Miljø- og Fødevareministeriet
Naturstyrelsen

Ormebekæmpelse i vandværksfiltre

Forekomst og bekæmpelsesteknologi

2016

Titel:

Ormebekæmpelse i vandværksfiltre
- Forekomst og bekæmpelsesteknologi

Projektgruppe:

Sarah C.B. Christensen
Sille L. Larsen
Olaf W. Asmussen
Rasmus Boe-Hansen
Sebastian B. Nava
Sevil V. Afshar
Hans-Jørgen Albrechtsen

Udgiver:

Naturstyrelsen
Haraldsgade 53
2100 København Ø

www.nst.dk

Foto:
Sarah C.B. Christensen
Olaf W. Asmussen
Florian B. Wagner
Sevil V. Afshar.
Sille L. Larsen

År:

2016

ISBN nr.

978-87-7175-548-0

Ansvarsfraskrivelse:

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

Må citeres med kildeangivelse:
Christensen S.C.B., Larsen S.L., Asmussen O.W., Boe-Hansen, R., Nava, S.B., Afshar, S.V. & Albrechtsen H.-J. (2015). *Ormebekæmpelse i vandværksfiltre – Forekomst og bekæmpelsesteknologi*. Naturstyrelsen.

Indhold

Forord **5**

Sammenfatning **6**

1. Indledning **8**

2. Erfaringer fra danske vandværker **9**
- 2.1 Formål 9
- 2.2 Forekomst og behandling af orme i danske vandværker 9
  - 2.2.1 Case 1: Midtdansk vandværk med forekomst af orme fra 2006 til 2008 9
  - 2.2.2 Case 2: Sydsjællandsk vandværk med ormeforekomst i 2011 10
  - 2.2.3 Case 3: Nordjysk vandværk med ormeforekomst fra 1980'erne til 2013 10
  - 2.2.4 Case 4: Sydsjællandsk vandværk med ormeforekomst fra 2007 - 2015 12
  - 2.2.5 Yderligere registrerede ormefund 12

3. Artsbestemmelse af vandværksorme ved DNA analyse **13**
- 3.1 Formål 13
- 3.2 Materialer og metoder 13
- 3.3 Resultater og diskussion 13

4. Kompostormes overlevelse i vand **15**
- 4.1 Formål 15
- 4.2 Materialer og metoder 15
- 4.3 Resultater 15

5. Diagnosticering af sandfiltre **16**
- 5.1 Formål 16
- 5.2 Materialer og metoder 16
  - 5.2.1 Beskrivelse af vandværk 16
  - 5.2.2 Diagnosticeringsmetoder 16
  - 5.2.3 Afprøvning af diagnosticeringsmetoder 19
- 5.3 Resultater og diskussion 20
- 5.4 Opsummering 21

6. Udvikling af ormebekæmpelsesteknologi **22**
- 6.1 Formål 22
- 6.2 Materialer og metoder 22
- 6.3 Resultater og diskussion 24
  - 6.3.1 Behandling med monokloramin (NH_2Cl) 24
  - 6.3.2 Behandling med brintoverilte (H_2O_2) 26
  - 6.3.3 Behandling med nitrogen (N_2) 27
  - 6.3.4 Behandling med kuldioxid (CO_2): Enkelttilsætning 27
  - 6.3.5 Behandling med kuldioxid (CO_2): Gentagne tilsætninger 29
- 6.4 Opsummering 30

7. Ormebekæmpelsesteknologi anvendt i pilot sandfiltre **31**
- 7.1 Formål 31
- 7.2 Materialer og metoder 31
- 7.3 Resultater og diskussion 36

7.3.1 Ormeadfærd 36
7.3.2 Behandlingseffektivitet 37
7.3.3 Filterfunktion før og efter behandling 39
7.4 Opsummering 44

8. Identifikation af højrisikofiltre 45
8.1 Formål 45
8.2 Observationer 45

9. Konklusion 49

Bilag 50

Litteratur 52

Forord

Denne rapport er udarbejdet på baggrund af udviklingsprojektet "*Ormebekæmpelse i vandværksfiltre*", der er gennemført med tilskud fra Miljøministeriet under programmet Grøn Teknologi. Projektet er udført på DTU Miljø, Danmarks Tekniske Universitet i samarbejde med Krüger A/S og to danske vandforsyningsselskaber i perioden 2014 til 2015. I rapporten er der ligeledes inkluderet oplysninger om ormeforekomster i danske vandværker indsamlet af Sarah C.B. Christensen (DTU Miljø) i perioden 2007 til 2015.

Projektgruppen har bestået af:
Sarah C.B. Christensen
Sille L. Larsen
Olaf W. Asmussen
Rasmus Boe-Hansen
Sebastian B. Nava
Sevil V. Afshar
Hans-Jørgen Albrechtsen

Derudover har Sabrina Nedell, Lene K. Jensen, Sinh H. Nguyen, Carson O. Lee, Mona Refstrup, Susanne Kruse, Hector H.C. Garcia, Erik R. Lange, Charlotte Binning, Anette Lindahl, Birgitte Neergaard, Florian B. Wagner, Hanne Bøggild, Jørgen T. Pedersen, Jens S. Sørensen, Henny Kortbæk, Henrik R. Andersen, Kamilla M.S. Hansen, Mathilde J. Hedegaard, Sanin Musovic, Ravi K. Chhetri, Waqas A. Cheema og Bent H. Skov (DTU Miljø), Stig Rostgaard (Fiskeøkologisk Laboratorium), Knud B. Christensen (Fremsyn IVS), Sonsoles Quinzanos (Krüger A/S), Hans Ole Hansen samt danske vandforsyninger bidraget til projektet. Alle forsyningerne er anonymiserede i rapporten men kendt af forfatterne.

Følgegruppen har bestået af DANVA Dansk Vand- og Spildevandsforening, embedslæge Henrik L. Hansen og Anne Christine Duer, Naturstyrelsen.

Sammenfatning

Fra tid til anden observeres orme på danske vandværker. Ormene tilhører gruppen oligochaete orme (få-børsteorme) og kan blive op til ca. 10 cm lange. De lever i det vanddækkede filtersand, hvor de lægger æg og kan opretholde blivende populationer. Da ormene udgør en æstetisk gene for forsyningerne, er der gjort talrige forsøg på at fjerne ormene. Hidtidige erfaringer har vist, at metoder der er skånsomme nok til at filterets biologiske rensefunktion bibeholdes, som regel ikke er tilstrækkelige til at fjerne ormene. Kraftige behandlinger såsom klorbehandling slår derimod ormene ihjel, men ødelægger til gengæld de biologiske sandfiltre ved at dræbe bakterierne, der står for fjernelse af bl.a. ammonium.

Projektet havde til formål at udvikle en metode til at bekæmpe orme i drikkevandsproduktion, så ormene fjernes, mens effekterne på det biologiske sandfilter, der varetager vandrensningen, minimeres.

Indledningsvis blev erfaringer fra danske forsyninger indsamlet mht. forekomst af orme samt behandlingsforsøg. Orme forekommer på vandværker spredt over hele landet med det fællestræk, at der er høje koncentrationer af metan i råvandet. Metan fungerer som kulstofkilde for metan-oxiderende bakterier, hvis den ikke fjernes 100 %. Bakterierne danner større organiske forbindelser og tilfører dermed kulstof til fødenettet i sandfiltre. Jo højere indhold af tilgængelig næring, der er i et filter, des større populationer af højere organismer, vil filteret kunne understøtte.

I rapporten beskrives metoder til at diagnosticere ormeforekomst i sandfiltre samt til at indsamle ormene. Metoderne er videreudviklet og afprøvet gennem flere prøvetagningsrunder på danske vandværker. Antallet af indfangede orme var forholdsvis lavt, og de afprøvede metoder er derfor ikke evalueret i forhold til hinanden.

Ormene fra et deltagende vandværk blev ved DNA analyser identificeret som arten "*Dendrodrilus rubidus*", der tidligere er identificeret i et dansk vandværk. Der blev ikke påvist coliforme bakterier i orme indsamlet i dette studie. *Dendrodrilus rubidus* er en terrestrisk orm, og vi udførte derfor overlevelsesforsøg med nært beslægtede terrestriske orme i postevand og filtersand for at undersøge, hvorvidt terrestriske orme kan tilpasse sig til at leve akvatisk. Ved rapportens udgivelse havde de undersøgte kompostorme *Eisenia fetida* og *Eisenia veneta* overlevet akvatisk i 14 måneder.

Udviklingen af en bekæmpelsesteknologi blev udført som laboratorieforsøg med *Eisenia fetida* og *Eisenia veneta* pga. det lave antal af tilgængelige filterorme. Klorbehandling blev anvendt som reference, da erfaringsindsamlingen viste, at ormene slås ihjel, men sammen med dem også bakterierne i det biologiske filter. Den anden metode var behandling med brintoverilte, der blev antaget at være mere skånsom overfor filterbakterierne. Derudover blev N_2 behandling og CO_2 behandling anvendt som iltbegrænsende, og for CO_2 også pH-sænkende, behandling. Kun klor- og CO_2 behandling slog orme ihjel indenfor få døgn. Disse metoder blev derfor også afprøvet i filterkolonner i pilotskala forsøg, som blev opsat i tilknytning til et vandværk, hvor iltet råvand blev tilført kontinuert og filtersand fra fuldskala sandfiltre kunne udtages til kolonnerne umiddelbart før forsøgsstart.

Fire filterkolonner blev opsat, og 50 *Eisenia fetida* og 50 *Eisenia veneta* blev tilført i hver kolonne. Umiddelbart efter opstart fungerede jern- og ammoniumfjernelsen i filtrene. Ormene gravede sig ned i de øverste 10 cm af filteret inden for få timer, og ammoniumfjernelsen var 100 % i alle kolonner ved prøvetagning efter tre dages drift. Behandling med natriumhypochlorit (2500 mg/l tilsat) i seks timer medførte en ormedødelighed på 100 %, hvilket også var tilfældet ved behandling med CO_2 gennembobling i seks timer både i åben og lukket filterkolonne. I kontrolkolonnen uden behandling overlevede alle ormene. Efter klorbehandling var filterets funktionalitet som forventet hæmmet, og der foregik ikke længere ammoniumfjernelse i filteret. Ved behandling med CO_2 var funktionaliteten derimod bevaret, og ammoniumfjernelse på 100 % blev konstateret allerede umiddelbart efter afsluttet behandling. Behandling med CO_2 var dermed en effektiv metode til at bekæmpe orme i biologiske sandfiltre uden at hæmme filterets funktionalitet.

Summary

Water treatment in biological rapid sand filter is an extremely resource and energy efficient technology. The microbiological processes remove e.g. ammonia, manganese and iron in the raw water. It is therefore a prerequisite that the proper functional bacteria are present and under the right conditions. Danish drinking water production is based on simple treatment of groundwater consisting of aeration and filtration and no disinfectants are used in regular operation of the treatment plants.

However biological sand filters have proven also to host higher organisms such as round worms (nematodes) and segmented worms (oligochaete worms). The largest worms found in Danish sand filters are 10 cm long. The large segmented worms are an aesthetical challenge to the water utilities whereas the microscopic roundworms have proven to host unwanted bacteria such coliform bacteria.

The aim of this project was to develop a technology to remove the oligochaete worms and their eggs from biological sand filter while minimizing the effects on the water treating abilities of the filter.

Initially, experience on occurrence and treatment of worms at Danish utilities was gathered. The worms have been registered throughout Denmark and are hence not confined to a specific area. However all infested water works had relatively high concentrations of methane in the raw water. If methane is not completely stripped off during aeration it is utilized by methane oxidizing bacteria and thereby becomes a primary source of organic compounds in the sand filters. High levels of organic compounds in sand filters support populations of higher organisms such as worms.

Diagnostic methods were developed during the project in order to identify and collect worms from biological rapid sand filters. The methods were tested through sampling campaigns at Danish water works.

The worms were identified by DNA analyses as "*Dendrodrilus rubidus*" which has previously been identified at a Danish water work. Since *Dendrodrilus rubidus* is a terrestrial worm we conducted survival studies with closely related terrestrial worms in drinking water filter sand to investigate whether terrestrial worms are able to survive in water for extended periods of time. At the date of publication of this report, the investigated compost worms *Eisenia fetida* and *Eisenia veneta* had thrived in aquatic batch set ups for 14 months.

Four technologies were tested on *Eisenia fetida* and *Eisenia veneta* in batch experiments; hydrogen peroxide (H_2O_2), chlorine either as monochloramine (NH_2Cl) or sodium hypochlorite (NaOCl), nitrogen (N_2) and carbon dioxide (CO_2). Chlorine was selected as a positive reference since it has previously proven efficient at a full scale water works but at the same time destroyed the biological filter and as a consequence was not able to meet the guideline values for ammonium and nitrite for up to half a year.

Chlorine and CO_2 treatment was also investigated in pilot filter columns at a water works with aerated raw water and fresh filter sand, since they were the only methods which eliminated the worms within two days. Four columns were installed with 50 *Eisenia fetida* and 50 *Eisenia veneta* in each column. The worms thrived in the filters in the top 10 cm and the biological filters successfully removed 100 % ammonium from the raw water after three days. The mortality of the worms was 100 % after six hours of NaOCl treatment (2500 mg/l added), which was also the result of six hours of CO_2 treatment. All worms survived in the control without treatment. Treatment with NaOCl impaired the functionality of the filter and no ammonium was removed from the water after treatment. CO_2 treatment on the other hand did not cause a reduction in ammonium removal, and 100 % removal was measured immediately after the treatment was completed. Hence, CO_2 treatment of worms in biological sand filters is efficient and does not impede the functionality of the filter.

1. Indledning

Dansk drikkevandsproduktion er baseret på simpel behandling af grundvand, som oftest består af beluftning efterfulgt af filtrering i biologiske sandfiltre. Vandrensning i biologiske sandfiltre er en bæredygtig grøn teknologi, som er ekstrem ressource- og energieffektiv (Godskesen et al. 2011). De mikrobiologiske processer fjerner grundvandets naturlige indhold af ammonium og mangan og bidrager til en generel biologisk stabilisering af drikkevandet. Det er en forudsætning for behandlingens effektivitet og stabilitet, at de rette funktionelle bakterier (fx ammonium oxiderende bakterier) er til stede under de rigtige betingelser. Det viser sig imidlertid, at biologiske filtre også giver mulighed for, at højerestående organismer kan etablere sig. Et dansk studie (Christensen 2011) har påvist, at der lever hvirvelløse dyr som fx orme og krebsdyr i drikkevandsforsyninger over hele landet - i ledningsnet og rentvandsbeholdere såvel som i biologiske sandfiltre. De største orme, der er fundet i danske vandværksfiltre, har haft en længde på 10 cm. Selvom der ikke er evidens for at oligochaete orme (få-børsteorme) i vandværksfiltre udgør en egentlig sundhedsrisiko, medfører de æstetisk gener i filtrene og i særdeleshed, når de i sjældne tilfælde føres ud på ledningsnettet. I enkelte tilfælde har orme været sat i forbindelse med fund af coliforme bakterier, men disse fund skyldes typisk mikroskopiske rundorme (Locas et al. 2007).

Orme i sandfiltre udgør i dag en alvorlig teknologisk udfordring for vandforsyningerne, da der kun findes sporadisk viden om bekæmpelse og ringe dokumentation for effektiviteten af eventuelle behandlingstiltag. Gennem tiden har der været forsøgt forskellige metoder til at fjerne ormene på landets vandværker, og i mangel af bedre er der bl.a. blevet anvendt klor i høj koncentration, hvilket har haft den ønskede effekt på ormene, men til gengæld ødelagt filtrenes biologiske renseevne. Dette har betydet, at sandfiltrene har været sat ud af drift i flere måneder med betydeligt produktionstab og vandspild til følge.

På denne baggrund har projektet haft til formål at identificere og udvikle en teknologi, der effektivt og skånsomt kan fjerne orme og deres æg fra biologiske sandfiltre med minimal skade på filtrenes biologiske processer. Rapporten samler derudover erfaringer fra danske vandforsyninger, der har haft forekomst af orme i deres sandfiltre, da informationer om forekomst og behandlingsforsøg har været sporadiske og sjældent nedskrevne. Indsamlede orme er blevet artsbestemt ved hjælp af DNA analyse, og der er foretaget overlevelsesstudier med terrestriske orme i vand. Endelig er der udviklet teknikker til diagnosticering og indsamling af orme i sandfiltre.

2. Erfaringer fra danske vandværker

2.1 Formål

Erfaringsindsamlingen har haft til formål at indsamle og beskrive erfaringer fra vandværker med orme i sandfiltre med fokus på forekomst og koncentration af orme, behandlingsforsøg og vurdering af succesen af disse behandlinger.

Erfaringerne er beskrevet som cases og er ikke kategoriseret efter behandlingsmetode, da flere af forsyningerne har afprøvet flere forskellige behandlingsmetoder. I afsnit 2.2 sammenfattes erfaringerne, mens detaljerede beskrivelser af enkelte af forløbene findes i Bilag 1.

2.2 Forekomst og behandling af orme i danske vandværker

2.2.1 Case 1: Midtdansk vandværk med forekomst af orme fra 2006 til 2008

Vandværket er et privatejet værk, der har en gennemsnitlig ydelse på ca. 20 m^3/time.

Forekomst: I 2006 blev der observeret makroskopiske orme (6-8 cm) i værkets forfiltre ved en tilfældighed, og efterfølgende blev filtrene gravet igennem. Ca. 20-30 orme blev iagttaget eller indfanget inden for et lille område, og den største koncentration blev fundet i 30-50 cm dybde. Ormene blev artsbestemt til at være få-børsteormen, *Dendrodrilus rubidus* (stub-orm). Der blev målt coliforme bakterier, som blev sat i forbindelse med fund af coliforme bakterier i drikkevandet (Hansen 2008).

Behandling: I perioden 2006 til 2008 foretog vandværket flere forskellige behandlingsforsøg:
Efter anbefaling blev der tilsat 5 liter brintoverilte (H_2O_2), 35 % i et par timer, hvilket ikke havde nogen umiddelbar effekt.

Der blev desuden afprøvet elektrofiskeri i et filter med udstyr beregnet til traditionelt elektrofiskeri. Ved første forsøg var der en elektrodeafstand på ca. 1,5 meter i et drænet sandfilter. Der blev anvendt en spænding og effekt på 12 V og 500 W, hvilket medførte, at seks orme kravlede op på filteroverfladen indenfor et minut. Spænding og effekt blev derefter øget til 230 V og 1800 W. Derved dukkede i alt 16 orme op af filtermaterialet. Efter hvert forsøg gravede ormene sig ned i filtersandet igen. Forsøget blev gentaget med vanddækket filter. Ved den lave spænding og effekt kom der igen seks orme op af sandet. Det er ikke rapporteret, hvorvidt de gravede sig ned inden behandling med høj spænding og effekt, blot at der ved behandlingen kom yderligere orme til syne, så der kunne tælles i alt 19 orme på overfladen. Ormene blev bortskaffet, men behandlingen fjernede dog ikke hele filterets ormebestand (Hansen 2008).

Alt filtersandet blev efterfølgende udskiftet, men heller ikke dette løste problemet.

Slutteligt blev filtrene behandlet med 25 liter brintoverilte (35 %) i hvert filter (vandvolumen: 5,5 m^3 i hvert filter). Brintoverilten blev pumpet ind i filtrene via aftapningshaner under filtrene, og kontakttiden var to til tre døgn. Derefter blev filtrene sat i normal drift igen, og processen blev gentaget efter 14 dage. Filtrene omsætter ammonium, derfor blev brintoverilte valgt som desinfektionsmiddel fremfor natriumhypochlorit (NaOCl), da brintoverilte skønnedes at være mere skånsom over for den

bakteriologiske ammoniumomsætning. Det blev rapporteret, at ammoniumomsætningen var aktiv igen inden for få døgn efter behandlingen, ligesom jern- og manganfjernelsen fortsat fungerede.

Der blev efter brintoverilte behandlingen i 2008 opsat behandlingsanlæg med aktivt kul på værket, som stadig er aktivt, og som er rettet mod pesticidrester i det indvundne råvand. Før og efter kulfiltret behandles vandet med UV behandling. Råvandsledningen til værket på ca. 10 km blev ligeledes renset og desinficeret. Der var sideløbende opstået en kolonisering med myggelarver i et udlednings/reaktions-bassin før filtrene. Reaktionsbassinet blev sløjfet, hvorved myggelarverne forsvandt, og de koloniserede ikke de to tilbageværende iltningsbassiner.

Der har ikke efterfølgende været påvist orme eller coliforme bakterier i filtrene.

2.2.2 Case 2: Sydsjællandsk vandværk med ormeforekomst i 2011

Vandværket er et mindre privat værk, der har en gennemsnitlig ydelse på 3-4 m^3/time.

Forekomst: Der blev observeret makroskopiske orme på vandværket i 2011 (Fig. 1). Under forløbet blev der målt forhøjede bakteriekoncentrationer (kimtal 22), samt svagt forhøjede ammonium og nitrit-koncentrationer i afgangsvandet. Ved mikroskopi konstateredes stor artsrigdom og høje koncentrationer af mikroskopiske invertebrater (hvirvelløse dyr) i filteret. Koncentrationen af oligochaete orme var ca. 1 orm/ml filtersand og 2 æg/ml filtersand. Koncentrationen af rundorme var højere end oligochaete orme, men den præcise koncentration foreligger ikke. I forbindelse med forekomsten af orme blev der indført kogeanbefaling til alle forbrugere.

Figur 1. Oligochaete orme (få-børsteorme) indsamlet i sydsjællandsk sandfilter (Case 2). Foto: Sarah C.B. Christensen.

Behandling: Der blev tilsat brintoverilte (ukendt koncentration) til filtrene med over et døgns kontakttid. Derudover blev rentvandsbeholdere renset og filtrene returskyllet. Efter endt behandling blev der ved visuel inspektion ikke observeret tilbageværende orme. Et efterfølgende studie konstaterede ligeledes, at der ikke var oligochaete orme i filtrene, men der blev registreret op til 20 rundorme pr. ml filtersand.

2.2.3 Case 3: Nordjysk vandværk med ormeforekomst fra 1980'erne til 2013

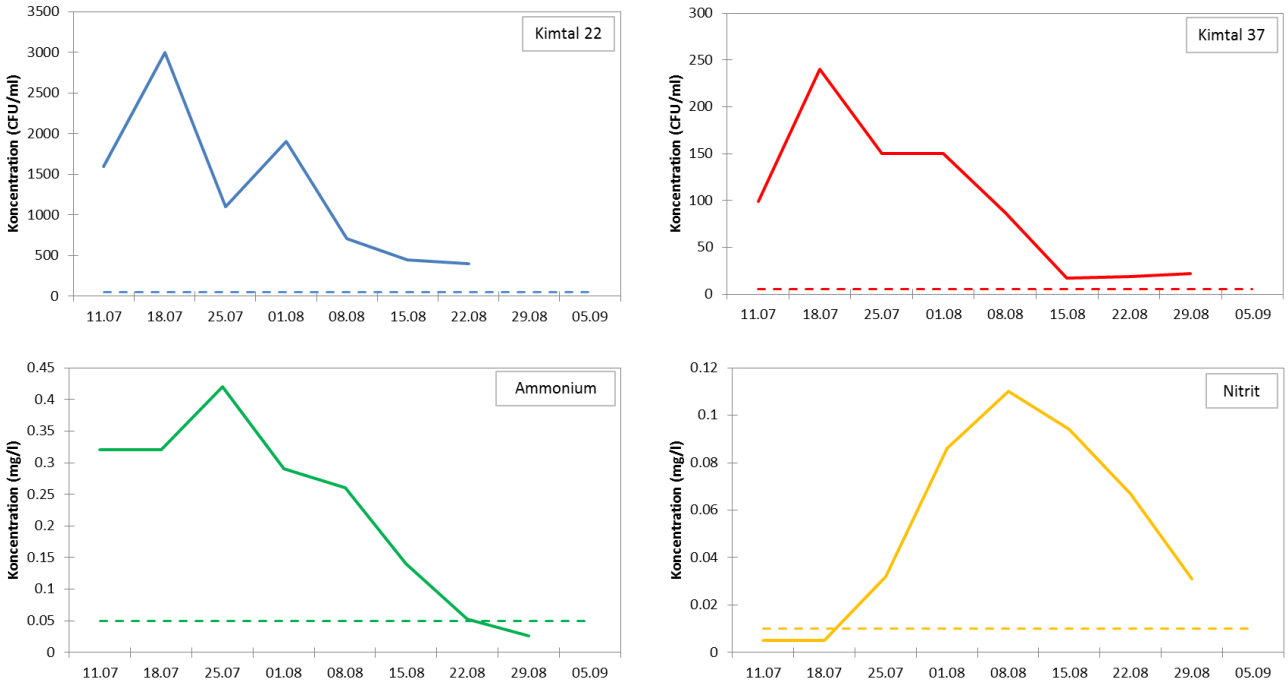
Vandværket er et kommunalt ejet værk, der har en gennemsnitlig ydelse på ca. 80 m^3/time.

Forekomst: De første kendte observationer af orme i værkets sandfiltre er fra sidst i 1980'erne med svingende størrelse af ormebestanden gennem årene derefter. I 2007 blev al sand udskiftet, og i 2013 blev det konstateret, at værket igen var koloniseret af orme.

Figur 2. Oligochaete orme indsamlet i nordjysk sandfilter i 2013 (Case 3). Foto: Sarah C.B. Christensen.

Behandling: I 1980'erne bestod behandlingen i at rive og stampe filtrene og manuelt fjerne ormene ved at lægge dem op i skyllevandsrenden og derfra skylle dem ud i slambassinet. I 2007 blev alt filtersand udskiftet. I 2013 bestod behandlingen i at tilsætte 20 liter natriumhypochlorit-opløsning (15 % aktivt klor) pr. filter (filter volumen på 5 m^3), hvilket er en meget høj koncentration. Kontakttiden var 24 timer, og der blev skabt cirkulation med midlertidig pumpe ved lavt flow. Efterfølgende blev filtrene returskyllet. Resultatet af behandlingen i 2013 var umiddelbart 100 % fjernelse af makroskopiske orme. Der er ikke efterfølgende konstateret orme ved visuel kontrol.

Filtrenes mikrobielle processer (fx nitrifikation) var først reetableret lidt over et halvt år efter behandlingen. I den mellemliggende periode opfyldte vandet ikke kvalitetskravene (Fig. 3).

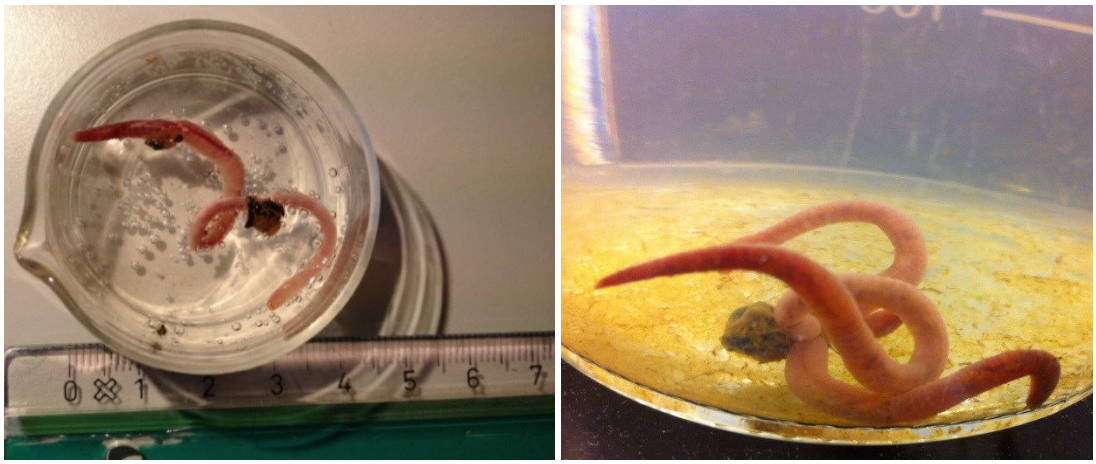


Figur 3. Vandkvalitet målt ved afgang fra vandværk efter klorbehandling af værkets sandfiltre. Stiplede linjer viser kvalitetskrav for de enkelte parametre. Filtrene blev behandlet d. 21. maj 2013 og udpumpning til net uden UV behandling kunne ikke ske før d. 16. december 2013.

2.2.4 Case 4: Sydsjællandsk vandværk med ormeforekomst fra 2007 - 2015

Vandværket er et kommunalt ejet værk, der har en gennemsnitlig ydelse på 200-250 m^3/time.

Forekomst: Den første kendte observation af orme i værkets sandfiltre er fra ca. 2007. Orme blev undersøgt på DTU Miljø i 2012 (Fig. 4), og ved prøvetagning på værket i juni 2014 blev der fanget tre orme (Fig. 4). Personalet på værket havde observeret, at der i de forgående fem uger ikke havde været synlige orme i filtrene. Ormene blev indsamlet ved stampning med træplader (pladerne spændes på skoene af prøvetager) og efterfølgende gennemgang af vandfasen med net med maskestørrelse på 5 x 5 mm.



Figur 4. Oligochaete orme fra sydsjællandsk vandværk, april 2012 (venstre) og juni 2014 (højre) (Case 4). Foto: Sarah C.B. Christensen (venstre) og Florian B. Wagner (højre).

Ved prøvetagning november 2014 blev der indsamlet fire orme (fire ud af fem filtre undersøgt). Prøvetagningen blev foretaget ved at føre et rejenet med maskestørrelse på 6 x 6 mm gennem vandfasen i filtrene. Alle ormene var døde eller afkræftede ved fangsten, hvilket stemmer godt overens med, at orme, der er afkræftede eller har dårlige forhold i filtrene såsom lavt iltindhold, ofte bevæger sig op på sandoverfladen, mens de raske orme forbliver nedgravet i sandet.

Behandling: Der er endnu ikke udført behandlingsforsøg i filtrene, da vandværket har deltaget i dette projekt.

2.2.5 Yderligere registrerede ormefund

Ud over de beskrevne cases med forekomst af orme i vandværker har der været sporadisk forekomst af orme på andre vandværker samt i rentvandsbeholdere, distributionsrør og i enkelte tilfælde hos forbrugere:

- Vestjylland, august 2012: Op til ca. 8 cm lange oligochaete orme i to af værkets fire forfiltre
- Midtdanmark, juni 2012: Mikroskopiske oligochaete orme i rentvandsbeholder og distributionsrør
- Østjylland, april 2012: Oligochaet orm på ca. 3 cm fundet hos forbruger
- Østjylland, november 2009: Mikroskopiske oligochaete orme observeret i vandprøve, der var taget fra en brandhane på distributionsnettet
- Nordjylland, november 2009: Mikroskopiske nematoder (rundorme) observeret i vandprøve, der var taget fra en brandhane på distributionssystemet
- Nordsjælland, maj 2008: Mikroskopisk uidentificeret orm fra vandværk
- Midtdanmark, maj 2008: Oligochaet orm på 15 cm i husinstallation. Formentlig en regnorm der var blevet tilført ved VVS arbejde i huset kort forinden.

3. Artsbestemmelse af vandværksorme ved DNA analyse

3.1 Formål

Formålet var at artsbestemme orme fra et dansk vandværk og udvælge nært beslægtede modelorme til bekæmpelsesforsøg.

3.2 Materialer og metoder

Ormene blev undersøgt ved DNA analyse af to forskellige gener. Døde vandværksorme, som var opbevaret ved -80 °C blev optøet, og vævsstykker blev udtaget fra både forende og bagende. DNA blev ekstraheret fra vævet med DNeasy Blood and Tissue Kit (QIAGEN) efter producentens anvisninger. DNA'et blev kopieret ved PCR (Polymerase Chain Reaction). PCR blev udført på generne 18S ribosomal DNA og det mitochondrielle CO1 gen, der koder for et protein i mitochondrierne (celleres energiomdanner). Årsagen til at to forskellige gener blev analyseret var, at 18S ribosomal DNA er vel konserveret DNA, som ikke varierer meget mellem nært beslægtede organismer. Da det ikke havde den ønskede grad af variation, blev CO1 genet analyseret for at kunne adskille ormene tilstrækkeligt fra andre ormeslægter til at muliggøre identifikation. PCR produktets længde og renhed blev kontrolleret ved gel-elektroforese, hvorefter koncentrationen og kvaliteten af DNA i produktet blev bestemt på NanoDrop (Thermo Fisher Scientific) ved en absorbans på 260/280 nm. PCR produkter blev sendt til oprensning og sekvensering hos Macrogen (Seoul, Sydkorea). DNA sekvenserne blev sammenlignet med sekvenser fra den internationale database GenBank (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov).

3.3 Resultater og diskussion

DNA sekvenser på 702 basepar fra det mitochondrielle CO1 gen havde 98-99 % lighed med den terrestriske orm *Dendrodrilus rubidus*. Morfologisk identifikation (baseret på udseende) af orme fra danske vandværker har tidligere ligeledes identificeret dem som *Dendrodrilus rubidus*, hvorfor de må antages at være fra denne art eller meget nært beslægtede. Forekomst af orme i sandfiltre til vandrensning er også beskrevet i international litteratur (Wubbels et al. 2014), dog i langsom-sandfiltre i modsætnings til de danske hurtig-sandfiltre. Orme fra langsom-sandfiltre blev i studiet af Wubbels et al. (2014) sendt til fire forskellige universiteter og konsulenter, hvor ormene to af stederne blev identificeret som *Dendrodrilus rubidus*, mens *Eisenia fetida* var identifikationen det tredje sted og *Eisenia andrei* det sidste. Wubbels et al. (2014) konstaterede også, at på trods af at disse orme er landlevende arter, havde ormene levet i det vanddækkede filter i ca. 25 år. Der er stor lighed mellem *Dendrodrilus rubidus* og *Eisenia* arterne, og de er alle fra familien *Lumbricidae*.

På denne baggrund blev kompostormene *Eisenia fetida* og *Eisenia veneta* (Fig. 5) udvalgt som modelorme til udførsel af bekæmpelsesforsøg. *Eisenia fetida* og *Eisenia veneta* er, udover at være nært beslægtede med *Dendrodrilus rubidus*, let tilgængelige kommercielle kompostorme.

Figur 5. *Dendrodrilus rubidus* fra dansk vandværk (venstre) og kommercielt indkøbte *Eisenia fetida* og *Eisenia veneta* (højre). Foto: Sarah C.B. Christensen (venstre) og www.ormeposten.dk (højre).

Før dette projekt blev påbegyndt, havde vi registreret andre typer orme i danske sandfiltre. Disse var ikke tilgængelige for udførsel af DNA analyse, og det skal derfor understreges, at der lever andre ormegrupper i sandfiltre end ormene, der er DNA analyseret i dette studie, bl.a. akvatiske orme fra familien *Naididae*.

4. Kompostormes overlevelse i vand

4.1 Formål

Formålet var at undersøge, hvorvidt de udvalgte modelorme, *Eisenia fetida* og *Eisenia veneta*, kan overleve i vand, da de er landlevende orme.

4.2 Materialer og metoder

Forsøget blev opsat i 10 °C klimarum ultimo november 2014. Der blev ikke skelnet mellem de to arter, *Eisenia fetida* og *Eisenia veneta*, og den indkøbte *Eisenia fetida* kultur indeholdt sandsynligvis også *Eisenia andrei*, da de to arter ikke kan adskilles morfologisk (baseret på udseende). Ormene blev placeret i en skyllebakke før forsøget for at frasortere orme med lavt aktivitetsniveau og med potentielle skader. Forsøgene blev udført i 1 l syrevaskede og glødede bægerglas tilsat postevand samt filtersand eller kompostmuld (Tabel 1). pH- og iltkoncentrationer blev målt i alle glas. Det blev anvendt luftpumpe, gummislanger, 0,2 µm filtre og nåle til at belufte to af glassene med atmosfærisk luft.

Tabel 1. Forsøgsopstilling til overlevelsesforsøg med kompostorme i postevand. Volumen af kompost og filtersand var 200 ml i alle glas.

Glas (#)	Materiale	Vandvolumen (ml)	*Eisenia fetida* (antal/glas)	*Eisenia veneta* (antal/glas)	Beluftning (+/-)
1	Kompost	0	3	3	-
2	Filtersand	0	3	3	-
3	Filtersand	300	3	3	-
4	Filtersand	800	3	3	-
5	Filtersand	800	3	3	+
6	Kompost	800	3	3	+

I glas 1 og 2 uden vand blev sandet/mulden vædet med postevand en gang om ugen. I glas 3 og 4 uden beluftning blev vandet udskiftet to gange om ugen, da iltkoncentrationen ellers blev kritisk lav. Vandet i glas 3 blev ikke udskiftet de første tre uger men suppleret med frisk vand for at kompensere for fordampning. I glas 5 og 6 med beluftning blev vandet udskiftet efter 4½ måned, 7 måneder og 10 måneder. Nyt filtersand eller kompostmuld blev tilsat efter 4½ måned, 7 måneder og 10 måneder. Vand og sand var eneste tilførte næringskilder.

4.3 Resultater

Ved projektets afslutning (14 måneders forsøgsperiode) levede ormene veltilpassede i alle seks glas. Kun to orme døde efter to måneder i glas 3. De to orme havde blærer på kroppen, der førte til mistanke om infektion pga. det lille vandvolumen med seks orme i. Vandet blev som konsekvens af dette derefter udskiftet to gange om ugen som i glas 4, og der blev ikke observeret flere dødsfald. Der blev derudover observeret ormeæg og unger i vandet sidst i forsøget. Det er altså muligt for kompostorme at leve akvatisk i lange perioder (>14 måneder).

1. Diagnosticering af sandfiltre

1.1 Formål

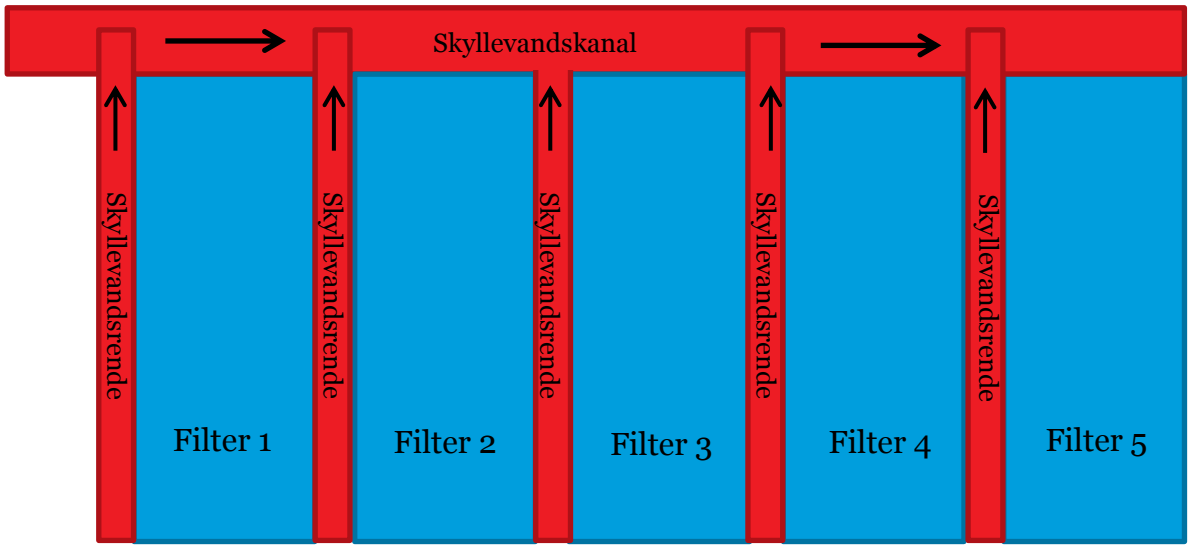
Formålet var at undersøge effektiviteten af forskellige diagnosticeringsmetoder til orme i sandfiltre for at bestemme omfanget af ormeforekomst og for at evaluere effekten af ormebekæmpelse i filtrene. Derudover var formålet at anvende metoderne til indsamling af orme fra sandfiltre.

1.2 Materialer og metoder

Vi udførte tre prøvetagningsrunder i perioden juni 2014 til april 2015 på et dansk vandværk med kendt forekomst af orme i sandfiltrene. De første to prøvetagningsrunder havde som hovedformål at tilvejebringe levende dyr til videre undersøgelse i laboratoriet og blev samtidig anvendt til at teste enkelte diagnosticeringsmetoder. Den sidste prøvetagningsrunde havde som hovedformål at afprøve de forskellige diagnosticeringsmetoder systematisk. Ni forskellige diagnosticeringsmetoder blev afprøvet, heraf nogle der var udviklet til formålet.

1.2.1 Beskrivelse af vandværk

Vandværket, der er beskrevet i Case 4, er et kommunalt ejet værk, der har en gennemsnitlig ydelse på 200-250 m^3/time. Vandværket består af to høje iltningstrapper i serier, fem åbne biologiske enkeltfiltre (Fig. 6) med et areal på 16 m^2/filter og en designkapacitet på ca. 75 m^3/time/filter og to rentvandsbeholdere. Anlægget har en samlet ydelse på ca. 300 m^3/time og en max. kapacitet på 400 m^3/time. Filtrene returskylles normalt én gang om ugen på samme dag med luft på alle filtre samtidig. Filtrene var i drift 16 timer/døgn i 2014. Vandværket har siden 2007 haft forekomst af orme i alle værkets sandfiltre i varierende grad gennem tiden. Filtersalen blev mørklagt ultimo maj 2014 først med brunt papir og i april 2015 yderligere med et lag af sort plastic på alle vinduer for at minimere antallet af orme, der gravede sig ned i sandet.



Figur 6. Oversigt over sandfiltre på vandværket, hvor diagnosticeringsmetoder blev testet.

1.2.2 Diagnosticeringsmetoder

Følgende diagnosticeringsmetoder blev afprøvet:

1. Visuel inspektion
2. Filtrering af vandsøjle
3. Filtrering af øvre sandlag
4. Opstampning af filtersand under filtrering
5. Elektrofiskeri
6. Returskylning af filter samt filtrering
7. Driftstop af filter
8. Udtagning af kerneprøver
9. Overvågning med webkamera

1. **Visuel inspektion** af filteroverflade og vandsøjle (Fig. 7). Inspektionen foretages i mørke ved at gennemlyse hele filterets overflade med rødt lys fra eksempelvis en pandelampe. Prøvetageren bevæger sig fra den ene ende af overløbsrenden til den anden på begge sider af filteret.

Figur 7. Visuel inspektion af sandoverflade og vandsøjle. Foto: Olaf W. Asmussen.

2. Systematisk **filtrering af vandsøjle** med finmasket (6 mm) net.

3. Systematisk **filtrering af øvre sandlag** med finmasket (6 mm) net. Nettet anvendes kun i den øverste del af filteret (3-5 cm).

4. Systematisk **opstampning af filtersand under filtrering** ved hjælp af pumpebræt ned til 25 cm dybde, og efterfølgende afsøgning med finmasket (6 mm) net. En vandfast træplade som måler 25 x 60 cm fastgøres til et 100 cm langt reb i den ene ende. Pladen presses gennem vandet og placeres på sandoverfladen og fastholdes med den ene fod samtidig med, at man holder fast i rebenden med begge hænder. Ved hjælp af pumpebevægelser, hvor man skiftevis trækker og trykker træpladen ned mod sandenbunden, skabes der skiftevis undertryk og overtryk i sandet under træpladen. Det får sandet til at flytte sig ud til siden, og man får derved skabt et hul hvori filterorme kommer til syne. Ormene fiskes op med net. Træpladen flyttes til ny position i sandfilteret og proceduren gentages, indtil man har afdækket hele arealet i filteret.

5. Systematisk **elektrofiskeri** af sandfilter (Fig. 8) samt efterfølgende opsamling af orme i finmasket (500 µm) net. Filterormene indfanges, når de søger op til sandoverfladen i retning mod fiskeelektrodens katode. Udstyret anvendes kun af uddannet elektrofiskere, da arbejdsspændingen er ca.

300 volt. Elektrofiskeriet blev i dette projekt udført af Fiskeøkologisk Laboratorium. Elektroderne placeres så dybt som muligt (ca. 25 cm nede i sandet) for at forhindre, at ormene søger nedad. Elektroden placeres i 4-5 min på hvert sted, mens nettet føres igennem vandet. Dette gentages ned gennem midten af filteret med ca. 20 cm mellemrum og ligeledes langs med kanten af filteret med ca. 20 cm mellemrum.

Figur 8. Elektrofiskeri i sandfilter (venstre) og anvendte elektroder (højre). Foto: Sarah C.B. Christensen.

6. **Returskylning af filter** samt efterfølgende indfangning af opskyllet orme i fangstnet (Fig. 9). Når sandfilteret returskylles, løfter sandet sig fra bassinbunden og bliver derfor mindre kompakt. Nettet kan dermed nemmere føres gennem større mængder sand og derfor affiske et større volumen. Prøvetageren kan om nødvendigt stå i filtret under skylningen (med sikkerhedsline). I kombination med at anvende et net og returskylning, indsættes der et finmasket (500 µm) net for enden af overløbsrenden, som kan opfange eventuelle orme, der bliver skyllet ud over kanten på sandfilteret.

Figur 9. Prøvetagning med net under returskylning. På fotoet ses desuden udførsel af elektrofiskeri, men dette er ikke en del metoden "returskylning af filter". Foto: Sarah C.B. Christensen.

7. **Driftstop af filter**. En dag før prøvetagningen sættes filteret ud af drift, hvorefter man ved visuel vurdering optæller orme på sandoverfladen og i vandsøjlen og efterfølgende opfisker disse med net. Når filteret ikke er i drift, stopper tilførslen af iltet vand, og medarbejdere på vandværker har observeret, at ormene søger op på filterets overflade i løbet af et døgn efter driftstop. Sandoverfladen afstryges yderligere med net.

8. **Udtagning af kerneprøver**. Der udtages intakte kerneprøver i kajakrør (Fig. 10) med henblik på kvantificering af æg og evt. orme fra sandfilteret i en dybdeprofil. Røret der blev anvendt i dette projekt var ca. 100 cm langt med en indre diameter på 50 mm.

Figur 10. Kerneprøve fra sandfilter udtaget med kajakrør. Foto: Sarah C.B. Christensen

9. **Webkamera overvågning** af sandfilter med henblik på at monitere ormes aktivitet på sandfilteroverfladen. Filterorme er meget følsomme over for lys, og det kan derfor være svært at karakterisere deres bevægelsesadfærd i sandfilteret. I håb om at de ind imellem søger til overfladen kan man med hjælp fra et infrarødt kamera filme ormenes aktivitet på sandoverfladen. Kameraovervågningsmetode kræver, at rummet er mørklagt døgnet rundt og uden forstyrrende bevægelser. Kameraet opsættes i forbindelse med prøvetagningen. Kameraet blev i dette projekt indstillet til at tage et billede i minuttet i en uge. Afslutningsvis foretages en visuel inspektion af filteroverflade og vandsøjle.

5.2.3 Afprøvning af diagnosticeringsmetoder

Der blev foretaget prøvetagningsrunder i juni 2014, november 2014 samt april 2015.

I juni 2014 blev følgende metoder afprøvet i filter 1 til 3 (Tabel 2):

- Filtrering af øvre sandlag
- Opstampning af filtersand
- Udtagning af kerneprøver

I november 2014 blev følgende metoder afprøvet i filter 1 til 3 (Tabel 3):

- Filtrering af øvre sandlag

- Opstampning af filtersand

Ved prøvetagning i april 2015 blev alle ni diagnosticeringsmetoder udført. Forskellige metoder blev afprøvet efter hinanden i hvert af de fem filtre for at sammenligne effekten af forskellige metoder (Tabel 4). Elektrofiskeri blev anvendt som den afsluttende metode ud fra hypotesen om, at man ved elektrofiskeri vil kunne fange orme, der evt. ikke er blevet fanget ved mindre effektive metoder.
Fiskeriet foregik i mørke med lygter med rødt lys, iført rengjorte og desinficerede waders og handsker. Alle redskaber, som var i kontakt med bassinvand, blev ligeledes rengjort og desinficeret inden brug med fortyndet natriumhypochlorit. Indfangede orme blev overført til sterile glas med iltet råvand i.

5.3 Resultater og diskussion

I juni 2014 blev der indsamlet tre orme i alt (Tabel 2) ved diagnosticering af tre filtre.

Tabel 2. Diagnosticeringsmetoder anvendt i sandfilter 1 -3 i april 2014 og resultaterne deraf. I Filter 2 blev der udført to forskellige metoder efterfulgt af hinanden.

Filter 1	
Filtrering af øvre sandlag	2 orme ca. midt i filteret
Filter 2	
Kerneprøve (1 stk.)	Ingen orme eller ormeæg
Opstampning	1 medtaget orm fanget i nettet ca. midt i filteret
Filter 3	
Filtrering af øvre sandlag	Ingen orme

Ved prøvetagning november 2014 blev der indsamlet fire orme ved filtrering af vandsøjlen (Tabel 3). Alle ormene var døde eller afkræftede ved fangsten, hvilket stemmer overens med, at orme, der er afkræftede, ofte bevæger sig op på sandoverfladen, mens de raske orme befinder sig nedgravet i sandet.

Tabel 3. Diagnosticeringsmetoder anvendt i sandfilter 1 -4 i november 2014 og resultaterne deraf. Der blev udført to metoder i hvert filter efterfulgt af hinanden.

Filter 1 -4	
Filtrering af vandsøjle	4 medtagne orme
Opstampning	Ingen yderligere orme

I april 2015 blev kun én orm fundet ved diagnosticering af alle vandværkets fem filtre (Tabel 4). Der blev heller ikke fundet ormeæg i kerneprøverne.

Ved visuel afsøgning med rødt lys i det ellers mørklagte rum, blev der observeret og indfanget én orm i sandfilter 1 (Tabel 4). Ormen var levende og blev observeret på sandoverfladen.

Alle metoder blev udført succesfuldt, men ingen yderligere orme blev indfanget. Sandfilter 5 blev overvåget otte døgn på et 0,5 m^3 delareal af filteret. Billeddata viste ingen aktivitet eller indikation på, at der skulle være orme på sandoverfladen. Med den meget intensive og grundige gennemfiskning af sandfiltrene må det formodes, at antallet af orme i de undersøgte sandfiltre på vandværket var yderst begrænset. Dette gør det svært at dokumentere og sammenligne effektiviteten af de afprøvede metoder.

Tabel 4. Diagnosticeringsmetoder udført i fem sandfiltre i april 2015 samt resultaterne af de udførte metoder. Der blev udført flere forskellige metoder i hvert filter. Metoderne blev udført i den skrevne rækkefølge.

Filter 1	
Visuel inspektion	1 orm på sandoverflade midt i filteret + 1 død bænkebider (terrestrisk) med myggelarver på, fundet samme sted
Filtrering af vandsøjle	Ingen orme
Filtrering af øvre sandlag	Ingen orme
Returskylning af filter med filtrering	1 myggelarve fanget i sandet som blev opsamlet i nettet ved trawl gennem vandfasen – der blev trawlet overalt, mens der blev returskyllet
Elektrofiskeri	Ingen orme. Sandet var lidt løsere, så elektroden nåede 5-8 cm længere ned
Filter 2	
Driftstop	Ingen orme
Visuel inspektion	Ingen orme
Filtrering af vandsøjle	Ingen orme
Filtrering af øvre sandlag	Ingen orme
Elektrofiskeri	Ingen orme
Filter 3	
Visuel inspektion	Ingen orme
Kerneprøver	Ingen orme eller ormeæg
Opstampning	Ingen orme
Elektrofiskeri	Ingen orme
Filter 4	
Visuel inspektion	Ingen orme. 1 myg
Elektrofiskeri	Ingen orme
Filter 5	
Visuel inspektion	Ingen orme
Webcam	Ingen orme
Driftstop efter to døgn	Ingen orme filmet
Visuel inspektion efter otte døgns optagelser	Ingen orme filmet eller observeret ved inspektion

5.4 Opsummering

Under de tre prøvetagningsrunder blev der kun indsamlet én til fire orme pr gang. Ormene blev observeret ved følgende metoder: Visuel inspektion, filtrering af vandsøjle, filtrering af øvre sandlag samt opstampning af filtersand samtidig med filtrering. Mængden af indsamlede orme var for lille til at evaluere og sammenligne effektiviteten af de forskellige diagnosticeringsmetoder til detektion og kvantificering af orme. På trods af at der ikke blev fundet ormeæg i det undersøgte sand, vurderer vi, at udtagning af kerneprøver er en egnet metode til at udtage materiale til kvantificering af ormeæg i dybdeprofil gennem sandfiltre. Elektrofiskeri gav ingen positive resultater i dette projekt men har tidligere givet gode resultater. Ligeledes er overvågning af sandoverflader med infrarødt kamera en lovende diagnosticeringsmetode, da billedmaterialet indsamlet i dette projekt var tilfredsstillende. Vi kan således ikke udpege den mest egnede af de ni diagnosticeringsmetoder men konstaterede, at udførslen af alle metoderne forløb succesfuldt. Vi vurderer, at de afprøvede diagnosticeringsmetoder alle kan anvendes, og valg af metode vil være afhængigt af adgang til prøvetagningsudstyr og filtrenes fysiske adgangsforhold.

6. Udvikling af ormebekæmpelsesteknologi

6.1 Formål

Formålet var at udvikle og afprøve forskellige teknologier til at slå orme i sandfiltre ihjel uden at påvirke sandfiltrenes mikrobielle funktionalitet. Første udviklingsfase blev udført som batchforsøg med kommercielt tilgængelige kompostorme, *Eisenia fetida* og *Eisenia veneta*, for at kunne teste flere forskellige metoder med et bredt spektrum af koncentrationer, behandlingstider og applikationsmetoder. Batchforsøgenes succeskriterie var at opnå 100 % ormedødelighed i løbet af få dage.

6.2 Materialer og metoder

Fire bekæmpelsesmetoder blev testet i batchforsøgene.

- Monokloramin (NH_2Cl)
- Brintoverilte (H_2O_2)
- Nitrogen (N_2)
- Kuldioxid (CO_2)

Behandling med monokloramin blev anvendt som referencemetode, da denne behandling har vist sig at være effektiv på vandværker. Erfaringer fra vandværker viser dog også, at behandlingen ødelægger filterets mikrobielle funktionalitet, og at filtre, der har været behandlet med klor, ikke kan rense vandet tilstrækkeligt i perioder på op til et halvt år efter behandlingen (Fig. 3).

De antagne mere skånsomme behandlinger, der blev udviklet og undersøgt i dette studie, var behandling med brintoverilte samt behandling ved iltbegrænsning med N_2 og iltbegrænsning og pH-sænkning med CO_2.

Forsøgene blev udført i tre trin:

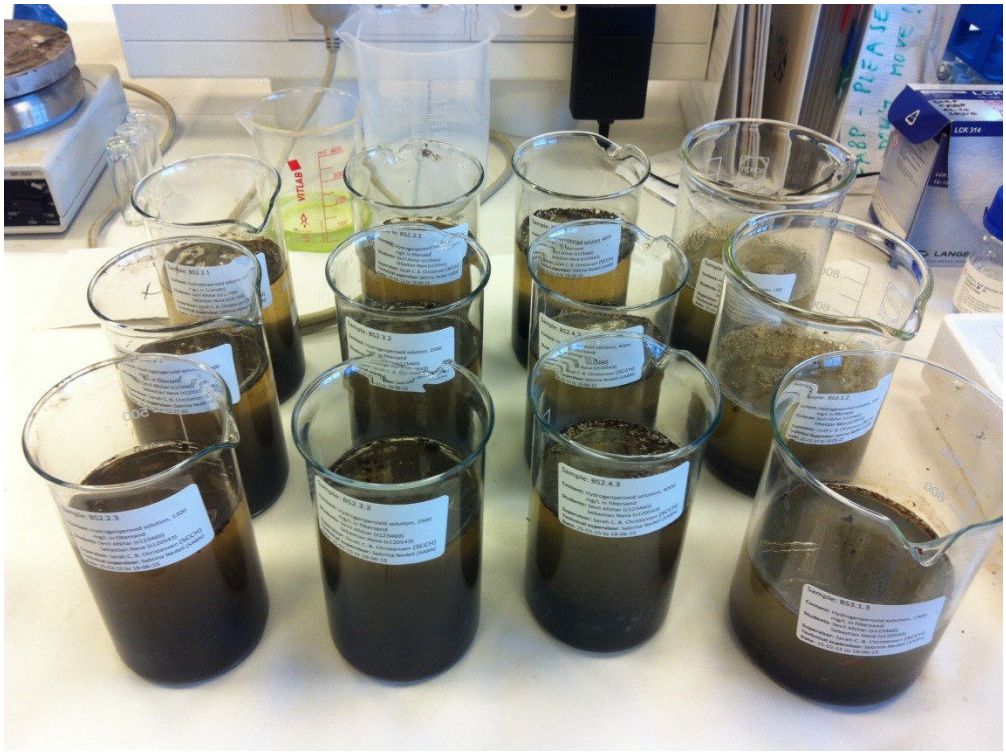
1. Behandlingsmiddel samt orme i vand (hvor hurtigt nedbrydes behandlingsmidlet og ved hvilken koncentration er dødeligheden 100 % (LC_{100})?)
2. Behandlingsmiddel i vand med filtersand (hvor meget bidrager filtersand til at nedsætte den tilgængelige mængde behandlingsmiddel?)
3. Behandlingsmiddel samt orme i vand med filtersand (Hvad er LC_{100}?)

Filtersand fra tre anonymiserede vandværker blev anvendt til at teste behandlingen på forskellige materialetyper. Filtersand fra Vandværk 1 blev udtaget fra forfiltrets øverste 25 cm og havde en kornstørrelse på 3-5 mm i diameter. Sand fra Vandværk 2 og 3 blev ligeledes udtaget fra topsandet og havde en kornstørrelse på 1 – 2 mm i diameter. Alt sand blev opbevaret ved 10 °C. Kompostormene *Eisenia fetida* og *Eisenia veneta*, der var udvalgt som modelorme for vandværksorme (Fig. 5), blev indkøbt hos Maugstrup Ormefarm og opbevaret i kompostmuld ved 10 °C op til forsøgsstart. Den indkøbte *Eisenia fetida* kultur indeholdt ifølge Maugstrup Ormefarm sandsynligvis også *Eisenia andrei*, da de ikke visuelt kan skelnes fra hinanden. Ormene blev vasket i postevand ved at føre ormene manuelt frem og tilbage i en balje med rent vand inden forsøgsstart.

Fremstilling af behandlingsmidler: Monokloramin blev fremstillet i laboratoriet af natriumhypochlorit (425044 Sigma-Aldrich NaOCl opløsning 10-15 %, CAS: 7681-52-9) og ammoniumklorid (31107 Sigma-Aldrich NH_4Cl, CAS: 12125-02-9.

Brintoverilteopløsninger blev fremstillet ud fra en 50 % brintoverilteopløsning (516813 Sigma-Aldrich) og MilliQ vand.

Behandling med monokloramin eller brintoverilte: Forsøgene blev udført i 500 eller 1000 ml syrevaskede og glødede bægerglas (Fig. 11). Forsøg uden sand blev udført i postevand, og forsøg med sand blev udført i postevand med sand fra Vandværk 1 (grovkornet) eller 3 (finkornet).



Figur 11. Forsøgsopstilling til behandling med monokloramin og brintoverilte i vand med filtersand. Foto: Sevil V. Afshar.

Ved tilsætning i vandfasen blev pipette eller engangssprøjte anvendt. Tilsætning i sandfasen blev udført med en engangssprøjte med kanyle, som blev stukket ned i bunden midt i glasset. Før tilsætning af behandlingsmidlerne blev en tilsvarende mængde vand fjernet fra glasset. Brintoverilte blev tilsat både som enkelttilsætning og gentagne tilsætninger. Ilt, temperatur, pH samt koncentration af behandlingsmidlet blev målt før, under og efter forsøget. I forsøg med filtersand blev sandet gennemboblet med atmosfærisk luft i ca. en time. Derefter blev orme tilsat, og forsøgsglassene stod uden omrøring i sandet et døgn inden behandling med brintoverilte eller monokloramin. Ved behandlingsstart havde alle orme gravet sig ned i sandet.

Behandling med N_2: Forsøgene blev udført i 1 l syrevaskede og glødede blue cap flasker fyldt op med vand, for at undgå headspace. Kontrolflasker blev sat op med orme i vand uden N_2, for at undersøge iltforbrug og overlevelsesgrad af ormene i en lukket beholder. De øvrige flasker blev gennemboblet med N_2 i én til to timer ved hjælp af en gummislange og kanyle. Iltniveauet blev bragt ned til 0,5-0,8 mg/l. Der blev tilsat orme til halvdelen af flaskerne, inden de blev lukket tæt. I de resterende flasker blev der ikke tilsat orme, og flaskerne blev lukket tæt for at følge pH- og ilt-udvikling. For at sænke iltkoncentration yderligere i en enkelt flaske blev vandet kogt i 10 min. i en konisk kolbe før gennembobling, der foregik i isbad.

Vandet blev hældt i en blue cap flaske efter afkøling, og pH, temperatur og iltindhold blev målt, inden der kom orme i umiddelbart før lukning.

Behandling med CO_2: Indledende forsøg med varierende CO_2 koncentration blev udført uden sand for at undersøge effekten af lave CO_2 koncentrationer. Forsøgene blev udført med 25 % danskvand og 75 % postevand, 50 % af hver samt 100 % danskvand. Forsøgene med sand tilsat blev udført med 100 % danskvand.

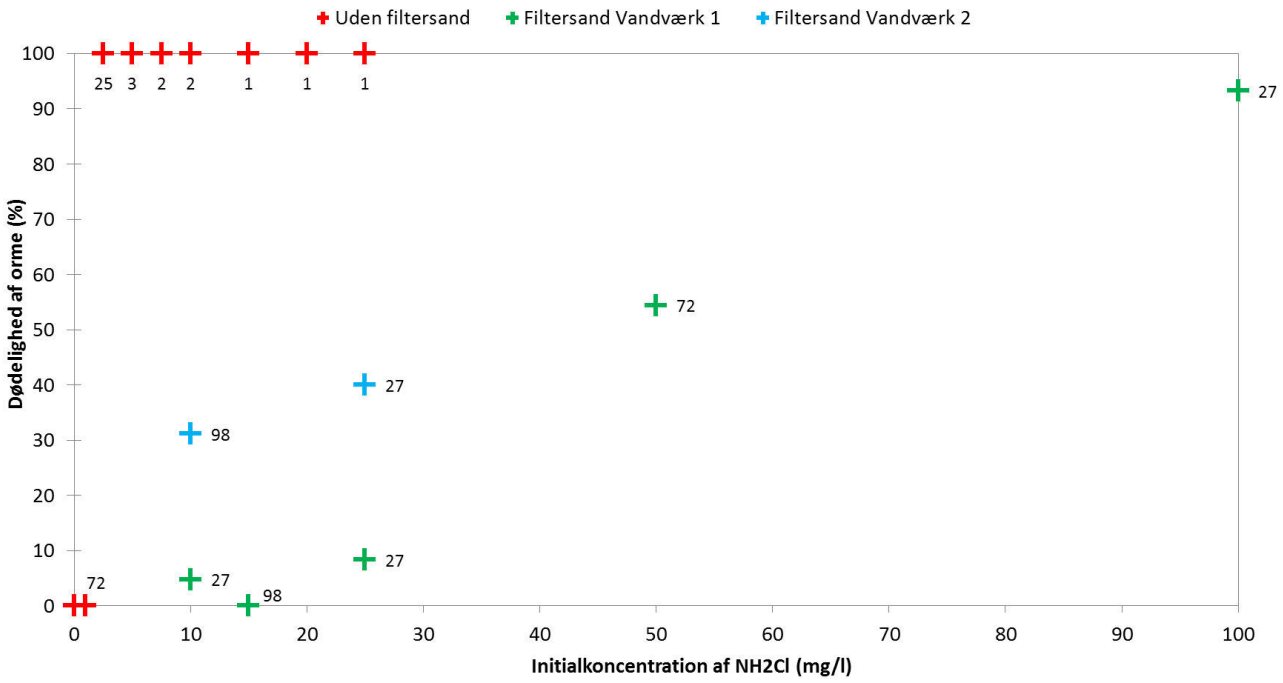
To forskellige tilsætningsmetoder (enkelttilsætning og gentagne tilsætninger) blev udført: Ved enkelttilsætning blev forsøgene udført i 500 ml plastik-flasker, der indeholdt kommerciel danskvand (River®) med pH 4,9 og iltindhold <4 mg/l. 200 ml vand blev hældt fra og 150 ml filtersand blev tilsat. Der blev udført forsøg med sand fra Vandværk 1 (grovkornet) og 3 (finkornet). Ved tilsætning af sand i flaskerne blev en del af den opløste CO_2 strippet af. Efter tilsætning af sand blev fem orme overført til hver flaske. To kontrolforsøg blev sat op; én flaske med postevand, sand og orme, og én flaske kun med sand og danskvand. De to kontroller blev udført for begge typer filtersand. Kontrollen blev opstillet for at undersøge og dokumentere ormenes tilstand i postevand kontra danskvand, samt undersøge pH og iltforbrug i en beholder uden orme. Afgasning af CO_2 fra vandet blev øget ved måling af ilt og pH, pga. omrøring med elektroderne. Derfor blev disse målinger kun foretaget ved tilsætning af danskvand første gang samt ved forsøgets afslutning. Iltmålingerne var ligeledes påvirkede af CO_2 bobler og er derfor behæftet med usikkerhed. For at undersøge ormedødelighed som funktion af behandling over tid blev der opstillet en række flasker, så der var én flaske for hver behandlingstid. Dermed kunne orme fra en flaske tages op af vandet på et givent tidspunkt og overføres til postevand, hvor de blev observeret over en længere periode for at konstatere, om de var døde eller blot midlertidigt inaktiverede. Samtlige flasker var åbne under hele forsøget, så der var en vis afgasning af CO_2 til atmosfæren, hvilket også vil være tilfældet i et åbent sandfilter. Forsøget blev udført ved 10 C°.

Ved gentagne tilsætninger blev danskvand tilsat som puls-injektion én gang i timen til et 1 l bægerglas med 150 ml filtersand og 5 orme. Der blev igen udført forsøg på såvel grovkornet som finkornet filtersand. Ormene blev overført til bægerglas før tilsætning af danskvand, så de kunne grave sig ned i sandet. Herefter blev 300 ml danskvand (River®) hældt over sand og orme. Dette blev gjort én gang i timen i de første 12 timer i første forsøg med gentagne tilsætninger og i de første 9 timer i andet forsøg. Det "gamle" danskvand blev hældt fra og frisk danskvand (300 ml) blev tilsat. Igen blev der udført to kontroller for hver type sand. Ilt og pH blev målt ved tilsætning af danskvand første gang og derefter ved endt behandling. Omrøring var dog nødvendig ved iltmåling, og iltkoncentrationerne er derfor behæftede med usikkerhed og skal alene ses som vejledende. Ilt-målinger blev udeladt ved enkelte af kontrolprøverne, da stabile målinger ikke kunne opnås indenfor tidsrammen. Bægerglassene var ikke tildækkede, og der var derfor fri udveksling af CO_2 mellem vandfase og atmosfære. Forsøget blev udført ved 10 C°.

6.3 Resultater og diskussion

6.3.1 Behandling med monokloramin (NH_2Cl)

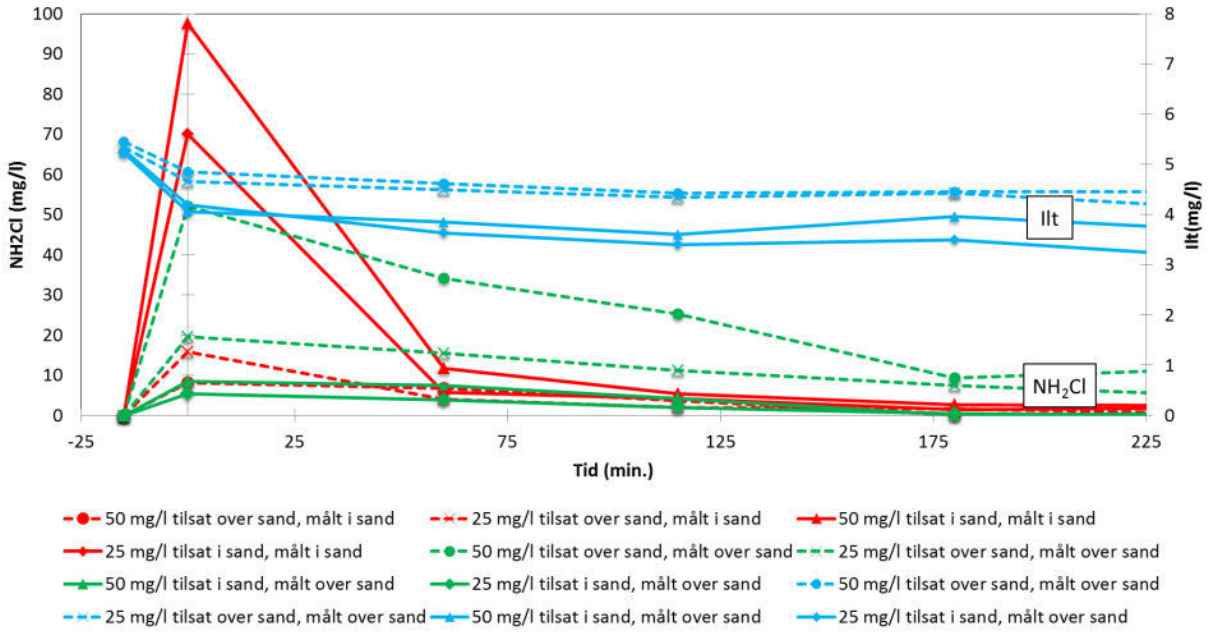
Ved behandling med monokloramin i vand uden sand var LC_{100} (koncentration for opnåelse af 100 % dødelighed) 2,5 mg/l, mens det ved koncentrationer op til 100 mg/l (teoretisk koncentration efter tilsætning) ikke lykkedes at slå alle orme ihjel, når der var filtersand til stede (Fig. 12). Selv når koncentrationer højere end 2,5 mg/l blev målt i såvel vand- som sandfase i glas med filtersand, var dødeligheden lavere end i vand uden sand. Filtersandet bidrager sandsynligvis til at skabe lokale forhold for ormene, der mindsker dødeligheden, fx ujævn fordeling af behandlingsmidlet.



Figur 12. Dødelighed af orme som funktion af NH_2Cl koncentration ved tilsætning. Tallene ved hvert kryds angiver behandlingstiden i timer. Det er muligt, at ormene var døde før den angivne tid.

Da forsøgene blev udført uden omrøring, for ikke at skade ormene, havde det betydning, hvorvidt monokloramin blev tilsat i sandet eller vandet (Fig. 13). Tilsætning i sandet gav den højeste koncentration i sandet, som dog hurtigt faldt, mens tilsætning i vandet gav en høj koncentration i vandet gennem længere tid. Ved tilsætning i vandfasen blev der ikke opnået høje koncentrationer i sandet.

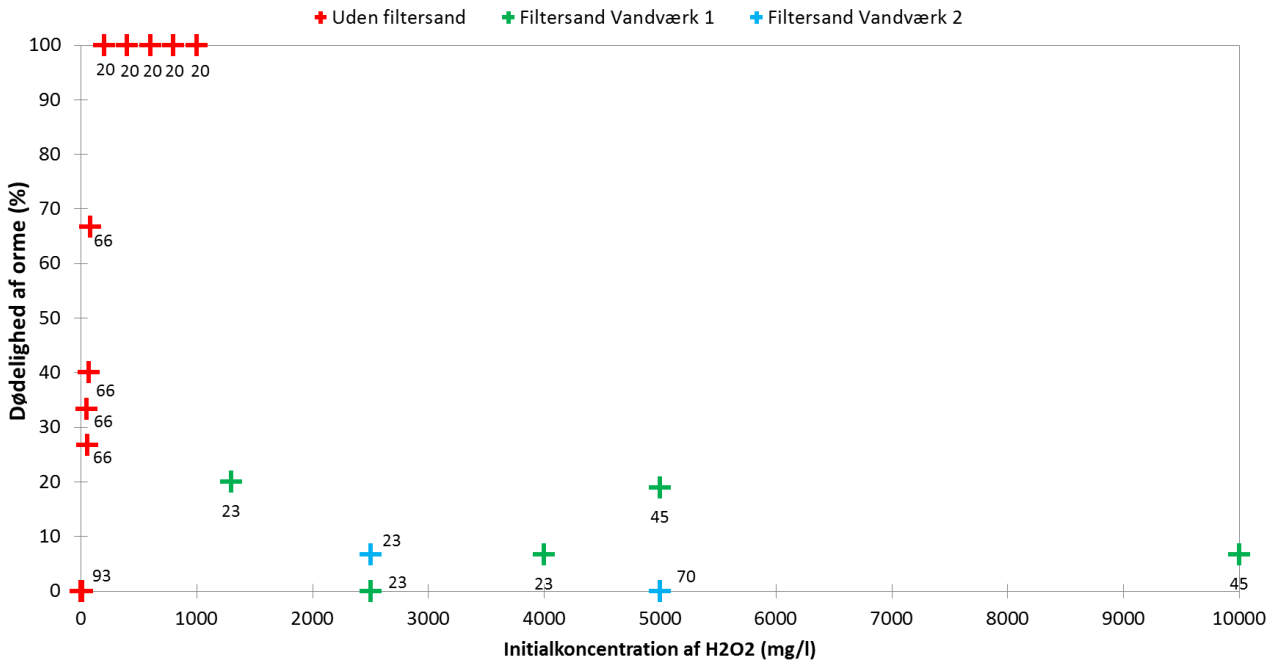
I størstedelen af forsøgene var den tilsatte monokloramin stort set forsvundet i sandfasen på mindre end fem timer.



Figur 13. Monokloramin-koncentrationer målt i sand (rød) og over sand (grøn) i forsøg med initialkoncentrationer af monokloramin på 25 mg/l og 50 mg/l. Stiplede linjer viser, at monokloramin er tilsat over sandet, mens fuldt optrukne grafer viser injektion i sandet. Ilt-koncentration over tid er vist med blå. Hvert glas indeholdt 300 ml postevand og 200 ml filtersand (Vandværk 1) uden orme.

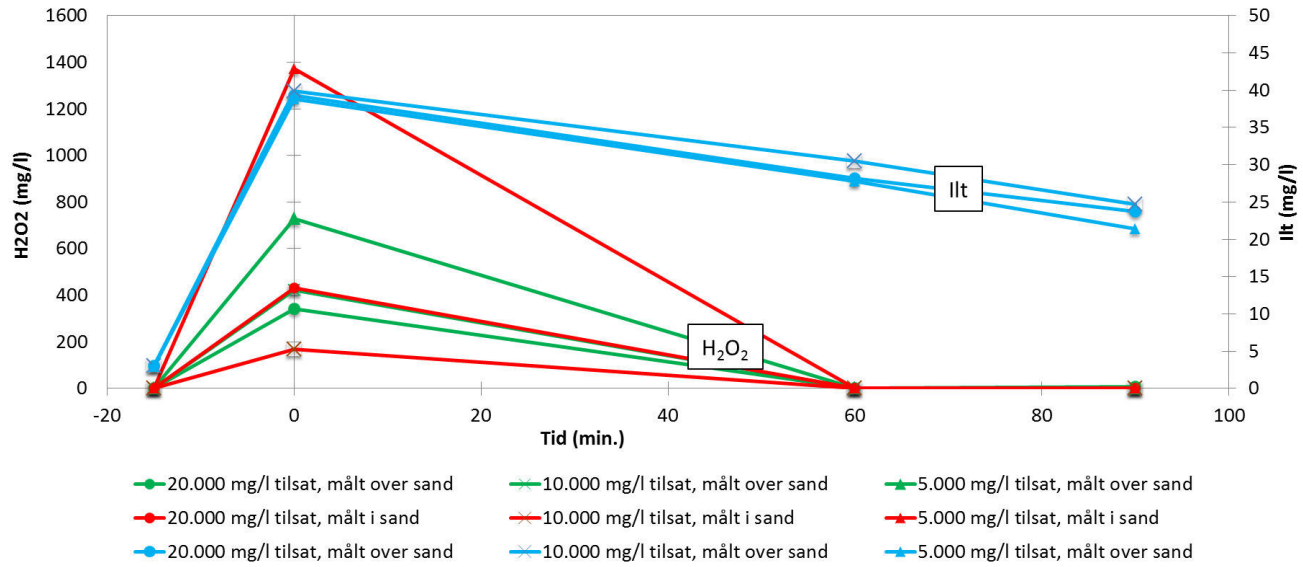
6.3.2 Behandling med brintoverilte (H_2O_2)

Effektiviteten af behandling med brintoverilte varierede i høj grad, afhængigt af tilstedeværelsen af filtersand. Uden filtersand var LC_{100} 200 mg/l, men i filtersand lykkedes det ikke at slå alle ormene ihjel med koncentrationer op til 10.000 mg/l (Fig. 14). Der sås ikke nogen umiddelbar forskel mellem behandlinger i sand fra Vandværk 1 og Vandværk 2.



Figur 14. Dødelighed af orme som funktion af brintoverilte-koncentration ved tilsætning. Tallene ved hvert kryds angiver behandlingstiden i timer. Det er muligt, at ormene var døde før den angivne tid.

Der var ikke 100 % dødelighed i løbet af tre døgn, når der var filtersand til stede. Dette kan skyldes, at koncentrationen ikke effektivt kunne opretholdes ved tilstedeværelse af sand, da sandet katalyserede en omdannelse af brintoverilte til ilt og vand. I størstedelen af forsøgene faldt brintoveriltekoncentration til 0 mg/l allerede efter én time (Fig. 15).



Figur 15. Ilt- (blå) og brintoveriltekoncentration i vandfasen (grøn) og i sandfasen (rød) for forsøg med brintoveriltebehandling med initialkoncentrationer på 5.000-20.000 mg/l. Anvendt filtersand stammer fra Vandværk 1. For alle koncentrationer blev brintoverilten injiceret i sandfasen. Hvert bægerglas indeholdt 150 ml vand, 150 ml filtersand (Vandværk 1). Der var ingen orme i prøverne.

Selv ved injektion af behandlingsmiddel direkte ned i sandet og ved kontinuert tilsætning kunne en tilstrækkelig brintoveriltekoncentration ikke opretholdes (data ikke vist). Kontinuert tilsætning blev udført ved at tilsætte brintoverilte svarende til en koncentration på 5000 mg/l hvert 15. minut. Umiddelbart efter tilsætning blev der målt koncentrationer på op til 500 mg/l, som herefter faldt hurtigt, og koncentrationerne har derfor været endnu lavere mellem tilsætningerne. Ormedødeligheden var 0 %, hvilket kan skyldes, at brintoverilten blev omdannet for hurtigt til at have effekt.

Som nævnt i Case 1 rapporterede et midtdansk vandværk om succesfuld behandling med brintoverilte. Dette var ikke muligt at gentage i dette projekt, og andre vandværker har ligeledes givet tilbagemeldinger om mislykkede forsøg på at fjerne orme fra sandfiltre med brintoverilte, da brintoverilten blev omdannet for hurtigt i sandet.

6.3.3 Behandling med nitrogen (N_2)

Dødeligheden af orme i vand gennemboblet med N_2 nåede efter ni døgn ikke 100 % på trods af, at der ved metoden blev skabt næsten iltfrie forhold (Tabel 5). Det blev derfor besluttet ikke at foretage yderligere forsøg med denne metode.

Tabel 5. Forsøgsbetingelser samt ormedødelighed ved fjernelse af ilt ved N_2 behandling. Dødeligheden er opgjort efter ni døgn.

Forsøg (#)	N_2 (ja/nej)	Start O_2 konc. (mg/l)	Slut O_2 konc. (mg/l)	Ormedødelighed (%)
1	Nej	9,8	1,1	0
2	Ja	0,4	1,0	Kontrol uden orme
3	Ja	0,7	0,2	80
4	Ja (kogt)	0,8	0,2	80

6.3.4 Behandling med kuldioxid (CO_2): Enkelttilsætning

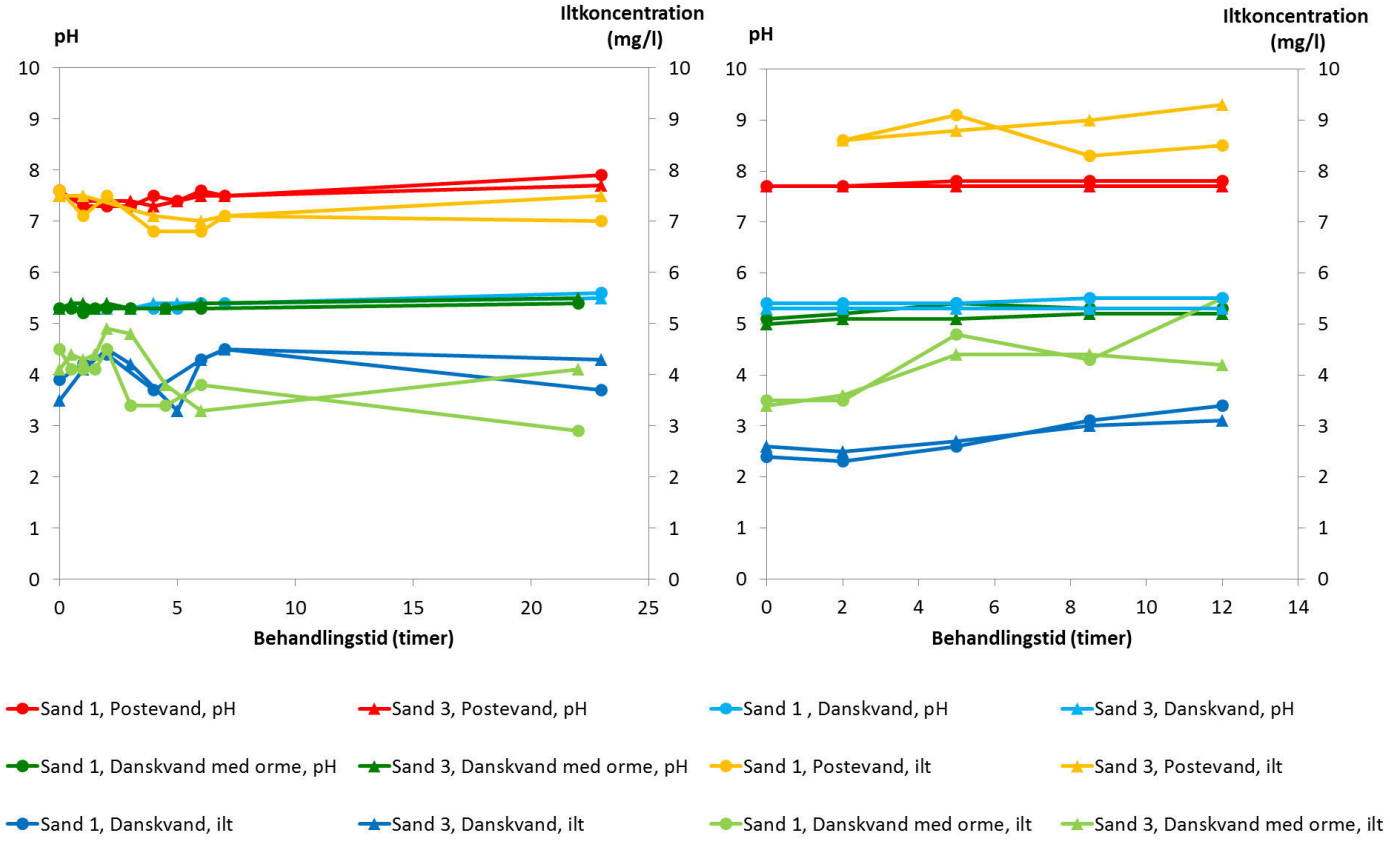
I forsøg uden sand var alle orme døde efter 22 timers behandling med 100 % danskvand. Ved kortere behandlingstid og lavere koncentrationer blev der ikke opnået 100 % dødelighed, og forsøgene med sand tilsat blev derfor udført med 100 % danskvand.

Ved enkelttilsætning af danskvand i glas med sand blev der taget orme ud efter 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6 og 22 timer. Ormedødeligheden var 0 % ved de første syv udtagninger (op til 6 timer) i begge typer filtersand. Efter 22 timer opnåedes 100 % dødelighed for ormene i det finkornede sand (Vandværk 3) men kun 60 % dødelighed for ormene i det grovkornede sand (Vandværk 1) (Tabel 6).

Tabel 6. Ormedødelighed over tid ved enkelttilsætning og gentagne tilsætninger af CO_2 i sand fra Vandværk 1 og Vandværk 3. Ved gentagne tilsætninger blev CO_2 i første forsøg tilsat i 1-times intervaller over 12 timer og i andet forsøg tilsat med 1-times intervaller i de første 9 timer af forsøget.

		Ormedødelighed (%)	
	Tid (timer)	Vandværk 1	Vandværk 3
Enkelttilsætning	0,5	0	0
	1	0	0
	1,5	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	6	0	0
	22	60	100
Gentagne tilsætninger 1 (CO_2 tilsætning i 12 timer)	2	0	20
	5	20	40
	8,5	40	40
	12	40	60
Gentagne tilsætninger 2 (CO_2 tilsætning i 9 timer)	24	100	100
	96	100	100
	126	100	100

Ilt og pH var, som forventet, væsentlig lavere i vand med opløst CO_2 (Fig. 16) end i kontrollen med postevand. Der var ingen signifikant forskel på pH i forsøgsglas med orme og uden orme.



Figur 16. Ilt og pH over tid ved CO_2 behandling udført som enkelttilsætning af danskvand (venstre) og gentagne tilsætninger (højre). Ved gentagne tilsætninger blev danskvand tilsat én gang i timen i 12 timer (forsøg 1). Forsøgene blev udført i sand fra både Vandværk 1 (cirkler) og Vandværk 3 (trekanter). Blå, gule og røde grafer er kontroller uden orme, mens grønne grafer viser resultater fra forsøg med orme.

Observationer

Eftersom ormene ved CO_2 behandling blev overført til flaskerne til sidst i forsøgsopsætningen, nåede de ikke at grave sig ned i sandet, før de blev udsat for behandlingsmidlet. Ormene lå derfor oppe i overfladen af vandet under forsøget, og sandets effekt på ormenes overlevelse er derfor kun i form af sandets indvirkning på behandlingsmidlet.

Efter endt behandling udviklede mange af ormene blærer på kroppen, og de blev alle tyndere og mørkere i farven (Fig. 17 og 18).

Figur 17. Orme efter 6 timer i danskvand med sand fra Vandværk 1 (venstre) og Vandværk 3 (højre). Foto: Sille L. Larsen

Figur 18. Orme efter 22 timer i danskvand med sand fra Vandværk 1 (venstre) og Vandværk 3 (højre). Foto: Sille L. Larsen

6.3.5 Behandling med kuldioxid (CO_2): Gentagne tilsætninger

Da ormene i det grovkornede filtersand (Vandværk 1) overlevede behandling med danskvand (ved enkelttilsætning) i op til 22 timer (Tabel 6), blev det undersøgt, om gentagne tilsætninger af danskvand med en-times intervaller havde en større effekt på ormedødeligheden.

Gentagne tilsætninger 1:
Der blev taget orme ud efter 2, 5, 8,5 og 12 timer. Efter 12 timer med pulstilsætning hver time opnåedes kun 40 % dødelighed i grovkornet sand og 60 % dødelighed i finkornet sand (Tabel 6). Dette er dog en øget dødelighed i forhold til dødeligheden opnået ved enkelttilsætning.

Gentagne tilsætninger 2:
Samme forsøg blev gentaget med en behandlingsperiode på ni timer med en-times intervaller. Efter endt behandling forblev ormene i flaskerne indtil udtagning efter 24, 96 og 126 timer. Her observeredes 100 % dødelighed efter de første 24 timer for begge typer filtersand (Tabel 6).

pH og ilt-koncentrationer ved gentagne tilsætninger svarede til værdierne opnået ved enkelttilsætning (Fig. 16), hvilket indikerer, at den øgede koncentration af opløst CO_2 ved gentagne tilsætninger har en afgørende betydning.

Observationer og bemærkninger
Ormene kunne lettere grave sig ned i det grovkornede sand og havde en højere overlevelses-procent dér end i det finkornede sand. I det finkornede sand blev flere orme løftet op over sandet ved tilsætning af danskvand.

Forskellen mellem pH og iltkoncentration blev afslutningsvis undersøgt i den kommercielle danskvand anvendt i forsøgene og postevand tilsat CO_2 via Sodastream® (Tabel 7). Forsøgene viste, at iltindholdet i vandet ved brug af Sodastream® var betydeligt lavere end i den kommercielle danskvand, mens pH-værdierne ikke var forskellige. Dette indikerede, at direkte tilsætning af CO_2 ved gennembobling på vandværker muligvis ville kunne medføre en endnu større effekt på ormedødeligheden end påvist i disse forsøg.

Tabel 7. Sammenligning af pH og iltkoncentration over tid i kommerciel danskvand af mærket River® og danskvand fremstillet ved hjælp af Sodastream®.

Tid (timer)	Sodastream, pH	Sodastream, ilt (mg/l)
0	4,9	0,7
1	5,1	0,3
17	5,2	1

Tid (timer)	River, pH	River, ilt (mg/l)
0	5	3
1	5	3
20	5,2	5,5

6.4 Opsummering

Ved behandling med monokloramin, brintoverilte og CO_2 opnåedes 100 % ormedødelighed i vand uden sand indenfor et døgn. Ved behandling med N_2 blev der imidlertid ikke opnået 100 % dødelighed i vand uden sand indenfor ni døgn, og N_2 behandling blev derfor ikke undersøgt yderligere.

Monokloramin var effektivt ved lavere koncentrationer (LC_{100}-værdi på 2,5 mg/L, 25 timer) end brintoverilte (LC_{100}-værdi på 200 mg/L, 20 timer) i vand. Tilstedeværelsen af filtersand havde stor betydning for koncentrationen af brintoverilte og monokloramin. Det lykkedes ikke at opnå 100 % dødelighed indenfor tre døgn ved de anvendte koncentrationer af hverken monokloramin eller brintoverilte i sand. En effektiv koncentration kunne ikke opretholdes ved tilstedeværelse af sand i størstedelen af alle forsøg, selv ved injektion af behandlingsmiddel direkte ned i sandet og ved kontinuerlig tilsætning (brintoverilte). I størstedelen af forsøgene forsvandt det tilsatte monokloramin stort set fra sandet på mindre end fem timer, og det tilsatte brintoverilte på én time.

Behandling med CO_2 opløst i vand (kommerciel danskvand) resulterede i 100 % ormedødelighed ved gentagne tilsætninger i 9 timer og henstand i efterfølgende 15 timer i åben beholder. På baggrund af den høje effektivitet og forholdsvis korte behandlingstid blev CO_2 behandling udvalgt til de videre studier i pilotkolonner.

7. Ormebekæmpelsesteknologi anvendt i pilot sandfiltre

7.1 Formål

Formålet var at undersøge om CO_2 behandling kunne give 100 % ormedødelighed i filterkolonner uden at skade de biologiske behandlingsprocesser. Iltet råvand samt afgangsvand fra filterkolonnerne blev analyseret for ammonium, NVOC (non volatilt organisk carbon), metan, bakteriekoncentrationer samt en række grundstoffer for at måle, hvorvidt behandlingen havde påvirket funktionaliteten.

7.2 Materialer og metoder

To pilotkolonner (volumen:130 l) blev opsat i en forsøgscontainer ved et sydsjællandsk vandværk (beskrevet i case 4).

Kolonnerne blev renset med vand og opbygget med bærelag på 10 cm med nye sten (3 – 8 mm) og 45 cm sand (1 – 2 mm), der umiddelbart inden tilsætning blev udtaget fra de øverste 10 cm af vandværkets sandfiltre med grab sampler (Fig. 19). Kulstofindholdet i sandet blev bestemt til 5 mg organisk kulstof/ g sand (tørvægt) og 1 mg uorganisk kulstof/g sand (tørvægt). Inden tilsætning af orme blev der fyldt råvand i kolonnerne manuelt med spande, så filteret var vanddækket, for ikke at skade ormene ved tilførsel af råvand fra indløbet i toppen af kolonnen.

Figur 19. Filterkolonner med bærelag (venstre). Udtagning af sand fra sandfilter med grab sampler (midte). Tilsætning af sand i filterkolonner (højre). Foto: Sarah C.B. Christensen og Olaf W. Asmussen.

I begge kolonner blev der tilsat 50 *Eisenia fetida* og 50 *Eisenia veneta,* der forinden var blevet vasket tre gange for at fjerne fastsiddende kompostmuld (Fig. 20).

Figur 20. Vask af *Eisenia fetida* og *Eisenia veneta* inden overførsel til filterkolonner. Foto: Sarah C.B. Christensen.

Efter tilsætning af orme og påsætning af låg blev iltet råvand tilført begge kolonner med et flow på 0,25 m^3/time. Kolonnerne var lukkede men udstyret med en luftudlader i toppen (Fig. 21). Vandværket benyttede de samme indvindingsboringer under hele forsøgsperioden, der strakte sig over to uger (11. – 25. september 2015).

Figur 21. Færdigpakkede filterkolonner inden tilsætning af vand (venstre) og med lidt vand tilsat (højre). Foto: Sarah C.B. Christensen og Sille L. Larsen.

Følgende parametre blev målt på begge kolonners indløbsvand og afgangsvand:

- O_2 (WTW Multi3430 måler med tilhørende sensor indsat i flowcelle)
- pH (WTW Multi3430 måler med tilhørende sensor indsat i flowcelle)
- Temperatur (WTW Multi3430 måler med tilhørende sensor indsat i flowcelle)
- Ledningsevne (WTW Multi3430 måler med tilhørende sensor indsat i flowcelle)

- Total alkalinitet (titrering med 0,1 M HCl – kun målt for indløbsvand)
- Ammonium (NH_4-N målt på LCK304 Hach Lange feltapparat med en detektionsgrænse på 0,015 mg/l)
- Metan (3 ml vandprøver udtaget i vakuumflasker med 0,3 ml svovlsyre - headspace analyseret ved gas kromatografi med flammeioniserende detektor (GC-FID))
- NVOC (20 ml vandprøver tilsat 100 ml 17 % H_3PO_4, filtreret med 0,45 µm filter og analyseret på TOC-V wp Shimadzu)
- Grundstoffer (20 ml vandprøver tilsat 0,3 ml 65 % HNO_3 og analyseret på Varian Vista MPX Axial View Inductively Coupled Plasma OES)
- Kim 22 (Dybdeudsæd i gærekstrakt agar, inkuberet ved 22 °C i tre dage)
- Kim 37 (Dybdeudsæd i gærekstrakt agar, inkuberet ved 37 °C i to dage)
- ATP (vandprøver frosset ved -80 °C og analyseret samtidig på Celsis Advance Coupe luminometer)
- Totalt kulstof og uorganisk kulstof i sand (frysetørret sand blev analyseret på LECO Induction Furnace CS-200 efter opløsning af karbonat med 5 % H_2SO_3)

Alle prøver blev opbevaret i køletaske.
Ormenes adfærd i kolonnerne blev løbende noteret gennem hele forsøget. Der blev derudover sat kamera op med infrarødt lys på den ene kolonne som tog billeder hver 15. minut i to døgn.

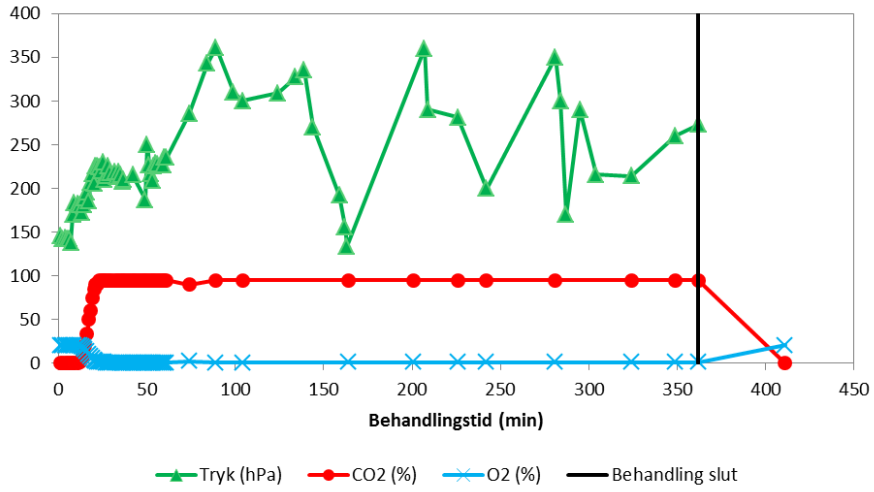
Prøvetagning og behandling forløb over otte dage:

Dag 0: Opsætning og prøvetagning.
Dag 3: Prøvetagning, test af CO_2 måleudstyr og afvejning af CO2 gasflaskerne (AGA).
Dag 5: Tilførsel af vand standset, prøvetagning, CO_2 behandling og prøvetagning.
Dag 6: Prøvetagning, tilførsel af vand genstartet, prøvetagning.
Dag 7: Prøvetagning, tilførsel af vand standset, orme udgravet og optalt i 10 cm dybdeintervaller.

På dag 7 blev forsøget genopsat, således at det blev Dag 0 i en ny forsøgsrunde efter samme protokol. Kolonnerne blev renset med vand, og nyt filtersand fra vandværket blev tilsat. I anden forsøgsrunde blev kontrollen uden behandling skiftet ud med klorbehandling samtidig med at CO_2 behandling blev udført uden låg.

I alt blev der udført fire behandlinger/kontroller:
1. Lukket filterkolonne med CO_2 behandling
2. Lukket filterkolonne uden behandling
3. Åben filterkolonne med CO_2 behandling
4. Åben filterkolonne med natriumhypochlorit behandling

CO_2 behandling
Indløbsventiler og ventilerne på kolonnerne blev lukket inden behandlingen blev påbegyndt, og begge kolonner blev drænet ned til 70 cm vand over sandoverfladen. CO_2 flasker blev vejet inden behandling, og CO_2 blev blæst ind via returskylleluftventil kontinuert (seks timer) i den ene kolonne (Fig. 22). I begyndelsen var gasflowet forholdsvis lavt for at kontrollere behandlingen og opnå jævnt fordelte bobler (Fig. 23), men flowet blev gradvist øget. Gastrykket blev målt ved indgang til kolonnen og gasudvikling i headspace målt med feltudstyr til gasmåling (CO_2 og O_2). Efter en time blev flowet øget yderligere for at blæse sandet godt igennem, da der blev observeret kanaldannelse i sandet som medførte store CO_2 bobler. Da flowet efter ca. en time med højt flow blev reduceret, sås mindre bobler fordelt fint over hele kolonnen. Efter endt behandling (seks timer) blev CO_2 forbruget bestemt til 13,8 kg ved at veje gasflasken igen. Filterkolonnerne blev ikke tilført vand i yderligere 18 timer for at forlænge effekten af behandlingen. Der blev udtaget prøver fra kolonnernes afgangsvand, umiddelbart efter CO_2 gennemboblingen blev afsluttet og igen umiddelbart inden, der blev tilført råvand til kolonnerne med et flow på 0,25 m^3/time. En time efter råvandstilførslen blev påbegyndt, svarende til udskiftning af ét volumen vand i filteret, blev der taget prøver fra indløb og afgang.



Figur 22. CO_2 og O_2 koncentrationer over tid i filterkolonnens headspace under CO_2 behandling. CO_2 tryk er målt ved indgang til beholderen.

Efter et døgn ved normal drift blev der taget vandprøver, inden systemet blev drænet, og ormene blev udgravet manuelt i fraktioner af 10 cm. Det skal bemærkes, at der i den første uge var driftstop i ca. syv timer natten til forsøgets sidste dag (dag 7). Systemet havde derfor kun været i drift i ca. en time, inden vandprøver blev udtaget. For at kunne vurdere betydningen af driftstoppet blev der udtaget vandprøver fra afgang, inden systemet blev genopstartet.

Figur 23. Orme og CO_2 bobler i pilotkolonne få minutter efter påbegyndt CO_2 behandling. Foto: Sarah C.B. Christensen.

Ved gentagelse af CO_2 behandling ugen efter i åben kolonne blev samme behandlingsprocedure fulgt. Indgangstrykket kom dog aldrig over 154 hPa i den åbne kolonne. Der blev anvendt 12,9 kg CO_2 til behandlingen, hvilket var lavere end i den lukkede kolonne, da gastrykket blev holdt lavere i den åbne kolonne for at undgå for store bobler. Umiddelbart efter opsætning blev kolonnen, hvori der skulle udføres CO_2 behandling, returskyllet med vand (10 l/min. i 5 min.) og derefter luft (1,5 m^3/time i 10 min.), da der var begrænset gennemløb i kolonnen, så vandstanden blev ved med at stige. Få orme svævede op i vandsøjlen under beluftning.

Klorbehandling

Natriumhypochlorit (150 g/l, BRENNTAG Nordic A/S) blev anvendt til klorbehandling af én kolonne. På grund af henfald var koncentrationen 115 g/l, så den teoretiske koncentration i kolonnen var 2650 mg NaOCl/l ved tilsætning af 3 l (kolonnevolumen: 130 l). Koncentration af total klor (udtrykt som Cl_2) og frit klor (udtrykt som Cl_2) blev målt med HACH, Chlorine Pocket Colorimeter II.

Tabel 8. Behandlingsskema for ormebekæmpelse med natriumypochlorit samt koncentrationer af total og frit Cl_2 målt under behandlingen.

Behandlingstid (min.)	Log over klortilsætning og -måling
0	Tilsætning: 250 ml natriumhypochlorit
2	Tilsætning: 250 ml natriumhypochlorit
3	Tilsætning: 250 ml natriumhypochlorit
5	Tilsætning: 250 ml natriumhypochlorit
6	Recirkulerings pumpe startet (8 l/min.)
40	Måling: 12 mg total Cl_2/l, 1,5 mg frit Cl_2/l
60	Måling: 1,5 mg frit Cl_2/l. 1000 ml natriumhypochlorit tilsat
100	Måling: 37,5 mg total Cl_2/l, 11 mg frit Cl_2/l
125	Tilsætning: 1000 ml natriumhypochlorit
160	Måling: 80 mg total Cl_2/l, 22 mg frit Cl_2/l
190	Måling: 68 mg total Cl_2/l, 7 mg frit Cl_2/l
200	Tilsætning: 1000 ml natriumhypochlorit
225	Måling: 110 mg total Cl_2/l, 42,5 mg frit Cl_2/l

To døgn efter klorbehandling var der ca. 0,2 mg total Cl_2/l og 0,1 mg frit Cl_2/l.

Optælling af orme

Efter et døgns genoptaget drift blev vandtilførslen stoppet, kolonnerne drænet og sandet udgravet i fraktioner af 10 cm. Alt sand blev sigtet i metalsigter med en maskestørrelse på 0,5 mm og ormene sorteret efter art (Fig. 24), optalt og registret som levende eller døde.

Figur 24. Sigtning af filtersand for at opgøre antallet af levende og døde orme i kolonnerne. Foto: Olaf W. Asmussen.

7.3 Resultater og diskussion

7.3.1 Ormeadfærd

Efter ormene blev tilsat i toppen af filterkolonnerne, gik der 15 minutter, før den første orm havde gravet sig ned i sandet.

Figur 25. Nedgravede levende orme fotograferet gennem kolonnevæggen. Foto: Sarah C.B. Christensen

Ormene levede generelt nedgravet i sandet (Fig. 25), men observationer afslørede, at ormene ved sænkning af iltkoncentrationen (når tilførsel af iltet råvand ophørte) kom op til overfladen, for derefter at grave sig ned igen ved stigende iltkoncentrationer. Enkelte orme forblev dog på overfladen, hvor de bevægede sig rundt i kolonnen. Der gik ca. en time efter tilførsel af råvand blev stoppet, til størstedelen af ormene var kommet op på overfladen af sandet. Efter stilstand i syv timer (uden behandling) var ormene synligt stressede på overfladen af sandet, hvor de klumpede sig sammen (Fig. 26). Fotoer, taget over to døgn med web kamera, viste meget interessant, at størstedelen af ormene kom op på overfladen ca. klokken 3 om natten for derefter at grave sig ned igen fire til fem timer senere. Dette foregik begge nætter, der blev fotograferet. Det skyldtes højst sandsynligt, at tilførslen af iltet råvand blev stoppet begge nætter, da værket stoppede produktionen mellem kl. 23 og kl. 5 pga. lavt vandforbrug.

Figur 26. Orme på sandoverfladen som reaktion på nedsat iltindhold i kolonnen (venstre). Kort efter tilførsel af råvand blev genoptaget gravede ormene sig ned igen (højre). Foto: Sarah C.B. Christensen.

7.3.2 Behandlingseffektivitet

Ormedødeligheden var 100 % ved de to CO_2 behandlinger i såvel lukket (Fig. 27) som åben kolonne og ved behandling med 3 liter natriumhypochlorit (Fig. 27).

I kontrolkolonnen uden behandling men med stillestående vand i samme tidsrum, som behandlingen foregik, var ormedødeligheden 0 %, men ormene befandt sig på overfladen tydeligt stressede (Fig. 26) efter 24 timers driftstop.

Figur 27. Død orm efter behandling med CO_2 (venstre). Der ses desuden et lag af fine partikler på overfladen af sandet som er blevet løsrevet ved gennemboblingen. Døde orme efter behandling med natriumhypochlorit (højre). Foto: Sarah C.B. Christensen.

CO_2 behandlingen medførte en mekanisk omrøring i vandsøjlen, og ormene var ofte delt i mindre stykker (Tabel 9 og Fig. 28) og lå i sandlag helt ned i 30 - 40 cm dybe.

Tabel 9. Antal orme genfundet i filtersandet efter forsøgsafslutning. Små orme blev kategoriseret som *E. fetida* og store orme som *E. veneta*. Alle orme i de behandlede kolonner var døde, og alle orme i kontrollen var levende. Genfindingsprocenten var over 100 i alle behandlede kolonner, da alle mindre stykker af orme blev kategoriseret som halve orme. Derudover er halve orme sandsynligvis blevet forvekslet med hele pga. deres opløste tilstand. Nogle store orme, *Eisenia veneta*, behandlet med natriumhypochlorit er blevet forvekslet med *Eisenia fetida*.

	CO2 lukket				**CO2 åben**				**Klor**				**Kontrol**			
	E. fetida		*E. veneta*		*E. fetida*		*E. veneta*		*E. fetida*		*E. veneta*		*E. fetida*		*E. veneta*	
Dybde (cm)	Hel	Halv	Hel	Halv	Hel	Halv	Hel	Halv	Hel	Halv	Hel	Halv	Hel	Halv	Hel	Halv
0 - 10	21	0	14	0	20	7	8	0	43	25	26	19	49	0	49	0
20 - 40	11	0	5	1	11	11	5	11	1	1	3	2	0	0	0	0
20 - 30	11	6	4	2	10	12	19	12	0	0	0	0	0	0	0	0
30 - 40	18	12	46	1	5	7	11	1	0	0	0	0	0	0	0	0
40 - 50 (bærelag)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sum	**61**	**18**	**69**	**4**	**46**	**37**	**43**	**24**	**44**	**26**	**29**	**21**	**49**	**0**	**49**	**0**

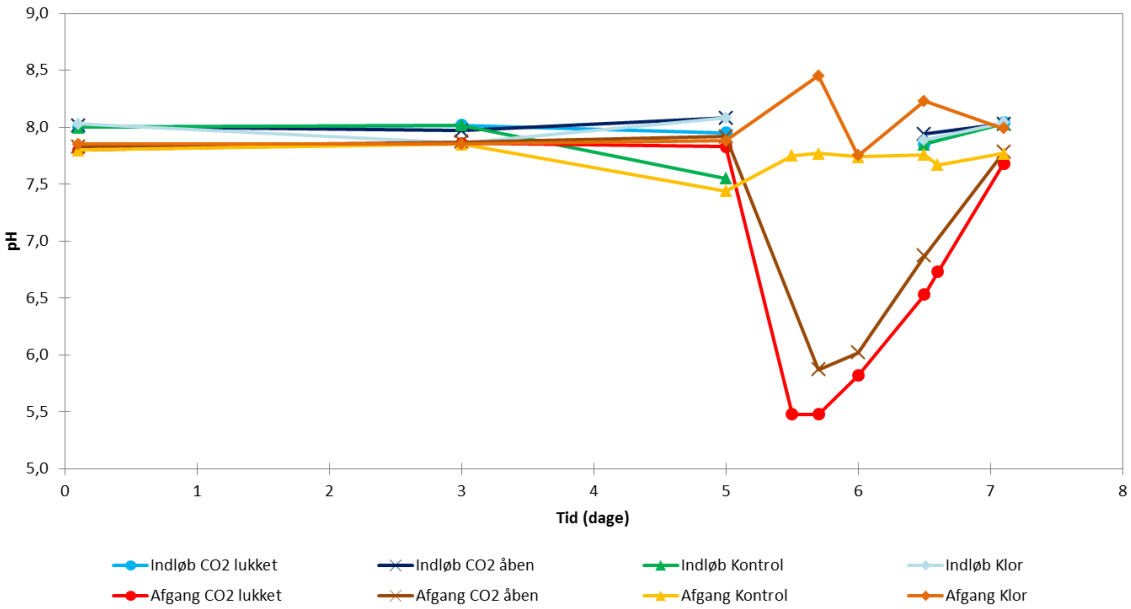
Ved klorbehandling var de døde orme ikke opløste og lå hovedsageligt i 0 - 10 cm dybde. Efter behandling fremstod de som mindre end før behandling, og der var vanskeligt at skelne mellem de to arter.

De levende orme i kontrolkolonnen befandt sig alle på overfladen eller nedgravet i de øverste 10 cm af filtersandet.

Figur 28. Døde orme efter CO_2 behandling. Ormene mistede deres struktur ved behandlingen og gik let i opløsning.

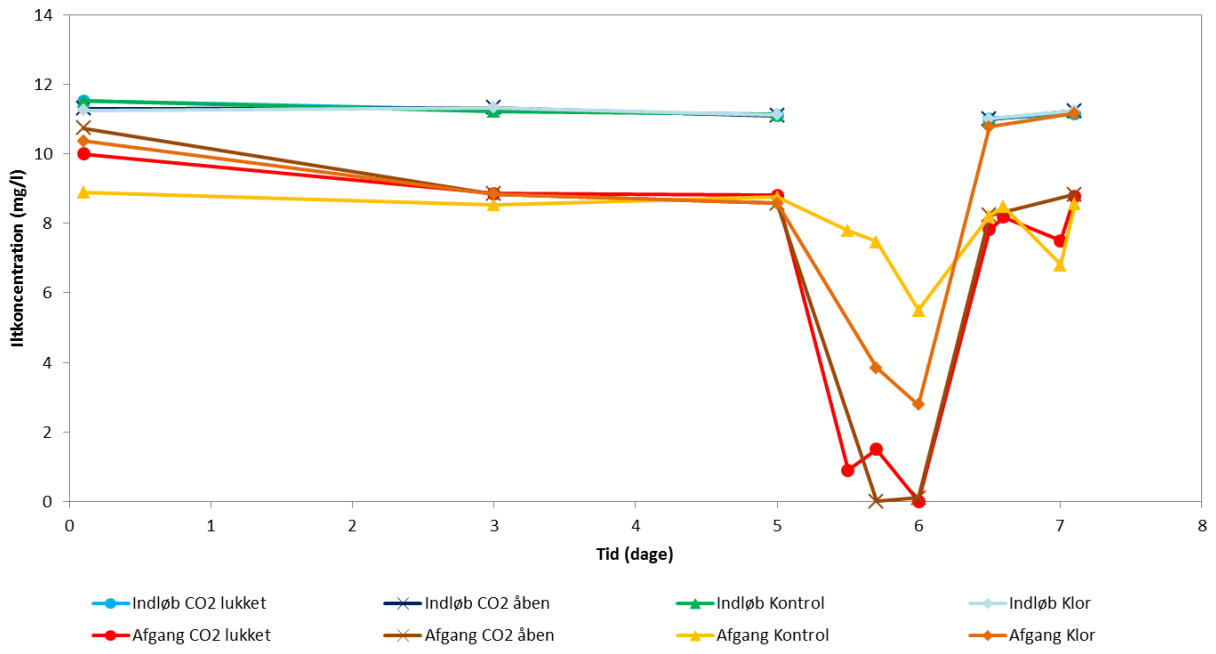
Genfindingsraten var 98 % for orme i kontrolkolonnen uden behandling og over 100 % i alle kolonner udsat for behandling. Dette skyldes, at alle stykker af ødelagte orme blev opgjort som "en halv orm" på trods af, at nogle orme var delt i flere mindre stykker.

Behandling med CO_2 beskadigede ormene ved en sænkning af både pH (Fig. 29) og iltkoncentration (Fig. 30) samt mekanisk stres ved gennembobling. I den lukkede beholder faldt pH mere end i den åbne beholder, da der kunne opnås en højere CO_2 koncentration i den lukkede beholder. CO_2 blev dog liggende i toppen af den åbne kolonne, så længe gennemboblingen foregik, da CO_2 er tungere end atmosfærisk luft. Dette har stor betydning for koncentrationen af CO_2, der kan opnås i vandet, da høj CO_2 koncentration i luften over vandsøjlen vil mindske afgasning af CO_2 fra vandet. Total alkalinitet i indløbsvandet var 6,2 meq/l.



Figur 29. pH værdi i indløbsvand og afgangsvand i alle fire kolonner over tid. På dag 5 blev råvandstilførslen stoppet, og behandlingen påbegyndt. I behandlingsperioden blev der derfor kun målt på afgangsvand tappet fra de stillestående kolonner.

Iltniveauet i vandet nåede 0 mg/l ved CO_2 behandling i både åben og lukket kolonne (Fig. 30). I den klorbehandlede kolonne faldt iltkoncentrationen fra 9 til 3 mg/l under behandling, og i kontrolkolonnen uden behandling faldt iltkoncentrationen fra 9 til 6 mg/l, da der ikke blev tilført iltet råvand i 24 timer. Ormene var dog allerede synligt påvirkede af et fald på ca. 1 mg/l efter 4 timer.

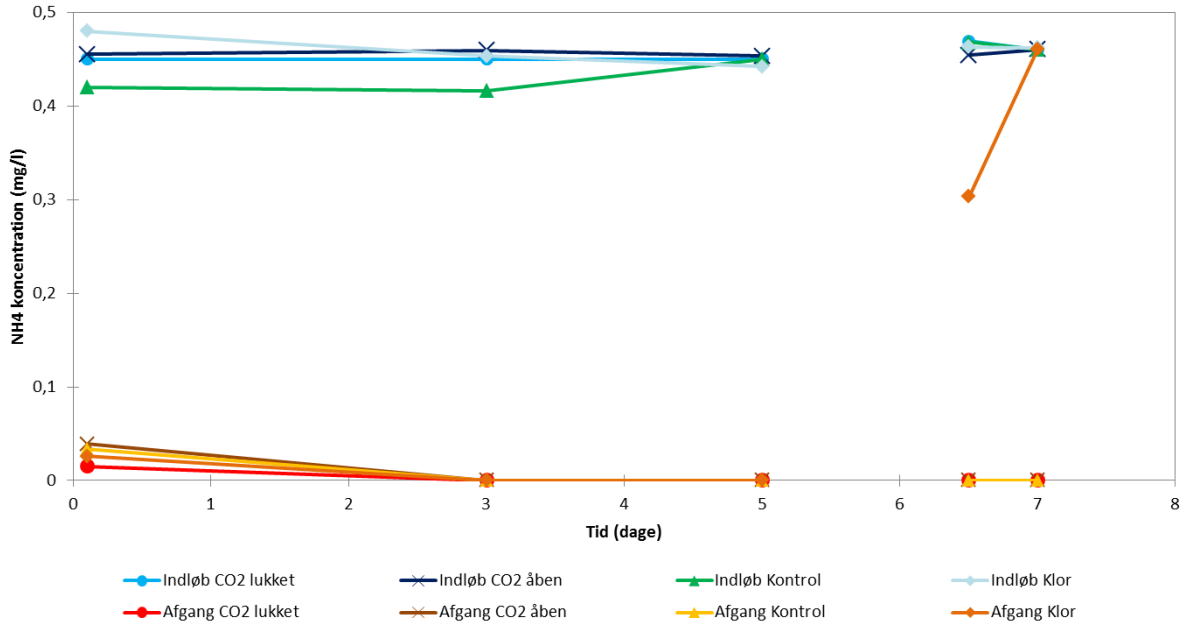


Figur 30. Iltkoncentration i indløbsvand og afgangsvand i alle fire kolonner over tid. På dag 5 blev råvandstilførslen stoppet, og behandlingen påbegyndt. I behandlingsperioden blev der derfor kun målt på afgangsvand tappet fra de stillestående kolonner.

7.3.3 Filterfunktion før og efter behandling

7.3.3.1 Ammoniumfjernelse

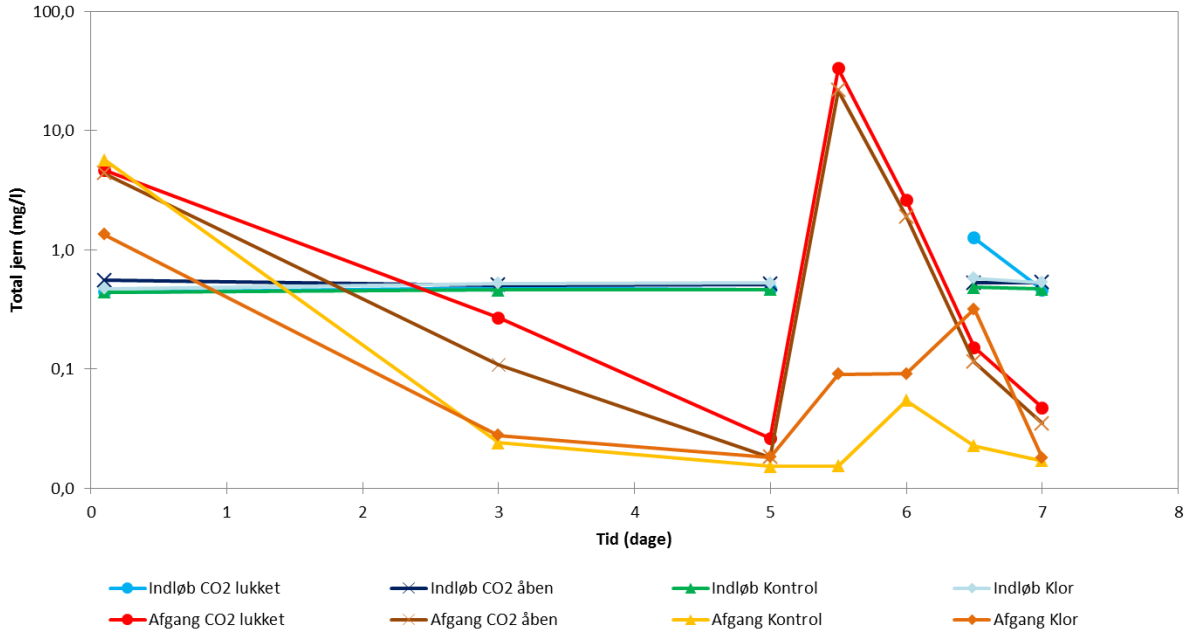
Umiddelbart efter vandtilførslen til filtrene blev genopstartet efter CO_2 behandling, foregik ammoniumfjernelsen allerede så effektivt, at 100 % blev fjernet (Fig. 31). Første prøve blev taget en time efter vandtilførslen til systemet blev genopstartet, svarende til udskiftning af kolonnens volumen. Også under den resterende del af forsøget blev 100 % ammonium fjernet i de to kolonner, der var CO_2 behandlede, samt i kontrollen uden behandling. Til gengæld blev ammonium ikke længere fjernet i kolonnen behandlet med natriumhypochlorit, og efter et døgn i drift var fjernelsen 0 %. Forsøget blev afsluttet et døgn efter endt behandling for at ormedødeligheden kunne bestemmes ved udgravning af kolonnen, inden ormene blev nedbrudt, og det blev derfor ikke undersøgt hvor lang tid det ville tage at genoprette ammoniumfjernelsen fra det klorbehandlede filter. I et klorbehandlet fuldskala sandfilter (Fig. 3) varede det et halvt år, før den mikrobielle filteraktivitet igen var høj nok til sænke ammoniumkoncentrationen svarende til kravene for dansk drikkevand.



Figur 31. Ammoniumkoncentration i indløbsvand og afgangsvand i alle fire kolonner over tid, før og efter behandling.

NVOC indholdet i såvel iltet råvand som afgangsvand fra kolonnerne lå stabilt under 2 mg NVOC/l. Kun i afgangsvand fra den klorbehandlede kolonne steg NVOC til 33 mg/l umiddelbart efter behandling men var efter yderligere et døgn faldet til 3 mg/l (data ikke vist).

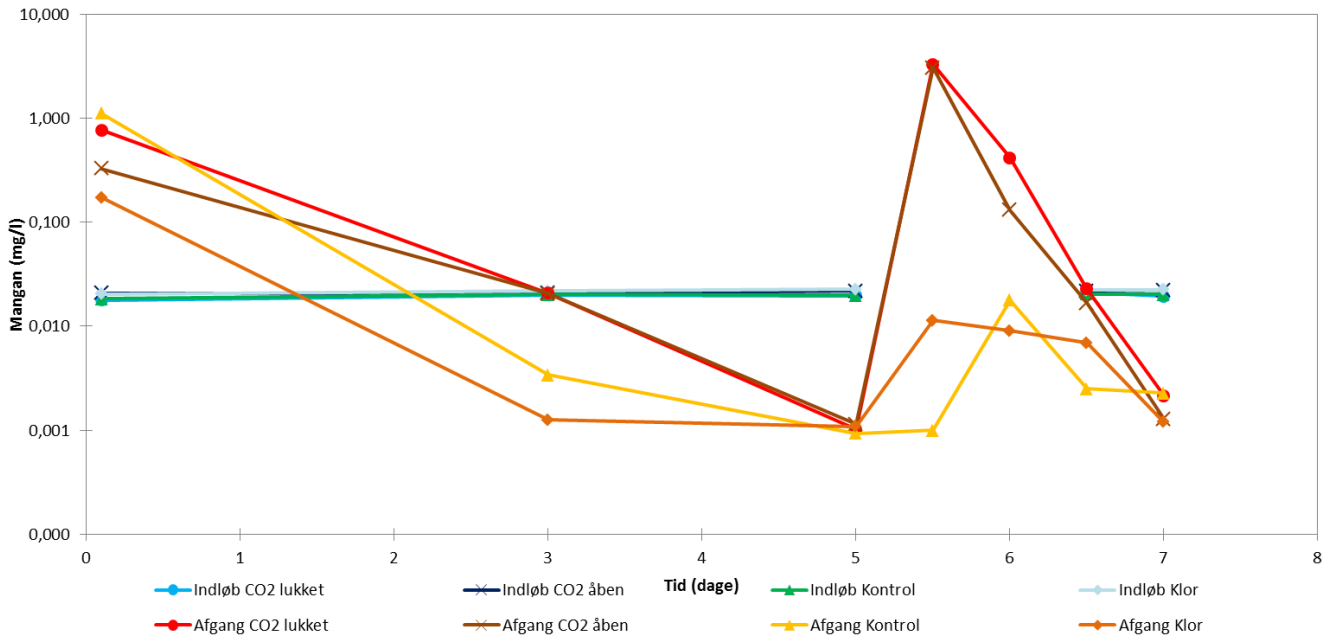
Under indkøring af kolonnerne i fem dage fra opsætning til ormebehandling faldt jernkoncentrationen (total jern) i afgangsvandet i alle fire kolonner (Fig. 32). Koncentrationen i råvandet var stabil, men løsrevet jern fra sandet kom med ud i afgangsvandet.



Figur 32. Koncentration af total jern i indløbsvand og afgangsvand i alle fire kolonner over tid. På dag 5 blev råvandstilførslen stoppet, og behandlingen påbegyndt. I behandlingsperioden blev der derfor kun målt på afgangsvand tappet fra de stillestående kolonner.

Umiddelbart inden ormebehandling var jernkoncentrationen i afgangsvand 0,01 – 0,02 mg/l på trods af den korte indkøringsperiode. Mens behandlingen foregik, var koncentrationen af jern i vandet på op til 30 mg/l pga. løsrivelse af jern fra filtersandet. Efter behandling faldt koncentrationen i afgangsvandet igen og var et døgn efter endt behandling <0,1 mg/l.

Også manganindholdet i afgangsvandet faldt i løbet af indkøringsperioden (Fig. 33). Mangankoncentrationen i råvandet var stabil over hele forsøgsperioden, mens koncentrationen i afgangsvandet faldt over tid i alle fire kolonner. Koncentrationen i afgangsvand var 0,001 mg/l umiddelbart inden behandling på trods af den korte indkøringsperiode. Mens behandlingen foregik, var koncentrationen af mangan i vandet på op til 3000 mg/l i kolonnerne behandlet med CO_2 pga. løsrivelse af mangan fra filtersandet. Efter behandling faldt koncentrationen i afgangsvandet igen og var et døgn efter endt behandling 0,002 mg/l.

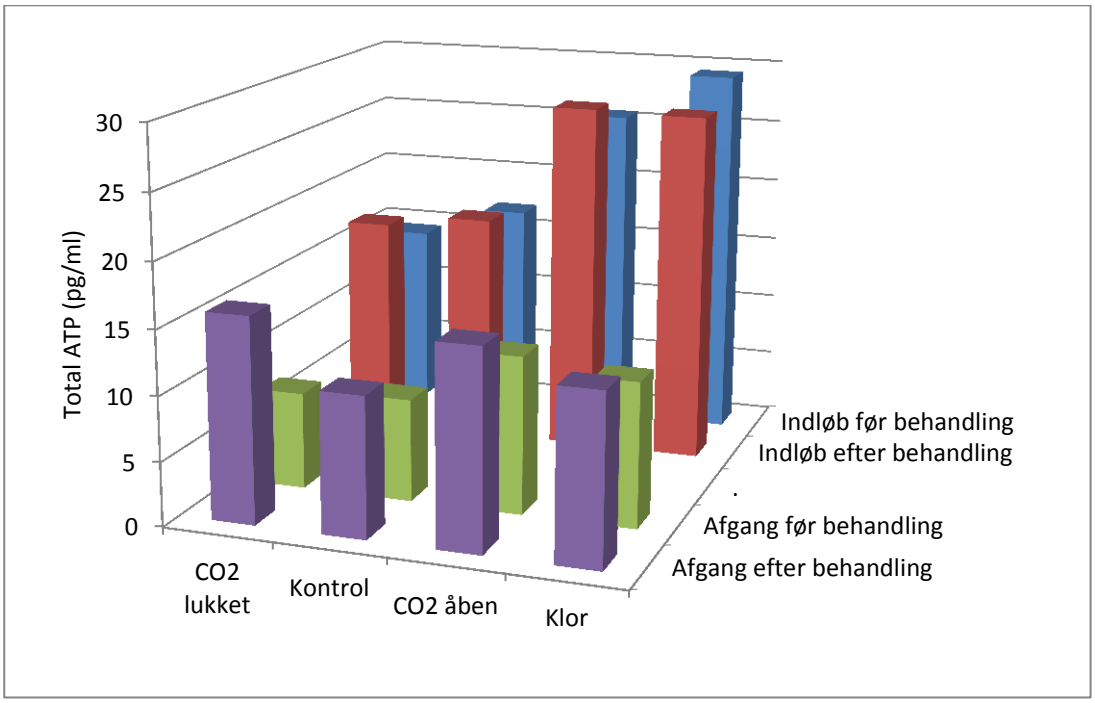


Figur 33. Koncentration af mangan i indløbsvand og afgangsvand i alle fire kolonner over tid. På dag 5 blev råvandstilførslen stoppet, og behandlingen påbegyndt. I behandlingsperioden blev der derfor kun målt på afgangsvand tappet fra de stillestående kolonner.

Der blev målt metankoncentration på 0,1 mg/l i en enkelt råvandsprøve og to prøver med afgangsvand. I de øvrige prøver var niveauet under detektionsgrænsen på 0,06 mg/l. Metan fjernes i iltningstrinnet på vandværket, men målingerne viser, at der i enkelte tilfælde var en ufuldstændig fjernelse, så der blev tilført metan til filtrene, hvilket kan danne vækstgrundlag for metan-oxiderende bakterier.

7.3.3.2 Mikrobiel vandkvalitet

Bakteriekoncentrationerne i råvandet var steget betydeligt mellem første og anden uges målinger (Fig. 34), hvilket sandsynligvis skyldes, at tilførslen af råvand fra vandværket foregik gennem midlertidige installationer. Der var desuden indsat en buffertank mellem afgang fra vandværkets filtre og forsøgscontaineren, for at tilførslen af råvand til kolonnerne kunne bibeholdes, når boringer blev standset om natten pga. lavt forbrug. Der skal derfor tages højde for forskelle i indløbsvand, når effekten af de forskellige ormebehandlinger på den mikrobielle vandkvalitet evalueres.



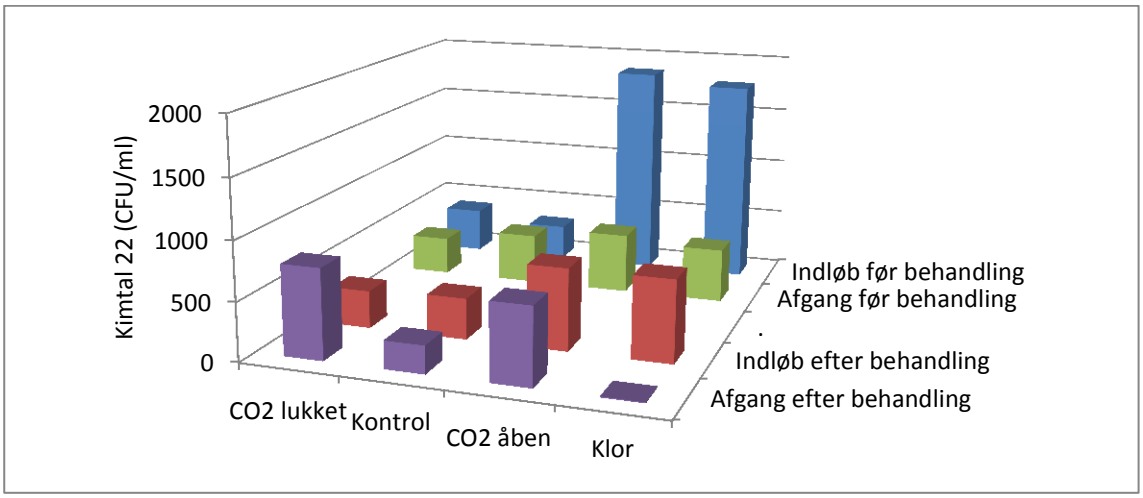
Figur 34. Mikrobiel aktivitet opgjort som total ATP i indløbsvand og afgangsvand fra de fire kolonner før og efter behandling. Bemærk at ATP koncentrationen var højest i indløbsvandet i kolonnerne "CO_2 åben" og "Klor", fordi de blev udført ugen efter "CO_2 lukket" og "Kontrol".

Den totale mikrobielle aktivitet i råvandet, målt som total ATP, blev reduceret ved filtrering i alle kolonnerne før ormebehandling (Fig. 34). ATP-niveauet var dog relativt højt i forhold til det normale niveau i afgangsvand fra fuldskala sandfiltre. Dette kan skyldes, at der med ormene blev tilført mange bakterier, der ikke er naturligt forekommende i sandfiltre. Efter behandling blev ATP-niveauet stadig reduceret i alle fire kolonner, men afgangsvand fra de CO_2 behandlede kolonner havde højere ATP-koncentrationer end kontrollen og den klorbehandlede kolonne. Det er ikke undersøgt, hvorvidt det skyldes, at der ved nedbrydning af døde orme blev frigivet næring til vækst af bakterier eller fordi, CO_2 behandlingen førte til ændring af filtersandets fysiske egenskaber (Fig. 35).

Figur 35. Overfladen af CO_2 behandlet filterkolonne (venstre) og kolonne behandlet med natriumhypochlorit (højre). CO_2 behandlede orme var opløste og bløde, mens de klorbehandlede orme havde en fast struktur. Ved gennembobling med CO_2 blev der frigivet finkornet materiale fra sandet, der lå på overfladen efter behandling. Foto: Sarah C.B. Christensen.

For at undgå, at døde orme giver næring til vækst af bakterier, protozoer (encellede organismer) og højere organismer, er det vigtigt at returskylle filtrene efter ormebehandling. Det bør undersøges, hvor effektivt returskylning kan fjerne døde orme. I dette studie blev det prioriteret at genfinde ormene efter behandling med mulighed for at identificere, i hvilke dybder ormene var lokaliseret.

Kimtal 22 koncentrationerne i indløbsvandet varierede i højere grad end ATP koncentrationerne i indløbsvandet i de to prøvetagningsrunder (Fig. 36). Kimtallet blev dog reduceret i alle fire kolonner, så koncentrationen i afgangsvandet i alle fire kolonner var ca. 500 CFU (kolonidannende enheder)/ml, før ormebehandlingerne blev udført. Det er stadig 10 gange højere end grænseværdierne for vand fra afgang af vandværk, hvilket sandsynligvis skyldes, at der blev tilsat 100 orme, der ikke var sterile, til hver filterkolonne. Efter ormebehandling var kimtallet i kontrollen 200 CFU/ml i afgangsvandet og 0 CFU/ml i den klorbehandlede kolonne. I de CO_2 behandlede kolonner var der ingen reduktion af kimtallet men derimod en svag stigning i den lukkede beholder.



Figur 36. Koncentration af dyrkbare bakterier målt som kimtal 22 (gærekstrakt agar, 22°C) i indløbsvand og afgangsvand fra de fire kolonner før og efter behandling. Bemærk at kimtallet var højest i indløbsvandet i kolonnerne "CO_2 åben" og "Klor", der blev udført ugen efter "CO_2 lukket" og "Kontrol".

Den samme tendens var gældende for Kimtal 37 (data ikke vist), og der foregik således ikke en fjernelse i den åbne kolonne, der var CO_2 behandlet, og ligefrem en stigning i kimtal i den CO_2 behandlede lukkede kolonne.

Efter tilsætning af orme blev der målt coliforme bakterier i afgangsvand fra kolonnerne både før og efter behandling. Dette var forventeligt, da der blev tilsat en forholdsvis høj koncentration af kompostorme, som havde levet af kompost umiddelbart op til tilsætning. Da coliforme bakterier er naturligt forekommende i jord, vil disse komme med forsøgsormene ind i kolonnerne. Analyser af orme indsamlet i drikkevandsfiltre har ikke påvist coliforme bakterier i dette studie. Et tidligere studie har peget på ormene som årsag til coliforme bakterier i et distributionssystem på baggrund af DNA analyser (Damgaard et al. 2008). Ved registrering af coliforme bakterier i oligochaete orme bør det dog undersøges, hvorvidt orme er den egentlige årsag, eller om de coliforme bakterier har et andet ophav og blot er blevet spist af ormene. Et nyt studie (Christensen & Albrechtsen 2015) har overraskende vist, at den coliforme bakterie *Serratia fonticola* var i stand til at overleve i et dansk næringsrigt drikkevandssystem, og da vandforsyninger med orme er kendetegnet ved et højt næringsindhold (se afsnit 8.2), kan der være tale om en korrelation snarere end en kausal sammenhæng.

Da ormeæg sandsynligvis ikke ødelægges ved CO_2 behandling, skal behandlingen gentages efter et antal uger svarende til ormenes reproduktionstid. Behandlingen skal foretages i intervallet efter udklækning af

ormene, og inden ormene bliver kønsmodne. Det er derfor nødvendigt at artsbestemme ormene, da reproduktionstiden varierer hos forskellige grupper af orme.

7.4 Opsummering

Fire succesfulde kolonneforsøg blev udført med orme, iltet råvand og filtersand fra et vandværk. De tilsatte orme, *Eisenia fetida* og *Eisenia veneta*, tilpassede sig miljøet i kolonnerne og gravede sig ned i de øverste 10 cm af sandet indenfor få timer. Ved sænkning af iltindholdet i vandet ved driftstop kom ormene op på overfladen af sandet men gravede sig ned igen, så snart tilførslen af iltet råvand blev genoptaget.

Behandling med CO_2 ved seks timers gennembobling førte til 100 % ormedødelighed i såvel åben som lukket filterkolonne. Behandling med natriumhypochlorit i seks timer førte ligeledes til 100 % ormedødelighed, mens dødeligheden i kontrolkolonne uden behandling var 0 %.

De mikrobielle processer i de CO_2 behandlede kolonner fungerede umiddelbart efter behandling med CO_2, så 100 % ammonium i råvandet blev fjernet i kolonnen. Klorbehandlingen derimod, havde ødelagt de mikrobielle processer i filtret, og der var ingen ammoniumfjernelse i kolonnerne efter behandlingen.

Ormene, der ikke var sterile, medførte forhøjede bakteriekoncentrationer i afgangsvandet, særligt ved nedbrydning efter behandling som følge af øget tilgængeligt næringsstof. Det er derfor vigtigt at fjerne døde orme fx ved returskyl efter endt behandling, så de ikke bliver næringsgrundlag for et fødenet af bakterier, protozoer, svampe og højerestående organismer i høje koncentrationer.

8. Identifikation af højrisikofiltre

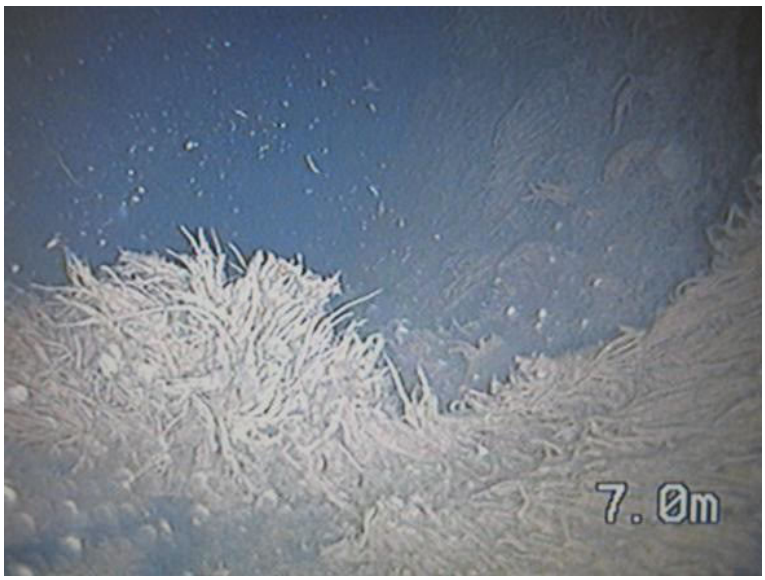
8.1 Formål

Formålet var at sammenholde informationer, observationer og målinger fra projektet for at identificere filtre med særlig stor risiko for forekomst af orme og på denne baggrund stille forslag til drifttiltag, der kan minimere risikoen.

8.2 Observationer

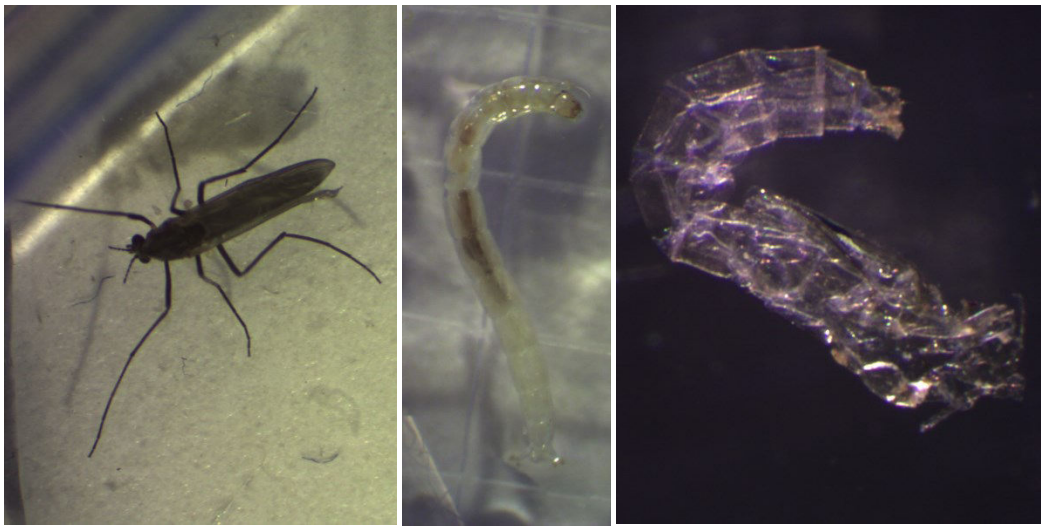
Forekomst af orme i sandfiltre er spredt over hele Danmark fra den nordligste til sydligste del af landet og fra øst til vest. Der er derfor ikke tale om lokale fænomener med spredning af orme fra nærliggende forsyninger. Fællesnævneren, der er fundet i dette studie, er at alle vandværker med registreret ormeforekomst er beliggende kystnært, med en enkelt undtagelse. Fælles karakteristika ved de kystnære værker med orme er, at der er et højt metan indhold i råvandet. Vandværket, der ikke ligger kystnært, har ligeledes høje koncentrationer af metan i råvandet. Der er på vandværker med registreret ormeforekomst også en tendens til forhøjede NH_4 koncentrationer men ikke i så udpræget grad som forekomsten af metan.

Metan fjernes fra råvandet ved beluftning, inden vandet ledes til sandfiltrene og bør derfor principielt ikke udgøre et problem. Er fjernelsen ufuldstændig kan metan føre til vækst af metan-oxiderende bakterier, og der kan ligefrem opstå synlige lag af trådformede bakterier (Fig. 37) eksempelvis i rør fra beluftning til filtre. Da metan er en kulstofkilde, kan det bidrage til fødenettet i sandfiltre, så bakterierne, der udnytter metan, enten spises af protozoer og højere organismer eller kan indgå som føde for andre bakterier. Dette kan ske ved udskillelse af extracellulære polymerer eller ved nedbrydning af bakterierne, når de dør. Bakterierne kan vokse i sandfiltre ved ufuldstændig forudgående metanfjernelse eller transporteres fra iltningstrin til sandfiltre. På vandværker med både for- og efterfiltre findes orme hovedsageligt i forfiltre, hvilket stemmer overens med tilførsel af næring og bakterier til forfiltre.



Figur 37. Bakterier på indersiden af rør fra beluftningsrende til forfilter på dansk vandværk (Olafsson 2008).

En anden observation fra vandværker med forekomst af orme og højt metanindhold i råvandet er forekomst af såkaldte filterfluer (dansemyg, chironomider) (Fig. 38). Dansemyggene lever i filtersalene og lægger deres æg i sandfiltrene, hvor larverne udvikles, indtil de forlader vandet som dansemyg.



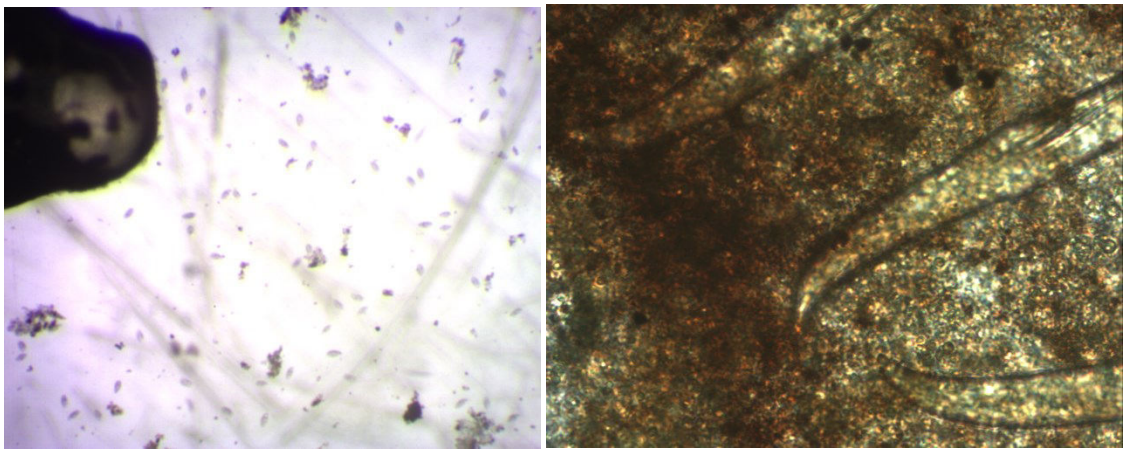
Figur 38. Dansemyg (venstre), dansemyggelarve (midte) og skelet fra dansemyggelarve (højre) fra sjællandsk vandværk. Foto: Sarah C.B. Christensen.

I forsøg med orme i postevand og filtersand (afsnit 4) overlevede ormene og formerede sig over et år uden anden næringstilførsel end nyt filtersand hver tredje måned og postevand fra hanen to gange om ugen. Det har ikke været muligt at identificere en grænseværdi, for hvornår et filter er for næringsfattigt til, at orme kan overleve i filteret, da antallet af tilgængelige prøver fra vandværker er lavt. Dette skyldes, at vandværker typisk iværksætter driftsændringer og behandlingsforsøg for at fjerne orme kort tid efter en ormeforekomst opdages. I de filtre, der har været mulighed for at karakterisere, har der været stor spredning på næringsindholdet og dermed på økosystemet i sandet som helhed:

Koncentration af invertebrater spænder fra få mikroskopiske invertebrater til flere hundrede invertebrater pr ml vand udrystet af filtersand. Indberetninger om forekomst af coliforme bakterier i forbindelse med dyr forekommer ved de meget høje koncentrationer af dyr. Ved analyse af dyr fra filtre med lave koncentrationer har vi ikke kunne påvise coliforme bakterier. I en forsyning, der havde forhøjede kimtal og coliforme bakterier, målte vi de højeste koncentration af dyr, deriblandt nematoder (rundorme), oligochaete orme (få-børsteorme), collemboler (springhaler), rotiferer (hjuldyr), ostracoder (muslingekrebs), copepoder (vandlopper), nauplius (krebsdyrlarver), samt landlevende insekter. I de øvrige danske værker med registreret ormeforekomst, blev der ikke rapporteret om overskridelse på nogen kvalitetsparametre, og NVOC koncentrationer var under grænseværdien på 4 mg/l i afgangsvand. Det kan derfor ikke konkluderes, at orme generelt er skyld i forringet vandkvalitet men snarere, at sandfiltre med for højt næringsindhold danner basis for rige økosystemer, der understøtter vækst af større organismer deriblandt også orme. Dertil skal nævnes, at fødegrundlaget ikke er eneste betydende faktor for forekomst af orme men også, om der er tilført orme eller ormeæg til filteret. Da ormene, analyseret i dette studie, var terrestriske, er der flere muligheder for, at ormeæg føres ind på vandværker. Det kan eksempelvis være på udendørs fodtøj, i sand der ikke er tilstrækkeligt steriliseret eller ved kontakt til jord ved boringer/rørbrud. En enkelt hændelse med tilførsel af ormeæg mange år tilbage vil kunne være tilstrækkelig til at etablere en levedygtig ormepopulation, hvis det rette fødegrundlag er til stede. Orme vil formentlig kunne transportere bakterier med ind på et vandværk ved ankomst, men en ormepopulation, der har levet på et vandværk i flere år, lever af de naturligt forekommende bakterier i sandfiltrene og er dermed ikke nødvendigvis kilden til bakterierne på trods af, at de måles i forbindelse med ormene. Man skal derfor være varsom med at konkludere, at oligochaete orme i vandværker er kilde til coliforme bakterier, selvom bakterierne måles i forbindelse med orme, da det er et fællestræk for oligochaete orme og nogle coliforme bakterier, at de kan

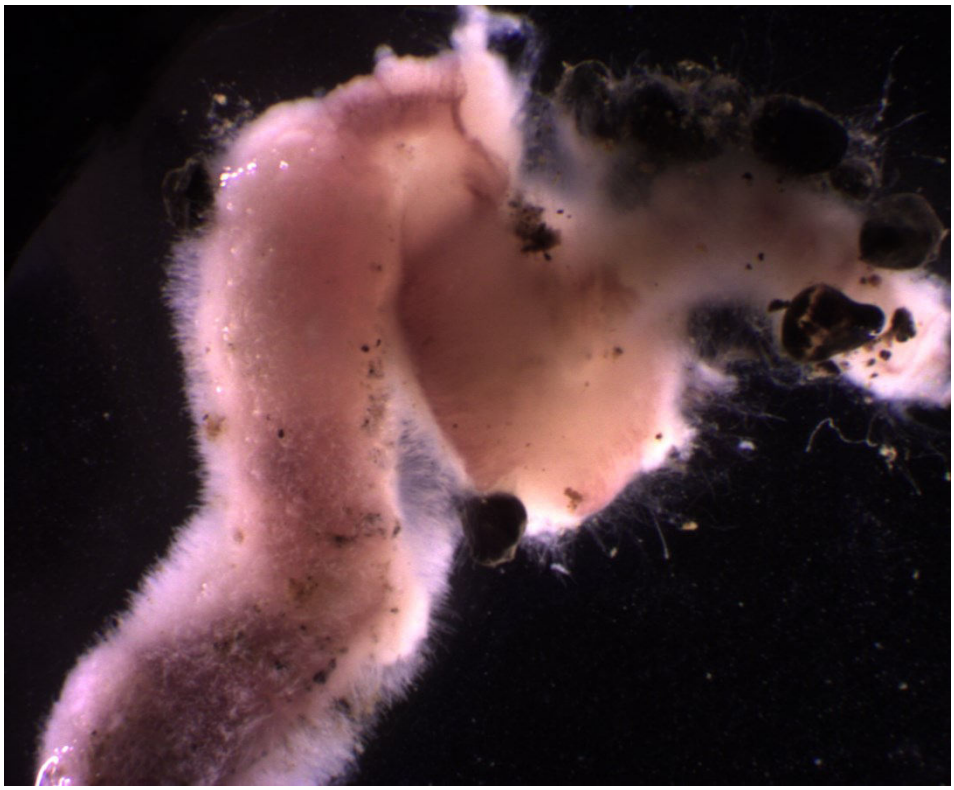
overleve i systemer med relativt højt næringsindhold (fx forårsaget af ufuldstændig metanfjernelse) (se afsnit 7.3.3.2).

Ud over at være afhængige af et forholdsvis rigt fødenet bidrager ormene også til fødenettet. Ormene kan være vært for rundorme og protozoer, som også bidrager til ormenes nedbrydning, når de dør (Fig. 39).



Figur 39. Lysmikroskopi af protozoer i nærheden af spidsen af en død orm (venstre) og væv fra død orm med tre rundorme i (højre). Foto: Sarah C.B. Christensen.

Svampe bidrager ligeledes til nedbrydningen af døde orme, som allerede efter et til to døgn vil være dækket af svampehyfer (Fig. 40).



Figur 40. Død orm dækket af svampehyfer. Foto: Sarah C.B. Christensen.

Sænkning af tilgængelig næring i sandfiltre og dermed også i distributionssystemer kan opnås bl.a. ved at optimere beluftningen og dermed metan-fjernelsen. En mere omfattende mulighed, der i øjeblikket

implementeres på nogle vandværker i Holland, er at behandle vandet med omvendt osmose, inden det når distributionsnettet. Omvendt osmose fjerner bakteriernes næring og hindrer dermed uønsket bakterievækst i det distribuerede drikkevand.

9. Konklusion

I projektet udviklede vi en bekæmpelsesteknologi mod orme i biologiske sandfiltre, der medførte 100 % dødelighed i filterkolonner efter seks timers aktiv behandling og 18 timers efterfølgende stilstand af filtret. Metoden bestod i at blæse CO_2 kontinuert ind i filterkolonnen via en skylleluftventil. Ormene blev derved udsat for en kombination af lavt iltindhold, lav pH og mekanisk stres (afsnit 7).

På trods af den høje effektivitet blev funktionaliteten af det biologiske filter ikke ødelagt, og ammoniumfjernelsen i filtret var 100 %, umiddelbart efter filtret blev genopstartet (afsnit 7).

Laboratorieforsøg med nitrogen behandling, brintoverilte behandling og behandling med monokloramin førte ikke til 100 % dødelighed ved de anvendte behandlingstider (ni døgns N_2 behandling) og koncentrationer (20.000 mg H_2O_2/l og 50 mg NH_2Cl/l) (afsnit 6).

Behandling med natriumhypochlorit i filterkolonneforsøg var effektiv ved tilsætning af 2650 mg NaOCl/l. Alle orme døde indenfor samme tidsrum som ved CO_2 behandling, men behandlingen ødelagde filtrets biologiske funktionalitet, så ammoniumfjernelsen efter behandling var 0 % (afsnit 7). Dette har tidligere været observeret på et vandværk, der efter behandling ikke havde en tilstrækkelig ammoniumfjernelse et halvt år (afsnit 2).

CO_2 bekæmpelsesteknologien blev udført succesfuldt i både lukket og åbent system (afsnit 7), og den vil derfor potentielt kunne anvendes på fuldskala sandfiltre. Da ormene var meget beskadigede efter seks timers gennembobling, er der desuden mulighed for at behandlingstiden vil kunne nedsættes.

Det bør undersøges, hvorvidt CO_2 behandling også dræber protozoer og andre højere organismer end orme, og hvor effektivt returskylning efter behandling vil være til af fjerne de døde orme. Dette er vigtigt, ikke alene for den mikrobielle kvalitet af afgangsvandet fra filterkolonnerne, men også for biostabiliteten i sandfiltre, da døde orme kan danne næringsgrundlag for et fødenet af bl.a. bakterier, protozoer, svampe og højerestående organismer. Der blev ikke påvist coliforme bakterier i orme indsamlet på vandværker i dette studie (afsnit 7), men projektet påviste en sammenhæng mellem forekomsten af orme i danske vandværker og tilgængelig næring i filtrene (afsnit 8). Danske vandværker, der havde haft eller havde orme i deres sandfiltre, havde alle metanholdigt råvand. Ved ufuldstændig fjernelse fungerer metan som næringsgrundlag for metan-oxiderende bakterier, der danner vækstgrundlag for et rigt økosystem i sandfiltrene og dermed understøtter vækst af højerestående organismer som orme, hvis de én gang er kommet ind i filteret fx som æg. Ormeæg kan overføres fra fx jordpartikler, da projektet overraskende viste, at de største orme fra danske sandfiltre er terrestriske orme (afsnit 3), der er i stand til at leve i vanddækket filtersand (afsnit 4).

Bilag

I bilaget gives supplerende oplysninger om driftforhold på enkelte af vandværkerne beskrevet i afsnit 2.2. Derudover er notater og øvrig afrapportering fra vandværkerne i forbindelse med ormeforekomst medtaget i uredigeret form.

Ad. 2.2.2 – Case 2: Sydsjællandsk vandværk med ormeforekomst i 2011
Vandværket har tilladelse til indvinding af 45.000 m^3 om året, oppumper 30.000 til 37.000 m^3 om året og har 176 tilsluttede forbrugere.

Dokumentationen på forekomsten er følgende notat, som vandværket rutinemæssigt udarbejder i forbindelse med forureningssager samt en supplerende beskrivelse af hændelsesforløbet:
"Onsdag den 14 september 2011 konstaterer prøvetager, i forbindelse med rutineanalyse, at iltindholdet i vandet er meget lavt. På den baggrund tilkalder vandværket tekniker for at udbedre forholdet. Han konstaterer, at der er dyr i vandværkets filter og adviserer vandværksformanden. 15. september 2011 kontaktes kommunen af vandværket, da en medarbejder fra Vandteknik dagen forinden aflagde vandværket et besøg, og i den forbindelse havde fået øje på nogle små dyr der kravlede på væggene. Dyrene lignede efter medarbejderens opfattelse tusindben lidt. Der var taget en analyse og ammonium og nitrit lå lidt højt men der var hverken coliforme eller E. coli. ivandet. Kimtal ved 22°C er på 150 og dermed overskredet. Dyrene er følgende steder: skyllebassinet, i rentvandstanken og i samtlige filtre. Rentvandstanken er blevet tømt, og det er konstateret, at tanken består af 3 tanke. Tank 1 er fra 1939, tank 2 fra 1960´erne og tank 3 fra 1980´erne. Der er konstateret revner og sætningsskader i tankene, som man er gået i gang med at se på. Teorien er, at dyrene er kommet ind fra jorden via revnerne i rentvandstanken. Herfra er der ved returskylning af filtre blevet spredt til disse samt til skyllevandsbassinet. Der er for en sikkerheds skyld sendt kogeanbefaling ud til alle forbrugerne."

Samtale med repræsentant fra vandværket, 1. marts 2011:
Sandfiltrene blev behandlet med brintoverilte i over et døgn. Specifikationerne på koncentration og forløb kendes ikke, da behandlingen blev udført af ekstern konsulent.

Ad. 2.2.3 – Case 3: Nordjysk vandværk med ormeforekomst fra 1980'erne til 2013
Værket blev sat i drift i 1964 og blev gennemgribende renoveret i 2011 med DDS (Dokumenteret DrikkevandsSikkerhed) tilgang. I 2015 indvandt anlægget vand fra seks indvindingsboringer med en samlet ydelse på ca. 230 m^3/time. Vandværket består af én coplator suppleret med bundbeluftning, tre åbne enkeltfiltre med et areal på 12 m^2/filter og en designkapacitet på ca. 50 m^3/time/filter samt én rentvandsbeholder. Ét filter ad gangen returskylles i fem-dages intervaller, så der skylles forskudt i de tre filtre.

Afrapportering fra værksbestyrer 29. april 2013:
"Ormene ligner regnorme bare meget tyndere, de har en længde fra 2 til 6- 7 cm. I 2007 fik vi udskiftet sandet i vores filtre (3 åbne filtre), også dengang på grund af orm, så vi er ikke vilde med tanken om at skal skifte alt sandet igen. En stor fejl som blev gjort dengang, var at der ikke blev gjort nogle tiltag til at finde ud af hvor disse orm kom fra, derfor har vi nu problemet igen. Vi er i gang med at renovere værket: Coplator i stedet for trapper, alle rør udskiftet til rustfrie, rentvandstank og henstandstank er renoveret, alle ventilationsåbninger er nu lukket og der er filter på de nye luftindtag. Alle boringer er ført op i terræn vi har trykprøvet råvandsledningen den er tæt. Så nu har vi gjort mange tiltag for at undgå at ormene kommer ind."

Ad. 2.2.4 – Case 4: Sydsjællandsk vandværk med ormeforekomst fra 2007 - 2015
Vandværket består af to høje iltningstrapper i serier, fem åbne enkeltfiltre med et areal på 16 m^2/filter og en designkapacitet på ca. 75 m^3/time/filter og to rentvandsbeholdere. Filtrene returskylles normalt én gang om ugen på samme dag med luft på alle filtre samtidig.

Litteratur

Christensen S.C.B., Nissen E., Arvin E. & Albrechtsen H.-J. 2011. Distribution of *Asellus aquaticus* and microinvertebrates in a nonchlorinated drinking water supply system – Effects of pipe material and sedimentation. *Water Research*, 45(10):3215-3224.

Christensen, S.C.B. & Albrechtsen, H.-J. 2015. Overlevelse af coliforme bakterier i drikkevand. Rapport. DTU Miljø, Danmarks Tekniske Universitet.

Damgaard, T.-M., Lorenzen, J. & Saunders, A.M. 2008. Børsteorm var kilde til bakterier i drikkevand. *Vandposten*, 165: 40-41.

Genbank. 2015. (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, 8600 Rockville Pike, Bethesda MD, 20894, USA.

Godskesen, B., Zambrano, K.C., Trautner, A., Johansen, N.-B., Thiesson, L., Andersen, L., Clauson-Kaas, J., Neidel, T.L., Rygaard, M., Kløverpris, N.H. & Albrechtsen, H.-J. 2011. Life cycle assessment of three water systems in Copenhagen-a management tool of the future. *Water Science and Technology*, 63(3):565-572.

Hansen, H.O. 2008. Elektrofiskeri af børsteorm i vandværksfiltre. Undersøgelsesnotat (fortroligt).

Locas, A., Barbeau, B. & Gauthier, V. 2007. Nematodes as a source of total coliforms in a distribution system. *Canadian journal of microbiology*, 53(5): 580-585.

Olafsson, T.E. 2008. Metanfjernelse i vandværker – Undersøgelser af mikrobiel vækst. Kandidatspeciale. DTU Miljø, Danmarks Tekniske Universitet.

Ormeposten. 2015. (www.ormeposten.dk). Webbaseret forhandler af kompostorme.

Wubbels, G.H., Bruins, J.H., Bosman, M. & Woerdt, D. v.d. 2014. The functioning of biological slow sand filtration in relation to the presence and the role of Annelids in the schmutzdecke. In Progress in Slow Sand and Alternative Biofiltration Processes: Further Developments and Applications. Eds. Nakamoto, N., Graham, N., Collins, M.R. & Gimbel, R. IWA Publishing.

Ormebekæmpelse i vandværksfiltre
Forekomster og bekæmpelsesteknologi

Naturstyrelsen
Haraldsgade 53
DK - 2100 København Ø
Tlf.: (+45) 72 54 30 00

www. nst.dk