

Bakterievækst og tilsætningsstoffer

Stephen Wessels
Dansk Toksikologi Center

Charlotte Bettina Corfitzen & Hans-Jørgen Albrechtsen
Danmarks Tekniske Universitet, Miljø & Ressourcer

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling.

Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter.

Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Indhold

INDHOLD	3
FORORD	5
SAMMENFATNING OG KONKLUSIONER	7
SUMMARY AND CONCLUSIONS	11
1 INDLEDNING	15
1.1 BAGGRUND	15
1.2 LOVGRUNDLAGET	17
2 TILSÆTNINGSSTOFFERNE OG DERES FUNKTION VED ETABLERING AF DRIKKEVANDSBORINGER	18
2.1 BOREMUDDER OG ANDRE HJÆLPESTOFFER TIL BOREARBEJDE	18
2.1.1 <i>Boremudder</i>	18
2.1.2 <i>Bentonite</i>	19
2.1.3 <i>Baryte</i>	19
2.1.4 <i>Natriumchlorid</i>	19
2.1.5 <i>Organiske polymerer</i>	19
2.1.6 <i>Kaustisk soda</i>	19
2.1.7 <i>Detergent og skum</i>	20
2.1.8 <i>Sprængstof</i>	20
2.2 SMØRING AF BOREGREJ	20
2.2.1 <i>Mineralsk olie</i>	20
2.2.2 <i>Vegetabiliske olier og sæbebaseret glidemiddel</i>	20
2.2.3 <i>Kobber- og zinkfedt</i>	21
2.2.4 <i>Grafitpulver</i>	21
2.3 FILTERSÆTNING OG AFPROPNING/FORSEGLING	21
2.3.1 <i>Bentonite</i>	21
2.3.2 <i>Rapid cement og lavalkali cement</i>	21
2.3.3 <i>Diverse materialer</i>	21
2.4 DESINFEKTION	21
2.4.1 KLORING	21
2.4.2 <i>Brintoverilte</i>	22
2.5 REGENERERING OG KAPACITETSFORBEDRING	22
2.5.1 <i>Saltsyre</i>	22
2.5.2 <i>Herli Rapid med vitamin</i>	22
2.5.3 <i>Hexametafosfat og klor</i>	22
2.5.4 <i>Brintoverilte</i>	22
3 TILSÆTNINGSSTOFFER ANVENDT I 2004	23
3.1 TILSÆTNINGSSTOFFER OG LEVERANDØRER I 2004	25
3.2 ANVENDTE MÆNGDER	26
3.3 IKKE LÆNGERE I ANVENDELSE	27
3.4 KONKLUSION	28
4 MIKROBIEL VÆKST OG TILSÆTNINGSSTOFFER	29
4.1 MIKROORGANISMERS FOREKOMST I UNDERGRUNDEN	29

4.1.1	Mikroorganismers vækst i boringen	30
4.1.2	Renpumpning og prøvepumpning: fjernelse af mikroorganismer fra boringen	30
4.2	TILSÆTNINGSSTOFFER SOM KULSTOFKILDER I GRUNDEVANDSMILJØET	31
4.2.1	Tilsætningsstoffets kemiske struktur	31
4.2.2	Tilsætningsstoffets koncentration i råvandet efter afsluttet prøvepumpning	31
4.3	IAGTTAGELSER OM MIKROBIEL VÆKST I BOREPRAKSIS	32
4.3.1	Forhøjet bakterietal i råvandet	32
4.3.2	Prøvepumpning	32
4.3.3	Desinfektion og utætheder	33
4.3.4	"Sterile boringer"	33
4.3.5	CMC og vækst	33
4.4	KONKLUSION	33
5	DE ANVENDTE TILSÆTNINGSSTOFFER OG POTENTIALE FOR MIKROBIEL VÆKST	34
5.1	ANVENDTE TILSÆTNINGSSTOFFER SOM KULSTOFKILDER	34
5.2	KOMMENTARER TIL UDVALGTE TILSÆTNINGSSTOFFER	35
5.2.1	Bentonite	35
5.2.2	CMC	36
5.2.3	Anionisk polymer A 63, polyacrylamid	36
5.2.4	Midler til smøring af boregrej	36
5.2.5	Nøddeskaller	36
5.2.6	Midler til regenerering	36
5.3	VALG AF TILSÆTNINGSSTOFFER TIL VIDERE UNDERSØGELSE	37
6	UNDERSØGELSE AF MIKROBIEL VÆKST MED UDVALGTE TILSÆTNINGSSTOFFER SOM KULSTOFKILDER	38
6.1	UNDERSØGTE TILSÆTNINGSSTOFFER	38
6.1.1	Bentonite	38
6.1.2	CMC	38
6.2	METODER	39
6.2.1	Assimilerbart Organisk Carbon (AOC)	39
6.2.2	Eftervækstpotentiale	40
6.3	FORSØGSOPSÆTNING	41
6.4	RESULTATER	41
6.4.1	AOC	41
6.4.2	Eftervækstpotentiale	42
6.5	DISKUSSION	46
7	KONKLUSIONER	47
8	LITTERATURLISTE	49

Bilag A Spørgeskema udsendt i 2004 til brøndborerfirmaer

Bilag B AOC: Metode til måling af bakterievækst

Bilag C HPC: Metode til måling af bakterievækst

Bilag D ATP: Metode til måling af bakterievækst

Bilag E Stamopløsninger

Bilag F Ordliste

Forord

Dette projekt præsenterer de stoffer og produkter, der i dag anvendes i Danmark, når der etableres drikkevandsboringer. I denne rapport betegnes disse stoffer og produkter tilsætningsstoffer. Projektet har vurderet tilsætningsstofferne med henblik på at afgøre, hvorvidt de i drikkevandsboringen kunne give anledning til vækst af mikroorganismer i råvandet. To af tilsætningsstofferne blev testet i mikrobiologiske laboratorieforsøg for at vurdere, om de kunne understøtte vækst af relevante mikroorganismer. Resultaterne af disse forsøg præsenteres og diskuteres i nærværende rapport.

Projektet er igangsat af Miljøstyrelsen, som har bedt Dansk Toksikologi Center (DTC) og Danmarks Tekniske Universitets Miljø & Ressourcer (M&R) om assistance. Det har været DTC's opgave at samle viden om de anvendte tilsætningsstoffer og sammen med M&R at identificere de tilsætningsstoffer, som med størst sandsynlighed kan være næringskilder for bakterier i grundvandsboringer. M&R har udført laboratorieforsøgene, og DTC har været projektleder. Projektet afsluttedes i december 2004.

Projektmedarbejderne vil gerne takke de brøndborerfirmaer, der har bidraget med oplysninger til projektet, og Ingeniørgruppen Varde AS, som har bidraget med oplysningerne i figur 1.

Projektets følgegruppe har bestået af:

Susanne Rasmussen	Miljøstyrelsen
Bente Villumsen	Miljøstyrelsen
Linda Bagge	Miljøstyrelsen
Klaus Kolind-Hansen	DANVA
Henrik Schmidt	Foreningen af Danske Brøndborere
Jens Ravnborg	Foreningen af Danske Brøndborere
Lajla Davidsen	Mercantas A/S
Leo Grøn-Iversen	Mercantas A/S
Camilla Nordal Rask	KL
Helle Westphal	Dansk Toksikologi Center

Projektmedarbejderne har været:

Stephen Wessels, projektleder	Dansk Toksikologi Center
Charlotte Bettina Corfitzen	Miljø & Ressourcer DTU
Hans-Jørgen Albrechtsen	Miljø & Ressourcer DTU

Sammenfatning og konklusioner

Denne rapport omhandler, hvorvidt vækst af bakterier i råvand til drikkevand kan skyldes stoffer og kemiske produkter, der anvendes, når drikkevandsboringen etableres. I denne rapport kaldes disse stoffer og kemiske produkter tilsætningsstoffer. Rapportens bilag F udgør en ordliste.

Når der etableres drikkevandsboringer, anvendes tilsætningsstoffer til følgende formål:

1. boremudder og andre hjælpestoffer til borearbejdet
2. smøring af boregrej
3. filtersætning og forsegling
4. desinfektion
5. kapacitetsforbedring og regenerering.

Generelt er den danske drikkevandskvalitet god, og sædvanligvis giver indvinding af grundvand ikke anledning til væsentlige problemer med vækst af bakterier i råvandet. En del brøndborerfirmaer i Danmark har dog fra tid til anden erfaret, at det oppumpede råvand fra nyetablerede drikkevandsboringer har et bakterie-kimtal, som er højere end vandforsyningsanlæggene ønsker at acceptere. Brøndborerne har ikke kunnet forklare de forhøjede kimtal, men for at sænke dem tager de forskellige forholdsregler. Fx desinficeres boringen med klor, eller selve boreprocessen foretages "sterilt" (dvs. uden adgang for muld fra terrænet), eller tiden for prøvepumpning forlænges med flere uger. Både brøndborerfirmaerne, vandforsyningsanlæggene og Miljøstyrelsen ville gerne forstå baggrunden for de forhøjede kimtal, og Miljøstyrelsen tog derfor initiativ til dette projekt og udpegede Dansk Toksikologi Center som projektleder.

Én mulig forklaring på bakterievæksten i råvandet kan være, at tilsætningsstofferne til etableringen af boringen tjener som næringskilder for de bakterier, som naturligt forekommer i grundvandsmiljøet, og at bakterierne efterfølgende formerer sig i råvandet. Dette projekt vurderer, om tilsætningsstofferne faktisk kan være næringskilden for bakterierne.

Projektet faldt i to dele, som blev udført af hhv. Dansk Toksikologi Center og Miljø & Ressourcer DTU. I den første del af projektet blev der foretaget en opgørelse over, hvilke tilsætningsstoffer brøndborerfirmaer i dag anvender ved etablering af drikkevandsboringer i Danmark. Disse oplysninger blev sammenlignet med en lignende opgørelse fra 1995 (Weber et al. 1995). I den anden del af projektet blev to af de anvendte tilsætningsstoffer afprøvet i laboratorieforsøg for at vurdere deres potentiale som næringskilde for grundvandsbakterier.

I projektets første del blev et spørgeskema i januar 2004 udsendt til 6 brøndborerfirmaer for at skabe et overblik over hvilke tilsætningsstoffer, man i dag anvender i Danmark. Fire af firmaerne besvarede henvendelsen, og disse oplysninger er præsenteret i rapportens Tabel 1 og 2. Tabellerne udgør en fortegnelse over tilsætningsstofferne, deres leverandører i Danmark og de omtrentlige mængder af hvert, der anvendes.

Siden Miljøstyrelsens opgørelse fra 1995 (Weber et al. 1995) er der ikke sket en væsentlig udskiftning af tilsætningsstoffer. Da der i 1995-opgørelsen ikke foreligger mange oplysninger om de anvendte mængder af hvert tilsætningsstof, kan der dog ikke slutes noget om et forøget eller formindsket forbrug af det enkelte tilsætningsstof.

Mikrobiologisk set er det sandsynligt, at bakterier altid vil forekomme i prøvepumpningsvand. Bakterier forekommer naturligt i grundvandsmiljøet, og enkelte tilsætningsstoffer er egnede som kulstofkilde (dvs. næringskilde) for bakterierne og kunne føre til formering af bakterierne. Nogle af tilsætningsstofferne anvendes i store mængder, og i disse kunne selv et lille indhold af kulstof være nok til at understøtte formering af bakterierne.

På den anden side kan den store volumen prøvepumpningsvand virke mod formering af bakterierne. Således kunne koncentrationen af et givet tilsætningsstof i det sidste prøvepumpningsvand være så lav, at den var under tærsklen for tilgængelighed for en bakteries stofskifte.

I projektets anden del valgte projektgruppen at undersøge tilsætningsstofferne bentonite (Wyoming bentonite API) og carboxymethylcellulose (CMC) for deres potentiale som kulstofkilder for bakterievækst. Undersøgelserne blev udført på Miljø & Ressourcer DTU. For CMC blev der undersøgt både en teknisk kvalitet CMC (Gabrosa P 300 G) og en meget ren kvalitet (Akucell AF 1985), som anvendes som tilsætningsstof til fødevarer. Den tekniske kvalitet kan indeholde 5-20 % natriumacetat som reaktant-rest fra den kemiske syntese. For hvert tilsætningsstof blev der afprøvet en meget lav koncentration og en koncentration 100 gange højere. For bentonite var disse 50 og 5000 µg/L vand, og for CMC 10 og 1000 µg/L vand. Fordi bentonite er et produkt af vulkansk aktivitet, indeholder det yderst lave koncentrationer kulstof. Undersøgelserne blev udført under forsøgsbetingelser, som for flere faktorerer vedkommende svarer til forholdene i grundvandsmiljøet. Alle prøver blev udført tredobbelt.

Som mikroorganismer, der potentielt kunne bruge tilsætningsstofferne som næringskilder, blev 2 forskellige slags podemateriale anvendt. I den ene forsøgsrække blev der podet med 2 veldefinerede og kendte bakteriestammer fra grundvandsmiljøet (*Pseudomonas fluorescens* P17 og *Aquaspirillum* sp. NOX). Man ved, at disse kan formere sig i nærvær af meget lave koncentrationer kulstof (fx 10 µg/L). Ved at pøde med disse bakterier var det muligt at ekstrapolere fra omfanget af bakteriernes vækst i disse forsøg til tidligere forsøg, hvor bakterierne havde kendte og meget lave koncentrationer acetat at formere sig på. Således kunne bakterievækst ved en given koncentration af et tilsætningsstof knyttes til en bestemt koncentration acetat-kulstof, eller acetat-C-ækvivalenter. Denne metode antages at måle den totale mængde kulstof i vandet, som bakterier kan bruge til vækst, eller at måle assimilerbart organisk kulstof (AOC). I praksis gøres væksten af de 2 bakteriestammer op på samme agarsubstrat, hvor deres respektive kolonier har forskellige udseender. AOC udtrykkes i µg acetat-C-ækvivalenter/L vand.

Den anden slags podemateriale var en bred og udefineret bakteriesammensætning, som blev udrystet fra filtersand fra Lyngby vandværk, som laboratoriet har udstrakt erfaring med. I disse forsøg blev tilsætningsstoffernes eftervækstpotentiale fulgt. Eftervækstpotentiale angiver den maksimale bakterietilvækst, som tilsætningsstoffet tilsat drikkevand kan give anledning til. Disse

bakterier vokser bl.a. på det organiske materiale, der er i råvandet, og på denne måde simuleres en situation, hvor tilsætningsstoffer i en ny boring forurener råvandet. Eftervækstpotentiale blev målt både ved hjælp af kolonitælling på agarsubstrat og ved måling af ATP (adenosintriphosphat).

Resultaterne af alle forsøgene viste, at hverken betonite eller CMC påvirker koncentrationen af bakterier i det oppumpede råvand. Der var dog en reaktion i den høje koncentration (1000 µg/L) af CMC af teknisk kvalitet (Gabrosa P 300 G). Denne prøve resulterede i AOC på ca. 15 µg/L, hvilket er 3 gange højere end kontrollen. Det reneste CMC (Akucell AF 1985) gav ingen bakteriel vækst ved 1000 µg/L, hvilket formentlig skyldes den større renhed og fravær af acetat.

Det kan konkluderes, at det ikke er sandsynligt, at de aktuelt anvendte tilsætningsstoffer til etablering af drikkevandsboringer kan bidrage til mikrobiologisk vækst i drikkevand. Dog kan anvendelsen af store mængder teknisk CMC bidrage til mikrobiologisk vækst, hvis CMC har et betydeligt acetat-indhold som urenhed.

Dette projekt har således ikke kunne forklare de forhøjede kimtal i prøve-pumpningvandet fra nyetablerede drikkevandsboringer.

Summary and conclusions

This report deals with growth of bacteria in drinking well water and whether the growth is due to the chemical products used during the production of the well itself. In this report these chemical products are termed additives, corresponding to the usage in the Danish language of *tilsætningsstoffer*. Appendix F in the report is a Danish language glossary.

When drinking water wells are established, additives are used for the following purposes:

1. as drilling mud and additives to it
2. lubrication of drilling equipment
3. construction of the well's filter and sealing of the hole
4. disinfection
5. improvement of capacity and regeneration.

The quality of Danish drinking water in general is very good, and problems of bacterial growth in the water are usually not encountered when using ground-water as drinking water. However, some Danish well drilling companies have experienced that the groundwater from newly established wells has a bacterial count that is higher than the waterworks are willing to accept. Without being able to explain these counts, the well drillers attempt to reduce them by various means, such as disinfection with hypochlorite, carrying out "sterile" drilling (avoiding all access of surface soil to the well), or extending the duration of the test pumping to several weeks. The well drillers, the waterworks, and the Danish EPA all want to be able to understand why the bacterial counts rise. Thus, the EPA initiated this project, with the Danish Toxicology Centre as the project leader.

One plausible explanation of the growth of bacteria in the fresh groundwater can be that the bacteria that occur naturally in the groundwater use the drilling additives as a carbon source, and they propagate in the water. This project set out to evaluate whether, in fact, the additives can be carbon sources for groundwater bacteria.

The project consisted of two parts, which were conducted by the Danish Toxicology Centre and by Environment & Resources (E&R DTU) at the Technical University of Denmark. In the first part of the project, a survey was conducted of the additives now in use by Danish well-drilling companies. These data were compared with those presented by the EPA in 1995 (Weber et al. 1995). In the second part of this project, two of the additives were assayed in laboratory experiments for their potential as carbon sources for groundwater bacteria.

In the first part of the project, in January 2004 a questionnaire was submitted to six Danish well-drilling companies as a means of getting an overview of the additives that are in use in Denmark today. Four of the companies responded, and these data are to be found in the report's Tables 1 and 2. The tables present the additives in use, their suppliers, and the rough quantities of each that are used.

Since the EPA survey in 1995, there has not been much change in which additives are used. However, because the 1995 survey only contains a few data on quantities, it is not possible to conclude anything about increased or reduced consumption of the individual additives.

Microbiologically, it is very probable that bacteria will be present in the water from the prolonged test pumping of any new well. Bacteria are natural inhabitants of the groundwater environment, and a few of the additives are suitable as carbon sources for growth of these bacteria.

On the other hand, the large volume of water flowing during the test pumping can defeat bacterial growth. For instance, during the final period of test pumping, the concentration of a given additive in the water would most probably be so low that it would be inaccessible to the metabolic machinery of the bacteria.

In the second part of the project, the project group chose to investigate the additives bentonite (Wyoming bentonite API) and carboxymethyl cellulose (CMC) for their potential as carbon sources for groundwater bacteria. These studies were done at the E&R DTU laboratory. Because bentonite is a product of an igneous rock, its carbon content is extremely low, but it is used in very large quantities. For CMC two qualities were investigated: the drilling technical quality Gabrosa P 300 G and a very pure quality Akucell AF 1985, which is used as a food additive. The technical quality CMC can contain 5-20 % sodium acetate as an unreacted residue from the chemical synthesis. Each additive was tested at a very low concentration and at a 100-times higher concentration. For bentonite, these were 50 and 5000 $\mu\text{g/L}$ water, and for both CMC qualities, 10 og 1000 $\mu\text{g/L}$ water. The experimental conditions for the investigations were chosen roughly to resemble those in the groundwater environment. All experiments were conducted in triplicate.

For the microbial inoculum that potentially might grow on the additives, two different types of inocula were chosen. One of these consisted of two, well-defined strains of bacteria (*Pseudomonas fluorescence* P17 and *Aquaspirillum* sp. NOX) that are known to grow well in the groundwater environment and to grow despite very low concentrations of carbon (e.g. 10 $\mu\text{g/L}$). Use of these two strains allowed extrapolation from the growth results of these experiments to the results of earlier, published experiments, in which the strains had known and very low concentrations of acetate to grow on. This way, results with the drilling additives could be correlated directly with definite concentrations of acetate carbon, or acetate-C equivalents. This method is assumed to assay assimilable organic carbon (AOC), or the total carbon in the water that is accessible to microorganisms. In practice, the growth of the two bacterial strains is assayed on a single agar substrate, on which their colonies have different morphologies. The AOC of each additive at each concentration is then expressed as μg acetate-C equivalents/L water.

The other type of inoculum for the growth experiments was a broad and undefined population extracted from filter sand from the municipal water plant in Lyngby, Denmark, which the E&R DTU laboratory has investigated extensively. In these experiment the additives' potential for regrowth was studied. The regrowth potential is an expression of the maximal bacterial growth attainable with the additive as a carbon source in drinking water. The

regrowth potential was assayed both as colony-forming units (CFU) on agar plates and as measurement of ATP (adenosine triphosphate).

The results of all experiments showed that neither bentonite nor CMC will affect the concentration of bacteria in the water pumped up from a new well. However, there was an exception in the high concentration (1000 µg/L) of the technical quality CMC (Gabrosa P 300 G). Here, an AOC of 15 µg acetate-C equivalents/L was measured, which is 3 times above the control samples. The pure quality CMC at the high concentration did not result in bacterial growth. This is presumably due to the absence of acetate in this quality.

In conclusion, it is not probable that the additives currently in use in Denmark for the establishing of drinking wells contribute the bacterial counts seen in water from new wells. The use of large quantities of technical quality CMC might, however, result in microbial growth if the additive contains an appreciable concentration of acetate as an impurity.

Thus, this project is not able to explain the elevated CFU's observed by the well drillers of new drinkingwater wells.

1 Indledning

1.1 Baggrund

Formålet med denne rapport er at foretage en vurdering af, om de materialer, der anvendes til boringer og til boringsfiltre, kan give anledning til mikrobiologisk vækst.

Generelt er den danske drikkevandskvalitet god, og sædvanligvis giver indvinding af grundvand ikke anledning til væsentlige mikrobielle problemer. Dog kan det ikke udelukkes, at der i særlige tilfælde kan opstå problemer som illustreret i figur 1.

Drikkevandskvaliteten kan forringes ved tilstedeværelsen af mikroorganismer i vandet. De kan tilføre vandet en uønsket lugt og eventuelt udgøre en sundhedsmæssig risiko. Er betingelserne ugunstige, og er der tilstrækkeligt med organisk materiale i råvandet eller i drikkevandet, som mikroorganismene kan leve af, vil de kunne formere sig.

Organisk materiale, der kan give anledning til mikrobiel vækst i drikkevand, kan stamme fra

1. etablering af boringen
2. vandbehandlingen på vandværket,
3. distributionssystemet

Projektet undersøger, hvorvidt boringens materialer og tilsætningsstoffer kan være årsag til vækst af mikroorganismer.

Det understreges, at projektet fokuserer på selve borehullet og borehullets betydning for forekomst af mikroorganismer i råvandet, der efterfølgende ledes hen til vandforsyningsanlægget. Projektet beskæftiger sig ikke med betydningen af selve grundvandet eller vandforsyningsanlægget for forekomst af mikroorganismer i drikkevand.

Projektets problemstilling illustreres i Figur 1, næste side. Figuren viser målinger og iagttagelser fra en drikkevandsboring i Jylland. Af figuren fremgår det, at i den viste periode på ca. 19 måneder var boringen ud af drift i perioder af hhv. 11, 86 og 130 dage, eller i alt 7½ måned. I disse 3 perioder var de acceptable kimtal ved 22°C overskredet indtil 6 gange, og ved 37°C var de overskredet indtil 20 gange. For at sænke kimtallene igen blev der kloreret 2 gange og prøvepumpet i i alt 111 døgn. Ifølge denne rapport's beregning (Kapitel 4) udgør prøvepumpningen mindst 66.600 m³ vand.

Dato	Kim/ml		Handling
	22°C	37°C	
Tidligt forår 2003	< 1	< 1	Boring taget i brug
09.10.03	120	74	Efter konstatering af høje kimtal blev boringen udkoblet og kloring gennemført
16.10.03	21	7	Kontrolanalyse under prøvepumpning
20.10.03	4	<1	Kontrolanalyse - boring genindkoblet
11.11.03	130	67	Udkoblet efter konstatering af høje kimtal
17.11.03	100	52	Kontrolanalyse. Boring TV-inspiceret og udskiftning af samling gennemført
06.01.04	130	24	Kontrolanalyse under prøvepumpning.
14.01.04	17	12	Kontrolanalyse under prøvepumpning.
20.01.04	31	22	Kontrolanalyse under prøvepumpning.
26.01.04	5	2	Kontrolanalyse under prøvepumpning.
02.02.04	5		Kontrolanalyse under prøvepumpning.
06.02.04	2	1	Kontrolanalyse under prøvepumpning. Boring genindkoblet.
16.03.04	120	120	Kontrolanalyse - omprøve rekvireret.
23.03.04	13	2	Omprøve
21.04.04	8	11	Kontrolanalyse
03.05.04	310	110	Boring taget ud af drift (på vandværket hhv. 12 og 7 kim/ml)
10.05.04	290	96	Omprøve
juli – aug. 04			Rengøring ved spuling og kloring.
21.08.04			Prøvepumpning startet.
30.8.04	< 1	< 1	Kontrolanalyse.
10.09.04			Genindkobling
22.09.04	35	2	Kontrolanalyse.

Figur 1. Forløb i kimtal i prøvepumpningsvand fra en nyetableret drikkevandsboring (Ingeniørgruppen Varde AS, 2004). Beskrivelser af handlinger er formuleret af brøndborerfirmaet. For overholdelse af renhed og derfor for indkobling af boringen sigter firmaet efter de danske kvalitetskrav til drikkevand. For kim ved 22°C og 37°C er disse hhv. 50 og 5 kim pr. ml (BEK nr. 871 af 21/09/2001).

1.2 Lovgrundlaget

I Danmark skal vand fra vandforsyningsystemer, der forsyner mennesker med vand til husholdningsbrug, overholde kvalitetskravene, fastsat i bekendtgørelse¹ 871 af 21. september 2001. Fx må der ikke være mere end 5 mikrobielle kim pr. ml, når vandprøven undersøges for kim, der kan vokse ved hhv. 37°C, og ikke mere end 50 kim pr. ml ved 22°C.

Drikkevandsforsyningen skal ligeledes være baseret på rent grundvand, som kun skal underkastes en minimal behandling, før det er acceptabelt som drikkevand. Dette betyder, at råvand fra drikkevandsboringer så vidt muligt skal leve op til de danske kemiske og mikrobiologiske kvalitetskrav uden videre behandling. I relation til mikrobiologien skal råvandet helst indeholde så få kim at det ikke skal desinficeres for at kunne overholde de lovmæssige kvalitetskrav..

Der er ingen mikrobiologiske kvalitetskrav til det råvand, der pumpes op af jorden og føres ind i vandforsyningsanlægget. Ejeren af vandforsyningsanlægget, stiller de krav, der skal stilles til det vand, som et brøndborerfirma leverer. I praksis stiller vandforsyningsanlægget oftest de samme kvalitetskrav til råvandet som den danske bekendtgørelse stiller til det vand, vandforsyningsanlægget sender ud i nettet. På denne måde skal råvandet kun underkastes minimal behandling i vandforsyningsanlægget.

I forbindelse med dette projekt er det vigtigt at bemærke, at formålet med de nævnte kintalsmålinger ved 22°C og 37°C kun er at give en overordnet indikation af, om der er for mange bakterier i vandet, ikke at foretage en bestemmelse af det totale antal mikroorganismer i vandet.

¹ Bekendtgørelse om vandkvalitet og tilsyn med vandforsyningsanlæg

2 Tilsætningsstofferne og deres funktion ved etablering af drikkevandsboringer

De kemiske produkter og materialer, der anvendes ved etablering af drikkevandsboringer betegnes i det følgende tilsætningsstoffer. Tilsætningsstofferne benyttes i forbindelse med:

1. anvendelse af boremudder og andre hjælpestoffer til borearbejdet
2. smøring af boregrej
3. filtersætning og forsegling
4. desinfektion
5. kapacitetsforbedring og regenerering.

I det følgende gennemgås de anvendte tilsætningsstoffers kemiske sammensætning og deres funktion inden for anvendelsesområdet beskrives kort.

2.1 Boremudder og andre hjælpestoffer til borearbejde

2.1.1 Boremudder

Bredt defineret kan boremudder, eller borevæske, bestå af vand, enten rent eller tilsat f.eks. bentonite, baryte, og polymer, eller det kan bestå af luft, enten ren eller tilsat vand og i særlige tilfælde f.eks. skum. Oliebaserede borevæsker anvendes ikke i forbindelse med boringer efter grundvand.

Anvendelse af tilsætningsstoffer i borevæsken afhænger af boremetoden. Boremudder i traditionel forstand anvendes især i forbindelse med skylleboringer. Ved "tør" boreteknik kan der dog også anvendes boremudder i stedet for borerør (casings) til at stabilisere borehullet.

Ved skylleboreteknik benyttes hule, roterende borestænger, eller borestreng, med et boreværktøj, der løsner og knuser materialet i boringens bund. Det løsnede materiale føres op af borehullet til terrænet ved hjælp af en kraftig skyllestrøm og ved hjælp af selve boremuddrets rotation. Skyllestrømmen og rotationen indstilles, så opdriften herfra er stærkere end tyngdekraften nedad. Partiklerne i det løsnede materiale svæver så at sige opad. Opdriftshastigheden kan være 30 – 60 meter pr. minut.

Boremudder tjener følgende formål:

- at forbedre skyllestrømmens evne til at løfte de løsnede materialer op til terrænoverfladen,
- at stabilisere borehullet, når der bores i uholdbare jordarter,
- at danne en tynd lavpermeabel filterkage på borehullets sider, således at væsketab til formationen kan minimeres samt
- at køle og mindske friktion og slitage.

For at kunne opfylde disse formål, kan boremuddret tilsættes forskellige tilsætningsstoffer. Disse omtales i det følgende og er samlet præsenteret i Kapitel 3, Tabel 1. De omtrentligt anvendte mængder af hvert tilsætningsstof, fremgår af Tabel 2.

2.1.2 Bentonite

Et væsentligt og ofte det eneste tilsætningsstof til borevæsken ved skylleboringer er bentonite, der er en naturligt forekommende lerart. Groft defineret består bentonite af ca. 50% siliciumdioxid (SiO_2), 20% aluminiumtrioxid (AlO_3), 3% jernoxid (Fe_2O_3). Resten er oxider af calcium, magnesium, natrium og kalium, plus krystalvand (ca. 5%). Man skelner mellem natriumbentonite og calciumbentonite. Der forhandles mange forskellige bentoniter, hvis kvalitet bl.a. afhænger af oprindelsessted og forarbejdning. Bentonitens tixotropiske egenskaber (dvs., dens evne til at ændre tilstand fra en gel til flydende når den er omrørt) kan forbedres ved aktivering med natriumcarbonat eller ved behandling med en organisk polymer såsom polyacrylat.

2.1.3 Baryte

Borevæsken kan være tilsat baryte for at gøre væsken tungere og for dermed at kunne kompensere for vandtrykket fra formationen. Baryte er identisk med bariumsulfat (tungspat, BaSO_4). Det er uopløseligt og reagerer ikke med eventuelle andre tilsætningsstoffer i borevæsken eller med de naturlige aflejringer.

2.1.4 Natriumchlorid

I enkelte tilfælde kan der være tilsat salt som vægtstof til borevæsken. Der anvendes almindeligt salt (natriumchlorid) i form af vejsalt eller lignende til at hæve vandets vægtfylde.

2.1.5 Organiske polymerer

For at øge borevæskens viskositet og dermed dennes transportevne tilsættes ofte organiske polymerer til borevæsken, som kan erstatte en del af bentoniten, således at indholdet af fast stof i boremuddret holdes nede. Der tilsættes polymerer, så de i størrelsesorden udgør ca. 3% af muddrets tørstof. De hyppigst anvendte polymerer er CMC-polymerer (polymerer af natriumcarboxymethyl-cellulose), der er halvsyntetiske polymerer. Der findes produkter med lav, middel og høj viskositet. Produkter med middel og høj viskositet er de mest anvendte, fordi de ud over stor transportevne begrænser tykkelsen af filterkagen og borevæskens indtrængen i formationen. Da polymererne er fuldstændigt vandopløselige, fjernes filterkagen let ved prøvepumpning.

Der anvendes også forskellige andre syntetiske eller mere naturligt forekommende polymerer.

2.1.6 Kaustisk soda

Kaustisk soda (natriumhydroxid, NaOH) anvendes som tilsætningsstof for at styre pH-værdien i boremuddret.

Kaustisk soda kan også anvendes som eneste tilsætningsstof til modvirkning af gener fra fedtet ler.

2.1.7 Detergent og skum

Gener fra fedtet ler, f.eks. kugledannelse ved boreredskabet, kan også modvirkes ved anvendelse af detergenter, fx anioniske og nonioniske tensider, som bl.a. består af alkoholsulfater.

Ved boring i hårde jord-/bjergarter anvendes trykluftboretikker, f.eks. odexboring eller Down-The-Hole hammerboring, hvor en luftstrøm transporterer det løsborede materiale op til terrænoverfladen. Når der bores i stor dimension, tilsættes ofte skum til luftstrømmen, da evnen til at bringe materialet op af borehullet derved øges kraftigt og den nødvendige luftmængde reduceres.

Det anvendte skum kan være brandslukningsskum i blandingsforholdet 1 1 skum til 200 1 vand.

Skum anvendes af og til også som hjælpemiddel, hvis boringens casing er kørt helt fast. Blandet med vand er skummet med sin kraftige reduktion af overfladespændingen i stand til gennem gevindsamlingerne at trænge ud på casing'ens yderside, hvor det virker som "sæbe" og reducerer overflademodstanden.

2.1.8 Sprængstof

Hvis borearbejdet går i stå på grund af en stor sten, kan man eventuelt vælge at bortsprænge denne. På grund af pladsforholdene i borehullet anvendes næsten altid formløst sprængstof med detonator til sprængningen, da det kan detonere uanset anvendt mængde. Dynamit derimod kan kun detonere, hvis der anvendes mere end en vis kritisk mindstemængde.

Boreudstyr forbedres kontinuerligt, og sprængning anvendes ikke så hyppigt i dag som tidligere. Ved nogle boreteknikker er sprængning aldrig nødvendig.

2.2 Smøring af boregrej

2.2.1 Mineralsk olie

Det formentligt mest anvendte middel til smøring af boregrej er baseret på mineralske olier. Der kan være tale om diverse forhåndenværende olietyper med praktiske egenskaber ud over smøring. Fx kan der være tale om gevindsmøremidler, der også virker mod rust, korrosion og fastbrænding af metaldele. Hydraulisk olie anvendes også på boreværktøj og på kranudstyr. At den forekommer nede i boringen skyldes dog kun spild.

2.2.2 Vegetabiliske olier og sæbebaseret glidemiddel

Salatolie anvendes mere og mere til smøring af boregrej. Til rørmonter og samling af plastmuffeør anvendes også glidemidler baseret på vegetabiliske sæber og fedtalkoholer. Disse nedsætter vands overfladespænding og virker smudsafvisende.

2.2.3 Kobber- og zinkfedt

Gevind kan alternativt smøres med kobberfedt, der bl.a. indeholder kobber og mineralolie, eller med zinkfedt.

2.2.4 Grafitpulver

Et andet alternativ til de mineralsk oliebaseerede produkter er grafitpulver.

2.3 Fil tersætning og afpropning/forsegling

Boringer i løsjordarter filtersættes med opslidsede filterrør og gruskastninger af vasket, sorteret filtergrus. Over og mellem filterstrækninger kan der forsegles med bentonite og eventuelt lerkugler samt beton.

2.3.1 Bentonite

Der anvendes bentonite i form af granulat (pellets, kugler) og bentonite i pulverform, som røres op med vand.

2.3.2 Rapid cement og lavalkali cement

Til betonforsegling anvendes rapid cement og lavalkali cement. For at sikre, at forseglinger af betonite og beton placeres korrekt og for at begrænse materialernes bundfældningstid, pumpes materialerne gennem rør, der er ført ned til undersiden af det ønskede interval, hvorfra forseglingen udføres nedefra og opad.

2.3.3 Diverse materialer

Til at standse et ukontrolleret væsketab i stærkt permeable zoner anvendes mange forskellige materialer, f.eks. mica (glimmer) eller nøddeskaller.

2.4 Desinfektion

2.4.1 Kloring

Bakterievækst i vand fra nyetablerede drikkevandsboringer formodes bl.a. at foregå i filtret i bunden af boringen. Filteret består af sand af en passende kornstørrelse og kan udgøre et lag på 6 – 18 m ovenpå boringens bund af grus. Her formodes bakterier at kunne vokse på bekostning af noget af det materiale, der opfanges af filtret, og derfor desinficeres filtret ved hjælp af kloring. Oftest anvendes natriumhypochlorit, men calciumhypochlorit eller klorkalk kan også anvendes. Brøndborere erkender, at det ikke er sikkert, at hele filtret nås af desinfektionsmidlet på grund af filtrets store højde.

Desinfektionsmidlet blandes med vand, således at den færdige blanding indeholder ca. 3 % aktivt klor. Kloropløsningen ledes ned i boringen, som henstår i mindst et døgn, før den renpumpes.

2.4.2 Brintoverilte

Nogle nye produkter til desinfektion af drikkevandsboringer er baseret på brintoverilte. Endnu anvendes denne form for tilsætningsstof ikke af de 4 brøndborerfirmaer, som blev kontaktet af dette projekt, men det vides, at andre firmaer anvender dem.

2.5 Regenerering og kapacitetsforbedring

2.5.1 Saltsyre

En borings ydelse falder med tiden på grund af dannelse af kalk-, jern- og manganbelægninger. I ikke-filtersatte boringer i faste aflejringer kan belægningerne lukke de vandførende sprækker i formationen, og i filtersatte boringer kan belægningerne tilstoppe filterrørets spalter og gruskastningerne.

Belægninger kan fjernes ved syring. Syring er især virkningsfuld i kalkboringer og udføres ofte som tryksyring, hvor der samtidig med tilsætning af syren sættes trykluft til boringen, hvorved syreblandingen presses ud i sprækkerne.

2.5.2 Herli Rapid med vitamin

Den anvendte syre er almindelig 30 % saltsyre i teknisk handelskvalitet. Til fjernelse af belægninger i gruskastningen i filtersatte boringer anses produktet Herli-Rapid TWB med vitamin FCM1 for at være et mere effektivt middel.

Ifølge oplysninger fra den danske leverandør består Herli Rapid ud over saltsyre af fosfor- og citronsyre og isopropylalkohol samt nogle ikke nærmere specificerede stoffer. FCM1 indeholder ca. 75% ascorbinsyre (C-vitamin) og <10% citronsyre.

2.5.3 Hexametafosfat og klor

Ved hjælp af en blanding af natriumhypochlorit og natriumhexametafosfat, der er virksom over for lerpartikler, er det ofte muligt at regenerere ældre filterboringer og forbedre kapaciteten af nye filterboringer, der er filtersat i lerede sandlag. Stofferne blandes i forholdet 1:5, og der tilsættes ca. 2 kg pr. 100 l vand.

2.5.4 Brintoverilte

Nogle af de samme brintoverilte-baserede produkter, der virker desinficerende, anvendes også til regenerering.

3 Tilsætningsstoffer anvendt i 2004

Dette kapitel indeholder en oversigt over tilsætningsstoffer, som i dag benyttes som tilsætning til boremudder og i forbindelse med smøring af boregrej, filtersætning og forsegling, desinfektion og regenerering. Disse oplysninger er baseret på følgende kilder:

- erfaringer om sammenhængen mellem tilsætningsstoffer og bakterievækst i drikkevandsboringer videregivet af Esbjerg Kommune, Odense Vandselskab as, Brøndboringsfirmaet Brøker I/S og Ingeniørgruppen Varde AS,
- oplysninger pr telefon om produkter og bilag fra firmaerne Rotek A/S, Brøste A/S og Akzo-Nobel nv.,
- fortegnelse over markedsførte produkter til brøndboreformål fra firmaet Mercantas A/S, med datablade på alle produkter og
- spørgeskemaer udfyldt af følgende brøndborerfirmaer:

GEO
2800 Lyngby

Næstved Brøndboring
4700 Næstved

Hadsund Brøndboring ApS
9560 Hadsund

Vand-Schmidt
6070 Christiansfeld

De nævnte brøndborerfirmaer blev primo 2004 spurgt om deres anvendelse af borekemikalier til etablering af drikkevandsboringer. Hvert firma blev via et spørgeskema spurgt om følgende:

- hvilke tilsætningsstoffer de anvendte,
- leverandør af tilsætningsstoffet,
- formål ved anvendelsen blandt følgende 5:
 1. boremudder og andre hjælpestoffer til borearbejdet,
 2. smøring af boregrej,
 3. filtersætning og forsegling,
 4. desinfektion og
 5. kapacitetsforbedring og regenerering.
- og omtrentlig mængde af hvert anvendt tilsætningsstof.

Det tilsendte spørgeskema findes i denne rapportes Bilag A. Resultaterne af oplysningerne fra alle disse kilder er samlet i Tabellerne 1,2 og 3. Tabel 1 viser de anvendte kemikalier og deres danske leverandører. Produkter markeret med stjerne * er produkter, der ikke er indeholdt i rapporten fra

1995, hvor Miljøstyrelsen offentliggjorde den sidste rapport om anvendelse af borekemikalier (Weber et al. 1995). Tabel 2 viser de anvendte mængder af hver kategori tilsætningsstof pr. år eller pr. boring. Tabel 3 viser de tilsætningsstoffer, som formodes at være taget ud af brug siden 1995. For visse tilsætningsstoffer forelå der ikke oplysninger om dansk leverandør eller anvendt mængde. De tilsvarende celler i Tabeller 1 og 2 står tomme.

3.1 Tilsætningsstoffer og leverandører i 2004

Tabel 1. Oversigt over tilsætningsstoffer og leverandører. Produkter markeret med stjerne * er produkter, der ikke er indeholdt i rapporten fra 1995, hvor Miljøstyrelsen offentliggjorde den sidste rapport om anvendelse af borekemikalier (Weber et al. 1995).

Stof/produkt	Dansk leverandør
Boremudder og andre borehjælpstoffer	
Baryte	Mercantas, Rotek,
Bentonite	Brøste, Mercantas, Rotek
<ul style="list-style-type: none"> ○ Bentonite API ○ Bentonite CSR ○ Bentonite OCMA ○ Bentonite QSE ○ Bentonite Wyoming 	
Carbonat, light sodium *	Rotek
CMC (carboxymethylcellulose)	Mercantas, Rotek,
Kaustisk soda	Handelshuset
Natriumtripolyfosfat	Mercantas
Polyacrylamid	Mercantas
Skum	
Sprængstof	Dyno Nobel Danmark
Quick seal	
Smøring af boregrej	
Glidemiddel (vegetabilsk) *	Kemitura
Hydraulisk olie	Castrol Biotec
Kobberfedt	
Omega 099	Top-Tek
K-nate calciumsulfonat-fedt *	Kernite
Zinkfedt	
Filtersætning, afpropning/forsegling	
Kvartssand	Dansand
Rapid cement	
Lavalkali-cement	
Bentonite QSE-5 Granulate	Mercantas, Rotek
Compactonite	
Lerprodukter	
<ul style="list-style-type: none"> ○ Hydron-piller ○ Mikrolit B ○ OB lergranulat 	Mercantas Rotek Mercantas
Nøddeskaller, grove og fine	Mercantas
Desinfektion	
Natrium- og kaliumhypoklorit 15%	Borup Kemi, Cleanodan, Mercantas, Novadan
Brintoverilte	AQUAtex aps
Regenerering	
Saltsyre (30%)	Cleanodan, Kemira, Novadan

Stof/produkt	Dansk leverandør
Herli Rapid TWB med FCM 1 Vitamin	Blue & Green Products
Natriumtripolyfosfat	Mercantas
Natriumhexametafosfat	Novadan, S. Sørensen
Brintoverilte	AQUAtex aps

3.2 Anvendte mængder

Det har været hensigten at sætte anvendelsen af disse tilsætningsstoffer i forbindelse med eventuel vækst af bakterier i råvand fra nyetablerede borer. Derfor har dataindsamlingen til Tabel 2 i første omgang været koncentreret om oplysninger om de anvendte mængders omtrentlige størrelse. Denne undersøgelse har med andre ord ikke søgt at præcisere de anvendte mængder eller antal borer foretaget af brøndborerfirmaet.

Tabel 2. Oversigt over tilsætningsstoffer og anvendte mængder af hvert.

Stof/produkt	Omtrentlige anvendte mængder ¹
Boremudder og andre borehjælpstoffer	
Baryte	2 brøndborerfirmaer anvender ca. 1 ton pr. år; andre anvender ingen.
Bentonite	Større brøndborerfirmaer anvender hver ca. 5 - 10 tons pr. år. Et firma angiver 125 kg pr. 100 m dybde.
Carbonat, light sodium CMC (carboxymethylcellulose)	Anvendt af ét firma, 400 g Følgende angives: <ul style="list-style-type: none"> ○ 25 kg pr. 100 m dybde; ○ 750 g/m³ boremudder; ○ 1 ton pr. år
Kaustisk soda	Ét brøndborerfirma anvender ca. 75 kg pr. år; andre anvender ingen.
Natriumtripolyfosfat og natriumhexametafosfat	2 brøndborerfirmaer anvender ca. 25 kg pr. hhv. år og pr. boring
Polyacrylamid	Ét brøndborerfirma anvender ca. 100 kg pr. år; andre anvender ingen.
Quick seal Skum	
Smøring af boregrej	
Glidemiddel (vegetabilsk)	Ét firma anvender 100 g - 1 kg pr boring
Hydraulisk olie	Spild
Omega 099	Ét firma anvender ca. 1 kg pr. år
Kobberfedt	
Zinkfedt	
K-nate calciumsulfat-fedt	Ca. 400 g pr. 100 m-boring
Filtersætning, afpropning/forsegling	
Kvartssand	Ét firma anvender 500 kg – 2 tons pr. boring. Et andet, ca. 15 tons pr. år
Bentonite- og lerprodukter	Alle firmaer anvender store mængder, fx i alt ca. 25 tons pr. år; 8 tons pr. 100 m-boring
Rapid cement	

Stof/produkt	Omtrentlige anvendte mængder ¹
Lavalkali-cement Nøddeskaller, grove og fine	Ikke oplyst
Desinfektion Natrium- og kaliumhypoklorit 15%	Firmaerne oplyser: <ul style="list-style-type: none"> ○ kg pr. år ○ 500 - 850 kg pr. år ○ 3 liter pr. meter boring
Regenerering Saltsyre (30%)	Ét firma anvender <ul style="list-style-type: none"> ○ 20 liter pr. meter boring ○ max. 4 tons pr. boring ○ 15 – 25 tons pr. år
Herli Rapid TWB med FCML Vitamin	2 firmaer anvender hhv. <ul style="list-style-type: none"> ○ 10 liter pr. meter boring ○ som 10% af vandvolumen inkl. filter
Natriumtripolyfosfat	Et firma anvender 25 tons pr. år. Andre firmaer, ingen.
Natriumhexametafosfat	2 firmaer anvender hhv. <ul style="list-style-type: none"> ○ 25 kg/boring ○ 1 kg pr. meter boring
1 Mængdeangivelserne er angivet i størrelsesordnerne, så som 250 g, 25 kg eller 25 tons pr. år.	

3.3 Ikke længere i anvendelse

Tilsætningsstofferne nævnt i Tabel 3 blev rapporteret anvendt i 1995 (Weber et al. 1995) men blev ikke indrapporteret af de 4 adspurgte brøndborerfirmaer i 2004. Det kan dog formodes, at nogle af disse produkter alligevel anvendes i 2004 men i så ubetydelige mængder, at man fandt dem uden betydning at berette om.

Tabel 3. Tilsætningsstoffer, der ifølge oplysninger fra de kontaktede brøndborerfirmaer ikke længere er i brug ifm. etablering af drikkevandsboringer.
Boremudder og andre borehjælpstoffer Antisol FI 30.000 Natriumchlorid
Smøring af boregrej J-166 Anti-seize kobberpasta Graphitpudder 285
Filtersætning, afpropning/forsegling Betokem IN-Vert
Desinfektion <i>Ingen</i>
Regenerering <i>Ingen</i>

3.4 Konklusion

Siden 1995 er der ikke sket meget udskiftning af tilsætningsstoffer til etablering af drikkevandsboringer. Da der i 1995-opgørelsen (Weber et al. 1995) ikke foreligger mange oplysninger om de anvendte mængder af hvert tilsætningsstof, kan der ikke slttes noget om forøget eller formindsket forbrug af det enkelte tilsætningsstof.

4 Mikrobiel vækst og tilsætningsstoffer

4.1 Mikroorganismers forekomst i undergrunden

Mikroorganismer findes over alt i naturen, og det er ikke muligt aktivt at fjerne dem fra drikkevandsboringer. Mikroorganismer omfatter både bakterier, virus, protozoer, skimmelsvampe og gær. For hver given niche i miljøet er der altid enkelte eller endda mange forskellige mikroorganismer, som overlever og formerer sig dér. Bund og hulvægge til en drikkevandsboring er ingen undtagelse.

For at vokse og formere sig i undergrunden har mikroorganismer behov for kulstof- (C), kvælstof- (N) og fosforholdige (P) forbindelser og behov for en lang række mineraler (Albrechtsen og Bjerg 2000). Disse stoffer skal desuden være tilstede i høje nok koncentrationer i undergrunden til, at de kan tilfredsstille mikroorganismens behov. På grund af undergrundens indhold af mineraler, kan man umiddelbart gå ud fra disse behov er opfyldt for de allerfleste mikroorganismer, som befinder sig i grundvandsmiljøet.

Hvis de fysisk-kemiske forhold omkring den mikrobielle celle er gunstige, og der er tilstrækkelig med næring, vil mikroorganismer formere sig. Fx kan i grundvand inkuberet ved 15°C én bakteriecelle i løbet af ca. en uge formere sig til 1 million (dvs., efter 20 celledelinger) (Jørgensen et al. 2002).

Én af grundene til, at mikroorganismene er tilstede over alt, er den enorme bredde af næringsmæssig formåen, de tilsammen råder over. Der findes ingen naturligt forekommende organisk molekyle, som ikke kan nedbrydes af en eller anden mikroorganisme, det være sig gummi, mineralsk olie, cellulose eller organiske luftarter som propan og metan (Prescott et al. 1999). Det er derfor sandsynligt, at hvis et givent tilsætningsstof til drikkevandsboringer består af naturlige organiske molekyler, vil stoffet kunne tjene som næringskilde for én eller flere mikroorganismer. Der er dog mange menneskeskabte organiske molekyler, som mikroorganismer ikke kan omsætte, så som de fleste plasttyper og halogenholdige aromatiske molekyler som DDT (Prescott et al. 1999).

Langt størstedelen af bakterierne i råvand og drikkevand er heterotrofe og har dermed brug for kulstofkilder med en omtrentlig sammensætning af kulstof, kvælstof og fosfor C:N:P i forholdet 100:10:1. Således er det oftest koncentrationen af kulstof, der er den begrænsende parameter for bakterievækst. Den del af den totale mængde organisk kulstof, som bakterierne kan bruge til vækst, betegnes Assimilerbart Organisk Carbon (AOC).

Råvandets indhold af bakterier er belyst i Miljøstyrelsens rapport "Undersøgelser for patogener i udvalgte vandværker", Miljøprojekt Nr. 786 2003 (Albrechtsen 2003). Her blev der hos 11 danske vandværker foretaget en undersøgelse for kimtal i råvandet ved dyrkning af vandprøven ved 21°C og 37°C. Resultaterne viste, at råvandet fra 3 af vandværkerne overskred

kvalitetskravene til drikkevand ved dyrkning ved 21°C. Kun ét af vandværkerne overskred kravene i 37°C-prøven.

4.1.1 Mikroorganismers vækst i boringen

Tilstedeværelsen af mikroorganismer i en boring kan både skyldes deres naturlige forekomst i grundvandet, deres forekomst i de anvendte tilsætningsstoffer og tilførsel ved arbejdet med boregrej eller ved forurening med overjord. Albrechtsen og Bjerg (2000) har opgjort, at der i grundvandszonen (mellem 5 og 265 m under terræn) kan være mindst $10^3 - 10^6$ bakterieceller pr. g materiale.

Hvis der samtidig med mikroorganismene også forekommer organiske stoffer, som kan udnyttes som kulstofkilde, vil mikroorganismene formere sig. Kulstof til mikroorganismernes vækst vil sandsynligvis ikke komme fra undergrunden, fordi grundvandsmiljøet er relativt næringsfattigt (Albrechtsen og Bjerg 2000). I forbindelse med etablering af drikkevandsboringer kan kulstof både tilføres med overjord fra terrænet, som rykkes ned i borehullet, og med de tilsætningsstoffer, som anvendes ved etableringen af boringen. Endelig kan kulstofkilder også blive gjort tilgængelige som resultat af boreprocessens eksponering af undergrundsmateriale.

4.1.2 Renspumpning og prøvepumpning: fjernelse af mikroorganismer fra boringen

Umiddelbart efter boreprocessen, begynder brøndboreren renpumpning. Denne procedure udgør en gennemskylning af boringen og af grundvandsmagasinet og skal bl.a. sørge for, at det oppumpede råvand er frit for boremudder og løse sand- og lerpartikler (Bekendtgørelse nr. 672 af 26. juli 2002). Typisk oppumpes der 25 – 50 m³ vand pr. time, og renpumpningen varer 12 – 24 timer. Umiddelbart herefter gennemføres der prøvepumpning. Denne procedure har til formål at pejle med henblik på at bestemme magasinens egenskaber, det vandførende lags vandledningsevne og dets rumlige udbredelse (Bekendtgørelse nr. 672 af 26. juli 2002). Under prøvepumpningen oppumpes der også 25 – 50 m³ vand pr. time, og det varer typisk 2 – 3 uger.

Prøvepumpningen forløber kontinuerligt og skal helst ikke afbrydes i løbet af de 2 - 3 uger af hensyn til hydrodynamikken nede i boringen. Det vil sige, at erfaringer tyder på, at den ophvirvling af materiale, der sker ved stop og start af pumpningen, modarbejder ren- og prøvepumpningens opklarende virkning.

I mikro-skala kan prøvepumpning uden ophold i 2 - 3 uger bevirke fald i antal mikroorganismer på to måder, som begge har forbindelse med mikroorganismernes vedhæftning til flader nede i boringen. For det første vil kun de allerstærkest vedhæftede celler af mikroorganismer efter meget kort tid kunne undgå at blive skyllet op af borehullet af den stærke gennemstrømning. For det andet bevirker den stærke gennemstrømning, at de ikke-vedhæftede mikroorganismer så at sige skylles bort hurtigere end de kan forny deres antal ved formering.

Imidlertid forekommer det, at det oppumpede råvand selv efter 3 ugers prøvepumpning ikke kan overholde de mikrobiologiske kvalitetskrav, som vandforsyningsanlægget stiller.

4.2 Tilsætningsstoffer som kulstofkilder i grundvandsmiljøet

For at vurdere om et tilsætningsstof anvendt til etablering af drikkevandsboringer kan tjene som kulstofkilde for mikroorganismer i råvand, skal både stoffets kemiske struktur og dets koncentration i råvandet vurderes.

4.2.1 Tilsætningsstoffets kemiske struktur

For at udgøre et vækstsustrat for en mikroorganisme skal tilsætningsstoffet indeholde kulstof. Kulstoffet kan enten være organisk, undtagen de fleste plasttyper, eller uorganisk (fx kuldioxid og karbonat). Kulstoffet i de fleste plasttyper og i mange halogenholdige aromatiske forbindelser er utilgængeligt for mikroorganismer på grund af de stærke bindinger kulstofatomerne i mellem.

4.2.2 Tilsætningsstoffets koncentration i råvandet efter afsluttet prøvepumpning

Kulstofkravet kan for nogle mikroorganismers vedkommende tilfredsstilles af yderst lave koncentrationer af C-holdige molekyler. I drikkevand kan man som tommelfingerregel regne med, at vand med et AOC-indhold på under 10 µg acetat-C ækvivalenter/L kan regnes for biostabilt, dvs. ikke giver anledning til betydelige stigninger i bakterieantallet (van der Kooij et al., 1992). Det er derfor hensigtsmæssigt at beregne, om koncentrationen af tilsætningsstoffet i prøvepumpningsvandet overstiger 10 µg acetat-C/L. Beregningen har forudsætningerne, der er angivet i Tabel 4. Tabellens kvalifikationer vil bevirke, at den faktiske koncentration af tilsætningsstoffet i vandet umiddelbart før afslutning af prøvepumpning vil være lavere end beregnet og således formindske sandsynligheden for bakterievækst.

Tabel 4. Forudsætninger for beregning af koncentration af tilsætningsstof i prøvepumpningsvand.

	Forudsætning	Kvalifikation
1.	Beregningen foretages umiddelbart før afslutningen af prøvepumpning.	Virkninger af ophvirvling ved opstart eller stop af pumpe skal undgås.
2.	Prøvepumpningens varighed: 21 dage.	Varighed opgives af brøndborer til oftest at være 2 eller 3 uger.
3.	Prøvepumpningens flow: 25 m ³ /time	Flow kan være højere, men dette ville bevirke større fortynding af tilsætningsstoffer.
4.	Boringens dybde inklusiv filter: 100 m.	Af de mængdedata opgivet af brøndborere er pr. 100 m dybde den boreteknisk mest specifikke angivelse.
5.	Mindste koncentration af tilsætningsstof der understøtter bakterievækst: 10 µg acetat-C-ækvivalenter pr. L	Empirisk iagttagelse. Se foroven.
6.	Homogen opløsning af tilsætningsstoffet i tid	I praksis falder koncentrationen med tiden eksponentielt mod nul pga. kontinuerlig fortynding af prøvepumpningen.
7.	Homogen geometrisk	I praksis nok ikke tilfældet for

	Forudsætning	Kvalifikation
	fordeling af tilsætningsstoffet i boringen	tungt opløselige stoffer. Se også 6.
8.	Den totale mængde tilsætningsstof bliver opløst eller skyllet ud i vandmassen	I praksis kan der forekomme rester af meget tungt opløselige stoffer i boringen efter afsluttet prøvepumpning
9.	Den totale mængde anvendt tilsætningsstof når ned i boringen	Ikke tilfældet fx med olie til smøring af boregrej, og ca. halvdelen af boremudderet fjernes igen i løbet af boringen.

Under forudsætninger 2 og 3 beregnes den totale volumen prøvepumpningsvand således:

$$25 \text{ m}^3/\text{time} \times 24 \text{ timer/døgn} \times 21 \text{ døgn} = 12.600 \text{ m}^3 = 1,26 \times 10^7 \text{ L}$$

Eksempler på beregning af koncentration tilsætningsstof i råvandet efter afsluttet prøvepumpning

Anvendt mængde af givent tilsætningsstof pr. 100 m-boring	Total volumen prøvepumpningsvand	Beregnet koncentration tilsætningsstof i råvandet efter afsluttet prøvepumpning
1 ton = 1×10^9 mg	$1,26 \times 10^7$ L	~ 80 mg/L
1 kg = 1×10^6 mg	$1,26 \times 10^7$ L	~ 80 µg/L

4.3 Iagttagelser om mikrobiel vækst i borepraksis

4.3.1 Forhøjet bakterietal i råvandet

Flere af de kontaktede brøndborerfirmaer og vandforsyningsanlæg havde erfaringer problemet med forhøjet kimtal i råvand fra nyetablerede drikkevandsboringer. Figur 1 i rapportens indledning viser de aktuelle erfaringer fra en jysk drikkevandsboring.

Odense Vand iagttager forhøjede kimtal hver gang, der udføres en arbejdsproces, der resulterer i bevægelser nede i boringen. Erfaringen er, at kimtallet stiger noget, for efterfølgende at falde igen. Fx kan kimtallet ved 22°C stige til knap 100 kim pr. ml.

4.3.2 Prøvepumpning

Hvis kimtallet ikke falder af sig selv, forsøger man at sænke det med forskellige tiltag. Oftest venter man først med at se, om kimtallet ikke falder med fortsat prøvepumpning. En varighed på 2 uger betragtes som normal prøvepumpning, og 3 ugers prøvepumpning betragtes som uønsket og af lang varighed. Hvis kimtallet efter 3 uger ikke falder, tages andre metoder i brug.

4.3.3 Desinfektion og utætheder

Hvis prøvepumpning ikke sænker kimtallet til et acceptabelt niveau, foretages der hyppigt "desinfektion" med natriumhypochlorit. Her formoder man, at der er et reservoir af levende bakterier, som skal dræbes. Rent mikrobiologisk må det betragtes som yderst vanskeligt at sænke kimtallet permanent ved denne metode.

Det overvejes endvidere, om bakterier trænger ind via utætheder i fx opføringsrøret eller råvandsledningen. Her kunne overfladevand trænge ind ved momentane undertryk i ledningen. For at finde evt. utætheder foretages der trykprøvninger.

4.3.4 "Sterile boringer"

Et vist dansk vandforsyningsanlæg havde længe haft problemer især med 21°C-kimtallet, hvilket krævede en længerevarende prøvepumpning og desinfektion. En overgang havde man mistanke til CMC som kilde til bakterievæksten, men mener nu, at dette ikke er tilfældet.

Løsningen med "sterile boringer" har været forsøgt prøvet systematisk, idet man for nylig med en ny boring undlod at anvende metoden. Det varede et halvt år med flere kløringer før bakterietallet var acceptabelt.

Sterile boringer hentyder til, at hele muldlaget ryddes væk fra boreterrænet (fx i 50 cm dybde) før boringen, og alt materiel der føres ned i boringen, vaskes. Borerør lægges på strøer, så de ikke er i kontakt med underlaget, og rørene vaskes med en børste, inden de anvendes. Beholderen til oppumpet materiale og vand fores med plastfolie for at undgå kontakt med jord.

4.3.5 CMC og vækst

Et dansk brøndborerfirma har iagttaget, at det anvendte CMC forsvinder fra borevæggen, og formoder, at det blev fortæret af bakterier. For at imødegå dette anvender firmaet nu kun friske opløsninger af CMC, og de bliver aldrig genavendt. En sådan fremgangsmåde anbefales i øvrigt, når der arbejdes med stoffer, som let angribes af bakterier.

Dette projekt har undersøgt CMC som potentiel kulstofkilde for grundvandsbakterier.

4.4 Konklusion

Det må betragtes som en reel mulighed, at bakterievækst vil forekomme i prøvepumpningsvand. Bakterierne forekommer naturligt i boringen, og enkelte tilsætningsstoffer er egnede som bakteriers næringskilde. Det må dog formodes, at koncentrationen af et tilsætningsstof i prøvepumpningsvandet er meget lav på grund af den meget store volumen vand, der pumpes igennem. Denne koncentration kan være så lav, at den er under grænsen for tilgængelighed for bakteriernes stofskifte (ca. 10 µg acetat-C-ækvivalenter/L).

5 De anvendte tilsætningsstoffer og potentiale for mikrobiel vækst

5.1 Anvendte tilsætningsstoffer som kulstofkilder

Nedenstående tabel indeholder de tilsætningsstoffer, der i dag anvendes til etablering af drikkevandsboringer. I tabellen angives for hvert tilsætningsstof de vigtigste egenskaber, der afgør, om stoffets potentiale som kulstofkilder for mikrobiel vækst i boringen. Af tabellen fremgår det, at der kun er få tilsætningsstoffer, som kan tjene som kulstofkilder.

Tabel 5. Tilsætningsstoffers potentiale som kulstofkilder for bakterier i grundvandsmiljøet. Midler anvendt til regenerering af drikkevandsboringer falder udenfor problemet med vækst af mikroorganismer i nyetablerede boringer. Se i øvrigt tekst for kommentarer til udvalgte tilsætningsstoffer.

Tilsætningsstof	Egenskab	Beregnet konc. af tilsætningsstof i prøvepumpningsvand ¹
Boremudder og andre borehjælpesoffer		
Baryte	Uorganisk	
Bentonite	Undersøgt eksperimentelt i dette projekt.	> 80 mg/L
Carbonat, light sodium *	Kan under strengt anaerobe forhold tjene både som C-kilde, men væksten af bakterien meget langsom (Schlegel 1981)	
CMC (carboxymethylcellulose)	Undersøgt eksperimentelt i dette projekt.	1,98 mg/L
Kaustisk soda	Uorganisk	
Natriumtripolyfosfat	Uorganisk	
Polyacrylamid	Ikke-polymeriseret monomer acrylat velegnet	
Skum	Anvendes sjældent til skylleboring	
Sprængstof	Ingen oplysninger om restmængde kulstof efter sprængning. Anvendes meget sjældent.	
Smøring af boregrej		
Glidemiddel (vegetabilsk) *	Egnet	ca. 80 µg/L
Hydraulisk olie	Uegnet	<< 80 µg/L
Kobberfedt		

Tilsætningsstof	Egenskab	Beregnet konc. af tilsætningsstof i prøvepumpningsvand ¹
Omega 099	Uegnet	<< 80 µg/L
K-nate calciumsulfonat-fedt *		<< 80 µg/L
Zinkfedt		
Filtersætning, afpropning/forsegling		
Kvartssand	Uorganisk. Kan indeholde rester af C hvis ikke glødet.	80 µg/L
Bentonite QSE-5 Granulate	Se bentonite foroven.	
Cement, Rapid og Lavalkali		
Hydron-piller, Mikrolit B, OB lergranulat	Se bentonite foroven.	
Nøddeskaller, grove og fine	Egnet. Kan afsondre organiske forbindelser.	Ingen oplysninger
Desinfektion		
Natrium- og kaliumhypoklorit 15%	Uorganisk	
¹ Som grundlag for beregnet koncentration af tilsætningsstof er anvendt de omtrentlige mængdeangivelser, som fremgår af Tabel 2, Kapitel 3. Beregning er ifølge sektion 4.2.		

I visse tilsætningsstoffer kan der forekomme rester af kulstof som urenhed. Koncentrationen af dette vil derfor kun udgøre en lille brøkdel af den totale beregnet koncentration af tilsætningsstoffet.

5.2 Kommentarer til udvalgte tilsætningsstoffer

5.2.1 Bentonite

Bentonite er en naturligt forekommende lerart, hovedsageligt montmorillonit med mindre mængder andre smectit-mineraler. Montmorillonit dannes, når basiske bjergarter så som vulkansk aske omdannes (Schlumberger 2004). Den kemiske sammensætning af Wyoming-bentonite er angivet i Tabel 6.

Forbindelse	%
Siliciumdioxid (SiO ₂)	59
Aluminiumtrioxid (AlO ₃)	20
Jernoxid (Fe ₂ O ₃)	5,8
Oxider af calcium, magnesium, natrium og kalium	8,7
Glødetab (hovedsageligt krystalvand)	6,5

Wyoming bentonite API overholder kvalitetsspecifikationerne fra American Petroleum Institute. Dette vil bl.a. sige, at bentoniten efter brydning ikke er behandlet på anden måde end knusning, tørring og formaling og ikke er tilsat noget andet komponent (Mercantas 2004). Da bentonite er et direkte produkt af vulkansk aktivitet, og emballeres umiddelbart efter opgravning, kan indholdet af organisk kulstof antages at være meget lavt. Bentonite indgår derimod i flere tilsætningsstoffer, som alle anvendes i store mængder, hvorfor selv små koncentrationer af organisk C kunne udgøre et betydeligt C-bidrag. Derfor blev det besluttet at undersøge bentonite for dets eftervækstpotentiale.

5.2.2 CMC

CMC er et menneskeskabt molekyle, som opstår ved reaktionen mellem cellulose og chloreddikesyre. Cellulose forekommer i alle højere planteceller og i nogle mikroorganismer. Mens cellulose ikke er vandopløseligt, er CMC meget vandopløseligt og binder meget vand. Nogle brøndborere betegner CMC *lim*. Nedbrydning af CMC af mikroorganismer i naturen er blevet undersøgt (Batelaan et al. 1992). Både bakterier og skimmelsvampe kan bruge det som kulstofkilde, og det kan nedbrydes både aerobt og anaerobt, om end fuldstændig nedbrydning først sker efter et par uger ved stuetemperatur (Batelaan et al. 1992). Af disse grunde blev det besluttet at undersøge CMC for dets eftervækstpotentiale.

5.2.3 Anionisk polymer A 63, polyacrylamid

Anionisk polymer A 63 er en polyacrylamid. Et polyacrylamid-produkt består både af polymeren og af evt. ikke-reagerede monomermolekyler. I dette tilfælde er monomeren acrylat, og acrylat kunne tjene som C-kilde for bakterievækst.

Der foreligger ifølge Mercantas A/S ikke oplysninger om koncentration på ikke-reagerede monomerer i produktet A 63. Pr. år sælger Mercantas under 1000 kg af produktet til både danske og udenlandske kunder. Heraf anvendes kun en del til drikkevandsboringer i Danmark. Da acrylat er meget vandopløseligt, kan det forventes skyllet ud af boringen efter kun kort tids prøvepumpning. Det kan konkluderes, at dette polyacrylamid-produkt sandsynligvis ikke er årsagen til det forhøjede kimtal i nyetablerede drikkevandsboringer.

5.2.4 Midler til smøring af boregrej

Det vegetabiliske glidemiddel i denne gruppe anvendes i mængder, der svarer til maksimalt 79 µg/L prøvepumpningsvand. Tilsætningsstoffet opfylder dog sandsynligvis ikke forudsætningerne for beregningen nr. 6 – 8 i Tabel

5.2.5 Nøddeskaller

Nøddeskaller anvendes kun til forsegling ved pludseligt opståede fald i vandtryk i boringen. Selv vaskede nøddeskaller må formodes at afgive organisk materiale til grundvandet.

5.2.6 Midler til regenerering

Midler anvendt til regenerering af drikkevandsboringer falder udenfor problemet med vækst af mikroorganismer i nyetablerede boringer.

5.3 Valg af tilsætningsstoffer til videre undersøgelse

Projektet har valgt af undersøge bentonite og CMC for deres eftervækst-potentiale af flere grunde. Bentonite anvendes ved etablering af enhver drikkevandsboring, og det indgår i flere tilsætningsstoffer, som alle anvendes i store mængder. Se Tabellerne 1 og 2. Derfor kunne selv små koncentrationer af organisk C udgøre et betydeligt C-bidrag.

CMC anvendes ved etablering af mange drikkevandsboringer og også i relativt store mængder pr. boring (Tabel 2). Stoffets nedbrydelighed i naturen er dokumenteret (Batelaan et al. 1992), og mindst én brøndborer, som blev kontakten under dette projekt, har rapporteret om problemer, fordi stoffet forsvandt fra boringen formentlig på grund af bakteriel nedbrydning.

For bentonite blev det besluttet at undersøge 50 og 5000 µg /L vand og for CMC, 10 og 1000 µg /L vand. Med udgangspunkt i en total volumen prøvepumpningsvand på $1,26 \times 10^7$ L (Jf. Sektion 4.2) svarer disse koncentrationer til, at der til den totale volumen prøvepumpningsvand blev tilsat de mængder angivet i Tabel 7.

Tabel 7. De koncentrationer af bentonite og CMC, der blev undersøgt i de mikrobiologiske forsøg, svarer til disse mængder, når de er fortyndet i den totale volumen prøvepumpningsvand.

	Undersøgt i forsøg i dette projekt (µg/L)	Svarer til mængde når opløst i prøve- pumpningsvand ¹
Bentonite	50	126 g
	5000	12,6 kg
CMC	10	630 g
	1000	63 kg

¹ Det skønnede totale prøvepumpningsvolumen, $1,26 \times 10^7$ L. Se øvrige forudsætninger i Sektion 4.2.

6 Undersøgelse af mikrobiel vækst med udvalgte tilsætningsstoffer som kulstofkilder

Tilsætningsstoffer kan potentielt fungere som kilder for det organiske kulstof, som kræves for vækst af mikroorganismer. For at afklare, i hvor høj grad de giver anledning til bakterievækst, blev der udført en række vækstsøg.

6.1 Undersøgte tilsætningsstoffer

6.1.1 Bentonite

Der blev undersøgt det kommercielle bentonite-produkt Wyoming bentonite API, Mercantas varekode VA 218. Produktets sammensætning fremgår af Tabel 6, Kapitel 5. Bentonite indgår i flere tilsætningsstoffer, som alle anvendes i store mængder, hvorfor selv små koncentrationer af organisk C kunne udgøre et betydeligt C-bidrag. Derfor blev det besluttet at undersøge bentonite for dets eftervækstpotentiale. På grund af produktets formodede lave C-indhold blev det besluttet at undersøge koncentrationer, der er betydeligt højere end koncentrationer for CMC. Der blev undersøgt 50 og 5000 μg bentonite/L vand.

6.1.2 CMC

Der blev også undersøgt to kommercielle produkter, der indeholder CMC i forskellige renhedsgrader. Det ene produkt Gabrosa P 300 G (Mercantas A/S) markedsføres til drikkevandsboringer, mens det andet produkt Akucell AF 1985 (Akzo Nobel n.v.) markedsføres som tilsætningsstof til fødevarer.

For dette projekt er den vigtigste forskel mellem de 2 CMC-prøver, at den tekniske kvalitet (Gabrosa P 300 G) har et betydeligt indhold af acetat i form af natriumhydroxyacetat (jf. Tabel 8), og Akucell AF 1985 har et meget lavt indhold af acetat (< 0,24 %, jf. Tabel 9).

Der blev valgt at undersøge CMC ved 10 og 1000 $\mu\text{g}/\text{L}$ vand. Disse koncentrationer er valgt, så de omtrent svarer til hhv. biostabilt vand (AOC under 10 μg acetat-C ækvivalenter/L) og så vand med tilstrækkeligt kulstof til at understøtte rigelig vækst, hvis CMC-molekylet kan omsættes.

Tabel 8. CMC – Gabrosa P 300 G: kemisk sammensætning ifølge produktets sikkerhedsdatablad (Mercantas 2004)	
Forbindelse	% af total vægt
Natriumcarboxymethylcellulose	50 – 80
Natriumchlorid	5 – 40
Natriumhydroxyacetat	5 – 20

Tabel 9. CMC - Akucel I AF 1985: kemisk sammensætning ifølge produktets analysecertifikat (Akzo Nobel 2004)	
Forbindelse	% af total vægt
Natriumcarboxymethylcellulose	99,7
Natriumchlorid	0,06

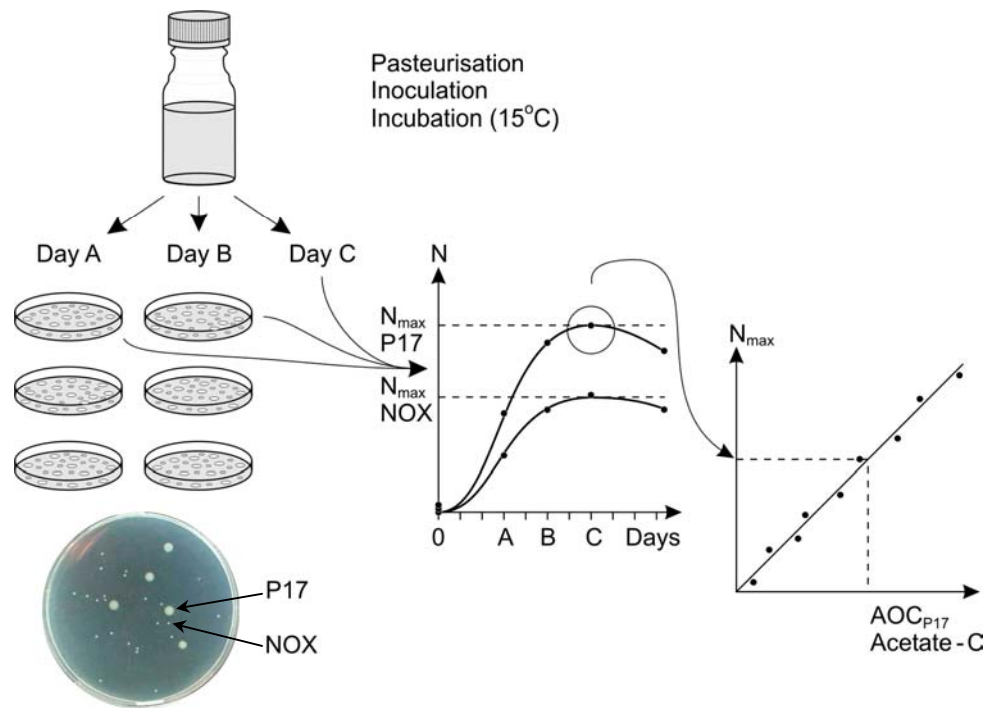
6.2 Metoder

Hvert teststof blev undersøgt med to metoder: AOC-metoden og måling af eftervækstpotentiale. Alle bestemmelser blev udført i tripliket.

6.2.1 Assimilerbart Organisk Carbon (AOC)

AOC-metoden er baseret på måling af tilvækst af to bakterier, der tilsættes som renkulturer. Pasteuriseret drikkevand (70°C i 45 min) tilsættes teststoffet, og der podes med to renkulturer: *Pseudomonas fluorescens* (P17) og *Aquaspirillum* sp. (NOX), hvis tilvækst følges under inkubering ved 15°C. Bakteriekulturen bestemmes ved pladespredning (HPC_{R2A, 25°C, 3 døgn}) på dag 0, 3, 7 og 14, idet de to bakterier har forskellig kolonimorfologi og derfor kan skelnes fra hinanden på samme agarplade. Det maksimale bakterieantal omsættes til acetat-ækvivalenter ved hjælp af en standardkurve for acetat for hver af de to bakterier. Figur 2 viser en principskitse af metoden.

AOC-metoden er en standardiseret metode og resultater opnået med denne metode vil således kunne sammenlignes med eksisterende målinger på råvand og drikkevand. Selvom de to bakterier tilsammen kan nedbryde et bredt spektrum af organiske stoffer, kan det ikke udelukkes, at en bredere bakteriesammensætning, som forekommer i drikkevand vil kunne nedbryde en større andel. Som tommelfingerregel giver vand med et AOC-indhold lavere end 10 µg acetat-C ækvivalenter/L ikke anledning til betydelig bakterietilvækst (van der Kooij, 1992)



Figur 2: Schematisk gennemgang af AOC-metoden. De to bakterier (P17 og NOX) har forskellig kolonimorfologi og kan derfor tælles på samme agarplade.

6.2.2 Eftervækstpotentiale

Eftervækstpotentiale angiver den maksimale bakterietilvækst, som tilsætningsstoffet tilsat drikkevand kan give anledning til. For at sikre en bred bakteriesammensætning podes med bakterier udrustet fra filtersand (20 g udrustet i 200 mL drikkevand over et døgn, podet til 1% af totalvolumen). Disse bakterier vokser bl.a. på det organiske materiale, der er i råvandet, og derved modelleres en situation, hvor tilsætningsstoffer i en ny boring forurener råvandet. Bakterietilvæksten måles under inkubering ved 15°C ved pladespredning på R₂A og ved måling af Adenosine TriPhosphate (ATP) på dag 0, 3, 7 og 14.

6.2.2.1 Pladespredning (HPC)

Pladespredningerne (heterotrophic plate count – HPC) udføres på R₂A, som er en agar specielt udviklet til bestemmelser i næringsfattige miljøer såsom drikkevand (Reasoner, 1985). Pladerne inkuberes ved 20°C i 14 dage.

Når bakterieantal bestemmes ved pladespredninger, og der ikke er tale om en renkultur, vil antallet af bakterier som danner synlige kolonier (og derved bliver talt) afhænge af den agar der anvendes, inkuberingstemperaturen og inkuberingstiden. Således kan resultaterne fra eftervækstpotentiale-målinger ikke direkte sammenlignes med værdier målt ved standardmetoderne (gær ekstrakt agar ved 22°C eller 37°C). Jo tættere substratkoncentrationen og inkuberingstemperaturen modsvarer forholdene i prøven, desto større et antal bakterier vil danne kolonier. Således opnås der for drikkevandsprøver flere kolonier på den næringsfattige R₂A agar end på gær ekstrakt agar, hvilket giver et mere nuanceret billede af væksten (f.eks. Jørgensen et al. 2002).

6.2.2.2 Adenosin TriPhosphat (ATP)

ATP er energibærende molekyle i alle levende celler, og kan bruges som et mål for bakteriedensitet inklusiv eventuel forekomst af andre

mikroorganismer. Ved reaktion med en luceferin/luciferase blanding danner ATP lys, som kan måles i et luminometer. Lysudsendelsen vil være proportional med mængden af ATP og omsættes til en ATP-koncentration ved hjælp af en ATP-standardkurve (analysevejledning i Bilag D).

ATP er en ikke-selektiv metode, der måler alle bakterier (også dem som ikke vokser på R_2A), men resultaterne kan ikke direkte omsættes til et bakterieantal.

6.3 Forsøgsopsætning

Undersøgelserne blev udført i 250 mL PYREX flasker med 'red caps' med teflon indlæg. Før brug blev flasker og låg vasket i opvaskemaskine på program med afsluttende syrevask. Flaskerne blev efterfølgende brændt ved 550°C og lågene tør-steriliseret ved 170°C i 6 timer.

Der blev anvendt drikkevand og filtersand hentet direkte fra Lyngby vandværk, da dette vand erfaringsmæssigt giver lave baggrundsværdier. For at sikre, at AOC var den eneste begrænsende vækstfaktor, blev vandet tilsat N og P. Vandet blev udvejet i flaskerne til at give en totalvolumen efter tilsætning af teststof-stamopløsninger (Bilag E), næringssaltopløsninger (Bilag E) og podning på 200 ± 1 mL. For både AOC-metoden og måling af eftervækstpotentiale blev der opstillet kontroller uden teststof. Alle bestemmelser blev udført i triplikat.

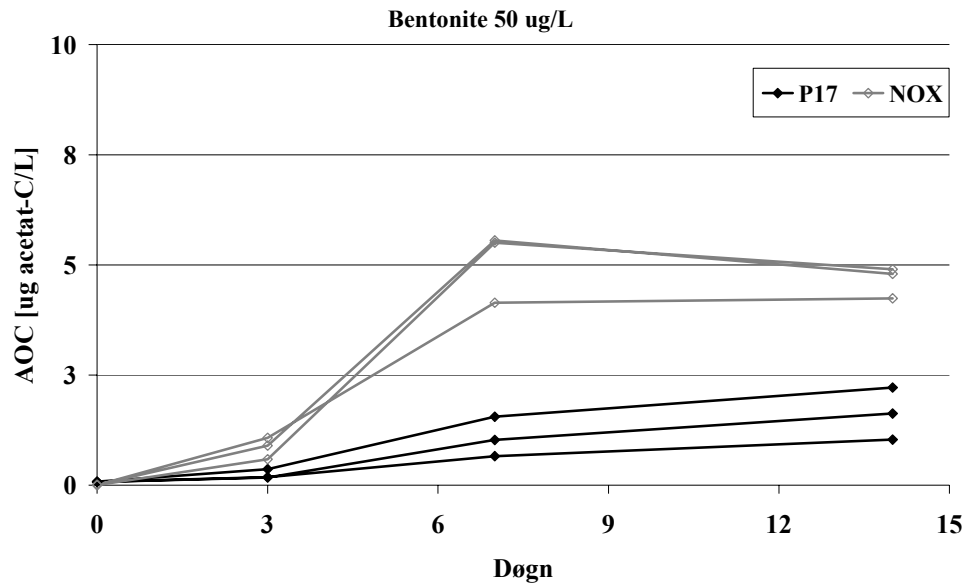
6.4 Resultater

På de følgende figurer betegnes det tekniske CMC-produkt (Gabrosa P 300 G) som "CMC", og produktet Akucell AF 1985 betegnes "CMC-KR" (CMC, kemisk rent).

I de testede koncentration gav tilsætningsstofferne ikke anledning til uklarhed i vandfasen.

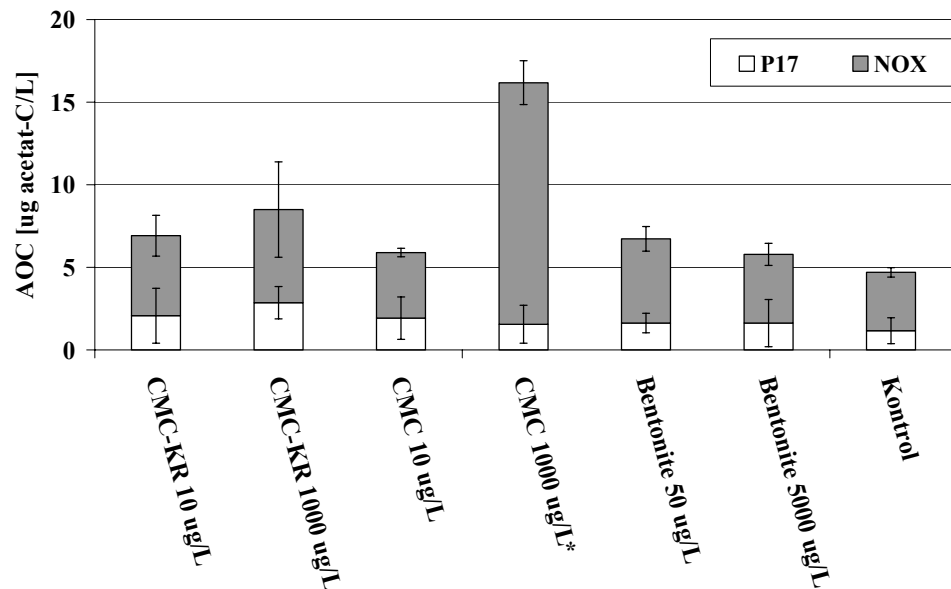
6.4.1 AOC

I alle prøverne var antallet af NOX højere end antallet af P17 (eksempler på vækstkurver i Figur 3).



Figur 3: Eksempler på vækstkurver (triplikat) for P17 og NOX ved AOC-bestemmelse, her for 50 µg/L Bentonite.

AOC i kontrolprøverne var i gennemsnit $4,7 \pm 0,8$ µg acetat-C ækvivalenter/L (gennemsnit \pm standardafvigelsen). Gennemsnittet for de øvrige prøver var højere (Figur 4), men under 10 µg acetat-C ækvivalenter/L på nær for 1000 µg/L CMC ($15,4 \pm 0,6$ µg acetat-C ækvivalenter/L). Med de opnåede standardafvigelser var kun 1000 µg/L CMC signifikant forskellig fra kontrollen (rådata i Bilag B). Ud fra AOC-resultaterne skulle de testede tilsætningsstoffer således ikke give anledning til nævneværdig bakterietilvækst.

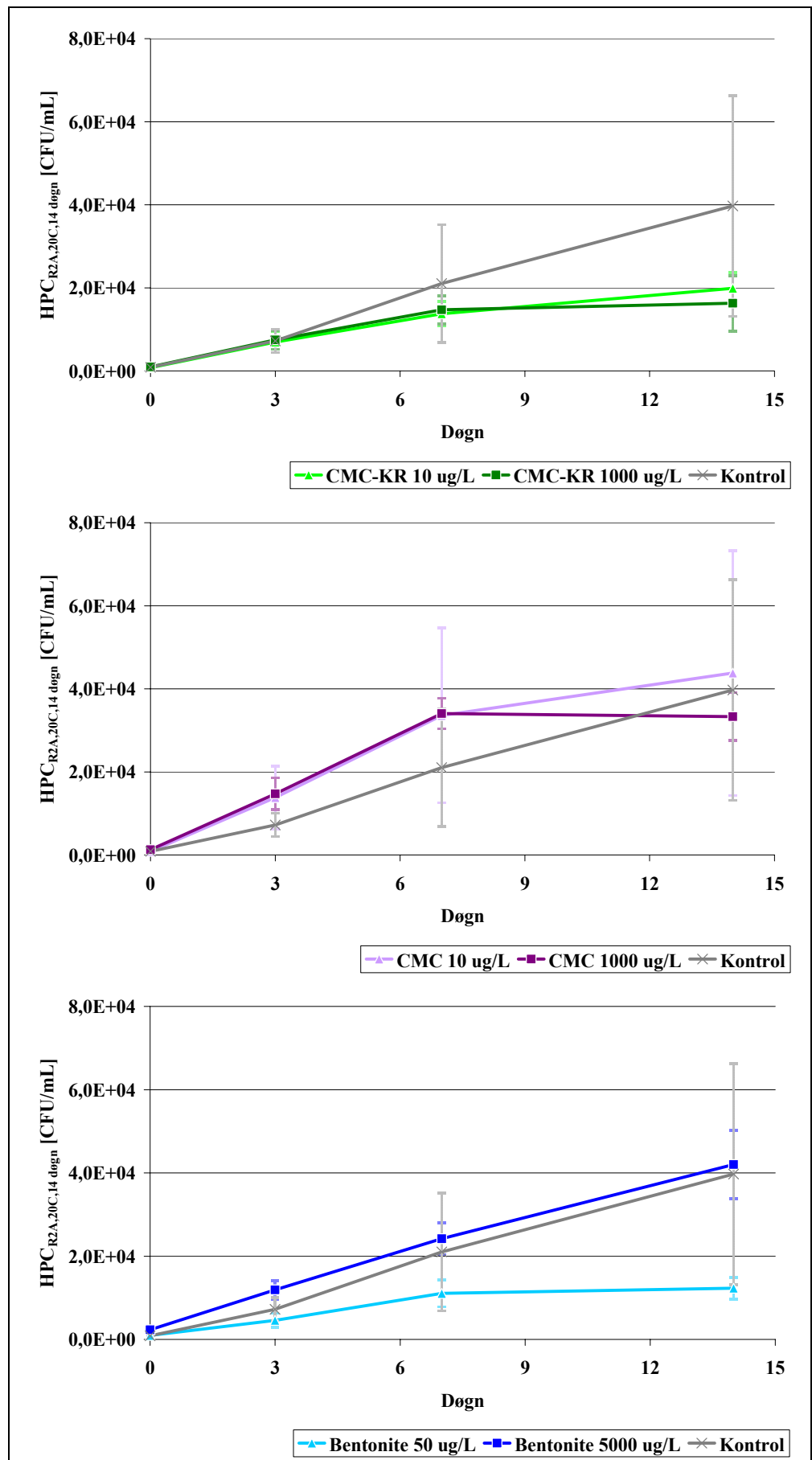


Figur 4: AOC værdier for tre tilsætningsstoffer i to koncentrationer samt for kontrol. * Afvigende høj værdi for P17 for en af triplikaterne sorteret fra (se Bilag B). Fejllinier angiver standardafvigelse imellem triplikater.

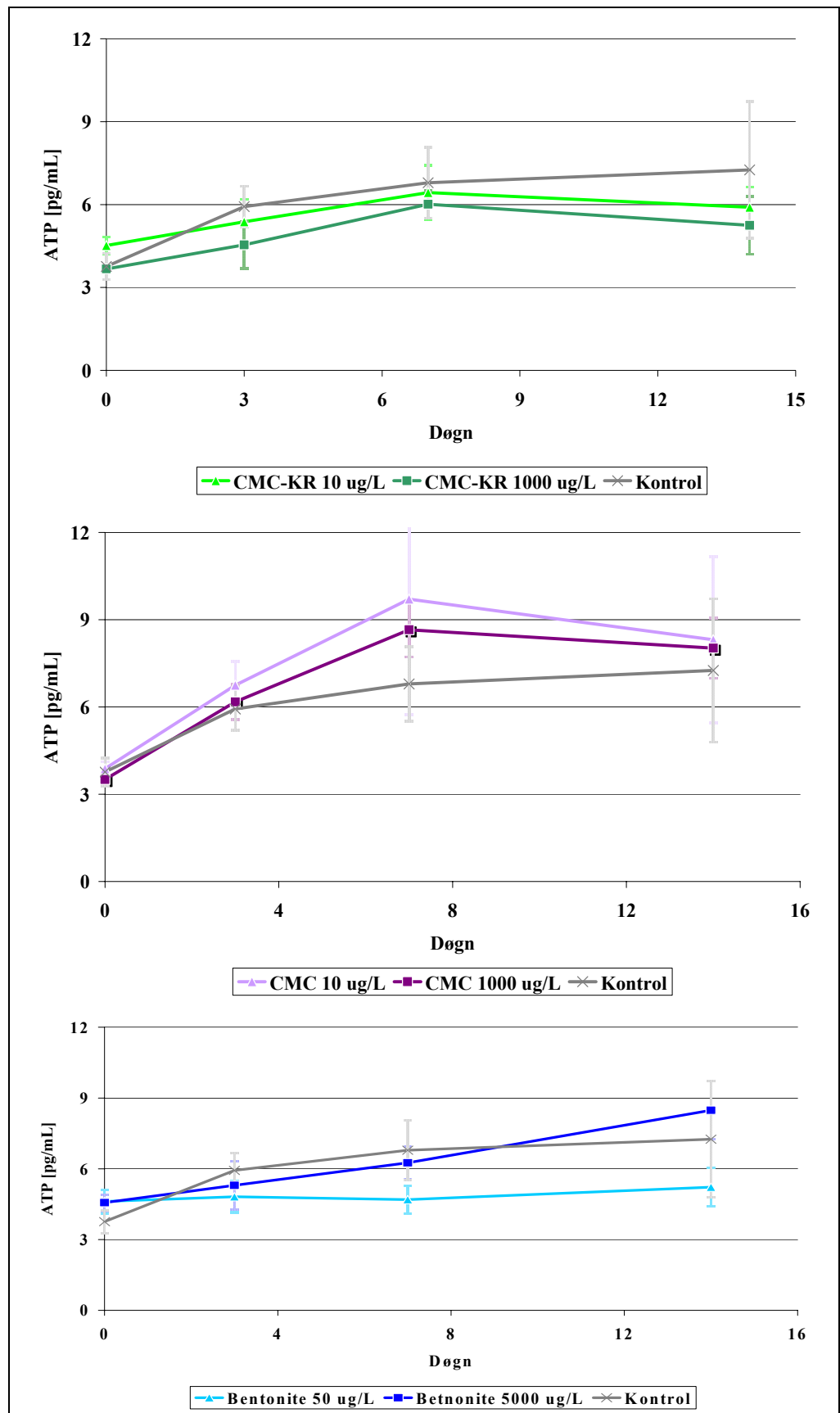
6.4.2 Eftervækstpotentiale

Eftervækstpotentialet målt som HPC er vist i Figur 5 (rådata i Bilag C) og målt som ATP i Figur 6 (rådata i Bilag D). For begge parametre var værdierne i prøver med teststof på niveau med kontrollerne. HPC-værdierne

var generelt lavere end 4×10^4 CFU/mL, mens ATP-værdierne var lavere end 9 pg ATP/mL. Med de opnåede standardafvigelser indikerede ingen af parametrene, at de testede tilsætningsstoffer skulle give anledning til øget bakterietilvækst. Resultaterne fra måling af eftervækstpotentiale bekræftede således resultaterne fra AOC-målingerne.



Figur 5: Eftervækstpotentiale for tilsætningsstoffer og kontrol målt som HPC. Fejllinier angiver standardafvigelse imellem triplikater.



Figur 6: Eftervækstpotentiale for tilsetningsstoffer og kontrol målt som ATP. Fejllinier angiver standardafvigelse imellem triplikater.

6.5 Diskussion

Undersøgelserne blev udført med frisk produceret drikkevand som testvand (Lyngby vandværk). Dette blev valgt frem for grundvand, da der eksisterer et bredt erfaringsgrundlag med dette vand på E&R DTU. Vandet giver lave baggrundsværdier for alle tre analyseparametre, og sikre således en høj analysefølsomhed. For at simulere situationen i råvand blev der i eftervækstundersøgelserne podet med bakterier udrystet fra vandværksfiltre.

Det manglende vækstrespons i undersøgelserne skal ikke tilskrives for lille følsomhed på analyserne. AOC-metoden har i tidligere undersøgelser givet klare respons på selv små mængder substrat, f.eks. ved analyse af sterile ekstrakter af plastrør (Corfitzen et al. 2002). Eftervækst-målingerne har ligeledes resulteret i tydelig forhøjet vækst i forbindelse med undersøgelser af plastrør (f.eks. van der Koij et al. 2004; Corfitzen, 2004).

Den højere AOC-værdi for 1000 µg/L af det tekniske CMC (Gabrosa P 300 G) skal formentlig tilskrives indholdet af natriumhydroxyacetat og eventuelle andre urenheder i produktet. Et respons på $10,7 \pm 1,0$ µg acetat-C/L for 1000 µg/L CMC (opnåede AOC-værdi fratrukket blindværdien) svarer til et natriumhydroxyacetat indhold på $4,4 \pm 0,4\%$, hvilket modsvarer den lavere grænse angivet i Tabel 5.

7 Konklusioner

Siden 1995 er der ikke sket meget udskiftning af tilsætningsstoffer til etablering af drikkevandsboringer. I 1995-opgørelsen (Weber et al. 1995) foreligger der ikke mange oplysninger om de anvendte mængder af hvert tilsætningsstof. Derfor kan der ikke sluttes noget om forøget eller formindsket forbrug af det enkelte tilsætningsstof.

Det må betragtes som sandsynligt, at bakterievækst i visse tilfælde vil forekomme i prøvepumpningsvand. Bakterierne forekommer naturligt i boringen, og enkelte tilsætningsstoffer er egnede som bakteriers næringskilde. Det er dog en forudsætning, at tilsætningsstoffet er tilstede i en høj nok koncentration, fordi det skal være tilgængeligt for bakteriernes stofskifte. Forsøg har vist, at grænsen for tilgængelighed er ca. 10 µg acetat-C-ækvivalenter/L vand (van der Kooij et al. 1992). Oftest må det dog formodes, at koncentrationen af et tilsætningsstof i det oppumpede råvand er meget lav alt andet lige på grund af den meget store volumen prøvepumpningsvand.

Projektet valgte undersøge to tilsætningsstoffer - bentonite og CMC - for deres potentiale som kulstofkilder. De to tilsætningsstoffer anvendes i store mængder og kan derfor resultere i relativt høje koncentrationer, og de kan indeholde kulstof, som kan være tilgængeligt for undergrundens bakterier.

Undersøgelserne viste, at hverken bentonite eller CMC påvirker koncentrationen af bakterier i det oppumpede råvand. Den eneste undtagelse er den høje koncentration af CMC af teknisk kvalitet (Gabrosa P 300 G) 1000 µg/L. Denne prøve resulterede i AOC på ca. 15 µg acetat-C/L, hvilket er 3 gange højere end kontrollen. Det reneste CMC (Akucell AF 1985) gav ingen bakteriel vækst ved 1000 µg/L, hvilket formentlig skyldes den større renhed og fravær af acetat.

Der er således ikke sandsynligt, at de aktuelt anvendte tilsætningsstoffer til etablering af drikkevandsboringer kan bidrage til mikrobiologisk vækst i drikkevandet. Dog kan anvendelsen af store mængder teknisk CMC bidrage til mikrobiologisk vækst, hvis CMC har et betydeligt acetat-indhold som urenhed.

8 Litteraturliste

Akzo Nobel. 2004. Certificate of analysis. Akucell AF 1985. Amersfoort.

Albrechtsen, H.-J. 2003. Undersøgelse for patogener i udvalgte vandværker. Miljøprojekt Nr. 786 2003. Miljøstyrelsen.

Albrechtsen, H.-J., og P.L. Berg. 2000. *I* Kemiske stoffer i miljøet. A. Helweg (red.) Gads Forlag, København.

Batelaan, J.G., C.G. van Ginkel og F. Balk. 1992. Carboxymethylcellulose (CMC). pp. 329 - 336 *I* Handbook Environ. Chem. Springer-Verlag, Heidelberg.

Bekendtgørelse om udførelse og sløjfning af boringer og brønde på land nr. 672 af 26. juli 2002.

Bekendtgørelse om vandkvalitet og tilsyn med vandforsyningsanlæg. BEK nr. 871 af 21/09/2001.

Corfitzen, C.B. 2004. Investigation of aftergrowth potential of polymers for use in drinking water distribution - Factors affecting migration of bioavailable compounds investigated by batch set-ups and continuous flow model systems. PhD-afhandling, Danmarks Tekniske Universitet.

Corfitzen, C.B., H.-J. Albrechtsen, E. Arvin, C. Jørgensen og R. Boe-Hansen. 2002. Afgivelse af organisk stof fra polymere materialer – mikrobiel vækst. Miljøprojekt Nr. 718 2002. Miljøstyrelsen.

Ingeniørgruppen Varde AS. 2004. Intern rapport.

Jørgensen, C., H.-J. Albrechtsen, E. Arvin og C.B. Corfitzen. 2002. Undersøgelse af bakterieantal og eftervækstpotentiale i vandværksvand. Miljøprojekt Nr. 719. Miljøstyrelsen.

Mercantas A/S. 2004. Brøndboremappe. Produktkatalog og teknologi-beskrivelse. Esbjerg.

Prescott, L.M., J.P. Harley og D.A. Klein. 1999. *Microbiology*. WCB McGraw-Hill, London.

Reasoner, D.J., og E.E. Geldreich. 1985. A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from portable water. Appl. Environ. Microbiol. **49**, 1-7.

Schlegel, H.G. 1981. Allgemeine Mikrobiologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Schlumberger Oilfield Services
<http://www.slb.com/aboutus/index.html>

van der Kooij, D. 1992. Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth, J. American Water Works Assn. **84**, 57-65

van der Kooij, D.; Albrechtsen, H.-J.; Corfitzen, C.B.; Ashworth, J.; Parry, I.; Enkiri, F.; Hambsch, B.; Hametner, C. Kloiber, R.; Veenendaal, H.R.; Verhamme, D.; Hoekstra, E.J. 2003. Assessment of the microbial growth support potential of construction product in contact with drinking water (CPDW) – Development of a harmonised test to be used in the European Acceptance Scheme concerning CPDW – EVK1-CT2000-00052.

van der Kooij, D., og G. Veenendaal. 1995. The AOC manual. Report KIWA, SWE 95.022

Weber, A.N., C. Kirkegaard og M. Kodahl. 1995. Miljøstyrelsens Rapport 1, 1995-01-27, Anvendelse af tilsætningsstoffer ved borearbejde.

Bilag A – Spørgeskema udsendt i 2004 til 6 brøndborerfirmaer, hvoraf 4 besvarede skemaet.

Kemisk produkt (Handelsnavn)	Leverandør el. producent	Formål med anvendelse Angiv nummer: 1. For boremudder og andre hjælpestoffer til borearbejde 2. Smøring af boregrej (inkl. olier og glidemidler) 3. filtersætning og afpropning/forsegling 4. desinfektion og 5. regenerering og kapacitetsforbedring	Omtrentlig mængde (Angiv enten hvor meget I anvender totalt per år eller i den enkelte boring)

Bilag B Assimilerbart Organisk Carbon (AOC)

AOC blev målt som beskrevet i afsnit 3. Udbyttekonstanter for P17 og NOX på acetat bestemt af (van der Kooij og Veenendaal, 1995) blev anvendt til beregning af AOC-værdier: 1.2×10^7 CFU NOX/ μg acetat-C og 4.1×10^6 CFU P17/ μg acetat-C.

Rådata

KOLONITÆLLINGER TIL AOC									
Substrat: R2A				Flaske inkubationstemperatur: 15C			Plade inkubationstemperatur: 25C		
P17	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N
Dag		Kontrol, A			Kontrol, B			Kontrol, C	
0	2,53E+02	4,11E+01	3	2,80E+02	4,32E+01	3	3,27E+02	4,67E+01	3
3	9,37E+02	7,50E+01	9	1,57E+03	9,70E+01	9	7,45E+02	6,69E+01	9
7	2,76E+03	4,07E+02	9	6,13E+03	6,07E+02	9	1,86E+03	3,34E+02	9
14	1,82E+03	1,05E+03	6	8,48E+03	2,27E+03	6	3,03E+03	1,36E+03	6
NOX	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N
Dag		Kontrol, A			Kontrol, B			Kontrol, C	
0	4,00E+01	1,63E+01	3	7,33E+01	2,21E+01	3	6,00E+01	2,00E+01	3
3	7,82E+03	6,88E+02	6	8,61E+03	7,22E+02	6	7,15E+03	6,58E+02	6
7	3,94E+04	4,89E+03	6	3,52E+04	4,62E+03	6	4,61E+04	5,28E+03	6
14	3,09E+04	4,33E+03	6	4,18E+04	5,03E+03	6	4,30E+04	5,11E+03	6

AOC-VÆRDI									
P17	[μg C/L]	E.o.m.	N	[μg C/L]	E.o.m.	N	[μg C/L]	E.o.m.	N
Dag		Kontrol, A			Kontrol, B			Kontrol, C	
0	0,06	0,01	3	0,07	0,01	3	0,08	0,01	3
3	0,2	0,0	9	0,4	0,0	9	0,2	0,0	9
7	0,7	0,1	9	1,5	0,1	9	0,5	0,1	9
14	0,4	0,3	6	2,1	0,6	6	0,7	0,3	6
NOX	N	[μg C/L]	E.o.m.	N	[μg C/L]	E.o.m.	N	[μg C/L]	E.o.m.
Dag		Kontrol, A			Kontrol, B			Kontrol, C	
0	0,00	0,00	3	0,01	0,00	3	0,01	0,00	3
3	0,7	0,1	6	0,7	0,1	6	0,6	0,1	6
7	3,3	0,4	6	2,9	0,4	6	3,8	0,4	6
14	2,6	0,4	6	3,5	0,4	6	3,6	0,4	6

Gennemsnit af triplikater	Kontrol	
	AOC [μg C/L]	stdev
P17	1,2	0,8
NOX	3,5	0,3
P17+NOX	4,7	0,8

KOLONITÆLLINGER TIL AOC									
Substrat: R ₂ A			Flaske inkubationstemperatur: 15C			Plade inkubationstemperatur: 25C			
P17	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N
Dag	CMC-KR 10 ug/L, A			CMC-KR 10 ug/L, B			CMC-KR 10 ug/L, C		
0	3,13E+02	4,57E+01	3	2,67E+02	4,22E+01	3	3,20E+02	4,62E+01	3
3	3,21E+03	4,41E+02	6	6,73E+02	6,36E+01	9	6,37E+02	6,18E+01	9
7	1,32E+04	8,91E+02	9	2,28E+03	3,70E+02	9	3,30E+03	4,45E+02	9
14	1,64E+04	3,15E+03	6	4,24E+03	1,60E+03	6	4,85E+03	1,71E+03	6
NOX	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N
Dag	CMC-KR 10 ug/L, A			CMC-KR 10 ug/L, B			CMC-KR 10 ug/L, C		
0	6,67E+01	2,11E+01	3	9,33E+01	2,49E+01	3	1,73E+02	3,40E+01	3
3	1,29E+04	8,85E+02	6	7,27E+03	6,64E+02	6	8,73E+03	7,27E+02	6
7	7,27E+04	6,64E+03	6	4,30E+04	5,11E+03	6	5,88E+04	5,97E+03	6
14	5,64E+04	5,84E+03	6	3,64E+04	4,69E+03	6	4,55E+04	5,25E+03	6

AOC-VÆRDI									
P17	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N
Dag	CMC-KR 10 ug/L, A			CMC-KR 10 ug/L, B			CMC-KR 10 ug/L, C		
0	0,08	0,01	3	0,07	0,01	3	0,08	0,01	3
3	0,8	0,1	6	0,2	0,0	9	0,2	0,0	9
7	3,2	0,2	9	0,6	0,1	9	0,8	0,1	9
14	4,0	0,8	6	1,0	0,4	6	1,2	0,4	6
NOX	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N
Dag	CMC-KR 10 ug/L, A			CMC-KR 10 ug/L, B			CMC-KR 10 ug/L, C		
0	0,01	0,00	3	0,01	0,00	3	0,01	0,00	3
3	1,1	0,1	6	0,6	0,1	6	0,7	0,1	6
7	6,1	0,6	6	3,6	0,4	6	4,9	0,5	6
14	4,7	0,5	6	3,0	0,4	6	3,8	0,4	6

Gennemsnit af triplikater	CMC-KR 10 ug/L	
	AOC [ug C/L]	stdev
P17	2,1	1,7
NOX	4,8	1,2
P17+NOX	6,9	2,8

KOLONITÆLLINGER TIL AOC									
Substrat: R2A			Flaske inkubationstemperatur: 15C			Plade inkubationstemperatur: 25C			
P17	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N
Dag	CMC-KR 1000 ug/L, A			CMC-KR 1000 ug/L, B			CMC-KR 1000 ug/L, C		
0	6,18E-02	1,00E-02	3	9,11E-02	1,22E-02	3	6,18E-02	1,00E-02	3
3	1,48E-01	1,47E-02	12	3,68E-01	2,33E-02	11	2,20E-01	1,79E-02	12
7	1,77E+00	1,61E-01	9	2,67E+00	1,98E-01	9	7,91E-01	1,08E-01	9
14	5,91E-01	2,96E-01	6	3,10E+00	6,77E-01	6	3,70E+00	7,39E-01	6
NOX	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N
Dag	CMC-KR 1000 ug/L, A			CMC-KR 1000 ug/L, B			CMC-KR 1000 ug/L, C		
0	1,27E+02	2,91E+01	3	8,67E+01	2,40E+01	3	1,13E+02	2,75E+01	3
3	6,85E+03	6,41E+02	9	8,79E+03	7,38E+02	8	1,15E+04	8,32E+02	9
7	6,67E+03	2,01E+03	6	1,07E+05	8,06E+03	6	5,27E+04	5,65E+03	6
14	4,30E+04	5,11E+03	6	2,18E+04	3,64E+03	6	5,15E+04	5,59E+03	6

AOC-VÆRDI									
P17	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N
Dag	CMC-KR 1000 ug/L, A			CMC-KR 1000 ug/L, B			CMC-KR 1000 ug/L, C		
0	0,06	0,01	3	0,09	0,01	3	0,06	0,01	3
3	0,1	0,0	12	0,4	0,0	11	0,2	0,0	12
7	1,8	0,2	9	2,7	0,2	9	0,8	0,1	9
14	0,6	0,3	6	3,1	0,7	6	3,7	0,7	6
NOX	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N
Dag	CMC-KR 1000 ug/L, A			CMC-KR 1000 ug/L, B			CMC-KR 1000 ug/L, C		
0	0,01	0,00	3	0,01	0,00	3	0,01	0,00	3
3	0,6	0,1	9	0,7	0,1	8	1,0	0,1	9
7	0,6	0,2	6	8,9	0,7	6	4,4	0,5	6
14	3,6	0,4	6	1,8	0,3	6	4,3	0,5	6

Gennemsnit af triplikater	CMC-KR 1000 ug/L	
	AOC [ug C/L]	stdev
P17	2,9	1,0
NOX	5,6	2,9
P17+NOX	8,5	3,4

KOLONITÆLLINGER TIL AOC										
Substrat: R2A			Flaske inkubationstemperatur: 15C			Plade inkubationstemperatur: 25C				
P17	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	
Dag		CMC 10 ug/L, A				CMC 10 ug/L, B			CMC 10 ug/L, C	
0	3,00E+02	4,47E+01	3	1,73E+02	3,40E+01	3	2,87E+02	4,37E+01	3	
3	9,91E+02	7,71E+01	9	3,39E+03	4,54E+02	6	4,92E+02	5,44E+01	9	
7	4,26E+03	5,06E+02	9	1,02E+04	7,81E+02	9	3,06E+03	4,29E+02	9	
14	4,85E+03	1,71E+03	6	1,39E+04	2,91E+03	6	4,85E+03	1,71E+03	6	
NOX	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	
Dag		CMC 10 ug/L, A				CMC 10 ug/L, B			CMC 10 ug/L, C	
0	8,67E+01	2,40E+01	3	1,07E+02	2,67E+01	3	8,00E+01	2,31E+01	3	
3	8,55E+03	7,20E+02	6	1,07E+04	8,04E+02	6	7,27E+03	6,64E+02	6	
7	4,73E+04	5,35E+03	6	5,09E+04	5,55E+03	6	4,48E+04	5,21E+03	6	
14	4,36E+04	5,14E+03	6	4,18E+04	5,03E+03	6	3,27E+04	4,45E+03	6	

AOC-VÆRDI										
P17	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	
Dag		CMC 10 ug/L, A				CMC 10 ug/L, B			CMC 10 ug/L, C	
0	0,07	0,01	3	0,04	0,01	3	0,07	0,01	3	
3	0,2	0,0	9	0,8	0,1	6	0,1	0,0	9	
7	1,0	0,1	9	2,5	0,2	9	0,7	0,1	9	
14	1,2	0,4	6	3,4	0,7	6	1,2	0,4	6	
NOX	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	
Dag		CMC 10 ug/L, A				CMC 10 ug/L, B			CMC 10 ug/L, C	
0	0,01	0,00	3	0,01	0,00	3	0,01	0,00	3	
3	0,7	0,1	6	0,9	0,1	6	0,6	0,1	6	
7	3,9	0,4	6	4,2	0,5	6	3,7	0,4	6	
14	3,6	0,4	6	3,5	0,4	6	2,7	0,4	6	

Gennemsnit af triplikater	CMC 10 ug/L	
	AOC [ug C/L]	stdev
P17	1,9	1,3
NOX	4,0	0,3
P17+NOX	5,9	1,5

KOLONITÆLLINGER TIL AOC										
Substrat: R2A			Flaske inkubationstemperatur: 15C			Plade inkubationstemperatur: 25C				
P17	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	
Dag		CMC 1000 ug/L, A				CMC 1000 ug/L, B			CMC 1000 ug/L, C	
0	3,20E+02	4,62E+01	3	3,60E+02	4,90E+01	3	3,33E+02	4,71E+01	3	
3	6,87E+02	6,52E+01	11	3,72E+03	4,73E+02	9	5,82E+02	5,91E+01	12	
7	2,46E+03	3,85E+02	9	3,52E+04	4,62E+03	6	2,82E+03	4,12E+02	9	
14	3,03E+03	1,36E+03	6	6,67E+04	6,36E+03	6	9,70E+03	2,42E+03	6	
NOX	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	
Dag		CMC 1000 ug/L, A				CMC 1000 ug/L, B			CMC 1000 ug/L, C	
0	1,87E+02	3,53E+01	3	1,53E+02	3,20E+01	3	7,33E+01	2,21E+01	3	
3	2,03E+04	1,32E+03	8	2,10E+04	1,12E+03	9	1,67E+04	1,00E+03	9	
7	1,71E+05	1,02E+04	6	1,93E+05	1,08E+04	6	1,62E+05	9,92E+03	6	
14	1,53E+05	9,64E+03	6	1,65E+05	1,00E+04	6	1,10E+05	8,15E+03	6	

AOC-VÆRDI										
P17	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	
Dag		CMC 1000 ug/L, A				CMC 1000 ug/L, B			CMC 1000 ug/L, C	
0	0,08	0,01	3	0,09	0,01	3	0,08	0,01	3	
3	0,2	0,0	11	0,9	0,1	9	0,1	0,0	12	
7	0,6	0,1	9	8,6	1,1	6	0,7	0,1	9	
14	0,7	0,3	6	16,3	1,6	6	2,4	0,6	6	
NOX	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	
Dag		CMC 1000 ug/L, A				CMC 1000 ug/L, B			CMC 1000 ug/L, C	
0	0,02	0,00	3	0,01	0,00	3	0,01	0,00	3	
3	1,7	0,1	8	1,7	0,1	9	1,4	0,1	9	
7	14,2	0,8	6	16,1	0,9	6	13,5	0,8	6	
14	12,8	0,8	6	13,7	0,8	6	9,1	0,7	6	

Gennemsnit af triplikater	CMC 1000 ug/L	
	AOC [ug C/L]	stdev
P17	6,5	8,5
NOX	14,6	1,3
P17+NOX	21,1	9,8

Hvis der ses bort fra afvigende høj P17 værdi for replikat B

Gennemsnit af triplikater	CMC 1000 ug/L	
	AOC [ug C/L]	stdev
P17	1,6	1,1
NOX	14,6	1,3
P17+NOX	15,4	0,6

KOLONITÆLLINGER TIL AOC												
Substrat: R2A			Flaske inkubationstemperatur: 15C			Plade inkubationstemperatur: 25C						
P17	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N
Dag	Bentonite 50 ug/L, A			Bentonite 50 ug/L, B			Bentonite 50 ug/L, C					
0	3,27E+02	4,67E+01	3	3,00E+02	4,47E+01	3	3,20E+02	4,62E+01	3			
3	1,50E+03	9,48E+01	9	7,27E+02	6,61E+01	9	7,51E+02	6,71E+01	9			
7	6,37E+03	6,18E+02	9	4,20E+03	5,02E+02	9	2,70E+03	4,03E+02	9			
14	9,09E+03	2,35E+03	6	6,67E+03	2,01E+03	6	4,24E+03	1,60E+03	6			
NOX	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N
Dag	Bentonite 50 ug/L, A			Bentonite 50 ug/L, B			Bentonite 50 ug/L, C					
0	1,20E+02	2,83E+01	3	5,33E+01	1,89E+01	3	4,67E+01	1,76E+01	3			
3	1,08E+04	8,09E+02	6	7,09E+03	6,56E+02	6	1,29E+04	8,85E+02	6			
7	6,67E+04	6,36E+03	6	6,61E+04	6,33E+03	6	4,97E+04	5,49E+03	6			
14	5,76E+04	5,91E+03	6	5,88E+04	5,97E+03	6	5,09E+04	5,55E+03	6			

AOC-VÆRDI												
P17	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N
Dag	Bentonite 50 ug/L, A			Bentonite 50 ug/L, B			Bentonite 50 ug/L, C					
0	0,08	0,01	3	0,07	0,01	3	0,08	0,01	3			
3	0,4	0,0	9	0,2	0,0	9	0,2	0,0	9			
7	1,6	0,2	9	1,0	0,1	9	0,7	0,1	9			
14	2,2	0,6	6	1,6	0,5	6	1,0	0,4	6			
NOX	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N
Dag	Bentonite 50 ug/L, A			Bentonite 50 ug/L, B			Bentonite 50 ug/L, C					
0	0,01	0,00	3	0,00	0,00	3	0,00	0,00	3			
3	0,9	0,1	6	0,6	0,1	6	1,1	0,1	6			
7	5,6	0,5	6	5,5	0,5	6	4,1	0,5	6			
14	4,8	0,5	6	4,9	0,5	6	4,2	0,5	6			

Gennemsnit af triplikater	Bentonite 50 ug/L	
	AOC [ug C/L]	stdev
P17	1,6	0,6
NOX	5,1	0,7
P17+NOX	6,7	1,3

KOLONITÆLLINGER TIL AOC												
Substrat: R2A			Flaske inkubationstemperatur: 15C			Plade inkubationstemperatur: 25C						
P17	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N
Dag	Bentonite 5000 ug/L, A			Bentonite 5000 ug/L, B			Bentonite 5000 ug/L, C					
0	2,93E+02	4,42E+01	3	2,40E+02	4,00E+01	3	3,20E+02	4,62E+01	3			
3	7,34E+02	6,65E+01	11	3,66E+02	4,69E+01	12	1,99E+03	1,09E+02	12			
7	3,36E+03	4,49E+02	9	2,40E+03	3,80E+02	9	7,03E+03	6,50E+02	9			
14	4,24E+03	1,60E+03	6	2,42E+03	1,21E+03	6	1,33E+04	2,84E+03	6			
NOX	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N
Dag	Bentonite 5000 ug/L, A			Bentonite 5000 ug/L, B			Bentonite 5000 ug/L, C					
0	1,00E+02	2,58E+01	3	3,33E+01	1,49E+01	3	5,33E+01	1,89E+01	3			
3	6,32E+03	6,25E+02	8	6,13E+03	6,07E+02	9	9,19E+03	7,43E+02	9			
7	3,09E+04	4,33E+03	6	5,03E+04	5,52E+03	6	4,85E+04	5,42E+03	6			
14	4,12E+04	5,00E+03	6	5,15E+04	5,59E+03	6	5,70E+04	5,88E+03	6			

AOC-VÆRDI												
P17	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N
Dag	Bentonite 5000 ug/L, A			Bentonite 5000 ug/L, B			Bentonite 5000 ug/L, C					
0	0,07	0,01	3	0,06	0,01	3	0,08	0,01	3			
3	0,2	0,0	11	0,1	0,0	12	0,5	0,0	12			
7	0,8	0,1	9	0,6	0,1	9	1,7	0,2	9			
14	1,0	0,4	6	0,6	0,3	6	3,3	0,7	6			
NOX	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.	N	[ug C/L]	E.o.m.
Dag	Bentonite 5000 ug/L, A			Bentonite 5000 ug/L, B			Bentonite 5000 ug/L, C					
0	0,01	0,00	3	0,00	0,00	3	0,00	0,00	3			
3	0,5	0,1	8	0,5	0,1	9	0,8	0,1	9			
7	2,6	0,4	6	4,2	0,5	6	4,0	0,5	6			
14	3,4	0,4	6	4,3	0,5	6	4,7	0,5	6			

Gennemsnit af triplikater	Bentonite 5000 ug/L	
	AOC [ug C/L]	stdev
P17	1,6	1,4
NOX	4,2	0,7
P17+NOX	5,8	1,9

Bilag C Eftervækstpotentiale: HPC

Rådata

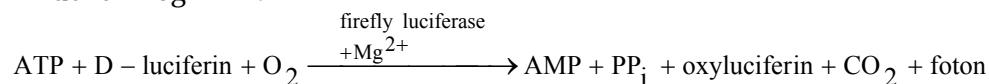
KOLONITÆLLINGER									
Substrat: R2A			Plade inkuberingstemperatur: 20C			Flaske inkuberingstemperatur: 15C			
Dag	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N
CMC-KR 10 ug/L, A			CMC-KR 10 ug/L, B			CMC-KR 10 ug/L, C			
0	8,93E+02	7,72E+01	3	6,00E+02	6,32E+01	3	8,00E+02	7,30E+01	3
3	9,53E+03	7,97E+02	3	6,87E+03	6,77E+02	3	4,47E+03	5,46E+02	3
7	1,69E+04	1,01E+03	9	1,31E+04	8,87E+02	9	1,12E+04	8,21E+02	9
14	2,26E+04	1,17E+03	9	2,15E+04	1,14E+03	9	1,55E+04	9,81E+02	8
[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	
CMC-KR 1000 ug/L, A			CMC-KR 1000 ug/L, B			CMC-KR 1000 ug/L, C			
0	1,09E+03	8,51E+01	3	1,00E+03	8,16E+01	3	7,90E+02	8,89E+01	2
3	7,87E+03	7,24E+02	3	5,07E+03	5,81E+02	3	9,53E+03	7,97E+02	3
7	1,50E+04	9,48E+02	9	1,12E+04	8,33E+02	8	1,80E+04	1,04E+03	9
14	1,30E+04	8,85E+02	9	1,19E+04	8,45E+02	9	2,40E+04	1,20E+03	9
[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	
CMC 10 ug/L, A			CMC 10 ug/L, B			CMC 10 ug/L, C			
0	7,80E+02	8,83E+01	2	9,13E+02	7,80E+01	3	9,00E+02	7,75E+01	3
3	8,60E+03	7,57E+02	3	2,25E+04	1,22E+03	3	1,04E+04	8,33E+02	3
7	5,76E+04	5,91E+03	6	1,81E+04	1,04E+03	9	2,51E+04	1,23E+03	9
14	7,76E+04	6,86E+03	6	2,29E+04	1,17E+03	9	3,09E+04	4,33E+03	6
[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	
CMC 1000 ug/L, A			CMC 1000 ug/L, B			CMC 1000 ug/L, C			
0	1,30E+03	9,31E+01	3	1,15E+03	8,77E+01	3	1,39E+03	9,64E+01	3
3	1,68E+04	1,06E+03	3	1,03E+04	8,27E+02	3	1,71E+04	1,07E+03	3
7	3,35E+04	1,42E+03	9	3,07E+04	1,36E+03	9	3,80E+04	1,51E+03	9
14	3,70E+04	4,73E+03	6	2,67E+04	4,02E+03	6	3,64E+04	4,69E+03	6
[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	
Bentonite 50 ug/L, A			Bentonite 50 ug/L, B			Bentonite 50 ug/L, C			
0	9,07E+02	7,77E+01	3	9,20E+02	9,59E+01	2	1,03E+03	8,27E+01	3
3	6,00E+03	6,32E+02	3	5,13E+03	5,85E+02	3	2,67E+03	4,22E+02	3
7	1,48E+04	9,42E+02	9	9,55E+03	7,57E+02	9	8,89E+03	7,31E+02	9
14	1,51E+04	9,53E+02	9	1,02E+04	7,83E+02	9	1,15E+04	8,32E+02	9
[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	
Bentonite 5000 ug/L, A			Bentonite 5000 ug/L, B			Bentonite 5000 ug/L, C			
0	2,37E+03	1,26E+02	3	2,29E+03	1,24E+02	3	2,33E+03	1,25E+02	3
3	1,09E+04	8,51E+02	3	1,03E+04	8,30E+02	3	1,45E+04	9,82E+02	3
7	2,16E+04	1,14E+03	9	2,25E+04	1,16E+03	9	2,85E+04	1,31E+03	9
14	3,70E+04	4,73E+03	6	3,76E+04	4,77E+03	6	5,15E+04	5,59E+03	6
[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	[CFU/mL]	E.o.m.	N	
Kontrol, A			Kontrol, B			Kontrol, C			
0	9,80E+02	8,08E+01	3	8,20E+02	7,39E+01	3	7,87E+02	7,24E+01	3
3	5,27E+03	5,93E+02	3	1,05E+04	8,35E+02	3	6,00E+03	6,32E+02	3
7	1,42E+04	9,23E+02	9	3,74E+04	1,50E+03	9	1,16E+04	8,34E+02	9
14	3,03E+04	4,29E+03	6	6,97E+04	6,50E+03	6	1,92E+04	1,07E+03	9

KOLONITÆLLINGER										
Gennemsnit af triplikater										
Substrat: R2A			Plade inkuberingstemperatur: 20C			Flaske inkuberingstemperatur: 15C				
Dag	[CFU/mL]	Stdev	[CFU/mL]	Stdev	[CFU/mL]	Stdev	[CFU/mL]	Stdev		
CMC-KR 10 ug/L			CMC-KR 1000 ug/L			CMC 10 ug/L		CMC 1000 ug/L		
0	7,64E+02	1,50E+02	9,59E+02	1,53E+02	8,64E+02	7,34E+01	1,28E+03	1,21E+02		
3	6,96E+03	2,53E+03	7,49E+03	2,26E+03	1,38E+04	7,54E+03	1,47E+04	3,87E+03		
7	1,38E+04	2,91E+03	1,47E+04	3,38E+03	3,36E+04	2,10E+04	3,41E+04	3,70E+03		
14	1,99E+04	3,81E+03	1,63E+04	6,66E+03	4,38E+04	2,95E+04	3,33E+04	5,78E+03		
[CFU/mL]	Stdev	[CFU/mL]	Stdev	[CFU/mL]	Stdev	[CFU/mL]	Stdev			
Betonit 50 ug/L			Betonit 5000 ug/L			Kontrol				
0	9,51E+02	6,58E+01	2,33E+03	4,02E+01	8,62E+02	1,03E+02				
3	4,60E+03	1,73E+03	1,19E+04	2,25E+03	7,24E+03	2,81E+03				
7	1,11E+04	3,22E+03	2,42E+04	3,78E+03	2,10E+04	1,42E+04				
14	1,23E+04	2,55E+03	4,20E+04	8,23E+03	3,97E+04	2,66E+04				

Bilag D Eftervækstpotentiale: Adenosine TriPhosphate (ATP)

Analysevejledning

ATP er energibærende molekyler i alle levende celler og kan bruges som et mål for bakteriedensitet. Luciferase fra ildfluer katalyserer reaktionen mellem D-luciferin og ATP:



Reaktionen danner lys, som kan måles i et luminometer (angives i relative light units: rlu). Mængden af lys er proportionel med mængden af ATP, og ATP koncentrationen beregnes ved hjælp af en ATP-standardkurve.

Analysen forløber i tre trin:

1. Ekstraktion af ATP fra bakteriecellerne
2. Tilsætning af luciferin/luciferase reagens
3. Måling af lysudsendelsen

Da prøvens karakter (f.eks. farve, partikler, pH, celledensitet) og forskelle mellem prøve og medie ATP-standarder er fremstillet i, kan påvirke resultatet, er det nødvendigt også at måle en parallel prøve tilsat en kendt mængde ATP (intern standard: IS).

Ud fra målingen med intern standard bestemmes en tælleeffektivitet (E) for prøven. Denne anvendes til at korrigere den målte rlu værdi for prøven, før denne omregnes til en ATP koncentration ud fra en ATP-standardkurve.:

$$E = \frac{\text{rlu}_{\text{prøve+IS}} - \text{rlu}_{\text{prøve}}}{\text{rlu}_{\text{blind+IS}} - \text{rlu}_{\text{blind}}}$$

$$\text{rlu}_{\text{prøve,korrigeret}} = \frac{\text{rlu}_{\text{prøve}}}{E}$$

$$\text{ATP [pg/mL]} = \frac{\text{rlu}_{\text{prøve,korrigeret}} - \text{rlu}_{\text{reagens blind}}}{\text{hældning}_{\text{standardkurve}}}$$

De aktuelle prøver blev målt med Lumin(ATE)/Lumin(EX)-kit (Celsis) på et Advance Coupe luminometer (Celsis) med automatisk reagenstilsætning.

100 µL prøve blev tilsat 100 µL ekstraktionsreagens. Efter 10 sekunders ekstraktionstid blev tilsat 100 µL luciferin/luciferase reagens, og efter 2 sekunder målte lysudsendelsen over 10 sekunder.

For hver prøve blev foretaget enkeltbestemmelse på prøve og prøve tilsat intern standard. Et fælles gennemsnit og standardafvigelse blev bestemt for hvert sæt triplikater ved brug af fejlafhobningsloven.

Rådata

Dag	0		3		7		14	
	[pg ATP/mL]	Stdev	[pg ATP/mL]	Stdev	[pg ATP/mL]	Stdev	[pg ATP/mL]	Stdev
CMC-KR 10 ug/L	4,5	0,3	5,4	0,8	6,4	1,0	5,9	0,7
CMC-KR 1000 ug/L	3,7	0,1	4,5	0,8	6,0	0,5	5,3	1,0
CMC 10 ug/L	3,9	0,2	6,8	0,8	9,7	4,0	8,3	2,9
CMC 1000 ug/L	3,5	0,2	6,2	0,6	8,7	0,9	8,0	1,0
Betonit 50 ug/L	4,6	0,5	4,8	0,7	4,7	0,6	5,2	0,8
Betonit 5000 ug/L	4,6	0,3	5,3	1,0	6,3	0,7	8,5	1,2
Kontrol	3,8	0,5	5,9	0,7	6,8	1,3	7,3	2,5

Bilag E Stamopløsninger

Tilsætningsstof-stamopløsninger

CMC

Stamopløsning 200 mg/L: 200 mg CMC afvejes til 1 L destilleret vand.

Omrøres på magnetomrører et døgn ved stuetemperatur.

Stamopløsning 2 mg/L: 1 mL af stamopløsning 200 mg/L til 99 mL destilleret vand.

Bentonite

Stamopløsning 1000 mg/L: 1000 mg Bentonite afvejes til 1 L destilleret vand.

Omrøres på magnetomrører et døgn ved stuetemperatur.

Stamopløsning 10 mg/L: 1 mL af stamopløsning 1000 mg/L til 99 mL destilleret vand.

Ved anvendelse tilsættes 1 mL af de respektive stamopløsninger testvand til et totalvolumen på 200 mL, resulterende i 1000 µg/L og 10 µg/L CMC og 5000 µg/L og 50 µg/L bentonite. I forbindelse med AOC bestemmelserne pasteuriseres (70°C i 45 min) stamopløsningerne før tilsætning. Indledende undersøgelser viste, at pasteuriseringen ikke påvirker tilsætningsstoffernes vækstpotentiale.

Næringssaltopløsninger

Næringssalte i form af P og N tilsættes testflaskerne for at sikre at væksten ikke hæmmes af næringssalt-begrænsning.

KH_2PO_4 : 0,879 g KH_2PO_4 afvejes til 100 mL destilleret vand og opløsningen autoklaveres (120°C i 20 min). 0,200 mL tilsættes testvandet til totalvolumen på 200 mL givende en tilsætning af 2 mg P/L.

KNO_3 : 2,708 g KNO_3 afvejes til 100 mL destilleret vand og opløsningen autoklaveres (120°C i 20 min). 0,270 mL tilsættes til testvandet til totalvolumen på 200 mL givende en tilsætning af 5 mg N/L.

Bilag F - Ordliste

AOC	Assimilerbart organisk kulstof: den del af den totale mængde organisk kulstof, som bakterier kan bruge til vækst. Som tommelfingerregel giver vand med et AOC-indhold lavere end 10 µg acetat-C-ækvivalenter/L ikke anledning til betydelig bakterietilvækst (van der Kooij et al. 1992)
Aromatisk	Ringformede organiske stoffer, hvis ringe er særligt modstandsdygtige overfor spaltning på grund af en særlig stabil elektronsky, fx benzoesyre, naphthalen, indigo
ATP	Adenosin-triphosphat: det energibærende molekyle i alle levende celler. Kan anvendes som mål for tæthed af levende celler. Så snart en celle dør, falder dens indhold af ATP til 0.
Boremudder; borevæske	Et alment udtryk for den væske, der opstår ved borearbejdet, som er en blanding af vand og løsborede materiale og evt. tilsætningsstoffer for at øge viskositeten. Synonym med borevæske.
CMC	Carboxymethylcellulose, en vandopløselig menneskeskabt polymer dannet ud fra cellulose, efter at denne reagerer med natriumhydroxid (NaOH) og monochloredikkesyre (monochloracetat). Teknisk kvalitet CMC kan indeholde nogle procent acetat. I renere kvaliteter, som fx til fødevarer, er næsten al acetat fjernet.
Desinfektion	Drab, hæmning eller fjernelse af mikroorganismer, som kan forårsage sygdom
Eftervækstpotentiale	Antallet af bakterier, der vokser op i en prøve ved henstand. I praksis, prøvens indhold af AOC.
Grundvand	Vand, der forekommer mellem partiklerne i undergrunden
Halogen	Atomerne fluor, chlor, brom og jod
Heterotrof	Beskriver en mikroorganisme, hvis behov for kulstof dækkes af organiske molekyler og ikke dækkes af uorganiske molekyler
Kim	En enkelt celle af en mikroorganisme
Kulstofkilde	Betegnelse for næring til mikroorganismer, hvor man ønsker at fokusere på næringens indhold af kulstofatomer. En kulstofkilde kan være ethvert kemikalie, der indeholder kulstof, dvs. både kuldioxid, kulhydrat, protein, fedt m.m.
L	Liter
Mikroorganisme	Bakterie, virus, skimmelsvamp, gær, enkeltcellet plante og enkeltcellet dyr
Niche	Det sted i naturen, hvor en organisme lever, og hvor den udøver sin rolle
Organisk stof	stof som besidder kemiske bindinger mellem mindst 2 kulstofatomer
Prøvepumpning	Oppumpning af vand og samtidig pejling med henblik på at bestemme det vandførende lags vandledningsevne

	og magasinegenskaber samt den rumlige udbredelse af det vandførende lag (jf. renpumpning)
Renpumpning	Oppumpning af vand umiddelbart efter etablering af en boring for at skylle boremudder og løse ler- og sandpartikler op, således at der ydes sandfrit vand (jf. prøvepumpning)
Råvand	Vand, der pumpes op af en drikkevandsboring, indtil det er behandlet i vandforsyningsanlægget
Steril	Fuldstændig fri for enhver levende organisme, sporer eller andre smittekilder
Substrat	Almen betegnelse for næring til mikroorganismer
Tixotrofisk	Beskriver en væskes evne til over tid at udvikle en gel når den ikke udsættes for et vridningsmoment, og som igen bliver flydende når omrørt
Uorganisk stof	stof uden nogen kemiske bindinger mellem kulstofatomer, fx kuldioxid, karbonat