary for god samarbeidet.

Takk til Else Marie Aasen og Rannei Tjåland på IKBM for hjelp med Virus analysering

Tilslutt vil jeg takke familien min som bestandig stiller opp for meg, og som har vist enorm forståelse for all den tiden jeg har brukt på hovedoppgaven. En spesiell takk går til Shilaz kona mi, som har bidratt med god støtte hele veien. Uten deg hadde dette vært umulig!

Honar Ahmed Said

## FIGURLISTE

**Figur 1:** Viser hvordan sediment kornene påvirker strømningsbanene og forårsaker spredning av oppløste stoffer. Mekanisk spredning reflekterer at ikke alt i det porøse mediet transporteres med gjennomsnittlig vannføringshastighet. Noen stier er raskere, noen tregere, noen lengre.

**Figur 2:** Longitudinal dispersjon. Dispersjonen oppstår som et resultat av forskjeller i transportvei på grunn av at vannet velger forskjellige veier rundt sediment kornene (Appelo & Postma 2005).

**Figur 3:** Transversal dispersjon. Dispersjonen oppstår på tvers av strømlinjene på grunn av diffusjon mellom strømningslinjer (Appelo & Postma 2005).

**Figur 4:** Viser to bilder av forsøk oppsettet(rennen). Med innløpet og utløpet og forskjellige prøvepunktene. Foto: Honar A. Said

**Figur 5:** Peristaltiske pumpe for å frakte miksløsningen til forsøksrennerens innløpet Foto: Honar A. Said

**Figur 6:** viser den peristaltiske pumpen med seks innganger, og plastbøtteløsningen som inneholdt av 29,5 liter grunnvann og 29,5 liter behandlet gråvann og en liter rågråvann og 30 ml bakteriofager salmonella Typhimurium fager 28B(S.t.28B)

**Figur 7:** Til venstre viser konduktivitet måleren (Pharmacia Biotech) til den andre Peristaltiske pumpe for pumpe opp prøvevann til den Konduktivitet måleren til høyre

Figur 8: Til venstre viser morenejord fra Ås kommune i Norge som ble bruk i forsøket. Til høyre er pukken som ble benyttet foran i innløpet og utløpet (11/22 mm) fra Franzefoss Pukk, avd. Vinterbro

**Figur 9:** viser Korngraderingskurve for morenejorden fra Ås kommune i Norge som ble bruk i forsøket

**Figur 10:** Viser komprimeringsutstyret som ble benyttet på morenejorden.

**Figur 11:** Viser engangssprøyter 5ml som ble bukt i forbindelse med prøvetaking.

**Figur 12:** Til venstre vise pH meter og til høyre fotospektrometere for turbiditetsmåling

**Figur 13:** vise utstyre brukt til TSS analyser

**Figur 14:** vise utstyre brukt til BOF5 analyser

**Figur 15:** vise utstyre brukt til analyser antall koliforme bakterier og E. coli

**Figur 16:** viser bilder av renna på hovedverksted på IMT, NMBU

**Figur 17:** Renna ble dekket med en spesiell duk fra Plany A/S

**Figur 18:** viser tapping av grunnvann som ble fraktet fra Fiskefjøset (Matforsk) på Ås til Fløy IV ved IMT.

**Figur 19:** viser gjennombruddskurve (målte EC) for alle prøvepunktene sammenhengende 0,5 m, 1,5 m, 2,5 m, 3,5 m, 4,5 m, 5,0 m, og utløpet (5.5 m) i en renne med mettet morene

**Figur 20.** viser gjennombruddskurvene for hver enkelt prøvepunkt separat (målte EC) for alle prøvepunktene 0.5 m, 1.5 m, 2.5 m, 3.5 m, 4.5 m, 5 m, og utløpet (5.5 m) i en renne med mett morenejord

**Figur21:** viser kumulativ  $-\log_{10}$  reduksjon av *E.coli* i mett morenejord som funksjon av Avstand.

**Figur 22:** viser konsentrasjon av *E.coli* innløpet og de sju prøvepunktene i renneren i løpet forsøksperioden på 21 dager i mett morenejord som funksjon av Avstand

**Figur23:** viser kumulativ  $-\log_{10}$  reduksjon av *E.coli* i mett morenejord som funksjon av oppholdstiden

**Figur24:** viser konsentrasjon av *E.coli* innløpet og de sju prøvepunktene i renneren i løpe forsøksperioden på 21 dager i mett morenejord som funksjon av oppholdstid

**Figur25:** viser beregnede fjerningshastighet koeffisienten/rate som funksjon transportavstand

**Figur 26:** viser beregnede fjerningshastighets koeffisienten/rate som funksjon oppholdstid

**Figur 27:** Kurvene viser inaktiveringsforløpet ved de forskjellige temperaturene for inaktivering av bakteriofager *Salmonella typhimurium* S.t 28B i løpet av 20 dager.

**Figur 28:** Reduksjon av bakteriofager S.t 28B i forhold til transportavstand Stiplet rød linje representerer reduksjonen knyttet til tilbakeholde mens heltrukken linje blå representerer total reduksjon (inkludert bare inaktivering) basert på gjennomsnittet

**Figur 29:** Reduksjon av bakteriofager S.t 28B i forhold til transportavstand Stiplet rød linje representerer knyttet til tilbakeholde mens heltrukken linje blå representerer total reduksjon (inkludert bare inaktivering) basert på gjennomsnittet

**Figur 30:** viser kumulativ  $-\log_{10}$  reduksjon av S.t 28B i mett morenejord som funksjon av avstand

Gult linje representerer minimum, blått linje representere gjennomsnittet og rødt linje representere maksimum tilbakeholdelse

**Figur 31:** viser konsentrasjon av S.t 28B innløpet og hver prøvepunkt i mett morenejord som funksjon av avstand

**Figur 32:** viser kumulativ  $-\log_{10}$  reduksjon av S.t 28B i mett morenejord som funksjon av oppholdstid gult linje representerer minimum, blått linje representere gjennomsnittet og rødt linje representere maksimum tilbakeholdelse

**Figur 33:** viser konsentrasjon av S.t 28B innløpet og hver prøvepunkt i mett morenejord som funksjon av avstand

**Figur 34:** viser beregnede fjerningshastighet koeffisienten/rate for S.t 28B som funksjon transportavstand .Gult linje representerer minimum, blått linje representere gjennomsnittet og rødt linje representere maksimum tilbakeholdelse

**Figur 35:** viser beregnede fjerningshastighet koeffisienten/rate for S.t 28B som funksjon oppholdstid gult linje representerer minimum, blått linje representere gjennomsnittet og rødt linje representere maksimum tilbakeholdelse

**Figur 36:** Reduksjon av bakteriofager S.t 28B (blått) og E.coli (oransje) i forhold transportavstand og oppholdstid baser på gjennomsnittet

## TABELLISTE

**Tabell 1:** vannkvalitetsparameter i totalløsning som ble benyttet i renneforsøket (våren2016)

**Tabell 2:** er spesifikasjoner for rennen gitt

**Tabell 3:** viser Spesifikasjon for pukken fra Franzefoss Pukk, avd. Vinterbro som ble bruk i forsøket vist i til høyre

**Tabell 4:** Vannkvalitetsparameter i utløpsvann som ble benyttet i inaktiveringsforsøket (våren2016)

**Tabell 5:** Sammensetting av løpsvannet (forsøksvannet) som ble benyttet i renneforsøket

**Tabell 6:** Bakteriologisk sammensetting av løpsvannet (forsøksvannet) som ble benyttet i renneforsøket.

**Tabell 7:** viser beregnet oppholdstid kumulativt og stegvis og strømningshastighet for NaCl på 7 avstander i et 6 meters renneforsøk med mettete morene.

**Tabell 8** viser fordelingen fjerningshastighets koeffisienten/rate for E.coli i løpet av 20 dager i renneforsøket i mettete morenejord.

**Tabell 9:** viser fordelingen av strømningshastighet, log10 reduksjon og prosent reduksjon av Totalt koliform og E. coli ved hver prøvepunktene i renneren

**Tabell 10:** Inaktiveringskoeffisientsrate for bakteriofager Salmonella typhimurium S.t 28B i løpe av 20 dager

**Tabell 11:** viser fordelingen av strømningshastighet, log10 tilbakeholdelse og totalt reduksjon og prosent reduksjon av bakteriofaget S.t 28B ved hver prøvepunktene i renneren.

**Tabell 12** viser fordelingen fjerningshastighets koeffisienten/rate for S.t 28B i løpet av 20 dager i renneforsøket i mettete morenejord



## **Innholdsfortegnelse**

Sammendrag.....	1
Abstract .....	2
Forord .....	3
FIGURLISTE .....	4
TABELLISTE .....	7
1 Introduksjon .....	11
<b>1.1 Generelt</b> .....	11
<b>1.2 Oppløste stoffer, suspendert materiale, og humus i ferskvann</b> .....	12
1.2.1 Oppløste stoffer.....	12
<b>1.2.2 Suspendert materiale</b> .....	12
<b>1.3 Nedbør</b> .....	13
<b>1.3.1 Grunnvann</b> .....	13
<b>1.5 Marin grense</b> .....	14
1.5.1 Morene .....	15
<b>1.6 Sykdomsfremkallende mikroorganismer</b> .....	15
1.6.1 Celler.....	16
<b>1.6.2 Bakterier og virus</b> .....	17
<b>1.6.3 Ulike typer bakterier</b> .....	18
<b>1.6.4 Bakterier i drikkevann</b> .....	18
<b>1.6.5 Patogene bakterier</b> .....	18
<b>1.6.6 Virus</b> .....	20
<b>1.6.7 Symptomer</b> .....	21
<b>1.6.8 Virus i drikkevann</b> .....	21
<b>1.6.9 Patogene virus</b> .....	22
<b>1.6.9 Giardia i drikkevann</b> .....	24
<b>1.7 Indikatororganismer</b> .....	24

<b>1.7.1 Valg av indikatororganismer</b> .....	25
<b>1.7.2 Koliforme bakterier</b> .....	26
<b>1.7.3 E. coli</b> .....	26
<b>1.7.4 Bakteriofager</b> .....	26
<b>1.8 Forekomst av mikrobielle patogener i vannkilder</b> .....	27
<b>1.8.1 Grunnvann som drikkevannskilde</b> .....	30
<b>1.8.2 Situasjonen i Norge</b> .....	31
<b>1.9 Transport og Sprednings-mekanismer i porøse medier</b> .....	31
<b>1.9.1 Transportmønstre</b> .....	32
<b>1.9.2 Adveksjon</b> .....	32
<b>1.9.3 Dispersjon og diffusjon</b> .....	33
<b>1.9.4 Sorpsjon</b> .....	38
<b>2 Problemstilling</b> .....	41
<b>3 Materialer og Metode</b> .....	42
<b>3.1 Avløpsvann</b> .....	42
<b>3.2 Beskrivelse av forsøk med renner</b> .....	43
<b>3.3 Utarbeidelsen av morenejord</b> .....	46
<b>3.4 Rennet ble pakket trinnvis</b> .....	47
<b>3.5 Inaktivering av bakteriofager</b> .....	48
<b>3.6 Forberedelse av renneforsøket</b> .....	50
<b>3.7 Gjennomføring av renneforsøket</b> .....	50
<b>3.8.1 Avløpsprøver</b> .....	52
<b>3.8.2 Avgrensninger:</b> .....	53
<b>3.8.3 Kjemisk analyser av avløpsvannprøver</b> .....	54
<b>3.8.4 Mikrobiologisk analyser</b> .....	57
<b>3.8.5 Mikrobiologiske indikatorer</b> .....	57
<b>3.8.6 Analysering av bakteriofag S.t 28B</b> .....	58

<b>3.9 Beregning av mikroorganers fjerning og inaktivering</b> .....	59
4. Resultat og diskusjon .....	62
Tracer NaCl Sporsaltkonsentrasjon.....	62
Mekanisk rensing.....	75
4.3 Resultat og diskusjon av Salmonella typhimurium 28B .....	76
4.4 Inaktivering forsøket S.t.28B .....	76
4.5 Resultater og diskusjon S.t 28B.....	79
4.6 Virusreduksjon ved oppbevaring av vannprøver.....	87
5 Konklusjon .....	89
<b>5.1 Totalt fjerning av bakterier</b> .....	89
<b>5.2 Fjerning av virus (bakteriofager S.t 28B)</b> .....	90
5.3 Inaktiveringsforsøket .....	90
5.4 Oppbevaringsmetode av vannprøver .....	90
5.5 Forslag til videre undersøkelser .....	91
<b>REFERANSER</b> .....	<b>92</b>

# 1 Introduksjon

Infiltrasjon med utslipp av forurenset avløpsvann kan utgjøre en fare for spredning av mikroorganismer som fører til forurensing av miljøet i jord og vann. Avløpsvannets negative egenskaper er avhengige av avløpsvannets innhold av mikroorganismer og avstanden til nærmeste vannresipient.

## 1.1 Generelt

Vannets kretsløp har stor betydning for livet på jorda og jordas geologi. Ikke bare gjennom å være tilstede i form av hav, elver og innsjøer, men også selve bevegelsen av vann. Kretsløpet av vann former jordoverflaten gjennom geologiske prosesser som erosjon og sedimentering. Og vannet transporterer med seg ulike næringsstoffer når det beveger seg på landjorda eller i havet. Når vannet beveger seg mellom reservoarene renses det effektivt; enten i form av fordampning eller filtrering gjennom jordsmonn eller planter. Vi kan derfor si at kretsløpet forsyner landjorda med både friskt vann og næringsstoffer. Dessuten fører denne bevegelsen av vann til en betydelig varmeutveksling mellom forskjellige områder. Vannets bevegelse mellom hav, luft og jord er en viktig faktor for klimaet på jorda.

Vann fordamper fra havet ved at det tar opp energi, en prosess som avkjøler områdene hvor dette skjer. Vanndampen transporteres med stigende luftstrømmer opp i atmosfæren hvor lave temperaturer får vannet til å kondensere til skyer, som er ansamlinger av svevende vanndråper. Skyene beveger seg med luftstrømmer rundt jorda, hvor flere og flere vanndråper kolliderer og slår seg sammen. Til slutt er vanndråpene så tunge at de faller mot jorden som nedbør; hagl, snø, sludd eller regn. Kondensering er den motsatte prosessen av fordampning, og frigjør energi som varmer opp de områdene hvor dette skjer.

Den totale mengden vann på jorda er veldig stabil og endrer seg lite over tid. Litt vann “kommer og går” mellom atmosfæren og verdensrommet, men denne mengden er ubetydelig for livet på jorda. Det som derimot varierer en del, og som har stor betydning for livet på vår klode, er hvor mye vann som finnes i fast form, væske eller gass. En av de store bekymringene knyttet til global oppvarming er for eksempel at vannet som er bundet opp i

polisen skal smelte slik at havet stiger og legger store landområder øde, altså mindre vann i fast form og mer som væske eller damp.

## **1.2 Oppløste stoffer, suspendert materiale, og humus i ferskvann**

Når man skal vurdere vannkvalitet så må man ta i betraktning hvilke stoffer som finnes i vannet. Dette kan være oppløste stoffer som ulike næringssalter (f.eks. nitrater og fosfater),  $H^+$ -ioner eller gassene og  $CO_2$ . Det kan være suspendert materiale (mineralsk eller organisk), eller det kan være humus (organisk materiale).

### **1.2.1 Oppløste stoffer**

Det er vanlig at man måler konsentrasjonen av oppløst materiale i mol/l eller g/l (. En del molekyler løser seg i sine respektive ioner, mens andre molekyler løser seg ved at de reagerer med andre molekyler. For eksempel er pH et mål på en slik oppløsning siden pH er lik den negative logaritmen til konsentrasjonen (mol/l) av  $H^+$ -ioner. Videre kan gasser løses i vann uten at de endrer kjemisk sammensetning, og denne konsentrasjonen i vann måles gjerne i mg/l, prosent eller kilopascal (kPa). Oksygen og karbondioksid er de viktigste gassparametrene for å vurdere vannkvaliteten, men i noen tilfeller kan for eksempel hydrogensulfid ( $H_2S$ ) eller metan ( $CH_4$ ) også være viktige karaktertrekk for ulike vannforekomster. I tillegg er konsentrasjonen av organiske og uorganiske miljøgifter også en viktig parameter for å vurdere vannkvalitet. Slike miljøgifter kan være mer eller mindre løst, og mer eller mindre biologisk tilgjengelig, avhengig av de andre kjemiske forholdene som råder.

### **1.2.2 Suspendert materiale**

Suspendert materiale kan for eksempel være leire, silt, organisk materiale og/eller mikroorganismer. Når man ser elver med uklart vann så er det på grunn av suspensjonsmateriale. Man kan også her bruke konsentrasjon (g/l) som et mål på mengden av de ulike suspenderte materialene, mens innholdet av mikroorganismer i vannet beregnes som antall/volum. Det er også vanlig at man bruker summen av kjemisk og biologisk suspensjonsmateriale, og denne mengden uttrykkes som vannets turbiditet. Turbiditet er et mål på vannets evne til å spre og absorbere lys. Jo mer suspendert materiale, jo høyere spredning

og absorpsjon av lys, og jo høyere turbiditet. Dette er et mål som ofte brukes i industrielle prosesser som en del av kvalitetskontrollen av for eksempel avløpsvann.

### **1.3 Nedbør**

Nedbørforholdene i et nedbørfelt vil være avgjørende for en rekke størrelser. For det første så vil nedbør selvfølgelig være avgjørende for vannføringen i bekker og elver i nedbørfeltet. For det andre har nedbør en eroderende effekt, slik at den påvirker materialtransporten i vassdraget. Da er det av betydning om den mengden nedbør som faller i løpet av et år er fordelt på mange eller få dager. Nedbørintensiteten er altså viktig. Videre så vil nedbøren periodevis endre mengden oppløste stoffer i elva. Nedbør har relativt lav pH slik at kraftige regnskurer senker pH i områdene hvor den faller. Denne tilførselen av  $H^+$ -ioner fører også til at det skjer en ionebytting i jordsmonnet slik at næringssalter og metaller vaskes ut. Nedbøren kan også ha med seg langtransportert forurensing i form av miljøgifter og tungmetaller. Mengden nedbør som faller i et nedbørfelt kan man måle enten ved å sette ut hundrevis av slike små nedbørfangere, eller man kan måle indirekte ved å følge vannstand og vannføring nederst i vassdraget over tid. Endringene i vannføringen er et indirekte mål på nedbørmengdene i nedbørfeltet. Denne målingen vil ikke være helt nøyaktig fordi en del av nedbøren vil kunne lagres som grunnvann. På den annen side kan grunnvann også bidra til vannføringen.

#### **1.3.1 Grunnvann**

Definisjonen av grunnvann er det vannet som befinner seg i sprekker og porer i jordskorpa . Grunnvannssonen er den delen av jordskorpa som er mettet av vann. Over grunnvannssonen ligger den umettede sonen (markvannssonen). Nedbør som passerer markvannssonen endrer sammensetning på grunn av kjemiske og biologiske prosesser i denne sonen.

For at nedbøren skal finne veien ned til grunnvannet må markvannssonen mettes med vann. Først da kan vannet drenere fritt til grunnvannet. Så lenge det finnes luft i systemet vil det være kapillarkrefter som holder vannet igjen i markvannssonen. Den mengden vann som finnes i markvannssonen i det øyeblikket vannet begynner å drenere fritt, kalles jordas feltkapasitet. Denne kapasiteten varierer med jordstrukturen. For eksempel har sand og grus lav feltkapasitet fordi denne strukturen har relativt stor plass mellom partiklene (mindre kapillarkrefter). Leire og silt derimot har høy feltkapasitet på grunn av relativt lite rom

mellom partiklene i denne strukturen (større kapillarkrefter). Videre så er vannets transport ned til grunnvannet avhengig av permeabiliteten til jorda. Det hjelper for eksempel ikke om jorda er sterkt porøs om ikke disse porene står i forbindelse med hverandre. Til slutt så vil transporten av vann også være avhengig av at det kan entre markvannssonen, og det varierer med hvilken vegetasjonstype som finnes i området. Alle disse egenskapene er viktig for i hvilken grad vann i form av nedbør transporteres på overflaten eller i jorda på vei mot havet.

Overflaten av grunnvannet kalles grunnvannsspeilet og er definert av at grunnvannet i denne grensen har samme trykk som atmosfæren. I motsetning til overflaten på stille vann over jorda, trenger ikke grunnvannsspeilet være vannrett. Helningen på grunnvannsspeilet og permeabiliteten i jorda er størrelser som bestemmer hvor lett grunnvann drenerer til omgivelsene.

### **1.5 Marin grense**

Den marine grensen er definert av havets høyeste nivå etter siste istid. Dette havnivået var en konsekvens av at iskapen som lå over landskapet var så tung at den trykket ned jordskorpa. På sitt tykkeste var isen over Skandinavia ca. 3 km (i Botnviken), og som en følge lå jordskorpa her omlag 1 kilometer lavere enn i dag (NGU 2015b). Og landet stiger fremdeles ca. 1 cm i året i Bottenviken

Etter hvert som isen smeltet og trakk seg tilbake fulgte havet etter iskanten inn over land. Da isen til slutt var helt borte hevet landet seg sakte, og havet «trakk seg tilbake». Det jordsmonnet isen etterlot seg bestod for det meste av mineralsk løsmateriale fra forvitring og erosjon (morenemateriale). Da havet dekket de områdene som er en del av fastlandet i dag ble det avsatt sedimenter oppå det mineralske jordsmonnet (NGU 28. januar 2015). De lavest liggende landområdene som hadde vært lengst under vann har store mengder sedimentære avsetninger, mens de høyereliggende områdene har lite avsetninger. I tillegg er også mengden sedimentær jord i et område påvirket av lokale erosjonsprosesser. Sand, silt og leire er eksempler på sedimentære jordtype. (Aarhaug 2012); NGU (2015b). Disse jordtypene er rike på organisk materiale og næringsalter, som gir gode vekstvilkår for heterotrofe mikroorganismer og planter. Den ioniske formen av jern, kalium, kalsium, magnesium, sink og mangan er eksempler på kationer som er essensielle for planter og dyr, mens de viktigste anionene er fosfat og nitrat.

I dag kan vi se spor av den marine grensen i form av strandhakk, strandlinjer og breelvdelta. Vi finner også fossiler av marine dyr helt opp til den marine grensen. Den marine grensen kan også observeres i elveløp som passerer denne grensen. Vannkvaliteten er nemlig forskjellig over og under marin grense. Erosjon av sedimentært jordsmonn under marin grense frigjør store mengder partikler som fraktes med elvevannet og avsettes i roligere deler av elva (sedimentasjonssoner), i innsjøer eller i havet.

### 1.5.1 Morene

**Morene** er løsmasser som har vært erodert fra berggrunnen, transportert av innlandsisen og blitt avsatt direkte fra den uten annen type transport. Morenematerialet består av en blanding av usorterte bergartsfragmenter av alle størrelser (blokk, stein, grus, sand, silt og leir). Morenematerialet har kantede partikler og er vår vanligste type løsmasse. Avhengig av isens bevegelser og nedsmelting skapes forskjellige landskapsformer og avsetninger. Selv om morenen kan være transportert flere kilometer/lange distanser fra hvor den opprinnelig ble evet opp fra berggrunnen, viser dette materialet seg å være godt egnet til regional geokjemisk kartlegging(NGU 28. januar 2015 ).

### 1.5.2 Gråvann

**Gråvann** er spillvann fra dusj, oppvask og klesvask, og bærer på betydelig mindre nærings- og smittestoffer enn svartvann. Ecomotive(Jets) har utviklet en filtertank som tar hånd om gråvann på stedet. Filteret består av lettklinker og pukk som renser gråvannet i så stor grad at man innfrir kravene i forurensingsforskriftens§. 12. Vannet går videre gjennom en infiltrasjonsgrøft for å sikre rensegrad i tilfelle nede tid i forbindelse med filtertanken. Ved korrekt utførelse kan grøften ligge så nær som 30m fra drikkevannskilde.

## 1.6 Sykdomsfremkallende mikroorganismer

Vannbårne sykdomsutbrudd i Norge skyldes i hovedsak tilførsler av avføringsrester som kan inneholde ulike sykdomsfremkallende (patogene) mikroorganismer. Mens sykdomsfremkallende bakterier og parasitter kan ha både varmblodige dyr og mennesker som kilde regnes det som mest sannsynlig at de aktuelle virus bare kan komme fra menneskelig



avføring. (Norsk veterinærtidsskrift nr 11/2004; Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Vannforsyningens ABC).

Det ble foretatt en sammenstilling av data for vannbårne sykdomsutbrudd registrert i Norge i perioden 1988 – 2002 (Nygård et al. 2003). Totalt var det registrert 72 vannbårne utbrudd med til sammen 10616 syke. Det regnes med en høy grad av underrapportering når det gjelder sykdomsutbrudd med mage-tarmsymptomer spesielt når det gjelder utbrudd av mindre omfang, noe som innebærer at totalt antall syke nok er betydelig høyere. *Campylobacter*, *Norovirus* og *Salmonella* var årsak til henholdsvis 26 %, 18 % og 6 % av de registrerte utbruddene. I tillegg var det i perioden registrert 3 tilfeller der henholdsvis hepatitt A, shigellose og tularemi var årsaken. For 46 % av utbruddene var smittestoffet ukjent. Resultatene samsvarer godt med tilsvarende oversikter i de andre nordiske land, men står i kontrast til hva som er rapportert fra England ((Furtado et al. 1998)) og USA ((Lee et al. 2002)) der parasittene *Giardia* og *Cryptosporidium* dominerer.

*Definisjonen av mikroorganismer begrenser seg til organismer som består av én celle, cellekolonier eller ingen celle i det hele tatt. I dette kapittelet skal jeg imidlertid også ta for meg noen organismer som består av flere celler. Slike organismer er også viktige for kvaliteten på drikkevannet, siden flere av disse kan være sykdomsfremkallende (patogene). Derfor vil jeg i det følgende inkludere flercellede, mikroskopiske dyr i definisjonen mikroorganismer*

### 1.6.1 Celler

Alle levende organismer på jorda består av en eller flere celler. Uavhengig av dette er en celle en funksjonell enhet som er avgrenset fra omgivelsene av en cellemembran. Inne i cellen er det en rekke strukturer, eller organeller, som har mange forskjellige oppgaver. Selv om disse oppgavene blir ivaretatt i alle celler, så er det en stor variasjon i størrelse og utseende mellom ulike celler. Bare tenk på vår egen isjiasnerve som strekker fra korsryggen og helt ned til tærne. Den er ganske annerledes både i form og funksjon sammenliknet med en bakterie hvor hele organismen finnes innenfor én cellemembran.

Det er også forskjell på hva som finnes inni ulike celler. En av de grunnleggende forskjellene mellom celler er om de har en cellekjerne eller ikke. De cellene som ikke har en kjerne kalles *prokaryoter*, mens de som har en slik kjerne kalles *eukaryoter*. Det finnes prokaryoter og eukaryoter i både plante- og dyreriket. Typisk for planteceller er at de har en cellevegg på utsiden av cellemembranen, mens dyrecellene mangler denne celleveggen. I tillegg har planteceller kloroplaster hvor vi finner klorofyll som gjør at de kan drive fotosyntese. Bakterier og blågrønne alger er typiske prokaryoter, mens de fleste andre organismer, encellede så vel som flercellede er eukaryoter.

### 1.6.2 Bakterier og virus

Bakterier og virus er så små at du ikke kan se dem uten å bruke mikroskop. Bakterier er for eksempel mye mindre enn de cellene som kroppen vår er bygget opp av. *Escherichia coli*, som vi alle kjenner som *E. coli*, er en gjennomsnittlig stor bakterie som er omlag 2  $\mu\text{m}$  lang og 0,5  $\mu\text{m}$  i diameter. Virus er imidlertid enda mindre enn bakterier, og varierer mellom 20 og 250 nm i lengde.

En viktig forskjell mellom bakterier og virus er at bakterier kan formere seg på egen hånd, mens virus er avhengige av andre celler for å kunne formere seg. Derfor er det vanlig og ikke regne virus som en levende organisme. Bakterier er altså encellede, prokaryote organismer og formerer seg enkelt og greit ved at cellen deler seg i to. Det finnes mange forskjellige bakterier med mange ulike former (figur 1). De kan være kulerunde, stavformede eller formet som spiraler, klubber og helixer. Virus derimot er ikke celler, men består av arvestoff som er omgitt av en beskyttende proteinkapsel (figur 3).

Bakterie- og virusinfeksjoner forårsaker mange forskjellige sykdommer, og symptomene varierer med hvilken type bakterie eller virus som har kommet inn i kroppen. Mens bakterieinfeksjoner kan behandles med et antibiotikum, så må vi stole på at immunforsvaret vårt gjør jobben alene når vi er smittet med en virussykdom.

### 1.6.3 Ulike typer bakterier

Inntil nylig ble alle bakterier plassert i riket *Monera* som tilsvarte dyre-, plante- og soppriket. I dag er dette riket delt i to nye overrikker; *Archaea* og *Bacteria*. *Archaea* omfatter arkebakteriene, mens *Bacteria* er delt i rikene *Eubacteria* og *Cyanobacteria*. Når en snakker om bakterier dreier det seg om organismer som tilhører overriket *Archaea* og riket *Eubacteria*. Bakteriene er en gruppe organismer som varierer mye i utseende og levemåte.

For det første så klassifiserer man bakterier etter hvilken form de har. De kan som nevnt være kulerunde eller stavformede – eller noe midt i mellom. De kulerunde bakteriene kalles for kokker. Noen kokker vokser sammen i par eller lange kjeder, og da kaller vi dem diplokokker eller streptokokker.

For det andre kan vi dele bakteriene inn i gram-positive og gram-negative bakterier. I 1884 utviklet dansken Christian Gram en fargemetode som gjorde det lettere å se bakteriene i mikroskop. Det viste seg at noen bakterier lot seg farge, og de kalte man gram-positive, mens de som ikke lot seg farge ble kalt gram-negative. De gram-negative bakteriene fører til en kraftig immunrespons hos organismer som blir infisert. *E. coli*, *Serratia*, *Citrobacter* og *Enterobacter* er typiske gram-negative bakterier som fører til alvorlige symptomer hos mennesker.

### 1.6.4 Bakterier i drikkevann

Innholdet av bakterier er et viktig mål på kvaliteten av drikkevannet vårt. Det er også viktig at avløpsvannet fra rensesanlegg ikke har for høyt innhold av bakterier. Det totale antallet bakterier som finnes i vannet kalles *kimtall*. Dette tallet omfatter også de bakteriene som ikke ansees for å være sykdomsfremkallende. Man har likevel satt en øvre grense på 100 kim/ml vann for hva som blir ansett for å være godt nok som drikkevann eller badevann.

### 1.6.5 Patogene bakterier

Bakterier som forårsaker sykdom kalles patogene bakterier. Noen bakterier er så spesialiserte at de kun har én art som vertsorganisme, mens andre kan lage trøbbel for rekke forskjellige organismer. Sykdommene som skyldes bakterieinfeksjoner er nesten like mangfoldige som bakteriene selv.

### Miltbrann

Bakterien heter *Bacillus anthracis* og kan smitte gjennom huden, luftveiene og mage-, tarmsystemet. Kontakt med hud fører til sår og blemmer som dekkes av svart skabb. Kontakt med luftveiene fører til feber, brystmerter og vanskeligheter med å puste. Uten behandling er ofte infeksjoner av miltbrannbakterier via luftveiene dødelig. Kontakt med fordøyelsessystemet, for eksempel via drikkevann, fører til magesmerter, diaré og oppkast av blod.

### Botulisme

Bakterien heter *Clostridium botulinum* og produserer en nervegift som er en av de mest potente naturlige gifter som finnes. Vanligvis blir man smittet gjennom mat og drikke, men bakterien kan også komme inn i kroppen via åpne sår. De som smittes får symptomer som dobbeltsyn, vanskeligheter med å snakke og svelge, tørr munn og svekkelse av muskelstyrke. Uten behandling kan infeksjoner av *C. botulinum* føre til lammelse og død.

### Tarminfeksjoner

*E. coli* er den tarmbakterien folk kjenner best til. Bakterien finnes hovedsakelig i den vanlige tarmfloraen i tykktarmen hos pattedyr, inkludert oss mennesker, hvor den utgjør en viktig funksjon for fordøyelsen. Den kan likevel også være årsak til sykdommer som diaré. Noen stammer produserer giftstoffer, såkalte *enterotoksiner*. Enkelte *E. coli*-stammer som finnes i tarmen hos friske kuer kan for eksempel føre til alvorlig sykdom dersom de slår seg ned i tarmen vår.

Andre patogene bakterier som finnes i vann inkluderer slekten *Aeromonas* som tilhører familien *Vibrionaceae* hvor vi blant annet finner kolerabakterien (*Vibrio cholerae*). Videre så har vi slektene *Archobacter*, *Campylobacter*, *Heliobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Flavobacterium*, *Legionella*, *Listeria*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* og *Staphylococcus* som også forekommer i vann, og som representerer varierende helserisiko for mennesker.

Bakterier er de mikroorganismene det finnes mest av i vann. Noen av disse bakteriene kan forårsake alvorlige infeksjoner som for eksempel tarmbakterien *E. coli*. Det finnes grenser for

hvor mange slike bakterier man kan ha i vann som skal brukes til menneskelig konsum. For *E.coli* er denne grensen satt til >1 bakterie per 100 milliliter vann.

### Bakterier

Når man skal analysere bakterier kvantitativt (konsentrasjon) og kvalitativt (type) i en vannprøve, så gjøres dette ved å telle bakterier som er ekstrahert fra et bestemt volum vann. I første rekke er man interessert i bakterier som kan gi tarminfeksjoner, som f.eks. *E. coli*. For å sikre fremveksten av kun tarmbakterier kan man f.eks. preparere vekstmediumet med kjemikalier som fremmer veksten til tarmbakterier, mens de hemmer veksten til andre typer bakterier. Man kan også la bakteriekulturene vokse frem under anaerobe forhold. Dette gavner fremveksten av tarmbakterier som trives under slike forhold, og stanser fremveksten av bakterier som krever oksygen i sin metabolisme. Videre kan man inkubere bakteriekulturene ved 44,5 °C i 24 timer, noe som også hemmer veksten til bakterier som ikke er tilpasset et liv i tarmen til dyr som av og til får feber.

Vekstmediumet kan også prepareres med stoffet anilin som farges blått når mediumet blir surt (pH < 7). Den anaerobe metabolismen til tarmbakterier produserer laktose (melkesyre) i stedet for karbondioksid. Denne syren skilles ut av bakteriene og dermed farges koloniene blå. Siden hver bakterie er opphav til en koloni, kan man telle disse og beregne konsentrasjonen av tarmbakterier når man kjenner volumet til prøven man filtrerte innledningsvis.

### **1.6.6 Virus**

I 1892 publiserte den russiske botanikeren Dimitrii Ivanovski en artikkel der han beskrev et nytt smittestoff som forårsaket sykdom hos tobakksplanter. Seks år senere ble Ivanovskis eksperimenter repetert av den nederlandske mikrobiologen Martinus Beijerinck, som også kom frem til at man hadde å gjøre med et nytt smittestoff. Han kalte dette smittestoffet for virus, og i dag er omlag 5000 forskjellige virus beskrevet i detalj.

Virus befinner seg som nevnt utenfor definisjonen av levende organismer. Virus oppfyller nemlig ikke alle kriteriene for liv. I likhet med alle levende organismer har de arvestoff, men de har ikke evnen til å formere seg ved egen hjelp. Derfor bruker virus levende celler når de skal kopiere sitt arvestoff.

### **1.6.7 Symptomer**

Symptomene på en virusinfeksjon varierer med hvilken type celler viruset infiserer. For eksempel infiserer herpesviruset hovedsakelig epitelceller (overflateceller), og det utvikles sår i huden. *Adenovirus* er en annen gruppe virus. De som infiserer celler i luftrøret og lungene kan forårsake influensasymptomer, mens de som infiserer celler i tarmen kan forårsake diaré. Symptomer som følge av virusinfeksjoner kan også komme av kroppens egne forsvarsmekanismer, som for eksempel feber og betennelser.

### **1.6.8 Virus i drikkevann**

Virus som smitter via drikkevann overlever lenger i vannet enn bakterier. Derfor kan vannet være smittefarlig selv om man ikke finner bakterier i vannet når det analyseres. Forekomsten av virus i drikkevannskilder i Norge er i midlertid i svært liten grad kartlagt. Videre er det vanskelig å finne sikre tall på sammenhengen mellom virusspredning via drikkevann og sykdom i befolkningen. I følge Statens Institutt for Folkehelse var det i perioden 1993-1996 46 utbrudd av norolignende virus som er typiske for drikkevann. I 26 av tilfellene skjedde imidlertid utbruddene i institusjoner via mat og direkte kontakt. I de siste 20 tilfellene skyldtes utbruddene forurenset mat (8 tilfeller) og drikkevann (7 tilfeller), mens i 5 tilfeller kunne ikke kilden identifiseres.

### **1.6.9 Patogene virus**

Antibiotika fungerer ikke mot virus, men så tilhører heller ikke virus vår biota. Siden kroppen har et immunforsvar som dreper de aller fleste virus, så kan man vaksineres mot virusinfeksjoner. Virus forårsaker flere alvorlige sykdommer hos mennesker; influensa, blødende feber (Ebola) og kopper.

Det er som nevnt beskrevet mange typer virus, og det finnes kanskje enda flere som vi ikke kjenner. Her er noen vi kjenner, og som vi bør unngå.

#### Hepatitt

Dette viruset finnes i flere ulike former, og kan smitte via drikkevann. De tre mest vanlige kaller vi hepatitt A, B og C. Sykdommene man får av disse er oppkalt etter viruset (eller er det omvendt?) Hepatitt A smitte finnes i avføring, og smitter for eksempel via mat eller drikke som er kontaminert. Hepatitt B og C finnes i blod og andre kroppsvæsker, og smitter ved at personer som ikke er immune kommer i kontakt med infisert blod. Disse tre virusene angriper leveren og symptomene som oppstår er ganske like; feber, gul hud, slapphet, liten appetitt, kvalme, magesmerter og mørk urin.

Polio (eller poliomyelitt) er en sykdom som ikke er så vanlig i vår del av verden lenger fordi vi vaksineres. Polio forårsakes av et virus som angriper nervecellene i ryggmargen slik at muskelstyrken svekkes og man blir lam. Polioviruset smitter også via mat og drikke som er forurenset med avføring.

#### Patogene amøber

(Mennesket eksponeres oftest for amøber ved at de får i seg aktive organismer eller syster gjennom mat og drikke. Når de kommer inn i en annen organisme så blir amøbene aktive igjen.) Dette skjer gjerne når de kommer til organismens tynntarm hvor de kan vokse og formere seg. Et fullt funksjonelt immunsystem sørger imidlertid for at de ikke kommer lenger enn dit, men når immunforsvaret svekkes av ulike årsaker kan amøbene trenge gjennom tarmveggen og finne veien til lever, lunger, hjerte og hjerne. Typiske symptomer på en slik infeksjon av amøber er smerter i øvre høyre halvdel av kroppen, kramper, varierende kvalme og løs avføring. I alvorlige tilfeller kan man få dysenteri (akutt diaré), hepatitt (celledød i leveren) eller oppblåst mage og feber.

### Amøber i drikkevann

Vitenskapskomiteen for mattrygghet rapporterte i 2009 (Robertson et al. 2009) om humanpatogene parasitter i vann. I denne rapporten er det kun *Entamoeba* som nevnes som mulig patogen amøbe som kan spres via drikkevann, men det er ikke rapportert noen tilfeller av smitte med *Entamoeba* i Norge. *Entamoeba* er en familie som inneholder flere arter, deriblant *E. histolytica* som forårsaker dysenteri.

### Sporedyr (Apicomplexa)

Sporedyr er encellede organismer, men til forskjell fra de fleste andre encellede organismer har de en tydelig organisering i form av en bakende og en forende.

De blir kalt sporedyr fordi de formerer seg ved å danne sporer. Dette er en form for ukjønnnet formering, og sporene er kapsler som inneholder det genetiske materialet. Disse sporene er godt egnet til å spre organismen til nye områder, og slik ligner de en del på frø, men med den forskjellen at sporene inneholder lite opplagsnæring. Sporene har også en ekstrem evne til å overleve under ugunstige forhold. De kan «ligge i dvale» helt til forholdene blir gode nok til at de utvikler seg til aktive organismer. Dette er en formeringsstrategi de deler med bakterier, planter, alger og sopp.

### Patogene sporedyr

Det er en rekke forskjellige sporedyr som kan forårsake sykdom hos mennesker, og som kan smitte via forurenset vann. Blant disse er *Cryptosporidium*, *Toxoplasma*, *Cyclospora* og *Isospora*. Av disse parasittene er det i første rekke *Cryptosporidium* som har forårsaket drikkevannsbårne utbrudd flere steder i verden. Fram til 2002 var det rapportert om 170 tilfeller, inkludert utbrudd av sykdom forårsaket av protisten *Giardia*. Disse utbruddene finner sted i forbindelse med forurensing av drikkevannskilder og av vannledningsnett.

*Cryptosporidium* er en slekt som inneholder flere arter, og som forårsaker en diaré sykdom som kalles *cryptosporidiosis*. I november 2010 ble flere tusen mennesker i Östersund i Sverige rammet etter at *Cryptosporidium* hadde forurenset drikkevannet i Storsjön. Sporene



til denne parasitten kan overleve i lengre tid utenfor verten og er meget resistent overfor klorbaserte desinfeksjonsmidler.

De mest kjente sykdommene som forårsakes av sporedyr er kanskje likevel malaria (*Plasmodium sp.*) og toksoplasmose (*Toxoplasma gondii*). Selv om malariamyggen har deler av livssyklusen i vann, smitter ikke malaria via drikkevann. *Toxoplasma gondii* smitter heller ikke via drikkevann. *Cyclospora* og *Isospora* kan derimot smitte via mat og drikkevann. Infeksjoner av disse protistene er ikke kjent i Norge, men det er fare for at de kan komme hit fra utviklingsland og tropiske områder hvor *Cyclospora* og *Isospora* er mer vanlige.

### Excavata

I gruppen av protister som kalles *Excavata* finnes det en parasitt som har forurenset drikkevann i Norge, nemlig *Giardia*.

### Patogene «excavater»

Den arten som infekterer mennesker heter *Giardia lamblia*. Felles for slekten *Giardia* er at de har et frittlevende stadium i livssyklusen som svømmer aktivt i ferskvann. De finner veien til tynntarmen hos vertebrater hvor de reproducerer og danner kolonier. Symptomer som dukker opp når man er smittet er diaré, overproduksjon av gass, magekramper og kvalme. Ved alvorlige tilfeller følger dehydrering og nedsatt opptak av næringsstoffer, og da er umiddelbar behandling nødvendig.

#### **1.6.9 Giardia i drikkevann**

Som nevnt så har det vært utbrudd av *Giardia* i Norge, nærmere bestemt i Bergen i 2004. Man regner med at det var mellom 4000 og 6000 mennesker som ble smittet, hvorav 1400 tilfeller ble bekreftet. I 2006 var det fremdeles 400 mennesker som hadde senvirkninger av infeksjonen. SINTEF Konkluderte med at kilden til smitten var utette avløpssystemer knyttet til bebyggelsen ved Knatten, Starefossen og Tarlebøveien (Eikebrokk et al. 2006).

#### **1.7 Indikatororganismer**

Det vil være en umulig oppgave å kontrollere om drikkevann inneholder patogene agens (som nevnt ovenfor). Analysen av Indikatororganismer er forholdsvis lett, mens analysen av patogene-kallende virus er mye mer komplisert, tidkrevende og iblant ikke mulig i det hele

tatt. I tillegg kan analysearbeidet utgjøre en helserisiko for forskere. Derfor har man brukt indikatororganismer istedenfor.

Indikatororganismer er mikrobielle hygieneindikatorer som vanligvis i seg selv ikke er patogener, men som brukes som signal om at andre og helsefarlige organismer kan være tilstede. Enkelte mikroorganismer brukes som parametere for mulig overlevelse av patogene mikroorganismer slik som virus, bakterier og parasitter.

Indikatororganismer bør fortrinnsvis oppfylle følgende krav

- Indikatororganismene bør være til stede når det er patogener fra tarmfloraen i store mengder.
- Indikatororganismene bør være nyttig for alle typer vann.
- Indikatororganismene skal overleve lenger i miljøet enn andre patogener;
- Indikatororganismene skal ikke vokse i vann; de bør være mest mulig spesifikke (dvs.at de bare finnes i avføring, men ikke ellers i miljøet)
- Indikatororganismen bør være naturlig forekommende i tarmen til varmblodige dyr.
- Indikatororganismen skal ikke kunne oppformere seg utenfor tarmkanalen, men ha samme eller bedre overlevelsessevne i miljøet som målorganismene
- Prøvetakingsmetoden skal være enkelt å utføre;
- Mengden av funnede indikatororganismer bør ha en direkte sammenheng med størrelsen på fekal forurensning.

### **1.7.1 Valg av indikatororganismer**

Avløpsvann inneholder mange typer av de mikroorganismer som er nevnt ovenfor. Noen av disse organismene er sykdomsfremkallende hos mennesker. For å bestemme om vann inneholder smittestoff analyseres vannet for innhold av én eller flere indikatororganismer. I dette studiet ble det benyttet Koliforme bakterier, E. Coli og Bakteriofager S.t 28B som indikatororganismer.

### **1.7.2 Koliforme bakterier**

Tarmbakterier som spalter melkesukker (laktose) til glukose og galaktose og videre forgjærer disse sukkerstoffene ved dannelse av gass og syre. Ved påvisning i resipient kan vannet være forurenset av menneskelig avføring, men man kan ikke være helt sikker, for bakteriene kan også ha et annet opphavssted som fra nedbrytning av planterester, der de også finnes naturlig.

### **1.7.3 E. coli**

*Escherichia coli* er en av bakteriene som forekommer i størst mengde i menneskers avføring. Bakterien trives i varme og formerer seg på det raskeste ved temperaturer opp til 45 grader. Men veksten er betinget av fersk avføring og formering avtar med økende oppholdstid i en resipient. Bakterien brukes som indikator på å avgjøre om avføringen i vannet er fersk. Fersk avføring inneholder ferske smittestoffer med høy risiko for å bli syk ved å drikke vannet. Derfor er det viktig å vite om avføringen er fersk eller ikke.

### **1.7.4 Bakteriofager**

Bakteriofager er et vanlig navn på virus som bare kan angripe bakterieceller. Bakteriofager er like i struktur, forlengelse og størrelsen som enterovirus som vanligvis finnes i tarmen hos mennesker og dyr. De er enkle å propagere, kvantifisere og jobbe med i laboratoriet.

Bakteriofager betraktes som en verdifull modellorganisme (et surrogat) for å overvåke spredning av enterovirus. Bakteriofager blir derfor ofte brukt som indikatororganismer for slike virus. Som andre virus bakteriofager kan de bare reprodusere ved en vertscelle. Hver bakteriofag har spesifikke vertsbakterier som de kan reprodusere gjennom. Bakteriofager gjenkjenner sine vertsbakterier via reseptorer på den ytre celleveggen (Elving, 2009). Dette gjør dem egnet for bruk i laboratoriearbeid fordi de er billigere å analysere enn vanlige virus, samt at risikoen for overføring av viruset til forskere og de som utføre analysene blir mindre. (Holmqvist & Stenström, 2002)

### **1.7.5 Bakteriofag *Salmonella Typhimurium* 28B**

S.t 28B er en bakteriofag som har sitt DNA lagret på dobbelt-trådet DNA. 28B er spesifikt vertskap for *Salmonella Typhimurium* (Lesser Engen, 1948). (Bakteriofag 28B er somatisk hvilket betyr at reseptoren Den vertsspesifisitet bestemmes av reseptorer som uttrykkes på bakteriecelleoverflaten bakteriofaget angrepet av vertscellen). Bakteriofaget *Salmonella typhimurium* fag 28b (S.t.28B) ble valgt i analyse av virus i denne oppgaven. S.t.28B finnes ikke normalt i tarmen, og ble derfor tenkt som godt egnet for dette forsøket, da det ikke er noe

i filteret eller råvannet som kan påvirke / forstyrre resultatet og metoden for kvantifisering av *S.t.28b* er svært robust [Personlig kommunikasjon med Arve. Heistad].

Som modellvirus har *S.t. 28B* foreløpig blitt lite brukt. Men bruken av *S.t.28B* som modellvirus, på grunn av ovennevnte egenskaper i forsøk av transport av mikroorganismer, øker stadig over store deler av verden. *S.t.28b* har blant annet blitt brukt for å undersøke renseseffekten en konstruert våtmark, brukt som modell for enteriske virus (Heistad et al. 2009), brukt til sporingsforsøk for å undersøke fekal forurensning av grunnvann (Carlander et al. 2000, Kvitsand.2015), brukt til å vurdere reduksjonen til fekale indikatororganismer i kompost-toaletter (Tonner-Klank et al. 2007), til studier av virusinaktivering i kildeseperert urin og fekalier (Höglund et al. 2002; Nordin 2010; Nordin et al. 2013; Tonner-Klank et al. 2007) og til filtreringsforsøk med drikkevann (Heidary Rad 2014) og gråvann (Heistad 2008).

## **1.8 Forekomst av mikrobielle patogener i vannkilder**

Sykdommer relatert til forurensning av drikkevann utgjør en stor belastning på menneskers helse. Forurensning av grunnvann med patogene mikroorganismer er generelt antatt å skyldes transport eller innføring av fekal forurensningen i undergrunnen. Viktigste kildene til fekal forurensning av største bekymringen for folkehelsen er de som kommer i avføringen fra mennesker. Forurenset vann er den vanligste infeksjonsveien for en rekke sykdommer. Ubehandlet avløpsvann bidrar sterkt til den globale vannforurensning vi står overfor i dag (UNEP ; WHO 2011). Mangel på tilstrekkelig sanitære forhold forurenser vassdrag over hele verden og er en av de mest betydningsfulle former for vannforurensning (UN & WHO 2010; WHO 2011). Vannrelaterte sykdommer er den vanligste kilden til sykdom og død i utviklingsland (Bartram et al. 2014; UN & WHO 2010; UNICEF 2000; UNICEF 2015). Blant verdens fattigste er nesten halvparten til enhver tid syke på grunn av dårlig vann og mangelfulle sanitærforhold (UN & WHO 2010). (På grunn av at tilgangen til forbedret drikkevann har fått mer oppmerksomhet siden 1990 (UNICEF 2015).og det har vært en stor prestisje for enkelte land og det internasjonale samfunnet få tilgang til forbedret drikkevann.(UN & WHO 2010; UNICEF 2015). Dette har ført til at ca. rundt 2,6 milliarder mennesker har fått tilgang til forbedret drikkevann, dvs. at 91% av verdensbefolkningen nå har tilgang til forbedret drikkevann (UNICEF 2015). Men mangel på fremgang på sanitærforhold truer med å undergrave alle de fordelene dette arbeidet har ført med seg, slik

som at flere barn overlevelse, stigende levealder og andre helsemessige gevinster ved få tilgang på rent vann. (UNICEF 2015).

Men fortsatt lever en av ti av verdensbefolkning, eller 768 millioner mennesker, uten rent drikkevann. I følge en ny UNICEF-rapport vil mer enn 2,4 milliarder - en tredjedel av verdens befolkning - fortsatt leve uten å få dekket sine grunnleggende sanitære behov i 2015. Konsekvensene er høyere [barnedødelighet](#). Barna dør av sykdommer som kolera og [diaré](#), sykdommer som enkelt kan behandles og forhindres. Hver dag dør 2000 barn av diaré alene og dette vil føre til at færre får utdanning (UNEP). Over halvparten av verdens sykehussenger er brukt av mennesker som lider av sykdommer forbundet med forurenset vann. Og det er flere mennesker omkommer av følgene av forurenset vann enn av alle former for vold, inkludert krig (UNEP). Inntil at alle har tilgang til tilstrekkelig sanitærforhold vil kvaliteten på vannforsyning bli undergravd og mange mennesker vil dø av vannbasert og vann-relaterte sykdommer.

Dette fenomenet gjelder ikke bare utviklingsland, mange industriland har det samme problem. For eksempel er sykdomsframkallende mikroorganismer en viktig årsak til vannbårne sykdomsutbrudd i USA (Macler & Merkle 2000; Ryan et al. 2002; USEPA). En statistisk evaluering av 1200 distrikts gårder i USA viste at omtrent en tredel av de private brønnene var, fra et hygienisk og bakteriologisk synspunkt, forurenset (Goss & Barry 1995). Studier har vist at halvparten av de testede drikkevannsbrønnene i USA inneholder fekal forurensning, som er estimert til å forårsake opp til 5,9 millioner sykdomstilfeller per år (Macler & Merkle 2000). Hvordan kloakkvann og drikkevann renses og behandles blir derfor av største viktighet for å hindre spredning av sykdommer. Kloakkvann og vann fra husholdninger og industri kan ikke gå urensset ut i vann og vassdrag. Målet med avløpsrensing derfor må derfor bli at man i tillegg til å redusere innholdet av organisk og uorganisk materiale også fjerner sykdomsfremkallende organismer.

Sykdomsfremkallende virus har blitt funnet i brønner og drikkevannskilder. (Gerba, 1987, Betaling og Armon, 1989 og Gerba og Rose, 1990). Kildene til denne forurensningen inkluderer septiktanker, lekkasje fra avløpsvannledninger, lekkasje fra ledningsnett i private avfallshåndtering system og kommunale avfallsfyllinger (Yates, 1985).

Forskningsundersøkelser har bekreftet at virus kan transporteres fra en forurensningskilde

gjennom umettet jord til grunnvannskilder (Gerba et al. 1984 og Gerba, 1985), hvor de kan infiltrere drikkevannet og infisere mennesker.

Septiktank systemer og lekkasje fra ledningsnett fra konvensjonelle renseanlegg er en betydelig kilde til forurensning av grunnvann som fører til vannbårne sykdomsutbrudd og andre negative helseeffekter. Bakterier, protozoer og virus som finnes i sanitær avløpsvann kan føre til en rekke sykdommer, inkludert gastrointestinal sykdom, kolera, hepatitt A, og tyfus.

Grunnvann er en viktig ressurs for drikkevann. Områdebeskyttelse (*klausulering*) rundt drikkevannskilder er nødvendig for å sikre den mot forurensning med mikrobielle patogener. Avstand av mikrobiell beskyttelsessone er forskjellig fra land til land, men for det meste skal vannet i grunnvannssonen skal ha en oppholdstid på minst 50-60 dager mellom yttergrensen av beskyttelsessonen og drikkevannsbrønnen hvor det anvendes(DES GAS).

Den 50-60 dagers oppholdstiden er basert på forskning i 1930 av Knorr, som viste at 50- 60 dagers transport i et akvifer var tilstrekkelig til å fjerne *Escherichia coli* og derved beskytte drikkevannsbrønner mot gjennombrudd (Knorr 1937). Patogener som eventuelt når ned til grunnvannssonen, vil normalt dø ut som funksjon av oppholdstiden(Eckholdt & Snilsberg). Men allerede den gang bemerket Knorr at det var usikkert om 60 dager oppholdstid beskyttet drikkevannsbrønner mot virus forurensning (Knorr 1937).

Siden 1930-tallet, har kunnskap om mikrobiell transport gjennom jordinfiltrasjon økt betraktelig, og mange studier har vist at bakterier (inkludert *E. coli*) ble fjernet ved høyere rater enn virus under transport gjennom mettetsoner (Edberg et al. 1997). Disse studiene har vist at høye fjerningsrater (opptil 8 log fjerning) ble oppnådd innen 30 dagers oppholdstid i akviferen. Som et resultat av disse studiene har man kommet til at en mikrobiell beskyttelsessone basert på 50-60 dager oppholdstid vil være tilstrekkelig til å beskytte en drikkevannsbrønn mot virus gjennombrudd fra en forurensningskilde.

Men mange andre studier har påvist at mikroorganismer kan overleve i undergrunnen over lengre tid. Laboratoriestudier rapporterer overlevelse av bakterier (inkludert *E. coli* og *Salmonella typhimurium*) og virus for så lenge som fra 77 til 400 dager (Gerba & Keswick 1981; Yates et al. 1990). Videre inaktivering i henhold anoksiske betingelser er forskjellig fra

oksiske betingelser. Lengre overlevelse for menneskefarlige enterovirus i lavt oksygenmiljø i forhold til ved høyere oksygenkonsentrasjoner er observert (Jansons et al. 1989; Schijven & Hassanizadeh 2000). En annen studie som ble gjennomført av Gordon og Tozé (2003). De observerte mindre fjerning av MS2 i anoksiske grunnvannsprøver enn i oksisk vann. De tilskrives det til forskjellige aktiviteter i stedege grunnvannmikroorganismer under oksiske og anoksiske forhold (Gordon & Toze 2003).

Temperaturen har vært ansett som den viktigste faktor som påvirker overlevelsen av virus i jord og grunnvann (Blanc & Nasser 1996; Melnick et al. 1980; Yates et al. 1990). (Og forskjellige av type patogen mikroorganisme (Jansons et al. 1989). Imidlertid har andre faktorer som lavt oppløst O<sub>2</sub> nivå i grunnvannet (Jansons et al. 1989) og vannkjemi slik som pH, elektrisk ledningsevne og organisk karbonkonsentrasjon har enda større påvirkning (Foppen et al. 2006; Gerba & Bitton 1994; Heckhausen et al. 1989; Schwab et al. 1995). )

### **1.8.1 Grunnvann som drikkevannskilde**

Grunnvann er en viktig ressurs for drikkevann. Grunnvann forsyner over halvparten av jordens befolkning (Tollan 2002). Mange store byer og små samfunn verden over er helt avhengige av grunnvann. Grunnvannsforsyningen brukes til mange formål i over hele verden, både som drikkevann for folk og dyr, og ikke minst for vanning.

Grunnvann er en viktig kilde for drikkevann, på grunn av sin gode mikrobiologiske kvalitet i sin naturlige tilstand, sammenlignet med overflatevann. Likevel kan det være forurenset med patogene mikroorganismer (Schijven et al. 2010; Schijven & Hassanizadeh 2000), spesielt virus, som kan hemme produksjon av drikkevann (Schijven & Hassanizadeh 2000).

Grunnvann kan beskyttes mot forurensning av sykdomsfremkallende mikroorganismer ved å tilføre tilstrekkelige transportavstand og oppholdstid. Transportavstand og oppholdstid mellom forurensningskilder og produksjonsbrønner, ved hjelp av jordinfiltrasjon virker som en barriere.

(Innen overskuelig fremtid vil tradisjonelle vannbårne avløp fortsatt dominere de sanitære forhold. Siden bare en brøkdel av eksisterende renselanlegg i verden er optimalt å redusere sykdomsfremkallende mikroorganismer, og siden et flertall av både rurale og urbane innbyggere folk vil ikke kobles til sentraliserte renselanlegg alternativ sanitær tilnærming må utvikles parallelt.)

### 1.8.2 Situasjonen i Norge

Vannbårne sykdomsutbrudd i Norge skyldes i hovedsak tilførsler av avføringsrester som kan inneholde ulike sykdomsfremkallende (patogene) mikroorganismer. Mens sykdomsfremkallende bakterier og parasitter kan ha både varmblodige dyr og mennesker som kilde regnes det som mest sannsynlig at de aktuelle virus bare kan komme fra menneskelig avføring. I Tabell 1 er det gitt en oversikt over de viktigste mikroorganismer som er kjent å kunne forårsake vannbåren smitte i Norge og/eller andre industrialiserte land. (Norsk veterinærtidsskrift nr 11/2004; Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Vannforsyningens ABC).

Det ble foretatt en sammenstilling av data for vannbårne sykdomsutbrudd registrert i Norge i perioden 1988 – 2002 (Nygård et al. 2003). Totalt var det registrert 72 vannbårne utbrudd med til sammen 10616 syke. Det regnes med en høy grad av underrapportering når det gjelder sykdomsutbrudd med mage-tarmsymptomer spesielt når det gjelder utbrudd av mindre omfang, noe som innebærer at totalt antall syke nok er betydelig høyere. *Campylobacter*, *Norovirus* og *Salmonella* var årsak til henholdsvis 26 %, 18 % og 6 % av de registrerte utbruddene. I tillegg var det i perioden registrert 3 tilfeller der henholdsvis hepatitt A hvor shigellose og tularemi var årsaken. For 46 % av utbruddene var smittestoffet ukjent. Resultatene samsvarer godt med tilsvarende oversikter i de andre nordiske land, men står i kontrast til hva som er rapportert fra England ((Furtado et al. 1998)) og USA ((Lee et al. 2002)) der parasittene *Giardia* og *Cryptosporidium* dominerer

### 1.9 Transport og Sprednings-mekanismer i porøse medier

Stoffer som er uløselige i vann og/eller har en større egenvekt, vil i svært liten grad transporteres i en akvifer der strømningshastigheten vanligvis er relativt lav. De stoffene som transporteres løser seg helt eller delvis, og fraktes enten som molekyler, ioner, kompleksforbindelser eller små partikler (kolloider).

Det er naturlig at bevegelsen til et løst stoff er nært forbundet med vannets bevegelse som er i retning mot det største potensialfallet. Dette gjenspeiles i gradienten til grunnvannsspeilet eller den piezometriske trykkehøydegradienten i lukkede akviferer. Ved å konstruere isolinjer for trykk/vannivå i akviferen og strømlinjer vinkelrett på disse fås hovedretningen for vannets bevegelse. Vannet beveger seg i porerommet mellom kornene i akviferen, noe som gjør at vannmolekyler og partikler i suspensjon konstant møter "hindringer" i form av sedimentskorn.



Kornene påvirker både vannets strømningslinjer og hastighet, og er grunnlaget for den mekaniske dispersjonen.

### 1.9.1 Transportmønstre

Transport- og Spredningsmekanismer i porøse medier av et stoff er en sum av følgende fenomen: adveksjon, dispersjon, spredning (mekanisk dispersjon, Molekylær diffusjon, tilbakeholdelse, løsrivelse, og inaktivering.

### 1.9.2 Adveksjon

Når løste stoffer transporteres med det strømmende vannet, kalles det Adveksjon.

Forurensninger som spres med adveksjon beveger seg med samme gjennomsnittlige lineære hastighet som grunnvannet. Strømning av vann bestemmes av Darcy's (Appelo & Postma 2005; Schwartz & Zhang 2003).

$$\mathbf{q} = -\mathbf{K}ne \frac{dh}{dl} \quad (1)$$

Der

$q$  = gjennomsnittlig lineær strømningshastighet [m/s]

$k$ : hydraulisk konduktivitet [m/s]

$ne$ : effektiv porøsitet

$dh/dl$ : hydraulisk gradient

Med bakgrunn i denne ligningen kan mengden løste stoffer (forurensninger) som transporteres, eller massefluksen ( $F$ ) gjennom tverrsnittarealet normalt på strømningsretningen beregnes. Massefluksen (i en dimensjon) blir da lik mengden vann som strømmer multiplisert med konsentrasjonen av det løste stoffet:

Den endimensjonale massefluksen avhenger av adveksjon og kan uttrykkes (Fetter & Fetter Jr 1999):

$$F_x = v * A * ne \quad (2)$$

Hvor

$F$  = massefluksen til det løste stoffet ((kg/s) /m)

$C$  = konsentrasjonen til det løste stoffet (kg/m).

Adveksjon kan uttrykkes slik (Appelo & Postma 2005; Fetter ; Fetter & Fetter Jr 1999; Schwartz & Zhang 2003):

$$\frac{dc}{dt} = -v \frac{dc}{dx} = ne * v * C = k \frac{dy}{dx} \quad (3)$$

Hvor

$\frac{dc}{dt}$  = er konsentrasjonsgradienten over tid [kg/m<sup>3</sup>/s]

$\frac{dc}{dx}$  = konsentrasjonsgradienten i rommet[kg/m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>]

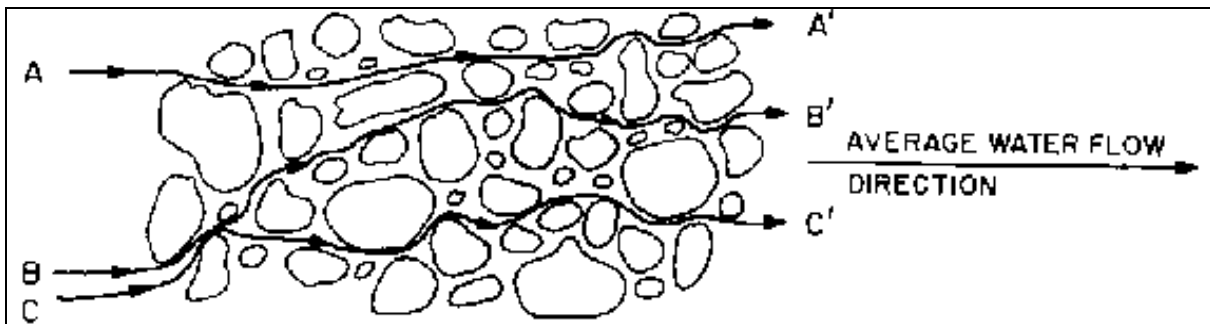
$ne$  = effektiv porøsitet %.

$v$  = strømningshastighet i porene (m/s) =  $q/ne$

### 1.9.3 Dispersjon og diffusjon

Dispersjon er en spredningsmekanisme som gjør at vannmolekyler og løste stoffer, som transporteres i grunnvann, beveger seg med ulik hastighet og langs ulike strømningslinjer. Når forurensingen strømmer i samme retning som det strømmende vannet, kalles det en longitudinal dispersjon. Fortynning normalt på strømningsretningen kalles transversal dispersjon. Heterogeniteter som hydraulisk konduktivitet og geologisk materiale, vil medføre ulike strømningshastigheter. Disse påvirkningene kalles makrodispersjon. Mikrodispersjon inkluderer sedimentkornenes ulike form, sortering og overflateegenskaper (Aarhaug 2012; Appelo & Postma 2005; Fetter ; Schwartz & Zhang 2003). Vann strømmer den letteste motstands vei, det vil si gjennom områder med høy permeabilitet. Andre faktorer som påvirker mekanisk dispersjon er friksjon mellom mineraloverflater, variasjon i porestørrelse og struktur av porer i jordarten. Disse kalles mikrodispersjon (Fetter).

Den mekaniske mikrodispersjonen er forårsaket av tre mekanismer. For det første er molekylenees hastighet forskjellig, alt etter som hvor de befinner seg internt i en pore. På grunn av økt friksjon mellom vann og mineralkorn i ytterkanten av poren, vil molekylene bevege seg raskest i sentrum. I tillegg medvirker porestrukturen i en jordart/sediment til at noen vannmolekyler tvinges til å gå "omveier" for å passere kornene og diss tilbakelegger derved en lengre strekning. Den siste differensieringen forårsakes av ulik porestørrelse internt i akviferen. Jo større porene er i en jordart, desto hurtigere vil vannmolekylene bevege seg



*Figur 1: Viser hvordan sediment kornene påvirker strømningsbanene og forårsaker spredning av oppløste stoffer. Mekanisk spredning reflekterer at ikke alt i det porøse mediet transporteres med gjennomsnittlig vannføringshastighet. Noen stier er raskere, noen tregere, noen lengre, noen kortere*

Siden mekanisk dispersjon avhenger av strømmingen, er det forventet å øke med økende strømningshastighet. Den mest vanlige uttrykk for mekanisk dispersjon er gitt ved

$$D_m = \alpha * v \quad (4)$$

Hvor

$D_m$  = koeffisient for mekanisk dispersjon

$\alpha$  = er den dynamiske dispersivitet [m]

$v$  = er den gjennomsnittlige lineære hastighet [m/s]

Diffusjon er massetransport forårsaket av konsentrasjonsgradienter. Dispersjon og diffusjon fører til en uttynning av de løste stoffene, hovedsakelig i grunnvannets strømningsretning.

Prinsippet for molekylær diffusjon er at stoffer i løsning alltid vil bevege seg i retning mot lavere konsentrasjon. Det betyr at denne type spredning ikke er direkte avhengig av strømningsretningen til vannet, men av stoff-fordelingen internt i akviferen (Appelo & Postma 2005; Fetter ; Fetter & Fetter Jr 1999; Schwartz & Zhang 2003). Prosessen er klart viktigst i vann som er mer eller mindre stillestående(Schwartz & Zhang 2003).

Diffusjonen under "Steady State" forhold kan uttrykkes ved hjelp av Fick's 1.lov (Appelo & Postma 2005; Fetter ; Fetter & Fetter Jr 1999; Schwartz & Zhang 2003):

$$\frac{dc}{dt} = -tDd \frac{dC}{dx} \quad (5)$$

Hvor

For mettesone, er tortositetsfaktor av mediet kan beregnes ved hjelp  $t = n^{1/3}$  (Schwartz & Zhang 2003).  $= n^{1/3}$  (6)

$\frac{dc}{dt}$  = masse fluks pr. enhetsareal pr. enhetstid [kg/s/m<sup>2</sup>]

$Dd$  = diffusjonskoeffisienten [m<sup>2</sup>/s] (uttrykk for hvor hurtig atomene kan bytte naboer)

$t$  = tortositetsfaktor (-)

$C$  = konsentrasjon av forurensingen [kg/m<sup>3</sup>]

$\frac{dc}{dt}$  = konsentrasjonsgradienten [kg/m<sup>2</sup>]. (Forskjell i konsentrasjon over en avstand)

Minustegnet uttrykker at diffusjonsstrømmen er motsatt rettet konsentrasjonsgradienten.

For de fleste reelle problemstillinger vil konsentrasjonsgradienten ikke være stabil, det vil si at  $dc/dx$  varierer med tiden, fordi konsentrasjonen i et hvert punkt i systemet forandres som resultat av diffusjonen. For slike systemer (dvs. endring av konsentrasjonen med tiden) gjelder Fick's andre lov (Appelo & Postma 2005; Fetter ; Fetter & Fetter Jr 1999; Schwartz & Zhang 2003).

$$\frac{dc}{dt} = -Dd \frac{d^2C}{dx^2} \quad (6)$$

Både ligning 3.4 og 3.5 gjelder for en-dimensjonal strømning (Appelo & Postma 2005; Fetter ; Schwartz & Zhang 2003). I porøst materiale kan ikke diffusjon foregå like fort som det kan i vann. De løste stoffene må bevege seg rundt partikler, og diffusjon kan kun foregå i porene. For å ta hensyn til dette, brukes en effektiv diffusjonskoeffisient, som uttrykkes (Appelo & Postma 2005; Fetter ; Schwartz & Zhang 2003):

$$D^* = D * w \quad (7)$$

Der

$D^*$  = effektiv diffusjonskoeffisient

$D$  = diffusjonskoeffisient

$w$  = empirisk formel som bestemmes i eksperimentelle forsøk

Alle disse faktorene gir til sammen en spredning av molekylene som fører til lavere konsentrasjon av det transporterte stoffet

Diffusjon og dispersjon blir ofte slått sammen til en parameter, hydrodynamisk dispersjon. Fordi de er to mekanismer som er avhengige av hverandre er de vanskelige å skille fra

hverandre. Ligningene nedenfor gjelder for longitudinal hydrodynamisk spredningskoeffisient og for spredning i transversal retning (Schwartz & Zhang 2003).

$$DL = \alpha L v_i + D^* \quad (7)$$

$$DT = \alpha T v_i + D^* \quad (8)$$

Hvor

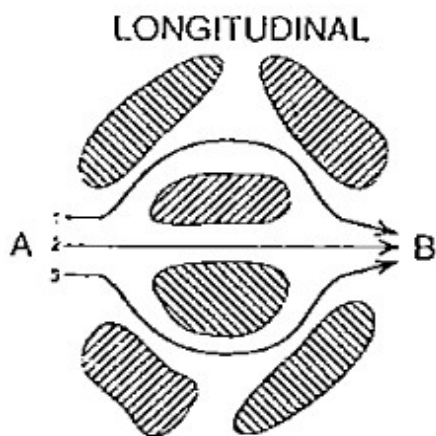
$DL$  = hydrodynamisk spredningskoeffisient i longitudinal retning

$DT$  = hydrodynamisk spredningskoeffisient i transversal retning

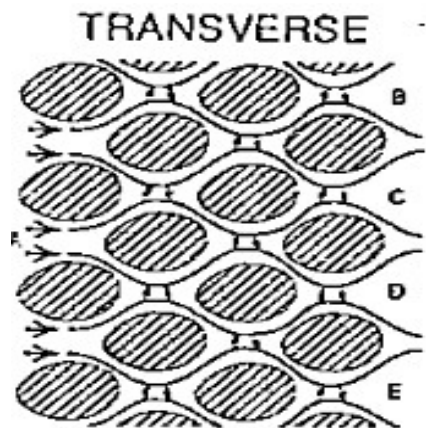
$\alpha L$  = longitudinal dynamisk dispersjon

$\alpha T$  = transversal dynamisk dispersjon

$v_i$ : gjennomsnittlig hastighet på grunnvannet



Figur 2: Longitudinal dispersjon. Dispersjonen oppstår som et resultat av forskjeller i transportvei på grunn av at vannet velger forskjellige veier rundt sedimentkornene (Appelo & Postma 2005).



Figur 3: Transversal dispersjon. Dispersjonen oppstår på tvers av strømlinjene på grunn av diffusjon mellom strømningslinjer (Appelo & Postma 2005).

### 1.9.4 Sorpsjon

Sorpsjonsprosesser inkluderer adsorpsjon, absorpsjon og ionebytting.

Ionebytting er prosessen der ioner som balanserer overflateladningen til mineraler/jordkolloider bytter plass med ioner i løsning. Kjemisorpsjon oppstår når ioner innlemmes på en sediment-, jord- eller bergartsoverflate ved en kjemisk reaksjon og absorpsjon oppstår når den faste fasen er så porøs at ionet kan trenge inn i partikkelen og sorberes på indre flater (Fetter, 1993),

I hovedsak er det fire forhold som bestemmer i hvor stor grad sorpsjonsprosessene skjer, nemlig:

1. Sammensetningen av jorda
2. *pH*,
3. Redoksreaksjonsforhold,
4. Adsorbentens og adsorbents egenskaper (Alloway & Ayres, 1997).

Sammensetningen av jorda er en svært viktig faktor med hensyn til sorpsjonsprosesser.

Forbindelser i jorda med særlig evne til å sorbere metallioner er leirmineraler (hydr)oksider, organisk materiale (særlig humuskomponenter, men også mer inerte forbindelser),

oksider (særlig av aluminium og jern) og karbonatmineraler (særlig kalsitt). Disse er dominerende sorbenter på grunn av deres ladete overflater, kombinert med høyt spesifikt overflateareal.

Opptak av forurensinger ved sorpsjonsprosesser er størst i umettet sone. I denne sonen har normalt jorden et større overflateareal (høyere finstoffinnhold pga. forvittringsprosesser) slik at adsorpsjon og ionebyttingsprosesser favoriseres (Alloway & Ayres, 1997). De største porene er dessuten delvis luftfylte. Dette sikrer god lufttilgang (aerobe forhold) og rask omsetning av nedbrytbare stoffer. Strømningen skjer gjennom de mindre porene og som en biofilm på mineraloverflatene. Avstanden mellom forurensningene og jordpartikler er derfor mindre og kontakttiden større enn ved mettet strømning. Dette er også gunstig for filtrerings- og sorpsjonskapasiteten. I tillegg er innholdet av organisk materiale høyere i umettet enn i mettet sone. Sandig jord og grovkornete jordarter med lavt innhold av organisk materiale og leire vil derfor ha lav adsorpsjonskapasitet, og det vil i slike tilfeller være stor fare for at forurensningen perkolerer ned til grunnvannet.

Sorbentenes overflateladning inndeles vanligvis i to typer; strukturladning og pH-avhengig overflateladning. Den førstnevnte er en permanent ladning som skyldes ionebytting i krystallgitteret. Den er vanlig for leirmineraler og en del andre mineraler. Den pH avhengige ladningen er et resultat av kjemiske overfaltreaksjoner der hydrolyse forårsaker dannelse av hydroksylgrupper på overflaten til sorbenten. Overflatehydroksylene reagerer amfolyttisk, avhengig av krystallstrukturen til den aktuelle sorbenten (mineralet) og pH i løsningen. Denne type ladning er vanlig for en del leirmineraler, organiske stoffer og metalloksider/hydroksider. Ved lav pH reagerer hydroksylene med  $H^+$  og danner positiv overflateladning. Dersom pH er høy, vil overflatehydroksylene reagere med  $OH^-$  i vannet og partikkeloverflaten blir negativt ladet. Ved en bestemt  $pH$  er overflatene nøytrale. Dette punktet kalles zero point of charge (ZPC). ZPC er unik for en gitt fase og må bestemmes eksperimentelt.

Når  $pH$  i en løsning er lavere enn ZPC, vil mineralene ta opp eller bytte ut anioner. Er  $pH$  høyere enn ZPC, vil de reaktive fasene kunne ta opp/bytte ut kationer.

Sorpsjon er endringen av massen til et stoff i fast fase. Med andre ord i hvilken grad et stoff binder seg kjemisk og fysisk til partiklene. Sorpsjon innbefatter både adsorpsjon og desorpsjon. Adsorpsjons isotermer beskriver likevekten mellom mengden adsorbert stoff i sedimentene, og mengden av stoffet løst i porevannet ved en fast temperatur. Isotermene vil ha forskjellig form for forskjellige stoffer. Mengden stoff som blir adsorbert, er positivt korrelert med mengde leire og organisk materiale til stede i jorda.

Sorpsjon fører til at de løste komponentene beveger seg langsommere enn de ville gjort dersom adveksjon og dispersjon var de eneste virksomme prosessene. Kjemiske reaksjoner mellom forurensingsagenter og jord medfører at forurensningen spres med lavere hastighet. Transporthastigheten av stoffet vil retarderes med en konstant faktor  $1/R$  i forhold til grunnvannshastigheten.  $R$  avhenger av oppløst stoff, vannkjemi og kjemiske sammensetningen av det porøse mediet. Når løste stoffer strømmer gjennom et porøst medium de er i stand til å binde ioner og andre løste forbindelser til den faste fase. Spesielt kan de adsorbere og desorbere. Nettoresultatet er en prosess som kalles retardasjon som effektivt forsinker transporten av et løst stoff gjennom et porøst medium.

Mengden av forurensinger vil ikke bli redusert på grunn av sorpsjon. Sorpsjon vil virke på fordelingen av de løste stoff (forurensingen).



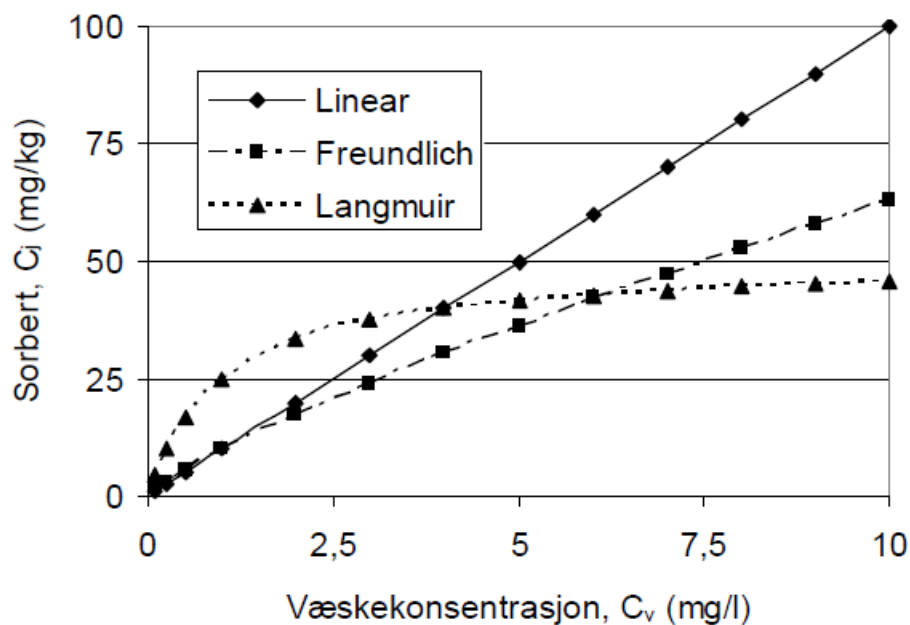
Et fast stoffs ionebyttereve karakteriseres ved dets ionebytningskapasitet, angitt (sommekv/100g fast materiale.). For ionebyttere, snakker en både om:

CEC cation exchange capacity (kation-byttekapasitet)

AEC anion exchange capacity (anion-byttekapasitet)

Vanligvis er CEC mye større enn AEC. Kapasiteten bestemmes ofte ved pH lik 7.

En kan også ha andre typer adsorpsjon og sorpsjon på fast materiale. Basert på eksperimenter over en fordeling mellom vannfasen og den faste fasen, uttrykkes dette gjennom en adsorpsjonsisoterm (figur under). Adsorpsjonen kan også uttrykkes analytisk gjennom relasjoner som Freundlich's eller Langmuir's isotermer.



## 2 Problemstilling

Ecomotive AS – VA Norge ønsker med denne oppgaven å begynne arbeidet med å revidere kommunenes krav til avstand mellom et jordinfiltrasjonsanlegg og en drikkevannkilde (infiltrasjon som sluttdisponering av rensset gråvann i drikkevanns-nedbørfelt).

Oppgaven vil være en del av et større prosjekt. Prosjektet er et ledd i et langsiktig arbeid som har omfattet utvikling av renseløsninger for gråvann, patogentransport og smitterisikovurdering. Prosjektets målsetting er å finne ut mer om transport av mikroorganismer med spesiell vekt på virus/bakterier i mettesoner. Det er også ønskelig at prosjektet gir svar på den faktiske effekten av morene som rensemedium på tilbakeholdelse av mikroorganismer i mettettsone.

Hensikten med denne oppgaven er å studere transport av mikrobiologisk forurensning i resipienten til en infiltrasjonsgrøft med følgende mål:

1. Bestemme reduksjon i mikroorganismers konsentrasjon (spesielt E.coli og virus) som funksjon av oppholdstid og transportavstand i mettesone og i morenejord.
2. Inaktivering av bakteriofager salmonella Typhimurium fager 28B(S.T.28B)
3. Studere effekter av bevaringsmetode av prøve i fryser og kjøleskap

### 3 Materialer og Metode

Forsøkene ble utført ved laboratorium Hall på fløy IV i under Institutt for matematiske realfag og teknologi – IMT ved NMBU, Ås. Det fleste av analysene ble utført ved fløy V, mens bakteriofag S.t 28B analysene ble utført på IKBM. Denne oppgave omhandler hvordan mikroorganismer spesielt (bakterier og virus) som tilføres en resipient transporteres nedstrøms. Derfor tar denne oppgave for seg analyseresultater av E.coli og S.t 28B på toppen av gjennombruddkuren av tracer forsøket som ble utført ved hjelp av NaCl.

Forsøkene ble utført i løpet 20 dager. I utgangspunktet var det planlagt å utføre separate forsøk for NaCl, E.coli og S.t 28B, men på grunn av dårlig tid til rådighet ble sporsaltkonsentrasjon, E.coli og bakteriofag eksperimenter foretas samtidig i de første 13 dagene.

#### 3.1 Avløpsvann

Avløpsvannet som ble benyttet i forsøkene var en blanding som bestått av både behandlet gråvann, ubehandlet grunnvann og tilsetning av rågråvann.

Råvann for forsøksoppsett ble hentet fra en grunnvannsbrønn på fiskefjøset på Ås. Råvann fra fiskefjøset ble tilsatt 50 % behandlet avløpsvann (gråvann fra to kolonne forsøk som pågått samtidig med dette prosjektet) og bakteriofager S.t 28B. I Tabell 1 er vannkvalitetsparametere for grunnvann gitt. Dette var kvalitet på vannet da forsøkene ble utført.

