



Miljøministeriet
Naturstyrelsen

Nyt mikrobiologisk rensningsprincip til fjernelse af pesticid i drikkevandet.

Implementering og langtidstest af et mikrobiologisk rensningsprincip til anvendelse i traditionelle trykfilteranlæg på vandværker til fjernelse af pesticid (BAM) i drikkevandet.

2013

Titel:

Implementering af og langtidstest af et udviklet mikrobiologisk rensningsprincip for traditionelle trykfilteranlæg på vandværker til fjernelse af pesticid (BAM) i drikkevandet.

Udgiver:

Naturstyrelsen
Haraldsgade 53
2100 Kbh. Ø

År:

2013

Projekt:

Projektet er gennemført under ”Tilskudsordning til Miljøeffektiv Teknologi 2011”. Projektet er udført gennem et samarbejde mellem GEUS, Energi Viborg Vand A/S og Silhorko-Eurowater A/S.

Projektgruppe:

Ole Stig Jacobsen, GEUS (seniorforsker)
Ivan Drejer, Energi Viborg Vand A/S (driftleder)
Arne C. Koch, Silhorko-Eurowater A/S (afdelingschef: Drikkevand)

Redaktion, foto & illustration:

Ole Stig Jacobsen, GEUS (seniorforsker)

ISBN nr.

978-87-7279-688-8

Ansvarsfraskrivelse:

Naturstyrelsen offentliggør rapporter inden for miljøteknologi, medfinansieret af Miljøministeriet. Offentliggørelsen betyder, at Naturstyrelsen finder indholdet af væsentlig betydning for en bredere kreds. Naturstyrelsen deler dog ikke nødvendigvis de synspunkter, der kommer til udtryk i rapporterne.

Må citeres med kildeangivelse.

Indhold

1. Baggrund og formål.....	4
1.1 Baggrund	4
1.2 Hovedformål	5
1.3 Projektets forløb og indhold	5
1.4 Implementeringsfasen og delmål.....	5
2. Konklusion.....	6
3. Resultater	7
3.1 Beskrivelse af pilotanlægget på Viborg City Værket.....	7
3.2 pH-analyse før første bakteriepåsætning.....	9
3.3 Første påsætning af Aminobacter MSH1 - 14. maj 2012.	10
3.4 Supplerende laboratorieforsøg.....	11
3.5 Anden påsætning af Aminobacter MSH1 - 9. juli 2012.	14
3.6 Supplerende laboratorieforsøg.....	14
3.7 Tredje påsætning af Aminobacter MSH1 - 9. oktober 2012.	17
3.8 Supplerende laboratorieforsøg.....	17
3.9 Fjerde påsætning af Aminobacter MSH1 - 4. december 2012.	19
3.10 Tilgangs- og afgangskoncentrationer over hele måleperioden	20
Referencer	21

1. Baggrund og formål

1.1 Baggrund

De danske vandværker står over for en række udfordringer for at skaffe rent drikkevand til den danske befolkning. I Danmark får vi alt vores drikkevand direkte fra grundvandet. Hvis der f.eks. er pesticider i grundvandet over 0,1 µg/L, kan det ikke bruges som drikkevand. Det stof, der indtil nu har forurenede de fleste vandforsyningsanlæg i Danmark, er 2,6-Dichlorbenzamid (BAM), som er et nedbrydningsprodukt fra totalukrudtsmidlerne dichlobenil og chlorthiamid (handelsnavne: Prefix og Caseron). Det er tidligere blevet spredt for at bekæmpe ukrudt langs haver, på stier og kirkegårde mm. I jorden omdanner bakterier dichlobenil til BAM, som let strømmer med regnvandet ned til grundvandet. Selvom dichlobenil har været forbudt siden 1997 i Danmark, findes BAM stadig i grundvand over hele landet. Vandværkerne lukker derfor borer med BAM. Nogle få steder er der givet tilladelse til at rense vandet vha. et filter bestående af aktivt kul. Et sådant filter er dog dyrt at etablere og drive, hvilket betyder dyrere vand for forbrugerne. Fjernelse af BAM fra drikkevandet vha. bakterier er et billigt og grønt alternativ til denne rensning, idet det forventes at kunne foretages i allerede eksisterende trykfiltere.

Det lykkedes for GEUS i 2006 at isolere naturligt forekommende bakterier, som er i stand til at nedbryde BAM, og det er blevet muligt at opformere disse bakterier, Simonsen et al 2006, Holtze et al. 2007 & 2008, Sørensen et al 2007. Endvidere har GEUS udviklet en analysemetode på UPLC til analyse af BAM og de fem vigtigste nedbrydningsprodukter i drikkevand.

GEUS har arbejdet i et par år i laboratoriet på at få en ny vandrensningsmetode til at fungere. Nu virker det i laboratorieskala, Jacobsen et al 2009. Sandfiltrene i laboratoriet bestod af det samme filtermateriale, som vandværkerne bruger i deres filtre. Gennem tre måneder viste disse laboratorieanlæg en stabil ydeevne med hensyn til reduktion af BAM.

I det afsluttede projekt "Udvikling af et mikrobiologisk rensningsprincip til anvendelse i traditionelle vandbehandlingsanlæg på vandværker til fjernelse af pesticid (BAM) i drikkevandet", som blev gennemført med støtte fra "Tilskud til miljøeffektiv teknologi 2010" er flere forskellige filtermaterialer blevet testet med henblik på anvendelse som basis for de BAM-nedbrydende bakterier. Filtermaterialerne finder anvendelse inden for et bredt problemfelt; manganoxidation, neutralisation af aggressiv kulsyre, nitrifikation af ammonium, jernudfældning mm. To materialer blev fundet velegnet og blev efterfølgende anvendt i et 'meso-skala' anlæg under realistiske flowhastigheder, vandmængder og filterhøjder, der anvendes i trykfilteranlæg. Flere flow-hastigheder og bakterieinokuleringsmetoder blev testet for at opnå den optimale effektivitet.

På Viborg City vandværk var opstillet et parallelt anlæg, som var skudt ind mellem den normale filtertank og de to aktivkul-tanke. De to parallelle trykfiltere var fyldt med de to materialer, vi fandt bedst egnet som basis for BAM-nedbryderne.

1.2 Hovedformål

At implementere i et traditionelt trykfilteranlæg til rensning af drikkevand et mikrobiologisk pesticid-rensningsprincip ved hjælp af naturligt forekommende mikroorganismer.

På basis af de erfaringer, der var opnået i det afsluttede projekt (MR-BAM projekt nr. J.Nr.BLST-403-00146), ønskede vi, ved implementering i det eksisterende trykfiltersanlæg, at undersøge rensningseffektiviteten, drift stabiliteten samt langtidsvedligeholdelsen, for derved at kunne anvende rensningsprincippet i andre lignede anlæg.

1.3 Projektets forløb og indhold

Projektet omfatter forsøg i eksisterende trykfilter med naturligt forurenede grundvand, hvor der var mulighed for at undersøge langtidsstabiliteten og driftsvedligehold. Projektet bygger på erfaringer opnået i det afsluttede projekt (MR-BAM projekt nr. J. Nr.BLST-403-00146), hvor vi har vist på laboratorieniveau med udvalgte almindeligt anvendte filtermaterialer, at kunne reducere indholdet af BAM med mindst 60 % på under 10 minutter. Da trykfiltersanlæg normalt har en meget lille opholdstid i forhold til bassinanlæg, er det afgørende at reduktionen foregår hurtigt. Vi har samtidig konstateret, at BAM reduktionen ikke medfører dannelsen af / ophobning af metabolitter, som vil være uønsket i drikkevandssystemer og muligt ikke opfylde drikkevandskravene.

For at denne proces kan have en praktisk anvendelse i almindelige vandværker med BAM-problemer, ønskede vi at undersøge, om det var muligt, at udføre selve reduktionen i et eksisterende trykfilter, således at man ikke er nødsaget til at skulle installere en ekstra beholder. Dette vil gøre rensningsprocessen mere økonomisk favorabel.

1.4 Implementeringsfasen og delmål

Arbejdet i implementeringsfasen var inddelt i to hoved aktiviteter;

1. At udføre langtidstest på anlægget i Viborg for at opnå erfaringer med driftsstabiliteten i et trykfilteranlæg og
2. At udføre supplerende målinger i laboratoriet for at få mere viden om opformering af MSH1-bakterierne og deres evne til nedbrydning og adhæsion (binding til filtermateriale).

Specielt var der lagt vægt på forskellige inkubationsmetoder for at opnå den største fastholdelse af MSH1-bakterierne. De supplerende laboratorieforsøg har forsøgt at finde sammenhænge mellem dyrkningsmetoder og evnen til adhæsion og nedbrydningspotentiale.

Projektforslaget havde følgende delmål i forhold til det forventede forløb:

1. Udformning af injektionsmetoder for inokulering i konventionelle trykfiltre, for derved at kunne fordele mikrofloraen i hele filtermassen.
2. Herefter at inokulere bakterier i to trykfilter i drift (Viborg City Værk) for derefter at sætte denne i drift.
3. Under og efter inokuleringen at monitorere såvel BAM reduktion som eventuelle ændringer i kim-tal.
4. Over en periode på fire til seks måneder at følge BAM reduktionen og driftsstabiliteten, samt at vurdere nødvendigheden af re-inokulering af bakterier.
5. At re-inokulere efter ca. 4 måneder og forsøge at optimere denne proces.
6. At udføre supplerende laboratorieforsøg for at afdække MSH1-bakteriernes evne til reduktion af BAM samt evne til at fastholdes i filtermassen under forskellige forhold.

2. Konklusion

Dette projekt omkring ”Implementering og langtidstest af et udviklet mikrobiologisk rensningsprincip for traditionelle trykfilteranlæg på vandværker til fjernelse af pesticid (BAM) i drikkevandet” er nu afsluttet.

Resultaterne har påvist, at det mikrobiologiske rensningsprincip ikke umiddelbart lader sig overføre til de faktiske forhold på et vandværk, hvor vandet filtreres i trykfilteranlæg. Igennem projektet har vi påvist en fjernelse af BAM under forskellige testopstillinger, men det er ikke lykkedes at finde en metode, hvor vi har kunnet sikre en vedvarende fjernelse af BAM ved de små koncentrationer, som ofte er forekommende, og som er aktuelle omkring grænseværdierne i krav til drikkevandet. Løsning af de uløste problemstillinger er ikke umiddelbart identificerbare med udgangspunkt i projektets indfaldsvinkel.

Projektet har følgende konklusioner:

Vi har gennem projektet forsøgt at anvende flere forskellige injektionsmetoder for inokulering i konventionelle trykfiltere, for derved at kunne fordele bakterierne i hele filtermassen. Det er ikke lykkedes at få en passende biomasse og/eller bakterieaktivitet, som havde den tilstrækkelige reduktionskapacitet, således at BAM koncentrationen kom under kravet for drikkevand på 0,1 µg/L. Der er anvendt forskellige koncentrationer og mængde af MSH1-bakterie-kulturer uden dette viste sig i reduktionskapaciteten. Efter en enkel inokulering var der en kortvarig høj reduktion, som dog formindskedes efter 14 dage. Vi har ikke nogen forklaring på denne situation.

Der også forsøgt at ændre vandtype således, at såvel rentvand som råvand kunne være tilgang til filterne. Det viste sig, at der ingen forskel var mellem de to typer tilgangsvand, hvorfor den sidste del af forsøgene alle blev udført med råvand. Råvandet fra Viborg City har et lavt Fe⁺⁺-indhold, hvilket bevirkede, at det ikke under de forskellige inokuleringer var nødvendig at skylle.

Der blev under og efter inokuleringen målt kimtal og vandkemi. Inokuleringen gav ikke et forøget kimtal efter 1 dag påsætningen. Vandkemien synes at være yderst stabil på såvel råvand som rentvand.

Over en periode på fire måneder fulgte vi BAM reduktionen og driftsstabiliteten uden, at denne disse ændrede sig. I slutningen af perioden havde vi kun en reduktion på ca. 10 %, hvilket ikke adskilte sig fra perioden umiddelbart efter inokuleringen.

De supplerende laboratorieforsøg viste, at bakteriekulturer, som holdes i vækst over en længere periode, taber en stor del af evnen til at reducere BAM, mens vækstpotentialet stadig er næsten det samme som nye kulturer. Yderligere viste det sig, at stigende koncentrationer af kvælstof i opvækstmediet nedsætter MSH1-bakteriens evne (lyst) til at reducere BAM. Samtidig bevirkede stigende mængder kvælstof også, at adheringsevnen blev nedsat. Til gengæld vil små mængder jern give et højere reduktionspotentiale.

3. Resultater

3.1 Beskrivelse af pilotanlægget på Viborg City Værket

Pilotanlægget på Viborg City Vandværk bestod af to parallelle SILHORKO trykfiltre med dysebund, luftskylledyser, indstiksprøvehaner og svømmestyrede udluftningsventiler. Endvidere var der prøvehænder på tilgang og afgang filter. Til visning af driftstryk og differencetryk var der manometre på til- og afgang af filterne. Filterne var automatiske og både drift og returskyllning blev styret af to SILHORKO SE20 styringer. Det var planen, at returskyllning skulle styres på baggrund af den behandlede mængde. Efter en indkøringsperiode blev filternes skylleautomatik dog koblet fra, og denne blev ikke koblet ind igen under forsøget. Filterne blev derfor ikke returskyllet i det givne projekt, da dette ikke blev vurderet for fremmende for processen. Der blev i stedet returskyllet mellem

re-inokuleringerne for at tilbagestille filterne til et normalt udgangspunkt.

Til registrering af behandlet mængde, driftsflow og returskylleflow var der monteret digitale flowtransmittere.

Under drift blev vandet iltet med en regulerbar kontrolleret luftmængde. Der blev anvendt atmosfærisk luft til iltningen fra vandværkets stationære kompressor anlæg.

De parallelle filtre blev forsynet af en Grundfos boosterpumpe, der sikrede det fornødne tryk og flow over filterne.

Filtrene blev tilset ca. hver tredje dag for kontrol af driftsflow og driftstryk. Der blev løbende taget analyser af vandet før filtreringen samt efter hvert filter.

Under driftskontrollerne blev det observeret om filternes iltning var tilstrækkelig og at overskydende luft blev evakueret fra filterne. Der blev ydet teknisk assistance ved inokulering af bakterie i filterne for at sikre optimale betingelser for processen.

Det blev besluttet at anvende Nevtraco som filtermateriale i alle forsøg med pilotanlægget i Viborg. I de forudgående faser fandt vi, at Nevtraco og KIS var lige gode som filtermateriale, og at den forskel, der var i overflade per materiale vægt, ingen indflydelse havde.

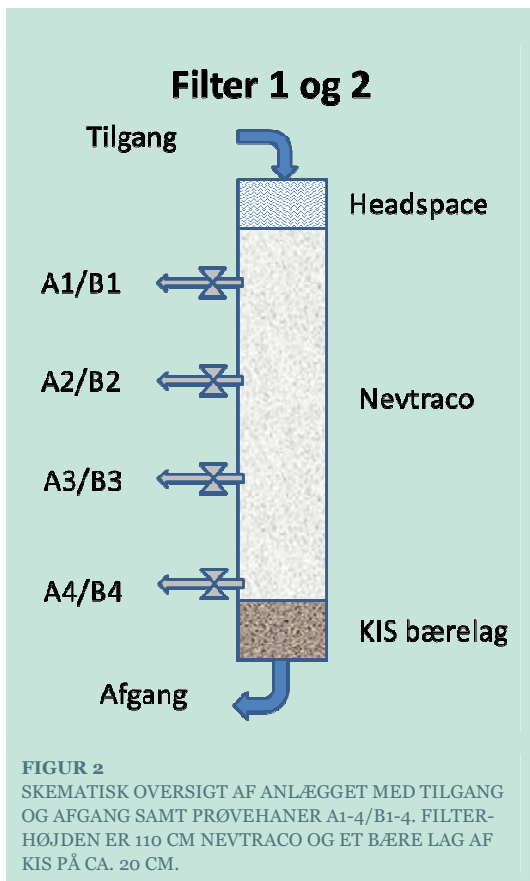


FILGUR 1
PILOTANLÆGGET PÅ VIBORG CITY VANDVÆRK

Anlæggene (Filter 1 og 2) blev derfor påfyldt Nevtraco med KIS 2-3 mm som bærelag for alle efterfølgende målinger. Herefter blev anlæggene sat i drift.

Trykfilteranlægget blev klargjort således:

- Filter 1 og filter 2 med identisk fyldning: NEVTRACO med et bærelag af kis.
- Tryk og flow var ens i filter 1 og filter 2.
- Filter 1: Koblet til råvand direkte fra boring
- Filter 2: Koblet på filteret vand (renvand) efter det eksisterende store sandfilter.



3.2 pH-analyse før første bakteriepåsætning

Før forsøgsrækken påbegyndtes i uge 19 (2012), blev udviklingen i pH målt, når der ingen flow var i filterne. Om muligt blev udviklingen målt i op til 24 timer, men specielt udviklingen fra 15 min., 1 time, 2 timer og 4 timer formodedes at være interessante. Energi Viborg Vand gennemførte disse målinger.

Målingerne viste, at der ikke skete nævneværdige ændringer indenfor denne periode svarende til stilstandsperioden ved påsætningen af bakterier, nemlig 4-6 timer.

For at vurdere hvor meget den kemiske sammensætning af råvandet ændrede sig, blev der udført analyser af tilgang råvand, tilgang renavand samt afgang fra de to filtre, se tabel 1.

Det var klart, at ændringerne i de kemiske parametre var yderst små og ikke betydende for det biologiske system, der skulle foregå i filterne.

Prøve ID	Enhed	Tilgang filter 1 (råvand)	Tilgang filter 2 (renvand)	Afgang filter 1	Afgang filter 2
pH	-	7,5	7,4	7,4	6,9
Alkalinitet	meq/L	2,88	2,90	2,90	2,88
Ledningsevne	µS/cm	542	525	557	570
F	mg/L	0,08	0,12	0,05	0,09
Cl	mg/L	40,89	40,8	40,91	40,96
NO ₂	mg/L	1,75	1,72	1,69	1,71
Br	mg/L	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
NO ₃	mg/L	3,36	3,48	3,47	3,53
PO ₄	mg/L	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
SO ₄	mg/L	69,66	71,33	69,78	69,57
NH ₃	mg/L	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Fe ²⁺	mg/L	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Na	mg/L	25,23	25,19	25,09	25,02
K	mg/L	2,74	2,74	2,72	2,74
Mg	mg/L	6,25	6,14	6,18	6,19
Ca	mg/L	89,88	88,05	89,43	89,80

TABEL 1
KEMISK ANALYSE AF VANDET I ANLÆGGET INDEN PÅSÆTNING AF BAKTERIER.

3.3 Første påsætning af Aminobacter MSH1 - 14. maj 2012.

Påsetningen foregik ved indpumpning af 50 liter bakteriesuspension gennem det nederste sideudtag. Suspensionen var fremstillet på basis af 5 liter kultur med en OD600 på ca. 2,5, som blev blandet med det aftappede vand fra filtret. Ca. fire timer inden anlægget blev sat i gang, blev blandingen pumpet ind i filtret.

Der blev derefter løbende udtaget prøver for analyse af BAM og dennes metabolitter, uorganisk kemi samt for kimtælling.

De kemiske analyser viste helt klart, at systemet var meget stabilt, og at ændringerne på de enkelte parametre var uden betydning.

prøve	dato	pH	Alkalinity	Fe2+	cond	F	Cl	NO2	Br	NO3	PO4	SO4	Na	K	Mg	Ca
			meq/L	mg/mL	µS/cm											
tilgang råvand	21-05-2012	6,8	4,23	<0,02	561	0,15	42,31	<0,05	0,11	3,76	<0,05	69,33	24,23	2,97	5,93	86,62
afgang råvand	21-05-2012	6,7	3,42	<0,02	570	0,15	42,30	<0,05	0,12	3,56	<0,05	69,40	24,16	2,95	6,00	87,05
tilgang renavd	21-05-2012	6,9	3,32	<0,02	575	0,16	42,25	<0,05	0,16	7,25	<0,05	69,44	24,05	3,00	5,14	84,22
tilgang råvand F1	26-05-2012	6,7	3,26	<0,02	579	0,15	42,02	<0,05	0,09	3,52	<0,05	69,27	25,86	3,51	6,10	90,43
afgang råvand F1	26-05-2012	6,8	3,26	<0,02	574	0,15	42,23	<0,05	0,09	3,43	<0,05	69,29	24,06	3,03	6,10	87,48
tilgang renavd F2	26-05-2012	6,8	3,26	<0,02	582	0,16	42,34	<0,05	0,12	3,57	<0,05	69,45	25,93	3,10	6,15	90,93
afgang renavd F2	26-05-2012	6,8	3,29	<0,02	574	0,15	42,73	<0,05	0,13	3,74	0,55	69,25	24,25	2,99	6,08	87,22
tilgang råvand F1	30-05-2012	6,6	3,29	<0,02	573	0,15	41,71	<0,05	0,09	3,32	0,18	69,36	24,04	3,02	6,05	87,25
tilgang renavd F2	30-05-2012	6,7	3,21	<0,02	571	0,15	42,24	<0,05	0,10	3,43	<0,05	69,24	24,05	3,37	6,00	86,23
afgang renavd F2	30-05-2012	6,6	3,32	<0,02	579	0,15	42,26	<0,05	0,11	3,49	<0,05	69,46	25,39	3,17	5,97	90,50
tilgang råvand F1	05-06-2012	6,7	4,26	<0,02	543	0,40	42,44	<0,05	0,19	0,09	0,73	70,18				
afgang råvand F1	05-06-2012	7,3	3,37	<0,02	564	0,19	42,49	<0,05	0,10	3,50	0,16	70,15				
tilgang renavd F2	05-06-2012	7,0	3,32	<0,02	547	0,17	42,46	<0,05	0,10	3,58	<0,05	70,29				
afgang renavd F2	05-06-2012	7,0	3,26	<0,02	563	0,16	42,50	<0,05	0,09	3,54	<0,05	70,31				
tilgang råvand F1	11-06-2012	7,0	3,26	<0,02	563	0,16	42,23	<0,05	0,09	3,45	<0,05	70,34				
afgang råvand F1	11-06-2012	6,8	3,21	<0,02	562	0,16	42,57	<0,05	0,09	3,49	<0,05	70,29				
tilgang renavd F2	11-06-2012	7,1	3,24	<0,02	569	0,16	42,58	<0,05	0,08	3,53	<0,05	70,30				
tilgang råvand F1	18-06-2012	6,6	3,32	<0,02	569	0,12	42,40	<0,05	0,10	3,52	<0,05	70,39				
tilgang renavd F2	18-06-2012	7,0	3,24	<0,02	575	0,16	42,61	<0,05	0,09	3,55	<0,05	70,32				
Median		6,8	3,29		570	0,16	42,34		0,10	3,52	0,37	69,46	24,20	3,03	6,03	87,24
SD,P		0,18	0,30		9,9	0,06	0,22		0,03	1,17	0,24	0,47	0,75	0,18	0,28	2,05

TABEL 2
KEMISKE ANALYSER EFTER FØRSTE PÅSÆTNING AF MSH1-BAKTERIER

Kimtallene var også lave med undtagelse af et ret højt indhold i tilgangen af råvand den 24. maj. Der skete en væsentlig reduktion gennem forfiltreringen. Senere er der ikke påvist problemer med kimtallene.

Dato	Tilgang	Afgang	Tilgang	Afgang	Tilgang	Afgang	Tilgang	Afgang
	filter 1 (Råvand)	filter 1	filter 2 (Renvand)	filter 2	filter 1 (Råvand)	filter 1	filter 2 (Renvand)	filter 2
	KIM 22°C				KIM 37°C			
24-05-2012	60	29	5	2	<1	<1	1	<1
07-06-2012	<1	2	<1	5	<1	<1	<1	1
03-07-2012	5	<1	4	2	<1	<1	<1	<1

TABEL 3
KIM-TAL I FORBINDELSE MED DRIFTEN

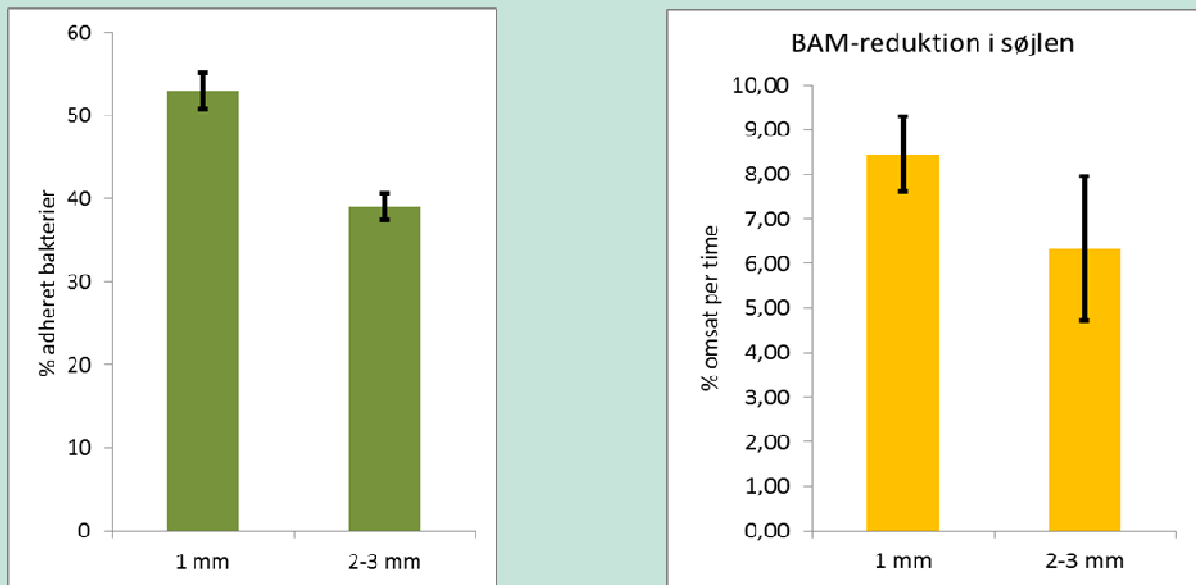
Gennem de næste måneder blev der målt en reduktion i BAM-koncentrationen på 10-18 % i forhold til indløbskoncentrationen. Denne reduktion var lille og ikke tilstrækkelig til at komme under de lovmæssige krav på 0,1 ug/L, som er forudsætningen for, at anlægget ville kunne bruges i daglig drift.

Reduktionen var også gennem perioden svingende uden, at vi kan give nogen forklaring på dette. Flowhastigheden i filtrene var sat til 2,5 m³/time, hvilket gav en opholdstid i filtrene på 2 min.



3.4 Supplerende laboratorieforsøg

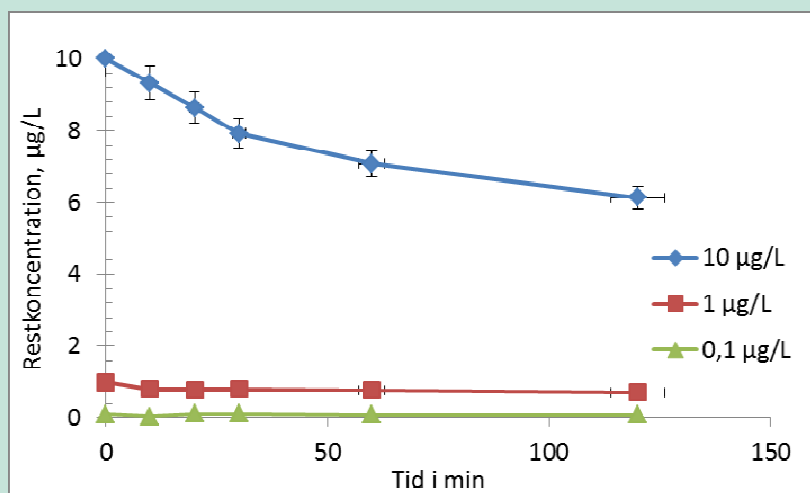
Ved første påsætning blev det observeret, at en ret stor del bakterier ikke blev adhereret til filtermaterialet. I tidligere projekt havde vi ikke set at overfladearealet på filtermaterialet i forhold til vægten ikke havde større indflydelse på adhærensprocenten. Men da finere materiale kan pakkes tættere end grovere, besluttede vi, at undersøge tre kornstørrelser for at vurdere, om der var væsentlige forskelle i adhærsion og reduktionskapacitet.



FIGUR 4
 FILTERMATERIALETS KORNSTØRRELSES INDFLYDELSE PÅ BAKTERIE-ADHÆSION (VENSTRE)
 SAMT RELATIV BAM-REDUKTION I ADHERET BIOMASSE (HØJRE).

De tre filter-kornstørrelser var 2-3 mm, 1 mm og 0,3 mm. Sidstnævnte blev opgivet straks da bakterie inokuleringen ikke var muligt selv med et betydeligt vakuum. De to andre filtermaterialer viste sig at have forskellig adhæsiønssevne, fra 38 til 53 % af påsat biomasse. Efterfølgende måling af reduktionskapaciteten viste en tilsvarende forskel, men i forhold til adheret biomasse var der ikke nogen forskel.

En yderligere undersøgelse af startkoncentrationens indflydelse på reduktion blev også undersøgt i små søjler med Nevtraco-fyldning. Vi havde et tidligere projekt set, at vi kunne få en betydelig reduktion i den øverste del af filteret i det store laboratorieanlæg. Men vi kunne også konstatere, at der ikke kunne opnås reduktioner til koncentrationer under 0,4-0,5 µg/L. Vi anstillede derfor et forsøg med tre forskellige start koncentrationer.



FIGUR 5
 NEDBRYDNING AF BAM I NEVTRACO FILTERMATERIALE VED FORSKELLIGE START KONCENTRATIONER

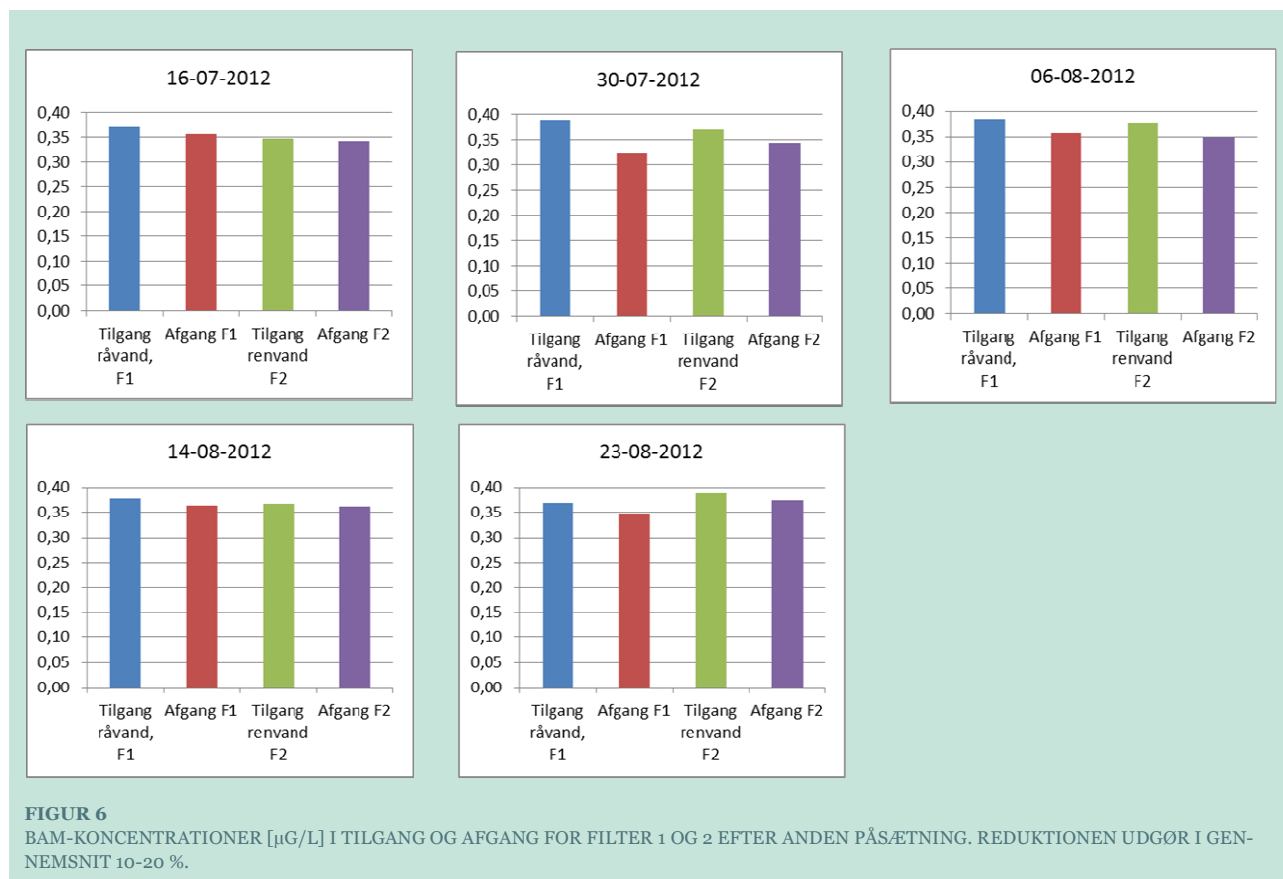
For de to højeste koncentrationer skete der en reduktion på omkring 40 % inden for 120 min, mens der for den laveste koncentration ikke kunne konstateres signifikant reduktion. Man skal bemærke den lange kontakttid inden reduktionen bliver 40 %. Kontakttiden i pilot-anlægget ved 1 m³/h er ca. 3,5 min.

3.5 Anden påsætning af Aminobacter MSH1 - 9. juli 2012.

Påsætningen blev denne gang ændret til indpumpning af 50 liter bakteriesuspension fra tilgangen til filtret i dennes top. Suspensionen var fremstillet på basis af 10 liter kultur med en OD600 på ca. 2,5, som blev blandet med det aftappede vand fra filtret. Ca. fire timer inden anlægget blev sat i gang, blev blandingen pumpet ind i filtret.

Driftsbetingelser:

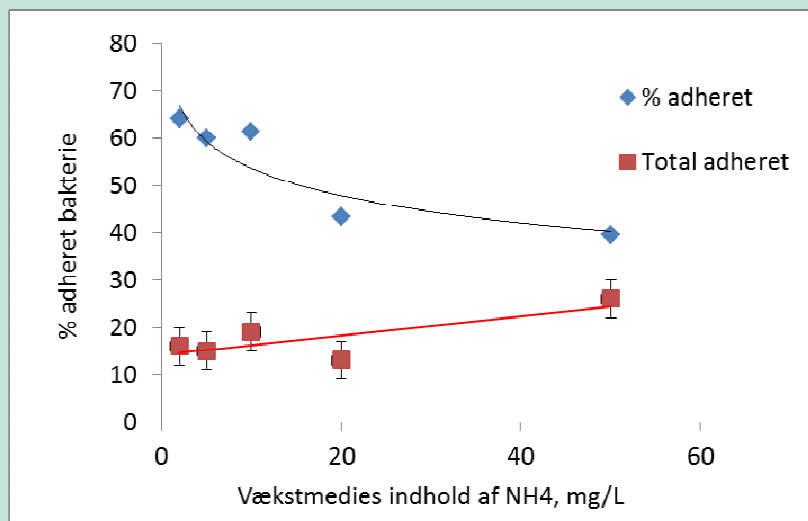
- Filter 1 og filter 2 med identisk fyldning: NEVTRACO med et bærelag af kis.
- Filter 1: Koblet til råvand direkte fra boring.
- Filter 2: Koblet på filteret vand (renvand) efter det eksisterende store sandfilter.
- Flow: 1 m³/h på begge filtre (norm i filter er 2,4 m³/h).



Efter påsætningen den 9. juli blev filtrene fulgt over en to måneders periode uden at reduktionen i BAM koncentrationen blev reduceret med mere end 10 %. Gennem perioden skete der ingen ændringer i reduktionskapaciteten, og man kan derfor slutte, at MSH1-biomassen må have været stabil, men ikke tilstrækkelig til på få minutter at kunne reducere mere end 10 %.

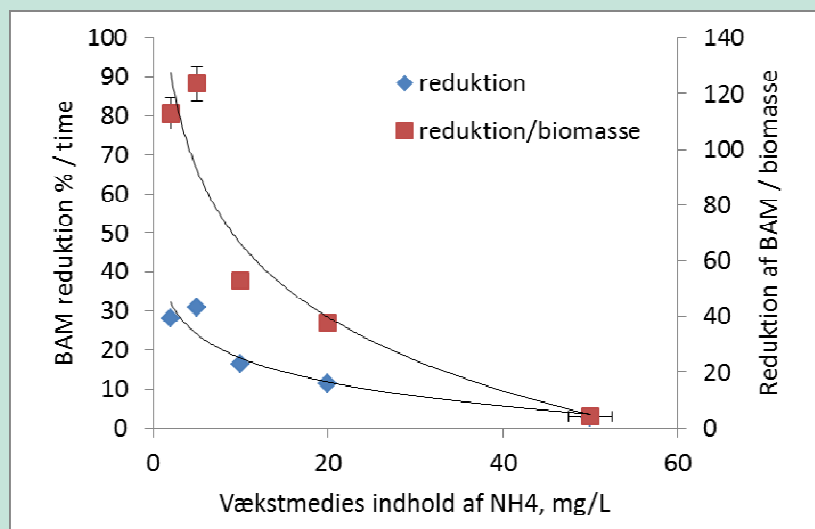
3.6 Supplerende laborieforsøg

For at vurdere produktionstid og kvalitet af MSH1-kulturen, blev der anstillet flere forsøg med forskellige vækstmedier, der kunne anvendes til opformering af bakterierne. I nogle forsøg var det vist, at et medie med tilskud af kvælstof øgede opformeringshastigheden. Vi afprøvede derfor opvækst ved fem forskellige kvælstof koncentrationer. Forsøget viste klart, at en forøget mængde kvælstof gav en højere biomasse på kortere tid. Ved det efterfølgende måling af evnen til adhesion viste det sig, at denne evne faldt med stigende kvælstof koncentration i mediet, fra ca. 65 % til ca. 40 % af den påsatte biomasse. Beregnet biomasse, som blev adheret, viste sig derimod konstant. Dette kunne tyde på en øvre grænse for biomasse ved den anvendte inokulerings metode, som er identisk med den der anvendes og er blevet anvendt hidtil i fuldskala.



FIGUR 7
EFFEKTEN AF FORSKELLIGT INDHOLD AF AMMONIUM I VÆKSTMEDIET PÅ ADHÆSION, PROCENT AF TILSAT OG TOTAL MÆNGDE NORMALISERET

Forsøget viste yderligere, at den adheret biomasses BAM-reduktionsevne mindskedes betydeligt med stigende kvælstof mængde i opvækstmediet, fra ca. 30 % /time til under 5 % /time. Hvis man beregnede reduktionskapaciteten per biomasse enhed er faldet i reduktionskapacitet meget markant.

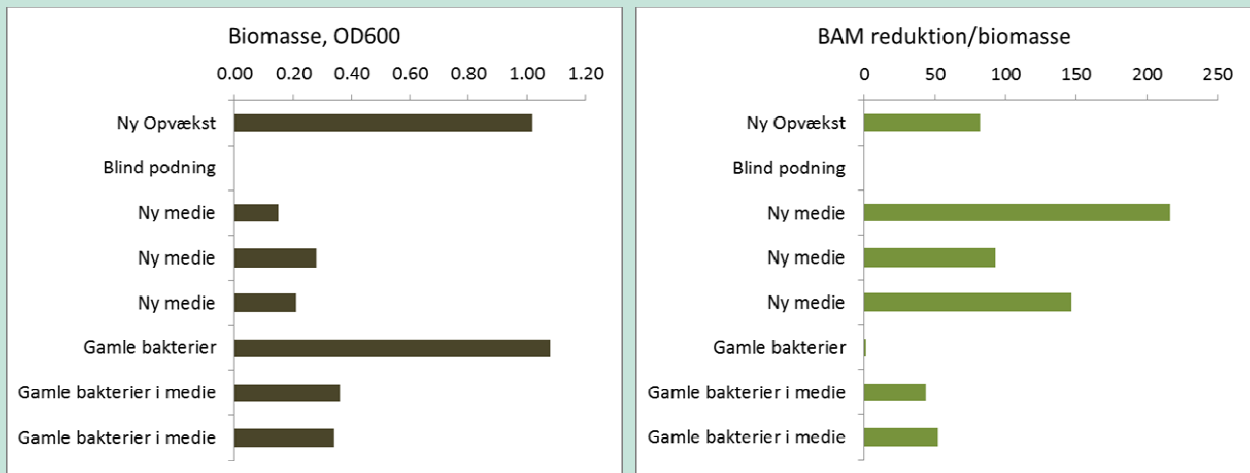


FIGUR 8
EFFEKTEN AF FORSKELLIGT INDHOLD AF AMMONIUM I VÆKSTMEDIET PÅ REDUKTION AF BAM I PROCENT AF TILSAT SAMT REDUKTIONEN NORMALISERET I FORHOLD TIL MIKROBIEL MASSE (OD)

Et af de spørgsmål, der er centralt for driftsstabilitet af et fuldskala anlæg, er, hvorvidt bakterier bliver på filtermaterialet, om de forynger sig, om de bliver græsset væk eller om de ældes.

Man ved fra laboratoriekulturer at nogle bakterier mister nogle egenskaber ved gentagne overførsler i væskemedier. Vi anstillede derfor et forsøg, hvor vi dels lod bakterie gro gennem flere måneder i samme medie, og dels lod andre overføre til nyt medie flere gange under flere måneders vækst.

Efter 100 dage lod vi nu de ældede bakteriekulturer vokse op sideordnet med opvækst af en ny kultur. Alle blev dyrket i standard medie ved 20 °C.



FIGUR 9
SAMMENLIGNING AF NY MSH1-KULTUR OG EN MERE END 100 DAGE GAMMEL KULTUR.

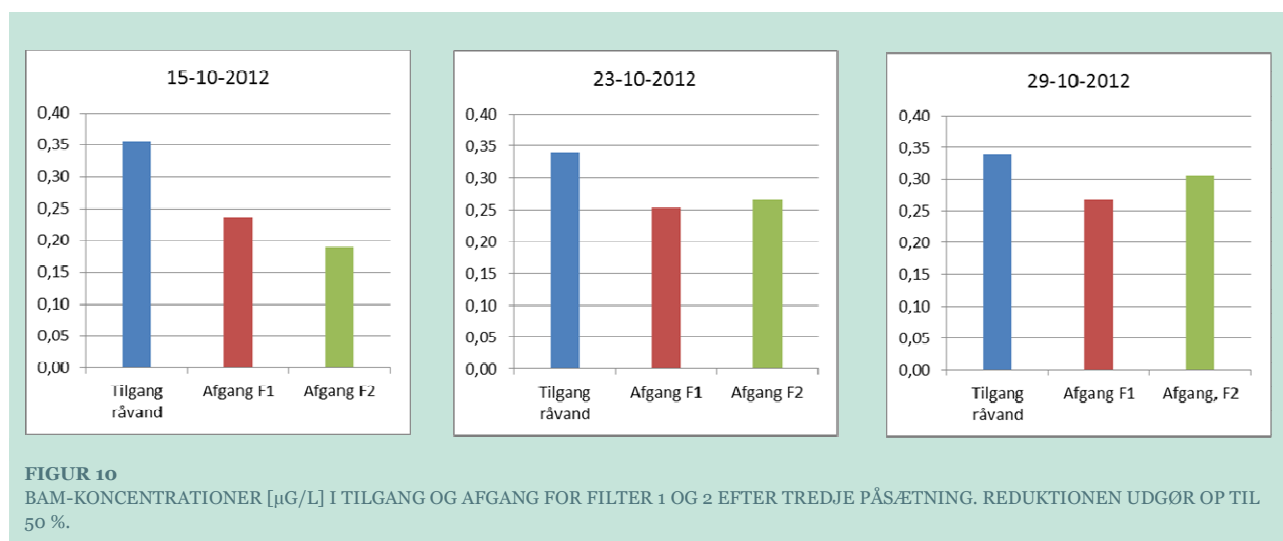
Som det fremgår af figur 9, er biomassen på den ny kultur (ny opvækst) og den 3 måneder gamle kultur af samme størrelsesorden. Men hvis man ser på nedbrydningspotentialer er det stort set væk for de gamle bakterier, hvorimod det for den ny kultur er rimelig høj. Overfører man den ny kultur til nyt medie ses en stærkt forøget nedbrydning, dog noget variabel. Gamle bakterier, der er overført til nyt medie hver måned, ses at have nogen nedbrydningspotentialer tilbage. Et mere intensivt studie af potentialer, ældning og eventuelle mangelsymptomer kan anbefales for at belyse stabilitet over tid.

3.7 Tredje påsætning af Aminobacter MSH1 - 9. oktober 2012.

Påsætningen blev denne gang ændret til påhældning af 50 liter bakteriesuspension gennem dækslet til filtret i dettes top. Suspensionen var fremstillet på basis af 25 liter kultur med en OD600 på ca. 2,0, som blev blandet med 25 liter af det aftappede vand fra filtret. Ca. fire timer inden anlægget blev sat i gang, blev blandingen påhældt filtret - direkte gennem topdækslet inden for 5 min.

Driftsbetingelser:

- Filter 1 og filter 2 med identisk fyldning: NEVTRACO med et bærelag af kis.
- Filter 1 og filter 2: Koblet på råvand.
- Flow filter 1: 1 m³/h (norm i filter er 2.4 m³/h).
- Flow filter 2: 0,4 m³/h (norm i filter er 2.4 m³/h).
- Filter 1 og filter 2: Returskyllet umiddelbart før påsætningen.

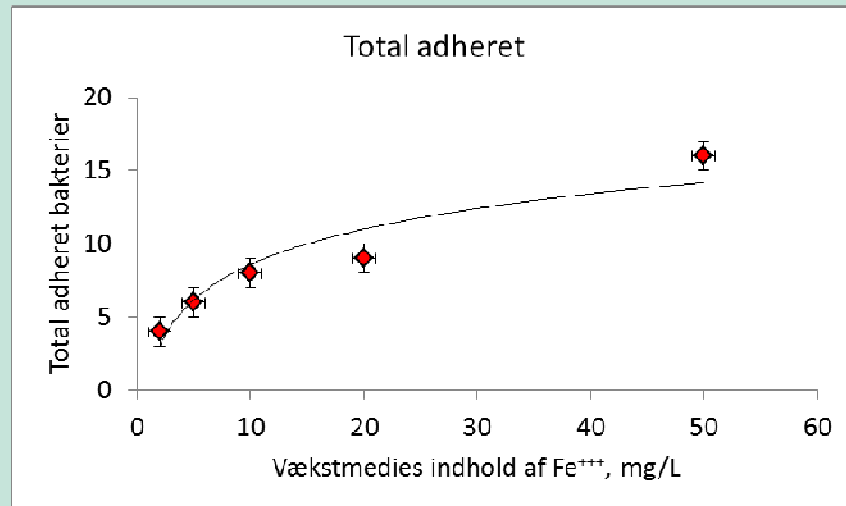


Påsætning den 9. oktober viste for første gang en meget bedre reduktion på op til 50 % inden for den første uge. Den største reduktion fandtes i filter 2 med den længste opholdstid, ca. 9 min. I filter 1, hvor opholdstiden er ca. 3,7 min var reduktionen noget mindre, ca. 37 %.

Desværre var reduktionskapaciteten ikke stabil over de næste uger, men faldt gradvist til mellem 10 og 15 %. Årsagen til stabilitetsproblemet kendes ikke, idet de kemiske forhold var yderst stabile i filtrene.

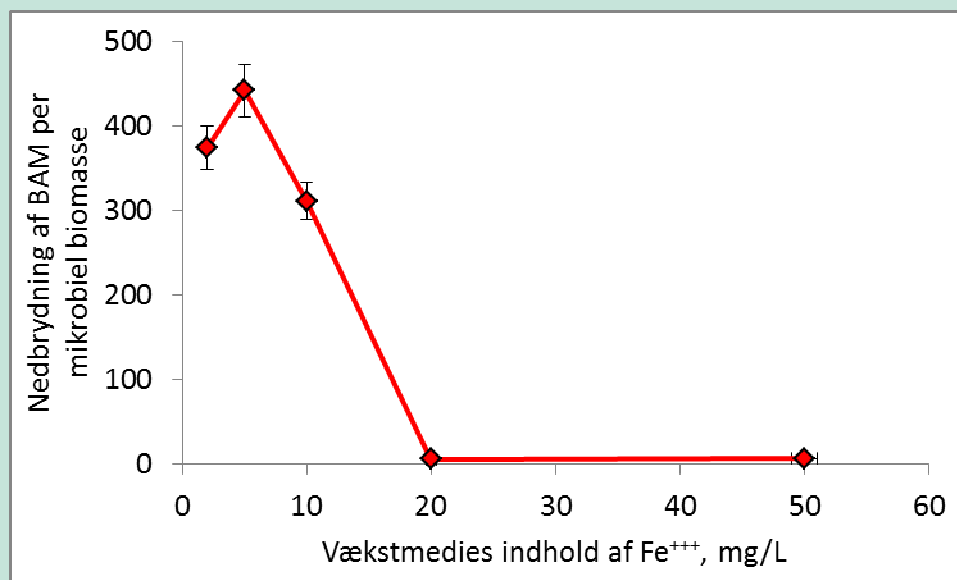
3.8 Supplerende laboratorieforsøg

En parameter, som kunne have såvel positiv som negativ indflydelse på MSH1-biomassens evne til at omsætte BAM, kunne være jernindholdet, der mange steder i landet er ganske stort i råvandet. Der blev derfor tilsat stigende mængder jern til vækstmediet for at følge indvirkningen. Forsøget viste, at stigende mængder jern havde en positiv virkning på såvel adhæsionen af bakterier til filtermaterialet som på væksten, der næsten tre dobledes fra 2 til 50 mg Fe/L.



FIGUR 11
EFFEKTEN AF FORSKELLIGT INDHOLD FE⁺⁺⁺ I VÆKSTMEDIET PÅ ADHÆSION I PROCENT AF TILSAT.

Til gengæld viste det sig, at høje koncentrationer af jern (>10 mg Fe⁺⁺⁺/L) havde en inhiberende virkning på reduktionskapaciteten, som over 20 mg Fe/L ophørte. Et tidligere forsøg har vist, at okkerslam, der udfælder på filtermaterialet, ikke har nogen indflydelse på omsætningen af BAM.



FIGUR 12
EFFEKTEN AF FORSKELLIGT INDHOLD FE⁺⁺⁺ I VÆKSTMEDIET PÅ NEDBRYDNINGEN AF BAM I PROCENT AF TILSAT.

Det, vi har set her, er indflydelsen på opvæksten af biomassen, hvor jern i store mængder kan undertrykke nedbrydningspotentialt.

I Viborg city anlægget er der tale om meget små mængder jern i råvandet, hvorfor vi ikke tror, at jern kan være den direkte årsag på den manglende stabilitet ved inokuleringerne i pilotanlægget.

3.9 Fjerde påsætning af Aminobacter MSH1 - 4. december 2012.

Påsetningen blev denne gang igen påhældning af 50 liter bakteriesuspension fra tilgangen til filtret i dennes top. Suspensionen var fremstillet på basis af 10 liter kultur med en OD600 på ca. 2,5, som blev blandet med det aftappede vand fra filtret. Ca. fire timer inden anlægget blev sat i gang, blev blandingen påhældt filtret.

Driftsbetingelser:

- Filter 1 og filter 2 med identisk fyldning: NEVTRACO med et bærelag af kis.
- Filter 1 og filter 2: Koblet på filteret vand (renvand) efter det eksisterende store sandfilter.
- Flow filter 1: 1 m³/h (norm i filter er 2.4 m³/h).
- Flow filter 2: 0,4 m³/h (norm i filter er 2.4 m³/h).

I et forsøg på at analysere, hvor i filtrene BAM reduktionen fandt sted, påsattes den 4. december en MSH1-kultur efter samme princip som den tidligere påsætning. Derefter udtog vi prøver fra sideudtagene i filtrene gennem december måned. Som det fremgår, opnåede vi langt fra den samme reduktion, som vi havde på den forrige påsætning. Samtidig var det klart, at vi ikke kunne erkende, hvor den primære reduktion fandt sted ned gennem filtrene, det var koncentrationsforskellene for små til.

Det fremgår også, at der ikke var forskel på filter 1 med et flow på 1 m³/time og filter 2 med et flow på 0,4 m³/time. Dette giver en forøgelse i opholdstiden på 2,5 gange, men dette er ikke nok til en signifikant forøgelse i reduktionen.

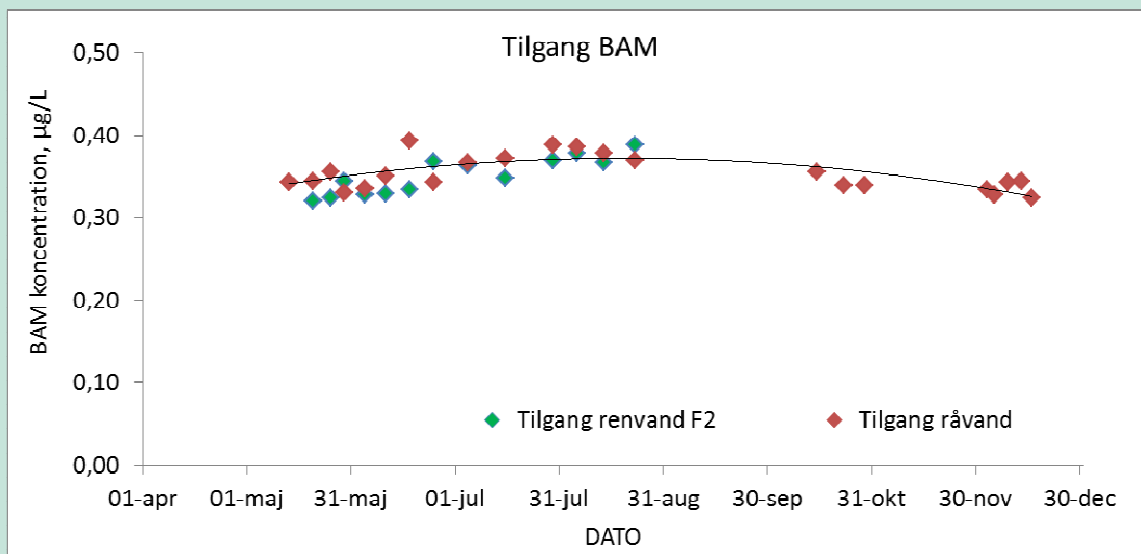


FIGUR 13

BAM-KONCENTRATIONER [µG/L] EFTER FJERDE PÅSÆTNING. ØVERSTE RÆKKE ER FILTER 1, NEDERSTE RÆKKE ER FILTER 2. REDUKTIONEN ER MANGLENDE ELLER MINDRE END 10 %.

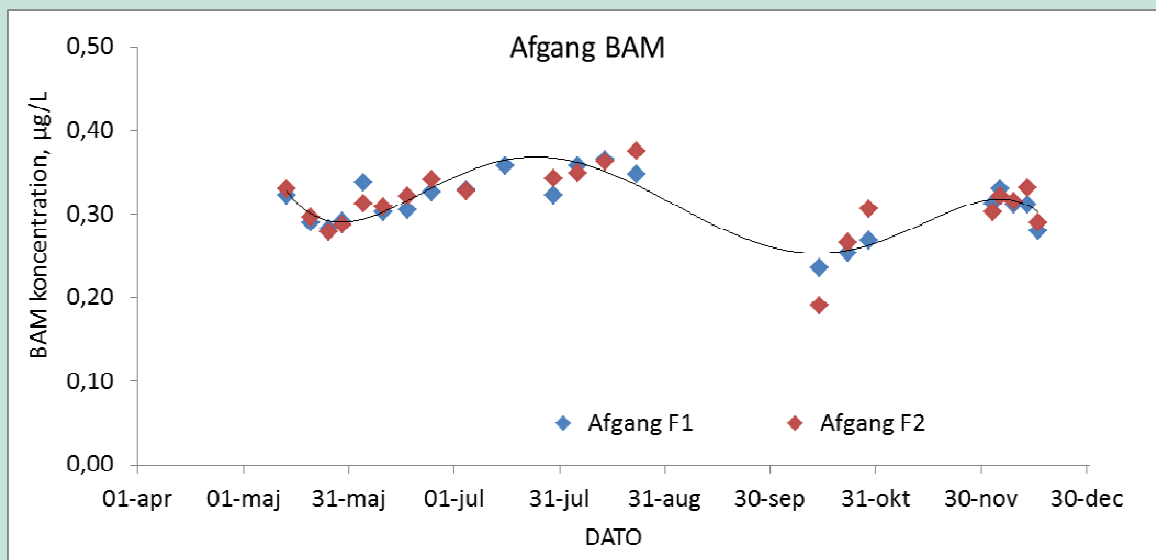
3.10 Tilgangs- og afgangskoncentrationer over hele måleperioden

Når man sammenstiller alle målingerne fra vores forsøg får man et udmærket overblik over den meget stabile tilgangs koncentration af BAM, som med en lille årstidsvariation ligger omkring 0,35 µg/L.



FIGUR 14
INDHOLDET AF BAM I TILGANGEN AF RÅVAND OG RENVAND TIL ANLÆGGET OVER HELE FORSØGSPERIODEN.

Der er ikke nogen umiddelbar tendens til hverken stigende eller faldende indhold i råvandet.



FIGUR 15
BAM-KONCENTRATIONEN I AFGANGEN FRA PILOTANLÆGGET GENNEM HELE FORSØGSPERIODEN.

Afgangskoncentrationerne har desværre ikke været meget lavere end tilgangskoncentrationerne, generelt ca. 10 % under, med en undtagelse ved tredje påsætning i oktober, hvor vi opnåede en reduktion på ca. 50 %. Denne viste sig dog ikke at være vedvarende.

Referencer

Holtze, M., Sørensen, S., Sørensen, J., Hansen, H., and Aamand, J., 2007, Biostimulation and enrichment of 2,6-dichlorobenzamidemineralising soil bacterial communities from dichlobenil-exposed soil: *Soil Biology and Biochemistry*, v. 39, no. 1, p. 216223, doi: 10.1016/j.soilbio.2006.07.009.


Holtze, M.S., Hansen, H.C.B., Juhler, R.K., Sørensen, J., and Aamand, J., 2007, Microbial degradation pathways of the herbicide dichlobenil in soils with different history of dichlobenil-exposure.: *Environmental Pollution (Barking, Essex_ : 1987)*, v. 148, no. 1, p. 34351, doi: 10.1016/j.envpol.2006.10.028.

Jacobsen, O.S. Holtze, M. S. Sørensen, S. R. Aamand, J. 2009. Sandfilter bioaugmentation of the pesticide metabolite, BAM, as a tool to cleanup drinking water contaminated by low concentrations. *Proc. Pesticide Behaviour in Soils, Water and Air*. 14.16. September 2009. York, UK.

Jacobsen, O.S., Albers, C.N., Dreier, I., Koch, A.C. 2012. Nyt mikrobiologisk rensningsprincip til fjernelse af pesticid i drikkevandet.- Udvikling af et mikrobiologisk rensningsprincip til anvendelse i traditionelle vandbehandlingsanlæg på vandværker til fjernelse af pesticid (BAM) i drikkevandet. Rapport fra Naturstyrelsen. ISBN nr. 978-87-7279-606-2

Simonsen A., Holtze M S, Sørensen S R, Sørensen S J, Aamand J. 2006. Mineralisation of 2,6-dichlorobenzamide (BAM) in dichlobenil-exposed soils and isolation of a BAM-mineralising *Aminobacter* sp. *Environmental Pollution* 144: 289295.

Sørensen, S.R., Holtze, M.S., Simonsen, A., and Aamand, J., 2007, Degradation and mineralization of nanomolar concentrations of the herbicide dichlobenil and its persistent metabolite 2,6-dichlorobenzamide by *Aminobacter* spp. isolated from dichlobenil-treated soils.: *Applied and environmental microbiology*, v. 73, no. 2, p. 399406, doi: 10.1128/AEM.0149806.



Naturstyrelsen
Haraldsgade 53
2100 København Ø
Tlf.: (+45) 72 54 30 00
www.nst.dk