



CHALMERS
UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

Ny biologisk sensor för organiska ämnen i avloppsvatten

Kandidatarbete inom civilingenjörsprogrammen Kemiteknik och Väg & Vatten (BMTX01-17-72)

MAX GREN
AMANDA KARLSSON
DAG LORICK
MARKUS PERSSON
ANDREAS VIGGEBORN

Ny biologisk sensor för organiska ämnen i avloppsvatten.

M. Gren, A. Karlsson, D. Lorick, M.Persson, A. Viggeborn

© Max Gren, Amanda Karlsson, Dag Lorick, Markus Persson, Andreas Viggeborn, 2017.

Chalmers Tekniska Högskola

Göteborg 2017.

New biological sensor for organic substances in wastewater.

M. Gren, A. Karlsson, D. Lorick, M.Persson, A. Viggeborn

© Max Gren, Amanda Karlsson, Dag Lorick, Markus Persson, Andreas Viggeborn, 2017.

Bachelors Thesis

Department of Chemistry and Chemical Engineering
Department of Civil and Environmental Engineering

Chalmers University of Technology

Written in Swedish

SAMMANFATTNING

Biochemical oxygen demand (BOD) är ett mått på mängden syre som förbrukas vid bakteriell nedbrytning av organiskt material. Det är kritiskt att kontrollera mängden organiskt material som släpps ut till en recipient, eftersom det orsakar syrefattigt vatten och död bland vattenlevande djur. För att analysera BOD i avloppsvatten är BOD₇ den metod som enligt svensk standard ska användas. Metoden är tidskrävande och oprecis. Den här rapporten syftar till att sammanfatta och utvärdera alternativa metoder för BOD-analys. Dessutom görs en experimentell undersökning av analys med mikrobiella bränsleceller för att utröna hur perioder utan organiskt material påverkar en bränslecells funktion som BOD-sensor. I experimentet används acetat och glukos som organiska ämnen, vilka tillförs bränslecellen i en näringslösning. Under svältperioderna tillförs endast näringslösning, utan tillsatt organiskt material.

Undersökningen av analysmetoder tyder på att metoderna baserade på bioreaktorer med respirometri samt mikrobiella bränsleceller är de två mest lovande kandidaterna för att ersätta standardmetoden BOD₇. Båda metoderna finns representerade på marknaden, har snabb analysid och bedöms ha färre nackdelar än övriga metoder.

Marknadsundersökningen visar att en stor del av avloppsreningsverken runtom i Sverige skickar sina prover för BOD-analys till ett ackrediterat laboratorium. Några utför analysen själva på plats, men många påtalar att BOD inte används som ett styrvärde för driften på grund av den långa analysiden. Andra analyser såsom TOC och COD används som en indikation på BOD-halt.

Experimentet med mikrobiella bränsleceller visade att svältperioder påverkar bakteriestammen i mätutrustningen negativt. Korta svältperioder på tio dagar hade dock relativt liten negativ effekt, och påverkan på utrustningens funktionalitet bedömdes som liten. För framtida studier av mikrobiella bränsleceller rekommenderar vi att mer komplexa kolkällor används, förslagsvis en blandning av olika organiska ämnen. Vi föreslår också att näringslösning utesluts under svältperioder.

Nyckelord: BOD, biochemical oxygen demand, mikrobiell bränslecell, svältperiod, biosensor, avloppsreningsverk, glukos, acetat.

ABSTRACT

Biochemical oxygen demand (BOD) is a measure of the amount of oxygen consumed in bacterial decomposition of organic matter. It is crucial to monitor the amount of organic matter that is emitted to a recipient, as it deprives water of oxygen and causes death among aquatic animals. The method used for analyzing BOD in wastewater is BOD₇ according to Swedish standard. This method is time consuming and imprecise. This report aims to summarize and evaluate alternative methods for BOD analysis. In addition, an experimental study of microbial fuel cells is performed to determine how periods without organic material affect the function of a fuel cell as a BOD sensor. In the experiment, glucose and acetate are used as organic matter, which is added to the fuel cell in a nutrient solution. During the starvation period only nutrient solution, without organic matter, is added to the fuel cell.

The study of analytical methods indicates that the methods based on bioreactors with respirometry and microbial fuel cells are the two most promising candidates to replace the standard method BOD₇. These are the dominant methods on the market, and they seem to have fewer disadvantages than other methods.

The market survey shows that a large proportion of sewage treatment plants around Sweden send their samples for BOD analysis to an accredited laboratory. Some do the analysis themselves on-site, but many state that the amount of BOD is not used as a control value for the process due to the long analytical time. Other analyzes such as TOC and COD are used as an indication of BOD content.

The experiment with microbial fuel cells showed that periods with no organic material affect the bacterial culture in the measuring equipment in a negative way. Short starvation periods of ten days had a relatively small negative effect, and the impact on the equipment's functionality seemed to be small. In future studies of microbial fuel cells, we recommend the use of more complex carbon sources, preferably a mixture of different organic substances. Furthermore we suggest that nutrient solution is excluded during the starvation periods.

Keywords: BOD, biochemical oxygen demand, microbial fuel cell, starvation period, biosensor, sewage treatment plant, glucose, acetate.

FÖRORD

Den här rapporten är slutprodukten av ett kandidatarbete på Chalmers Tekniska Högskola. Arbetet utfördes vid Institutionen för Bygg- och miljöteknik, Avdelningen Vatten Miljö Teknik av två teknologer från Väg- och vattenbyggnad samt tre teknologer från Kemi och kemiteknik.

Vi vill rikta ett stort tack till vår handledare Oskar Modin, docent på Avdelningen för Vatten Miljö Teknik på Chalmers, som väglett oss under projektets gång och har tillhandahållit information om och från det experimentella arbetet. Vi vill också rikta ett stort tack till de avloppsreningsverk och laboratorier som svarat på vår undersökning.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	I
ABSTRACT	II
FÖRORD.....	III
1 INLEDNING.....	1
1.1 Bakgrund.....	1
1.2 Syfte och frågeställning	2
2 METODER FÖR BOD-ANALYS	2
2.1 BOD _{5/7} – Standardiserad metod.....	2
2.2 Manometrisk metod	3
2.3 Biosensor baserad på bakteriell bioluminiscens	3
2.4 Biosensor med immobiliserade bakterier.....	4
2.5 Mikrobiell bränslecell	4
2.6 Redox-mediatorer	5
2.7 Bioreaktor med respirometri	5
2.8 Summering av metoder	5
3 MARKNADSUNDERSÖKNING	7
3.1 Metod av marknadsundersökning	7
3.2 Resultat av marknadsundersökning	7
4 EXPERIMENT.....	9
4.1 Experimentell metod.....	9
4.1.1 Design av MFC.....	10
4.1.2 Drift	11
4.1.3 Beräkningar	12
4.1.4 Statistisk analys	12
4.2 Resultat av experiment.....	13
5 DISKUSSION	18
5.1 Analysmetoder	18
5.2 Marknadsundersökning.....	19
5.3 Experimentellt arbete	19
6 SLUTSATS	20
7 KÄLLFÖRTECKNING	21
BILAGA 1 - STRUKTURFORMLER	Bilaga 1. Sid 1 (1)
BILAGA 2 – MEJLSVAR FRÅN ENKÄT	Bilaga 2. Sid 1 (3)
BILAGA 3 - BILDER	Bilaga 3. Sid 1 (2)
BILAGA 4 - RECEPT.....	Bilaga 4. Sid 1 (1)
BILAGA 5 – GRAFER	Bilaga 5. Sid 1 (6)

1 INLEDNING

Varje dag spolask stora mängder vatten ned i samhällets avloppsnät i form av spillvatten från exempelvis hushåll och industrier, dagvatten från hustak och vägar samt dräneringsvatten från fastigheter (Svenskt vatten, 2016a). Detta resulterar i ett avloppsvatten som utan behandling orsakar stora föroreningar då det släpps ut i en recipient. För att reducera miljöpåverkan från avloppsvattnet är det därför viktigt att det renas innan det når vattendrag. Främst renas vattnet från organiskt material, partiklar från hushåll, växtnäringsämnen som kväve och fosfor samt mikroorganismer som virus, bakterier och parasiter (Svenskt vatten, 2016b). För att vattenreningen ska vara tillräcklig kontrolleras inkommande och utgående vatten vid avloppsreningsverken regelbundet med avseende på relevanta parametrar. Denna rapport behandlar mätning av biologiskt nedbrytbart organiskt material, som orsakar syrefattigt vatten och död bland vattenlevande djur (Svenskt vatten, 2016b). Mängden syre som förbrukas vid nedbrytning av det organiska materialet anges i biochemical oxygen demand (BOD) vilket svarar mot mängden biologiskt nedbrytbart organiskt material (Naturvårdsverket, 2010).

1.1 Bakgrund

Den metod som idag gäller som standard vid BOD-analys, BOD₅ eller BOD₇, innebär att ett prov med väl luftat vatten får stå i en sluten flaska i ett mörkt utrymme under en specifik tidsperiod, varpå syrekonsumtionen mäts. Det finns emellertid en del problem relaterade till denna metod, såsom lång analysid (5 eller 7 dygn) och stor felmarginal (J. Liu & Mattiasson, 2002). Dessutom försvåras analysprocessen av att metoden har ett begränsat mätintervall (0-6 mg/L), vilket innebär att provet ofta måste spädas (Jouanneau m.fl., 2014; J. Liu & Mattiasson, 2002). Det måste samtidigt finnas tillräckligt mycket mikroorganismer som kan bryta ned det organiska materialet (J. Liu & Mattiasson, 2002).

I och med ovan nämnda problem med den konventionella metoden, finns det behov av nya metoder för BOD-analys. Trots att många olika BOD-sensorer har tagits fram har endast ett fåtal kommersialiserats, medan andra är kvar i forskningsstadiet. En möjlig metod för BOD-analys är att använda mikrobiella bränsleceller (Microbial fuel cell, MFC) (Kim m.fl., 2003). I bränslecellen oxideras de organiska ämnena i vattnet med hjälp av en biofilm av bakterier på anoden varvid upptagna elektroner, via en extern krets, flödar till katoden där syre reduceras (Logan m.fl., 2006). Elektroaktiva bakterier har i studier påvisat god förmåga att bryta ned organiska syror och monosackarider (Koch & Harnisch, 2016). Två vanliga ämnen att använda vid studier av bränsleceller är därför acetat, en organisk syra, och glukos, en monosackarid. Glukos är en komplexare molekyl, se bilaga 1, som ställer större krav på den bakteriella sammansättningen för att kunna brytas ned (Koch & Harnisch, 2016).

Studier av bl.a. Kim et al. (2003) och Chang et al. (2004) har visat att BOD-analys med utnyttjande av MFC har fördelar som kort analysid och stort mätintervall relativt standardmetoden, men ännu finns det behov av ytterligare forskning inom området. I denna rapport undersöks hur bakterierna i bränslecellen reagerar på perioder utan eller med begränsad tillgång till organiskt material. En sådan svältperiod kan till exempel förekomma vid driftstopp eller underhåll av apparaturen. Om stora delar av bakteriekulturen dör innebär det att svältperioden har påverkat bränslecellen negativt. Det har också väckts frågor om hur bränsleceller kan förvaras då de inte är i bruk. En av dessa frågeställningar är hur bränslecellerna reagerar på tidsperioder med öppen krets, alltså utan elektronflöde (Arends, 2017). En sådan period skulle kunna försvåra för elektroaktiva bakteriers överlevnad.

1.2 Syfte och frågeställning

Projektet har som syfte att ge en överblick av de metoder för BOD-analys som finns och används i dagsläget. Rapporten syftar även till att studera hur de elektroaktiva bakterierna i mikrobiella bränsleceller reagerar vid svält samt hur snabbt de återhämtar sig och återfår en stabil strömproduktion då organiskt material tillsätts igen.

För att fullgöra ovanstående, fokuserar studien på följande frågor:

- Vilka tekniker finns i dagsläget för att analysera BOD?
 - Vilka används kommersiellt och vilka är i forskningsstadiet?
 - Vilka för- och nackdelar finns för respektive teknik? Hur skiljer de sig med avseende på analysid, mätintervall, korrelation gentemot $BOD_{5/7}$ och platseffektivitet?
- Hur reagerar bakterierna i en elektrokemisk bränslecell på en svältperiod?
 - Hur snabbt återhämtar de sig?
 - Hur skiljer sig reaktionen för olika sammansättningar av det organiska materialet? Mer specifikt, hur reagerar bakterierna med en feed innehållande glukos jämfört med en som innehåller acetat?
 - På vilket sätt skiljer sig responsen för öppen respektive slutet krets?

Vår hypotes är att bakterier kommer dö när de utsätts för svält. Vår utgångspunkt är att cellerna kommer behöva en återhämtningsperiod innan de når sin tidigare kapacitet. Vi tror också att cellerna med slutet krets kommer klara svältperioder bättre än de med öppen krets, eftersom bakterierna då kan fortsätta producera el.

2 METODER FÖR BOD-ANALYS

I följande avsnitt beskrivs och jämförs befintliga metoder för BOD-analys. Naturvårdsverket bestämmer föreskrifterna, vilka senast uppdaterades 2016, som avloppsreningsverken i Sverige måste förhålla sig till. Den metod som ska användas är BOD_7 enligt Svensk standard SS EN 1899-1 (ISO 5815:1989, modified) (Naturvårdsverket, 2016). Hur ofta analyser måste göras bestäms av hur många personekvivalenter som är anslutna till avloppsreningsverket. Ett avloppsreningsverk med en belastning motsvarande mer än tiotusen personekvivalenter behöver göra en dagsanalys BOD_7 per vecka (Naturvårdsverket, 2016). En sammanfattning av metoderna med för- och nackdelar presenteras i tabell 1.

$BOD_{5/7}$, mikrobiella bränsleceller och bioreaktorer har som gemensam nämnare att bakterierna som används kan ympas från slam. Det innebär en fördel för avloppsreningsverk, som alltså har en källa till bakterier direkt tillgänglig, men det innebär också en nackdel eftersom kompositionen av bakteriestammen varierar från fall till fall.

2.1 $BOD_{5/7}$ – Standardiserad metod

BOD_5 gäller som amerikansk standard vid BOD-analys, medan svensk standard är BOD_7 (J. Liu & Mattiasson, 2002). Metoderna är identiska med undantag för analysiden, 5 respektive 7 dygn. $BOD_{5/7}$ innebär att väl luftat vatten inkuberas i ett mörkt utrymme under en bestämd tidsperiod, varpå syrekonsumenten mäts (Jouanneau m.fl., 2014; J. Liu & Mattiasson, 2002). Den detektionsmetod som betraktas som standard vid $BOD_{5/7}$ -analys är en jodometrisk metod, benämnd Winkler-metoden (Carpenter). Jodjoner tillsätts i ett prov och tillåts reagera med syre till molekylärt jod. Lösningen titreras sedan med en tiosulfatlösning. Titreringens ändpunkt

bestäms med hjälp av stärkelse som indikatorsubstans. Mängden O₂ kan sedan beräknas (Carpenter).

BOD_{5/7} kräver låga koncentrationer av organiskt material, 0-6 mg/L, vilket innebär att provet ofta måste spädas, och mätningarnas variabilitet uppgår normalt till ca 20 % i certifierade laboratorier. Metoden kräver stor arbetsyta (Jouanneau m.fl., 2014).

2.2 Manometrisk metod

Denna metod går ut på att, med hjälp av en trycksensor, mäta den trycksänkning som uppstår när mikroorganismer konsumerar syre för att oxidera det organiska materialet i ett prov. Koldioxid som produceras under mätningen absorberas med hjälp av kemikaliepellets i provflaskans topp, vanligtvis NaOH. Tryckdatan översätts sedan till ett BOD-värde (Caldwell & Langelier, 1948).

Metoden har ett stort detektionsintervall, 0-700 mg/L, och är förhållandevis enkel att utföra då spädning inte är nödvändig. Analysen tar 5 till 7 dygn vilket är ekvivalent med traditionell BOD_{5/7}-analys, men mätdata kan fås kontinuerligt under hela inkubationstiden. Metoden är platskrävande, då provflaskorna behöver förvaras en längre tidsperiod under relativt isolerade förhållanden med hänsyn till temperatur och solljus. Det finns på marknaden flera kommersialiserade system baserade på denna metod (Jouanneau m.fl., 2014).

2.3 Biosensor baserad på bakteriell bioluminiscens

Många olika organismer kan genom omvandling av energi vid en enzymatisk reaktion sända ut ljus. Detta fenomen kallas bioluminiscens och har påvisats kunna utnyttjas för mätning av BOD (Sakaguchi m.fl., 2003). Reaktionen, vid bakteriell bioluminiscens orsakad av bakteriella luminiscenta gener (*lux-gener*), är enligt Sakaguchi et al. (2003) starkt relaterad till syreförbrukning.

Sakaguchi et al. (2003) beskriver i artikeln "A rapid BOD sensing system using luminescent recombinants of *Escherichia coli*" en sensor baserad på luminiscenta rekombinanta *Escherichia coli*-celler (*E. coli*) som reaktant i avloppsvatten. För att *E. coli* ska få luminiscerande egenskaper görs en genmodifikation med plasmider innehållande *lux-gener*. Då bakterierna bryter ned det organiska materialet i ett prov avges en bioluminiscens vars ljusintensitet kan mätas och räknas om till motsvarande mängd BOD (Sakaguchi m.fl., 2003). I en studie från 2007 tillverkades en ny biosensor baserad på bioluminiscens med nyare teknik (Sakaguchi m.fl., 2007).

Den första versionen är enligt (Sakaguchi m.fl., 2003) tillämpbar för koncentrationer på 3-200 mg/L och mätningarna tar 90-150 minuter att genomföra. Korrelationen med BOD₅ var vid denna studie relativt låg, determinationskoefficienten $R^2 = 0.674$ från 5 prover (Sakaguchi m.fl., 2003). Den senare versionen ger mätdata efter ca 25 minuter, och detektionsintervallet är ca 16-60 mg/L. Denna version korrelerade bättre med BOD₅, determinationskoefficienten $R^2 = 0.997$ från 7 prover (Sakaguchi m.fl., 2007). Sakaguchi et al. (2003) menar att eftersom endast en sorts bakterie med luminiscerande egenskaper används, ökar mätningarnas osäkerhet om ett prov innehåller ämnen utöver de organiska ämnen som denna bakterietyp kan bryta ned. Enligt tillverkarna är mätningarna enkla att genomföra (Sakaguchi m.fl., 2003, 2007). Jouanneau et al. (2014) skriver att metoden kräver liten arbetsyta. Inget kommersialiserat instrument för BOD-analys med luminiscenta bakterier har hittats.

2.4 Biosensor med immobiliserade bakterier

Denna metod beskrevs först av (Karube, Matsunaga, Mitsuda, & Suzuki, 1977). Sedan dess har metoden med immobiliserade bakterier undersökts extensivt, och många typer av instängningssubstrat har testats. Bakterierna kan till exempel stängas in i ett polymernätverk, mellan två lager av polymerer eller adsorberas på membran (Jouanneau m.fl., 2014).

Metoden går ut på att immobilisera bakterier som kommer i direkt kontakt med en typ av elektrod som mäter syrekonsumention (t.ex. en Clark-elektrod). Mätningen genomförs både med och utan ett tillsatt prov, och BOD-halten fås genom att beräkna förhållandet mellan de erhållna mätvärdena (Jouanneau m.fl., 2014).

Mätningen tar 5-60 minuter att utföra, och metoden har ett brett mätområde på 0-500 mg/L samt teoretiskt god möjlighet till online-konfiguration. De flesta studier visar att biosensorer med immobiliserade bakterier ger mätdata mycket nära BOD_{5/7}, R² ofta mellan 0.9 och 1. Det finns få rapporter om fältapplikationer (Jouanneau m.fl., 2014). En biosensor med immobiliserade bakterier från Forbes Marshall finns på marknaden (Forbes Marshall, 2017). Denna typ av sensor har generellt en livslängd på någon eller några veckor, vilket är kort i förhållande till andra metoder (J. Liu & Mattiasson, 2002). Denna korta livslängd kan delvis förklaras av bakterietillväxt i instängningssubstratet (Modin m.fl., 2017).

2.5 Mikrobiell bränslecell

Principen med denna metod är att använda bakterier som katalysatorer för att omvandla kemisk energi från organiska ämnen till elektrisk energi. Detta sker genom oxidation av ett substrat där elektroner doneras till anoden, och en ström uppstår på grund av potentialskillnaden mellan anod och katod (Melnik & Coates, 2011).

En utformning av en MFC är att anod och katod placeras i två separata kamrar, där anodkammaren kan hållas syrefri för att försäkra att elektroner doneras till anoden. De två kamrarna skiljs åt av ett membran som kan släppa igenom protoner samtidigt som det håller anodkammaren syrefri (Melnik & Coates, 2011). Då bakterierna oxiderar det organiska materialet genereras en elektrisk ström som transporteras från anoden, via en extern krets, till bränslecellens katod (Modin & Gustavsson, 2014). Vid katoden reduceras syre och vatten bildas med protoner som diffunderat genom membranet (Melnik & Coates, 2011). BOD-koncentrationen kan antingen korreleras från uppmätt ström eller laddning (Kim m.fl., 2003; Modin & Gustavsson, 2014).

Detektionsgränsen är cirka 0-200 mg/L, och analystiderna varierar från några minuter till några timmar beroende på bränslecellens design (Modin & Gustavsson, 2014). Tidiga experiment av Kim et al. (2003) visade att en enskild bränslecell kan ha god korrelation till BOD₅ (R² = 0.999), dock med ett lågt antal prover (n=3). Andra studier tyder på en bristande tillförlitlighet. Experiment gjorda av (Weng & Lee, 2015) och (L. Liu m.fl., 2016) med samma förutsättningar gav varierande resultat från de olika bränslecellerna, ibland även från olika anoder i samma bränslecell, vilket troddes bero på den känsliga biofilmen. En version av en mikrobiell bränslecell för BOD-analys, Online BOD Analyser, togs fram 2002 av ett sydkoreanskt bolag och finns fortfarande tillgänglig (KORBI Co., u.å.).

2.6 Redox-mediatorer

Metoden med redox-mediatorer bygger på att syre avlägsnas från ett prov samtidigt som en mediator tillsätts. En vanlig mediator är kaliumhexacyanoferrat ($\text{HCF}_{(\text{III})}$) (Pasco, Baronian, Jeries, & Hay, 2000; Yoshida et al., 2000). Mediatoren, $\text{HCF}_{(\text{III})}$, fungerar som elektronacceptor och reduceras till $\text{HCF}_{(\text{II})}$ vid den metaboliska oxidationen av organiska ämnen (Yoshida m.fl., 2000). I vanlig BOD_7 -mätning är syre den begränsande faktorn för reaktionen. Om syre alltså ersätts med en redox-mediator kan analysiden förkortas avsevärt (Pasco m.fl., 2000).

Genom att använda redox-mediatorer och avlägsna syre är BOD mätbart inom en timme med en detektionsgräns upp till 300 mg/L (Jouanneau m.fl., 2014). Korrelationen mellan BOD-värden från utnyttjande av redox-aktiva substanser och $\text{BOD}_{5/7}$ varierar ganska kraftigt mellan olika studier, R^2 mellan 0.6 och 0.95 (Jouanneau m.fl., 2014). Enligt (Yoshida m.fl., 2000) och (Pasco m.fl., 2000) är det fördelaktigt med en metod där syret helt avlägsnas, eftersom mätningarna därmed inte påverkas av syrekoncentrationen. Ingen marknadsförd version av denna typ av sensor har hittats.

2.7 Bioreaktor med respirometri

Biosensorer baserade på bioreaktorteknologi är en av de vanligaste metoderna på den kommersiella marknaden för online-mätning av BOD i avloppsvatten (Jouanneau m.fl., 2014). Likt referensmetoden mäter dessa biosensorer syrekonsumtionen, men avloppsvattnet är här syremättat. En syresond mäter respirationshastigheten, d.v.s. hastigheten med vilken mikroorganismer konsumerar syre, för att bestämma BOD i provet (Jouanneau m.fl., 2014).

Tekniken förekommer både med satsreaktor och kontinuerlig reaktor (J. Liu & Mattiasson, 2002). Vid satsreaktor beräknas BOD från ett respirogram som fås efter att avloppsvattnet tillförts respirometern. I fallet med kontinuerlig reaktor matas avloppsvattnet kontinuerligt in i reaktorn. Reaktorn är en flödesreaktor med volym på några liter (J. Liu & Mattiasson, 2002).

Den mikrobiella miljön i bioreaktorn är anpassad för de organiska ämnena, och med aktivt slam och en kontinuerlig tillförsel av organiskt material ger det en hög koncentration av biomassa (Jouanneau m.fl., 2014; J. Liu & Mattiasson, 2002). På grund av detta blir analysiden kortare, och responstiden har generellt visats vara mindre än 45 minuter. Bioreaktorer har i regel en mycket vid detektionsgräns. Enligt tillverkaren Kelma sträcker sig detektionsgränsen för deras sensor RODTOX NG upp till 500 000 mg/L (KELMA, u.å.).

2.8 Summering av metoder

I tabell 1 följer en sammanställning av ovan nämnda metoder med för- och nackdelar.

Tabell 1: Analysmetoder med för- och nackdelar.

Metod	Fördelar	Nackdelar
BOD _{5/7}	• Väl beprövad metod (standard) • Ger riktigt BOD_{5/7}-värde	• Lång analystid (5-7 dygn) • Hög mätosäkerhet (upp till 20 %) • Kräver stor arbetsyta
Manometri	• Stort mätintervall (0-700 mg/L) • Väl beprövad metod • Kommersialiserad version finns	• Lång analystid (5-7 dygn) • Kräver stor arbetsyta • Indirekt BOD-mätning
Bakteriell bioluminiscens	• Kort analystid (25-150 min) • Stort mätintervall (0-200 mg/L) • Kräver liten arbetsyta • Lätt att använda	• Indirekt BOD-mätning • Ingen kommersialiserad version • Mycket få rapporterade fältapplikationer • Endast en bakterietyp med luminiserande egenskaper → mätningar försvåras av ämnen som denna bakterietyp inte kan bryta ned • Uppskattat BOD₇-värde
Immobiliserade bakterier	• Kort analystid (5-60 min) • Stort mätintervall (0-500 mg/L) • Hög korrelation med BOD₅ • Direkt BOD-mätning • Online-mätning möjlig • Kommersialiserad version	• Få rapporterade fältapplikationer • Kort livslängd • Uppskattat BOD₇-värde
Mikrobiell bränslecell	• Kort analystid (30-315 min) • Stort mätintervall (0-200 mg/L) • Online-mätning möjlig • Kommersialiserad version finns	• Indirekt BOD-mätning • Få rapporterade fältapplikationer • Uppskattat BOD₇-värde • Elektroaktiva bakterier konkurrerar med andra bakterier → mätosäkerhet
Redox-mediator	• Kort analystid (15-60 min) • Stort mätintervall (0-300 mg/L) • Påverkas inte av syrekonzentration	• Indirekt BOD-mätning • Korrelation med BOD₅ varierar kraftigt mellan olika studier • Få rapporterade fältapplikationer • Uppskattat BOD₇-värde • Kräver extra tillsats av kemikalier
Bioreaktor	• Kort analystid (< 45 min) • Stort mätområde (0-500 000 mg/L) • God repeterbarhet (< 5 %) • Direkt BOD-mätning • Kommersialiserad version finns • Online-mätning möjlig	• Kräver stor arbetsyta • Uppskattat BOD₇-värde

3 MARKNADSUNDERSÖKNING

Marknaden domineras som tidigare nämnts av BOD₅ och BOD₇. Det finns dock andra instrument som av olika tillverkare tagits fram genom åren och som idag finns tillgängliga. I tabell 2 jämförs sex olika instrument för BOD-analys med avseende på exempelvis systemkonfiguration, analysid och mätområde. De instrument som undersökts har kortare analysid än den konventionella BOD_{5/7}-metoden.

3.1 Metod av marknadsundersökning

En tabell med modeller för BOD-analys som finns tillgängliga på marknaden uppfördes. Tabellen är en aktualiserad version av tabellen "Commercially available BOD instruments" från (J. Liu & Mattiasson, 2002).

Ett formulär med frågor om svenska avloppsreningsverks rutiner kring BOD-analys skickades via mejl till 17 avloppsreningsverk runtom i Sverige, av vilka 10 stycken svarade. Urvalet bestod av avloppsreningsverk främst belägna vid större städer. Dessutom eftersträvades att uppnå en stor geografisk spridning. Även två svenska ackrediterade laboratorier fick formuläret, varav det ena svarade. Alla fullständiga svar kan ses i bilaga 2. Formuläret bestod av följande fyra frågor:

- Vilken metod använder ni för att analysera BOD-halten eller skickar ni till ackrediterat laboratorium?
- Hur lång analysid har metoden och känner ni ett behov av att ha en snabbare metod?
- Vad heter modellen på utrustningen som eventuellt används?
- Har ni diskuterat att byta metod och till vad i så fall?

3.2 Resultat av marknadsundersökning

I tabell 2 redovisas kommersialiserade analysinstrument. Några av de instrument som fanns på marknaden 2002 finns inte längre idag, medan andra instrument har tillkommit.

Tabell 2: Kommersiellt tillgängliga BOD-instrument.

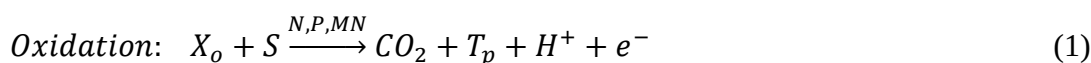
Modell:	BIOX-1010	BioMonitor	ROD TOX NG	EZ-BOD	BOD Analyser	Online BOD Analyzer
Tillverkare	Endress+Hauser	LAR AG	Kelma	Bioscience, inc.	Forbes Marshall	KORBI Co., Ltd
Systemkonfiguration	Bioreaktor	Respirometer	Respirometer	Respirometer	Immobiliserade bakterier	Mikrobiell bränslecell.
Bakteriekultur	Bakterier isolerade från avloppsvatten	Aktivt slam	Aktivt slam	Aktivt slam		Aktiva bakterier
Analystid [min]	3-15	3-4		15-60	40 (+ 2 h förberedelsestid)	30
Mätområde [mg/L BOD]	5-100 000	1-200 000	0-500 000		20- 20 000	0.1-200 (max. 100 000)
Reperterbarhet [$\pm\%$]	3		< 5		10	5
Referens	(Hauser, 2007; J. Liu & Mattiasson, 2002).	(LAR - PROCESS ANALYSERS AG, u.å.; J. Liu & Mattiasson, 2002)	(KELMA, u.å.; J. Liu & Mattiasson, 2002)	(Liu Mattiasson 2002) , (Bioscience, u.å.; J. Liu & Mattiasson, 2002)	(Forbes Marshall, 2017).	(KORBI Co., u.å.).

Undersökningen visade att den enda metod som användes av avloppsreningsverken var BOD₇. Merparten av de tillfrågade avloppsreningsverken skickade sina BOD-analyser till ackrediterat laboratorium, men några utförde analyserna på plats. Flera avloppsreningsverk påtalade att driften inte styrs efter BOD-mätningarna utan av andra parametrar. Stockholms vatten och avfall uppgav att de mäter slam- och fosforhalt för att få en indikation på BOD medan Gästrike vatten uppgav att deras mätningar på chemical oxygen demand (COD(Cr)) och total organic carbon (TOC) ger en indikation på BOD-halt som de kan anpassa driften efter. Gryaab spekulerade i att COD(Cr)-metoden kan komma att förbjudas på grund av hälsopåverkan från kvicksilver och kromat. Anledningen till att BOD-analyserna inte styrde driften sades vara den långa analystiden då vissa får vänta i upp till tre veckor med transporttider och svarstider inräknade, och att de då är inaktuella.

Simsholmens avloppsreningsverk utför analysen själva med en WTW Oxi 538 Laboratory Dissolved Oxygen Meter, vilket är en detektor anpassad för BOD₇. Käppala avloppsreningsverk har påbörjat processen med att ackreditera sig själva och i framtiden ska analyserna ske med hjälp av en Skalar SP2000-3. Anledningen är att de vill undvika transporter och på så sätt minska analystiden. Skalar SP2000-3 är en mer automatiserad variant på den standardiserade BOD₇-metoden för att underlätta analysen. Gryaab skickar delvis prover till ackrediterat laboratorium men gör även egna analyser med utrustning från Hach modell: LCK 554 som utför BOD₅-analyser.

4 EXPERIMENT

En metod för att analysera BOD är, som tidigare nämnts, mikrobiella bränsleceller. I bränsleceller oxideras de organiska ämnena i vattnet enligt ekvation 1 (Jouanneau m.fl., 2014) av en biofilm av bakterier på anoden varvid upptagna elektroner, via extern krets, flödar till katoden där syre reduceras, ekvation 2 (Logan m.fl., 2006).



X_o: Initial biomassa

S: Organisk kolkälla

O₂: Syre

N: Kväve

P: Fosfor

MN: Mineraler

T_p: Omvandlingsprodukter av biologisk nedbrytning

CO₂: Koldioxid

H₂O: Vatten

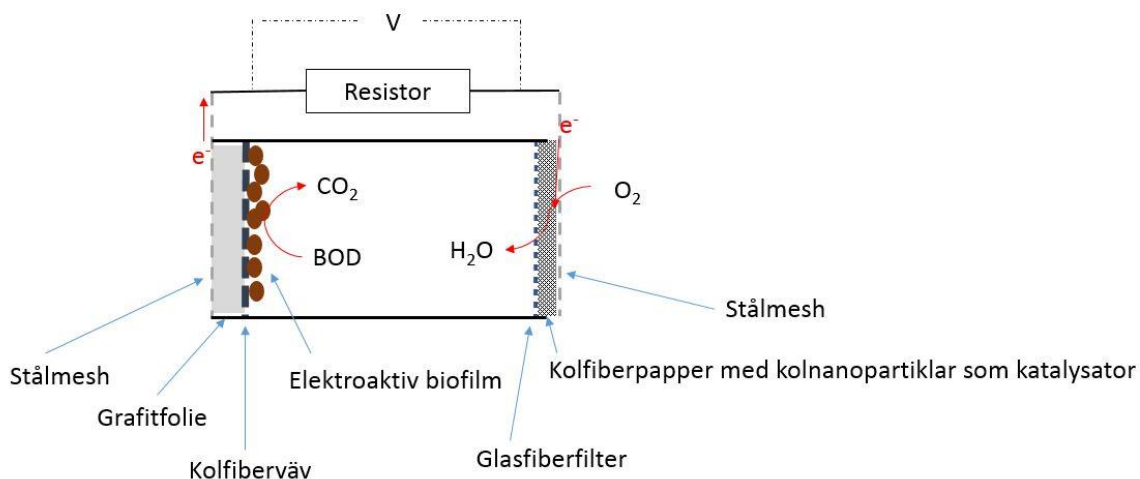
Genom att mäta den ström som skapas i kretsen, eller den laddning som transporteras över ett tidsspänn, kan mätvärdena korreleras till aktuell halt av BOD (Kim m.fl., 2003).

4.1 Experimentell metod

Det laborativa arbetet utfördes av Oskar Modin, docent på Avdelningen Vatten Miljö Teknik på Chalmers.

4.1.1 Design av MFC

De mikrobiella bränslecellerna kan ses i figur 1. Anoden var uppbyggd av stålmesh, grafitfolie och kolfiberväv. På anoden skapades biofilmen av bakterier genom tillförsel av aktivt slam. Katoden bestod av stålmesh, glasfiberfilter och kolfiberpapper med kolnanopartiklar som katalysator. Varje cell var 5 cm lång och 4 cm i diameter. Varje katod och anod hade en area på 12.56 cm².



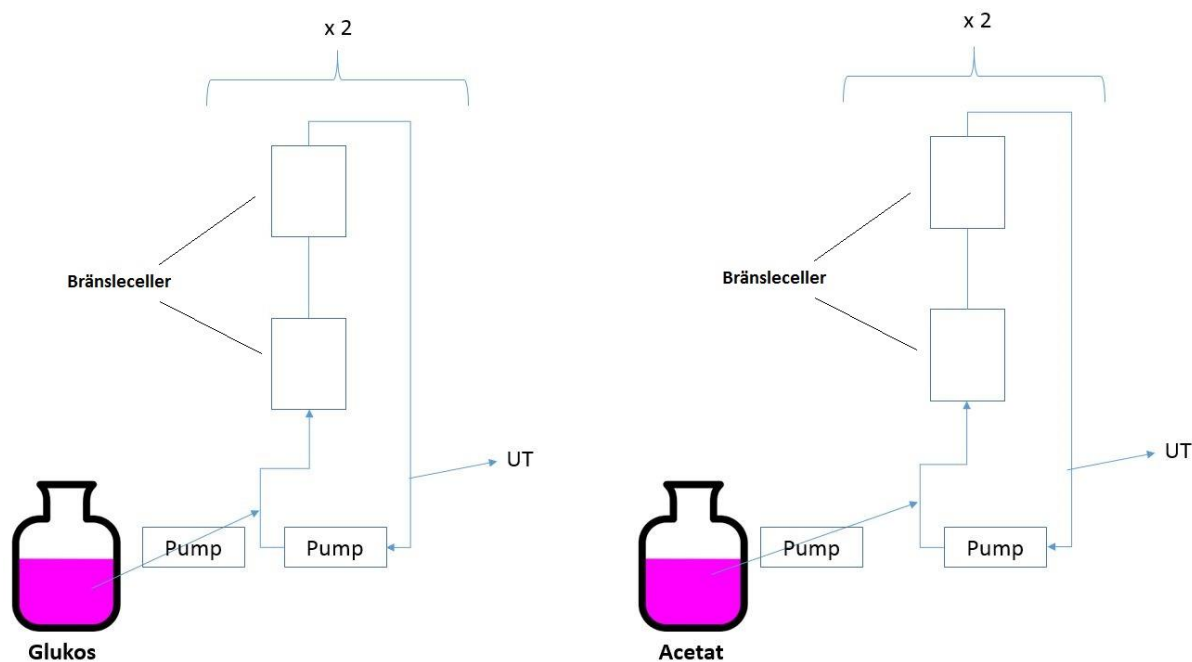
Figur 1: Principstruktur för en mikrobiell bränslecell (Modin, 2017).

Åtta stycken mikrobiella bränsleceller ställdes upp i fyra processlinjer, två med acetat-feed och två med glukos, se tabell 3. Bilder på experimentuppställningen kan ses i bilaga 3.

Tabell 3: De fyra processlinjerna med numrering och respektive organiskt material.

Organiskt material	Linje	MFC-nummer
Acetat	A	0 och 1
Acetat	B	2 och 3
Glukos	C	4 och 5
Glukos	D	6 och 7

Processlinjernas uppställning kan ses i figur 2.



Figur 2: Skiss av processlinjer (Modin, 2017).

4.1.2 Drift

Försöksperioden inleddes med att varje linje ympades med 15 mL aktivt slam från Rya avloppsreningsverk. Slammet hade förvarats i kylskåp i cirka 6 veckor. Därefter mättes den elektriska spänningen som bränslecellerna producerade över 1000 ohms-resistorer, kopplade till varje bränslecell. Ett mätvärde registrerades var 30:e sekund.

I bränslecellerna pumpades vatten runt i en slinga med ett flöde på cirka 40 mL/min. Den totala volymen i varje linje är cirka 160 mL (inklusive bränsleceller och slang). Varje dag mellan 08:45-08:50 pumpades näringslösning innehållande organiskt material in till varje linje, med en koncentration av 40 mmol kol/L. Under svältperioderna tillsattes inget organiskt material i näringslösningen. Recept på näringslösningen kan ses i bilaga 4.

Efter 10 dagar utfördes ett polariseringstest, där olika resistorer testades. För varje resistor loggades det uppmätta spänningsvärdet var femte sekund under minst 15 minuter. Syftet med testet var att både få en hög strömproduktion och mätbart spänningsutslag, eftersom båda dessa parametrar är viktiga ur mätsynpunkt. De resistorer som testades var 3000, 1000, 510, 200, 100, 51, och 10 Ω samt öppen krets, och slutsatsen drogs att 100 Ω -resistorer gav optimal balans mellan ström och spänning.

Efter 24 dygn inleddes den första svältperioden. Under denna tid togs prover på det in- och utgående vattnet för att kontrollera att pH låg inom ett för bakterier lämpligt område. Under svältperioderna innehöll feeden inget organiskt material, alltså inget acetat eller glukos. Efter två dygn från svältperiodens början kopplades resistorerna ur för processlinje B och D, medan processlinje A och C fortfarande hölls kopplade till resistorer på 100 Ω .

Efter 10 dagar avslutades svältperioden, resistorerna till linje B och D kopplades in och samtliga linjer injicerades åter med organiskt material. Efter ytterligare 10 dygn inleddes en ny svältperiod. Denna gång kopplades resistorerna i processlinjer A och C ur.

4.1.3 Beräkningar

Spänningen U som bränslecellerna producerade mättes och eftersom resistansen R var känd kunde strömmen I beräknas med Ohms lag:

$$U = R \cdot I \quad (3)$$

Laddningen för ett dygn räknades sedan ut genom att integrera strömkurvan. Den teoretiskt maximala laddning som fås om allt organiskt kol oxideras till ström, $Q_{teoretisk}$, beräknades enligt:

$$Q_{teoretisk} = F \cdot n \cdot 4 \quad (4)$$

där F är Faradays konstant, vilken anger laddningen hos 1 mol elektroner och n är antalet mol som tillsattes via näringslösningen varje dag. F och n multiplicerades med 4 eftersom kolet i acetat och glukos avger 4 elektroner vid fullständig oxidering.

Den coulombiska effektiviteten, η , anger kvoten mellan den verkliga laddningen och den teoretiskt maximala. η beräknades enligt:

$$\eta = \frac{Q_{verklig}}{Q_{teoretisk}} \quad (5)$$

Strömdensitet uttrycks som medelvärdet av strömproduktion dividerat med anodarea.

Variationskoefficienten mellan de olika dygnen beräknades för både laddning per dygn och maximal ström som kvoten av standarddeviationen σ och medelvärdet μ :

$$C_v = \frac{\sigma}{\mu} \quad (6)$$

4.1.4 Statistisk analys

För att testa om det fanns någon signifikant skillnad mellan linjernas elproduktion före och efter en svältperiod gjordes ett "paired student's t-test" för varje bränslecell. För alla tester valdes 95 % konfidensgrad. Nollhypotesen $H_0: \mu_1 = \mu_2$ testades mot $H_A: \mu_1 \neq \mu_2$. Ett t-värde räknades ut enligt:

$$t = \frac{|x_1 - x_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad (7)$$

där x = medelvärde av antingen laddning/dygn eller maximal spänning under ett dygn, s = varians och n = antal mätpunkter. Index 1 och 2 refererar till innan respektive efter svältperiod. Antalet frihetsgrader, df beräknades sedan enligt:

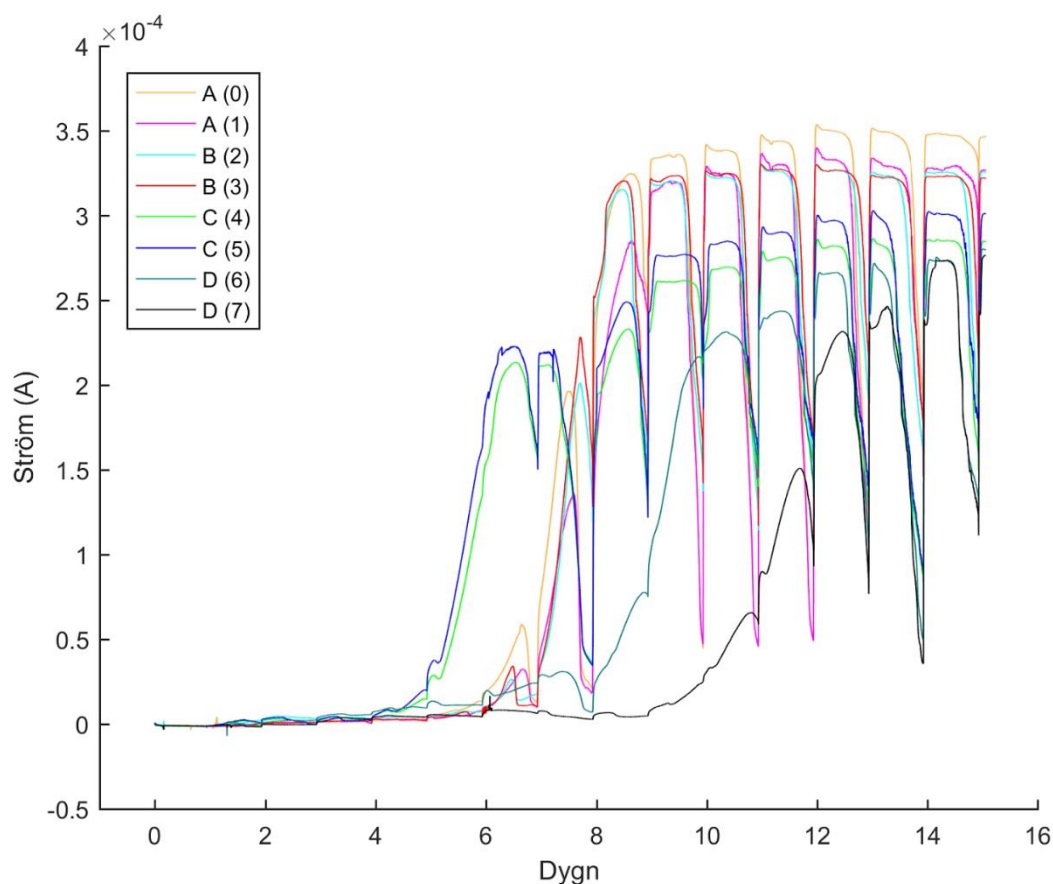
$$df = \frac{n_1 + n_2}{2} - 1 \quad (8)$$

Ett kritiskt värde tas från en "t-tabell" utifrån den valda signifikansnivån. Om t-värdet är högre än det kritiska värdet förkastas nollhypotesen.

T-testet utfördes i Excel med funktionen TTEST. Där fås direkt ett p-värde. Om detta p-värde är mindre än 0.05 kan nollhypotesen förkastas med 95 % konfidensgrad, det vill säga systemet har undergått en förändring.

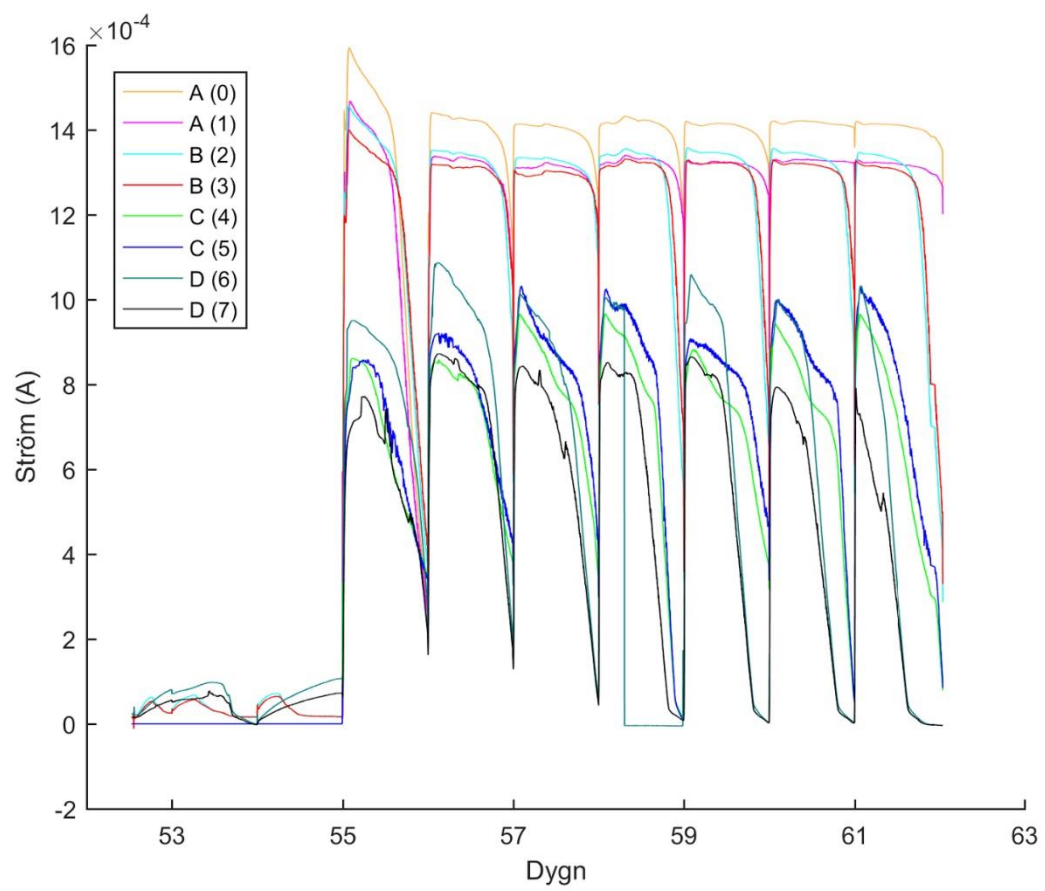
4.2 Resultat av experiment

Då experimentet inleddes skedde en tillväxt av bakterierna på anoden. Detta är observerbart då den maximala strömmen stiger för varje dygn som passerar, se figur 3. När en stabil bakteriekultur uppstått planar kurvan ut. Ur figur 3 kan utläsas att för de snabbaste bränslecellerna, A(0) och A(1), är tid från uppstart till stabilitet 9 dygn. Cell D(7) är långsammast och har en tillväxttid på 14 dygn. I bilaga 5 redovisas grafer av strömproduktionen för varje bränslecell efter polariseringstest.



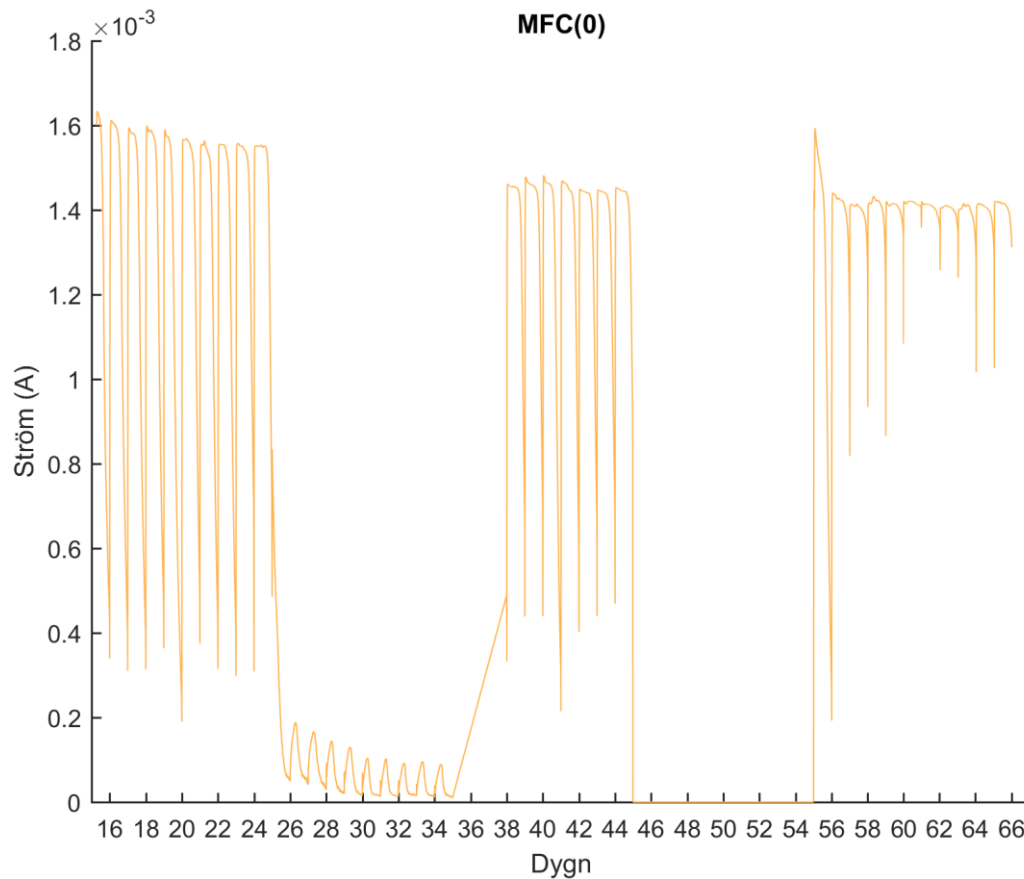
Figur 3: Strömproduktion för respektive MFC under de 15 första dygnen för experimentet. Strömproduktionen ökar i början av varje dygn, då organiskt material tillsätts, och minskar då allt organiskt material är förbrukat. Strömproduktionen går i dygnsvisa cykler eftersom de tillförs organiskt material en gång per dag.

På grund av en mjukvarukrasch som skedde mellan datumen 2017-02-28 och 2017-03-03 saknas mätdata för de första dygnen efter den första svältperioden. Efter svältperiod två kan ingen mätbar tillväxtperiod observeras. Stabilitet tycks uppnås redan under det första dygnet. Det ska dock nämnas att för acetat stiger strömproduktionen något högre under det första dygnet än det värde som strömproduktionen sedan stabiliseras vid, se figur 4. Även om det för glukos inte uppvisar samma strömproduktionsstabilitet som för acetat återfinns det inte något som liknar den tillväxtkurva som syntes vid experimentets uppstart.



Figur 4: Strömproduktion för respektive MFC efter den andra svältperioden. Dygn 52-62.

Under svältperioderna kunde strömproduktion observeras för de celler med sluten krets när näringslösningen tillfördes och under det följande dygnet. Maxvärdet för dessa toppar avtog under svältperiodens gång. Fenomenet illustreras i figur 5. Se dygn 26 till 35.



Figur 5: Strömproduktion för MFC (0) dygn 16-66.

Variationskoefficienten varierar för laddningen mellan 1.48 % och 20.84 % och för maxströmproduktionen mellan 1.11 % och 11.56 %. Den coulombiska effektiviteten varierar mellan 7.65 % och 16.50 %. Den coulombiska effektiviteten är i samtliga fall högre för bränslecellerna som tillförs acetat än för de som tillförs glukos. Fullständiga resultat redovisas i tabell 4.

Tabell 4: Sammanställning av medelvärde, standarddeviation och variationskoefficient för laddning per dygn samt maximal ström under ett dygn, coulombisk effektivitet och strömdensitet. Period 0 refererar till perioden innan första svältperioden, 1 till perioden efter första svältperioden och 2 till perioden efter andra svältperioden.

Linje	Period	MFC	Organiskt material	Medelvärde laddning [C]	Standard-deviation laddning [C]	Variations-koefficient laddning	Medel-värde ström [mA]	Standard-deviation ström [mA]	Variations-koefficient ström	Coulombisk effektivitet	Ström-densitet [A/m ²]
A	0	0 och 1	Acetat	112.30	7.35	6.54 %	1.51	0.050	3.30 %	15.81 %	1.20
B		2 och 3	Acetat	86.27	17.63	20.43 %	1.46	0.024	1.66 %	12.15 %	1.16
C		4 och 5	Glukos	72.00	2.69	3.74 %	1.17	0.034	2.93 %	10.14 %	0.93
D		6 och 7	Glukos	75.70	7.56	9.99 %	1.17	0.042	3.61 %	10.66 %	0.93
A	1	0 och 1	Acetat	109.97	6.22	5.65 %	1.42	0.049	3.43 %	15.49 %	1.13
B		2 och 3	Acetat	86.05	6.04	7.02 %	1.41	0.024	1.71 %	12.12 %	1.12
C		4 och 5	Glukos	69.28	7.42	10.72 %	1.10	0.047	4.25 %	9.76 %	0.88
D		6 och 7	Glukos	76.93	10.17	13.22 %	1.17	0.013	1.11 %	10.83 %	0.93
A	2	0 och 1	Acetat	117.18	4.34	3.70 %	1.38	0.050	3.62 %	16.50 %	1.10
B		2 och 3	Acetat	110.58	1.64	1.48 %	1.34	0.018	1.35 %	15.57 %	1.06
C		4 och 5	Glukos	64.82	4.35	6.72 %	0.95	0.057	6.16 %	9.13 %	0.76
D		6 och 7	Glukos	54.34	11.32	20.84 %	0.93	0.108	11.56 %	7.65 %	0.74

Skillnader mellan strömproduktionen för celler innehållande acetat och glukos kunde observeras, se tabell 5. För medelvärdet av den maximala strömproduktionen observerades en skillnad på 0.30-0.41 mA mellan de olika perioderna.

Tabell 5: Medelvärde av den maximala strömproduktionen för acetat och glukos under perioderna 0, 1 och 2.

Organiskt material	Medelvärde [mA], Period 0	Medelvärde [mA], Period 1	Medelvärde [mA], Period 2
Acetat	1.49	1.42	1.36
Glukos	1.17	1.12	0.95

T-tester genomfördes för att jämföra tillståndet före och efter den första svältperioden, för att jämföra tillståndet före den första och efter den andra svältperioden samt för att jämföra tillståndet efter den första och efter den andra svältperioden. I tabell 6 ses resultatet.

Tabell 6: Resultatet av t-tester. Grön text indikerar statistiskt säkerställd skillnad, $p < 0.05$.

MFC	Svältperiod 1		Svältperiod 2		Över båda svältperioderna	
	Laddning	Ström	Laddning	Ström	Laddning	Ström
0	0.330815	0.000111	0.130957	0.000009	0.035892	0.005980
1	0.597878	0.000087	0.106069	0.000004	0.060903	0.001460
2	0.942488	0.002104	0.045436	0.000150	0.000204	0.000729
3	0.896005	0.010680	0.042160	0.000269	0.000629	0.000389
4	0.366963	0.006000	0.005463	0.000604	0.134039	0.003336
5	0.697193	0.030452	0.028126	0.000617	0.243114	0.006581
6	0.618855	0.000442	0.066205	0.001227	0.004980	0.002380
7	0.818072	0.257131	0.025848	0.000281	0.004731	0.000044

Med avseende på ström visar alla utförda t-test utom ett att bränslecellerna genomgår en statistiskt signifikant förändring under svältperioderna, i samtliga av dessa fall en minskning. För tester gjorda med avseende på laddning kunde en statistiskt säkerställd skillnad konstateras för mindre än hälften av testerna.

5 DISKUSSION

Standardmetoden vid analys av BOD innebär lång analystid och inexakta mätningar, vilket har motiverat ett stort antal försök att utveckla mer pålitliga och effektiva metoder. Bland de undersökta metoderna för BOD-analys behövs det dock generellt mer forskning och tillämpningar med riktigt avloppsvatten samt bevisad stabilitet innan de kan konkurrera med BOD_{5/7} som ledande teknik.

5.1 Analysmetoder

Bland de undersökta metoderna är antalet rapporterade studier ofta få och gjorda med få prover, vilket ger bristfälligt underlag för en relevant jämförelse av hur väl metoderna korrelerar med standardmetoden. Däremot återfinns andra parametrar som tydligt talar för och emot respektive metod. En sammanfattning av viktiga för- och nackdelar för respektive metod ses i tabell 1. Den långa analystiden är ett av de främsta skälen till att det finns behov av nya metoder för BOD-analys. Av denna anledning görs bedömningen att den manometrisk metod, som har samma analystid som BOD_{5/7}, inte är en intressant kandidat för att ersätta standardmetoden.

Övriga metoder har kort analystid, men detta innebär också att BOD₇ måste uppskattas från empiriskt framtagna samband. Bland de snabba analysmetoderna verkar BOD-analys baserad på bioreaktorer med respirometri för tillfället vara den mest relevanta kandidaten till att ersätta BOD₇. Det finns flera sensorer representerade på marknaden, och samtliga marknadsförda bioreaktor-sensorer är enligt respektive tillverkare stabila, ger snabb mätdata och har ett brett mätområde. Oberoende studier som bekräftar dessa uppgifter har inte hittats.

Även mikrobiella bränsleceller har kort analystid och stort mätintervall men har i flera studier uppvisat mätosäkerhet. I vårt experiment varierade variationskoefficienten mellan 1.48 och 20.84 % med avseende på coulomb/dag samt mellan 1.66 och 11.56 % med avseende på maximal strömproduktion. Detta kan bero på att biofilmen som bildas på anoden skiljer sig från fall till fall, vilket innebär en varierande andel strömproducerande bakterier. Även de icke-strömproducerande bakterierna oxiderar organiska ämnen, varför det blir svårare att korrelera strömmen till det verkliga BOD-värdet. För att undvika detta krävs det att bränslecellen enbart innehåller bakterier som producerar ström, men detta är omöjligt om bakterierna ympas från slam. I vårt experiment varierade den coulombiska effektiviteten inom intervallet 7.65–16.50 % vilket tyder på stark konkurrens med andra icke strömproducerande bakterier. Endast en kommersialiserad mikrobiell bränslecell hittades, vilket indikerar att metoden ännu inte anses pålitlig.

Biosensorer med immobiliserade bakterier har i många studier påvisat god korrelation med standardmetoden, men har kort livslängd. Om detta problem kan lösas i framtiden kan dessa sensorer utgöra ett möjligt alternativ. Redox-mediatorer bedöms inte heller som ett attraktivt alternativ, eftersom metoden kräver kontinuerlig tillsats av kemikalier. Biosensorer baserade på bakteriell bioluminiscens är ännu inte tillräckligt undersökta för att utgöra ett realistiskt alternativ. Dessutom har endast en typ av bakterie använts i befintliga studier, varför vi tvivlar på hur väl denna typ av sensor fungerar på riktigt avloppsvatten.

5.2 Marknadsundersökning

BOD₇ är enligt svensk lagstiftning den metod som avloppsreningsverk ska använda vid BOD-analys, vilket medför att det i dagsläget inte finns möjlighet att direkt ersätta BOD₇. Till en början skulle en ny metod kunna introduceras för att utföra analyser parallellt med den traditionella BOD₇-metoden. Intresset bland avloppsreningsverken är emellertid svalt eftersom de i dagsläget inte använder BOD-värden för att styra sin process. Detta tros bero på den långa analystiden samt att korrelation med COD och TOC anses tillgodose de behov som finns. Att introducera nya BOD-sensorer utan att använda mätvärden till processtyrning skulle alltså i realiteten innebära en extra kostnad utan något egentligt användningsområde.

Om det skulle öppnas upp för nya analysmetoder med kortare analystider skulle en möjlighet för processoptimering och styrning baserat på BOD-halten vara möjlig. En annan fördel om processtyrning skulle kunna ske baserat på BOD-halten är att dagens analyser av COD möjligen skulle kunna fasas ut. Vid utförandet av COD-analys brukas både kvicksilver och kromat, vilket är två natur- och hälsovådliga ämnen.

5.3 Experimentellt arbete

Resultatet antyder att mikrobiella bränsleceller kan hantera korta svältperioder tämligen väl. Den tid det tar för cellerna att återhämta sig har varit kort eller obefintlig, och funktionen i stort sett bevarad. Efter en svältperiod återhämtar sig inte strömproduktionen till sitt tidigare stabilitetsvärde, vilket är statistiskt säkerställt i nästan samtliga fall. Det kan bero på att det sitter ett dött lager av strömproducerande bakterier på anoden eller att andra bakterier klarar av svält bättre än strömproducerande bakterier, vilket i så fall leder till en annan komposition av bakteriestammen och därmed lägre strömproduktion. I mindre än hälften av fallen syns en statistiskt säkerställd skillnad i den laddning som transporteras per dygn. Dessa värden är dock känsligare för felkällor såsom den bakteriella tillväxt som skett i feeden under experimentets gång och de få mätpunkter som användes, eftersom standarddeviationen för laddningen är högre än den för ström. Det verkar alltså, med hänsyn till strömproduktionen, vara lämpligt att kalibrera om cellerna om de utsätts för svält. Efter kalibrering bör cellerna återigen vara funktionella.

Det förekommer ingen observerbar skillnad mellan celler som haft öppen eller sluten krets. Kanske är svältperioden för kort för att det ska bli någon märkbar skillnad. Kanske innebär sluten krets inte så stor fördel eftersom det ändå inte finns något organiskt material tillgängligt. Det kan också vara så att bakterierna kan byta mellan olika elektronacceptorer som finns tillgängliga i lösningen, och därmed fortsätta respirera.

Under svältperioden ökar strömproduktionen när näringslösningen tillsätts. Anledningen till detta kan tänkas bero på att bakterierna kan oxidera vitaminer i näringslösningen eller att de oxiderar döda bakterier men behöver vissa näringsämnen för att kunna genomföra oxidationen. I fortsatta studier kan det vara av intresse att försöka förhindra detta beteende och analysera skillnader i resultat.

6 SLUTSATS

En tillförlitlig och grundligt beprövad analysmetod krävs innan ett byte av den standardiserade metoden kan övervägas. Det hade varit fördelaktigt att kunna mäta den riktiga BOD-halten och inte behöva korrelera med andra mätvärden såsom COD och TOC. De metoder som vi anser i framtiden kan konkurrera med den standardiserade metoden är främst bioreaktorer men även mikrobiella bränsleceller.

Utifrån våra experiment med mikrobiella bränsleceller drar vi slutsatsen att svältperioder påverkar bakteriestammen negativt och därmed bör undvikas. Om en kortare svältperiod är oundviklig verkar det som att mätutrustningen bör kalibreras om för att kompensera för den lägre strömproduktionen, men efter en kalibrering bör utrustningen återigen vara funktionell.

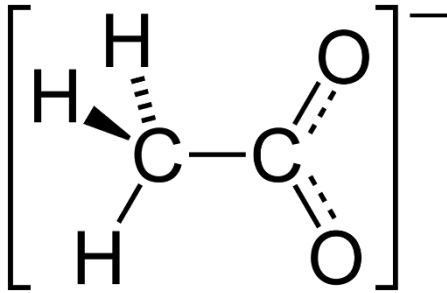
Generellt kan sägas att det är stor skillnad på stabiliteten mellan bränslecellerna som tillförts glukos och de som tillförts acetat. Glukos är en mer komplex molekyl, och är alltså svårare att bryta ned. Glukos bör således representera avloppsvatten bättre än acetat. I kommande forskning inom mikrobiella bränsleceller för BOD-mätning anser vi att en mer komplex sammansättning av organiskt material bör användas. Förslagsvis kan en blandning av olika organiska ämnen användas, och kompositionen kan varieras under experimentets gång, för att ytterligare efterlikna komplexiteten och variabiliteten hos verkligt avloppsvatten. Dessutom föreslår vi att strömproduktion under svältperioder bör undvikas genom att antingen modifiera näringslösningen eller att utesluta den helt.

7 KÄLLFÖRTECKNING

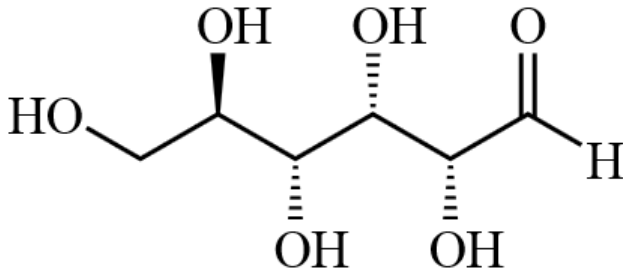
- Arends, J. B. A. (2017). The next step towards usable microbial bioelectrochemical sensors? *Microbial Biotechnology*. <http://doi.org/10.1111/1751-7915.12590>
- Bioscience, I. (u.å.). Bioscience, Inc. - Wastewater Treatment, MICROCAT Microbials, Analytical Instruments. Hämtad 05 maj 2017, från <http://www.bioscienceinc.com/>
- Caldwell, D. ., & Langelier, W. F. (1948). Manometric Measurement of the Biochemical Oxygen Demand of Sewage Reviewed work (s): MANOMETRIC MEASUREMENT OF THE BIOCHEMICAL OXYGEN DEMAND OF SEWAGE *. *Water Environment Federation*, 20(2), 202–218. Hämtad från http://www.jstor.org/stable/25030825?seq=1#page_scan_tab_contents
- Chang, I. S., Jang, J. K., Gil, G.-C., Kim, M., Kim, H. J., Cho, B. W., & Kim, B. H. (2004). Continuous determination of biochemical oxygen demand using microbial fuel cell type biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 19(6), 607–613. [http://doi.org/DOI:10.1016/S0956-5663\(03\)00272-0](http://doi.org/DOI:10.1016/S0956-5663(03)00272-0)
- Forbes Marshall. (2017). BOD Analyser. Hämtad 05 maj 2017, från https://www.forbesmarshall.com/fm_micro/Products1.aspx?nocrawl=false&flag=0&id=analytics&pid=542&pName=BOD Analyser
- Hauser, E. (2007). BOD Measurement BIOX Continuous on-line analyzer for BOD measurement in industrial and municipal wastewater treatment plants Application Measurement in wastewater liquids: Detection of product loss Detection of BOD load peaks Reduction of electricity and. Hämtad 05 maj 2017, från http://www.axonautomation.ca/E+H Literature/TIs/menu/docs/TIs/Analysis/STIP/TI806CAE_STIP_BIOX_TI.pdf
- Jouanneau, S., Recoules, L., Durand, M. J., Boukabache, A., Picot, V., Primault, Y., ... Thouand, G. (2014). Methods for assessing biochemical oxygen demand (BOD): A review. *Water Research*, 49(1), 62–82. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2013.10.066>
- Karube, I., Matsunaga, T., Mitsuda, S., & Suzuki, S. (1977). Microbial electrode BOD sensors. *Biotechnology and Bioengineering*, 19(10), 1535–1547. <http://doi.org/10.1002/bit.260191010>
- KELMA. (u.å.). Kelma - products - RODTOX NG. Hämtad 05 maj 2017, från <http://www.kelma.com/product/71/rodtox-ng>
- Kim, M., Youn, S. M., Shin, S. H., Jang, J. G., Han, S. H., Hyun, M. S., ... Kim, H. J. (2003). Practical field application of a novel BOD monitoring system. *Journal of environmental monitoring : JEM*, 5(4), 640–643. <http://doi.org/10.1039/b304583h>
- Koch, C., & Harnisch, F. (2016). Is there a Specific Ecological Niche for Electroactive Microorganisms? *ChemElectroChem*, 3(9), 1282–1295. <http://doi.org/10.1002/celec.201600079>
- KORBI Co., L. (u.å.). Online BOD Analyzer(id:2926) Product details - View Online BOD Analyzer from KORBI Co., Ltd. - EC21. Hämtad 05 maj 2017, från http://korbi.en.ec21.com/Online_BOD_Anlyzer--2925_2926.html
- LAR - PROCESS ANALYSERS AG. (u.å.). BOD Analyzer BioMonitor - LAR Process Analysers. Hämtad 05 maj 2017, från <https://www.lar.com/products/bod-toxicity/bod-analyzer-biomonitor.html>
- Liu, J., & Mattiasson, B. (2002). Microbial BOD sensors for wastewater analysis. *Water Research*, 36(15), 3786–3802. [http://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00101-X](http://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00101-X)
- Liu, L., Chou, T. Y., Lee, C. Y., Lee, D. J., Su, A., & Lai, J. Y. (2016). Performance of freshwater sediment microbial fuel cells: Consistency. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(7), 4504–4508. <http://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.07.139>
- Logan, B. E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., ... Rabaey, K.

- (2006). Microbial fuel cells: Methodology and technology. *Environmental Science and Technology*. American Chemical Society. <http://doi.org/10.1021/es0605016>
- Melnyk, R. A., & Coates, J. D. (2011). Microbial fuel cells. *Access Science*. <http://doi.org/10.1036/1097-8542.YB110041>
- Modin, O. (2017.) Introduktion till kandidatarbete. Chalmers tekniska högskola: Institutionen för miljö- och vattenkemi. Opublicerat manuskript.
- Modin, O., Aulenta, F., Harnisch, F., Patil, S. A., Carmona-Martinez, A. A., Agarwal, S., ... Breukelen, B. M. van. (2017). Three promising applications of microbial electrochemistry for the water sector. *Environ. Sci.: Water Res. Technol.*, 156, 1–13. <http://doi.org/10.1039/C6EW00325G>
- Modin, O., & Gustavsson, D. J. I. (2014). Chalmers Publication Library Opportunities for microbial electrochemistry in municipal wastewater treatment – an overview Opportunities for microbial electrochemistry in municipal wastewater treatment – an overview. *Water Science and Technology*, 69(7), 1359–1372. Hämtad från <http://publications.lib.chalmers.se/publication/197084>
- Naturvårdsverket. (2010). Utsläpp i siffror - Biokemisk syreförbrukning, 7 dygn (BOD7). Hämtad 03 maj 2017, från <https://utslappisiffror.naturvardsverket.se/Amnen/Organiska-amnen/Biokemisk-syreforbrukning-7-dygn-BOD7-/>
- Naturvårdsverket. (2016). NFS 2016:6 Naturvårdsverkets föreskrifter om rening och kontroll av utsläpp av avloppsvatten från tätbebyggelse. Hämtad 03 maj 2017, från <http://www.naturvardsverket.se/Documents/foreskrifter/nfs2016/nfs-2016-6.pdf>
- Pasco, N., Baronian, K., Jeries, C., & Hay, J. (2000). Biochemical mediator demand - a novel rapid alternative for measuring biochemical oxygen demand. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(5), 613–618. <http://doi.org/10.1007/s002530051666>
- Sakaguchi, T., Kitagawa, K., Ando, T., Murakami, Y., Morita, Y., Yamamura, A., ... Tamiya, E. (2003). A rapid BOD sensing system using luminescent recombinants of *Escherichia coli*. *Biosensors and Bioelectronics*, 19(2), 115–121. [http://doi.org/10.1016/S0956-5663\(03\)00170-2](http://doi.org/10.1016/S0956-5663(03)00170-2)
- Sakaguchi, T., Morioka, Y., Yamasaki, M., Iwanaga, J., Beppu, K., Maeda, H., ... Tamiya, E. (2007). Rapid and onsite BOD sensing system using luminous bacterial cells-immobilized chip. *Biosensors and Bioelectronics*, 22(7), 1345–1350. <http://doi.org/10.1016/j.bios.2006.06.008>
- Svenskt vatten. (2016a). Avloppsfakta - Svenskt Vatten. Hämtad 11 maj 2017, från <http://www.svensktvatten.se/fakta-om-vatten/avloppsfakta/>
- Svenskt vatten. (2016b). Hur renas avloppsvattnet - Svenskt Vatten. Hämtad 06 februari 2017, från <http://www.svensktvatten.se/fakta-om-vatten/avloppsfakta/hur-renas-avloppsvattnet/>
- Weng, H. L., & Lee, D. J. (2015). Performance of sulfate reducing bacteria-microbial fuel cells: Reproducibility. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 56, 148–153. <http://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.04.028>
- Yoshida, N., Yano, K., Morita, T., McNiven, S. J., Nakamura, H., & Karube, I. (2000). A mediator-type biosensor as a new approach to biochemical oxygen demand estimation. *Analyst*, 125(12), 2280–2284. <http://doi.org/10.1039/b005995l>

BILAGA 1 - STRUKTURFORMLER



Figur 6: Strukturformel av acetatjonen, CH_3CO_2^- .



Figur 7: Strukturformel av glukos, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$.

BILAGA 2 – MEJLSVAR FRÅN ENKÄT

Mejlsvaren från undersökning av analys av BOD vid reningsverk runtom i Sverige.

VAKIN

1. BOD₇. Samtliga analyser genomförs av Alcontrol.
2. Ca 9 dagar från inlämnade av prov till levererad analysrapport. Självklart skulle det vara positivt med en snabbare analysmetod, men även om tiden skulle kunna kortas ned till ex 3 dagar, kan vi ändå inte styra processen utifrån resultatet.
3. Vet ej.
4. Nej, eftersom vi inte utför analyserna själva. Vi har dock deltagit i en studie för att ta fram en on-line metod för bestämning av COD och därigenom få en uppskattning av BOD. Tyvärr har detta stannat på utvecklingsstadiet.

GRYYAB

1. Vi skickar våra BOD prover för utsläppskontroll till ackrediterade lab och analyserar vårt utgvatten veckoprover med en kuvett metod från Hach, LCK 554 0,5-12 mg/L. Våra prover är oftast över 5 -10 mg/L men ibland är det högre och då ser vi att denna metod avviker från SE-EN 1899-1 (7 dygn) som det ackrediterade labbet använder.
2. Både den vi kör själva och den som ackrediterade lab kör är 7 dygn men med transport tid, rapportering är det minst 10 dagar oftast 14 dagar. Behovet har ökat med det att det finns en risk att COD_{Cr} förbjuds då den innehåller både kvicksilver och dikromat.
3. Vad de ackrediterade labbet använder vet jag ej men vi läser av våra kuvetter i en spektrofotometer från Hach modell DR 6000.
4. Vi håller på att prova en flaskmetod med syregivare på Oxitop men har ej tillräckligt med data för att uttala om den är användbar eller ej. Det som den ev fördelen är att man kan avläsa den under analystiden. Vi använder idag COD och till viss del TOC för att få en bild av BOD halten men eftersom det är olika saker som analyseras och framför allt noggrannhet/spridning för de olika metoderna varierar har vi fram till nu svårt med korrelation på låga halter, 3-10 mg/L BOD. Sen vet jag att flera kollegor använder BOD robotar från Skalar men analystiden är fortfarande 7 dygn.

Käppala

1. Vi skickar till ett externt laboratorium för analys av BOD₇ enligt standardmetoder 1899-1 och 1899-2, men vi håller på att ackreditera för att utföra dessa själva.
2. Analystiden är ju en vecka på BOD₇ men svarstid från externa laboratoriet är 2-3 veckor. Detta är främsta anledningen till att vi vill göra det själva.
3. Vi har skaffat en BOD-robot Skalar SP2000-3 för att underlätta analyseringen.

Jönköping (Simsholmens)

1. SS-EN 1899-1, utgåva 1
2. Analystiden är 7 dygn dvs. BOD-7, i dagsläget har vi inte behov av snabbare resultat i egenkontrollprogrammen men som driftanalys skulle det vara intressant med en snabbare metod för BOD.

3. Syremätaren WTW Oxi 538 med inbyggd omrörare och inkubatorn med temp 20 ± 1 °C i 7 dygn ± 4 h.
4. Analysen BOD7 finns med i avloppsreningsverkens tillståndskrav och därmed inte utbytbar. Skulle det i framtiden finnas motsvarande analys med kortare analysid skulle den kunna ersätta befintlig BOD7 metod efter jämförande mätningar. Dock under förutsättning att tillsynsmyndigheterna godkänner ett byte av metod.

SYVAB

1. Vi skickar till ackrediterat laboratorium. Vi analyserar BOD7.
2. Eftersom vi skickar prover till ackr. labb tar det 2-3 veckor innan vi får resultatet. Vi kan inte styra reningsverket på dessa ”gamla” resultat utan de används enbart för uppföljning av våra villkor och rapportering till myndigheter. Vi har krav på att mäta BOD7. Syvab har ett driftlabb och där kör vi TOC istället för BOD7 i syfte att få snabb respons och kunna göra snabba ändringar i reningsverkets processer.
3. Vet ej, vi anlitar ALcontrol för analys. Metoden som används är SS-EN 1899-1.
4. Vi kör som sagt TOC på vårt eget labb för att styra verket. Dessa värden redovisas inte till myndigheter. Vi har inte diskuterat att byta BOD-analysen i och med att vi har krav på att mäta detta och rapportera resultaten till myndigheter. För att ändra till en annan analys än BOD7 så krävs det att den nya metoden godkänns av Naturvårdsverket.

Stockholm vatten och avfall

På Henriksdals reningsverk mäter vi BOD7 på våra dygnsprov och TOC på våra dygnsprov och veckoprov. Alla prov analyseras som Cajsas säger av Eurofins i Lidköping. TOC mäter vi istället för COD eftersom det är okej enligt naturvårdsverket så länge ett bestämt förhållande kan fastslås. Vad jag vet så finns det ingen sådan accepterad ersättningsparameter för BOD7 men det skulle såklart vara av intresse för oss att kunna få snabbare analysvar. Samtidigt har vi idag bra online-instrument för exempelvis slamhalt och fosfat som ger oss snabba svar på processförändringar och en indikation på BOD.

Eftersom vi har ett gränsvärde på BOD7 att förhålla oss till måste vi även, enligt naturvårdsverket, mäta BOD7 på det bräddade vattnet. Det vill säga vatten som inte går via ordinarie provtagare. Här har vi beviljats ett undantag av tillsynsnämnden och använder istället en beräkning för att uppskatta BOD7 i det bräddade vattnet. Det skulle nämligen vara logistiskt sätt väldigt svårt för oss att skicka iväg representativa prover vid samtliga bräddtillfällen eftersom vi använder ett externt laboratorium. Så det vore ju på så sätt intressant med en alternativ metod som exempelvis tillåter att bräddprovet kan konserveras och sedan skickas iväg med ordinarie prover. Men det kanske är önsketänkande?

Luleå kommun

1. SS-EN 1899 utg 1 ISO17089
2. 7 dygn, snabbare metod är alltid bra att få.
3. Hach Lange. LBOD 10101-01
4. Hade bytt ut elektrod mot optisk för ca 2 år sedan. Nöjda med resultat.

Hudiksvall kommun

1. Vi skickar till ackrediterat laboratorium och de använder metod SS EN 1899 1-2:1998
2. Den är på 7 dagar. Oftast har vi inte behovet av en snabbare analys eftersom vi har eget driftlaboratorium där vi dagligen kollar upp fosforhalten vilket indikerar kvalitén på vattnet. Men det uppstår ca 1-2 ggr/ år då det skulle vara bra med en snabbanalys.
3. Ingen aning
4. Nej det har vi inte, analyserna vi beställer grundar sig på gällande beslut från tillsynsmyndighet och naturvårdsverkets föreskrifter.

Gästrike vatten (2 svar)

Jag kör inget ackrediterat laboratorium utan endast för internt bruk "driftlaboratorium".

1. Jag skickar till Eurofins, vid internanalys används "SS-EN 1899-1"
2. 7 dagar, nej inte i nuläget.
3. Hach HQ440d multi
4. NEJ, oftast utgår BOD7 då det är tidskrävande och annat prioriteras då analysen görs externt via Eurofins.

Vid Gästrike Vatten har vi ett litet ackrediterat laboratorium som servar två reningsverk och utför analyser på driftparametrar. För analyser för övriga 12 reningsverk skickas prover till Eurofins. Vi utför interna driftkontroller vid det största av våra reningsverk, inte så mycket BOD7.

1. Vi använder analysmetoderna SS-EN 1899-1 och ISO 17289:2014. Vi har även möjlighet att skicka prov till ett annat ackrediterat laboratorium.
2. Vi använder BOD7, och det är klart att kan man använda en snabbare metod vore det bra. Vi får ändå en indikation genom CODcr och TOC.
3. Vi använder Optisk sensor metod för avläsning, ISO 17289, HACH:s HQ440d multi.
4. Vi har inte diskuterat att byta metod.

Eurofins

"Vi använder europastandarden EN 1899-1:1988

Vattenundersökningar - Bestämning av biokemisk syreförbrukning efter n dagar (BOD") - Del 1: Utspädningsmetod med tillsats av allyltiourinämne (ISO 5815:1989, modified)

för att analysera BOD-halter

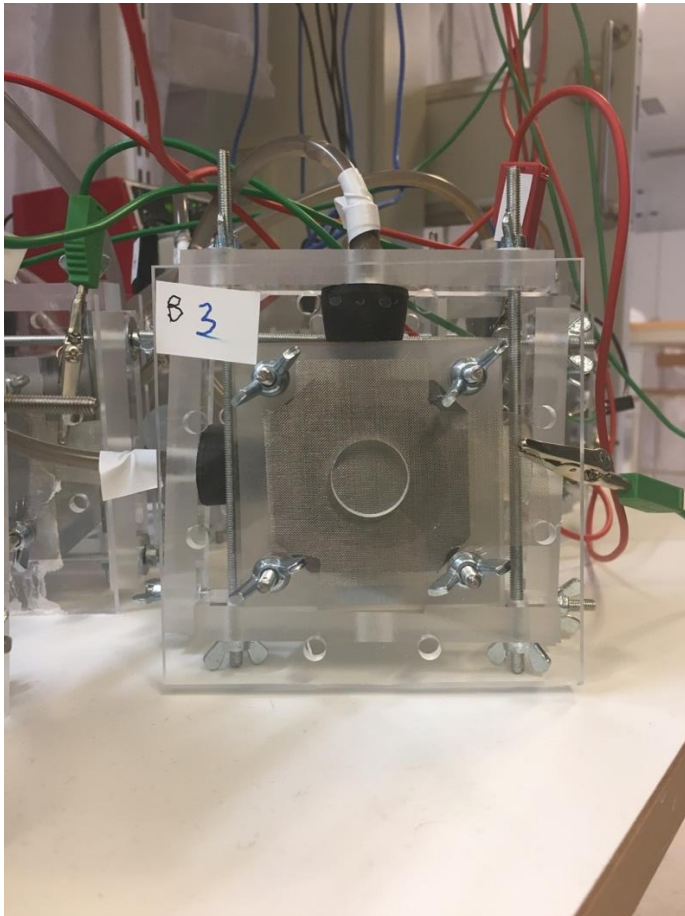
Denna europastandard beskriver bestämning av biokemisk syreförbrukning hos vatten genom utspädning och ympning efter tillsats av nitrifikationshämmare.

Denna standard kan användas för alla slag av vatten med en biokemisk syreförbrukning som är större eller lika med bestämningsgränsen 3 mg/L syre men inte större än 6000 mg/L syre. Metoden kan användas även vid en biokemisk syreförbrukning över 6000 mg syre per liter, men fel som beror på de spädningar som behövs påverkar analyskvaliteten och resultaten måste tolkas med försiktighet.

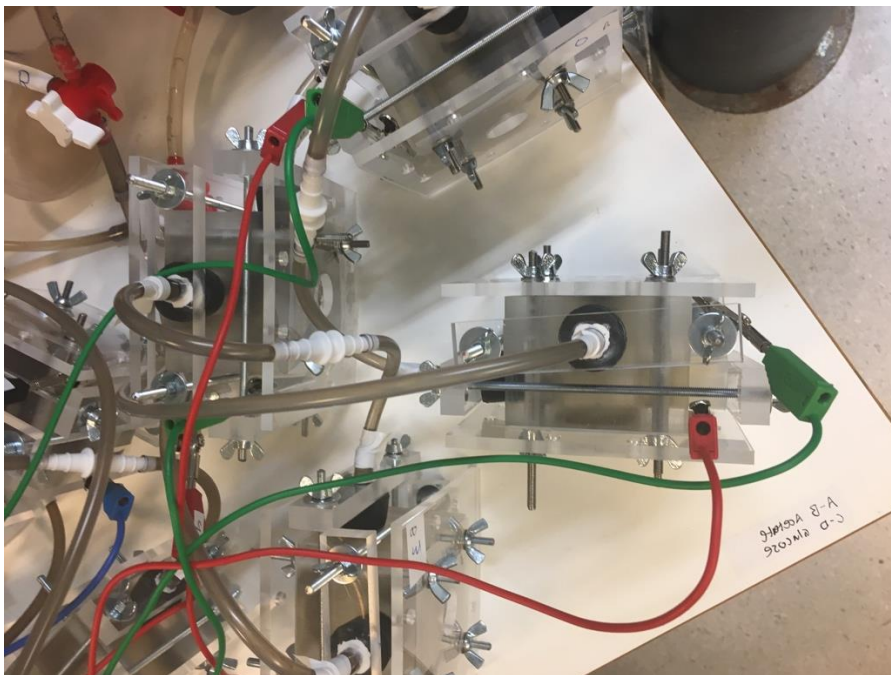
Vi kommer behöva ha en snabbare metod i framtiden.

Vi använder en robot som heter Skalar WSSPIP"

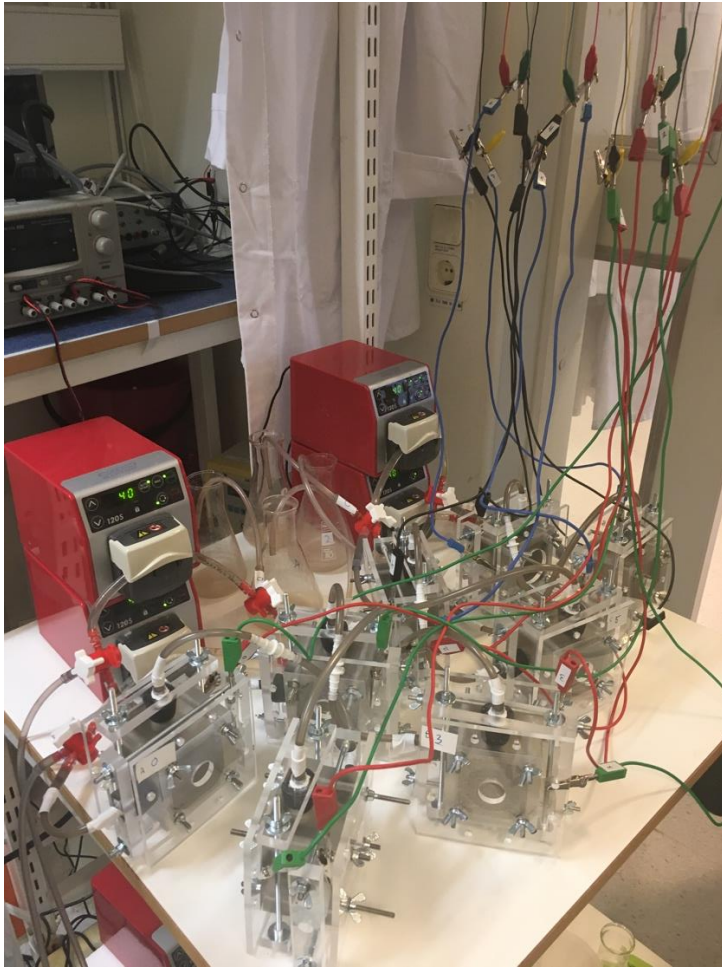
BILAGA 3 - BILDER



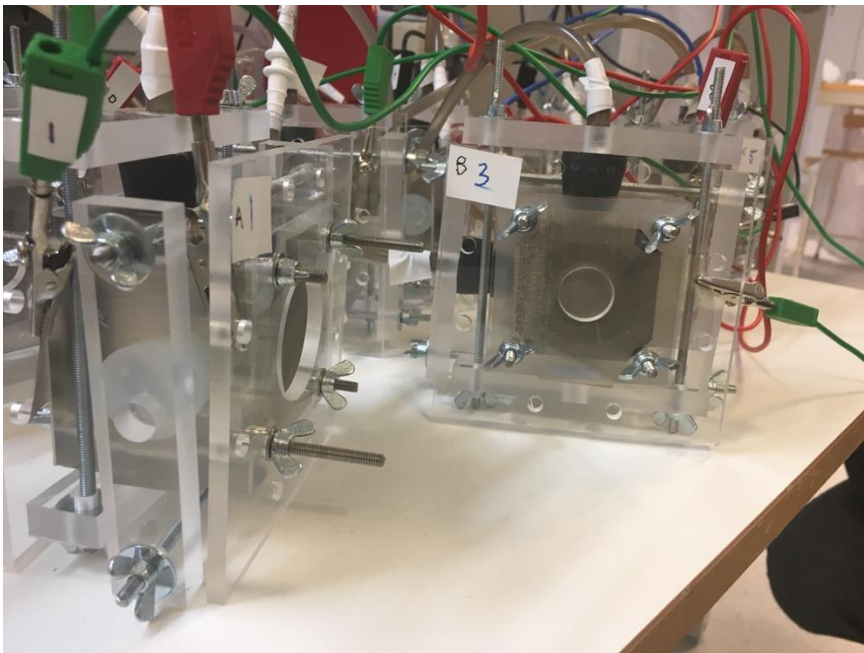
Figur 8: Visar uppställning utav en mikrobiell bränslecell, nummer 3.



Figur 9: Visar MFC från ovansidan.



Figur 10: Uppställning av alla 8 MFC med respektive pumpar och sladdar till resistorerna.



Figur 11: MFC både framifrån och även från sidan.

BILAGA 4 - RECEPT**Detaljerat recept på näringslösningen:**

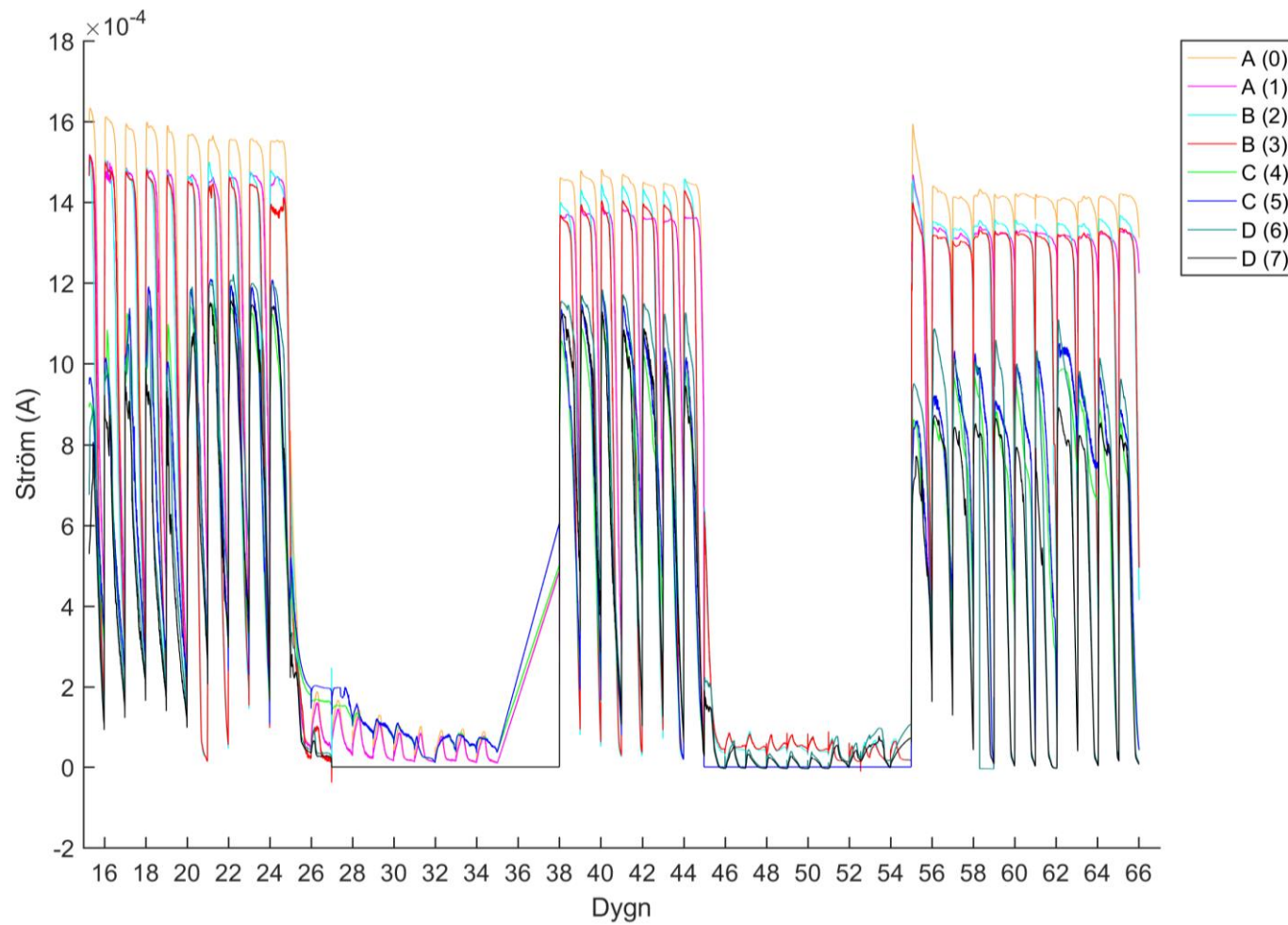
KCl	0,1 g/L
KH ₂ PO ₄	0,6 g/L
NH ₄ Cl	0,25 g/L
NaHCO ₃	4 g/L
MgCl ₂	0,1 g/L
CaCl ₂	0,03 g/L

Vitaminlösning (2 mL/L tillsätts)

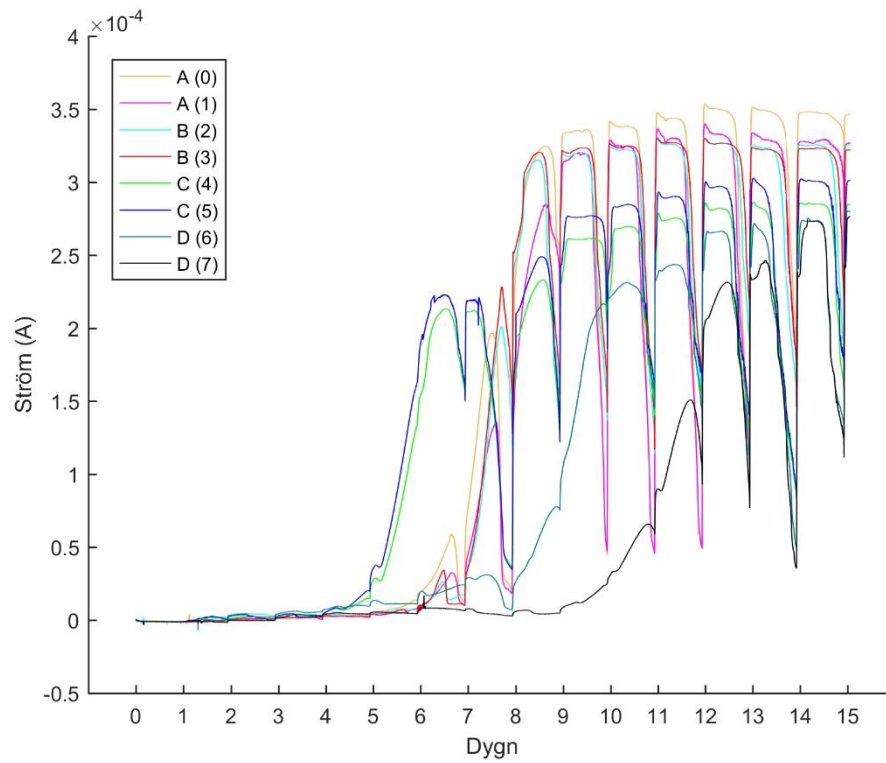
Biotin	20 mg/L
Folic acid	20 mg/L
Pyridoxine-HCl	100 mg/L
Thiamine-HCl*2H ₂ O	50 mg/L
Nicotinic acid	50 mg/L
D-Ca Pantothenic acid	50 mg/L
Vitamin B12	1 mg/L
p-Aminobenzoic acid	50 mg/L
Lipoic acid	5 mg/L

Spårämneslösning (20 mL/L tillsätts)

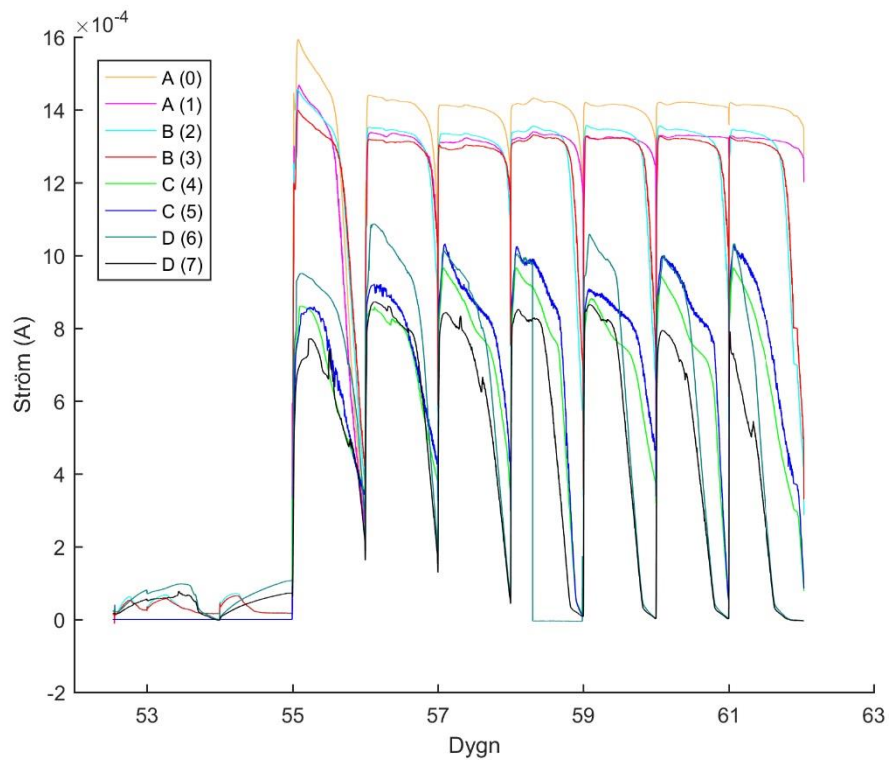
ZnCl ₂	85 mg/L	
CuSO ₄ *5H ₂ O		10 mg/L
H ₃ BO ₃	10 mg/L	
Na ₂ SeO ₃ *5H ₂ O	0,3 mg/L	
Na ₂ WO ₄ *H ₂ O		0,4 mg/L
CoCl ₂ *6H ₂ O	152 mg/L	
NiCl ₂	10 mg/L	
NaCl	1000 mg/L	
MnCl ₂ *4H ₂ O	500 mg/L	
FeSO ₄ *7H ₂ O	100 mg/L	
MgSO ₄ *7H ₂ O		3000 mg/L
H ₂₄ Mo ₇ N ₆ O ₂₄ *4H ₂ O	10 mg/L	
Al(SO ₄) ₃ *18H ₂ O	20 mg/L	
CaCl ₂ *2H ₂ O	100 mg/L	
Nitrilotriacetic acid	1500 mg/L	

BILAGA 5 – GRAFER

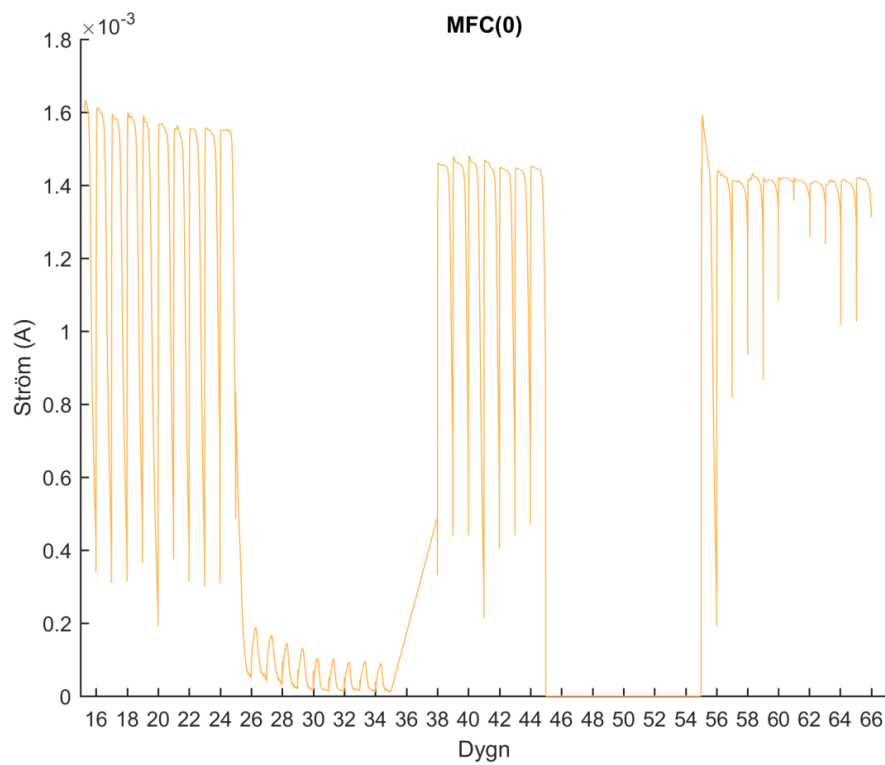
Figur 12: Strömproduktion för alla MFC (0-7) dygn 16-66.



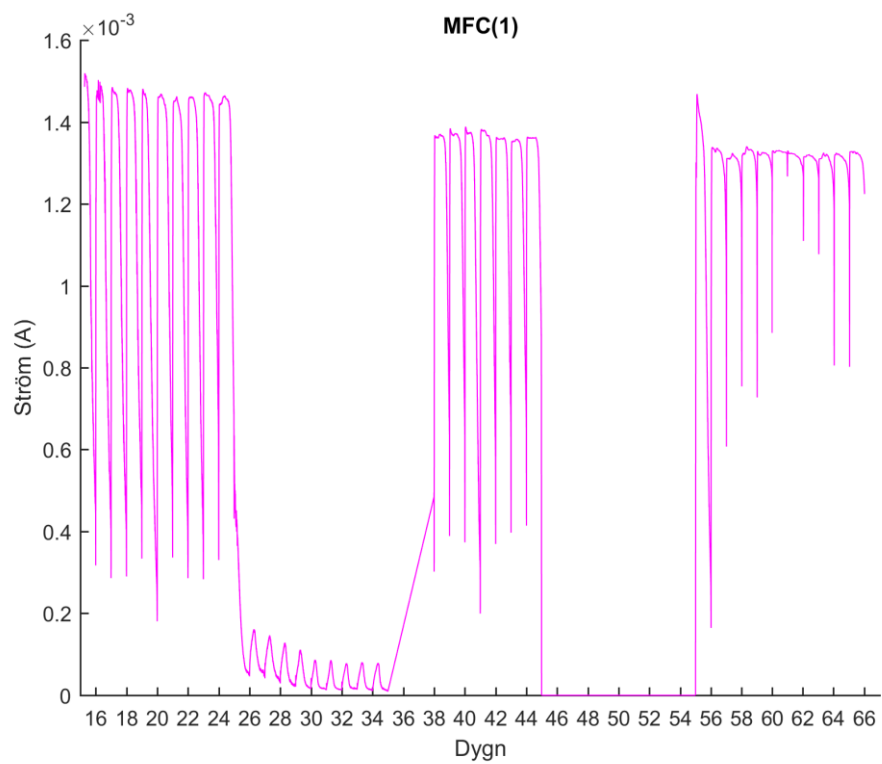
Figur 13: Strömproduktion för alla MFC (0-7) dygn 0-15, före den första svältperioden.



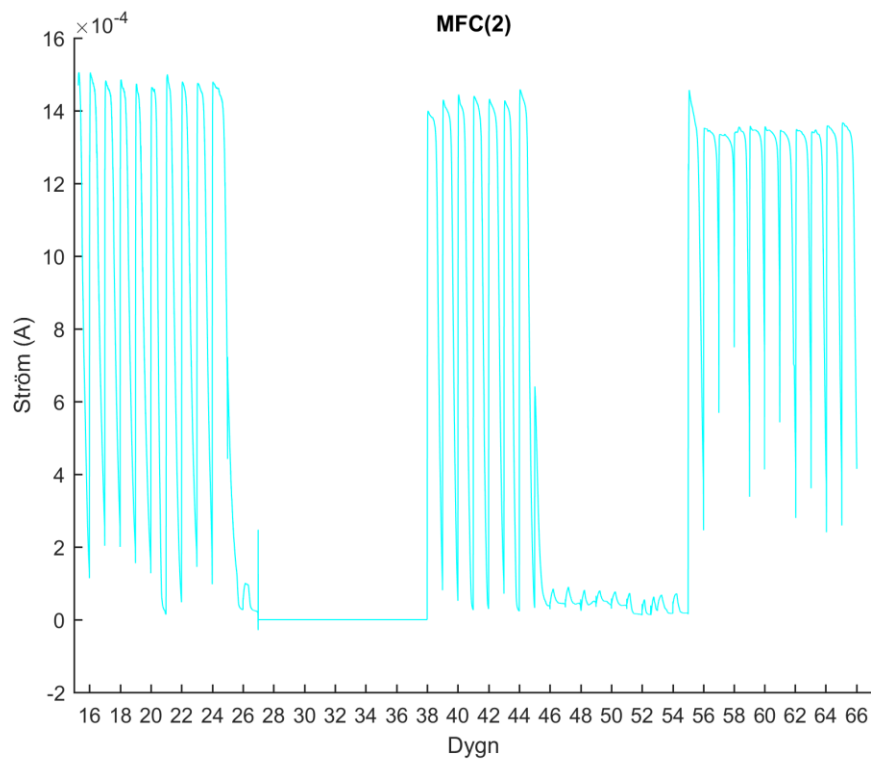
Figur 14: Strömproduktion för alla MFC (0-7) efter den andra svältperioden.



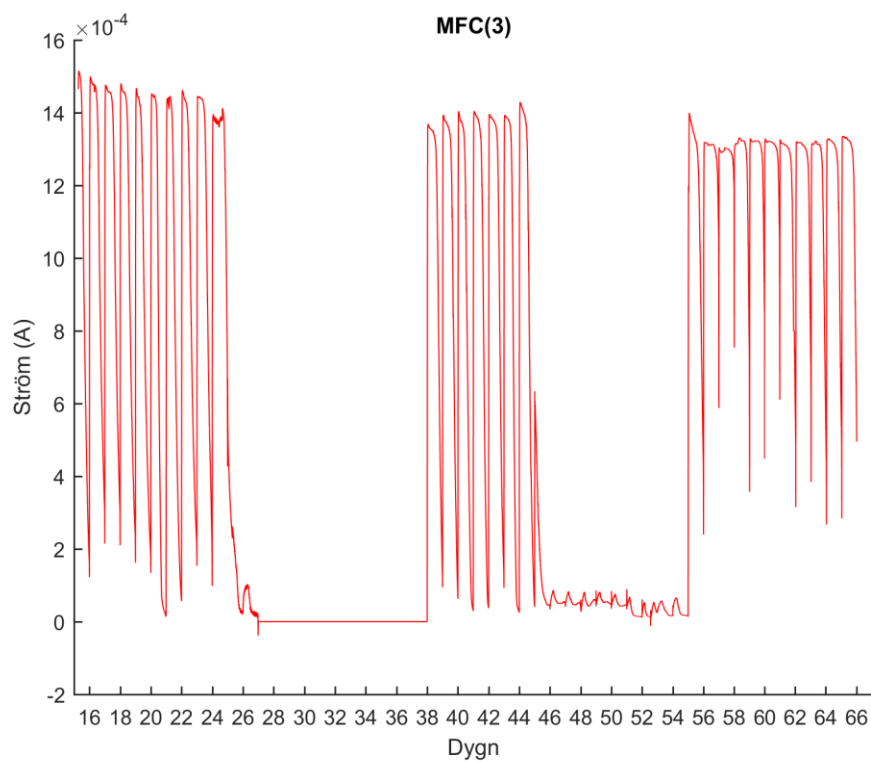
Figur 15: Strömproduktion för MFC (0) dygn 16-66.



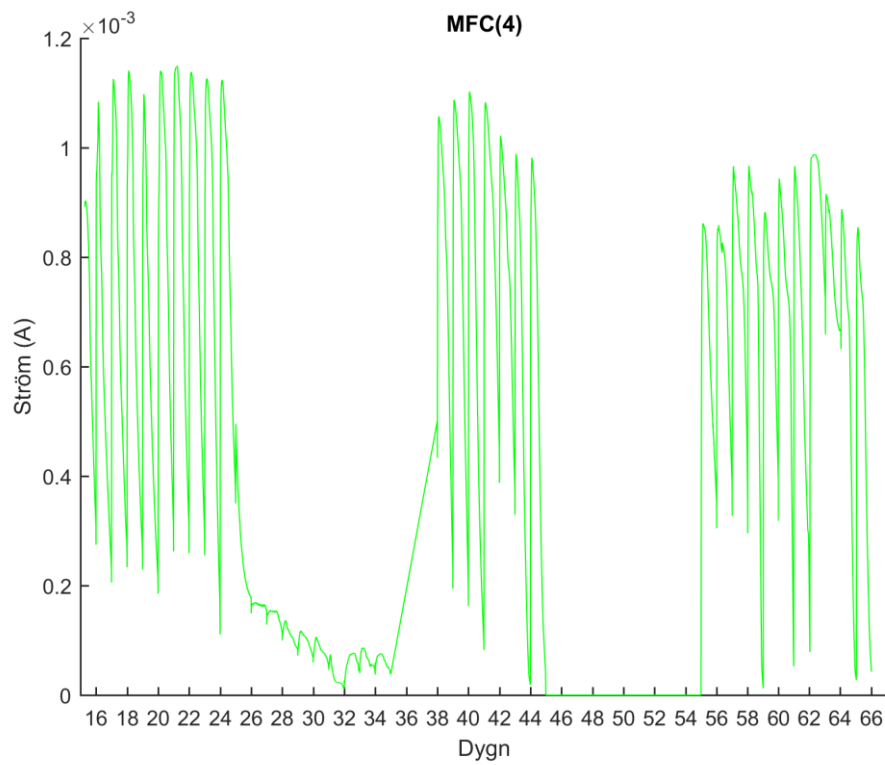
Figur 16: Strömproduktion för MFC (1) dygn 16-66.



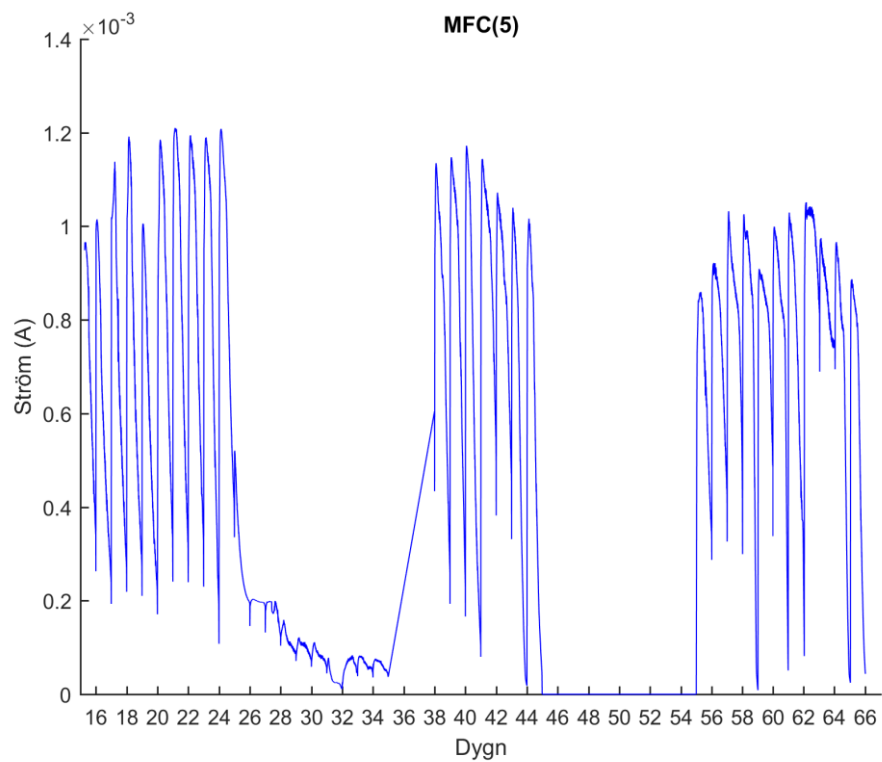
Figur 17: Strömproduktion för MFC (2) dygn 16-66.



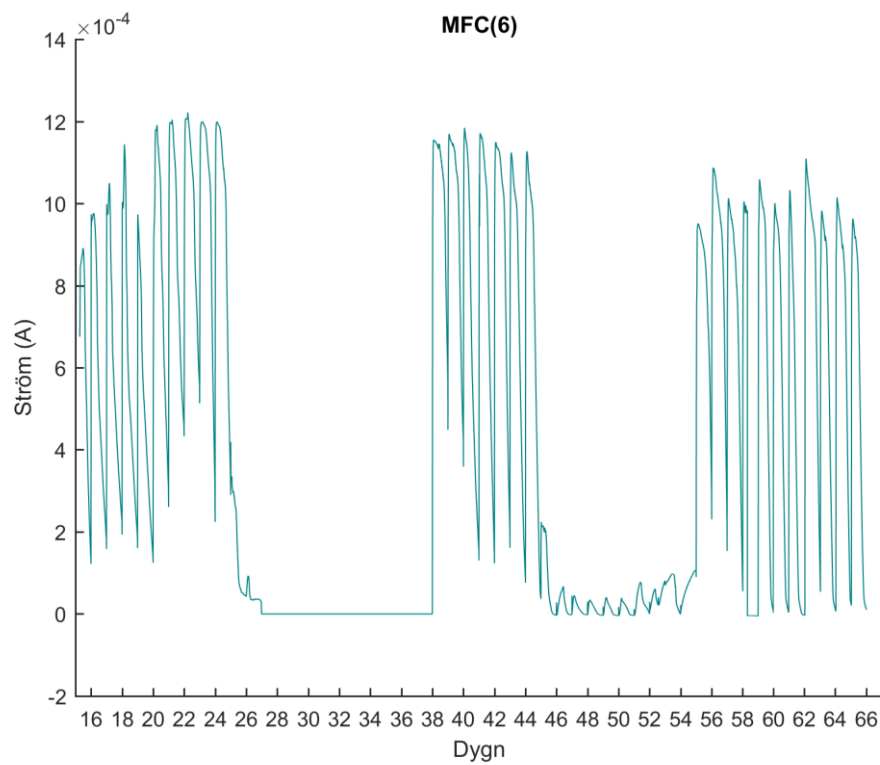
Figur 18: Strömproduktion för MFC (3) dygn 16-66.



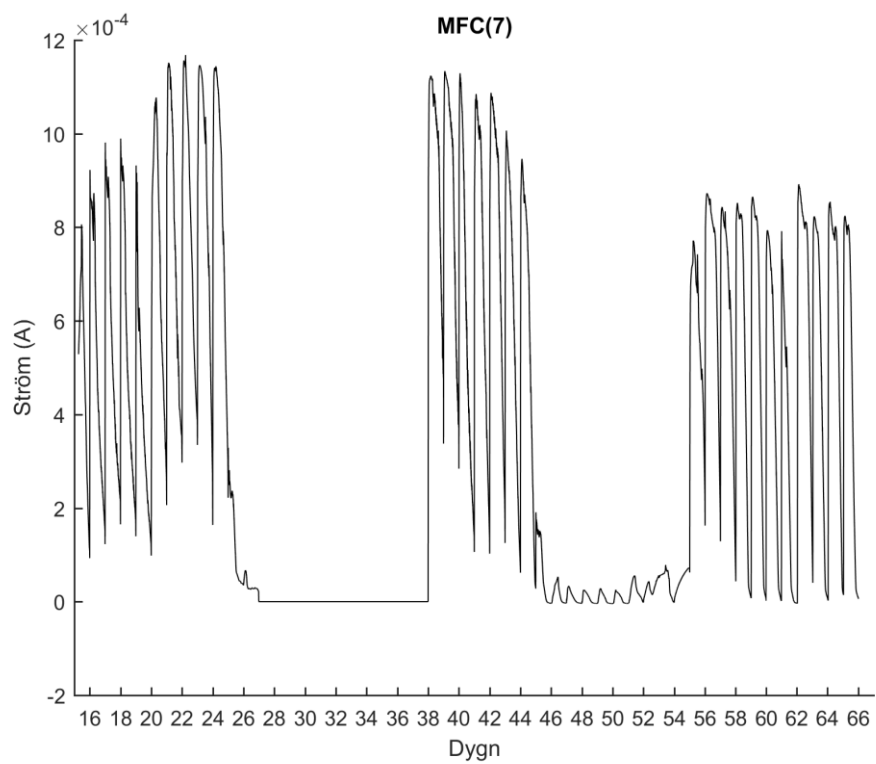
Figur 19: Strömproduktion för MFC (4) dygn 16-66.



Figur 20: Strömproduktion för MFC (5) dygn 16-66.



Figur 21: Strömproduktion för MFC (6) dygn 16-66.



Figur 22: Strömproduktion för MFC (7) dygn 16-66.