**Tabell 1:** vannkvalitetsparameter i totalløsning som ble benytt i renneforsøket (våren2016)

<b>Parameter</b>	<b>Enhet</b>	<b>Verdi</b>
<i>Temperatur</i>	°C	13 ± 3
<i>Farger</i>	mg/L Pt	32
<i>pH</i>	-	8
<i>Ledningsevne</i>	µS/cm	250/510
<i>Ca</i>	mg/L	30
<i>Mg</i>	mg/L	4.9
<i>Turbiditet</i>	FNU	3.9
<i>TSS</i>	g/L	0.008
<i>BOD</i>	mg/L	0.4
<i>COD</i>	mg/L	21
<i>Totalt P</i>	mg/L	0.15
<i>TOC</i>	mg/L	3.4
<i>F</i>	mg/L	0.40
<i>Cl</i>	mg/L	30.1
<i>NO3-N</i>	mg/L	1.46
<i>SO4</i>	mg/L	46.9

<i>Alkalitet</i>	mmol/L	3.08
<i>Al</i>	mg/L	0.033
<i>Mn</i>	ug/L	0.22
<i>Fe</i>	mg/L	0.014

### 3.2 Beskrivelse av forsøk med renner

Metoden gikk ut på å kombinere rennforsøk og å analysere observasjonene/resultatet med bruk av matematiske modeller.

Våren 2016 bygget vi en renne som har fasiliteter og utstyr for å kunne utføre tester og forsøk av transport av mikroorganismer i mettsone (**Figur4**). Rennen, som er bygget i vannlaboratoriet ved NMBU på IMT fløy V, er laget for å gjenskap grunnvannstrømming i moreneavsetninger som er en vanlig jordarter i Norge.

Et seks meter langt renneforsøk ble valgt som metode i denne oppgaven fordi det var viktig at forhold i felt ble etterliknet så godt som mulig.

Rennen som ble brukt i forsøket er bygget av pleksiglass. I renneoppsettet var det seks prøvepunkter langs rennen henholdsvis på ca. 0,5 m, 1,5 m, 2,5 m, 3,5m, 4,5m, 5,0 m og pluss innløpet og utløpet.

Forsøksrennen var 6 m lang, hadde en bredde på 0,4 m og en dybde på 0,5m. Rennen ble gjennomstrømmet ved hjelp av to peristaltiske pumper (**Figur 5**). Disse pumpene hadde 6 utganger, hvorav en av dem ble brukt. En av pumpene (**Figur 5**) skulle frakte den miksede løsningen fra en 60 liter plastbøtte til innløpet av rennen (**Figur 6**). Den andre pumpen (**Figur 7**) ble brukt til å frakte vann til en tilkoblet konduktivitetmåler for måle kontinuerlig ledningsevne og temperatur i vannstrømmingen i rennen som måleren koblet til en datalogger fra MSR.

Transportslanger i silikon ble brukt for å koble både plastbøtteløsningen og konduktivitetmåleren med slangene i de peristaltiske pumpene, og videre til innløpet hvor de ble koblet til en egen laget manifold som ligget på innløpet av rennen.

Figur 3 viser den peristaltiske pumpen med seks innganger, og plastbøtteløsningen som inneholdt av 29,5 liter grunnvann og 29,5 liter behandlet gråvann og en liter rågråvann. For å sørge for sikker tilførsel av totale koliforme bakterier og E.coli i vannet til prøver, ble 1 liter gråvann fra tank i vannlaboratoriet ved NMBU, som samler gråvann fra studentboligene i

Kaja veien, blandet i 59 liter behandlet gråvann og ubehandlet grunnvann, til sammen 60 liter råvann. Før vann fra gråvannstanken ble hentet, sørget jeg for å få tilført ferskt gråvann inn i tanken. Dette for å sikre fersk tilførsel av totale koliforme bakterier og E.coli. og 30 ml bakteriofager salmonella Typhimurium fager 28B(S.t.28B) med en konsentrasjon på  $2,4 \cdot 10^{10}$  per ml) i løpet av de fire ukene forsøket perioden.



*Figur 4: Viser to bilder av forsøk oppsettet(rennen). Med innløpet og utløpet og forskjellige prøvepunktene. Foto: Honar A. Said*



*Figur 5: Peristaltiske pumpe for å frakte miksløsningen til forsøksrennerens innløpet Foto: Honar A. Said*



*Figur 6: viser den peristaltiske pumpen med seks innganger, og plastbøtteløsningen som inneholdt av 29,5 liter grunnvann og 29,5 liter behandlet gråvann og en liter rågråvann og 30 ml bakteriofager salmonella Typhimurium fager 28B(S.t.28B)*



*Figur 7: Til venstre viser konduktivitet måleren (Pharmacia Biotech) til den andre Peristaltiske pumpe for pumpe opp prøvevann til den Konduktivitet måleren til høyre Foto: Honar A. Said*

Det var transport i henhold til mettede forhold under hele renneforsøket. Ved steady-State strømming dvs. at vannføringen var konstant og nivået på utløpet var konstant. Strømningshastigheten ble målt like før tilførsel av løsningen til rennen og en gang hver annen dag av innløpet. Strømningshastigheten av utløpet ble målt mer enn en gang hver dag.

**I Tabell 2: er spesifikasjoner for rennen gitt.**

Parameter	Enhet	Verdi
Lengde på rennen	m	6
Tverrsnittareal på konstruksjonen	m <sup>2</sup>	0.2
Tverrsnittareal i mettetsone	m <sup>2</sup>	0.148

Helning(gardinet)	m	0.0188
Porøsitet		0.3
Porehastighet	m/time	0.26
Volumstrøm	(l/dag eller ml/min)	11.52 eller 0.8

Det var 8 manuelle prøvetakningspunkter

Innløpet: plastbøtteløsningen 0.5 meter, 1.5 meter, 2.5 meter, 3.5 meter, 4.5 meter, 5.0 meter og utløpet. Disse punktene er vist i **Figur 4 og 7**.

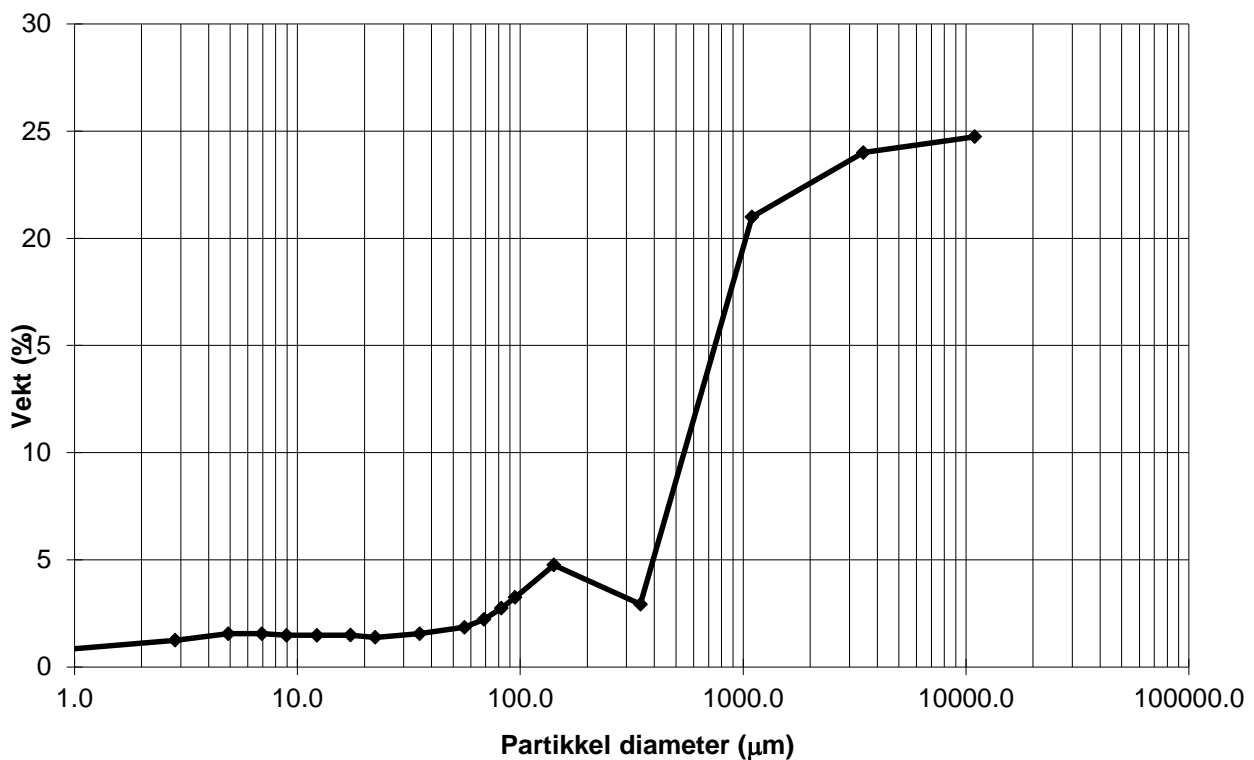
### 3.3 Utarbeidelsen av morenejord

Det ble brukt morenejord fra Ås kommune i Norge. Morenejorden var i romtemperatur i noen dager, de største steinene ble sortert uten å bruke Standard sikter. I Figur 5 vist kornegraderingskurven for Morenejord som ble analysert ved metoden Standard Operating Procedure (SOP) av Magdalena Rygalska (Jordbygning, NMBU) den 21.04.2016

For mer informasjon om morenejorden se vedlegg (1). I tillegg er det ble brukt 50 cm grus i innløpet og 50 cm i utløpet (11/22 mm) fra Franzefoss Pukk, avd. Vinterbro i forsøket. Før bruk, ble pukken vasket to ganger med springvann for å fjerne urenheter på overflaten.



Figur 8: Til venstre viser morenejord fra Ås kommune i Norge som ble bruk i forsøket. Til høyre er pukken som ble benyttet foran i innløpet og utløpet (11/22 mm) fra Franzefoss Pukk, avd. Vinterbro  
Foto: Honar A. Said



**Figur 9:** viser Korngraderingskurve for morenejorden fra Ås kommune i Norge som ble bruk i forsøket

Fraksjon og navn	Spesifikasjon	Varenummer
11/22mm GC80-20	GTIK f4 EN	13242

**Tabell 3:** viser Spesifikasjon for pukken fra Franzefoss Pukk, avd. Vinterbro som ble bruk i forsøket vist i til høyre **Figur 4**

### 3.4 Rennen ble pakket trinnvis

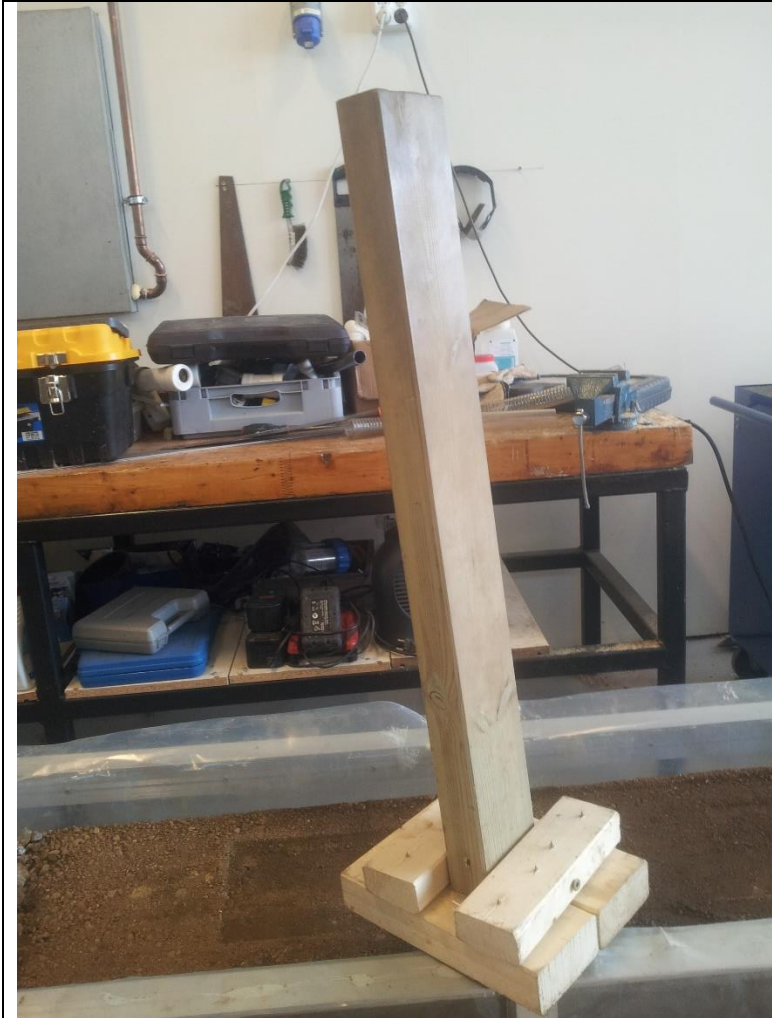
Inntil 45 cm av renneren ble pakket til ønsket bulk tettheter på en standardisert måte.

Morenejorden ble hellet i trinn på 2- 3 cm inn i renneren for forhindre lagdeling og luftbobler.. Etter hver 2-3cm fylling med morene ble laget komprimert ved at det fikk 8 slag (4 runder med 2 slag) med et stampelignende redskap med en masse på 2900 gram. (Se figuren under) Fallhøyden var på ca.40 cm.

Etter å ha fylt rennen med morene ble den mettet med det grunnvannet fra fiskefjøset som ble nevnt overfor, inntil en stabil tilstand for strømming og en jevn vanninnhold ble nådd i



renneren før forsøket. Volumstrømningshastigheten ble justert til ca. 8 ml / min, tilsvarende en filtreringshastighet på ca. 0,27 m / dag.



**Figur 10:** Viser komprimeringsutstyret som ble benyttet på morenejorden. Foto: Honar A. Said

### 3.5 Inaktivering av bakteriofager

Inaktivering av bakteriofager i vann, definert som gradvis tap av evnen til å infisere sin bakterielle vert, ble målt i satsforsøk under kontrollert forhold. For dette formål ble 100 ml glassflasker fylt med utløpsvann fra rennen (Tabell 4) Inaktivering eksperimenter ble utført for tre forskjellige temperaturer i området fra 4 til 20 med henholdsvis på ( $14 \pm 4$  °C) romtemperatur (som er gjeldende temperatur for renneforsøket området), ( $4 \pm 1$  °C) og ( $20 \pm 1$  °C). Inaktiveringeksperimentet ble utført for å bestemme bidraget fra inaktivering av S.t.28B i mettesonen til den totale fjerning. Samtidig var det ønskelig å få nærmere kunnskap

og opplysninger om S.t.28B, som nå er en bakteriofag som brukes mer og mer til springsforsøk over store deler av verden.

Det var denne metoden som benyttet for å undersøke den andre problemstilling om inaktivering som ble gitt i kapittel 2.

**Tabell 4:** *Vannkvalitetsparameter i utløpsvann som ble benyttet i inaktiveringsforsøket (våren2016)*

<b>Parameter</b>	<b>Enhet</b>	<b>Verdi</b>
Temperatur	°C	12
Farger	mg/L Pt	150 ± 20
pH	-	7± 0.2
Ledningsevne	µS/cm	180 ± 20
Ca	mg/L	56
Mg	mg/L	5.2
Turbiditet	FNU	20 ± 2
TSS	g/L	0,0017
BOD	mg/L	2.2
COD	mg/L	42
Totalt P	mg/L	0.026
TOC	mg/L	8.57
F	mg/L	0.20
Cl	mg/L	24.60
NO3-N	mg/L	4.23
SO4	mg/L	36.70
Alkalitet	mmol/L	2.28
Fe	mg/L	0.56
Al	mg/L	0.47
Mn	µg/l	19

*Utløpsvannet som ble benyttet i inaktiveringsforsøket hadde følgende sammensetning i denne perioden*

Prøvene ble samlet i sterile polypropylen plastrør, frosset inn og lagret ved  $-20 \pm 5$  °C inntil videre analyse i løpet av to uker. Det var ønskelig å finne ut mer om effekten av å oppbevare virusprøvene på fryser ved  $-20 \pm 5$  °C i forhold til i kjøleskap ved  $4 \pm 2$  °C. Derfor ble eksperimentet gjennomført med hensyn til dette også. Det ble tatt parallelle prøver ved forskjellige prøvepunkter og forskjellige datoer for dette formålet. Det var denne metoden som ble benyttet for å undersøke den tredje problemstillingen, om bevaring av prøver fram til analyseringspunkt som ble gitt i kapittel 2.

### **3.6 Forberedelse av renneforsøket**

Først ble morenejorda i renneforsøket mettet.

#### Materialer

Råvann (grunnvann fra Fiskefjøset på Ås, mat forsk)

Peristaltiske pumper (**Figur 5** og **Figur 6**)

Plastbøtte (**Figur 6**)

Transportslanger (silicon)

#### Prosedyre:

1. Før tilførsel av (tracer) NaCl og mikroorganismer ble startet, ble morenejorden i rennen mette med grunnvann med en volumstrømningshastighet på (20 ml/min) som var større enn det som skulle brukes senere, det var på grunn av dårlig tid til rådighet og dette ville ikke føre til noe betydelig problemer.
2. Deretter ble volumstrømningshastigheten justert til ca. 8 ml / min, tilsvarende en filtreringshastighet på omtrent 0,26 m / dag.
3. Ventet i 5 dager inntil oppnådd steady-State strømming, dvs.at vannføringen var konstant og nivået på utløpet var konstant. Dette var en viktigbetingelse for kunne sikre konstante betingelser i løpet av eksperimentet.

### **3.7 Gjennomføring av renneforsøket**

#### Materialer

Beholder (Plastbøtte, **Figur 6**)

To Peristaltiske pumper (**Figur 5 og Figur 7**)

Konduktivitet måleren (*Pharmacia Biotech*, **Figur 7**)

Datalogger fra MSR

Transportslanger (Silicon, **Figur 7**)

Egen produsert manifold av PVC

Ubehandlet grunnvann fra fiksefjøset på Ås

Behandlet gråvann

Rågråvann (brukt til å heve opp E.coli)

Bakteriofag S.t 28B (IKBM, NMBU)

NaCl

#### Prosedyre:

1. En beholder (Plastbøtte, **Figur 6**) som inneholdt en blanding av 29.5 liter ubehandlet grunnvann og 29.5 liter behandlet gråvann og en liter rågråvann. Sammensetting av løpsvannet (forsøksvannet) som ble benyttet i renneforsøket er angitt i **Tabell 8**.
2. En blanding inneholdende S.t 28B, E-coil og NaCl ble mikset inn manuelt. Bakteriologisk sammensetting av løpsvannet (forsøksvannet) som ble benyttet i renneforsøket er angitt i **Tabell 5**
3. Rennen ble gjennomstrømmet ved hjelp av to peristaltiske pumper. Disse pumpene hadde 6 utganger, hvorav 1 av hver av dem ble brukt. En av pumpene skulle frakte den miksede løsningen fra den 60 liters plastbøtta til innløpet av renna. Den andre pumpen ble brukt til frakte vann til den tilkoblede konduktivitet måler for måle kontinuerlig ledningsevne og temperatur i vannstrømmingen i renna. Denne måleren ble igjen koblet til en datalogger fra MSR.

4. Transportslanger i silikon ble brukt for å koble både plastbøtteløsningen og konduktivitet måleren med de peristaltiske pumpene, også videre til renna hvor slangen ble koblet til en spesiellaget manifold ved innløpet.

### 3.8 Følgende eksperimenter ble utført:

Et langtidsforsøk på 22 dager (fra 24. 3.2016 til 14.4.2016) med kontinuerlig dosering av bakteriofag (tilsetning av bakteriofager ved innløpet i konsentrasjoner på ca.  $5 \times 10^6$  (PUF / ml) ved anvendelse av en løsning (**Tabell 5**) som ble mikset med 29.5 liter ubehandlet grunnvann og 29.5 liter behandlet gråvann. E-coil i løsning ble hevdet ved å tilsette en liter rågråvann pr 60 liter løsning.

Grunnvann		Behandlet gråvann		Rågråvann	
Liter	%	Liter	%	Liter	%
29,5	49,16	29,5	49,16	1	1,66

Tabell 5: Sammensetting av løpsvannet (forsøksvannet) som ble benyttet i renneforsøket.

Etter tilsetning av avløpsvann og bakteriofager hadde forsøksvann følgende sammensetning i løpet av forsøksperioden (**Tabell 6**). I denne tabellen er det angitt konsentrasjon av de ulike mikroorganismene. Konsentrasjon er målte konsentrasjoner.

Bakteriofager (S.t 28B) PFU/ml	Koliforme bakterier (Ant. /100 ml)	E.coli (Ant. /100 ml)
$5 \times 10^6$	$4.5 \times 10^5$	$3.2 \times 10^4$

Tabell 6: Bakteriologisk sammensetting av løpsvannet (forsøksvannet) som ble benyttet i renneforsøket.

#### 3.8.1 Avløpsprøver

For hvert prøvepunkt ble det hver gang gjennomført 3 seirer med undersøkelser.

Avløpsprøver ble tatt fra de seks prøvepunkter langs rennen på ca. 0,5 m, 1,5 m, 2,5 m, 3,5m, 4,5m og 5,0 m og pluss innløpet og utløpet manuelt med en frekvens opp til hver dag, avhengig av den ventede konsentrasjonsendring. Prøvene ble samlet i sterile polyetylen

plastrør, frosset innen og lagret ved  $-20 \pm 5$  °C inntil videre bakteriofag analyse i løpet av to uker. De andre prøvene ble analysene i løpet av 60 min fra prøvetakingen. Det ble benyttet engangssprøyter og engangshansker.

Prøver av bakteriofag S.t 28B som ble analysert baserer seg på gjennombruddskurven for trace forsøket NaCl som ble utført samtidig med dette forsøket.

### 3.8.2 Avgrensninger:

- I renneforsøkets periode var det en korttid strømbrudd den 1.4.2016. slik at tilførselen ble stoppet i 4 timer. En har ikke observert en betydelig endring i renna som en følge av strømbruddet og pumpestansen. Årsaken kan være lang oppholdstid i renna.
- Prøvene ble ikke analysert med hensyn til bakteriofager S.t 28B rett etter prøvetaking. Det på grunn av to ting, den ene er den lange oppholdstid mellom hver prøvepunkt og den andre grunnen var at en måtte koordinere med prøvetakning fra andre prosjekter og kapasiteten på laben



**Figur 11:** Viser engangssprøyter 5ml som ble bukt i forbindelse med prøvetaking. Foto: Honar A. Said

#### Materialer:

5 ml engangssprøyter for uttak av vannprøver

Engangshansker

15 og 100 ml sterile polyetylen plastrør

#### Prosedyre:

1. Prøvene ble tatt ved hjelp av engangssprøyter og det ble brukt engangshansker.
2. Rett etter at vannprøven ble trukket opp med sprøyte ble korken på det sterile polyetylen plastrøret åpnet, vannprøve påfylt og korken deretter skrudd på.
3. Prøvene ble tatt så forsiktige så mulig for å unngå forstyrrelse av transportveien og unngå kontaminere av vannprøven og spredning av patogene mikroorganismer i lokalet.
4. Vannprøvene ble straks frosset inn og lagret ved  $-20 \pm 5$  °C inntil videre bakteriofag analyse i løpet av to uker. De andre prøvene ble analysene i løpet av 60 min fra prøvetakingen.

### **3.8.3 Kjemisk analyser av avløpsvannprøver**

Alle avløpsvannprøvene ble analysert for pH, ledningsevne, farge, turbiditet og temperatur hver dag i løpet av hele forsøksperioden. 3 vannprøver fra utløpet og innløpet ble analysert med hensyn på TSS, BOD, COD, total-P(TOT-P).

Farge og turbiditet ble målt ved å gjennomlyse prøven i et fotospektrometer som sammenlikner med en standardkurve og matematisk regner ut prøvens farge. pH er et mål på væskers surhetsgrad, og er lik den negative logaritmen til konsentrasjonen av  $H^+$ -ioner i væsken. pH i vannprøvene ble målt etter norsk standard NS 4720 (NSF, 1979). Måling av pH tok relativt lang tid, 5 og 15 minutter per vannprøve. Ved nedsettelse av elektroden i vannet en må vente til den avleste verdien stabiliserer seg. Bestemmelse av temperatur og ledningsevne gikk raskt og tok under ett minutt per prøve. På forhånd ble pH-elektroden kalibrert mot to buffere med kjent pH; pH 7 og pH 4. Mellom hver prøve ble pH-elektroden og ledningsevнемåleren vasket med destillert vann og tørket

Ledningsevne ble både målt kontinuerlig og manuelt.



**Figur 12:** Til venstre vise pH meter og til høyre fotospektrometere for turbiditetsmåling. Foto: Honar A. Said

I tillegg ble en vannprøve fra innløpet og utløpet ble analysert med hensyn på Ca, Mg, TOC, F, Cl, NO<sub>3</sub>-N, SO<sub>4</sub>, Alkalitet, Fe, Al og Mn. (Bestemt av de ansatte ved laboratoriet på IMV, NMBU av hensyn til det følsomme utstyret som brukes i disse analysene og fordi dette utstyret ikke var tilegnelige i laboratoriet på fløy V ved IMT, NMBU.)

### Tørrstoff (TSS)

Tørrstoffbestemmelse er et mål for totalt innhold av løst og partikulært stoff. For å finne totalt tørrstoff ble en liter av vannprøven filtrert gjennom et 1.2 µm glassfiberfilter og tørket ved 105 grader.

### *Materialer:*

Vakuumpumpe (VWR VP86) med filteroppsats

Glassfiberfilter (Whatman® GF/C 1,2 µm)

Tørkevekt (Ohaus MB-45)

### *Prosedyre:*

1. Avfukte filteret ved 105 °C i minimum en time. Deretter ble tørt filter veiet.

2. En liter vannprøve ble filtrert gjennom 1,2 µm glassfiberfilter.



*Figur 13: vise utstyre brukt til TSS analyser*  
Foto: Honar A. Said



3. Filteret ble deretter tørket i tørkevekten ved 105 °C i minimum to timer og deretter veiet.

Det totale suspenderte tørrstoffet (TSS) fra vannet er det som blir igjen i filteret etter at det er tørket ved 105 °C i minimum to timer eller har oppnådd en konstant vekt.

### **Turbiditet**

Turbiditet er et mål på klarheten i en vannprøve. Den måles ved å analysere reduksjonen i styrke for lys som sendes gjennom en vannprøve. Turbiditetsmåling ble utført (nefelometer) i samsvar med NS 4723.

### **Biokjemisk oksygenforbruk- BOF5**

BOF blir bestemt ved at vannprøven blir tilsatt oksygenanrikt vann, fylt på flaske og lukket. Deretter blir konsentrasjonen av oksygen i prøven målt ved hjelp av en oksygenelektrode( og lar oksidasjonen gå ved 20 °C i 5 døgn. ) en tar konsentrasjonsprøver bare ved begynnelse og slutt? Differansen mellom av konsentrasjon av oksygen før og etter lagring angir BOF verdien.



*Figur 14: vise utstyre brukt til BOF5 analyser  
Foto: Honar A. Said*

### **Kjemisk oksygenforbruk- KOF**

Dette er en metode som indirekte måler oksygenforbruk ved oksidasjon av alle organiske forbindelser. Bakgrunnen for denne metoden er at organisk materiale i vann oksiderer i nærvær av oksygen.

KOF ble målt ved koking av vannprøven i 2 timer etter at den tilsatt kaliumdikromat. Ved analysering a dikromatresten etter koking, ble det beregnet/ lest av oksygenforbruket, som angir KOF verdien.( Beregningene blir utført automatisk av programvaren som medfølger instrumentet).

### **Total P**

Total P ble bestemt etter norsk standard NS 4725 (NSF, 1984) med oppslutning med peroksoedisulfat-oksidasjon. Instrumentet som ble brukt var Gilford-stastar II. (Beregningene blir utført at automatisk av programvaren som medfølger instrumentet).

### 3.8.4 Mikrobiologisk analyser

Avløpsvann inneholder mange typer av mikroorganismer. Noen av disse organismer er sykdomsfremkallende hos mennesker. For å bestemme om vann inneholder smittestoff analyseres vannet for innhold av én eller flere indikatororganismer. Her er det benyttet Koliforme bakterier, E. Coli og Bakteriofager S.t 28B som indikatororganisme.

Ved analyse av bakteriofager er det behov for et prøvevolum på ca. 4 ml, mens det for analyse av de øvrige bakteriologiske parameterne er behov for et prøvevolum på ca. (10 - 100 ml). I hvert prøvepunkt ble det først tatt et prøvevolum på 4 ml for analyse av bakteriofager. Deretter ble det tatt ut en prøve på (10 - 100 ml) for analyse av de andre bakteriologiske parameterne. Dette ble gjort hver dag for en periode på 20 dager.

### 3.8.5 Mikrobiologiske indikatorer

Colilert-18® og Quanti-Tray® (IDEXX Laboratories Inc., USA) er den metoden som benyttes til samtidig påvisning og kvantifisering av koliforme bakterier og E.coli i dette forsøket. Denne analysen baserer seg på en kjemisk reaksjon mellom reagenser i vekstmediet og enzymer som er produsert av koliforme bakterier. Når koliforme bakterier metaboliserer næringsindikatoren ONPG dannes en gul farge. Dersom det er E. coli til stede vil disse bakteriene metabolisere en annen næringsindikator (MUG) som gir fluorescens. Antall koliforme bakterier og E. coli leses ut av en tabell, basert på antall gule (koliforme bakterier) og fluoriserende (E. coli) lommer etter 18-22 timers inkubasjon ved 37 °C.

#### *Materiale*

Prøveflasker 100 ml

Næringssubstrat

Forseglingsmaskin

Inkubasjonsskap

UV-lys apparat

Brett som besto av 49 store og 48 små lommer

Pipetter (100-1000 µl, 1-5 ml og 20 ml)

Avionisert vann



*Figur 15: vise utstyre brukt til analyser antall koliforme bakterier og E. coli Foto: Honar A. Said*

### *Prosedyre:*

1. En trenger en løsning på 100 ml for å gjennomføre en slik test. Men det var ikke nok vannprøve tilgjengelig. Derfor måtte jeg fortynne vannprøven jeg tok ved hjelp av en pipette med sterilt vann.
2. Næringssubstrat ble tilsatt og blandingen ristet godt.
3. Prøven fikk stå i 15 min til Næringssubstrat (pulver) er løst opp og skummet som ble dannet under ristningen hadde lagt seg.
4. Vannprøven ble så helt i brettet. Deretter ble det dunket lett på brettet for å sikre at mulige luftbobler gikk ut.
5. Brettet, merket med navn, nummer, dato og klokkeslett deretter ble forseglet.
6. Prøvene ble inkubert i 18 timer ved 37 °C.
7. Etter inkubering ble lommene med gul farge registrert, deretter ble lommene som ble fluoriserende under UV-belysning notert.
8. De registrert fargene ble sett i sammenheng med en MPN (most probable number) ved hjelp av den tabellen som er lagd av Colilert-18® og Quanti-Tray® (IDEXX Laboratories Inc., USA) og antall koliforme bakterier og E.coli ble bestemt. ( hvis en prøve ble fortynnet er ganget med fortynning faktoren (faktor/regel for fortynning).

### **3.8.6 Analysering av bakteriofag S.t 28B**

Prøver fra bakteriofag St.28B t ble analysert ved IKBM, NMBU

I forsøkene ble bakteriofaget *Salmonella typhimurium* 28B (Lilleengen 1948) brukt som virusindikator. Bakteriofager infiserer og formerer seg i spesifikke vertsbakterier. Dette bakteriofaget infiserer bakterien *Salmonella typhimurium* type 5 og formerer seg i bakteriecellen.

Analysering av bakteriofag S.t 28Bi vannprøvene ble gjort i samsvar med en laboratiemanual utarbeidet av det Svenske smittskyddsinstituttet. SMI metoden går ut på å følge dobbelager-metoden (Allestam, G. & Carlander 2000).

Denne metoden går ut på at prøvene blir analysert ved hjelp av plakkdannende teknikk som går ut på at man teller opp antall plakk som blir dannet i petriskålen. Vannprøvene ble analysert innen(9-10) dager etter første prøvetaking og prøver med avvikende verdier ble testet på nytt neste dag. I dette prosjektet ble bare en prøver testet på nytt.

### 3.9 Beregning av mikroorganers fjerning og inaktivering

Graden av mikroorganismers reduksjon er beregnet som logaritmisk reduksjon i gjennombrudspunktene for NaCl i de respektive prøvepunktene:

$$\text{Log}_{10} \text{ reduksjon} = -\text{Log}_{10} \left( \frac{C}{C_0} \right) \quad (9)$$

Hvor

C er mikroorganismenes konsentrasjon i renna ved en avstand x og tiden t

C<sub>0</sub> er konsentrasjonen i innløpsvannet.

Inaktivering av bakteriofaget er beregnet på samme måte.

Reduksjonen av bakteriofager er korrigerer for inaktivering

Mikroorganismes inaktivering i vannfasen er generelt antatt å følge en (en førsteordens differensiallikning) førsteordens kinetisk modell av Chicks (1908) og Watson (1908). Spesielt under relativt milde temperaturområder (5-20 °C) og i nærheten -nøytral pH, som i denne studien. Under mer ekstreme forhold er hastigheten for inaktivering av virus ofte funnet å begynne med ved en høy hastighet, etterfulgt av en lavere hastighet, som om to eller flere subpopulasjoner var til stede (Pedley et al. 2006).

Chicks lov beskriver altså ganske enkelt at inaktiverings/utdøingshastigheten til enhver tid er proporsjonal med gjenværende antall av levende mikroorganismer. Differensiallikningen beskriver første ordens kinetikk er angitt nedenfor. Ved hjelp av den ligning en har jeg regnet ut fjerningsrate for den respektive mikroorganismen.

$$\frac{Ct}{C_0} = e^{-kt} \quad (10)$$

$$k = -\frac{\log \left( \frac{Ct}{C_0} \right)}{t} \quad (11)$$

Når praktisk arbeid utføres dukker det nesten alltid opp noen uforutsette problemer. Hensikten med å presentere problemene som oppsto underveis i dette prosjektet er for å klargjøre under hvilke betingelser forsøkene er utført. Det er i tillegg mulig å ta lærdom av de feilene som ble begått her dersom lignende forsøk senere skal utføres av andre.

Renna som ble brukt i dette prosjektet tok veldig lang tid til å sette opp, slik at forsøkene kom senere i gang enn planlagt. Den var verken stabil eller sterkt nok til å tåle det planlagte forsøket. Derfor ble det brukt en god del tid på hovedverkstedet for å stabilisere og forsterke den med en ramme av treverk. (**Figur 16**).



*Figur 16: viser bilder av renna på hovedverksted på IMT,NMBU*

Etter at renna endelig kom på plass ble den pakket med morenejord som tidligere nevnt. Da jeg prøvde å mette jorden i renna viste det seg at den ikke var tett på bunn og sidene. Rennan var tett før en stappa jorda oppi (Toleransegrensen for vannlekkasje er null. Renna må være 100 % tett for at strømningsbanene skal fungere som forutsatt.) Morenejorden ble gravd ut av renna og etter samtale med veileder og hovedverkstedet på IMT ble jeg anbefalt å bruke (tek 10) for å tette siden og bunnen av renna. Etter å ha ventet noen dager på at tetningsmiddelet skulle tørke ble hele renna i tillegg dekket med en spesiell plast før jeg kunne begynne å pakke renna med morenejord på nytt. Av denne type plast ble brukt av andre til slik formål. Det var ikke noe fare for at platen kunne gi fra seg stoffer eller gasser som kunne ha innvirkning på prøveresultatet.

(**Figur 16**) Da renna var ferdig pakket startet jeg å mette den med vann. Den gangen var det ingen lekkasje verken på bunnen og sidene. Det var først da vannet nådde fram til utløpet at jeg oppdaget en lekkasje. Problem ble fikset ved å demontere pakningen i koblingen til utløpe og tette den. Så var det bare å vente enda noen dager. Da jeg nok en gang begynte å mette morenejorda i renna oppdaget jeg at den ikke tålte det økende trykket og tyngden og derfor begynte å lekke på mange plasser i hele sin lengde.

Tilslutt ble bestemt at en skal bestille en spesiell duk fra Plany A/S.(**Figur**).

Renna ble dekket med den nye duken og det ble lagd et nytt utløp. Da alle problemene med vannlekkasjer er løst har vi kommet til midt i mars. I stedet for midt i januar, som var planlagt, var det først 24. mars jeg kom i gang med å kjøre forsøkene.

Jeg brukte altså mye tid på å sette i stand renna. Renna ble pakket om tre ganger før den fungert som den skulle. Dette medførte at prosjektoppstarten ble omtrent godt over to måneder forsinke

(Her er en ikke nevnt problemet med å finne en brønn og få lov til å bruke den. Samt frakt av vannet og frakt av materiale til å pakke renna med. Det ble bestemt at en skal bruke grunnvann med gråvann i forsøket for å gjøre det så realistisk som mulig.

Derfor ble det til hver ny miks fraktet grunnvann fra Fiskefjøset på ÅS(**Figur**)



*Figur 17: Renna ble dekket med en spesiell duk fra Plany A/S*

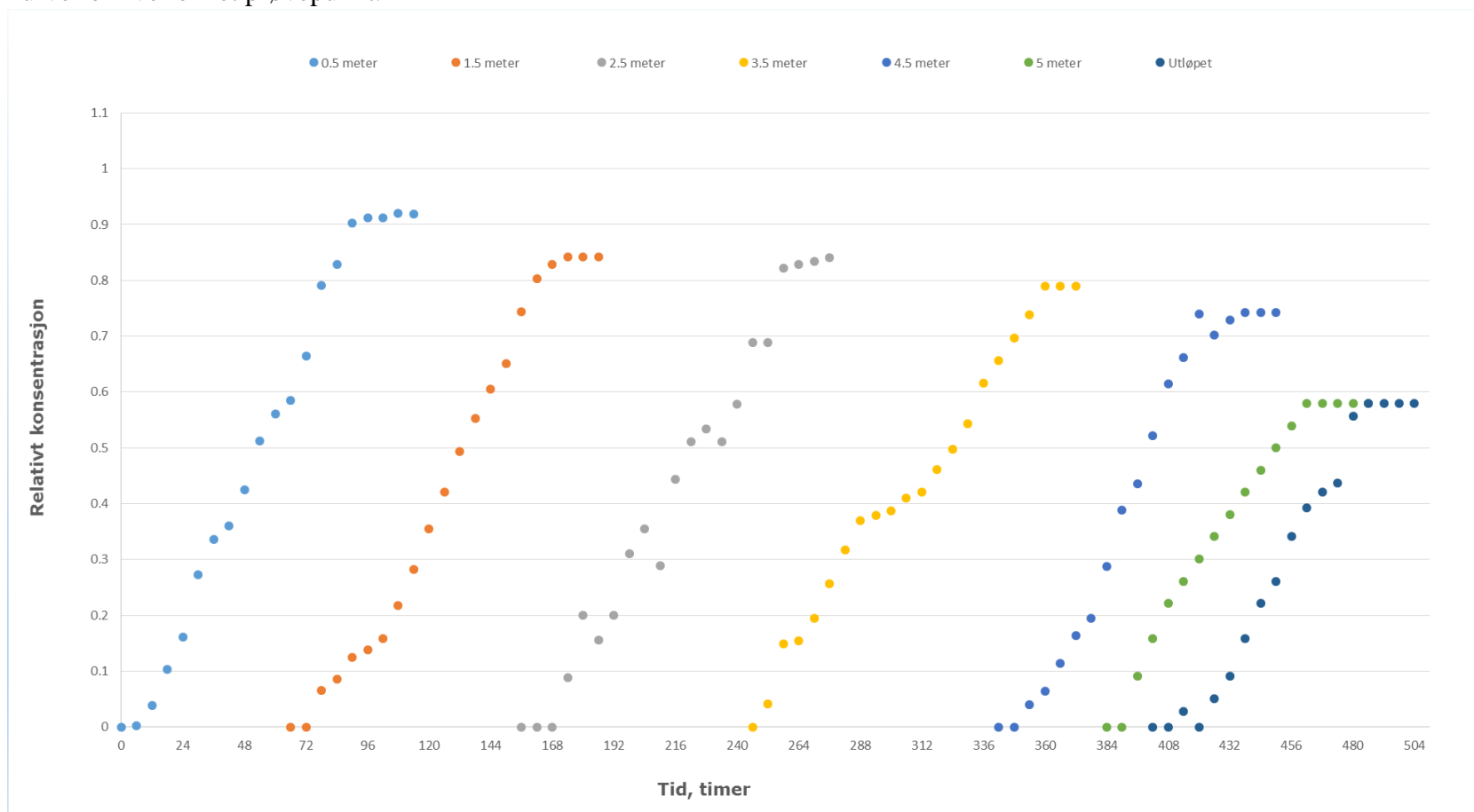


*Figur 18: viser tapping av grunnvann som ble fraktet fra Fiskefjøset (Matforsk) på Ås til Fløy 1V ved IMT. Foto Honar Ahmed Said*

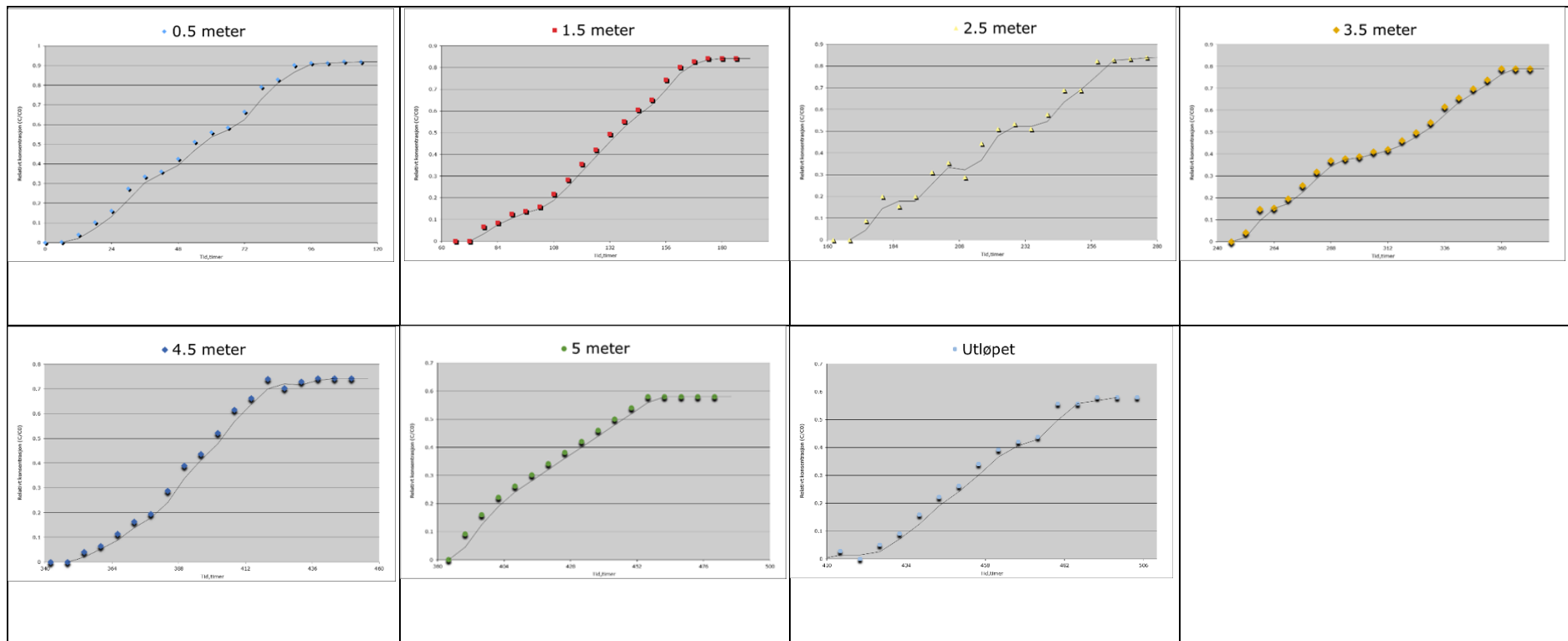
## 4. Resultat og diskusjon

### Tracer NaCl Sporsaltkonsentrasjon

Gjennombrudds kurvene for de sju prøvepunktene samlet i rennen med mettet morenejord er vist i Figur 19 og i **Figur 20** vist gjennombrudd kurve for hver enkelt prøvepunkt.



Figur 19. viser gjennombruddskurve (målte EC) for alle prøvepunktene sammenhengende 0,5 m, 1,5 m, 2,5 m, 3,5 m, 4,5 m, 5,0 m, og utløpet (5,5 m) i en renne med mettet morene.



Figur 20. viser gjennombruddskurvene for hver enkelt prøvepunkt separat (målte EC) for alle prøvepunktene 0.5 m, 1.5 m, 2.5 m, 3.5 m, 4.5 m, 5 m, og utløpet (5.5 m) i en renne med mett morenejord.



For hvert prøvepunkt er oppholdstid og strømningshastigheter av tracere (NaCl) vist i

**Tabell 7**

Prøvepunkt	Oppholdstid Kumulativt	Oppholdstid stegvis	Strømningshastighet m/dag
0.5 meter	50	50	0.240
1.5 meter	126	76	0.286
2.5 meter	210	84	0.286
3.5 meter	302	92	0.278
4.5 meter	390	88	0.277
5 meter	433	43	0.277
Utløpet	449	16	0.294

**Tabell 7: viser** beregnet oppholdstid kumulativt og stegvis og strømningshastighet for NaCl på 7 avstander i et 6 meters renneforsøk med mettet morene.

For å bestemme vannoppholdstiden mellom de sju prøvepunktene i renna ble det kjørt en tracer test. En tracer-test er en metode for å estimere strømningsbanen i renna ved at salt (som vil øke ionestyrken i vannet) blir tilsatt innløpsvannet, og elektrisk ledningsevne (EC) blir målt i hvert prøvepunkt.

I denne studien ble NaCl benyttet som konservativt sporstoff og det ble dosert i 0.25g /l kontinuerlig (13 dager) for bestemmelse av grunnvannets strømningshastighet og oppholdstid i renna mellom innløpet og de sju prøvepunktene. Oppholdstid og strømningshastigheter ble bestemt ved å bruke et referansepunkt.

Forholdet mellom tracer konsentrasjonen ved hver prøvepunkt i ut- og innløpet av renneren,  $C/C_0$ , avsatt da som funksjon av vannmengden som har rent gjennom. Som referansepunkt en brukt det punktet der  $C/C_0=0,5$ , hvilket tilsvarer toppunktet for en ideell tracer ved momentan tilsetning.)

Tracerens hastighet i en renneforsøket bestemt ut fra følgende ligning (som vist i **Tabell**):

$$Vt = \frac{L}{t}$$

Hvor

L = avstanden mellom tilsetningsstedet og hver prøvepunkt av renneren

t = tiden fra tilsetningen til referansepunktet

Denne informasjonen ble deretter benyttet til å bestemt når og hvilke prøver skulle analysert senere. Gjennombruddskurvene for strømningshastighet og oppholdstid i renna mellom innløpet og de sju prøvepunktene er vist i (Figur19, Figur 20 og **Tabell 7**)

Maksimalt gjennombrudd av den målte EC varierte fra 90 % på det første prøvepunkt til 58 % ved utløpet av den injiserte konsentrasjon.

Egenskaper ved innløpsvannet og grunnmaterialet (her brukt morenejord) og NaCl som brukt som tracer har mye å si for reduksjon fordi det kan være mange mekanismer som gjør at den såkalt konservativt tracer ble redusert. For eksempel kan dispersjon og sorpsjon være grunnen til at tracerkonsentrasjonen ved utløpet av en kolonne har en annen fordeling enn ved innløpet.

Hvis sorpsjon er årsaken til at konsentrasjon av tracer er redusert betyr det at hastigheten gjennom morenejorden har vært mindre enn vannets hastighet. Men det kan også være andre årsaker som gjør at den NaCl ble redusert, for eksempel ved ionebytting der Na eller Cl har blitt byttet ut med kationer eller ioner i morenematerialet, som kan ha hatt ionebytter egenskaper.

En tror at begge de prosessene har bidratt til dette, men mest sannsynlig er ionebytting. Dette argumenteres ved at ved slutten av forsøket en observert en økning av EC ved prøvepunktet på 0.5 meter. Dette betyr at morenen ble mettet og stoppet opptak av NaCl. Den høye prosentvise reduksjonen i vannets sporsaltkonsentrasjon syntes i stor grad å avhenge av sporsaltkonsentrasjon som ble dosert. Gjennombrudd kurvene tyder på at mengden av sporsaltkonsentrasjon som ble bundet til morenejorden økte til en viss øvre grense over tid. En kan tenke seg at jordmaterialet ble mettet med Cl ioner.

I tillegg en må nevnes at det i dette forsøket ble brukt relativt veldig lite NaCl. Det ble brukt 0.25 g/l, som er 40 ganger mindre enn det som er vanlig til slike formål. Dette kan være også en god grunn til at reduksjon av traceren er veldig synlig prosentvis.

Dette ble gjort bevisst fordi tilsetningen av en salt tracer til et grunnvannssystem bør være så liten som mulig med hensyn til forurensning (tetting) av vannet. På den annen side er det nødvendig at tilsetningen er så stor at målingene kan gjøres med tilfredsstillende nøyaktighet.

I dette forsøket var en miks av tracer NaCl og E.coli og S.t 28 B i innløpsløsningen som vist i (Tabell 6). I utgangspunktet, hvis en har tid og mulighet til det, det beste er å kjøre tracer-testen for seg selv. Det bør gjøres en god stund før gjennomføring av hovedforsøket. Dette fordi en kan skaffe seg informasjon om transportveien, oppholdstid og strømningshastighet i en tidligere fase. (Og en kan planlegger sin prøvetakingsprogram for bakteriofag forsøkene bedre.

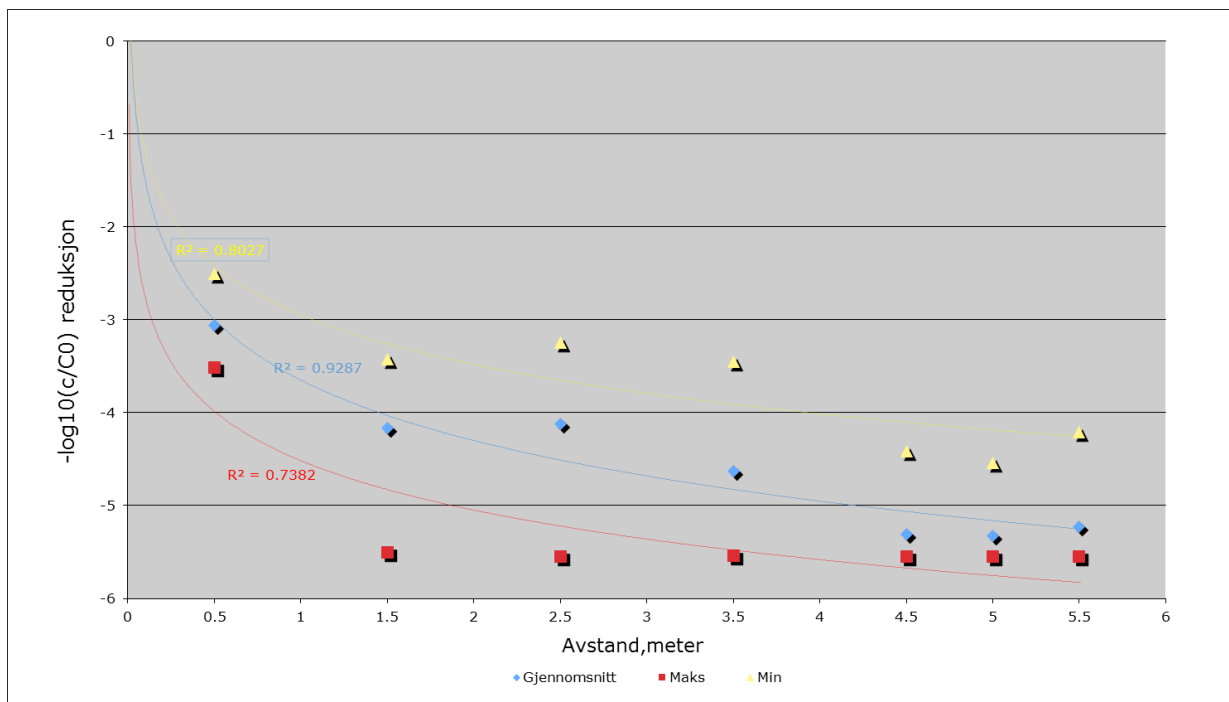
På den måten kan man optimaliserer sin prøvetakingsprogram og unngått å ta for mange prøver. I et slikt forsøk er vannuttak til vannprøver en av de viktigste flaskehalsene, derfor ønsker en å trekke minst mulig vann inn i systemet for unngå forstyrrelse av strømmingsveiene.

I dette forsøket ble det tatt prøver fra alle prøvepunktene daglig. Dette ble gjort fordi det ble kjørt tracer sammen med selv virusforsøket. Og, som nevnt over, var en ikke helt sikker på oppholdstiden og de maksimale gjennombruddskonsentrasjoner i renna, samt for å sikre at en har tatt prøver under stabile forhold dvs. rett etter to porevolum. (Etter samtaler/ diskusjon med veileder, ble vi enige om at en skal analyser bare de prøvene som forventet at virus har stabilisert seg i hver punkt på de maksimale gjennombrudd konsentrasjoner(gjennombrudd toppunktet). I en studie av Schijven et al. (1999) ble funnet at verdien av  $k_{att}$  tilbakeholdelse bestemmes hovedsakelig av de maksimale gjennombrudd konsentrasjoner som ble målt under gjennombrudd av natriumklorid tracer.)

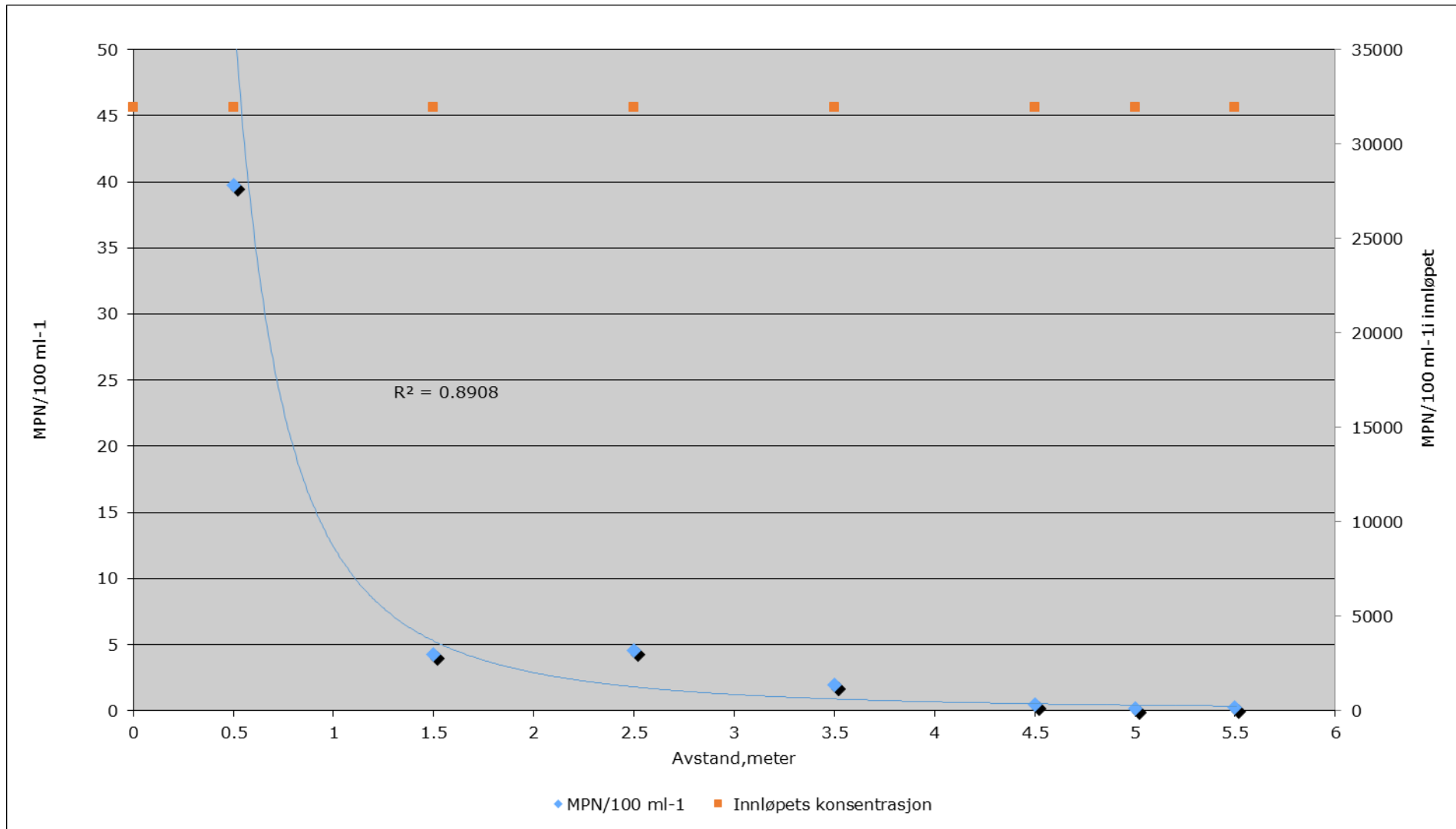
## 4.2 Resultater og diskusjon av E.coli

Fjerning av mikroorganismer i mettesone i morenejord. Bakterietransport forsøk ble gjennomført under mettede strømningsforhold ved hjelp av renneren vist i Figur. 1

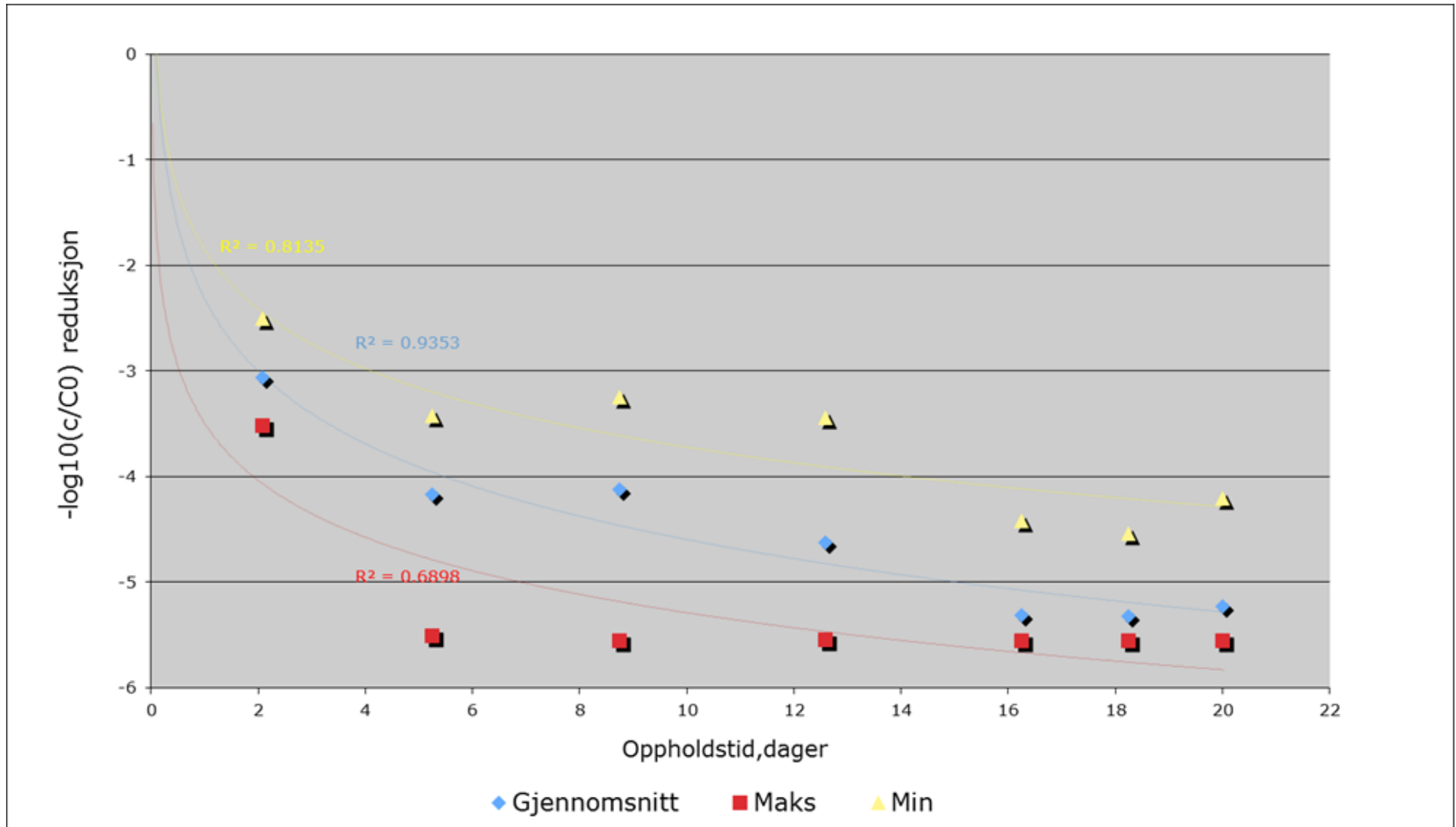
I dette delkapitlet er resultatene fra E.coli analysene presenter grafisk for å vise og karakterisere den relative transport og fjerning og beregnede fjerningshastighet koefisienten/rate for bakteriell (E. coli fra rågråvann) i denne 6 meter lengde renneforsøket pakket med morenejord i mettetsone. Deretter skal en diskutere resultatene.



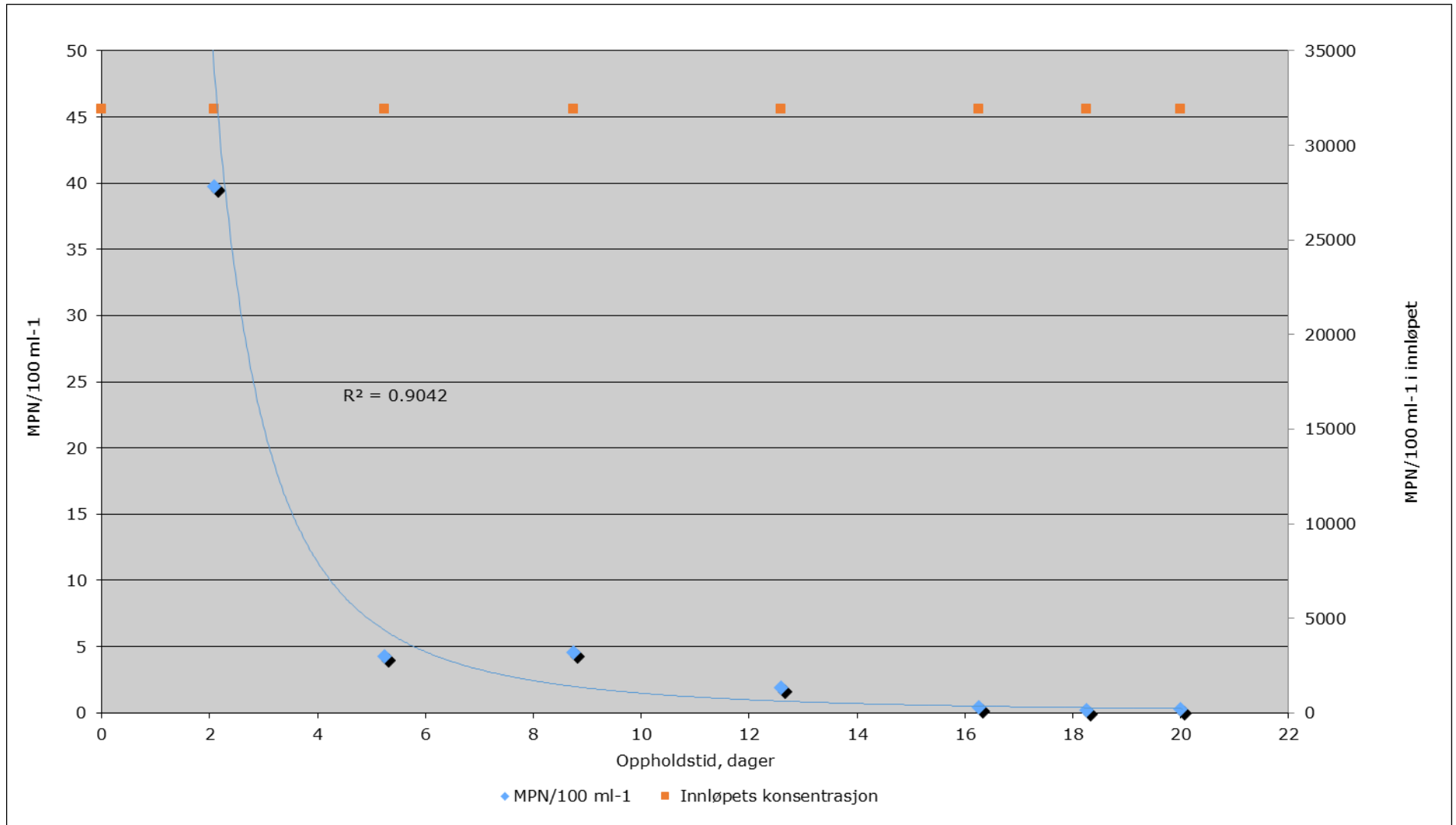
Figur21: viser kumulativ  $-\log_{10}$  reduksjon av E.coli i mettet morenejord som funksjon av Avstand.



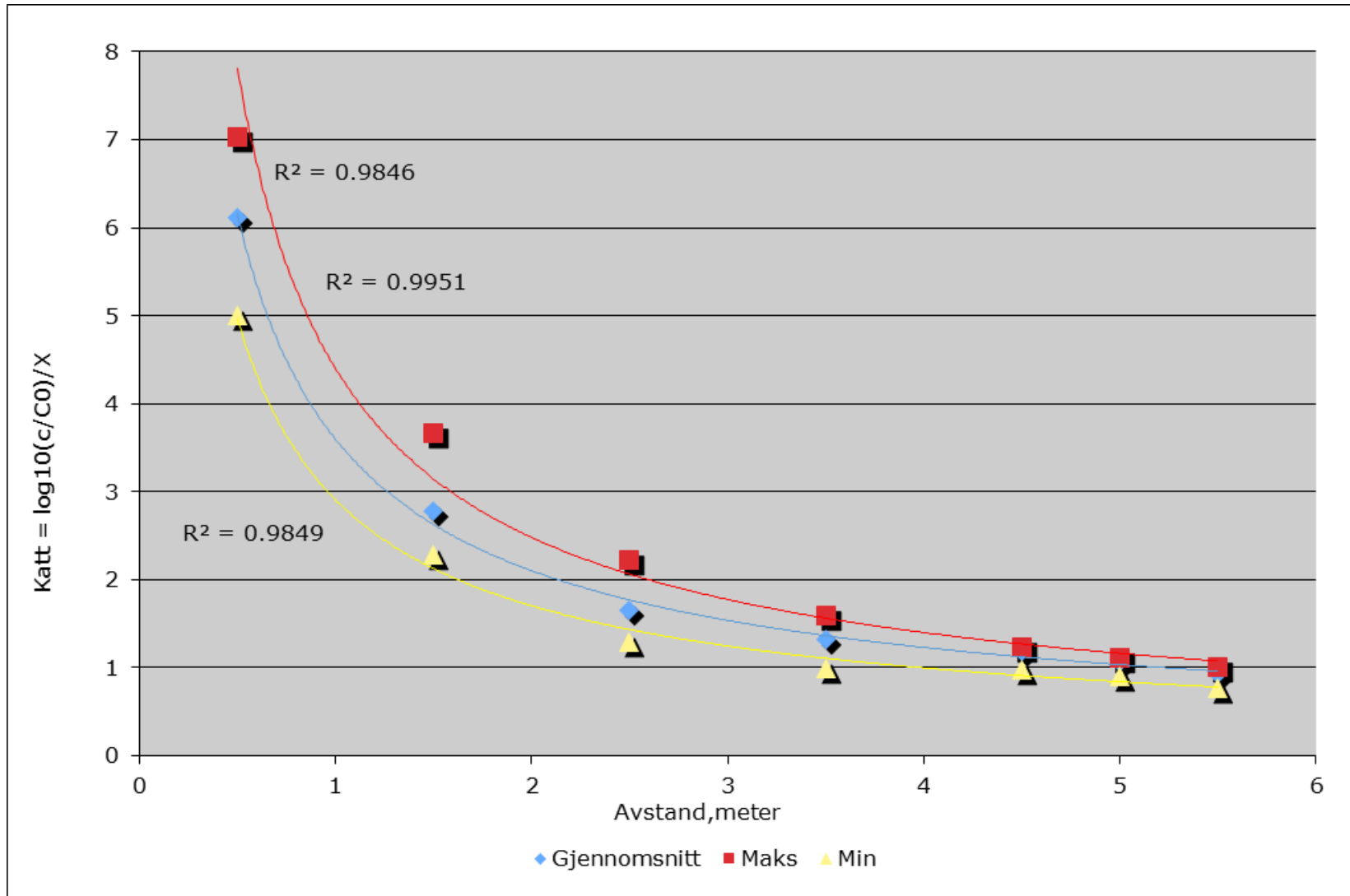
Figur 22: viser konsentrasjon av *E.coli* innløpet og de sju prøvepunkteten i renneren i løpet forsøksperioden på 21 dager i mettet morenejord som funksjon av Avstand.



Figur23: viser kumulativ  $-\log_{10}$  reduksjon av *E.coli* i mettet morenejord som funksjon av oppholdstiden

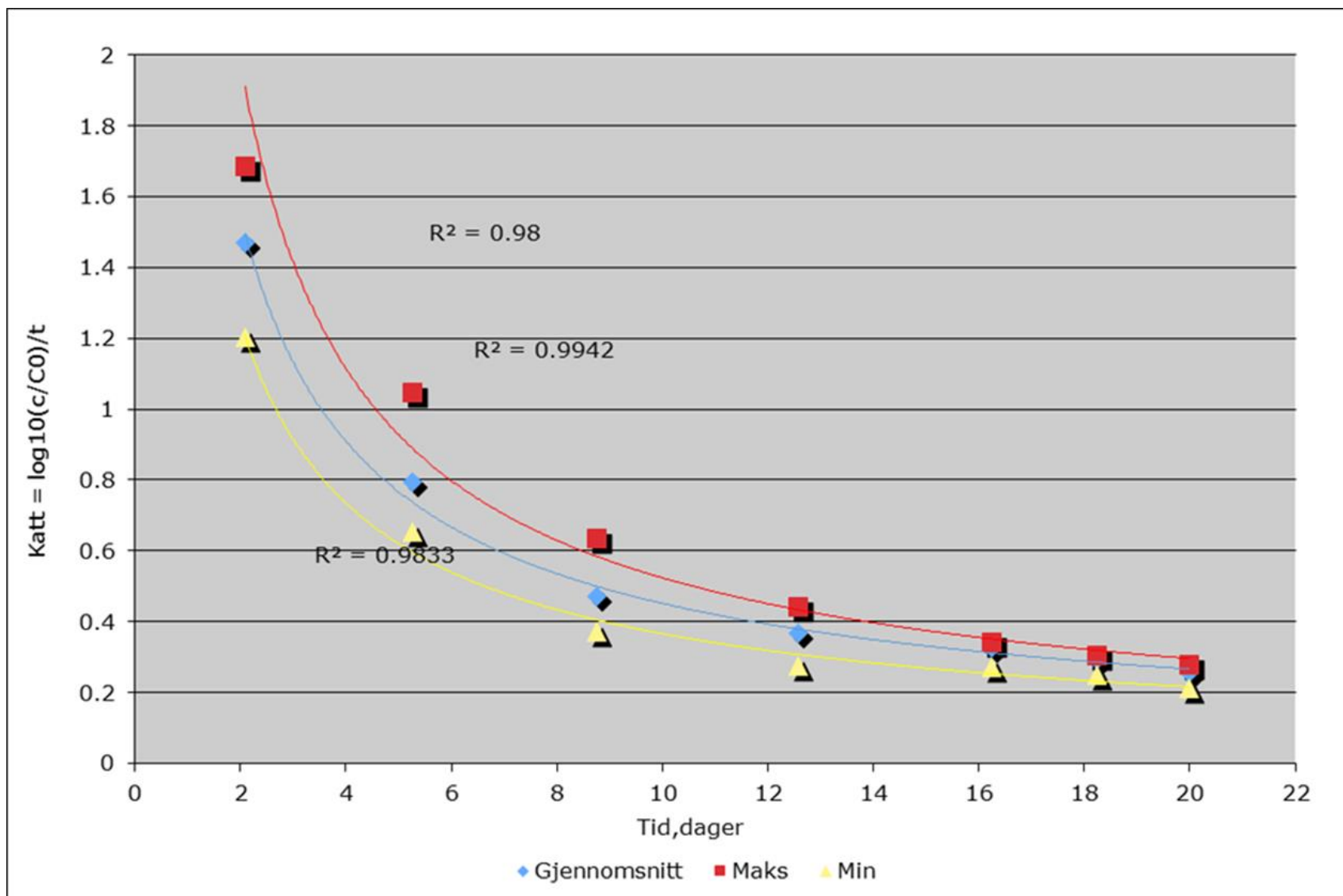


Figur24: viser konsentrasjon av *E.coli* innløpet og de sju prøvepunketen i renneren i løpet forsøksperioden på 21 dager i mettet morenejord som funksjon av oppholdstid.



Figur25: viser beregnede fjerningshastighet koeffisienten/rate som funksjon transportavstand





Figur 26: viser beregnede fjerningshastighets koeffisienten/rate som funksjon oppholdstid

**Figurene 21 og 23** viser den kumulativ -  $\text{Log}_{10}$  reduksjon av E.coli med hensyn på avstand og oppholdstid i renneren. Mens **Figurene 22 og 24** viser faktisk konsentrasjon NMP av E.coli innløpet og de sju prøvepunktene i renneren i løpet forsøksperioden på 21 dager i mettet morenejord som funksjon av Avstand og oppholdstid.

For prøver der en MPN / 100 ml påvist mindre enn 1, brukt 0.1 MPN og ikke null som det er vanlig ved vannprøve. Dette bytter at en har tatt utgangspunkt at det er 10 % sannsynlighet for å finne E.coli. Det deteksjonsgrensen for E.coli benyttet i beregningen senere.

Resultatene fra den kontinuerlig forsøk av E.coli viser at konsentrasjonen av E.coli ble redusert med ca. 3  $\text{log}_{10}$  etter 0.5 meter strømming i mettet sone og totalt ca. over 5  $\text{log}_{10}$  frem til utløpet. Bakteriene ble tilbakeholdt i løpet av de første 3 meterne av transporten gjennom morenejord. E.coli som passerte prøvepunktene avtok nedstrøm i renneren veldig raskt(figur) over 3  $\text{log}_{10}$  ble fjernet allerede på den første halvmetere av renneren. Ved prøvepunktet 1.5 meter maksimalt detekterte E.coli var det under 4 %. Det ble gjort bare to deteksjoner av 33 prøver av E.coli i prøvepunktene 4.5 ,5, utløpet og de var bare en MPN/100 ml.

På **figurene 25 og 26** beregnede fjerningshastighets koeffisienten/rate( $k_{att}$ ) både med hensyn på avtand og oppholdstid er vist. Det er høyest total fjerningshastighets koeffisienten/rate for mengde bakterier er ved innløpet, med en rask tilbakegang av MPN/100 ml fra og med neste prøvepunkt, 0.5 m og 1.5 meter langs renneren.

Fjerningshastighets koeffisienten/rate per dag eller per meter				
Oppholdstid(døgen)	modell	Gjennomsnitt	Maks	mim
Transporavstnd x (meter)				
20 (døgen)	Chicks lov	0.567	1.686	0.210
5 meter morene + en meter grus		2.15	7.3	0.73

**Tabell 8** viser fordelingen fjerningshastighets koeffisienten/rate for E.coli i løpet av 20 dager i renneforsøket i mettetmorenejord.

På tabellen ser vi fjerningshastighets koeffisienten/rate for E.coli per dag og for per meter transporavstand i mettete morenejord . bergening er basert på undersøklese som ble gjennomført i løpet 20 dager .Oppholdstid og strømmingshastigehten bergent ved hjelp av NaCl tracren (**Tabell 7**).

Prøvepunkter	Oppholdstid (døgen)	V (m/ dag)	-Log <sub>10</sub> (C/C0) E.coli	% reduksjon	-Log <sub>10</sub> (C/C0) Total koliform( TC)	% reduksjon
Innløpskonsentrasjon (C0)			3.2 x10 <sup>4</sup>		4.5 x 10 <sup>5</sup>	
0.5 meter	2.1	0.24	2.8971	99.8755	2.711	99.806
1.5 meter	5.3	0.286	4.1066	99.9866	1.919	98.795
2.5 meter	8.8	0.286	4.1533	99.9856	2.531	99.706
3.5 meter	12.6	0.278	4.8043	99.9939	2.797	99.840
4.5 meter	16.3	0.277	5.4514	99.9986	2.332	99.535
5 meter	18.3	0.277	5.2514	99.9994	2.150	99.292
Utløpet	19.0	0.294	5.2514	99.9992	2.542	99.713

**Tabell 9:** viser fordelingen av strømmingshastighet, log10 reduksjon og prosent reduksjon av Totalt koliform og E. coli ved hver prøvepunktene i renneren.

På tabellen en ser at reduksjon av totalt koliform er ikke så høye som er for E.coli til og med noen plasser har den gått opp. Grunnen til dette kan være stedegen mikroorganismer som det er vanlig i jord. En har ikke gjort noe analyser for påvising av stedegen mikroorganismer bortsett fra analysing av totalt koliform bakterier som kan brukes som en god indikasjon for dette formålet.

Inaktivering og tilbakeholdelse er en kompleks prosess. Den omfatter den tidsavhengige eliminerings beskrevet av første ordnes ligningen. Videre kan en eliminerings avhengig av lengden av strømningsbanen observeres som kan beskrives ved hjelp av filtrering teorien. I tillegg til inaktivering og tilbakeholdelse av bakterier det kan være andre mekanisme som bidratt til fjerning av bakterier E.coli på grunn av sine relative størrelse.

En kan skille mellom tre ulike fjerning for mikroorganismer i under grunnen:

1. Mekanisk filtrering, som vesentlig avhenger av grunnmaterialet.
2. Fysisk tilbakeholdelse. Som vesentlig skyldes elektrostatiske tiltrekning mellom grunnmaterialet og traceren

### 3. Inaktiveringingen

I dette forsøket kan en god del av fjerning ha funnet sted nettopp på grunn av mekaniske filtrering.

#### **Mekanisk rensing**

En mekaniske rensingen i jorden tilsvarer jordens evne til å filtrere avløpsvannet. Rensingen avhenger av jordens redusert størrelse på partiklene reduserer transporten av E.coli gjennom grunnmaterialet. I tillegg kan filtrering være en viktig mekanisme for immobilisering av bakterier i de små porene i fine medier. Undersøkelser viser også at økt spesifikt overflateareal reduserer bakterietransport gjennom filteret. Dette forklares med sammenhengen mellom overflateareal og antall absorpsjonssteder

Partikkelstørrelsen til infiltrasjonsmediet virker inn på konsentrasjonen av bakterier i utløpet. Forsøk med ulike partikkelstørrelse viser at høyere fjerningsrate i finere infiltrasjonsmedier er trolig forårsaket fordi hastighetsforbedring mekanismer har en tendens til å bevege dem inn i raskere strømningsbaner, og således at de utsettes for et smalere område av hastigheter enn mindre partikler.

Det ble ikke gjennomført inaktiveringsforsøk i vandig fasen for E.coli det som ble vist på figurene ovenfor er totalt fjerning det vil si at både inkluderer inaktivering og tilbakeholdelse og mekaniske filtrering.

Som et resultat av dette forsøket, ble over fem log<sub>10</sub> fjerning av E.coli oppnådd innen 20 dager oppholdstid (3 log<sub>10</sub> på bare 2.1 dager oppholdstid og 3log<sub>10</sub> bare i det første 0.5 meter Transportavstand) og med en avstand på 6 meter (fem meter morenen og en meter grus) (**Tabell 9**) Våre resultater tyder på at morenejord anvendt i forsøket var effektive ved fjerning av bakterie.

Som et av resultat av beskyttelsessone for bakterier basert på 50-60 dager oppholdstid virket tilstrekkelig til å beskytte en drikkevannskilde/brønn godt mot bakterie gjennombrudd fra et forurensningskilde.

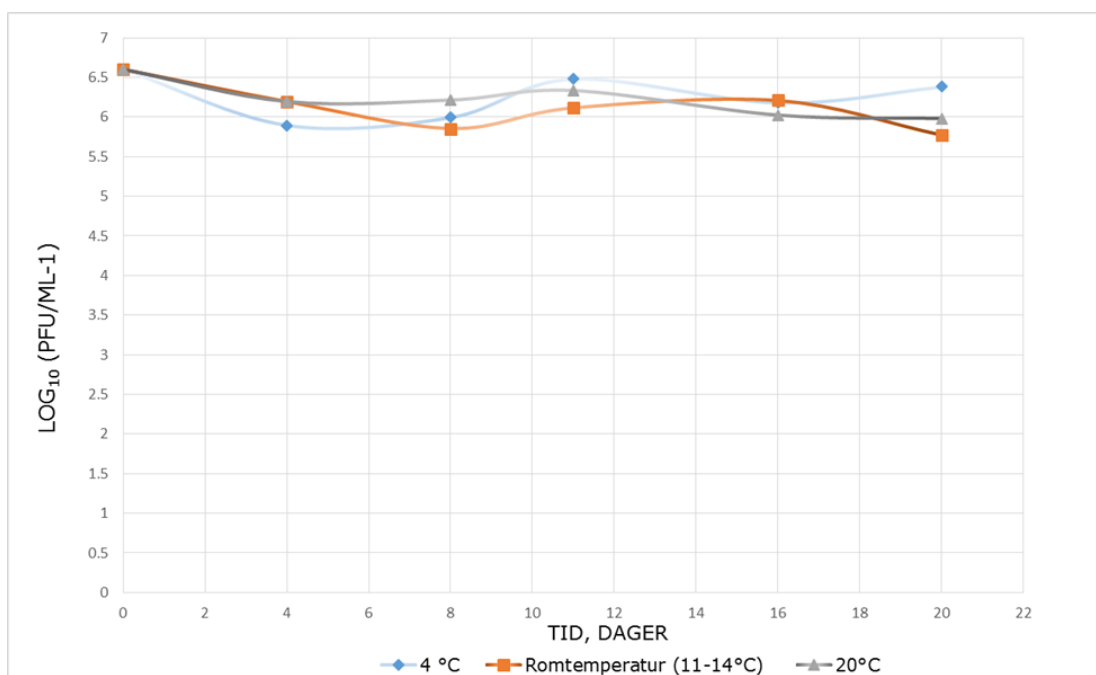
## 4.3 Resultat og diskusjon av *Salmonella typhimurium* 28B

### 4.4 Inaktivering forsøket S.t.28B

For å beregne endringer i bakteriofag konsentrasjoner på grunn av virusinaktivering en første ordens kinetisk ble antatt. De tilsvarende inaktiveringskoeffisientsrate ble beregnet som beskrevet i avsnitt dataanalyse og modellering. Konsentrasjonen av virus (*S.T.28B*) som er tilstede i vannfasen i beholderne blir målt som en funksjon av tid.

Før selve inaktiveringens målingene tok til, ble tenkt på bruk av prøveflasker. Med litte overfalte areal og minst mulig ruhet på dem. Derfor en har valgt glassflasker med 100 ml liter. Prøveflaskene ble fylt med avløpsvann uten morenejord som har rennet gjennom renneren, og bakteriofagskonsentrasjon i falskene ble målt som funksjon av tiden **Figur 20** viser kurvene for inaktiveringsforløpet ved de forskjellig temperaturene for inaktivering av bakteriofag *S.t* 28B i løpet av 20 dager. I tidsintervallet hver annen dag, men analysert bare hver fjerde dager.

Bakteriofager løsningen som ble tilsatt prøveflaskene, ble tatt ut fra samme stamløsning for alle prøvene i en prøveserie. I de tre forsøkene ble det tilsatt 0,15 ml bakteriofager løsning. En referanseprøver av bakteriofaget ble tatt ut etter tilsetning av virus samt etter 2 dager og fram til 20 dager



**Figur 27:** Kurvene viser inaktiveringsforløpet ved de forskjellig temperaturene for inaktivering av bakteriofager *Salmonella typhimurium* S.t 28B i løpet av 20 dager.

Temperatur °C grader	Log <sub>10</sub> reduksjon (inaktiveringskoeffisient)per dag på
4	0.006 -0.036
(Mellom 11 og 14) *	0.02 - 0.042
20	0.014 - 0.031

**Tabell10:** Inaktiveringskoeffisientsrate for bakteriofager *Salmonella typhimurium* S.t 28B i løpe av 20 dager

Alle bakteriofager S.t 28B ble analysert med dobbelagarmetoden på vertsstammer som ble beskrevet i kapittel 3. For statistisk analyse ble det brukt Excel fra Microsoft.

Resultatene fra inaktiveringsforsøkene er sammenstilt i **tabell 4** og vist i **figur 27**

Resultatene fra inaktivering forsøket viste at det var ingen signifikant forskjell mellom inaktiveringsrate på de ulike temperatur 20 og romtemperatur (mellom 11-14) og det var litt langsommere for 4 °C for bakteriofager S.t 28B. Verdien av inaktiveringshastighetskoeffisienten raten av bakteriofagene S.T 28B er sammenstilt i **Tabell 10**.

De mest fremtredende forskjellene i vannkvaliteten i dette studie sammenlignet disse andre studiene var lavere elektrisk ledningsevne, høy kalsiumkonsentrasjoner, turbiditet og alkalitet, farge, aluminium, og jern (Tabell 4) i utløpet vannet fra renneforsøket. studier har vist at tilstedeværelsen av metalloksider er svært innflytelsesrik på virus absorpsjon og overlevelse (Schijven & Hassanizadeh 2000). Metalloksider, inkludert jern- og aluminiums-oksider

Inaktivering hastighet koeffisient av S.t 28B som målt med den Inaktiveringsforsøket romtemperatur som er gjeldende for forsøkene (11 - 14 °C) ble benyttet for renneforsøket.

**Tabell 4 :** vannkvalitetsparameter i utløpsvann som benyttet for inaktiveringsforsøket (våren2016)

Parameter	Verdi
Temperatur (°C)	12
Farger (mg/L Pt)	150 ± 20
pH	7± 0.2

Ledningsevne( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	180 $\pm$ 20
Ca (mg/L)	56
Mg (mg/L)	5.2
Turbiditet (FNU)	20 $\pm$ 2
TSS(g/L)	0,0017
BOD (mg/L)	2.2
COD (mg/L)	42
Totalt P (mg/L)	0.026
TOC (mg/L)	8.57
F (mg/L)	0.20
Cl (mg/L)	24.60
NO <sub>3</sub> -N (mg/L)	4.23
SO <sub>4</sub> (mg/L)	36.70
Alkalitet (mmol/L)	2.28
Fe	0.56
Al	0.47
Mn	19

Inaktiveringsrate innhentet for MS2 og  $\Phi\text{X174}$  ved 5-13 ° C i andre studier var generelt lik eller høyere enn inaktiveringsrater påvist i dette forsøket (0,03 til 0,06 log per dag) (Schijven et al. 1999; Wielen et al. 2008). Det var lavere enn det observert av . (Yates et al. 1985) for grunnvann på ved 12 C (0.03- 0,162 log<sub>10</sub> per dag) og høyere enn det som ble brukt av Hanne Kvitsand(2015)

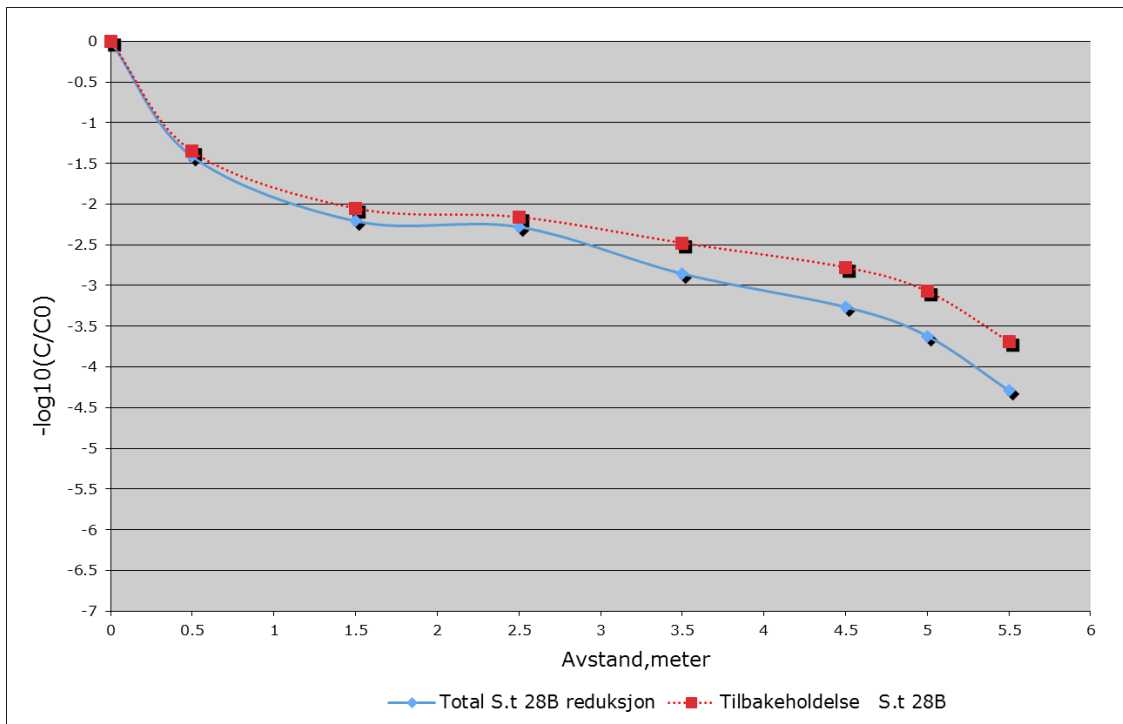
Disse observasjon en kan ikke direkte sammenligne med andre observasjoner på grunn av at disse forsøkene ble under forskjellige forhold, ulike bakteriofager, ulike vannkvalitet utført. Hvis en ser på vannkvaliteten i dette forsøket (Tabell 4) i utløpets vannet fra renneforsøket en kan se at det er relativt høy kalsiumkonsentrasjoner, turbiditet og alkalitet, farge, aluminium, og jern.

Tidligere studier har viset at tilstedeværelsen av metalloksider er svært innflytelsesrik på virus absorpsjon og overlevelse (Schijven & Hassanizadeh 2000). Til tross for dette ble lavere inaktiveringsratene observert i dette studie. Dette bekrefter en tidligere laboratorium studie som viste at S.t 28B var mer konservativ og robust enn andre modell bakteriofager(Carlander et al. 2000; Heistad 2008).

Som et resultat, konkluderer en med at inaktiveringens hastighet observert for S.t 28B var mer konservativ i dette studium under gjeldende forhold kan anses som verstefall tilfelle når relatert til andre undersøkelser med hensyn til inaktivering av bakteriofager på grunn av den vannkvaliteten brukt i dette forsøket, men inaktivering ikke er neglisjerbart.

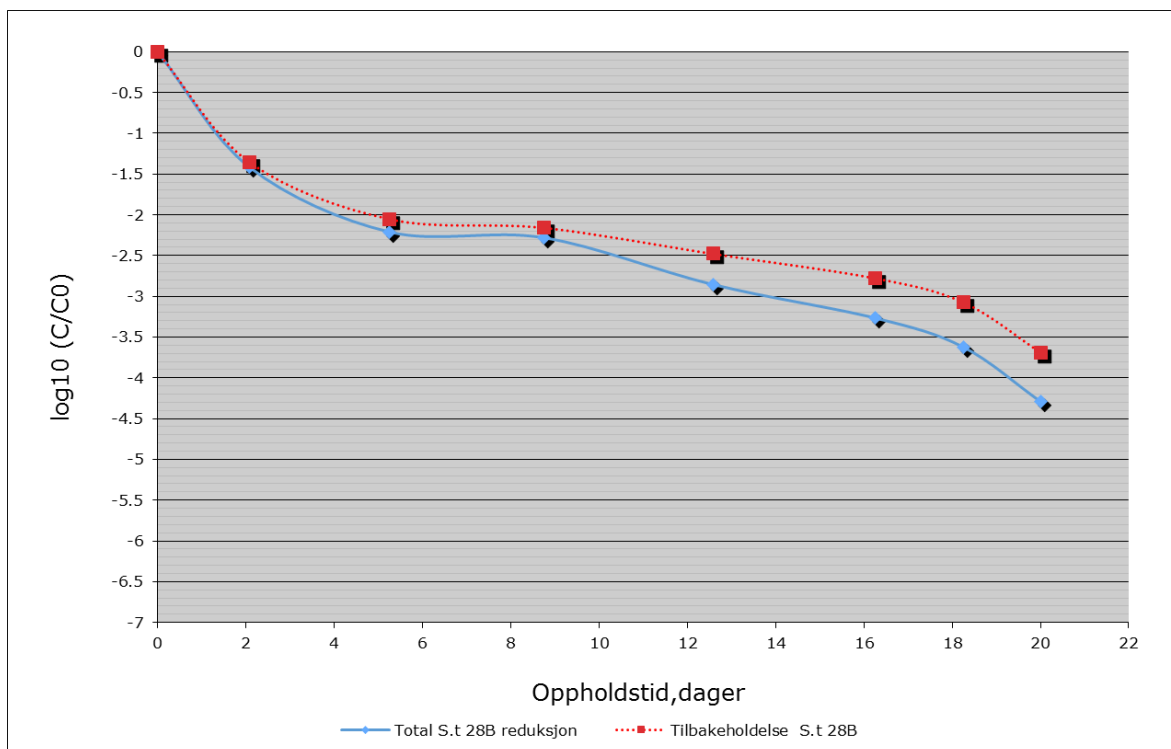
#### 4.5 Resultater og diskusjon S.t 28B

I dette delkapittelet er resultatene av renneforsøket med kontinuerlig bakteriofag dosering under gjeldende forhold som ble beskrevet i kapittel 3 presenteres grafisk for å vise og karakterisere den relative transport og fjerning og beregnede fjerningshastighet. Konsentrasjonen av S.t 28B ble redusert med over en  $\log_{10}$  etter bare 0.5 m strømming i mettet sone og totalt c over 4  $\log_{10}$  frem til utløpet **Figur16**.



**Figur 28:** Reduksjon av bakteriofager S.t 28B i forhold til transportavstand. Stiplet rød linje representerer reduksjonen knyttet til tilbakeholdelse mens heltrukken linje blå representerer total reduksjon (inkludert bare inaktivering) basert på gjennomsnittet.

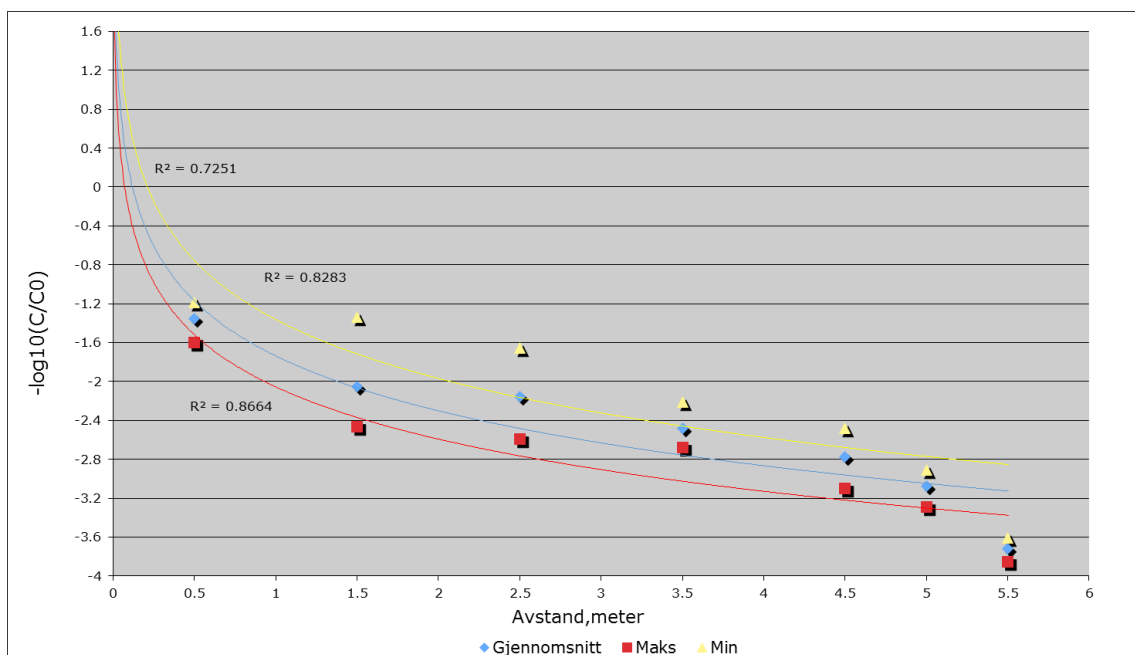




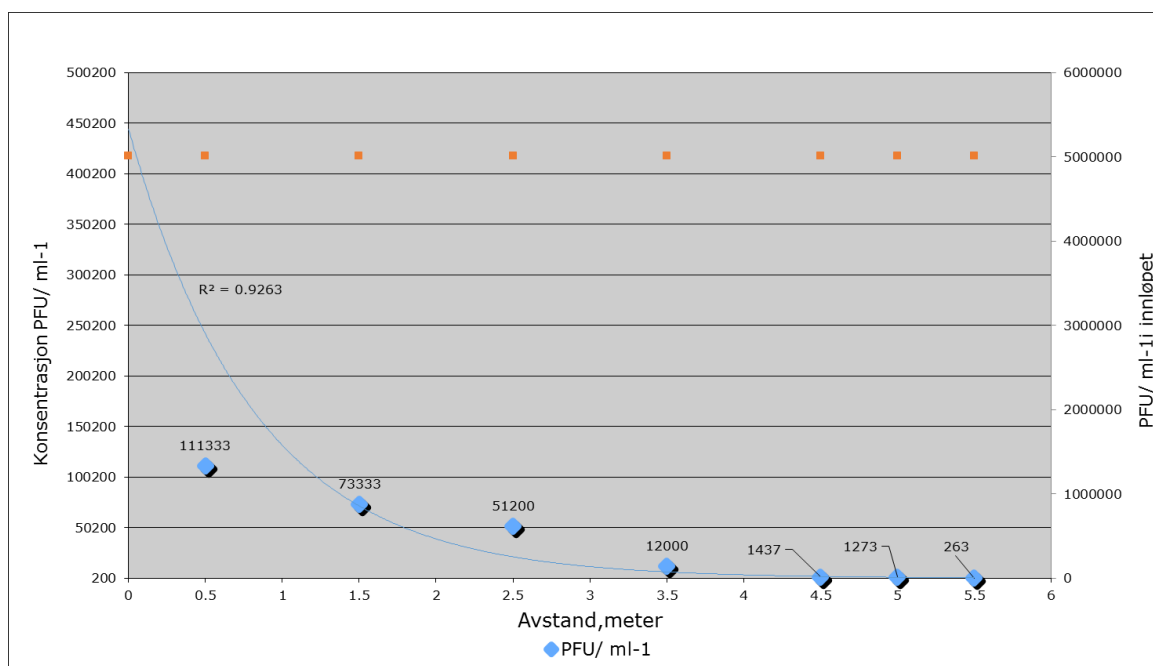
**Figur 29:** Reduksjon av bakteriofager S.t 28B i forhold til transportavstand Stiplet rød linje representerer knyttet til tilbakeholde mens heltrukken linje blå representerer total reduksjonen reduksjon (inkludert bare inaktivering) basert på gjennomsnittet.

Prøvepunkt	Oppholdstid (døgen)	V (m/dag)	$\log_{10}(C/C_0)$ PFU ml-1	$\log_{10}(C/C_0)$ PFU ml-1	% reduksjon
<i>Innløpskonsentrasjon</i>	$5 \times 10^6$		Tilbakeholdelse	Totalt fjerning	
0.5 meter	2.1	0.24	1.35	1.42	97.779
1.5 meter	5.3	0.286	2.05	2.21	98.537
2.5 meter	8.8	0.278	2.16	2.28	98.978
3.5 meter	12.6	0.277	2.48	2.86	99.976
4.5 meter	16.3	0.277	2.78	3.27	99.971
5 meter	18.3	0.277	3.07	3.62	99.974
Utløpet	20	0.294	3.72	4.29	99.994

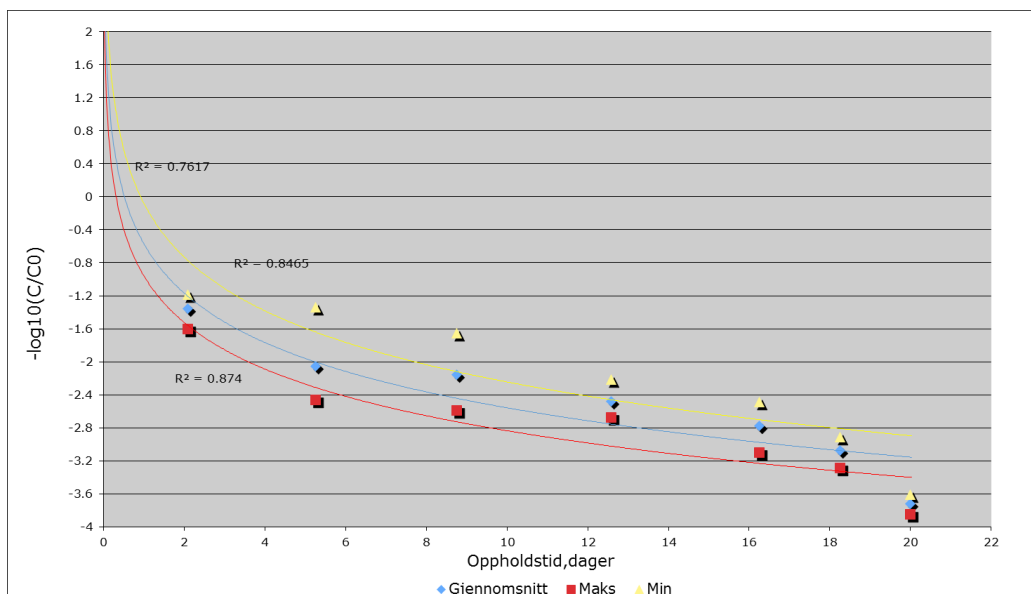
**Tabell 11:** viser fordelingen av strømningshastighet,  $\log_{10}$  tilbakeholdelse og totalt reduksjon og prosent reduksjon av bakteriofaget S.t 28B ved hver prøvepunktene i renneren.



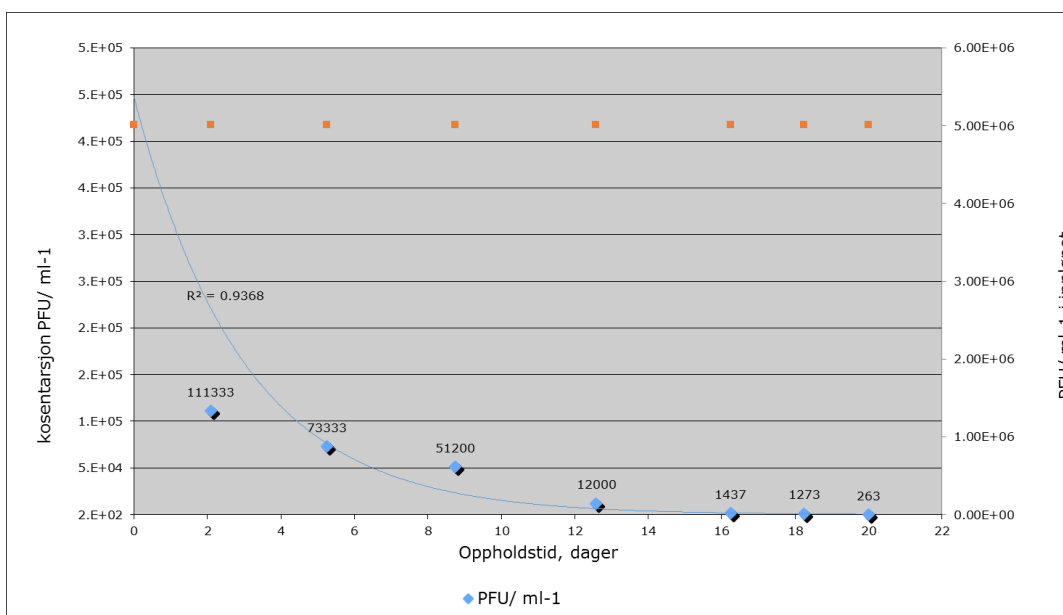
**Figur 30:** viser kumulativ  $-\log_{10}$  reduksjon av S.t 28B i mettet morenejord som funksjon av avstand. Gult linje representerer minimum, blått linje representere gjennomsnittet og rødt linje representere maksimum tilbakeholdelse.



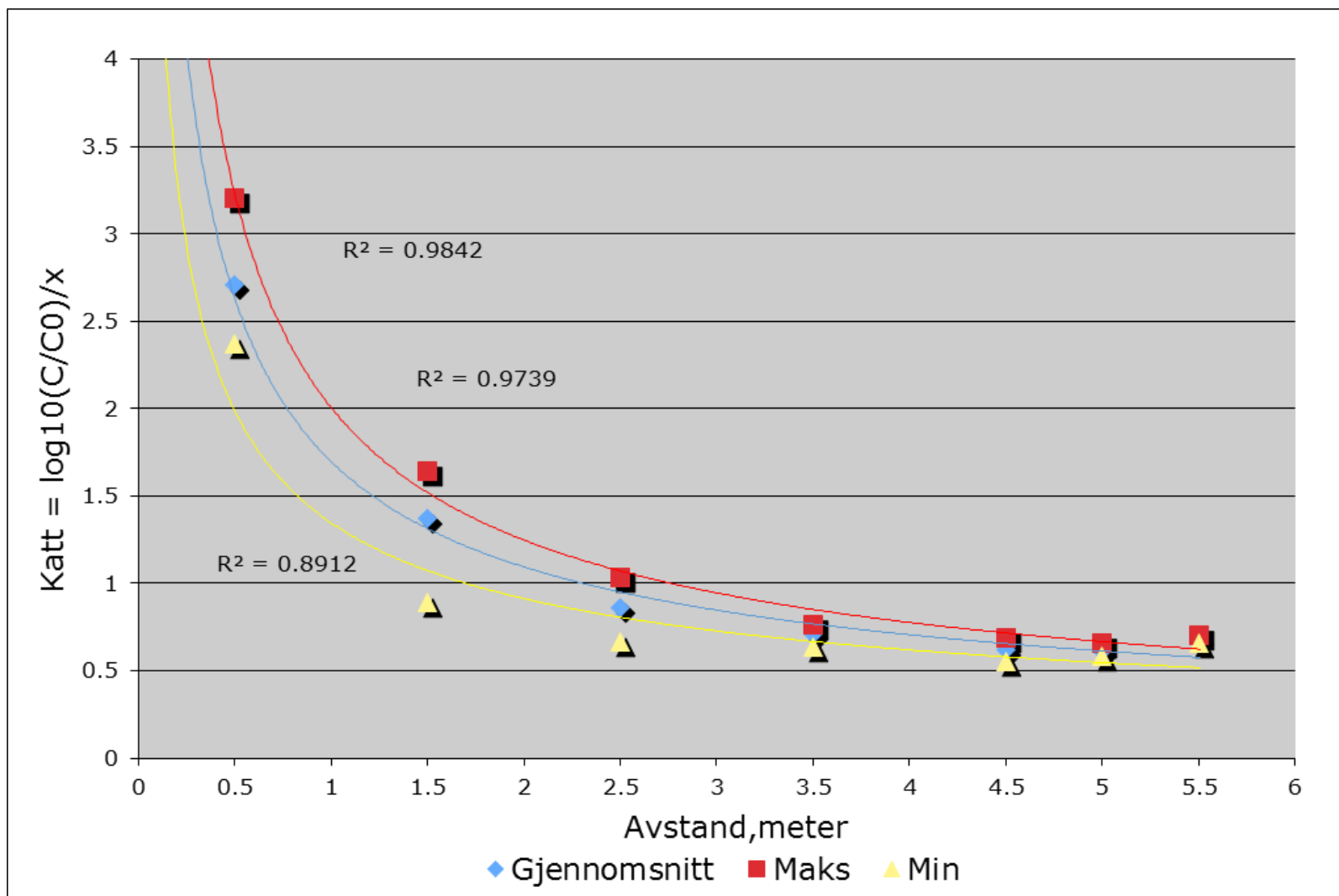
**Figur 31:** viser konsentrasjon av S.t 28B innløpet og hver prøvepunkt i mettet morenejord som funksjon av avstand.



