



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2023 30 stp
Fakultet for realfag og teknologi

Evaluering av biokull sin evne til å fjerne virus fra forbehandlet gråvann

Evaluation of biochar's ability to remove virus from
pre-treated greywater.

Daniel Salbu
Vann og miljøteknikk

Tom side

Forord

Denne masteroppgaven markerer slutten på mine studier ved NMBU. Det har til tider vært meget hektisk, men også en svært lærerik innspurt på mastergraden. Selv om ikke alt gikk på skinner er jeg takknemlig for at min veileder, Arve Heistad fikk guidet meg inn på et enormt spennende tema. Et tema som er vanskelig å begrense.

Jeg ønsker å rette en stor takk til min med-veileder Melesse Moges og NMBU sin egen Reodor Felgen, Oliver Sahlmann. Jeg er takknemlig for hjelpsomheten og vennligheten dere har vist gjennom hele perioden. Det er sjelden man kommer over så bra mennesker, så jeg har hatt flaks med at to av dem har hatt base på Fløy IV gjennom hele forsøket.

Tusen takk til Lena Foseid for tips og bistand, og at hun tok seg tid til å hjelpe meg med elementanalysen mot slutten av forsøket. Jeg ønsker også å rette en stor takk til Else Marie Aasen ved KBM for at hun stilte opp på kort varsel og bidro til at jeg fikk gjennomført virusanalysen i ro og fred, med alt utstyret og den hjelpen jeg trengte.

Takk til Marko Jakovljevic som fikk laget en Micro-Controller til pumpen. Dette gjorde at jeg fikk redusert vannstrømmen fra BAF-reaktoren til oppbevaringstanken.

Helt til slutt vil jeg reke en takk til Ulf Rydningen som var min veileder da jeg tok bacheloren min på OsloMet. Ulf oppfordret og inspirerte meg til å søke Vann- og miljøteknikk ved NMBU.

Sandvika, februar 2022



Daniel Salbu

Sammendrag

Kildeseparerte avløpssystemer kan bidra til at vi i større grad enn i dag utnytter ressursene som finnes i avløpsvannet. Ved å forske på effektive, trygge og økonomisk rimelige løsninger for lokal gjenvinning av svart- og gråvann, vil man ha muligheten til å bedre den sirkulære økonomien og potensielt også bedre livssituasjonen til mange mennesker rundt omkring i verden. Energi, næringsstoffer og vannet selv, er ressurser som kan hentes ut fra avløpet og benyttes der det trengs.

I dette forsøket ble det fokusert på utfordringen knyttet til patogene mikroorganismer ved gjenbruk av gråvann. Gråvann ble forbehandlet ved bruk av bioluftfiltrering (BAF) og deretter tilsatt viruset *Salmonella typhimurium* fag 28b (*S.t.28b*) før filtrering gjennom kolonner bestående av konvensjonelt- og mikrobølgepyrolysert biokull. Analyser av ulike parametere som turbiditet, suspendert stoff (SS), biologisk oksygenforbruk (BOD), pH og elektrisk ledningsevne (EC) ble målt fra gråvannet, fra BAF-utløpet og fra utløpene til biokullkolonnene. I tillegg ble tungmetallkonsentrasjoner i utløpene analysert. Forsøket viste at forbehandlingen av gråvann med biologisk filter kan oppnå stabil og god renssevne av BOD, SS og turbiditet. BAF-reaktoren alene har redusert turbiditeten med 96%, BOD 95%, COD med 84% og SS med 97%.

Resultatene viste at biokull som skilte ut høye doser jern ($5250\mu\text{g L}^{-1}$), hadde en evne til å redusere virus med opp mot 4LOG_{10} . Biokull som ikke skilte ut tilsvarende konsentrasjoner jern, hadde en neglisjerbar virusreduksjon.

Forsøket skulle også undersøke veksten av biofilm på innsiden av ulike plastmaterialer for videre transport av behandlet gråvann. Dette forsøket ble ikke avsluttet på grunn av for stor usikkerhet knyttet til målingene.

Abstract

Source separated sewage systems can contribute to a better use of the resources found in wastewater. By researching effective, safe and economically reasonable solutions for local recycling of black and gray water, it is possible to improve the circular economy and potentially also improve the living situation of people around the world. Energy, nutrients and the water itself are resources that can be extracted from source separated sewage systems and used where needed.

In this experiment, the focus was on the challenge associated with pathogenic microorganisms when reusing greywater. Greywater was pre-treated using bio air filtration (BAF) and then added the virus *Salmonella typhimurium phage 28b (S.t.28b)* before filtering through columns consisting of conventional and microwave pyrolysed biochar. Analyzes of various parameters such as turbidity, suspended solids (SS), biological oxygen consumption (BOD), pH and electrical conductivity (EC) were measured from the greywater, from the BAF outlet and from the outlets of the biochar columns. In addition, heavy metal concentrations in the outlets were analysed. The experiment showed that the pre-treatment of gray water with a biological filter can achieve stable and good cleaning performance of BOD, SS and turbidity. The BAF reactor alone reduced turbidity by 96%, BOD by 95%, COD by 84% and SS by 97%.

The results showed that MAP-biochar that with high doses of iron ($5250\mu\text{g L}^{-1}$) had an ability to reduce viruses by up to 4LOG_{10} . Biochar that did not have similar concentrations of iron had a negligible virus reduction. The experiment also wanted to investigate the growth of biofilm on the inside of various plastic materials for further transport of treated greywater. This experiment was not completed due to too great uncertainties associated with the measurements.

Innholdsfortegnelse

Forord	III
Sammendrag	IV
Abstract	V
Innholdsfortegnelse	VI
Tabelliste	IX
Figurliste	IX
Forkortelser	X
1 Introduksjon	1
2 Teori og bakgrunn	4
2.1 Vann og helse	4
2.2 Avløpsvann	4
2.3 Mikroorganismer i gråvann	5
2.3.1 Virus	6
2.3.2 Bakterier	7
2.3.3 Protozoer og helminter	7
2.3.4 Opportunister	7
2.4 Modellorganismer	8
2.4.1 Salmonella typhimurium fag 28b (S.t.28b)	9
2.5 Virusfjerning i avløpsvann	10
2.5.1 Mekanisk rensing	10
2.5.2 Kjemiske rensing	10
2.5.3 Biologiske rensing	11
2.6 Karbonholdige filtermaterialer	12
2.6.1 Biokull	12
2.6.2 Aktivkull	13
2.7 2.6 Gjenbruk av avløpsvann	14
2.7.1 Rørmaterialer for gjenbruk	14
2.7.2 Tungmetaller ved gjenbruk	15
2.8 2.7 Mål og hensikt	16
3 Metode	17
3.1 Oppsett	17
3.1.1 Gråvann	17
3.1.2 Forbehandlingsenhet for gråvann	18
3.1.3 Oppbevaringstank	20
3.1.4 Kolonner	22
3.1.5 Biokull	23
3.1.6 Plastrør	25

3.2	Virusprøver	25
3.2.1	Virustelling	27
3.2.2	OD	29
3.3	Inaktivering	29
3.4	Standardprøver	29
3.4.1	pH.....	30
3.4.2	Konduktivitet.....	30
3.4.3	Suspendert stoff (SS).....	30
3.4.4	Turbiditet	31
3.4.5	BOD ₅	31
3.5	Andre prøver	32
3.5.1	COD _(f)	32
3.5.2	Biofilm på innsiden av rør	32
3.5.3	Metallinnhold (ICP-MS).....	33
3.5.4	Metallinnhold (Elektronmikroskop)	33
3.6	Omrøring av BAF-reaktor	33
4	Resultater	35
4.1	Standardprøver	35
4.1.1	pH.....	35
4.1.2	Konduktivitet.....	36
4.1.3	Turbiditet	36
4.1.4	Suspendert stoff (SS).....	38
4.1.5	BOD ₅ og COD	42
4.2	Metallinnhold (ICP-MS)	43
4.3	Metallinnhold (Elektronmikroskopering)	46
4.4	Virusfiltrering	47
4.4.1	Pfu	47
4.4.2	Log ₁₀ -reduksjon	49
4.5	Biofilmvekst på rørmaterialer	51
4.6	Rensekapasitet BAF	51
4.7	Vannkvalitet	52
5	Diskusjon og videre arbeid	54
6	Konklusjon	56
7	Litteraturliste	57
Vedlegg	i
Vedlegg A	i
Vedlegg B	v
Vedlegg C	vi
Vedlegg D	vii
Vedlegg E	x

Vedlegg F	xi
Vedlegg G	xii
Vedlegg H	xiii
Vedlegg I	xviii

Tabelliste

TABELL 2-1 PRODUSERTE CO ₂ -EKVIVALENTER OG ENERGIFORBRUK VED BRUK AV ULIKE KULLMATERIALER (ALHASHIMI & AKTAS, 2017; KOSTAS ET AL., 2020).....	13
TABELL 3-1 FORKLARING PÅ NUMMERERTE ELEMENTER I FIGUR 3-1.....	18
TABELL 3-2: EGENSKAPER TIL BÆREMEDIEET BWT S TM (RUMMELHOFF, 2019).....	19
TABELL 3-3: DIMENSJONER FOR BIOFILTERREAKTOREN.....	19
TABELL 3-4 FORKLARING PÅ NUMMERERTE KOMPONENTER I FIGUR 3-2	21
TABELL 3-5 PARTIKKELSTØRRELSE, VEKT, POREVOLUM OG VOLUM I DE ULIKE KOLONNENE.....	24
TABELL 3-6 LISTE OVER NÅR ULIKE RØR BLE FYLT, OG MED HVILKE VANNKVALITET DE BLE FYLT MED. H BLE LAGRET HORIZONTALT, V BLE LAGRET VERTIKALT.	25
TABELL 3-7 <i>OVERSIKT OVER TIDSPUNKT FOR PRØVEUTTAKING</i>	27
TABELL 3-8 TESTMETODER FOR PH, KONDUKTIVITET, SS, BOD ₅ , TURBIDITET, COD(F) OG ELEMENTANALYSE.....	30
TABELL 4-1 OVERSIKT OVER INNHOLD AV METALLER OG WHO SINE TERSKELVERDIER FOR TRYGG DRIKKEVANNSKVALITET. VERDIENE OPPGITT ER I $\mu\text{G L}^{-1}$, (PURUSHOTHAM ET AL., 2013; WHO, 2006A)	44
TABELL 4-2 EU SINE STRENGESTE KRAV (KLASSE A) TIL RENSET GRÅVANN FOR BRUK TIL VANNING AV ALLE MATVEKSTER (EUR-LEX, 2020).	52
TABELL 4-3 KONSENTRASJON I $\mu\text{G L}^{-1}$ AV ULIKE METALLER I UTLØPET TIL BAF, KOLONNENE MAP1 OG MAP2, BLANDET BC-KOLONNER OG BLANDET KONTROLLKOLONNER.....	V

Figurliste

FIGUR 3-1 ILLUSTRASJON AV OVERFØRINGSSYSTEMET FOR GRÅVANN MELLOM STUDENTBOLIGENE I KAJAVEIEN OG GRÅVANNSTANKEN I FLØY IV	17
FIGUR 3-2 FORENKLET FLYTSKJEMA FOR OPPSETTET TIL FORSØKET. BESKRIVELSE AV KOMPONENTENE I TABELL	20
FIGUR 3-3 FLYTSKJEMA OVER ANLEGGET MED SLANGEFORDELING. C ER KONTROLL FOR VOLUMSTRØM OG INTERVALL. U ER UTLØP.....	22
FIGUR 4-1 PH FRA ALLE DE ULIKE UTLØPENE GJENNOM HELE FORSØKSPERIODEN	35
FIGUR 4-2 MÅLINGER AV KONDUKTIVITET I MS CM^{-1} FRA ALLE DE ULIKE UTLØPENE GJENNOM HELE FORSØKSPERIODEN	36
FIGUR 4-3 MÅLINGER AV TURBIDITET FRA ALLE UTLØPENE MELLOM 21.12-20.01. VERDIENE TIL TURBIDITETEN I GW ER VIST PÅ SEKUNDÆRAXEN TIL HØYRE.	37
FIGUR 4-4 UTVIKLINGEN AV TURBIDITETEN FRA UTLØPET TIL BAF-REAKTOREN GJENNOM HELE FORSØKET.....	38
FIGUR 4-5 MÅLINGER AV SUSPENDERT STOFF FRA ALLE RENSETRINNENE MELLOM 21.12-20-01.	39
FIGUR 4-6 GJENNOMSNITTLIG SS-MÅLINGER FOR DE ULIKE UTLØPENE GJENNOM HELE FORSØKSPERIODEN.....	40
FIGUR 4-7 ANDEL SS FJERNET VED DE ULIKE RENSETRINNENE. MAP2-KOLONNEN ER HER UTELATT PÅ GRUNN AV STOR VARIASJON.....	41
FIGUR 4-8 SUSPENDERT STOFF I UTLØPET TIL BAF-REAKTOREN GJENNOM HELE FORSØKSPERIODEN.	41
FIGUR 4-9 BOD ₅ MÅLINGER FRA ALLE UTLØPENE GJENNOM HELE FORSØKSPERIODEN.....	42
FIGUR 4-10 RESULTATER FRA DEN ENESTE COD(F)-MÅLINGEN SOM BLE GJENNOMFØRT.	43
FIGUR 4-11 INNHOLD AV Fe, Al, Ni OG Pb, Cu, Zn, As, Cd OG P FRA DE ULIKE UTLØPENE UNDER VIRUSFILTRERINGEN.	45
FIGUR 4-12 JERNINNHOLDET VIST VED ELEKTRONMIKROSKOPERING UTFØRT AV MELESSE MOGES. MAP TIL VENSTRE, BC TIL HØYRE. JO MER HVITT I BILDE, JO MER METALL TIL STEDE VED ELEKTRONMIKROSKOPERINGEN.	46
FIGUR 4-13 PFU FRA DE ULIKE PRØVENE VED 7T, 14T OG 21T.	48
FIGUR 4-14 OD AV BAKTERIEKULTUREN UNDER STØPINGEN AV VIRUS OG VERTSBAKTERIER PÅ PETRISKÅLER. (RØDT INDIKERER TIDSRUMMET BAKTERIEKULTUREN STO ROMTEMPERERT UTEN OMRØRING)	49
FIGUR 4-15 LOG ₁₀ REDUKSJON GJENNOM KOLONNENE.	50

Forkortelser

Al	Aluminium	KBM	Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap
As	Arsen	MAP	Mikrobølgepyrolysert biokull
BAF	Biologisk luftet filter	Ni	Nikkel
BC	Biokull	NMBU	Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
BOD	Biologisk oksygenforbruk	NTU	Turbiditetsmå
C	Kontrollkolonne	O	Oksygen
Ca	Kalsium	P	Fosfor
Cd	Kadmium	Pb	Bly
COD	Kjemisk oksygenforbruk	PE	Polyeten
COD(f)	Filtrert kjemisk oksygenforbruk	pfu	Plakkformede enheter
CPVC		PVC	Polyvinylklorid
Cu	Kobber	Qm	Sorpsjonskapasitet
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	S	Svovel
EU	Europeiske Union	Si	Silisium
Fe	Jern	SS	Suspendert stoff
FHI	Folkehelseinstituttet	<i>S.t.28b</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i> type 5
GW	Gråvann	μ	mikro (10 ⁻⁶)
K	Kalium	WHO	Verdens helseorganisasjon

1 Introduksjon

Menneskets helse og hygiene er en av de viktigste grunnene for å ha et bra sanitærsystem og rensing av avløpsvann. Enten det skjer ved hjelp av sentraliserte, desentraliserte eller kildeseparerte avløpssystem er det viktig å redusere faren for at patogene organismer kan forårsake sykdom (Larsen & Maurer, 2011). Om lag 80% av verdens avløpsvann blir i dag ikke rensset før det slippes tilbake til naturen (Kümmerer, Dionysiou, Olsson, & Fatta-Kassinos, 2018). Årsakene til dette er flere. Manglende infrastruktur, lange avløpsledninger som lekker, overvann som mikses med avløpsvann i et fellessystem, hvor ekstremvær kan føre til at avløpsvannet slippes ut i forskjellige overløp langs ruten til rensaneanleggene. Så mye som 45-60% av avløpsvannet som stammer fra husholdninger har mulighet til å bli behandlet og gjenbrukt på stedet (Humeau et al., 2011; Petousi, Thomaidi, Kalogerakis, & Fountoulakis, 2022). Dette vil kunne bidra til å redusere drikkevannsbehovet og energien som kreves for behandling av drikke- og avløpsvann ved sentraliserte rensaneanlegg. Lokal håndtering av avløpsvann kan da ved hjelp av kildeseparerte avløpssystemer være en mulig løsning på problemet, men det har sine utfordringer som må løses. Blant disse utfordringene er få pilotprosjekter og et begrenset antall aktører som eksperimenterer med løsninger (McConville, Kvarnström, Jönsson, Kärrman, & Johansson, 2017). Når fagfolk anser systemene som risikable, gjør det til at de knapt blir implementert i stor nok grad.

På grunn av en kombinasjon av befolkningsøkning, sosioøkonomisk utvikling og en forbruksendring i befolkningen, har det globale vannforbruket årlig økt med 1% siden 1980-årene (WWAP, 2019). Det er forventet at denne årlige veksten vil fortsette til 2050, og sørge for en ytterligere forbruksøkning på 20-30%. Allerede nå lever 2 milliarder mennesker i land som allerede har høyt vannstress, og fire milliarder mennesker opplever sårbarhet knyttet til mangel på vann i minst en måned av året (WWAP, 2019). Økningen i vannforbruk hos befolkningen og industrien vil også øke behovet for vannrensing, som vil øke proporsjonalt med forbruket. Dette gjør det enda mer nødvendig å vurdere gjenbruk av vann lokalt for å forbedre den sirkulære

økonomien. Den manglende evnen til å tilfredsstille økt etterspørsel etter vann er ofte en av de viktigste hindringene for økonomisk utvikling (Ayuso-Gabella et al., 2011).

Mennesker og dyr som får i seg infisert vann med patogener vil vanligvis føle effekten i mage-tarmkanalen. Disse patogenene vil bli utskilt i avføringen på et senere tidspunkt (WHO, 2017). Det finnes også vannbårne bakterielle patogener som kan vokse i vann og jord. Avløpsvann vil ha en direkte og indirekte effekt på menneskelig helse på grunn av patogener som ikke er fjernet før det kommer ut i vannmiljøet. Planter som er dyrket med forurenset vann og patogener som akkumuleres i skalldyr er potensielle måter mennesker kan bli infisert på (WHO, 2017). Selv om det å spise infisert mat, eller drikke infisert drikkevann utgjør en risiko ved dårlig rensing av avløpsvann, vil også aktiviteter som svømming, bading og andre aktiviteter i vann kunne føre til økt smitterisiko (WHO, 2017).

For å forhindre at mennesker og dyr blir syke av forurenset vann er viktig å videreutvikle systemer som fjerner patogener i både drikke- og avløpsvann for å forsikre at det er mikrobiologisk trygt.

Avløpsvann inneholder verdifulle ressurser som får mer og mer oppmerksomhet i det globale markedet på grunn av interessen for sirkulærøkonomi. I et kildeseparert avløpssystem kan man hente ut filtrert vann, energi og viktige næringsstoffer (F. Eregno, Eshetu Moges, & Heistad, 2017; Moges, 2019; Sengupta, Nawaz, & Beaudry, 2015) Det stilles i dag heldigvis strengere og strengere krav til rensing av avløpsvann før det når det endelige utløpet både i Norge (Forurensningsforskriften, 2004) og i Europa (European Commission, 2022). Det er likevel en hake at det ikke stilles de samme kravene til gjenbruk av ressursene i avløpsvannet. I et kildeseparert avløpssystem har man virkelig mulighet til å utnytte disse ressursene. Fra svartvannet kan man hente ut fosfor og nitrogen (Eshetu Moges, Heistad, & Heidorn, 2020), man kan hente ut energi ved produksjon av metan i en biogassreaktor (Hertel, Navarro, Deegener, & Körner, 2015; Moges, 2019). Avfallet fra biogassreaktoren (biorest) kan man pyrolysere for å danne biokull (Chen et al., 2011) som kan brukes både som gjødsel (Zhang et

al., 2016) og til filtrering av gråvann (Quispe, Campos, Mašek, & Bogush, 2022), som selv kan bli gjenbrukt til ulike formål som vanning av landbruk eller prosessvann til industrien (Ødegaard, Norheim, & Norsk Vann, 2014).

Tidligere forskning har vist forskjeller på mikrobiologisk vekst på innsiden av ulike rørmaterialer for drikkevannsdistribusjon (Learbuch, Smidt, & van der Wielen, 2021). Valg av rørmateriale kan dermed ha betydning for kontrollen man har på biofilmvekst i transportsystemer (Norton & Lechevallier, 2000).

For å kunne optimalisere et kildeseparert avløpssystem og sørge for en god sirkulærøkonomi er man avhengig av effektive og rimelige renseløsninger som sørger for et mikrobiologisk trygt vann og et transportsystem som fungerer optimalt. Valg av rørmateriell for gjenbruk av gråvann kan på den måten bidra til en mer effektiv og trygg lokal gjenbruk av gråvann.

Målet med denne oppgaven er å finne en miljøvennlig og økonomisk forsvarlig måte å fjerne patogene mikroorganismer fra gråvann og undersøke hvordan man på en sikker måte kan distribuere vannet videre til forbruker. Dette vil spesielt være til nytte i utviklingsland hvor man er avhengig av gode, effektive og økonomisk gunstige måter for å få renere og sikrere vannforsyning.

2 Teori og bakgrunn

For å ha en bedre forståelse for tema som gjennomgås i denne avhandlingen, vil dette kapitlet gi en presentasjon av teorien og bakgrunnen som ligger til grunn for valg av problemstilling. Det forventes at leseren av avhandlingen har noe relevant bakgrunnskunnskap om tema fra før.

2.1 Vann og helse

På grunn av dårlig vannrensing som hindrer tilgangen til trygt drikke-, vaske- og toalett-vann, har WHO estimert at det dør om lag 829.000 mennesker årlig av diaré (WHO, 2022). Dette til tross for at diaré er en sykdom som relativt enkelt kan unngås ved forbedring av sanitærforhold. Selv i høyinntektsland forekommer det vannbårne sykdomsutbrudd som påvirker mange mennesker samtidig (Hyllestad et al., 2020). Flere av disse utbruddene skyldes en kontaminering av råvannskilden og utilstrekkelige hygieniske barrierer i renseprosessen (Eikebrokk et al., 2021; Widerström et al., 2014). Siden kun en liten del av de eksisterende avløpsrenseanleggene i verden reduserer patogennivåene optimalt, og siden flesteparten av de menneskene som lever i både rurale, men og så i urbane strøk ikke vil være tilkoblet sentraliserte renseanlegg (WHO, 2006b), er det nødvendig å legge til rette for desentraliserte anlegg, som bidrar til nødvendige rense- og sanitærløsninger, som gjør det mulig å unngå smitterisiko i disse områdene.

I tarmene til mennesker og dyr finner vi mikroorganismer som skilles ut via avføring. Det er denne fekale forurensingen som utgjør den største risikoen for overføring av sykdom til mennesker gjennom drikkevann (FHI, 2022).

2.2 Avløpsvann

Svartvann inneholder viktige næringsstoffer som er nødvendig i landbruk (Ødegaard et al., 2014). Gjenbruk av avløpsvann på land kan sikre verdifull gjødsel til bruk i planteproduksjon. Blant annet bidrar urin med mer enn 90% av all nitrogen som finnes i avløpsvann (Ødegaard et al., 2014).

Behandlet avløpsvann vil etter å ha gjennomgått en renseprosess resultere i slam. Dette slammet inneholder patogener som må gjennomgå ekstra prosesser før man kan deponere av avfallet. En studie utført av Kelessidis og Stasinakis i 2012 (Kelessidis & Stasinakis, 2012) viser at det er store forskjeller i slamproduksjon hos Europeiske land. Fra 0,1kg pe⁻¹ årlig i Malta til 30,8kg pe⁻¹ i Østerrike. Sammenlignet med EUs direktiv 86/278/EC (EUR-Lex, 1986), har flere europeiske land økt kravene for deponering av slamavfall, sammenlignet med direktivets gjeldene grenser for tungmetaller, patogener og organiske mikroforurensinger (Kelessidis & Stasinakis, 2012). Samme studie viser at gjenbruk av slam er den dominerende veien for slamdisponering. Dette er gjort med 53% av det produserte slammet, og inkluderer direkte landbruksapplikasjon og kompostering. 21% av slammet forbrennes. Dette er restprodukter som har stort, næring- og energipotensial (Moges, 2019).

Estimater fra Verdens Helseorganisasjon (WHO) viser at det forekommer årlig rundt 842.000 dødsfall på grunn av diaré i lav- og mellominntektsland på grunn av utilstrekkelig tilgang til rent drikkevann (WHO, 2017). Dette er et unødvendig stort tall. Selv i i-land forekommer det utbrudd av vannbårne sykdommer som leder til dødsfall og økonomiske byrder for både individer og fellesskapet (WHO, 2017).

I følge WHO vil halve befolkningen i utviklingsland til enhver tid være rammet av sykdom som direkte kan være linket til for lite vann, dårlig eller ingen sanitæranlegg, eller dårlig håndtering av vannressurser (WHO, 2015). Uansett er risikoen for menneskelig smitte avhengig av konsentrasjonen av patogener i det eksponerte volumet (Stenström, 2013).

2.3 Mikroorganismer i gråvann

De aller fleste mikroorganismene som eksisterer og transporteres gjennom vann vil ikke være sykdomsfremkallende (Ødegaard et al., 2014). De mikroorganismene som derimot *har* en negativ effekt på helsen, kan føre til alvorlige konsekvenser for den smittede. I følge WHO er en

av de største farene ved bruk av gråvann, fekal krysskontaminering (WHO, 2006b). Patogene virus, bakterier, protozoer og helminter kan blant annet introduseres til gråvann ved håndvask etter et toalettbesøk, vask av småbarn i forbindelse med bleieskift, samt fra ubehandlede grønnsaker og rått kjøtt (Eriksson, Auffarth, Henze, & Ledin, 2002).

En tidligere dansk undersøkelse av toaletter forsynt med ubehandlet regnvann har vist at slike toaletter medfører økt sannsynlighet for sykdomsfremkallende mikroorganismer i hjemmet (Albrechtsen, 2002). Dette er patogene mikroorganismer som normalt ikke ville forekommet ved bruk av toaletter som forsynes med vann fra et tradisjonelt vannverk. Undersøkelsen benyttet også et gråvannsrensaneanlegg hvor vann fra dusj og håndvask ble rensset, UV-behandlet og brukt til toalettspyling. Dette systemet gav problemer med dårlig lukt og signifikant høyere antall *E. coli* og entrekokker enn vann levert fra vannverket.

Eksisterende teknologi er ikke bra nok for overvåking av patogene mikroorganismer i mindre boligområder hvor gjenbrukt gråvann ofte er aktuelt (O'Toole et al., 2012). I tillegg vil ikke nødvendigvis et sykdomsutbrudd forårsaket av gråvann hos flere personer samtidig i en enkelt bolig være lett å oppdage. Mangelen på rapporterte sykdomsutbrudd forårsaket av gjenbrukt gråvann vil derfor ikke være et bevis på at slik gjenbruk er trygt (O'Toole et al., 2012). Det har også vist seg vanskeligere å fjerne eller å inaktivere protozoer og virus, enn det er å fjerne eller inaktivere bakterier ved rensing av drikke- og avløpsvann (Blumenthal, Mara, Peasey, Ruiz-Palacios, & Stott, 2000; WHO, 2003). Derfor vil virus være av større bekymring enn bakterier ved gjenbruk. Det vil av den grunn være nødvendig å finne effektiv renseteknologi som med høy sikkerhet kan sørge for inaktivering eller fjerning av patogene mikroorganismer.

2.3.1 Virus

Virus er minst i størrelse av mikroorganismer som kan forårsake sykdom (Ødegaard et al., 2014). På grunn av sin lille størrelse (20-200nm) og motstandsdyktighet vil virus være en av de vanskeligste organismene å fjerne fra avløpsvannet. *Norovirus*, *Adonevirus*, *Enterovirus*, *Rotavirus* og *Hepatitt A*- er eksempler på virus som kan forekomme i gråvann(FHI, 2018b). Noen

av disse har vist seg å ha en større motstandsdyktighet overfor desinfeksjonsmidler enn bakterier og vil derfor være viktig å få fjernet før et utløp.

På grunn av at enteriske virus og bakteriofager kan overleve bedre etter behandling av avløpsvann enn vanlige indikatorer for patogene bakterier (Toribio-Avedillo, Blanch, Muniesa, & Rodríguez-Rubio, 2021), vil disse lettere kunne advare om tilstedeværelse av mindre utbredte patogener.

2.3.2 Bakterier

Bakterier er en del større enn virus (1000nm) (Ødegaard et al., 2014). I Norge er det bakterien *Campylobacter spp.* som er den vanligste årsaken til vannbåren smitte (FHI, 2018a). *Escherichia coli*, *Listeria* og *Salmonella* er eksempler på bakterier som fører til smitte hos mennesker. Andre opportunistiske bakterier blir nevnt i delkapittelet 2.3.4 under.

2.3.3 Protozoer og helminter

Protozoer er større enn bakterier igjen, og er i størrelsesorden 3000 til 10.000nm(Ødegaard et al., 2014). Dette er en gruppe mikroorganismer som har vist seg å være mer resistente ovenfor klor enn bakterier og virus. De parasittiske protozoene *Giardia* og *Cryptosporidium* er noen av de vanligste årsakene til vannbårne sykdomsutbrudd i verden.

Parasittiske ormegg, eller helminter som det kalles er spesielt utbredt i U-land (Ødegaard et al., 2014). Dette er store og tunge parasitter som varierer i størrelse fra 1mm til over 1m (Wakelin, 1996).

2.3.4 Opportunister

Opportunistiske bakterier som *Legionella spp* og *Pseudomonas* vil kunne forårsake sykdom hos personer med nedsatt immunforsvar (Østensvik, 2004). Dette er bakterier som normalt sett

ikke fører til sykdom, men som kan ha alvorlige konsekvenser for personer med redusert almenntilstand slik som kreftpasienter, eldre, HIV-smittede eller selv personer med åpne sår (Brown, Cornforth, & Mideo, 2014). Majoriteten av rapporterte sykdomstilfeller fra slike opportuniste stammer nemlig fra sykehus hvor almenntilstanden er redusert.

2.4 Modellorganismer

Konsentrasjonen og mengde patogene mikroorganismer i avløpsvannet vil variere med smitten befolkningen er utsatt for, regionen man befinner seg i og klima (Petterson & Ashbolt, 2005). Sykdomsutbrudd resulterer i økt konsentrasjon av mikroorganismer som igjen forårsaker økt konsentrasjon i avløpet. Patogener er sjeldent målt direkte i avløpsvann fordi konsentrasjonen varierer og analysemetodene er ofte vanskelige eller dyre å gjennomføre. I stedet brukes indikatororganismer for fekal forurensing, som for eksempel *Escherichia coli* (*F. E. Eregno et al., 2016*), eller varmetolerante koliforme bakterier (Paruch & Mæhlum, 2012). Siden tilstedeværelsen av disse indikatororganismene vanligvis (ikke alltid) er proporsjonal med mengden fekal forurensing gir det et brukbart estimat på hvor trygt vannet er å drikke (Petterson & Ashbolt, 2005). Siden *E.coli* er den eneste koliforme bakterien som utelukkende stammer fra tarmen (Edberg, Rice, Karlin, & Allen, 2000; Haller, Poté, Loizeau, & Wildi, 2009) gir målinger av *E.coli* i vann en garanti for fekal forurensing (Environment Agency, 2002). Likevel vil ikke fraværet av *E. coli* bety et absolutt fravær av patogene mikroorganismer, siden *E. coli* ikke kan brukes som en indikator for tilstedeværelsen av andre fekale organismer som virus og protozoer (Serracca et al., 2010). På grunn av at enteriske virus og bakteriofager kan overleve bedre etter behandling av avløpsvann enn vanlige indikatorer for patogene bakterier (Toribio-Avedillo et al., 2021), vil disse lettere kunne advare om tilstedeværelse av mindre utbredte patogener.

2.4.1 *Salmonella typhimurium* fag 28b (S.t.28b)

I dette forsøket er bakteriofagen *Salmonella typhimurium* fag 28b (S.t.28b) (Lilleengen, 1948) valgt som modellvirus. Vertsbakterien til S.t.28b er *Salmonella typhimurium* type 5. Fagen har vist seg som et svært motstandsdyktig og varmetolerant virus (Friborg, 2015; Heistad, 2008; Sahlström et al., 2008) og vil dermed være godt egnet som modellvirus på grunn av sin motstandsdyktighet. Fagen har blant annet fungert som modellvirus i studier som undersøker virus sin påvirkning av grunnvannskvaliteten (Carlander, Aronsson, Allestam, Stenstroem, & Perttu, 2000), overlevelse av mikroorganismer etter varmebehandling av bioavfall (Sahlström et al., 2008), filtrering av drikkevann (Heidary Rad, 2014), filtrering av gråvann (Heistad, 2008) og ved pasteurisering av svartvann (Friborg, 2015). Fordelen med å bruke bakteriofager som modellvirus er at de speiler oppførselen til potensielt patogene virus og har en relativt god evne til å overleve (Carlander, Aronsson, Allestam, Stenström, & Perttu, 2000).

Bakteriofager er virus som infiserer og formerer seg i bakterier (Scitable, 2014). Det passende ordet for bakteriespiserne, "bakteriofag" stammer fra det greske ordet φαγεῖν (*phagein*) som betyr å sluke. Bakteriofager er sammensatt av et nukleinsyremolekyl (enten DNA eller RNA) som er omkranset av en proteinstruktur (Moineau, 2013). En bakteriofag fester seg til en mottagelig bakterie og infiserer vertscellen. Vel inne i cellen overtar bakteriofagen kontrollen over synteseapparatet. Her blir bakteriofagen sitt DNA kopiert til nye DNA-molekyler og mRNA, som igjen fester seg til ribosomene i bakteriene, som produserer vitale proteiner for å danne nye fag (Sirevåg, 2022). De nye fagene bryter ut ved at det også blir produsert lysozym som løser opp bakterieveggen innenfra.

Fordelen med å bruke bakteriofager som modellvirus er at de speiler oppførselen til potensielt patogene virus, har en relativt god evne til å overleve og finnes normalt sett ikke i avløpsvann (Carlander, Aronsson, Allestam, Stenström, et al., 2000).

2.5 Virusfjerning i avløpsvann

Alle vannbehandlingsanlegg fjerner eller inaktiverer virus (Berg, 1973). Renseeffekten vil naturlig nok variere og noen er bedre enn andre. Likevel er det lite sannsynlig at man har mulighet til å fjerne absolutt alle virus som er til stede i vannet. Ofte er det derfor satt sammen ulike barrierer for rensesystemer. Systemene kan være sammensatt av mekaniske-, kjemiske- og biologiske prosesser som gjør det mulig å rense vann på flere ulike metoder. En kombinasjon av dette gir naturlig nok et bedre resultat enn å ha ett enkelt rensetrinn. I dette forsøket vil det blant annet bli brukt biologisk rensing, etterfulgt av filtrering gjennom kullkolonner.

2.5.1 Mekanisk rensing

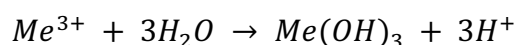
Mekanisk rensing baserer seg på rensing gjennom grovsiler, sedimentering ved lengre oppholdstider og filtrering gjennom ulike medier. Poreåpningen til de ulike filtermediene vil ha betydning for hvor store partikler som slipper gjennom. Nanofiltrering med poreåpninger på mellom 1-10nm har blant annet vist seg å være en robust måte å fjerne virus på (Roth et al., 2020). Poreåpningen bestemmer naturlig nok hvor små partikler det er mulig å fjerne, men også hvor stor fluks som kan passere. Dette er noe som igjen vil ha betydning for kostnaden (Ødegaard et al., 2014).

2.5.2 Kjemiske rensing

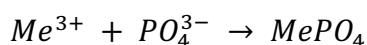
Kjemisk rensing innebærer blant annet tilsetning av kjemikalier for å øke reneeffekten ved utfelling av oppløst og finpartikulært stoff (Ødegaard et al., 2014). De små partiklene (kolloider) i vann ($0,01-1\mu m$) vil på grunn av sin negative ladning og størrelse holde seg svevende i vann. For å kunne destabilisere denne kolloidale suspensjonen slik at kolloidene kan felles ut av vannet benyttes koagulering. Ved koagulering tilsettes et fellingsmiddel til vannet, ofte salter av aluminium og jern. Disse positivt ladde metallionene nøytraliserer den negativt ladde delen av partikkelen (kolloiden), som gjør at partikkelen kan knyttes til et metallhydroksid og felles ut når metallionene reagerer med vannet. En forenklet reaksjonsligning av dette ses i ligning (1). Etter hvert som prosessen foregår, vil man ved hjelp av omrøring kunne danne større fnokker ($100-10001\mu m$). Ved denne størrelsen er de store nok til å kunne fjernes ved hjelp av filtrering,

sedimentering, flotasjon, etc. Også fosfor fjernes fra avløpsvannet ved tilsetning av metallioner. Fosfatene vil da reagere med metallionene og felles ut som metallbundet fosfor. Det er disse fraseparerte massene som danner slamavfallet ved renseanlegg og som siden kan brukes til produksjon av biogass. Restavfallet fra biogassproduksjonen benyttes blant annet til produksjon av biokull, som da også vil inneholde mange av de kjemiske stoffene brukt ved renseprosessen. Svært forenklet kan man beskrive de to reaksjonene hvor metallioner (Me) reagerer med vann og fosfat med ligning (1) og (2)

(1)



(2)



De vanligste metallene som brukes i avløpsvannbehandling er Aluminium (Al) og jern (Fe). Ulempen ved bruk av salter av Al og Fe som koagulanter i et renseanlegg er at det plantetilgjengelige fosforet synker med økende innhold av metall (Bøen, 2010; Ratnaweera, 2013). I et miljø- og sirkulærøkonomisk perspektiv vil dette være problematisk.

2.5.3 Biologiske rensing

Biologisk rensing brukes for rensing av avløpsvann for å fjerne organisk stoff, samt nitrogen og fosfor (Ødegaard et al., 2014). Det finnes en hel del ulike utforminger innen biologisk rensing og forbehandlingsenheten ved dette forsøket er et eksempel på et biologisk rensetrinn med lufting. I slike renseprosesser gir man mikroorganismer så gode betingelser som mulig for å bidra til nedbrytingen av organisk materiale. Med denne metoden kan BOD bli effektivt nedbrutt i et område på 60-500 mg L⁻¹ (Mohamed, 2015).

2.6 Karbonholdige filtermaterialer

Egenskapen til karbonholdige filtermaterialer er at de har en god evne til å fjerne løselige molekyler ved å adsorbere de til sin egen overflate. (Mohamed, 2015).

2.6.1 Biokull

Som en stabil løsning på problemet med direkte tilførsel av svart- og gråvann til landbruk har biokull vist seg å være et velprøvd materiale for jordforbedring (S. Li, Harris, Anandhi, & Chen, 2019). Biokull er et finkornet og porøst medium som er produsert ved hjelp av pyrolyse av biomasse under tilnærmet anaerobe omstendigheter (Chen et al., 2011). Blant annet øker biokull jordens karboninnhold, det filtrerer og kan holde på vann i lengre perioder på grunn av sin store overflate. Biokull har også evnen til å absorbere tungmetaller, patogener og lignende. Disse evnene har gjort at biokull har vært brukt som gjødsel i mange historiske perioder, og nå nylig har det mottatt mer interesse på grunn av absorpsjonsegenskapene, som hevdes å kunne konkurrere med aktivkarbon (Alhashimi & Aktas, 2017).

Forskning viser at biokull har gode og lovende egenskaper ved filtrering av tungmetaller (Chen et al., 2011; Han, Boateng, Qi, Lima, & Chang, 2013; Inyang et al., 2012; Jiang, Jiang, Xu, & Li, 2012) og medisin- (Bimová et al., 2021) og personlige hygieneprodukter (Kalheim, 2022; Zhen et al., 2022). For fjerning av virus er det begrenset med forskning. Men én studie har brukt biokull i regnbed til filtrering av overvann tilsatt avløpsvann og sammenlignet filtreringsevnen av fekale indikatororganismer opp mot vanlige sandfiltre (Kranner, Afrooz, Fitzgerald, & Boehm, 2019). En annen studie (Dalahmeh, Lalander, Pell, Vinnerås, & Jönsson, 2016) viste at biokull har en god evne til å redusere (BOD_5) og suspendert stoff som filtermateriale for gråvann, men usignifikant renseseffekt for *E.coli*. At biokull har en neglisjerbar effekt på reduksjonen av patogene mikroorganismer går igjen i flere forsøk med indikatororganismer (Guan et al., 2020). Effekten biokull har på å fjerne bakterier og virus er likevel omstridt da enkelte studier hevder det kan ha god effekt og bør undersøkes mer (Mohanty, Cantrell, Nelson, & Boehm, 2014). Litt av grunnen til at det er motstridende forskning på hvor effektivt biokull er på reduksjonen av

patogener ligger i biokullets sammensetning, råmateriale og pyrolysetemperatur (Bolster & Abit, 2012).

Utformingen av “grønne” karbonholdige materialer med høy fjerning- og absorpsjonskapasitet er uunnværlig for å fremme bærekraftig behandling av avløpsvann (Zhu et al., 2022). Data tyder på at biokull har et lavere miljømessig fotavtrykk enn aktivkull (Alhashimi & Aktas, 2017). Studien til Alhashimi og Aktas viste at biokull hadde et negativt netto utslipp av drivhusgasser på grunn av sin evne til å binde karbon. Aktivkull på sin side hadde et vesentlig høyere utslipp som man ser av **Tabell 2-1** under.

Tabell 2-1 Produserte CO₂-ekvivalenter og energiforbruk ved bruk av ulike kullmaterialer (Alhashimi & Aktas, 2017; Kostas et al., 2020)

	Biokull	Aktivkull
Drivhusgasser	-0,9kg CO ₂ ekv kg ⁻¹	6,6kg CO ₂ ekv kg ⁻¹
Energibruk for produksjon	6,1MJ kg ⁻¹	97MJ kg ⁻¹

Energien brukt til produksjon av aktivkull var over 15 ganger høyere enn energien brukt til produksjon av biokull (**Tabell 2-1**). En av de største ulempene med biokull i forhold til aktivkull er at egenskapene til biokull varierer veldig avhengig av hvilke råmateriale og temperatur som er brukt ved produksjonen (S. Li et al., 2019). Dette gjør det interessant å teste ut forskjellige typer råmateriale og designe et biokull-produkt for forskjellige typer filtrering.

2.6.2 Aktivkull

Aktivkull er kull som har gjennomgått samme pyrolyseringsprosess som andre kulltyper, men som siden har blitt aktivert. Aktiveringsprosessen foregår ved å fjerne alle løselige stoffer som er festet til overflaten på kullmaterialet, slik at all overflate, porer og mikroporer er tilgjengelig

for adsorpsjon (Mohamed, 2015). Ulempen med aktivkull er pris, energiforbruk og utslipp av drivhusgasser ved produksjon som man ser i Tabell 2-1. Dette gjør aktivkull uønsket til bruk ved dette forsøket, et forsøk som ønsker å ha mer fokus på en sirkulærøkonomi med lave kostnader og gjenbruk av avløpsressurser.

2.7 2.6 Gjenbruk av avløpsvann

Gjenbruk av avløpsvann er i dag stort sett benyttet til landbruksformål, som vanning med hensyn på jordbruk. Ved videre forskning og utvikling av kildeseparerte avløpssystemer kan man finne nye og effektive metoder å gjenbruke svart- og gråvann, samt ressursene i dette vannet. Vi har ikke et behov for drikkevannskvalitet i doskålen, men gjenbruk av gråvann til dette formålet har sine ulemper. En av de er opphopingen av biofilm på innsiden av rørmateriell som transporterer det filtrerte gråvannet tilbake til husholdningen. Denne mikrobielle veksten på innsiden av rørsystemer kan ha en negativ effekt på vannkvaliteten.

2.7.1 Rørmaterialer for gjenbruk

I et sirkulærøkonomisk perspektiv er det viktig å finne måter å transportere filtrert vann tilbake til husholdning, industri eller landbruk. Et problem med gjenbruk av gråvann til industri og husholdning er at det avhenger av rørsystemer for transport. I disse rørsystemene vil mikroorganismer ha muligheten til å feste seg til overflater og danne biofilm (Mulamattathil, Bezuidenhout, & Mbewe, 2014) (Christensen, Nissen, Arvin, & Albrechtsen, 2011). Mikrobiell vekst kan ha negativ effekt på vannkvaliteten. Opportunistiske patogener kan multiplisere seg i biofilmen på innsiden av rørsystemer, noe som utgjør en potensiell risiko for dyre- og menneskehelset. Mikrobiell vekst kan også føre til estetiske problemer som farge, lukt og ikke minst udelikat biofilm som løsner og forsvinner ut som klaser ved utløpet (Learbuch et al., 2021).

Vannet som er filtrert gjennom biokullet vil forhåpentligvis være klar til direkte utslipp til resipient, vanning av planter eller muligens kunne fraktes videre til gjenbruk i for eksempel et toalett. For at dette skal være mulig er man avhengig av at det ikke dannes for mye biofilm i rørene. Opphoping av biofilm på innsiden av rør vil kunne holde tilbake virus og andre patogener, men med tiden vil dette løsne og dermed ta med seg mengder med biofilm til utløpet. Denne biofilmen kan inneholde opportunistiske mikroorganismer som vil kunne være sykdomsfremkallende (Health Canada, 2010; Mulamattathil et al., 2014). En av tankene med dette forsøket er å teste ulike rørmaterialer for å se hvor mye biofilm som vokser på innsiden av de forskjellige variantene. Det vanligste materiale for vannrør i norske bygg i dag er PE (Ødegaard et al., 2014). PE vil derfor være et naturlig materiale å teste ut i dette forsøket. Tidligere forskning viser at PE scorer middels på biofilmvekst ved bruk av uklorert vann (Christensen et al., 2011). Det samme forsøket viste også at kobber og CPVC (Klorinert PVC) hadde lave verdier av biofilm, mens PVC hadde høye konsentrasjoner. Det gjør det interessant å undersøke biofilmveksten på innsiden av rørmaterialer av CPVC, PE og PVC, etter gråvannsrensing.

2.7.2 Tungmetaller ved gjenbruk

Til tross for lave konsentrasjoner er tungmetaller noe av det giftigste, uorganiske som forurenses vann og jord (Han et al., 2013). Stort sett er tungmetaller introdusert til naturen på grunn av utilstrekkelig rensing av avløpsvann fra gruvedrift, metall-, batteri- og papirindustrien (Inyang et al., 2012). Tungmetallene som lekker ut kan absorberes av planter, lekke ut i grunnvannet eller andre resipienter. De akkumuleres sakte og konsentrasjonen av giftige tungmetaller som kvikksølv (Hg), Kadmium (Cd) og bly (Pb) har vist seg å øke med alderen hos spekkhoggere, hvaler og muligens mennesker (Endo, Kimura, Hisamichi, Minoshima, & Haraguchi, 2007; Has-Schön et al., 2015; Lee et al., 2012). Det er derfor viktig å påse at tungmetaller filtreres bort før det når et endelig utløp.

2.8 2.7 Mål og hensikt

Bakgrunnen og hovedmålet i denne oppgaven er å finne en miljøvennlig og økonomisk forsvarlig måte å fjerne patogene mikroorganismer fra vann og hvordan man på sikker måte kan distribuere vannet videre til forbruker. Dette vil spesielt være til nytte i utviklingsland hvor man er avhengig av gode, effektive og økonomisk gunstige måter for å få en renere og sikrere vannforsyning.

I denne oppgaven skal derfor effekten biokull har på å fjerne virus fra forbehandlet gråvann, sett i et sirkulærøkonomisk perspektiv undersøkes. I tillegg ønskes det å undersøke forskjellen ulike rørmaterialer har på dannelsen av biofilm ved videre distribusjon av behandlet gråvann. Det vil i oppgaven bli testet hvor bra biokull (BC) produsert av Scanship AS hos Lindum AS, brent på 600°C vil filtrere virusinfisert gråvann sammenlignet med mikrobølgepyrolysert (MAP) kull fra samme materiale (biorest) og leverandør.

3 Metode

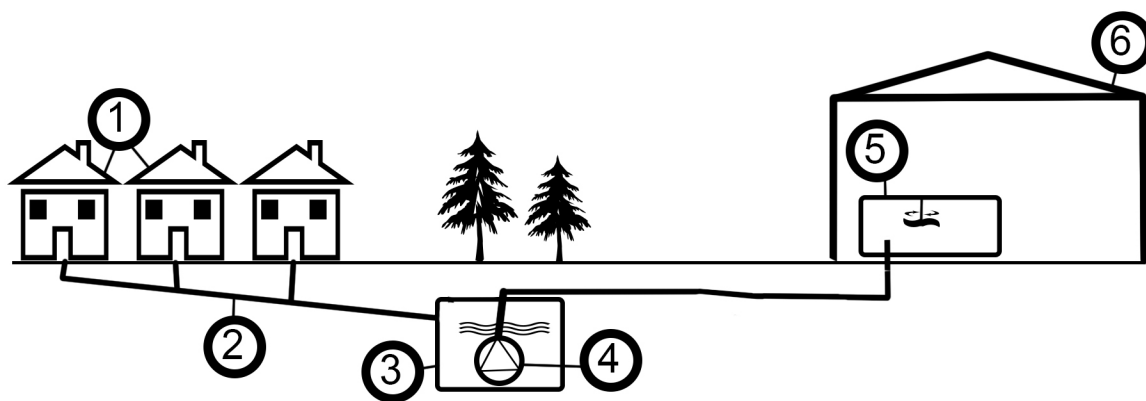
Dette kapittelet vil redegjøre for metodene benyttet for å gjennomføre det som kreves for å besvare forsøksspørsmålet.

3.1 Oppsett

I kapittel 3.1 vil oppsettet av filtreringsforsøket bli forklart.

3.1.1 Gråvann

Gråvannet brukt i denne oppgaven kommer fra 24 studentboliger lokalisert i Kajaveien ved NMBU (Todt, Heistad, & Jensen, 2015). Leilighetene som huser 48 studenter, er utstyrt med et kildeseparert avløpssystem som sørger for fordeling av grå- og svartvannet. Gråvannet blir ved selvføll samlet opp i en septiktank med et overløp som fører vannet videre inn på kommunalt ledningsnett. I septiktanken er det montert en pumpe (Tsurumi 40U) som ved ett pumpestøt i timen frakter gråvannet til en 1500-liter stor gråvannstank ved vannlaben i Fløy IV på NMBU. Gråvannstanken er utstyrt med en saktegående rotasjonsmikser på 30rpm. Oppholdstiden i gråvannstanken ved fløy IV er lengre enn oppholdstiden i septiktanken.



Figur 3-1 Illustrasjon av overføringsystemet for gråvann mellom studentboligene i Kajaveien og gråvannstanken i fløy IV

Tabell 3-1 Forklaring på nummererte elementer i Figur 3-1

Nr.	Nr.
1 Studentboliger i Kajaveien	4 Tsurumi 40U pumpe
2 Gråvannsledning med selvfall	5 1500L gråvannstank med omrører
3 Septiktank	6 Fløy IV ved NMBU

Oppholdstiden i rør og lagringstank ble av Todt et al. (2015) estimert til å være mellom 36 og 48 timer, med en gråvannsproduksjon på $5,6 \pm 0,6 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$. Dette står for om lag 94,5% av det totale vannforbruket i studenthyblene.

Sammensetningen på gråvannet fra studenthyblene i Kajaveien er godt beskrevet i artikkelen til Todt et al. (2015) hvor de analyserer avløpsvannet for innhold av organisk materiale og næringsstoffer. BOD₅-verdiene fra forsøket varierer mellom 140-160 O₂ L⁻¹, mens konsentrasjonen ellers i Europa ligger på mellom 205 og 449 mg O₂ L⁻¹ (Meinzinger & Oldenburg, 2009). I samme studie hadde gråvannet en COD-konsentrasjon på mellom 250-300 O₂ L⁻¹, noe som også ligger i underkant av Meinzinger og Oldenburg sitt europasnitt 350-783 mg O₂ L⁻¹. I 2022 gjennomførte også Frida Kalheim gråvannsprøver fra det samme anlegget i forbindelse med sin masteroppgave (Kalheim, 2022). Målingene hun utførte hadde en gjennomsnittlig SS-konsentrasjon fra gråvannstanken på 69,5 mg L⁻¹.

3.1.2 Forbehandlingsenhet for gråvann

Ved hjelp av en peristaltisk pumpe (Bredel SPX 10) blir vannet fra gråvannstanken pumpet videre til en biofilmreaktor (BAF) illustrert i **Figur 3-2**. Oppsettet er delvis basert på Simon Rummelhoff sin masteravhandling i 2019 (Rummelhoff, 2019), men med ulik gråvannsamensetting, belastning og lufttilførsel. BAF-reaktoren i denne studien ble belastet med 32,8 L d⁻¹ fordi pumpe og komponenter ikke gjorde det mulig å senke belastningen ned til

ønsket 25L d⁻¹. **Tabell 3-2** og **Tabell 3-3** gir en oversikt over filtermediet som er benyttet og de ulike dimensjonene til biofilmreaktoren.

Tabell 3-2: Egenskaper til bæremediet BWT STM (Rummelhoff, 2019)

Spesifikk vekt [kg L ⁻¹]	0,95
Overflateareal [m ² / m ³]	650
Materiale	Høydensitet-polyetylen (HDPE)
BTW S TM [kg/m ³]	122

Tabell 3-3: Dimensjoner for biofilterreaktoren

Filterdybde [m]	0,9
Fyllingsgrad [%]	74
Reaktorvolum [L]	54
Totalt beskyttet vekstflate [m ²]	126
Filterareal [m ²]	0,044
Filtervolum [L]	40
Totalt væskevolum [L]	50,6

Reaktoren ble tilført luft gjennom to perforerte slanger tilkoblet en kompressor med volumstrømregulator. Luften ble spred ved hjelp av en middels finluftdiffusor med diffusorhull på 1-5mm (Rummelhoff, 2019). Det ble i hele testperioden tilført 1,76 L_{luft} min⁻¹ (Q_{luft}) som tilsvarer en oksygenmengde på $m_{O_2} = 0,637 \text{ kgO}_2 \text{ d}^{-1}$. Oksygentilførselen er beregnet med ligning (3). Beregningene tar utgangspunkt i en antagelse om 20,95% O₂ i luften tilført systemet (Dannevig & Pedersen, 2023). Videre er temperaturen gjennom hele forsøket målt til å ligge rundt 21°C, noe som gir en lufttetthet ved bakkenivå på $\rho = 1,20 \text{ g L}^{-1}$ ved bruk av ligning (4).

(3)

$$m_{o_2} = Q_{luft} \cdot \rho_{luft} \cdot 0,2095$$

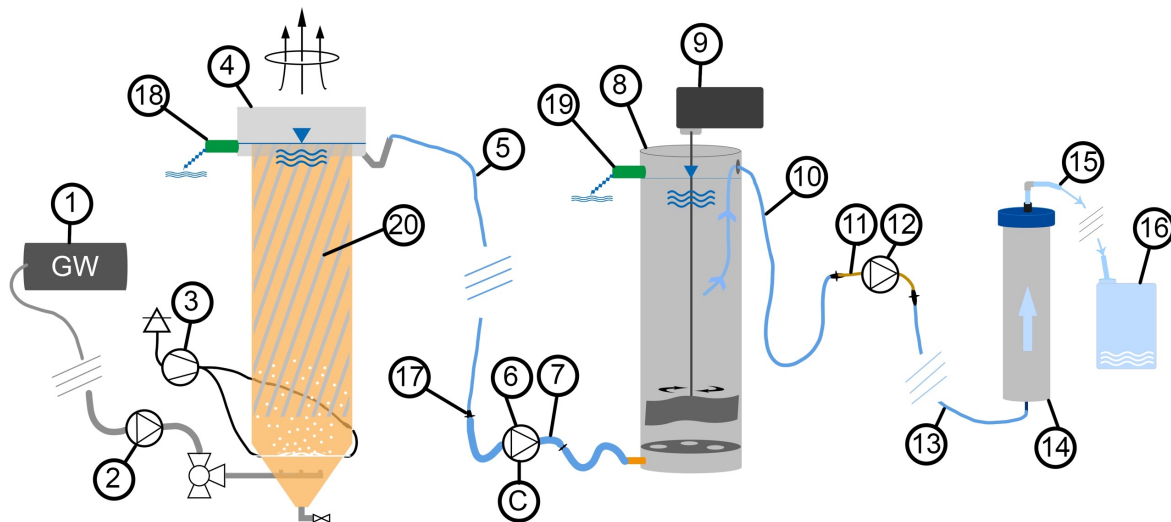
(4)

$$\rho = 1,292 \cdot \frac{273,15}{T}$$

T er temperatur i Kelvin.

3.1.3 Oppbevaringstank

Fra BAF reaktoren pumpes vannet med $Q = 22,5L d^{-1}$ videre til en oppbevaringstank med omrører som vist i **Figur 3-2**.



Figur 3-2 Forenklet flytskjema for oppsettet til forsøket. Beskrivelse av komponentene i tabell

Tabell 3-4 Forklaring på nummererte komponenter i **Figur 3-2**

Nr.		Nr.	
1	Gråvannstank på Fløy IV	11	8 x IsmaTec Masterflex $\varnothing_i = 2,54$
2	Pumpe (Bredel SPX 10)	12	IsmaTec (Pumpetrieb BVP)
3	Luftkompressor med volumstrømreg.	13	8 x 80cm \varnothing_i 2,38mm Tygon slange
4	Biofilmreaktor (BAF)	14	6 x Kolonner
5	Slange (Tygon E-3603) \varnothing_i [2,38mm]	15	6 x $\varnothing_y = 8$ mm nylonrør
6	Verderflex pumpe	16	8 x 5L plastdunk
7	Silikonslange $\varnothing=[4$ mm]	17	4 x skjøtestykker $\varnothing=3,2$ mm
8	Oppbevaringstank	18	Overløp BAF-reaktor
9	Omrører	19	Overløp oppbevaringstank
10	8 x 100cm \varnothing_i 2,38mm Tygon slange	20	Bæremidiet BWT S TM
C	Mini Controller for pumpe Av/På		

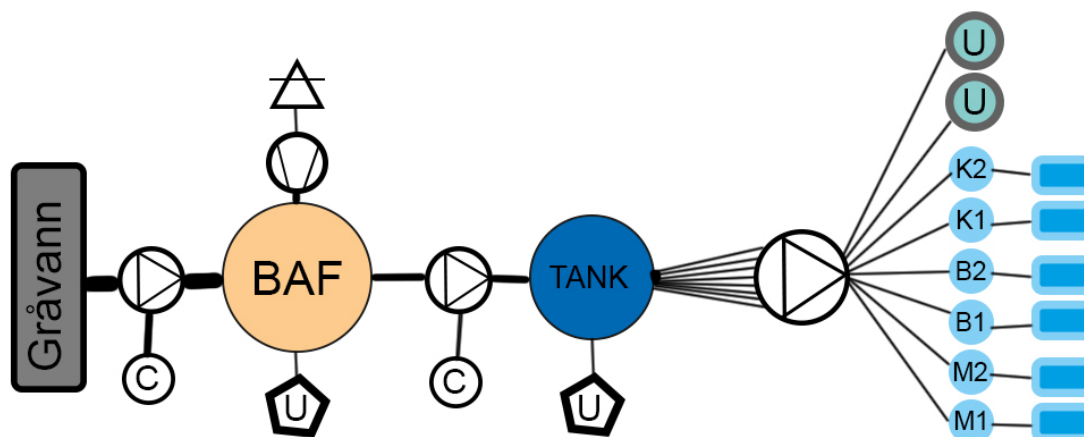
Den 62cm høye tanken har et volum på 14L. Vannet fra BAF-reaktoren blir pumpet til oppbevaringstanken ved hjelp av en peristaltisk pumpe fra Verderflex (Verderflex, 2022). Det var problemer med å få pumpen til å pumpe mindre mengder vann, så det ble montert på mikro-kontroller som sørget for at pumpen gikk i sykluser på 5sekunder i drift, 59 sekunder avslått. Slik gikk den kontinuerlig. Det var ønskelig med en noe mindre volumstrøm, men ved lavere intervaller enn 5sekunder hadde pumpen problemer med å starte prosessen. Et annet problem med pumpen var friksjonen som oppsto mellom rørelementene til pumpen og silikonslangen. På grunn av denne friksjonen var man avhengig av å bytte posisjon på slangen hver 48t for å oppnå gjennomstrømming og unngå lekkasje i transporten til oppbevaringstanken.

Slangen ved uttaket av BAF-reaktoren var en Tygon E-3603 med $\varnothing_i = 2,38$ mm (Saint-Gobain, 2023) skjøtet på en $\varnothing_i = 4,0$ mm silikonslange fra TESS (Tess, 2022), ved hjelp av skjøtestykker på 3,2mm i nylon fra Gates (Gates, 2023). Silikonslangen ble foret inn i den peristaltiske pumpen og måtte skiftes ut annenhver dag for at ikke silikonslangen skulle slites ut og dermed stoppe

vanntilførselen til oppbevaringstanken. Alle slanger ble byttet regelmessig når innsiden ble fortettet. Se tabell i Vedlegg I for driftsoversikt. Omrøreren i oppbevaringstanken sluttet å fungere den 20.12.2022, men ble byttet ut med en ny dagen etter. Denne har en omrøringshastighet på ca. 40 O min⁻¹.

3.1.4 Kolonner

Seks kolonner ble brukt i dette forsøket. To kolonner med mikrobølgepyrolysert biokull (MAP), to kolonner med konvensjonelt pyrolysert biokull (BC) og to kontrollkolonner uten fyll (C). I tillegg til at den peristaltiske pumpen fra IsmaTec (Pumpantrieb BVP) leverte en volumstrøm på rundt 0,8l d⁻¹ til de seks ulike kolonnene, ble det også satt opp to slanger som ikke gikk gjennom kolonner, men direkte til separate oppbevaringsbeholdere. Oppsettet er vist i **Figur 3-3**. Alt kull til dette forsøket er pyrolysert av Scanship AS ved Lindum AS i Drammen og forklares nærmere i kapittel 3.1.5 under.



Figur 3-3 Flytskjema over anlegget med slangefordeling. C er kontroll for volumstrøm og intervall. U er utløp.

For kobling mellom oppbevaringstank og kolonnene ble det benyttet Tygon E-3603 med $\varnothing_i = 2,38\text{mm}$ (Saint-Gobain, 2023) på begge siden av pumpen. For pumping i de åtte ulike kanalene ble det benyttet Masterflex spesialslange fra Ismatec med $\varnothing_i = 2,54\text{mm}$ som igjen ble skjøttet til Tygon-slangene med skjøtestykker på 3,2mm i nylon fra Gates (Gates, 2023).

Vannet blir så ledet fra bunn i kolonnene, gjennom filtermediet og ut på toppen hvor det er koblet på en 2cm nylonrør med $\varnothing_v=8\text{mm}$, etterfulgt av et 90 graders kobberbend som var tilkoblet et 50cm nylonrør på 8mm som ble ledet ned i en plastbeholder på 5L.

3.1.5 Biokull

Alt biokull som er brukt i dette forsøket er pyrolysert på to ulike måter av Scanship AS hos Lindum AS utenfor Drammen. Råvarene til de ulike pyrolyseringsprosessene er bioest fra et biogassanlegg i Drammen som håndterer avløpsslam.

Pyrolyse er en teknikk for energigjenvinning, avfallshåndtering og omgjøring av biomasse til andre produkter (Motasemi & Afzal, 2013). Kull, bio-olje og syngass er de tre hovedproduktene som kommer fra pyrolyseprosessen.

Kullet som ble plassert i kolonnene ble filtrert ned til 1-2mm ved hjelp av manuelle rister. Kullet ble deretter vasket i springvann, helt til vaskevannet var klart. Kullet ble deretter plassert i et varmeskap på 105°C for tørking i 24t før det ble tilført kolonnene.

Yuliia Dzihora gjorde i 2021 en karakterisering av biokullet fra den konvensjonelle pyrolysereaktoren hos Lindum i Drammen (Dzihora, 2021). Denne Karakteriseringen viste at biokullet hadde et totalt porevolum på $0,1391\text{cm}^3\text{g}^{-1}$. Dette porevolumet ville gitt et teoretisk porevolum på ca. 65ml i BC-kolonnene for dette forsøket. På grunn av andre analysemetoder og bruk, ble det bestemt å bruke oppmålt vannmengde i kolonnene som porevolum. Målt porevolum i BC- og MAP-kolonnene ble beregnet til å være henholdsvis $0,255\text{cm}^3\text{g}^{-1}$ og $0,533\text{cm}^3\text{g}^{-1}$.

Tabell 3-5 Partikkelstørrelse, vekt, porevolum og volum i de ulike kolonnene

Kolonne	Partikkelstørrelse [mm]	Vekt [g]	Porevolum [cm ³]	Diameter [mm]	Høyde [mm]	Volum [mL]
MAP1	1-2	238,9	127,3	85,0	310	1758
MAP2	1-2	246,6	131,4			
BC 1	1-2	466,3	118,9			
BC 2	1-2	474,1	120,9			
Kontroll 1	-	0	1758			
Kontroll 2	-	0	1758			

3.1.5.1 Konvensjonell pyrolyse ved 600°C

To av kolonnene i forsøket ble fylt opp med biokull (BC) pyrolysert på 600°C i en småskala kontainerbasert kontinuerlig pyrolysereaktor levert til Scanship av ETIA. Råstoffet mates inn i reaktoren gjennom en roterende luftsluse, og hele systemet renses med en lav strøm nitrogen for å sikre et oksygenfritt miljø. Den energirike syngassen trekkes ut fra reaktoren, mens biokullet slippes inn i et kjølesystem hvor det avkjøles til under 50°C. Oppholdstiden for kullet produsert til dette forsøket er 20 minutter ved 600°C. Anlegget i drammen har en kapasitet til å håndtere 5-10kg i timen.

3.1.5.2 MAP

De to andre kolonnene er fylt opp med kull som er produsert ved bruk av mikrobølge assistert pyrolyse (MAP). MAP har vist seg å være en effektiv metode for å redusere reaksjonstiden inne i reaktoren og øke kvaliteten på produktene som dannes i prosessen (Motasemi & Afzal, 2013).

Reaktoren i Drammen har en kapasitet til å håndtere 90-100kg i timen, og er med det i stand til å produsere et stort volum sammenlignet med den konvensjonelle reaktoren. MAP-teknologien bruker også betydelig mindre energi enn konvensjonell pyrolyse og kan være en godt egnet

metode for å redusere kostnadene ved pyrolyse og en vei ut av fattigdom for flere utviklingsland (Dong & Xiong, 2014; Motasemi & Afzal, 2013).

3.1.6 Plastrør

Vann fra de fire kolonnene som inneholdt biokull ble mikset og tilsatt i tre ulike rørmaterialer for å se på dannelsen av biofilm. De tre ulike materialene var PE, PVC og CPVC. Totalt ble 12 rør fylt med ulike vannkvaliteter. Dato for fylling og utskifting av vannet er vist i Tabell 3-6.

Tabell 3-6 Liste over når ulike rør ble fylt, og med hvilke vannkvalitet de ble fylt med. H ble lagret horisontalt, V ble lagret vertikalt.

RØR	MAP1-MAP2-BC1-BC2		Gråvann	
PE H	19.12.22	7.1.23	21.12.23	7.1.23
PE V	19.12.22	7.1.23	21.12.23	7.1.23
PVC H	19.12.22	7.1.23	21.12.23	7.1.23
PVC V	19.12.22	7.1.23	21.12.23	7.1.23
CPVC H	19.12.22	7.1.23	21.12.23	7.1.23
CPVC V	19.12.22	7.1.23	21.12.23	7.1.23

Rørene ble kuttet i 50 cm lengde. Dessverre kom de i noe ulike rørdiameter hvor PE og PVC hadde en $\varnothing_i = 16\text{mm}$. CPVC hadde en $\varnothing_i = 20\text{mm}$.

3.2 Virusprøver

Bakteriofagen *Salmonella typhimurium* fag 28b (S.t.28b) som ble brukt til dette forsøket, ble propagert av professor ved NMBU, Arve Heistad i 2017, og har siden vært oppbevart i kjøleskap. Heistad gjennomførte 6.1-7.1.2023 en kontroll av viruskulturen og kom frem til en minimum viruskonsentrasjon på 10^8 pfu/ml. Denne konsentrasjonen ble lagt til grunn ved bruk i filtreringsforsøket.

Den 13.februar ble 15ml av S.t.28b – kulturen tilsatt den 14L store oppbevaringstanken.

Pumpene ble på forhånd slått av, slik at virusene kunne blandes med vannet i 5 minutter før

tilførselen til kolonnene ble slått på. Viruskonsentrasjonen ved start av forsøket var da beregnet til 10^5 pfu ml⁻¹. For å forsikre seg om at *S.t.28b* ikke var til stede i gråvannet før viruskonsentrasjon ble tilsatt ble det tatt ut vannprøver i forkant.

Forsøk som tidligere er gjennomført, hvor man har filtrert bakteriofagene MS2 og Φ X174 gjennom mettede og umettede sandfiltre, har vist at gjennombruddskurven ligger rundt to porevolum for umettede, og like i underkant av to porevolum for mettede sandfiltre (Jin, Chu, & Li, 2000). På bakgrunn av dette og Heistad sin avhandling (Heistad, 2008) som viste at viruskonsentrasjon var på topp etter at to porevolum hadde strømmet gjennom kolonnene, ble det bestemt at første virusprøve skulle tas ut etter at to porevolum var filtrert.

For å forsikre at det ble benyttet riktig porevolum som utgangspunkt ble porevolumet målt i forkant av forsøket. To kolonner ble fylt med henholdsvis MAP og BC. Disse ble veid og vasket før de ble fylt med vann. Vannmengden ut av kolonnene ble deretter målt. Et gjennomsnitt av tre målinger ble lagt til grunn for estimert cm³ g⁻¹. Dette ble gjort for å sikre en utskifting av vannet som allerede var til stede i kolonnene, slik at det ikke skulle være med på å fortynne prøvene. Basert på oppgitt og målt porevolum ble det beregnet at man skulle ta ut virusprøver fra kolonnene hver 7.time. Se **Tabell 3-7** for tidsskjema for uttak av virusprøver.

På grunn av antatt høyere andel jern i MAP-kolonnene, og at MAP2-kolonnen på prøvetidspunktet var blitt svært rød-brun, ble det bestemt at man skulle ta separate prøver fra MAP1 og MAP2. De øvrige kolonnene ble det mikset for å redusere arbeidet med virustelling i etterkant.

Første virusprøve ble tatt etter 7t, andre etter 14t og siste etter 21t. Prøvene ble satt til oppbevaring i kjøleskap i påvente av telling.

Tabell 3-7 Oversikt over tidspunkt for prøveuttaking

	Før virustilsetting	t=7t	t=14t	t=21t
MAP 1	x	x	x	x
MAP 2	x	x	x	x
BC MIX	x	x	x	x
Kontroll MIX	x	x	x	x
Utløp MIX	x	x	x	x
MIX	x			

3.2.1 Virustelling

Virustellingen ble foretatt 26.januar, 12 dager etter at virusprøvene ble tatt. I mellomtiden ble prøvene oppbevart i kjøleskap. Det antas at dette ikke vil ha noen betydning for konsentrasjonen med bakgrunn i at *S.t.28b*-virusene som ble brukt i dette forsøket hadde minimal reduksjon i antallet på de fem årene de har vært oppbevart i kjøleskap ved KBM på NMBU.

Tallet på virustellingen i denne oppgaven vil være antallet plakkformede enheter pr. volumenhet (pfu). Dette er et mål på antall virus som lager plakker (hull) i et lag av bakterier. Defekte virus som ikke er i stand til å infisere verten vil ikke være i stand til å danne plakk og vil dermed ikke kunne telles. Det vil si at pfu ikke er et absolutt tall på antall virus i prøven, men et tall på antall virus som har mulighet til å infisere en vert (X. J. Li & Zhou, 2013).

I dette forsøket ble dobbelagar-metoden benyttet for å kvantifisere virus. Denne metoden er beskrevet i ISO-standard ISO 10705-2:2001 (Standard Norge, 2001) og Allestam og Carlander (2000). Det er likevel gjort noen tilnærminger til metoden. Blant annet ble bakteriekulturen oppbevart i romtemperatur mens blandingen av virus og bakterier foregikk.

Prinsippet til dobbelagar-metoden går ut på å støpe en blanding av fortynnet agar, vertskultur og virusprøven på en forhåndsstøpt petriskål med agar. I dette tilfellet vertsbakterien *Salmonella Typhimurium* type 5 og bakteriofagen *S.t.28b*. Bakteriene vil vokse og danne et lag på agaren. Bakteriofagen vil infisere bakteriene og deretter danne plakk på platen. Fremgangsmåten som er benyttet, skjema for telling og oppskrift på KPG, agar og soft-agar finnes i Vedlegg C og D.

For å bestemme viruskonsentrasjonen i prøven, ble formel (5) benyttet. Videre må det antas at virusene er jevnt og tilfeldig fordelt i prøven, og at de ikke danner klynger. Ved disse antagelsene vil antallet virus som støpes på petriskålene være en tilfeldig variabel, X , som er Poissonfordelt (Friborg, 2015; Haas, Rose, & Gerba, 1999).

Viruskonsentrasjonen er gitt ved formel (5) som gir det beste estimatet, c , av konsentrasjonen plakkformede enheter (pfu) i prøvene.

(5)

$$c = \frac{\sum_{i=1}^k x_i}{\sum_{i=1}^k r_i V_i}$$

Hvor k er antall individuelle platetellinger, x_i er antall plakk talt på petriskål i , V_i er prøvevolumet tilsatt petriskål i , og r_i er fortynningsfaktoren for petriskål i . Ved bruk av denne formelen vil de mest fortynnede fortynningsstegene vektlegges mindre enn fra mindre fortynnede fortynningssteg. Dette er en metode som fungerer godt så lenge ikke plakkene på platen blir for mange. Da vil det være vanskelig å skille klynger med plakk fra hverandre, og dermed øker usikkerheten ved de minst ufortynnede prøvene. Dette var tilfelle for petriskåler med mer enn 200 plakk. På grunn av manglende fortynningsserier ble likevel skåler med mer enn 200 plakk telt, men ikke vektlagt hvis det ble store forskjeller mellom fortynningsseriene.

3.2.2 OD

For å forsikre seg om at vertsbakterien var under eksponentiell vekst når blandingen av soft-agar, vertskultur og virusprøven foregikk, ble det foretatt jevnlig målinger av optisk absorbans (OD) med et UV-1280 spektrofotometer fra Shimadzu (2014). Det ble også foretatt OD-målinger underveis og etter at støpingen av petriskålene var ferdig. Spektrofotometeret var innstilt med en bølgelengde på 550nm. For OD = 0, ble ren KPG benyttet.

3.3 Inaktivering

En av hensiktene med oppgaven er å se hvor effektivt valgt biokull er på å inaktivere virus. Man regner seg frem til \log_{10} -reduksjonen ved å benytte formel (6) under, som viser forholdet mellom opprinnelig konsentrasjon (C_0) og filtrert konsentrasjon (C_t)

(6)

$$\log_{10} \text{ reduksjon} = -\log_{10} \frac{C_t}{C_0}$$

En $4\log_{10}$ reduksjon vil si at antallet virus reduseres fra 10^4 til 1. Altså fjerner man 9999 virus, som gir en virusreduksjon på 99,99%. Et gjennomsnitt av alle reduksjonene er gitt ved formel

(7)

(7)

$$\varphi = \frac{-\log_{10} \left(\frac{C_{t1}}{C_0} \right) - \log_{10} \left(\frac{C_{t2}}{C_0} \right)}{2}$$

3.4 Standardprøver

Det er jevnlig gjennomført målinger for pH, konduktivitet, suspendert stoff (SS), turbiditet og biologisk oksygenbehov (BOD_5) under hele forsøket. Dette er målinger som er utført på gråvann fra gråvannstanken, utløpet fra BAF-reaktoren, samt kvaliteten fra utløpet til de ulike

kolonnene. Tabell 3-8 viser en oversikt over de forskjellige analysemetodene for standardprøvene.

Tabell 3-8 Testmetoder for pH, konduktivitet, SS, BOD5, Turbiditet, COD(f) og elementanalyse

Parameter	Analysemetode	Testutstyr
pH	Glasselektrode	pH20 VWR
Konduktivitet	Spenningselektrode	TetraCon 325 fra WTW
SS	Vakuumfiltrering	Whatman GF/CTM, 1.2 µm glassfiberfilter 47mm.
BOD5	Manometrisk	Oxitop® OC 100, control measuring system
Turbiditet	Optisk	Hach, 2100N IS Turbidimeter
COD (F)*	Foto klorimetrisk	Hach Lange LCK 514 og 314
Elementanalyse	Massespektrometri	Agilent 8800 Triple Quadrupole ICP-MS

Oversikt over hvilke prøver som er gjennomført, og til hvilke tidspunkt finnes i Vedlegg H .

3.4.1 pH

Målinger av pH er utført med et håndholdt PH20 fra VWR (i. b. VWR, 2019). Kalibrering og målinger er utført i henhold til manualen (i. b. VWR, 2019).

3.4.2 Konduktivitet

Konduktivitet er målt ved bruk av en spenningselektroden TetraCon 325 fra WTW (WTW, 2018).

3.4.3 Suspendert stoff (SS)

Siden undersøkelser ikke har klart å finne noen signifikante forskjeller mellom bruk av 0,45 µm membranfilter og 1,2 µm glassfiberfilter når man skal bestemme SS ble det bestemt å bruke 1,2 µm -filter til alle prøvene (Todt et al., 2015; Ødegaard & Forurensingstilsynet, 2005).

Målinger av suspendert stoff er av den grunn utført ved bruk av glassfiberfilter med en poreåpning på $1,2\mu\text{m}$ og en diameter på 47mm. Glassfiberfilteret er levert av Whatman (2022), og aluminiumskåler fra VWR (2022). Prosedyren følger ellers standardmetoder vist i Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (American Public Health, Water Environment, & American Water Works, 2005). Utrekningen av SS ble utført med ligning (8) under

(8)

$$SS = \frac{m_t - m_0}{V} * 10^6 \left[\frac{mg}{L} \right]$$

Hvor m_0 er vekt av tørt filter og m_t er tørt filter med oppsamlet SS etter tørking i varmeskap.

3.4.4 Turbiditet

Turbiditet ble målt optisk med 2100N IS Turbidimeter fra Hach Lange (Hach, 2023a).

Instrumentet kalkulerer turbiditeten (NTU) og har en nøyaktighet på $\pm 2\%$.

3.4.5 BOD₅

Målinger av BOD₅ er utført ved bruk av OxiTop OC 100 fra WTW (WTW, 2016).

Mellom 164-432 mL vannprøver ble tilsatt 4-9 dråper nitrifiseringshemmer fra Lovibond (Lovibond, 2022) og 3-4 NaOH-pellets fra WTW (Xylem, 2021). Med konstant omrøring ble prøvene inkubert ved 20°C i fem dager før resultatet kunne leses av.

BOD₅ angir hvor stort oksygenforbruk som benyttes i prosessen hvor bakterier bryter ned organisk stoff biokjemisk i fem døgn (Ødegaard et al., 2014). Dette gir en pekepinn på hvor stort oksygenforbruk som forventes i resipienten vannet blir sluppet ut.

På grunn av defekt vaskemaskin i store deler av desember, og ut i januar, ble flaskene brukt til måling av BOD vasket for hånd i en periode. Dette kan ha gitt utslag i prøvene. Spesielt ved et tilfelle beskrevet i resultatkapittelet.

3.5 Andre prøver

I tillegg til standardprøvene som ble gjennomført med jevne mellomrom, ble det gjennomført en elementanalyse av utløpet til kolonnene, optisk karakterisering av biokullet, samt noen prøver av COD og fosforinnhold.

3.5.1 COD_(f)

Et annet mål for oksygenforbruket ved nedbryting av organisk stoff, er kjemisk oksygenforbruk (COD).

Det ble ikke foretatt kontinuerlige COD-prøver. Filtrert COD_(f) ble likevel utført ved en anledning for å undersøke om de lave BOD₅- verdiene kunne stemme. COD_(f)-prøvene ble utført med hjelp av Melesse Moges den 13. januar.

Tre vannprøver ble filtrert gjennom et 1,2µm glassfiberfilter før analysen av COD_(f) kunne gjennomføres med Hach Lange LCK 514 og 314 testkit (Hach, 2019a, 2019b). Vannprøvene fra utløpet til gråvannstanken, BAF-reaktoren og MAP2-kolonnen ble tilsatt LCK 514 eller LCK 314 avhengig av forventet oksygenforbruk. Etter tilsetning ble prøvene satt til inkubering på 148°C i en LT200 fra Hach (Hach, 2021). Etter 120min ble prøvene tatt ut og satt til avkjøling i romtemperatur før oksygenforbruket ble lest av ved hjelp et DR3900 spektrofotometer fra Hach (Hach, 2023b).

3.5.2 Biofilm på innsiden av rør

Mengde biofilm på innsiden av rørmaterialene skulle bli gjennomført ved å tømme vanninnholdet i ulike beholdere. Rørene ble deretter kuttet 2 x 10cm biter, som igjen ble satt i varmeskap på 40°C i 48 timer. Deretter skulle det bli benyttet en filterklut for å fjerne det organiske materiale på innsiden av rørene. Da dette ble fjernet skulle rørene bli veid på ny for å finne massen av biologisk tørrstoff på innsiden av plastrørene. Materialet som var igjen på innsiden filtkluten skulle bli lagret og analysert.

3.5.3 Metallinnhold (ICP-MS)

Det ble mot slutten av forsøket utført induktiv koblet plasmamassespektrometri (ICP-MS) for å detektere metaller i det filtrerte vannet som ble tappet samtidig som virusprøvene ble tatt ut. 4,4mL av de ulike vannprøvene ble tilsatt 0,4ml (8% v/v) HNO₃ og 0,2mL internstandard (Inorganic Ventures, 2022) i seks ulike sentrifugerør. De seks prøvene ble deretter sentrifugert i 8.min i en Centrifuge 5702 fra Eppendorf (eppendorf, 2023), før de gjennomgikk analysen i en 8800 TRIPLE QUADRUPOLE ICP-MS fra Agilent Technologies (Agilent, 2015). Vannprøvene ble undersøkt for Cu, Pb, Fe, P, Al, Ni, As og Cd. Utførelsen med analyseapparatet ble gjennomført av overingeniør Lena Foseid på Fløy V ved NMBU.

3.5.4 Metallinnhold (Elektronmikroskop)

Skanningselektronmikroskopet (SEM), Zeiss EVO 50 EP (Evisa, 2012) ble benyttet for å undersøke sammensettingen til de ulike biokullene benyttet i forsøket. Elektronmikroskopet skanner overflaten med en strøm av elektroner (Rani, Keshu, & Shanker, 2022). Disse elektronene reagerer med atomer i prøven og produserer ulike signal som inneholder informasjon om overflatens morfologi og sammensetting (ScienceDirect, 2023). Metoden sier ikke noe om mengden grunnstoff i prøvene, men forteller om fordelingen av de ulike elementene på overflaten. Ubrukt kull fra begge typene (MAP og BC) ble tørket og mikroskopert av Melesse Moges ved NMBU.

3.6 Omrøring av BAF-reaktor

Mot slutten av forsøksperioden begynte BAF-reaktoren å nå sitt metningspunkt og hadde behov for å renses. Den hadde da gått kontinuerlig i 72 dager.

Bunnslammet fra reaktoren ble tappet ut før luftstrømmen inn til reaktoren ble skrudd opp. Tilførselen av gråvannet inn til reaktoren ble ikke justert. Ved voldsom lufting ble det en turbulent omrøring av bæremidiet inni reaktoren. Dette fører til at biofilm på bæremidiet løses og blandes med vannet i reaktoren. Det ble tappet vann fra utløpet til reaktoren mens det foregikk turbulent lufting. Standerprøver ble tatt av både slamm og utløpet fra reaktoren.

Dette gjør at man kan få et estimat over hvor stor renskapasitet BAF-reaktoren har.
Renskapasiteten er beregnet med formel (9) og (10).

(9)

$$V_r * SS_r = SS_t$$

Hvor V_r er reaktorvolumet, SS_r er SS fra utløpet under turbulent strømning, og SS_t er total mengde SS i hele reaktoren.

(10)

$$\frac{SS_t}{\varphi SS_{GW}} = V_k$$

Hvor φSS_{GW} er gjennomsnittlig SS i gråvannstanken gjennom hele testperioden, og V_k er renskapasiteten til reaktoren fra oppstart.

4 Resultater

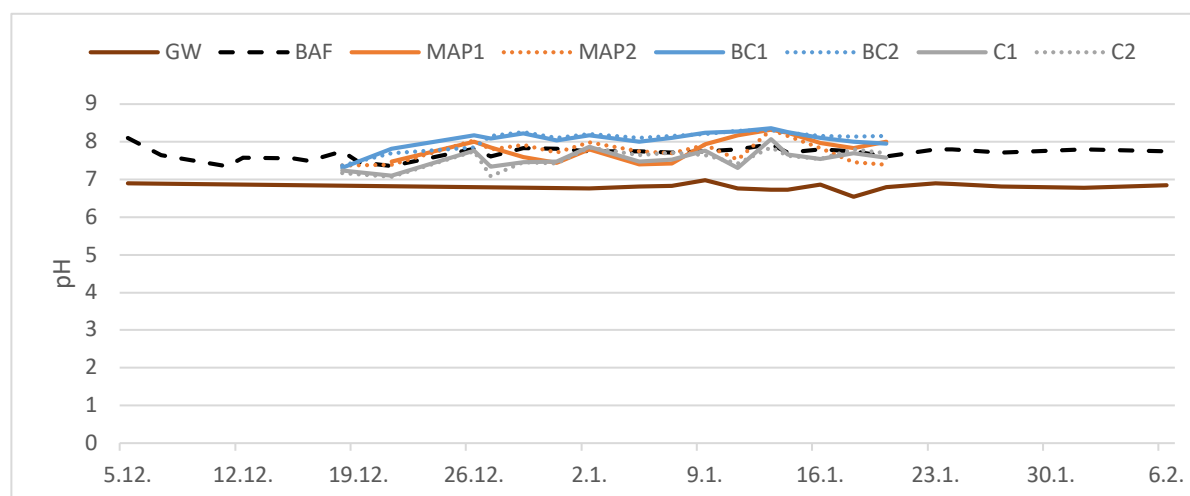
I dette kapittelet vil resultatene fra forsøkene bli gjennomgått og forklart opp mot eksisterende litteratur.

4.1 Standardprøver

I kapittel 4.1 vil standardprøvene for hele perioden bli gjennomgått. Det vil i dette kapittelet bli lagt vekt på perioden når kullkolonnene var operative. I kapittelet 4.7 vil vannkvaliteten for hele perioden bli gjennomgått, med noe mer fokus på renseseffekten til BAF-reaktoren og dens sorpsjonskapasitet. Alle prøver av pH, konduktivitet, SS, turbiditet og BOD₅ som er tatt gjennom hele forsøksperioden finnes i vedlegg H.

4.1.1 pH

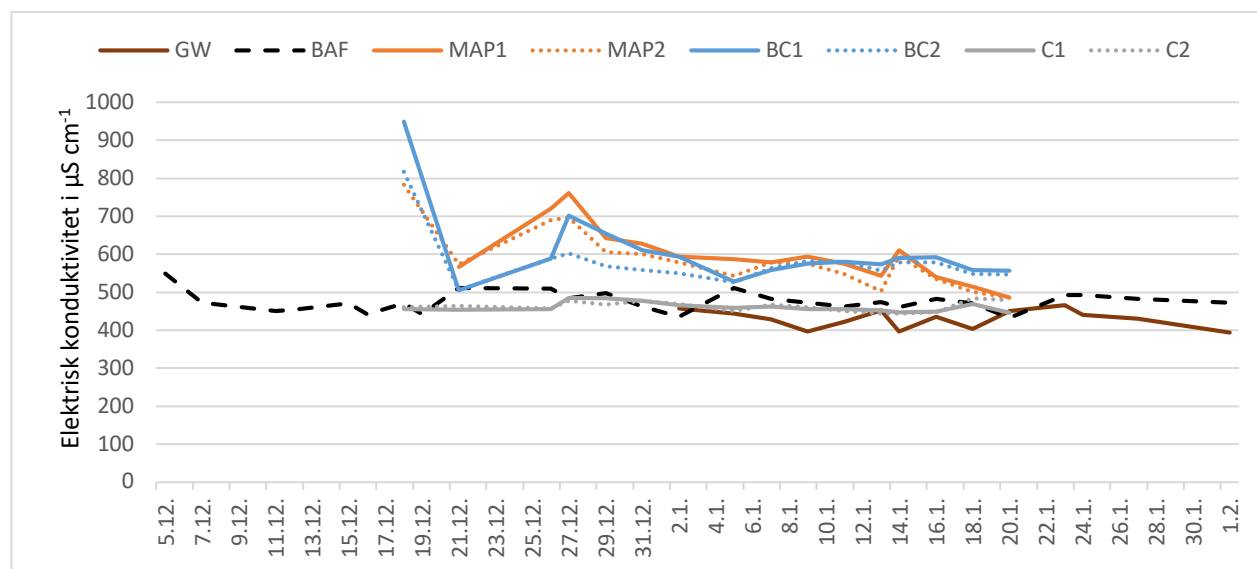
Av pH målingene ser man at forholdet mellom de to ulike MAP-kolonne varierer litt mer enn forholdet mellom BC-kolonnene og kontrollkolonnene (C) (Se vedlegg H, for fullstendige målinger). Tester utført av Y. Dzihora (2021) viser at biokull fra Lindum har en pH i overkant av 8 etter pyrolysering ved 600°C. At biokullet er alkalisk forklarer den økte pH-en i utløpet av kolonnene. Resultatene viser også en økning i pH etter forbehandlingen i BAF-reaktoren. Dette skyldes frigjøringen av ioner i rensesprosessen.



Figur 3-4 pH fra alle de ulike utløpene gjennom hele forsøksperioden

4.1.2 Konduktivitet

Konduktivitet gir et svar på vannets evne til å lede elektrisk strøm (Ødegaard et al., 2014). pH og konduktiviteten fra de ulike utløpene har høyere verdier enn det rå gråvannet gjennom hele forsøksperioden. Dette henger sammen med den økte ione-konsentrasjonen i vannet etter BAF-reaktoren og en ytterligere økning etter biokullfiltrering.

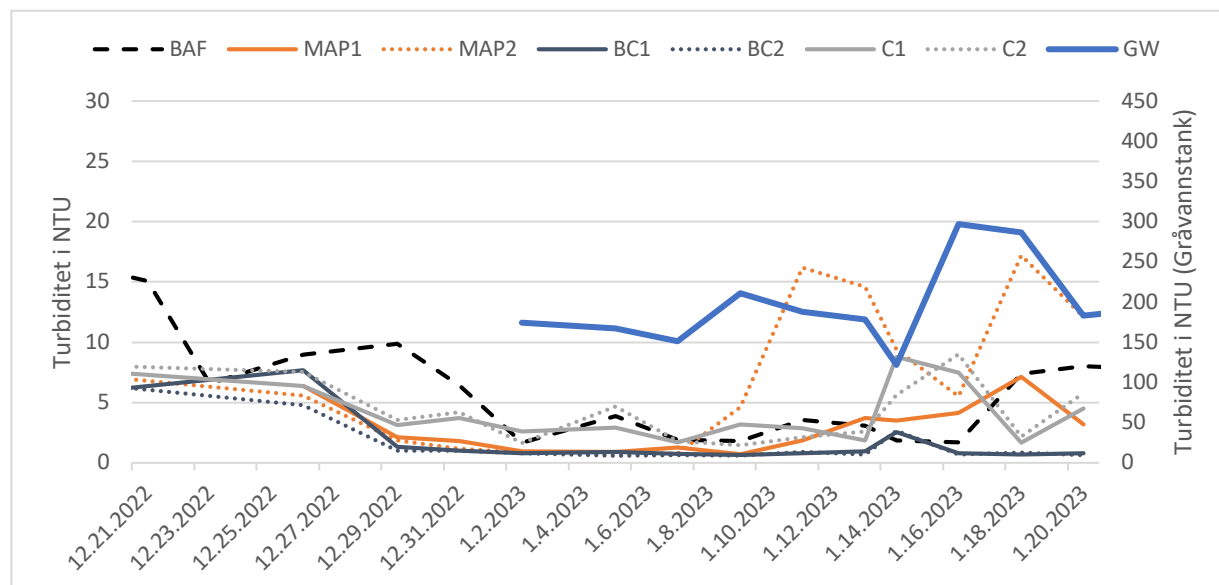


Figur 3-5 Målinger av konduktivitet i $\mu\text{S cm}^{-1}$ fra alle de ulike utløpene gjennom hele forsøksperioden

4.1.3 Turbiditet

Turbiditeten gjennom BAF og kullkolonnene har etter å ha stabilisert seg vist seg å være svært lav. Spesielt har BC-kolonnene har i lengre perioder levert vann som har en turbiditet <1 NTU. BAF-reaktoren har også vist seg å levere svært lav turbiditet, selv med varierende gråvannskvalitet. Disse målingene samsvarer godt med mengden suspendert stoff og oksygenforbruket diskutert under kapittel 4.1.4 og 4.1.5. Like før virus ble tilsatt kolonnene hadde man en opphoping av turbiditet gjennom MAP2-kolonnen som er tydelig i grafen under. Årsaken var på tidspunktet uvisst, men den røde fargen kunne tyde på at jernoksider var i ferd med å løses ut fra kolonnen. Elementanalysen som ble gjennomført med vann fra de ulike kolonnene viste at det var høye konsentrasjoner av jern i begge MAP-kolonnene, og da spesielt

MAP2-kolonnen på tidspunktet hvor turbiditeten i de to kolonnene økte. Dette er videre diskutert under kapittel 4.2.



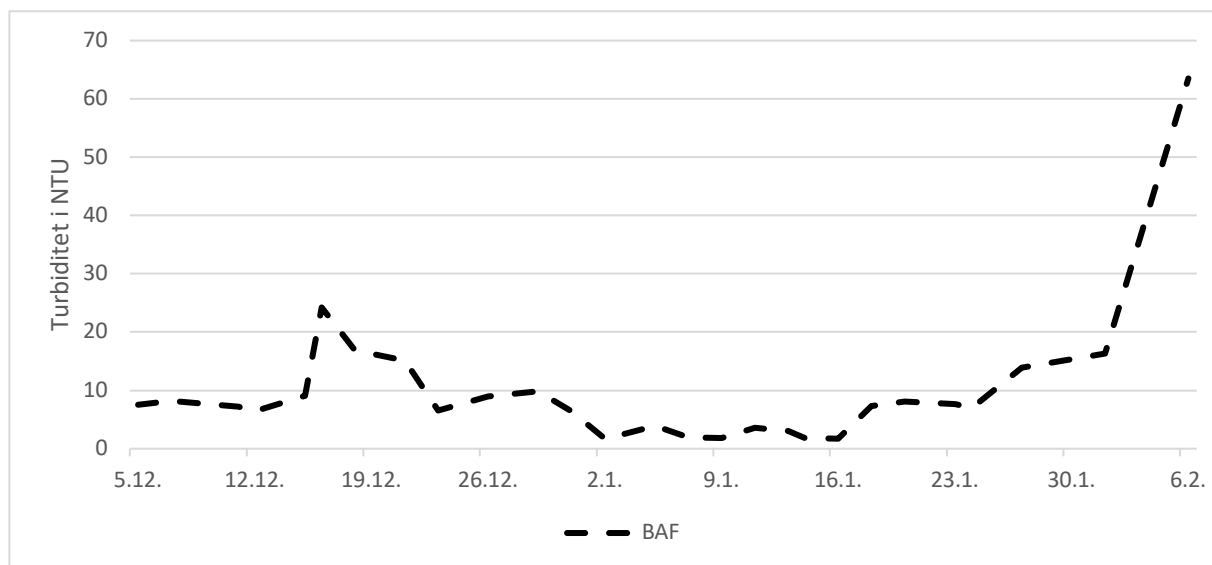
Figur 3-6 Målinger av turbiditet fra alle utløpene mellom 21.12-20.01. Verdiene til turbiditeten i GW er vist på sekundæraksen til høyre.

Resultatet viser at BAF-reaktoren alene har redusert turbiditeten med 95%. Dette er tilsvarende verdier som Ecomotive A02-GWTP leverte i forsøket til Eshetu, Eregno, and Heistad (2015).

Ytterligere reduksjon gjennom MAP1, MAP2, BC- og kontrollkolonnene var på henholdsvis 70%, 27%, 86% og 59%. At MAP-kolonnene leverte lavere renseeffekt enn BC-kolonnene kan forklares med utfellingen av jern som nevnes mer i kapittelet 4.1.4 under.

Turbiditeten i utløpet fra BAF-reaktoren har over lang tid levert lave NTU-nivåer. Mot slutten av forsøksperioden startet en ganske brå økning i turbiditet. Det indikerer at rensekapasiteten til reaktoren ble nådd. Gjennomsnittlig turbiditet fra GW var på 203 NTU. Renseevnen av

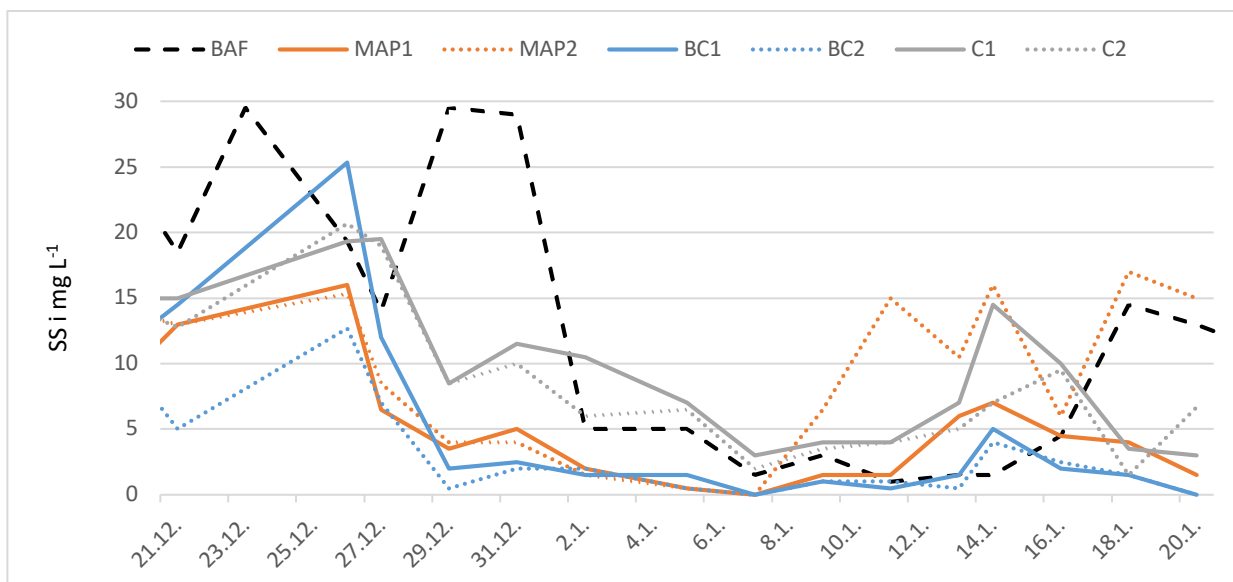
turbiditet i de ulike utløpene ble målt til å være 96,5% for BAF, 31,1% for MAP, 76,2% for BC og 40,8% for C. Dette er et gjennomsnitt fra utløpene til kolonnene.



Figur 3-7 Utviklingen av turbiditeten fra utløpet til BAF-reaktoren gjennom hele forsøket

4.1.4 Suspendert stoff (SS)

Det har til tider vært svært lave nivåer av SS i det behandlede gråvannet. Etter stabilisering av BAF-reaktoren har den i perioder levert SS-nivåer godt under 5 mg L^{-1} . Alle fire kullkolonnene har periodevis levert nivåer under 1 mg L^{-1} . Selv om den hydrauliske belastningen på kolonnene ikke har vært mer enn rundt $0,8 \text{ l d}^{-1}$, viser nivåene at rensetrinnene har meget god renseevne under optimale driftsbetingelser. Vannkvaliteten er drøftet mer i kapittel 4.7.



Figur 3-8 Målinger av suspendert stoff fra alle rensetrinnene mellom 21.12-20.01.

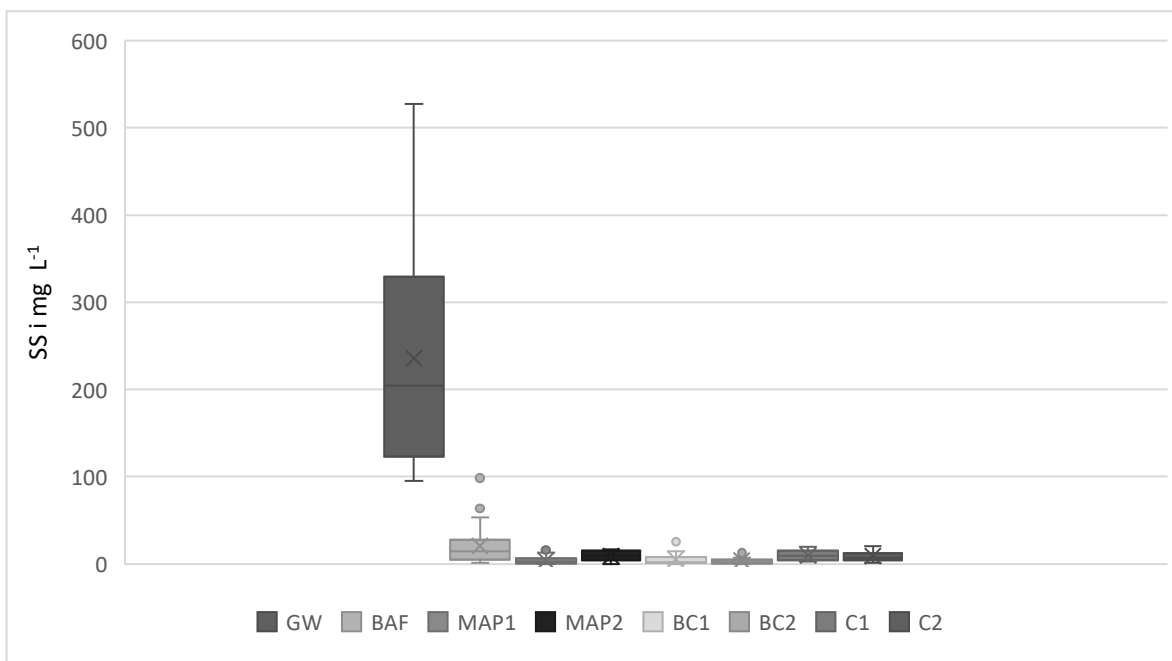
I Figur 3-8 ser man variasjonene i suspendert stoff for alle rensetrinnene gjennom perioden hvor filtrering gjennom kullkolonnene var aktiv. Etter en innkjøringsfase stabiliserer SS nivået seg lavt, før MAP2-kolonnen får et uventet høyt oppsving. Det ble plutselig observert rødbrunt vann fra utløpet i MAP2-kolonnen som man kan se i **Bilde 3-1** under.



Bilde 3-1 Viser tørkede SS-prøver. Nederst 7.januar, midten 9.januar, øverst 11.januar. Alle radene er plassert i rekkefølge fra venstre; MAP1, MAP2, BC1, BC2, C1, C2, BAF, GW

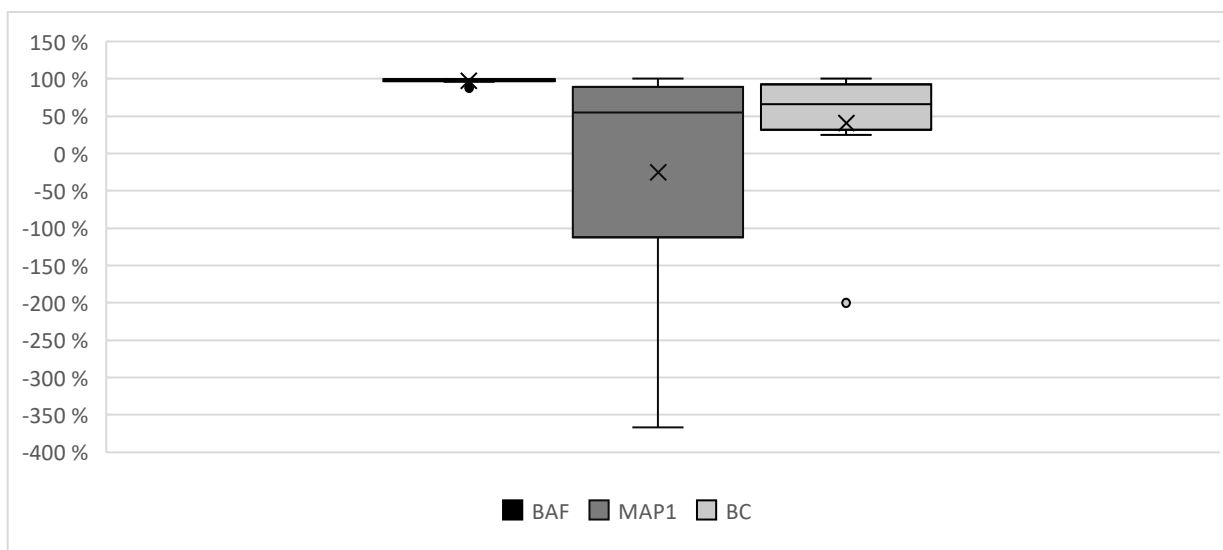
I Figur 3-9, ser man gjennomsnittlige SS-målinger fra alle utløpene. Ikke uventet varierer BAF-reaktoren mer enn de øvrige. MAP1-, BC1- og BC2- har levert lave SS verdier, utenom helt i starten, da høye SS-verdier trolig skyldes utvasking av finpartikulært biokull. Kontrollkolonnene har ikke uventet hatt en dårligere renssevne enn kullkolonnene, men har til tider hatt høyere

konsentrasjoner av SS enn utløpet fra BAF-reaktoren. Det kan skyldes akkumulert bunnfall i kontrollkolonnen, som med tiden har hopet seg opp og blitt med videre til utløpet. Dette bunnfallet har også kunnet fungere som et filter i tilbakeholdelsen av SS, og vært med på å bedre turbiditeten. Også dette er tilfellet i forsøket med Ecomotive A02-GWTP (Eshetu et al., 2015).



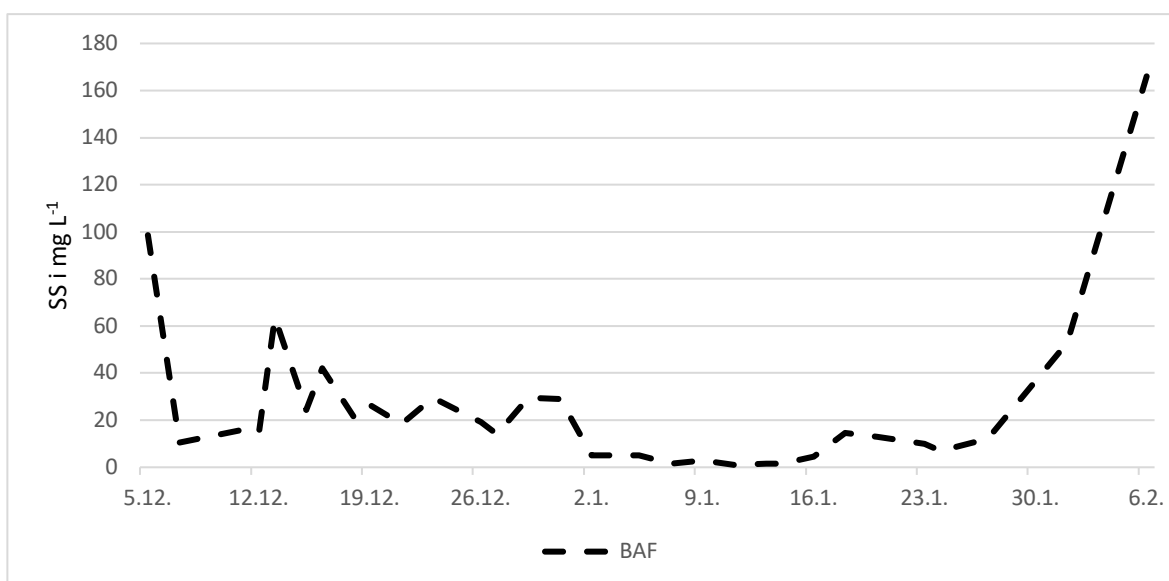
Figur 3-9 Gjennomsnittlig SS-målinger for de ulike utløpene gjennom hele forsøksperioden.

Det rødbrune materialet som ble utfelt gjennom MAP-kolonnene ble antatt å stamme fra jern. Denne mistanken ble bekreftet etter ICP-MS og elektronmikroskopering av prøvene. På grunn av denne utfellingen har MAP-kolonnene bidratt til en økning av SS og turbiditet etter forbehandlingstrinnet. Av Figur 3-10 ser man ustabiliteten i målingene og den negative renseseffekten som oppsto. Gjennomsnittlig SS-verdi fra GW var på 232.6mg L⁻¹. Renseevnen i de ulike utløpene ble målt til å være 97,4% for BAF, 6,9% for MAP, 66,4% for BC og -22,7% for C.



Figur 3-10 Andel SS fjernet ved de ulike rensetrinnene. MAP2-kolonnen er her utelatt på grunn av stor variasjon.

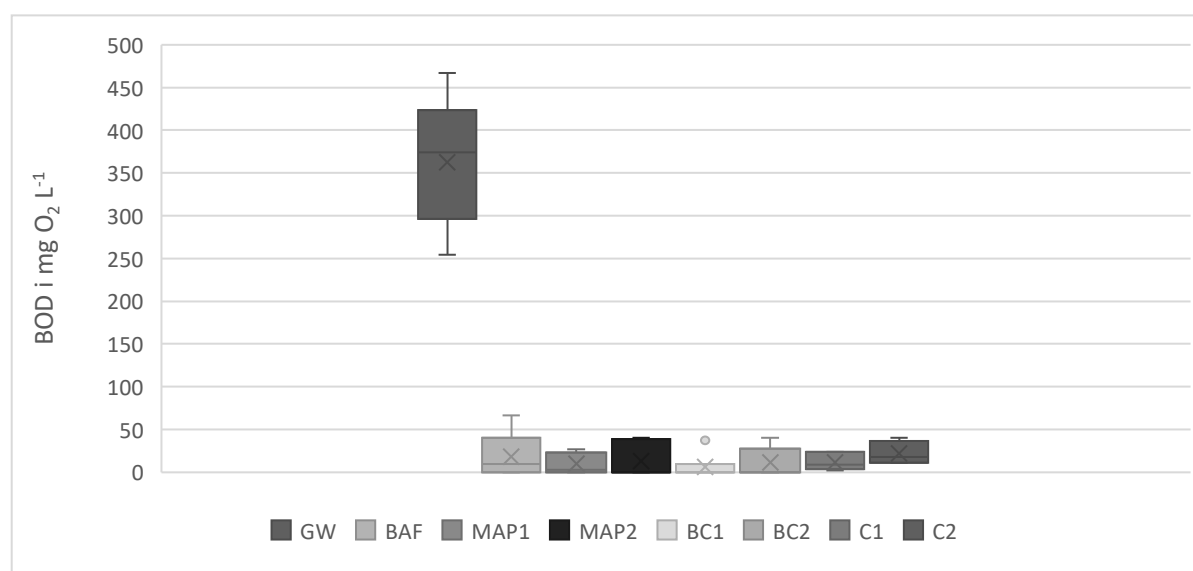
BAF-reaktoren har vist stabilt lave utløpsverider av SS gjennom store deler av testperioden. Sammenligner man turbiditeten i **Figur 3-7** med SS-konsentrasjonen i **Figur 3-11**, kan man tydelig se en sterk korrelasjon mellom de to målemetodene.



Figur 3-11 Suspensert stoff i utløpet til BAF-reaktoren gjennom hele forsøksperioden.

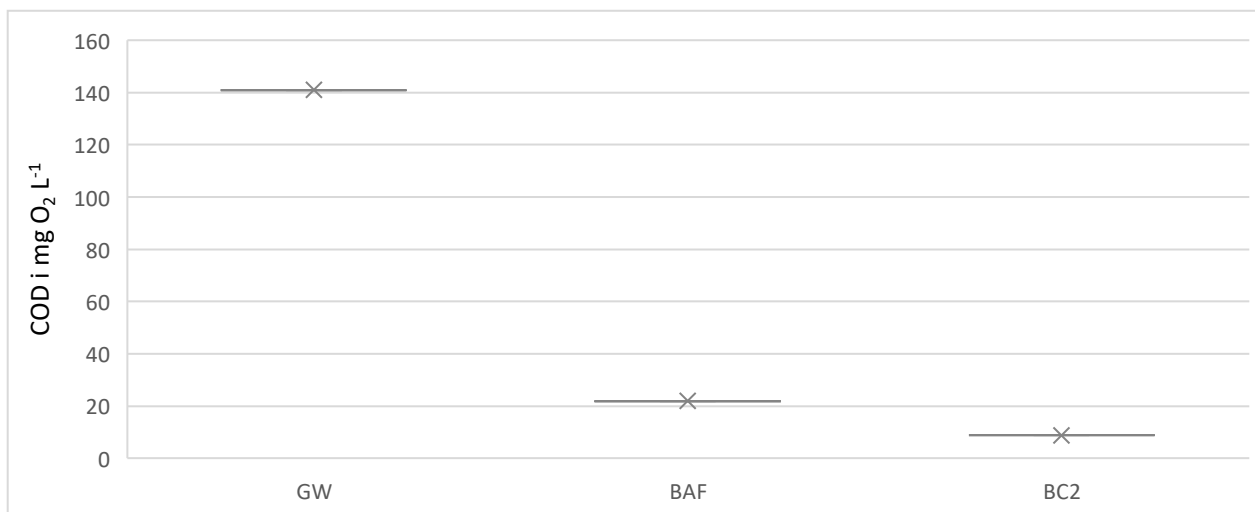
4.1.5 BOD₅ og COD

Målingene av BOD₅ og COD har etter en to ukers innkjøringsperiode vært svært lave i alle utløpene. Dette er også resultater som korrelerer bra med turbiditet og SS-konsentrasjon gjennom hele forsøket. Et unntak forekommer 11.januar hvor en høy BOD₅-måling av C2, ikke samsvarte med turbiditet og SS. Dette var i en periode hvor utstyret som ble brukt til å måle BOD₅ ble vasket for hånd. Trolig skyldes den høye BOD-verdien en utilstrekkelig vasking av tidligere benyttet utstyr. Gjennomsnittlig BOD-verdi fra GW var på 362mg O₂ L⁻¹. Renseevnen i de ulike utløpene og kullkolonnene ble målt til å være 94,7% for BAF, 40,5% for MAP, 55% for BC og 17% for C.



Figur 3-12 BOD₅ målinger fra alle utløpene gjennom hele forsøksperioden

Det ble kun gjennomført én enkelt måling av COD_(f). Dette for å undersøke om COD-målingene samsvarte med BOD-målingene. Testen ble utført med vann fra utløpet til gråvannstanken, BAF-reaktoren og BC2-kolonnen. COD-målingene viste noe høyere verdier enn det BOD₅-målingene skulle tilsi. Det kan skyldes manglende bakterier i prøvevolumet (Ødegaard et al., 2014). Generelt gjennom hele forsøket har mange av BOD-målingene ikke registrert noe oksygenforbruk. At målingene er lave, er det ingen tvil om, men når flestparten av målingene har BOD-verdier på 0, virker det som at BOD har en del svakheter når verdiene blir for lave.



Figur 3-13 Resultater fra den eneste COD(f)-målingen som ble gjennomført.

Mengden COD i gråvannstanken var ved måling 140 O₂ L⁻¹. Dette samsvarer godt med Todt et al. (2015) sine resultater nevnt i kapittel 3.1.1. Det kan også tyde på at BOD₅-resultatene har vært litt ustabile siden disse ligger langt over verdiene som Todt et al. (2015) opererer med. Renseeffekten for COD til BAF og BC2-kolonnen var på henholdsvis 84,4% og 59,9% ved prøvetidspunktet. Dette utgjør en reduksjon i COD på 93,7% fra gråvannstanken til utløpet av BC2-kolonnen.

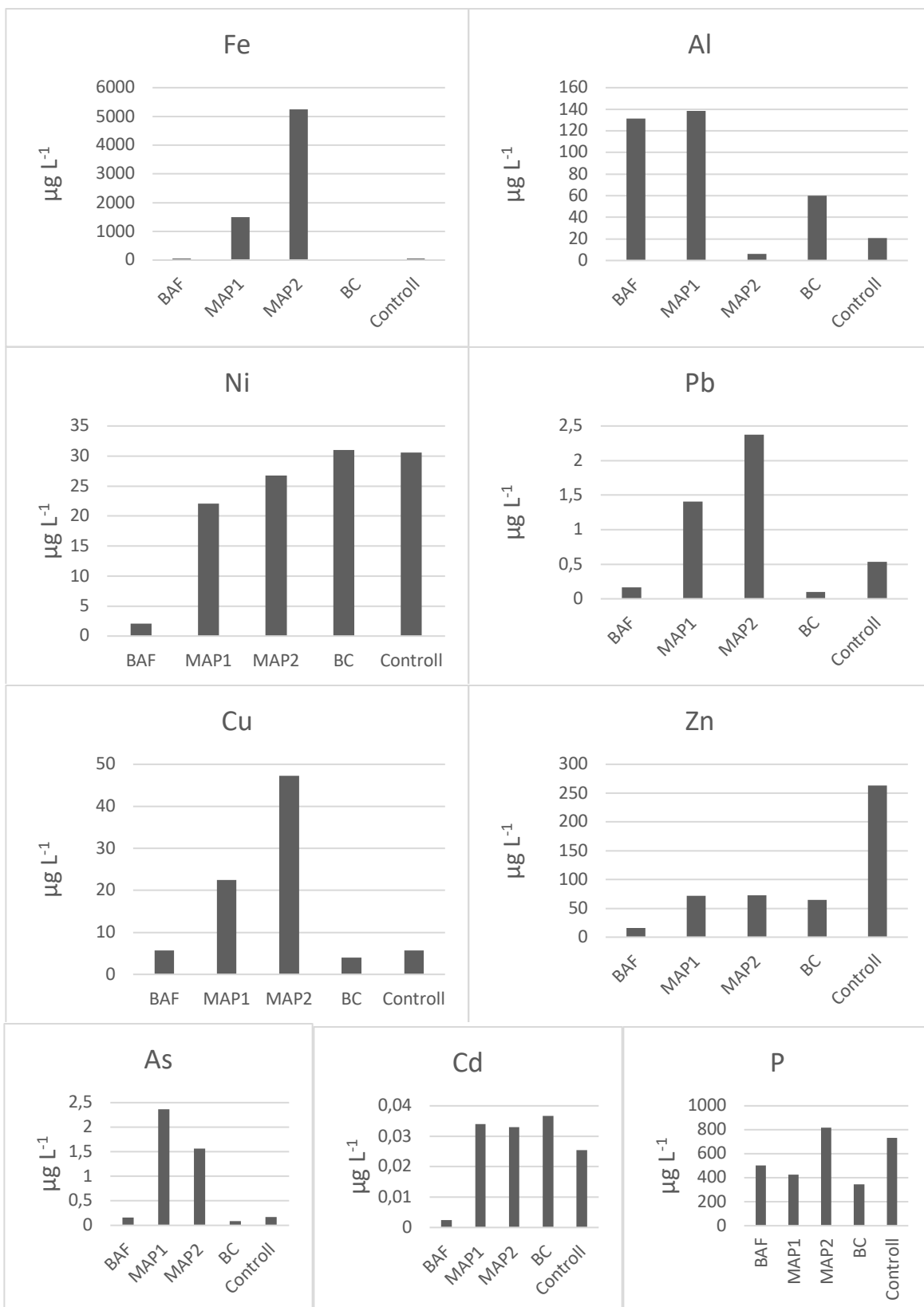
4.2 Metallinnhold (ICP-MS)

I **Tabell 3-9** og **Figur 3-14** vises resultatene fra ICP-MS målingene. Det mest interessante funnet som er relevant til forskningsspørsmålet er innholdet av jern (Fe) i utløpet av MAP1 og MAP2-kolonnene. Mens konsentrasjonen av Fe i utløpet fra kontrollkolonnene og BC-kolonnene er på henholdsvis 46 og 12 μg L⁻¹, er konsentrasjonen i utløpet til MAP1- og MAP2-kolonnen på henholdsvis 1499 og 5250 μg L⁻¹. Dette indikerer at det MAP-biokullet ikke klarer å holde på jernet og at det da blir vasket ut av kolonnene. Dette forklarer økningen i turbiditet og SS, uten at BOD₅ nivåene økte. Spesielt merkbart var dette i MAP2-kolonnen, som skyller ut 250% mer Fe, enn det MAP1 kolonnen gjør, og over 18000 % mer enn de øvrige kolonnene.

Tabell 3-9 Oversikt over innhold av metaller og WHO sine terskelverdier for trygg drikkevannskvalitet. Verdiene oppgitt er i $\mu\text{g L}^{-1}$, (Purushotham et al., 2013; WHO, 2006a)

	BAF	MAP1	MAP2	BC	Kontroll	WHO
Fe	55	1499	5250	11	46	3000
Al	132	139	6	60	21	200
Ni	2	22	27	31	31	70
Pb	0,16	1,41	2,37	0,10	0,53	10
Cu	6	21	47	4	6	2000
Zn	16	72	72	65	263	3000
As	0,16	2,36	1,57	0,08	0,16	10
Cd	0,002	0,034	0,033	0,036	0,025	3

Den eneste terskelverdien som overskrider WHO sine anbefalinger er Fe i utløpet til MAP2-kolonnen.



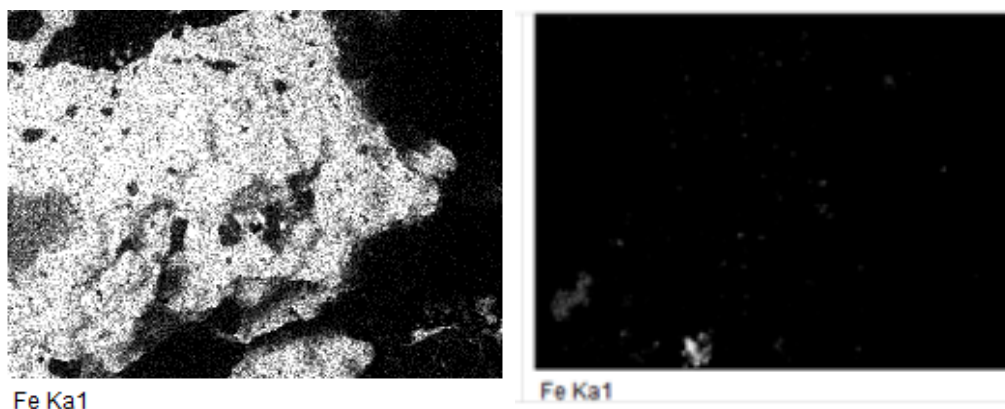
Figur 3-14 Innhold av Fe, Al, Ni og Pb, Cu, Zn, As, Cd og P fra de ulike utløpene under virusfiltreringen.

Av figurene ovenfor ser man tydelig at MAP-kolonnene skiller ut mer metall enn det BC-kolonnene gjør. Det kan tyde på at MAP-kullet har en dårligere evne til å holde på metallet, enn det BC-kullet har, eller at partiet med biorest brukt til pyrolysering av de ulike kullsortene inneholder ulike sammensetninger og mengde metall. Resultatene viser også forskjellene i utvasking fra de de to MAP-kolonnene. Spesielt stor er forskjellen ved utvaskingen av nevnte Fe, men også forskjellen i Al-konsentrasjon i de to utløpene er stor.

Av resultatene legger man også merke til at Zn-konsentrasjonen i utløpet til kontrollkolonnene er vesentlig høyere enn i de øvrige kolonnene. Dette skyldes trolig at oppbevaringstanken er laget av galvanisert stål, som er en elektrolsisk belegging av sink (Ryum & NTNU). En slik forsinking av jern gir en god rustbeskyttelse og er sannsynligvis årsaken til mengden Zn gjennom kontrollkolonnene.

4.3 Metallinnhold (Elektronmikroskopering)

Analysen gjennomført av Melesse Moges viste store forskjeller på innhold av jern ved de to ulike kulltypene. I **Figur 3-15** under ser man tydelig forskjellen i jernnivåer. Jo mer hvitt i bildet, jo mer jern er til stede. Dette støtter ytterligere oppunder funnene fra ICP-MS-målingene. Bilder og tabell med atomisk prosentfordeling for de ulike metallene finnes i Vedlegg A.



Figur 3-15 Jerninnholdet vist ved elektronmikroskopering utført av Melesse Moges. MAP til venstre, BC til høyre. Jo mer hvitt i bilde, jo mer metall til stede ved elektronmikroskoperingen.

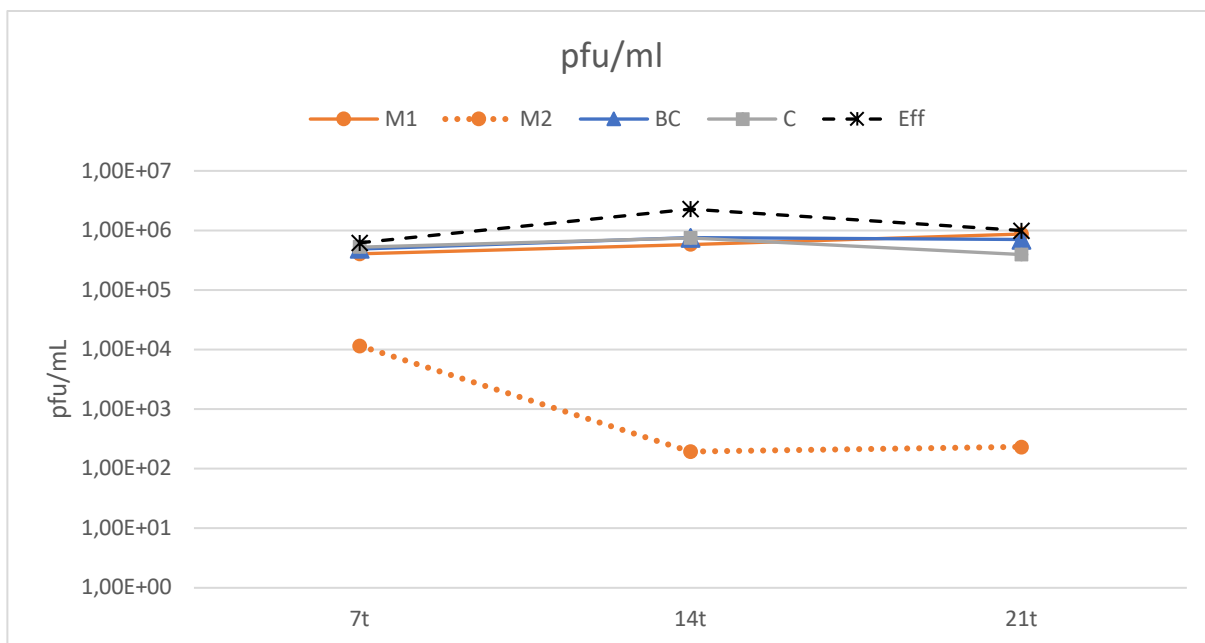
I 2021 undersøke Yuliia Dzihora (2021) biokull fra ulike materialer og biokullprodusenter. Målingene hun gjennomførte for metaller i de ulike biokullene viste at biokull fra Lindum inneholdt større mengder jern sammenlignet med kull fra andre leverandører. Lindum får slam fra ulike renseanlegg rundt Drammen og Oslo. Noen av disse bruker mest sannsynlig en del jernholdige koagulanter. Dette vil også kunne forklare hvorfor jerninnholdet i prøvene er såpass ulik. Bioresten brukt til pyrolyseringen av det konvensjonelle biokullet og MAP-kullet, stammer sannsynligvis fra ulike batcher biorest, og vil derfor har ulik sammensetting.

4.4 Virusfiltrering

I dette kapittelet vil resultatene fra virusfiltreringen bli gjennomgått.

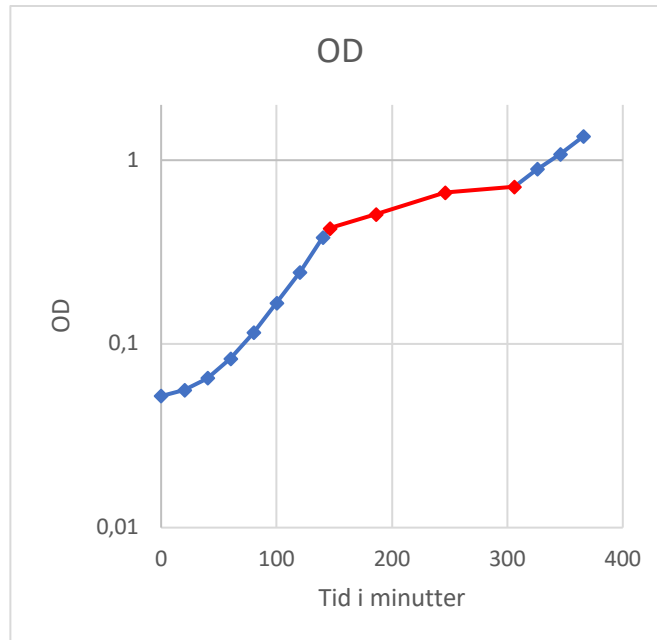
4.4.1 Pfu

Etter kontrollmåling ble det konstatert at viruskonsentrasjonen som ble tilsatt oppbevaringstanken var på $2,4 \cdot 10^9$. Etter tilsetning av 15mL konsentrert virus til den 14L store oppbevaringstanken var dermed mengden *S.t.28b* i vannbeholderen før filtrering på $2,57 \cdot 10^6$. Heldigvis ble det bestemt å kjøre ufortynnede virusprøver. Dette gjorde det mulig å oppdage den effektive virusfjerningen til MAP2-kolonnen. Fra Figur **3-16** under kan man tydelig se reduksjonsforskjellen mellom MAP2-kolonnen og de øvrige. Sett i etterkant av forsøket burde man kjørt en ekstra fortyningsserie for samtlige prøver. Dette fordi fjerningen av *S.t.28b* gjennom flesteparten av prøvene var svak. En ekstra fortyningsserie ville vært med på å minske usikkerheten ved tellingene. Oversikt over resultatene fra virusprøvene finnes i vedlegg G.



Figur 3-16 pfu fra de ulike prøvene ved 7t, 14t og 21t.

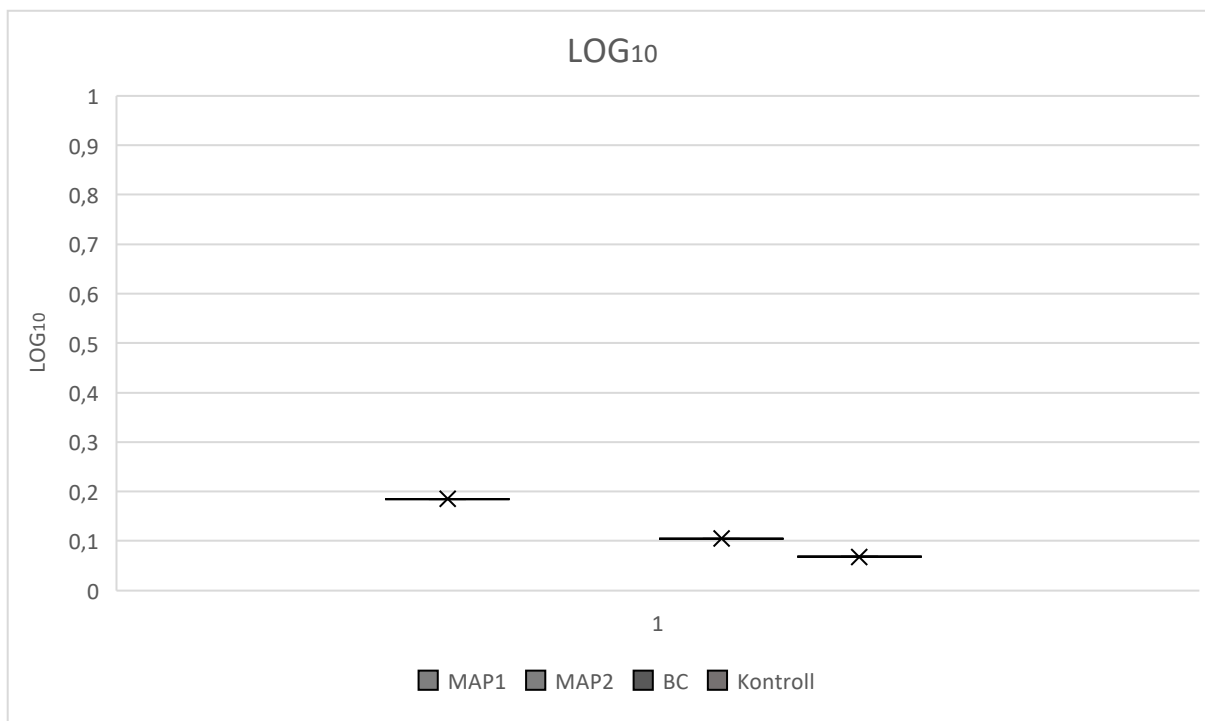
Under blandingen av softagar, bakteriekultur og vannprøvene ble bakteriekulturen satt i romtemperatur uten risting. Prosessen med å støpe de 85 petriskålene med denne blandingen tok i overkant av 4 timer. I løpet av denne tiden fortsatte bakteriene å formere seg, men veksthastigheten avtok som vist av OD-målingene i Figur 3-17. Siden bakteriekulturens veksthastighet avtok med tiden, kan dette ha påvirket antall plakk på petriskålene mot slutten av støpeprosessen. Det ble derfor gjennomført et forsøk hvor en fortyningsserie med virus ble støpt med fersk bakteriekultur, en bakteriekultur som hadde stått på benk i 4 timer, samt en bakteriekultur som hadde stått over natten. Resultatet viste at viruskonsentrasjonen etter fire timer sank med $0,2\log_{10}$, og $0,6\log_{10}$ ved bruk av bakteriekulturen som sto over natten. Dette burde undersøkes mer. Og ved støping av flere petriskåler hvor tidsbruken strekker seg over en time, bør man vurdere å ha flere ferske bakteriekulturer tilgjengelig, hvor alle kulturene blir benyttet ved samme OD og veksthastighet.



Figur 3-17 OD av bakteriekulturen under støpingen av virus og vertsbakterier på petriskåler. (Rødt indikerer tidsrommet bakteriekulturen sto romtemperert uten omrøring)

4.4.2 Log₁₀-reduksjon

Ved å benytte formel (6) og ta et gjennomsnitt med formel (7) , får vi en gjennomsnittlig log₁₀ reduksjon gjennom systemene. Målt viruskonsentrasjon i utløpet som ikke gikk gjennom kolonnene, men kun gjennom pumpen og slanger viste en 0,3LOG₁₀ reduksjon. De øvrige utregningene vil C₀ være konsentrasjonen fra utløpet til systemet, og ikke konsentrasjonen i selve oppbevaringstanken. Dette fordi man da får et tall på hvor god renseeffekt selve kullkolonnene har, og ikke hvor stor renseeffekt alle de andre komponentene i oppsettet har. Bortsett fra MAP2-kolonnen var LOG₁₀ reduksjonen gjennom de ulike kolonnene på om lag 0,3LOG₁₀, noe som kan sies å være neglisjerbart, og ikke tilstrekkelig til bruk for virusfjerning. Reduksjonen gjennom MAP2-kolonnen hadde et gjennomsnitt på 3,1LOG₁₀, og kan sies å være betydelig. Tar man kun med de to siste målingene etter 14 og 21timer, er gjennomsnittlig virusreduksjon 3,9LOG₁₀ for MAP2-kolonnen.



Figur 3-18 LOG₁₀ reduksjon gjennom kolonnene.

Basert på resultater fra SS, BOD₅, turbiditet og elementanalysene tyder det meste på at det er jernoksider fra biokullet som har bundet seg til virus ved adsorpsjon. Sannsynligvis er *S.t.28b* adsorbent på grunn av elektrostatiske interaksjoner mellom positivt ladde jernoksider og negativt ladde viruspartikler. Det finnes flere studier som har vist at det forekommer adsorpsjon og inaktivering av virus med jernoksider (Bradley, Straub, Maraccini, Markazi, & Nguyen, 2011; Gutierrez et al., 2009; Sagripanti, Routson, & Lytle, 1993)

Undersøkelsen til Bradley et al. (2011), som tilsatte jernoksider gjennom et biosandfilter fikk lignende resultater som dette forsøket. Testene ble utført med bruk av kontinuerlig strømning gjennom småskala glasskolonner. Dette viste en høy MS2-bakteriofagfjerning i en jernomdannet sandkolonne (5log₁₀ reduksjon), sammenlignet med en kolonne kun med sand (0,5log₁₀).

4.5 Biofilmvekst på rørmaterialer

Det ble dessverre ikke mulig å gjennomføre en nøyaktig måling av biofilmvekst på innsiden av de ulike rørmaterialene. Oppdelingen av rørene førte til for mye plast-støv som ville gjort målingene for unøyaktig. Se bilder i Vedlegg E.

Rørene burde vært ferdigkappet, tørket og veid før prosessen begynte, slik at man kunne tørket rørene på nytt etter at forsøket var over. På den måten kunne man hatt et mer nøyaktig mål på biofilmveksten pr. cm^2 .

Hypotesen var at det skulle vokse biofilm i størrelsesorden $\text{PVC} > \text{PE} > \text{CPVC}$ i de ulike rørene og på den måten konkludere med at CPVC er et bedre materiale enn PVC og PE for å unngå biofilm på innsiden av rørmaterialer. Denne hypotesen var blant annet støttet av forskningen til Learbuch et al. (2021). Dette er et felt som virkelig hadde vært interessant å studere nærmere under mer kontrollerte og gjennomtenkte omstendigheter.

4.6 Rensekapasitet BAF

Noe av det siste som ble gjennomført i dette forsøket var å undersøke hvor stor renskapasitet BAF-reaktoren hadde. Etter om lag én måned (1100L) i drift hadde BAF-reaktoren en periode hvor den stabilt leverte høy renseseffekt i to uker (460L), før effekten gradvis avtok. Etter 72 dager (2400L) ble bæremidiet i reaktoren kraftig omrørt ved hjelp av lufting. Målinger fra utløpet på dette tidspunktet viste en SS-konsentrasjon på 4470 ml L^{-1} . Det tilsvarer totalt 241,4g SS i hele den 54 liter store BAF-reaktoren. Med gjennomsnittlig SS fra gråvannstanken på $232,6 \text{ mg L}^{-1}$, utgjør det en renskapasitet for BAF-reaktoren på like i overkant av 1m^3 . Det tilsvarer 31 dager i drift med jevn og god filtrering. Målingene av vannkvaliteten ut av BAF-reaktoren i dette forsøket har vist at reaktoren kan ha stabil og god renseseffekt i en måneds tid. Hvis man i videre forsøk kan finne best mulig tilbakespylingsprosess av reaktoren, slik at den kan starte med optimal rensing direkte etter vasking, vil dette kunne være en stabil og effektiv forbehandlingsenhet for rensing av gråvann. Når man i dette forsøket utelukkende benyttet seg av lufting for omrøring, og ikke kjørte en utvasking av akkumulert biofilm, hadde ikke BAF-

reaktoren en god renseevne i etterkant. Målinger to dager etter lufting viste en SS-konsentrasjon på hele 377mg L⁻¹. Bilder av filtermediene gjennom ulike datoer i forsøket finnes i Vedlegg F.

4.7 Vannkvalitet

EU sine forslag til minimumskrav som gjelder for gjenvunnet vann beregnet på landbruksvanning vil tre i kraft 26.juni 2023, og er ment som en oppmuntring til å benytte seg av gjenbruk av vann innad i EU (EC, 2023). I Tabell 3-10 er det listet opp kravene som gjelder for den strengeste klassen. I denne klassen omhandler det vannkvaliteten som benyttes ved vanning av alle matvekster som er konsumert rå, hvor den spiselige delen er i direkte kontakt med gjenvunnet vann.

I den kanadiske veilederen for gjenvunnet vann til bruk i toalett og urinalspyling opererer de med tilsvarende vannkvaliteter som EU sine forslag beregnet til landbruksvanning (Health Canada, 2010). I tillegg påpeker kanadierne at velfungerende renseløsninger bør være i stand til å redusere mengden termotolerante koliforme bakterier og *E. coli* til uopdagelige nivåer. Det påpekes likevel at selv de mest sofistikerte rensenanleggene ikke kan garantere en vannforsyning fri for patogene mikroorganismer til enhver tid. Derfor er det akseptabelt med en maksimal konsentrasjon av *E. coli* på 2000 cfu L⁻¹ under gitte forutsetninger. Den kanadiske veilederen påpeker også at det skal brukes klor som et sekundært middel for desinfeksjon ved lagring og distribusjon av gjenvunnet gråvann gjennom rørsystemer.

Tabell 3-10 EU sine strengeste krav (Klasse A) til rensset gråvann for bruk til vanning av alle matvekster (EUR-Lex, 2020).

Kvalitetsparametere				
<i>E. coli</i> (antall L ⁻¹)	BOD ₅ mg L ⁻¹	TSS mg L ⁻¹	Turbiditet (NTU)	<i>Legionella spp.</i> cfu L ⁻¹
≤100	≤10	≤10	≤5	<1.000 når det er en risiko for aerosolisering

Vannkvaliteten levert ved utløpet av BAF-reaktoren har i en periode på to uker vært godt innenfor kravene for BOD₅, TSS og turbiditet. En ytterlig forbedring gjennom kullkolonnene viser at dette er et system som absolutt er i stand til å levere gode vannkvaliteter for gjenbruk av gråvann. Selv om ikke *Legionella spp.* og *E. coli* har blitt brukt som indikatororganismer i dette forsøket, viser resultatet fra MAP2-kolonnen, som har en evne til å redusere viruskonsentrasjon med opp til 4log, at dette er en løsning som kan fungere som en hygienebarriere for mikroorganismer, og dermed innfri kravene satt i EUs og den kanadiske veilederen. Likevel er ikke denne løsningen for virusfjerning helt problemfri. Dette er diskutert videre i Kapittel 5.

5 Diskusjon og videre arbeid

Forsøket viser at det er mulig å benytte jernholdig biokull som en hygienebarriere for fjerning av patogene mikroorganismer under gunstige forhold. Når disse gunstige forholdene inntreffer, vil biokullet brukt i dette forsøket kunne ha opp mot 4log reduksjon av virus. Det har likevel vist at det ikke er like enkelt å vite når disse gunstige forholdene inntreffer. Elementanalysen viser at den høye virusreduksjonen har inntruffet når det frigjorte jernet fra biokullet ligger en plass mellom 1500-5200 $\mu\text{g L}^{-1}$. MAP1-kolonnen som også skilte ut en hel del jern, hadde ikke samme renseseffekt på *S.t.28b*-virusene som MAP2-kolonnen. Siden begge kolonnen var fylt med det samme biokullet fra det samme partiet, vil det være naturlig å tenke at det er forskjellen i utfelt jern som er årsaken til forskjellen i virusreduksjon. Hva som er årsaken til at MAP2-kolonnen felte ut mer jern enn MAP1-kolonnen er derfor uvisst og skyldes sannsynligvis kun tilfeldigheter og flaks.

Jerninnholdet i biorest vil variere, noe dette forsøket er et godt eksempel på. All biorest kommer fra samme anlegg, og selv to kulltyper fra samme parti har hatt betydelige forskjeller i renseseffekt. Av **Tabell 3-5** ser man at MAP-biokull har lavere egenvekt enn BC-biokull. Lavere vekt betyr økt porevolum og overflate eksponert for vann. At densiteten i MAP-kullet er lavere, og dermed mindre tettpakket kan også være en av årsakene til at denne kulltypen skilte ut mer metall enn BC-kullet. Selv om det har blitt bevist at høye konsentrasjoner av jernoksider i biokull har en god renseseffekt ovenfor virus, kan man likevel ikke tillate å frigjøre store mengder jern gjennom utløpet. Jern og andre mikronæringsstoffer er viktige grunnstoffer for at en plante skal kunne vokse, men for høye konsentrasjoner av disse metallene kan være giftig (UiO, 2020). Man må derfor finne jernholdig biokull som er i stand til å holde på jernet, slik at mikroorganismer og andre metaller ikke blir med gjennom utløpet.

Jernholdig biokull innebærer at rensaneanleggene hvor bioresten stammer fra benytter seg av jernholdige koaguleringsalter. Disse saltene bidrar blant annet til utfelling av jernbundet fosfor som beskrevet i kapittel 2.5.2. På sikt vil ikke en slik rensesprosess være gunstig i et miljø- og

sirkulærøkonomisk perspektiv. Metallbundet fosfor er mindre plantetilgjengelig, og utslipp av metaller i naturen fører til en akkumulering som kan være giftig (Bøen, 2010).

Det er derfor mer gunstig å benytte seg av biologiske renseprosesser for å bedre miljøet og den sirkulære økonomien. Men så lenge metallholdige koagulanter er brukt til vannrensing, vil det være bra å bruke dette slammet til produksjon av biogass. Bioresten som er til overs etter denne produksjonen kan benyttes til dannelsen av biokull til rensing av blant annet gråvann. MAP har i dette forsøket vist seg å være litt mer ustabil enn det konvensjonelt pyrolyserte biokullet. Hvis man får til et mer stabilt produkt ved MAP, som kan levere jevn kvalitet, tyder dette forsøket på at MAP-biokull har potensialet til å bli et meget godt produkt for fjerning av mikroorganismer fra forbehandlet gråvann. Sett i lys av at MAP er en enda mer energieffektiv pyrolysemetode enn konvensjonell pyrolysering (Kostas et al., 2020; Selvam S & Paramasivan, 2022), kan økt forskning og optimalisering av MAP-biokull være en vei å gå for å bedre miljøet og vannkvaliteten i verden.

6 Konklusjon

Forsøket viser at det er mulig å benytte jernholdig MAP-biokull som en hygienebarriere for fjerning av patogene mikroorganismer under gunstige forhold. Når disse gunstige forholdene inntreffer ($\text{Fe}_{(\text{aq})} = 5200 \text{ mg L}^{-1}$) har dette forsøket vist at MAP-biokull kan ha opp mot 4LOG_{10} reduksjon av virus. Det er likevel ikke enkelt å vite når disse gunstige forholdene inntreffer. Jerninnholdet i biorest vil variere og man må derfor forske videre på hvordan man skal finne stabile produksjonsmetoder for biokull med høye jernverdier. Biokull som ikke hadde høy utfelling av jern ($\text{Fe}_{(\text{aq})} < 1500 \text{ mg L}^{-1}$) hadde neglisjerbar reduksjon i viruskonsentrasjonen etter filtrering ($0,3\text{LOG}_{10}$).

Forsøket har også vist at biologisk rensing av gråvann kan levere vannkvaliteter som oppfyller EUs minimumskrav til BOD, turbiditet og SS, for gjenbruk av gråvann til landbruksvanning.

7 Litteraturliste

- Agilent, T. (2015). Agilent 8800 Triple Quadrupole ICP-MS In.
- Albrechtsen, H.-J. (2002). Microbiological Investigation of Rainwater and Greywater Collected for Toilet Flushing. *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research*, 46, 311-316. doi:10.2166/wst.2002.0694
- Alhashimi, H. A., & Aktas, C. B. (2017). Life cycle environmental and economic performance of biochar compared with activated carbon: A meta-analysis. *Resources, conservation and recycling*, 118, 13-26. doi:10.1016/j.resconrec.2016.11.016
- Allestam, G., & Carlander, A. (2000). Bacteriophages as tracers and hygiene indicator - Laboratory Manual. In S. I. f. I. D. Control (Ed.). Solna, Sweden: Swedish Institute for Infectious Disease Control.
- American Public Health, A., Water Environment, F., & American Water Works, A. (2005). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (21st ed. ed.). Washington: American Public Health Association.
- Ayuso-Gabella, N., Page, D., Masciopinto, C., Aharoni, A., Salgot, M., & Wintgens, T. (2011). Quantifying the effect of Managed Aquifer Recharge on the microbiological human health risks of irrigating crops with recycled water. *Agricultural water management*, 99(1), 93-102. doi:10.1016/j.agwat.2011.07.014
- Berg, G. (1973). Removal of viruses from sewage, effluents, and waters. I. A review. *Bull World Health Organ*, 49(5), 451-460.
- Bimová, P., Roupcová, P., Klouda, K., Matějová, L., Staňová, A. V., Grabicová, K., . . . Mackuľak, T. (2021). Biochar – An efficient sorption material for the removal of pharmaceutically active compounds, DNA and RNA fragments from wastewater. *Journal of environmental chemical engineering*, 9(4), 105746. doi:10.1016/j.jece.2021.105746
- Blumenthal, U. J., Mara, D. D., Peasey, A., Ruiz-Palacios, G., & Stott, R. (2000). Guidelines for the microbiological quality of treated wastewater used in agriculture: recommendations for revising WHO guidelines. *Bull World Health Organ*, 78(9), 1104-1116.
- Bolster, C. H., & Abit, S. M. (2012). Biochar Pyrolyzed at Two Temperatures Affects Escherichia coli Transport through a Sandy Soil. *J Environ Qual*, 41(1), 124-133. doi:10.2134/jeq2011.0207
- Bradley, I., Straub, A., Maraccini, P., Markazi, S., & Nguyen, T. H. (2011). Iron oxide amended biosand filters for virus removal. *Water Res*, 45(15), 4501-4510. doi:10.1016/j.watres.2011.05.045
- Brown, S. P., Cornforth, D. M., & Mideo, N. (2014). Evolution of virulence in opportunistic pathogens: generalism, plasticity, and control. *Trends Microbiol*, 20(7), 336-342. doi:10.1016/j.tim.2012.04.005
- Bøen, A. (2010). *Fosfor i avløpsslam - fraksjonering og plantetilgjengelighet* (2110170). Retrieved from <https://core.ac.uk/download/pdf/285988264.pdf>
- Carlander, A., Aronsson, P., Allestam, G., Stenstroem, T. A., & Perttu, K. (2000). *Transport and retention of bacteriophages in two types of willow-cropped lysimeters* (Vol. A35).

- Carlander, A., Aronsson, P., Allestam, G., Stenström, 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. doi:10.1080/10934520009377048
- Chen, X., Chen, G., Chen, L., Chen, Y., Lehmann, J., McBride, M. B., & Hay, A. G. (2011). Adsorption of copper and zinc by biochars produced from pyrolysis of hardwood and corn straw in aqueous solution. *Bioresour Technol*, 102(19), 8877-8884. doi:10.1016/j.biortech.2011.06.078
- Christensen, S. C. B., Nissen, E., Arvin, E., & Albrechtsen, H.-J. (2011). Distribution of *Asellus aquaticus* and microinvertebrates in a non-chlorinated drinking water supply system – Effects of pipe material and sedimentation. *Water Res*, 45(10), 3215-3224. doi:10.1016/j.watres.2011.03.039
- Dalahmeh, S. S., Lalander, C., Pell, M., Vinnerås, B., & Jönsson, H. (2016). Quality of greywater treated in biochar filter and risk assessment of gastroenteritis due to household exposure during maintenance and irrigation. *J Appl Microbiol*, 121(5), 1427-1443. doi:10.1111/jam.13273
- Dannevig, P., & Pedersen, B. (2023). luft i Store norske leksikon på snl.no. Retrieved from <https://snl.no/luft>
- Dong, Q., & Xiong, Y. (2014). Kinetics study on conventional and microwave pyrolysis of moso bamboo. *Bioresour Technol*, 171, 127-131. doi:10.1016/j.biortech.2014.08.063
- Dzihora, Y. (2021). *Biochar from organic waste : characterization and use*. Norwegian University of Life Sciences, Ås,
- EC, E. C. (2023). Water reuse - Regulation on minimum requirements for water reuse. *Environment*. Retrieved from <https://ec.europa.eu/environment/water/reuse.htm>
- Edberg, S. C., Rice, E. W., Karlin, R. J., & Allen, M. J. (2000). *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of applied microbiology*, 88(S1), 106S-116S. doi:10.1111/j.1365-2672.2000.tb05338.x
- Eikebrokk, B., Kvitsand, H. M. L., Tinmannsvik, R. K., Antonsen, S., Gjerstad, K. O., Bruaset, S., . . . Aalberg, A. L. (2021). *Uavhengig gransking av hendelse ved Kleppe vannverk 2019*. Retrieved from
- Endo, T., Kimura, O., Hisamichi, Y., Minoshima, Y., & Haraguchi, K. (2007). Age-dependent accumulation of heavy metals in a pod of killer whales (*Orcinus orca*) stranded in the northern area of Japan. *Chemosphere*, 67(1), 51-59. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.09.086
- Environment Agency. (2002). *The Microbiology of Drinking Water (2002) - Part 1 - Water Quality and Public Health - Methods for the Examination of Water and Associated Materials*. Retrieved from Bristol, UK: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/755608/mdwpart1.pdf
- eppendorf. (2023). Centrifuge 5702/ 5702 R/5702 RH - Low-Speed Centrifuge. Retrieved from <https://www.eppendorf.com/no-en/eShop-Products/Centrifugation/Multipurpose-Centrifuges/Centrifuge-5702-5702R-5702RH-p-PF-240992>

- Eregno, F., Eshetu Moges, M., & Heistad, A. (2017). Treated greywater reuse for hydroponic lettuce production in a green wall system: Quantitative health risk assessment. doi:<https://doi.org/10.3390/w9070454>
- Eregno, F. E., Tryland, I., Tjomsland, T., Myrmel, M., Robertson, L., & Heistad, A. (2016). Quantitative microbial risk assessment combined with hydrodynamic modelling to estimate the public health risk associated with bathing after rainfall events. *Sci Total Environ*, 548-549, 270-279. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.01.034
- Eriksson, E., Auffarth, K., Henze, M., & Ledin, A. (2002). Characteristics of grey wastewater. *Urban water*, 4(1), 85-104. doi:10.1016/S1462-0758(01)00064-4
- Eshetu, M., Eregno, F. E., & Heistad, A. (2015). Performance of biochar and filtralite as polishing step for on-site greywater treatment plant. *Management of Environmental Quality An International Journal*, 26. doi:10.1108/MEQ-07-2014-0101
- Eshetu Moges, M., Heistad, A., & Heidorn, T. (2020). Nutrient Recovery from Anaerobically Treated Blackwater and Improving Its Effluent Quality through Microalgae Biomass Production. doi:<https://doi.org/10.3390/w12020592>
- EUR-Lex. (1986). Council Directive 86/278/EEC of 12 June 1986 on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A31986L0278>
- EUR-Lex. (2020). Regulation (EU) 2020/741 of the European Parliament and of the Council of 25 May 2020 on minimum requirements for water reuse *Document 32020R0741*. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32020R0741>
- European Commission. (2022). Questions and Answers on the new EU rules on treating urban wastewater. *Questions and answers*. Retrieved from https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/QANDA_22_6281
- Evisa. (2012). Instrument Database:
Carl Zeiss AG - EVO® 50 Series. Retrieved from <https://speciation.net/Database/Instruments/Carl-Zeiss-AG/EVO-50-Series-;i663>
- FHI, F. (2018a). Bakterier i drikkevann. Retrieved from <https://www.fhi.no/nettpub/stoffer-i-drikkevann/smittestoffer-i-drikkevann/bakterier-i-drikkevann/?term=&h=1>
- FHI, F. (2018b). Virus i drikkevann. Retrieved from <https://www.fhi.no/nettpub/stoffer-i-drikkevann/smittestoffer-i-drikkevann/virus-i-drikkevann/?term=&h=1>
- FHI, F. (2022). Om stoffer i drikkevann. Retrieved from <https://www.fhi.no/nettpub/stoffer-i-drikkevann/om-stoffer-i-drikkevann/om-stoffer-i-drikkevann/?term=&h=1#referanser>
- Forurensningsforskriften. (2004). Forskrift om begrenning av forurensning (forurensningsforskriften)
- Del 4. Avløp. Retrieved from https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2004-06-01-931/KAPITTEL_4#KAPITTEL_4
- Friborg, T. (2015). *Inaktivering av virus ved pasteurisering av svartvann fra Røde Kors' feltsykehus*. Norwegian University of Life Science, Ås,
- Gates, C. (2023). Plastic Hose Connectors - 28562 1/8" STRAIGHT CONNECTOR. Retrieved from <https://www.gates.com/gb/en/fluid-power/engine-hose/coolant-hose.p.7315-000000-000000.v.7315-00862.html>
- greiner, B.-O. (2023). TUBE, 15 ML, PP, 17/120 MM, CONICAL BOTTOM,

- CELLSTAR®, BLUE SCREW CAP, NATURAL, GRADUATED, WRITING AREA, STERILE, 100 PCS./BAG. Retrieved from <https://shop.gbo.com/en/row/products/bioscience/covid-19/covid-19-tc-tubes-15/188271.html>
- Guan, P., Prasher, S. O., Afzal, M. T., George, S., Ronholm, J., Dhiman, J., & Patel, R. M. (2020). Removal of Escherichia coli from lake water in a biochar-amended biosand filtering system. *Ecological engineering*, 150, 105819. doi:10.1016/j.ecoleng.2020.105819
- Gutierrez, L., Li, X., Wang, J., Nangmenyi, G., Economy, J., Kuhlenschmidt, T. B., . . . Nguyen, T. H. (2009). Adsorption of rotavirus and bacteriophage MS2 using glass fiber coated with hematite nanoparticles. *Water Res*, 43(20), 5198-5208. doi:10.1016/j.watres.2009.08.031
- Hach. (2019a). LCK 314
Chemical Oxygen Demand (COD).
- Hach. (2019b). LCK 514
Chemical Oxygen Demand (COD).
- Hach. (2021). LT200 Dry thermostat with 1 block, 9 x 13 mm / 2 x 20 mm. Retrieved from <https://uk.hach.com/lt200-dry-thermostat-with-1-block-9-x-13-mm-2-x-20-mm/product?id=26370704405>
- Hach. (2023a). 2100N Laboratory Turbidimeter, EPA 180.1, 230V. Retrieved from <https://ie.hach.com/2100n-laboratory-turbidimeter-epa-180-1-230v/product?id=24929490772>
- Hach. (2023b). DR3900 Laboratory VIS Spectrophotometer with RFID* Technology. Retrieved from <https://www.hach.com/p-dr3900-laboratory-vis-spectrophotometer-with-rfid-technology/LPV440.99.00012#specifications>
- Haller, L., Poté, J., Loizeau, J.-L., & Wildi, W. (2009). Distribution and survival of faecal indicator bacteria in the sediments of the Bay of Vidy, Lake Geneva, Switzerland. *Ecological indicators*, 9(3), 540-547. doi:10.1016/j.ecolind.2008.08.001
- Han, Y., Boateng, A. A., Qi, P. X., Lima, I. M., & Chang, J. (2013). Heavy metal and phenol adsorptive properties of biochars from pyrolyzed switchgrass and woody biomass in correlation with surface properties. *J Environ Manage*, 118, 196-204. doi:10.1016/j.jenvman.2013.01.001
- Has-Schön, E., Bogut, I., Vuković, R., Galović, D., Bogut, A., & Horvatić, J. (2015). Distribution and age-related bioaccumulation of lead (Pb), mercury (Hg), cadmium (Cd), and arsenic (As) in tissues of common carp (*Cyprinus carpio*) and European catfish (*Sylurus glanis*) from the Buško Blato reservoir (Bosnia and Herzegovina). *Chemosphere*, 135, 289-296. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.04.015
- Health Canada, W. G. o. D. R. W. o. t. (2010). *Canadian guidelines for Domestic Reclaimed Water for Use in Toilet and Urinal Flushing*. Retrieved from Ottawa, Ontario, Canada:
- Heidary Rad, L. (2014). Removal of Salmonella Typhimurium phage 28B by Nanoscale zero-valent iron (nZVI) from water. In: Norwegian University of Life Sciences, Ås.
- Heistad, A. (2008). *Small scale wastewater treatment : design optimization, reduction efficiency and risk prediction = Behandling av avløpsvann i småskala anlegg : design-optimalisering, renseeffektivitet og prediksjon av risiko*. (2008:50). Department of Mathematical Sciences and Technology, Norwegian University of Life Sciences, Ås.

- Hertel, S., Navarro, P., Deegener, S., & Körner, I. (2015). Biogas and nutrients from blackwater, lawn cuttings and grease trap residues—experiments for Hamburg’s Jenfelder Au district. *Energy, sustainability and society*, 5(1), 1-17. doi:10.1186/s13705-015-0057-5
- Humeau, P., Hourlier, F., Bulteau, G., Massé, A., Jaouen, P., Gérente, C., . . . Le Cloirec, P. (2011). Estimated costs of implementation of membrane processes for on-site greywater recycling. *Water Sci Technol*, 63(12), 2949-2956. doi:10.2166/wst.2011.617
- Hyllestad, S., Iversen, A., MacDonald, E., Amato, E., Borge, B. Å. S., Bøe, A., . . . Vold, L. (2020). Large waterborne *Campylobacter* outbreak: use of multiple approaches to investigate contamination of the drinking water supply system, Norway, June 2019. *Euro Surveill*, 25(35). doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.35.2000011
- Haas, C. N., Rose, J. B., & Gerba, C. P. (1999). *Quantitative microbial risk assessment*. New York: Wiley.
- Inorganic Ventures. (2022). *Multi Analyte Custom Grade Solution - IV-ICPMS-71D - Certificate of Analysis*. Retrieved from: https://www.inorganicventures.com/coa/Letterhead/IV/IV-ICPMS-71D_P2-MEB688155.pdf
- Inyang, M., Gao, B., Yao, Y., Xue, Y., Zimmerman, A. R., Pullammanappallil, P., & Cao, X. (2012). Removal of heavy metals from aqueous solution by biochars derived from anaerobically digested biomass. *Bioresour Technol*, 110, 50-56. doi:10.1016/j.biortech.2012.01.072
- Jiang, T.-Y., Jiang, J., Xu, R.-K., & Li, Z. (2012). Adsorption of Pb(II) on variable charge soils amended with rice-straw derived biochar. *Chemosphere*, 89(3), 249-256. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.04.028
- Jin, Y., Chu, Y., & Li, Y. (2000). Virus removal and transport in saturated and unsaturated sand columns. *Journal of contaminant hydrology*, 43(2), 111-128. doi:10.1016/S0169-7722(00)00084-X
- Kalheim, F. C. (2022). *Evaluation of sludge biochar for removal of PPCPs in treated greywater*. (Master). Norwegian University of Life Sciences, Ås.
- Kelessidis, A., & Stasinakis, A. S. (2012). Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. *Waste Manag*, 32(6), 1186-1195. doi:10.1016/j.wasman.2012.01.012
- Kostas, E. T., Durán-Jiménez, G., Shepherd, B. J., Meredith, W., Stevens, L. A., Williams, O. S. A., . . . Robinson, J. P. (2020). Microwave pyrolysis of olive pomace for bio-oil and biochar production. *Chemical Engineering Journal*, 387, 123404. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123404>
- Kranner, B. P., Afrooz, A. R. M. N., Fitzgerald, N. J. M., & Boehm, A. B. (2019). Fecal indicator bacteria and virus removal in stormwater biofilters: Effects of biochar, media saturation, and field conditioning. *PLoS One*, 14(9), e0222719-e0222719. doi:10.1371/journal.pone.0222719
- Kümmerer, K., Dionysiou, D. D., Olsson, O., & Fatta-Kassinos, D. (2018). A path to clean water. *Science*, 361(6399), 222-224. doi:10.1126/science.aau2405
- Larsen, T., & Maurer, M. (2011). Source Separation and Decentralization. In (Vol. 4, pp. 203-229).
- Learbuch, K. L. G., Smidt, H., & van der Wielen, P. W. J. J. (2021). Influence of pipe materials on the microbial community in unchlorinated drinking water and biofilm. *Water Res*, 194, 116922-116922. doi:10.1016/j.watres.2021.116922

- Lee, J. W., Lee, C. K., Moon, C. S., Choi, I. J., Lee, K. J., Yi, S.-M., . . . Lee, J. H. (2012). Korea National Survey for Environmental Pollutants in the Human Body 2008: Heavy metals in the blood or urine of the Korean population. *Int J Hyg Environ Health*, 215(4), 449-457. doi:10.1016/j.ijheh.2012.01.002
- Li, S., Harris, S., Anandhi, A., & Chen, G. (2019). Predicting biochar properties and functions based on feedstock and pyrolysis temperature: A review and data syntheses. *Journal of cleaner production*, 215, 890-902. doi:10.1016/j.jclepro.2019.01.106
- Li, X. J., & Zhou, Y. (2013). *Microfluidic devices for biomedical applications*(Vol. number 61).
- Lilleengen, K. (1948). *Typing of Salmonella Typhi Murium by Means of Bacteriophage: An Experimental Bacteriologic Study*.
- Lovibond. (2022). *Nitrification inhibitor - Safety data sheet according to 1907/2006/EC, Article 31*. Retrieved from: [https://www.lovibond.com/ix_pim_assets/Wasseranalytik/SDS/424372/424372_Nitrification_Inhibitor_B_\(GB\).pdf](https://www.lovibond.com/ix_pim_assets/Wasseranalytik/SDS/424372/424372_Nitrification_Inhibitor_B_(GB).pdf)
- McConville, J. R., Kvarnström, E., Jönsson, H., Kärrman, E., & Johansson, M. (2017). Source separation: Challenges & opportunities for transition in the swedish wastewater sector. *Resources, conservation and recycling*, 120, 144-156. doi:10.1016/j.resconrec.2016.12.004
- Meinzing, F., & Oldenburg, M. (2009). Characteristics of source-separated household wastewater flows: a statistical assessment. *Water Sci Technol*, 59(9), 1785-1791. doi:10.2166/wst.2009.185
- Merck, K. (2022). Whatman 1822-047 Whatman® glass microfiber filters, binder free, Grade GF/C. Retrieved from <https://www.sigmaaldrich.com/NO/en/product/aldrich/wha1822047>
- Merck, K. (2023a). *Safety Data Sheet for Nutrient broth 105443*. Retrieved from: https://www.merckmillipore.com/NO/en/product/msds/MDA_CHEM-105443?Origin=PDP
- Merck, K. (2023b). *Safety Data Sheet for Yeast extract granulated 103753*. Retrieved from https://www.merckmillipore.com/NO/en/product/msds/MDA_CHEM-103753?Origin=PDP
- Moges, M. E. (2019). *Source-separation and on-site wastewater treatment : a combined treatment and resource recovery facility towards a circular economy*. Norwegian University of Life Sciences, Ås,
- Mohamed, S. (2015). Biological and Chemical Wastewater Treatment Processes. In S. Mohamed (Ed.), *Wastewater Treatment Engineering* (pp. Ch. 1). Rijeka: IntechOpen.
- Mohanty, S. K., Cantrell, K. B., Nelson, K. L., & Boehm, A. B. (2014). Efficacy of biochar to remove Escherichia coli from stormwater under steady and intermittent flow. *Water Res*, 61, 288-296. doi:10.1016/j.watres.2014.05.026
- Moineau, S. (2013). Bacteriophage. 280-283. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00131-5>
- Motasemi, F., & Afzal, M. T. (2013). A review on the microwave-assisted pyrolysis technique. *Renewable & sustainable energy reviews*, 28, 317-330. doi:10.1016/j.rser.2013.08.008

- Mulamattathil, S. G., Bezuidenhout, C., & Mbewe, M. (2014). Biofilm formation in surface and drinking water distribution systems in Mafikeng, South Africa. *South African Journal of Science*, 110(11/12), 1-9. doi:10.1590/sajs.2014/20130306
- Norton, C. D., & Lechevallier, M. W. (2000). A Pilot Study of Bacteriological Population Changes through Potable Water Treatment and Distribution. *Appl Environ Microbiol*, 66(1), 268-276. doi:10.1128/AEM.66.1.268-276.2000
- O'Toole, J., Sinclair, M., Malawaraarachchi, M., Hamilton, A., Barker, S. F., & Leder, K. (2012). Microbial quality assessment of household greywater. *Water Res*, 46(13), 4301-4313. doi:10.1016/j.watres.2012.05.001
- Paruch, A. M., & Mæhlum, T. (2012). Specific features of Escherichia coli that distinguish it from coliform and thermotolerant coliform bacteria and define it as the most accurate indicator of faecal contamination in the environment. *Ecological indicators*, 23, 140-142. doi:10.1016/j.ecolind.2012.03.026
- Petousi, I., Thomaidi, V., Kalogerakis, N., & Fountoulakis, M. S. (2022). Removal of pathogens from greywater using green roofs combined with chlorination. *Environmental science and pollution research international*. doi:10.1007/s11356-022-23755-6
- Petterson, S., & Ashbolt, N. (2005). WHO Guidelines for the Safe Use of Wastewater and Excreta in Agriculture Microbial Risk Assessment Section.
- Purushotham, D., Rashid, M., Lone, M. A., Rao, A. N., Ahmed, S., Nagaiah, E., & Dar, F. A. (2013). Environmental impact assessment of air and heavy metal concentration in groundwater of Maheshwaram watershed, ranga reddy district, Andhra Pradesh. *Journal of the Geological Society of India*, 81(3), 385-396. doi:10.1007/s12594-013-0049-z
- Quispe, J. I. B., Campos, L. C., Mašek, O., & Bogush, A. (2022). Use of biochar-based column filtration systems for greywater treatment: A systematic literature review. *Journal of Water Process Engineering*, 48, 102908. doi:10.1016/j.jwpe.2022.102908
- Rani, M., Keshu, & Shanker, U. (2022). Chapter 3 - Green nanomaterials: An overview. In U. Shanker, C. M. Hussain, & M. Rani (Eds.), *Green Functionalized Nanomaterials for Environmental Applications* (pp. 43-80): Elsevier.
- Ratnaweera, H. (2013). Fosforgjenvinning fra avløpsvann – bør vi bygge om våre renseanlegg? *Inlegg på fagtreff i Norsk vannforening 16.september 2013*. Retrieved from https://vannforeningen.no/wp-content/uploads/2015/06/2013_888795.pdf
- Roth, N. J., Dichtelmüller, H. O., Fabbrizzi, F., Flechsig, E., Gröner, A., Gustafson, M., . . . Gajardo, R. (2020). Nanofiltration as a robust method contributing to viral safety of plasma-derived therapeutics: 20 years' experience of the plasma protein manufacturers. *Transfusion*, 60(11), 2661-2674. doi:10.1111/trf.16022
- Rummelhoff, S. B. (2019). *Evaluering av en kompakt enhet for primær og sekundær rensing av gråvann*. Norwegian University of Life Sciences, Ås,
- Ryum, N., & NTNU. galvanisering i Store norske leksikon på snl.no. Retrieved from <https://snl.no/galvanisering>
- Sagripanti, J. L., Routson, L. B., & Lytle, C. D. (1993). Virus inactivation by copper or iron ions alone and in the presence of peroxide. *Appl Environ Microbiol*, 59(12), 4374-4376. doi:10.1128/aem.59.12.4374-4376.1993
- Sahlström, L., Bagge, E., Emmoth, E., Holmqvist, A., Danielsson-Tham, M.-L., & Albiñ, A. (2008). A laboratory study of survival of selected microorganisms after heat treatment of

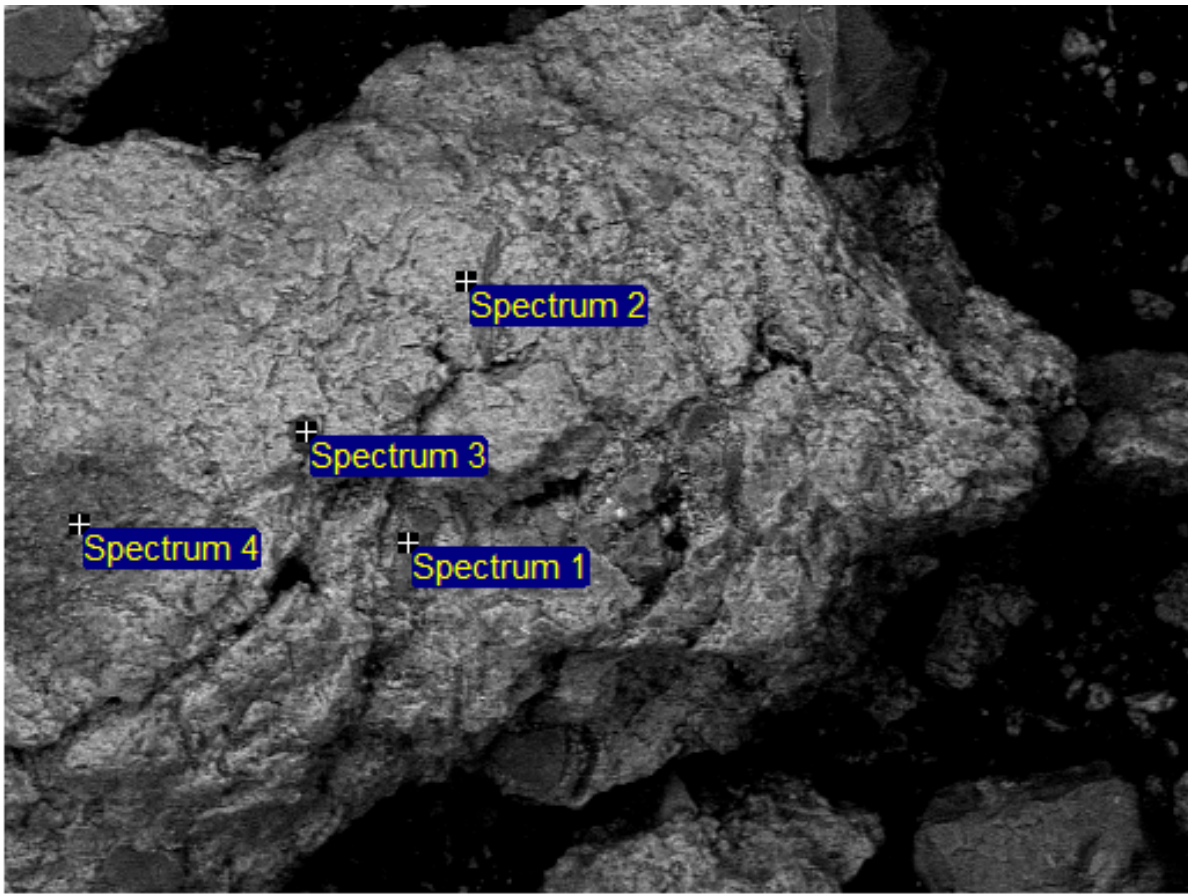
- biowaste used in biogas plants. *Bioresour Technol*, 99(16), 7859-7865.
doi:10.1016/j.biortech.2007.09.071
- Saint-Gobain, L. S. (2023). Tygon® E-3603. Retrieved from <https://www.fluidtransfer.saint-gobain.com/tubing/thermoplastic-elastomer-flexible-tubing/tygon-e-3603>
- ScienceDirect. (2023). Scanning Electron Microscopy. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/topics/engineering/scanning-electron-microscopy>
- Scitable, N. c. (2014). Bacteriophage. *A collaborative learning space for science*. Retrieved from <https://www.nature.com/scitable/definition/bacteriophage-phage-293/>
- Selvam S, M., & Paramasivan, B. (2022). Microwave assisted carbonization and activation of biochar for energy-environment nexus: A review. *Chemosphere (Oxford)*, 286, 131631-131631. doi:10.1016/j.chemosphere.2021.131631
- Sengupta, S., Nawaz, T., & Beaudry, J. (2015). Nitrogen and Phosphorus Recovery from Wastewater. *Current pollution reports*, 1(3), 155-166. doi:10.1007/s40726-015-0013-1
- Serracca, L., Verani, M., Battistini, R., Rossini, I., Carducci, A., & Ercolini, C. (2010). Evaluation of Adenovirus and E. coli as indicators for human enteric viruses presence in mussels produced in La Spezia Gulf (Italy). *Lett Appl Microbiol*, 50(5), 462-467.
doi:10.1111/j.1472-765X.2010.02820.x
- Shimadzu. (2014). *UV-VIS Spectrophotometer UV - 1280*. Retrieved from: https://www.shimadzu.com/an/sites/shimadzu.com.an/files/pim/pim_document_file/brochures/10381/c101-e130.pdf
- Sirevåg, R. (2022). bakteriofag i Store medisinske leksikon på snl.no.
- Standard Norge. (2001). NS-EN ISO 10705-2:2001, Vannundersøkelse Påvisning og telling av bakteriofager Del 2: Telling av somatiske kolifager. Retrieved from <https://www.standard.no/no/Nettbutikk/produktkatalogen/Produktpresentasjon/?ProductID=143283>
- Stenström, T. (2013). Hygiene, a major challenge for source separation and decentralization. In (pp. 151-161).
- Tess, I. n. (2022). *Silikonslange for næringsmidler, laboratorier og farmasøytisk industri*. Retrieved from: https://www.industrinett.no/wsp/tess/frontend.cgi?func=frontend.showpdf&baseurl=http%3A%2F%2Fwww.industrinett.no&url=http%3A%2F%2Fwww.industrinett.no%2Fwsp%2Ftess%2Ffrontend.cgi%3Ffunc%3Dfrontend.show%26product_id%3D50341%26template%3Dpcat_webshop_product%26nodeid%3D716%26print_layout%3D1%26language%3Dno
- Todt, D., Heistad, A., & Jensen, P. D. (2015). Load and distribution of organic matter and nutrients in a separated household wastewater stream. *Environ Technol*, 36(12), 1584-1593. doi:10.1080/09593330.2014.997300
- Toribio-Avedillo, D., Blanch, A. R., Muniesa, M., & Rodríguez-Rubio, L. (2021). Bacteriophages as Fecal Pollution Indicators. *Viruses*, 13(6), 1089. doi:10.3390/v13061089
- UiO, I. f. b. (2020). Mikronæringsstoffer. *Botanisk - og plantefysiologisk leksikon*. Retrieved from <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/m/mikronaering.html>

- Verderflex. (2022). Verderflex Peristaltic Electric Operated Positive Displacement Pump, 0.225L/min, 1 bar, 12 V dc. Retrieved from [https://no.rs-online.com/web/p/positive-displacement-pumps/7056665?cm_mmc=NO-PLA-DS3A--google--CSS_NO_NO_Plumbing_%26_Pipeline_Whoop--\(NO:Whoop!\)+Positive+Displacement+Pumps+\(2\)--7056665&matchtype=&pla-398304781131&gclid=Cj0KCQiA37KbBhDgARIsAlzce14-mg0bpVrEH9QRuY3x-gihmRaw-CgkxFS8uokDH3ZQgd75Gele5FgaAuwvEALw_wcB&gclsrc=aw.ds](https://no.rs-online.com/web/p/positive-displacement-pumps/7056665?cm_mmc=NO-PLA-DS3A--google--CSS_NO_NO_Plumbing_%26_Pipeline_Whoop--(NO:Whoop!)+Positive+Displacement+Pumps+(2)--7056665&matchtype=&pla-398304781131&gclid=Cj0KCQiA37KbBhDgARIsAlzce14-mg0bpVrEH9QRuY3x-gihmRaw-CgkxFS8uokDH3ZQgd75Gele5FgaAuwvEALw_wcB&gclsrc=aw.ds)
- vwr, a. (2022). 216-0434 Dish, aluminium, disposable. Retrieved from <https://no.vwr.com/store/product/4547985/dish-aluminium-disposable>
- VWR, B. C. (2023). *Product specification - Agar powder*. Retrieved from: https://uk.vwr.com/assetsvc/asset/en_GB/id/40580413/contents/40580413.pdf
- VWR, I. b. (2019). PH20 - pH Tester - Operating manual. In: VWR International bvba.
- Wakelin, D. (1996). Helminths: Pathogenesis and Defenses. In S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology*. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston
Copyright © 1996, The University of Texas Medical Branch at Galveston.
- WHO, W. H. O. (2003). *Assessing microbial safety of drinking-water: Improving approaches and methods*.
- WHO, W. H. O. (2006a). *Guidelines for drinking-water quality : first addendum to third edition : volume 1 Recommendations*.
- WHO, W. H. O. (2015). Sanitation safety planning: manual for safe use and disposal of wastewater, greywater and excreta. In (pp. 138): World Health Organization.
- WHO, W. H. O. (2017). 2017 WHO Guidelines for Drinking Water Quality: First Addendum to the Fourth Edition. *Journal - American Water Works Association*, 109(7), 44-51.
doi:10.5942/jawwa.2017.109.0087
- WHO, W. H. O. (2022). Drinking-water. Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>
- WHO, W. H. O. (Ed.) (2006b). *Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater in agriculture and aquaculture* (Vol. 4).
- Widerström, M., Schönning, C., Lilja, M., Lebbad, M., Ljung, T., Allestam, G., . . . Lindh, J. (2014). Large outbreak of *Cryptosporidium hominis* infection transmitted through the public water supply, Sweden. *Emerg Infect Dis*, 20(4), 581-589. doi:10.3201/eid2004.121415
- WTW, x. (2016). OPERATING MANUALba31114e07 08/2014 - OxiTopOxiTopBOD/OXYGEN CONSUMPTION: BOD, RESPIRATION, BIOGAS DETERMINATION®Control OC 100. Retrieved from <https://www.manualslib.com/manual/1527189/Xylem-Oxitop-Control-Oc-100.html>
- WTW, x. (2018). *TetraCon 325 - TetraCon 325/C Standard conductivity measuring cell - Operating manual*.
- WWAP, U. W. W. A. P. (2019). The United Nations world water development report 2019: Leaving No One Behind. In UNESCO (Ed.). Paris: UNESCO.
- Xylem, W. (2021). *NHP 600 - Safety data sheet according to 1907/2006/EC, Article 31*. Retrieved from: https://www.xylemanalytics.com/File%20Library/Resource%20Library/MSDS/209140_NHP_600_EU.pdf%C2%A0

- Zhang, Y., Chen, T., Liao, Y., Reid, B. J., Chi, H., Hou, Y., & Cai, C. (2016). Modest amendment of sewage sludge biochar to reduce the accumulation of cadmium into rice (*Oryza sativa* L.): A field study. *Environ Pollut*, 216, 819-825. doi:10.1016/j.envpol.2016.06.053
- Zhen, K., Zhu, Q., Zhai, S., Gao, Y., Cao, H., Tang, X., . . . Sun, H. (2022). PPCPs and heavy metals from hydrothermal sewage sludge-derived biochar: migration in wheat and physiological response. *Environmental science and pollution research international*, 29(55), 83234-83246. doi:10.1007/s11356-022-21432-2
- Zhu, X., He, M., Sun, Y., Xu, Z., Wan, Z., Hou, D., . . . Tsang, D. C. W. (2022). Insights into the adsorption of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) on biochar and activated carbon with the aid of machine learning. *J Hazard Mater*, 423(Pt B), 127060-127060. doi:10.1016/j.jhazmat.2021.127060
- Ødegaard, H., & Forurensingstilsynet, S. (2005). *Primærrensing = Primary treatment*. Oslo: Statens forurensningstilsyn.
- Ødegaard, H., Norheim, B., & Norsk Vann, B. A. (2014). *Vann- og avløpsteknikk* (2. utg. ed.). Hamar: Norsk Vann.
- Østensvik, Ø. (2004). Opportunistiske patogene bakterier i drikkevannsledninger. *Vann-4-2004*, 4.

Vedlegg
 Vedlegg A

EDS -Point analysis MAP



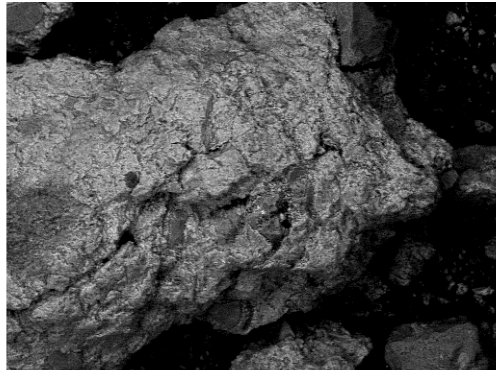
800µm

Electron Image 1

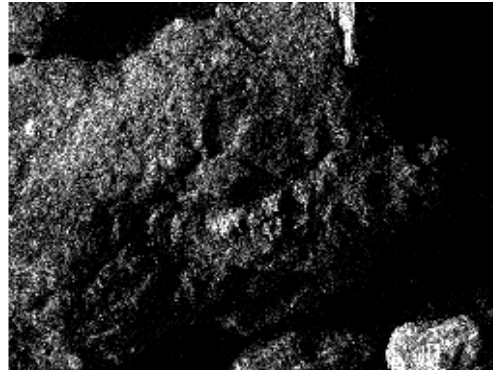
Processing option : All elements analysed

Spectrum	In stats.	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	Ca	Fe
Spectrum 1	Yes			2	88	2	1		1	6
Spectrum 2	Yes	2	2	23	15	15	4		5	33
Spectrum 3	Yes		3	23	13	8	7	1	10	35
Spectrum 4	Yes	2	3	15	45	8	2	1	9	15
Max.		2	3	23	88	15	7	1	10	35
Min.		2	2	2	13	2	1	1	1	6

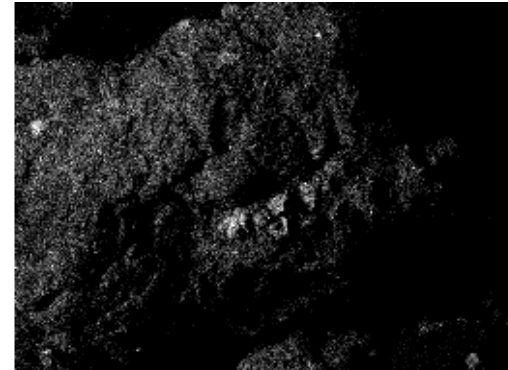
All results in atomic%



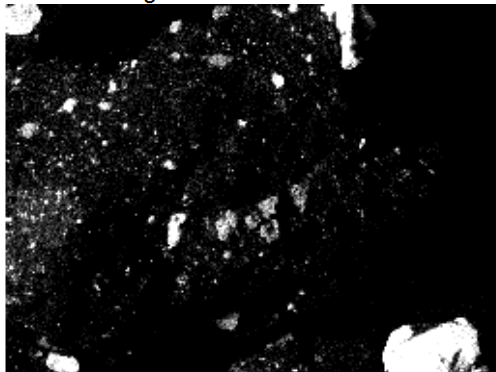
Electron Image 1



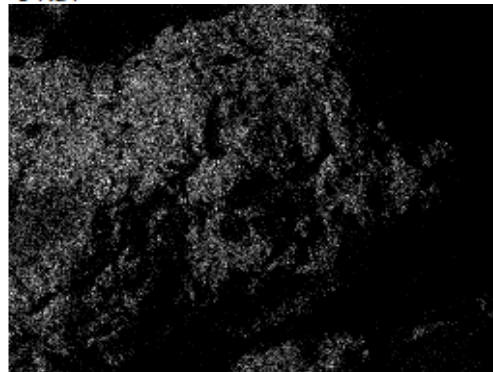
O Ka1



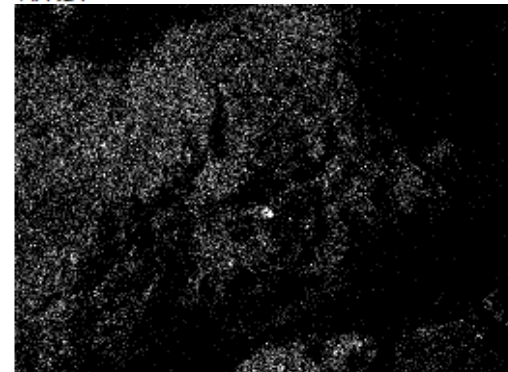
Al Ka1



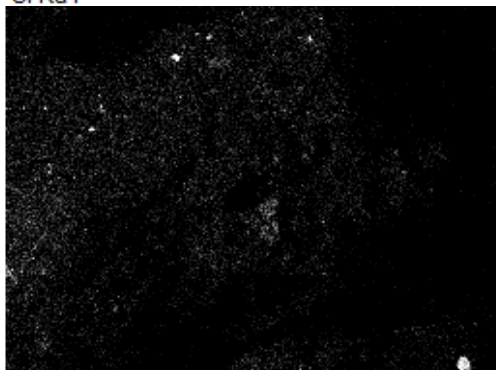
Si Ka1



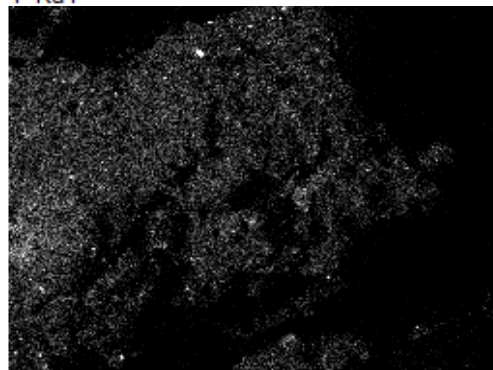
P Ka1



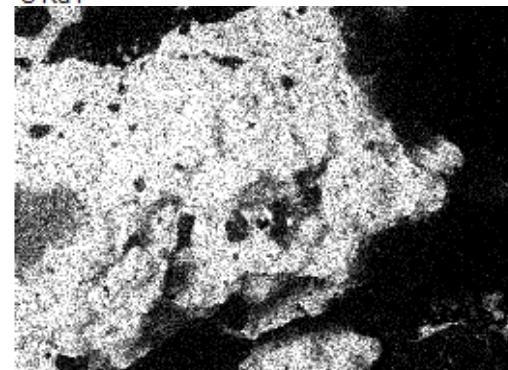
S Ka1



K Ka1



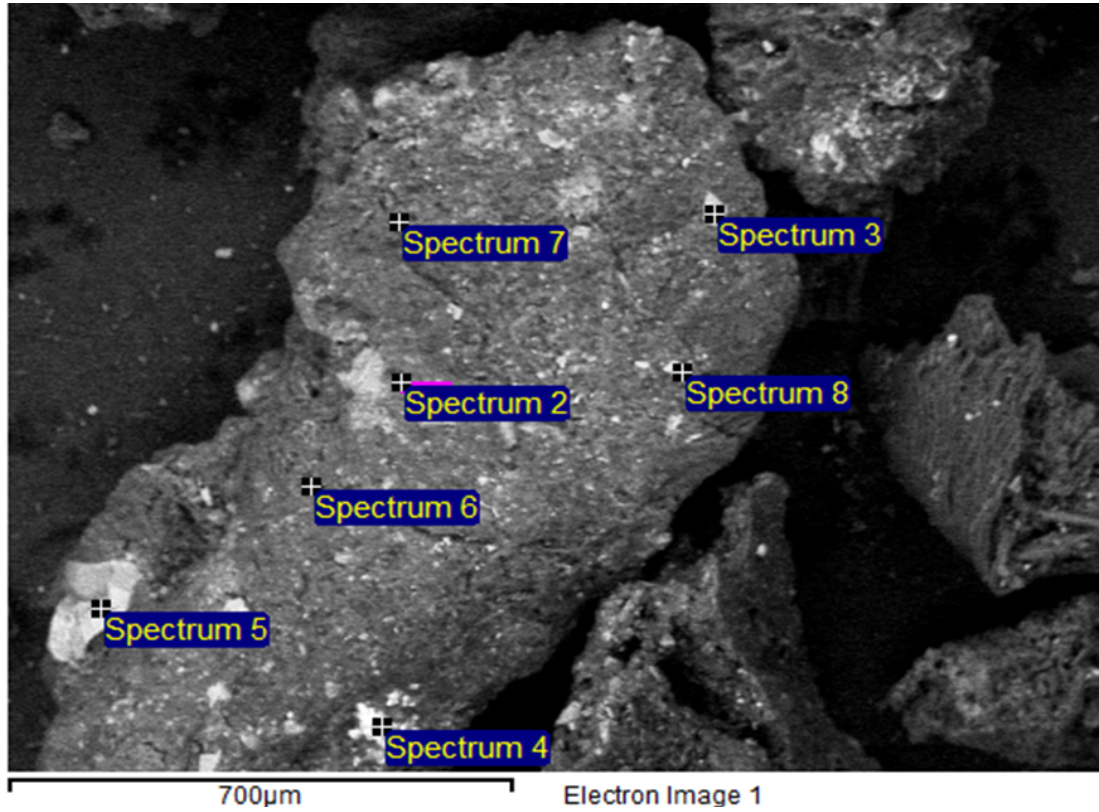
Ca Ka1



Fe Ka1

Kommentar: the brighter the sample surface or at a point the higher is the concentration of the element. This sample indicates high concentration of Fe

EDS -Point analysis BC



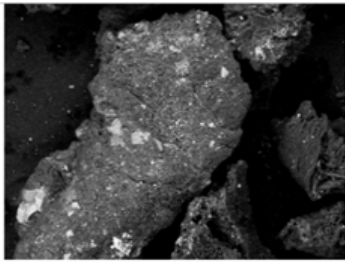
Processing option : All elements analysed

Spectrum	In stats.	Na	Mg	Al	Si	P	S	K	Ca	Fe
Spectrum 1	Yes	4	4	13	45		5	5	16	7
Spectrum 2	Yes	4	2	16	53	3	2	13	7	2
Spectrum 3	Yes	11	1	3	67		1	3	14	0
Spectrum 4	Yes	4	2	6	13		1	2	4	68
Spectrum 5	Yes	4	9	17	46			1	11	12
Spectrum 6	Yes	7	6	14	34	6	4	6	16	9
Spectrum 7	Yes	4	5	12	37	6	4	8	19	6
Spectrum 8	Yes	1	1	14	52	2	1	20	7	3
Max.		11	9	17	67	6	5	20	19	68
Min.		1	1	3	13	2	1	1	4	0

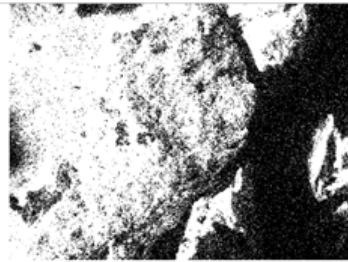
All results in atomic%

EDS Mapping for CONV-BC_Dan

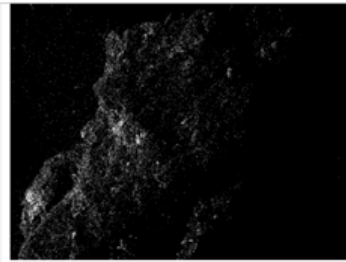
2/3/2023 10:57:23 AM



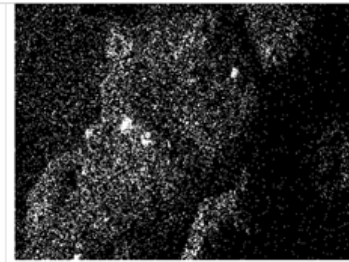
Electron Image 1



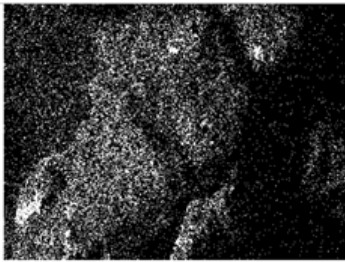
C Ka1_2



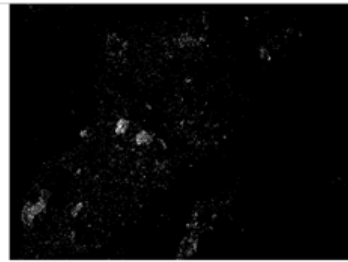
O Ka1



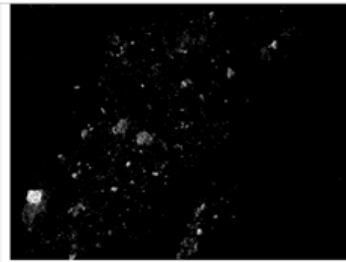
Na Ka1_2



Mg Ka1_2



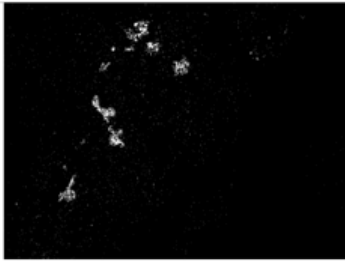
Al Ka1



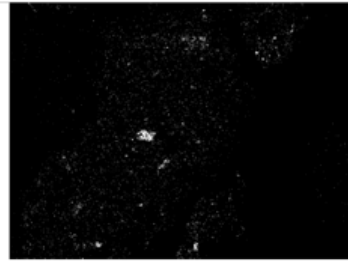
Si Ka1



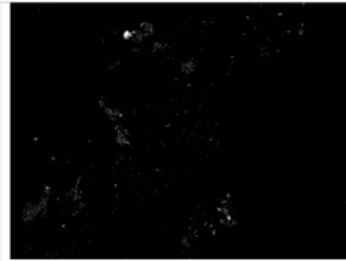
P Ka1



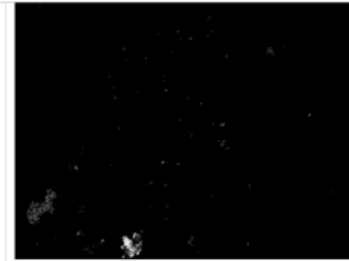
S Ka1



K Ka1



Ca Ka1



Fe Ka1

Comment:

Vedlegg B

Tabell 3-11 Konsentrasjon i $\mu\text{g L}^{-1}$ av ulike metaller i utløpet til BAF, kolonnene MAP1 og MAP2, blandet BC-kolonner og blandet kontrollkolonner.

	Al	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb	P	Fe
BAF	131,6219728	2,066362258	5,705299784	16,02297406	0,162758449	0,002457527	0,162662318	500,7419762	54,8649165
MAP1	138,6493424	22,0680819	22,51828498	71,95831125	2,363783549	0,034006887	1,406261498	427,5436268	1499,242825
MAP2	6,134634289	26,76254456	47,32460477	72,35852134	1,56590294	0,033001235	2,376298969	819,4811938	5250,164143
BC	59,85955901	31,00468824	3,95804114	64,62466206	0,082897842	0,036743426	0,098893464	346,9661783	11,93167402
Kontrollkolonner	20,63235891	30,60709003	5,721278078	263,0830055	0,164852942	0,02542305	0,531779522	733,3534316	46,25451895

Vedlegg C

Oppskrifter:

KPG-AGAR 3 liter

Mengde	Type	Leverandør
24g	Nutrient Broth	Millipore, Cat nr: 105443 (Merck, 2023a)
1,5g	Gjærekstrakt	Millipore, CAS nr: 8013-01-2 (Merck, 2023b)
45g	Agar	VWR, CAS nr: 9002-18-0 (B. C. VWR, 2023)
3 liter	Vann	Springvann

Soft-Agar 1 Liter

Mengde	Type	Leverandør
8g	Nutrient Broth	Millipore, Cat nr: 105443 (Merck, 2023a)
0,5g	Gjærekstrakt	Millipore, CAS nr: 8013-01-2 (Merck, 2023b)
6,5g	Agar	VWR, CAS nr: 9002-18-0 (B. C. VWR, 2023)
1 liter	Vann	Springvann

KPG

Mengde	Type	Leverandør
8g	Nutrient Broth	Millipore, Cat nr: 105443 (Merck, 2023a)
0,5g	Gjærekstrakt	Millipore, CAS nr: 8013-01-2 (Merck, 2023b)
1 liter	Vann	Springvann

Vedlegg D

Virustelling

Dag 1:

Støping av agarskåler.

1. 3 liter KPG-agar og 1 liter soft-agar ble laget ved å mikse ingrediensene sammen og koke det opp under omrøring.
2. KPG-agaren ble overført til 8 x XXX flasker, mens soft-agaren ble overført til 12 x XXX flasker før alt ble autoklavert.
3. De autoklaverte flaskene ble satt til oppbevaring ved 55°C for å unngå størkning.
4. KPG-agaren ble deretter fordelt og støpt ut på 150 petriskåler med ca.18-20mL KPG-agar i hver petriskål.

Dyrking av vertsbakteriekultur.

1. Erlenmeyerkolber med 80mL KPG var forhåndslandet av Else Marie Aasen.
2. Erlenmeyerkolbe med vertsbakteriekultur var på forhånd laget av Arve Heistad
3. 1mL vertsbakteriekultur ble sterilt overført til en erlenmeyerkolbe med 80mL KPG, og satt på inkubering i vannbad med risting på 37°C til morgenen etter. (20timer)

Dag 2:

Dyrking av fersk vertsbakteriekultur.

1. For å sikre fersk vertsbakteriekultur under eksponensiell vekst ble 1mL vertsbakteriekultur sterilt overført til en erlenmeyerkolbe med 80mL KPG, og satt på inkubering i vannbad med risting på 37°C i 130'.
2. Det ble tatt ut 1mL av bakteriekulturen for å måle OD etter 90' – 110' og 130'.
 - i. 90' – OD = 0,188
 - ii. 110' – OD = 0,285
 - iii. 130' – OD = 0,433
3. Det ble da besluttet at bakteriekulturen var i god nok eksponentiell vekst og kunne tas ut.

(For måling av OD ble spektrofotometeret Shimadzu UV-1280 (Shimadzu, 2014) benyttet).

Test av fremgangsmåte:

1. Viruskulturen ble fortynnet 7 ganger i UGB-flasker med 9mL saltvannsløsning (0,9% NaCl)
2. Softagar ble hentet fra varmeskapet (55°C). 10, 15mL sentrifugerør (greiner, 2023) ble merket og tilført 4mL softagar og satt i vannbad på 55°C.
3. 7 rør ble tilført 0,5mL viruskultur i fortynningsserie (-1 til -7) + 0,5mL fersk bakteriekultur.
4. 2 rør ble tilsatt 0,5mL viruskultur i fortynningsserie (-5 til -6), + 0,5mL av bakteriekulturen som hadde stått over natten.
5. 1 rør ble tilsatt 0,5mL av utløpsmiksen fra før viruskultur ble tilsatt oppbevaringstanken + 0,5mL av fersk bakteriekulturen.

Dag 3

Telling:

1. Det ble foretatt telling av plakk på petriskålene 18 timer etter de var satt i varmeskap dagen i forveien.
2. Av alle petriskålene var det kun én som var lesbar. 10^{-7} fortynningen av viruskonsentrasjonen viste 122 plakk. Se XXXX
3. Utløpsmiksen før viruskultur ble tilsatt inneholdt 0 plakk og antas dermed som OK.
4. Det ble foretatt ny telling av virusene på 10^{-7} -fortynningen etter 10 timer. Resultatet var det samme.

Test av OD og dyrking av vetsbakterie:

1. For å sikre fersk vertsbakteriekultur under eksponentiell vekst ble 1mL vertsbakteriekultur sterilt overført til en erlenmeyerkolbe med 80mL KPG, og satt på inkubering i vannbad med risting på 37°C i 130'.
2. Det ble tatt ut 1mL av bakteriekulturen for å måle OD etter 0' – 20' – 40' – 60' – 80' – 100' – 120'.
 - i. 0' – OD = 0,052
 - ii. 20' – OD = 0,056
 - iii. 40' – OD = 0,065
 - iv. 60' – OD = 0,083
 - v. 80' – OD = 0,115
 - vi. 100' – OD = 0,167
 - vii. 120' – OD = 0,244
 - viii. 140' – OD = 0,380
 - ix. 146' – OD = 0,427
3. Kulturen ble tatt ut etter 146', men det ble fortsatt tatt OD.
 - i. 186' – OD = 0,508
 - ii. 246' – OD = 0,667
 - iii. 306' – OD = 0,717

4. Etter at siste prøve med vertsbakterie var tatt ut ble bakteriekulturen satt tilbake til vannbad med risting på 37°C.
5. Det ble på ny tatt ut 1mL av bakteriekulturen for å måle OD etter 326', 346' og 366'.
 - i. 326' – OD = 0,895
 - ii. 346' – OD = 1,082
 - iii. 366' – OD = 1,350

Virusprøver:

1. Alle petriskåler ble merket.
2. Alle sentrifugerør ble merket.
3. Viruskulturen ble fortynnet i serie fra 10^{-1} til 10^{-10} i merkede UGB-flasker med 9mL saltvannsløsning (0,9% NaCl).
4. Fortynninger ble laget i serier fra 10^{-1} til 10^{-4} for alle prøvene som ble tatt ut fra forsøksoppsettet. Dette ble gjort i merkede UGB-flasker med 9mL saltvannsløsning (0,9% NaCl).
5. Softagar ble hentet fra varmeskapet (55°C). 84, 15mL sentrifugerør (greiner, 2023) ble merket og tilført 4mL softagar og satt i vannbad på 55°C.
6. 75 rør ble tilført 0,5mL prøvekultur i fortynningsserie ($0 - 10^{-4}$) + 0,5mL fersk bakteriekultur før det ble sentrifugert og spredt utover merkede petriskåler.
7. 4 rør ble tilført 0,5mL viruskultur i fortynningsserie (10^{-7} til 10^{-10}) + 0,5mL fersk bakteriekultur, før det ble sentrifugert og spredt utover merkede petriskåler.
8. 4 rør ble tilført 0,5mL viruskultur i fortynningsserie (10^{-7} til 10^{-10}) + 0,5mL av bakteriekulturen som hadde stått over natten, før det ble sentrifugert og spredt utover merkede petriskåler.
9. 1 rør ble tilsatt 0,5mL av utløpsmiksen fra før viruskultur ble tilsatt oppbevaringstanken + 0,5mL av fersk bakteriekulturen.
10. Alle petriskålene ble satt i varmeskap på 37°C til dagen etter.

16. Streksmetode:

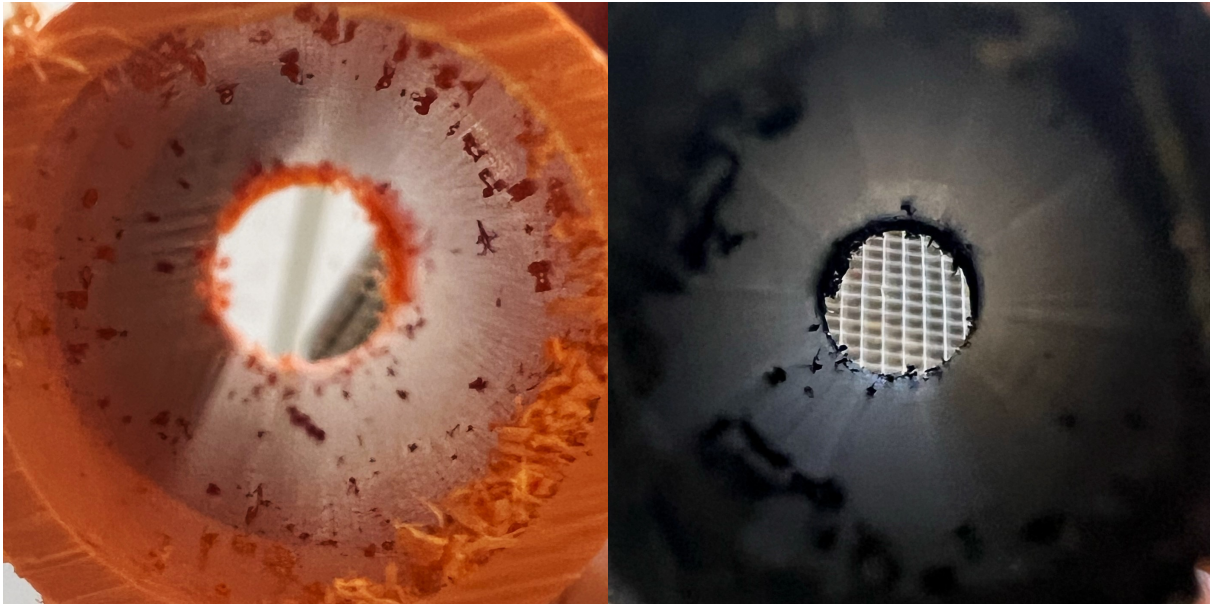
1. 16-streksmetoden ble gjennomført for å se hvordan bakteriekolonien så ut etter at alle virusprøvene var tatt.

Dag 4:

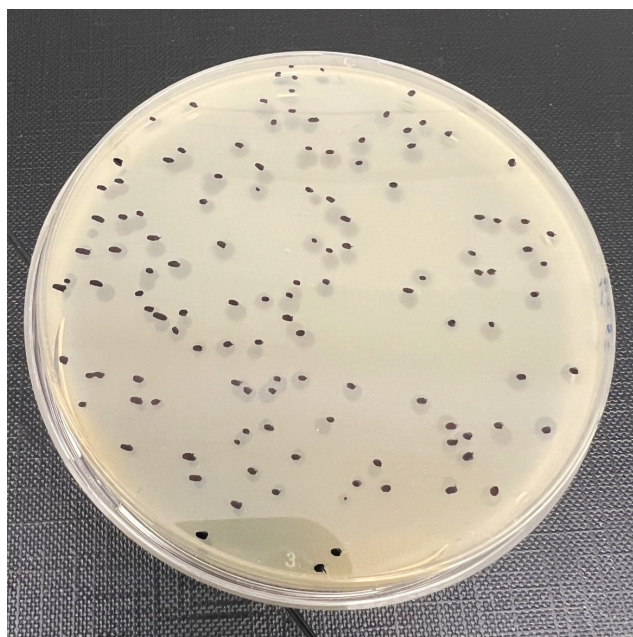
Virustelling:

1. Det ble først kontrollsjekket om plakkene som ble talt Dag 3 ikke hadde økt i antall etter 18 timers inkubering i varmeskap på 37°C. Antallet plakk hadde ikke endret seg.
2. Virustellingen startet 18 timer etter at petriskålene var satt inn i varmeskap dagen i forveien.
3. Virusene ble talt på skåler hvor det oppsto plakk på mellom 0-450 plakk. Det var vanskelig å skille plakk fra hverandre når det oppsto mer enn 200 plakk.
4. All telling ble notert i et Excel-skjema vedlagt i Vedlegg G.

Vedlegg E



Bilde 3-2 og 2 Plastpartikler som forurenset rørmaterialene innvendig. Her er CPVC avbildet til venstre, og PE avbildet til høyre. Lite biofilmvekst gjorde at analysen ikke kunne gjennomføres uten stor feilmargin.



Bilde 3-3 Gunstig mengde plakk for telling. Bildet viser 121 pfu i en 10^{-7} -fortynning

Vedlegg F

Bildene viser biofilmveksten på bæremediene i BAF-reaktoren ved ulike datoer i forsøket.



Bilde 3: 12. Desember



Bilde 4: 7. Januar



Bilde 5: 8. Februar (før lufting)



Bilde 6: 8. januar (under lufting)

Vedlegg G

Type	Prøve nr.	Prøve ID.	0	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10	Mengde V	pfu/ml
			PFU												
Test	1	MIX 0	0											0,5	
Test	3	Virus	x	x	x	x	x	x	x	122				0,5	2,44E+09
Test	4	O.N.Virus	x	x	x	x	x	x	743	70				0,5	1,49E+09
25.01.2023		M1 7				165	24							0,5	4,05E+05
25.01.2023		M2 7			76	4	3							0,5	1,16E+04
25.01.2023		BC 7				247	24							0,5	4,87E+05
25.01.2023		C 7				180	35							0,5	5,30E+05
25.01.2023		Eff 7					62							0,5	6,20E+05
25.01.2023		M1 14				300	28							0,5	5,80E+05
25.01.2023		M2 14	104	9	1	0	0							0,5	1,94E+02
25.01.2023		BC 14				348	41							0,5	7,58E+05
25.01.2023		C 14				288	46							0,5	7,48E+05
25.01.2023		Eff 14					114							0,5	2,28E+06
25.01.2023		M1 21				420	45							0,5	8,70E+05
25.01.2023		M2 21	90	14	0	0	0							0,5	2,30E+02
25.01.2023		BC 21				380	32							0,5	7,00E+05
25.01.2023		C 21				244	15							0,5	3,94E+05
25.01.2023		Eff 21				464	53							0,5	9,94E+05
25.01.2023		Virus								121	12			0,5	2,41E+09
25.01.2023		MIX 0	0											0,5	0,00E+00
25.01.2023		Virus							81	7				0,5	1,51E+09
25.01.2023		O.N.Virus							33	2				0,5	5,30E+08
25.01.2023		virus gammel							54					0,5	1,08E+09

Vedlegg H

Suspendert Stoff (SS)

	GW	BAF	MAP1	MAP2	BC1	BC2	C1	C2
05.12.2022	333,5	98,5						
07.12.2022		10,5						
11.12.2022		16						
12.12.2022		14,5						
13.12.2022		63,5						
15.12.2022	315	24,32432432						
16.12.2022		42						
18.12.2022		21		15	8,5	15	15	16
19.12.2022		26,5						
21.12.2022		18,5	13	13	14,5	5	15	12,8
23.12.2022		29,5						
26.12.2022		19,33333333	16	15,33333333	25,33333333	12,6666667	19,33333333	20,6666667
27.12.2022		14	6,5	8,5	12	7	19,5	19
29.12.2022		29,5	3,5	4	2	0,5	8,5	8,5
31.12.2022		29	5	4	2,5	2	11,5	10
02.01.2023	224	5	2	1,5	1,5	2	10,5	6
05.01.2023	125	5	0,5	0,5	1,5	0,5	7	6,5
07.01.2023	195	1,5	0	0	0	0	3	2
09.01.2023	423	3	1,5	6,5	1	1	4	3,5
11.01.2023	186	1	1,5	15	0,5	1	4	4
13.01.2023	265	1,5	6	10,5	1,5	0,5	7	5
14.01.2023	122	1,5	7	16	5	4	14,5	7
16.01.2023	386	4,5	4,5	6	2	2,5	10	9,5
18.01.2023	527	14,5	4	17	1,5	1,5	3,5	1,5
20.01.2023	106	13	1,5	15	0	0	3	6,6666667
23.01.2023	121	10						
24.01.2023	130	7						
27.01.2023	214	12						
01.02.2023	95	53						
06.02.2023	169	166						

BOD₅

	GW	BAF	MAP1	MAP2	BC1	BC2	C1	C2
05.12.2022	254	24						
07.12.2022		Ingen verdi						
11.12.2022		40,9						
12.12.2022		66,2						
13.12.2022								
15.12.2022		2,8						
16.12.2022		40						
18.12.2022		9,9		40	37,1	40	3,9	40
19.12.2022								
21.12.2022			19,9					
23.12.2022		11,3						
26.12.2022		43,7	26,8	38	0	15,5	24	11,3
27.12.2022								
29.12.2022								
31.12.2022		0	2,8	0	0	0	23,6	10,9
02.01.2023								
05.01.2023	380	0	0	0	0	0	9,3	
07.01.2023								
09.01.2023								
11.01.2023	338	0	0	0	0	0	1,7	24,7
13.01.2023								
14.01.2023								
16.01.2023								
18.01.2023								
20.01.2023	374	2,8		0	0		7,9	
23.01.2023								
24.01.2023								
27.01.2023	467	8,4						
01.02.2023								
06.02.2023								

pH

	GW	BAF	MAP1	MAP2	BC1	BC2	C1	C2
05.12.2022	6,89	8,1						
07.12.2022		7,64						
11.12.2022		7,35						
12.12.2022		7,57						
13.12.2022								
15.12.2022		7,56						
16.12.2022		7,5						
18.12.2022		7,75		7,37	7,31	7,37	7,24	7,17
19.12.2022		7,46						
21.12.2022		7,36	7,48	7,39	7,82	7,69	7,1	7,07
23.12.2022								
26.12.2022		7,82	8,01	8,03	8,17	7,85	7,76	7,74
27.12.2022		7,61	7,85	7,8	8,09	8,15	7,34	7,08
29.12.2022		7,84	7,59	7,91	8,22	8,25	7,46	7,45
31.12.2022		7,81	7,44	7,72	8,04	8,1	7,48	7,42
02.01.2023	6,76	7,75	7,8	7,99	8,17	8,2	7,86	7,85
05.01.2023	6,82	7,74	7,4	7,74	8	8,1	7,48	7,64
07.01.2023	6,83	7,72	7,43	7,7	8,11	8,15	7,52	7,71
09.01.2023	6,98	7,75	7,94	7,92	8,24	8,21	7,77	7,65
11.01.2023	6,76	7,8	8,18	7,52	8,28	8,29	7,31	7,43
13.01.2023	6,73	7,94	8,32	8,32	8,36	8,31	8,07	7,85
14.01.2023	6,73	7,71	8,24	8,16	8,25	8,24	7,66	7,63
16.01.2023	6,87	7,79	7,96	7,83	8,1	8,15	7,55	7,55
18.01.2023	6,54	7,75	7,84	7,45	8,01	8,13	7,69	7,79
20.01.2023	6,8	7,61	8,01	7,39	7,95	8,15	7,58	7,7
23.01.2023	6,89	7,8						
24.01.2023	6,88	7,8						
27.01.2023	6,82	7,71						
01.02.2023	6,78	7,8						
06.02.2023	6,84	7,74						

Konduktivitet

	GW	BAF	MAP1	MAP2	BC1	BC2	C1	C2
05.12.2022		549						
07.12.2022		473						
11.12.2022		450						
12.12.2022		454						
13.12.2022								
15.12.2022		470						
16.12.2022		442						
18.12.2022		471		783	949	817	455	460
19.12.2022		442						
21.12.2022		512	566	574	505	506	454	464
23.12.2022								
26.12.2022		510	720	689	588	588	455	458
27.12.2022		485	761	697	701	602	485	478
29.12.2022		497	642	605	654	568	484	468
31.12.2022		463	628	600	610	558	477	477
02.01.2023	458	435	593	578	594	550	465	469
05.01.2023	444	511	587	544	528	526	459	451
07.01.2023	429	482	578	578	558	563	463	468
09.01.2023	397	472	594	576	575	582	456	460
11.01.2023	422	462	575	548	581	581	455	450
13.01.2023	453	475	543	502	573	557	452	444
14.01.2023	397	461	611	596	590	579	447	444
16.01.2023	435	483	540	534	592	579	449	447
18.01.2023	403	470	515	501	559	548	469	484
20.01.2023	450	433	486	486	556	546	446	479
23.01.2023	466	492						
24.01.2023	440	492						
27.01.2023	430	482						
01.02.2023	394	472						
06.02.2023	437	468						

Turbiditet

	GW	BAF	MAP1	MAP2	BC1	BC2	C1	C2
05.12.2022		7,55						
07.12.2022		8,17						
11.12.2022		7,18						
12.12.2022		6,4						
13.12.2022								
15.12.2022		9,045						
16.12.2022		24,2						
18.12.2022		16,9		7,55	5,57	6,83	7,88	8,18
19.12.2022								
21.12.2022		15,1						
23.12.2022		6,6						
26.12.2022		8,96	6,36	5,55	7,68	4,79	6,36	7,52
27.12.2022								
29.12.2022		9,87	2,11	1,85	1,35	0,994	3,11	3,56
31.12.2022		6,41	1,81	1,16	1,02	0,99	3,69	4,17
02.01.2023	174	1,67	0,954	0,837	0,775	0,773	2,61	1,63
05.01.2023	167	3,9	0,923	0,772	0,89	0,605	2,92	4,66
07.01.2023	151	1,93	1,26	0,77	0,752	0,614	1,72	1,78
09.01.2023	211	1,82	0,712	4,63	0,65	0,601	3,21	1,46
11.01.2023	188	3,56	1,84	16,2	0,771	0,914	2,86	2,11
13.01.2023	178	3,07	3,71	14,6	0,952	0,691	1,88	2,58
14.01.2023	122	1,85	3,52	9,37	2,53	2,64	8,78	5,62
16.01.2023	297	1,72	4,12	5,51	0,801	0,711	7,51	9
18.01.2023	287	7,37	7,13	17,2	0,672	0,826	1,67	2,19
20.01.2023	183	8,04	3,16	12,1	0,781	0,619	4,51	5,8
23.01.2023	195	7,69						
24.01.2023	181	7,04						
27.01.2023	397	13,9						
01.02.2023	111	16,3						
06.02.2023	196	63,5						

Vedlegg I

	2.1	5.1	7.1	11.1	12.1	13.1	15.1	16.1	18.1	19.1	21.1	23.1	26.1	27.1	29.1	31.1	2.1	5.1	7.1	9.1	11.	13.	14.	16.	18.	20.	23.	24.	27.	1.2	6.2			
	2.	2.	2.	2.	2.	2.	2.	2.	2.	2.	2.	2.	2.	2.	2.	2.	1.	1.	1.	1.	1.	1.	1.	1.	1.	.	.			
1																																		
2	S																																	
3	S																																O	
4	S																																O	
5					S							B				B					B											F		
6					S																												F	
7					S			B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	F	
8					S									T					T		T				T	T						F		
9					S						B																						F	
10						S													B														F	
11						S						B											B										F	
12						S																											F	
13						S																											F	
14M1						S		L	L														V										F	
14M2						S	L																V										F	
14BC																																		
1						S																		V									F	
14BC																																		
2						S	L																	V										F
14C1						S	L																	V										F
14C2						S																		V										F
15						S																												F
16						S																												F
17						S																												F
18	S																																	
19						S																												
20	S																																	O

S = Start, B = Bytte av komponent/enhet, L = Lekkasje, T = gikk tørr, F = Slutt kolonneforsøk. V = Uttak virusprøver, O = Luftet omrøring



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

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway