



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2016
30 studiepoen

Institutt for matematiske realfag og teknologi

Renseeffektivitet og hygieniseringsforhold i et gråvannrenseanlegg

Purifying Efficiency and hygienisation conditions in
a grey water treatment plant

Efraim Le-Tiary
Vann- og miljø teknikk

Abstract

Worldwide there are many of both to mat and groundwater bodies that were affected by several serious pollution sources. Moreover, some of these bodies of water used for drinking source. One of biggest sources of these pollutants are untreated waste water, which comes either in direct contact with the water bodies through the discharge of untreated waste water via the overflow to centralized wastewater treatment are sent to these water bodies. Or by indirect emissions through leaks in the sewer network that infiltrated into groundwater and further to the nearest surface water.

A local wastewater management could be the key to achieving the best results in terms of economic issues related to water transport and water treatment in the central facilities, and ecological issues associated with line leaks and overflow events.

In order to get this in place, you have to separate the sewage into two fractions, namely black water (toilet water) and gray water (not toilet faction). In this way one can easily treat both fractions in that black water accumulates and then sediments into a septic tank. While gray water can be processed for example in a mini purification plant.

This study focuses on testing a gray water treatment plants both in terms of purifying efficiency with respect to water quality parameters (TSS, total phosphorus, COD, BOD) and hygienisation of greywater relative to microbial microorganisms (viruses and bacteria). In the test period it was used two model organism a virus baktriofag Salmonella typhimurium phage 28b as a model for the enteric viruses and bacteria total coliform (including E. coli) as an indicator of sewage-related bacteria and other living organisms.

Construction at test-period proved to be effective against the removal / inactivation of total koliforme- and E. coli with $1,7\log_{10}$ and the other water quality parameters (TSS, total phosphorus, COD, BOD).

While it was not registered any cleaning effect against viruses baktriofag Salmonella typhimurium phage 28b.

Sammendrag

På verdensbasis det er mange av både overflate- og grunnvann forekomster som ble berørt av flere alvorlige forurensningskilder. Dessuten noen av disse vannforekomster brukes som drikkevannskilde. En av største kildene til disse forurensningene er urensset avløpsvann, som kommer enten i direkte kontakt med de vannforekomstene gjennom utslipp av urensset avløpsvann via overløpet til sentraliserte avløpsrenseanlegg sendes til disse vannkropp. Eller ved indirekte utslipp via lekkasjer i avløpsledningsnett som infiltreres til grunnvann og videre til nærmeste overflatevann.

En lokal håndtering av avløpsvann kan være nøkkelen for å oppnå de beste resultatene både med tanke på økonomiske spørsmål som knyttet til vanntransporten og vannbehandling i de sentrale anlegg, og økologiske spørsmål som forbundet med ledningslekkasjer og overløps-hendelser.

For å kunne få dette på plass, må man separere avløpsvann til to fraksjoner, nemlig svartvann (toalettvann) og gråvann (ikke toalett fraksjon). På denne måte kan man enklere behandle begge fraksjonene ved at svartvannet akkumuleres og deretter sedimenters inn i en septiktank. Mens gråvann kan bli behandlet for eksempel i et minirensanlegg.

Dette studie tar for seg å teste et gråvann renseanlegg både med hensyn på rense effektivitet i forhold til vannkvalitetsparametere (TSS, total fosfor, COD, BOD) og hygienisering av gråvann i forhold til mikrobielle mikroorganismer (virus og bakterier). I test perioden ble det brukt to modellorganisme et virus baktriofag Salmonella typhimurium fag 28b som modell for de enteriske virus, og bakterie totale koliforme (deriblant E.coli) som indikator for avløpsrelaterte bakterier og andre levende organismer.

Anlegg ved test-perioden viste seg å være effektivt mot fjerning/inaktivering av total koliforme- og E.coli med $1,7\log_{10}$ reduksjon, og de andre vannkvalitetsparametere (TSS, total fosfor, COD, BOD).

Mens det ble ikke registrert noe renseeffekt mot virus baktriofag Salmonella typhimurium fag 28b.

Forord

Denne oppgaven er skrevet for instituttet for matematiske realfag og teknologi (IMT) ved Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet (NMBU) våren 2016. Og er mitt avsluttende arbeid i min mastergrad i vann- og miljøteknikk.

Oppgaven fikk jeg inspirasjon om via Arve Heistad, som igjen var min hovedveileder og bisto meg med veiledning og oppfølging gjennom hele arbeidet med denne oppgaven.

Jeg vil rette en stor takk til min hovedveileder Arve Heistad for sin inspirasjon gjennom hele studietiden. Og en stor takk går også til min biveileder Melesse Eshetu Moges; som hjalp meg med laboratoriet arbeid og statistiske analyser.

Takk til alle mine studiekollegaer gjennom hele studieprogrammet for sine samarbeid og bistand der jeg trengte.

Jeg vil også takk Honar Ahmed Said for sin bistand i laboratorietsarbeidet og å forstå resultatene for virus analyse.

Takk for IKBM-ansatt for sin hjelp i virus-analysene og telling.

Tilslutt jeg vil takke familien min for sin tålmodighet, og beklager veldig for å ikke kunne være med dere der dere vil ha meg med dere over hele studietiden.

Innholdsfortegnelse

Innholdsfortegnelse

Abstract	III
Sammendrag.....	II
Forord	Feil! Bokmerke er ikke definert.
Innholdsfortegnelse	V
Tabell liste	VIII
Figurliste:	IX
1 Innledning	1
1.1.1 Gråvannssammensetning.....	3
1.2 Mikroorganismer (Avføringsrelaterte patogener).....	4
1.2.1 Patogen transportmekanisme.....	6
1.2.2 Virus og smittespredning via vann.....	7
1.3 Modellorganismer.....	8
1.3.1 Indikatorer for fekal forurensning	8
1.3.1.1 Koliforme bakterier.....	9
1.3.1.2 E.coli.....	10
1.3.1.3 Intestinale enterokokker.....	11
1.3.1.4 Clostridium perfringens.....	11
1.3.1.5 Coprostanol.....	12
1.3.1.6 Bakteriofager.....	13
1.4 Hygienisering av gråvann.....	15
1.4.1 Virus fjerning (inaktivering) i porøsfilermediet.....	16
1.5 Oppgavens omfang og mål	22
1.5.1 Problemstilling	22
2 Material og metode	24
2.1 Kildeseparasjon for avløpsvann ved Kaja- studentbolig	24
2.2 Ecomative gråvannrensning anlegg	25
2.2.1 Ecomative A03 gråvannrensning anlegg	29
2.3 Prøvetaking	31
2.4 Virus tilsetning og analyse S.t.28b	32

2.4.1	Virustilsetting	32
2.4.2	Analyse av Salmonella typhimurium fag 28B	33
2.5	Suspendert tørrstoff analyse	35
2.6	Turbiditet	36
2.7	Total fosfor analyse	37
2.8	COD _T og COD _S analysene	38
2.9	BOD ₅ analyse	39
2.10	E.Coli og Total koliforme analysene	41
3	Resultater	43
3.1	Turbiditet	43
3.2	SS-analysen	43
3.3	Total fosfor analyse	45
3.4	COD-analyse	47
3.5	BOD ₅ -analyse	50
3.6	E.coli og den totale koliforme-analysen	51
3.7	Temperatur og PH	54
3.8	Belastning og oppholdstid	55
3.9	Analyse av Salmonella typhimurium fag 28B	56
4	Diskusjon	58
4.1	SS-analyse	58
4.2	Total fosfor analyse	60
4.3	COD-analyse	62
4.4	BOD ₅ -analyse	66
4.5	Analysen for de totale koliforme og E.coli	68
4.6	Hygieniseringsforsøk for Salmonella typhimurium 28B	69
4.7	Risikovurdering	70
5	Konklusjon	71
6	Kilde	73

Vedlegg A Turbiditet målinger ut av A03-utløpet78

Vedlegg B Colilert-18 E.coli og total koliforme analyse metoden og sine data

Vedlegg C SS data for A03 renseanlegg

Vedlegg D Total fosfor data for A03 renseanlegg

Vedlegg E total COD analyse Data for A03 anlegg

Vedlegg F Filtrert COD analyse data

Vedlegg F Data for DOD₅ i A03 anlegget

Vedlegg G Data for virus S.t.28b analysen

Vedlegg H A02 data sett

Tabell liste

Tabell 1-1 Viser vannkvalitetsanalyseparametere.

Tabell 1-2 Gråvannsanalyseparametere ved innløpet til Ecomative A02 gråvannsrenseseanlegg (mg/l) (Ecomative A02 2014).

Tabell 1-3 Rapportert gjennomsnitt konsentrasjon av BOD, COD, TN og TP for gråvann fra Kaja sammenlignet med de valgt studier relatert til husholdningen i Europe og US-test norm (Todt et al. 2015).

Tabell 1-4 Eksempler på patogene mikroorganismer som kan komme fra menneskelig avføring, med tilhørende sykdommer og symptomer (tatt av Friborg i sin mastergrad avhandling 2015 Tilpasset fra: Heistad 2008; Schönning & Stenström 2004; Strande et al. 2014; World Health Organization 2006).

Tabell 2-1 Ecomative A03 hoved pumpens gangtid og gråvannmengder.

Tabell 3-1 Viser den volumetriske døgnbelastningen under testingen av Ecomative A03 gråvannminirenseseanlegg.

Figurliste:

Figur 1-1 F-diagram (Fekal-orale smitteveier) (www.wateraid.org).

Figur 1-2 Forhold mellom de vanligste indikatorbakterier i menneskers avføring, og deres relative overlevelsessevne etter utslipp til vann. E. coli er analysert som Termotolerante koliforme bakterier (TKB). Tidsaksen er ikke gitt benevnning, men for TKB i ferskvann som holder ca. 20 °C og er utsatt for dagslys, tilsvarer tallet 1 ca. 1 uke (Vannforsyningsboka ABC).

Figur 1-3 Scanning Electron micrograf av Salmonella typhimurium phage 28 B (Heistad 2008 adoptert fra K. O.Hedlund).

Figur 1-4 Skjematisk DLVO overflate potensiell energi profil (Heistad et al.2008).

Figur 2-1 Kildeseparasjon for avløpsvann ved Kaja- studentboliger.

Figur 2-2 Ecomative A01 sirkulær strømning i den primære sedimenteringskammen.

Figur 2-3 Ecomative A01 Gråvann pumpes til biofilter.

Figur 2-4 Ecomativ A01 gråvann forlater biofilter til den sekundære sedimenteringskam.

Figur 2-5 Ecomative A01 rensset gråvann går fra den sekundære sedimenteringskam til et rør i midten av A01 via filtermateriale på bunnen av kammen.

Figur 2-6 Rensset gråvann forlater Ecomative A01 via utløpsrør.

Figur 2-7 Ecomative A02 sirkulær strømning i den primære sedimenteringskammen.

Figur 2-8 Ecomative A02 pumpe pumper vannet til biofilter.

Figur 2-9 Ecomative A02 Gråvannet passerer biofilteret og går til den sekundære sedimenteringskammen via en slange.

Figur 2-10 Ecomative A02 dykket utløpsrør.

Figur 2-11 Ecomative A03 system flytskjema.

Figur 2-12 Dobbelagar metode.

Figur 2-13 viser de materialer som brukt i SS analysene.

Figur 2-14 Viser Turbidimeter av type HACH LANGE 2100Q IS.

Figur 2-15 Viser bilder av HACH utstyrene for både COD og total fosfor test-Kitene.

Figur 2-16 Test-kit for COD.

Figur 2-17 BOD analyseapparat med alle sine komponenter.

Figur 2-18 Fortynningsserie, Kilde: Biofilms, Drop plate method for counting biofilm cells.

Figur 2-19 Bilde av PH og temperatur måler.

Figur 3-1 Turbiditet målingsdiagram for vannet ut av A03 gråvannrensseanlegg.

Figur 3-2 SS-konsentrasjon målinger for Ecomative A03 renseanlegg.

Figur 3-3 Renseeffekt i prosent i forhold til SS-parameter for Ecomative A03 gråvannrensseanlegg.

Figur 3-4 Fosfor Rådata målinger for Ecomative A03.

Figur 3-5 Renseeffekten i prosent for fosfor i Ecomative A03 gråvannminirensseanlegg.

Figur 3-6 Total COD for rensetrinnene i Ecomative A03.

Figur 3-7 Renseeffekt med hensyn på total COD i Ecomative A03.

Figur 3-8 Viser de oppmålte verdier for den løselige COD for Ecomative A03 gråvannminirensseanlegg.

Figur 3-9 Viser Renseeffekten med hensyn på den løselige COD-analysen i Ecomative A03 gråvannrensseanlegg.

Figur 3-10 Viser BOD5 målinger tatt i forbindelse med å teste Ecomative A03 gråvannminirensseanlegg.

Figur 3-11 Viser renseeffekten i BOD5 tatt ved testing av Ecomative A03 gråvannrensseanlegg.

Figur 3-12 Viser de oppmålte verdier for de totale koliforme bakterier i de forskjellige trinnene i Ecomative A03 gråvannminirensseanlegg.

Figur 3-13 Viser log reduksjonen i rensetrinnene og den totale reduksjon i de totale koliforme bakterier i Ecomative A03 gråvannminirensseanlegg.

Figur 3-14 viser de oppmålte verdier for E.coli bakterier gjennom de rensetrinnene i Ecomative A03 gråvannminirensseanlegg.

Figur 3-15 Viser log reduksjonen ved hvert enkelt rensetrinn og den totale reduksjonen i E.coli for Ecomative A03 gråvannminirensseanlegg.

Figur 3-16 PH målinger for prøvevannene tatt fra Ecomative A03 gråvannrensseanlegg.

Figur 3-17 Temperatur målinger for prøvevannene tatt fra Ecomative A03 gråvannrensseanlegg.

Tabell 3-18 Viser S.t. 28b virustellingsresultater etter at det ble tilført til Ecomative A03.

Tabell 3-19 Viser Log reduksjonen i S.t.28b i A03 gråvannminirensseanlegg.

Figur 4-1 Statistikken for suspendert stoff konsentrasjoner for A03.

Figur 4-2 statistikken for den prosentiske renseseffekten i forhold til SS for A03 gråvannrenseanlegg.

Figur 4-3 Total fosfor konsentrasjonsstatistikken for A03.

Figur 4-4 Prosentisk total fosfor renseseffektstatistikk for A03.

1 Innledning

Vann i verdens basis er en knapp resurs og sikring av bærekraftig vann forsyning, spesielt da med tanke på klima endring scenarioene, har blitt signifikant utfordring globalt sett (Abusam, 2008; Jenerette and larsen, 2006; Lundqvist et al., 2005). Vann pålegger også trussel for sosio-økonomisk utvikling og vedlikehold av eco-systemer rundt våre byer og urbane områder (Lake og Bond, 2007).

Vannforsyning fri for virus er meget stor problemstilling for dagens samfunn. Med økende befolkning og endring av livstil, er det stadig høyere etterspørsel etter store mengder rent vann. Samtidig tilgjengeligheten av frisk vann er avtagende i noen deler av verden som følge av global oppvarming. Dette vil trolig øke knappheten på vann i nær fremtiden, og kan forårsake mer vann konflikten. Dette vil med andre ord tvinge oss til å tenke på nye løsninger, når det gjelder vann i sitt total bilde, spesielt da med tanke på klimaendringen og hva den kan innebære.

En mulig løsning kan være å gjenbruke behandlet avløpsvann, etter å eliminere forurensning og virus. Men dagens teknologi for virus fjerning i vann og avløpsrensing kommer ikke uten å skape problemer. De store mengder klor og ozon som er nødvendig for virusinaktivering ofte resultere i helsemessige problemer ved eksponering for desinfeksjon biprodukter (DBP), i tillegg til at disse kan også skape også problemer til det ytere miljøet om de slipps ut til det.

Kildeseparering og gråvannbehandlingssystem, har i de senere år oppvekket veldig stor global oppmerksomhet rundt dette temaet, som et alternativ for konvensjonelle avløpsvannsbehandling. Hensikten med det er å utvikle et behandlingssystem som tar seg av resursverdige (vann, næringsstoffer og energi) og utnytte dem på en bærekraftig måte.

Gråvann er den ikke-toalett komponent av husholdning avløpsvann som stammer hovedsakelig fra klesvask, badrom og kjøkken aktiviteter av oppholds-bygninger. Gråvann representerer en stor potensiale for gjenbruk av vann resurs til irrigasjon av f.eks. plen og hage (Al-Jayyousi 2003) som avveksling klesvask utløp inntil hage og plen er teknisk sett mulig uten behandling (Jeppesen, 1996).

I Norge har gjenbruk av gråvann fortiden ikke vært av stor interesse, dette er dels grunnet at behov for nok og rent kildevann ikke vært den store problematikken her til lands, og dels at jordbruk (som den største vann bruker i andre land med stort behov til vanningsvann) har vært stort nok til være en trussel for vannforsyningen i Norge. Men derimot rensing av gråvann før det kan sendes til nærmeste resipienten, eller til å infiltrer det til grunnvannet, spesielt med

tanke på desentrale renseanleggene, er den hoved bekymringen. Den største trusselen i denne sammenheng kan være å hygienisere gråvannet, dvs. inaktivering eller tilbakeholdelse av patogenetisk mikroorganiske komponenter som kommer til gråvannet gjennom persondusjing og klesvask. Dette er i tillegg til andre komponenter som en ønsker å redusere innholdet av i gråvannet før det sendes videre til vannforekomsten, som for eks. næringsstoffer (fosfor, nitrogen og kalium), organisk materiale (deriblant kjøkkenbenk rester) og mikroorganisk forurensninger (vaskemidler, medikamenter og personal hygieniskmiddel rester).

1.1 Gråvann

Norge har betydelig erfaring med bruk av kildeseparering systemer for avløpsvannsbehandling (Jenssen and Skjelhaugen 1994, Jenssen 1996, 1999, 2001). I tradisjonelle kloakk systemer utgjør gråvann 60-80% av hele avløpsvann total volumet (Jenssen og vråle et al. 2003). mens i et resirkuleringssystem som er basert på kildeseparering av avløpsvann fraksjoner, representerer gråvann enda høyere volumetrisk prosent >90% av total avløpsvann fluksen (Jenssen og vråle et al. 2003). Toalett avløp inneholder de majoritet av næringsstoffer ca. 87% fosfor og 83% nitrogen (Todt Daniel et al. 2015), dette gir for seg kun 13% fosfor og 17% nitrogen i gråvann som kommer fra Kaja student boliger. Derimot gråvann kan inneholde en god del av COD, så å si Todt har funnet ca. 69% av COD i svartvann som kommer fra Kaja student boliger, dvs. at ca. 31% av COD finnes allerede i gråvann (Kaja student bolig). Gråvann kan til og med inneholde mer enn 90% av organisk materiale av total avløpsvann (Rasmussen et al. 1996) og betydelig mengde av bakterier og virus (Ottosen og Stenström 2002). Dermed et system som kan ta for seg å fjerne organiskmateriale og patogene foretrukket i forbindelse med å tilrettelegge for utslipp og/eller gjenbruk av gråvannet.

Omfanget for gråvannbehandling vil være avhengig av den slutt utslipp og/eller gjenbruk av vannet. Dersom utslippet skal være til havet, da kun primær (mekanisk) behandling som kan kreves (med mindre dette kan være et badested). Og hvis vannet disponeres direkte til vann eller til elv da kan man tenke seg at det trenges litt mer omfattende, sekundært, behandling som kreves. Mens utslipp til mindre vannforekomster eller om det vannet skal resirkuleres i irrigasjon eller til infiltrasjon til grunnvann, de hygieniske parametere må i så fall reduseres. Et gråvannbehandlingssystem er et lovende valg ikke bære for å redusere utslipp av næringsstoffer og organiskmateriale til mottagelig vannforekomst, men også for å minimere risikoen av sykdomstransport ved å redusere den potensiale patogenes belastning til

omgivelsen. I tillegg kildeseparering og lokal gråvannshåndtering kan redusere den hydrauliske belastningen på avløpssystemer ved å redusere utslippet av ubehandlet avløpsvann fra overløp. Gjenbruk av vann gjennom å utnytte behandlet gråvann til forskjellige formål, kan redusere helhetlig urbane vannforbruk.

1.1.1 Gråvannssammensetning

Gråvannet som skal analyseres her i denne oppgaven kommer fra kildeseparert avløpsvannssystem i Kaja studentboliger, som betjener 48 beboere. Gråvannet fra Kaja blir oppsamlet på en septiktank, som pumpes derfra til en rustfri ståltank in vannlab. ved fløy 4. I forbindelse med å test forutgående, Ecomative A02 gråvannrensaneanlegg, ble det tatt flere prøver av Kaja gråvann for å kunne analysere vannet for forskjellige kvalitetsparametere. Tabell 1-1 viser hvilke parametere som gråvannet var analysert for, og hvor i anlegget prøvene ble tatt.

Sample name:	Parameters:
Innløp GV	TSS, pH, BOD ₅ , COD _{tot} COD _{sol} TP, PO ₄ , NH ₄ , Total coliform bacteria, <i>E.Coli</i> .
Septictank Effluent (STE)	TSS, pH, BOD ₅ , COD _{tot} .
Utløp	TSS, pH, BOD ₅ , COD _{tot} , COD _{sol} , TP, PO ₄ , NH ₄ , Total coliform bacteria, <i>E.Coli</i> .

Tabell 1-1 Viser vannkvalitetsanalyseparametere

Analysene ble utført ved bruk av standard metoder som vil bli nærmere beskrevet i kapitel 2. material og metode. Tabell 1-2 viser gråvann kvalitetsparametere ved ståltankutløpet, som er igjen har samme verdier som ved innløpet til Ecomative- system.

Disse tall er spesifikke for Kaja anlegg, men det man ser at disse analyseparametere varier også fra sted til sted rundt om i verden, tabell 1-3 viser variasjon i BOD₅, COD TP og TN, som er tatt av studier utført i flere steder i verden, ettersom folk varierer i sine spisevaner, så varierer også disse parametere seg etter folkets kosthold, dette skiller seg gjerne fra sted til sted i verden.

	<i>TSS</i>	<i>BOD₅</i>	<i>Total COD</i>	<i>Total P</i>	<i>NH₄</i>
Mean+std	95,94±36,78	139,34±41,09	288,47±77,31	1,35±0,25	9,40±1,84
Median	89,00	139,00	289,00	1,36	9,38
Minimum	51,00	50,60	135,00	0,72	5,72
Maximum	278,00	250,00	485,00	1,81	13,90
Count	49,00	38,00	51,00	49,00	37,00

Tabell 1-2 Gråvannsanalyseparametere ved innløpet til Ecomative A02 gråvannrensaneanlegg (mg/l) (Ecomative A02 2014)

Sted	BOD ₅ (mgO ₂ /L)	COD (mg O ₂ /L)	TN (mg O ₂ /L)	TP (mg O ₂ /L)
Kaja	140-160	250-300	16-19	1,3-1,6
UK	146	451	8,7	1,4
Germany	Ingen	640	27,2	9,8
Nederland	Ingen	724	7,2	26
Gj.snitt EU	205-449	350-783	6,7-22	0,4-8,2
Gj.snitt lit.	100-400	200-700	8-30	2-7
US std.	100-300	200-500	3-6	1-4

Tabell 1-3 Rapportert gjennomsnitt konsentrasjon av BOD, COD, TN og TP for gråvann fra Kaja sammenlignet med de valgte studier relatert til husholdningen i Europe og US-test norm (Todt et al. 2015).

1.2 Mikroorganismer (Avføringsrelaterte patogener)

De fleste mikroorganismer som er patogener for mennesker og som kan smitte via vann, stammer opprinnelig fra avføring fra mennesker eller varmblodige dyr. Eksistensen av disse patogener skyldes i hovedsakelig at individer er smittet av dem, selv om dette ikke nødvendigvis gir utslag i form av symptomer hos den smittede.

I avløpsvann finnes det et stort spekter av avføringsrelaterte mikroorganismer som samtidig kan være patogener for mennesker. De fleste av disse mikrobielle forurensninger i vann kan overføre smittestoffer ved at vannet drikkes, ved at det vann brukes til vanning av jordbruksprodukter som spises rå, eller ved at det benyttes til rekreasjonsformål for eksempel bading. Den største risikoen er knyttet til å drikke det vann uten tilstrekkelig rensing eller desinfeksjon, da det vil forårsake gastrointestinale symptomer (symptomer som er knyttet til magen og tarmene), som for eksempel diare, kvalme og magesmerter. Den hoved andelen av

patogene mikroorganismer i avløpsvann kommer fra avføring, det er få organismer som skilles ut i urinen (Stenström et al 2011).

Patogene deles vanligvis i fire grupper: bakterier, virus, parasittiske protozoer og helminter. En oversikt over de patogene mikroorganismene, med tilhørende sykdommer og symptomer, som er mest vanlig i menneskelig avføring er gitt i tabell 1-3. De patogenetiske mikroorganismene som lever lenge i miljøet, har lav infeksjonsdose, utløser liten eller ingen immunitet hos mennesker og har lang inkubasjonstid er de som mest sannsynlig vil forårsake infeksjoner gjennom vannbårne smitte (stenström et al. 2011).

Gruppe	Mikroorganisme	Sykdom og symptomer
Bakterier	<i>Aeromonas</i> spp.	Gastroenteritt – magesmerter, kramper, diaré, dehydrering og feber; Guillain-Barré-syndrom
	<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	Campylobakterinfeksjon – diaré, kramper, magesmerter, feber, kvalme
	<i>Escherichia coli</i> (EPEC, ETEC, EIEC, EHEC)	Gastroenteritt – magesmerter, kramper, diaré, dehydrering og feber
	<i>Pleisimonas shigelloides</i>	Gastroenteritt – magesmerter, kramper, diaré, dehydrering og feber
	<i>Salmonella typhi/paratyphi</i>	Tyfoid-/paratyfoidfeber – hodepine, feber, allmenn sykdomsfølelse, anoreksi, forstoppelse, bradykardi, splenomegali, hoste
	<i>Salmonella</i> spp.	Salmonellose – diaré, feber, magekramper
	<i>Shigella</i> spp.	Shigellose – dysenteri (blodig diaré), oppkast, kramper, feber; Reiters sykdom – artritt, konjunktivitt, uretritt
	<i>Vibrio cholerae</i>	Kolera – vanntynn diaré, stort væsketap, dødelig om alvorlig og ubehandlet
	<i>Yersina</i> spp.	Yersinose – diaré, feber, magesmerter, leddsmerter, utslett
	Virus	Enterisk adenovirus 40 og 41
Adenovirus (flere typer)		Luftveisinfeksjoner, øyeinfeksjoner
Astrovirus, Calicivirus (inkludert norovirus), Rotavirus		Gastroenteritt – magesmerter, kramper, diaré, dehydrering og feber
Coxsackievirus (A og B)		Coxsackievirusinfeksjon – infeksjon i for eksempel munn, svelg, muskulatur, hjernehinne (meningitt), lungesekk, og hjerte; Luftveisinfeksjoner; Gastroenteritt
ECHO-virus		Aseptisk meningitt – hodepine, kvalme, svimmelhet, lysskyhet og nakkestivhet; encefalitt – ofte uten symptomer, men sterke psykiske forstyrrelser forekommer
Hepatitt A-virus, Hepatitt E-virus	Hepatitt – infeksjon i leveren, feber, allmenn sykdomsfølelse, anoreksi, kvalme, magesmerter, gulsott	

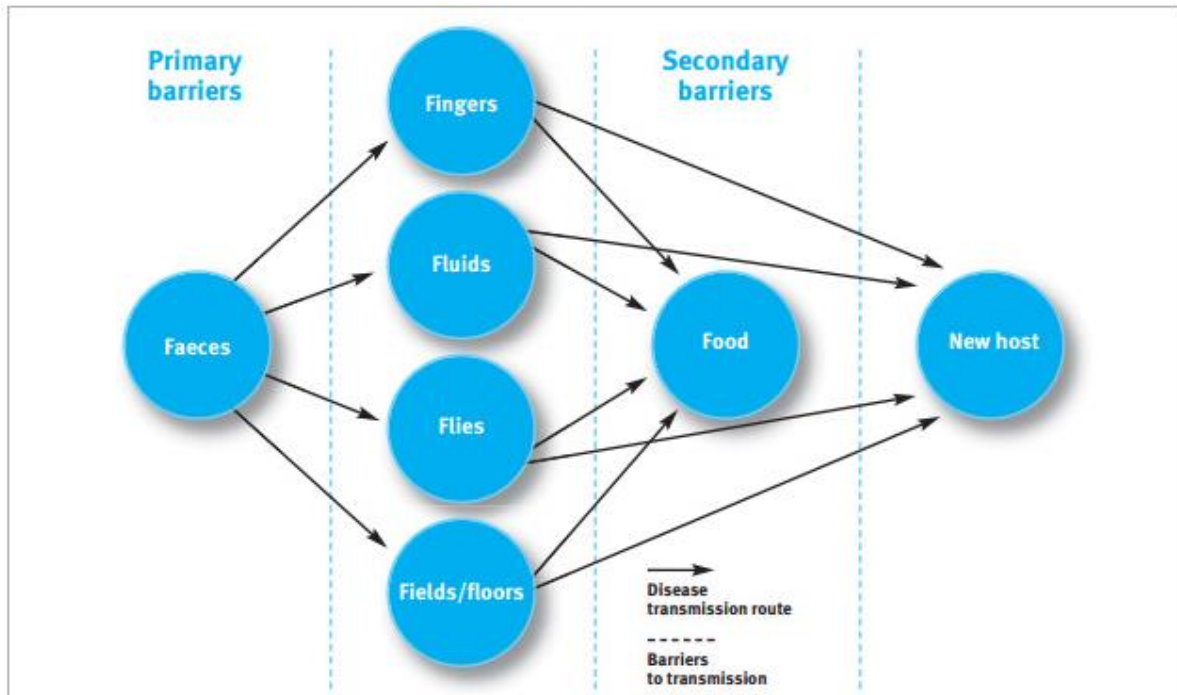
Gruppe	Mikroorganisme	Sykdom og symptomer
	Poliovirus	Poliomyelitt – ofte asymptomatisk, feber, kvalme, oppkast, hodepine, lammelser
	Parechovirus	Parechovirusinfeksjon – gastroenteritt, luftveisinfeksjon, meningitt, encefalitt og neonatal sepsis. Infiserer som regel bare små barn
Parasittiske protozoer	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Kryptosporidiose – vanntynn diaré, magekramper og -smerte
	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Ofte asymptomatisk; diaré og magesmerter
	<i>Entamoeba histolytica</i>	Amøbedysenteri – blodig diaré, feber, nedsatt almenntilstand, men ofte asymptomatisk
	<i>Giardia intestinalis</i>	Giardiasis – diaré, magesmerter, vekttap, allmenn sykdomsfølelse
Helminter (innvollsormer)	<i>Ascaris lumbricoides</i> (rundorm)	Ascariasis – generelt asymptomatisk, tung pust, hosting, feber, forstoppelse
	<i>Trichuris trichiura</i> (piskeorm)	Trichuriasis – generelt asymptomatisk, diaré hos små barn
	<i>Ancylostoma duodenale/Necator americanus</i> (hakeorm)	Ankylostomiasis – blodmangel, magesmerter, diaré; hakeorminfeksjon – ofte asymptomatisk, diaré og jernmangelanemi
	<i>Schistosoma</i> spp. (blodsnyltere)	Schistosomiasis (bilharzia)– kløe, betennelser i urinblæren, urinveier, tykktarmsveggen, fibrose, blodig diaré, blodig urin

Tabell 1-4 Eksempler på patogene mikroorganismer som kan komme fra menneskelig avføring, med tilhørende sykdommer og symptomer (tatt av Friborg i sin mastergrad avhandling 2015 Tilpasset fra: Heistad 2008; Schönning & Stenström 2004; Strande et al. 2014; World Health Organization 2006).

1.2.1 Patogen transportmekanisme

Personer smittet av gastrointestinale sykdom, skiller ut patogenisk mikroorganismer i høyt antall, noe som kan infisere andre personer som eksponeres til disse via forskjellige eksponeringsruter. Noen patogener som utskilt fra syke dyr kan også infisere mennesker (zoonotiske sykdommer). Ville dyr kan fungere som reservoar av *Campylobacter*, *Salmonella*, *Cryptosporidium* og *Giardia*, noe som gjør dem til å fungere som tilleggs kilde for smitte via utspreidning av disse forurensninger, for både mennesker og dyr (Heistad et al. 2008). sistnevnte er utbredt blant elg og rådyr i Norge (Hamnes et al. 2006), men deres relative innvirkning i forhold til vannbårne sykdommer er fortsatt uklart (Heistad et al. 2008). Altså man skiller gjerne mellom to smitte ruter, direkte, fra syk person til annen person, og indirekte, som kan ha flere aktuelle smitteveier, som skjer via at fikalier syke individer kommer i kontakt med enten vann eller luft (fluida), jord (fields), fluer (flies), mat (food) eller fingre (fingers) til ny vert, som er forklart i F-diagram Figur1-1. Her er det viktig at man

ligger skille mellom to typer barrierer: primære (skiller avføring fra smittebærer) og sekundære (stopper smitten mellom smittebærer og vert).



Figur 1-1 F-diagram (Fekal-orale smitteveier) (www.wateraid.org)

1.2.2 Virus og smittespredning via vann

Virus er det minste kjent infeksjøs agens, de varierer i størrelse og form, men er som regel mellom 20 og 1000 nm store. Virus frigjør sin nukleinsyre (arvestoffet) når det infiserer vertscelle og den bringes til å reprodusere nye viruspartikler som skal frigjøres. Følgelig kan virus betegnes som en parasitt på molekylært nivå som mangler evnen til egen metabolisme og reproduksjon utenfor vertscellen. Kjernen i en viruspartikkel består i sin enkleste form bare av en nukleinsyretråd omgitt av et ytre beskyttende skall (som kan beskytte virusets arvestoff mot ødeleggelse fra omgivelsene f.eks. ved varme eller enzymer fra vertens immunforsvar) av proteiner. Utseendet av viruspartikkelen samt nukleinsyrens sammensetning (enten DNA eller RNA) danner grunnlaget for inndeling av virus i grupper (Vannforsyningsboka ABC Nasjonalt folkehelseinstitutt).

Virus kilde i vann kan være fra bakterier (bakteriofager), sopp, planter, dyr og mennesker. De fleste av disse er vertsspesifikke, og kun fåtall av dem er sykdomsfremkallende hos mennesker. Virus finnes også i menneskelig sekret og ekskret (der blant avføring som inneholder det mest av disse), og kan dermed være kilde til infisering av vann. Man regner likevel med at det bare er virus med fekal-oral smittevei som har praktisk betydning i

forbindelse med vannbåren smitteoverføring for mennesker (Vannforsyningsboka ABC Nasjonalt folkehelseinstitutt).

1.2.2.1 Enteriske virus

Kollektivt kjent som enteriske virus, er det mer enn 100 virale enheter knyttet til menneskelig avføring. De helse betydning av disse agentene hos mennesker variere fra poliomyelitt (polio), hepatitt og gastroenteritt til ufarlige infeksjoner.

Enteriske virus er svært små partikler som spenner fra 20 nanometer til 85 nm i diameter. I sammenligning, en menneskelig røde blodlegemer gjennomsnitt 7.600 nm i diameter. De fleste virus vil ikke formere seg i avløpsvann/i miljøet, men de vil heller ikke inaktiveres. Et menneske som er infisert av virus kan utskille store mengder virus i avføringen. For eksempel kan rotavirus ha en konsentrasjon på opptil 10^{12} virus pr. gram avføring (Flewett 1982 sitert i Friborg 2015).

Enteriske virus kan være en av de viktigste smittepartikler av avføringsrelaterte sykdommer. Dette på grunn av at det få virus-partikler som kreves for å infisere mange individer, de er små, og dermed transporteres lett mellom individer, persistente i ugjestmilde miljøer og tåler ytre påvirkning (for eksempel desinfeksjon og varme) bedre enn bakterier (Friborg 2015).

Virus med fekal-oral smittevei passerer magesekken for så å infisere tarmslimhinnen. Enkelte virus, spesielt virus tilhørende enterovirus-gruppen, kan passere tarmslimhinnen og deretter via blodbanen nå fram til andre organer. Eksempler på dette er infeksjon i sentralnervesystemet, hud, muskler og lever (hepatitt A virus). Virus som forårsaker mage-/tarmsykdom, gastroenteritisvirus, sprer seg derimot sjelden til andre organer.

Sykdomssymptomene oppstår som følge av skaden på tarmslimhinnen

Menneskets immunforsvar danner antistoffer mot en del av virusene, slik at man blir immun mot senere infeksjoner. Men mange av virusene muterer, og immuniteten gjelder ikke lenger. Man kan derfor bli syk av disse virusene flere ganger. Hovedfokuset angående patogene mikroorganismer vil i denne oppgaven derfor være rettet mot enteriske virus.

1.3 Modellorganismer

1.3.1 Indikatorer for fekal forurensning

Praktisk sett er det imidlertid umulig å analysere avløpsvann for alle mulige patogene agens. Fordi man vil ofte unngå eller begrense fekale forurensninger, som finnes i avløpsvann, sendt videre til vannforekomsten, kontrollerer vi vannet for mulig tilfeldig fekal forurensning ved å

analysere for noen av de normale enteriske patogene mikroorganismer i menneskers avføring. Dessuten det kan være vanskelig og ikke mist dyrt å kvantifisere enteriske patogene mikroorganismer, og analysearbeidet kan utgjøre en helserisiko for forskere. Derfor er det sjelden hensiktsmessig å bruke enteriske patogene mikroorganismer som indikatororganismer i eksperimenter. En modellorganisme kan i stedet innføres (Pettersen & Ashbolt 2003 sitert av Friberg 2015).

Indikatormodellen må ha en vis kriterier for å kunne indikere for fekal forurensning, og det er følgende:

- De skal generelt ikke være tilstede i ikke-forurenset vann.
- De bør være universelt tilstede i høyt antall i avføringen til mennesker og andre varmblodige dyr.
- De må være spesifikk for fekal forurensning.
- De må være minst like persistente som patogene mikroorganismer mot desinfeksjonsmetoder.
- De må helst være ikke-patogene, og lett påvisbar ved hjelp av enkle metoder.
- De må ha en die-off-rate som ikke er raskere enn die-off-raten til patogene mikroorganismer av bekymring. (WHO. Guidelines for drinking-water quality – Third edition)

1.3.1.1 Koliforme bakterier

Betegnelsen Koliforme bakterier inkluderer en rekke tarmbakterier som har det til felles at de kan spalte melkesukker (laktose) til glukose og galaktose, for deretter å forgjære disse sukkerstoffene ved dannelse av gass og syre. Fra gammelt av blandet man en prøve av vannet som skulle analyseres med en oppløsning som bl.a. inneholdt laktose, og undersøkte om det ble dannet gass og syre. Dette var det første forsøket på å påvise noen av de normale tarmbakteriene. Siden er analysemetodene blitt gjort mer selektive. (Vannforsyningsboka ABC).

Noen av disse koliforme bakteriene kan imidlertid også finnes i vann som ikke er blitt forurenset med avføring. Enkelte kan vokse under nedbrytning av planterester i jord, og noen på planterester i vann. Enkelte gir kraftig vekst hvis de kommer i kontakt med sevje fra trær, spesielt løvtrær, men de vokser sakte ved temperaturer under 10 o C. Klebsiella-bakterier er koliforme bakterier som kan gi problematisk, slimete vekst i trefibermasse ved papirproduksjon, hvis trefibermassens temperatur faller under ca. 60 o C. Den kan også forårsake sykdom. Vanligvis vokser slike bakterier fra jord og vann best ved temperaturer

langt under 40 o C, men Klebsiella-bakterier fra trefibermasse som er holdt ved 40-50 o C under produksjonen, kan adaptere seg til å vokse raskt ved så høy temperatur. Som oftest vil analysen for koliforme bakterier, som foregår ved 37 o C, indikere at vannet er tilført avføring, men man kan ikke være helt sikker, for disse bakteriene kan som nevnt også ha annet opprinnelsessted (Vannforsyningsboka ABC).

1.3.1.2 E.coli

Bakterien Escherichia coli, forkortet E. coli, er den av de koliforme bakterier som forekommer i størst mengde i friske menneskers avføring. Undersøkelser har vist at den er i stand til å vokse raskt helt opp mot 45 o C. Det ble så utarbeidet metoder for å søke spesielt etter denne. En av de selektive utvelgelsesmetodene var å dyrke blandingen av vannprøve og vekstmedium ved temperatur 44,0-44,5 o C. I forskjellige land ble det utarbeidet forskjellige analysemetoder med litt forskjellig selektivitet, men høy temperatur ble alltid benyttet. De forskjellige metodene ble gitt forskjellige navn: ”Fekale koliforme bakterier”, ”Termotolerante koliforme bakterier” og ”E. coli”. Det viste seg imidlertid at E. coli sin evne til å vokse raskt ved ca. 44 o C avtok med økende oppholdstid i resipientvannet (det vannet som hadde mottatt avføringen), slik at de etter ca. 1-2 uker etter utslippet bare vokste ved samme betingelser som de andre koliforme bakteriene. Dette er blitt benyttet til å avgjøre om avføringen i vannet er fersk. Den totale belastningen med koliforme bakterier bestemmes ved å analysere ved 36-37 o C, mens den andelen som nylig er kommet fra fersk avføring selekteres ved dyrkning ved 44 - 44,5 o C (Vannforsyningsboka ABC).

Fersk avføring kan også inneholde ferske smittestoffer, med høy risiko for at folk kan bli syke ved å drikke vannet, derfor er det viktig å få avgjort om forurensningen er fersk eller ikke. Noen smittestoffer vil imidlertid kunne overleve mye lengre tids opphold i vannet enn disse indikatorbakteriene gjør, og det aktuelle vannet vil da fremdeles kunne medføre smittefare. Manglende funn av indikatorbakterier vil altså ikke kunne garantere smittefritt vann (Vannforsyningsboka ABC).

1.3.1.3 Intestinale enterokokker

Denne gruppe bakterier finnes også i tarmene til mennesker og dyr, som hjelper oss med å fordøye maten. Noen av dem produserer som naturlig trenger. Streptokokker bakterier i mindre mengder i menneskets avføring enn E.coli og andre koliforme bakterier, mens det motsatte kan være tilfelle hos husdyr. Hovedgrunnen til at denne bakteriegruppen er inkludert blant de fekale indikatorbakteriene, er at de overlever lenger i resipientvann enn de koliforme bakteriene. Dette er mest markant i saltvann, derfor har denne bakteriegruppen lenge vært

benyttet i vurdering av vannkvalitet på sjøbadebretter. Tarmvirus overlever lenger i vann enn de fleste bakterier, og mye lenger enn bakterier med samme overlevelsessevne som de koliforme bakteriene. Intestinale enterokokker er derfor en bedre indikator enn de koliforme bakteriene på mulig forekomst av tarmvirus. Derfor er parameteren Intestinale enterokokker tatt med som fekal indikator i kontrollanalysene av drikkevann.

Et annet bruksområde for Fekale streptokokker er å vurdere om en forurensning i en vannkilde stammet fra mennesker eller dyr, primært husdyr. Ved helt fersk fekal forurensning, det vil si ved høyt antall E. coli i forhold til koliforme bakterier totalt, kunne forholdet mellom E. coli og den gruppen som før ble kalt Fekale streptokokker benyttes i denne vurderingen. Ved høyt innhold av streptokokker i forhold til E. coli kom den fekal forurensningen mest sannsynlig fra dyr, og ved motsatt forhold mest sannsynlig fra mennesker. Fordi disse streptokokkene overlever lenger enn de koliforme bakteriene i resipientvann, forskyver dette forholdstallet seg ved økende oppholdstid i vannet, og til slutt kan bare streptokokkene påvises (Vannforsyningsboka ABC).

1.3.1.4 Clostridium perfringens

Clostridium perfringens er en gruppe anaerobbakterie som vokser ved fravær av oksygen. De kan finnes også i avføringen til mennesker og dyr, men i mye mindre mengde enn koliforme og intestinale enterokokkerbakterier. Det skiller C. perfringens bakterier fra de to sistnevnte er at de er i stand til å danne såkalte sporer (overlevelsesstadiet) når dens vekstforhold blir ugunstige. Disse sporene overlever meget lenge i vannmiljø. Hvis et vassdrag eller en grunnvannskilde er blitt tilført avføring fra mennesker eller dyr, vil sporene alltid kunne påvises, det vil for det meste bare være snakk om grad av fortykning.

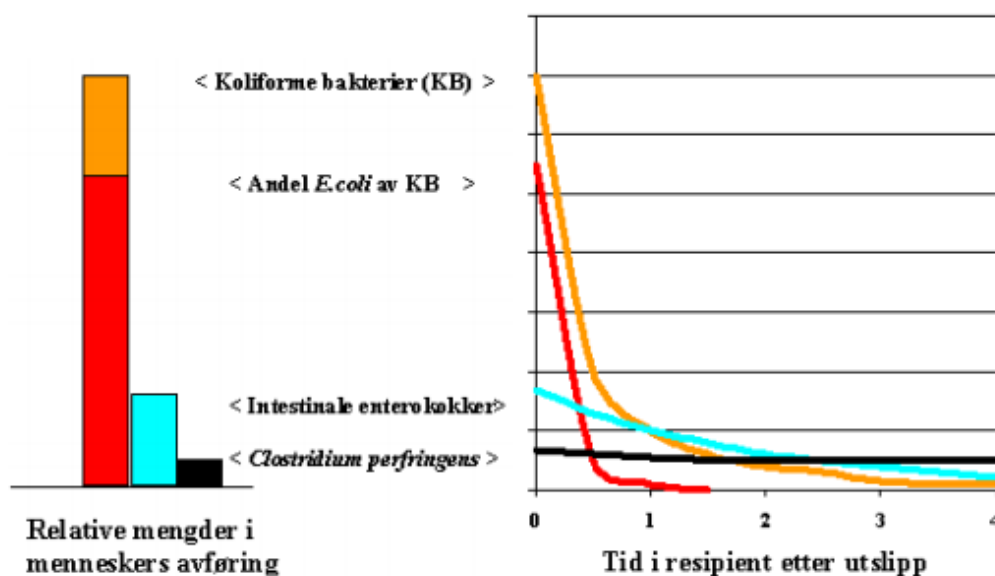
Analyseparameteren Anaerobe, sulfittreducerende sporeformere, som selekterer disse sporene, har i lang tid vært benyttet til påvisning av gammel fekal forurensning i brønner, og til karakterisering av påvirkningsområdet for avløpsvannsutslipp til sjøresipienter, da ved å analysere sedimentene for innhold av disse sporene.

Hovedgrunnen til at disse bakterier er tatt som fekalindikatorer, er deres evne til å danne seg sporer, og disse sporene har lenge overlevelsestid i vannmiljøer. I tillegg til å kunne være parameter for mulig overlevelse av virus og tarmparasittcyster i vannmiljøer, da disse sporene er meget resistente mot desinfeksjonsmidler (inaktiveringsmidler).

1.3.1.5 Coprostanol

Coprostanol er et fekalt sterol som i en rekke land er tatt i bruk som fekalindikator. Dette finnes i store mengder i avføring fra mennesker, men i mye mindre mengder i avføring fra

andre varmblodige dyr, inkludert vannfugler. Coprostanolinnholdet i kommunalt avløpsvann reduseres i kloakkrensning, men uansett anleggstype inneholder avløpsvannet nok coprostanol til at det kan påvises, selv etter fortynning i resipientvannet. Det nedbrytes sakte ved lav temperatur, og holder seg derfor lenge i påvisbar konsentrasjon i resipientvann. Vannprøvene kan også konserveres i felten, slik at indikatorstoffet ikke nedbrytes ved lagring av prøvene. Coprostanol er derfor velegnet til måling av utbredelses-/påvirkningsområdet for kloakkvannsutslipp, og dermed også til å anslå det maksimale spredningsområdet for tarmvirus (Vannforsyningsboka ABC).



Figur 1-2 Forhold mellom de vanligste indikatorbakterier i menneskers avføring, og deres relative overlevelsessevne etter utslipp til vann. *E. coli* er analysert som Termotolerante koliforme bakterier (TKB). Tidsaksen er ikke gitt benevnelse, men for TKB i ferskvann som holder ca. 20 °C og er utsatt for dagslys, tilsvarer tallet 1 ca. 1 uke (Vannforsyningsboka ABC)

De vanligste bakterielle smittestoffer fra avføring, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* og *Yersinia enterocolitica*, har nær samme overlevelsessevne i resipientvann som *E. coli*. Påvises ikke koliforme bakterier, er det lite sannsynlig at de nevnte smittestoffene kan være til stede. Noen arter av *Yersinia* har imidlertid evnen til å vokse i kalde omgivelser, men det er uvisst om *Y. enterocolitica* har spesiell overlevelsessevne eller kan vokse i kaldt resipientvann. Virus, som ikke er en organisme, men innkapslet arvestoff, og med meget motstandsdyktig kapsel, holder seg mye lenger i infeksjons tilstand ute i resipienten enn bakterier. Noen bakterier, slik som *C. perfringens*, har evnen til å produsere liknende overlevingsstadier, som vi kaller sporer. Også tarmparasitter kan produsere egg eller overlevingsstadier som holder seg lenge i infeksjons tilstand i resipientvann. De forskjellige indikatorer indikerer mulig

forekomst av forskjellige smittestoffer, avhengig av hvor lenge de kan påvises i resipientvann, som vist i figur 1-2 (Vannforsyningsboka ABC).

1.3.1.6 Bakteriofager

Bakteriofager er den mest tallrike form for liv på jorden; ti ganger mer tallrike enn bakterier (Hendrix 2002; Hanlon 2007). De kan finnes i alle miljøer hvor bakterier vokser: i Sahara, varme vannforekomster, Nordsjøen, og polare vassdrag (Prigent et al 2005; Lin et al 2010; Breitbart et al 2004; Wichels et al 1998; Sävström et al 2008). Fagene blir påvist i grunnvann og overflatevann, jord, mat (for eksempel surkål, vin), kloakk og slam (Lucena et al 2006; Yoon et al 2002; Davis et al 1985; Kumari et al 2010; Tartera og Jofre 1987). De har også blitt isolert fra mennesker og dyr, for eksempel fra avføring, urin, spytt, spytt, vomma, og serum (Gantzer et al 2002; Caroli et al 1980; Bachrach et al 2003; Nigutová et al 2008; Keller og Traub 1974). Fager er i stand til å trenge inn i forskjellige organer og vev, inkludert sentralnervesystemet, og er en del av tarmfloraen sammen med deres bakterielle verter (Frenkel og Solomon 2002, Kameyama et al 2001). De er ansvarlig for 10-80% av total bakteriell dødelighet i akvatiske ecosystemer og er en viktig begrensingsfaktor for bakterielle populasjoner (Weinbauer 2004).

Bakteriofager er klassifisert i familier med hensyn til deres morfologi og størrelse som vist i tabell 1. Om 96% av dem er tailed, men det er trådformede og pleomorfikk seg likeledes (Ackermann 2007; Hendrix 2002). Vanligvis fagen virion består av to grunnleggende komponenter: nukleinsyre (dobbel- eller enkelt-trådet RNA eller DNA) og en proteinkapsel. Noen har lipider (fettstrukturert) som komponenter av kapselet eller i en bestemt lipid (fett) vegg (Ackermann 2003). Generelt regnes bakteriofagene ikke som patogener for mennesker (Grabow 2001). De er enkle å propagere, kvantifisere og jobbe med i laben. Fagene er mer persistente i miljøer utenfor verten enn de vanligste enteriske virus som infiserer mennesker, og kan utgjøre helsemessige trussel for de som jobber med dem.

Som modellvirus brukes det hovedsakelig tre typer bakteriofager: F- spesifikke RNA-fager (infiserer bakterien ved å angripe sex-pilus), somatiske kolifager (infiserer bakterien ved å feste seg til celleveggen), og bakteriofager som infiserer *bacteroides fragilis* (Friborg 2015).

Bakteriofagene kan være den beste tilnærmingen til enteriske virus, da kunne de virke som modellvirus til enteriske virus, fordi fagene deler mange fundamentale egenskaper som struktur, komposisjon, morfologi, størrelse og replikasjonsmåte med enteriske virus.

Bakteriofager er minst like resistente mot forhold som opptrer i vannbehandling og desinfeksjonsprosesser som enteriske virus. Det eksisterer likevel ikke en direkte sammenheng

mellom antall bakteriofager og antall enteriske virus i avløpsvann, noe som gjør det enklere å kvantifisere dem (Friborg 2015). det er utviklet internasjonale standarder for kvantifisering av F-spesifikke RNA-fager, somatiske kolifager og fager som infiserer *B.fragilis* (henholdsvis ISO standard 10705-1:1995, 10705-2:2000 og 10705-4:2001).

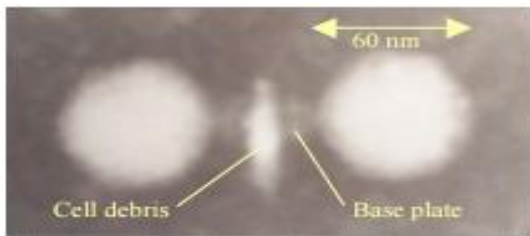
Oppgaven her dreier seg om kvantifisering av virus innhold i gråvannet, både ved innløpet til Ecomative renseanlegg og ved utløpet, for å få data på hvor effektiv Ecomative A03 kan være i forhold til virus fjerning. Derfor var det veldig viktig at man bruker et virus som har like eller bedre persistente egenskaper og ikke minst evnen til å tåle de fysiske og kjemiske gråvannssammensetninger like bra som enteriske virus vil gjør i det samme miljøet. Da det er nødvendig for å kunne sammenligne fjerning (tilbakeholdelse) av modellviruset med fjerningen av de enteriske virus. F-spesifikke RNA-fager er den typen bakteriofager som er mest brukt for å modellere menneskelige virus (Ashbolt et al. 2001), men i denne oppgave skal det jobbes med et somatisk virus (*Salmonella typhimurium* fag 28b5), fordi dette viruset har bedre stabilitet i aggressive vannmiljø enn de andre bakteriofagene ifølge Arve Heistad, I tillegg til sitt enkel kvantifiseringsmetode.

1.3.1.6.1 *Salmonella typhimurium* fag 28b

Salmonella typhimurium fag 28b (S.t.28b) (Lilleengen 1948) er klassifisert under *Podoviridae* familien, som er somatisk virus med RNA arvemateriale, har verken naturlig påvist seg i miljøprøver eller i fekale (Höglund et al 2002). Verten er *Salmonella typhimurium* type 5, genetisk sekvens har ikke blitt karakterisert enda (Heistad et al 2008). S.t.28b er ca. 60 nm i diameter og moderat lang, tykk, avsmalnende haler av 225 nm × 10 nm med 57 eller 58 kryss striper "(Eisenstark et al. 2009). I forhold til morfologiske karakteristikk S.t.28B tilhører de flagella-spesifikke χ arter av enteriske fager selv om det ikke ble sett å bli absorbert til bakterieflageller.

S.t.28b er foreløpig lite brukt, har blant annet blitt benyttet i sporingsforsøk for å undersøke fekal forurensning av grunnvann (Carlander et al. 2000), studier av virusinaktivering i kildeseparert urin og fekalier (Höglund et al. 2002; Nordin 2010; Nordin et al. 2013; Tonner-Klank et al. 2007) og filtreringsforsøk med drikkevann (Heidary Rad 2014) og gråvann (Heistad 2008), inaktivering av virus i svartvann (Friborg 2015). Metoden for kvantifisering av S.t.28b er svært robust, og Svenska Folkhälsomyndigheten, Enheten för parasitologi, livsmedels- og vattenburen smitta, oppgir at de jobber nå nesten utelukkende med S.t.28b i sporingsforsøk (Hallin 2014).

Det S.t.28B viruset, også definert som en bio-kolloid, er relativt termotolerant (Eller 1995; Norin et al 1996). Har lave inaktiveringsrate ved høy pH og regnes relativt motstandsdyktig mot alkalisk pH (Carlander og Westrell1999). Dette betyr at S.t.28B er en av de mest konservative mikroorganismer (La Sobras et al.1999) mener at andre fag er ømtålige sammenlignet med S.t.28B. Selvfølgelig tilgjengelighet var et annet valg faktor for denne fag. Passende forplantning og ukompliserte deteksjonsmetoder (plakk lest) for S.t.28B er som tidligere nevnt noe som gjør det enklere å jobbe med det viruset, og som er beskrevet i detalj i kapittelet Materialer og metoder.



Figur 1-3 Scanning Electron micrograf av *Salmonella typhimurium* phage 28 B (Heistad 2008 adoptert fra K. O.Hedlund).

1.4 Hygienisering av gråvann

Hygienisering er et felles begrep for å fjerne og/eller inaktivere patogene mikroorganismer (deriblant virus). Det finnes mange metoder for hygienisering av avløpsvann og slam, både konvensjonelle, og naturbaserte metode som ble brukt til dette formålet. Av de konvensjonelle metoder nevnes herav metoder som bruker, fysiske, forholdsparemetere som gjør det ugunstig eller ikke overlevebart for disse patogene mikroorganismer, av disse metoder nevnes her UV-lys og ultralyd, mikrobølgestråling, tørking, varmebehandling og tilbakeholdelse i et medium. Den sistnevnte metoden er faktisk en blanding av både fysiske og kjemiske interaksjoner. Men det finnes også andre metoder som bruker rent kjemikalier for å hygienisere avløpsvann og slam som f.eks. oksidering med sterke oksidasjonsmidler (ozon, klor eller hydrogenperoksid), alkalisering med kalk og syrebehandling, eller at man bruker biologien til nedbryting av disse mikroorganiske patogene (både anaerobe og aerobe metode har vært i bruk).

Til tross for at gråvann har betydelig mindre representativ mengde av patogene mikroorganismer enn svartvann, men det vil også være veldig viktig å hygienisere det før man kan slipp det ut til ytere miljøet, spesielt da med hensyn på de sårbare vassdrag og grunnvannskilder. Metoder som ble tidligere brukt til hygienisering av avløpsvann som f.eks. oksidering med klor eller ozon vist seg til å være ikke effektive enten på grunn av de dyre

investeringer, kunne ha bieffekten i form av at danner giftige forbindelser når de kommer i kontakt med organiske materiale, eller de var lite effektive mot å inaktivere eller fjerne de patogene; spesielt noen virus. Mens UV-bestråling er ikke effektivt i vann med høy turbiditet som gråvann gjør. Biologisk nedbrytning av patogene mikroorganismer krever langt oppholdstid, spesielt med tanke på gråvann, gitt at gråvann inneholder mye mindre organisk materiale enn svartvann, og utgjør den meste delen av vann volumet. Foruten bakterier blir lettere brutt ned i anaerob nedbrytning enn virus, og dermed biologisk behandling er ikke effektivt for å redusere virus innhold i gråvann.

Derimot kan naturbasert (filtermedia basert) hygieniseringsmetoder vil være både kostnadseffektive, bedre egnet for fjerning av patogene mikroorganismer og virus og ikke miste mindre energi krevende, spesielt da med hensyn på gråvannvolumet og sammensetningen. I de naturbaserte bruker man gjerne et medium for å infiltrere vann gjennom, inn i det filteret kan det fjernes en god del av COD, Nitrogen og fosfor. I tillegg kan man også fjerne patogene organisme og virus, mekanismene som står bak at filtermedia fjerner disse forurensninger (herav virus) er beskrevet i neste avsnitt.

1.4.1 Virus fjerning (inaktivering) i porøfiltermediet

Virus transporten og tilbakeholdelsen gjennom et filtermedia kan enkelt beskrives ved at man tar i utgangspunktet at virus vil til dels oppføre seg som en kolloidal partikkel (<1000 nm stor partikkel) i et filtermedia. I tillegg kan virus og andre patogene mikroorganismer bli inaktivert i et modnet filtermedia (filtermediet som har dannet biofilm på sin overflate), dette skyldes enten at etter at de blir absorbert av biofilm som dannes etter en tid over filtermedia akte som inaktiveringsregi for disse mikroorganismer, ved at bakterier i biofilmen utskiller noen enzymer som inaktiverer disse mikroorganismer, eller at de blir inaktivert på grunn av aldring etter at de ble absorbert av biofilmen.

Virus tilbakeholdelsen (absorpsjon på filtermediets overflaten) er en veldig komplisert prosess, gitt at det involvere mange faktorer som kan påvirke prosessen som f.eks. filtermediasoverfalte karakterisken, fysiske og kjemisk karakteristikken til virusetoverflaten, væskens metning og strømningsforhold, vaksensforholdsparametere (PH, ion innhold, bofferevne, alkalitet, TN, COD, BOD, TP, m.m) og filtermediasporeinnhold og struktur. Det er mange studier som forske på virus (kolloidalpartikkel) absorpsjon i porøfiltermedia både i mettet og umettet forhold. Umettet filtrering av vann er en metode som i dag blir brukt nesten utelukkende til avløpsrensing i et biofilter. Ved umettet strømming finnes både luft og vann i porene i filtermediet. Filtermateriale i biofilteret brukes materiale med stort spesifikk

overflatearealet, der det dannes biofilmen på. Absorpsjon på det ferske filtermaterialet kan forklares med tre fysiokjemiske mekanismer ifølge Kolloidal filtrasjon teori (CFT) (Yao et al. 1971) nemlig sedimentering, diffusjon, intersepsjon (oppfangning), for de aller meste kolloider (derav virus) diffusjon er dominerende over sedimentasjon og intersepsjon. Dette betyr at virusene inn i et advokterende væske transporteres til faststoff hovedsakelig via diffusjon (Heistad et al. 2008).

I følge CFT, forholdet mellom K_{att} , konstant feste hastighetskoeffisienten og festeeffektiviteten α , er gitt ved:

$$k_{att} = \frac{3(1-n)v}{2d_c} \eta_0 \alpha$$

Der n er porøsiteten, d_c er filtermedium kornstørrelsen (korndiameter) og η_0 er den enkelt oppfanger kontakt effektivitet. Det som er viktig her å nevne er at CFT forutsetter initial ren filter, stasjonær strømning og filtrering ($dc/dt \approx 0$) irreversible festing og en liten dispergering i forhold til adveksjon ($N_{Pe} = vx / D > 5$), hvilket betyr:

$$C(x) = C_0 \exp\left(-k_{att} \frac{x}{v}\right)$$

Der v er interstitiell porevannhastighet, X er filterpakke lengde, $C(x)$ og C_0 er henholdsvis utløps og innløpskonsentrasjoner.

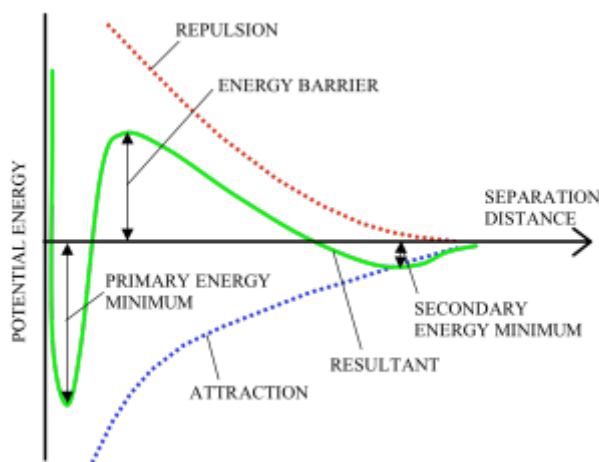
η_0 representerer massetransporten fra væsken til forfangeren, fraksjonen av advokterende kolloider slående (kolliderer med) forfangeren. α representerer overflatefesting, fraksjonen av kollisjoner som ender med festing. Det gjenspeiler nettoeffekten av frastøtende og tiltrekkende kreftene opptrer mellom forfangeren- og kolloid overflater (Schijven og Hassanizadeh 2000). den enkelte forfanger kontakt effektivitet η_0 kan beregnes ut fra sammenhengen ligningen nylig utviklet av (Tufenkji og Elimelek 2004). Som nevnt tidligere, for virus, diffusjonen komponenten av korrelasjonen ligning dominerer over sedimentering og intersepsjon, og den beregnede enkelt forfanger kontakt effektivitet i da gitt ved:

$$\eta_0 = 2.4 A_S^{1/3} N_R^{-0.081} N_{Pe}^{-0.715} N_{vdW}^{0.052}$$

N_R er størrelsesforholdet til partikkelen og forfangerdiameter d_p / d_c , er N_{Pe} Peclet nummer og N_{vdW} er van der Waals nummer. $N_{Pe} = d_c n v / D_{BM}$ og $D_{BM} = K_B (T + 237) / (3\pi d_p \mu)$, T er temperatur (K), er d_p viruspartikkelstørrelse, er K_B den Boltzmanns konstant, μ er dynamisk viskositet, er A_S Happel porøsitet avhengig parameter.

Basert på festerate koeffisienter avledet eksperimentelt og enkel forfanger kontakt effektivitet η_0 forfanger effektivitet (stikningseffektivitet) α kan beregnes. I følge kolloid filtrasjonsteori, α er uavhengig av hydrodynamiske effekter og en kan avlede fra, kan det benyttes for beregningen av k_{att} (og relative banebrytende konsentrasjoner C / C_0) for forskjellige sett av betingelser.

I den innledende beskrivelsen av teoretisk kolloid stabilitet, fremstilt av Derjaguin, Landau, Verwey og Overbeek løpet av 1940-tallet (DLVO teori), samspillet mellom kolloider og faststoffoverflater er beskrevet i form av interoverflate potensiell energi. Kraftene som virker på en kolloid på ulike separasjonsavstander fra den faststoffoverflate er illustrert i figur 1-4. Nettoresultatet av frastøtende krefter (dobbel lag frastøting og kort-rekkevidde frastøtende krefter) og forfangende krefter (London - van der Waals tiltrekning) bestemmer hvorvidt viruset partikkel erfaring frastøting eller attraksjon. I motsetning til de dobbelt lag interaksjoner, de attraktive Van der Waals krefter er ikke avhengig av løsning kjemi. Utenfor et ladet kolloid, en diffust-lag med mot-ioner fra væskemassen akkumuleres, for å balansere overflateladning. Den doble lag potensiell energi oppstår fra overlappingen av de diffuse dobbeltlagene som omgir de samvirkende kolloider (Ryan og Elimelek 1996). Den dobbelt-lag potensialet er påvirket av ionestyrke, overflate potensial og kolloid størrelse. Hvis kolloid og faststoffoverflate har motsatte ladninger, dobbelt lag vil også har motsatt ladning, noe som gir en forfangende dobbelt lag interaksjon.



Figur 1-4 Skjematisk DLVO overflate potensiell energi profil (Heistad et al.2008).

Ifølge (DLVO-teori) vil adsorpsjon av partikler i filtermateriale øke ved økt ionestyrke, fordi økt ionestyrke vil komprimere dobbeltlagene og dermed adsorpsjon på filtermedia favoriseres.

Potensialet som finnes ved grensen mellom sternlaget og det diffuse laget, kalles zetapotensialet. Zetapotensialet er et mål på størrelsen av elektrostatiske interaksjoner mellom ladede overflater, og representerer overflateladningen som forekommer i nærvær av en vandig løsning når funksjonelle grupper dissosierer på overflaten, eller når ioner adsorberes på overflater, fra løsningen (Grimstad 2015).

Hydrofobiske interaksjoner: Oppløste og partikkelformete organiskmateriale har en tendens til å konkurrere med virus for å feste seg til positivt ladet forfangende materiale (filtermateriale), og derved redusere viruset adsorpsjon (Gerba 1984 sitert i Heistad 2008). På den side bundet organisk materiale, kan tilrettelegge materiale for hydrofobe interaksjoner (Bales 1993). I hydrofobe interaksjon er tendensen av upolare stoffer (som er i mindre våt tilstand) å knytte seg hverandre i en vandig løsning. DLVO-teorien ble utvidet til å omfatte den hydrofobe effekten (van Oss 1989). Altså Lewis-syre-base-interaksjoner, som en komponent i den overflatespenning. Interaksjonen stammer fra hydrogenbindingsenergi av kohesjon av vannmolekyler. Testing av denne modellen på tre bakteriestammer mot tre forskjellige undergrunn (Meinders et al.1995) viste at produktet var kvalitativt godt prediktiv, men styrken av interaksjonen ble overestimert. De hydrofobe virkninger ble funnet å være viktig i å adsorbere MS-2, for å silikafilter behandlet med octadecyltrichlorosilane (en C18-forbindelse), og fraksjonen av organisk-karbon adsorpsjon (F_{oc}) var signifikant (Bales et al. 1991). De konkluderte med at hydrofobe interaksjoner kan være i størrelsesorden mer viktige enn elektrostatiske krefter i jord. I et eksperiment ble hydrofobe forfangelse funnet å være svakere enn forfangelsen av materialer som hadde mer jernoksyder (Moore et al., 1982). Hvis metalloksidrikt materialer, i praktisk bruk, er begrenset, den relative betydningen av hydrofobe interaksjoner kan være betydelig. De forbedrende og dempende innvirkningene av organisk materiale på virus festing, gjør det vanskelig å forutsi virus fjerning (Schijven og Hassanizadeh 2000 sitert i Heistad 2008).

Noen studier har forske på om at filtermedium metningsgraden har noe effekt på tilbakeholdelse og inaktivering av virus i vann, studier gjort av (Powelson og Gerba et al. 1994) viste at fjerning av virus ved filtrering under umettede forhold var tre ganger høyere enn fjerning av virus under mettede forhold. (Hurst et al. 1980) viste at inaktiveringsgraden av poliovirus 1 økte mens jordfuktigheten til en sandholdig jord økte fra 5 til 15 % og ble deretter redusert når jordfuktigheten økte fra 15 til 25 %.

Umettet strømningsforhold i filteret vil resultere i lengre kontaktid mellom mikrober og jordpartikler, som forbedrer effektiviteten av fjerning av patogener i filteret (Morales, Janet

og Jose et al. 2014). Mikroorganismene transporteres i vannfilmer som beveger seg ved gravitasjon og kapillærkrefter. Når vanninnholdet avtar vil kapillære krefter holde tilbake vannet i stadig mindre porer. I tørre og halvtørre miljøer vil mikroorganismer transporteres gjennom de minste porene. Dette øker sannsynligheten for fysisk filtrering og avsetning på partikkeloverflaten (Balkwill, Em, Dm et al. 1998).

1.4.1.1 Inaktivering

Grensesjikt mellom vann og luft i et filtermateriale i umettet strømning har vist seg å være svært effektiv for inaktivering av virus. (Schijven og Hassanizadeh 2000) la i sin artikkel frem forskning gjort av (Rossi 1994) hvor han viste at inaktiveringen av virus økte ved sterk omrøring. Gjennom sterk omrøring har viruspartiklene en høyere sannsynlighet for å komme i kontakt med luft-vann-grenseflaten. Tilsetningen av organisk materiale (trypton, huminsyre) mettet luft-vann-grenseflaten, og dette minsket sjansen for at viruspartikler kom i kontakt med luft-vann-grenseflaten. Dette resulterte i en redusert inaktiveringshastighet.

Tilsetning av attapulgittleire resulterte i meget hurtig binding av viruspartikler til leirpartiklene, som minsket sannsynligheten for å komme i kontakt med luft-vann-grenseflaten enda mer, og det ble observert en enda sterkere reduksjon av inaktiveringshastigheten. Det ble derfor antatt at kontakt med luft-vann-grenseflaten øker inaktiveringen.

De la også frem studier gjort av (Powelson et al. 1990) som viste av MS2 hverken var adsorbent eller inaktivert i en mettet 1 m kolonne med en leiret fin sand, da utløpskonsentrasjonen var lik innløpskonsentrasjonen etter bare to porevolum. I en kolonne, under umettede forhold, ble utløpskonsentrasjonen derimot betydelig redusert. Ved analyse av jordprøver fra umettet kolonne, viste det seg at MS2 absorberte dårlig, men ble fjernet gjennom økt inaktivering. Schijven og Hassanizadeh (2000) viste også til Powelson og Gerba (1994) sine forsøk som viste at ved kolonner under umettede betingelser var fjerning av MS2, PRDI og poliovirus 1 mer enn tre ganger så høy som under mettede betingelser. Disse resultatene antydte at luft-vann-grensesnittet kan tilbakeholde og/eller inaktivere virus ved transport gjennom umettet jord.

Da (Jin et al. 2003) undersøkte rollen umettede strømning hadde på virustransport i sand, viste resultatene imidlertid at mekanismene for den økte fjerningen ved umettet strømning kan være forskjellig for ulike virus. Jin et al. brukte i sin studie bakteriofagene MS2 og ϕ X174. Den samme prosentandelen av ϕ X174 ble gjenvunnet i både den mettede og umettede kolonnen, som indikerer at den økte fjerningen av ϕ X174 under umettede betingelser skyldes

økt adsorpsjon. Ved tilsetning av oksekjøttetraktløsning for å utløse adsorberte stoffer var det like effektivt for mettede og umettede kolonner. En svært ulik atferd ble imidlertid observert for MS2. Mens massebalansen av MS2 fra den mettede kolonnen var lik den i φX174, kunne mesteparten av den tilbakeholdte MS2 i umettet kolonne ikke gjenvinnes ved eluering med oksekjøttetraktløsning. Dette indikerer en inaktivering fremfor økt adsorpsjon. pH-verdien, der netto overflateladning for virus er i null, blir kalt det isoelektriske punktet. På grunn av MS2 sitt lave isoelektriske punkt (pHis=3.9) ville det være mer sannsynlig at MS2 ble «presset» mot det hydrofobe luft-vann-grensesnittet sammenlignet med φX174 (pHis=6.6), og derfor skjedde det mest sannsynlig en ytterligere fjerning av MS2 ved luft-vann-grensesnittet. Den lave utvaskingen av MS2 ved eluering med oksekjøttetraktløsning støtter dette. Det viser seg altså at det isoelektriske punktet til ulike virus kan påvirke graden av inaktivering ved umettet strømning.

I tillegg inaktivering av virus via filtrasjon/sorpsjon kommer mikrobielle effekten inn i biofiltersmedium, etter at biofilmen har dannet seg. Kim og Unno 1996 funnet at i aktivertslam prosesser med blandingskultur av bakterier og protozoa, eller bakterier og metazoa, virusfjerningen var observert til å følge to førsteorden prosesser. I det første steget, virus var fjernet fra våt-fasen via adsorpsjon inn i flokkene, mens i andre steget virus blir fjernet via predasjon av de andre mikrober f.eks. protozoer eller metazoer. Foruten sekreter fra mikroorganismer kan ha også noen betydning for inaktivering av noen virus. F.eks. tilstedeværelsen av protease i lave konsentrasjoner inaktiverte Cox-A9-virus, men hadde ingen effekt på Polio-1, hepatitt A og MS2 virus. Extra-cellulære enzymer fra *Pseudomonas aeruginosa* inaktivert både Cox-A9 og hepatitt A, men ikke Polio-en og MS2 (Heistad et al. 2008).