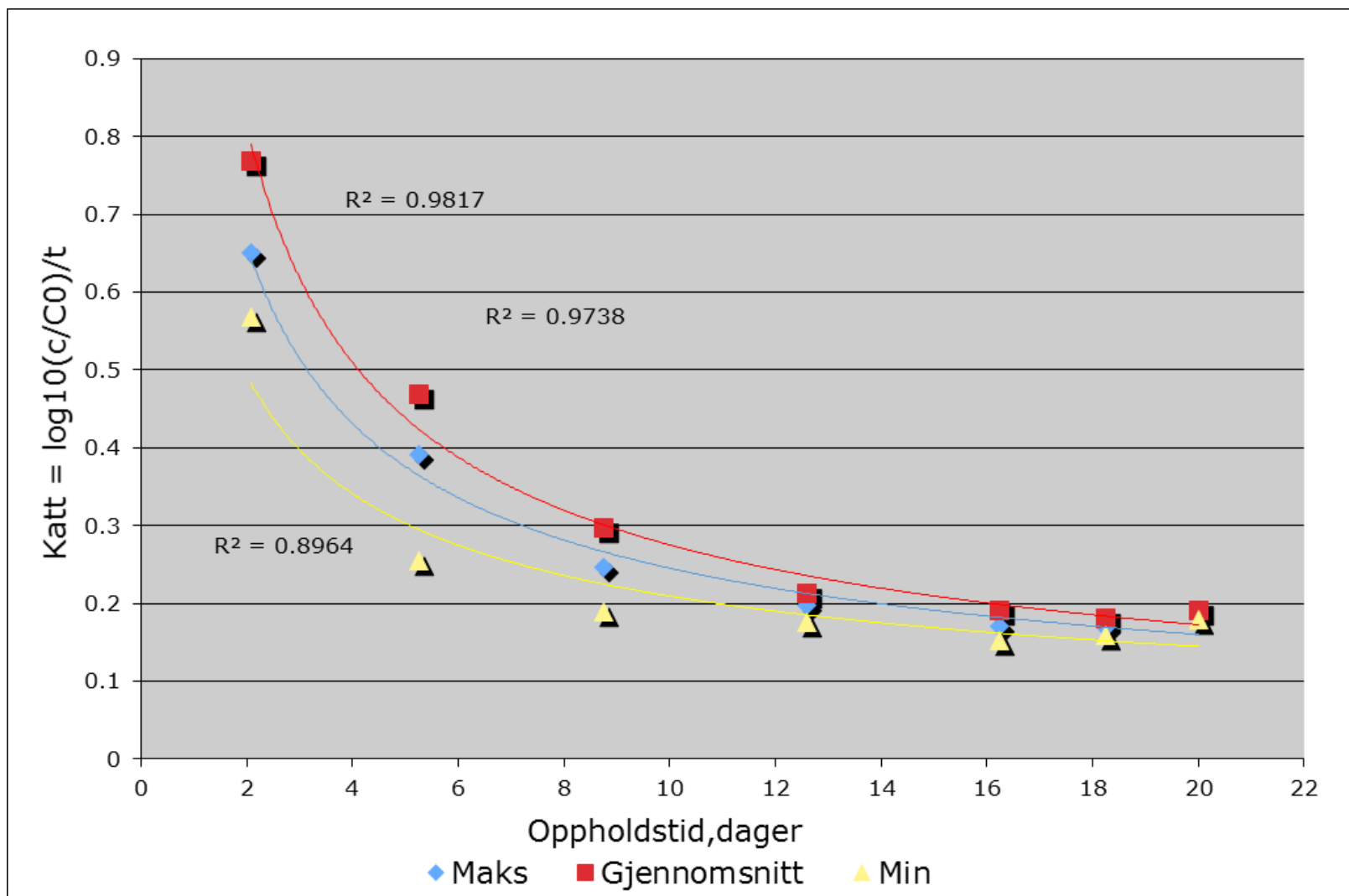
**Figur 32:** viser kumulativ  $-\log_{10}$  reduksjon av S.t 28B i mettet morenejord som funksjon av oppholdstid gult linje representerer minimum, blått linje representere gjennomsnittet og rødt linje representere maksimum tilbakeholdelse



**Figur 33:** viser konsentrasjon av S.t 28B innløpet og hver prøvepunkt i mettet morenejord som funksjon av avstand



**Figur 34:** viser beregnede fjerningshastighet koeffisienten/rate for S.t 28B som funksjon transportavstand .Gult linje representerer minimum, blått linje representere gjennomsnittet og rødt linje representere maksimum tilbakeholdelse



**Figur 35:** viser beregnede fjerningshastighet koeffisienten/rate for S.t 28B som funksjon oppholdstid .Gult linje representerer minimum, blått linje representere gjennomsnittet og rødt linje representere maksimum tilbakeholdelse

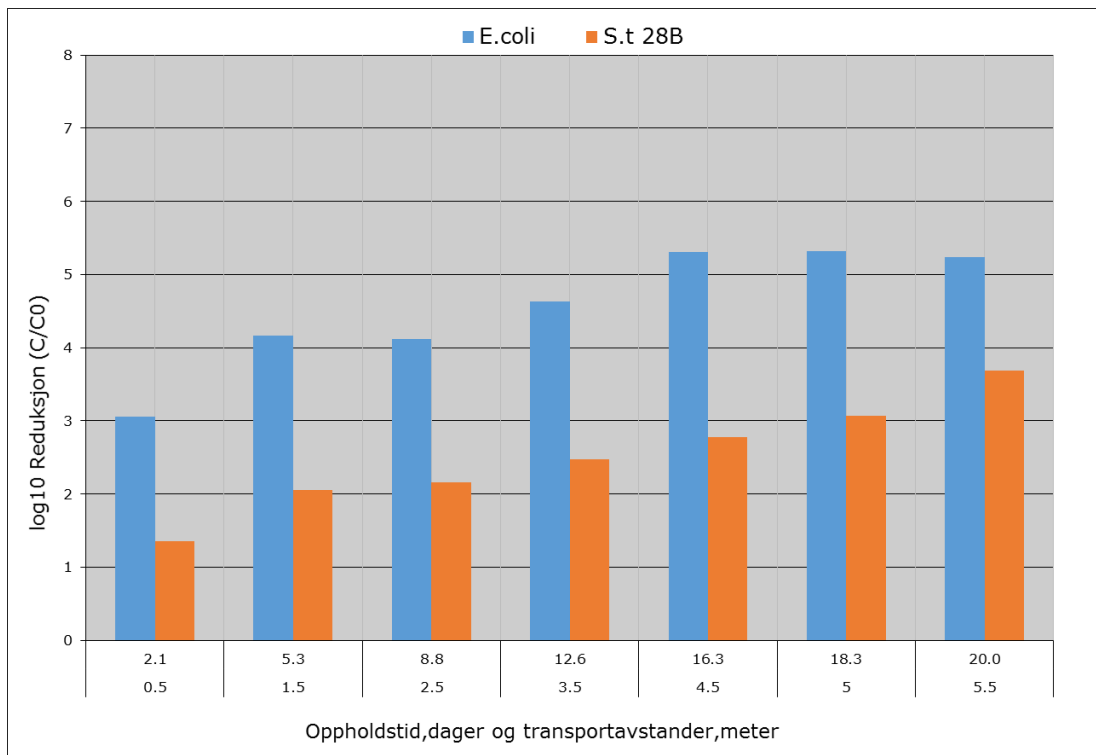
S.t 28B fjerningshastighets koeffisienten/rate per dag eller per meter				
Oppholdstid(døgen) Transporavstand x (meter)	modell	Gjennomsnitt	Maks	Mim
20 (døgen)	Chicks lov	0.33	0.650	0.15
5 meter morene + en meter grus	Chicks lov	1.08	3.20	0.55

*Tabell 12 viser fordelingen fjerningshastighets koeffisienten/rate for S.t 28B i løpet av 20 dager i renneforsøket i mettetmorenejord*

Som det fremgår av **Figur 30 og 32** var reduksjonsraten for S.t 28b høyere i det første transport avstand 0.5 meter også deretter reduksjonsraten avtok fram til 2.5 meter. Etter 2.5 meter skjer en liten endring dette en har også observert fra tracer testen (NaCl). En grunn til dette kan være en kortslutning mellom 1.5 meter og 2.5 det kan være en grunn til at reduksjon var mindre i den avstand i forhold til det andre stedene. En høye fjerningsrate for den siste halv metere av renneren ble observert. Når det har sagt en må si at den reduksjon av S.t 28b var ikke disse store avvike på de sju prøvepunktene på **Figur 31 og 33** en beregnet reduksjon med hensyn på konsentrasjon stegvis en ser at det det er ikke stor avviker fra sted til steder. En kan observere at reduksjon er ikke lineær. Dette er en tema som er ikke lite å forstå mange mener at en mulig årsak kan vær på grunn av kollisjonens effektivitet av virus og løsmasser kornene avtar med økende avstand. Kollisjonen effektivitet inneholder informasjon om tilbakeholdelse kapasiteten av bakteriofaget til jordpartikler. Kollisjonen effektiviteten av S.t 28B i dette forsøket ble ikke beregnet.

Mengden av reduksjon av bakteriofager ble delt i reduksjon på grunn av inaktivering og fjerning ved tilbakeholdelse (**Figur 28 og 30**). Tilbakeholdelse ble beregnet ved å korrigere reduksjonsverdier for inaktivering. Inaktiveringsrate fra inaktiveringsforsøket ble anvendt for å beregne reduksjon på grunn av inaktivering. En har ikke beregnet dispersjonen heller fortykning. Fortykning i en slik renneforsøket forekommer ikke, men en kunne bergene dispersjonen faktor fra NaCl. Dette ble ikke gjort. Fordi usikkerheten ved beregning til dispersjon faktoren kunne bli veldig stor på grunn av at mengde av NaCl som ble benyttet var veldig liten i tillegg en har hatt interessert totalt reduksjon med hensyn på tilbakeholdelse og inaktivering.

**Figur 34 og 35** beregnede fjerningshastighets koeffisienten/rate (katt) både med hensyn på transportavstand og oppholdstid er vist. Det er samme tendens som for E.coli, konsentrasjonene av både E.coli og bakteriofaget falt raskt ved første prøvepunkt. Men når det gjelder E.coli total fjerning rate var minst 2 ganger høyere enn for bakteriofag S.t 28B og var gjennomgående større på kortere transportavstander (**Figur 36**). Mikroorganismen transport kan begrenses av porestørrelsen og størrelsen av mikroorganismen. På grunn av størrelsen forskjellig av bakteriofaget kan havner i gunstige strømningsbaner, men det skjedde det motsatt for i E.coli det byter at begrenset til gunstige strømningsbaner på grunnlag av størrelsen og ble mekanisk filtrert. Bortsett for det minimum som tilsynelatende at den er lav for E.coli. Men som ble det nvent før det ble bare to ganger påvist en 1 MPN/ 100 fram og med 4.5 metre til utløpet i løpet av 20 dager.



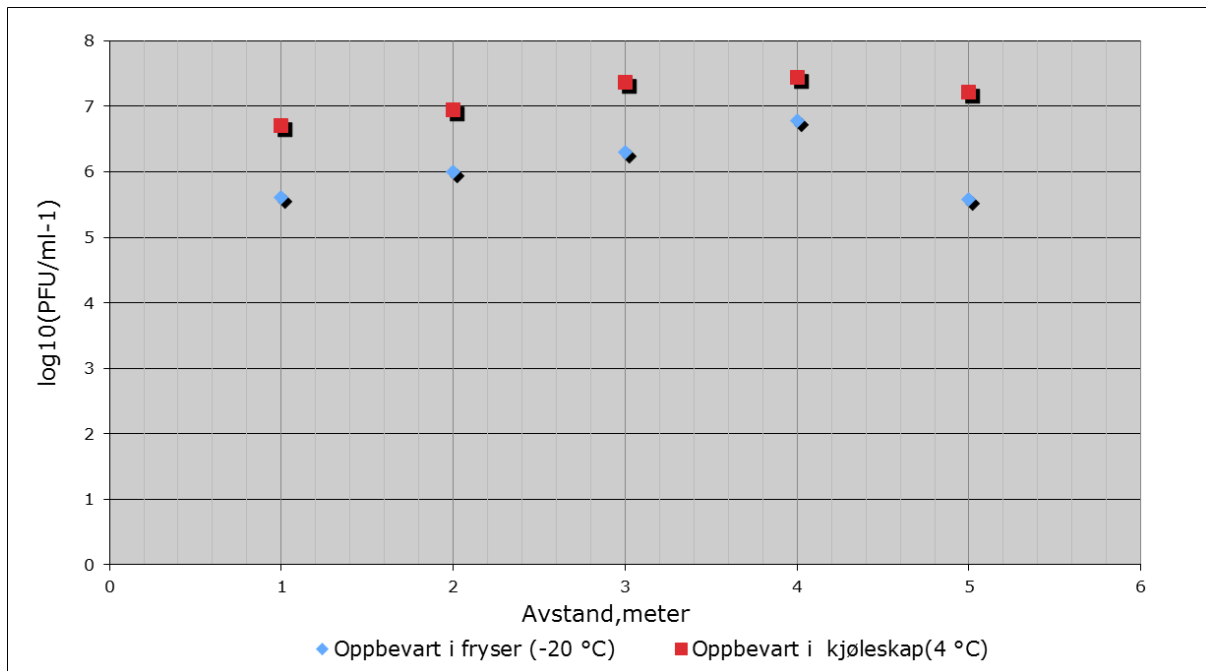
**Figur 36:** Reduksjon av bakteriofager S.t 28B (blått) og E.coli (oransje) i forhold transportavstand og oppholdstid baser på gjennomsnittet.

Som et resultat av dette forsøket, ble ved tilbakeholdelse og inaktivering var 4.3 log<sub>10</sub> enheter i løpet 20 dager oppholdstider og en transportavstand på 6 meter (fem meter morenen og en meter grus), mens 3.7 log<sub>10</sub> fjernet ved tilbakeholdelse og ca. 0.6 log<sub>10</sub> fjernet ved inaktiveringen.

Våre resultater tyder på at morenejord anvendt i forsøket var effektive ved fjerning av bakteriofager.

#### 4.6 Virusreduksjon ved oppbevaring av vannprøver

Resultatet av utførte forsøket viser (**Figur 37**) at den faktiske reduksjonen av prøver som ble frosset ned i perioden var mye større enn et en kunne tenke seg. Det ser ut at reduksjonen av bakteriofaget var i initialfasen større enn reduksjonen over tid av bakteriofager og betydelig større enn inaktiveringseffekt.



**Figur 37 viser resultatet av bakteriofaget S.t 28B i forskjellige tidspunkter og forskjellige prøvepunkter oppbevaringsvarighet for prøvene er (først, andre og tredje. 5 dager), (den fjerde prøven 7 dager) den siste var (14 dager)**

Hypotesen for dette delen av prosjekt var at bevaring av prøve av bakteriofag har ikke signifikant effekt på reduksjonen for mikroorganismer. Oppbevaring ved å fryse ned vannprøve ble brukt av mange forsker og andre studier.

Forsøksmetoden i dette arbeidet har vært å ta parallell prøver av bakteriofaget i forskjellig tider og forskjellige prøvepunkter.

Den beste tidspunktet for analysering av bakteriologiske er rett etter prøvetaking. Men dette lar seg ikke alltid gjøres av mange grunner for eksempel, kapasitet, logistikk osv.

For målet ved oppbevaring av vannprøvene var å ta vare den konsentrasjon av mikroorganismer fra den tiden prøvene ble tatt



Derfor var/er det veldig viktig at en har oversikt over effekt av oppbevaringsmetode som benyttes pr i dag. Oppbevaring av vannprøvene i kjøleskap eller fryses fram til analyseringstidspunktet

Riktig prøvetaking og oppbevaring av vannprøve er kjempe viktig for å kunne bestemme kvaliteten på vann. Vannprøvene forbehandles og oppbevares i forhold til analyseformålet og med hensyn til holdbarhet er ulike for forskjellig mikroorganismer, avhengig av hvilken prøvetype det er snakk om, eller hvilke analyser som skal utføres.

I tillegg at en må unngå kontaminering under prøvetaking. Det er også veldig viktig at prøvene behandles slik at konsentrasjon av mikroorganismer ikke forandres vesentlig fra prøvetakingstidspunkt til den tidspunkt prøven blir analysert.

Som et resultat av dette forsøket, ble oppbevaring av vannprøve i fryser kan se som en dårlig alternativt i forhold til å oppbevare i kjøleskap.

## 5 Konklusjon

Dette prosjektet var målet å undersøke (1) reduksjon i mikroorganismers konsentrasjon (spesielt E.coli og virus) som funksjon av oppholdstid og transportavstand i mettetsone og i morenejord (2) inaktivering av bakteriofager salmonella Typhimurium fager 28B(S.T.28B) i vandig fasen. (3) studere effekter av oppbevaringsmetode av virusprøver på fryser ved  $-20 \pm 5$  ° C i forhold til å være i kjøleskap  $4 \pm 1$  ° C

### 5.1 Totalt fjerning av bakterier

Det er oppnådd en total fjerning med hensyn på E.coli på over 5 log10 over en transportavstand på 5 meter og en oppholdstid på 20 døgn.

Våre resultater tyder på at morenejord anvendt i forsøket var effektive ved fjerning av bakterie. Størst fjerning oppnås de første meterne av transportstrekningen Etter bare 0.5 meter oppnådd ca. 3 log10 med hensyn til E.coli.

Fjerning av totale koliforme bakterier var på 2.7 log10 som er mindre enn fjerning av E.coli dette kan skyldes tilstedeværelse av stedegen mikroorganismer.

På bakgrunn av forsøkene i dette prosjektet ble beregnede fjerningshastighet koeffisienten/rate for E.coli både med hensyn av transportavstand og oppholdstid.

Det oppstår ofte en ikke-lineær reduksjon av virus i løsmasser (Schijven & Hassanizadeh 2000). Dette har betydning ved bestemmelse av nødvendig transportavstand eller oppholdstid mellom forurensningskilder og vannkilder ved en veldig konservativ tilnærming for E.coli bør laveste fjerningshastighet koeffisienten/rate benyttes.

Da en kan utlede en ligning fra (Chicks lov) som vil se slik ut

$$\text{Log}_{10} (C / C_0) = 0.21 \times t$$

$$\text{Log}_{10} (C / C_0) = 0.55 \times L$$

Hvor

Log (C / C<sub>0</sub>) er log fjerning og t er oppholdstid og L er transportavstand fra forurensningskilde i den mettetsonen(morenejord). Ved hjelp av denne ligning, vil en 4 log10 totalt fjerning av E.coli oppnås med en oppholdstid på 23 dager og under 7 meter av mettet morenejord.

## 5.2 Fjerning av virus (bakteriofager S.t 28B)

Over 4 log<sub>10</sub> totalt fjerning oppnådd en transportavstand på 5 meter morenejord og en oppholdstid på 20 døgn, hvorav:

3.7 log<sub>10</sub> ble redusert ved tilbakeholdelse.

0.6 log<sub>10</sub> ble redusert ved inaktivering.

Størst fjerning oppnås de første meterne av transportstrekningen. Etter bare 0.5 meter oppnådd over 1.3 log<sub>10</sub> med hensyn til S.t28B. Dette gjør at en kan si at bakteriofager er et bedre indikator enn E.coli for fjerning av virus.

På bakgrunn av forsøkene i dette prosjektet ble også beregnede fjerningshastighet koeffisienten/rate for S.t 28B både med hensyn av transportavstand og oppholdstid. Av samme grunn som ble nevnt for E.coli en bør benyttes laveste fjerningshastighet koeffisienten/rate.

Da en kan utlede en ligning fra (Chicks lov) som vil ser slik ut for Virus reduksjon:

$$\text{Log}_{10} (C / C_0) = 0.15 \times t$$

$$\text{Log}_{10} (C / C_0) = 0.73 \times L$$

Ved hjelp av denne ligning, vil en 4 log<sub>10</sub> reduksjon Virus oppnås med en oppholdstid på 26 dager og 7 meter av mettet morenejord.

## 5.3 Inaktiveringsforsøket

Som et resultat, konkluderer en med at inaktiveringshastigheten som ble observert for S.t 28B opptrer konservativt og virker som en robust virus modell. Men inaktivering ikke er neglisjerbart. Speilet ved lange oppholdstider.

Det beregnet inaktiveringskoeffisientsrate for bakteriofager Salmonella typhimurium S.t 28B i løpe av 20 dager for de tre ulike temperaturene vist i Figur 28.

## 5.4 Oppbevaringsmetode av vannprøver

Som et resultat av dette forsøket, ble oppbevaring av prøve i fryser kan se som en dårlig alternativt i for hold til å oppbevaring i kjøleskap. Men det er vanskelig å konkluderer noe på

grunn av usikkerheten på grunn av få forsøk. En mer omfattende forsøksserier burde kunne gi mer eksakte kvantitative resultater.

## **5.5 Forslag til videre undersøkelser**

Fremtidens forventede klimaendringer med økt og mer intens nedbør kan medføre økt risiko for at grunnvannet forurenses av vannbåren mikrobiell smitte derfor bør Studere effekter av klimaendringer

Forsøk ble utført ved  $13 \pm 3$  °. En vet at dette er en relativt høye temperatur område derfor bør det undersøke effekten av forskjellige temperatur

I tillegg bør undersøkes videre på oppbevaringsmetode av vannprøver

## REFERANSER

- Bartram, J., Brocklehurst, C., Fisher, M. B., Luyendijk, R., Hossain, R., Wardlaw, T. & Gordon, B. (2014). Global monitoring of water supply and sanitation: history, methods and future challenges. *International journal of environmental research and public health*, 11 (8): 8137-8165.
- Blanc, R. & Nasser, A. (1996). Effect of effluent quality and temperature on the persistence of viruse in soil. *Water Science and Technology*, 33 (10): 237-242.
- DES GAS, D.-D. V. UND WASSERFACHES E. V.(2006): Richtlinien für Trinkwasserschutzgebiete, Teil 1: Schutzgebiete für Grundwasser. *Technische Regel, Arbeitsblatt W*, 101.
- Eckholdt, E. & Snilsberg, P. GiN-veiledere 7 Grunnvann: Beskyttelse av drikkevannskilder. *Skrifter* 105 s.
- Edberg, S. C., Leclerc, H. & Robertson, J. (1997). Natural Protection of Spring and Well Drinking Water Against Surface Microbial Contamination. II. Indicators and Monitoring. Parameters for Parasites. *Critical reviews in microbiology*, 23 (2): 179-206.
- Foppen, J., Oklety, S. & Schijven, J. (2006). Effect of goethite coating and humic acid on the transport of bacteriophage PRD1 in columns of saturated sand. *Journal of contaminant hydrology*, 85 (3): 287-301.
- Furtado, C., Adak, G., Stuart, J., Wall, P., Evans, H. & Casemore, D. (1998). Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992–5. *Epidemiology and infection*, 121 (01): 109-119.
- Gerba, C. P. & Keswick, B. (1981). Survival and transport of enteric viruses and bacteria in groundwater. *Studies in Environmental Science*, 17: 511-515.
- Gerba, C. P. & Bitton, G. (1994). Microbial pollutants: their survival and transport pattern to groundwater. *Groundwater pollution microbiology*.: 65-88.
- Gordon, C. & Toze, S. (2003). Influence of groundwater characteristics on the survival of enteric viruses. *Journal of Applied Microbiology*, 95 (3): 536-544.
- Goss, M. & Barry, D. (1995). Groundwater quality: responsible agriculture and public perceptions. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 8 (1): 52-64.

- Heckhausen, J., Dixon, R. A. & Baltes, P. B. (1989). Gains and losses in development throughout adulthood as perceived by different adult age groups. *Developmental psychology*, 25 (1): 109.
- Jansons, J., Edmonds, L. W., Speight, B. & Bucens, M. R. (1989). Survival of viruses in groundwater. *Water Research*, 23 (3): 301-306.
- Knorr, M. (1937). Die Schutzzonenfrage in der Trinkwasser-hygiene. *Das Gas-und Wasserfach*, 80: 330-355.
- Lee, Y., Jeon, K., Lee, J. T., Kim, S. & Kim, V. N. (2002). MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *The EMBO journal*, 21 (17): 4663-4670.
- Macler, B. A. & Merkle, J. C. (2000). Current knowledge on groundwater microbial pathogens and their control. *Hydrogeology Journal*, 8 (1): 29-40.
- Melnick, J. L., Gerba, C. P. & Berg, G. (1980). The ecology of enteroviruses in natural waters. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 10 (1): 65-93.
- Nygård, K., Gondrosen, B. & Lund, V. (2003). Sykdomsutbrudd forårsaket av drikkevann i Norge. *MEDISIN OG VITENSKAP*.
- Ryan, J. N., Harvey, R. W., Metge, D., Elimelech, M., Navigato, T. & Pieper, A. P. (2002). Field and laboratory investigations of inactivation of viruses (PRD1 and MS2) attached to iron oxide-coated quartz sand. *Environmental science & technology*, 36 (11): 2403-2413.
- Schijven, J., Hassanizadeh, S. M. & de Roda Husman, A. M. (2010). Vulnerability of unconfined aquifers to virus contamination. *Water research*, 44 (4): 1170-1181.
- Schijven, J. F. & Hassanizadeh, S. M. (2000). Removal of viruses by soil passage: Overview of modeling, processes, and parameters. *Critical reviews in environmental science and technology*, 30 (1): 49-127.
- Schwab, K. J., De Leon, R. & Sobsey, M. D. (1995). Concentration and purification of beef extract mock eluates from water samples for the detection of enteroviruses, hepatitis A virus, and Norwalk virus by reverse transcription-PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (2): 531-537.
- Tollan, A. (2002). *Vannressurser*: Universitetsforlaget.

UN & WHO. (2010). GLAAS 2010: UN-water global annual assessment of sanitation and drinking-water: targeting resources for better results.

UNEP. SICK WATER? ASSESSMENT, A RAPID RESPONSE

UNICEF. (2000). *Global water supply and sanitation assessment 2000 report*: OMS.

UNICEF, W. (2015). JMP-Update-report-2015\_English.pdf.

USEPA, T. E. P. A. *groundwater contamination*. Tilgjengelig fra: [http://www3.epa.gov/https://search.epa.gov/epasearch/epasearch?querytext=groundwater+contamination&typeofsearch=epa&doctype=all&originalquerytext=contaminant&areaname=&faq=true&filter=sample4filt.hts&fld=&sessionid=AE1DDA0AFC13BE31E0264D308E4963C6&referer=http%3A%2F%2Fwww3.epa.gov%2F&prevtype=epa&result\\_template=2col.ftl&stylesheet=.](http://www3.epa.gov/https://search.epa.gov/epasearch/epasearch?querytext=groundwater+contamination&typeofsearch=epa&doctype=all&originalquerytext=contaminant&areaname=&faq=true&filter=sample4filt.hts&fld=&sessionid=AE1DDA0AFC13BE31E0264D308E4963C6&referer=http%3A%2F%2Fwww3.epa.gov%2F&prevtype=epa&result_template=2col.ftl&stylesheet=)

WHO. (2011). WHO.(2011). *Regional Office for Europe* URL: <http://www.euro.who.int/en/home> [accessed 2011-05-31][WebCite Cache].

Yates, M. V., Stetzenbach, L. D., Gerba, C. P. & Sinclair, N. A. (1990). The effect of indigenous bacteria on virus survival in ground water. *Journal of Environmental Science & Health Part A*, 25 (1): 81-100.

Bales, R. C., Hinkle, S. R., Kroeger, T. W., Stocking, K. & Gerba, C. P. (1991). Bacteriophage adsorption during transport through porous media: Chemical perturbations and reversibility. *Environmental Science & Technology*, 25 (12): 2088-2095.

Heistad, A. (2008). *Small scale wastewater treatment: design optimization, reduction efficiency and risk prediction*: Department of Mathematical Sciences and Technology, Norwegian University of Life Sciences.

Pedley, S., Yates, M., Schijven, J., West, J., Howard, G., Barrett, M., Schmoll, O., Chilton, J. & Chorus, I. (2006). *Pathogens: health relevance, transport and attenuation*: World Health Organization.

Schijven, J. F., van den Berg, H. H., Colin, M., Dullemont, Y., Hijnen, W. A., Magic-Knezev, A., Oorthuizen, W. A. & Wubbels, G. (2013). A mathematical model for removal of human pathogenic viruses and bacteria by slow sand filtration under variable operational conditions. *Water Res*, 47 (7): 2592-602.

Tufenkji, N. & Elimelech, M. (2004). Correlation equation for predicting single-collector efficiency in physicochemical filtration in saturated porous media. *Environmental science & technology*, 38 (2): 529-536.

Yao, K.-M., Habibian, M. T. & O'Melia, C. R. (1971). Water and waste water filtration. Concepts and applications. *Environmental science & technology*, 5 (11): 1105-1112.

## Refranser

Bertrand, I., Schijven, J., Sanchez, G., Wyn-Jones, P., Ottoson, J., Morin, T., Muscillo, M., Verani, M., Nasser, A. & de Roda Husman, A. (2012). The impact of temperature on the inactivation of enteric viruses in food and water: a review. *Journal of applied microbiology*, 112 (6): 1059-1074.

Carlander, D., Kollberg, H., Wejåker, P.-E. & Larsson, A. (2000). Peroral immunotherapy with yolk antibodies for the prevention and treatment of enteric infections. *Immunologic research*, 21 (1): 1-6.

Heistad, A. (2008). *Small scale wastewater treatment: design optimization, reduction efficiency and risk prediction*: Department of Mathematical Sciences and Technology, Norwegian University of Life Sciences.

Schijven, J. F., Hoogenboezem, W., Hassanizadeh, M. & Peters, J. H. (1999). Modeling removal of bacteriophages MS2 and PRD1 by dune recharge at Castricum, Netherlands. *Water Resources Research*, 35 (4): 1101-1111.

Schijven, J. F. & Hassanizadeh, S. M. (2000). Removal of viruses by soil passage: Overview of modeling, processes, and parameters. *Critical reviews in environmental science and technology*, 30 (1): 49-127.

Wielen, P. W. v. d., Senden, W. J. & Medema, G. (2008). Removal of bacteriophages MS2 and  $\Phi$ X174 during transport in a sandy anoxic aquifer. *Environmental science & technology*, 42 (12): 4589-4594.



Yates, J. L., Warren, N. & Sugden, B. (1985). Stable replication of plasmids derived from Epstein–Barr virus in various mammalian cells.



Norges miljø- og biovitenskapelig universitet  
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet  
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
Norway