

# Assimilerbart organisk karbon i drikkevann i Trondheim

**Ingrid Elise Johansen**

Bygg- og miljøteknikk

Innlevert: juni 2018

Hovedveileder: Cynthia Halle, IBM

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet  
Institutt for bygg- og miljøteknikk



## Sammendrag

Å opprettholde tilfredsstillende drikkevannskvalitet til enhver tid kan være en krevende oppgave. Råvannets karakteristikk, vannbehandlingsprosessen og distribusjonssystemet er alle faktorer som påvirker kvaliteten på drikkevannet i ulik grad. Selv om råvannskvaliteten i norske vannkilder er generelt høy, er innholdet av humus ofte omfattende (Ødegaard *mfl.*, 2014). Biologisk nedbrytbart organisk materiale knyttes ofte til utfordringer i forhold til den biologisk stabiliteten i drikkevann. Et mer nøyaktig mål på den biologisk veksten i vannforsyningssystemer er assimilerbart organisk karbon (AOC).

I denne oppgaven ble innholdet av AOC analysert i vannprøver fra 8 ulike prøvelokasjoner i Trondheim. Dette inkluderte vannprøver fra råvannet fra Jonsvatnet, vannprøver etter klorering og UV-bestråling på vannverket, og vannprøver fra ulike punkter langs vannforsyningssystemet. Innholdet av AOC ble fastsatt basert på en biologisk test hvor to bakteriearter, P17 og NOX ble benyttet. For å undersøke om organisk karbon var den begrensende faktoren for vekst, ble ytterligere analyser av AOC hvor det var tilsatt en løsning av mineralsalter utført. Basert på resultatene fra biotesten, ble påvirkningen av de ulike vannbehandlingsprosessene på konsentrasjonen av AOC samt distribusjonssystemet innflytelse, analysert.

Analysen fra Vikelvdalen vannbehandlingsanlegg (VIVA), viste en signifikant økning i den totale gjennomsnittskonsentrasjonen av naturlig AOC mellom råvannet og det klorerte drikkevannet. Videre ble det observert at UV-bestråling produserte mindre AOC enn karbonatisering + klorering. Konsentrasjonen av AOC i det ferdig produserte drikkevannet var så høy at vannet ikke kunne sies å være biologisk stabilt. Ved tilsetning av ytterligere uorganiske næringsstoffer, var økningen i AOC konsentrasjonen markant. Dette indikerer at andre næringsstoffer enn organisk karbon høyst sannsynlig er den begrensende faktoren for ettervekst i drikkevannet i Trondheim. For samtlige analyser av  $AOC_{naturlig}$  var den største andel av AOC analysert av NOX, mens ved analyse av  $AOC_{potensiell}$  dominerte P17. I vannprøvene fra områdene Valgrinda, Buran og Lade, ble det observert en tydelig nedgang i  $AOC_{naturlig}$  sammenlignet med utløpskonsentrasjonen fra vannverket. En avtakende mengde AOC ble også påvist ved pumpestasjonen, og videre i høydebassenget. Dette kan tyde på at AOC tilgjengelig i drikkevannet har blitt konsumert av bakterier gjennom vannforsyningssystemet, noe som øker muligheten for beleggdannelse i ledningsnett.



## Abstract

Maintaining satisfactory drinking water quality at all times can be a challenging task. Raw water characteristics, drinking water treatment, and the distribution system are all elements that can affect the quality of the drinking water to a varying extent. Although the quality of the raw water in Norwegian water sources is generally high, the content of humus is often elevated. The biodegradable organic matter is often related to the biological stability of drinking water. Further, assimilable organic carbon (AOC) can be used as a measure of the biological growth in the drinking water distribution system.

In this thesis, the level of AOC was analyzed in drinking water from 8 different sampling locations in Trondheim. These includes water samples from the raw water at Jonsvatnet, after chlorination and UV irradiation at the waterworks, in addition to water samples from various points along the water supply system. The AOC concentration was determined by the AOC bioassay where two bacterial strains, P17 and NOX were used. To investigate whether organic carbon or another nutrient was the limiting factor for regrowth, analysis of AOC were performed with additional mineral salt solution. Based on the results of the bioassay, the impacts of the various water treatment processes, as well as the distribution systems influence on the AOC concentration was analyzed.

The analysis from Vikelvdalen water treatment plant (VIVA) showed a significant increase in the total concentration of native AOC, between the raw water and the chlorinated water. Furthermore, it was observed that UV disinfection produced less AOC than the treatment of carbonization + chlorination. The concentration of AOC in the finished drinking water was too high for the water to be biological stable. Further, by adding inorganic nutrients, a significant increase in AOC was found. These results indicates that nutrients other than organic carbon are most likely to be the limiting factor for aftergrowth in the drinking water in Trondheim. For all analysis performed on AOC<sub>native</sub>, the largest portion of AOC was analyzed by NOX, while for analyzes of AOC<sub>potential</sub>, the P17 was dominating. In the water samples from the areas of Valgrinda, Bruan, and Lade a signifikant decrease in AOC<sub>native</sub> as compared to the outlet concentration found at the waterwork was observed. A decrease in AOC was also shown at the pumping station, and furthermore at the reservoir. This may indicate that the available AOC in the drinking water has been consumed by bacteria within the water pipes, which inceases the possibility of regrowth in the pipline network.



## Forord

Denne oppgaven er skrevet som avsluttende arbeid på en femåring master innenfor studieretningen Vann og miljø ved studieprogrammet Bygg- og miljøteknikk ved Norges tekniske-vitenskapelige universitet (NTNU), våren 2018. Oppgaven tilsvarer 30 studiepoeng.

Først av alt vil jeg takke min veileder Cynthia Hallé, førsteamanuensis ved Norges tekniske-vitenskapelige universitet for god veiledning gjennom hele denne prosessen. Dine tanker rundt oppgaven, og faglig høye kompetansen vært betydningsfullt.

Videre vil jeg rette en stor takk til Trine Margrete Hårberg Ness, avdelingsingeniør ved Instituttet for Bygg- og miljøteknikk, som har hjulpet og støttet meg med det praktiske arbeidet på laboratoriet. Din erfaring samt interesse i mitt arbeid har vært til stor nytte.

Jeg vil takke Michael Waak for deling av hans kunnskap om temaet, samt Megan Strand-Jordan for nyttige tips.

Takk til de ansatte ved Vikelvdalen vannbehandlingsanlegg for å ta seg tid til taking av vannprøver og utveksling av relevant informasjon for oppgaven.

Videre vil jeg takke til mine medstudenter som har bidratt til et godt studiemiljø.

Til slutt vil jeg takke mine nærmeste som har støttet meg og hatt troen på meg gjennom hele studietiden.

Ingrid Elise Johansen

Ingrid Elise Johansen

Trondheim, 22. juni 2018





# Innholdsfortegnelse

Sammendrag.....	i
Abstract.....	iii
Forord.....	v
Innholdsfortegnelse .....	vii
Figurliste.....	ix
Tabelliste.....	x
Forkortelser.....	xi
Ordliste.....	xii
1 Introduksjon.....	1
1.1 Bakgrunn for oppgaven.....	1
2 Teori.....	3
2.1 Drikkevann .....	3
2.2 Karakterisering av vannkvalitet.....	3
2.3 Biologisk stabilitet i drikkevann .....	4
2.3.1 Mikroorganismer i ledningsnett.....	5
2.4 Næringsstoffer i akvatiske miljø .....	8
2.5 Faktorer som påvirker den biologiske stabiliteten .....	10
2.5.1 Næringsstoffer .....	10
2.5.2 Temperatur .....	10
2.5.3 Restdesinfeksjonsmiddel .....	11
2.5.4 Hydrauliske forhold og oppholdstid.....	12
2.5.5 Rørmateriale .....	13
2.6 Problemer forbundet med bakteriell vekst .....	14
2.6.1 Helsemessige problemer.....	14
2.6.2 Estetiske problemer .....	15
2.6.3 Tekniske og driftsmessige problemer .....	16
3 Forskningsområde.....	19
3.1.1 Råvannskilden .....	19
3.1.2 Vikelvdalen vannbehandlingsanlegg (VIVA).....	20
3.1.3 Transportsystemet for drikkevann.....	22
4 Metode.....	25
4.1 Vannkvalitetsparametere .....	25
4.1.1 Analyse av pH.....	25

4.1.2	Analyse av turbiditet .....	25
4.1.3	Analyse av total organisk karbon (TOC) .....	25
4.1.4	Analyse av fritt klor .....	26
4.2	Påvisning av assimilert organisk karbon .....	26
4.2.1	Løsninger og medier .....	28
4.2.2	Fremstilling av bakteriesuspensjon.....	29
4.2.3	Fastsettelse av bakterieantall .....	30
4.2.4	Forbehandling av prøvetakningsmaterieil .....	32
4.2.5	Prøvetakingsprosedyre .....	32
4.2.6	Bestemmelse av AOC .....	34
4.2.7	Kvalitetskontroll/Validering av resultat .....	35
4.3	Statistiske analyser.....	37
5	Resultater og diskusjon .....	38
5.1	Vannkvalitetsparametere .....	39
5.2	Assimilert organisk karbon .....	41
5.2.1	Bakteriekulturer .....	41
5.2.2	Volum av bakteriell inokulum .....	42
5.2.3	Bestemmelse av utbyttefaktorer .....	43
5.2.4	Totaloversikt .....	44
5.2.5	Observasjoner gjennom vannbehandlingsprosessen .....	48
5.2.6	Observasjoner i distribusjonssystemet .....	52
5.2.7	Observasjoner ved pumpestasjon og reservoar .....	56
5.2.8	Statistiske analyser.....	57
6	Konklusjon.....	59
6.1	Videre arbeid.....	60
7	Referanser.....	61
	Vedlegg .....	

## Figurliste

Figur 2.1. Oversikt over ulike prosesser som kan forekomme i et vannrør (Prest mfl., 2015)..	6
Figur 2.2. Månedlig variasjoner i AOC konsentrasjonen for råvann fra Florida (Escobar og Randall, 2001).....	11
Figur 2.3. Biofilmdannelse på ulike materialer (Hem (2003) etter Van der Kooij mfl. (1999) ) .....	14
Figur 2.4. Variasjoner i AOC konsentrasjon og forekomst av E. coli i distribusjonssystemet, 23. august 1986. (LeChevallier mfl., 1987).....	15
Figur 3.1. Vannbehandlingsprosessen ved VIVA (Trondheim kommune, 2007).....	21
Figur 3.2. Vannforsyningsystemet til Trondheim, Melhus og Malvik kommune (Trondheim kommune, 2017).....	23
Figur 3.3. Prosentvis andel av rørmateriale som utgjør ledningsnett i Trondheim (Trondheim kommune, 2017).....	24
Figur 4.1. Skisse over fordeling av prøver fra ulike fortynningsløsninger på en petriskål med agarmedium.....	31
Figur 5.1. Gjennomsnittskonsentrasjon for naturlig og potensiell AOC for råvann, samt etter klorering og UV-behandling. Feilfelt er gitt som standardavvik.....	48
Figur 5.2. Gjennomsnittskonsentrasjon for naturlig og potensiell AOC for drikkevann ved VIVA, Valgrinda, Buran og Lade. Feilfelt er gitt som standardavvik.....	52
Figur 5.3. Variasjoner i AOC med økende avstand fra vannverket for tre ulike distribusjonssystemer (Van Der Kooij, 1999 etter Van der Kooij, Hijnen og Kruithof, 1989). .....	53
Figur 5.4. Målte temperaturer i råvannet ved VIVA så langt i 2018 (Trondheim kommune, 2017). .....	55
Figur 5.5. Gjennomsnittskonsentrasjon for naturlig og potensiell AOC drikkevann ved VIVA, pumpestasjon og reservoar. Feilfelt er gitt som standardavvik.....	56

## Tabelliste

Tabell 2.1. Spesifikasjoner for ulike kvalitetsparametere (Helse- og omsorgsdepartementet, 2016). .....	4
Tabell 3.1. Spesifikasjoner for de valgt prøvelokasjonene .....	19
Tabell 3.2. Verdier for vannkvalitetsparametere for råvannet fra Jonsvatnet fra 2015 (Trondheim kommune, 2017) .....	20
Tabell 3.3. Fordeler og ulemper ved klorering og UV-bestråling som desinfeksjonsmetode (Ødegaard mfl., 2014). .....	22
Tabell 3.4. Spesifikasjoner for det kommunale transportsystemet i Trondheim (Trondheim kommune, 2017) .....	22
Tabell 4.1. Spesifikasjoner for bakteriestammen benyttet i dette studie .....	27
Tabell 4.2. Løsninger benyttet til forsøket .....	28
Tabell 4.3. Ulike medier benyttet i forsøket .....	29
Tabell 5.1. Målte vannkvalitetsparametere for de valgte prøvelokasjonene .....	40
Tabell 5.2. Oversikt over prøvelokasjoner, dato for innhenting av vannprøver og bakteriesuspensjon av P17, benyttet til analyse av AOC .....	42
Tabell 5.3. Bakteriesuspensjon samt tilhørende verdier for nødvendig volum av inokulum ..	43
Tabell 5.4. Ulike bakterieløsninger benyttet samt beregnede utbyttefaktor .....	43
Tabell 5.5. Gjennomsnittskonsentrasjon av total naturlig og potensiell AOC, samt tilhørende standardavvik .....	45
Tabell 5.6. Konsentrasjon av naturlig og potensiell AOC analysert av P. fluorescens P17 for alle prøvelokasjoner .....	46
Tabell 5.7. Konsentrasjon av naturlig og potensiell AOC analysert av Spirillum sp., NOX for alle prøvelokasjoner .....	47
Tabell 5.8. Resultater av ensidig t-test .....	58

## Forkortelser

Forkortelser brukt i denne oppgaven, samt norsk oversettelse er listet opp i tabellen under i alfabetisk rekkefølge.

<b>Forkortelse</b>	<b>Engelsk forklaring</b>	<b>Norsk norsk forklaring</b>
AOC	Assimilable organic carbon	Assimilerbart organisk karbon
BDOC	Biodegradable organic carbon	Biologisk nedbrytbart organisk karbon
NOM	Natural organic material	Naturlig organisk materiale
TOC	Total organic carbon	Total organisk karbon
BOM	Biodegradable organic carbon	Biologisk nedbrytbart karbon
DOC	Dissolved organic carbon	Løst organisk karbon
SPC	Standard Plate Count	Standard bakterieantall
HPC	Heterotrophic Plate Count	Heterotrof bakteriantall
CFU	Colony-forming unit	Kolonidannede enheter

## Ordliste

Oversettelse av engelske ord og uttrykk til norsk, er presentert i tabellen under i alfabetisk rekkefølge.

<b>Engelsk uttrykk</b>	<b>Norsk oversettelse</b>
Stock solution	Stamløsning
Potential AOC	Potensiell AOC
Native AOC	Naturlig AOC
Blank control	Blank kontroll
Yield control	Utbytte kontroll
Growth control	Vekst kontroll
Negative control	Negativ kontroll
Yield factor	Utbyttefaktor
Working suspension	bakteriesuspensjon
Colony count	Kolonitelling
Growth media	Vekst medium
Spread plate method	Utstrykningsmetode
Pour plate method	Innstøpningsmetode

# 1 Introduksjon

## 1.1 Bakgrunn for oppgaven

Utfordringer knyttet til forekomst av naturlig organisk materiale i drikkevann har vært diskutert i flere år. Høyt innhold av organisk stoff ble først sett på som estetiske og bruksmessige problemer. Humusmolekylenes aromatiske dobbeltbinder fører til at vannet kan få en karakteristisk gulbrun farge, samt en distinkt myrlukt (Ødegaard *mfl.*, 2014). I nyere tid har bekymringene i all hovedsak vært rettet mot det helsemessige aspektet. NOM forbindelser har evne til å reagere med restdesinfeksjonsmiddel og danne desinfeksjonsbiprodukter som har vist seg å være helseskadelig for mennesker (Crittenden og Harza, 2005).

De siste tiårene har den mikrobielle aktiviteten i ledningsnettet blitt forbundet med innholdet av biodegradérbart organisk materiale (BOM). Assimilerbart organisk karbon (AOC) utgjør fraksjonen BOM som er lettest biologisk nedbrytbart for heterotrofe bakterier (Ødegaard *mfl.*, 2014). Videre er det kjent at ettervekst er et resultat av AOC, som omdannes til biomasse ved konsumering disse bakteriene. Analyser av tilgjengelig mengde AOC kan derfor benyttes til å gi informasjon om begroingspotensialet i ledningsnettet. Tidligere studier har også vist at ved å minimere konsentrasjonen av AOC, kan den biologiske stabiliteten i drikkevannet kontrolleres (LeChevallier, Schulz og Lee, 1991).

Det finnes flere grunner til at man ikke ønsker biologisk vekst i distribusjonssystemet. Flere studier hevder at drikkevannskvaliteten blir forverret, og problemer knyttet til lukt, smak og farge kan oppstå (Charnock og Kjønne, 2000). I følge Kerr *mfl.* (2003) kan forekomst av biofilm øke risikoen for overlevelse av patogene mikroorganismer. I en studie av et ledningsnett i USA, ble det observert høyere verdier av koliforme bakterier for konsentrasjoner av AOC høyere enn 50 µg/L (LeChevallier *mfl.*, 1991). Disse bakterier kan være indikasjon på fekal forurensing som i mange tilfeller er sykdomsfremkallende hos mennesker.

Innholdet av naturlig organisk materiale i norske råvannskilder generelt høyt. Videre stiller drikkevannsforskriften krav til leveranse av tilstrekkelige mengder helsemessig trygt drikkevann, som videre er uten fremtredende lukt, smak og farge (Helse- og omsorgsdepartementet, 2016). For å oppnå dette, stilles det høye krav til behandlingen av drikkevann. Videre kan forholdene i distribusjonssystemet ha stor påvirkning på vannkvaliteten.

Formålet med den oppgaven var å utføre biologisk analyse av AOC i drikkevannet i Trondheim. Totalt 8 ulike prøvelokasjoner ble valgt ut, for å undersøke variasjonene i AOC under vannbehandlingsprosessene ved VIVA, samt i distribusjonssystemet. Basert på resultatene fra analysen, ble det diskutert hvordan ulike vannbehandlingsprosesser påvirket konsentrasjonen av AOC. Videre ble distribusjonssystemets påvirkning evaluert. Resultatene ble brukt til å kartlegge den biologiske stabiliteten i drikkevannet. For å analysere om organisk karbon var den begrensende faktoren for ettervekst, ble ytterligere analyser av AOC hvor det var tilsatt uorganiske mineralsalter utført. Til slutt ble ulike vannkvalitetsparametere inkludert temperatur, turbiditet, TOC og pH målt.



## 2 Teori

Hensikten med dette kapittelet er å gi leseren tilstrekkelig informasjon i forhold til oppgavens tema. De første kapitlene tar for seg grunnleggende kunnskap som omhandler drikkevann generelt, hvor fokuset er spesielt på drikkevann i Norge. Videre er viktige begreper tydeliggjort, samt ulike faktorer som kan spille inn på potensialet for ettervekst diskutert. Til slutt er det forklart hvilke konsekvenser vekst av bakterier kan resultere i.

### 2.1 Drikkevann

Drikkevann er det viktigste næringsmiddelet på jorda, og en livsviktig ressurs for alle mennesker. I de fleste industrialiserte land, anses tilgangen på rent og sikkert drikkevann som en naturrett. I Norge bruker hver person i gjennomsnitt 200 liter drikkevann om dagen, tilsvarende en årlig produksjon på cirka 740 millioner kubikkmeter (Mattilsynet, 2017). Imidlertid, er ikke tilgang på rent drikkevann en selvfølge for store deler av verdens befolkning. I 2015 var over 2 milliarder mennesker uten tilgang på trygt forvaltede drikkevannstjenester, i dette tilfelle drikkevann som var kontaminert med avføring (World Health Organization, 2018).

I Norge stiller Forskriften om vannforsyning og drikkevann (drikkevannsforskriften) krav til drikkevannskvaliteten i Norge. (Helse- og omsorgsdepartementet, 2016). Forskriften skal beskytte forbrukernes helse samt sikre den estetiske og bruksmessige kvaliteten på drikkevannet. Dette gjelder i hovedsak klart vann uten fremtredende lukt, smak og farge. Det å opprettholde god drikkevannskvalitet fra vannverket til forbruker er imidlertid en krevende oppgave. Drikkevannet transporteres gjennom et distribusjonssystem, som kan påvirke den biologiske stabiliteten i drikkevannet i vesentlig grad.

### 2.2 Karakterisering av vannkvalitet

Vannets karakteristikk og sammensetning bestemmes av flere ulike vannkvalitetsparametere. Disse gir informasjon om hvilke stoffer som finnes i vannet, hvor mye og på hvilken form de befinner seg (Ødegaard *mfl.*, 2014). For å sikre drikkevann med tilstrekkelig kvalitet, settes krav til et stort antall kjemiske og sensoriske parametere. Vannkvalitetsparametere kan deles inn i tre undergrupper; hygiene, kjemiske og sensoriske parametere (Ødegaard *mfl.*, 2014). Avhengig av i hvor stor grad de påvirker menneskers helse, settes grenseverdier eller tiltaksgrenser som skal overholdes. Ved eventuelle avvik fra grenseverdiene skal det straks gjennomføres tiltak for å rette opp i feilen. Likeså må det avgjøres om brudd på tiltaksgrenser

kan utgjøre en helsefare, og i så fall skal det handlinger gjennomføres for å hindre dette. Hygiene parametere brukes for å indikere mikrobiell kontaminering i drikkevannet. Noen vanlig benyttede kjemiske og sensoriske parametere er pH, alkalitet, temperatur, farge, turbiditet, smak og lukt. Felles for disse er at tilhørende verdier er gitt som tiltaksgrenser i drikkevannsforskriften. Av Tabell 2.1 fremgår de viktigste parametere samt tilhørende tiltaksgrenser.

Tabell 2.1. Spesifikasjoner for ulike kvalitetsparametere (Helse- og omsorgsdepartementet, 2016).

<b>Kvalitetsparameter</b>	<b>Tiltaksgrense</b>	<b>Enhet</b>
<b>pH</b>	6,5-9,5	-
<b>Alkalitet</b>	0,6-1,0	mmol/l
<b>Farge</b>	≤ 20	mg Pt/l
<b>Turbiditet</b>	≤ 1	FTU/NTU
<b>Kalsiumkonsentrasjon</b>	15-25	mg Ca/l

I dette studiet analyseres kvalitetsparametere pH, temperatur, turbiditet samt total organisk karbon. Parametere er valgt ut ifra at det antas at disse påvirker den biologiske stabiliteten til drikkevannet.

### 2.3 Biologisk stabilitet i drikkevann

Drikkevannet evne til å hindre mikrobiell vekst i ledningsnett, betegnes som biologisk stabilitet. Forekomsten av mikroorganismer er uunngåelig i drikkevann, da disse er allestedsnærværende i alle akvatiske miljøer (Prest *mfl.*, 2015). Omfanget av mikrobiologisk forurensning som kan forekomme i distribusjonssystemene, omfatter i all hovedsak bakterier, virus og encellede parasitter, såkalte protozoer. De aller fleste utgjør ingen helsemessig trussel for mennesker. Imidlertid er en liten andel av det enorme antallet mikroorganismer som eksisterer i drikkevann, det man kaller patogene. Ved inntak, kan patogene mikroorganismer være sykdomsfremkallende hos mennesker.

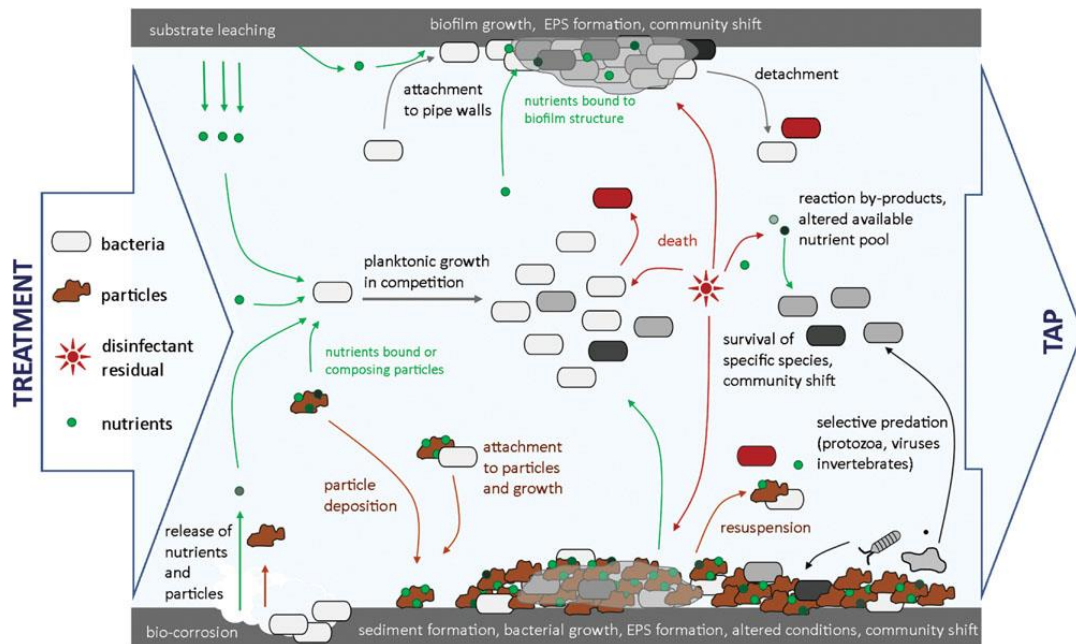
At drikkevannet er biologisk stabilt, er svært viktig for å opprettholde god drikkevannskvalitet under transportering til forbrukeren. Målet er å opprettholde samme mikrobiologiske karakteristikk i vannet fra det forlater behandlingsanlegget til det ankommer forbrukeren. I biologisk ustabil vann kan distribusjonssystemet påvirke vannets sammensetning og egenskaper på en negativ måte. Et av de store problemene ved slike forhold er at man ikke har

kontroll på drikkevannskvaliteten hos forbrukeren, og heller ikke innvirkningen av ledningsnett. Samlet handler vekst om en økning i antall bakterier i distribusjonssystemet som følge av celle formering. Imidlertid kan det være viktig å vite hvilke typer bakterier det er snakk om. I Europa omtales begrepene gjenvækst og ettervekst generelt som veksten av heterotrofe bakterier i vann (LeChevallier, 1990). I USA refererer tilsvarende uttrykk til formeringen av koliforme bakterier.

Flere studier hevder at det er i hovedsak heterotrofe bakterier som bidrar til biologisk vekst i ledningsnett (Van der Kooij, 1992; Liu *mfl.*, 2002). Assimilerbart organisk karbon og biologisk nedbrytbart organisk karbon utgjør andel av totalt organisk karbon i drikkevann som kan benyttes av heterotrofe bakterier. I 1992 utførte Van der Kooij en studie hvor han analyserte forholdet mellom konsentrasjonen av AOC og vekstpotensialet til heterotrofe bakterier. Analysen inkluderte vannprøver fra 20 ulike vannforsyningsanlegg samt tilhørende distribusjonssystemer (Van der Kooij, 1992). Observerte resultater viste en sammenheng mellom disse to parameterne. Van der Kooij (1992) konkluderte at for å hindre ettervekst av bakterier i ledningsnett, måtte innholdet av AOC i drikkevannet være lik eller lavere enn 10 µg acetate-C eq/L. I slike tilfeller er konsentrasjonen av AOK for lav for å kunne anvendes som en næringskilde for bakteriene tilgjengelig i distribusjonsnettverket, noe som resulterer i at bakteriell reproduksjon ikke forekommer (Charnock, 2000).

### 2.3.1 Mikroorganismer i ledningsnett

Mikrobiologisk mangfold i distribusjonssystemet kan foreligge på ulike former, enten som fri partikler i vannfasen, som sedimenter eller festet til røroverflaten i form av biofilm. En oversikt over ulike prosesser som kan forekomme i et vannrør er presentert i Figur 2.1. (Prest *mfl.*, 2015).



Figur 2.1. Oversikt over ulike prosesser som kan forekomme i et vannrør (Prest *mfl.*, 2015).

Ledningsnettets er svært utsatt for biologisk vekst, spesielt dannelse av biofilm langs rørveggene. Biofilm oppstår ved at mikroorganismer fester seg til kontaktoverflaten mellom rørvegg og vann. Dette kan skje gjennom flere ulike prosesser som sedimentasjon og «Bownian movement», også kalt Brownske bevegelser (Kerr *mfl.*, 2003). Hovedsakelig består biofilm av bakterier, men protozoer, sopp, alger og virus kan også forekomme. Mikroorganismene produserer et slimlag, bestående av ekstracellulære polymerstoffer, som innkapsler organismene. Organismer foretrekker å vokse i biofilm fordi dannelsen av matriks øker mikrobenes levedyktighet, samt øker resistansen mot restdesinfeksjonsmidler (Lønn-Stensrud, 2018). Generelt er de fleste mikrober i biofilm ufarlige for mennesker, men forholdene kan være gunstig for vekst av patogene mikroorganismer.

*Vibrio cholerae*, *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* og *Campylobacter* er alle eksempler på kjente bakterier som forårsaker vannbåren sykdom verden over (Crittenden *mfl.*, 2005; Ødegaard *mfl.*, 2014). Felles for disse, er at de er såkalte alloktone bakterier. I motsetning til autoktone bakterier som florerer naturlig i drikkevannsforsyning, finnes ikke alloktone bakterier naturlig (Crittenden *mfl.*, 2005). Bakteriene stammer fra et annet sted, og er tilført til drikkevannet gjennom ulike kilder som for eksempel forurensing. På verdensbasis er fekal forurensing den største årsaken til vannbårne sykdomsutbrudd. I løpet av de siste årene, har *Campylobacter* blitt registrert som hoved årsaken til sykdomstilfeller knyttet til bakterier i Norge. Det er viktig å nevne at en stor andel blir smittet i forbindelse med utenlandsopphold. I 2017 ble kun 32%

av 3885 registrerte tilfeller med *Campylobacteriose* i Norge, smittet innenlands (Folkehelseinstituttet, 2018).

I verden og spesielt i utviklingsland, er protozooparasitter en svært vanlig årsak til vannbårne mage- og tarminfeksjoner. Hoved andel av protozoer har fekal opprinnelse, og smitter derfor ved inntak av forurenset drikkevann. Sammenlignet med virus og bakterier, er parasittene svært motstandsdyktige mot klorering og delvis resistent mot ozonering. Ved vannverks som ikke benytter seg av UV-bestråling, kan forekomst protozooparasitter gjennom forurensing føre til problemer. De mest kjente er slektene *Giardia* og *Cryptosporidium*, som har vært årsaken til flere store vannbårne sykdomsutbrudd i Norge de seneste årene. Senest i 2004 ble flere tusen personer i Bergen smittet av protozobakterien *Gardia lamblia* fra drikkevannet. I ettertid vet man at smitekilden høyst sannsynlig var kloakkforurensning av vannkilden som ble benyttet.

Legionellabakterier finnes naturlig i overflatevann, men mengdene er generelt lave og utgjør ingen helsefare. Imidlertid har tilstedeværelsen av amøber i vannforsyningssystemet har vist seg å være tett knyttet til forekomst av *Legionella* i drikkevann. Denne slekten av protozoer er svært viktig som vertsorganisme for bakterien. Legionellabakterien gror og formeres seg intracellulært i amøbene, før de frigis. Smitten skjer via aerosoler i luften, og påvirker i høyest grad mennesker med nedsatt immunforsvar. Slike bakterier som utgjør størst trussel for menneskers helse ved optimale forhold, betegnes som opportunistiske patogene bakterier. Studier har vist at temperaturen på vannet er en viktig faktor relatert til formeringsposensialet av Legionellabakterier (Lasheras *mfl.*, 2006). Den viktigste kilden til smitte er av den grunn dusjanlegg, boblebad og utstyr som kan frigi aerosoler.

Virus eller nærmere bestemt norovirus, er en svært vanlig årsak til smittsom mage- og tarminfeksjon i Norge og på verdensbasis. Imidlertid er det lite informasjon om den største smitekilden er drikkevann. Grunnen til dette er at i Norge analyseres drikkevann kun for Poliovirus og Hepatitt. Disse utgjør et fåtall av alle patogene virus som kan forekomme i drikkevann. Sammenlignet med bakterier, kan virus i noe tilfelle overleve lenger etter separasjon fra vertsorganismen.

Det å etablere en fullstendig oversikt over alle patogene mikrober i drikkevannet til enhver tid, vil være en uhandterlig oppgave. Drikkevannet i Norge overvåkes derfor ved analyse av kimtall, samt et fåtall ulike mikrobielle indikatororganismer. Kimtall brukes som et mål på det totale antall bakterier som påvises i en vannprøve, og brukes primært som en indikator for biologisk vekst i ledningsnett. Høye kimtall alene utgjør i mange tilfeller ingen helsefare,

men bør undersøkes nærmere da dette kan tyde på fekal forurensing. LeChevallier, Welch og Smith (1996) oppdaget at ved høyere begroingspotensial, økte forekomsten av koliforme bakterier i vannet.

I henhold til drikkevannsforskriften skal råvannet analyseres koliforme bakterier, *E. coli*, intestinale enterokokker, samt *Clostridium perfringens* i råvann fra overflatevannkilder (Helse- og omsorgsdepartementet, 2016). Koliforme bakterier er i hovedsak bakterier som stammer fra avføring til mennesker og varmblodige dyr (Folkehelseinstituttet, 2012). Imidlertid finnes det frittlevende koliforme bakterier i naturen, såkalte miljøbakterier som ikke er av fekal opprinnelse. Påvisning av koliforme bakterier, vil derfor ikke være en sikker indikasjon på at drikkevannet har vært usatt for fekal forurensing. *E. coli* betegnes som den viktigste indikatororganismen, da dette er den eneste koliforme bakterien som utelukkende finnes i tarmfloraen hos mennesker og dyr. Siden bakterien ikke kan forekomme naturlig i naturen, benyttes den som en sikker indikator for fekal forurensing. De fleste *E. coli*-stammer er ufarlige, og kun et fåtall utgjør en helsemessig trussel for mennesker.

## 2.4 Næringsstoffer i akvatiske miljø

Tilgang på ulike næringsstoffer er avgjørende for forekomsten av mikroorganismer i ledningsnett. I distribusjonssystemer utgjør heterotrofe bakterier den største andelen av det mikrobiologiske miljøet. Heterotrofe bakterier trenger organisk stoff for å leve og formere seg. Bakteriene bruker organiske forbindelser for å skaffe seg energi og som karbonkilde. Det organiske stoffet tilgjengelig i akvatiske miljø kan foreligge på ulike måter. Avhengig av hvilke fraksjoner man ønsker å måle, brukes ulike definisjoner. Dette er beskrevet nærmere i avsnittene nedenfor.

Organisk materiale omtales generelt i gruppebetegnelser, hvor naturlig organisk material (NOM) er mye brukt i forbindelse med drikkevann. I Norge brukes ofte betegnelsen humus for forekomsten av naturlig organisk materiale i drikkevann. NOM kan defineres som en kompleks sammensetning av organiske material, tilstede i ferskvann og spesielt i overflatevann. Hoved andelen av akvatisk NOM stammer enten fra nedbrytningen av terrestriske planter, eller som biprodukter fra bakterier, alger og planter (Sillanpää, 2015). Spekteret av organiske forbindelser er enormt, og varierer i form av kjemisk ladning, molekylær størrelse, sammensetning og struktur. Dette inkluderer alt fra alifatiske til høyfargede aromater (Matilainen *mfl.*, 2011).

På grunne av det store mangfoldet av NOM-molekyler samt generelt lave konsentrasjoner i vann, kan karakterisering av NOM ofte være krevende. En vanlig måte å karakterisere organisk stoff er imidlertid ut ifra hvor lett nedbrytbart materiale er. Avhengig av hvor lett biologiske systemer klarer å bryte ned de organiske forbindelsen, skiller man mellom lett nedbrytbart stoff, tungt nedbrytbart stoff og ikke nedbrytbart stoff (Ødegaard *mfl.*, 2014).

Mengde organisk stoff i en vannprøve, kan fastsettes ved analyse av ulike parametere. Generelt brukes total organisk karbon (TOC) til å beskrive mengden organisk material i vann. Parameteren gir er et direkte mål for det totale innholdet av organisk bundet karbon i prøven, både oppløst og partikulært. Et annet mål på den organiske belastingen i en vannprøve, er løst organisk materiale (COD). Parameteren representerer innholdet av karbon med størrelse mindre enn 0,45 mikrometer (Ødegaard *mfl.*, 2014).

Biodegradérbart organisk material (BOM), representerer andelen av NOM som er lett tilgjengelig for nedbrytning av bakterier. Organiske syrer, proteiner og karbohydrater utgjør hoved andelen av NOM som er biologisk nedbrytbart i akvatiske miljøer (Charnock, 2000). Disse forbindelsene forekommer i svært lave konsentrasjoner i naturen, og utgjør en liten andel av den totale mengden organiske materiale. Basert på TOC-analysen, kan mengden biodegradérbart organisk stoff identifiseres som biodegradérbart, løst organisk stoff (BDOC) eller assimilerbart organisk karbon (AOC) (Ødegaard *mfl.*, 2014).

Assimilerbart organisk karbon (AOC) representerer mengden organisk karbon som kan utnyttes av heterotrofe bakterier og omdannes til mikrobiell biomasse. AOC utgjør den lettest biologiske nedbrytbare fraksjonen av løst organisk karbon som er tilstede i vann. Kun en svært liten andel av det totale organiske karbonet tilgjengelig er assimilerbart, typisk 0,1-9% (Escobar *mfl.*, 2001). På grunne karakteristikken til denne typen karbon, kan AOC beskrive potensialet for mikrobiell vekst samt et mål på den biologiske stabiliteten i drikkevann.

I forbindelse med en studie utført av Miettinen *mfl.* (1999) ble det innført to nye begreper som omhandler AOC; «native» og «potential» AOC. I denne oppgaven er begrepene referert til som henholdsvis naturlig og potensiell AOC. Naturlig AOC beskriver konsentrasjonen av AOC uten tilsetning av ytterlige næringsstoffer som kan fremme bakteriell vekst. I motsetning til naturlig AOC, representerer potensiell AOC mengden AOC som forekommer ved tilsetning av supplerende næringsstoffer. Dette gjelder i hovedsak salter av fosfor og nitrogen, som er to av de viktige næringsstoffene for biologisk liv i vannforekomster (Ødegaard *mfl.*, 2014).

Variasjoner i resultatet kan gi indikasjoner på at veksten av bakterier er hemmet av andre næringsstoffer enn organisk karbon.

Biodegradérbart, løst organisk karbon (BDOC) betegnes som andelen løst organisk karbon som kan mineraliseres av heterotrofe bakterier (Charnock *mfl.*, 2000) Metoden for identifisering av BDOC analyserer nedbrytningen av oppløst organisk karbon som følge av bakteriell vekst. Sluttproduktet fra nedbrytningsprosessen er karbondioksid og/eller biomasse (Escobar og Randall, 2001). Generelt er konsentrasjonen av BDOC høyere enn AOC. Dette er vist gjennom flere studier av behandlingsanlegg, hvor begge komponentene er analysert i vannprøver fra ulike behandlingstrinn (Charnock *mfl.*, 2000; Escobar og Randall, 2001). Forsøkene viste i tillegg at de to analysene påviste forskjellige fraksjoner av BOM.

## 2.5 Faktorer som påvirker den biologiske stabiliteten

Begroingspotensialet og den biologiske stabiliteten i ledningsnett er avhengig av flere ulike faktorer, inkludert temperatur, hydrauliske forhold, oppholdstid, rørmateriale, tilgjengelige næringsstoffer og restdesinfeksjonsmiddel. Hvilken innflytelse disse faktorene har på mikrobiell vekst og biofilmdannelse, er nærmere beskrevet videre.

### 2.5.1 Næringsstoffer

Heterotrofe bakterier bidrar til hovedandelen av bakteriell vekst i distribusjonssystemet, og disse trenger næringsstoffer for å overleve. Næringsstoffene organisk karbon, nitrogen og fosfor kreves i et forhold på henholdsvis 100:10:1 (Kerr *mfl.*, 2003). Organisk karbon har størst innflytelse på biologisk vekst og biologisk stabilitet i drikkevann. Disse næringsstoffene kan forekomme naturlig i råvannet, eller tilføres til vannet i form av ulike typer forurensning. Det viktigste tiltaket for å hindre ettervekst av bakterier i drikkevannet vil derfor være fjerning av naturlig organisk materiale.

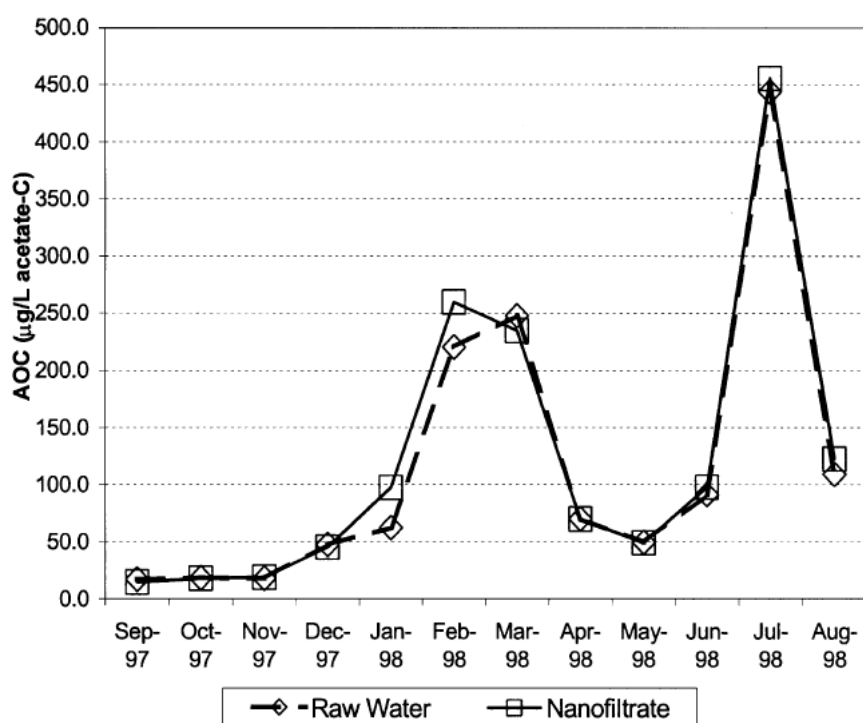
### 2.5.2 Temperatur

Variasjoner i temperatur spiller en stor rolle på flere ulike prosesser som forekommer i drikkevann. Dette inkluderer vekstraten til mikroorganismene, virkningsgraden til desinfeksjonsmidler og korrosjonshastigheten i drikkevann (LeChevallier *mfl.*, 1996). I europeiske land er det vanlig at vanntemperaturen kan variere fra 3°C til 25°C (Prest *mfl.*, 2016). Temperaturen veksler i stor grad i takt med ytre omgivelser, noe som kan føre til store sesongvariasjoner. Bakteries evne til å vokse ved ulike temperaturer, er vist i flere tidligere



studier (LeChevallier, Seidler og Evans, 1980; Escobar og Randall, 2001; Polanska, Huysman og Van Keer, 2005).

LeChevallier, Seidler og Evans (1980) registrerte at en økning i den totale bakteriekonsentrasjonen samsvarte med økende temperatur i vannet. Maksimal forekomst av bakterier ble observert ved slutten av sommeren, når temperaturen var nærmere 20°C. Polanska, Huysman og van Keer (2005) observerte store sesongvariasjoner for 6 ulike råvannskilder i Belgia. I vintermånedene var AOC konsentrasjonen betydelig lavere enn i sommerperioden, hvor de høyeste verdiene ble registrert august og juni i henholdsvis på 2002 og 2003. Gjennom ytterligere analyse for to av produksjonsenhetene tidlig i 2004, ble maksimal AOC konsentrasjon for hele perioden observert i januar. Tilsvarende trend ble påvist av Escobar og Randall (2001), og fremgår av Figur 2.2. Maksimal mengde AOC i råvannet fra Florida ble observert i juli, samtidig som en betydelig økning også ble registrert i februar.



Figur 2.2. Månedlig variasjoner i AOC konsentrasjonen for råvann fra Florida (Escobar og Randall, 2001).

### 2.5.3 Restdesinfeksjonsmiddel

Ulike metoder for desinfeksjon av drikkevann er tilgjengelig, hvorav klorering, ozonering og UV- bestråling er de vanligste. I Norge er klor tradisjonelt bruk som desinfeksjonsmiddel, men i nyere tid er UV-bestråling blitt benyttet som den dominerende desinfeksjonsmåte (Ødegaard

*mfl.*, 2014). Flere vannverk tar også i bruk en kombinasjon av disse metodene for å oppnå høyes mulig effektivitet. Fordelen med kloreringer er at det kan gi restvirkning på nettet, som kan til en viss grad gi beskyttelse mot lave nivåer av kontaminering og bakteriell vekst i distribusjonssystemet. Likevel er det svært vanskelig å opprettholde den biologiske stabiliteten i drikkevannet på denne måten, da det ville ha krevd svært høye doser. Høyt innhold av klor vil i mange tilfeller reagere med organisk stoff i ledningsnettet og danne desinfeksjonsbiprodukter. De mest omtalte er trihalometaner, som er en fellesbetegnelse på kloroform, bromoform, bromdiklormetan og dibromklormetan. Flere av disse forbindelsene er helseskadelige for mennesker, og har ført til at man i Norge har prøvd å redusere klordosene samt innholdet av organisk stoff.

Flere ulike faktorer påvirker restdesinfeksjonsmiddelets effektivitet mot bakteriell vekst i distribusjonsnettet. Næringsstoffer og annet materiale tilstede vil reagere med desinfeksjonsmiddelet, slik at drikkevann med høyere oppholdstid kan risikere å få nærmest ingen virkning av restmiddelet (Kerr *mfl.*, 2003; Prest *mfl.*, 2016). Dette vil føre til en økning av potensialet for bakteriell ettervekst i drikkevannet. Videre vil både temperatur og pH ha innvirkning på inaktiveringseffektiviteten (Ødegaard *mfl.*, 2014). Tidligere studier r også vist at selv ved opprettholdelse av fritt tilgjengelig restklor i distribusjonssystemet, kan vekst av koliforme bakterie forekomme (LeChevallier *mfl.*, 1987).

#### 2.5.4 Hydrauliske forhold og oppholdstid

De hydrauliske forholdene i distribusjonsnettet vil til enhver tid variere, og vil i mange tilfeller være sterkt påvirket av forbruksmønsteret. I perioder med lavt forbrukt, vil vannets hastighet være lav og vannets oppholdstid i rørene øke. I distribusjonsnett hvor bakteriell vekst og koliforme bakterier kontrolleres med restdesinfeksjonsmiddel, vil en lav vannføring føre til at disse produktene forbrukes relativt raskt (Rubulis *mfl.*, 2007). Etter kort tid vil dette resultere i økt risiko for bakteriell aktivitet i ledningsnettet. Videre vil stillestående vann kunne føre til partikkelsedimentering i rørene, og øke sjansen for biofilmdannelse (Kerr *mfl.*, 2003). I vannforsyningssystemer som ikke benytter seg av desinfeksjonsmidler, er det derimot observert uendret eller avtakende bakteriell vekst (Prest *mfl.*, 2016). Tilsvarende resultater ble registrert ved stagnering av vann i et distribusjonsnett hvor det var antatt betydelig biofilmdannelse og tidligere god strømningshastighet (Rubulis *mfl.*, 2007). Over en tre ukers periode, hvor drikkevannet var stillestående, ble det observert svært små variasjoner i kimtall.

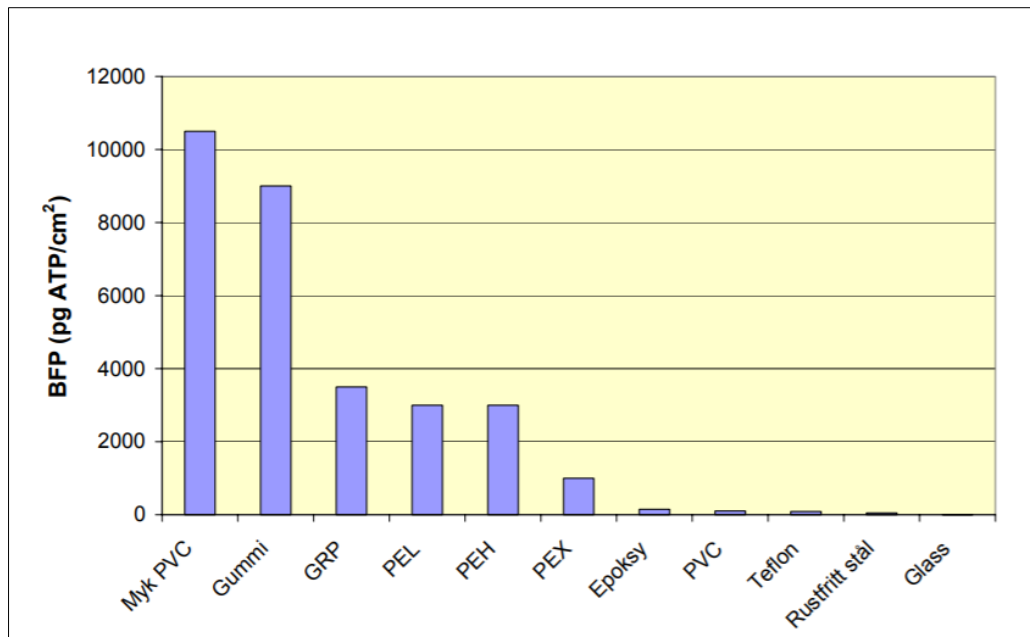
Ved lav vannhastighet, er det derfor grunn til å tro at distribusjonssystemer som ikke har utviklet biofilm har økt sjanse for mikrobiell aktivitet.

I perioder med høyt vannforbruk, vil vannføringen og vannhastigheten også være høy. Slike forhold kan forekomme i situasjoner som for eksempel ved brannslukking. Høy strømningshastighet vil føre til at belastningen av næringsstoffer vil øke og økt fare for løsrivelse av biofilm fra røroverflaten (Kerr *mfl.*, 2003; Prest *mfl.*, 2016). Dette er faktorer som påvirker den biologiske stabiliteten negativt. Videre vil økt transporten av desinfeksjonsmidler i distribusjonsnett med restdesinfeksjon kunne føre til at den mikrobielle aktiviteten holdes noe stabilt (Rubulis *mfl.*, 2007).

### 2.5.5 Rørmateriale

Rørmateriale påvirker den mikrobiologiske aktiviteten i stor grad. Spesielt er dannelsen av biofilm svært avhengig av hvilke materialer som er benyttet. I løpet av de siste 100 årene har det blitt utviklet rør i flere ulike materialer, inkludert støpejern, sement og termoplast (PVC, PE og PP). Denne utviklingen har ført til at vannforsyningssystemene består gjennomgående av flere ulike materialtyper. Hver av disse materialene har ulike egenskaper som spiller inn på drikkevannets kvalitet.

I 2001 gjennomførte Van der Kooij og Veenendaal en studie hvor potensialet for biofilmdannelse og produksjon av suspendert biomasse ble analysert for noen utvalgte ikke-metalliske materialer. Høyest verdi ved analyse av begge disse parameterne i kontakt med drikkevann, ble observert for PVC (Van der Kooij og Veenendaal, 2001). Videre ble det laveste potensialet observert for glass. I en tidligere studie av Van der Kooij *et. al* (1999), er det imidlertid registrert store variasjoner i biofilmdannelse mellom syntetiske rørmaterialer og glass (Van der Kooij *mfl.*, 1999). Resultatet for materialene testet, er vist i Figur 2.3.



Figur 2.3. Biofilmdannelse på ulike materialer (Hem (2003) etter Van der Kooij *mfl.* (1999) )

Flere studier har også vist at ulike rørmaterialer også kan være en kilde til organisk karbon som bakterier kan ta nytte av (Van Der Kooij, Visser og Hijnen, 1982; Van der Kooij, 1999; Van der Kooij *mfl.*, 1999; Charnock *mfl.*, 2000). Allerede i 1982 ble det vist at for totalt 5 ikke-metalliske materialer testet, var mengden AOC frigitt fra plastifisert PVC betraktelig høyere enn for eksempel for myk PVC. Valg av riktig materiale er derfor svært viktig for å unngå ytterligere frigivelse av biologisk nedbrytbare komponenter.

## 2.6 Problemer forbundet med bakteriell vekst

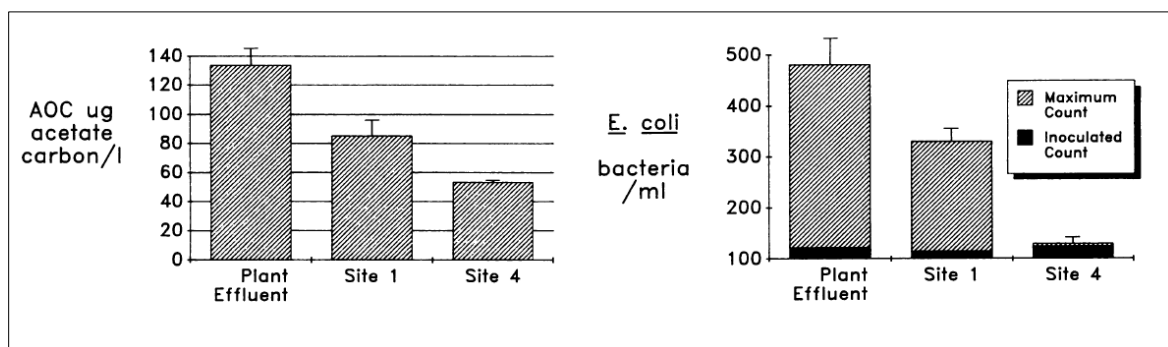
I utgangspunktet utgjør ikke en økning i antall bakterier en trussel for menneskers helse. Likevel kan det ulike problemer som følge av biologisk vekst i ledningsnett. Dette inkluderer helsemessige, estetiske og tekniske problemer (Kerr *mfl.*, 2003).

### 2.6.1 Helsemessige problemer

Ved tilgang på næringsstoffer, har ulike patogene mikroorganismer evne til å vokse og formere seg. LeChevallier *mfl.* (1987) gjennomførte er forsøk hvor en ett av delmålene var å undersøke hvordan biofilm i distribusjonsnettet kan påvirke den mikrobiologiske kvaliteten i drikkevann. Forekomsten av heterotrofe og koliforme bakterier ble analysert i behandlet drikkevann direkte fra behandlingsanlegget og i distribusjonssystemet. Resultater viste at i produsert drikkevann direkte fra behandlingsanlegget innhold svært lave konsentrasjoner av koliforme bakterier,

0,03 CFU/100ml. Imidlertid ble det registrert et mangfold av koliforme bakterier i 38,6% av vannprøvene fra distribusjonssystemet. Det ble observert at konsentrasjonen av koliforme bakterier ved første prøvepunkt, 1,1 km fra behandlingsanlegget, var 20 ganger så høy som drikkevannet ut fra vannverket. Studie konkluderte at denne økningen ikke kunne stamme fra vekst av bakterier i vannfasen. Analyse av bakterielt mangfold i distribusjonssystemet indikerer at forekomsten av koliforme bakterier kommer fra biofilmdannelse på røroverflaten. Videre utover i ledningsnett ble gjennomsnittlig konsentrasjon registrert til 0,20 CFU/100 ml.

Figur 2.4 viser variasjoner i AOC samt forekomsten av bakteriene *E. coli* for tre punkter i distribusjonssystemet (LeChevallier *mfl.*, 1987). En klar trend mellom konsentrasjonen av AOC og målt innhold av *E. coli* fremgår av verdiene presentert. LeChevallier *mfl.* (1987) konkluderte med at veksten *E. coli* var svært hemmet ved AOC konsentrasjon lik 56 µg acetat-C/L.



Figur 2.4. Variasjoner i AOC konsentrasjon og forekomst av *E. coli* i distribusjonssystemet, 23. august 1986. (LeChevallier *mfl.*, 1987)

## 2.6.2 Estetiske problemer

En annen følge av mikrobiell vekst er estetiske problemer som forandringer i lukt, smak og farge. Nåtidens forbrukere er svært opptatt av at vannet skal være tilfredsstillende på alle disse punktene, noe som legger enda større press på vannverkseierne. De fleste klager angående drikkevannet, omhandler i stor grad disse tre parameterne.

I ledningsnett, kan bakteriologisk nedbrytning av organisk materiale føre til dannelse av stoffer som gir variasjoner i smak og lukt. Uten tilstrekkelige tilførsel oksygen, kan dette føre til produksjon av illeluktende svovelforbindelser som hydrogen sulfid, H<sub>2</sub>S (Ødegaard *mfl.*, 2014). Dannelse av denne gassen er imidlertid ikke svært normalt drikkevannsrør.

Andre bakterier som trives i miljøer hvor det er dårlig tilførsel av oksygen er såkalte aktinobakterier. Disse anaerobe bakteriene produserer hyfelignende filamenter som også kan

gi vondt luk og smak på vannet (Ødegaard *mfl.*, 2014). Gunstige forhold kan oppstå i biofilm eller hvor sedimenter av organisk materiale har blitt liggende over lenger tid. Cyanobakterier er en annen bakterietype som kan skille ut stoffer som danner illeluktende forbindelser i kontakt med klor (Ødegaard *mfl.*, 2014). Dette kan skje ved klorering av vannet, men også på grunn av tilgjengelig restklor i distribusjonssystemet. Det er også kjent at ulike typer metaller som jern, mangan, sink og kobber kan skilles ut fra rørmaterialet og danne ønsket smak på vannet. Misfarging av drikkevann skyldes i hovedsak belegg eller biofilm utløst fra ledningsnettet ved en plutselig økning eller retningsendring av vannstrømmen.

### 2.6.3 Tekniske og driftsmessige problemer

Mikrobiell vekst kan også relateres til ulike tekniske og driftsmessige utfordringer inkludert groptæring, dannelse av rustknoller og gjentetting av rør. Groptæring eller pitting er en korrosjonsform som kan oppstå i ledningsnett med ujevn beleggdannelse og i områder med sedimentering (Folkehelseinstituttet, 2015). Distribusjonsnett hvor rørmaterialet består av metaller som jern eller kobber, er utsatt for den type korrosjon. I områdene hvor røroverflaten er dekket med biofilm, vil bakteriell aktivitet føre til at oksygeninnholdet avtar og det oppstår et anodisk område. I områdene som er fri for beleggdannelse vil røroverflaten være i direkte kontakt med vannfasene, som har et stabilt og forholdvis høyt innhold av oksygen. Variasjon i oksygentilgang som oppstår, vil kunne føre til såkalt luftningscellekorrosjon. Samtidig som katoderasjonen bruker vann, oksygen og frie elektroner til å danne hydroksidioner, frigis metallioner og elektroner ved anoden. Under biofilmen vil det oppstå en gropdannelsen i røroverflaten, samtidig som metallioner og hydroksidioner vil Korrosjon vil føre til at levetiden til rørene blir svært redusert. Videre kan lekkasje og innsugning av fremmedvann oppstå som følge av at det tæres hull gjennom metallet.

I jernrør er forekomst av vannbakterien *Gallionella ferruginea* i biofilm, en sterk bidragsyter til dannelsen av rustknoller (Folkehelseinstituttet, 2015; Nosk Vann, 2015). Bakterien kan oksidere det toverdige jernet utløst under anodereaksjonen til treverdige jernoksider. Korrosjonsproduktet vil videre felles ut og kan stivne til en rustknoll. Dannelsen av slike rustknoller vil føre til at den indre diameteren på røret blir mindre, noe som vil kunne påvirke den hydrauliske kapasiteten i distribusjonssystemet betraktelig. Videre vil utfelling av korrosjonsprodukter fra jernrør og andre typer materiale føre til en forverring av drikkevannskvaliteten. Studier har også påvist hvordan forekomst av anaerobe bakterier,

spesielt sulfatreduserende bakterier, kan fremme korrosjonsprosessen (Emde, Smith og Facey, 1992; Prest *mfl.*, 2015).

Påvirkningen av NOM på korrosjonen av metallrør, er undersøkt gjennom flere studier (Goshko *mfl.*, 1983; Broo, Berghult og Hedberg, 1999). Ved bruk av en «surface complexation model» viste Goshko *mfl.* (1983) at korrosjonsraten økte på grunn av NOM ved lav pH. I motsetning, sank korrosjonsraten i drikkevann med høy pH. I studie av Broo, Berghult og Hedberg (1999), ble det observert at korrosjonsraten sank ved innhold av NOM. Videre ble det registrert at korrosjonsraten for kobber økte ved forekomst av NOM.





### 3 Forskningsområde

I dette studie var Trondheim valgt som studieområde. For å få en representativ oversikt over hvordan vannkvaliteten og hovedsakelig konsentrasjonen av AOC forandres som følge av transport gjennom distribusjonssystemene, var 8 ulike punkter for innsamling av drikkevannsprøver valgt. Tre av disse prøvepunktene var plassert langs distribusjonssystemet i ulike områder i Trondheim; Valgrinda, Lade og Buran. Resterende vannprøver var hentet fra råvannkilden, fra vannbehandlingsanlegget, fra en pumpestasjon og fra et reservoaret. Spesifikasjoner om de ulike prøvepunktene, fremgår av Tabell 3.1. Vannprøvene var samlet inn i perioden 18. april til 18. mai.

Tabell 3.1. Spesifikasjoner for de valgt prøvepunktene

<b>Prøvelokasjon</b>	<b>Område</b>	<b>Antall km fra vannbehandlingsanlegget</b>
<b>Råvann</b>	VIVA	-
<b>Klorert vann</b>	VIVA	-
<b>UV-behandlet vann</b>	VIVA	-
<b>Pumpestasjon</b>	Jakobsli	Ikke bestemt
<b>Høydebasseng</b>	Steinan	Ikke bestemt
<b>Distribusjonsnett, punkt 1</b>	Valgrinda	6,0
<b>Distribusjonsnett, punkt 2</b>	Lade	6,3
<b>Distribusjonsnett, punkt 3</b>	Buran	6,4

#### 3.1.1 Råvannskilden

Jonsvatnet er Trondheim kommunes hovedkilde for drikkevann. Overflatevannkilden forsyner hele 99% av Trondheims befolkning samt Malvik kommune. Dette utgjør til sammen cirka 200 000 personequivaler. Ytterligere fungerer Jonsvatnet som reservvannkilde for Melhus kommune. Vannet behandles ved Vikelvdalen vannbehandlingsanlegg, før det kan brukes som drikkevann. Resterende andel av befolkningen i Trondheim samt Melhus kommune, forsynes av Benna. Drikkevannet fra vannkilden behandles ved Benna vannbehandlingsanlegg, og fungerer i tillegg som en reservevannkilde for abonnentene i Trondheim kommune. Vannforsyningssystemet til Jonsvatnet og Benna er koblet sammen. Ved en eventuell

krisesituasjon, kan hver av de to drikkevannskildene gi vannforsyning til alle tre kommunene samtidig.

Tabell 3.2 viser en oversikt over sentrale vannkvalitetsparametere samt tilhørende verdier analysert i råvannet fra Josvatnet fra 2015 (Trondheim kommune, 2017).

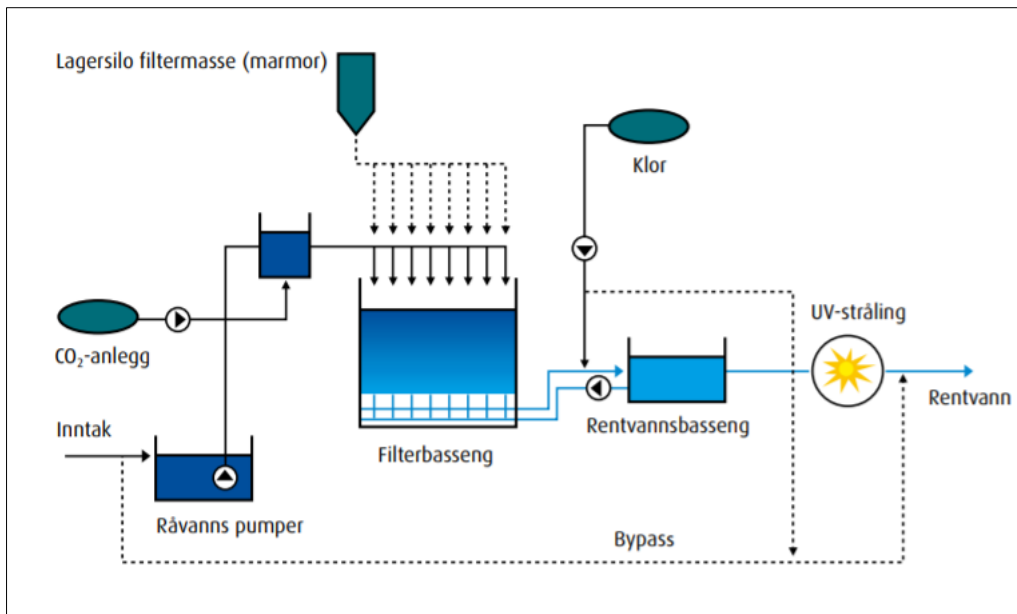
Tabell 3.2. Verdier for vannkvalitetsparametere for råvannet fra Josvatnet fra 2015 (Trondheim kommune, 2017)

Vannkvalitetsparameter	Verdi
Farge	13 mg Pt/L
Total organisk karbon (TOC)	3 mg/L
Kalsium	6 mg/L
Alkalitet	0,3 mmol/L
pH	7
Turbiditet	0,2 FTU

Undersøkelser har vist at råvannet er korrosivt, men ellers er råvannskvaliteten generelt god. Imidlertid skal det nevnes at gjennom analyser av råvannskvaliteten utført siden 1982, har det hvert år blitt påvist tarmbakterier i varierende grad (Trondheim kommune, 2017). De siste årene har den prosentvise andel av vannprøver med E. coli avtatt, som følge av strengere restriksjoner i forhold til aktivitet i nedslagsfeltet. I 2001 ble det innført krav til minimum to hygieniske barrierer på vannverket som er uavhengige av hverandre. Siden Vikelvdalen vannbehandlingsanlegget utgjør kun én hygienisk barriere, ble nedbørsfeltet og vannkilden satt som den andre hygieniske barrieren.

### 3.1.2 Vikelvdalen vannbehandlingsanlegg (VIVA)

Vikelvdalen vannbehandlingsanlegg står bak produksjonen av nærmest alt drikkevann til befolkningen i Trondheim og Malvik kommune. Vannverket produserer i gjennomsnitt 900 liter vann per sekund, med en maksimal vannproduksjon på 1400 L/s (Trondheim kommune, 2017). Vannbehandlingsprosessen består av tre hovedtrinn; marmor filtrering, klorering og UV-stråling. Figur 3.1 viser en skisse av hele behandlingsprosessen ved VIVA.



Figur 3.1. Vannbehandlingsprosessen ved VIVA (Trondheim kommune, 2007)

På 50 meters dyp tappes vannet, og fraktes til VIVA gjennom en 4 km lang tunnel (Trondheim kommune, 2007). Her samles vannet i store råvannsbasseng, før vannet pumpes videre til neste trinn i behandlingsprosessen som er korrosjonskontroll. Korrosjonskontroll er nødvendig for å hindre at drikkevannet er korrosivt ovenfor materialene som anvendes i ledningsnett. VIVA benytter seg av karbonatisering for å øke vannets pH, alkalitet og kalsiumkonsentrasjon. Behandlingsprinsippet består av å dosere karbondioksidgass ( $\text{CO}_2$ ), etterfulgt av marmorfiltrering (Ødegaard *mfl.*, 2014). Kalksand tilsettes som en slurry, hvor finknust marmor er blandet med vann. Avhengig av pH, kornstørrelse og oppholdstid, utløses kalsium og karbona/biokarbonat gjennom filtreringsprosessen.  $\text{CO}_2$  tilsettes vanligvis før filtreringen for å senke pH verdien i vannet. Ved lav pH øker løseligheten til kalsiumkarbonat i vannet, noe som øker effekten av karbonatiseringen.

Vannbehandlingsanlegget i Vikeveldalen benytter seg av to ulike desinfeksjonsmetoder for inaktivering av mikroorganismer, klorering og UV-bestråling (Trondheim kommune, 2007). Klorering av drikkevann foregår etter korrosjonskontroll (Figur 3.1). Klorering er svært effektivt for inaktivering av bakterier, og fungerer også godt på virus (Ødegaard *mfl.*, 2014). Imidlertid fjernes parasitter dårlig. For å sikre at drikkevannet er hygienisk sikkert ovenfor alle patogene mikroorganismer, bestråles vannet med UV før det forlater vannbehandlingsanlegget. UV-bestråling er svært effektivt mot fjerning av bakterier og parasitter, samtidig som den er god mot virus. Imidlertid er det ulemper og fordeler med begge metodene. De viktigste er utdypet i Tabell 3.3, hentet fra Ødegaard *mfl.* (2014).

Tabell 3.3. Fordeler og ulemper ved klorering og UV-bestråling som desinfeksjonsmetode (Ødegaard mfl., 2014).

Desinfeksjonsmetode	Fordeler	Ulemper
<b>Klorering</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Billig alternativ</li> <li>&gt; Kjent teknologi</li> <li>&gt; Kan gi restvirkning i ledningsnett</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Lite effektiv mot parasitter</li> <li>&gt; Kan gi dannelse av desinfeksjonsbiprodukter</li> <li>&gt; Kan føre til lukt- og smaksproblemer</li> </ul>
<b>UV-bestråling</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Gir ingen lukt og smak på vannet</li> <li>&gt; Gir ingen dannelse av desinfeksjonsbiprodukter</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Ingen restvirkning i ledningsnett</li> <li>&gt; Dyrt alternativ</li> <li>&gt; Sensitiv mot høyt fargetall og turbiditet</li> </ul>

Den aktuelle vannbehandlingsprosessen har stor innvirkning på det totale innholdet av karbon, og i tillegg på hvilken form det er tilgjengelig. For å undersøke hvordan de ulike behandlingsprosessene påvirker konsentrasjonen av AOC, er vannprøver fra råvannet, 10 minutter etter klorering og etter UV-bestråling analysert. Videre er målingene etter UV-desinfeksjon benyttet til å beskrive AOC innholdet ut av vannbehandlingsanlegget.

### 3.1.3 Transportsystemet for drikkevann

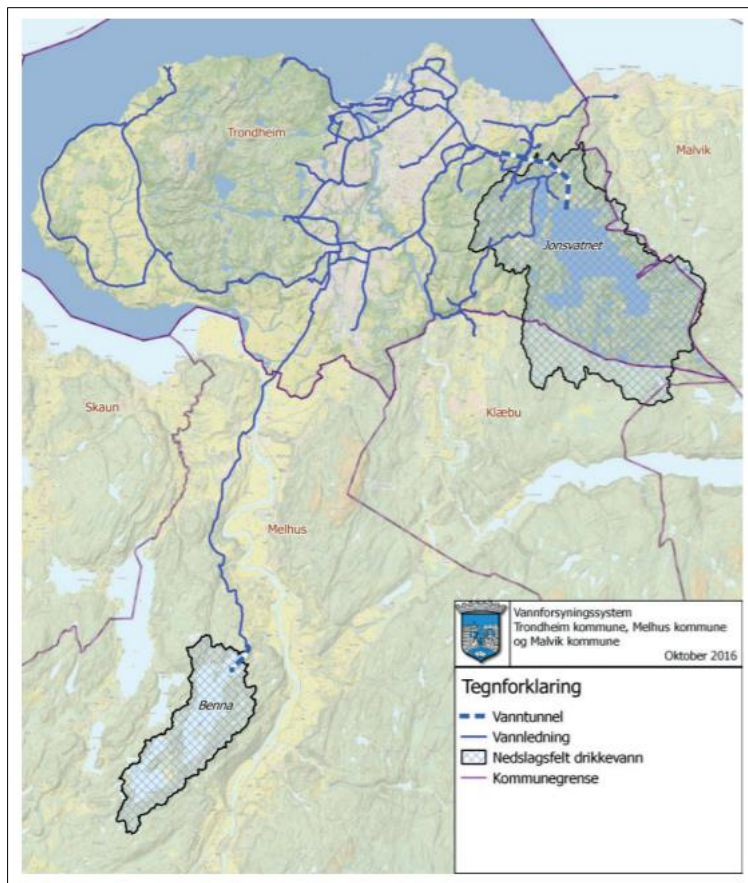
Transportsystemet for drikkevann i Trondheim består av en rekke elementer inkludert ledningsnett, tunneller, pumpestasjoner, høydebasseng og vannkummer. Distribusjonssystemet er tilsammen 1700 kilometer, hvor om lag halvparten utgjør det kommunale ledningssystemet. Spesifikasjoner for det kommunale transportsystemet i Trondheim fremgår av Tabell 3.4.

Tabell 3.4. Spesifikasjoner for det kommunale transportsystemet i Trondheim (Trondheim kommune, 2017)

Element	Lengde/antall
<b>Tuneller</b>	7 km
<b>Ledningsnett</b>	800 km
<b>Vannkummer</b>	7000 stk
<b>Pumpestasjoner</b>	20 stk
<b>Høydebasseng</b>	12 lednstk

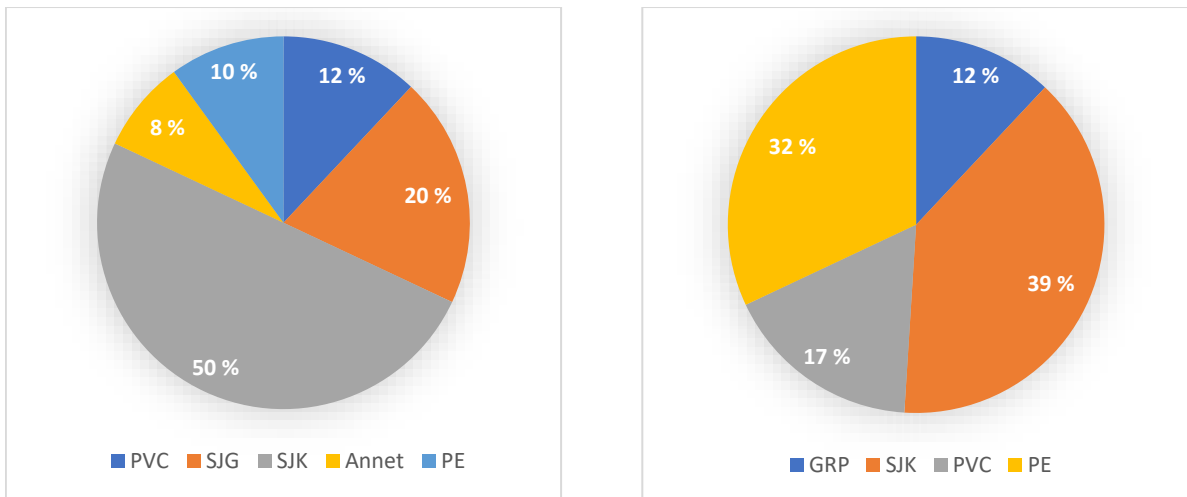
Om lag 80 til 90 prosent av all drikkevann produsert på VIVA, distribueres ut gjennom Vikåsen vanntunnel. Tunnelen ble bygd i 1963 og har en lengde på 1100 meter og et tverrsnitt på 10 m<sup>2</sup>. Videre blir vann transportert til forsyningsområdene gjennom overføringsledninger. Hvert

av disse forsyningsområdene består av et fordelingsnett som distribuerer drikkevannet ut til forbrukerne i det aktuelle området. En oversikt over vannforsyningsystemet til Trondheim, Melhus og Malvik kommune er gitt i Figur 3.2.



Figur 3.2. Vannforsyningsystemet til Trondheim, Melhus og Malvik kommune (Trondheim kommune, 2017)

Det kommunale vannforsyningsystemet består av en rekke ulike materialer. Frem til 1965 ble alle vannrør i Norge laget av grå støpejern (SJG). Etter den tid ble det mer vanlig å bruke duktile støpejernrør (SJK) som vannrør. På grunn av store korrosjonsproblemer, ble det på 1970-tallet vanlig å beskytte støpejernrøret for utvendig korrosjon. Samtidig ble plastbaserte materialer som polyetylen (PE), polyvinylklorid (PVC) og glassfiber armert plast (GRP) i økende grad anvendt. Figur 3.3 viser den prosentvise andelen av type rørmateriale som utgjør ledningsnettets i Trondheim. Grafen viser at siden 1862 har ledningsnettets stort sett bestått av grå støpejernrør og duktile støpejernrør, men at trenden har endret seg de siste årene.



Figur 3.3. Prosentvis andel av rørmateriale som utgjør ledningsnett i Trondheim (Trondheim kommune, 2017)

For å undersøke ledningsnettets påvirkning på AOC konsentrasjonen, ble drikkevann fra tre ulike punkter på distribusjonssystemet valgt. Vannprøvene inneholdt drikkevann fra offentlige bygninger i områdene Valgrinda, Lade og Buran. Felles for disse prøvepunktene er at distansen fra vannbehandlingsanlegget til samtlige punkter er nærmest identisk, cirka 6 km.

Primært er det ønsket at drikkevannet transporteres via selvføll, samtidig som trykket i fordelingsnett bør ligge mellom 20 og 80 meter vannsøyle (Ødegaard *mfl.*, 2014). Dette er mulig å oppnå når vannkilden ligger høyere enn områdene som skal forsynes. For stedene hvor høydeforskjellen ikke er stor nok, må derimot pumpestasjoner benyttes. I slike tilfeller utnyttes selvføll så lenge det er økonomisk gunstig, før drikkevannet pumpes frem til et høydebasseng. Fra høydebassenget distribueres drikkevannet til de aktuelle områdene.

I tillegg til de tre punktene langs ledningsnett, er det analysert vannprøver fra Jakobsli pumpestasjon og høydebassenget på Steinan. Høydebassenget består av to basseng, hver med maksimal kapasitet lik 10 000 kubikkmeter. Vannmengden er nok til å forsyne befolkning i Trondheim i cirka et døgn. Disse prøvepunktene ble valgt for å undersøke hvordan pumpestasjonen og høydebassenget kan påvirke AOC konsentrasjonen og den generelle vannkvaliteten.

## 4 Metode

Dette kapittel beskriver prosedyren som er gjennomført for å for å oppnå målene for dette studiet. Teknikker og metoder for å fastsette innholdet av AOC i drikkevann er forklart, etterfulgt av ulike sentrale vannkvalitetsparametere. Ulike områder som er nærmere beskrevet er; nødvendig forarbeid, fastsettelse av koloniantall, prøvetakingsprosedyre og bestemmelse av AOC konsentrasjonen.

### 4.1 Vannkvalitetsparametere

Sentrale fysiske og kjemiske vannkvalitetsparametere ble benyttet til å fastsette den generelle vannkvaliteten ved de ulike prøvelokasjonen. Fremgangsmåten for å utføre analyser av pH, turbiditet, total organisk karbon og fritt klor er beskrevet i avsnittene nedenfor.

#### 4.1.1 Analyse av pH

pH i drikkevannet ble målt ved hjelp av pH-meter. Ved hjelp av en elektrode, måler instrumentet konsentrasjonene av  $H^+$  ioner i prøven, som videre kan beregnes til pH (Ødegaard *mfl.*, 2014). I dette studie ble HACH sensION PH31 benyttet. Før analysen, ble instrumentet kalibrert ved bruk av tre teknisk bufferløsninger med pH 4, 7 og 10.

#### 4.1.2 Analyse av turbiditet

Analysen av turbiditet var utført på bakgrunn av standard analysemetode, NS-EN ISO 7027 (Helse- og omsorgsdepartementet, 2016). Turbiditetsmålinger gjennomføres ved å måle mengden reflekter lys som oppstår på grunn av partikler i prøven (Ødegaard *mfl.*, 2014). I dette forsøket er HACH 2100Q Portable Turbidimeter benyttet. Dette instrumentet gir en nøyaktigheten på  $\pm 2\%$  av avlest verdi. Resultatet for turbiditet er basert på en gjennomsnittverdi av minimum 2 målinger.

#### 4.1.3 Analyse av total organisk karbon (TOC)

Standard analysemetode CEN 1484 ble brukt til å måle innholdet av total organisk karbon i vannet (Helse- og omsorgsdepartementet, 2016). I dette studie ble instrumentet Apollo 9000 TOC Analyzer produsert av Teledyne Tekmar benyttet. Analysen gjennomføres ved å måle innholdet av organisk karbon som  $CO_2$ , etter at det organiske karbonet er fjernet. Uorganisk karbon fjernes ved å tilsette 1M HCl løsning til pH i prøven er cirka 2. Videre bobles det

oksygen gjennom prøven, for å drive ut CO<sub>2</sub>. Resterende mengder CO<sub>2</sub> måles ved å føre inn prøven i en reaktor, hvor prøven varmes opp til 680°C. Her blir organisk karbon omdannet til CO<sub>2</sub>, som kan måles. Resultatet av TOC analysen er basert på 3 parallelle analyser av 0,5 ml prøve.

#### 4.1.4 Analyse av fritt klor

Innholdet av fritt klor i drikkevannet ble målt basert på en kolorimetrisk metode med DPD-reagenser. Analysen gjennomføres ved å tilsette nødvendig mengde med reagenspulver for fritt klor i 10 ml vannprøve. Eventuelle klorrester i vannet vil reagere og danne et fargekompleks med stoffet DPD (Statoil, 2009). Avhengig av konsentrasjonene av fritt klor, vil intensiteten av rosafargen variere. Et kolorimeter benyttes til å avgjøre fargeintensiteten til prøven, og basert på disse resultatene kan konsentrasjonen av fritt klor bestemmes. Analysene i dette forsøket ble utført ved bruk av HACH Pocket colorimeter. Lavest klordose kunne fastsettes var 0,1 mg/L.

## 4.2 Påvisning av assimilert organisk karbon

Dagens metode for å måle mengde AOC i vann, betegnet som «assimilable organic carbon assay» eller AOC bioassay, ble først publisert av Van der Kooij i 1982 (Van Der Kooij *mfl.*, 1982). I senere tid har denne fremgangsmåten blitt modifisert i en rekke andre studier. Fremgangsmåten benyttet i dette studiet baserer seg på metode nummer 9217 «Assimilable Organic Carbon», beskrevet i den tjuende utgaven av Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (Standard Methods).

Metoden estimerer konsentrasjonen av AOC ved tilsette en kjent konsentrasjon av en bakteriesuspensjon i en vannprøve, og videre observere veksten av bakteriearten ved sitt maksimum (Eaton *mfl.*, 1998). I studie utført av (Van Der Kooij *mfl.*, 1982), ble konsentrasjonen av AOC i en vannprøve analysert kun basert på vekst av en stamme av bakteriearten *Pseudomonas fluorescens*, ofte betegnet som P17. Bakteriearten P17 er svært anvendelig til denne typen analyse, på grunn av dens allsidighet til å utnytte ulike karbon forbindelser (Van Der Kooij *mfl.*, 1982; Charnock, 2000).

I ettertid har det blitt vanlig å anvende et sekundært bakterielt podestoff, *Spirillum* sp., NOX. NOX konsumerer i hovedsak BOM-forbindelser som dannes som biprodukter ved ozonering av drikkevann. Studier har også vist at klorering også kan produsere visse forbindelser som



NOX kan ta nytte av. Bruk av begge disse bakterieartene ved analyse av AOC kan av den grunn være svært viktig for å oppnå korrekt resultat for noen typer drikkevann. På bakgrunn av denne informasjonen ble både P17 og NOX benyttet i analysen av AOC. Spesifikasjoner fremgår av Tabell 4.1.

Tabell 4.1. Spesifikasjoner for bakteriestammen benyttet i dette studie

Bakterieart	Betegnelse	Utfellingsprodukt	Nummer	Isolert fra
<b>Pseudomonas brenneri</b>	P17	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 49642	Drikkevann fra Nederland
<b>Herminiimonas sp.</b>	NOX	<i>Spirillum sp.</i>	ATCC 49643	Filtrat fra sand filter i Nederland

I drikkevann med antatt høyt innhold av organisk karbon, har tidligere studier vist at tilførsel av uorganiske næringsstoffer kan ha en stor betydning på innholdet av AOC (Miettinen *mfl.*, 1997; 1999). For å undersøke om andre næringsstoffer enn organisk karbon er den begrensende faktoren for ettervekst, ble vannprøvene analysert for både naturlig AOC og potensiell AOC.

#### 4.2.1 Løsninger og medier

Tabell 4.2 4.2 gir en oversikt over de ulike kjemikalier benyttet i forsøket. Samtlige er levert av produsenten Sigma-Aldrich. Mediene benyttet, fremgår av Tabell 4.3. Prosedyren for å lage hver enkelt reagens, er beskrevet i Vedlegg A.

Tabell 4.2. Løsninger benyttet til forsøket

<b>Produktnavn</b>	<b>Kjemisk formel</b>	<b>CAS Nr. EC Nr.</b>	<b>Katalog Nr. Produkt Nr.</b>
<b>Natriumacetattrihydrat</b>	$\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$	6131-90-4 204-823-8	106267 -
<b>Natriumtiosulfat pentahydrat</b>	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	10102-17-7 231-867-5	106516 -
<b>Magnesiumklorid- heksahydrat</b>	$\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	7791-18-6 232-094-6	105833 -
<b>Ammoniumnitrat</b>	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	6484-52-2 229-347-8	101188 -
<b>Kaliumklorid</b>	KCl	7447-40-7 231-211-8	104936 -
<b>Natriumperoksidisulfat</b>	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$	7776-27-1 231-892-1	106609 -
<b>Natriumhydroksid pastiller</b>	NaOH	1310-73-2 215-185-5	106498 -
<b>Kaliumhydrogenortofosfat</b>	$\text{HK}_2\text{PO}_4$	7758-11-4 -	- 26931
<b>Kaliumdihydrogen- ortofosfat</b>	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	7778-77-0 -	- 26936

Tabell 4.3. Ulike medier benyttet i forsøket

<b>Produkt navn</b>	<b>Katalog Nr. Produkt Nr.</b>	<b>Bruksområder</b>
<b>R2A Agar</b>	100416 -	Mikrobiologisk analyse
<b>Peptone from casein, tryptic digest</b>	- 70192	Laboratoriekjemikalie
<b>Glyserol 85%</b>	104094 -	Biokjemisk forskning/analyse
<b>Tryptic Soy Broth Casein-peptone soymeal-peptone broth</b>	- CM0001	Laboratoriekjemikalie
<b>Saltsyre rykende 37%, HCl</b>	100317 -	Reagens for analyse

#### 4.2.2 Fremstilling av bakteriesuspensjon

En modifisert prosedyre utarbeidet i en tidligere studie, ble benyttet til å fremstille renkulturer av *Pseudomonas fluorescens*, P17 og *Spirillum* sp., NOX (Waak, ingen dato). Et vekstmedium for de to bakteriestammene var preparert i en tidligere studie, og ble brukt til å fremstille bakteriesuspensjonene. 500 µL vekstmedium av hver bakteriestamme ble oppbevart i tilsvarende mengde glyserolløsning, i en 2 ml kryogenisk beholder ved -80°C. Glyserolløsningen hensikt var å beskytte vekstmediet ved langtidsoppbevaring.

Før start ble det klargjort reagensrør med R2A Agar. Mediet ble preparert etter prosedyren beskrevet i Vedlegg A. For å oppnå et stort overflate areal av agar ble reagensene plassert i en skrå posisjon under nedkjøling.

Beholderen med vekstmediet ble tatt ut av fryseren og tint ved romtemperatur. Før fullstendig smelting av glyserolløsningen forelå, ble 10 µL av løsningen overført til overflaten av Agar mediet. For å unngå forurensning ble det benyttet steriliserte pipettetupper gjennom hele forsøket. Agar mediet med vekstmiddel, ble inkubert i maksimalt 7 dager i romtemperatur for å fremme vekst av bakteriekolonier.

Bakteriesuspensjoner for hver bakteriestammene ble fremstilt ved å overføre en enkel bakteriekoloni fra overflaten av agar mediet med en steril podenål, til en 250 ml glassflaske som inneholdt 100 ml sterilisert, klornøytralisert kranvann. Nøytralisering av eventuelle klorrester i vannet ble gjort ved å tilsette 84 µL natriumtiosulfatløsning per 100 ml væske,

etterfulgt av autoklaving ved 121 °C i 15 minutter. For å tilpasse bakteriekulturene til forhold med lavt næringsinnhold, ble kulturene inkubert 3 til 4 dager i romtemperatur.

Etter endt inkubasjonsperiode, ble 200 µL av preparert bakterieløsning overført til en ny 250 ml glassflaske med 100 ml autoklavert, klornøytralisert kranvann. For å fremme bakteriell vekst i bakteriesuspensjonene, ble det tilsatt 250 µL natriumacetatløsning. Løsningene ble plassert i romtemperatur fra 3 til 7 dager, inntil stasjonær fase var oppnådd. Dette ble kontrollert ved bestemmelse av antall kolonidannede enheter per volum bakteriesuspensjon (CFU/ml). Løsningen ble oppbevart ved 4°C.

#### 4.2.3 Fastsettelse av bakterieantall

For å fastsette antall kolonidannede enheter (CFU), brukes en metode kalt «heterotrophic plate count», tidligere kjent som «standard plate count» (Eaton *mfl.*, 1998). Enheten brukes for å fastsette antall bakteriekolonier observert i en gitt mengde løsning. Ved bestemmelse av antall heterotrofe bakterier, benyttes to ulike teknikker; «pour plate method», også kalt innstøpningsmetode eller «spread plate method», her utsprengningsmetode. Sistnevnte anvendes som standard metoden i dette studie, og tar utgangspunkt i fremgangsmåten beskrevet i Standard Methods.

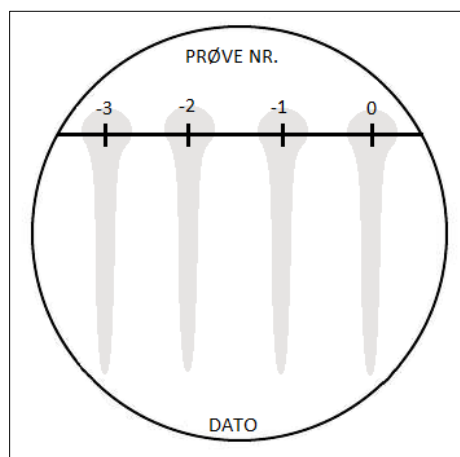
Bakterieantallet i en suspensjon vil generelt være svært høyt, selv ved uttak av et lite volum. For å kunne utføre en telling av antall kolonidannede enhet for en bakteriesuspensjon, ble det lagd en fortynningsrekke av bakteriekulturene. I dette studiet ble velegnet antall bakteriekolonier satt til 15-150 kolonier for en fortynning. For hver bakteriesuspensjon, ble det laget en fortynningsserie med fire fortynninger. Hver fortynning vil gi en tierpotens reduksjon i koloniantallet i forhold til den opprinnelige løsningen. For kulturer med angivelig høy konsentrasjon av bakterier, ble det fremstilt en fortynningsrekke hvor bakterieantallet var fra  $10^{-1}$  til  $10^{-4}$  av det opprinnelige. Fortynningsløsninger hvor bakterieantallet var  $10^0$  til  $10^{-3}$  av det opprinnelige, ble fremstilt hvis det var antatt et lavt bakterieantall i den aktuelle suspensjonen.

Fortynningsserien ble preparert i en engangssteril, glassovertrukket 96-brønnsplate. fortynningsvæske ble det benyttet en bufferløsning av fosfat. Ved bruk av aseptisk teknikk ble 180 µL PBS-buffer pipettert ut i antall brønner nødvendig. Samme teknikk ble benyttet for å overføre 20 µL av en bakteriesuspensjon til en brønn med PBS-buffer. Dette betegnes som prøve A. Innholdet i prøve A ble blandet ved at innholdet i brønnen ble sugd opp og ned med

en steril pipette med volum lik 180  $\mu\text{L}$ , minimum ti ganger. Prøve B ble fremstilt ved å pipettere 20  $\mu\text{L}$  av prøve A, for videre å tilsette innholdet i en ny brønn med PBS-buffer. Tilsvarende metoden som forklart for prøve A, ble bruk til å blande løsningene i prøve B. Videre ble prøve C og eventuelt prøve D, tilsvarende et bakterieantall lik  $10^{-3}$  og  $10^{-4}$ , laget med tilsvarende fremgangsmåte.

Ved bruk av sterile pipettespisser, ble 10  $\mu\text{L}$  av hver fortynningsløsning i en fortynningsserie overført til overflaten av agarmediet i en petriskål. Videre ble lokket satt på og agarplatene ble tiltet vertikalt slik at dråpene rant nedover agaroverflaten. Før dråpene nådde kanten av petriskålen, ble platene justert tilbake til opprinnelig posisjon. Deretter ble alle petriskålene plassert i et varmeskap ved romtemperatur for inkubering. Etter 3 til 7 dager ble antall bakteriekolonier telt opp for fortynningsløsningen med best forutsetning for et koloniantall mellom 15 og 150. Registrering av antall kolonier ble gjort manuelt ved bruk av en ....

P17 karakteriseres som fort groende organismer. Bakteriekoloniene som dannes har generelt en diameter på 3 til 4 cm og en diffus gul farge, noe som gjør dem lett gjenkjennelig. NOX vokser noe saktere, og vil derfor kunne komme til syne etter P17. Bakteriekoloniene har generelt en diameter på 1 til 2 cm og er hvite i fargen. Figur 4.1 viser en skisse over hvordan en prøve fra hver av løsningene ble fordelt utover agarmediet.



*Figur 4.1. Skisse over fordeling av prøver fra ulike fortynningsløsninger på en petriskål med agarmedium*

Bakterieantallet i suspensjonen ble beregnet ved bruk av formel [4-1]. Formelen beregner antall kolonidannede enhet per ml på bakgrunn av informasjon om bakterieantallet observert, den aktuelle fortynningsfaktoren hvor bakteriekoloniene er registrert og mengde bakteriesuspensjon inokulert.

$$\text{Bakterieantall} = \frac{\text{antall bakteriekolonier} \cdot \text{fortynningfaktor}}{\text{volum av bakteriesuspensjon}} \quad [4-1]$$

#### 4.2.4 Forbehandling av prøvetakningsmateriell

For å eliminere prøvetakningsmateriell som en kilde til AOC, ble alle beholdere brukt i forbindelse med AOC analysen forbehandlet etter en detaljert prosedyre gitt i Standard Methods (Eaton *mfl.*, 1998). I dette studiet er en modifisert fremgangsmåte anvendt (Waak, 2018). Denne fremgangsmåten er forklart i detalj i dette kapittelet.

45 ml glassflasker ble vasket med såpe og skylt tre ganger med varmt vann. Videre ble beholderne nedsenket i 0,1 M HCl løsning to ganger, etterfulgt av tre skyllinger med MilliQ vann. Avslutningsvis ble åpningen dekket god med aluminiumsfolie og brent i ovnene på 550 grader i 6 timer.

Tilhørende skrukorker ble plassert ble nedsenket i en løsning av 10% natriumperoksidisulfat, og deretter varmet opp i et vannbad med temperatur på 60 grader i 1 time. En glassflaske med passelig størrelse ble brukt til dette formålet. For å fjerne rester etter løsningen, ble lokkene skylt tre ganger med MilliQ vann. Korkene ble lagt opp ned på aluminiumsfolie med papir og dekke til, for å lufttørke over natten. Dette for å hindre at støv og andre partikler festet seg til korkene. Når temperaturen i glassflaskene var sunket ned til romtemperatur, ble korkene skrudd på flaskeåpningene. Korkene ble strammet godt for å hindre at lukt og bakterier seg inn i beholderne. Oppbevaringstiden er uendelig så lenge lokkene fra flaskene ikke fjernes.

#### 4.2.5 Prøvetakingsprosedyre

Prosedyren for prøvetakning anvendt i dette studiet, er utviklet for å minimere risikoen for kontaminering. Før vannprøvene samles inn, bør vannet renne i minimum 5 minutter. Dette bør gjøres for å sikre at prøvens innhold er vann med kortes mulig oppholdstid i rørene, og ikke vann som kan ha stått stille over lengre tid. Videre bør åpningen brennes av med en gassbrenner for å hindre kontaminering av uønskede mikroorganismer tilstede. Vannet bør så renne et par minutter, før beholderne fylles opp innenfor kortest mulig tidsintervall.

Glassene ble fylt opp til begynnelsen av innsnevringen til åpningen som tilsvarer et volum på cirka 4 ml. Fra hvert prøvepunkt ble det samlet inn 10 vannprøver i 45 ml flasker, samt en glassbeholder med volum lik 250 ml. Hver beholder ble merket med hvor prøvene ble hentet fra og hvilken analyse som skal gjennomføres med den spesifikke vannprøven.

Analysen av naturlig AOC og potensiell AOC ble utført på fire paralleller hver á 45 ml, mens de to siste vannprøvene ble brukt til å gjennomføre to kontroll; vekst kontroll og negativ kontroll. Vannprøven på 250 ml ble brukt til å måle sentrale vannkvalitetsparametere.

#### 4.2.5.1 Inokulering av vannprøvene

Prosedyren for inokulasjon av vannprøvene er en modifisert utgave av fremgangsmåten gitt i analyse 9217B i Standard Methods (Waak, ingen dato). Metoden gjengitt nedenfor gir en beskrivelse av nødvendig steg som må gjennomføres for analyse av naturlig og potensiell AOC.

8 av totalt 10 vannprøver fra hvert prøvepunkt, ble tilsatt 40 µL natriumthiosulfatløsning per 40 ml vannprøve. Løsningen ble tilsatt for å nøytralisere eventuelle klorrester som kan forekomme i drikkevannet. For å kunne analysere konsentrasjonen av potensiell AOC i drikkevannet, ble det tilsatt ytterligere 100 µL løsning av mineralsalter per 40 ml vannprøve i 4 av flaskene. De 4 resterende vannprøvene ble benyttet til analyse av naturlig AOC. For å drepe uønskede mikroorganismer som kan påvirke analysen, ble vannprøvene pasteurisert. Pasteuriseringsprosessen foregikk ved å varmebehandle prøvene i et vannbad som holdt 70°C i 30 minutter. Videre ble prøvene satt i et vannbad med kaldt vann, for å avkjøle innholdet til romtemperatur.

Hver vannprøve ble inokulert med 500 CFU/ml av bakterieartene P17 og NOX. Basert på resultatet fra ligning [4-1], samt volumet av vannprøvene som skal inokuleres, kan nødvendig volum for å oppnå kravet om 500 CFU/ml beregnes for hver av bakteriestammene. Resultatet representerer antall milliliter løsning. Følgende formel er gitt i Standard Methods (Eaton *mfl.*, 1998):

$$\text{Volum av inokulum} = \frac{(500 \text{ CFU/ml}) \cdot (\text{antall ml/prøve})}{\text{CFU/ml bakteriesuspensjon}} \quad [4-2]$$

Vannprøvene ble tilsatt nødvendig volum av bakteriesuspensjonen for å oppnå 500 CFU/ml for hver av bakterieartene. Videre ble prøvene inkubert i et varmeskap med temperatur lik 23°C i 3 til 5 dager.

#### 4.2.5.2 Bakterieantall i vannprøvene

På dag 3, 4 og 5 etter inokulering, ble bakterieantallet i vannprøvene fastslått. For et fåtall av prøvelokasjonen, ble bakterieantallet også bestemt på dag 6. Samme fremgangsmåte som beskrevet i kapittel 4.2.3, ble benyttet til dette formålet. Det er flere grunner til at

bakterieantallet bør bestemmes over en 3 -dagers periode. For det første vil det føre til at resultatet er mer pålitelige. Videre kan en slik analyse brukes til å fastslå om stasjonær fase i bakteriesuspensjonen er oppnådd. Selv i stasjonær fase, vil det kunne forekomme variasjoner i resultatet fra en dag til en annen. I følge Standard Methods er det vanlig med daglige variasjoner mellom 11% og 16% prosent av gjennomsnittet for P17. Hvis det er registrert over 20% variasjon i resultatet, kan det indikere at stasjonær fase ikke er oppnådd. Fastsettelse av bakterieantall etter lenger inkubasjonsperiode vil da være nødvendig. I denne oppgaven ble det antatt at analysert utført over en 3- dagers periode, gav tilstrekkelige resultater.

#### 4.2.6 Bestemmelse av AOC

Den totale konsentrasjonen av AOC ble beregnet som summen av AOC unyttet av P17 og tilsvarende for NOX. Samme formel benyttes for å kalkulere andelen fortært av de to bakteriestammene, men utbyttefaktoren for acetat er forskjellig. Empiriske utbyttefaktorer kan benyttes samt verdier beregnet på bakgrunn av egne resultat observert fra blank og utbytte kontrollene.

##### 4.2.6.1 Utbyttefaktor for acetat

To ulike tilnæringer til utbyttefaktoren for acetat kan benyttes i beregninger av konsentrasjonen av AOC for en bakteriesuspensjon. Den ene metoden benytter utbyttefaktorer utledet i tidligere studier. Ved inkubasjonstemperatur lik 15°C, er den empiriske utbyttefaktoren for P17 og NOX henholdsvis lik  $4,1 \times 10^6$  CFU P17/ $\mu\text{g}$  acetat-C og  $1,2 \times 10^7$  CFU NOX/ $\mu\text{g}$  acetat-C.

Hvis en annen inkubasjonstemperatur enn 15°C benyttes, er det anbefalt at utbyttefaktorene fastslås for det aktuelle forsøket. Formelen gjengitt under kan brukes for å finne utbyttefaktoren til P17 og NOX (Eaton et al., 1998). Verdien beregnes ut ifra resultater observert fra blank og utbytte kontrollen for hver av bakterieartene, forklart nærmere i kapittel x. Resultatet angis i enheten P17/NOX CFU/ $\mu\text{g}$  acetat-C.

$$\text{Utbyttefaktor} = \frac{[(\text{P17/NOX CFU/ml:utbytte kontroll}) - (\text{P17/NOX CFU/ml:blankkontroll})]}{100 \mu\text{g acetat-C/L}} \quad [4-3]$$

##### 4.2.6.2 Beregning av AOC konsentrasjon

Basert på resultater fra analysen av vannprøvene, ble konsentrasjonen av AOC kalkulert. En geometrisk gjennomsnittverdi for P17 og NOX ble beregnet for hver enkelt parallell, basert på



resultater observert over en 3-dagers periode. Den geometriske gjennomsnittverdien ble beregnet etter følgende formel:

$$g = \sqrt[n]{x_1 * x_2 * \dots * x_n} \quad [4-4]$$

Hvor x er verdien av hvert enkelt resultat og n er antall observasjoner i tallrekken.

Konsentrasjonen av AOC analysert av P17 og NOX, bestemmes etter følgende formler, gitt i Standard Methods (Eaton *mfl.*, 1998):

$$\mu\text{g AOC}_{P17}/\text{L} = [(\text{geo. gjen. P17 CFU/ml})(1/\text{utbyttfaktor}) * 1000 \text{ ml/L}] \quad [4-5]$$

$$\mu\text{g AOC}_{NOX}/\text{L} = [(\text{geo. gjen. NOX CFU/ml})(1/\text{utbyttfaktor})] * 1000 \text{ ml/L} \quad [4-6]$$

Den totale konsentrasjonene av AOC beregnes som summen av AOC analysert av henholdsvis P17 og NOX.

#### 4.2.7 Kvalitetskontroll/Validering av resultat

Implementering av kvalitetskontroller er svært viktig ved gjennomføring av et vitenskapelig forsøk. Kontrollene øker studiets validitet ved å minimere innvirkningen til variabler som kan påvirke resultatet. Påliteligheten til resultatene økes ofte gjennom sammenligning av kontrollmålingen og de faktiske målingene fra det aktuelle eksperimentet. Standard Methods nevner tre ulike kontrollprøver som bør inkluderes ved analysering av AOK-innhold i drikkevann: «blank control», «yield control» og «growth control». I tillegg bør en «negative control» inkluderes som en fjerde vitenskapelig kontroll.

##### 4.2.7.1 Blank kontroll

En såkalt «blank control» brukes for å utelukke at glassflaskene som vannprøvene lagres i, kan være en kilde til AOK kontaminering (Kaplan, Bott og Reasoner, 1993) Hvis resultatet er null vekst, indikerer dette at beholderen ikke fører til økt mengde AOK i vannprøven. I denne oppgaven ble kontrollen benyttet til å beregne utbyttfaktoren til bakterieløsningene.

I en 45 ml glassflaske, fylles organisk karbonfritt vann (Milli-Q vann) opp til begynnelsen av flaskehalsen. Ved bruk av karbonfritt vann, fortynnes mineralsaltløsningen i forholdet 10:1. 100 µL fortynnet løsning tilsettes i flasken, sammen med 100 µL natriumtiosulfat løsning. Prøven pasteuriseres, før den inokuleres med P-17 og NOX og inkuberes i 3 dager. Telling av bakteriekolonier gjøres i henhold til prosedyren forklart tidligere i oppgaven.

#### 4.2.7.2 Utbytte kontroll

Innenfor noen retninger i mikrobiologien brukes «yield control» til å kontrollere veksten av testbakterier i en blanding av karbonfritt vann og en kjemisk løsning som eneste kilde til organisk karbon. I denne oppgaven ble kontrollen benyttet til å beregne utbyttefaktoren til bakterieløsningene.

I dette tilfelle gjennomføres en slik kvalitetskontroll ved å tilsette 100 µL mineralsaltløsning, 100 µL natriumtiosulfat og 100 µL fortynnet natriumacetatløsning i en 45 ml glassflaske, fylt med karbonfritt vann. Fortynningen av natriumacetatløsningen skal ha en endelig konsentrasjon lik 40 mg/L. For å fullføre kontrollen, gjennomføres standard prosedyren for AOK biotest.

#### 4.2.7.3 Vekst kontroll

For å undersøke om inhibering av vannprøven kan ha oppstått, gjennomføres en såkalt «growth control» (Kaplan *mfl.*, 1993). Metoden innebærer å tilsette en kjemisk løsning, som i dette tilfelle er mineralsalter og organisk karbon. Formålet med kvalitetskontrollen er evaluere hvordan korrigering med natriumacetat vil påvirke veksten av bakteriekulturene i vannprøven.

100 µL fortynnet mineralsaltløsning og tilsvarende mengde fortynnet løsning av natriumacetat, tilsettes til en 45-ml glassflaske med vannprøve. Videre følges standard prosedyre for gjennomføring av AOK biotest. Resultatet fra de tre nevnte kvalitetskontrollene og vannprøven i seg selv, kan brukes til å kontrollere om karbon er begrensende faktorer eller om vannprøven er hemmende for bakteriekulturen. Utfallet fremgår ved å benytte et sett av ligninger med tilhørende konklusjon (Eaton *mfl.*, 1998).

#### 4.2.7.4 Negativ kontroll

Ved gjennomføring av en negativ kontroll, ønsker man å undersøke hvordan den aktuelle løsningen responderer når man på forhånd forventer at eksperimentet anvendt ikke skal gi noe slags form for resultater. Ved måling av AOK i drikkevann, unnlates vannprøven å inokuleres med P-17 og NOX. Forventet resultat av den negative kontrollen er at vekst av bakterier ikke skal forekomme.

Analysen utføres på samme måte som ved bestemmelse av  $AOC_{\text{potensiell}}$ , hvor natriumtiosulfat og en mineralløsning tilsettes før prosedyren for telling av kolonier gjennomføres. Hovedforskjellen er at ingen bakteriekulturer tilsettes i vannprøven.

### 4.3 Statistiske analyser

Excel ble benyttet som program for behandling av data og til å utføre statistiske analyser. For hver parallell, ble en geometrisk gjennomsnittskonsentrasjon av resultatene over en 3- eller 4-dagers periode beregnet. Ved store avvik i analysen for en av de fire parallellene, ble resultatene fra denne parallellen ekskludert i beregningen av den gjennomsnittlige AOC konsentrasjonene.

I denne oppgaven, ble Pearsons korrelasjonskoeffisient benyttet til å analysere samvariasjonen mellom AOC og andre kvalitetsparametere. Korrelasjonskoeffisienten representerer et tall mellom -1 og +1, hvor verdier nære disse ytterpunktene representerer henholdsvis en fullstendig negativ og positiv samvariasjon. Hvis  $r$  er nær 0, finnes det ingen korrelasjon mellom variablene. Verdien av  $r$  ble regnet ved hjelp av lineær regresjon i Excel. Før dette ble gjort, var all data omdannet til logaritmiske verdier.

Selv om to variable viser god korrelasjon, betyr ikke dette at det er en årsak-virkning effekt. For å undersøke dette, kan en hypotesetest for lineær korrelasjon utføres. Hypotesetesten undersøker om det er grunnlag for å forkaste en nullhypotese, basert på datagrunnlaget. I dette tilfelle er nullhypotesen,  $H_0$  at det ikke finnes noe korrelasjon mellom variablene. En tosidig test skrives på følgende måte:

$$H_0: \rho = 0 \text{ vs. } H_1: \rho \neq 0 \quad [4-7]$$

En teoretisk verdi av  $t$  kan bestemmes basert på et valgt signifikansnivå  $\alpha$ , antall observasjoner,  $n$  og antall frihetsgrader  $n$ . Den kritiske verdien ble funnet fra statistiske tabeller for analyse av  $t$ -test. Videre kan  $t$ -verdien for det aktuelle datasettet bestemmes ved bruk av formelen nedenfor. Verdien beregnes på bakgrunn kan antall observasjoner og korrelasjonskoeffisienten funnet tidligere.

$$t_0 = \frac{r}{\sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}}} \quad [4-8]$$

Nullhypotesen forkastes hvis den beregnede  $t$  verdien overskrider den kritiske verdien for det valgte signifikansnivået. Resultatet indikerer at det er en lineær korrelasjon mellom variablene. Hvis nullhypotesen ikke forkastes, betyr dette at man ikke kan konkludere med at det er en lineær korrelasjon.



## 5 Resultater og diskusjon

### 5.1 Vannkvalitetsparametere

En full oversikt over resultatene for de ulike vannkvalitetsparametere målt ved samtlige prøvelokasjonene, er gitt i Tabell 5.1. Basert på målingene av pH verdier, er det tydelig at karbonatisering av drikkevannet har økt vannet pH. Etter korrosjonskontroll, var pH verdien for alle prøvelokasjonen mellom 8,0 og 8,3. Resultatene viser at pH var innenfor anbefalte verdier, presentert i Tabell 2.1. Spesifikasjoner for ulike kvalitetsparametere. I den norske drikkevannstandarden er det anbefalt at turbiditeten ut av vannbehandlingsanlegget ikke skal overskride 1 FNU. Målinger utført i dette studiet, viser at turbiditeten i drikkevannet er vesentlig lavere enn kravet. Imidlertid skal det nevnes at det observerte en liten økning i turbiditeten i vannet fra Valgrinda.

Konsentrasjonen av TOC rangerte mellom 2,76 mg/L og 3,21 mg/L, hvor den høyeste verdien ikke overraskende var observert i råvannet. Gjennom vannbehandlingsprosessen ble det målt en nedgang på 0,16 mg/L TOC, hvorav den største andelen ble fjernet gjennom marmorfiltrering. I distribusjonssystemet ble det observert noen variasjoner i TOC konsentrasjonen. Den laveste konsentrasjonen var målt i drikkevannet fra Buran, mens den høyeste ble funnet drikkevannet fra Valgrinda. Kun i drikkevannet cirka 10 etter klorering, var det registrert rester av klor. Her var innholdet av fritt klor lik 0,1 mg/L, som tilsvarer den laveste klordosen som måleinstrumentet kunne påvise. Selv om disse resultatene indikerte at drikkevannet ut fra vannbehandlingsanlegget ikke innholdt noe fritt klor, er det det grunn til å tro at dette kan komme av liten nøyaktighet på utstyret anvendt.

Tabell 5.1. Målte vannkvalitetsparametere for de valgte prøvelokasjonene

<b>Prøvelokasjon</b>	<b>pH [-]</b>	<b>Turbiditet [FNU]</b>	<b>TOC [mg/L]</b>	<b>Fritt klor [mg/L]</b>
<b>Råvann</b>	7,4	0,37	3,21	0
<b>Klorert vann</b>	8,2	0,22	3,07	0,1
<b>UV-behandlet vann</b>	8,3	0,16	3,05	0
<b>Pumpeasjon</b>	8,0	0,17	3,04	0
<b>Reservoar</b>	8,3	0,17	2,88	0
<b>Lade</b>	8,3	0,11	2,96	0
<b>Valgrinda</b>	8,2	0,25	3,14	0
<b>Buran</b>	8,3	0,13	2,76	0

## 5.2 Assimilerbart organisk karbon

### 5.2.1 Bakteriekulturer

To bakteriesuspensjoner ble fremstilt for P17, samt en for NOX. Ved fastsettelse av bakterieantall, ble påvist for lavt bakterieantall i stamløsningene for både NOX og P17. For å fremme ytterligere vekst, ble det derfor valgt å tilsette ytterligere 250 µL natriumacetatløsning. Videre ble prosedyren beskrevet i kapittel 4.2.2 fulgt. På tilsvarende tidspunkt ble det også påvist uregelmessig kontaminering av agarplatene inkubert med stamløsning av NOX. En ny bakterieløsning ble derfor preparert. For å sikre tilstrekkelig bakteriekonsentrasjon i den nye bakteriesuspensjonen, ble det besluttet å anvende tre bakteriekolonier i stedet for en. Siden vekstmediet for NOX tidligere gav minimal vekst av bakterier, ble koloniene overført fra en av agarplatene som var brukt til bestemmelse av bakterieantall, hvor kontaminering ikke hadde oppstått. Videre er de aktuelle bakterieløsningene presentert som P17-A, P17-B og NOX.

Som følge av uforutsette problemer med for lite bakterieløsning av P17, var det nødvendig å lag en ny bakteriesuspensjon, P17-C. Tilsvarende som for NOX, ble det benyttet to bakteriekolonier, overført fra en av agarplatene med vekst av P17, for å lage den nye bakterieløsninger. En oversikt over samtlige prøvelokasjoner og dato for innhenting av vannprøver, samt hvilken bakteriesuspensjon av P17 som ble benyttet til analyse av AOC er gitt i Tabell 5.2.

Tabell 5.2. Oversikt over prøvelokasjoner, dato for innhenting av vannprøver og bakteriesuspensjon av P17, benyttet til analyse av AOC

<b>Prøvelokasjon</b>	<b>Dato for innhenting av vannprøver</b>	<b>Bakteriesuspensjon</b>
<b>Råvann</b>	18.04.18	P17-A
<b>UV-behandlet vann</b>	18.04.18	P17-B
<b>Valgrinda</b>	20.04.18	P17-C
<b>Lade</b>	25.04.18	P17-C
<b>Buran</b>	25.04.18	P17-C
<b>Pumpestasjon</b>	25.04.18	P17-C
<b>Reservoar</b>	25.04.18	P17-C
<b>Råvann</b>	18.05.18	P17-C
<b>Klorert vann</b>	18.05.18	P17-C
<b>UV-behandlet vann</b>	18.05.18	P17-C
<b>Valgrinda</b>	18.05.18	P17-C

### 5.2.2 Volum av bakteriell inokulum

Volum av inokulum som tilsvarer 500 CFU/ml for de ulike bakteriesuspensjonene av P17 og NOX, er vist i Tabell 5.3. For hver bakterielløsning, ble det preparert to fortynningsrekker. Opptellingen av bakteriekolonier ble utført på bakgrunn av minimum to paralleller for hver av fortynningsrekkene.

I litteraturen er det anbefalt å utføre ny opptelling av bakteriekolonier hvis stamløsningen skal benyttes over 30 dager etter preparering. Over tid er det forventet at antall bakterier vil avta. Dette kan føre til at det er nødvendig å tilsette et høyere volum av bakteriekulturen enn tidligere. På bakgrunn av nyetablerte resultater, ble derfor ny nødvendig mengde bakteriell inokulum beregnet. Tilhørende data for P17-C2 og NOX2 representerer disse verdiene.



Tabell 5.3. Bakteriesuspensjon samt tilhørende verdier for nødvendig volum av inokulum

Bakteriesuspensjon	Volum av inokulum [ $\mu\text{L}$ ]
<b>P17-A</b>	1650
<b>P17-B</b>	1300
<b>P17-C1</b>	310
<b>P17-C2</b>	449
<b>NOX-1</b>	22,5
<b>NOX-2</b>	20,1

Antagelsene om at koloniantallet vil avta over tid, stemte godt overens med resultatet registrert for stamløsningen P17-C. Beregninger viste at basert på bakterieantallet cirka en måned etter første telling, må ytterligere 139  $\mu\text{L}$  av bakteriesuspensjonen tilsettes for å oppnå samme krav. Bakteriesuspensjonen NOX-2 gav derimot motsatt resultat enn hva som var forventet. Det skal nevnes at volumet av denne bakterieløsningen var beregnet på bakgrunn av bakterieantall fra kun en fortynningsrekke. Resultatet kan derfor ikke sies å være sikkert. Det virker også usannsynlig at bakterieantallet har økt etter en måned, ved oppbevaring i  $4^{\circ}\text{C}$ . Av den grunn ble det besluttet å bruke 22,5  $\mu\text{L}$  av bakteriesuspensjonen av NOX for alle prøvelokasjonene

### 5.2.3 Bestemmelse av utbyttefaktorer

Resultater av blank kontroll og utbytte kontroll, samt utbyttefaktor for de ulike bakterieløsningene er gitt i Tabell 5.4. Utbyttefaktorene er beregnet fra ligning [4-3]. Verdiene for P17-A, P17-B, P17-C og NOX representerer geometrisk gjennomsnitt av kolonier observert på to paralleller fra en fortynningsrekke. Videre var P17-C2 beregnet på bakgrunn av registrert koloniantall over en 3-dagers periode.

Tabell 5.4. Ulike bakterieløsninger benyttet samt beregnede utbyttefaktor

Bakterieløsning	Blank kontroll [CFU/ml]	Utbytte kontroll [CFU/ml]	Utbyttefaktor [CFU/ $\mu\text{g}$ acetat-C]
<b>P17-A</b>	7162	244540	2373780
<b>P17-B</b>	1000	179722	1787220
<b>P17-C1</b>	3400	150997	1475967
<b>P17-C2</b>	106759	539077	4323176
<b>NOX</b>	136605	792128	6555235

Fra resultater i Tabell 5.4. er det registrert at utbyttedefaktoren for de ulike bakteriesuspensjonene for P17, varierer i en viss grad. Sammenlignet med den tidligere utledet empiriske utbyttedefaktoren for P17 lik  $4,1 \cdot 10^6$  CFU/ $\mu$ g acetat-C, er verdiene nokså lave. Analysen av blank og utbytte kontrollen for P17-A, P17-B, P17-C1 ble inokulert med både P17 og NOX. Dette er ikke i samsvar med prosedyren, hvor separate blanke kontroller hvor hver bakterieart er nødvendig. Dette kan være en av årsakene til at resultatet avviker fra de empiriske verdiene. Videre skal det nevnes at kontrollene ble utført i underkant av to uker etter at analysen av vannprøvene. I løpet av disse to ukene kan bakterieantallet i løsningen ha avtatt, som et resultat av minimalt med næringsstoffer tilgjengelig. Dette kan være enda en grunn til at utbyttedefaktoren for de tre stamløsningen for P17, er lavere enn det man skulle ha antatt før start. Utbyttedefaktoren for P17-C2 stemmer svært godt overens med den empiriske utbyttedefaktoren for P17. Begge kontrollene ble utført i henhold til prosedyre over en 3-dagers periode, og verdiene ble beregnet som geometrisk gjennomsnitt. På bakgrunn av stor usikkerhet i resultatet, ble det valgt å bruke de allerede etablerte utbyttedefaktorene for P17 og NOX i beregningene av AOC konsentrasjonen.

#### 5.2.4 Totaloversikt

Vannprøver fra totalt 8 prøvelokasjoner ble analysert for naturlig og potensiell assimilert organisk karbon. En total oversikt over samtlige analyser gjennomført, er gitt i Vedlegg B. Kun resultatene av analysen fra vannprøvene hentet inn på datoene 25.04 og 18.05, er diskutert videre (Tabell 5.2). Bakgrunnen for at disse datasettene ble ekskludert av resultatdelen, var at vannprøvene fra disse prøvepunktene ble analysert to ganger. Den siste analysen gav bedre resultat enn den første, og derfor ble disse datasettene valgt. Tabell 5.5 viser en oversikt over den totale gjennomsnittskonsentrasjonen av naturlig og potensiell AOC, samt tilhørende standardavvik beregnet på bakgrunn av vannprøver fra samtlige prøvelokasjoner. Av Tabell 5.6. fremgår beregnet gjennomsnittsverdier, standardavvik, minimum- og maksimumsverdier, samt 25- og 75-prosentiler for naturlig og potensiell AOC analysert av bakteriearten *P. fluorescens*, P17. Tilsvarende resultater analysert av *Spirillum sp.*, NOX, er presentert i Tabell 5.7. Videre i oppgaven brukes benevnningen  $\mu$ g/L for konsentrasjonen av AOC.

Verdier for gjennomsnitt og standardavvik er beregnet på bakgrunn av resultater fra minimum 2 paralleller. Videre representerer verdiene fra hver parallell et geometrisk gjennomsnitt, basert på resultater fra minimum 2 ulike dager. Minimum- og maksimumsverdier er beregnet på

bakgrunn av resultater observert for hver parallell, alle dagene. Prosentilene kan defineres som en verdi, i dette tilfelle AOC konsentrasjonen, som er mindre eller lik henholdsvis 25% og 75% av observasjonene. Resultatene kan brukes som et mål på spredningen av resultater observert for samtlige vannprøver, analysert over en 3-dagers periode. Ingen av de negative kontrollene viste noe tegn til vekst, og er derfor ikke vist. Resultatene av vekst kontrollene er heller ikke presentert, da analysen ikke gav tilstrekkelige mengder med data.

*Tabell 5.5. Gjennomsnittskonsentrasjon av total naturlig og potensiell AOC, samt tilhørende standardavvik*

<b>Prøvelokasjon</b>	<b>Gjennomsnitt ± SD [µg/L]</b>	
	<b>Naturlig AOC<sub>tot</sub></b>	<b>Potensiell AOC<sub>tot</sub></b>
<b>Råvann</b>	27,6 ± 7,1	216 ± 14,6
<b>Klorert vann</b>	70,6 ± 6	215 ± 51,2
<b>UV-behandlet vann</b>	72 ± 7,4	268 ± 29,6
<b>Pumpestasjon</b>	47,6 ± 4,7	168 ± 38,6
<b>Reservoar</b>	33,9 ± 4	71,1 ± 10,1
<b>Valgrinda</b>	28 ± 3,7	244 ± 4,8
<b>Buran</b>	42,7 ± 3,9	75,4 ± 16,8
<b>Lade</b>	45,3 ± 6,2	71,7 ± 14,5

Tabell 5.6. Konsentrasjon av naturlig og potensiell AOC analysert av *P. fluorescens* P17 for alle prøvelokasjoner

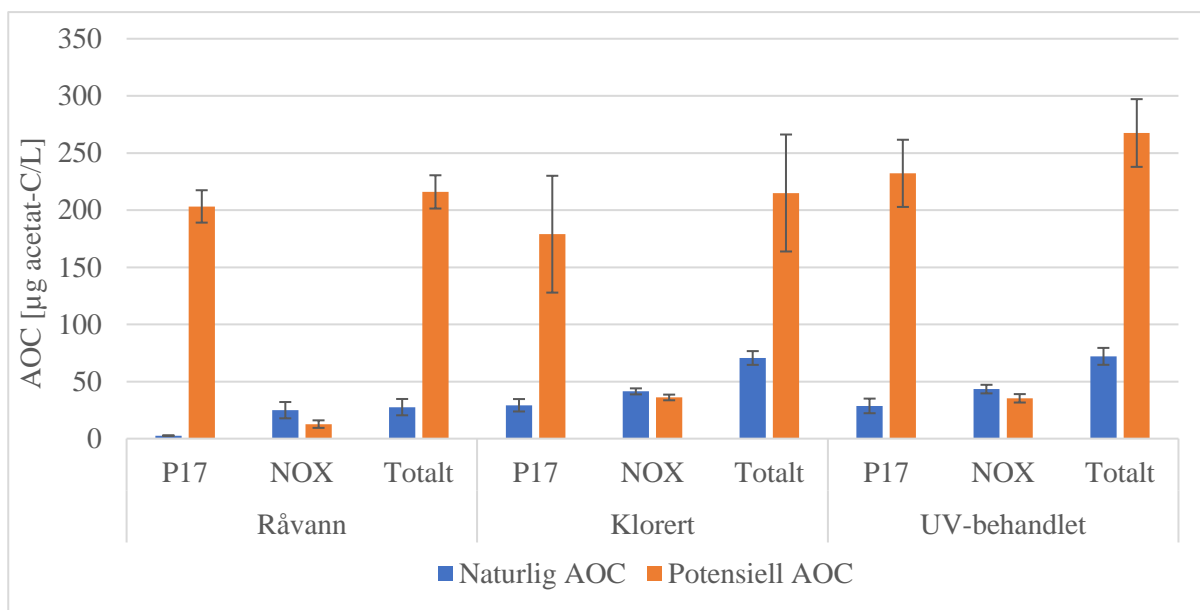
Prøvelokasjon	Naturlig AOC <sub>P17</sub> [µg/L]					Potensiell AOC <sub>P17</sub> [µg/L]				
	n	Gjennomsnitt ± SD	Min-Maks	25- prosentil	75- prosentil	n	Gjennomsnitt ± SD	Min-Maks	25- prosentil	75- prosentil
<b>Råvann</b>	11	2,7 ± 0,2	0,22-37,6	0,84	9,02	9	203 ± 14,2	127-263	184	237
<b>Klorert vann</b>	12	29,2 ± 5,4	0,51-171	35	112	9	179 ± 51,5	105-290	149	184
<b>UV-behandlet vann</b>	12	28,6 ± 6,4	0,41-244	42,4	151	8	232 ± 29,4	92,7-463	171	342
<b>Pumpestasjon</b>	7	18,9 ± 4,4	12,2-31,7	15,9	22	9	122 ± 36,7	82,9-268	90,2	137
<b>Høydebasseng</b>	6	3,6 ± 2,4	1,46-22	1,52	4,09	9	40,9 ± 9,9	24,4-73,2	34,1	48,8
<b>Valgrinda</b>	7	0,6 ± 0,4	0,12-1,54	0,23	1,07	8	222 ± 4,4	181-268	192	256
<b>Buran</b>	8	10,5 ± 3,0	2,44-48,8	5,43	19,5	8	48,9 ± 16,5	24,4-97,6	33,5	75
<b>Lade</b>	8	19,8 ± 4,7	9,76-48,8	15,2	24,4	4	49,7 ± 14,2	29,3-61	47,6	59,1

Tabell 5.7. Konsentrasjon av naturlig og potensiell AOC analysert av *Spirillum* sp., NOX for alle prøvelokasjoner

Prøvelokasjon	Naturlig AOC <sub>P17</sub> [µg/L]					Potensiell AOC <sub>P17</sub> [µg/L]				
	n	Gjennomsnitt ± SD	Min-Maks	25- prosentil	75- prosentil	n	Gjennomsnitt ± SD	Min-Maks	25- prosentil	75- prosentil
<b>Råvann</b>	16	24,9 ± 7,1	14,2-50,8	16,7	37,5	11	12,7 ± 3,3	6,67-50	7,92	16,7
<b>Klorert vann</b>	12	41,4 ± 2,6	28,3-60	34	50,2	11	36,1 ± 2,5	26,7-58,3	31,3	39,2
<b>UV-behandlet vann</b>	15	43,4 ± 3,8	33,3-60	38,3	47,5	7	35,3 ± 3,7	28,3-41,7	33,3	39,6
<b>Pumpestasjon</b>	7	28,7 ± 1,7	25-34,2	25,8	31,3	8	46,3 ± 12,2	16,7-83,3	33,3	58,3
<b>Høydebasseng</b>	10	30,5 ± 3,2	20-50	25,4	34	9	30,2 ± 2,4	20,8-50	25,8	33,3
<b>Valgrinda</b>	10	27,4 ± 0,4	19,2-35	24,4	32,3	8	21,4 ± 1,8	18,3-25,8	20,4	23,8
<b>Buran</b>	9	32,1 ± 2,5	22,5-38,3	29,2	37,5	9	26,6 ± 3,4	15-50	20,8	33,3
<b>Lade</b>	8	25,5 ± 4,1	16,7-31,7	23,5	29,6	7	22 ± 2,6	16,7-25,8	19,2	24,6

### 5.2.5 Observasjoner gjennom vannbehandlingsprosessen

Resultater fra analysen av assimilerbart organisk karbon i vannprøver fra råvannet, cirka 10 minutter etter klorering og etter UV-behandling fremgår av Figur 5.1. Stolpediagrammet presenterer konsentrasjonen av naturlig og potensiell AOC, samt tilhørende standardavvik gitt av Tabell 5.5.



Figur 5.1. Gjennomsnittskonsentrasjon for naturlig og potensiell AOC for råvann, samt etter klorering og UV-behandling. Feilfelt er gitt som standardavvik.

Resultatene presentert i Figur 5.1 viste en tydelig forskjell i total konsentrasjon av naturlig og potensiell AOC. For samtlige vannprøver samlet inn ved VIVA, gav tilsetning av mineralsalter en betydelig økning i total konsentrasjon av AOC. Forskjellen mellom  $AOC_{\text{naturlig}}$  og  $AOC_{\text{potensiell}}$  var høyest etter UV-behandling og etter klorering. Den totale gjennomsnittskonsentrasjonen for  $AOC_{\text{naturlig}}$  var  $27,6 \mu\text{g/L}$ , og henholdsvis  $70,6 \mu\text{g/L}$  og  $72 \mu\text{g/L}$  etter klorering og UV-behandling (Tabell 5.5). Innholdet av  $AOC_{\text{potensiell}}$  for de tre prøvepunktene var imidlertid  $216 \mu\text{g/L}$ ,  $215 \mu\text{g/L}$  og  $268 \mu\text{g/L}$ . Disse resultatene indikerte at mangel på uorganiske næringsstoffer var den begrensende faktoren for vekst av bakterier, og ikke organiske karbon.

Resultatene er i samsvar med resultater observert i tidligere studier hvor humusrikt vann har blitt analysert (Miettinen *mfl.*, 1997b; 1999; Charnock *mfl.*, 2000). Samlet sett viste undersøkelser av råvann og drikkevann i både Norge og Finland en økning i AOC ved tilsetning av uorganiske næringsstoffer. Charnock og Kjønnø (2000) fant at konsentrasjonen av AOC

påvist av P17 økte med 10 µg/L i råvannet etter tilsetning av mineralsalter. I drikkevannet avtok konsentrasjonen med 4 µg/L. Imidlertid var forskjellen mellom AOC<sub>naturlig</sub> og AOC<sub>potensiell</sub> vesentlig mindre enn den observert i det pågående studiet. Dette kan tyde på at forekomsten av AOC som kan bli bruk som energi og karbonkilde av P17, var betraktelig høyere i det siste studiet. I motsetning til resultatene beskrevet ovenfor, ble det påvist lavere konsentrasjoner av AOC som kan bli unyttet av NOX, ved tilsetning av uorganiske næringsstoffer. Hva som var årsaken til denne nedgangen var ukjent.

Av resultatene presentert i Figur 5.1, fremgår det også variasjoner i AOC som følge av de ulike vannbehandlingsprosessene. Imidlertid ble det påvist svært ulike trender for total AOC<sub>naturlig</sub> og AOC<sub>potensiell</sub>. Den største økningen i AOC<sub>naturlig</sub> fant sted etter klorering, hvor AOC konsentrasjonen steg med 156%. Videre var forskjellen i AOC<sub>potensiell</sub> i råvannet og etter klorering kun 1 µg/L. Det skal nevnes at standardavviket for vannprøvene etter klorering, er betydelig høyere enn for råvannet. At det i virkeligheten vil kunne forekomme variasjoner i potensiell AOC for disse prøvepunktene, er derfor ikke usannsynlig.

Økt forekomst av AOC<sub>naturlig</sub> som en følge av klorering, er i samsvar med resultater observert i tidligere studier (Charnock *mfl.*, 2000; Polanska *mfl.*, 2005; Liu *mfl.*, 2015). Gjennom analyser av vannprøver for ulike vannbehandlingstrinn ved et vannverk i Belgia, observerte Polanska, Huysman og van Keer (2005) en gjennomgående moderat økning i AOC etter klorering. Ved tilsetning av fri klor med konsentrasjon fra 0,2 til 0,3 mg/L, var den gjennomsnittlige økningen i AOC 31 µg/L. Imidlertid ble det observert enkelthendelser hvor AOC konsentrasjonen økte med 621% av den opprinnelige mengden. Liu *mfl.* (2015) registrerte en tydelig økning i AOC i perioden mellom 0 og 4 timer etter tilsetning av fritt klor. Før vannprøven fra distribusjonssystemet var tilsatt 0,3 mg/L desinfeksjonsmiddel, ble AOC innholdet analysert til 168 µg/L (Liu *mfl.*, 2015). Etter 4 timer, hadde konsentrasjonen økt til 446 µg/L. Liu *mfl.* (2015) konkluderte at AOC ble dannet som følge av oksidasjon av tilgjengelig organisk materiale.

Basert på disse observasjonene, er det tenkelig at klorering kan være hovedårsakene til produksjonen av AOC<sub>naturlig</sub>, registrert i dette studiet. Charnock og Kjønnø (2000) påpekte at en av årsakene til dette, kan være knyttet til at råvannet i Norge har et gjennomgående høyt innhold av humus. På bakgrunn av funnene av Liu *mfl.* (2015), er det naturlig å anta at et høyere innhold av organisk materiale øker sjansen for omdannelse av organiske forbindelser til AOC gjennom oksidering. Likevel kan man ikke med sikkerhet fastslå at økningen i AOC<sub>naturlig</sub> alene

er et resultat av klorbehandlingen. Som nevnt i kapittel 0, anvender VIVA karbonatisering som korrosjonskontroll. I dette studie er det ikke utført analyser av vannprøver etter karbonatisering. Det finnes derfor ikke noe data som kan brukes til å analysere innvirkningen av denne prosessen alene på konsentrasjonen av AOC.

I en pågående studie ble imidlertid innvirkninger av korrosjonskontroll, samt klorering og UV-behandling på AOC konsentrasjonen i drikkevannet på VIVA analysert (Waak, 2018). I råvannet var konsentrasjonen for AOC<sub>naturlig</sub> og AOC<sub>potensiell</sub> nærmest identisk, cirka 25 µg/L. Videre viste analysen at mengde AOC etter karbonatisering hadde økt med cirka 50 µg/L og 35 µg/L for henholdsvis naturlig og potensiell AOC. Funnene i drikkevannet etter klorering, representerte en økning på i underkant av 20 µg/L for AOC<sub>naturlig</sub> og i overkant av 40 µg/L for AOC<sub>potensiell</sub>. Observasjonene indikerte at produksjonen av AOC var større under karbonatisering, enn klorering. På bakgrunn av disse opplysningen finnes det ikke noe grunnlag for å konkludere med at de nye observasjonene i økningen av AOC etter klorering, alene er et resultat av klorbehandlingen.

Før og etter UV-behandling var den totale konsentrasjonen av AOC<sub>naturlig</sub> ved VIVA nærmest identisk. Forskjellen tilsvarte en økning på kun 2%. Basert på 25- og 75-prosentilen for AOC utnyttet av P17 og NOX, kan man imidlertid si med høyere sikkerhet at årsaken til økningen var UV desinfeksjon (Tabell 5.6 og 5.7). Videre ble den største veksten av AOC<sub>potensiell</sub> under vannbehandlingsprosessen identifisert etter UV-behandling. I en pågående studie ble en nokså klar økning i AOC som følge av UV-behandling ved VIVA observert (Waak, 2018). I det ferdig behandlede drikkevannet, var de endelige konsentrasjonene omtrent lik 135 µg/L for AOC<sub>naturlig</sub>, mens konsentrasjonen var 120 µg/L ved tilsetning av mineralsalter. Imidlertid observerte Charnock og Kjønne (2000) en klar reduksjon i AOC ved 3 norske vannverk som benytter UV som desinfeksjonsmetode. Samlet sett kan dette tyde på at det er flere faktorer som kan påvirke evnen UV-stråling har på reduksjonen av AOC.

Variasjoner i AOC konsentrasjonen i råvann og drikkevann i Norge, har tidligere blitt observert av Charnock og Kjønne (2000). Resultater av analyser utført ved totalt 16 vannverk, viste en gjennomsnittlig reduksjon i AOC<sub>naturlig</sub> fra 27,3 µg/L i råvannet til 23,8 µg/L i drikkevannet (Charnock *mfl.*, 2000). Ved VIVA observerte imidlertid Charnock og Kjønne (2000) en økning på 29% for naturlig AOC. Gjennom vannbehandlingsprosessen steg konsentrasjonen fra 28 µg/L til 36 µg/L. Det er viktig å nevne at disse verdiene var kun basert på analyser av én bakterieart, *P. fluorescens* P17. Videre registrerte Charnock og Kjønne (2000) en avtakende



konsentrasjon av AOC<sub>potensiell</sub> fra 38 µg/L i råvannet til 32 µg/L i drikkevannet. Til sammenligning, økte andelen AOC<sub>naturlig</sub> påvist av P17 fra 2,7 til 28,6 µg/L og 202 til 232 µg/L for AOC<sub>potensiell</sub>. Dette tilsvarte en økning på henholdsvis 959% og 14%.

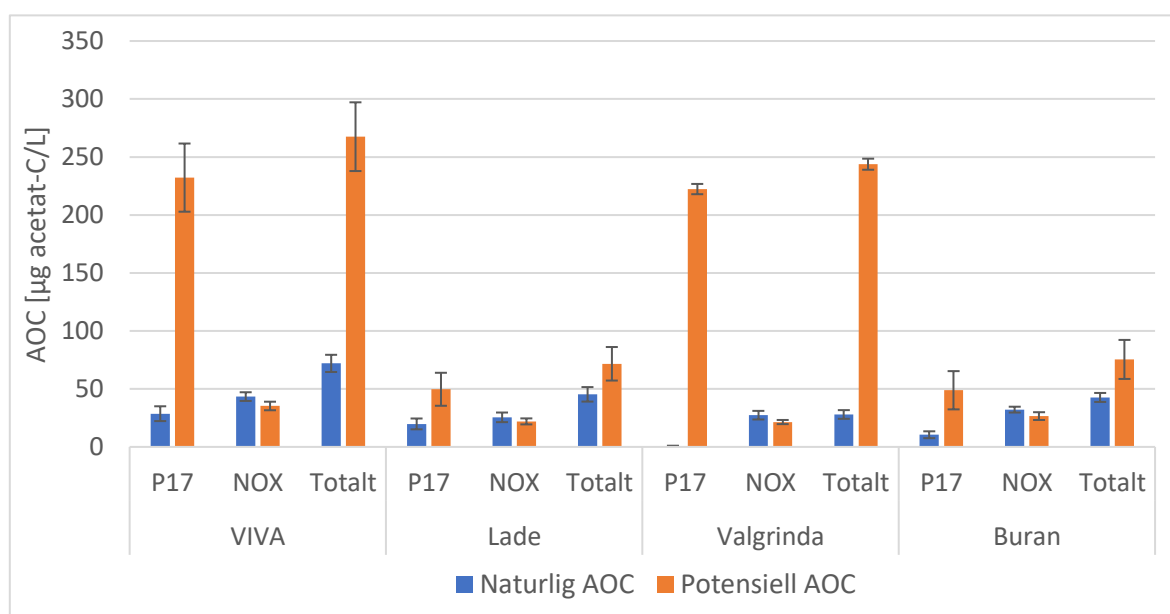
Analyser utført i dette studiet, har vist at andelen AOC som kan påvises av NOX utgjør en vesentlig andel av den totale konsentrasjonen av naturlig AOC. Dette samsvarer med resultater funnet av Miettinen *mfl.* (1999) i drikkevann i Finland, hvor hovedandelen av AOC innholdet ble analysert av NOX. Tidligere studier hvor AOC innholdet i norsk drikkevann har blitt analysert, hovedsakelig benyttet seg én bakterieart, P17 (Charnock *mfl.*, 2000). På bakgrunn av disse opplysningene finnes det grunnlag til å tro at ved å unnlate NOX fra analysen, kan dette påvirke det endelige resultatet i nokså stor grad. Når saltløsningen ble tilsatt, var derimot P17 den dominerende bakteriearten. For samtlige prøvelokasjoner, var AOC analysert av P17 den viktigste bidragsyteren til den totale konsentrasjonen. Dette fremgår svært tydelig av Figur 5.1.

Basert på AOC konsentrasjonen ut av vannverket, er det tydelig at drikkevannet ikke tilfredsstillt kravet om biologisk stabilt drikkevann (Van der Kooij, 1992). Van der Kooij (1992) konkluderte at for å hindre ettervekst av heterotrofe bakterier, må forekomsten av AOC i det ferdig produsert drikkevannet være lavere enn 10 µg/L AOC. I dette forsøket var utløpskonsentrasjonen imidlertid 7 ganger så høy. Som diskutert tidligere, har høyt innhold av AOC ut fra vannverket blitt knyttet til økt forekomst av *E. coli* (LeChevallier *mfl.*, 1987). Resultatene fra dette forsøket, indikerer derfor at problemene med koliforme bakterier kan større enn antatt.

## 5.2.6 Observasjoner i distribusjonssystemet

En oversikt over konsentrasjoner av naturlig og potensiell AOC for 3 ulike prøvepunkter langs distribusjonssystemet samt i det ferdig behandlede vannet, fremgår av Figur 5.2.

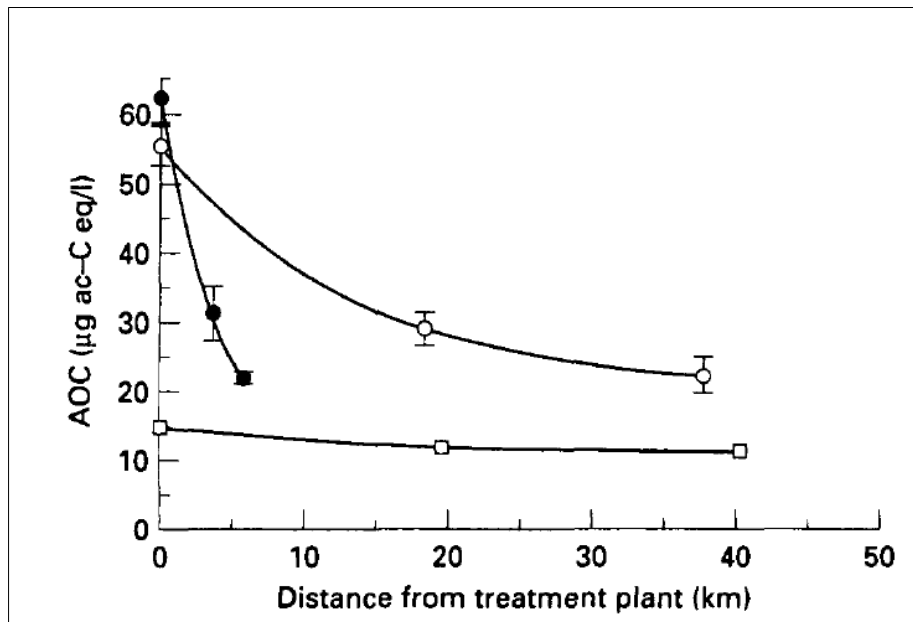
Videre viser grafen gjennomsnittsverdier og standardavvik for AOC analysert av P17 og NOX, i tillegg til den samlede totale konsentrasjonen. Fra VIVA til prøvelokasjonene ved Lade, Valgrinda og Buran, har vannet transportert henholdsvis 6.0, 6.3, og 6.4 km. Det er antatt at de minimale variasjonene mellom distansene, ikke har påvirket resultatet i noe vesentlig grad.



Figur 5.2. Gjennomsnittskonsentrasjon for naturlig og potensiell AOC for drikkevann ved VIVA, Valgrinda, Buran og Lade. Feilfelt er gitt som standardavvik.

For samtlige prøvelokasjoner nedstrøms for VIVA, var det observert en nedgang i den totale konsentrasjonen av naturlig og potensiell AOC. Den største nedgangen i  $AOC_{\text{naturlig}}$  ble observert mellom utløpskonsentrasjonen på VIVA og Valgrinda, hvor reduksjonen var på 61%. I drikkevannet fra Buran og Lade, var nedgangen på henholdsvis 41% og 37%. Målinger av total potensiell AOC viste også en nedgang i mengde AOC for de aktuelle prøvelokasjonene i ledningsnett. Imidlertid ble det påvist store variasjoner i funnene. Mellom VIVA og Valgrinda var reduksjonen i AOC cirka 9%. Videre indikerte resultatene en nedgang på hele 72% og 73% for henholdsvis Buran og Lade. Resultatene indikerer at AOC har blitt konsumert i ledningsnett.

Distribusjonssystemet innvirkning på AOC konsentrasjonen har blitt diskutert i flere studier de siste tiårene (LeChevallier *mfl.*, 1987, 1991; Van der Kooij *mfl.*, 1989; Miettinen *mfl.*, 1997a; Van der Kooij, 1999). Allerede i 1987 oppdaget LeChevallier *mfl.* (1987) at AOC konsentrasjonen avtok ved økt distanse fra vannbehandlingsanlegget. Tilsvarende trend ble påvist et par år senere av Van der Kooij *mfl.* (1989). I et studie av Van Der Kooij (1999) ble disse observasjonene presentert i en tilpasset oversikt, gjengitt i denne oppgaven som Figur 5.3.



Figur 5.3. Variasjoner i AOC med økende avstand fra vannverket for tre ulike distribusjonssystemer (Van Der Kooij, 1999 etter Van der Kooij, Hijnen og Kruithof, 1989).

Resultatene presentert i Figur 5.3, kan til en viss grad sammenlignes med funnene av  $AOC_{\text{naturlig}}$  fra det pågående studiet. I distribusjonsnett hvor den opprinnelige konsentrasjonen av AOC ut av vannverket var høy, fremgår det av Figur 5.3 en tydelig nedgang i AOC. Dette stemmer godt overens med målingene fra distribusjonssystemet i Trondheim. Ved VIVA ble utløpskonsentrasjonen målt til 72 µg/L. Etter cirka 6 km, var den totale konsentrasjonen for Lade, Valgrina og Buran, henholdsvis 45,3 µg/L, 28 µg/L og 42,6 µg/L. Van der Kooij *mfl.* (1989) begrunnet at reduksjonen i AOC under distribusjon i all hovedsak er grunnet bakteriell vekst på røroverflaten, nærmere bestemt som biofilm.

Funn av (Miettinen *mfl.*, 1997a) støtter også opp under observasjonene registrert i det pågående studie. Målinger av AOC konsentrasjonen i distribusjonssystemer med drikkevannet produsert av overflatevann, viste en gjennomsnittlig nedgang på hele 40%. Reduksjonen er tilnærmet lik

den som ble funnet for to av prøvepunktene langs distribusjonssystemet i Trondheim. Det skal nevnes at konsentrasjonen i det ferdigbehandlede vannet var signifikant høyere enn for Trondheim, cirka 400 µg/L (Miettinen *mfl.*, 1997a).

Det kan være flere grunner til at AOC<sub>naturlig</sub> konsentrasjonen ved Valgrinda var lavere enn for de to andre prøvelokasjonene, selv om avstanden fra vannverket var lik. Det er stor grunn til å tro at en av hovedgrunnen er at ledningsnettets fra VIVA til de tre punktene består av ulike materialer. Fra VIVA transporteres vannet gjennom et felles rør av betong<sup>1</sup>, før vannet fordeles ut til de ulike distriktene. Områdene Lade og Buran mottar drikkevann som har i all hovedsak blitt distribuert gjennom disse betongrørene. Imidlertid består vannledningene i områdene rundt Valgrinda av duktilt støpejern. Studier har vist at dannelsen av biofilm er generelt større for støpejernsrør enn sementbaserte rør (Niquette, Servais og Savoie, 2000)(Niquette *mfl.*, 2000). Det er tenkelig at høyere bakteriell tetthet i ledningsnettets vil føre til økt forbruk av AOC. Observasjonene gjort av Niquette *mfl.* (2000) kan derfor til en viss grad forklarer variasjonene funnet i distribusjonssystemet i Trondheim.

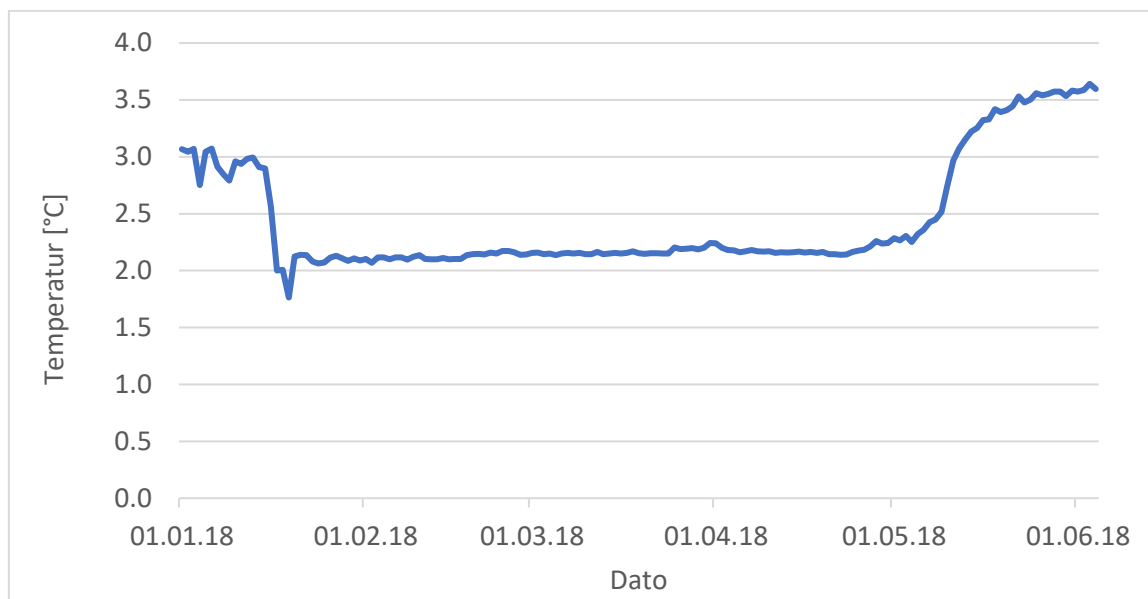
Som allerede diskutert i forrige kapittel, ble det påvist en stor økning i AOC ved tilsetning av ytterligere uorganiske næringsstoffer i vannprøvene fra VIVA. Tilsvarende resultater ble også observert i drikkevannet fra Valgrinda. Forskjellen mellom AOC<sub>naturlig</sub> og AOC<sub>potensiell</sub> var på hele 216 µg/L, noe som representerer den største økningen av alle prøvelokasjonene analysert. I motsetning, økte forekomsten av AOC med 32,7 µg/L og 26,4 µg/L i drikkevann uten vekst begrensninger fra Buran og Lade. Figur 5.2 viser også tydelige resultater på at andelen av AOC analysert av P17, var mye høyere enn for NOX. Dette er i samsvar med resultatene presentert i Figur 5.1.

En forklaring på denne markante forskjellen i forbruk av AOC kan være tidspunktet for innsamling av vannprøvene. Prøvene fra VIVA og Valgrinda ble samlet inn 18.mai, nøyaktig én måned etter vannprøvene fra Buran og Lade. Både variasjoner i temperatur og turbiditet kan være faktorer som har påvirket prøveresultatene. Variasjoner i råvannstemperaturen ved VIVA i 2018 fremgår av Figur 5.4.4. Figuren viser en tydelig temperaturøkning fra midten av april til midten av mai. Første dag med innsamling av vannprøver var råvannstemperaturen 2,16 °C, mens på andre dag innsamling var temperaturen i råvannet hele 3,42 °C. Dette representerer en

---

<sup>1</sup> Sentab-ledning

økning på hele 58,3%. Videre er det stor sannsynlighet for at temperaturen i ledningsnettet har vært vesentlig høyere i mai enn i april på grunne av eksponering for varme fra sola.

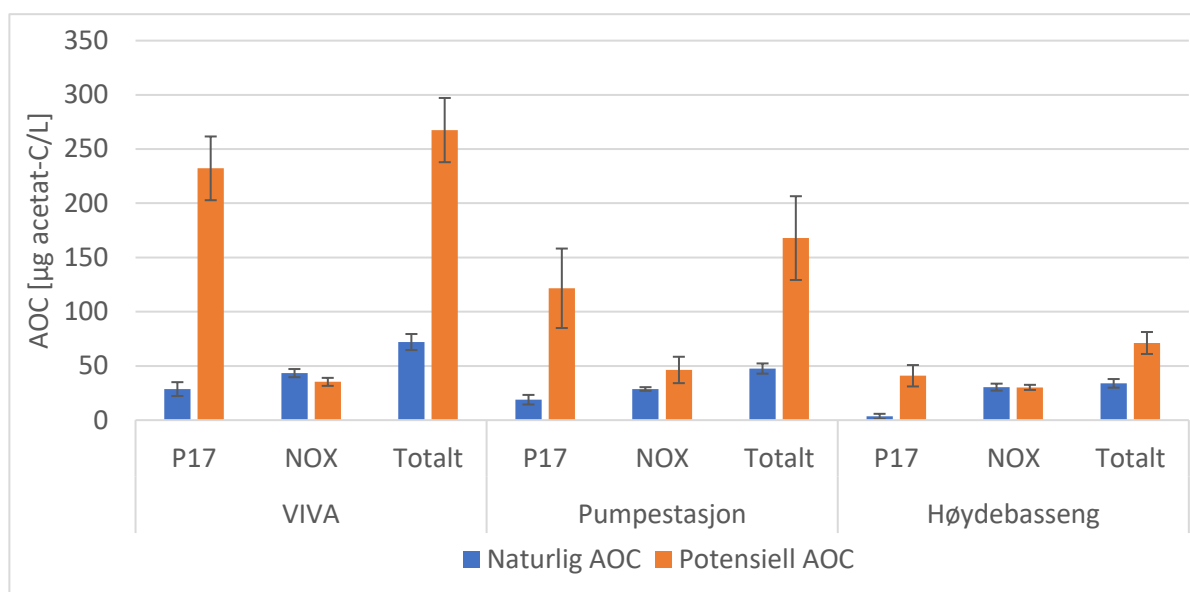


Figur 5.4. Målte temperaturer i råvannet ved VIVA så langt i 2018 (Trondheim kommune, 2017).

I samme periode som det ble observert temperaturøkning i drikkevannet, økte også turbiditeten i råvannet og det behandlede drikkevannet økte. Ved første innsamling av vannprøver var turbiditeten i råvannet 0,07 FTU og henholdsvis 0,044 FTU og 0,033 FTU i de to ulike vannbehandlingslinjene. Ved andre innsamling, var imidlertid turbiditeten 0,08 FTU i råvannet, samt 0,058 FTU og 0,047 FTU i drikkevannet. Situasjoner hvor det er observert noe høyere turbiditet, kan ofte knyttes til sirkulering i råvannskilden. Når temperaturene øker på våren, vil vannmassene i innsjøen sirkulerer over en kort periode. Dette kan føre til at humusrikt overflatevann føres ned til dypere nivå, slik at karakteristikken til vannet som tappes ut endres. Det er ikke utenkelig at vårsirkulasjonene i Jonsvatnet inntraff i første halvdel av mai. Dette vil kunne forklare noe av de store variasjonene observert.

## 5.2.7 Observasjoner ved pumpestasjon og reservoar

Av Figur 5.5 fremgår resultater for naturlig og potensiell AOC, analysert i vannprøver fra pumpestasjonen på Jakobsli og reservoaret på Steinan. Innvirkningen av disse installasjonene er presentert i forhold til den opprinnelige mengden  $AOC_{\text{naturlig}}$  og  $AOC_{\text{potensiell}}$  i det ferdigbehandlede drikkevannet på VIVA. For hver enkelt lokasjon er gjennomsnittskonsentrasjonen og standardavviket basert på analyser av P17, NOX og den totale mengden vist.



Figur 5.5. Gjennomsnittskonsentrasjon for naturlig og potensiell AOC drikkevann ved VIVA, pumpestasjon og reservoar. Feilfelt er gitt som standardavvik.

Samlet sett, viser resultatene fra Figur 5.5 en avtagende konsentrasjon av naturlig og potensiell AOC i drikkevannet fra pumpestasjonen og reservoaret. Innholdet av  $AOC_{\text{naturlig}}$  sank fra 72 µg/L til 47,6 µg/L i vannprøvene fra pumpestasjonen, og videre til 33,9 µg/L i reservoaret. Dette representerer en nedgang fra opprinnelig utløpskonsentrasjon på henholdsvis 34% og 53%. Også for disse prøvelokasjonene, ble det observert store variasjoner mellom naturlig og potensiell AOC. Den største forskjellen ble observert ved VIVA, hvor den totale konsentrasjonen av AOC økte med 196% ved supplerende mineralsalter. I vannprøvene fra pumpestasjonen økte gjennomsnittskonsentrasjonen fra 47,6 µg/L til 168 µg/L. Analyser fra reservoaret vist en økning fra 33,9 µg/L til 71,1 µg/L. Både med og uten tilsetning av uorganiske næringsstoffer, var konsentrasjonen lavest i drikkevannet i reservoaret.

Nedgangen i AOC observert i Figur 5.3, er et resultat av bakterier som har brukt disse forbindelsen som energi og karbonkilde. Som diskutert i forrige kapittel, har lignende resultater blitt observert i studier hvor AOC analyser har blitt gjennomført nedstrøms for vannverket (LeChevallier *mfl.*, 1987; Van der Kooij *mfl.*, 1989; Miettinen *mfl.*, 1997b, 1999; Van der Kooij, 1999). Det er også stor grunn til å tro at reduksjonen i høydebassenget kan knyttes til oppholdstiden til vannet. I kapittel 2.5, ble det diskutert hvordan lengre oppholdstid kan føre til økt ettervekst i ledningsnett. Kerr *mfl.* (2003) mente at stillestående vann vil i mange tilfeller føre til større mulighet for biofilmdannelse. I perioder kan drikkevannet i reservoarene ha høy oppholdstid, i tillegg til at vannet er i lite bevegelse. Derfor er det tenkelig at det kan oppstå gode forhold for ettervekst i reservoarene, som videre kan føre til redusert AOC konsentrasjon.

Tilsvarende som for Buran og Lade, ble vannprøvene fra pumpestasjonen og høydebassengetsamlet inn én måned før prøvene fra VIVA. Variasjonene i  $AOC_{\text{potensiell}}$  i drikkevannet for de ulike prøvepunkter presentert i forrige kapittel, gav indikasjoner på at konsentrasjonen var sterkt påvirket av tidspunktet for når vannprøvene var samlet inn. Imidlertid var reduksjonen i  $AOC_{\text{potensiell}}$  nærmest like stor mellom VIVA og pumpestasjonen, som pumpestasjonen og høydebassenget. I motsetning til de andre vannprøvene som var tappet i april, ble det også påvist en nokså stor forskjellen mellom  $AOC_{\text{naturlig}}$  og  $AOC_{\text{potensiell}}$  i drikkevannet fra pumpestasjonen. Dette kan tyde på at tidspunktet for innsamling av prøvene ikke har hatt like stor innvirkning på resultatet som først antatt.

### 5.2.8 Statistiske analyser

Korrelasjonen mellom de ulike variablene ble testet på et 5% signifikansnivå. Siden regresjonsmodellen består av to ukjente parametere, beregnes antall frihetsgrader som antall observasjoner minus 2. T-verdiene fra en ensidig test med  $\alpha = 0,05$  og  $n = 6$ , gav en kritisk t-verdi,  $t=1,953$ . Resultatene fra Tabell 5.8 indikerer at det ikke finnes noe lineær korrelasjon mellom  $AOC_{\text{naturlig}}$  og pH, turbiditet eller TOC. For  $AOC_{\text{potensiell}}$  ble det konkludert med at det fantes en lineær korrelasjon for turbiditet og TOC for et signifikansnivå lik 0,05. Resultatene indikerer at det kan finnes en sammenheng mellom disse parameterne og påvisning av potensiell AOC i drikkevannet.

Tabell 5.8. Resultater av ensidig t-test

<b>Første variabel</b>	<b>Andre variabel</b>	<b>Korrelasjons koeffisient, r</b>	<b>t-verdi</b>	<b>p-verdi</b>
<b>AOC<sub>naturlig</sub></b>	pH	0,42	1,13	> 0,05
	Turbiditet	-0,39	-1,04	> 0,05
	TOC	-0,06	-0,14	> 0,05
<b>AOC<sub>potensiell</sub></b>	pH	-0,29	-0,74	> 0,05
	Turbiditet	0,56	1,66	< 0,05
	TOC	0,81	3,38	< 0,05



## 6 Konklusjon

I denne oppgaven er AOC konsentrasjonen analysert i drikkevann fra åtte ulike prøvelokasjoner i Trondheim. Resultatene fra de forskjellige vannprøvene ble benyttet til å vurdere påvirkningen av vannbehandlingsprosessene ved Vikelvdalen vannbehandlingsanlegg på konsentrasjonen av AOC, samt effekten av ulike elementer i distribusjonssystemet.

Basert på resultatene fra AOC analysen, ble det observert en økning i  $AOC_{\text{naturlig}}$  gjennom hele vannbehandlingsprosessen. Den største konsentrasjonsendringen ble funnet mellom råvannet og drikkevannet 10 minutter etter klorering, hvor økningen var 156%. Til sammenligning gav UV-bestråling en minimal økning som tilsvarte kun 2%. Disse resultatene er i samsvar med funn fra tidligere studier (Charnock *mfl.*, 2000; Polanska *mfl.*, 2005; Liu *mfl.*, 2015; Waak, 2018). Av resultatene er det svært tydelig at desinfeksjon med klor og korrosjonskontroll, produserte større mengder med AOC enn UV-bestråling. Verdien av  $AOC_{\text{potensiell}}$  viste derimot nærmest ingen forskjell etter klorering, men en økning etter UV-bestråling.

Nedstrøms for Vikelvdalen vannbehandlingsanlegg var det observert en nedgang i både naturlig og potensiell AOC. Det samme gjelder også for vannprøver fra pumpestasjonen og høydebassenget. Resultatene tyder på at heterotrofe bakterier i ledningsnettets har omdannet tilgjengelige forbindelser av AOC til biomasse. Konsentrasjonen av  $AOC_{\text{naturlig}}$  var nokså jevn for prøvepunktene plassert cirka 6 km fra vannverket, mens store variasjoner var registrert for  $AOC_{\text{potensiell}}$ . Disse variasjonene er høyst sannsynlig et resultat av ulike naturlige faktorer, men også faktorer som prøvetaknings tidspunkt, rørmateriale og hydrauliske forhold. Resultatene fra studie indikerte at drikkevannet i Trondheim ikke er biologisk stabilt. Det er derfor grunn til å tro at helsemessige, estiske og tekniske problemer kan oppstå. For å hindre disse problemene, bør vannverket se på løsninger hvor større mengder organisk karbon blir fjernet.

Ved tilsetning av uorganiske næringsstoffer i vannprøvene, ble det observert en økning i den totale mengden AOC for samtlige prøvelokasjoner. Tilsvarende resultater ble observert av (Miettinen *mfl.*, 1997b, 1999). Videre er det tydelig at den hovedandelen av  $AOC_{\text{potensiell}}$  er analysert av bakteriearten *P. fluorescens*, P17. I drikkevannet ut fra VIVA og på enkelte punkter langs forsyningsnettets var forskjellen mellom  $AOC_{\text{naturlig}}$  og  $AOC_{\text{potensiell}}$  over 120  $\mu\text{g/L}$ . Resultatene indikerer at andre næringsstoffer enn organisk karbon er den begrensende faktoren for biologisk vekst.

Behovet for vannbehandling av råvannet fra Jonsvatnet er generelt lite omfattende. Behandlingsprosessen består hovedsakelig av korrosjonskontroll, som bidrar til noe fjerning

av organisk karbon. Ved tilfeller hvor det blir tilført ytterligere næringssalter i råvannet, er det derfor stor sannsynlighet for at dette ikke blir fjernet fra drikkevannet og utfordringer med beleggdannelse i form av biofilm i ledningsnettet kan forekomme. En kilde til næringssalter som fosfor og nitrogen kan for eksempel være økt forbruk av gjødsel på et jordbruk i et nærliggende område. For å øke påliteligheten til drikkevannskvaliteten til enhver tid, viser disse observasjonene at vannverket bør vurdere overvåking og fjerning av uorganiske næringsstoffer.

## 6.1 Videre arbeid

Flere ulike analyser hadde vært interessant å inkludere i videre arbeid av oppgaven. For det første ville analyser av AOC i drikkevann fra flere prøvelokasjoner kunne bidratt til en mer detaljert evaluering i forhold til hvordan ulike elementer påvirker konsentrasjonen av AOC. Fastsettelse av AOC innholdet i drikkevannet etter korrosjonskontroll og langs flere punkter nedstrøms for vannverket er eksempler slike prøvelokasjoner. Videre ville analysert utført over et helt år gitt en dypere forståelse av ytre påvirkningsfaktorer som for eksempel temperatur.

Analyser av biologisk nedbrytbart, løst organisk karbon, kunne også vært interessant å diskutere og videre vurderer i forhold til analyser av assimilert organisk karbon. Resultater av begge disse parameterne ville ført til en mer fullstendig oversikt over forekomst av organisk karbon som kan føre til bakteriell vekst.

## 7 Referanser

Broo, A., Berghult, B. og Hedberg, T. (1999) «Drinking water distribution - The effect of natural organic matter (NOM) on the corrosion of iron and copper». Redigert av A. Broo og H. Oedegaard, s. 17–24. doi: 10.1016/S0273-1223(99)00635-6.

Charnock, Colin (2000) «Bestemmelse av biotilgjengelig karbon (AOC og BDOC) ved norske vannverk», *Norwegian Institute of Public Health*. Tilgjengelig på: <https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/tema/drikkevann/09-bestemmelse-av-biotilgjengelig-karbon-aoc-og-bdoc-ved-norske-vannverk.pdf>.

Charnock, Colin og Kjønnø, Ocelie (2000) «Assimilable organic carbon and biodegradable dissolved organic carbon in Norwegian raw and drinking waters», *Water Research*, 34(10), s. 2629–2642. doi: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00007-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00007-5).

Crittenden, John og Harza, Montgomery Watson (2005) *Water treatment principles and design*. Hoboken, N.J.: J. Wiley.

Eaton, A. D., Clesceri, L. S., Greenberg, A. E. og Franson, M. A. H. (1998) «Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater», *American Public Health Association*, (20th Edition).

Emde, K. M. E., Smith, D. W. og Facey, R. (1992) «Initial investigation of microbially influenced corrosion (MIC) in a low temperature water distribution system», *Water Research*, 26(2), s. 169–175. doi: 10.1016/0043-1354(92)90216-Q.

Escobar, Isabel C. og Randall, Andrew A. (2001) «Assimilable organic carbon (AOC) and biodegradable dissolved organic carbon (BDOC):: complementary measurements», *Water Research*, 35(18), s. 4444–4454. doi: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00173-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00173-7).

Escobar, Isabel C., Randall, Andrew A. og Taylor, James S. (2001) «Bacterial growth in distribution systems: effect of assimilable organic carbon and biodegradable dissolved organic carbon.(Statistical Data Included)», *Environmental Science & Technology*, 35(17), s. 3442. doi: 10.1021/es0106669.

Folkehelseinstituttet (2012) «Mikrobiologiske drikkevannsanalyser- hva forteller de?» Tilgjengelig på: <https://www.fhi.no/ml/drikkevann/nasjonal-vannvakt/mikrobiologiske-drikkevannsanalyser/>.

Folkehelseinstituttet (2015) *Vannkvalitetsendring i ledningsnett - en kompleks problematikk*. Tilgjengelig på: <https://www.fhi.no/ml/drikkevann/ovrige-artikler/vannkvalitetsendring-i-ledningsnett/>.

Folkehelseinstituttet (2018) *Campylobacteriose - veileder for helsepersonell*. Tilgjengelig på: <https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/campylobacteriose---veileder-for-he/#diagnostikk>.

Goshko, Marc A., Minnigh, Harvey A., Pipes, Wesley O. og Christian, Robert R. (1983) «Relationships between standard plate counts and other parameters in water distribution systems», *Journal - American Water Works Association*, 75(11), s. 568–571. doi: 10.1002/j.1551-8833.1983.tb05229.x.

Helse- og omsorgsdepartementet (2016) «Forskriften om vannforsyning og drikkevann (drikkevannforskriften)». Tilgjengelig på: <https://lovdata.no/dokument/LTI/forskrift/2016-12-22-1868>.

Hem, Lars J. (2003) *Biostabilitet i drikkevannsledninger*. Tilgjengelig på: [https://www.forskningsradet.no/csstorage/flex\\_attachment/Biostabilitet\\_i\\_drikkevannsledninger\\_drikkevannsforskning.pdf](https://www.forskningsradet.no/csstorage/flex_attachment/Biostabilitet_i_drikkevannsledninger_drikkevannsforskning.pdf).

Kaplan, Louis A., Bott, Thomas L. og Reasoner, Donald J. (1993) «Evaluation and simplification of the assimilable organic carbon nutrient bioassay for bacterial growth in drinking water», *Applied and environmental microbiology*, 59(5), s. 1532–1539.

Kerr, Charmain J., Osborn, Keith S., Rickard, Alex H., Robson, Geoff D. og Handley, Pauline S. (2003) «Biofilms in water distribution systems», i *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. Elsevier, s. 757–775.

Van der Kooij, D. (1999) «Potential for biofilm development in drinking water distribution systems», *J. Appl. Microbiol.*, 85, s. 39S–44S.

Van der Kooij, D., Hijnen, W. A. M. og Kruithof, J. C. (1989) «The effects of ozonation, biological filtration and distribution on the concentration of easily assimilable organic carbon (AOC) in drinking water», *Ozone: science & engineering*, 11(3), s. 297–311.

Van der Kooij, D. og Veenendaal, H. (2001) «Biomass production potential of materials in contact with drinking water: method and practical importance». Redigert av D. Van der Kooij, B. Berghult, A. Elfstroem Broo, og T. Hedberg, s. 39–45.

Van der Kooij, Dick, Hein, J., Lieverloo, M., Schellart, Jon og Hiemstra, Peter (1999) «Maintaining quality without a disinfectant residual», *Journal - American Water Works Association*, 91(1), s. 55–64. doi: 10.1002/j.1551-8833.1999.tb08568.x.

Van der Kooij, Dirk (1992) «Assimilable Organic Carbon as an Indicator of Bacterial Regrowth», *Journal (American Water Works Association)*. American Water Works Association, 84(2), s. 57–65. Tilgjengelig på: <http://www.jstor.org/stable/41293634>.

Van Der Kooij, Dirk, Visser, A. og Hijnen, W. A. M. (1982) «Determining the concentration of easily assimilable organic carbon in drinking water», *American Water Works Association*, s. 540–545. Tilgjengelig på: [https://www.researchgate.net/publication/245903791\\_Determining\\_the\\_concentration\\_of\\_easily\\_assimilable\\_organic\\_carbon\\_in\\_drinking\\_water](https://www.researchgate.net/publication/245903791_Determining_the_concentration_of_easily_assimilable_organic_carbon_in_drinking_water).

Lasheras, Agnes, Boulestreau, Helene, Rogues, Anne-Marie, Ohayon-Courtes, Celine, Labadie, Jean-Claude og Gachie, Jean-Pierre (2006) «Influence of amoebae and physical and chemical characteristics of water on presence and proliferation of Legionella species in hospital water systems», *American Journal of Infection Control*, 34(8), s. 520–525. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2006.03.007>.

LeChevallier, M. W., Seidler, R. J. og Evans, T. M. (1980) «Enumeration and characterization of standard plate count bacteria in chlorinated and raw water supplies», *Applied and environmental microbiology*, 40(5), s. 922.

LeChevallier, M. W., Welch, N. J. og Smith, D. B. (1996) «Full-scale studies of factors related to coliform regrowth in drinking water», *Applied and environmental microbiology*, 62(7), s. 2201–2211.

LeChevallier, Mark W. (1990) «Coliform Regrowth in Drinking Water: A Review», *Journal (American Water Works Association)*. American Water Works Association, 82(11), s. 74–86. Tilgjengelig på: <http://www.jstor.org/stable/41293076>.

LeChevallier, Mark W., Babcock, Timothy M. og Lee, Ramon G. (1987) «Examination and characterization of distribution system biofilms», *Applied and environmental microbiology*, 53(12), s. 2714–2724.

LeChevallier, Mark W., Schulz, William og Lee, Ramon G. (1991) «Bacterial nutrients in drinking water», *Applied and environmental microbiology*, 57(3), s. 857–862.

Liu, W., Wu, H., Wang, Z., Ong, S. L., Hu, J. Y. og Ng, W. J. (2002) «Investigation of assimilable organic carbon (AOC) and bacterial regrowth in drinking water distribution system», *Water Research*, 36(4), s. 891–898. doi: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00296-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00296-2).

Liu, Xiaolu, Wang, Jingqi, Liu, Tingting, Kong, Weiwen, He, Xiaoqing, Jin, Yi, *mfl.* (2015) «Effects of assimilable organic carbon and free chlorine on bacterial growth in drinking water», *PLoS One*, 10(6), s. e0128825. Tilgjengelig på: [https://www.researchgate.net/publication/279154878\\_Effects\\_of\\_Assimilable\\_Organic\\_Carbon\\_and\\_Free\\_Chlorine\\_on\\_Bacterial\\_Growth\\_in\\_Drinking\\_Water](https://www.researchgate.net/publication/279154878_Effects_of_Assimilable_Organic_Carbon_and_Free_Chlorine_on_Bacterial_Growth_in_Drinking_Water).

Lønn-Stensrud, Jessica (2018) *Biofilm*, *Store norske leksikon*. Tilgjengelig på: <https://sml.snl.no/biofilm>.

Matilainen, Anu, Gjessing, Egil T., Lahtinen, Tanja, Hed, Leif, Bhatnagar, Amit og Sillanpää, Mika (2011) «An overview of the methods used in the characterisation of natural organic matter (NOM) in relation to drinking water treatment», *Chemosphere*, 83(11), s. 1431–1442. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.01.018>.

Mattilsynet (2017) «Strenger krav til drikkevannet ditt». Tilgjengelig på: <https://www.ntbinfo.no/pressemedling/strengere-krav-til-drikkevannet-ditt?publisherId=10773547&releaseId=13909030>.

Miettinen, Ilkka T., Vartiainen, Terttu og Martikainen, Pertti J. (1997a) «Microbial growth and assimilable organic carbon in finnish drinking waters», *Water Science and Technology*, 35(11), s. 301–306. doi: [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00276-X](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00276-X).

Miettinen, Ilkka T., Vartiainen, Terttu og Martikainen, Pertti J. (1997b) «Phosphorus and bacterial growth in drinking water», *Applied and environmental microbiology*, 63(8), s. 3242.

Miettinen, Ilkka T., Vartiainen, Terttu og Martikainen, Pertti J. (1999) «Determination of assimilable organic carbon in humus-rich drinking waters», *Water Research*, 33(10), s. 2277–2282. doi: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00461-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00461-8).

Niquette, Patrick, Servais, Pierre og Savoie, Raoul (2000) «Impacts of pipe materials on densities of fixed bacterial biomass in a drinking water distribution system», *Water Research*, 34(6), s. 1952–1956. doi: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00307-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00307-3).

- Nosk Vann (2015) *Korrosjonprodukter i drikkevann*. Tilgjengelig på:  
[https://norsk vann.no/images/faktaark\\_vann/v4\\_korrosjonsprodukter.pdf](https://norsk vann.no/images/faktaark_vann/v4_korrosjonsprodukter.pdf).
- Ødegaard, Hallvard, Sægrov, Sveinung, Østerhus, Stein W., Thorolfsson, Sveinn, Lindholm, Oddvar, Heistad, Arve, *mfl.* (2014) «Norsk Vann», (2. utgave).
- Polanska, Monika, Huysman, Koen og Van Keer, Chris (2005) «Investigation of assimilable organic carbon (AOC) in flemish drinking water», *Water Research*, 39(11), s. 2259–2266.  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.04.015>.
- Prest, E. I. E. ..., Vrouwenvelder, J. S., Van Loosdrecht, M. C. M. og Hammes, F. (2015) «Biological stability in drinking water distribution systems: A novel approach for systematic microbial water quality monitoring».
- Prest, E. I. E. ..., Vrouwenvelder, J. S., Van Loosdrecht, M. C. M. og Hammes, F. (2016) «Biological Stability of Drinking Water: Controlling Factors, Methods, and Challenges», *Frontiers in microbiology*. Frontiers Media S.A., 7, s. 45. doi: 10.3389/fmicb.2016.00045.
- Rubulis, J., Juhna, T., Henning, L. og Korth, A. (2007) «Methodology of modeling bacterial growth in drinking water systems», *Techneau Research Project*.
- Sillanpää, Mika (2015) «Chapter 1 - General Introduction», i *Natural Organic Matter in Water*. Butterworth-Heinemann, s. 1–15. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801503-2.00001-X>.
- Statoil (2009) *Vann - Bestemmelse av fritt og total klor - Systembeskrivelse*. Tilgjengelig på:  
[http://www.miljodirektoratet.no/Global/dokumenter/horinger/SO1500\\_Bestemmelse\\_av\\_fritt\\_og\\_total\\_klor.pdf?epslanguage=no](http://www.miljodirektoratet.no/Global/dokumenter/horinger/SO1500_Bestemmelse_av_fritt_og_total_klor.pdf?epslanguage=no).
- Trondheim kommune (2007) «Drikkevann - en livsviktig ressurs». Tilgjengelig på:  
[https://www.trondheim.kommune.no/globalassets/10-bilder-og-filer/10-byutvikling/kommunalteknikk/vann-og-avlop/vannbrosjyre\\_07\\_hel\\_lav\\_for-web.pdf](https://www.trondheim.kommune.no/globalassets/10-bilder-og-filer/10-byutvikling/kommunalteknikk/vann-og-avlop/vannbrosjyre_07_hel_lav_for-web.pdf).
- Trondheim kommune (2017) *Kommunedelplan for vannforsyning 2017-2028*. Tilgjengelig på: <https://www.trondheim.kommune.no/globalassets/10-bilder-og-filer/10-byutvikling/kommunalteknikk/hovedplaner/pi15768-komplett.pdf>.
- Waak, Michael (2018) *Pågående studie*. Personlig kontakt, februar 2018

Waak, Michael (ingen dato) *Protocol Assimilable Organic Carbon (AOC)*. Personlig kontakt, februar 2018

World Health Organization (2018) *Drinking- water*. Tilgjengelig på:  
<http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>.



# Vedlegg

## Vedlegg A

### Prosedyre for tillaging av reagenser benyttet i forsøket

#### A.1 R2A Agar

##### Nødvendig utstyr

- R2A Agar
- MilliQ vann
- Magnetrører og varmer
- 1000 ml erlenmeyer-kolbe
- Autoklav

##### Fremgangsmåte

Prosedyren for tillaging av R2A Agar er en modifisert utgave av 9215 A.6c i Standard Methods. Per liter veske, ble det anvendt 18,2 g R2A Agar pulver. I en glasskolbe, ble det tilsatt ønsket volum med MilliQ-vann samt tilhørende mengde stoff. En 1000 ml erlenmeyer-kolbe ble brukt for tilberedelse av 500 ml Agar løsning. Åpningen ble videre dekket med aluminiumsfolie. For å få en klar løsning, hvor alt pulver er oppløst, ble løsningen varmet opp til kokepunktet. Anbefalt utstyr er vannbad eller varmeplate med magnetrører. Hvis sistnevnt metode er å foretrekke, er det viktig å påse at løsningen ikke koker over. Blandingen ble deretter steriliserte ved å autoklaveres på 121 grader i 15 minutter.

I et avtrekksskap ble det fordelt 33 petriskåler med lokket på, tilsvarende en uåpnet og forseilet stable med sterile petriskåler. Når temperaturen i løsningen er omtrent 50 grader, ble hver 10-cm petriskål fylt med omkring 20 ml R2A agar. 500 ml løsning er nok til cirka en stable. Videre ble flaskehalsen brent av et par ganger før helle prosessen begynte. Innsiden av lokket på petriskålen skal til enhver tid peke nedover, for å unngå kontaminering. For å eliminere potensiell forekomst av mikroorganismer på utsiden av Petriskålene, ble petriskålene fylt med agar utsatt for UV lys i 10 minutter. Agaren ble herdet over natten, før de ble pakket i en stable i original emballasje. For å forebygge kontaminering, bør prosedyren finne sted i et avtrekksskap.

## A.2 Natriumacetat løsning

### Nødvendig utstyr

- Natriumacetattri-hydrat ( $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )
- MilliQ vann
- 50 ml glassflaske
- 45 ml hetteglass med septum skrukork
- Autoklav

### Fremgangsmåte

2,267 g natriumacetattri-hydrat ble oppløst i 1 liter MilliQ-vann. Til 40 ml ferdig løsning ble det brukt 0,0907g fast substans. Løsningen ble overført til en 45 ml hetteglass med septum skrukork, og fylt opp til begynnelsen på flaskehalsen. Videre ble korken skrudd godt på, før løsningen ble autoklavert ved  $121^\circ\text{C}$  i 15 min. Løsningen ble lagret ved  $5^\circ\text{C}$ .

## A.3 Natriumtiosulfat løsning

### Nødvendig utstyr

- Natriumtiosulfat pentahydrat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )
- MilliQ vann
- 50 ml glassflaske
- 45 ml hetteglass med septum skrukork
- Autoklav

### Fremgangsmåte

I 1 liter MilliQ ble det tilsatt 47,1 g natriumtiosulfat pentahydrat.. Til 40 ml ferdig løsning ble det brukt 1.88 g. Løsningen ble overført til en 45 ml hetteglass med septum skrukork, og fylt opp til begynnelsen på flaskehalsen. Videre ble korken skrudd godt på, før løsningen ble autoklavert ved  $121^\circ\text{C}$  i 15 min. Løsningen ble lagret ved  $5^\circ\text{C}$ .

## A.5 Mineralsalt løsning

### Nødvendig utstyr

- Kaliumhydrogenortofosfat ( $K_2HPO_4$ )
- Ammoniumnitrat ( $NH_4NO_3$ )
- Kaliumklorid (KCl)
- MilliQ vann
- 1 L glassflaske
- 45 ml hetteglass
- Autoklav

### Fremgangsmåte

85.5 mg kaliumhydrogenortofosfat ( $K_2HPO_4$ ), 572.5 mg ammoniumnitrat ( $NH_4NO_3$ ) og 533,0 mg kaliumklorid (KCl) ble overført til en 1 liters glassflaske, før 500 ml MilliQ vann ble tilsatt. Videre ble pulveret løst opp, før løsningen ble overført i 45 ml hetteglass. Lokket ble skrudd godt på, før løsningen ble autoklavert ved  $121^\circ C$  i 15 min. Løsningen ble lagret ved  $5^\circ C$ .

## A.6 Bufferløsning av fosfat

### Nødvendig utstyr

- Kaliumdihydrogenortofosfat ( $KH_2PO_4$ )
- Magnesiumklorid-heksahydrat ( $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ).
- 1M natriumhydroksid (NaOH)
- MilliQ vann
- 500 ml glassflasker

### Fremgangsmåte

17.0 g kaliumdihydrogenortofosfat ( $KH_2PO_4$ ) ble tilsatt i en 500 ml glassflaske. Videre ble det tilsatt 350 ml MilliQ vann for å løse opp det faste stoffet. Nødvendig mengder av 1M natriumhydroksid (NaOH) ble tilsatt til pH i løsningen var  $7,2 \pm 0,5$ . Videre ble løsningen fortynnet med MilliQ vann til et sluttvolum på 500 ml.

0,625 ml av løsning ble overført til en ny glassflaske med 500 ml MilliQ vann. Deretter ble det tilsatt 0,02028 g Magnesiumklorid-heksahydrat ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). Denne mengden tilsvarer 5 ml magnesiumklorid løsning. For 1 liter preparert løsning er 81.1g  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  nødvendig. Den endelige løsningen ble overført til 50 ml glassflasker og autoklavert ved  $121^\circ\text{C}$  i 15 min. Løsningen ble lagret ved  $5^\circ\text{C}$ ,

## A.5 Glyserol løsning

### Nødvendig utstyr

- 85 % glyserol
- Peptone from casein, ryptic digest
- MilliQ vann
- 50 ml glassflaske

### Fremgangsmåte

9,4 ml av 85% glyserol og 0,08g pepton ble tilsatt i en 50 ml glassflaske. Videre ble det tilsatt MilliQ vann til et sluttvolum lik 20 ml. Løsningen ble autoklavert ved  $121^\circ\text{C}$  i 15 min.

## A.4 Natriumperoksidisulfat løsning

### Nødvendig utstyr

- Natriumperoksidisulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ )
- MilliQ vann
- 1 liter glassflaske

### Fremgangsmåte

100 g natriumperoksidisulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) ble oppløst i 1 liter MilliQ vann i en glassflaske. Prosedyren ble utført i et avtrekksskap for å hindre at damp ble spredt i rommet.

## Vedlegg B

Fullstendig oversikt over all rådata som viser kolonidannede enheter per milliliter

B.1. Antall kolonidannede enheter per ml for råvannet, samlet inn 18.05.18

Råvann	Naturlig P17 [CFU/ml]				Potensiell P17 [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
<b>[18.05.18]</b>								
<b>Dag 1</b>	2500	5000	4400	5500	2200000	1080000	770000	950000
<b>Dag 2</b>	900	800	1100	INGEN RESULTAT	1320000	770000	1030000	520000
<b>Dag 3</b>	45000	160000	122000	8900	1300000	700000	INGEN RESULTAT	940000
<b>Dag 4</b>	154000	340000	29000	20000	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT
<b>Geometrisk gjennomsnitt</b>	11175	21598	11439	9930	1557089	834970	890562	774375

Råvann	Naturlig NOX [CFU/ml]				Potensiell NOX [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
<b>[18.05.18]</b>								
<b>Dag 1</b>	230000	200000	230000	290000	170000	300000	120000	110000
<b>Dag 2</b>	290000	200000	440000	170000	80000	80000	120000	80000
<b>Dag 3</b>	480000	200000	370000	200000	600000	200000	INGEN RESULTAT	200000
<b>Dag 4</b>	480000	490000	610000	180000	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT
<b>Geometrisk gjennomsnitt</b>	352089	250220	388757	205252	201325	168687	120000	120736

B.2. Antall kolonidannede enheter per ml for det klorerte vannet, samlet inn 18.05.18

Klorert vann	Naturlig P17 [CFU/ml]				Potensiell P17 [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
<b>[18.05.18]</b>								
<b>Dag 1</b>	5200	3500	2100	4800	1260000	1190000	650000	740000
<b>Dag 2</b>	450000	330000	190000	450000	2100000	800000	500000	430000
<b>Dag 3</b>	720000	700000	510000	350000	2600000	INGEN RESULTAT	710000	720000
<b>Dag 4</b>	720000	490000	430000	290000	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT
<b>Geometrisk gjennomsnitt</b>	186625	141081	96717	121683	1901900	975705	613358	611896

Klorert vann	Naturlig NOX [CFU/ml]				Potensiell NOX [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
<b>[18.05.18]</b>								
<b>Dag 1</b>	380000	470000	400000	410000	320000	340000	390000	400000
<b>Dag 2</b>	540000	490000	340000	470000	460000	400000	480000	360000
<b>Dag 3</b>	540000	790000	640000	430000	700000	600000	INGEN RESULTAT	430000
<b>Dag 4</b>	720000	840000	650000	590000	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT
<b>Geometrisk gjennomsnitt</b>	531467	625245	487706	470219	468815	433741	432666	395619

B.3. Antall kolonidannede enheter per ml for det UV-behandlede vannet, samlet inn 18.05.18

UV-behandlet vann	Naturlig P17 [CFU/ml]				Potensiell P17 [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
<b>[18.05.18]</b>								
Dag 1	2100	1700	1700	1800	490000	500000	380000	770000
Dag 2	43000	290000	230000	300000	900000	1200000	1900000	1400000
Dag 3	150000	790000	400000	1000000	510000	900000	1400000	RESULTAT
Dag 4	240000	810000	370000	560000	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT
<b>Geometrisk gjennomsnitt</b>	<b>42462</b>	133272	87219	131870	<b>608139</b>	814325	1003587	1038268

UV-behandlet vann	Naturlig NOX [CFU/ml]				Potensiell NOX [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
<b>[18.05.18]</b>								
Dag 1	500000	400000	420000	510000	500000	520000	440000	360000
Dag 2	480000	540000	400000	520000	480000	600000	340000	470000
Dag 3	470000	600000	INGEN RESULTAT	540000	440000	800000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT
Dag 4	450000	710000	700000	720000	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT	IKKE ANALYSERT
<b>Geometrisk gjennomsnitt</b>	474658	550764	489932	566663	472666	<b>629624</b>	386782	411339

B.4. Antall kolonidannede enheter per ml for drikkevannet fra Valgrinda, samlet inn 18.05.18

Valgrinda	Naturlig P17 [CFU/ml]				Potensiell P17 [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[18.05.18]								
Dag 1	INGEN RESULTAT	6300	INGEN RESULTAT	5500	1100000	1060000	INGEN RESULTAT	1100000
Dag 2	2900	1100	800	INGEN RESULTAT	1100000	750000	900000	740000
Dag 3	5900	2900	500	INGEN RESULTAT	1400000	1020000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT
Geometrisk gjennomsnitt	4136	2719	632	5500	1192077	932515	900000	902219

Valgrinda	Naturlig NOX [CFU/ml]				Potensiell NOX [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[18.05.18]								
Dag 1	INGEN RESULTAT	260000	320000	350000	310000	250000	INGEN RESULTAT	220000
Dag 2	400000	300000	310000	INGEN RESULTAT	230000	280000	140000	250000
Dag 3	230000	290000	410000	420000	300000	250000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT
Geometrisk gjennomsnitt	303315	282812	343900	383406	277590	259625	140000	234521



B.5. Antall kolonidannede enheter per ml for drikkevannet fra Lade, samlet inn 25.04.18

Lade	Naturlig P17 [CFU/ml]				Potensiell P17 [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[25.04.18]								
Dag 1	90000	40000	50000	40000	220000	240000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT
Dag 2	70000	200000	40000	70000	INGEN RESULTAT	250000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT
Dag 3	INGEN RESULTAT	130000	20000	90000	120000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT
Geometrisk gjennomsnitt	79373	101316	34200	63164	162481	244949	-	-

101316

Lade	Naturlig AOC <sub>NOX</sub> [CFU/ml]				Potensiell AOC <sub>NOX</sub> [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[25.04.18]								
Dag 1	260000	280000	300000	380000	290000	290000	300000	INGEN RESULTAT
Dag 2	300000	380000	INGEN RESULTAT	370000	INGEN RESULTAT	260000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT
Dag 3	200000	60000	350000	290000	310000	200000	200000	200000
Geometrisk gjennomsnitt	249867	185509	324037	344187	299833	247059	244949	200000

B.6. Antall kolonidannede enheter per ml for drikkevannet fra Buran, samlet inn 25.04.18

Buran	Naturlig P17 [CFU/ml]				Potensiell P17 [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[25.04.18]								
Dag 1	40000	23000	7000	10000	100000	300000	INGEN RESULTAT	260000
Dag 2	200000	30000	INGEN RESULTAT	200000	INGEN RESULTAT	330000	INGEN RESULTAT	400000
Dag 3	20000	40000	20000	INGEN RESULTAT	150000	130000	170000	140000
Geometrisk gjennomsnitt	54288	30221	11832	44721	122474	234347	170000	244186

Buran	Naturlig NOX [CFU/ml]				Potensiell NOX [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[25.04.18]								
Dag 1	450000	450000	460000	340000	300000	250000	400000	350000
Dag 2	420000	450000	350000	400000	600000	500000	300000	INGEN RESULTAT
Dag 3	360000	310000	270000	180000	180000	370000	180000	510000
Geometrisk gjennomsnitt	408246	397431	351612	290360	318798	358953	278495	422493

B.7. Antall kolonidannede enheter per ml for drikkevannet fra pumpestasjonen, samlet inn 25.04.18

Pumpestasjon	Naturlig P17 [CFU/ml]				Potensiell P17 [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[25.04.18]								
Dag 1	60000	200000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT	400000	1100000	600000	200000
Dag 2	70000	130000	50000	70000	450000	560000	370000	INGEN RESULTAT
Dag 3	110000	110000	70000	130000	340000	490000	360000	230000
Geometrisk gjennomsnitt	77306	141946	59161	95394	394079	670799	430743	214476

Pumpestasjon	Naturlig NOX [CFU/ml]				Potensiell NOX [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[25.04.18]								
Dag 1	410000	600000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT	400000	200000	600000	1000000
Dag 2	380000	600000	370000	370000	1000000	INGEN RESULTAT	200000	INGEN RESULTAT
Dag 3	320000	380000	300000	300000	400000	INGEN RESULTAT	600000	500000
Geometrisk gjennomsnitt	368049	515263	333167	333167	542884	200000	416017	707107

B.8. Antall kolonidannede enheter per ml for drikkevannet fra høydebassenget, samlet inn 25.04.18

Høydebasseng	Naturlig P17 [CFU/ml]				Potensiell P17 [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[25.04.18]								
Dag 1	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT	100000	INGEN RESULTAT	200000	400000	100000	300000
Dag 2	7000	6000	INGEN RESULTAT	7000	240000	230000	150000	140000
Dag 3	90000	20000	90000	6000	190000	190000	140000	110000
Geometrisk gjennomsnitt	25100	10954	94868	6481	208929	259526	128058	166551

Høydebasseng	Naturlig NOX [CFU/ml]				Potensiell NOX [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[25.04.18]								
Dag 1	INGEN RESULTAT	600000	400000	300000	400000	200000	400000	600000
Dag 2	410000	290000	INGEN RESULTAT	360000	320000	240000	310000	250000
Dag 3	420000	240000	350000	320000	480000	240000	320000	290000
Geometrisk gjennomsnitt	414970	346939	374166	325730	394594	225849	341081	351692

B.9. Antall kolonidannede enheter per ml for råvannet, samlet inn 18.04.18 (ikke brukt som datagrunnlag i oppgaven)

Råvann	Naturlig P17 [CFU/ml]				Potensiell P17 [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[18.04.18]								
Dag 1	31000	34000	20000	32000	1800000	1000000	1900000	1300000
Dag 2	1200	1100	1700	1300	900000	1200000	1900000	1400000
Dag 3	300	1600	1600	1400	INGEN RESULTAT	800000	1600000	INGEN RESULTAT
Geometrisk gjennomsnitt	2235	3911	3789	3876	1272792	986485	1794220	1349074

Råvann	Naturlig NOX [CFU/ml]				Potensiell NOX [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[18.04.18]								
Dag 1	310000	480000	450000	330000	100000	100000	400000	300000
Dag 2	460000	460000	420000	370000	700000	300000	INGEN RESULTAT	200000
Dag 3	560000	480000	390000	310000	INGEN RESULTAT	700000	200000	INGEN RESULTAT
Geometrisk gjennomsnitt	430628	473239	419284	335758	264575	275892	282843	244949

B.10. Antall kolonidannede enheter per ml for det UV-behandlede vannet, samlet inn 18.04.18 (ikke brukt som datagrunnlag i oppgaven)

UV-behandlet vann	Naturlig P17 [CFU/ml]				Potensiell P17 [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
<b>[18.04.18]</b>								
<b>Dag 1</b>	45000	36000	22000	28000	1500000	2400000	1700000	2400000
<b>Dag 2</b>	10000	8000	28000	10000	INGEN RESULTAT	1800000	INGEN RESULTAT	1500000
<b>Dag 3</b>	10000	INGEN RESULTAT	400	1000	1200000	1000000	1700000	1600000
<b>Geometrisk gjennomsnitt</b>	16510	16971	6269	6542	1341641	1628651	1700000	1792562
UV-behandlet vann	Naturlig NOX [CFU/ml]				Potensiell NOX [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
<b>[18.04.18]</b>								
<b>Dag 1</b>	560000	540000	INGEN RESULTAT	590000	INGEN RESULTAT	400000	800000	800000
<b>Dag 2</b>	500000	500000	INGEN RESULTAT	600000	INGEN RESULTAT	900000	1000000	600000
<b>Dag 3</b>	540000	INGEN RESULTAT	570000	620000	INGEN RESULTAT	800000	900000	900000
<b>Geometrisk gjennomsnitt</b>	532742	519615	570000	603205	-	660385	896281	755953

B.11. Antall kolonidannede enheter per ml i drikkevannet fra Valgrinda, samlet inn 18.04.18 (ikke brukt som datagrunnlag i oppgaven)

Valgrinda	Naturlig P17 [CFU/ml]				Potensiell P17 [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[18.04.18]								
Dag 1	INGEN RESULTAT	160000	INGEN RESULTAT	200000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT	400000	600000
Dag 2	60000	140000	200000	60000	1400000	700000	200000	1000000
Dag 3	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT	1000	800000	600000	900000
Geometrisk gjennomsnitt	60000	149666	200000	109545	37417	748331	363424	814325

Valgrinda	Naturlig NOX [CFU/ml]				Potensiell NOX [CFU/ml]			
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	Parallell 4
[18.04.18]								
Dag 1	1100000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT	600000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT	400000	300000
Dag 2	530000	530000	450000	510000	400000	700000	600000	500000
Dag 3	330000	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT	INGEN RESULTAT	700000	300000	600000	400000
Geometrisk gjennomsnitt	577290	530000	450000	553173	529150	458258	524148	391487