1.4.1.2 Inaktiveringskinetikk

For å kunne beskrive inaktivering av mikroorganismer, er det vel ønsket om at man kan ha en matematisk modell som egner seg til dette formål, dette for å forutsi noe om mengde organisme som blir inaktivert. En forenklet modell er en førsteordens differensiallikning (Chicks lov). Denne sier at inaktiveringsraten er proporsjonal med konsentrasjon. Denne modellen antar at alle individer i populasjonen har samme følsomhet for inaktiveringsmekanismen.

$$\frac{dC_t}{dt} = -kC_t$$

Der

(dC_t/dt) er inaktiveringsraten, k er en inaktiveringskonstant og C_t er konsentrasjonen ved tid t .

Modellen kan skrives om til formelen for konsentrasjonen ved tid t:

$$C_t = C_0 e^{-kt}$$

C_0 er konsentrasjonen ved start ($t=0$). Formel kan da videre omformes til formelene:

$$\ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right) = -kt$$

$$\log_{10}\frac{C_t}{C_0} = -\frac{kt}{\ln 10}$$

1.5 Oppgavens omfang og mål

Til tross for at gråvann inneholder mindre patogene mikroorganismer enn svartvann, så er det viktig å behandle det for å unngå spredning av overførbare sykdommer, spesielt på tanke om sårbare overflate vannforekomster, men også grunnvann.

Et minirensesanlegg kan være løsningen, da som nevnt før er den beste måte å håndtere gråvann i kildeseparasjonsanlegg, både med hensyn på kostnad effektiviteten og total lønnsomheten. Ecomotive AS sammen med NMBU (gjennom støtte fra YETS AS) har tidligere utviklet et minirensesanlegg som heter A01, som videre utviklet til både A02 og senere til A03. Oppgavens hovedmålet har derfor vært å teste det nye anlegget, altså A03, for de hygieniske barrierer deriblant virusfjerningen i dette anlegget.

Denne oppgaven her skal ta for seg å fokusere på virus oppførsel gjennom Ecomotive A03 gråvannsrensanlegg. Viruset som skal tas på undersøkelsen som modellvirus er Salmonella typhimurium fag 28b (S.t.28b) som indikator for enteriske patogene virus. I tillegg skal rensesanlegg testes for variasjon av både volumfluksen av gråvannet og de andre konsistens (fysisk og kjemisk) parametere (total fosfor, E.coli, total tørrstoff, BOD, COD, m.m.) i gråvann, og vil se om disse parametere kan påvirke systemets rensesgraden i forhold til virus.

1.5.1 Problemstilling

Oppgavens problemstilling er som følger:

- Er ekstern slamavskiller bedre egnet for å redusere/ inaktivere mikroorganismer og virus enn tidligere Ecomotive gråvannssystemer (A01 og A02). Dette er spesielt med tanke på økt mengde vann som skal renses gjennom Ecomotive A03.

- Har formen av slamavskiller noe å si i forhold til rensegraden gjennom systemet.
- Er Salmonella typhimurium fag 28b passende modellvirus for å studere inaktivering av enteriske virus, eller om det bør forsøkes med andre modellvirus.
- Er biofiltrets tilbakeholdelse /inaktiveringsevne bedre ved starten av å belaste biofilter, eller om det er forholdsvis bedre ved at biofilmen har dannet seg på filtermateriale.

2 Material og metode

Dette kapittelet skal handle om å beskrive første Kaja- student bolig kildeseperasjonsanlegget for avløpsvann, deretter vil det også gå inn i beskrivelsen av Ecomative A03 anlegget. Til slutt kommer en gjennomgang av den generelle metoden for å propagere og telle virus, samt tørrstoff, total fosfor, COD, COD_s, BOD₅ og E.coli analyser.

Forsøkene skal gjennomføres på Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU). Testing av Ecomative- A03 for virus hygienisering vil bli gjennomført på en konteiner, som er plassert i bakgården til vann- og avløpslaboratoriet på TF fløy IV. Tørrstoff, total fosfor, COD, COD_s, BOD₅ og E.coli analyser vil bli holdt på vannlaboratoriet på TF fløy V. Virus propagering og tellingsanalyser vil bli holdt ved IKBM på NMBU.

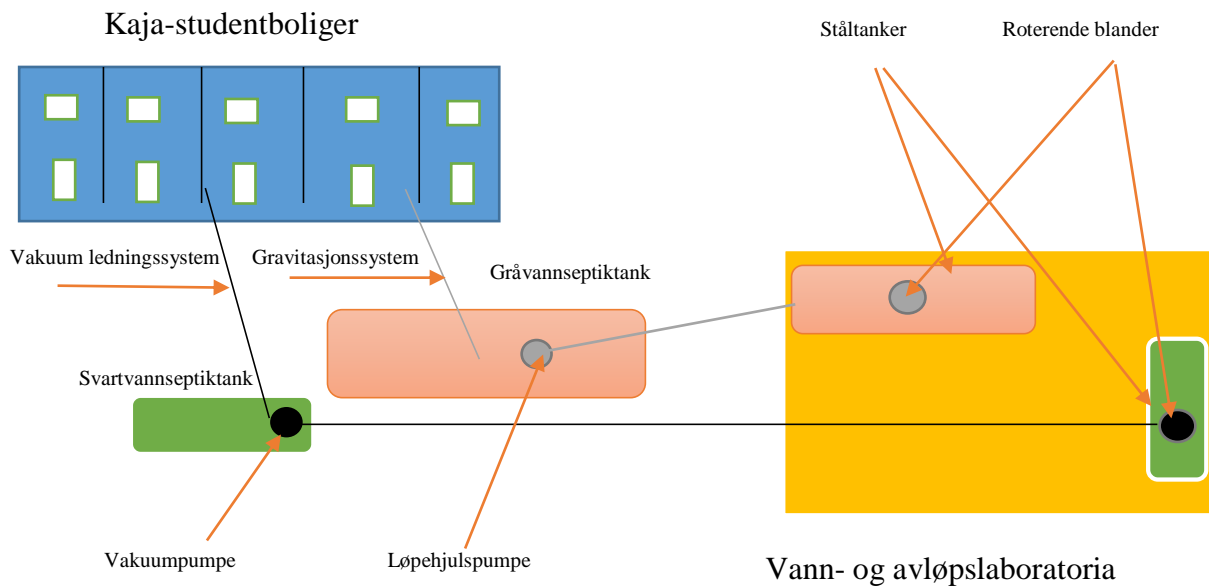
Viruskonsentrasjonen i prøvene funnet som antall plakkformende enheter (pfu) pr. volumenhet. Plakkformende enheter er et mål på hvor mange virus i løsningen som danner plakker i et lag av bakterier. Det registreres med andre ord antall virus som er i stand til å infisere verten, og ikke et absolutt tall på antall virus i løsningen.

Dobbelagar-metoden er benyttet for å kvantifisere virus, og følger metodene beskrevet i Allestam og Carlander (2000) og ISO-standard 10705-2:2000 (ISO 2000), men med noen unntak. Prinsippet er å støpe en blanding av fortynnet agar (softagar) med vertskultur (bakterier) og prøven på en petriskål (forhåndstøpt med agar). Bakteriene vil vokse og danne et lag på agaren. Virusene i prøven vil infisere bakteriene, og danne plakk (steder hvor bakteriene ikke vokser). Antall plakk kan telles etter en bestemt inkubasjonstid.

2.1 Kildeseperasjon for avløpsvann ved Kaja- studentbolig

Gråvann og svartvann som brukt i flere forskninger er hentet fra en permanent bebodd studentbolig med 24 leiligheter og totalt 48 studenter. Som figur 2-1 viser gråvannet som samles via et tradisjonelt gravitasjonsavløpsledningssystem. Svartvann samles ved hjelp av et vakuum avløpssystem med integrert kvernepumpe (Vacuumator 25 MB™, Jets, Hareid, Norge). Spylevolum av toalettet er 1,2 liter. Gråvann pumpes direkte fra innløpskammeret fra septiktanken til en 1500-liter stållagringstank i laboratoriet. Den rå Svartvann oppsamles i en 500-liters tank og pumpes via en 150 m overføringsrøret (40 mm i diameter) inn i en 700-liters stållagringstank i vann- og avløpslaboratoriet på TF fløy IV. Begge lagertanker er utstyrt med en lav hastighet (30 rpm) roterende blander. Total oppholdstid av avløpsvannet i overføringsrøret og buffertanker er estimert til å være i området av 36-48 timer for begge

avløpsstrømmer. For overføring det til laboratoria, løpehjulspumper med stor åpning størrelse (Tsurumi 40U) er installert for å minimalisere potensielle innvirkninger på partikkelstørrelsesfordeling (Todt 2015).



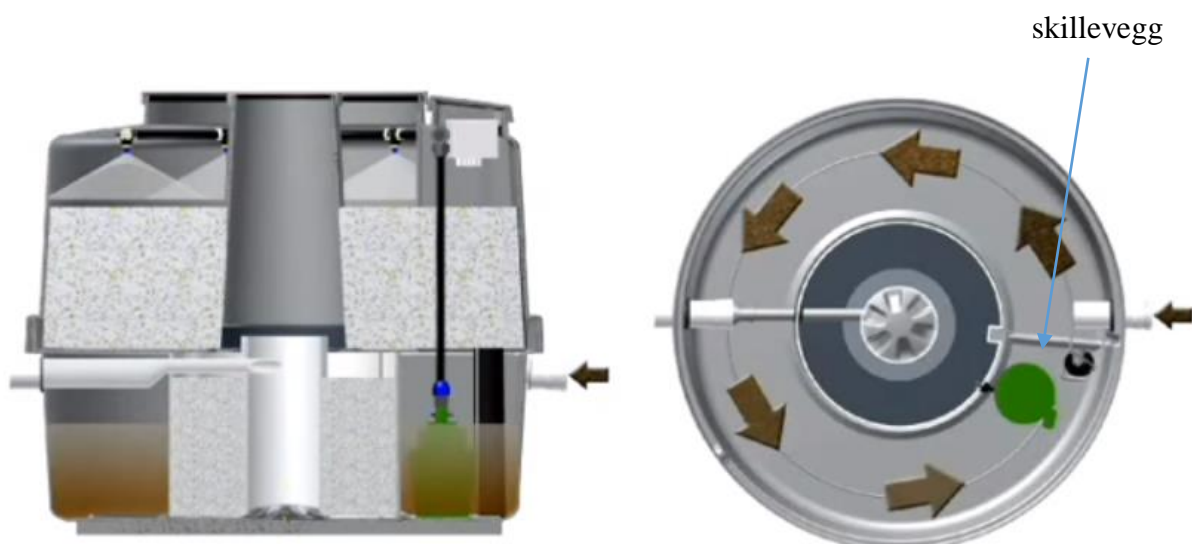
Figur 2-1 Kildeseparasjon for avløpsvann ved Kaja- studentboliger

2.2 Ecomative gråvannrense anlegg

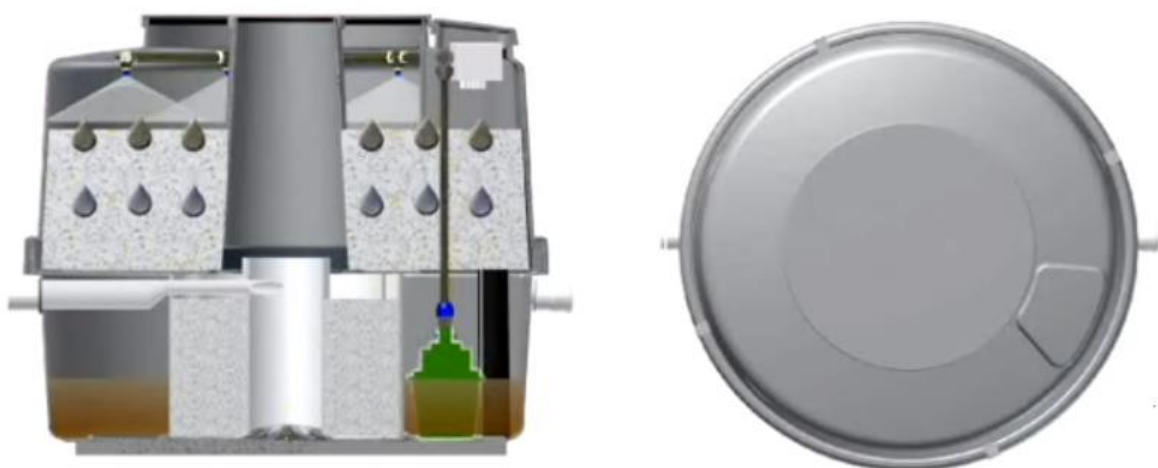
Ecomative AS i samarbeid med både JETS AS og Norges miljø og biovitenskapelig universitet (NMBU), har i senere år utviklet et gråvannminirensesanlegg, som denne gangen ble kalt A01.

Ecomative A01 var tenkt for å rense gråvann for hytter, med inntil 9 personer og med 650 liter nominell belastning og maksimum belastning av 900 liter. Gråvannet kommer inn i Ecomative A01 via innløpsrør av 110 mm. i diameter. Først går vann i en sirkulær strømning inn i primær sedimenteringskam se figur 2-2. når vannet oppnår et bestemt nivå pumpes vann opp til biofilter ved hjelp av en pumpe (se også figur 2-3) som er dykket inn i sedimenteringskam (TOP MULTI) se vedlegg A for pumpe spesifikasjoner. Etter at vann ble filetert gjennom biofilteret går det til en annen kam, denne kammen er fylt med filtermaterial som sørger for å filtrere resterende partikler i vannet for det slippes ut. Etter biofilterkammen går vann inn i en slags sekundær sedimenteringskam, deretter via et filterfylt innløp til ferdig rensset gråvann inn i, før vann utelater A01 via et utløpsrør som er på 110 mm diameter, se figurene 2-4-2-6.

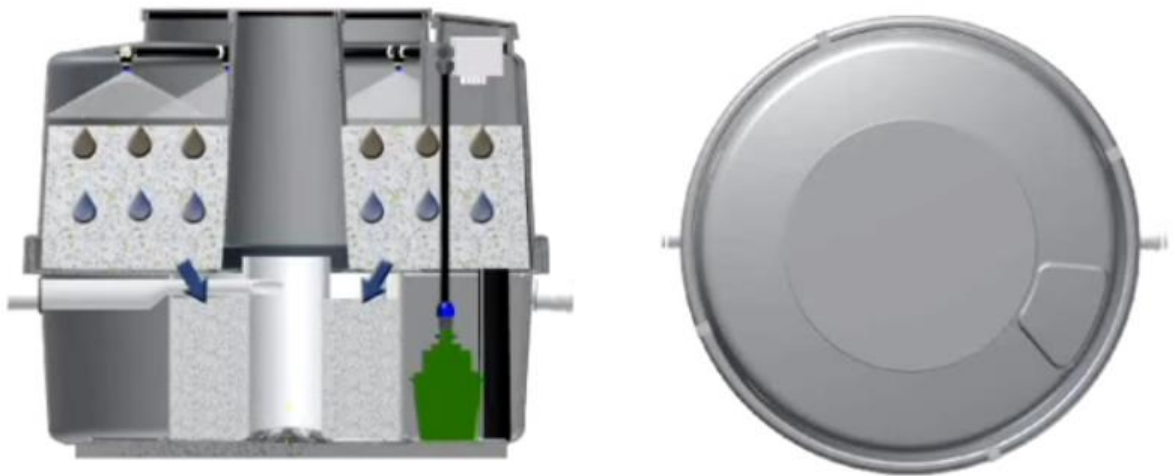
I senere tid ble A01 modifisert til A02, da A01 hadde noen blokkeringsproblemer blant annet ved biofilter på grunn av at det ble brukt filtermaterialer av mindre kornstørrelser i toppen av biofilter, som ble fort blokkert og måtte ble skiftet fortere enn man regnet med.



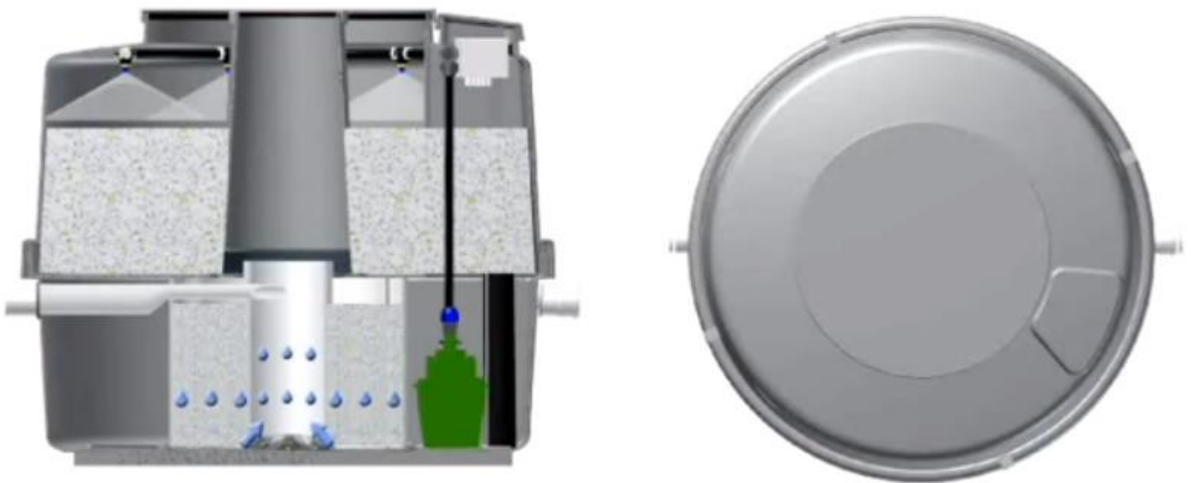
Figur 2-2 Ecomative A01 sirkulær strømning i den primære sedimenteringskammen.



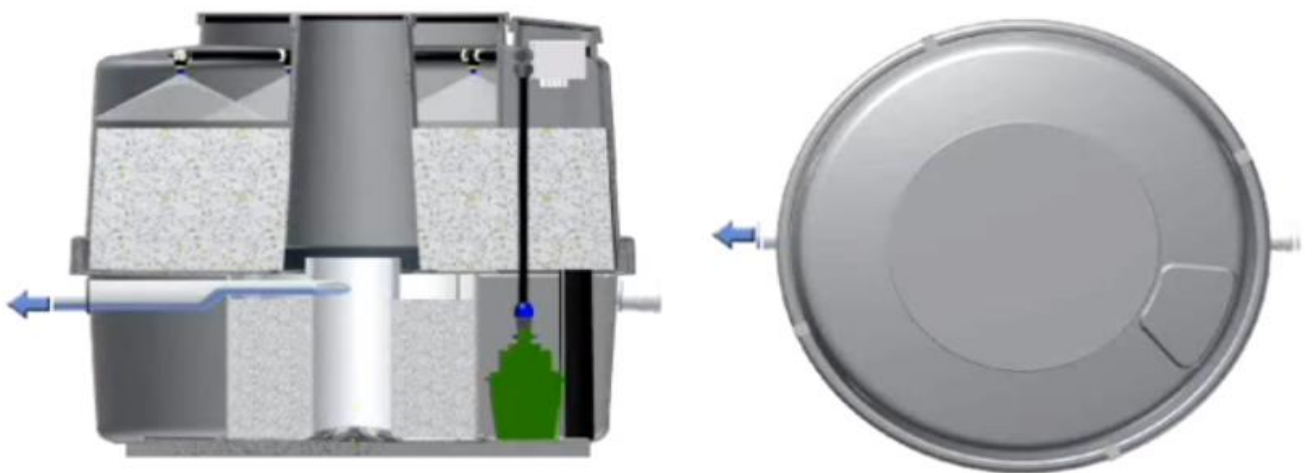
Figur 2-3 Ecomative A01 Gråvann pumpes til biofilter.



Figur 2-4 Ecomativ A01 gråvann forlater biofilter til den sekundære sedimenteringskam.

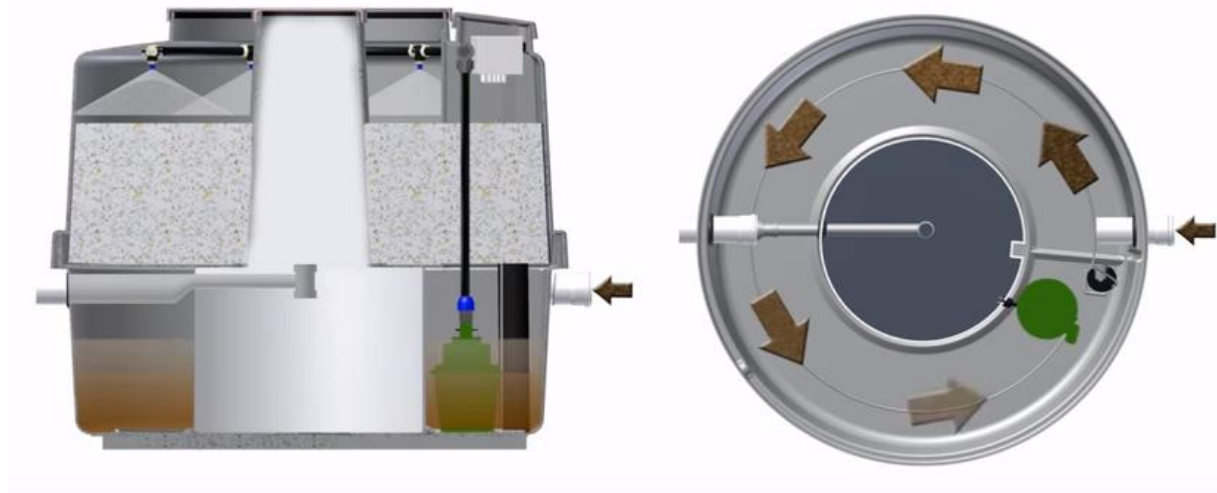


Figur 2-5 Ecomative A01 rensset gråvann går fra den sekundære sedimenteringskam til et rør i midten av A01 via filtermateriale på bunnen av kammen.



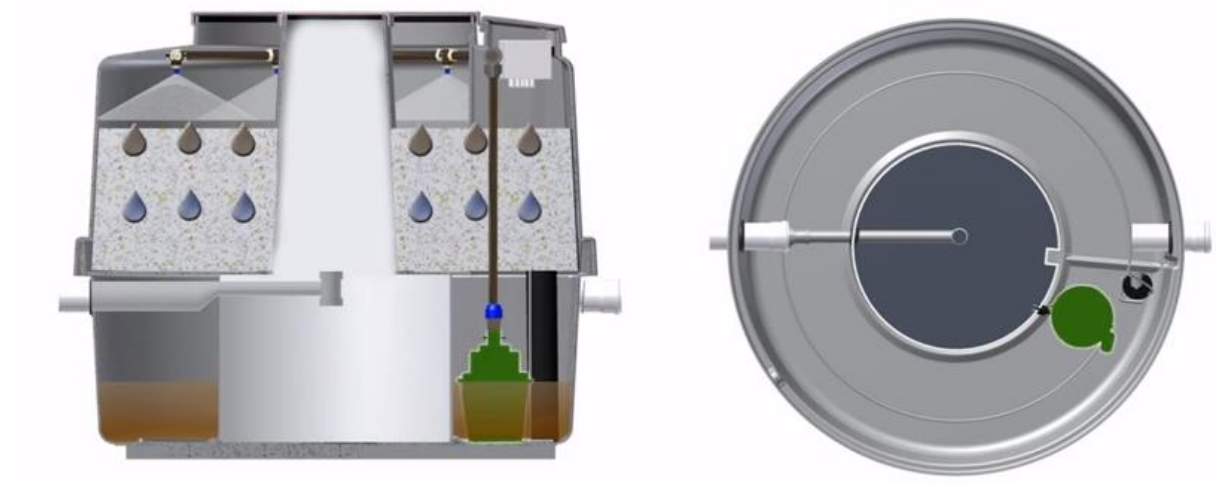
Figur 2-6 Renset gråvann forlater Ecomative A01 via utløpsrør.

A02 er en modifisert versjon av A01, Da er det slikt at biofilter massen erstattet med større kornstørrelse på toppen av biofilteret. I tillegg ble sekundær sedimentering kam større, da den tok over plassen til den midterste røret i A01, noe som gi bedre sedimenteringsprosess ved å øke oppholdstiden i kammen. Mens det ble mindre filtrering, da effekten av den filtermassen i den midterste røret er fjernet, dette som tidligere nevnt grunnet blokkering i det filteret i A01.



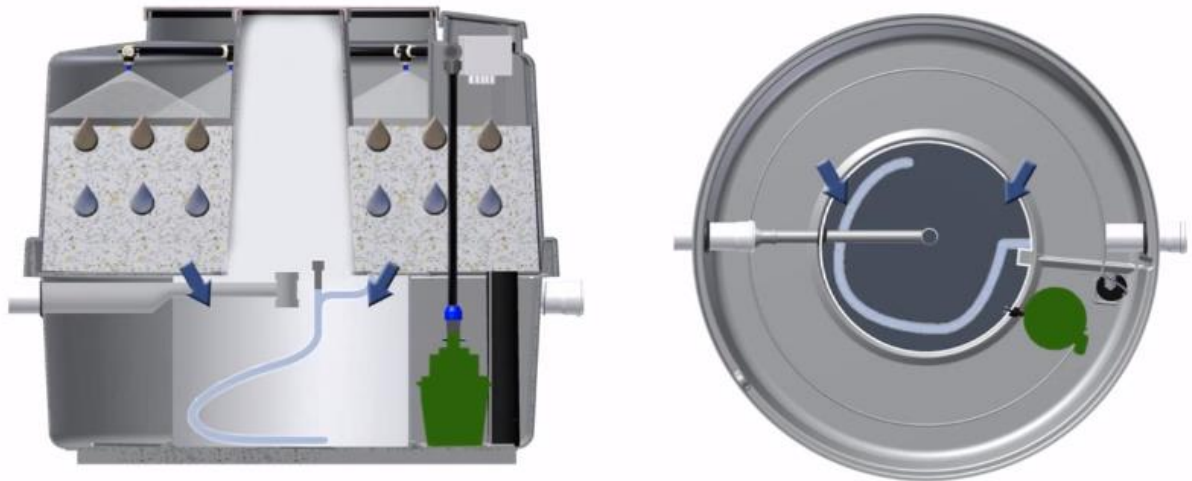
Figur 2-7 Ecomative A02 sirkulær strømming i den primære sedimenteringskammen.

Figur 2-7 viser hvordan gråvannet kommer inn i A02 ved innløpet, og deretter samme som det gjør i A01, går vannet i en sirkulær sedimenteringskam før det når et bestemt nivå. Etter at vann nivå stiger til et nivå som er bestemt av pumpen, pumpes vannet til biofilter. Se figur 2-8.



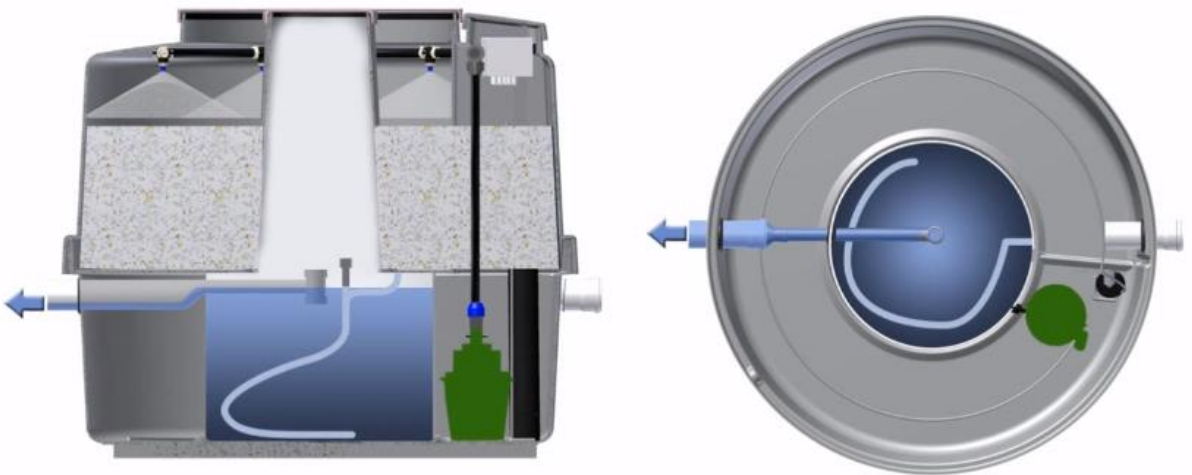
Figur 2-8 Ecomative A02 pumpe pumper vannet til biofilter.

Etter at gråvannet har passert biofilteret går vannet til sekundære sedimenteringskam, via en slange som er festet på den ene enden til bunnen av biofilterkammen, og på den andre ende til bunnen av den sekundære sedimenteringskammen og som vist i figur 2-9.



Figur 2-9 Ecomative A02 Gråvannet passerer biofilteret og går til den sekundære sedimenteringskammen via en slange.

Etter at rensset gråvann kommet til et nivå som er høyere enn utløpsrøret, går vannet ut av A02 via dykket overløp rør, se figur 2-10, dette for å sikre unngåelsen av flyteslam som kan strømmer ut i utløpet til A02 sammen med rensset gråvann.



Figur 2-10 Ecomative A02 dykket utløpsrør.

Det som er viktig å påpeke her er at A01 var opprinnelig tenkt å være et anlegg som dekker behovet til en hytte eller fritidsbolig, mens A02 er egnet for rensing av gråvann fra helt vanlig heltidsboliger med inntil 9 personer, med maksimal belastning med 900 liter/døgn.

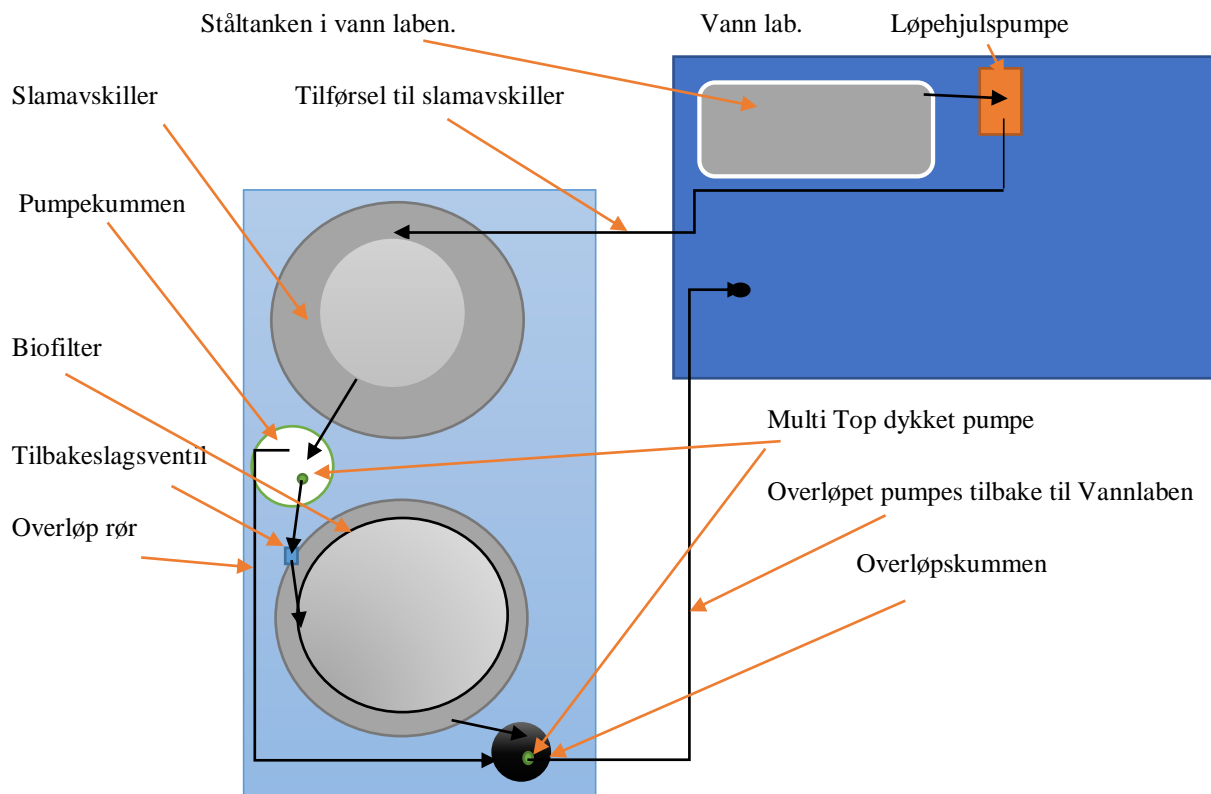
2.2.1 Ecomative A03 gråvannrensaneanlegg

Som tidligere nevnt A01 og A02 er tenkt å rense gråvannet fra en enkel hytte (A01) eller et enkelt hus (A02), mens A03 som er under testperiode nå, er beregnet for å betjene opptil 50 person ekvivalenter. A03 anlegget består av en stor nok slamavskiller, pumpekummen utstyrt med en Multi top pompe, 1-8 biofiltre som kan kobles parallelt sammen, alle med sekundære

sedimenteringskammer. I test perioden skulle man satse på å ha kun et biofilter på grunn av plass mangel og for å kunne enklere håndtere det.

2.2.1.1 System beskrivelse

Gråvannet pumpes av ståltanken (som er beskrevet i avsnitt 2.1) via en løphjulspumpe i vannlab. som styrt av en PLS som er stasjonert også i vannlaben, og styrer blant annet også A02 system som kjøres parallelt og samtidig med A03 system, som server andre forsøk som foregår i vannlaben. Gråvannet går først til en slamavskiller som står på en kontainer utenfor vannlaben sammen med andre komponentene til A03 anlegget som er plassert på den samme kontaineren. Slamavskilleren er bygd på kroppen av A02 med 2 kammer og romer 2.4 m³ vann. Vannet går inn i yterste kam først, og etter at det er fult går vannet gjennom et rør fra toppen av det yterste kammet til bunns av det midterste kammet. Etter at gråvannet har kommet til et bestemt nivå, så går vannet ut av slamavskilleren, via et dykket rør, til pumpekummen som er neste steget. Pumpekummen er som tidligere nevnt utstyrt med en Multi Top pumpe. Pumpingen her er sekvensstyrt av både PLS-en i vannlaben. og vannnivå i pumpekummen, dvs. når vannet kommer til et nivå over pumpens klar nivå, så gir PLS tidsbestemt strømtilførsel til pumpen slik at den starter å pumpe (for dette skal skje uten støttbelastningen på dysene i biofilteret åpner PLS tilbakeslagsventilen ca. 2 sekunder før pumpingen og stenges igjen ca. 2 sekunder etter at pumpe stoppet). Gråvannet som er pumpet fra pumpekummen spres i 120° over biofilteret ved hjelp av dysene som er plassert på toppen av biofilteret, og som er montert på innesiden av topdekkselet til A03 (akkurat på samme måten som i både A01 og A02) se figur 2-8. gråvannet som pumpe klarer ikke å pumpe blir rent ut av pumpekummen til overløpskummen, som blir pumpet tilbake til vannlabens avløpsrør etter at den blir fult. Etter at gråvannet passert biofilteret lir den først rent ut til sekundære sedimenteringskammen og deretter til yterste kammen (som opprinnelig var den primære sedimenteringskammen i A01 og A02). etter at vannet kommer til et bestemt nivå går så rensset vann ut av A03 via et dykket utløpsrør. Rensset gråvann går deretter til overløpskummen for å kunne pumpe det tilbake til avløpet i vannlaben. Se også figur 2-11.



Figur 2-11 Ecomative A03 system flytskjema.

2.3 Prøvetaking

I perioden 24.02.2016- 14.03.2016 prøvene er tatt kun fra ståltanken og etter slamavskiller, dette på grunn av at teknisk installasjoner (PLS) var enten ikke i plassen eller fungerte ikke som de skal. I denne perioden gråvannet ble analysert kun for SS (suspendert solid), total COD, flyktige COD, BOD, E.Coli (unntatt 24.02.2016), total koliforme (unntatt 24.02.2016) og total fosfor. Men etter at PLS fungerte den 14.03.2016 og til 28.03.2016 ble prøvene analysert for tre forskjellige punkt, nemlig rågråvann fra ståltanken, gråvannet etter slamavskiller og vannet fra utløpet av A03. I perioden her vannet ble analysert for alle ovennevnte testparametere. Den 30.03.2016 ble det satt en prøvetakingslange inn i biofilter, for å kunne analysere vannet inn i biofilteret, og dermed gråvannet ble testet i fire forskjellige punkt rågråvann fra stål tanken, etter slamavskiller, vannet i biofilteret og vann ut av A03 anlegget. Dette vart frem til siste prøvetakingsdag nemlig 12.04.2016, og vist av resultater på kapitel (3).

2.4 Virus tilsetning og analyse S.t.28b

2.4.1 Virustilsetning

For å kunne tilsette riktig mengde med virus som tilslutt kan telles og analyseres, burde man gjette på hvor mye av virus mengde kan forventes å bli fjernet og/eller inaktivert gjennom hvert enkelt rensetrinn og totalt renseseffekten, slik at en kan forutsi tilsetningskonsentrasjon av virus til system, noe som vil gjenspeiler seg ved virussteling (tellbare virus individer). I denne forbindelsen blir det antatt at i slamavskiller trinnet vil det være i stand til å fjerne $0,1 \log_{10}$, $2 \log_{10}$ i biofilter trinnet og $0,1 \log_{10}$ reduksjon i det siste rensetrinnet altså den sekundære sedimenteringskummen. Dermed blir antatt total reduksjon på $2,2 \log_{10}$, noe som tilsier at virus tilsetningskonsentrasjon bør være $10^{1+2,2}$ virus/ml gråvann i innløpet av A03 anlegg. Dette i praksis betyr at det bør tilsettes:

$$10^{3,2} \text{ virus/ml} = 10^{6,2} \text{ virus/l gråvann.}$$

Og utfra det som ble daglig målt av tilførsel av rågråvann som pumpes fra ståltanken og inn i A03 system som lyder på ca. 1800 l/døgn, så blir regnstykke følgende:

$$\text{Antall virus som må tilsettes daglig} = 1800 \text{ l/døgn} * 10^{6,2} \text{ virus/l} = 1,8 * 10^{9,2} = 2,7 * 10^{10} \text{ virus/døgn.}$$

Med stakk konsentrasjon på $2,4 * 10^{10}$ virus/ml vil dette betyr at det må tilsettes ca. 1,125 ml/døgn.

I praksis er det veldig vanskelig å kunne tilsette så lite mengde til dette volumet av gråvannet i løpet av et helt døgn. Dermed er det uunngåelig å fortynne virusløsningen slik at det vil være enklere å tilsette den til gråvann med det store volumet, selv om dette kan ha noe usikkerhet som er tilknyttet inaktivering av virus grunnet uforutsigbare forhold (som f.eks. temperatur osv.), men samtidig dette er den eneste måte for å løse dette problemet med.

For kunne anslå hvor mye vann det trenges for å fortynne virusløsning med, må en først vite hvor mye doseringspumpen kan levere pr. tidsenhet. Deretter er nødvendig å vite total gangtiden for pumpen som leverer gråvannet til A03 i løpet av et døgn, gitt at begge pumpene skal ha samme pumpesekvensen, da de skal kobles til samme kontakt på PLS-en. Gangtiden er blitt registrert tidlig av Danial Todt i forbindelse med sitt tidligere arbeid med programmeringen av den samme pumpen i den samme type PLS-en, se tabell 2-1 for forklaring.

Tilførsel A03				
On	off	load per pulses (liter)	number of pulses	total load
200	5	19,4	35	683
16	48	1,6	169	263
33	36	3,2	157	502
16	48	1,6	169	263
265			1710	

Tabell 2-1 Ecomative A03 hoved pumpens gangtid og gråvannmengder.

Her ser en at det er 265 min/døgn er total gangtiden for innløpspumpen. Mens doseringspumpe klarer å levere 10 ml vann i 5 min og 42 sekunder dvs. ca. 5,7 min, noe som gir følgende:

$$Q_D (\text{ml/min}) * \text{total gangtid (min/døgn)} (\text{som er den samme for begge pumpene}) = Q_D (\text{ml/døgn})$$

$$Q_D (\text{ml/døgn}) = (10/5,7) * 265 = 465 \text{ ml/døgn.}$$

Slik at dosering bør ha en 1,125 ml av virus stokk konsentrasjon til 465 ml vann pr. døgn.

2.4.2 Analyse av *Salmonella typhimurium* fag 28B

Alle virusprøvene er sendt til IKBM på NMBU for analyseringen. Plakktelling er en standard statistisk metode for å estimere konsentrasjoner basert på plakktelling av bakterielle kolonier (cfu) eller virusplakker (pfu). Dette gjøres ved å ruke informasjonen fra alle plakkene, både tellbare (inkuldert null-plakker) og ikke tellbare (for mange til å telle). Denne metoden er kjent med navn dobbelagar-metoden og er beskrevet i Allestam og Carlander (2000).

2.4.2.1 Propagering

Virusene som ble brukt til Ecomative A03 testing ble propagert av Torbjørn Friborg i januar 2015, i forbindelse med sin master oppgaven, og disse var oppbevart i kjøleskapet (4°C) siden det. Virusløsningen var opprinnelig $4 * 10^{10}$, men det vist seg å være kun $2,4 * 10^{10}$ nå før virus analysene tok sted.

2.4.2.2 Virus telleing

Prinsippene for denne metoden er beskrevet i introduksjonen til metodekapittelet. For å bestemme konsentrasjonen av S.t.28b ble virusene dyrket i petriskåler med *S. typhimurium* type 5 som vertsbakterie. Antall virus ble bestemt ved å telle antall plakk i bakterielaget som

viste seg etter 18 timer inkubering. Gjennomføringen fulgte dobbelagar-metoden som er beskrevet i Allestam og Carlander (2000), men med noen unntak. Unntakene gjelder spesielt punkt 1,2, 4 og 5. Flere kolber med vertskultur ble laget til dersom mange prøver skulle dyrkes.

Materialer:

1. Erlenmeyerkolber (300 ml) med 75 ml KPG-næringsmedium (autoklavert)
2. UGB-flasker med 9 ml fysiologisk saltvann (0,9 % NaCl) (autoklavert)
3. Softagar
4. Sentrifugerør (15 ml, Greiner)
5. Petriskåler (9 cm, Heger AS) forhåndsstøpt med 18 ml KPG-agar

Prosedyre:

1. 100 µl vertsbakteriekultur ble overført til 75 ml KPG (forvarmet til 37 °C) og satt til inkubering i vannbad (37 °C, med risting 100 rpm) over natten (18 ± 4 timer).
2. Dagen etter ble det laget en 1:10 fortyning av denne, ved å overføre 8,33 ml fra overnattenkulturen til en ny kolbe med 75 ml KPG (forvarmet til 37 °C). Denne ble inkubert i 4-6 timer, avhengig av hvor lengde det var til prøvene var klar til å dyrkes.
3. Prøvene ble fortynnet i fysiologisk saltvann slik at den antatte viruskonsentrasjonen var 40 – 400 pfu/ml.
4. Flasker med 100 ml softagar ble kokt i 30 minutter, og satt til avkjøling i varmeskap (55 °C). Når softagaren var avkjølt, ble 4 ml softagar helt i sentrifugerør (15 ml), og satt tilbake i varmeskapet.
5. 0,5 ml prøve og 0,5 ml vertsbakteriekultur ble tilsatt i røret og blandet. Hele innholdet ble helt på petriskåler med KPG. Det ble laget to skåler av hvert fortynningssteg som skulle dyrkes.
6. Petriskålene tørket med lokket delvis av, til kondensen på lokket var borte, før de ble pakket i plast og inkubert opp-ned i varmeskap (37 °C) i 18 ± 4 timer.
7. Petriskåler med under 300 plakk ble telt, hvert plakk ble antatt å stamme fra ett virus i prøven.



Figur 2-12 Dobbeltlagar metode.

2.5 Suspendert tørrstoff analyse

Suspendert tørrstoff (SS) er partikler som holdes flytende i vannet, og som kan filtreres ut. For å finne suspendert tørrstoff innhold i prøvene ble 100-200 ml av vannprøvene i hver av de fire prøvepunktene (rågråvann fra ståltanken, gråvann ut av slamavskiller, vannet ut av biofilter og vannet ut av A03 anlegget) filtrert gjennom 1,2 μm glassfiberfilter og tørket i minst 2 timer.

Materialer:

Aluminiumformer (Ø5,5 cm)

Vakuumpumpe (VWR VP86) med filteroppsats

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

Tørkeskap (Termaks)

Vekt (Mettler AT200)



Figur 2-13 viser de materialer som brukt i SS analysene.

Prosedyre:

1. Tørker et filter sammen med sin aluminiumform i tørkeskapet for minst 1 time før filtreringen skal skje.
2. Tørt filter ble veiet sammen med sin aluminiumform.
3. 100-200 ml avhengig av vannkvaliteten, vannprøve ble filtrert gjennom 1,2 µm glassfiberfilter.
4. filteret ble tørket i tørkeskapet (105 °C, til minst 2 timer), og veiet deretter.
5. Suspendert tørrstoff ble regnet ut etter følgende formel:

$$SS \left(\frac{g}{l} \right) = \frac{\text{vekt tørt filter med prøve (g)} - \text{vekt tørt filter (g)}}{\text{volum filtrert (l)}}$$

2.6 Turbiditet

Små (kolloidale) partikler i vann gjør vannet grumsete (turbid), og dersom det i slikt vann er mindre viktighet å vite fordelingen av partikkelstørrelsene, men viktigere å vite hvor mye partikler man har (dvs. hvor grumsete vannet er), benyttes vanligvis turbiditet som måleparameter. Turbiditet måles i FTU (Formazine Turidity Units) eller FNU (Formazine Nephelometric units). Turbiditeten ble målt kun i A03 utløp (ferdig renset vann), da er det slikt at turbiditet er tenkt å anslå hvor godt vannet er renset.

Materialer:

1. Vannprøver
2. Turbidimeter (HACH LANGE 2100 Q IS)



Figur 2-14 Viser Turbidimeter av type HACH LANGE 2100Q IS.

Prosedyre:

1. Glassflasken til instrumentet renses med destillert vann og tørkes før vannprøven settes til.
2. Glassflasken fylles med prøvevannet til det bestemte nivået på flasken, settes flasken deretter inn i turbidimeter og leses av.

2.7 Total fosfor analyse

Fosfor i avløpsvann (derav gråvann) finnes både i organisk bundet form og uorganisk fosfor som igjen kan deles i to typer, nemlig orthofosfater og polyfosfater. Total fosfor er et uttrykk for alle disse bestanddeler av fosfor samlet, og er en vesentlig test parameter for hvor godt er avløpsvannet er renses for fosfor, i og med fosfor er normalt ikke representert i de naturlige miljøer, bortsett fra jordbruk relaterte områder.

Materialer:

1. Test-Kit LCK349 0-10 mg/l
2. HACH LANGE LT200 varmebad
3. HACH LANGE DR3900 laser avleser
4. 2 ml av prøvevannet
5. Pipetter av forskjellige størrelser



Figur 2-15 Viser bilder av HACH utstyrene for både COD og total fosfor test-Kitene.

Prosedyre:

1. 2 ml av tilsettes til flasken (test -kit), og snur man korken av flasken og lukker den, deretter rister man flasken flere ganger for å sikre at reagensmiddelet på korken.
2. Flasken settes inn i HACH LANGE LT200 varmebadet i 100 °C for en hel time (60 min).
3. Etter at test-kit flasken vært i varmebadet tas det ut for å kunne avkjøles til rom temperatur, tilsettes deretter 0,2 ml av et annet reagensmiddel merkert med B på flasken sin, og etter at det ble gjort skifter man korken med en annen type som har en tredje type reagensmiddel som tas ut av en flaske merkert med bokstav C, når det er gjort så rister man test flasken et par ganger.
4. Nå venter man 10 minutter for test-kit er klar til avlesningen i HACH LANGE DR3900 avleser.

2.8 COD_T og COD_S analysene

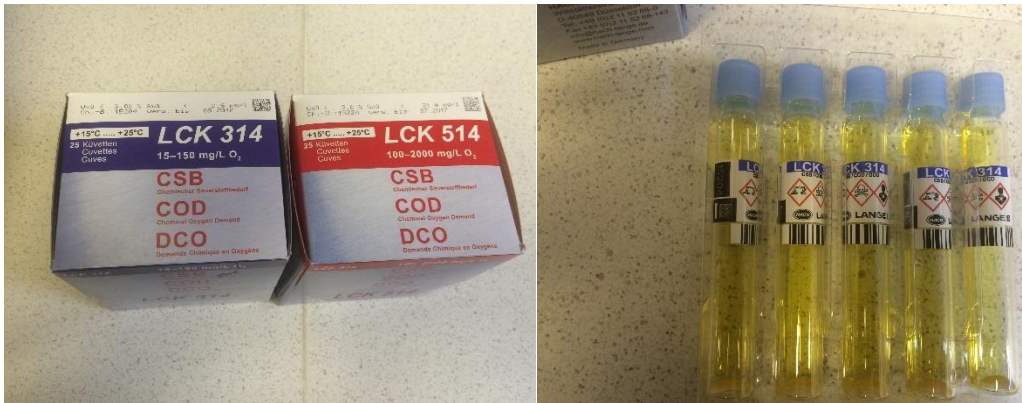
COD er forkortelse for (chemical oxygen demand). På norsk brukes også benevnelse KOF-kjemisk oksygenforbruk. COD-analysen er basert på kjemiske oksidasjonsreaksjoner hvor man kan regne om forbruket av oksidasjonsmiddel til en ekvivalent konsentrasjon av oksygen.

Test-metoden som ble bruk for å måle COD i prøvemannene heter LCK 314-Kit for 15-150 mg/l O₂ (Lav rate) som ble brukt primært for COD_S (flyktige COD) av filtrerte vannprøver, og LCK 514-Kit for 100-2000 mg/l O₂ (medium rate) som ble brukt for COD_T (total COD) av råvannprøver.

Materialer:

1. 2 ml av råprøvevann og filtrert prøvevann.

2. Test-Kitene LCK 514-Kit for 100-2000 mg/l O₂ (medium rate), og LCK 314-Kit for 15-150 mg/l O₂ (Lav rate).
3. HACH LANGE LT200 varmebad. Se figur 2-14.
4. HACH LANGE DR3900 laser avleser. Se figur 2-14.
5. Pipetter av forskjellige størrelser.



Figur 2-16 Test-kit for COD.

Prosedyre:

1. Først må man riste test-kit flasken veldig godt for løse saltet i bunnen, deretter tilsetter man 2 ml av prøvevannet til flasken, etter det må man riste innholdet veldig godt.
2. Settes nå test-kitene i varmebadet i 148 °C i to timer (120 min.), etter denne tiden tas test-kitene ut av varmebadet og ristes veldig godt, las kjøles til rom temperaturen.
3. Nå er test-kitene klare for å kunne leses av, her må det presiseres at test-kitene må tas rolig inn i avlesningsapparatet for å ikke løse bunnsaltet i væsken.

2.9 BOD₅ analyse

BOD₅- analysen (analyse av biokjemisk oksygenforbruk) brukes i all vesentlig grad til bestemmelse av organisk stoff i avløpsvann (derav Gråvann), og på tross av analysens flere mangler, knyttes fortsatt utslippskrav for avløpsvann til denne parameteren. Prinsippet for analysen er at man lar aerobe bakterier bryte ned (oksidere) det organiske stoffet i prøvevannet til CO₂ og H₂O under spesifiserte betingelser, og så måler hvor stort forbruket av oksygen har vært gjennom nedbrytningsprosessen. Ettersom man gjennom BOD-analysen faktisk måler det oksygenforbruket som det organiske stoffet vil forårsake i et rensesanlegg

eller i en resipient, gir analysen oss i en viss grad en etterligning av hva som vil skje i et renseanlegg eller i en resipient- og ikke bare et mål for innholdet av organisk stoff.

Det er flere måter for utføre denne analysen på, men måten som ble brukt i denne oppgaven kalles vakuummethode- som er basert på et spesielt analyseapparat (se figur 2-15), metoden vil bli beskrevet nedenfor.

Materialer:

1. 250 -432 ml av prøvevann (rom temperert prøvevann).
2. 0,5 Liter flaske av mørkeglass.
3. Reagensmiddel 8-10 dropper (for prøvevann med 250 ml er 8 dropper og 10 for 432 ml).
4. Manometer korken (digital manometer)
5. Gummi forstopper som settes før man lukker flasken med manometeret for å unngå luft tilførsel til flasken.
6. CO₂ hemningsmiddel settes i bunnen av forstopperen for å redusere CO₂ som kan påvirke trykket inn i flasken.
7. Digital trykk avmåler WTW OXITOP™ OC 100.
8. Inkubatorskap.



Figur 2-17 BOD analyseapparat med alle sine komponenter.

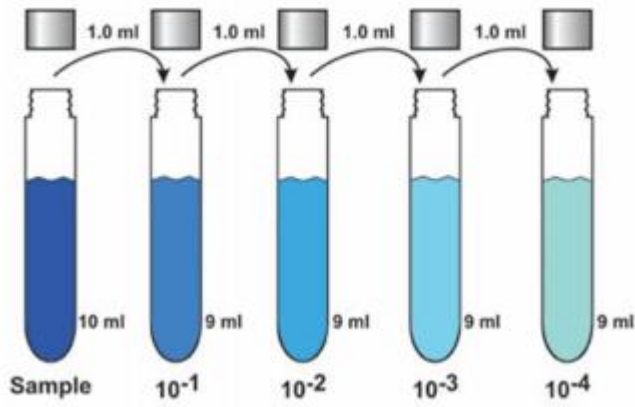
Prosedyre:

1. Prøvevann av rågråvann fra ståltanken og gråvannet ut av slamavskiller ble 250 ml analysert, mens prøvevann ut av biofilter og i utløpet av A03 ble 432 ml som er analysert.
2. Etter at prøvevann tilsatt flaskene, ble det satt reagensmiddelet (enten 8 eller 10 dropper avhengig av mengdevann) til prøvevannet.
3. Gummiforstopper ble satt på halsen av flasken, og tilført CO₂ hemningsmiddelet på bunnen av den.
4. Korken med manometer lukket flasken med, når det er gjort er analysefalsken klar til å settes i verk.
5. Den digitale avleseren WTW OXITOP™ OC 100, må kommes i kontakt med manometeret for å kunne starte analysen, der trykker man på start i avleseren for å starte analysene.
6. Når alt overnevnte trinnene er gjort, setter man flaskene på inkubatoren i 5 dag, og etter denne perioden er over innhenter man resultatene ved ha kontakt mellom korkmanometer og den digitale avleseren.

2.10 E.Coli og Total koliforme analysene

Som det ble nevnt på introduksjonskapitlet E. coli og koliforme bakterier er indikator organisme for fersk fekal, til tross for analysens flere svakheter kan den være veldig relevant som indikator for mengde individer som kan li fjernet i et gråvannrenseanlegg. Ved å måle hvor mengden av antall individer som passerer rensetrinnet i et slikt renseanlegg, får man oversikt over renseeffekten av hvert trinn og total renseeffekten gjennom hele anlegget, noe som referer til hvor godt eller dårlig det renseanlegget egnet til å rense det aktuelle vannet, med hensyn på denne gruppen av fekale bakterier. Og det skyller disse fekale bakterier fra de andre fekale indikatorer er at metoden for å måle dem er lettere tilgjengelig, og mist enklere utføre for de fleste andre indikator bakterier og organismer. Metoden som ble brukt for å kvantifisere E.coli og Total koliforme heter Coilert-18/Quanti-Tray/2000, som beskrevet I vedlegg (B).

For å få best resultat måtte man fortynne prøvevannene i flere trinn. Prøvevann fra ståltanken og gråvann ut av slamavskiller ble fortynnet til 1/10000, mens prøvevann fra biofilter og i utløp av A03 ble fortynnet til 1/1000.



Figur 2-18 Fortynningsserie, Kilde: Biofilms, Drop plate method for counting biofilm cells.

I tillegg til disse ovennevnte analyse-målinger. Ble det i perioden 14.03.2016-14.04.2016 målt både PH og temperatur for prøvevannene samtidig med alle andre målinger. Apparat som le brukt for dette formål av type WTW PH 3110, se figur 2-19.

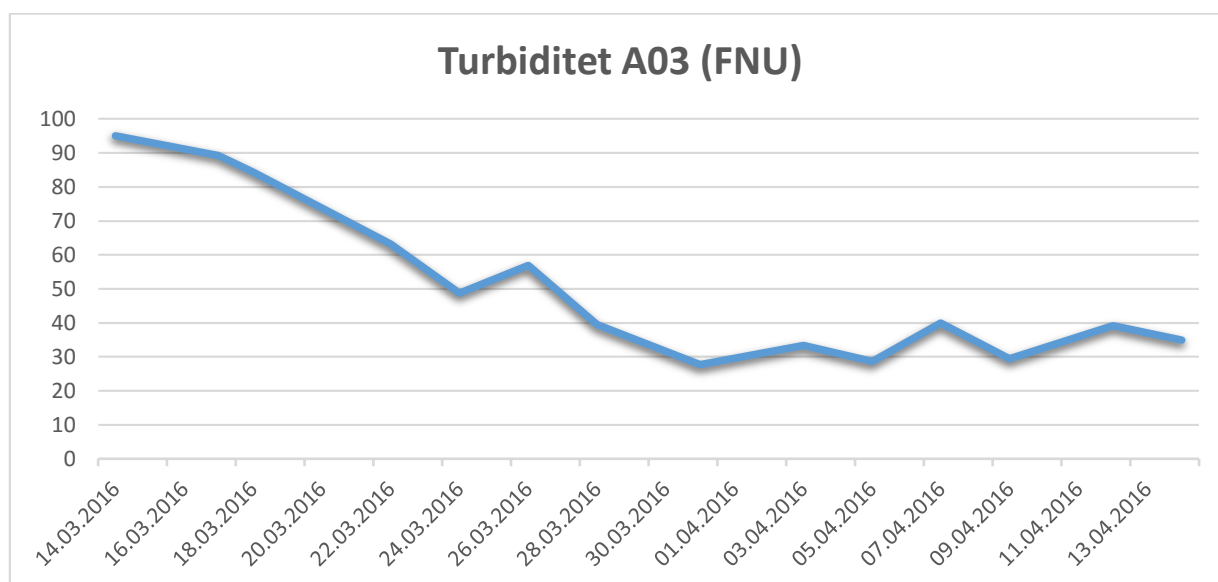


Figur 2-19 Bilde av PH og temperatur måler.

3 Resultater

3.1 Turbiditet

Turbiditet som tidlig sagt ble kun målt for prøvevannet av vann ut av A03 utløpet. Dette for å kunne anslå mengde kolloidale partikler innholdet i vannet som er ferdig renset gjennom A03 gråvannrenseanlegget, før eventuelt utslepp til miljøet. Av resultatene som ble målt samtidig med igangsetting av A03-anlegget, altså 14.03.2016, nevner man her at de var av høyere verdier og opp imot 95 FNU i starten, men etter at systemet har stabilisert seg så avtok turbiditet på et gjennomsnitt nivå rundt 35 FNU, noe som tyder på at vannet som kommet ut av A03-systemet har turbiditetskvalitet på linje med rå overflatedrikkevann kvalitet eller bedre. Se figur 3-1 som viser utviklingen av turbiditeten gjennom tiden, fullstendig tabell over turbiditetsmålinger finner man i (Vedlegg A).



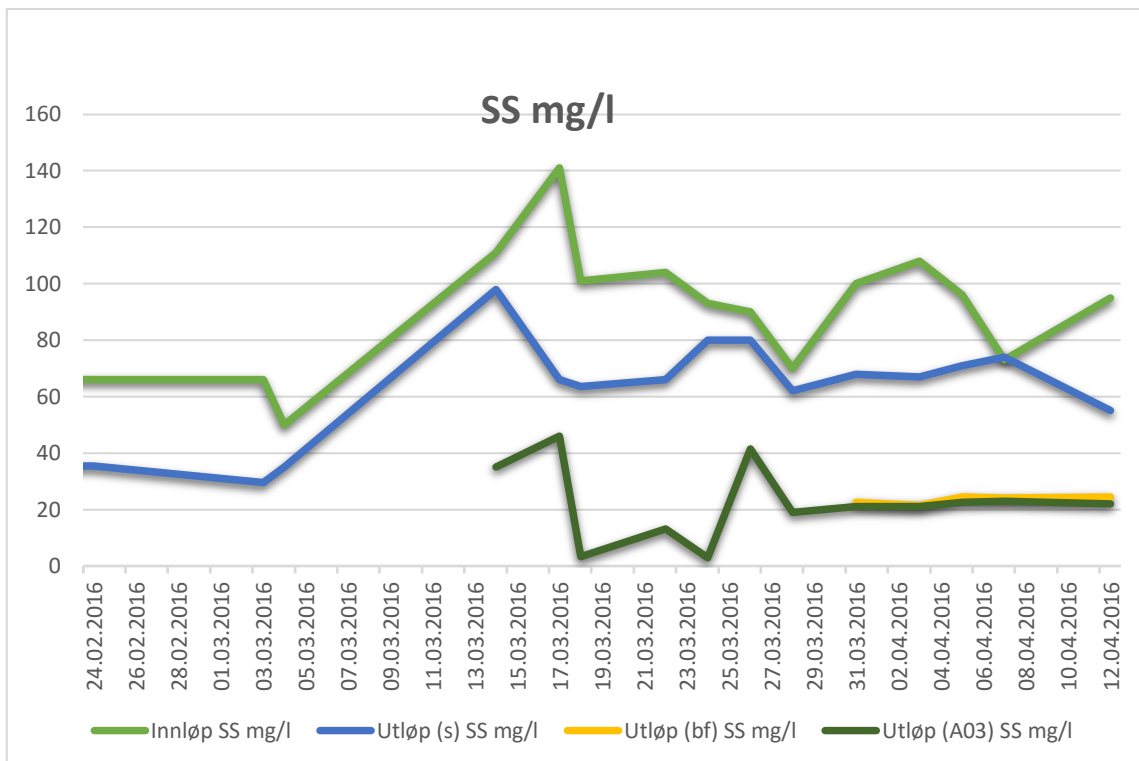
Figur 3-1 Turbiditet målingsdiagram for vannet ut av A03 gråvannrenseanlegg.

3.2 SS-analysen

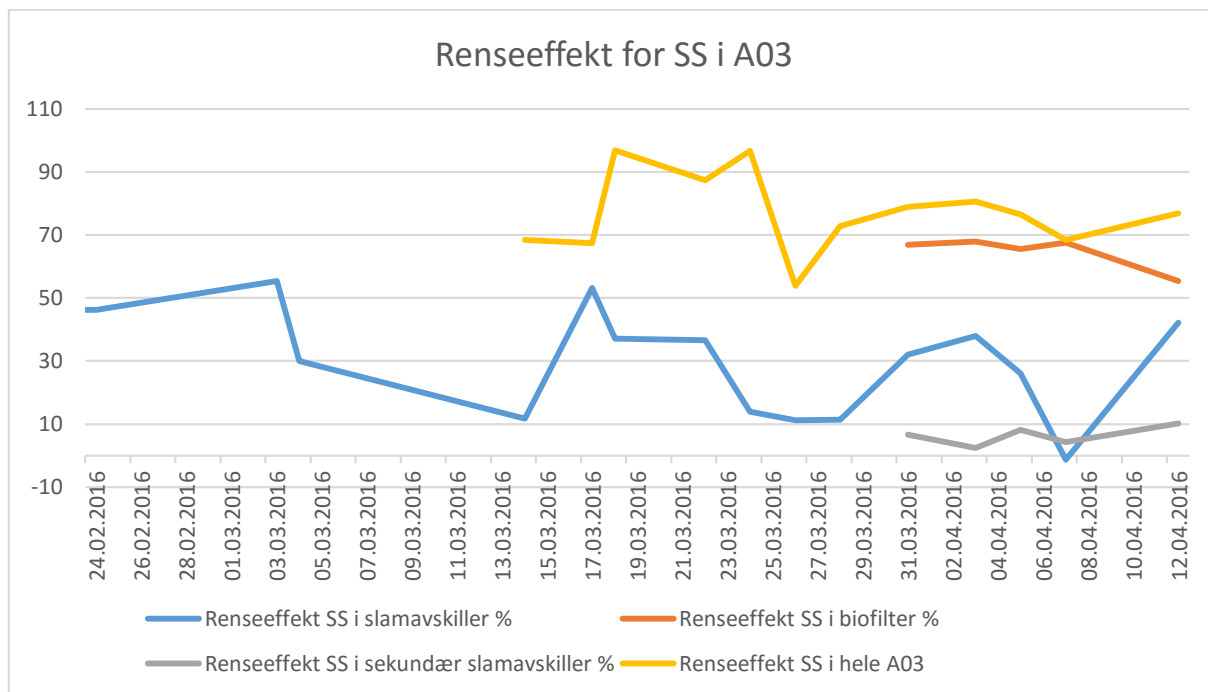
SS-målingene ble startet helt siden 24.02.2016, dvs. før at A03 satt i verk, da var det ønsket av Ecomative AS side for å kunne teste renseseffekten av den eksterne slamavskilleren. Som tidlig nevnt denne slamavskilleren er på $2,4 \text{ m}^3$, mens vannet som ble pumpet inn til den er på ca. $1,8 \text{ m}^3/\text{døgn}$, noe som gir oppholdstid på ca. 32 timer, som overstiger miste kravet for oppholdstiden for slamavskiller som er på 18 timer. Dette i midlertidig vil gi bedre oppholdstid i slamavskiller. Ut ifra dataene som er registrert se man at renseseffekten av

slamavskiller var varierende fra dag til dag, men den var i gjennomsnittet på ca. 30% med standardavvik på 16,57 over hele perioden 24.02.2016-12.04.2016.

Mens gjennomsnitt renseeffekten for biofilteret var på ca. 65% og standardavvik på 4,81, og for den sekundære slamavskilleren så var det kun ca. 5,66% og stdavvik. 3,21. Total renseeffekten over hele A03-systemet var på ca. 77% i gjennomsnittet med stdavvik. på 11,92.



Figur 3-2 SS-konsentrasjon målinger for Ecomative A03 renseanlegg.



Figur 3-3 Renseeffekt i prosent i forhold til SS-parameter for Ecomative A03 gråvannrenseanlegg.

Renseeffektiviteten i prosent regnes ut av formelen:

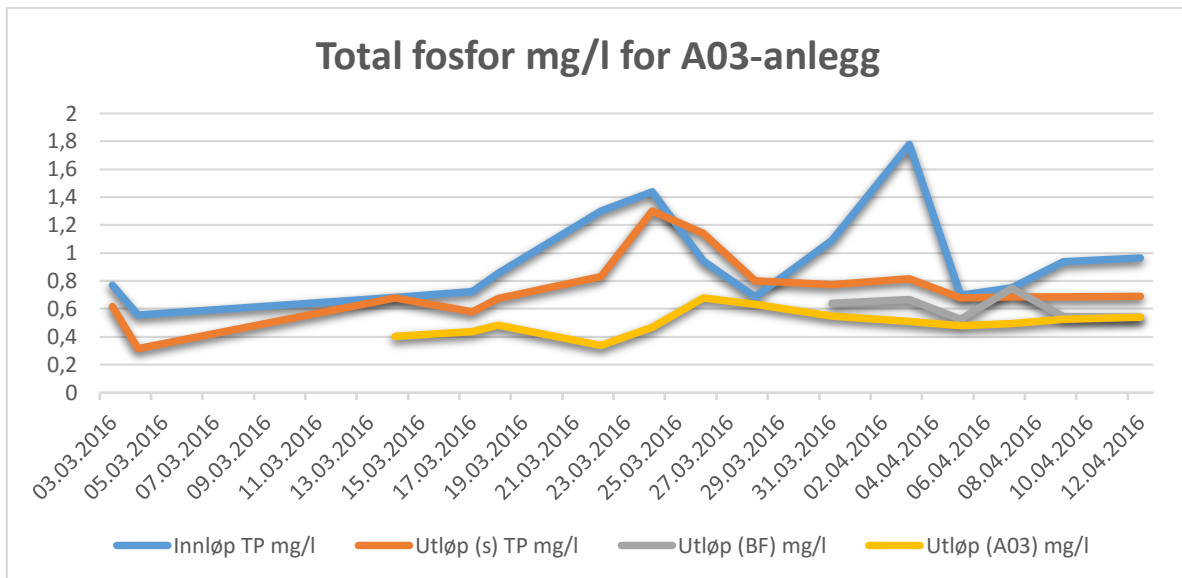
$$\text{Renseeffekt} = ((\text{SS start verdi} - \text{SS slutt verdi}) / \text{SS start verdi}) * 100$$

3.3 Total fosfor analyse

Total fosfor er preformance-paramenter for hvor godt fungerende rensenanlegget er, gitt at fosfor utslipp til vandige miljøer har stor betydning for alle slags liv i disse miljøer. Og ikke bare det, men fosfor er et knapt stoff i verdens base, og dermed blir spørsmål om man kan resirkulere dette stoff på fornuftig måte, slik at det vil være mindre skadelig til miljøet.

Fallende med denne hensikten blir disse gråvannrenseanleggene en måte å kunne tilbakeholde fosfor i anleggets komponenter f.eks. i form av slam i slamavskiller eller ved adsorbere fosforet på som det gjøres i biofilteret materialene, som igjen kan brukes i jordbruk sammenheng ved å blande de med jord, for å dra nytte av fosforet og andre organiske materialer som bundet i disse filtermaterialer.

For å kunne bedømme anleggets preformance i forhold til fjerne/tilbakehold fosforet, måtte man måle fosfor innholdet i vannet på hvert trinn i A03, nemlig rågråvann fra ståltanken, gråvann ut av slamavskiller, vannet ut av biofilter og vannet ut av A03. Se figur 3-4. Og etter det gjør man en vurdering av renseseffekt av hvert trinn og total renseseffekt av hele anlegg, for å anslå systemets renseskapasitet i forhold til fosfor fjerning. Se figur 3-5.



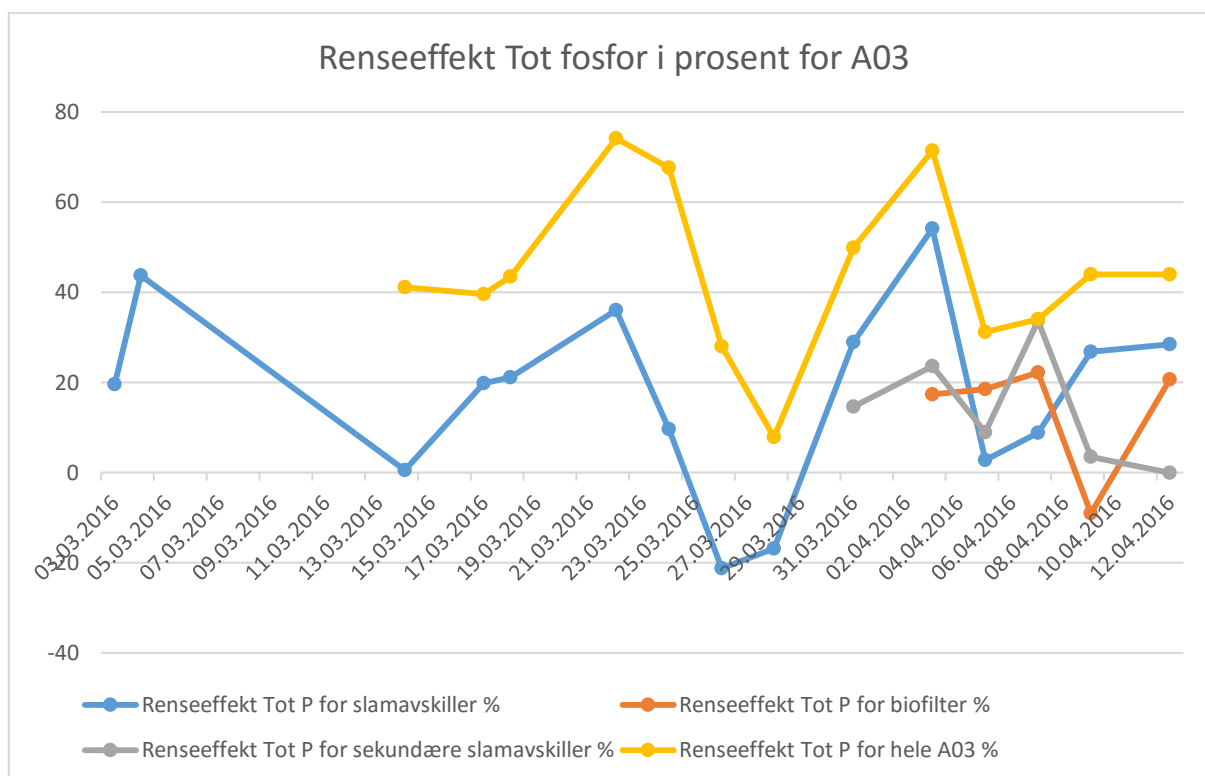
Figur 3-4 Fosfor konsentrasjonsmålinger for Ecomative A03.

På like måte som ble brukt til å regne ut renseeffekten for SS, ble også renseeffekten for tilbakeholdelse for fosfor i prosentvis for Ecomative A03 gråvannrenseanlegg ved bruk formelen:

Renseeffekt for fjerning av fosfor = $\frac{\text{start konsentrasjon for TP} - \text{slutt konsentrasjon}}{\text{start konsentrasjon}} \cdot 100$.

Man ønsket å finne ut renseeffekten i hvert rensetrinn og den totale renseeffekten for hele system. Det registrert følgende gjennomsnitt verdier for fosfor fjerning:

17,5% med std.avvik 20,76 i den primære (eksterne) slamavskiller; 14,25% med stdavvik. 13 i biofilteret, 1,4% med std.avvik på 12,73 i den sekundære slam avskiller og den totale renseeffekten gjennom hele A03-anlegget er 48% med std. avvik på 18,49. Figur 3-5 viser rensing utviklingen for fosfor gjennom rensetrinnene i A03.



Figur 3-5 Renseeffekten i prosent for fosfor i Ecomative A03 gråvannminirensanlegg.

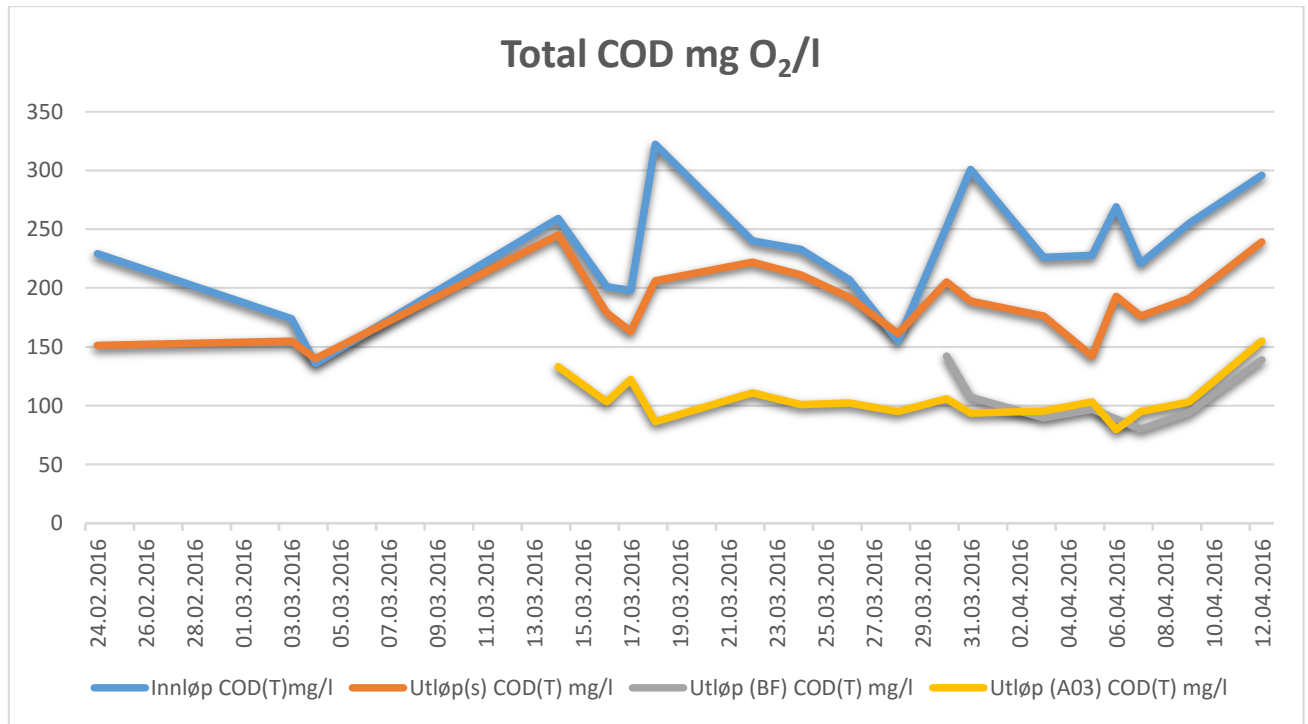
3.4 COD-analyse

COD-analysen rukes eksepsjonelt for avløpsvann. I praksis utføres COD-analysen for avløpsvann (derav gråvannet) ved at man koker en blanding av prøvevann, kaliumdikromat og svovelsyre, og deretter registrerer den forbrukte mengde kaliumdikromat per volumenhet. Mengden forbrukt kaliumdikromat regnes om til oksygen mg O₂/l. I metoden som ble brukt her for å måle COD-verdier skjer dette ved at avleseren lese fargeforskjellen i test-kitene, og regner dette forbrukt kaliumdikromat til oksygen forbruk, alt dette skjer ved at avlesere sender inn et lys med konstant bølgelengde som passerer prøveblandingen, og deretter måler hvor mye lys blir adsorbent gjennom prøveblandingen og konverterer det til forbruket av kaliumdikromat og tilslutt til oksygen forbruket.

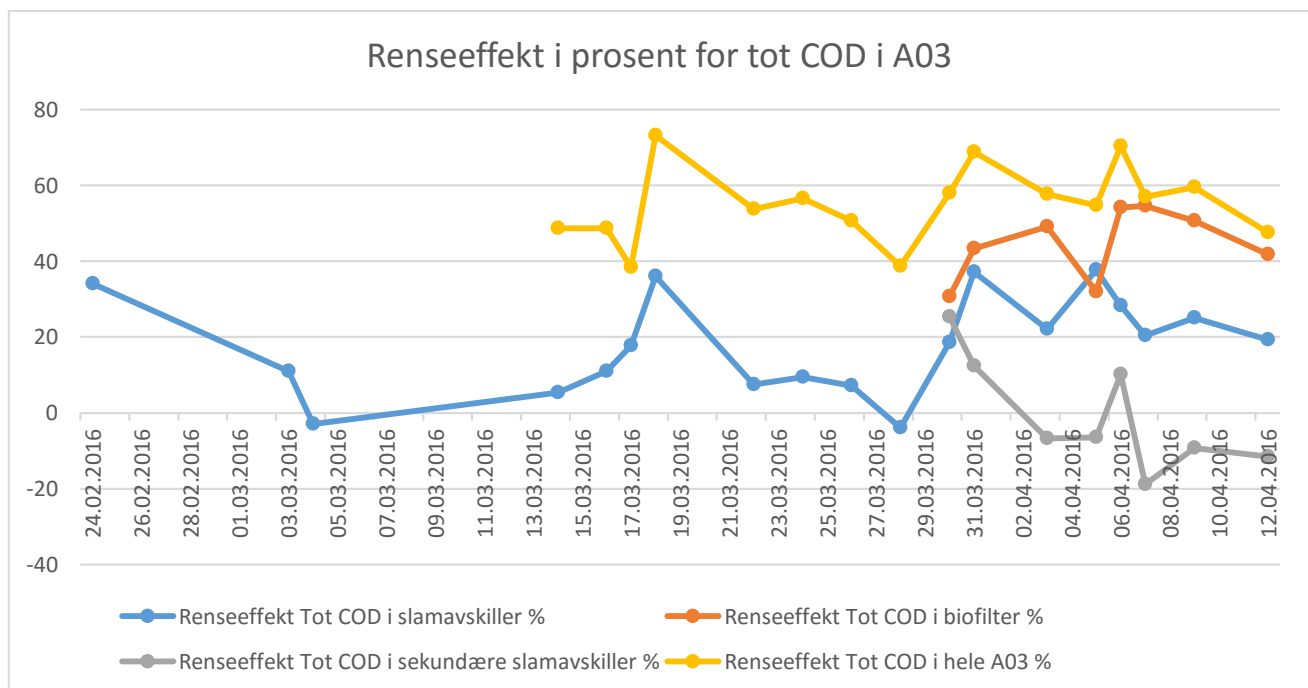
Det ble tatt to type COD-analyser for å dokumentere systemets virkemåte og renseseffektivitet, nemlig det som ble kalt total COD (COD_T) og løselig (soluble) COD (COD_S). Total COD er tatt for rå prøvevann av alle prøvetakingspunkter, mens den løselige COD-analysene er tatt for prøvevannene etter de ble filtrert med 1,2 µm glassfiber filter ved hjelp av filtreringssettet som er beskrevet i avsnitt 2.5 SS-analyse måling.

Figur 3-6 viser de oppmålte verdier for total COD, mens figur 3-7 tar for seg å vise renseseffekten i prosent for hvert enkelt rensetrinn og den totale renseseffekten gjennom hele Ecomative A03. Den gjennomsnittlige renseseffekten for den primære (eksterne) slamavskiller

var på ca. 18% med std.avvik på 12,9, mens i biofilteret så var den på 44,5% og std.avvik 9,35, -0,64% med std.avvik 14,94 var den i den sekundære slamavskiller. Den totale renseseffekten gjennom hele A03 var 55,2% og std.avvik 10.



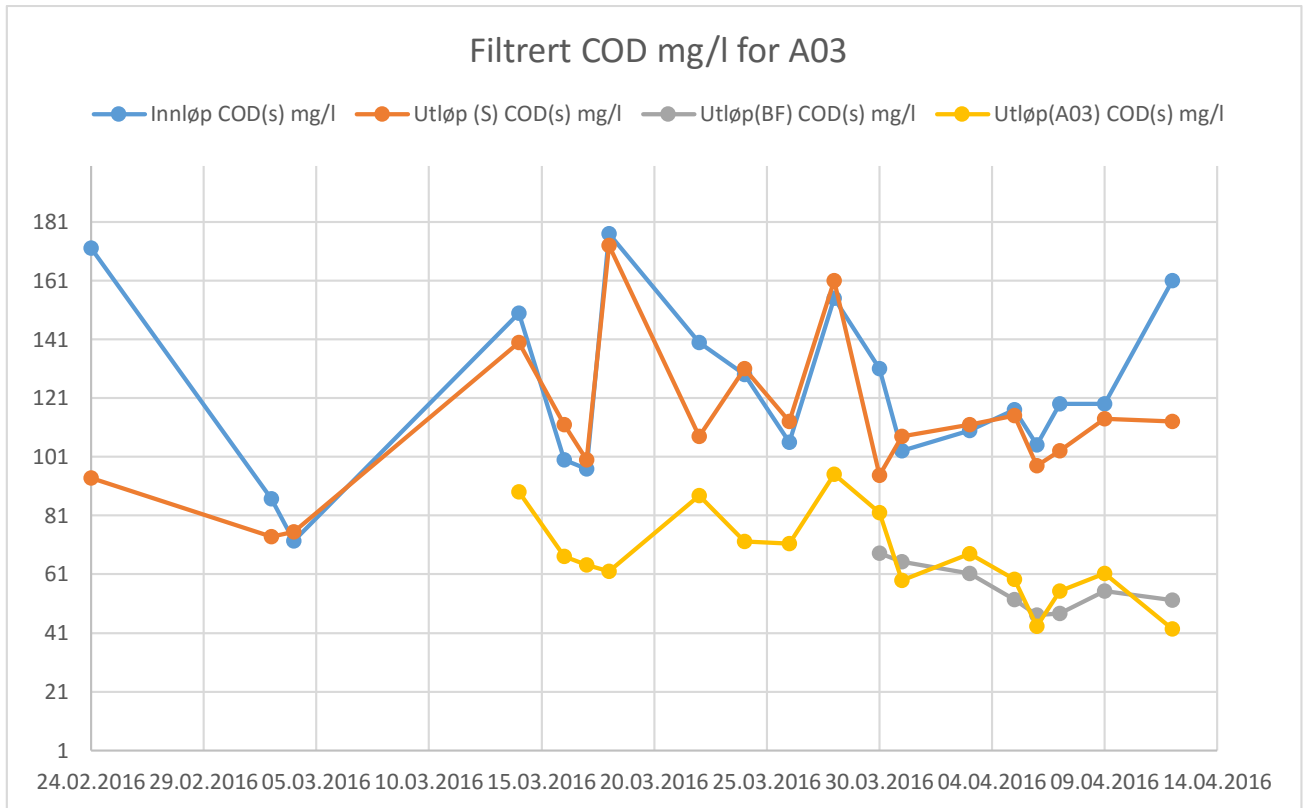
Figur 3-6 Total COD for rensetrinnene i Ecomative A03.



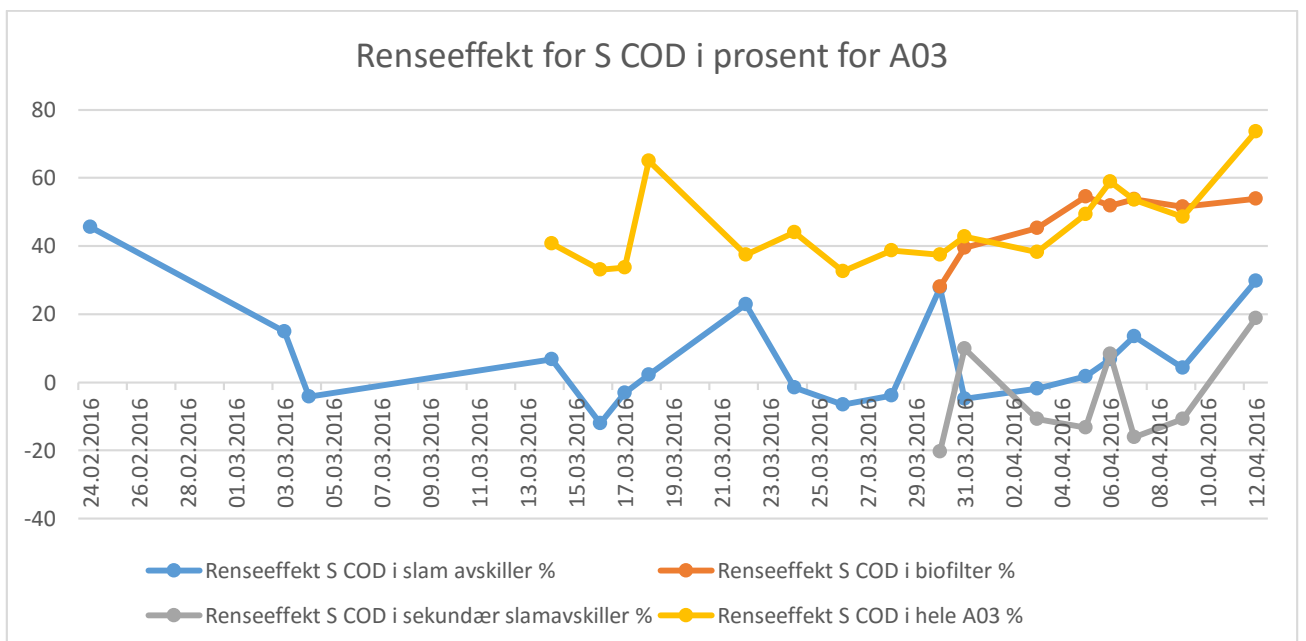
Figur 3-7 Renseeffekt med hensyn på total COD i Ecomative A03.

Figur 3-8 viser de oppmålte verdier for den løselige COD-analysen, mens figur 3-9 viser renseseffekten i prosent for hvert enkelt rensetrinn og den totale renseseffekten gjennom hele

Ecomtive A03 gråvannminirensesanlegg. Den gjennomsnittlige renseeffekten for den primære (eksterne) slamavskiller var på ca. 7,24% og std.avvik 14,96, mens i biofilteret så var den på 47,3% og std.avvik 9,33, -4,3% og std.avvik 14,43 var den i den sekundære slamavskiller. Den totale renseeffekten gjennom hele A03 var 45,5% og std.avvik 12,01.



Figur 3-8 Viser de oppmålte verdier for den løselige COD for Ecomative A03 gråvannminirensesanlegg.

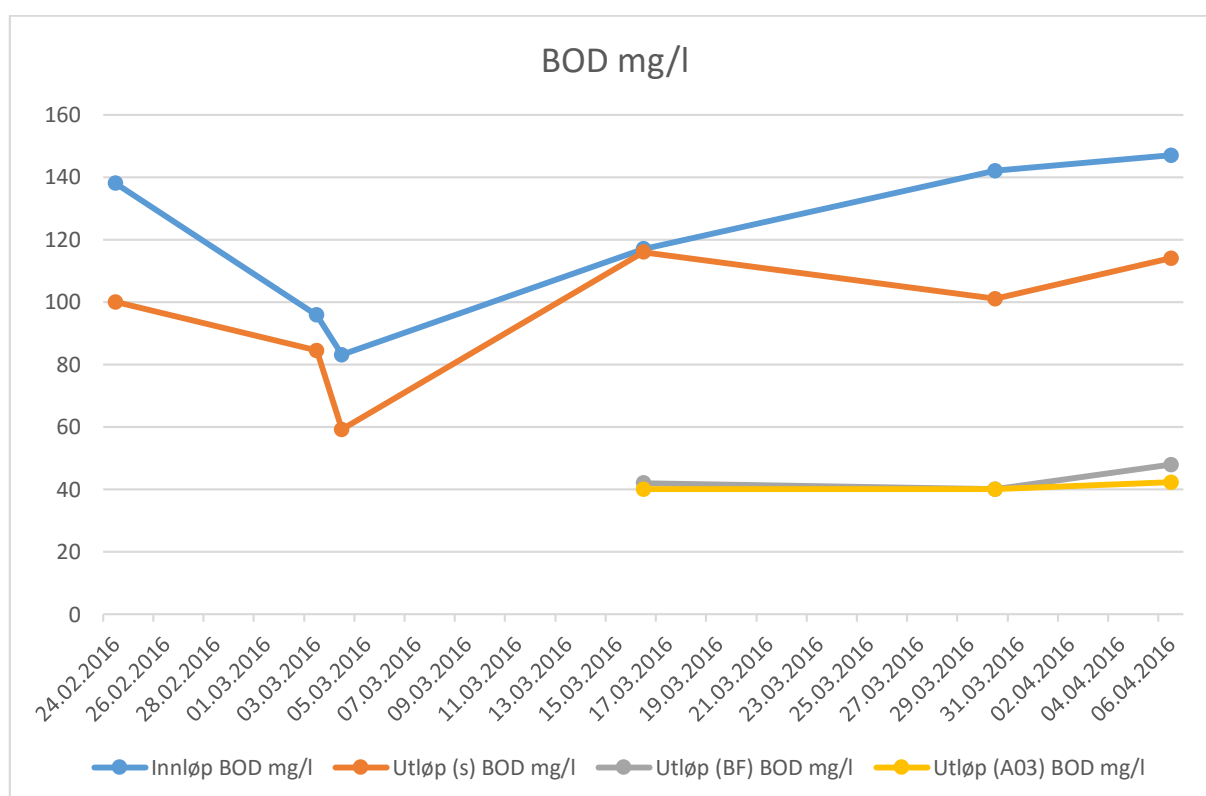


Figur 3-9 Viser Renseeffekten med hensyn på den løselige COD-analysen i Ecomative A03 gråvannrensesanlegg.

3.5 BOD₅-analyse

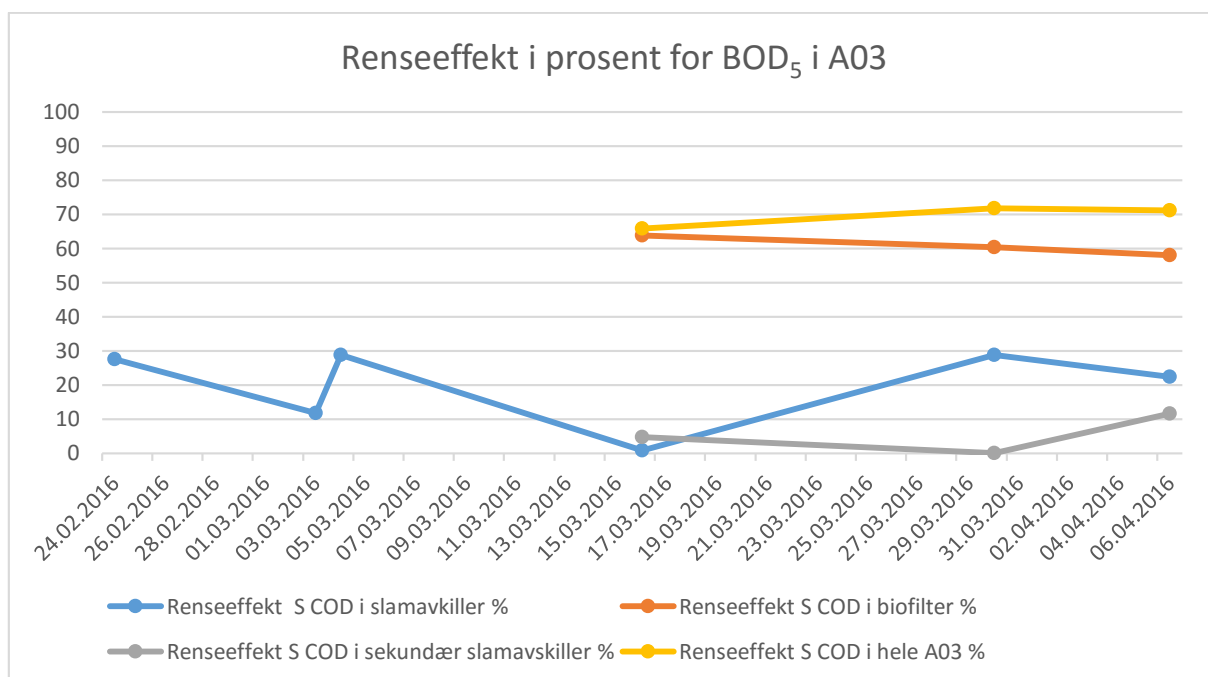
Grunnet mangel på nok utstyr og for mange undersøkelser som ble tatt samtidig med denne oppgaven, ble tatt kun få BOD₅ målinger i forbindelse med å dokumentere Ecomative A03 gråvannminirensesanlegg proformansen med hensyn på BOD₅. Derfor er det statistisk sett ikke mulig å se om det opptjente resultater er nok for å kunne bedømme systemets virkemåte i forhold til BOD₅ innhold i gråvannet som ble testet her. Det anbefales å ta flere målinger videre for å kunne dokumentere A03 virkemåte for BOD.

Figur 3-10 viser de oppmålte verdier for BOD₅ i de fire prøvepunktene som tidlig omtalt. Og figur 3-11 viser renseeffekten for disse trinnene og den totale renseeffekt gjennom hele A03.



Figur 3-10 Viser BOD₅ målinger tatt i forbindelse med å teste Ecomative A03 gråvannminirensesanlegg.

Det som ble registrert av gjennomsnittlige renseeffekten var 20% og std.avvik 11,42 i den primære slamavskiller, 60,7% og std.avvik 2,91 i biofilter og kun 5,5% med std.avvik 5,87 i den sekundære slamavskilleren. Den totale gjennomsnittlige renseeffekten gjennom hele A03 anlegget var på størrelse med 69,6% og std.avvik 3,31.



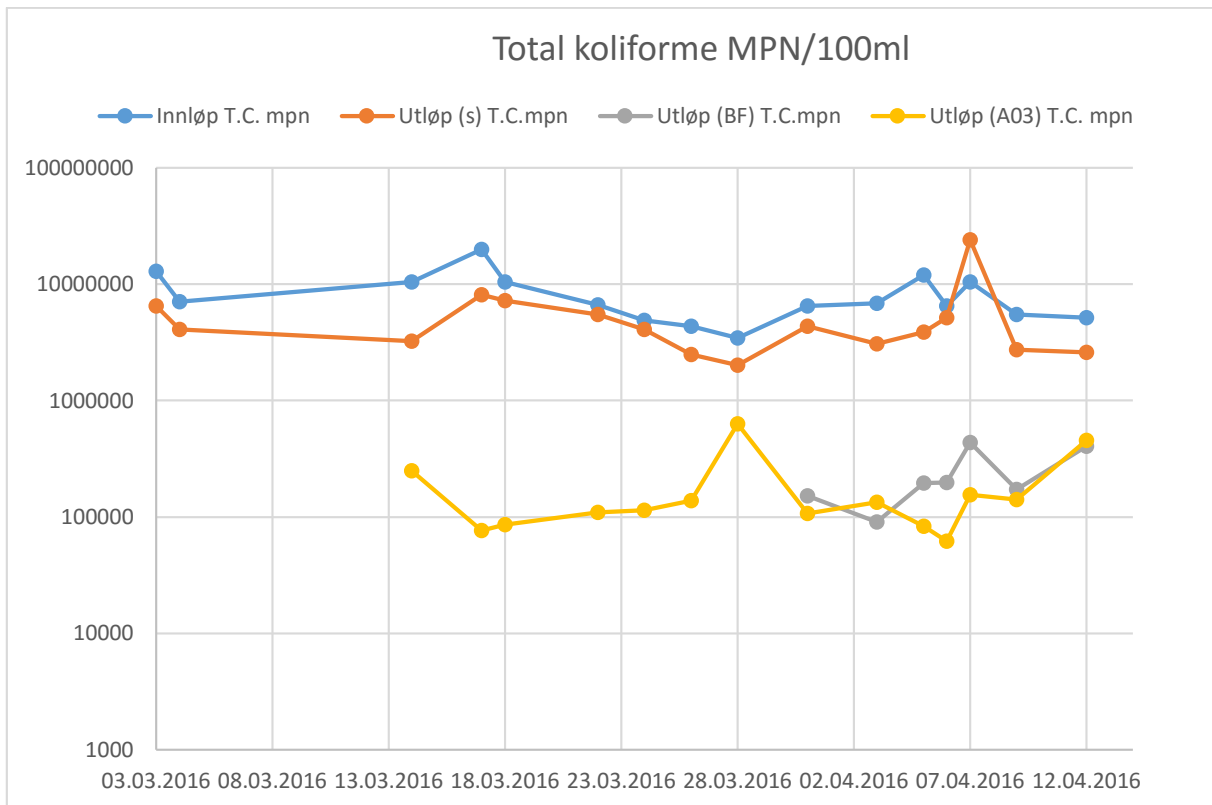
Figur 3-11 Viser renseeffekten i BOD₅ tatt ved testing av Ecomative A03 gråvannrenseanlegg.

3.6 E.coli og den totale koliforme-analysen

Til tross for sine svakheter kan E.coli og den totale koliforme-analysen byr på viktig informasjon når det gjelder systemet evne til fjerne/tilbakeholde avløpsrelaterede organismer. Da denne analysene kan anslå mengde (individ antall) E.coli og/eller koliforme bakterier, som igjen kan være indikatorer for andre type bakterier som finnes også i avløpsvann (derav gråvannet). Mens svakheten i denne analysen er at E.coli og total koliforme bakterier er mindre evne til motstå de rensetrinnene enn andre representative organismer som finnes naturlig i avløpsvann. Men denne analysen kan lettere anslå mengden som kan man forvente å få fjerne i disse rensetrinnene, dessuten den relativt lettere utføre enn de fleste andre indikator organismer, noe som gjør den fortrukket ovenfor andre metodene. Og i med det vil være utrolig vanskelig analyser avløpsvann (eller gråvann) for alle mulige organismer, blir det enklere å bruke en kjent analyse for en bakterie indikator, der man kan si noe om vannkvaliteten gjennom et renseanlegg.

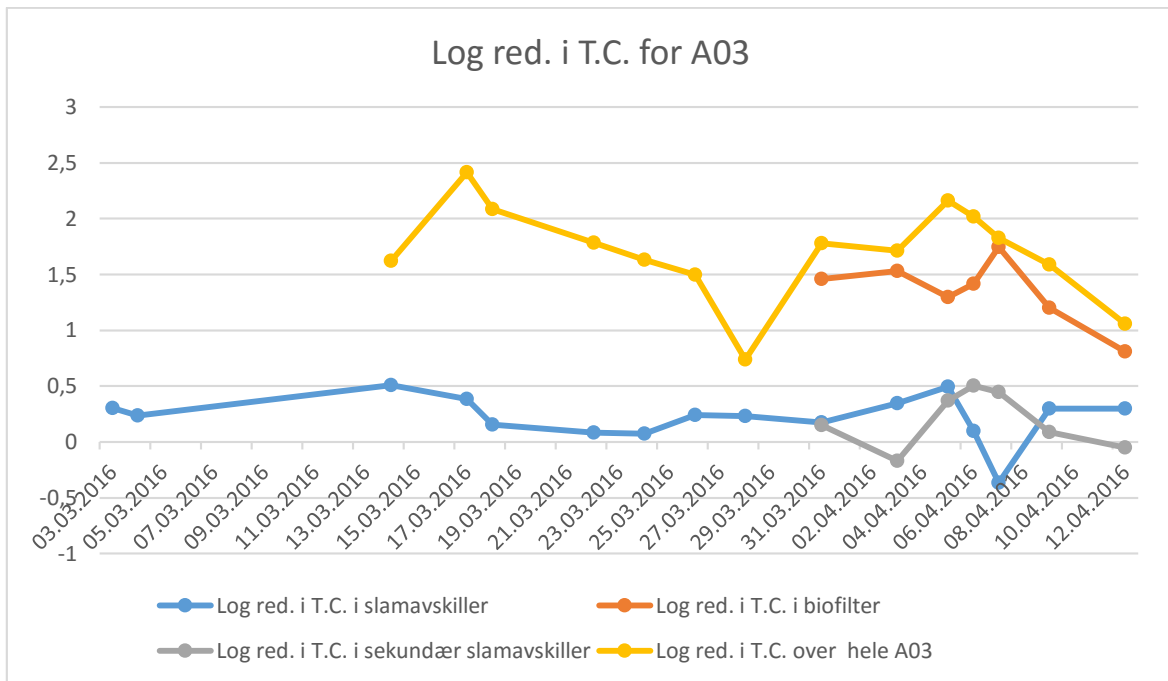
Enheten som er brukt av den analyse heter MPN (Mest Probable Number), dette gir et innblikk på hvor litt sensitivt kan denne analysen være. Se figur 3-12 oppmålte verdier for den totale koliforme bakterier i Ecomative A03 gråvannminirensesanlegg. Log reduksjonen regnes ut med følgende formelen:

$$\text{Log reduksjon} = \text{Log}(\text{start verdi}) - \text{Log}(\text{slutt verdi}).$$



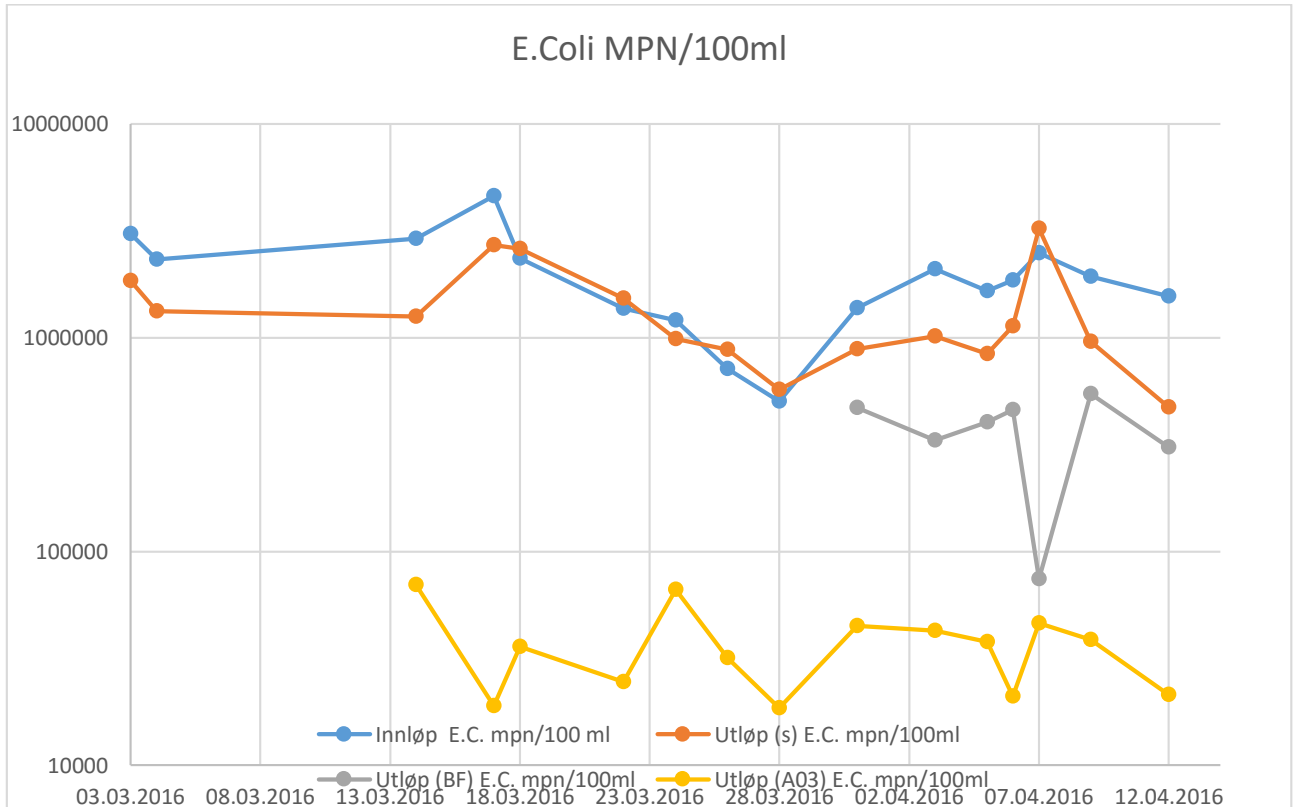
Figur 3-12 Viser de oppmålte verdier for de totale koliforme bakterier i de forskjellige trinnene i Ecomative A03 gråvannminirensesanlegg.

De gjennomsnitt verdier for log reduksjon i forhold til de totale koliforme bakterier som ble beregnet ut fra verdiene som ble målt, er 0,221 og ved std.avvik på 0,2 reduksjon i den primære slamavskiller, 1,35log reduksjon i biofilter med 0,29 std.avvik og 0,191 reduksjon i den sekundære slamavskiller med 0,25 i std.avvik , mens den gjennomsnittlige totale reduksjon over hele anlegget var på 1,7log med 0,42 i std.avvik.



Figur 3-13 Viser log reduksjonen i rensetrinnene og den totale reduksjon i de totale koliforme bakterier i Ecomative A03 gråvannminirensesanlegg.

Figur 3-14 viser de oppmålte verdier for E.coli bakterier gjennom de rensetrinnene i Ecomative A03 gråvannminirensesanlegg.

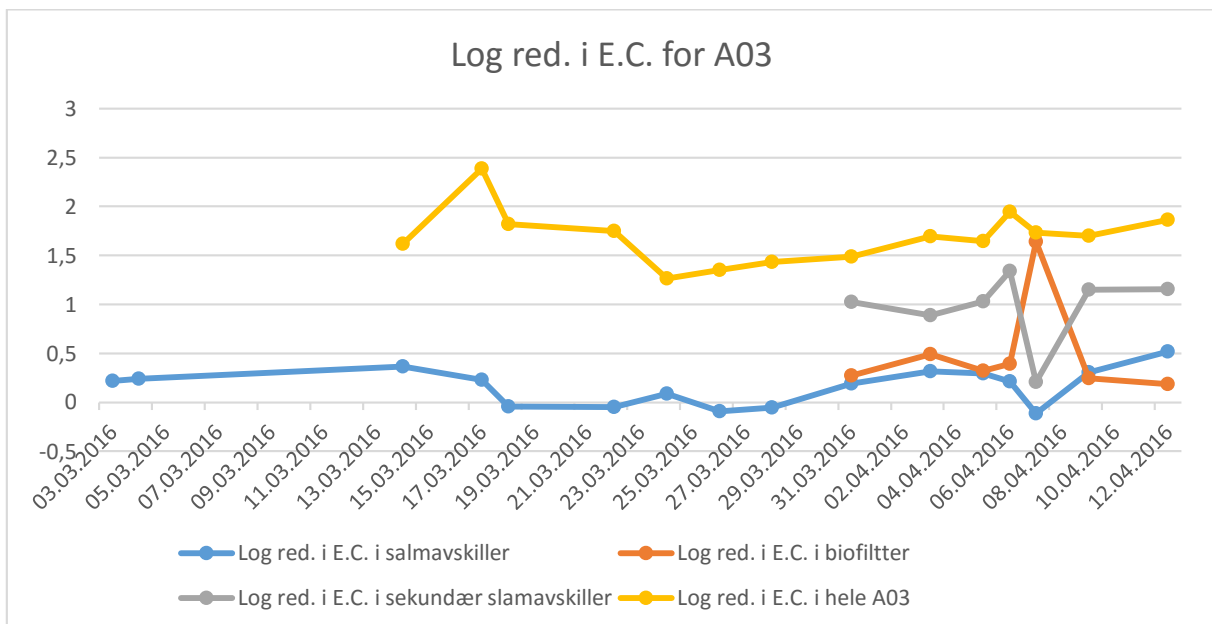


Figur 3-14 viser de oppmålte verdier for E.coli bakterier gjennom de rensetrinnene i Ecomative A03 gråvannminirensesanlegg.

Figur 3-15 viser log reduksjon i E.coli for de forskjellige rensetrinnene i Ecomative A03 minirensesanlegg.

Gjennomsnittlig log reduksjon i E.coli i den primære slamavskiller var 0,164log og std.avvik på 0,18, i biofilter var den på 0,5log med std.avvik 0,51 og i den sekundære slamavskiller på 0,97log med std.avvik 0,36. Mens den totale gjennomsnittlig log reduksjonen gjennom hele Ecomavite A03 anlegget var på 1,69log med std.avvik 0,29.

Figur 3-16 viser log reduksjonen ved hvert enkelt rensetrinn og den totale reduksjonen i E.coli for Ecomative A03 gråvannminirensesanlegg.

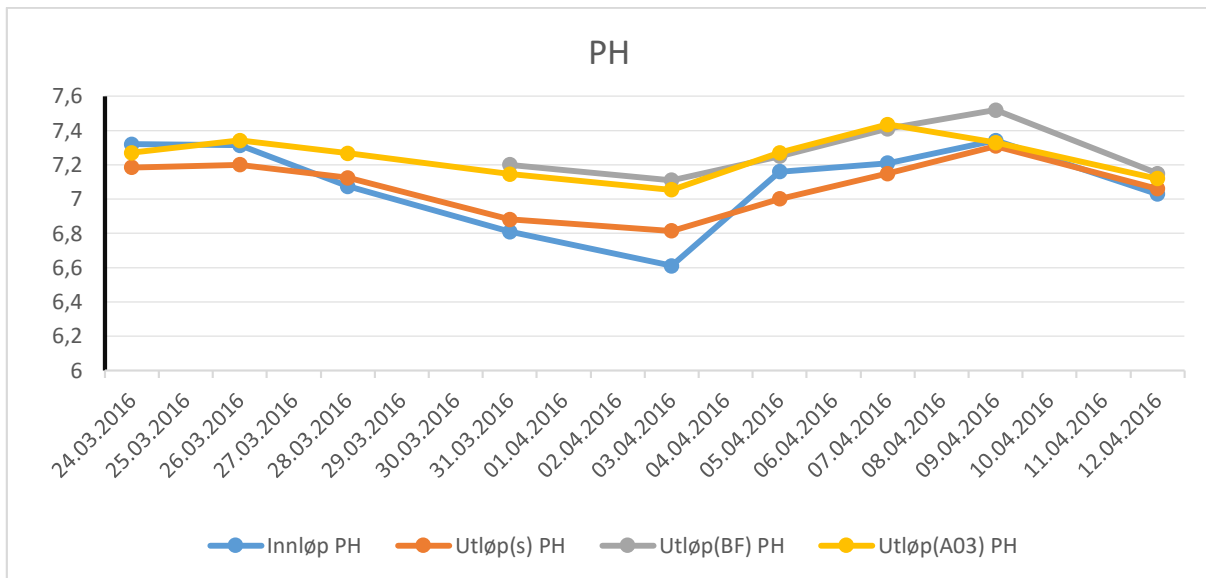


Figur 3-15 Viser log reduksjonen ved hvert enkelt rensetrinn og den totale reduksjonen i E.coli for Ecomative A03 gråvannminirensesanlegg.

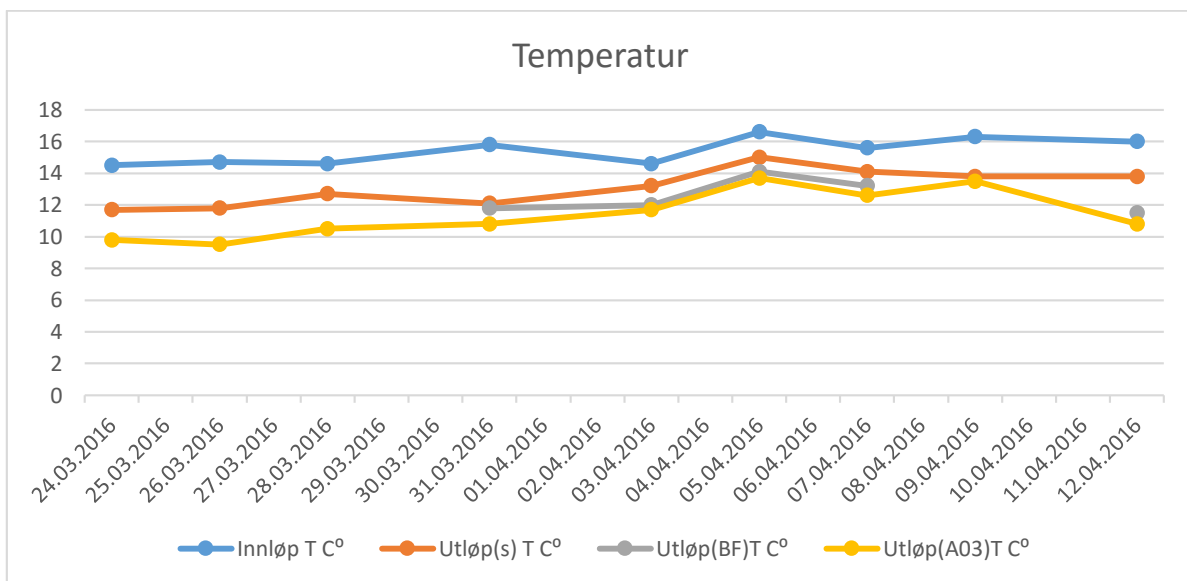
3.7 Temperatur og PH

I tillegg til de ovennevnte Analysene, ble det tatt kontinuerlig målinger for både temperatur og PH for alle prøvevannene. For å kunne registrere eventuelle endringene i disse målingene.

Figurene 3-17 og 3-18 viser temperatur og PH utvikling under test-perioden.



Figur 3-16 PH målinger for prøvevannene tatt fra Ecomative A03 gråvannrensplanlegg.



Figur 3-17 Temperatur målinger for prøvevannene tatt fra Ecomative A03 gråvannrensplanlegg.

3.8 Belastning og oppholdstid

For å kunne å bedømme systemets ytelse, må man også dokumentere volumbelastningen pr. tidsenhet. Dette ble gjort for de to rensetrinnene, nemlig vannvolumet som pumpes til den eksterne slamavskilleren og vannet som pumpes til biofilteret. Vannet som pumpet til slamavskiller målte man ved hjelp av volum måler som er montert rett etter løpehjulspumpen i Vannlaben. Dette ble gjort systematisk på det samme tidspunkt hver dag ved å registrere volum inn til slamavskiller, og deretter trekker man det fra den registrerte målingen dagen før, tabell 3-1 viser de opptjente volumbelastningsdata. På den andre siden målte man volumbelastningen i biofilteret ved å måle vannvolumet som går ut av A03 over en hel

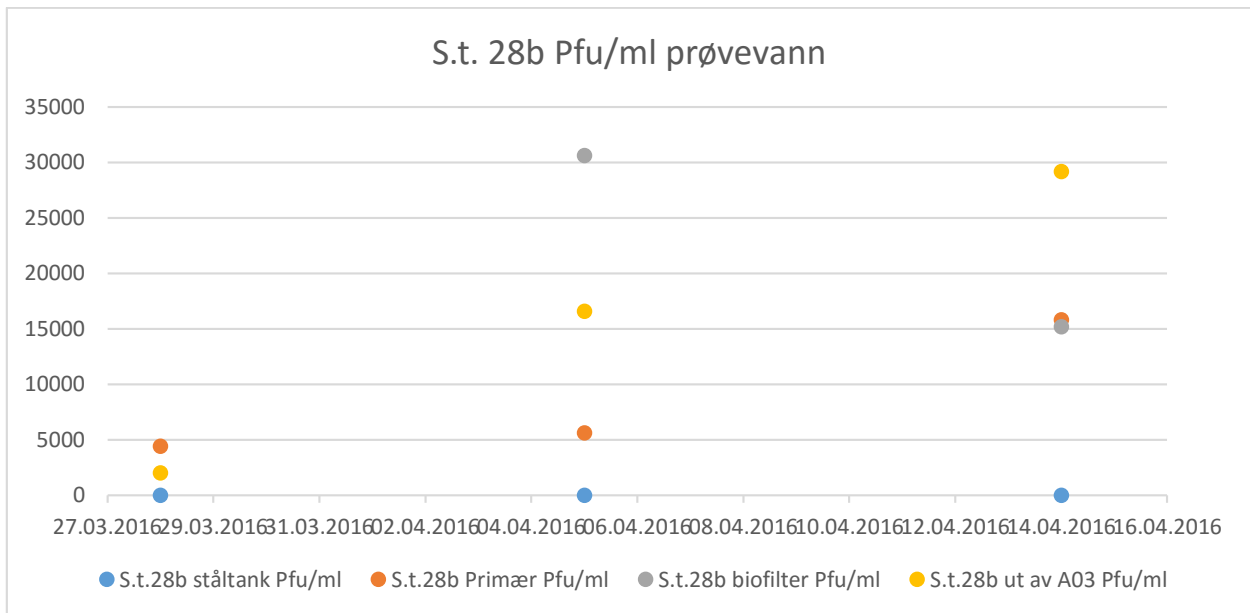
gangtid (tiden fra tilbakeslagsventilen åpner seg til at ventilen lukker seg igjen) i pumpen som er på pumpekummen. For å kunne gir mer nøyaktighet til denne metode, måtte man gjenta denne prosedyren flere ganger, og så kan man regne ut gjennomsnittet for volum inn til biofilteret. Etter det ganger man det målte vannvolumet med antall pumpinger i løpet av et døgn, som kan leses av PLS-en som står inne i vannlaben. Det viste seg at pumpen pumpet vannet til biofilteret 86 ganger pr. døgn, og med batch belastning av ca. 13,1 liter av gangen, som gir døgnbelastning på ca. 1126,6 l/døgn.

Dato	Vann inn (l)	Klokkeslett	
14.03.2016	1756	14:15	
15.03.2016	1789	14:15	
16.03.2016	1822	14:15	
17.03.2016	1843	14:15	
18.03.2016	1772	14:15	
01.04.2016	1788	14:15	
02.04.2016	1824	14:15	
03.04.2016	1843	14:15	
04.04.2016	1734	14:15	
05.04.2016	1787	14:15	
06.04.2016	1701	14:15	
07.04.2016	1709	14:15	
08.04.2016	1834	14:15	

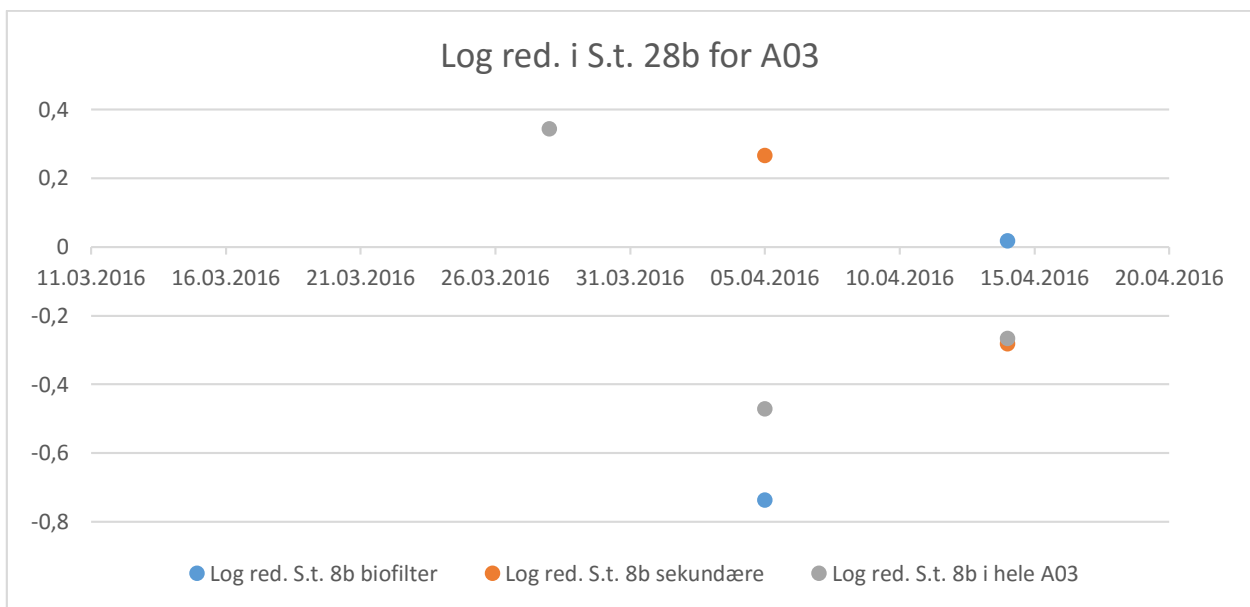
Tabell 3-1 Viser den volumetriske døgnbelastningen under testingen av Ecomtive A03 gråvannminirensanlegg.

3.9 Analyse av *Salmonella typhimurium* fag 28B

Resultater for virustelling for S.t. fag 28, som er tatt ved IKBM, har vist seg at det var ingen fjerning/inaktivering av viruset gjennom A03, se vedlegg F for å se oppmålte viruskonsentrasjoner i A03 rensanlegg. Grunnene til dette vil bli diskutert i kapittel 4.6. Figurene 3-19 og 3-20 viser resultatene for plakktelling for virus S.t.28b faget, og log reduksjonen i hvert enkelt rensetrinn og hele A03 gråvannminirensanlegg.



Tabell 3-18 Viser S.t. 28b virustellingsresultater etter at det ble tilført til Ecomative A03.

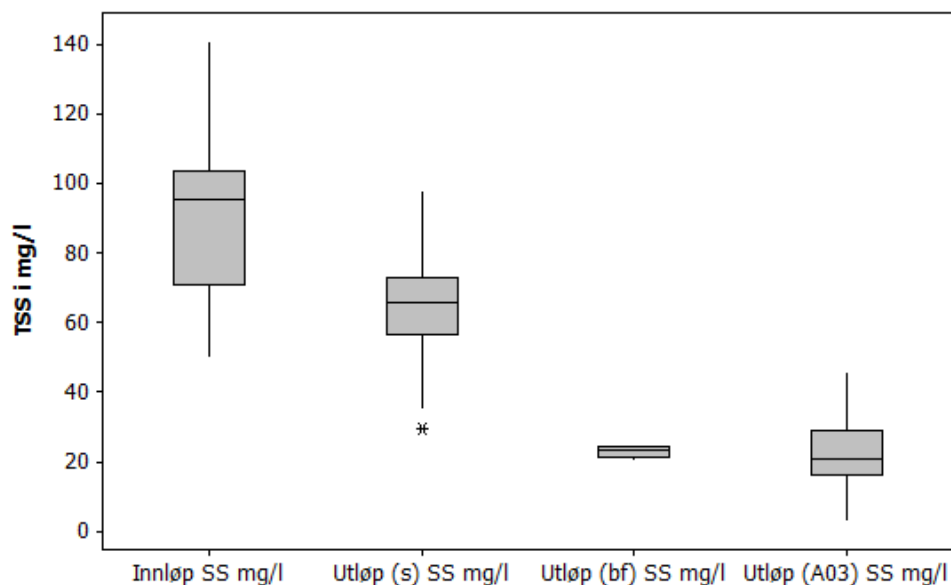


Tabell 3-19 Viser Log reduksjonen i S.t.28b i A03 gråvannminirensanlegg.

4 Diskusjon

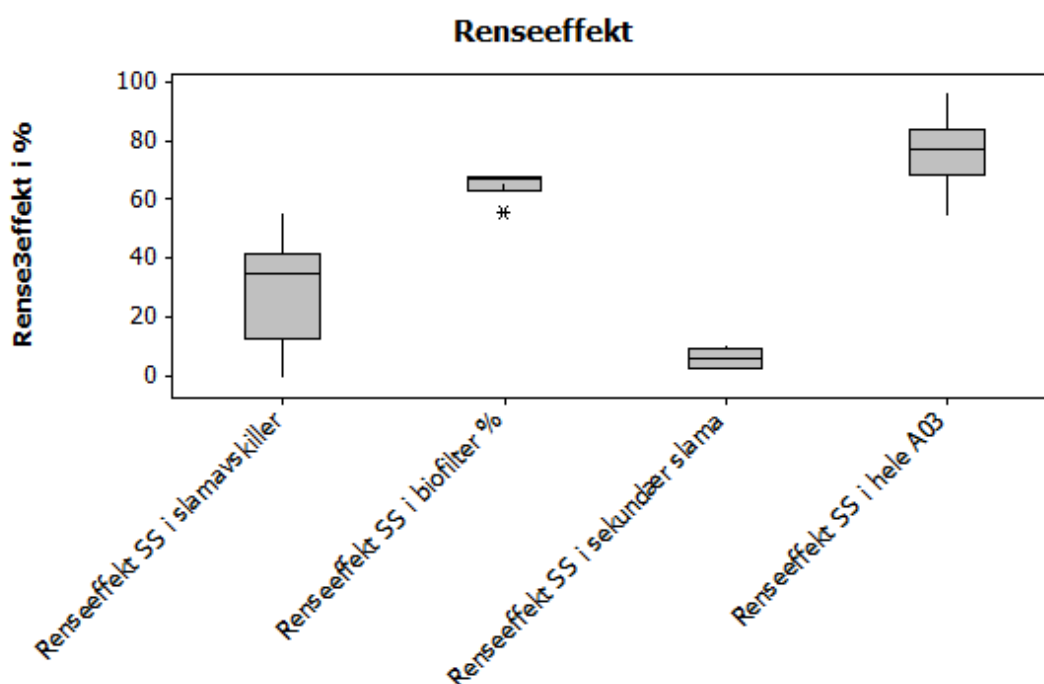
4.1 SS-analyse

Ut ifra resultatene for den suspenderte stoff konsentrasjonen ser vi at variasjon i konsentrasjonsverdier for innløpsvann (gråvann fra ståltanken) var høyere enn de andre konsentrasjonsverdier i A03 rensetrinnene. I de første tre målingene var SS-konsentrasjon noe lavere enn det forvente, grunnet at filtre ble ikke tørket før filtreringen, som gitt noe utslag på lavere SS-målingen. Man ser at gjennomsnittlig reduksjon i konsentrasjonen var på 28,35 mg/l i den primære slamavskiller, 40,42 mg/l i biofilter og kun 0,58 mg/l i den sekundære slamavskiller. Og en total reduksjon på 69.35 mg/l gjennom hele A03, se figur 4-1 som representerer resultatene på en statistisk måte, som ble tatt i test-perioden for A03. Dette vil forstås på at det meste parten av tilbakeholdelsen av de suspendert stoff skjer i biofilteret, deretter kommer den primære slamavskilleren i forhold til mengde SS som ble adsorbent, mens den sekundære slamavskiller gav en begrenset effekt. Til tross for at system på A03 ble høyere belastet enn det som ble gjort med testingen av tidligere versjonen av Ecomative gråvannrenseanlegg, viste disse resultatene seg å ikke være langt fra de som ble observert ved testingen av den tidligere versjon av denne type gråvannrenseanlegg A02, da var A02 i stand til å tilbakeholde ca. 74 mg/l, ca.47 mg/l reduksjon ved den primære slamavskiller i gjennomsnittet av målinger som ble tatt over en lengere periode enn det som målt i forbindelse med denne oppgaven, da perioden var 25.02.2013-26.05.2014, se vedlegg H, av tre prøvetakingen pr. uke. I starten av belastningen av hele A03 (dvs. fra 14.03.2016) varierte tilbakeholdelsen av SS veldig, dette kan ses på figur 3-2, men etterhvert stabilisert den seg etter en tid. Noe som tyder på at system trengte noe tid for den gitt sin snitt ytelse, denne tiden var på ca. to uker (fra 14.03.2016-28.03.2016).



Figur 4-1 Statistikken for suspendert stoff konsentrasjoner for A03.

Renseeffekt i prosent som observert på A03 som nevnt i resultater kapitlet og representert i figur 4-2, var på 30% i den primære slamavskilleren, som er noe lavere enn de som observert i A02 testen som var på 43%. Dette tyder på at denne type slamavskiller var ikke effektivt nok for fjerningen av SS, og det anbefales å bruke en annen type som satser på større overflatebelastnings areal, og ikke bare oppholdstiden i slamavskiller. Mens total renseseffekten gjennom hele A03 i likhet med A02 var på 77% for begge. Dette tyder på at biofilteret kan være prosentvis i stand til å fjerne mer SS ved økt volumbelastning, da belastningen i A03 var som nevnt tidlig i resultater kapitlet 1126.6 l/døgn, mens i test perioden av A02 så var den mellom 100-150 % av den nominelle belastningen dvs. 650-975 l/døgn. Variasjonen i renseseffekten var størst i den primære slamavskilleren, grunnet høy variasjon innløpskonsentrasjoner. Til sist nevnes her at renseseffekten til den sekundære slamavskilleren adskiller lavt med kun 5,6%. Dette skyldes at prøvetakingen i utløpet til A03 er delvis tatt av slangen som satt inn i den sekundære slamavskillerkammen uten å vite hvor høyt/lavt var slangen inn i den, dette så klart vil gi noe usikkerhet knyttet til vannkvaliteten til vannprøvene som ble tatt i det aktuelle punktet. Eller at belastningsforholdet var ikke det optimale forholdet for å få den beste effekten ut av det sekundære sedimenteringstrinnet.



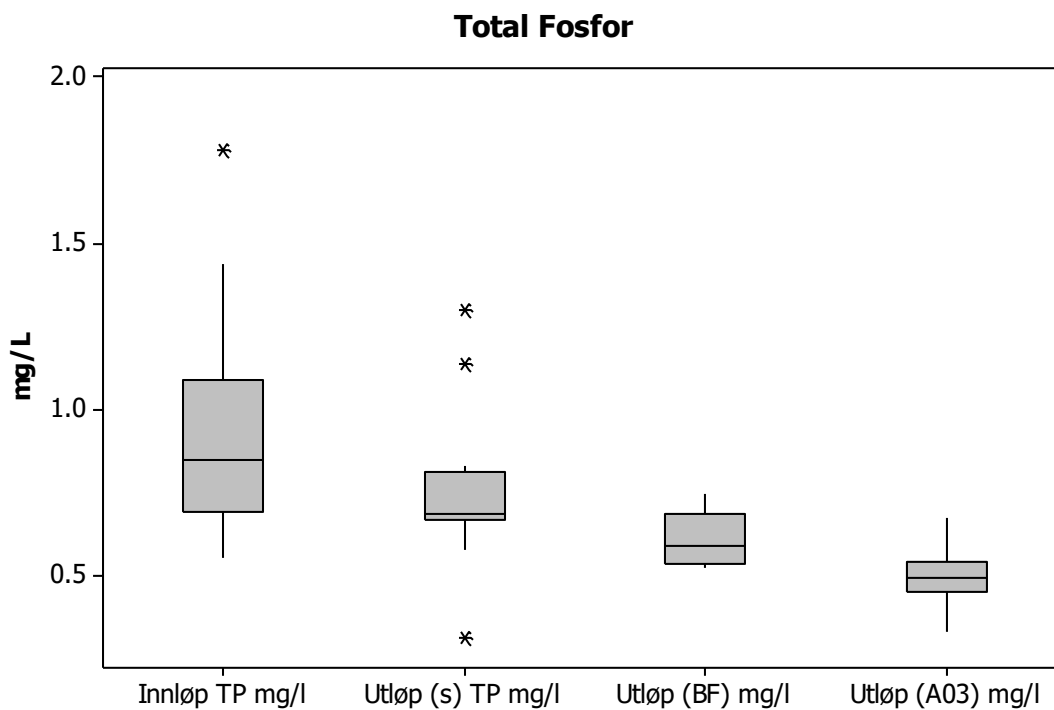
Figur 4-2 Statistikken for den prosentiske renseeffekten i forhold til SS for A03 gråvannrenseanlegg.

4.2 Total fosfor analyse

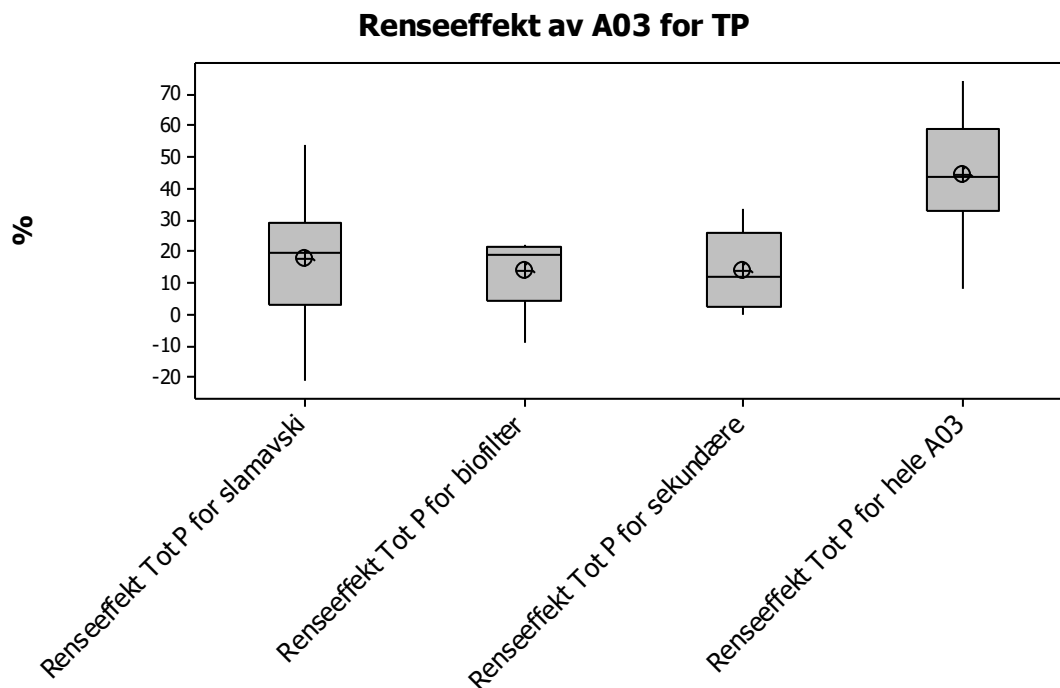
Resultatene for total fosfor konsentrasjoner ved testing av A03 viser seg å ha stor variasjon ved innløpsmålinger og mindre variasjon i de tre prøvepunktene, med noen unntak i utløpet til den primære slamavskiller, se figur 4-3. Gjennomsnittlig reduksjon i total fosfor konsentrasjon i den primære slamavskilleren var 0,19 mg/l, 0,14 mg/l i biofilteret og 0,11 mg/l i den sekundære slam avskiller. Mens den totale gjennomsnittlige reduksjonen i total fosfor-konsentrasjon gjennom hele A03 var på 0,44 mg/l.

Renseeffekt for total fosfor var høyest ved den primære slamavskilleren med 17,5%, og kun 14% i biofilter som er relativt lavt i forhold til hva en vil forvente. Dette grunnes dels for biofilteret måtte ha litt mer tid for å kunne danne biofilmen (som vil forbedre biofilter evnen til å tilbakeholde/fjerne fosfor) i overflaten til filtermaterialene. Og dels på grunn av at disse resultatene er kun tatt i en veldig begrenset periode (03.04.2016-12.03.2016), noe som statistisk sett kan ikke være nok for å bedømme renseevnen til biofilteret på, spesielt med tanke på hvor nytt filtermateriale det var denne gang prøvene er tatt på. I motsetningen til SS-renseeffekten for den sekundære slamavskilleren hadde høyere snitt verdi for rensing av fosfor med 14%. Figur 4-4 viser totalt fosfor rensingseffektstatistikken. Mens gjennomsnittlig total rensingseffekten gjennom hele A03-renseanlegget var på 44,3%. Av den total fosfor i et typisk avløpsvann i Kaja-student bolig, utgjør fosfor i gråvannet ca. 13% av den totale fosfor

konsentrasjon. Vil utslippet av fosfor til miljøet med kun 5,7% av den totale fosfor som kommer fra avløpsvann. Noe som gir fosfor reduksjon på ca. 94%, eller med andre ord man med et slikt kildesepareringsavløpssystem, som behandler grå-og svartvann separert, kan oppfanget fosfor få mulighet for å resirkulere det som tidligere nevnt. I tillegg vil dette på sikt redusere energiutnyttelse og klimagass-utslipp som knyttet til inntak på rå fosfor fra naturen betraktelig.



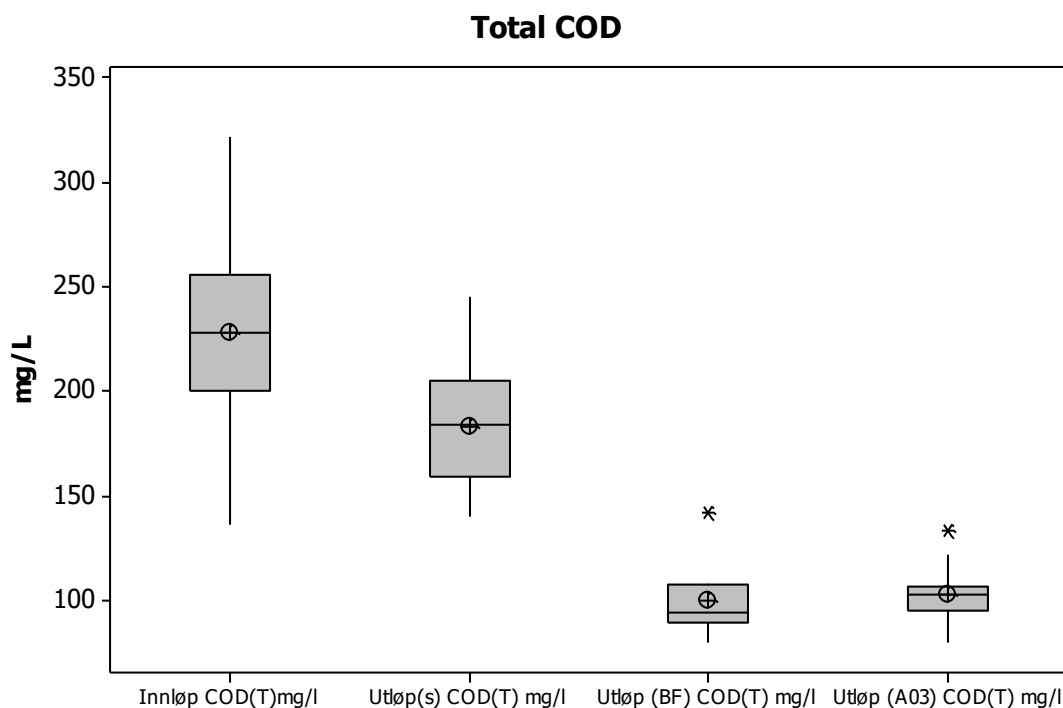
Figur 4-3 Total fosfor konsentrasjonsstatistikken for A03.



Figur 4-4 Prosentisk total fosfor renseeffektstatistikk for A03.

4.3 COD-analyse

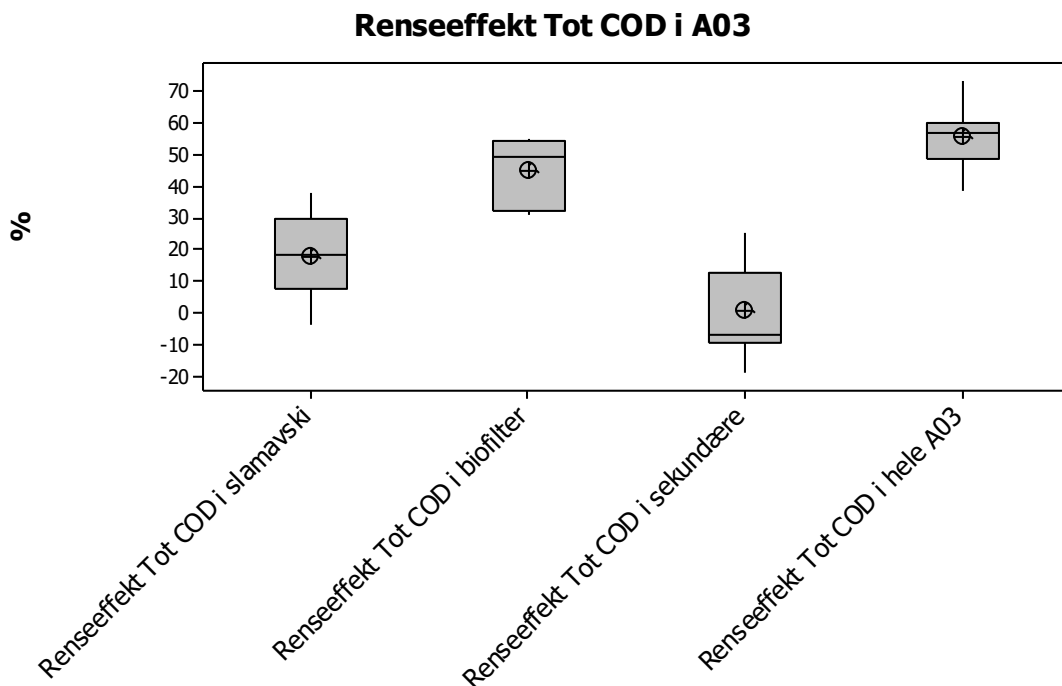
Ut ifra resultatene for total COD-konsentrasjonsstatistikken for A03-testing vist i figur 4-5, ser man at gjennomsnittlig reduksjon i konsentrasjon i den primære slamavskilleren var på ca. 45 mg/l, dette gir kun 20% reduksjon som ligger godt lavere enn det som er registrert ved testingen av A02, som lyder på 34%. Noe som tyder på at til tross for sin størrelse som er utmerket større enn den kompakte størrelsen den har i A02, akter den primære slamavskilleren i A03 igjen med en lavere ytelse enn det skulle man trodd. Spesielt da om man tenker kun på volumetrisk størrelsen, her kan det tenkes at det trenges noe endring med hensyn på sedimenteringskapasitet er stor sett en funksjon av overflatebelastningsareal å ikke bare volum til sedimenteringstanken, eller med andre ord kun funksjon av oppholdstiden. Dette gjenspeilet seg også i renseeffektstatistikken, der ser en at gjennomsnitt renseeffekt i den primære slamavskilleren var kun 18% i A03, som er mye lavere enn det som er registrert for A02 på ca. 43%. se også figur 4-6 og vedlegg H.



Figur 4-5 Total COD konsentrasjonsstatistikken for A03.

Total reduksjon på total COD som ble registrert i test-perioden for A03 var på ca. 128 mg/l, som tilsvarer ca. 55% reduksjon. Dette er noe lavere enn det som registrert på A02-testing, som var på høyde med ca. 199 mg/l som svarer til 69%. Dette kan skyldes at det som tidlig omtalt belastningsforskjellen mellom A03 og A02-testing som lyder på 1126,6 l/døgn og (650-975 l/døgn) respektivelig.

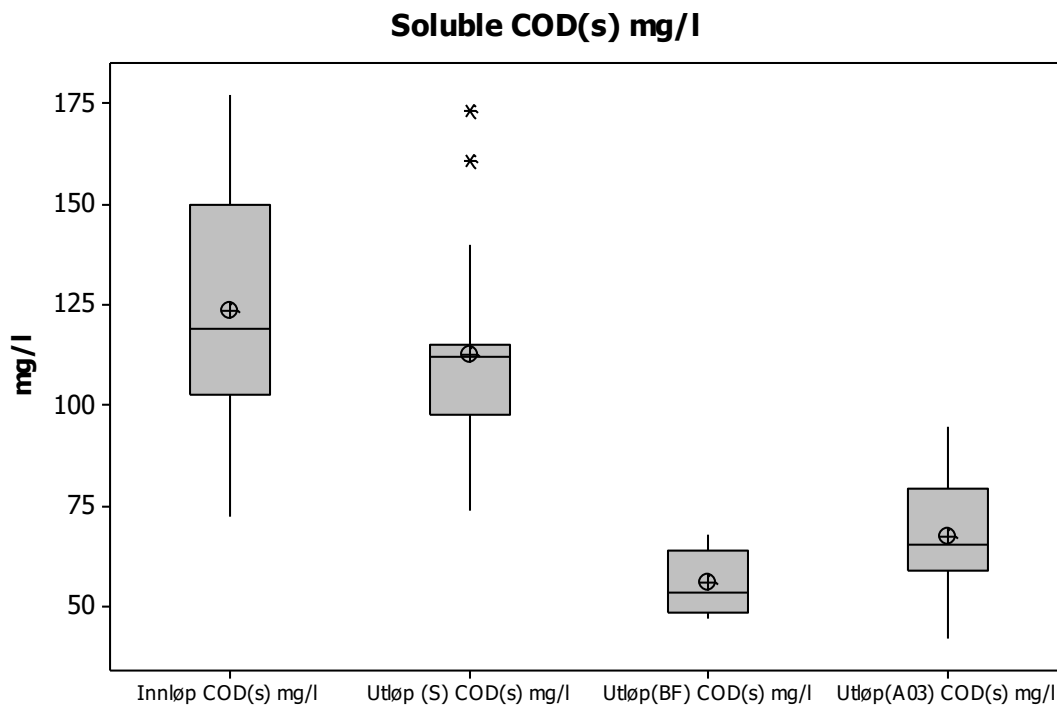
Den største registrert gjennomsnittlige renseeffekten gjennom rensetrinnene i A03 var på biofilteret 44,5%. Mens det lavest registrert var i den sekundære slamavskiller -0,65%. Dette kan forklares som tidlig diskutert i SS-analysen på at prøvetakingen i utløpet til A03 er delvis tatt av slangen som satt inn i den sekundære slamavskillerkammen uten å vite hvor høyt/lavt var slangen inn i den, dette så klart vil gi noe utslag til usikkerhet knyttet til vannkvaliteten til vannprøvene som ble tatt i det aktuelle punktet. Eller om det kan tenkes at belastningsforholdet var ikke det optimale for å få den beste effekten ut av det sekundære sedimenteringstrinnet.



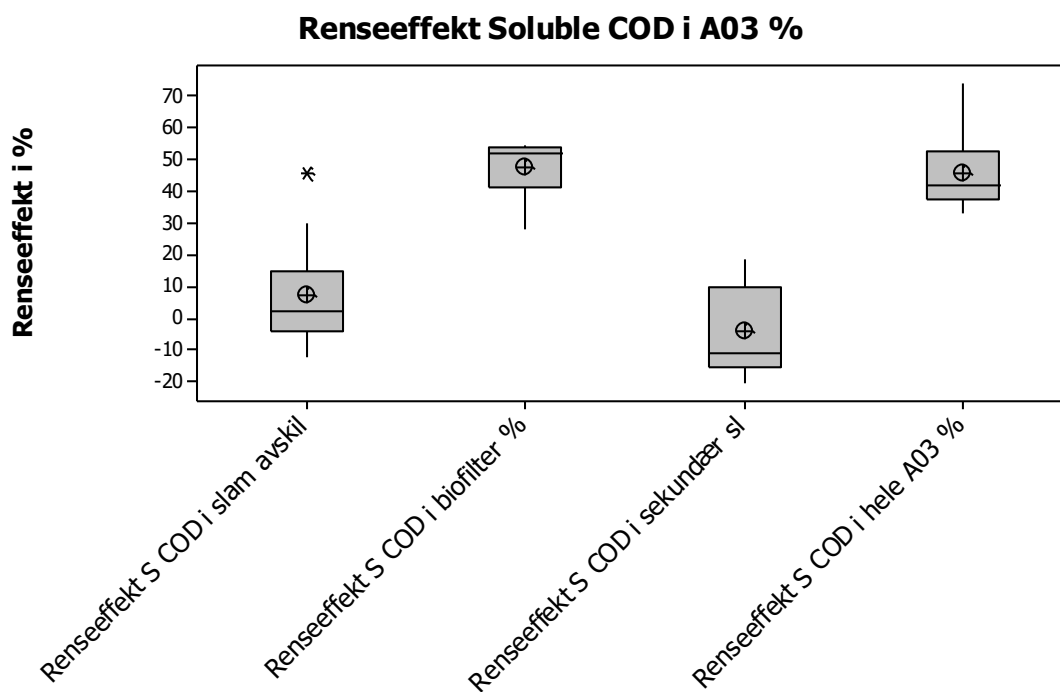
Figur 4-6 Prosentisk renseeffektstatistikk med hensyn på total COD for A03.

Gjennomsnittlig reduksjon i den løselige COD-konsentrasjonen var 11 mg/l, som utgjør ca. 9%, med tilsvarende renseeffekt på kun 7% i snitt for den primære slamavskilleren (se figurene 4-7 og 4-8). Det antyder på at veldig lite av den løselige COD som kan bli fjernet her på det rensetrinnet, på grunn av at den løselige delen av COD vil normalt kreve lengere sedimenteringstid. I motsetningen til det som skjer i biofilteret, som hadde reduksjon på 56 mg/l som gitt ca. 50% reduksjon i snitt, med renseeffekt på 47%. Dette er normalt som man forventer av biofilteret å yte i forhold til denne fraksjonen av COD-en, og som tidligere nevnt i introduksjon kapitlet at adsorpsjon vil være høyere representert når det gjelder den fraksjonen av partikler og stoff.

Her var det ingen unntak når det gjald den sekundære slam avskillerytelsen, dette skyldes som nevnt feil i prøvetakingen og/eller belastningsforhold. Dette ser man tidlig gjennom å se på variasjon på de målte konsentrasjonsverdier og ikke minst også i renseeffekten. Disse forholdene anbefales å undersøkes videre.



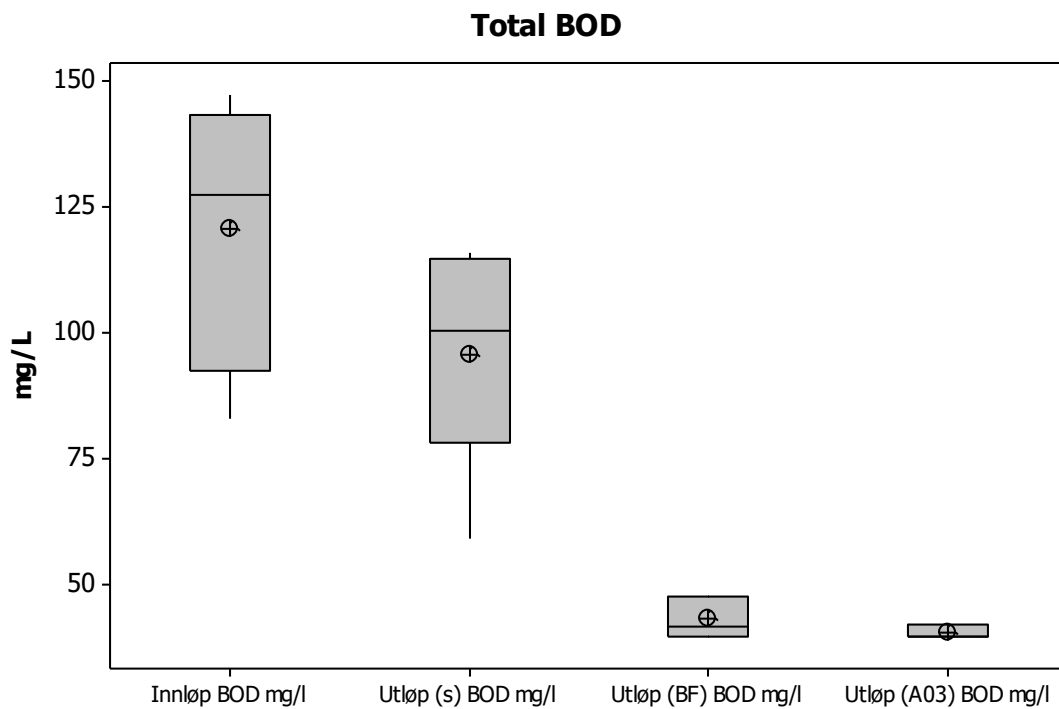
Figur 4-7 Konsentrasjonsstatistikken for den løselige COD for A03.



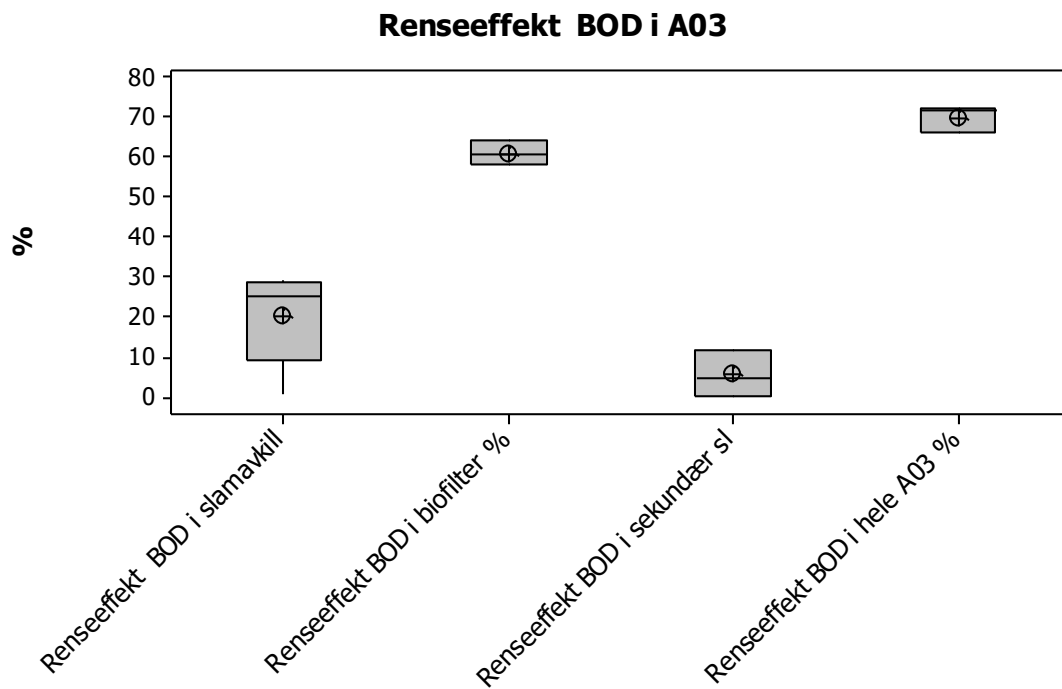
Figur 4-8 Prosentisk renseseffektstatistikk med hensyn på den løselige COD for A03.

4.4 BOD₅-analyse

De oppmålte verdier for BOD₅ var totalt 6 prøvetakinger for innløpsvann (gråvann fra ståltanken) og den primære slamavskilleren, og kun 3 prøvetakinger for vannet ut av biofilteret og vannet ut av A03. Det man også kan se at variasjonen i de oppmålte BOD-konsentrasjoner for både innløpet og vannet ut av den primære slamavskilleren var veldig høye. Statistisk sett kan disse verdiene ikke fastslå ytelsen av A03-anlegget i forhold til denne parameteren, og kan heller ikke sammenliknes med verdiene som ble målt og registrert i forbindelse med testingen av A03 som vart lenger med flere målinger. Men ut ifra disse som også vist i figurene 4-9 og 4-10 så ser man at gjennomsnittlig reduksjon i BOD₅ konsentrasjonen i den primære slam avskilleren var på 25 mg/l som utgjør 20% og tilsvarende i gjennomsnittlig renseeffekten, disse var 74 mg/l, 51% og 47% for A02. Og i biofilter så er tallene 52 mg/l, 55% i gjennomsnitt konsentrasjonsreduksjon og 60,7% i gjennomsnittlig renseeffekten. Det som kan påpekes her at biofilteret er forholdsvis ny ved disse prøvetakingene, og forventes noe forbedret ytelse ettersom belastningstiden øker. Dette med tanke på at biofilmen hadde ikke utviklet seg på slik måte at den hadde oppnådd sitt optimale forhold. Det ble også registrert at total gjennomsnittlig konsentrasjonsreduksjon var 80 mg/l som gir 64% med total gjennomsnittlig renseeffekt på 70%, disse talene var 112 mg/l, 77% og 76% respektivelig for A03 mens disse tallene for den sekundære slamavskilleren var 2,5 mg/l, 5,5% og 5,8% respektivelig, som er beskjeden ytelse i forhold til hva skulle man forvente av det rensetrinnet. Men igjen kan man beslutte seg til at denne ytelsen vart slik grunnet den store volumbelastningen på systemet total sett.



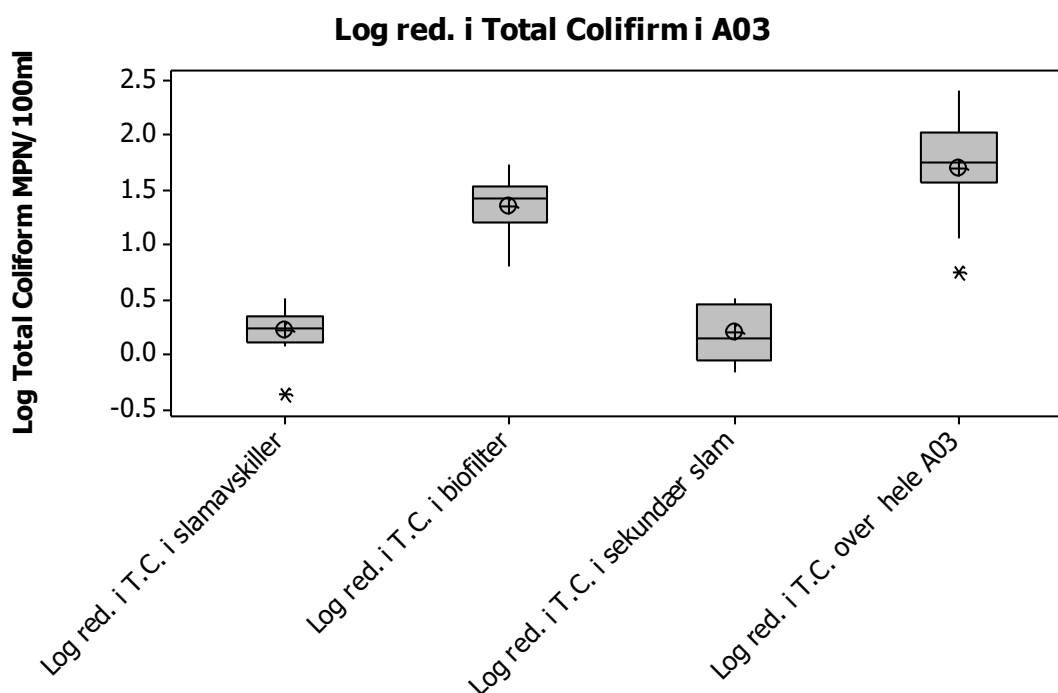
Figur 4-9 Konsentrasjonsstatistikken i BOD for A03.



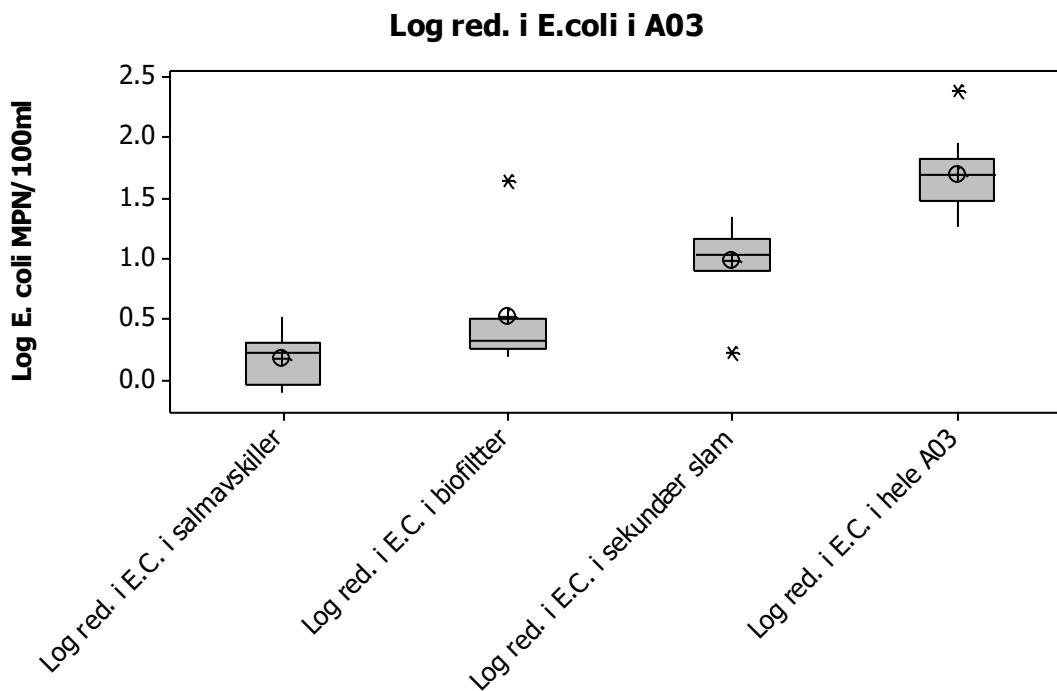
Figur 4-10 Prosentisk renseseffektstatistikk med hensyn på BOD for A03.

4.5 Analysen for de totale koliforme og E.coli

Hyginiserings forhold for A03-gråvannrenseanlegg med hensyn på de totale koliforme og E.coli var veldig tilfredsstillende, selv med den relativt høyt volumbelastningen så ble det registrert totalt 1,7log i gjennomsnitt reduksjon gjennom A03 for både totale koliforme og E.coli. høyeste reduksjon i totale koliforme skjedde i biofilteret. Mens høyest reduksjon i E.coli skjedde i den sekundære slamavskilleren. Det kan skyldes overlevelsesmønsteret til hver av disse gruppene. Som det ble diskutert tidligere reduksjonen i disse kan indikerer på at det skjer reduksjon i andre avløpsrelatert mikrobielle organisme i gråvannet. Men dette må ikke være en selvfølge med tanke på sluttdisponering av gråvannet. Man må alltid vurdere risikoen for utslipp av rensed gråvann til ytre miljø. Dette i praksisen vil betyr at man bør undersøke sensitiviteten til vannforekomsten som vil dette vann slippes ut til.



Figur 4-11 Log reduksjon i total koliforme for A03.



Figur 4-12 Log reduksjon i E.coli for A03.

4.6 Hygieniseringsforsøk for Salmonella typhimurium 28B

Som det ble presentert i resultat kapitlet at det ikke observert nevneverdig reduksjon i S.t.28 viruset gjennom A03 gråvannrensaneanlegg. Resultatet i denne oppgaven her ligner på tidlig resultater som ble funnet ved testingen av A02 og tidligere versjonen av A03. Forklaring for at A03 var ikke i stand til å fjerne noe av S.t.28b kan beskrives med at dette fagviruset er et veldig konservativt virus og kan dermed tåle å bli utsatt for mange fysiske og kjemiske forhold. En annen grunn som kan stå bak dette er at usikkerheten som er knyttet til doseringen av virus, da er det slik at doseringspumpe kan gjennom tiden variere sin pumpingssekvens og gir dermed noe utslag i viruskonsentrasjon i alle leddene i A03. Og den tredje kilde til usikkerheten som man kan også benevne her er selve doubleagar metodens nøyaktighet. Da tar denne metoden i utgangspunktet kun antall vertsceller som blir infisert av viruset og antar at det er kun et virus som infiserte vertscellen. Mens i realiteten kan virus ha dannet seg et slags flakk av virusindivider som aggregerer seg til andre stoffer som befinner seg i vannet. Dette er helt vanlig å tenke på spesielt når virusindivider befinner seg i avløpsvannet. Da det sist nevnt inneholder tallrikt med partikler. Det flakket kan faktisk infisere en enkelt vertscelle. På denne måte virustellingen kan være usikker.

4.7 Risikovurdering

Oppgaven her tar for seg å måle hvor mye virus og andre indikator organisme som kan bli fjernet eller tilbakeholdt i et gråvannrenseanlegg. Eller med andre ord hvilket hygienseringsnivå vil man oppnå med dette renseanlegg, og hvilke vannforekomsten som man slipper ut rensset gråvann til. Og er derfor viktig å forutsi noe om konsekvensen av å slippe ut rensset gråvann til det ytre miljø.

En annen måte å finne ut hva som er god nok hygienisering på er å gjøre en risikovurdering, for å estimere konsekvensene av ulike tenkte hendelser, som lekkasjer, transport og ulike deponeringsalternativer. Haas et al. (1999) sitert i Friborg 2015 definerer risikovurdering slik:

En risikovurdering er den kvalitative eller kvantitative karakteriseringen og estimeringen av potensielle ugunstige helseeffekter forbundet med eksponering av individer eller populasjoner for farer (materialer eller situasjoner, fysiske, kjemiske og eller mikrobielle agenter).

Kvantitativ mikrobiell risikovurdering (QMRA) er et rammeverk som kombinerer matematiske modeller med informasjon om mikroorganismene for å estimere konsekvensene av en planlagt eller aktuell eksponering. QMRA består av fire steg (Haas et al. 1999 sitert i Friborg 2015):

1. Identifisere farene ved eksponering: Hvilke mikroorganismer eksponeres man for, og hvilke sykdommer som er forbundet med disse.
2. Dose-respons vurdering: Beskrive forholdet mellom eksponert dose og sannsynligheten for at individet infiseres.
3. Eksponeringsvurdering: Definere hvor mange som er eksponert, hvordan dette skjedde, hvor mye de er eksponert (mengde og frekvens/varighet) for ulike mikroorganismer
4. Risikokarakterisering: samler informasjonen fra de tre første stegene for å estimere sannsynligheten og størrelsen på negative helseeffekter.

5 Konklusjon

Kildeseparering av avløpsvann er en effektiv måte for å behandle avløpsvann på. Ved separerer gråvann (vannet som ikke inneholder toalett fraksjon) fra svartvann (toalett vann), kan man enklere behandle gråvann i forhold til sin sammensetning. Da denne fraksjonen av avløpsvannet inneholder mindre forurensninger (deriblant mikrobielle mikroorganismer) enn svartvann, mens volumet på gråvann utgjør mer enn 90% av total avløpsvann. Blir det mer lønnsomt både med hensyn på total kostnad, energiutnytting og resirkulering av næringsstoff og organiskmaterialer å håndtere gråvannet separat.

Hoved utfordringen som er forbundet med rensingen av gråvannet er å hygienisere det nok før det kan utslippes til ytre miljø. A03-gråvannminirensesanlegg ble testet i denne oppgave i forbindelse med å se hvor effektivt det er for å fjerne/tilbakeholde eller inaktivere avløpsrelaterte mikrobielle mikroorganismer (bakterier og virus). I tillegg A03 ble også testet for sin evne til å redusere konsentrasjon av andre stoffer som har betydning for utslipp av det rensede vann til vandige miljø, spesielt med tanke på sårbare vannforekomster.

A03-gråvannrenseanlegg viste seg å ha relativt god renseseffekt i forhold til SS, COD, BOD og moderat renseseffekt for total fosfor. Det hadde også vist relativt høye log reduksjoner ca. $1,7\log_{10}$ for både totale koliforme og E.coli. Men det hadde ikke målbare reduksjon i forhold til modellviruset Salmonella Typhimurium 28B fag, som brukt som indikator for enteriske virus. Dette modellvirus har vært veldig stabilt gjennom hele A03-renseanlegg mot fysiske og kjemiske forhold i A03-renseanlegg. Noe som gjør det viruset et veldig konservativt valg som modellvirus, og viste seg til å ha minst like god eller bedre overlevelsessevne enn de fleste enteriske virus som kan finnes i gråvannet. Men dette utelukker ikke at de vanlige enteriske virus vil kunne bli fjernet i A03-renseanlegg.

Det mangler her å nevne at den eksterne primære slamavskilleren hadde lite eller moderat renskapasitet for nesten alle gråvannkvalitetsparametere. Dette grunnet den fysiske utformingen til slamavskiller og strømningsregime inn i slamavskilleren. Da er det slik at ved utformingen av denne slamavskilleren tatt kun hensyn på volumet til tank (volumetrisk oppholdstid) og ikke tatt hensyn til overflatebelastningsareal. Som forbedringspotensial vil det være intuitivt å tenke på utskifting av den eksterne slamavskilleren med en som har større

overflatebelastningsareal. Dette for å gi A03-reanseanlegg forbedret renskapasitet, og ikke minst bedre resurs forbruk. I tillegg vil redusering av belastningen i biofilteret gi forbedret renseseffekt for de fleste undersøkte parametere

For videre undersøkelser anbefales at man forsker på om ny type slamavskiller vil gi noe forbedret renseseffekt.

Det kan også tenkes at viruset S.T. 28b er for konservativt valg, da er spørsmålet her kan andre virus være bedre egnet for dette formål, og hvilket i så fall.

Man vil altså naturlig tenke om belastningsforhold på biofilteret har noe effekt på rensing, og hva kan det optimale belastningsforholdet som gir beste resultat i forbindelse med rensesgraden for hver av de foretatt vannkvalitetsparametere.

6 Kilde

1. Abusam A. Reuse of greywater in kuwait. *International Journal of Enviromental Studies*. (2008).
2. Jenerette GD, Larsen L. (2006) A global perspective on changing sustainable urban water supplies.
3. Lake PS, Bond NR. Australian futures: fresh water ecosystems and human water usage, (2007).
4. Lundqvist J, Tortajada C, Varis O, Biswas A, (2005) water management in megacities.
5. Al-Jayyousi, O. (2003). Grey water reuse: Towards sustainable water management. *Desalination*, 156, 181–192.
6. Jeppersen B., Solly, D., 1994. Domestic greywater reuse: Overseas Practice and its Applicability to Australia. Urban Research Association of Australia, Brisbane city Council, Research Report No. 73.
7. Jenssen, P.D. and O.J. Skjelhaugen. 1994. Local ecological solutions for wastewater and organic waste treatment - a total concept for optimum reclamation and recycling. Proc. Seventh International Symposium on Individual and Small Community Sewage systems, Atlanta, ASAE 18-94, pp. 379-387.
8. Jenssen P.D. 1996. Ecological engineering – fundamentals and examples. In: J. Staudenmann, et al. ed. *Recycling the resource: Proceedings of the second international conference on ecological engineering for wastewater treatment*, Waedenswil, Switzerland, Sept. 18-22 1995. *Env. Research volumes 5-6*, Transtec, pp. 15-23
9. Jenssen P. D. 1999. An overview of source separating solutions for wastewater and organic waste treatment. In: Kløwe B et al. (eds.). *Management the wastewater resource. Proceedings of the fourth international conference on Ecological Engineering for Wastewater Treatment*. Agr. Univ. Norway, Ås. June 7-11 1999.
10. Jenssen P.D. 2001. "Design and performance of ecological sanitation systems in Norway", Paper at The First International Conference on Ecological Sanitation, Nanning, China.
11. Petter D. Jenssen and Lasse Vråle. *Greywater Treatment in combined Biofilter/Constructed Wetlands in Cold Climate*, (2003).
12. Morales, Ivan; Atoyán, Janet A.; Amador, Jose A.; et al (2014). *Transport of Pathogen Surrogates in Soil Treatment Units: Numerical modeling*.
13. Balkwill, DL.; Murphy, EM; Fair, DM; et al. (1998). *Microbial Communities in High and Low Recharge Environments: Implications for Microbial Transport in the Vadose Zone*.
14. Daniel Todt, *Philosophiae Doctor (PhD) Thesis (2015): Kildeseparerende sanitærsystemer minimering av energiforbruk og lystgassutslip ved biologisk rensing av svartvann*.
15. Nasjonalt folkehelseinstitutt. *Miljø og helse - en forskningsbasert kunnskapsbase (Helsinkirapporten)*, revisjon 2003. Rapport 2003:9. <http://www.fhi.no/dav/3A37ABDAB0.pdf>
16. Forskrift om vannforsyning og drikkevann (drikkevannsforskriften) med veileder. Helsedepartementet, 2001.
17. Hongve D. et al. *Landsoversikt – drikkevannskvalitet. Spormetaller i vann fra norske vannverk*. Folkehelse vannrapport nr. 92, 1994.
18. Frengstad B. et al. The chemistry of Norwegian groundwaters: III. The distribution of trace elements inn 476 crystalline bedrock groundwaters, as analysed by ICP-MS techniques. *The Science of the Total Environment* 246 (2000) 21-40.

18. Verdens helseorganisasjon (WHO), Guidelines for drinking-water quality, third edition, Volum 1, 2004.
19. Fonahn W., Haarstad K. Plantervernmidde i norske drikkevasskjelder. SNT rapport 3, 2002.
20. USEPA, National Primary Drinking Water Standards
<http://www.epa.gov/safewater/consumer/mcl.pdf> (EPA 816-F-03-016 June 2003 - 396 K PDF FILE).
21. International Agency for Research on Cancer (IARC): <http://www.iarc.fr/>
22. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. Official Journal of the European Communities, L330, 5.12.1998.
23. Rasmussen, G., P.D. Jenssen and L. Westlie. 1996. Graywater treatment options. In: J. Staudenmann, et al. ed. Recycling the resource: Proceedings of the second international conference on ecological engineering for wastewater treatment, Waedenswil, Switzerland, Sept. 18-22 1995. Env. Research volumes 5-6, Transtec, pp. 215-220.
24. Ottosen, J. and T. A. Stenström. 2002. Faecal contamination of greywater and associated microbial risks. Water Research, 37, 645-655.
25. Ecomotive A02 Greywater Treatment Plant, (2014).
26. Arve Heistad, Philosophiae Doctor (PhD) Thesis: Small scale wastewater treatment – design optimization, reduction efficiency and risk prediction, (2008).
27. Stenström, T. A., Seidu, R., Ekane, N. & Christian, Z. (2011). Microbial exposure and health assessments in sanitation technologies and systems. EcoSanRes Series, 9789186125363. Stockholm: Stockholm Environment Institute.
28. Hamnes, I.S., Gjerde, B., Robertson, L., Vikoren, T. and Handeland, K. (2006) Prevalence of Cryptosporidium and Giardia in free-ranging wild cervids in Norway.
29. Flewett, T. (1982). Clinical features of rotavirus infections. I: Tyrell D, Kapikian A, eds. I: Tyrell D, Kapikian A, eds. Virus infections of gastrointestinal tract: New York, Marcel Dekker, 125-137.
30. Friberg Torbjørn, Master oppgave: Inactivation of Viruses by Pasteurisation of Blackwater from Red Cross' Field Hospitals (2015).
31. Nasjonal helse institutt Vannforsyningsboka ABC (2008).
32. Ackermann HW. Bacteriophage observations and evolution. Res Microbiol. 2003;
33. Ackermann HW. 5500 phages examined in the electron microscope.
34. Breitbart M, Wegley L, Leeds S, Schoenfeld T, Rohwer F. Phage community dynamics in hot springs. Appl Environ Microbiol. 2004;
35. Davis C, Silveira NFA, Fleet GH. Occurrence and properties of bacteriophages of *Leuconostoc oenos* in Australian wines. Appl Environ Microbiol. 1985
36. Bachrach G, Leizerovici-Zigmond M, Zlotkin A, Naor R, Steinberg D. Bacteriophage isolation from human saliva. Lett Appl Microbiol. 2003;
37. Gantzer Ch, Henny J, Schwartzbrod L. *Bacteroides fragilis* and *Escherichia coli* bacteriophages in human feces. Int J Hyg Environ Health. 2002;
38. Frenkel D, Solomon B. Filamentous phage as vector-mediated antibody delivery to the brain. Proc Natl Acad Sci USA. 2002;
39. Caroli G, Armani G, Levre E, Jefferson TO. Finding of *E. coli* phage in urinary tract infections. Ann Sclavo. 1980;
40. Hanlon GW. Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. Int J Antimicrob Agents. 2007;
41. Hendrix RW. Bacteriophages: evolution of the majority. Theor Popul Biol. 2002

42. Kameyama L, Fernandez L, Bermudez RM, Garcia-Mena J, Ishida C, Guarueros G. Properties of a new coliphage group from human intestinal flora. *Rec Res Develop Virol.*2001;
43. Keller R, Traub N. The characterization of *Bacteroides fragilis* bacteriophage recovered from animal sera: observations on the nature of bactericides phage carrier cultures. *J Gen Virol.* 1974;
44. Kumari S, Harjai K, Chibber S. Isolation and characterization of *Klebsiella pneumonia* specific bacteriophages from sewage samples. *Folia Microbiol.* 2010;
45. Lucena F, Ribas F, Duran AE, Skraber S, Gantzer C, Campos C, Morón A, Calderón E, Jofre J. Occurrence of bacterial indicators and bacteriophages infecting enteric bacteria in ground water in different geographical areas. *J Appl Microbiol.* 2006;
46. Nigutová K, Štyriak I, Javorský P, Pristaš P. Partial characterization of *Enterococcus faecalis* Bacteriophage F4. *Folia Microbiol.* 2008
47. Prigent M, Leroy M, Confalonieri F, Dutertre M, DuBow MS. A diversity of bacteriophages forms and genomes can be isolated from the surface sands of Sahara Desert. *Extremophiles.* 2005;
48. Lin L, Honh W, Ji X, Han J, Huang L, Wei Y. Isolation and characterization of an extremely long tail *Thermusbacteriophage* from Tegchong hot springs in China. *J Basic Microbiol.* 2010;
49. Säwström CH, Lisle J, Anesio AM, Priscu JC, Laybourn-Parry J. Bacteriophage in polar inland waters. *Extremophiles.*2008;
50. Tartera C, Jofre J. Bacteriophages active against *Bacteroides fragilis* in sewage-polluted waters. *Appl Environ Microbiol.*1987;
51. Weinbauer M. Ecology of procaryotic viruses. *FEMS Microbiol Rev.* 2004;
52. Wichels A, Biel SS, Gelderblom HR, Brinkhoff T, Muyzer G, Schutt CH. Bacteriophage diversity in the North Sea. *Appl Environ Microbiol.* 1998;
53. Yoon SS, Barrangou-Pouey R, Breidt F, Jr, Klaenhammer TR, Fleming HP. Isolation and characterization of bacteriophages from fermenting sauerkraut. *Appl Environ Microbiol.* 2002;
54. Grabow, W.O.K (2001) Bacteriophages: update on application as models for viruses in water.
55. Ashbolt, N. J., Grabow, W. O. K. & Snozzi, M. (2001). Indicators of microbial water quality. I: Fewtrell, L. & Bartram, J. (red.) *Water quality: Guidelines, standards and health. Assessment of risk and risk management for water-related infectious disease.* London: IWA Publishing.
56. Van Oss CJ., Chaudhury M.K., Good RJ. (1989) interfacial lifshitz-Van der Waals and polar interactions in macoscopic systems.
57. Meinders, J.M., Van der Mei, H. C. & Busscher, H.J. (1995). Deposition efficiency and reversibility of bacterial adhesion under flow. *J Colloid Interface Sci* 176, 329-341.
58. Joseph N. Ryan, Menachem Elimelech. 1996. *Colloid mobilization and transport in groundwater.* University of California, Los Angeles, CA 90095-1593, USA.
59. Moore, R. S., D. H. Taylor, and L. S. Sturman .1982. Adsorption of reovirus by minerals and soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 852-859.
60. Bales, R., Li, S., Maguire, K. M., Yahya, M. T., and Gerba, C. P. (1993). "MS2 and poliovirus tranport in porous media:hydrophobic effects and chemical perturbations." *Water Resources Research.*, 29, 957-963.
61. Bales, R. C., Hinkle, S. R., Kroeger, T. W., Stocking, K., and Gerba, C. P. (1991). "Bacteriophage Adsorption During Transport through Porous-Media - Chemical

- Perturbations and Reversibility." *Environmental Science & Technology*, 25(12), 2088-2095.
62. Powelson, D. K., Simpson, J. R., and Gerba, C. P. (1990). Virus Transport and Survival in Saturated and Unsaturated Flow through Soil Columns. *Journal of Environmental Quality*. 19(3): 396-401.
 63. Zhuang, J., and Jin, Y. (2003). "Virus retention and transport through Al-oxide coated sand columns: effects of ionic strength and composition." *Journal of Contaminant Hydrology*, 60(3-4), 193-209.
 64. Schijven, J. F, and S. M. Hassanizadeh .2000. Removal of viruses by soil passage: Overview of modeling, processes, and parameters. *Crit. Rev. Environ. Sci. Tech.* 30:49-127.
 65. Lasobras, J., Dellunde, J., Jofre, J. & Lucena, F. (1999). Occurrence and levels of phages proposed as surrogate indicators of enteric viruses in different types of sludges. *Journal of Applied Microbiology*, 86 (4): 723-723.
 66. Eisenstark, A., Rabsch, W. & Ackermann, H.-W. (2009). Morphology of Salmonella Typhimurium typing phages of the Lilleengen set. *Canadian journal of microbiology*, 55 (12): 1403-1405.
 67. Carlander, A., Aronsson, P., Allestam, G., Stenstrom, T. A. & Perttu, K. (2000). Transport and retention of bacteriophages in two types of willow-cropped lysimeters. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 35 (8): 1477-1492.
 68. Eller, G., Norin, E. & Stenstrom, T. A. (1996). Aerobic thermophilic treatment of blackwater, mixed with organic waste and liquid manure: Persistence of selected pathogens and indicator organisms. I: Staudemann, J., Schonborn, A. & Etnier, C. (red.) *Environmental Research Forum*, b. 5-6 *Recycling the Resource: Proceedings of the Second International Conference on Ecological Engineering for Wastewater Treatment*, s. 355-357. Stafa-Zurich: Trans Tech Publications Ltd.
 69. Hallin, E. (2014). E-post til Arve Heistad 28.08.2014.
 70. Haas, C.N., Rose, J.B., Gerba, C.P., 1999. *Quantitative Microbial Risk Assessment*. John Wiley & Sons, Inc., New York, USA, ISBN 0-471-18397-0.
 71. Morales, Ivan; Atoyán, Janet A.; Amador, Jose A.; et al (2014). *Transport of Pathogen Surrogates in Soil Treatment Units: Numerical modeling*.
 72. Norin, E., Stenström, T. & Albihn, A. (1996). Stabilisation and disinfection of blackwater and organic waste by liquid composting. *Vatten (Sweden)*.
 73. Heidary Rad, L. (2014). *Removal of Salmonella Typhimurium phage 28B by Nanoscale zerovalent iron (nZVI) from water*. Ås: Mastergradsoppgave ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Dept. of Environmental Sciences (IMV).
 74. Mari Grimstad (2015). *Testing of point-of-use drinking water treatment base don unsaturated filtrasjon*.
 75. C. J. Hurst, C.P. Gerba, I. Cech (1980). Effects of environmental variables and soil characteristics on virus survival in soil.
 76. Höglund, C., Ashbolt, N., Stenström, T. A. & Svensson, L. (2002). Viral persistence in source-separated human urine. *Advances in Environmental Research*, 6 (3): 265-275.
 77. Lilleengen, K. (1948). *Typing of salmonella typhi murium by means of bacteriophage*, b. 77. Copenhagen: Munksgaard. 125 s.
 78. Balkwill, DL.; Murphy, EM; Fair, DM; et al. (1998). *Microbial Communities in High and Low Recharge Environments: Implications for Microbial Transport in the Vadose Zone*.


79. Nordin, A. (2010). Ammonia sanitisation of human excreta treatment technology for production of fertiliser. Uppsala: Doktorgradsoppgave (sammenfattning) Uppsala : Sveriges lantbruksuniv., 2010. Nordin, A., Niwagaba, C., Jonsson, H. & Vinneras, B. (2013). Pathogen and indicator inactivation in source-separated human urine heated by the sun. *Journal of Water Sanitation and Hygiene for Development*, 3 (2): 181-188.
80. Powelson, D.K. and Gerba, C.P. 1994. Virus removal from sewage effluents during saturated and unsaturated flow through soil columns. *Water Res.* 28, 2175–2181.
81. Ødegaard, H. (red.). (2012). *Vann- og avløpsteknikk*. 1 utg. Hamar: Norsk Vann.
82. Tonner-Klank, L., Moller, J., Forslund, A. & Dalsgaard, A. (2007). Microbiological assessments of compost toilets: In situ measurements and laboratory studies on the survival of fecal microbial indicators using sentinel chambers. *Waste Management*, 27 (9): 1144-1154.

Vedlegg A Turbiditet målinger ut av A03-utløpet

Dato	Turbiditet A03 (FNU)
14.03.2016	95
17.03.2016	89,2
18.03.2016	84,3
22.03.2016	63,1
24.03.2016	48,8
26.03.2016	56,9
28.03.2016	39,5
31.03.2016	27,8
03.04.2016	33,4
05.04.2016	28,6
07.04.2016	39,9
09.04.2016	29,4
12.04.2016	39,1
14.04.2016	35

Vedlegg B Colilert-18 E.coli og total koliforme analyse metoden og sine data.

Quanti-Tray*/2000
Insert and Most Probable Number (MPN) Table



Quantri-Tray* Certificate of Sterility
This certifies that the enclosed Quanti-Tray/2000 trays have been sterilized with ethylene oxide.

For technical support, please call:
North/South America: +1 207 556 4496 or 1 800 321 0207
Europe: +00800 4339 9111
UK: +44 01638 676800
China: +86 21 61279528
Japan: +81 422 71 5921
Australia: +1800 443 399
idexx.com/water

The method Colilert*-18/Quanti-Tray*/2000 for water analysis is granted NF Validation by AFNOR Certification as an alternative method to the standard ISO 9308-3 for detection and enumeration of *Escherichia coli* β -glucuronidase positive in bathing water, under the Certificate number: IDX 33/02 - 06/12 For more information about end of validity, please refer to the certificate NF Validation available on website mentioned above

La méthode Colilert*-18 / Quanti-Tray*/2000 pour le contrôle des eaux est certifiée NF Validation par AFNOR Certification comme méthode alternative à la norme NF EN ISO 9308-3 pour le dénombrement des *Escherichia coli* β -glucuronidase positive dans les eaux de baignades sous le n° d'attestation: IDX 33/02 - 06/12. La date de fin de validité de la certification NF Validation est précisée sur l'attestation, disponible auprès d'IDEXX ou d'AFNOR Certification.

BY AFNOR CERTIFICATION
NF
VALIDATION

IDX 33/02 - 06/12
WATER ANALYSIS METHODS
www.afnor-validation.org

IDEXX
One IDEXX Drive
Westbrook, Maine 04092 USA

*Quanti-Tray and Colilert are trademarks or registered trademarks of IDEXX Laboratories, Inc. or its affiliates in the United States and/or other countries.
Patent information: idexx.com/patents.
© 2013 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved. • 06-02320-14

Quanti-Tray*/2000

English

Introduction

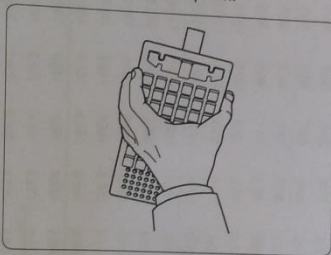
IDEXX Quanti-Tray*/2000 is designed to give quantitated bacterial counts of 100 mL samples using IDEXX reagent products. Add the reagent/sample mixture to a Quanti-Tray/2000, seal it in a Quanti-Tray* Sealer and incubate per the reagent instructions. Count the number of positive large and small wells and use the Most Probable Number (MPN) Table attached to determine the MPN.

Contents

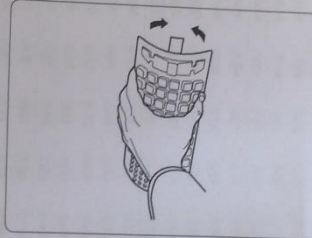
This package contains sterile Quanti-Tray/2000 trays.

User Instructions

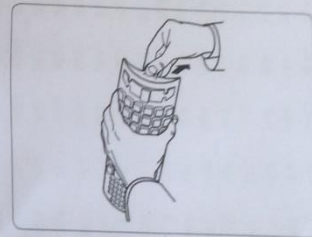
1. Use one hand to hold a Quanti-Tray* upright with the well side facing the palm.



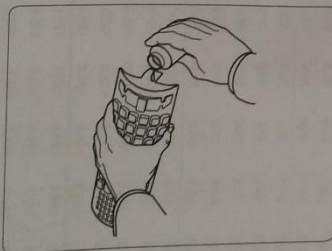
2. Squeeze the upper part of the Quanti-Tray so that the Quanti-Tray bends toward the palm.



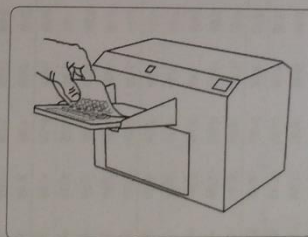
3. Gently pull foil tab to separate the foil from the tray. Avoid touching the inside of the foil or tray.



4. Pour the reagent/sample mixture directly into the Quanti-Tray, avoiding contact with the foil tab. Tap the small wells 2-3 times to release any air bubbles. Allow foam to settle.



5. Place the sample-filled Quanti-Tray onto the Quanti-Tray/2000 rubber insert of the Quanti-Tray Sealer with the well side (plastic) of the Quanti-Tray facing down.



6. Seal according to the Quanti-Tray Sealer instructions.
7. Incubate according to reagent instructions.
8. Count large and small positive wells and refer to the Quanti-Tray/2000 MPN table to find the MPN.*
9. Dispose of media in accordance with good laboratory practices.

For technical support, please call:

North/South America: +1 207 556 4496 or 1 800 321 0207
Europe: +00800 4339 9111
UK: +44 01638 676800
China: +86 21 61279528
Japan: +81 422 71 5921
Australia: +1800 443 399

idexx.com/water

*Download the IDEXX MPN generator software for automated Quanti-Tray results at idexx.com/mpngenerator.
*Quanti-Tray is a trademark or registered trademark of IDEXX Laboratories, Inc. in the United States and/or other countries.

IDEXX

One IDEXX Drive
Westbrook, Maine 04092 USA

IDEXX Quanti-Tray/2000 MPN Table

# Large Wells Positive	# Small Wells Positive																																										
	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48																			
0	25.3	26.4	27.4	28.4	29.5	30.5	31.5	32.6	33.6	34.7	35.7	36.8	37.8	38.9	40.0	41.0	42.1	43.1	44.2	45.3	46.3	47.4	48.5	49.5																			
1	26.6	27.7	28.7	29.8	30.8	31.9	32.9	34.0	35.0	36.1	37.2	38.2	39.3	40.4	41.4	42.5	43.6	44.7	45.7	46.8	47.9	49.0	50.1	51.2																			
2	27.9	29.0	30.0	31.1	32.2	33.2	34.3	35.4	36.5	37.5	38.6	39.7	40.8	41.9	43.0	44.0	45.1	46.2	47.3	48.4	49.5	50.6	51.7	52.8																			
3	29.3	30.4	31.4	32.5	33.6	34.7	35.8	36.8	37.9	39.0	40.1	41.2	42.3	43.4	44.5	45.6	46.7	47.8	48.9	50.0	51.2	52.3	53.4	54.5																			
4	30.7	31.8	32.8	33.9	35.0	36.1	37.2	38.3	39.4	40.5	41.6	42.8	43.9	45.0	46.1	47.2	48.3	49.5	50.6	51.7	52.9	54.0	55.1	56.3																			
5	32.1	33.2	34.3	35.4	36.5	37.6	38.7	39.9	41.0	42.1	43.2	44.4	45.5	46.6	47.7	48.9	50.0	51.2	52.3	53.5	54.6	55.8	56.9	58.1																			
6	33.5	34.7	35.8	36.9	38.0	39.2	40.3	41.4	42.6	43.7	44.8	46.0	47.1	48.3	49.4	50.6	51.7	52.9	54.1	55.2	56.4	57.6	58.7	59.9																			
7	35.0	36.2	37.3	38.4	39.6	40.7	41.9	43.0	44.2	45.3	46.5	47.7	48.8	50.0	51.2	52.3	53.5	54.7	55.9	57.1	58.3	59.4	60.6	61.8																			
8	36.6	37.7	38.9	40.0	41.2	42.3	43.5	44.7	45.9	47.0	48.2	49.4	50.6	51.8	53.0	54.1	55.3	56.5	57.7	59.0	60.2	61.4	62.6	63.8																			
9	38.1	39.3	40.5	41.6	42.8	44.0	45.2	46.4	47.6	48.8	50.0	51.2	52.4	53.6	54.8	56.0	57.2	58.4	59.7	60.9	62.1	63.4	64.6	65.8																			
10	39.7	40.9	42.1	43.3	44.5	45.7	46.9	48.1	49.3	50.6	51.8	53.0	54.2	55.5	56.7	57.9	59.2	60.4	61.7	62.9	64.2	65.4	66.7	67.9																			
11	41.4	42.6	43.8	45.0	46.3	47.5	48.7	49.9	51.2	52.4	53.7	54.9	56.1	57.4	58.6	59.9	61.2	62.4	63.7	65.0	66.3	67.5	68.8	70.1																			
12	43.1	44.3	45.6	46.8	48.1	49.3	50.6	51.8	53.1	54.3	55.6	56.8	58.1	59.4	60.7	62.0	63.2	64.5	65.8	67.1	68.4	69.7	71.0	72.4																			
13	44.9	46.1	47.4	48.6	49.9	51.2	52.5	53.7	55.0	56.3	57.5	58.9	60.2	61.5	62.8	64.1	65.4	66.7	68.0	69.3	70.7	72.0	73.3	74.7																			
14	46.7	48.0	49.3	50.5	51.8	53.1	54.4	55.7	57.0	58.3	59.6	60.9	62.3	63.6	64.9	66.3	67.6	68.9	70.3	71.6	73.0	74.4	75.7	77.1																			
15	48.6	49.9	51.2	52.5	53.8	55.1	56.4	57.8	59.1	60.4	61.8	63.1	64.5	65.8	67.2	68.5	69.9	71.3	72.6	74.0	75.4	76.8	78.2	79.6																			
16	50.5	51.8	53.2	54.5	55.8	57.2	58.5	59.9	61.2	62.6	64.0	65.3	66.7	68.1	69.5	70.9	72.3	73.7	75.1	76.5	77.9	79.3	80.8	82.2																			
17	52.5	53.9	55.2	56.6	58.0	59.3	60.7	62.1	63.5	64.9	66.3	67.7	69.1	70.5	71.9	73.3	74.8	76.2	77.6	79.1	80.5	82.0	83.5	84.9																			
18	54.6	56.0	57.4	58.8	60.2	61.6	63.0	64.4	65.8	67.2	68.6	70.1	71.5	73.0	74.4	75.9	77.3	78.8	80.3	81.8	83.3	84.8	86.3	87.8																			
19	56.8	58.2	59.6	61.0	62.4	63.9	65.3	66.8	68.2	69.7	71.1	72.6	74.1	75.5	77.0	78.5	80.0	81.5	83.1	84.6	86.1	87.6	89.2	90.7																			
20	59.0	60.4	61.9	63.3	64.8	66.3	67.7	69.2	70.7	72.2	73.7	75.2	76.7	78.2	79.8	81.3	82.8	84.4	85.9	87.5	89.1	90.7	92.2	93.8																			
21	61.3	62.8	64.3	65.8	67.3	68.8	70.3	71.8	73.3	74.9	76.4	77.9	79.5	81.1	82.6	84.2	85.8	87.4	89.0	90.6	92.2	93.8	95.4	97.1																			
22	63.8	65.3	66.8	68.3	69.8	71.4	72.9	74.5	76.1	77.6	79.2	80.8	82.4	84.0	85.6	87.2	88.9	90.5	92.1	93.8	95.5	97.1	98.8	100.5																			
23	66.3	67.8	69.4	71.0	72.5	74.1	75.7	77.3	78.9	80.5	82.2	83.8	85.4	87.1	88.7	90.4	92.1	93.8	95.5	97.2	98.9	100.6	102.4	104.1																			
24	68.9	70.5	72.1	73.7	75.3	77.0	78.6	80.3	81.9	83.6	85.2	86.9	88.6	90.3	92.0	93.8	95.5	97.2	99.0	100.7	102.5	104.3	106.1	107.9																			
25	71.7	73.3	75.0	76.6	78.3	80.0	81.7	83.3	85.1	86.8	88.5	90.2	92.0	93.7	95.5	97.3	99.1	100.9	102.7	104.5	106.3	108.2	110.0	111.9																			
26	74.6	76.3	78.0	79.7	81.4	83.1	84.8	86.6	88.4	90.1	91.9	93.7	95.5	97.3	99.2	101.0	102.9	104.7	106.6	108.5	110.4	112.3	114.2	116.2																			
27	77.6	79.4	81.1	82.9	84.6	86.4	88.2	90.0	91.9	93.7	95.5	97.4	99.3	101.2	103.1	105.0	106.9	108.8	110.8	112.7	114.7	116.7	118.7	120.7																			
28	80.8	82.6	84.4	86.3	88.1	89.9	91.8	93.7	95.6	97.5	99.4	101.3	103.3	105.2	107.2	109.2	111.2	113.2	115.2	117.3	119.3	121.4	123.5	125.6																			
29	84.2	86.1	87.9	89.8	91.7	93.7	95.6	97.5	99.5	101.5	103.5	105.5	107.5	109.5	111.6	113.7	115.7	117.8	120.0	122.1	124.2	126.4	128.6	130.8																			
30	87.8	89.7	91.7	93.6	95.6	97.6	99.6	101.6	103.7	105.7	107.8	109.9	112.0	114.2	116.3	118.5	120.6	122.8	125.1	127.3	129.5	131.8	134.1	136.4																			
31	91.6	93.6	95.6	97.7	99.7	101.8	103.9	106.0	108.2	110.3	112.5	114.7	116.9	119.1	121.4	123.6	125.9	128.2	130.5	132.9	135.3	137.7	140.1	142.5																			
32	95.7	97.8	99.9	102.0	104.2	106.3	108.5	110.7	113.0	115.2	117.5	119.8	122.1	124.5	126.8	129.2	131.6	134.0	136.5	139.0	141.5	144.0	146.6	149.1																			
33	100.0	102.2	104.4	106.6	108.9	111.2	113.5	115.8	118.2	120.5	122.9	125.4	127.8	130.3	132.8	135.3	137.8	140.4	143.0	145.6	148.3	150.9	153.7	156.4																			
34	104.7	107.0	109.3	111.7	114.0	116.4	118.9	121.3	123.8	126.3	128.8	131.4	134.0	136.6	139.2	141.9	144.6	147.4	150.1	152.9	155.7	158.6	161.5	164.4																			
35	109.7	112.2	114.6	117.1	119.6	122.2	124.7	127.3	129.9	132.6	135.3	138.0	140.8	143.6	146.4	149.2	152.1	155.0	158.0	161.0	164.0	167.1	170.2	173.3																			
36	115.2	117.8	120.4	123.0	125.7	128.4	131.1	133.9	136.7	139.5	142.4	145.3	148.3	151.3	154.3	157.3	160.5	163.6	166.8	170.0	173.3	176.6	179.9	183.3																			
37	121.3	124.0	126.8	129.6	132.4	135.3	138.2	141.2	144.2	147.3	150.3	153.5	156.7	159.9	163.1	166.5	169.8	173.2	176.7	180.2	183.7	187.3	191.0	194.7																			
38	127.9	130.8	133.8	136.8	139.9	143.0	146.2	149.4	152.6	155.9	159.2	162.6	166.1	169.6	173.2	176.8	180.4	184.2	188.0	191.8	195.7	199.7	203.7	207.7																			
39	135.3	138.5	141.7	145.0	148.3	151.7	155.1	158.6	162.1	165.7	169.4	173.1	176.9	180.7	184.7	188.7	192.7	196.8	201.0	205.3	209.6	214.0	218.5	223.0																			
40	143.7	147.1	150.6	154.2	157.8	161.5	165.3	169.1	173.0	177.0	181.1	185.2	189.4	193.7	198.1	202.5	207.1	211.7	216.4	221.1	226.0	231.0	236.0	241.1																			
41	153.2	157.0	160.9	164.8	168.9	173.0	177.2	181.5	185.9	190.3	194.8	199.5	204.2	209.1	214.0	219.1	224.2	229.4	234.8	240.2	245.8	251.5	257.2	263.1																			
42	164.3	168.6	172.9	177.3	181.9	186.5	191.3	196.1	201.1	206.2	211.4	216.7	222.2	227.7	233.4	239.2	245.2	251.3	257.5	263.8	270.3	276.9	283.6	290.5																			
43	177.5	182.3	187.3	192.4	197.6	202.9	208.4	214.0	219.8	225.8	231.8	238.1	244.5	251.0	257.7	264.6	271.7	278.9	286.3	293.8	301.5	309.4	317.4	325.7																			
44	193.6	199.3	205.1	211.0	217.2	223.5	230.0	236.7	243.6	250.8	258.1	265.6	273.3	281.2	289.4	297.8	306.3	315.1	324.1	333.3	342.8	352.4	362.3	372.4																			
45	214.1	220.9	227.9	235.2	242.7	250.4	258.4	266.7	275.3	284.1	293.3	302.6	312.3	322.3	332.5	343.0	353.8	364.9	376.2	387.9	399.8	412.0	424.5	437.4																			
46	241.5	250.0	258.9	268.2	277.8	287.8	298.1	308.8	319.9	331.4	343.3	355.5	368.1	381.1	394.5	408.3	422.5	437.1	452.0	467.4	483.3	499.6	516.3	533.5																			
47	280.9	292.4	304.4	316.9	330.0	343.6	357.8	372.5	387.7	403.4	419.8	436.6	454.1	472.1	490.7	509.9	529.8	550.4	571.7	593.8	616.7	640.5	665.3	691.0																			
48	344.1	360.9	378.4	396.8	416.0	436.0	456.9	478.6	501.2	524.7	549.3	574.8	601.5	629.4	658.6	689.3	721.5	755.6	791.5	829.7	870.4	913.9	960.6	1011.2																			
49	461.1	486.4	517.2	547.5	579.4	613.1	648.8	686.7	727.0	770.1	816.4	866.4	920.8	980.4	1046.2	1119.9	1203.3	1299.7	1413.6	1553.1	1732.9	1966.3	2419.6	>2419.6																			

Dato	Innløp T.C. mpn	Utløp (s) T.C.mpn	Utløp (BF) T.C.mpn	Utløp (A03) T.C. mpn
03.03.2016	12997000	6488000		
04.03.2016	7120000	4106000		
14.03.2016	10462000	3255000		248900
17.03.2016	19863000	8164000		76700
18.03.2016	10462000	7270000		86000
22.03.2016	6667000	5475000		110000
24.03.2016	4884000	4106000		114500
26.03.2016	4352000	2481000		137600
28.03.2016	3448000	2014000		631000
31.03.2016	6488000	4352000	151500	107600
03.04.2016	6867000	3076000	90800	133300
05.04.2016	12038000	3873000	195600	83300
06.04.2016	6488000	5172000	198600	62000
07.04.2016	10462000	24196000	435200	155310
09.04.2016	5475000	2755000	173290	141360
12.04.2016	5172000	2603000	403400	454100
Gjn.snitt	8327812,5	5586625	235484,2857	181547,8571
Std.avvik	4203091,85	5270648,282	130950,5583	163269,6127

Dato	Log reduksjon i slamavskiller	Log reduksjon i biofilter	Log reduksjon i sekundær slamavskiller	Total Log reduksjon i A03
03.03.2016	0,301732278			
04.03.2016	0,239061049			
14.03.2016	0,507063723			1,623589819
17.03.2016	0,386141847			2,413249479
18.03.2016	0,158080305			2,085116264
22.03.2016	0,085546332			1,78253777
24.03.2016	0,07535671			1,629970169
26.03.2016	0,244062122			1,500070453
28.03.2016	0,233507791			0,737537898
31.03.2016	0,173421955	1,458276254	0,148600362	1,78029857
03.04.2016	0,348780716	1,529900483	-0,166744301	1,711936898
05.04.2016	0,492506842	1,296678647	0,370723849	2,159909338
06.04.2016	0,098452325	1,415679272	0,505587555	2,019719152
07.04.2016	-0,36412886	1,745054689	0,447489467	1,828415296
09.04.2016	0,29826252	1,201348101	0,088446965	1,588057587
12.04.2016	0,298184348	0,809738274	-0,051415608	1,056507014
	3,576032002	9,45667572	1,342688289	23,91691571
	0,223502	1,350953674	0,191812613	1,708351122

Dato	Innløp E.C. mpn/100 ml	Utløp (s) E.C. mpn/100ml	Utløp (BF) E.C. mpn/100ml	Utløp (A03) E.C. mpn/100ml
03.03.2016	3076000	1850000		
04.03.2016	2330000	1334000		
14.03.2016	2909000	1259000		69700
17.03.2016	4611000	2723000		18900
18.03.2016	2359000	2613000		35900
22.03.2016	1374000	1529000		24600
24.03.2016	1211000	988000		66300
26.03.2016	717000	882000		31800
28.03.2016	504000	573000		18500
31.03.2016	1376000	886000	471000	44800
03.04.2016	2098000	1019000	331000	42600
05.04.2016	1658000	842000	404000	37700
06.04.2016	1860000	1137000	461000	21000
07.04.2016	2489000	3255000	74300	46110
09.04.2016	1935000	960000	547500	38730
12.04.2016	1565000	473000	307600	21420
Gjn.snitt	2004500	1395187,5	370914,2857	37004,28571
Std.avvik	996843,418	811194,446	154914,8414	16307,29224

Dato	Log red. i E.C. i salmavskiller	Log red. i E.C. i biofiltter	Log red. i E.C. i sekundær slamavskiller	Log red. i E.C. i hele A03
03.03.2016	0,220814603			
04.03.2016	0,242200091			
14.03.2016	0,363717991			1,620510943
17.03.2016	0,228747481			2,387333318
18.03.2016	-0,044411469			1,817633492
22.03.2016	-0,046420753			1,747051626
24.03.2016	0,088387199			1,261630615
26.03.2016	-0,089949429			1,353092036
28.03.2016	-0,055724086			1,435258808
31.03.2016	0,191184712	0,274412815	1,021742893	1,48734042
03.04.2016	0,3136313	0,48834619	0,890418395	1,692395885
05.04.2016	0,294272435	0,318930726	1,030040015	1,643243176
06.04.2016	0,21375248	0,392059539	1,341481631	1,947293649
07.04.2016	-0,116526096	1,641562179	0,207193692	1,732229774
09.04.2016	0,304409736	0,24388711	1,150336627	1,698633472
12.04.2016	0,519653201	0,18687481	1,157166865	1,863694875
	0,164233712	0,50658191	0,971197159	1,691953006
	0,187455602	0,510222953	0,365155248	0,279282781

Vedlegg C SS data for A03 renseanlegg

Dato	Innløp SS mg/l	Utløp (s) SS mg/l	Utløp (bf) SS mg/l	Utløp (A03) SS mg/l
24.02.2016	66	35,5		
03.03.2016	66	29,5		
04.03.2016	50	35		
14.03.2016	111	98		35
17.03.2016	141	66		46
18.03.2016	101	63,5		3,2
22.03.2016	104	66		13,2
24.03.2016	93	80		3
26.03.2016	90	80		41,5
28.03.2016	70	62		19
31.03.2016	100	68	22,5	21
03.04.2016	108	67	21,5	21
05.04.2016	96	71	24,5	22,5
07.04.2016	73	74	24	23
09.04.2013	103	63	20,5	20
12.04.2016	95	55	24,5	22
Gjn.snitt	91,6875	63,34375	22,91666667	22,33846154
Std.avvik	22,23726227	17,83789856	1,685724374	12,68821884

Dato	Renseeffekt SS i slamavskiller %	Renseeffekt SS i biofilter %	Renseeffekt SS i sekundær slamavskiller %	Renseeffekt SS i hele A03
24.02.2016	46,21212121			
03.03.2016	55,3030303			
04.03.2016	30			
14.03.2016	11,71171171			68,46846847
17.03.2016	53,19148936			67,37588652
18.03.2016	37,12871287			96,83168317
22.03.2016	36,53846154			87,30769231
24.03.2016	13,97849462			96,77419355
26.03.2016	11,11111111			53,88888889
28.03.2016	11,42857143			72,85714286
31.03.2016	32	66,91176471	6,666666667	79
03.04.2016	37,96296296	67,91044776	2,325581395	80,55555556
05.04.2016	26,04166667	65,49295775	8,163265306	76,5625
07.04.2016	-1,369863014	67,56756757	4,166666667	68,49315068
09.04.2013	38,83495146	67,46031746	2,43902439	80,58252427
12.04.2016	42,10526316	55,45454545	10,20408163	76,84210526
	30,13616784	65,13293345	5,66088101	77,34921473
	16,5706009	4,817131879	3,214077284	11,92942488

Vedlegg D Total fosfor data for A03 renseanlegg

Dato	Innløp TP mg/l	Utløp (s) TP mg/l	Utløp (BF) mg/l	Utløp (A03) mg/l
03.03.2016	0,769	0,618		
04.03.2016	0,556	0,313		
14.03.2016	0,683	0,679		0,402
17.03.2016	0,722	0,579		0,436
18.03.2016	0,853	0,673		0,482
22.03.2016	1,3	0,832		0,336
24.03.2016	1,44	1,3		0,466
26.03.2016	0,941	1,14		0,677
28.03.2016	0,685	0,8		0,631
31.03.2016	1,09	0,775	0,64	0,546
03.04.2016	1,78	0,817	0,665	0,508
05.04.2016	0,696	0,676	0,526	0,479
07.04.2016	0,75	0,684	0,746	0,495
09.04.2016	0,938	0,686	0,544	0,525
12.04.2016	0,963	0,689	0,54	0,54
Gjn.snitt	0,9444	0,750733333	0,610166667	0,501769231
Std.avvik	0,334497875	0,229157297	0,088014582	0,089161047

Dato	Renseeffekt Tot P for slamavskiller %	Renseeffekt Tot P for biofilter %	Renseeffekt Tot P for sekundære slamavskiller %	Renseeffekt Tot P for hele A03 %
03.03.2016	19,63589077			
04.03.2016	43,70503597			
14.03.2016	0,585651537			41,1420205
17.03.2016	19,80609418			39,61218837
18.03.2016	21,10199297			43,49355217
22.03.2016	36			74,15384615
24.03.2016	9,722222222			67,63888889
26.03.2016	-21,1477152			28,05526036
28.03.2016	-16,78832117			7,883211679
31.03.2016	28,89908257		14,6875	49,90825688
03.04.2016	54,1011236	17,41935484	23,60902256	71,46067416
05.04.2016	2,873563218	18,60465116	8,935361217	31,17816092
07.04.2016	8,8	22,18934911	33,6461126	34
09.04.2016	26,86567164	-9,064327485	3,492647059	44,02985075
12.04.2016	28,45275182	20,69970845	0	43,92523364
	17,50753627	13,96974722	14,06177391	44,34470342
	20,76159563	13,00773768	12,73426752	18,49829621

Vedlegg E total COD analyse Data for A03 anlegg

Dato	Innløp COD(T)mg/l	Utløp(s) COD(T) mg/l	Utløp (BF) COD(T) mg/l	Utløp (A03) COD(T) mg/l
24.02.2016	229	151		
03.03.2016	174	155		
04.03.2016	136	140		
16.03.2016	201	179		103
14.03.2016	259	245		133
17.03.2016	198	163		122
18.03.2016	322	206		86,2
22.03.2016	240	222		111
24.03.2016	233	211		101
26.03.2016	207	192		102
28.03.2016	155	161		95
30.03.2016	252	205	142	106
31.03.2016	301	189	107	93,7
03.04.2016	226	176	89,5	95,6
05.04.2016	228	142	96,7	103
06.04.2016	269	193	88,5	79,5
07.04.2016	221	176	79,8	94,9
09.04.2016	255	191	94,2	103
12.04.2016	296	239	139	155
Gjn.snitt	231,6842105	186,1052632	104,5875	105,24375
Std.avvik	48,00469032	30,48842173	23,48467205	18,38078594

Dato	Renseeffekt Tot COD i slamavskiller %	Renseeffekt Tot COD i biofilter %	Renseeffekt Tot COD i sekundære slamavskiller %	Renseeffekt Tot COD i hele A03 %
24.02.2016	34,06113537			
03.03.2016	10,91954023			
04.03.2016	-2,941176471			
16.03.2016	10,94527363			48,75621891
14.03.2016	5,405405405			48,64864865
17.03.2016	17,67676768			38,38383838
18.03.2016	36,02484472			73,22981366
22.03.2016	7,5			53,75
24.03.2016	9,442060086			56,65236052
26.03.2016	7,246376812			50,72463768
28.03.2016	-3,870967742			38,70967742
30.03.2016	18,65079365	30,73170732	25,35211268	57,93650794
31.03.2016	37,20930233	43,38624339	12,42990654	68,87043189
03.04.2016	22,12389381	49,14772727	-6,815642458	57,69911504
05.04.2016	37,71929825	31,90140845	-6,514994829	54,8245614
06.04.2016	28,2527881	54,14507772	10,16949153	70,44609665
07.04.2016	20,36199095	54,65909091	-18,92230576	57,05882353
09.04.2016	25,09803922	50,68062827	-9,341825902	59,60784314
12.04.2016	19,25675676	41,84100418	-11,51079137	47,63513514
	17,95169067	44,56161094	-0,644256197	55,18335687
	12,90000062	9,354959912	14,94776642	10,00592385

Vedlegg F Filtrert COD analyse data

Dato	Innløp COD(s) mg/l	Utløp (S) COD(s) mg/l	Utløp(BF) COD(s) mg/l	Utløp(A03) COD(s) mg/l
24.02.2016	172	93,7		
03.03.2016	86,7	73,8		
04.03.2016	72,3	75,4		
14.03.2016	150	140		89
16.03.2016	100	112		67
17.03.2016	96,9	100		64,2
18.03.2016	177	173		61,9
22.03.2016	140	108		87,7
24.03.2016	129	131		72,2
26.03.2016	106	113		71,4
28.03.2016	155	161		95
30.03.2016	131	94,7	68,1	82
31.03.2016	103	108	65,3	58,9
03.04.2016	110	112	61,3	67,9
05.04.2016	117	115	52,3	59,3
06.04.2016	105	97,9	47,1	43,2
07.04.2016	119	103	47,6	55,3
09.04.2016	119	114	55,2	61,2
12.04.2016	161	113	52,2	42,4
Gjn.snitt	123,6789474	112,5526316	56,1375	67,4125
Std.avvik	29,10004924	24,90536239	7,922650621	15,20275743

Dato	Renseeffekt S COD i slam avskiller %	Renseeffekt S COD i biofilter %	Renseeffekt S COD i sekundær slamavskiller %	Renseeffekt S COD i hele A03 %
24.02.2016	45,52325581			
03.03.2016	14,87889273			
04.03.2016	-4,28769018			
14.03.2016	6,666666667			40,66666667
16.03.2016	-12			33
17.03.2016	-3,199174407			33,74613003
18.03.2016	2,259887006			65,02824859
22.03.2016	22,85714286			37,35714286
24.03.2016	-1,550387597			44,03100775
26.03.2016	-6,603773585			32,64150943
28.03.2016	-3,870967742			38,70967742
30.03.2016	27,70992366	28,08870116	-20,41116006	37,40458015
31.03.2016	-4,854368932	39,53703704	9,800918836	42,81553398
03.04.2016	-1,818181818	45,26785714	-10,76672104	38,27272727
05.04.2016	1,709401709	54,52173913	-13,38432122	49,31623932
06.04.2016	6,761904762	51,88968335	8,280254777	58,85714286
07.04.2016	13,44537815	53,78640777	-16,17647059	53,52941176
09.04.2016	4,201680672	51,57894737	-10,86956522	48,57142857
12.04.2016	29,8136646	53,80530973	18,77394636	73,66459627
	7,244381809	47,30946034	-4,34413977	45,47575268
	14,96824099	9,330343172	14,43019022	12,01144784

Vedlegg F Data for DOD₅ i A03 anlegget

Dato	Innløp BOD mg/l	Utløp (s) BOD mg/l	Utløp (BF) BOD mg/l	Utløp (A03) BOD mg/l
24.02.2016	138	100		
03.03.2016	95,8	84,5		
04.03.2016	83,1	59,2		
16.03.2016	117	116	42	40
30.03.2016	142	101	40	40
06.04.2016	147	114	47,9	42,3
Gjn.snitt	120,4833333	95,78333333	43,3	40,76666667
Std.avvik	26,42668475	21,21889881	4,107310556	1,327905619

Dato	Renseeffekt S COD i slamavskiller %	Renseeffekt S COD i biofilter %	Renseeffekt S COD i sekundær slamavskiller %	Renseeffekt S COD i hele A03 %
24.02.2016	27,53623188			
03.03.2016	11,7954071			
04.03.2016	28,76052948			
16.03.2016	0,854700855	63,79310345	4,761904762	65,81196581
30.03.2016	28,87323944	60,3960396	0	71,83098592
06.04.2016	22,44897959	57,98245614	11,69102296	71,2244898
	20,04484806	60,7238664	5,484309242	69,62248051
	11,42032664	2,919162267	5,878894936	3,313906467

Vedlegg G Data for virus S.t.28b analysen

Dato	S.t.28b ståltank Pfu/ml	S.t.28b Primær Pfu/ml	S.t.28b biofilter Pfu/ml	S.t.28b ut av A03 Pfu/ml
28.03.2016	0	4400		2000
05.04.2016	0	5600	30600	16600
14.04.2016	0	15800	15200	29200
Gjn.snitt		8600	22900	15933,33333
Std.avvik		6264,183905	10889,44443	13612,24939

Dato	Log red. S.t. 8b biofilter	Log red. S.t. 8b sekundære	Log red. S.t. 8b i hele A03
28.03.2016			0,342422681
05.04.2016	-0,737533399	0,265613338	-0,471920061
14.04.2016	0,016813499	-0,283539264	-0,266725764
Gjn.snitt	-0,36035995	-0,008962963	-0,132074382
Std.avvik	0,533403807	0,388309529	0,423540755

Vedlegg H A02 data sett

average	93	46	19	288	191	89	146
Q1	65	38	8	241	160	48	121
Q3	101	54	28	329	224	117	171
25-feb-13	45	39	9	258	118	47,8	159
01-mar-13	59	45	6	260	230	58,8	161
05-mar-13	46	37	5	246	226	55,4	147
08-mar-13	57	47	3	270	177,2	69,2	180
03-apr-13	63,272728	55	3	226	208	27,4	139
05-apr-13	93,75	44	0	278	190,6	46	
09-apr-13	64,583334	50	0	254	252	25,9	
15-apr-13	123,846153	65	16	276	181,8	67	180
18-apr-13	82,5			278	174,5		139
22-apr-13	101	53	12	291	244	109	166,5
30-apr-13	88,5	65	9	264	189	47	148
03-mai-13	54,5	64	1	240	198	101,8	142
30-mai-13	68,5	62	31	381,4	355	283	125
05-jun-13	79,5	57	20	303	225	56,4	
10-jun-13	74,3333333	48	9	270	183	43,9	
13-jun-13	86,9	12	50,666667	326,75	160,5	106,0667	179
14-jun-13	85	39	7	310	143	35	158
18-jun-13	78	35	4,5	467	135	36,6	137
20-jun-13	84	29	14		127	55,6	
21-jun-13	76,3333333	40	12	244,5	146	42,5	
09-jul-13	100	68	56	178	136	84,6	
10-jul-13	60	40	11	135	114	54,6	73,3
15-jul-13	94	54	5,9000001	302	155	38,8	148
18-jul-13	78	41	32	262	162	53	149
22-jul-13	114	55	9	257	132	26,5	134
31-jul-13	64	42	6,5	208	142	36,7	
04-aug-13	152	48	4,8000002	386	171	37,8	
08-aug-13	98,5	52	4,8000002	287	142	34,2	161
12-aug-13	70	32	7,1999998	179	126	28,6	
13-aug-13	98	36	37	259	142	117	
14-aug-13	82	42	8,3999996	208	146	39	117
19-aug-13	104	39	4,4000001	333	197	49,7	
22-aug-13	98	66	8,3999996	319	224	48,9	170
26-aug-13	138	52	6,4000001	365	160	37,1	161
28-aug-13	51	46	6,4000001	289	253	38,7	154
02-sep-13	120	54	1	393	199	44,8	198
04-sep-13	116	62	10,4	359	244	46,6	176
09-sep-13	141	82	7,1999998	383	277	43,8	197
12-sep-13	64	24	10	272	162	36	149
16-sep-13	94	36	9,1999998	328	166	52,2	139

19-sep-13	65	28	13,6	258	104	42,8	90,2
23-sep-13	174	35	5,1999998	467	201	36,2	214
26-sep-13	278	100	14	485	228	49,4	250
30-sep-13	92	63	7,1999998	303	172	38,3	151
25-okt-13	82	50	42	276	148	140	115
28-okt-13	126	26	40	345	127	156	183
29-okt-13	81	26	32	312	138	156	101
01-nov-13	64	15	14	148	112	93,8	
05-nov-13	74	21	23	189	131	152	84,4
07-nov-13							
08-nov-13	53	32	15	231	178	141	129
11-nov-13	84,5	38	17	170	137	126	124
12-nov-13	100	35	24	297	162,5	119	115
15-nov-13	84	50	7	187	152	52,4	50,6
18-nov-13	107	70	10	321	195	47,4	129
19-nov-13	92,3076935	49	8	227	171	50,5	28,8
22-nov-13	83,3333359	85	35	272	150	88,4	95,7
25-nov-13	112,5	51	31	347	164	102	141
26-nov-13	118	48	34	270	169	90,5	92,8
29-nov-13	101	38	18	246	127	85,2	92
02-des-13	99	50	39	353	161	112	189
03-des-13	113	50	21	330	201	102,75	
06-des-13	80	50	40	228	192	145	121
09-des-13	129	51	48	292	221	174	179
10-des-13	47	55	45	261	222	191	155
13-des-13	44	56	41	246	168	151	121
16-des-13	62	56	39	272	191	168	174
17-des-13	46	34	38	242	180	163	143
20-des-13	78	64	63	346	255	233	
13-jan-14	62	25	1	162	76,7	24	
22-jan-14	191	26,79999924	37	483	176,5	108	
27-jan-14	190	44	26	421	280	133	264
29-jan-14	126	34	18	349	203	98,1	200
31-jan-14	36,5	38	17	246	240	96,8	
03-feb-14	93	45	18	350	248	118	203
05-feb-14	371	38	25	342	235	105	
14-feb-14	62	36	27	313	268	138	189
17-feb-14	97	42	29	393	287	144	228
18-feb-14	100	39	27	382	261	131	225
21-feb-14	135	40	27	357	242	121	234
24-feb-14	140	42	28	484	270	137	0
26-feb-14	219	38	29	443	260	139	
28-feb-14	155	25	29	456	121	229	
07-mar-14	71	53	27	268	232	146	141
10-mar-14	57	46	16,9	228	189	76,9	127

12-mar-14	53	35	9	225	178	78,5	115
14-mar-14	59	42	16	262	202	80,9	143
17-mar-14	74	43	13	257	215	89,7	141
19-mar-14	76	58	21	302	286	118	166
21-mar-14	70	45	18	210	256	116	
24-mar-14	65	53	20	280	224	94,6	
26-mar-14	52	41	13	223	212	98,8	121
28-mar-14	38	72	10	223	179	84,7	110
31-mar-14	64	32	2	208	163	69,8	113
02-apr-14	82	47	9	256	219	84,5	149
04-apr-14	67	43	14	250	202	91	149
07-apr-14	71	47	15	225	191	77,7	141
09-apr-14	80	47	15	231	201	83,3	141
11-apr-14	79	40	7	235	213	90	146
14-apr-14	79	49	13	206	197	82,5	
25-apr-14	63	38	16	174	159	68	104
02-mai-14	89	54	32	286	247	101	152
05-mai-14	98	55	20,799999	281	198	87,3	169
09-mai-14	73	43,79999924	16,799999	213	168	70,2	118
12-mai-14	99	44	16	271	173	68,2	172
16-mai-14	86	37	15,2	278	173	64,3	
19-mai-14	115	62		427	298	98,6	
23-mai-14	95	62	29,6	306	237	89,8	
26-mai-14	126	61	40,799999	288	206	93,5	



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

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway