



Universitetet
i Stavanger

DET TEKNISK-NATURVITENSKAPELIGE FAKULTET

BACHELOROPPGAVE

Studieprogram/spesialisering:
Kjemi og miljø

Vårsemesteret, 2021

Åpen / Konfidensiell

Forfatter: Anita Fauske Tjelta

Veileder: Roald Kommedal

Tittel på bacheloroppgaven:

Endres biotilgjengeligheten av fosfor av våtmarken?

Studiepoeng: 15

Emneord:

Biotilgjengelig fosfor, konstruert våtmark,
alge-bioassay, mikrobrønn

Sidetail: 55

+ *vedlegg/annet:* 11

Stavanger, 14.juni.2021

Sammendrag

I Norge har fosfor skapt store problemer med eutrofiering. Ett av de tiltakene som har blitt gjennomført var å lage konstruerte våtmarker som skal hindre fosfor å ende opp i innsjøer. Mye forskning har hatt fokus på retensjon av partikulær fosfor og total fosfor, mens det finnes lite god forskning på retensjonen av biotilgjengelig fosfor.

Hovedfokuset i denne oppgaven har vært å utvikle en metode som er mer effektiv og som gjør det enklere å måle biotilgjengelig fosfor. Hypotesen i dette arbeidet er at våtmarken har en positiv effekt på biotilgjengelig fosfor. Det ble tatt en ukeblandprøve med delprøver hver 2. time av inn- og utløp på 9 uker i en periode fra mars til juni. Prøvene ble kjemisk analysert hver uke for totalt fosfor, ortofosfater og partikulær fosfor.

Resultatet av den kjemisk analyse er oppgitt med standardfeil. Test innløp hadde et gjennomsnitt av total fosfor (TP) på $295,62 \pm 51,03 \mu\text{g P/l}$, total reaktiv fosfor (TRP) på $161,67 \pm 34,54 \mu\text{g P/l}$, total løst fosfor (TDP) på $163,74 \pm 45,50 \mu\text{g P/l}$, og partikulær fosfor (PP) på $131,87 \pm 41,12 \mu\text{g P/l}$. Test utløp hadde et gjennomsnitt av TP på $148,58 \pm 50,36 \mu\text{g P/l}$, TRP på $58,04 \pm 8,32 \mu\text{g P/l}$, TDP på $122,98 \pm 49,80 \mu\text{g P/l}$ og PP på $25,70 \pm 6,89 \mu\text{g P/l}$. Dette gav en retensjon i Leikvollbekken av TP på 50%, 64% retensjon av TRP (hovedsakelig ortofosfater) og 81% retensjon av PP.

Samtidig med de kjemiske analysene ble det kjørt en egenutviklet algetest for å kunne se differansen mellom inn- og utløp av våtmarken for biotilgjengelig fosfor. En brønnplate-metode for algevekstmåling ble utviklet som del av arbeidet. Ved å bruke en mikroplateleser kan en måle algevekst ved å se på endring i klorofyll fluorescens over tid. Denne metoden er rask, enkel, kostnadseffektiv og er presis. I stedet for å bruke standardalger ble det valgt å bruke stedbundet alger fra teststedet, Store Stokkavannet. Det gir enkel tilgang til alger og en vet de vil representere algevekstpotensialet for den aktuelle vannressursen. I tillegg vil det også følge med andre mikroorganismer som er med på å gjøre potensiell biotilgjengelig fosfor biotilgjengelig for alger. Det ble kjørt to parallelle tester, en der det ble nytt et alge-inokulum direkte fra innsjøen og et alge-inokulum som ble forkultivert i laboratoriet før test.

Tester som inneholdt forkultiverte inokulum gav best utslag. Test 1 og 2 ble utelukket fra resultatet siden de ikke hadde utslag på positiv kontroll, og for høyt utslag på blank prøve. Det viste tydelig at det ikke var optimale forhold i testen. Det ble gjennomført endringer mellom test 2 og 3, og test 3 til 7 gav en god kontinuitet. Testen viste tydelige parameter med høy positiv kontroll og lav blank på alle testene. Dette tilsvarer godt hva en vil forvente av en batchkultur. Inokulumet direkte fra innsjøen gav ikke forventet resultat og hadde ingen kontinuitet i testene. En kunne se et utslag på test innløp som høyeste parameter og veldig varierende utslag på de andre parameterne.

Endres biotilgjengeligheten av fosfor av våtmarken?

Med utgangspunkt i at test 3-7 med forkultivert inokulum var valide ble differansen av biotilgjengelig fosfor beregnet ut fra disse 5 testene. Resultatene er oppgitt med et 95% konfidensintervall. Test innløp hadde et gjennomsnitt på $2\,273\,469 \pm 1\,358\,468$ celler/ml. Test utløp hadde et gjennomsnitt på $1\,038\,976 \pm 568\,372$ celler/ml. Det vil si at det er et gjennomsnitt på 54 % flere celler i innløpet enn i utløpet av våtmarken. Dette gir en sterk indikasjon på at det er en positiv retensjon av biotilgjengelig fosfor i perioden mars til juni.

For å se på sammenhengen mellom biotilgjengelig fosfor og de kjemiske analysene så må en kun se på det gjennomsnittlige resultat av de kjemiske analysene gjort ved algetest 3-7 (uke 14 – 20). Resultatet fra disse 5 testene viser at våtmarken hadde en retensjon av TP på 77%, retensjon av TRP var på 79% og retensjon av PP på 87%. TRP består i hovedsak av ortofosfater og er lett tilgjengelig for alger, og viste en høy differanse mellom inn- og utløp. Dersom algene kun hadde hatt tilgang til fosfor gjennom TRP skulle en ha sett en større differanse i algeveksten mellom inn- og utløp enn kun 54%.

Innhold

Sammendrag	ii
Figurer	vi
Tabeller.....	vii
Forkortelser	vii
Innledning	1
1 Bakgrunn	2
1.1 Fosfor.....	2
1.2 Begrensende nærings salt	2
Eutrofiering.....	2
1.3 Konstruert våtmark/reusepark.....	3
1.4 Fosfortyper	4
1.5 Kilde til fosfor	4
Lagring av fosfor	5
1.6 Fosfor syklus i vann	5
Uorganisk Fosfor.....	6
Organisk Fosfor.....	7
PH	8
1.7 Biotilgjengelig Fosfor	8
Bestemmelse av biotilgjengelig Fosfor.....	9
1.8 Alger	10
Algevekst i laboratoriet	10
Vekstkurve.....	10
Redfield ratio	11
Fluorescens.....	11
1.9 Bakgrunn for oppgaven	12
2 Eksperimentelt/Metode	14
2.1 Leikvollbekken Rensepark	14
2.2 Prøvetaking.....	14
2.3 Testvann	15
2.4 Løsninger	15
2.5 Kjemisk fosforanalyse.....	16
2.6 Alger	17
2.7 Alge bioassay, testmetode	18
Klargjøring av brønnplatene.....	18
Testmetode	19

Standardkurve	19
2.8 Usikkerhet	19
3 Resultat	20
3.1 Fosfor analyse.....	20
3.2 Bioassay	22
Resultat av tester med PG-I.....	22
Test av biotilgjengelig fosfor, PG-I.....	30
Resultat av test med LW-I	31
Test av biotilgjengelig fosfor, LW-I	38
4 Diskusjon	40
4.1 Fosforanalyse.....	40
4.2 Metodeutvikling	40
PG-I	42
LW-I	43
4.3 Biotilgjengelig fosfor.....	45
4.4 Veien videre.....	46
Metodeutvikling	46
Biotilgjengelig fosfor.....	46
Konklusjon	46
Referanser	47
Vedlegg.....	49

Figurer

Figur 1: Fosfor syklus i en våtmark. DIP- løst uorganisk P, DOP- løst organisk P, PIP- partikulært uorganisk P og POP- partikulær organisk P. I tillegg PIP bundet til jern, aluminium eller kalsium og adsorbert uorganisk P (Dunne & Reddy, 2005).....	6
Figur 2: Viser redoks potensialet i de forskjellige sonene i en FWS våtmark (Kadlec & Wallace, 2009).	7
Figur 3: En vekstkurve av en algepopulasjon i en batchkultur (Barsanti & Gualtieri, 2014).....	11
Figur 4: Viser retensjon av fosfor under storm A (Luth-Hanssen, 2018).....	12
Figur 5: Karte viser nedfallsområdet til bekken. Det gule består av fulldyrka jord og det grønne er skogsområde. Resten består av boligområde som blant annet gårdshus, drivhus og vei (foto: norgeskart).	13
Figur 6: Viser Leikvollbekken plassert ved nordvestre del av Store Stokkavannet, i Stavanger (foto: kartverket).....	13
Figur 7: Viser målehytten som er utstyrt med v-løp som kan måle strømming. Hytten er også utstyrt med prøvetaker.	14
Figur 8: Oversiktsbilde av Leikvollbekken rensepark. Gul trekant viser hvor testvannet fra innløp ble hentet. Rød trekant viset hvor testvann utløp ble hentet. Stiplet linje viser vannets bane. (foto: kartverket).....	14
Figur 9: a) Viser ISCO 6712 i målehytten. b) Viser den samme type prøvetakeren ved innløpet.....	15
Figur 10: Flytdiagram over de kjemiske testene.	16
Figur 11: Mikroskopisk bilde av alger brukt i test 1 i første bilde og test 2 for bilde nr. 2.....	17
Figur 12: Resultat av fosforanalyse våren 2021	20
Figur 13: Det totale resultatet av fosfor analysen tatt fra mars til juni med standardfeil.....	21
Figur 14: Resultat av test 1-7 med forkultiverte alger.	23
Figur 15: Det totale resultatet av test 1-7 med forkultiverte alger.....	24
Figur 16: Resultat av test 1 med forkultiverte alger.....	24
Figur 17: Resultat av test 2 med forkultiverte alger.....	25
Figur 18: Resultat av Test 3 med forkultiverte alger.	26
Figur 19: Resultat av test 4 med forkultiverte alger.....	27
Figur 20: Resultat av test 5 med forkultiverte alger.....	28
Figur 21: Resultat av test 6 med forkultiverte alger.....	28
Figur 22: Resultat av test 7 med forkultiverte alger.....	29
Figur 23: Resultatet av test 1 -7 med stedbundet alger fra teststedet.	32
Figur 24: Det totale resultatet av test 1-7 med stedbundet alger fra teststedet.	32
Figur 25: Resultat av test 1 med stedbundet alger fra teststedet.	33
Figur 26: Resultat av test 2 med stedbundet alger fra teststedet.	34
Figur 27: Resultat av test 3 med stedbundet alger fra teststedet.	35
Figur 28: Resultat av test 4 med stedbundet alger fra teststedet.	35
Figur 29: Resultat av test 5 med stedbundet alger fra teststedet.	36
Figur 30: Resultat av test 6 med stedbundet alger fra teststedet.	37
Figur 31: Resultat av test 7 med stedbundet alger fra teststedet.	38
Figur 32: Resultatet av differansen mellom inn- og utløp av test 1-7 med stedbundet alger fra teststedet.	38
Figur 33: Det totale resultatet av differansen mellom inn- og utløp med stedbundet alger fra teststedet, Store Stokkavannet.	39
Figur 34: Standardkurve for fosfor	49
Figur 35: Standardkurve for alger.....	49

Tabeller

Tabell 1: Viser inndeling og mengden av de forskjellige komponentene i brønnplaten.	18
Tabell 2: Viser antall alger initialt i inokulum, og testvann ved start av testen.	22
Tabell 3: Resultat av test inn- og utløp med forkultiverte alger.	30
Tabell 4: Resultatet av differansen mellom inn- og utløp av test 1-7 med stedbundet alger fra teststedet.	39
Tabell 5: WEB, forklaring av jordkvaliteter("Jordkvalitet," 2017).	49
Tabell 6: Resultat av test 1 med PG-I.	50
Tabell 7: Resultat av test 2 med PG-I.	51
Tabell 8: Resultat av test 3 med PG-I.	51
Tabell 9: Resultat av test 4 med PG-I.	52
Tabell 10: Resultat av test 5 med PG-I.	52
Tabell 11: Resultat av test 6 med PG-I.	53
Tabell 12: Resultat av test 7 med PG-I.	54
Tabell 13: Resultat av test 1 med LW-I.	54
Tabell 14: Resultat av test 2 med LW-I.	55
Tabell 15: Resultat av test 3 med LW-I.	56
Tabell 16: Resultat av test 4 med LW-I.	56
Tabell 17: Resultat av test 5 med LW-I.	57
Tabell 18: Resultat av test 6 med LW-I.	57
Tabell 19: Resultat av test 7 med LW-I.	58

Forkortelser

DIP	Løst uorganisk fosfor (eng. dissolved inorganic phosphorous)
DOP	Løst organisk fosfor (eng: dissolved organic phosphorous)
DRP	Løst reaktiv fosfor (eng. dissolved reactive phosphorous)
LW-I	Innsjøvann inokulum (eng. lake water inoculum)
PG-I	Forkultivert inokulum (eng. pre grown inoculum)
PIP	Partikulært uorganisk fosfor (eng. particulate inorganic phosphorous)
POP	Partikulært organisk fosfor (eng. particulate organic phosphorus)
PP	Partikulær fosfor (eng. particulate phosphorous)
SRP	Løselige reaktiv fosfor (eng. soluble reactive phosphorous)
TDP	Total Løst Fosfor (eng. total dissolved phosphorus)
TP	Den totale fosfor (eng. total phosphorous)
TRP	Total reaktiv fosfor (total reactive phosphorus)

Innledning

Norge er kjent for sin vakre natur, høye fjell, dype fjorder og krystallklare vann. Realiteten er at mange vann i Norge inneholder et forhøyet næringsinnhold. Resultatet er sesongmessige forhøyende konsentrasjoner av alger som forårsaker både lukt, smak og turbiditet i vannet. Problemet er ofte større i og rundt områder med jordbruk, spesielt der arealene helt ned til vannlinja er opparbeidet og nytt til jordbruk til fordel for en naturlig våtmarks sone. En våtmark fungerer som naturens egen rensmekanisme og kan hindre større mengder med forurensning i å renne rett ut i vassdragene. Hver vår tilfører bonden gjødsel til jordene sine med både natur- og kunstgjødsel for å optimalisere vekst. Selv med streng regulering av gjødsling havner mye av næringen videre i vassdragene. Andre kilder som avløpsvann og overflatevann er med på å øke mengden med næringsstoffer som når vassdragene. Selv om næringsstoffer er en viktig del av økosystemet, kan en økende mengde gi en ubalanse. En økende algevekst på grunn av økt næring kan føre til at oksygenforbruket blir så høyt at vannet blir anoksisk.

Det har blitt foreslått flere metoder for å få orden på problemet, både kjemiske og biologiske forslag har blitt lagt fram. Et av de forslagene som ble satset på i Norge var konstruerte våtmarker/renseparker. De er konstruert for å fange opp forurensning fra landbruket og andre diffuse utslipp. Miljødirektoratet gikk ut med at «det å bygge fangdammer bidrar til et mer miljøvennlig landbruk og har mange positive effekter. Det renser vannet, gir en rik flora og fauna, beriker kulturlandskapet og gir arena for friluftsliv og rekreasjon.» Store summer har blitt brukt til å konstruere våtmarker i Norge, og fram til 2014 hadde Rogaland mottatt støtte til å bygge 170 stk. (Miljødirektoratet, 2014). Våtmarker har også andre viktige funksjoner enn kun retensjon av partikler. Så et viktig spørsmål er om biotaen og andre prosesser i våtmarken kan binde og utnytte næringsstoffene på en tilstrekkelig måte.

1 Bakgrunn

1.1 Fosfor

Fosfor er viktig for alt liv. Det inngår i mange prosesser i kroppen og er en viktig komponent iblant annet i ATP og beinvev. For plantene inngår også fosfor i fotosyntesen. Fosfor finnes i naturen i lave konsentrasjoner i jordskorpen. I naturen er fosfor ofte bundet til mineraler, mens i vann vil en større fraksjon være i form av løste fosfater. Fosfor har et vidt bruksområde i dag. En kan finne fosfor iblant annet såpe, stålproduksjon, fyrstikker, plantevernmiddel i tillegg til gjødsel.

1.2 Begrensende nærings salt

Når en snakker om begrensende næringsalter, er det referert til fosfor og nitrogen. I ferskvann er det oftest fosfor som utgjør den begrensende faktoren for primærproduksjonen i større grad enn nitrogen. Dette kan skyldes nitrogenfikserende organismer. Et eksempel er cyanobakterie som kan ta oppløst nitrogengass og gjøre det om til ammoniakk. Om det er lite nitrogen tilstede, så kan de gjøre den tilgjengelig for seg selv og andre organismer (Dodson, 2005). På samme måte er det ingen åpenbare metoder for å gjøre fosfor mer tilgjengelig hvis den er begrensende. Normalt vil fosfor finnes i små mengder i naturen og blir dermed en av de begrensende faktorene i organisk vekst (APHA, 1992). Med primærproduksjonen menes vekst av alger, bakterier og planter som direkte tar opp fosfor fra omgivelsen. Annet liv får i seg nok fosfor ved å spise mat som inneholder fosfor.

Eutrofiering

Siden fosfor blir regnet som et begrensende nærings salt i naturen har jordbruket brukt gjødsel med høyt fosforinnhold for å gi økt plantevekst i lange tider. Kunstgjødsel, som inneholder flere viktige næringsalter, har vært en viktig årsak til økt matvareproduksjonen i verden og er en viktig komponent i den grønne revolusjon (Bratberg, 2018). Produksjonen av kunstgjødsel med nitrogen, fosfor og kalsium starta i større skala rund 1930 åra i Norge. Før dette, og tilbake til sent 1800-tallet, ble det brukt tilførsel av blant annet råfosfat og superfosfat som tilskudd for økt plantevekst (Bjørnå, 2019). I dag er det mer omfattende regler til næringsinnholdet i gjødselen og spredeareal enn tidligere. Dette er innført blant annet for å prøve å begrense forurensingen til vann. Slike tiltak er gjerne ikke nok alene til å hindre en økning av næringsstoffer som forurenser vannmiljøet.

Når tilførselen av fosfor til et vannmiljø øker, vil også plante- og algeveksten øke i takt. Denne prosessen blir kalt eutrofiering. I Norge er det flere steder der det er et problem med eutrofe vann, spesielt i områder med mye jordbruk. Når økningen av næringsstoffer er menneskeskapt blir det referert som påtvunget eutrofiering (Kjensmo & Hongve, 2018). Økt algevekst minker kvaliteten på vannet og kan gi endring i farge, sikt og lukt. Økt oppblomstring av alger kan i noen tilfelle også føre til

anoksisk vann. Noen typer alger som blågrønne bakterier vil i tillegg føre til toksiner i vannet, som vil være farlig både for livet i vannet og brukere av vannet (Egeland & Throndsen, 2021). Andre faktorer som lys og temperatur spiller også en viktig rolle. En algeoppblomstring vil ikke skje på vinteren på grunn av lite lys og lave temperaturer, ikke fordi det ikke er nok næring til stede.

Det kan også skje en naturlig eutrofiering. Da er det ofte tilførsel fra fosfor lagret i sedimentene som skaper eutrofieringen. Frigjøring av fosfor fra sedimentene er en mye mer langsom prosess enn ved direkte utslipp ifra antropogene kilder (Kjensmo & Hongve, 2018).

Noen former av fosfor vil ikke føre til økt vekst av alger og derfor ikke bidra til eutrofiering (Ekholm, 1998). Det er derfor den biotilgjengelige fosforen er en viktig faktor for potensialet for eutrofiering i overflatevann (Uusitalo, Turtola, Puustinen, Paasonen-Kivekas & Uusi-Kamppa, 2003).

1.3 Konstruert våtmark/reusepark

Det finnes i hovedsak 3 typer konstruerte våtmarker som blir brukt: Våtmark med åpen vannoverflate (free water surface, FWS) som har område med åpent vann og ligner mest på en naturlig myr eller et våtmarksområde. Våtmark med horisontal undervannsstrøm (horizontal subsurface flow, HSSF) der går vannet ofte gjennom et plantebed av grus med planter som egner seg i en våtmark. Vannet går gjennom under overflaten av bedet og renner horisontalt fra innløp til utløp. Den siste er våtmark med vertikal strømning (vertical flow, VF) der vannet blir fordelt over ett område med sand og grus, planta med våtmarksplanter. Vannet blir filtrert gjennom de forskjellige lagene i bedet.

Våtmarkstypen som er brukt i denne oppgaven er en våtmark med åpen vannoverflate. De åpne områdene inneholder flytende vegetasjon og/eller planter som enten er planta eller er en konsekvens av konstruksjonen. Uten noe vedlikehold vil mye av våtmarken etter hvert gro igjen. Våtmarken er ofte konstruert med diker, grøfter og jordvoller som kan regulere strømning og filtrering. Når vannet strømmer gjennom våtmarken vil det gå gjennom flere prosesser som sedimentering, filtrering, oksidering, reduksjon, adsorpsjon og utfelling. Våtmark fungerer for kalde soner så vel som tropiske soner, selv om noen prosesser vil være reduserte i den kaldeste tiden. Denne type våtmark er mye brukt til rensing av avrenningsvann da denne type våtmark bedre kan regulere uregelmessige mengder med vann (Kadlec & Wallace, 2009).

Fosforretensjon i en våtmark er kapasiteten til systemene i våtmarken til å fjerne fosfor i vannsøyla gjennom fysiske, kjemiske og biologiske prosesser, og holde det i en form som ikke løser opp fosforen under normale forhold (Dunne & Reddy, 2005).

1.4 Fosfortyper

Fosfor deles ofte inn i flere typer. Det blir sagt at de forskjellige fraksjonene av fosfor ble originalt utviklet for jordbruket, når de oppdaget at det bare var deler av fosforen i jord som var tilgjengelig for plantevekst og at den totale fosforen i jorden var en dårlig indikator for plante-tilgjengelig fosfor (Williams, 1980, sitert i Ekholm, 1998). I vannmiljø kan fosfor være i hovedsak løst eller i partikulær form. Fraksjonene forklarer hvilke egenskaper eller natur fosforen har. Den totale fosfor (eng. total phosphorous, TP) er den totale mengde fosforen i en prøve (Dodson, 2005). Den vil da inkludere både den løste og den partikulære fosforen.

De løste kan deles inn i følgende fraksjoner: Løst organisk fosfor (eng: dissolved organic phosphorous, DOP) som er produsert av levende og nedbrutte organismer. Mye av de nedbrytbare produktene er fra levende organismer som er løselige i vann, som kreatinfosfat, vaskemiddel, plantevernmidler og nukleotider. Løselige reaktiv fosfor (eng. soluble reactive phosphorous, SRP) også gjerne kalt løst reaktiv fosfor (eng. dissolved reactive phosphorous, DRP) inkluderer former for fosfor som er både uorganisk og organisk, og som er løst i vann og er tilgjengelig for opptak av alger og makrofytter. Det er den delen som vil reagere med molybdate uten hydrolyse. Løst uorganisk fosfor (eng. dissolved inorganic phosphorous, DIP) består av ortofosfater (Dodson, 2005) det er også den formen som er mest biotilgjengelig.

På samme måte som de løste fraksjonene kan også de partikulære fraksjonene deles inn. Partikulær fosfor (eng. particulate phosphorous, PP) er partikler som blir filtrert bort i et 45µm filter. Partikulært organisk fosfor (eng. particulate organic phosphorus, POP) inkluderer fosfor som organiske forbindelser i levende og døde organismer, dødt løv og avføring. Partikulært uorganisk fosfor (eng. particulate inorganic phosphorous, PIP) som er ortofosfater feste/adsorbert til partikler (Dodson, 2005).

1.5 Kilde til fosfor

Kilder til fosfor kan deles inn i antropogene- og naturlige kilder. Blant de antropogene kildene står jordbruket sterkt, men også utslipp fra avløp og avrenning fra urbane strøk (APHA, 1992). Det kan skje i form av punktutslipp og diffusutslipp. I nedfallsområder, spesielt i område med mye jordbruk, blir fosfor gradvis vasket ut og ned i bekker, elver og vann i lang tid etter tilførsel, selv om det ikke blir tilført ny fosfor (Dodson, 2005). Dette fordi fosfor lagres i jordsmonnet. Hastigheten på utvaskingen vil avhenge av hva jordsmonnet inneholder. Mineralholdig jord vil binde fosfor bedre enn organisk jord. Naturlige kilder er blant annet nedbryting av organisk materiale som døde trær, planter, blad og kadaver (Ekholm, 1998). Atmosfæren kan også tilføre litt fosfor, men det utgjør kun en signifikant mengde i oligotrofe vann.

Lagring av fosfor

Reservoarer av fosfor kan finnes i flere former som blant annet er bundet til stener og mineraler. Kalsiumfosfater, apatitt er den mest vanlige formen for fosfor bundet til mineraler (Dodson, 2005). I sur jord vil oftest fosfor binde seg til aluminium og jern. I alkalisk jord kan fosfor binde seg til kalsium og magnesium (Kadlec & Wallace, 2009). Normalt er disse formene stabile og lite reaktive. Mye fosfor ligger i jordsmonnet spesielt i landbruksområder. Av det som blir tilført i våronna vil rundt 54% av fosforen bli tatt ut av avling og dyr. Rundt 2% vil bli vasket ut, mens hele 44% av fosforen vil bli lagret i jordsmonnet (Dodson, 2005).

For primærprodusenter som alger og bakterier er fosfor et begrensende næringsstoff. De er nederst i næringskjeden og er en viktig kilde til fosfor for konsumenter. Derfor vil ikke fosfor være en begrensende faktor lenger opp i næringskjeden. Det vil si at primærprodusenter er en del av fosforlageret i naturen. Planter vil også akkumulere fosfor, men sesongen virker inn på mengden som er lagret og i hvilken form. Plantene akkumulerer mest på våren når planten vokser, men når også en lagrings-topp om høsten, da er det opptak fra røtter og jordstengler som skal lagre fosfor til våren. Om vinter lagres det lite fosfor i planter, kun strukturell fosfor i planter som ikke råtner, frø og rotsystem. Når planten vokser vil den akkumulere mer fosfor enn når den er voksen/utvokst. Når den dør og råtner vil fosfor igjen slippes ut i kretsløpet (Kadlec & Wallace, 2009).

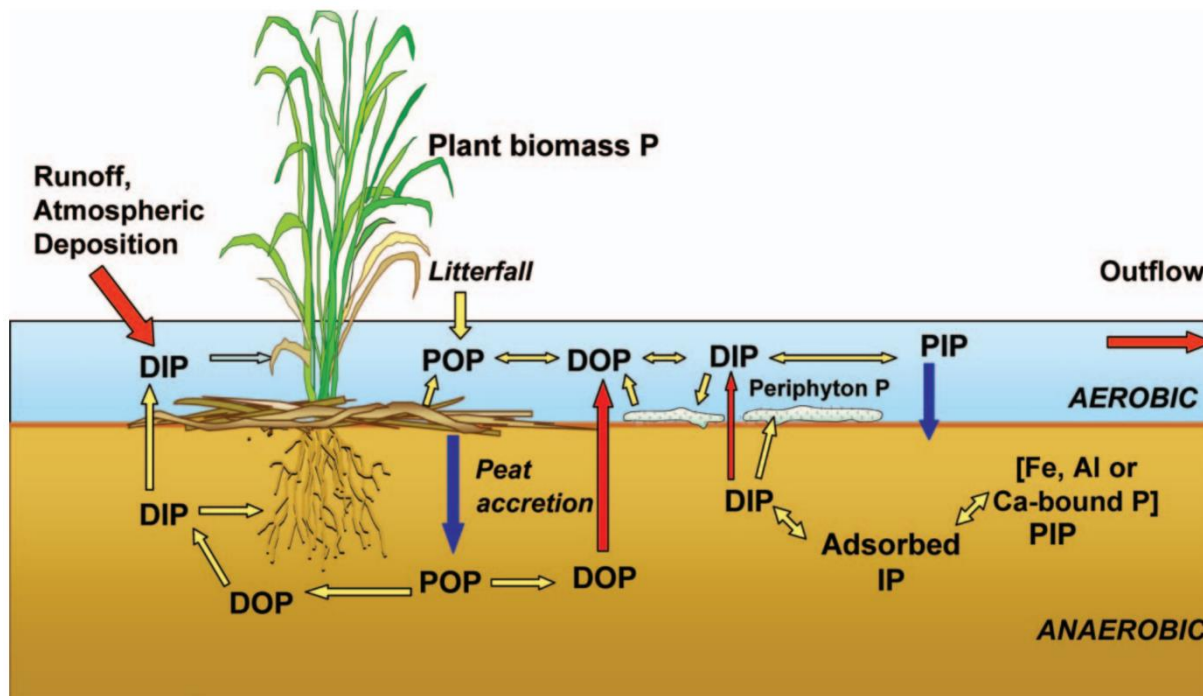
I konstruerte våtmarker vil størsteparten av fosfor bli lagret i jord og sedimenter. Resten blir hovedsakelig lagret i planter og avfall fra planter, mens veldig lite finnes i suspenderte mikrober, alger og i selve vannet (Kadlec & Wallace, 2009). Fosfater løst i vann blir fort tatt opp av planter eller av jorda og sedimenter. Fosfor i jorda og sedimenter består mye av organisk bundet fosfor.

1.6 Fosfor syklus i vann

Fosfor som går inne i ett vannsystem når sjelden helt ut til havet. Det blir fanget opp av forskjellige organismer og setter seg fast til forskjellige overflater. Ferskvann er ofte rikt på magnesium og kalsium og sammen med fosfor vil de skape lite løselige utfellinger eller sette seg fast på forskjellige organiske materialer. Forskning har også vist at ortofosfater kan bli omgjort til partikulært fosfor innen fem minutter, sannsynligvis på grunn av mikrobielle prosesser (Kadlec & Wallace, 2009).

Når fosfor har entret inn i et vannsystem vil den sirkulere gjennom flere prosesser. Figur 1 viser forenklet hvordan de forskjellige formene for fosfor endrer seg. Den viser at både organisk og uorganisk blir transportert i vannsøylen, men også gjennom vann-porer i sedimentene. Prosessene i vannet er aerobe, mens prosesser i sedimentene er anaerobe.

En av mekanismene i en våtmark er at de fanger opp partikler, organisk avfall og sediment. Det vil legge seg lagvis på bunnen og fosforen vil bli fanget under og i lagene. Noe vil også diffusere i porene i jorda. Noe av fosforen vil bli utnyttet av mikroorganismer og planter, men andre typer fosfor blir lagret i sedimentene.

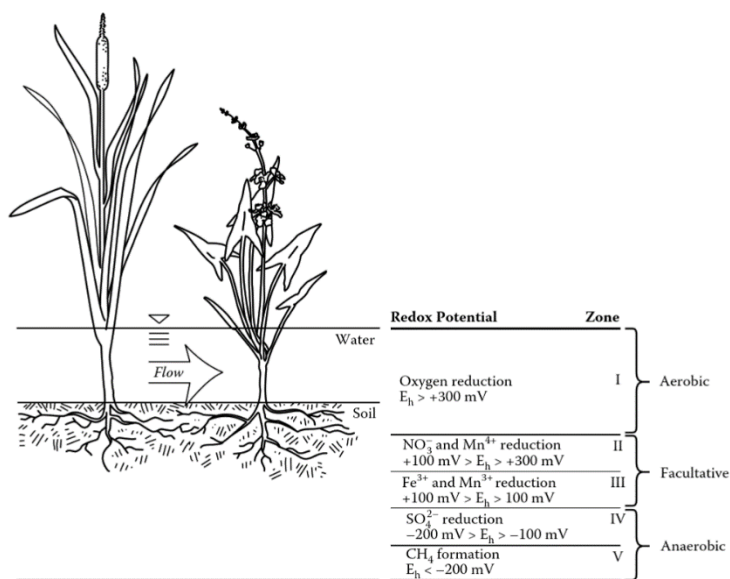


Figur 1: Fosfor syklus i en våtmark. DIP- løst uorganisk P, DOP- løst organisk P, PIP- partikulært uorganisk P og POP- partikulær organisk P. I tillegg PIP bundet til jern, aluminium eller kalsium og adsorbent uorganisk P (Dunne & Reddy, 2005).

Uorganisk Fosfor

Fosfater som kommer inn i vannsystem er reaktive og vil lett reagere med andre forbindelser. I jernholdige vann vil det skje en sorpsjon av PO_4^{3-} til FeOOH , som er lite løselig forbindelse. Om vannet er aerob vil det i større grad felles ut FePO_4 (Kalff, 2002), spesielt ved høye konsentrasjoner av fosfat eller mineraler vil det skje utfellinger (Dunne & Reddy, 2005). FeOOH forbindelsen vil samle seg på bunnen og skape en barriere. Det vil hindre frigjorte fosfater i sedimentene til å diffusjonere oppover, der det er anoksiske forhold. Redox-potensialet i anoksiske forhold vil komme nærmere overflaten ved eutrofiering eller annen organisk forurensning. Dette vil føre til FeOOH komplekset vil løses opp og gjøres igjen tilgjengelig i vannsøylen (Kalff, 2002).

Dette er en ren kjemisk forklaring/modell på hvordan fosfor frigjøres fra lite løselige forbindelser, men mikroorganismer spiller også en viktig rolle som elektron-akseptor i oksidasjon av organisk materiale. Dermed påvirker mikroorganismer løseligheten på kjemiske stoff. Forskning har vist sterke indikasjoner på at mikroorganismer har hatt en mye større rolle i dekomponerings prosesser enn tidligere antatt og dermed er frigjøring av fosfor en mer biologisk prosess enn en kjemisk prosess.



Figur 2: Viser redoks potensialet i de forskjellige sonene i en FWS våtmark (Kadlec & Wallace, 2009).

sediment-redox potensialet. Det gjør de ved å holde potensialet så høyt at det hindrer reduksjonsfrigjøring fra sedimentene (Kalff, 2002).

Forhold som skaper potensiale for oksidasjon eller reduksjon vil kunne påvirke både kjemiske og biologiske prosesser og har dermed en stor effekt på biotilgjengeligheten (Kadlec & Wallace, 2009). Energimessig er oksygen den beste oksidanten. Når det ikke er mer oksygen tilgjengelig vil bakterier som kan redusere NO_3^- , MnO_2 , FeOOH , SO_4^{2-} og CO_2 redusere de etter orden, hver av de gir litt mindre energi enn den forrige. Sonene er vist i figur 2 med sine respektive reduksjonspotensiale. I en FWS våtmark vil laget mellom aerobe og anaerobe være tynt, omtrent en til to centimeter.

Organisk Fosfor

I en våtmark vil mye av fosforinnholdet bestå av organisk fosfor. Normalt inneholder våtmarker lite mineraler dermed er mye av den lagrede delen av fosforen i organisk form. Den kommer fra blant annet planter, alger og organisk nedfall. Andre former for fosfor blir tilført fra nedfallsområdet. Er det jordbruksavrenning kan det bestå av plantevern middel, gjødsling både naturlig og kunstig. Organisk fosfor kan bli delt inn i lett nedbrytbar som nukleinsyre, fosfolipider og sukkerfosfater og langsam nedbrytbar som inositol-fosfater og fytin. De lett nedbrytbare, som navnet antyder, er lettere biotilgjengelig enn de langsomme.

Når mikroorganismer vokser består mer en halvparten av den organiske fosforen av nukleinsyre. I planter er det i inositol-fosfoater der mesteparten av det organiske fosforen lagres, spesielt i frø. Organismer som bakterier og alger kan hente fosforen direkte fra vannsøylen. Planter derimot henter mesteparten av sin fosfor fra rotsystemet i sedimentene (Dunne & Reddy, 2005). Det er i små porer i

sedimentene som de henter næringen fra, de er omkring 20-30 cm ned i sedimentene. De kan i tillegg hente ut litt fra nedre del av vannsøylen (Kadlec & Wallace, 2009). Av den mengde som plantene tar opp igjen vil mye bli tilført sedimentene når planten dør eller visner ned om høsten.

Organisk fosfor kan også lage stabile bindinger med metaller. I syrlig vann binnes de til Fe og Al, mens i nøytralt/alkalisk vil de danne komplekser med ionene Cu, Zn, Ni, Mn, Fe og Ca. I normalt nøytrale tilstander vil kompleksene være nokså stabile.

PH

PH påvirker mange prosesser i vannsystemet. Både kjemiske og biologiske prosesser avhenger av et gitt pH-område. For å ha et sunt akvatisk system bør pH ligge innenfor en gitt grense for å kunne fungere. Eksempelvis er det mange bakterier som ikke overlever med en pH utenfor 4-9,5. PH i ferskvann kan variere veldig, fra lett alkalisk med pH på 7-8, til veldig surt med en pH på 3-4. Normalt er myr og våtmarker litt sure med en pH rundt 6-7. Dette på grunn av syklus av planter som vokser, dør og komposterer vil gi en naturlig kilde til syre. Men FWS våtmarker gjerne er rett over nøytral. I akvatiske miljø vil alger og fotosyntesen påvirke pH. Ved høyere aktivitet vil pH bli mer alkalisk og gir gjerne en topp på dagen, mens på natta vil det være respirasjon (Kadlec & Wallace, 2009).

1.7 Biotilgjengelig Fosfor

All fosfor er ikke tilgjengelig for biologisk opptak, slik at store deler av det totale fosforet aldri vil være biologisk tilgjengelig (Reynolds & Davies, 2001). Biotilgjengelig fosfor består hovedsakelig av løst uorganisk fosfor, ortofosfater. Alger blir ofte brukt til å bestemme biotilgjengeligheten. De tar i hovedsakelig opp løst ortofosfat, selv om det tilføres fosfor i forskjellige former. Dermed vil alge-tilgjengeligheten av andre former som PP avhenge av i hvilken grad den blir omgjort til løst ortofosfat av andre prosesser (Cembella, 1984, sitert i Uusitalo & Ekholm, 2003). Ortofosfater tilsvarer godt det som kan måles med molybdate-reaktive fosfor, det vil si løselig-reaktive fosfor (SRP) (Reynolds & Davies, 2001). Den delen av den biotilgjengelige fosforen som ikke er ortofosfater vil ikke bli fanget opp av en slik prøve. En studie i Finland viste at løselig-reaktiv fosfor så ut til å være en god kilde til minimums mengden med biotilgjengelig fosfor (Ekholm, 1998). Andre former for fosfor kan gjøres tilgjengelig i forskjellige grad. Fosfor bundet til alkaliske jordmetaller, aluminium og jern, er sjelden noe særlig biotilgjengelig. Ortofosfat bundet til metall-oksider og hydroksider er normalt heller ikke tilgjengelig, kun gjennom svak dissosiasjon (desorpsjon). Derimot vil produksjonen av alkaliske fosfater tiltrekke seg organismer som gir en tilleggs mekanisme som akselererer adskillelse av fosfat fra organiske forbindelser (Reynolds & Davies, 2001).

For å gjøre de forskjellige fosfortypene mer biotilgjengelig er det både kjemiske og biologiske prosesser som kan gjøre dette. Eksempelvis kan bakterier fungere som katalysatorer i redoks-reaksjoner som kan

frigjøre fosfor bundet til mineraler i sedimentene. Dermed vil graden av tilgjengelighet være avhengig av muligheten for at disse reaksjonene kan skje. Det har betydning om de riktige mikroorganismene som bakterier og sopper er til stede. Faktorer som pH og temperatur spiller også inn på prosesser som kan frigjøre biotilgjengelig fosfor. Hvordan fosforen er bundet til partikkelen vil også spille en rolle. Fosfor kan være absorbert/adsorbert til overflaten, fanget inne gitter av stoffet eller det kan være individuelle fosfatmineraler.

Det potensielle biotilgjengelige fosforet blir ikke frigjort om konsentrasjonen av DRP er relativt høy i vannet fra før. I perioden med algeproduksjon kan DRP konsentrasjonen synke under likevekten av fosfor i økosystemet. Dette vil føre til at den potensielle biotilgjengelige fosfor på partikulær form løses opp (Ekholm, 1994).

Det ble gjort en studie av filtrert rent avløpsvann, der helt opp i 74% løst ikke-reaktivt fosfor ble omgjort til biotilgjengelig fosfor. Av partikulært fosfor var det et gjennomsnitt på 25% som ble omgjort til biotilgjengelig fosfor. I den samme studien konkluderte de med at 28% av TP fra diffuse utslipp fra jordbruk er potensielt biotilgjengelig fosfor, og fra kommunalt avfallsvann er 36% av TP biotilgjengelig fosfor (Ekholm, 1998). Dette viser at det ikke er godt nok å kun bruke en kjemisk analyse for å fastslå biotilgjengeligheten av fosfor.

Bestemmelse av biotilgjengelig Fosfor

Tidligere var det vanlig å bruke kjemisk analyse for å bestemme den delen som er biotilgjengelig, ved å finne SRP, men det har vist seg å ikke være en særlig nøyaktig tilnærming. Den mest vanlige måten nå er å gjennomføre en biologisk test (eng. bioassay) med alger i et laboratorium. Normalt vil forholdene gjøres så optimale som mulig for algevekst. De får alt av næring de trenger med unntak av fosfor, som blir tilført i testprøven som skal analyseres. Normalt er det vanlig å bruke fosforsultet alger for å gi en bratt konsentrasjons gradient. Fotosyntesen vil øke pH, som igjen vil føre til desorpsjon av fosfor. Temperaturen blir også satt på et nivå som også er gunstig for fosfor desorpsjon, rundt 20 °C.

Likevel vil ikke disse forholdene nødvendigvis gi et korrekt bilde av den totale biotilgjengelige fosforen. Bioassay varer ikke lenge nok til at all den potensielle biotilgjengelige fosfor har blitt gjort tilgjengelig (Hegemann,1983, sitert i, Ekholm, 1998). I tillegg vil forholdene i en bioassay ikke gi mulighet til alle mekanismene som påvirker mobilisering av fosfor til å skje (Boström,1988, sitert i Ekholm, 1998). Normalt vil kun en type standard alge bli brukt, dette gir heller ikke et konkret bilde. Naturlig vil flere alger og bakterier være tilstede samtidig og det er blitt observert at forskjellige typer alger vil utnytte forskjellige typer fosfor (Cembella, 1984, sitert i Ekholm, 1998).

1.8 Alger

Alger er en fellesbetegnelse på veldig forskjellige flercellede autotrofe organismer som får energien sin fra sollys ved å bruke fotosyntesen (Dodson, 2005). Mikroalger eller planteplankton er de encellede algene som normalt kun kan sees i mikroskop, utenom ved så store forekomster at de gir farge til vannet, kalt algeoppblomstring.

Algevekst i laboratoriet

For autotrofe alger er alt de trenger for å vokse lys, CO₂, vann, næring og spor-stoffer. Ved hjelp av fotosyntesen kan algene klare å lage alle de biokjemiske forbindelsene de trenger. For å regulere algevekst vil de viktigste parameterne være mengde og kvalitet på næringsstoffer, temperatur, lys, pH og miksing.

Temperaturen bør ideelt ligge så nært som mulig den temperaturen der organismen ble hentet fra. Det vil si for kalde strøk vil temperaturen ligge på 10-25 °C. De fleste typer alger tåler temperaturer mellom 16-27 °C. Normalt vil temperaturen ligge på ca. 18-20 °C under en laboratorietest. Blir temperaturen under 16 °C vil veksten stagnere, over 35 °C vil temperaturen være dødelig for flere arter.

Lys er en kilde til energi for organismer og driver fotosyntesen. Lysintensiteten er viktig, men lysintensiteten som trengs vil variere med kulturens dybde og tetthet til algekulturen. For mye lys kan føre til fotoinhibering. Ofte blir det brukt en lysintensitet på 100 – 200 μE s⁻¹ m⁻² som utgjør ca. 5-10% av fullt dagslys.

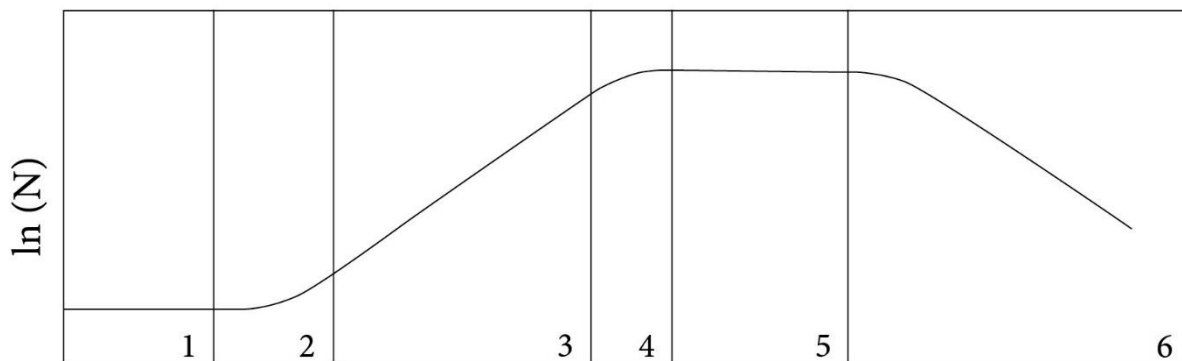
For de fleste alger er det ønskelig med en pH som ligger mellom 7 og 9, men med et optimalt område mellom 8,2-8,9. Blir endringene i pH for stor vil det føre til kollaps av algekulturen. Økt mengde med CO₂ er ofte brukt for å regulere en økende pH under algevekst. (Barsanti & Gualtieri, 2014)

Miksing er viktig for å hindre sedimentering av alger, og for å sikre at alle får lik mengde med lys, næring og for å bedre gassutvekslingen mellom kulturen og luften. Dette er spesielt viktig siden de fleste alger kun kan bruke CO₂ som karbonkilde til fotosyntesen (Dodson, 2005). Ved høye konsentrasjoner vil miksing også gi en viktig lys/mørke- frekvens som øker produktivitet og effektiviteten på fotosyntesen (Richmond, 2004).

Vekstkurve

I laboratorier er den vanligste måten å dyrke alger på er batch kultur, dette på grunn av sin lave kost og enkle struktur. Det er et lukket system som er volumbegrenset. Det blir gjerne brukt 250 ml erlenmayer kolber. Algepopulasjonen vil vokse helt til det oppstår en begrensende faktor. Næringen vil minke og stoffer produsert av cellene vil øke helt til alt er oppbrukt. Da vil kulturen dø, med mindre

de blir overført til et nytt medium. I en batchkultur vil veksten vise i en tydelig sigmoid vekstkurve. Delt opp i 6 faser som vist i figur 3: 1. er lag fasen. Her tilpasser cellene seg forholdene, modner og det er ingen celledeling. 2. fase er akselerasjons fase, her vil veksten begynne å øke. 3. fase er log fasen, her er det en celledobling, veksten er konstant, men det er en endring i forholdene. 4. fase er retardasjon, her vil veksten begynne å avta og er et synlig tegn på endring i forholdene. 5. fase er platåfasen eller den stasjonære fasen. Her er det en tydelig vekstbegrenset faktor og nå er celledoblingen lik celledøden. 6. døds-fasen: Her dør cellene, lengden av denne fasen vil avhenge av typen organisme (Barsanti & Gualtieri, 2014).



Figur 3: En vekstkurve av en algepopulasjon i en batchkultur (Barsanti & Gualtieri, 2014).

Redfield ratio

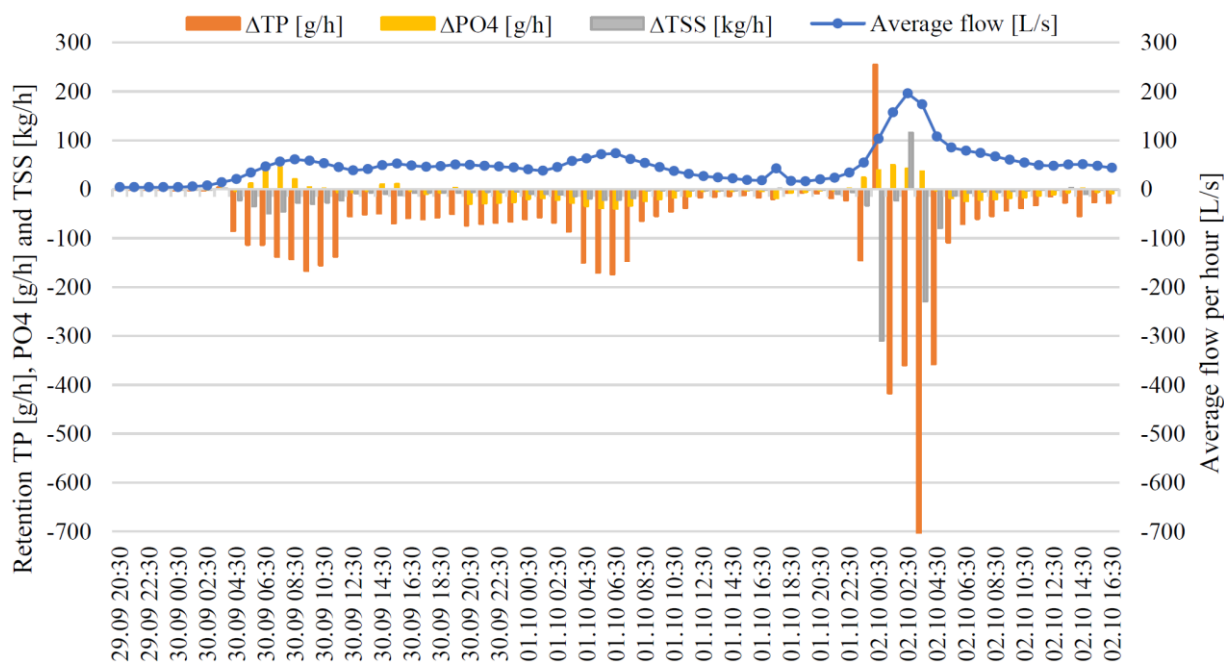
For alger er fosfor, nitrogen og karbon en begrensende faktor for algevekst. Forholdet mellom nitrogen, fosfor og karbon for å gi optimal vekst er beskrevet i Redfield ratio C:N:P. Ratioen er 106:16:1 som betyr at for hver fosfor atom så trengs det 16 nitrogenatom og 106 karbonatom for å gi optimal vekst. Dette er et idealisert forhold, for alger kan vokse i forhold som avviker mye fra den gitte ratioen. I tillegg vil forskjellige arter ha forskjellige støkiometriske preferanser (Dodson, 2005). Ratioen vil variere i forhold til forholdene som artene vokser og konkurrere i. Det vil føre til at artenes sammensetning ikke vil bli bestemt kun ut i fra tilgjengelig næring, men også fra forholdene mellom arter, siden endring i næringsratioen vil føre til et skifte i planteplanktonets samfunn og senere i de trofiske nivåene (Barsanti & Gualtieri, 2014).

Fluorescens

Alle alger har klorofyll. Klorofyll fluorescens reflekterer direkte hvordan de fotokjemiske prosesser i fotosystem II presterer. Under belysning blir PSII klorofyll molekylene eksitert til et enkelt høyere eksitert tilstand og utnyttet i fotosyntesen, alternativt kan energien gå over til varme eller slippes ut som fluorescens (Richmond, 2004).

1.9 Bakgrunn for oppgaven

Leikvollbekken har vært subjekt for studier over flere år. Det har gitt et godt bilde av retensjonen av fosfor som våtmarken har. Et av de tidligere studiene har vist at våtmarken hadde en positiv retensjon



Figur 4: Viser retensjon av fosfor under storm A (Luth-Hanssen, 2018).

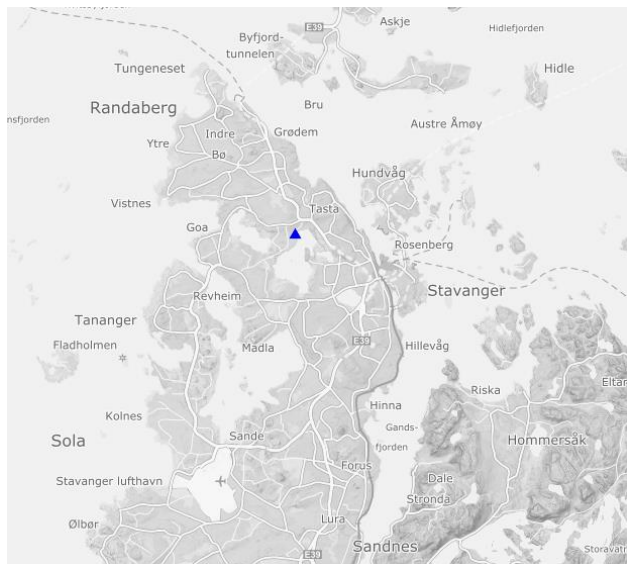
på 31% og som ble kommentert var høyere enn flere andre studier gjort på samme sted (Krahner, 2017). Likevel viser studiene at ved høy vannføring/storm blir mye av fosforen vasket ut. Figur 4 gir et bilde på hvor mye fosfor som ble vasket ut under mye nedbør i Leikvollbekken i høsten 2017. Hva disse studiene ikke viser er om den biotilgjengelige fraksjonen også blir vasket ut eller om det er en positiv retensjon selv under høy vannføring.

Grunnlaget for denne oppgaven er å se på om en konstruert våtmark har en effekt på den biotilgjengelige fosforen. Innløpet og utløpet av våtmarken vil bli målt for biotilgjengelig fosfor. Det vil bli sett på differansen på algevekst mellom inn- og utløp. For å se om det er mindre biotilgjengelig fosfor som kommer ut av våtmarken enn den som kommer inn.

Det har blitt gjennomført en tidligere studie i Leikvollbekken for å bestemme dette. Da ble det utørt en batch alge bioassay av prøver tatt av både inn- og utløp av Leikvollbekken gjennom et studieår. Testene gav ingen klare svar. Det ble observert flere forhold som kan ha påvirket dette, som dårlig kontinuitet i prøvetaking, for få paralleller og ikke en optimal algetype (Handley, 2016). På grunnlag av de inkonklusive resultatet fra bruk av batchkultur skal det nå brukes en nyere, men mindre utprøvd metode. Metoden har vist lovende resultat ved måling av algevekst, ved bruk av brønnplater og en brønnplateleser. En kan måle algevekst ved å se på endring i klorofyll fluorescens over tid. Det måles i fluorescens intensitet (FI). I starten ble denne metoden brukt til å finne kinetiske kjennetegn til

mikroalger. Videre utvikling har fastslått at metoden også kan brukes til å fastslå maksveksten til algene like nøyaktig som i en full-størrelse batchkultur (Wagenen et al., 2014). Studier gjort ved universitet i Stavanger har vist at metoden på en rask og presis måte kan forutse de karakteristiske eksponentielle vokserate og bestemme næringsbegrensende kinetisk vekst av *C. sorokiniana* (Safitri, 2021). Dette er en metode som er sensitiv, enkel, tar kort tid og koster lite. Det er likevel en metode som er under utvikling og utprøving. Så størstedelen av oppgaven vil bestå av metodeutvikling. Noen av de utfordringen som en vil ha, er om algene fra innsjøen vil kunne leses av i plateleseren. Vil en få nok alger i hver brønn til å kunne utføre testen på en god måte, og de riktige forholdne for vekst.

Våtmarken som skal studeres er Leikvollbekken som ligger i Tasta, en bydel i Stavanger, se figur 6. Den er en av fire rensedeparker langs Store Stokkavannet som er Stavanger sin største innsjø på 2,2km². Nedfallsområde til bekken består for det meste av fulldyrka mark, en del bebyggelse, bolighus, gårdsbruk, drivhus etc. Mens området rett rundt rensedeparken består av skog, se i figur 5. Mye av jorden rundt består av mineraljord med hummusrik overflatesjikt. Det vil si at innholdet av organisk materiale i jorden er mellom 6-34% ("Organisk materiale," 2017). Jordsmonnet i nedfallsområde, klassifisert etter WRB-grupper, består i hovedsak av umbrisol, stagnosol og gleysol ("Jordkvalitet," 2017). Det vil si det er veldig varierende mengde næring og kvalitet på de enkelte markene. Se vedlegg for full forklaring.



Figur 6: Viser Leikvollbekken plassert ved nordvestre del av Store Stokkavannet, i Stavanger (foto: kartverket).



Figur 5: Karte viser nedfallsområdet til bekken. Det gule består av fulldyrka jord og det grønne er skogsområde. Resten består av boligområde som blant annet gårdshus, drivhus og vei (foto: norgeskart).

2 Eksperimentelt/Metode

2.1 Leikvollbekken Rensepark



Figur 7: Viser målehytten som er utstyrt med v-løp som kan måle strømning. Hytten er også utstyrt med prøvetaker.

Leikvollbekken er lokalisert på nordvestsiden av Store Stokkavannet. Tidligere var Store Stokkavannet drikkevannskilde for Stavanger kommune, nå er det kun en reservedrikkevannskilde. Leikvollbekken var en av renseparkene som ble bygget 1993/94 som et middel for å redusere tilstrømningen av forurenset vann fra områdene rundt. Renseparken ble konstruert som en kunstig våtmark som skal fungere tilnærmet lik en naturlig våtmark med å rense avrenningsvann før det ender opp i innsjøen. Før bestod området rundt Store Stokkavannet av mye mer våtmark og myrer. Som en del av optimalisering av landbruket og utbygging av boligområder, samt bygging av turvei i strandsonen har gjort at størsteparten av våtmarksonene har forsvunnet. Renseparken er konstruert med to dammer og en bekk som snirkler seg mellom dem. Det fører til at hastigheten til vannet senkes og gir god retensjonstid for større partikler, samt planter, bakterier og alger får tid til å utnytte biotilgjengelig fosfor og annen næring i bekken.

2.2 Prøvetaking

Ved innløpet ble det sett opp en ISCO 6712 flyttbar prøvetaker i full størrelse, men uten kjøling (figur 9b). Gul trekant i figur 8 viser hvor prøvetakeren for innløpet ble plassert. Den var programmert til å ta 100 ml prøver per 2. time i en konteiner i løpet av en uke. Det ble da samlet omtrentlig 84 prøver i



Figur 8: Oversiktsbilde av Leikvollbekken rensepark. Gul trekant viser hvor testvannet fra innløp ble hentet. Rød trekant viser hvor testvann utløp ble hentet. Stiplet linje viser vannets bane. (foto: kartverket)

en beholder i bunnen av prøvetakeren hver uke. Ved siste test ble det kun tatt ut prøver i 3 dager da lufttemperaturen hadde økt betraktelig. Dette for å minimere sjansen for at fosforen omdanner seg i beholderen.

Ved utløpet av våtmarken er målehytten, vist i figur 7. Den er utstyrt med den samme type ISCO 6712 (figur 9a), men kobla til en kjøler. Prøvetakeren for utløpet er plassert som vist i figur 8 ved den røde trekanten. Den var programmert til å ta 200 ml prøver per 2. time. Alle prøvene ble samlet i en stor beholder i kjøleren.

Prøvene fra begge prøvetakerene ble hentet hver uke og fraktet rett til laboratorier for videre testing.



Figur 9: a) Viser ISCO 6712 i målehytten. b) Viser den samme type prøvetakeren ved innløpet.

2.3 Testvann

Av de ca. 8,4 liter vannprøven som ble samlet i beholderen i løpet av en uke fra innløpet og 16,8 liter fra utløpet fra den konstruerte våtmarken ble det samlet inn ca. 1 liter vann fra innløp og 1 liter fra utløp. Flaskene ble merket henholdsvis TW (test vann, eng: test water)-inn og TW -ut.

Det ble smalt inn ca. 1 liter inokulum fra Store Stokkavannet merket LW-I (innsjøvann-inokulum, eng: lake water inoculum). Det ble ikke gjennomført noen preservering av vannprøvene.

Både testvann ut og testvann inn ble testet for fosfor med metode 4500-P, og for biotilgjengelig fosfor.

2.4 Løsninger

Her følger en liste over de kjemikaliene som ble brukt under alge bioassay.

- NS-P (næringsløsning-fosfor eng. nutrition solution–phosphorous) næringsløsning uten fosfor:

Test 1-2: Tilsett 1 ml med løsningene B, C, D og 2 ml av løsning E i 100 ml med DI-vann i en 250 ml flaske.

Test 3-7: Tilsett 5 ml med løsning B, 1 ml med løsning C og D, og 6 ml løsning E i en 250 ml flaske.

- POS-P (positiv-fosfor, eng. positive- phosphorous) Det ble laget en løsning med 1 mg P/l i DI-vann.
- Næringsløsning for forkultiverte alger (Modifisert (N-kilde) Bushnell-Haas uorganisk næringsløsning (pH 8.2)):

Løsning A:
0,35 g K_2HPO_4
0.45 g KH_2PO_4

Løsning B:
25 g $NaNO_3$
21 g NH_4Cl
0.05 g $FeCl_3$.
Tilførr 0.2 g/l EDTA

Løsning C:
2.5 g $CaCl_2$
1.5 g $MgSO_4$

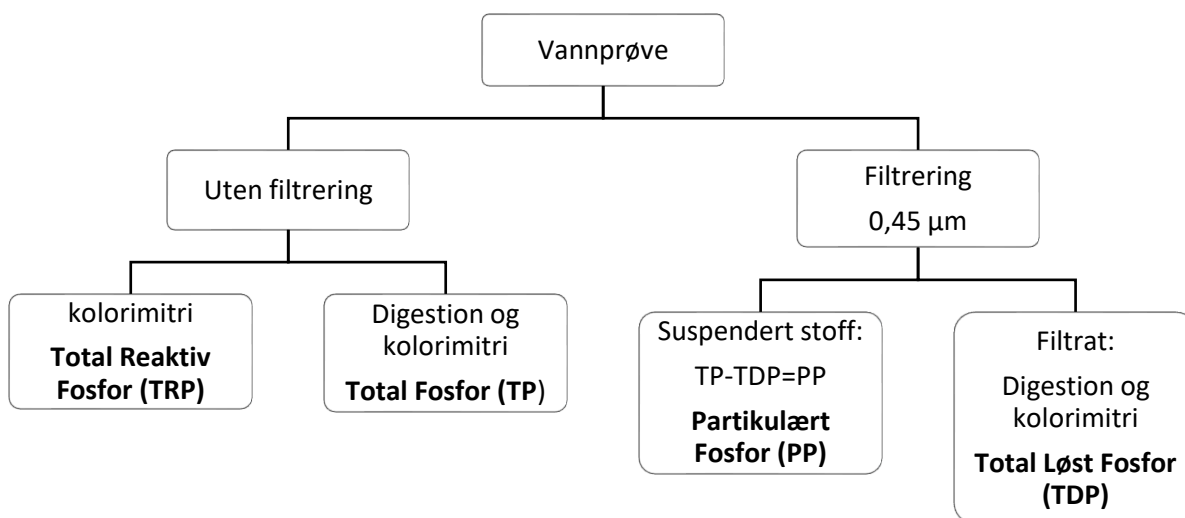
Løsning D: Sporelement løsning (ifølge Balch)
0.5 g EDTA

0.5 g $MnSO_4 \cdot 2H_2O$
3 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
1 g $NaCl$
0.1 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$
0.1 g $CoCl_2 \cdot 6H_2O$
0.1 g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$
0.1 g $ZnCl_2$
0.01 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
0.02 g $NiCl_2 \cdot 6H_2O$
0.001 g Na_2SeO_3
0.01 g $AlK(SO_4)_2$
0.01 g H_3BO_3
0.01 g Na_2MoO_4
(0.01 g $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$)

Solution E:
47g $NaHCO_3$

2.5 Kjemisk fosforanalyse

Det ble tatt kjemiske fosforanalyser av vannprøvene for både inn- og utløp, for å bestemme mengde fosfor. Det ble brukt standard metode 4500-P. Metoden inneholder flere forskjellige framgangsmåter ut ifra hvilken konsentrasjon av fosfor det er i prøvene og hvilke fraksjoner det er ønskelig å analysere.



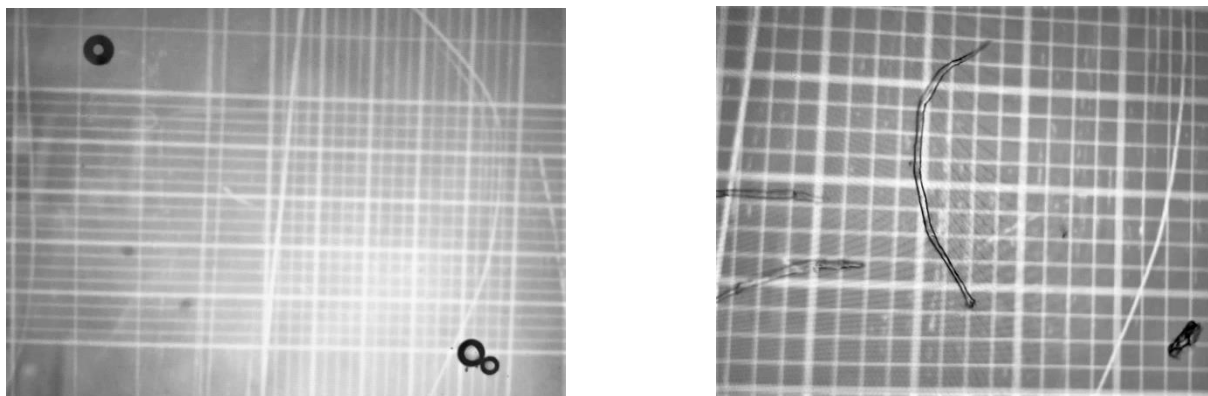
Figur 10: Flytdiagram over de kjemiske testene.

Ut ifra tidligere prøver som er gjort i Leikvollbekken har fosforen kunnet ligge mellom 10-1000 μgP . Derfor ble det valgt å bruke metode E som er har et område mellom 0,01-6 mg P/L. Denne metoden bruker askorbinsyre for å kunne bestemme mengde ortofosfat i prøven. For å finne total mengede fosfor ble prøven oksidert for å skille ortofosfat fra organisk materiale, metode B5, persulfat digestion (APHA, 1992). Flytdiagrammet i figur 10 viser en oversikt over de kjemiske testene som ble gjennomført.

Det ble ikke gjort noen store avvik fra metoden, utenom at prøvene ble fortynnet og det ble brukt en fem centimeter kyvette. Maskinen som ble brukt var Spectrophotometer UV-1600PC.

2.6 Alger

Det ble ikke brukt standard alger, men stedbundet alger fra teststedet, Store Stokkavannet. I Norske ferskvann er det et høyt antall grønnalger (*Chlorophyta*), men også kiselalger og flere typer flagetella-alger. Med tanke på at det normalt er et høyt antall grønnalger i ferskvann, er det ut ifra denne antagelsen at testen ble lagt opp. Grønnalger har klorofyll og en struktur som kan leses av i en plateleser og kan dermed brukes i testen. Det ble brukt stedbundne alger fra teststedet uten forkultivering som inokulum og alger som ble forkultiverte og brukt som inokulum. Figur 11 bildet viser algene som ble brukt som LW-I i test 1 og som PG-I (forkultivert inokulum, eng. pre grown inoculum) i test 2. Bilde 2 viser algene som ble brukt som LW-I for test 2 og PF-I for test 3.



Figur 11: Mikroskopisk bilde av alger brukt i test 1 i første bilde og test 2 for bilde nr. 2

Inkubasjon av alger: Det ble klargjort 3 paralleller med 100 ml i hver av LW-I i 250 ml erlendmeyer flasker. Hver av de ble tilsatt 1 ml med løsningen A, B, C og D, 2 ml av løsning E. Hver av flaskene ble merket PG-I. Algene ble Inkubert i romtemperatur i en inkubator, Eppendorf Innova S44i, som roterte med 90 rpm., fotosyntetisk aktiv stråling (PAR) på ca. $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^1$. PAR var målt på utsiden av erlendmeyer flasken med en lysmåler LI-250A (LI-COR, USA). Det ble brukt en lys-syklus på 8 timer. Etter ca. 3 dager for test 1-5 og etter 7 dager for test 6-7 ble hver av parallellene overført i en ny næringsløsning. For test 1-5 ble inokulumet overført ved å tilsette 50 ml med PG-I og 50 ml DI-vann

tilsatt næring i en nye 250 ml erlenmeyer flaske og for test 5 og 7 ble det tilsatt 10 ml med PG-I og 90 ml DI-vann. Dette for å hindre at det skulle bli for høy tetthet og at all næringen skulle bli brukt opp. Ved test 6 og 7 ble de forkultiverte algene kun overført hver 7. dag i stedet for hver 3. dag.

2.7 Alge bioassay, testmetode

Klargjøring av brønnplatene.

Det ble brukt 24 brønners brønnplate. De ble fylt slik tabell 1 viser. De første to radene var selve testen. Det ble brukt forkultiverte alger i første rad, mens rad to ble det brukt de stedbundne algene. Rad tre var blank, der brønn 1-3 var blank for PG-I og brønn 4-6 var blank for LW-I. Rad fire var positiv kontroll der brønn 1-3 var positiv kontroll for PG-I og brønn 4-6 var positiv kontroll for LW-I. Blank prøve inneholder DI-vann, inokulum og næring uten fosfor. Dermed kan blank brukes til å kalibrere testen for interferens fra inokulum og næringen i testen. Ved høyt utslag i blank kan testen være kontaminert. Positiv kontroll skal bekrefte at testen fungerer, med at den blir tilsatt mye av det begrensende stoffet som testes for.

Tabell 1: Viser inndeling og mengden av de forskjellige komponentene i brønnplaten.

Test	TW 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL	TW 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL	TW 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL	TW 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL	TW 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL	TW 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL
	TW 1mL NS-P 0,5mL LW-I 0,5mL	TW 1mL NS-P 0,5mL LW-I 0,5mL	TW 1mL NS-P 0,5mL LW-I 0,5mL	TW 1mL NS-P 0,5mL LW-I 0,5mL	TW 1mL NS-P 0,5mL LW-I 0,5mL	TW 1mL NS-P 0,5mL LW-I 0,5mL
Blank	DI-vann 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL	DI-vann 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL	DI-vann 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL	DI-vann 1mL NS-P 0,5mL Lw-I 0,5mL	DI-vann 1mL NS-P 0,5mL Lw-I 0,5mL	DI-vann 1mL NS-P 0,5mL Lw-I 0,5mL
Positiv kontroll	POP-P 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL	POP-P 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL	POP-P 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL	POP-P 1mL NS-P 0,5mL LW-I 0,5mL	POP-P 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL	POP-P 1mL NS-P 0,5mL PG-I 0,5mL

Test 1: En brønnplate for testvann-inn og en for testvann-ut. De ble dekket med en steril gasspermeabel membran (Sigma Aldrich, Tyskland). Membranen ble tatt av for hver måling.

Test 2: To brønnplater for testvann-inn og to for testvann-ut. De ble dekket med en steril gasspermeabel membran. Dekket ble ikke tatt av for hver måling.

Test 3-7: To brønnplater for testvann-inn og to for testvann-ut. Brønnplatene ble kun dekket med plastlokket som følger brønnplatene. Dekke ble fjernet for hver måling. De forkultiverte algene ble sekvensielt fortynt, re-suspendert og sentrifugert 2 ganger på 3000 rpm. i 2 minutter. Algene ble telt med direkte tellemetode ved å bruke Neubauer Haemocytometer tellekammer og mikroskop

analyse for å måle cellekonsentrasjonen. Antall alger i PG-I ble holdt likt med LW-I, og ble fortynnet ved behov.

Testmetode

Det ble brukt en Tecan i-control 1.10.4.0 plateleser og det ble brukt disse innstillingene: Eksitasjons bølglengde på 430 nm, eksitasjons båndvidde på 20 nm, emisjon bølglengde på 600 nm, emisjon båndvidde på 30 nm.

En mikroplateleser kan bli brukt til å måle algevekst ved å se på endring i klorofyll fluorescens over tid. Brønnplatene ble målt for fluoriserende intensitet (FI) som måler antall fluorescens komponenter i hver brønn i brønnplaten. Måling av FI ble gjennomført 3 ganger per dag i 6 dager. Det er optimalt å få målinger frem til stasjonær fase er etablert. Brønnplatene ble inkubert ved romtemperatur på et ristebord med kontinuerlig miksing på 80 rpm. Ristebordet var utstyrt med overhengende fluorescens lysrør som gav fotosyntetisk aktiv stråling (PAR) på ca. $45 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^1$. PAR var målt på utsiden av brønnen med lysmåleren LI-250A (LI-COR, USA)

Standardkurve

Det ble laget en standardkurve for å finne antall celler per milliliter i forhold til fluoriserende intensitet. Algene ble telt med direkte telling, for deretter å bli målt for fluoriserende intensitet. Det ble laget en standardkurve med det sterile gasspermeabel membran og en uten. De ble relativt like og dermed ble det valgt å beholde samme konverteringstall.

2.8 Usikkerhet

Ved fosforanalysen ble det brukt standardfeil (S.E.) for å finne feilmarginen ved målingene. Standardfeilen er basert på 3 parallelle målinger.

Standardfeil:
$$S.E. = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

For alge bioassay ble det brukt et 95% konfidensintervall (δ). Den sier noe om hvor sannsynlig det at en ny måling vil ligge innenfor dette intervallet. Det er gjort 12 parallelle prøver av test inn- og utløp og kun 6 parallelle prøver på positiv kontroll og blank. På grunn av en liten utvalgsstørrelse ble det brukt frihetsgraden i t-fordeling.

T-fordeling:
$$t_{\alpha/2, n-1} = t_{0,0025, n-1}$$

Konfidensintervall:
$$\delta = t_{\alpha/2, n-1} * \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Standardavvik:

$$\sigma = \frac{1}{n-1} * \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

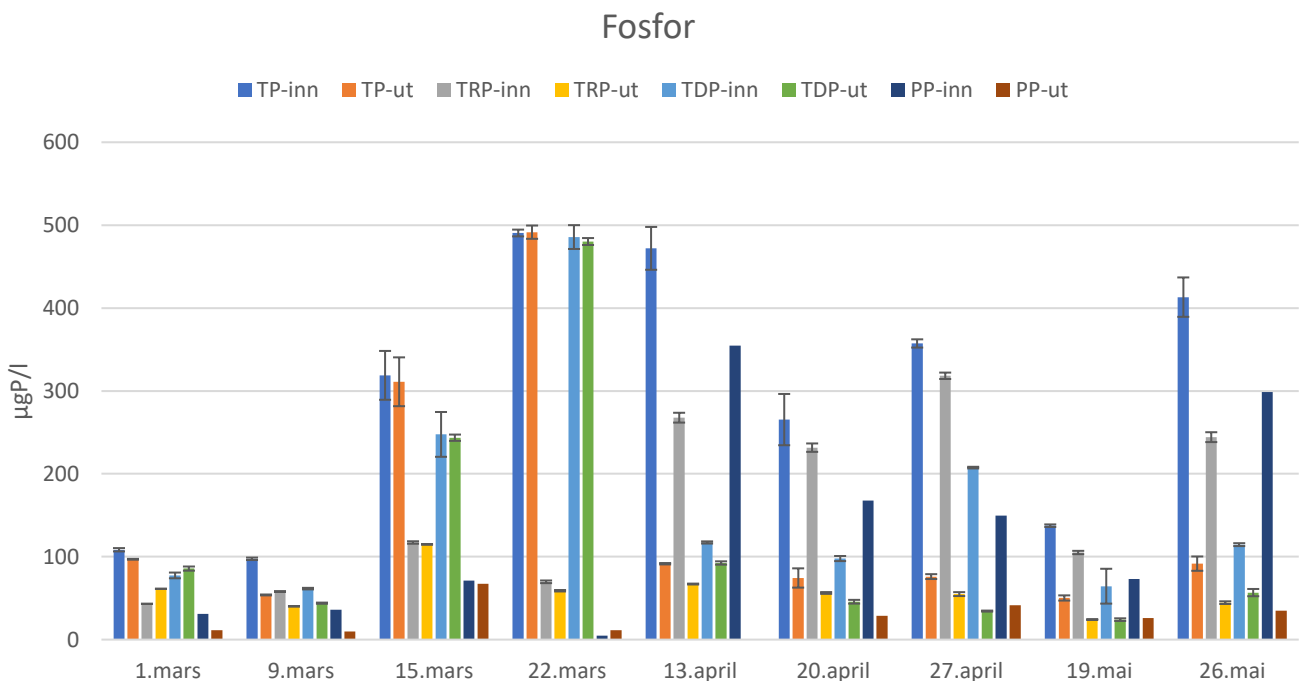
Usikkerhetsberegningen vil inneholde både de systematiske feilene og de tilfeldige feilene.

3 Resultat

3.1 Fosfor analyse

Det ble gjennomført kjemisk analyse av fosforinnholdet av Leikvollbekken fra tidlig mars og fram til slutten av mai. Både innløp og utløp ble testet. Hver test består av mange vannprøver tatt over normalt en uke. Figur 12 viser en grafisk framstilling av resultatet av testene. Mengde fosfor er gitt i $\mu\text{g P/l}$ for de gitte test-dagene. TP-inn(blå)/ut(oransje) er den totale fosforen i testen. TRP-inn(grå)/ut(gul) er den totale reaktive fosforen, hovedsakelig ortofosfater. TDR-inn (lys blå)/ut(grønn) er de totale løste fosfatene. PP-inn (mørk blå)/ut(brun) er partikulært fosfor.

I de første to testene ser en lite endring i fosforinnholdet. Analysen gjennomført 1. mars er den eneste der den totale reaktive fosforen er høyere ved utløpet enn ved innløpet. Mengden fosfor inn i våtmarken øker utover mars, men mengden inn i våtmarken tilsvarer omtrentlig den mengden som går ut. I april ser en mer tydelig trend på retensjon i renseparken. Ved henting av prøver 13. mars var det markant lukt av naturgjødsel i luften. En kald vår har gjort at det er lite planteaktivitet i mars og april sammenlignet med tidligere år. April har vært tørr, mens det har vært mer regn under prøvetaking i mai.



Figur 12: Resultat av fosforanalyse våren 2021

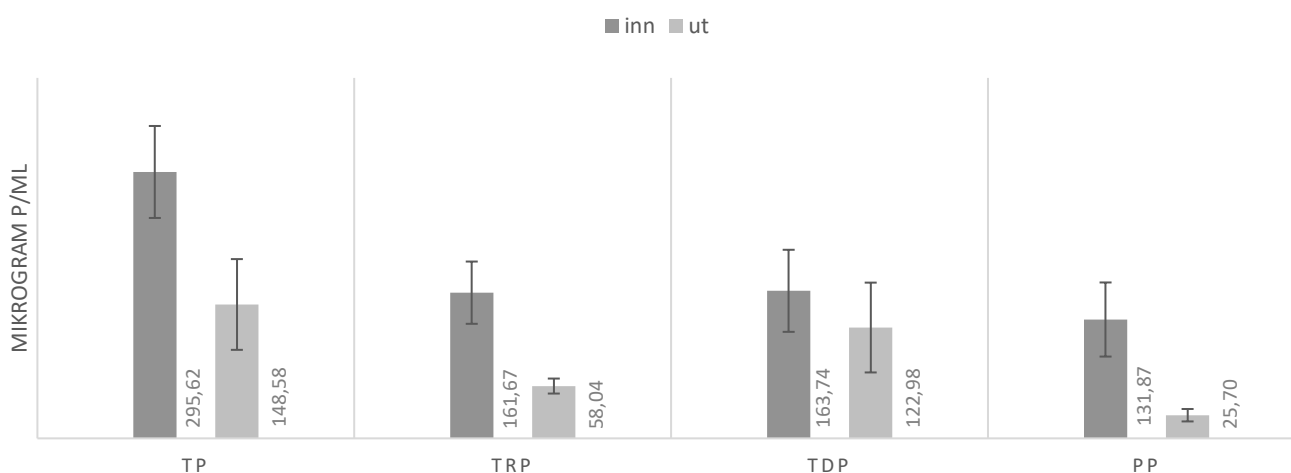
Prøvene analysert før 13. mars hadde lave konsentrasjoner og det var lite retensjon å se i våtmarken. Fra 1.3 mars kan en se en markant økning i fosforkonsentrasjonene. Siste halvdel av mars består prøvene mest av løst fosfor, men når en kommer til april og mai er det mye større mengde partikulært fosfor i prøvene.

Det totale resultatet av fosforanalysen med standardfeil er vist i figur 13. Total Fosfor (TP) hadde et gjennomsnitt på innløpet på $295,62 \pm 51,03 \mu\text{g P/l}$ og et utløp på $148,58 \pm 50,36 \mu\text{g P/l}$. Dette betyr at det er en retensjon av TP på 50% i Leikvollbekken. Total reaktiv fosfor (TRP) hadde et gjennomsnitt på innløpet på $161,67 \pm 34,54 \mu\text{g P/l}$, og et utløpet på $58,04 \pm 8,32 \mu\text{g P/l}$. Det betyr at våtmarken har en retensjon på 64% av TRP. Total løst fosfor (TDP) hadde et gjennomsnitt på innløpet på $163,74 \pm 45,50 \mu\text{g P/l}$ og et utløp på $122,98 \pm 49,80 \mu\text{g P/l}$. Partikulært fosfor (PP) hadde et gjennomsnitt på innløpet på $131,87 \pm 41,12 \mu\text{g P/l}$ og et utløp på $25,70 \pm 6,89 \mu\text{g P/l}$. Det betyr at det er en retensjon på 81% av PP

Av den gjennomsnittlige TP som kommer inn i Leikvollbekken er 45% TRP og 55% er PP. Av den gjennomsnittlige TP som går ut av Leikvollbekken er 40% TRP og 17% er PP.

Det gjennomsnittlige resultat av den kjemiske analysen gjort samtidig som algetest 3-7 med standardfeil ble som følger: TP innløp $329,07 \pm 58,77 \mu\text{g P/l}$ og utløp $76,76 \pm 7,58 \mu\text{g P/l}$. TRP innløp $233,38 \pm 35,33 \mu\text{g P/l}$ og utløp $49,40 \pm 7,23 \mu\text{g P/l}$. PP innløp $208,76 \pm 51,48 \mu\text{g P/l}$ og utløp $26,26 \pm 7,09 \mu\text{g P/l}$. Retensjonen i uke 14 – 20 av TP var på 77%, retensjon av TRP var på 79% og retensjon av PP var på 87%.

DET TOTALE RESULTAT AV FOSFOR ANALYSEN FRA MAI TIL JUNI



Figur 13: Det totale resultatet av fosfor analysen tatt fra mars til juni med standardfeil.

3.2 Bioassay

Neste del er delt inn i to hoveddeler: Tester med forkultiverte alger, PG-I (PG: Pre-Grown) og tester med stedbundet alger fra teststedet, Store Stokkavannet, LW-I (LW: Lake water). På slutten av hver del vil resultatet av biotilgjengelig fosfor bli lagt frem. I teksten er det lagt ved grafisk framstilling av resultatet og for tabeller se vedlegg. Det en kan forvente er en lav blank verdi som brukes til å trekke fra alger fra testvannet og eventuelle annet interferens i prøven. Positiv kontroll er tilsatt 1 mg P/I og en kan forvente at denne parameteren har høyest verdi i testen.

Usikkerheten er stor igjennom alle testene. En generell trend er at dess høyere gjennomsnittsverdien er til større differanse er det mellom de enkelte målingene. De forskjellige brønnene har ofte store forskjeller for samme testen. Det er gjerne en brønn som har mye høyere verdi enn de andre og en med nesten ingen utslag. Ved å kjøre mange paralleller vil en likevel oppnå en signifikans, selv ved store individuelle variasjoner i hver brønn. Hver av grafene i resultatet av algetest med PG-I og LW-I er plottet med et 95% konfidensintervall gitt ved frihetsgraden i t-fordeling. Verdien i t-fordeling er gitt i forhold til antall replikasjoner det er av hver parameter.

Fra test 3 og utover ble antall alger i test med LW-I og PG-I holdt like. LW-I, PG-I, innløp og utløp ble bestemt ved telling. Det var ikke alltid mulig å få til gode tellinger av algene. Der verdiene for PG-I ble for høy i forhold til LW-I ble prøven fortynnet. Ved å holde antall alger like ved de forskjellige testene var det mulig å sammenligne prestasjonene til algene PG-I mot LW-I. Tabell 2 viser initiale verdier uten fortynning.

Tabell 2: Viser antall alger initialt i inokulum, og testvann ved start av testen.

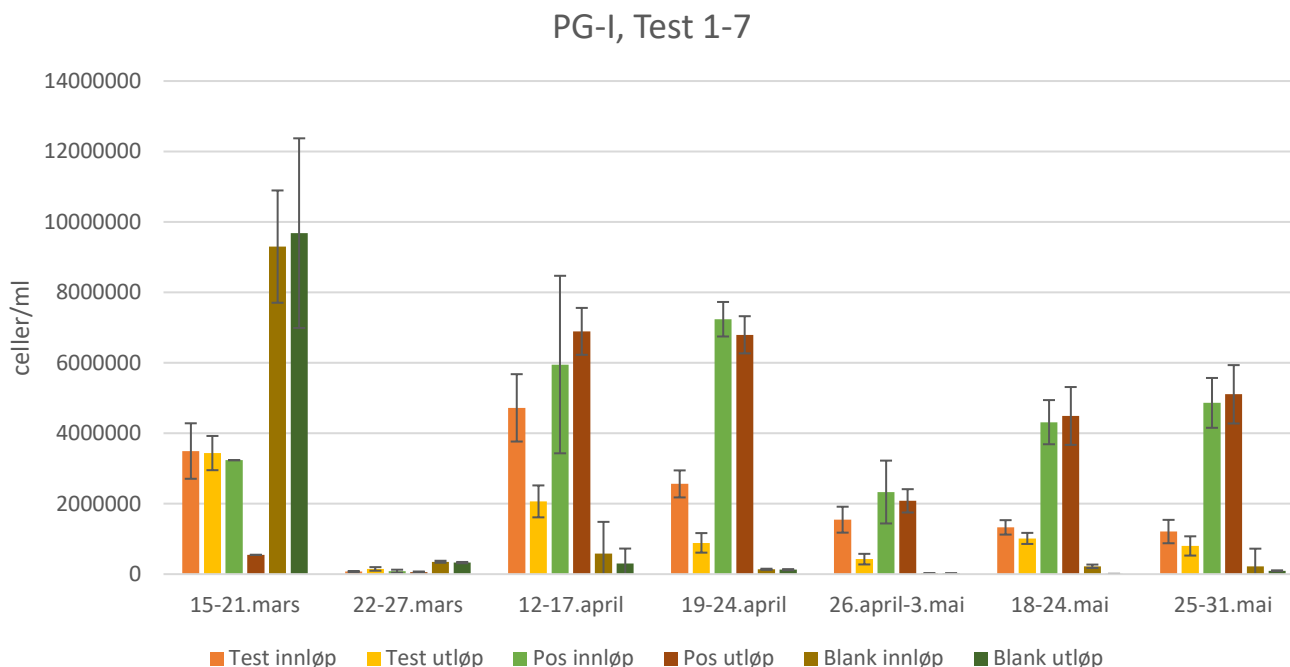
	LW-I celler/ml	PG-I celler/ml	Innløp celler/ml	Utløp celler/ml
17.mar	3000			
07.apr	9630	18889	12222	7778
12.apr	9259	18889		
19.apr	56111	60000	20556	7778
26.apr	9259	47778	6667	
18.mai	98889		17776	10000
25.mai	777000	670000	33333	16667

Resultat av tester med PG-I

Test med forkultiverte alger består av alger som er inkubert i romtemperatur før de er brukt i testen. En kan forvente en raskere akselerasjon av veksten og en har mer kontroll på mengde celler i hver brønn. Testbrønnene vil inneholde forkultiverte alger og alger i selve testvannet, inkludert eventuelle

andre bakterier, virus og sopper som er i testvannet. Blank og positiv kontroll vil ikke ha ekstra alger eller andre mikroorganismer utenom de som overføres med inokulumet.

Grafen i figur 14 viser resultatet av hver test gjennomført med forkultiverte alger. Grafen viser antall celler per milliliter mot dato testen er gjennomført. Oransje er test innløp, gul er test utløp, grønn er



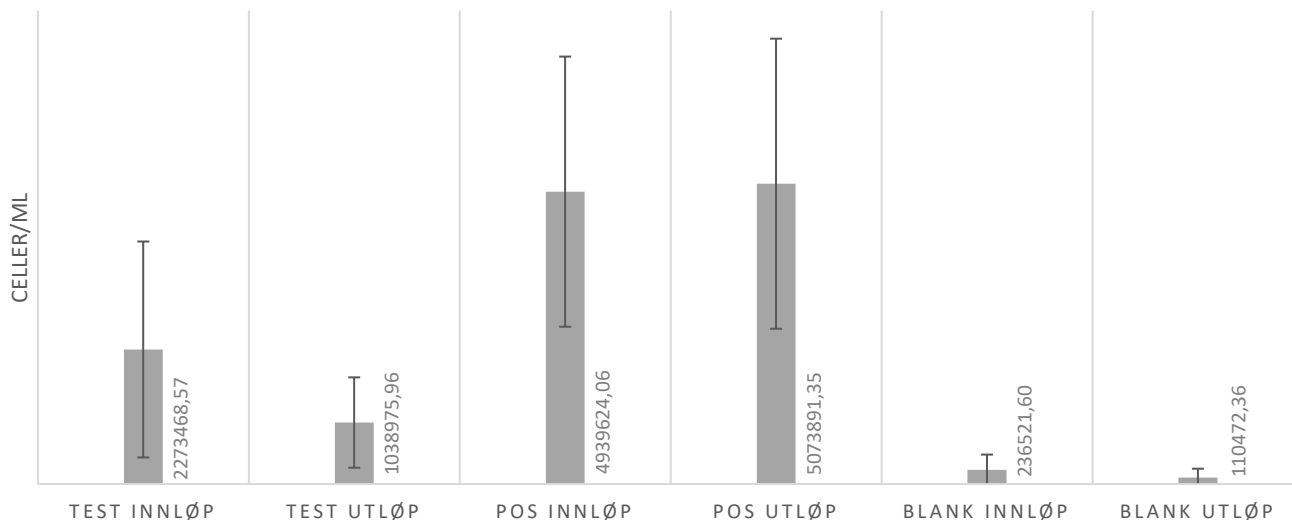
Figur 14: Resultat av test 1-7 med forkultiverte alger.

positiv kontroll innløp, mørk rød er positiv kontroll utløp, brun er blank innløp og mørk grønn er blank utløp.

Test 1 skiller seg ut med at blank inn- og ut er høyest og positiv kontroll lavest. I test 2 er alle verdier lave. Positiv kontroll er lavest, mens blank inn- og utløp er høyest. I test 3-7 kan en se en trend på at det er en differanse mellom test inn- og utløp, mens begge blank-parameterne er høyest og nærmest i verdi og holder seg lavest igjennom alle testene.

Det totale resultatet av test 3-7 er vist grafisk i figur 15 med 95% konfidensintervall. Resultat i fra test 1 og 2 er ikke representativt og er dermed ikke tatt med her. Test innløp hadde et gjennomsnitt på $2\,273\,469 \pm 1\,823\,830$ celler/ml. Test utløp hadde et gjennomsnitt på $1\,038\,976 \pm 763\,075$ celler/ml. Positiv kontroll innløp hadde et gjennomsnitt på $4\,939\,624 \pm 2\,281\,349$ celler/ml. Positiv kontroll utløp hadde et gjennomsnitt på $5\,073\,891 \pm 2\,449\,909$ celler/ml. Blank innløp hadde et gjennomsnitt på $236\,522 \pm 261\,297$ celler/ml. Blank utløp hadde et gjennomsnitt på $110\,472 \pm 149\,231$ celler/ml.

DET TOTALE RESULTATET AV TEST 3-7, PG-I

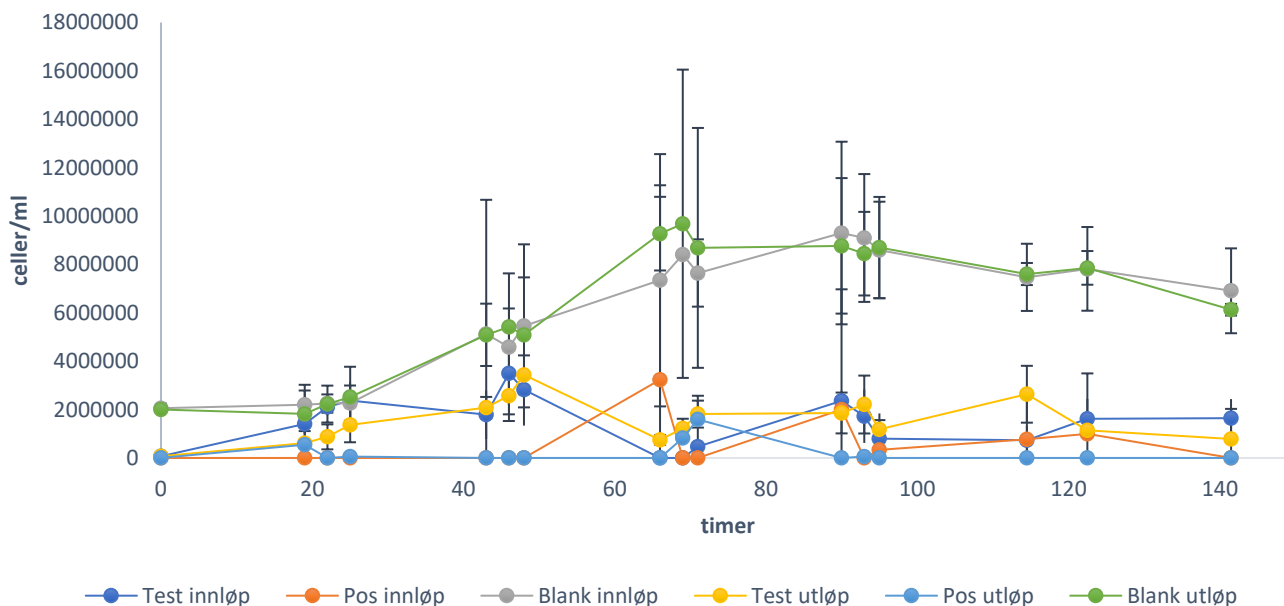


Figur 15: Det totale resultatet av test 1-7 med forkultiverte alger.

Test 1

Test 1 består av prøver samlet inn mellom 8. – 15. mars. Det kom en del nedbør den uken og temperaturen lå mellom -1 til +9°C. Selve testen ble gjennomført 15. – 21. mars. PG-I er hentet 8. mars fra Store Stokkavannet. Testen ble gjennomført med en brønnplate for innløp og en for utløp.

Test 1 PG-I



Figur 16: Resultat av test 1 med forkultiverte alger.

Resultatet av test 1 vises grafisk i figur 16. Grafen viser gjennomsnittet av celler/ml ved gitt tid i timer. Parameterne i grafen er delt inn på denne måten: Test innløp er blå, pos innløp som er positiv kontroll

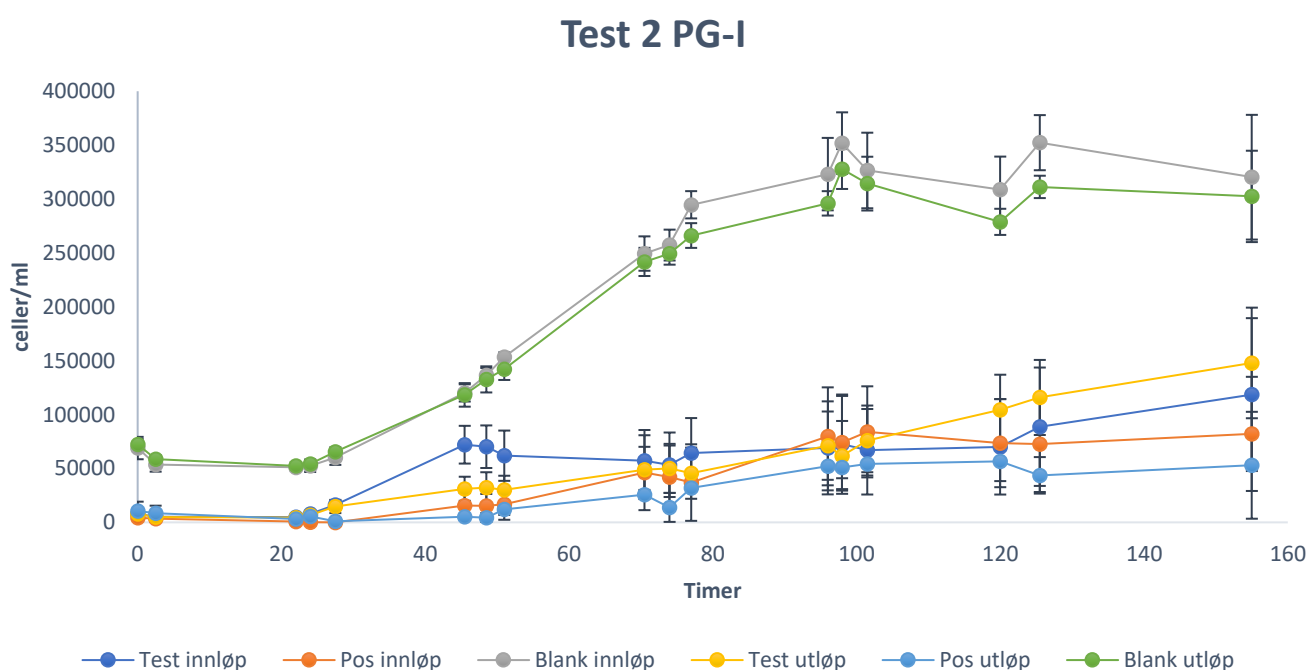
er oransje og blank innløp er grå. Test utløp er gul, pos utløp er positiv kontroll som er lys blå, og blank utløp er grønn.

Økning i algevekst skjer tidlig i testen og algene i blank prøve (grå/grønn) når stasjonær fase etter rundt 70 timer. Etter dette har verdiene en synkende trend. Test innløp og test utløp (blå/gul) har økning, men er en god del lavere enn begge blankprøvene. De når en stasjonær fase rett i underkant av 50 timer. Positiv kontroll (oransje/lys blå) har liten økning, men har flere små verdisvinger gjennom hele testen. Testen har tydelig ikke et ønsket resultat med høy blank og lav positiv kontroll.

Test 2

Test 2 består av prøver samlet inn mellom 15. – 22. mars. Det var minimalt med nedbør i dette tidsrommet, og temperaturen lå mellom 0 til 9°C. Selve testen ble gjennomført 22. – 27. mars. PG-I er hentet 15. mars fra Store Stokkavannet. Testen ble gjennomført med to brønnplater for hvert av testvannene. Målingene ble gjort med en steril gasspermeabel membran.

Resultatet av test 2 vises grafisk i figur 17. De forkultiverte algene starter raskt å vokse. Størst utslag var det på begge blankprøvene (grå/grønn). Algene i blank når en stasjonær fase ved 98 timer både på inn- og utløp. Test innløp (blå) har et tydelig platå etter 45 timer, for deretter å holde seg rundt på det samme nivået. Mot slutten stiger den igjen. Test utløp (gul) derimot øker jevnt og trutt i løpet av hele testen og har ingen tydelig platå. Positiv kontroll vokser (oransje/lys blå), men med noen små dipp i



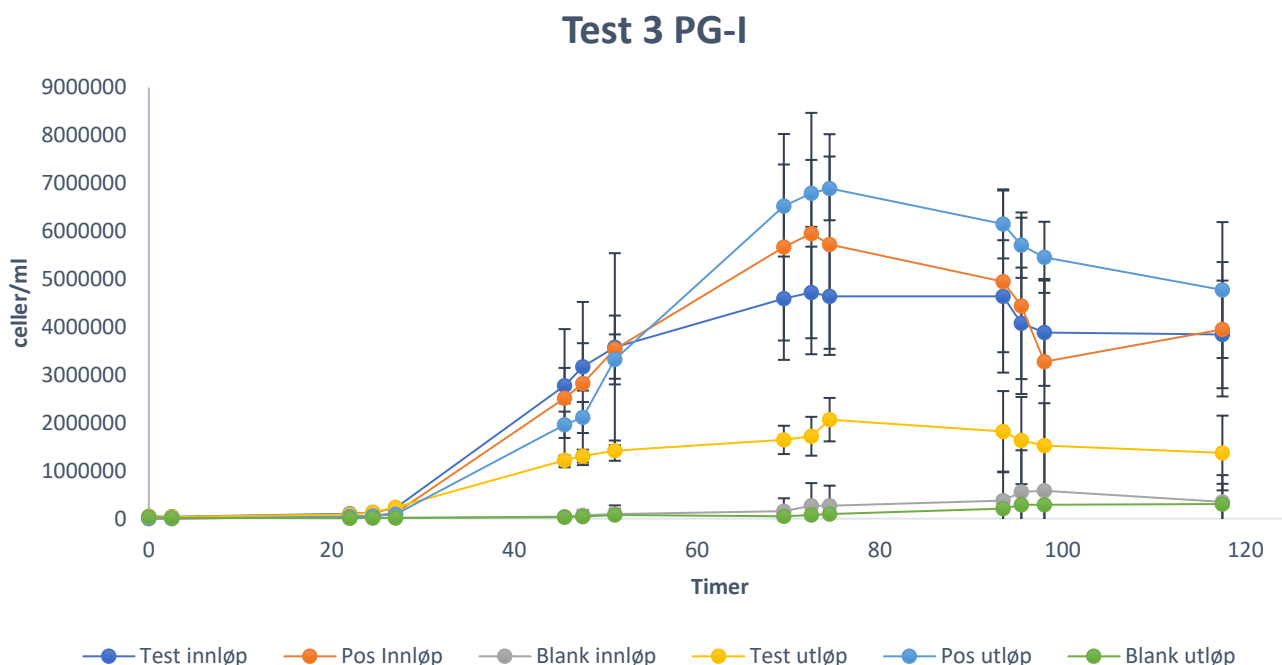
Figur 17: Resultat av test 2 med forkultiverte alger.

kurven. Verdiene er lave i forhold til test og blank. De når et relativt tydelig platå etter rundt 100 timer. Denne testen hadde ikke ønskelig resultat.

Test 3

Test 3 består av prøver som er samlet inn mellom 7. – 12. april. Det var en del regn i starten av uken, og temperaturen var mellom -1 og +8 °C. Selve testen ble gjennomført 12. – 17. april. PG-I er hentet 7. april fra Store Stokkavannet. Testen ble gjennomført med to brønnplater for hver av testene. Målingene ble tatt uten dekke. Algene ble vasket før bruk for å minske overføring av fosfor fra inkubasjonen til testen. Forholdet mellom næringsstoffene ble endret.

Resultatet for test 3 vises grafisk i figur 18. Etter omkring 20 timer begynner alle verdier å øke utenom



Figur 18: Resultat av Test 3 med forkultiverte alger.

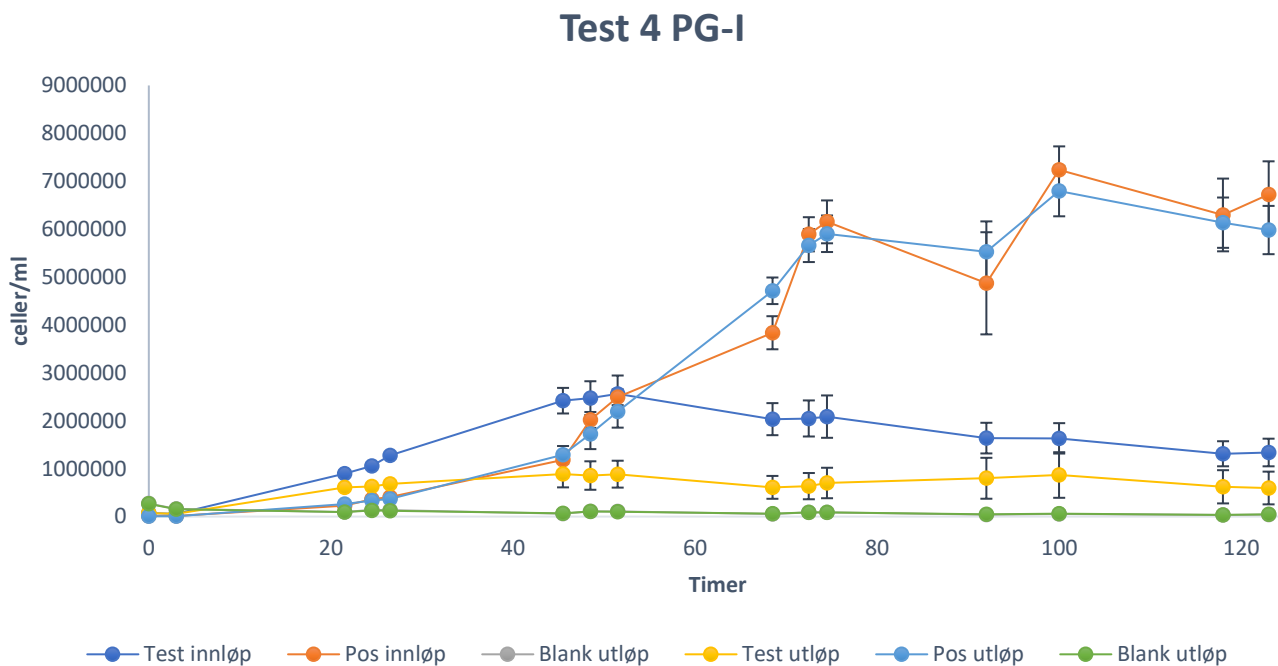
de blanke prøvene (grå/grønn) som holder seg lave gjennom hele testen. Både test (blå/gul) og positiv kontroll (oransje/lys blå) øker fram til rundt 75 timer. Der når de stasjonær fase og alle synker gradvis helt til slutten med unntak av pos-innløp som har en økning på slutten av testen. Her kan en tydelig se noe som var mer forventet. Positiv kontroll har høyest antall celler, etterfulgt av testene og blank med lite utslag i bunnen av grafen.

Test 4

Test 4 består av prøver samlet inn mellom 12. – 19. april. Ingen nedbør denne uken, og temperaturen var mellom 1 - 19 °C. Selve testen ble gjennomført 19. – 24. april. PG-I er hentet 12. april fra Store Stokkavannet. Den ble ikke brukt fordi disse algene ikke ville gro i mediet. I stedet ble det brukt alger

hentet 7. april. Testen ble gjennomført med to brønnplater for hver av testene. Målingene ble tatt uten dekke og algene ble vasket før bruk.

Resultatet for test 4 vises i figur 19. Etter omkring 20 timer begynner alle verdier å øke utenom de blanke prøvene (grå/grønn), som har en nedadgående trend gjennom hele testen. Test inn- og utløp (blå/gul) øker fram til omtrent 50 timer og når stasjonær fase, synker deretter gradvis. Positiv kontroll (oransje/blå) øker fram til omtrent 50 timer og når stasjonær fase, synker deretter gradvis. Positiv kontroll



Figur 19: Resultat av test 4 med forkultiverte alger.

(oransje/lys blå) økte fram til omkring 75 timer. Etter dette går verdiene mye opp og ned, og dermed er det vanskelig å se en trend i forhold til stasjonær fase.

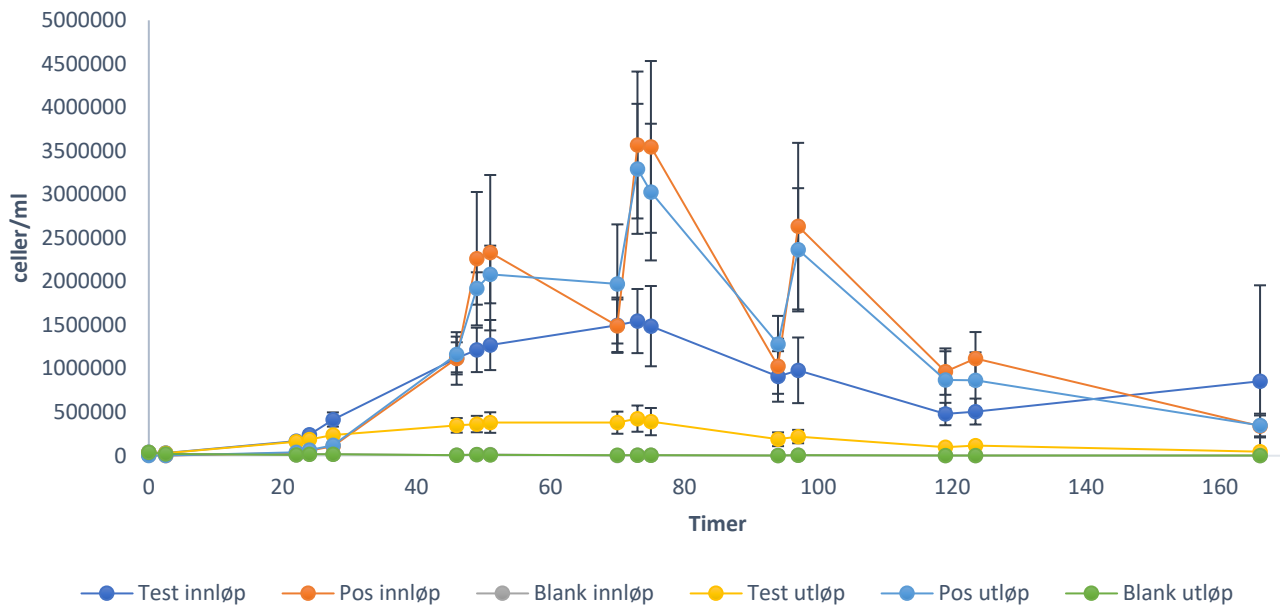
Test 5

Test 5 skulle bestått av prøver samlet inn mellom 19. – 26. april. På grunn av at prøvetakeren gikk tom for strøm kan en ut fra mengde vann i beholder gå ut fra at det er kun tatt prøver fra første del av uken. Det var lite til ingen nedbør den uken, og temperaturen var mellom 1 og 19 °C. Selve testen ble gjennomført 26. april – 3. mai. PG-I er hentet 19. april fra Store Stokkavannet. Den ble ikke brukt fordi disse algene ikke ville gro i mediet. Det ble brukt alger hentet 7. april. Testen ble gjennomført med to brønnplater for hver av testene. Målingene ble tatt uten dekke og algene ble vasket før bruk.

Resultatet for test 5 vises grafisk i figur 20. Testparameterne har en litt lavere aktivitet enn test 3 og 4. Det ble observert en lavere vekst etter 20 timer enn tidligere, men det har en økende trend. Blank (grå/grønn) har en nedadgående trend. Test inn- og utløp (blå/gul) når stasjonær fase omkring 73 timer. Positiv kontroll (oransje/blå) økte fram til rett i overkant av 50 timer. Etter dette går verdiene

mye opp og ned. Det er igjen vanskelig å se en trend i forhold til stasjonær fase. Mot slutten av testen øker igjen test innløp.

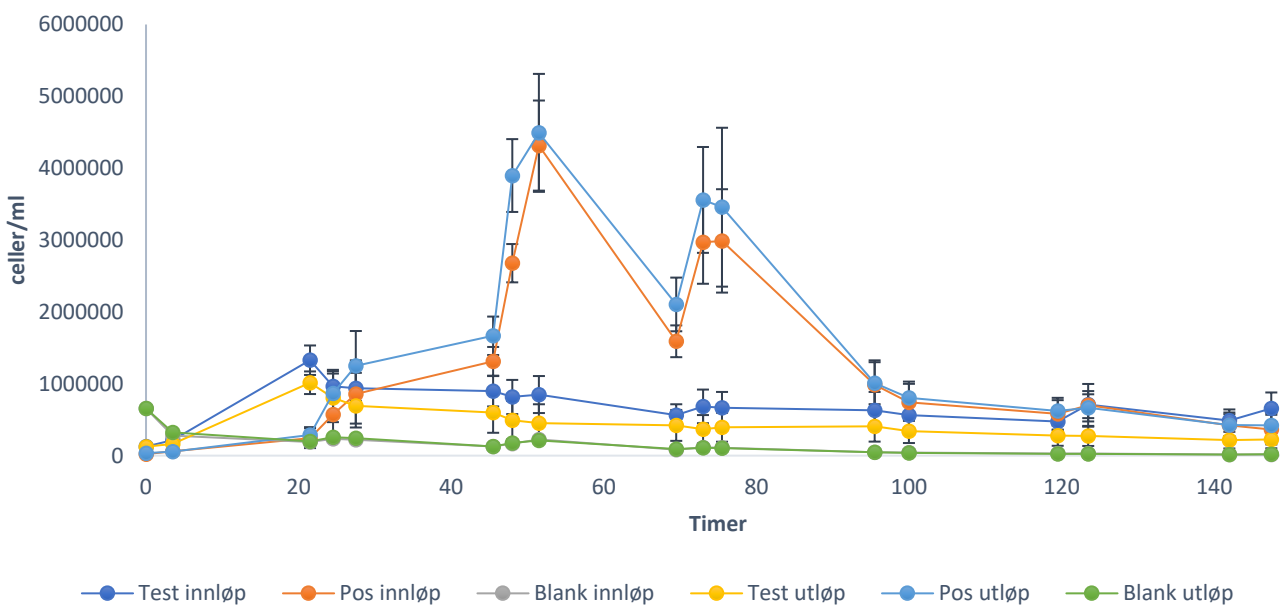
Test 5 PG-I



Figur 20: Resultat av test 5 med forkultiverte alger.

Test 6

Test 6 PG-I



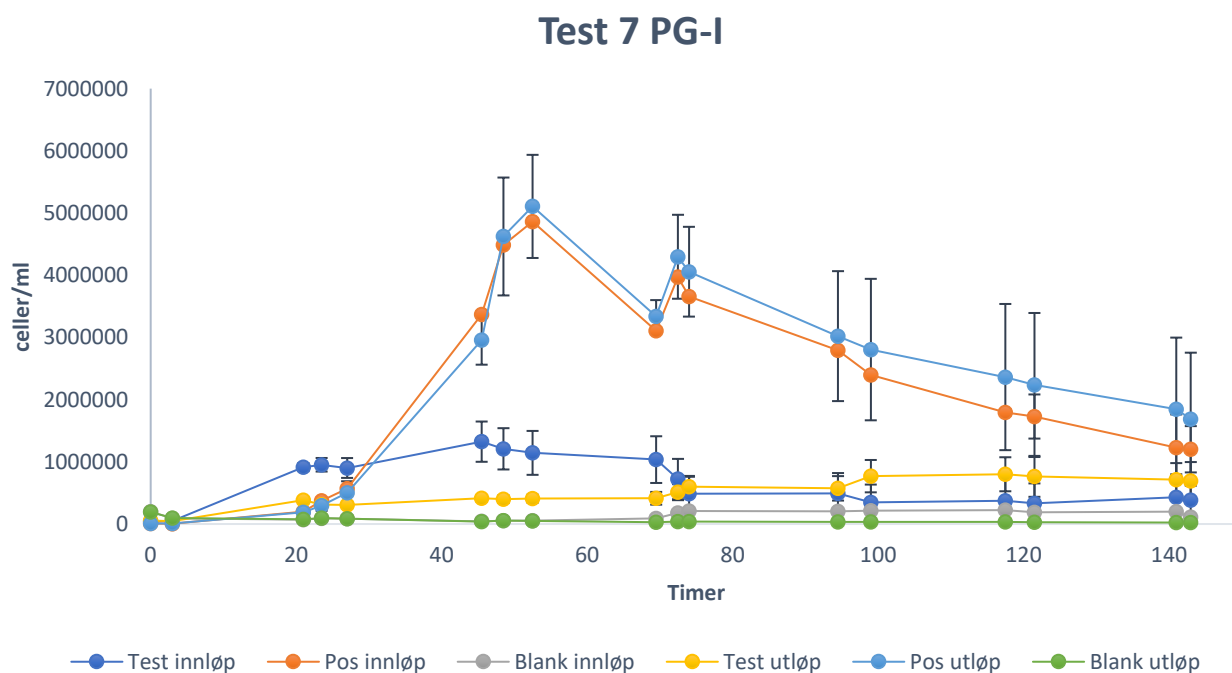
Figur 21: Resultat av test 6 med forkultiverte alger.

Test 6 består av prøver samlet inn mellom 11. – 18. mai. Flere dager med nedbør den uken, og temperaturen var mellom 7 og 19 °C. Selve testen ble gjennomført 18. – 24. mai. Det ble brukt algene hentet 7. april. Testen ble gjennomført med to brønnplater for hver av testene. Målingene ble tatt uten dekke og algene ble vasket før bruk.

Resultatet for test 6 vises grafisk i figur 21. Test inn- og utløp (blå/gul) når stasjonær fase rett i overkant av 21 timer, som er tidligere enn forgående tester. Blank (grå/grønn) har en synkende trend. Positiv kontroll (oransje/lys blå) øker fram til etter 76 timer. Etter dette ser en tydelig opp- og nedgang i veksten.

Test 7

Test 7 består av prøver samlet inn mellom 21. – 25. mai. Flere dager med nedbør, og temperaturen var mellom 4 og 19 °C. Selve testen ble gjennomført 25. – 31. mai. Det ble brukt algene hentet 7. april. Testen ble gjennomført med to brønnplater for hver av testene. Målingene ble tatt uten dekke og



Figur 22: Resultat av test 7 med forkultiverte alger.

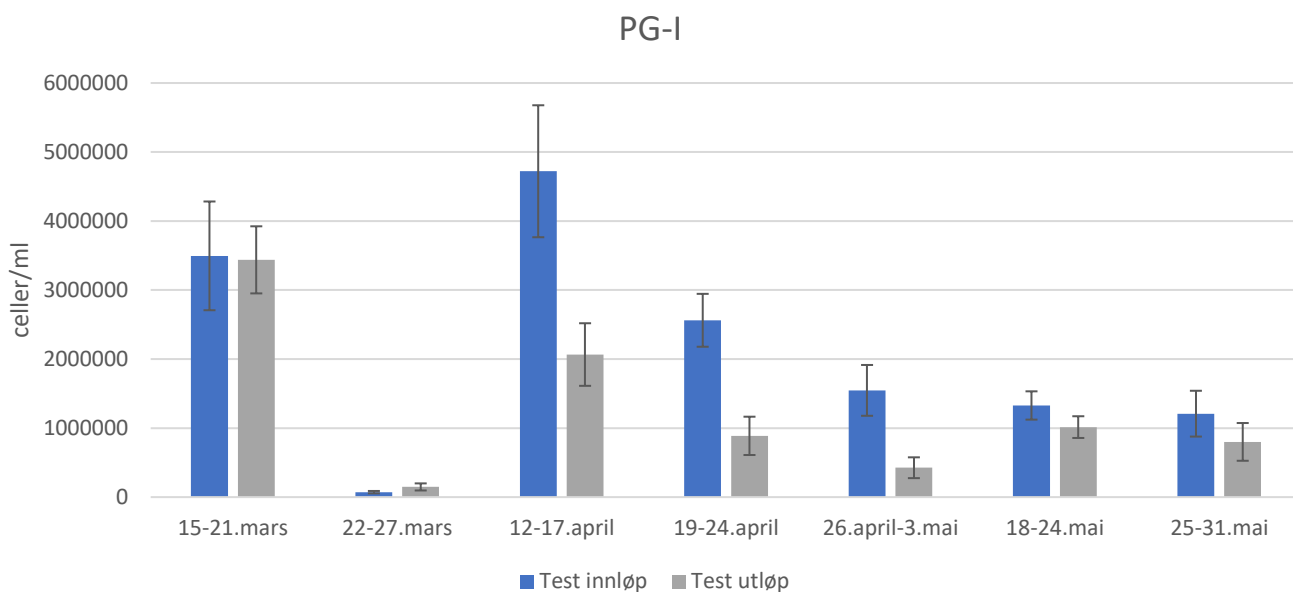
algene ble vasket før bruk. Det ble lagt et tynt lag med isopor under prøven for å hindre at varme fra ristebordet skulle varme opp algene for mye.

Resultat av test 7 vises grafisk i figur 22. En kan observere en markant økning på test innløp (blå) etter bare 20 timer og når stasjonær fase etter rundt 50 timer. Test utløp (gul) har ikke et like tydelig platå i denne testen, men er på sitt høyeste etter 117 timer. Både blank inn- og utløp (grå/grønn) holder seg

lave med noen mindre variasjon i veksten. Positiv kontroll for inn- og utløp (oransje/lys blå) stiger jevnt fram til rundt 52 timer. Etter dette har de en synkende trend.

Test av biotilgjengelig fosfor, PG-I

Resultatet fra test 1-7 er framstilt i grafen i figur 21 med et 95% konfidensintervall og fremstilt numerisk i tabell 3. Ved alle tester utenom test 2 (22. – 27. mars) kan en observere mer aktivitet i innløp enn utløp som samsvarer med den kjemiske analysen av fosfat gjort for samme tidsintervall. At det var høyest aktivitet i test 3 samsvarer også med den kjemiske analysen for samme tidsintervall. Ut ifra fosforanalysen kunne en forvente en mye lavere aktivitet på test 1.



Figur 21: Resultat alge bioassay av biotilgjengelig fosfor, test 1-7 med forkultiverte alger.

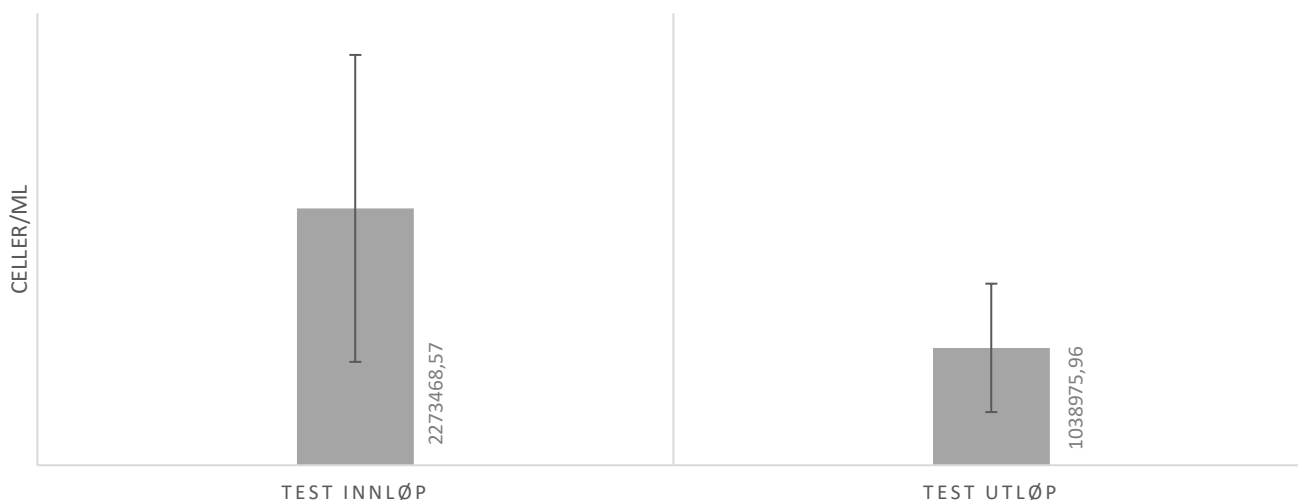
Tabell 3: Resultat av test inn- og utløp med forkultiverte alger.

Differansen mellom inn og utløp med PG-I						
FI						
Dato	Inn/utløp	n	Test \bar{x}	σ	$t_{0,025,n-1}$	δ_x
15-21.mars	inn	12	17629,67	6253,33	2,20	3973,21
	ut	12	17338,58	3857,23	2,20	2450,78
22-27.mars	inn	12	363,42	138,99	2,20	88,31
	ut	12	746,00	407,27	2,20	258,77
12-17.april	inn	12	23811,67	7589,37	2,20	4822,09
	ut	12	10419,47	3599,90	2,20	2287,28
19-24.april	inn	12	12921,25	3042,67	2,20	1933,23
	ut	12	4478,17	2203,72	2,20	1400,19
26.ap-3.mai	inn	12	7800,33	2922,91	2,20	1857,14
	ut	12	2148,75	1195,44	2,20	759,55
18-24.mai	inn	12	6697,92	1627,34	2,20	1033,97
	ut	12	5116,67	1248,94	2,20	793,55
25-31.mai	inn	12	6098,58	2633,76	2,20	1673,42

ut	12	4036,67	2170,03	2,20	1378,78
----	----	---------	---------	------	---------

Det totale resultatet av differansen mellom inn- og utløp er grafisk framstilt i figur 22 med et 95% konfidensintervall. Test 1 og 2 var ikke representativ for testen og dermed ikke med i det totale resultatet. Test innløp hadde et gjennomsnitt på 2 273 469 celler/ml \pm 1 358 468 celler/ml. Test utløp hadde et gjennomsnitt på 1 038 976 celler/ml \pm 568 372 celler/ml. Det utgjør et gjennomsnitt på 54 % flere celler i innløpet enn utløpet av våtmarken.

RESULTATET AV DIFFRANSEN MELLOM INN- OG UTLØP AV TEST 3-7, PG-I

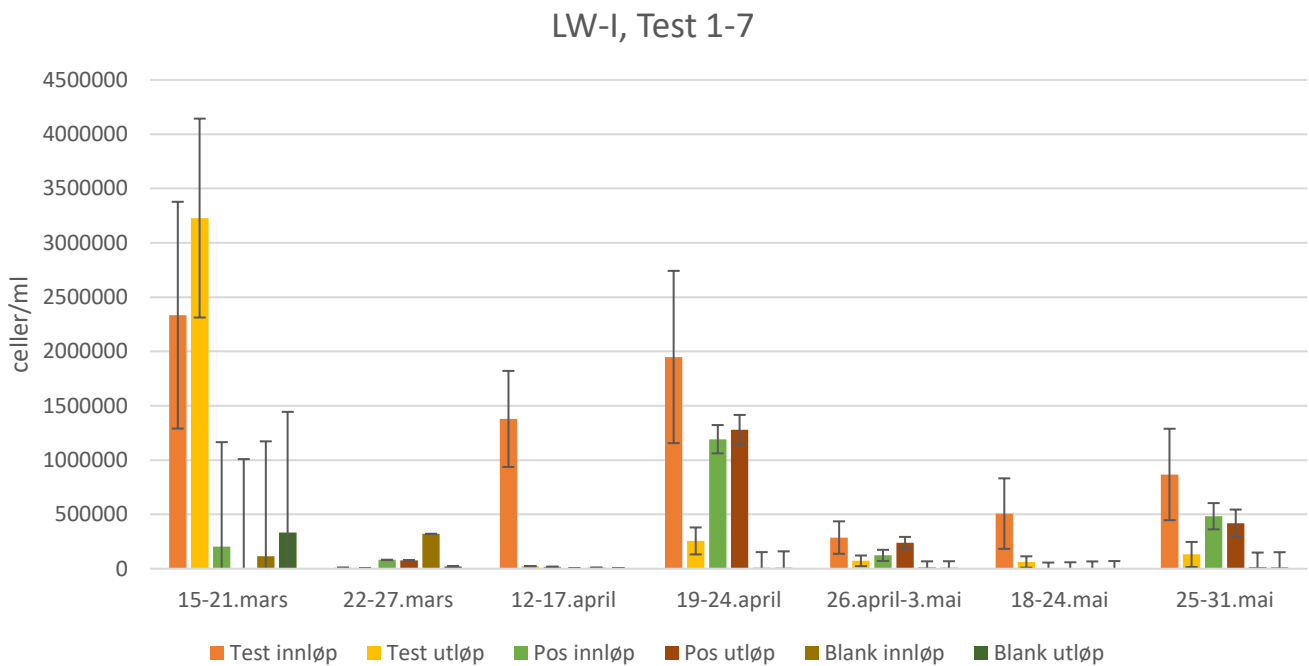


Figur 22: Den totale differansen mellom inn- og utløp på test 3-7 med forkultiverte alger.

Resultat av test med LW-I

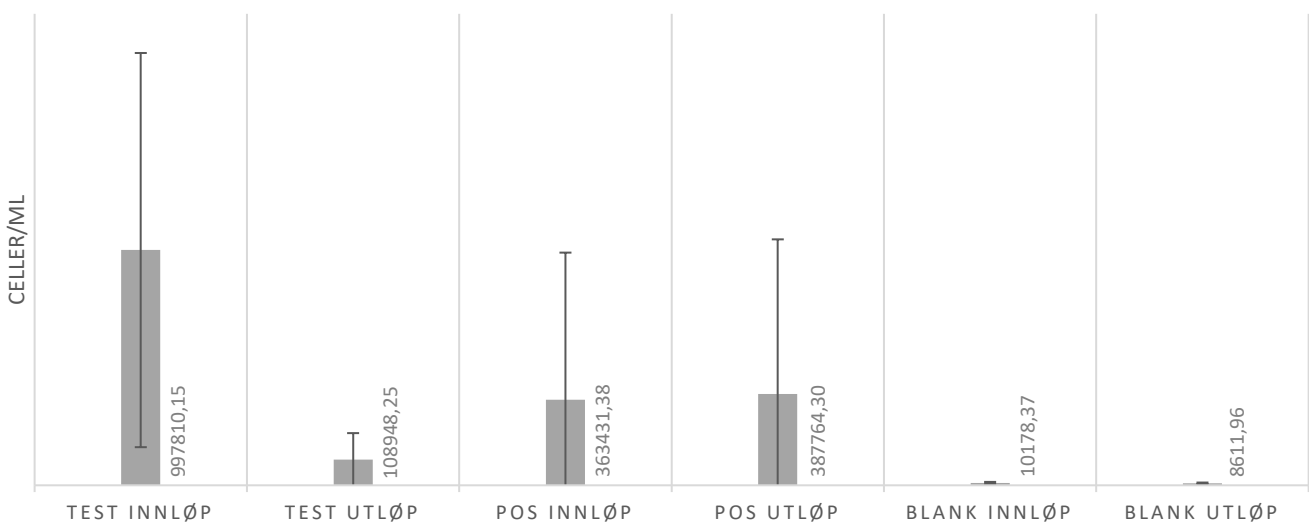
Tester med stedbundet alger fra teststedet, Store Stokkavannet. Algene er hentet rett før testen settes i gang. Det er forventet å se en nedgang før en vil observere vekst. For de kaldere delene av året er det mindre mengder alger per milliliter i innsjøen og dette kan gi en utfordring med å få en uniform mengde alger per brønnplate. Brønnene med test vil inneholde stedbundne alge-inokulum og alger i selve testvannet, inkludert eventuelle andre bakterier, virus og sopper som er i testvannet. Blank og positiv kontroll vil ikke ha ekstra alger eller andre mikroorganismer enn de i som overføres med inokulumet.

Resultatet fra test 1-7 med stedbundet alger fra teststedet, Store Stokkavannet er vist i grafen i figur 23. Grafen viser antall celler per milliliter mot dato testen er gjennomført. Oransje er test innløp, gul er test utløp, grønn er positiv kontroll innløp, mørk rød er positiv kontroll utløp, brun er blank innløp og mørk grønn er blank utløp. Resultatene viser lite kontinuitet. Test 3-7 kan en se at det er størst utslag på test innløp. Test 1 har stort utslag på inn- og utløp. Test 2 har lite utslag, men kan se en topp på blank innløp.



Figur 23: Resultatet av test 1 -7 med stedbundet alger fra teststedet.

DET TOTALE RESULTATET AV TEST 3-7, LW-I



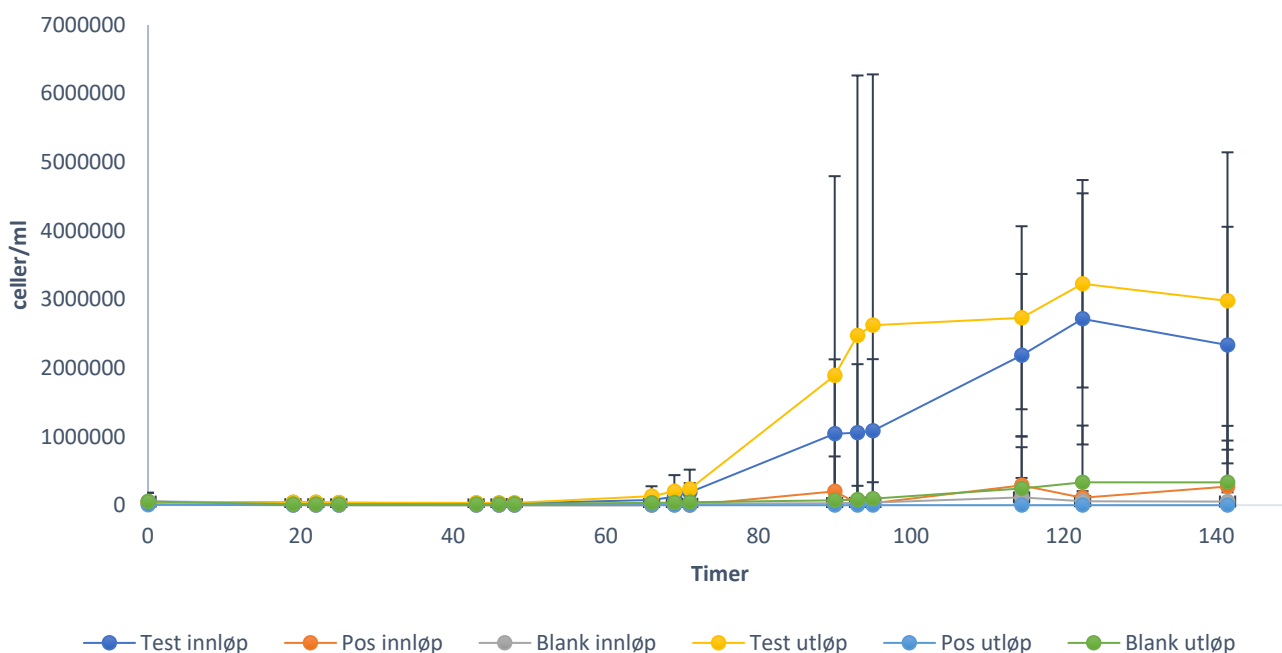
Figur 24: Det totale resultatet av test 1-7 med stedbundet alger fra teststedet.

Det totale resultatet av test 3-7 er vist grafisk i figur 24 med et 95% konfidensintervall. Resultat i fra test 1 og 2 er ikke representativt og er dermed ikke tatt med her. Test innløp hadde et gjennomsnitt på $997\,810 \pm 836\,093$ celler/ml. Test utløp hadde et gjennomsnitt på $108\,948 \pm 112\,404$ celler/ml. Positiv kontroll innløp hadde et gjennomsnitt på $363\,431 \pm 623\,617$ celler/ml. Positiv kontroll utløp hadde et gjennomsnitt på $387\,764 \pm 429\,215$ celler/ml. Blank innløp hadde et gjennomsnitt på $10\,178 \pm 4\,185$ celler/ml. Blank utløp hadde et gjennomsnitt på $8\,612$ celler/ml $\pm 3\,040$ celler/ml.

Test 1

Test 1 består av prøver samlet inn mellom 8. – 15. mars. Det kom en del nedbør den uken og temperaturen lå mellom -1 til $+9$ °C. Selve testen ble gjennomført 15. – 21. mars. LW-I er hentet 15. mars fra Store Stokkavannet. Testen ble gjennomført med en brønnplate for innløp og en for utløp.

Test 1 LW-I



Figur 25: Resultat av test 1 med stedbundet alger fra teststedet.

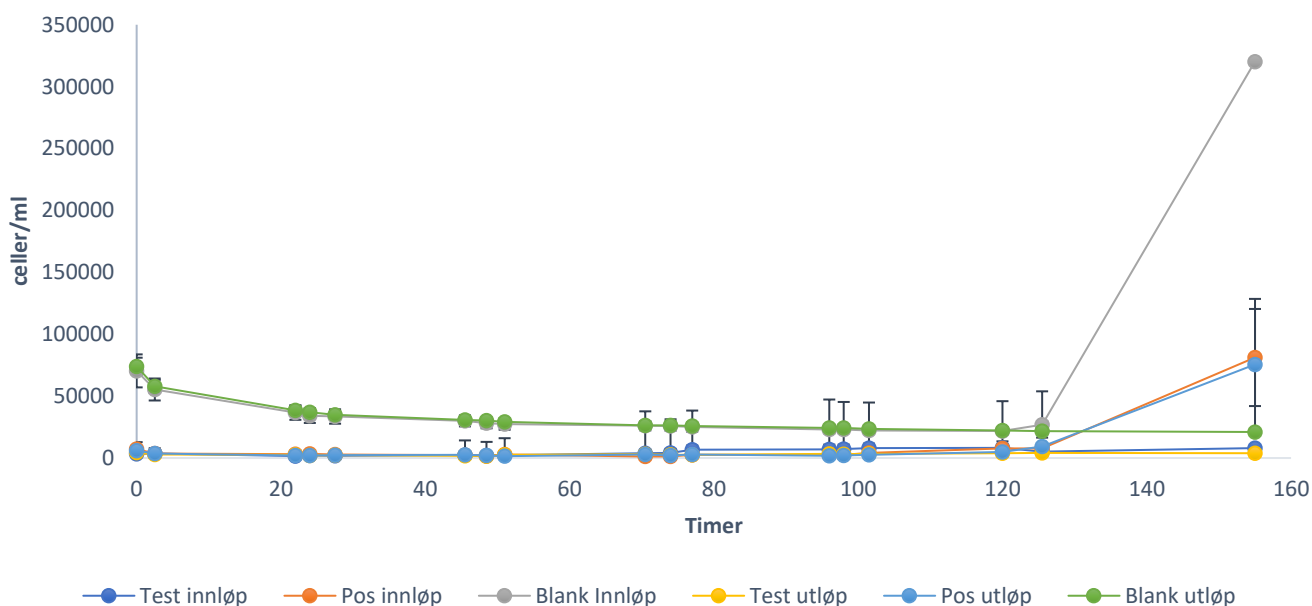
Resultatet av test 1 vises i figur 25. Grafen viser gjennomsnittet av celler/ml ved gitt tid i timer. Parameterne i grafen er delt inn på denne måten: Test innløp er blå, pos innløp som er positiv kontroll er oransje og blank innløp er grå. Test utløp er gul, pos utløp er positiv kontroll som er lys blå, og blank utløp er grønn. Alle parameterne viser lite aktivitet de 60 første timene. Ved rundt 70 timer skjer det en betydelig vekstøkning i test innløp (blå) og test utløp (gul). De når tydelig stasjonær fase etter rundt 122 timer. Både positiv kontroll inn- og utløp (oransje/lyseblå) og blank prøve inn- og utløp (grå/grønn) har svært lavt utslag og har ingen tydelige trender.

Test 2

Test 2 består av prøver samlet inn mellom 15. – 22. mars. Det var minimalt med nedbør i dette tidsrommet, og temperaturen lå mellom 0 til 9 °C. Selve testen ble gjennomført 22. – 27. mars. LW-I er hentet 22. mars fra Store Stokkavannet. Testen ble gjennomført med to brønnplater for hver av testvannene. Målingene ble gjort med en steril gasspermeabel membran.

Resultatet av test 2 vises i figur 26. Det er en svak nedadgående trend de 125 første timene for alle parameterne. Ved 115 timer kan en se et utslag på blank test innløp (grå) og positiv test innløp (oransje) og positiv test utløp (lys blå). Test inn og utløp og blank utløp har fortsatt nedadgående trend.

Test 2 LW-I



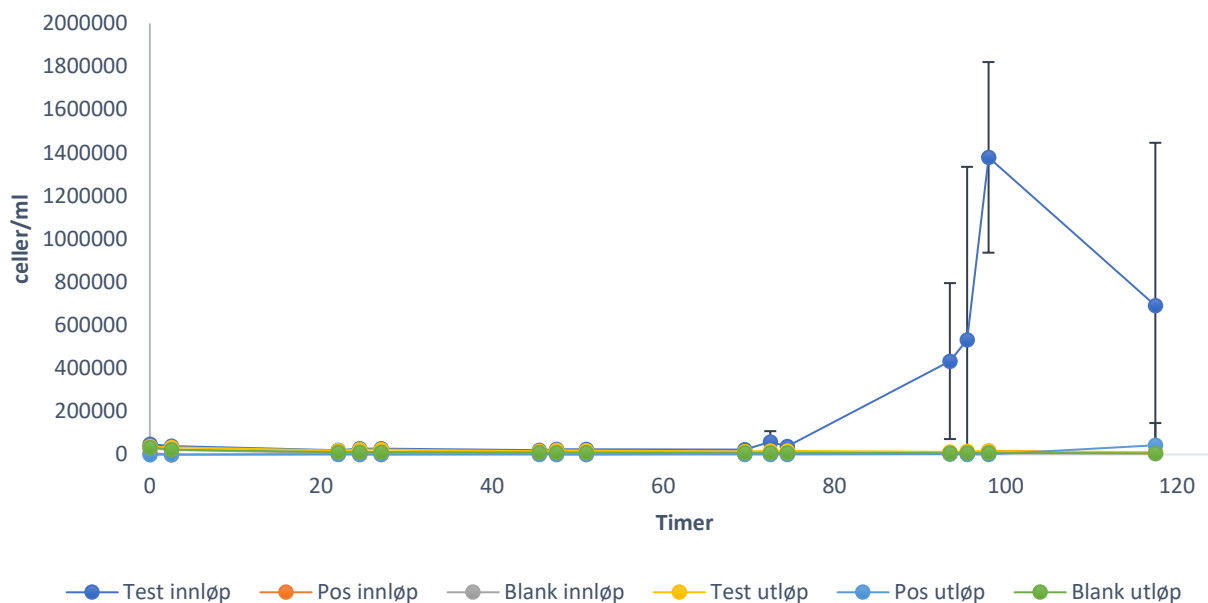
Figur 26: Resultat av test 2 med stedbundet alger fra teststedet.

Test 3

Test 3 består av prøver samlet inn mellom 7. – 12. april. En del regn i starten av uka, og temperaturen var mellom -1 og +8 °C. Selve testen ble gjennomført 12. – 17. april. LW-I er hentet 12. april fra Store Stokkavannet. Testen ble gjennomført med to brønnplater for hver av testene. Målingene ble tatt uten dekke. Algene ble vasket før bruk for å minske overføring av fosfor fra inkubasjonen til testen. Forholdet mellom næringsstoffene ble endret.

Resultatet av test 3 vises i figur 27. Det er lite aktivitet de 70 første timene. Det skjer en betydelig vekstøkning rund 70 timer for innløp test (blå). Resten av parameterne har veldig lite utslag i løpet av testen.

Test 3 Lw-I

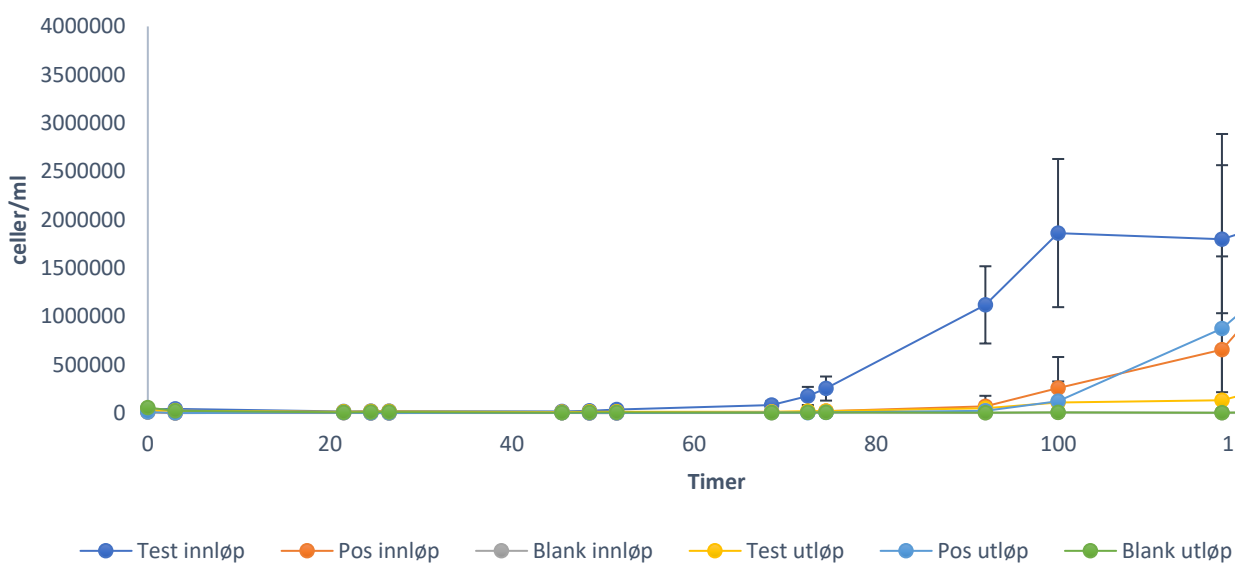


Figur 27: Resultat av test 3 med stedbundet alger fra teststedet.

Test 4

Test 4 består av prøver samlet inn mellom 12. – 19. april. Ingen nedbør den uken, og temperaturen var mellom 1 og 19 °C. Selve testen ble gjennomført 19. – 24. april. LW-I er hentet 19. april fra Store Stokkavannet. Testen ble gjennomført med to brønnplater for hver av testene. Målingene ble tatt uten dekke og algene ble vasket før bruk.

Test 4 LW-I



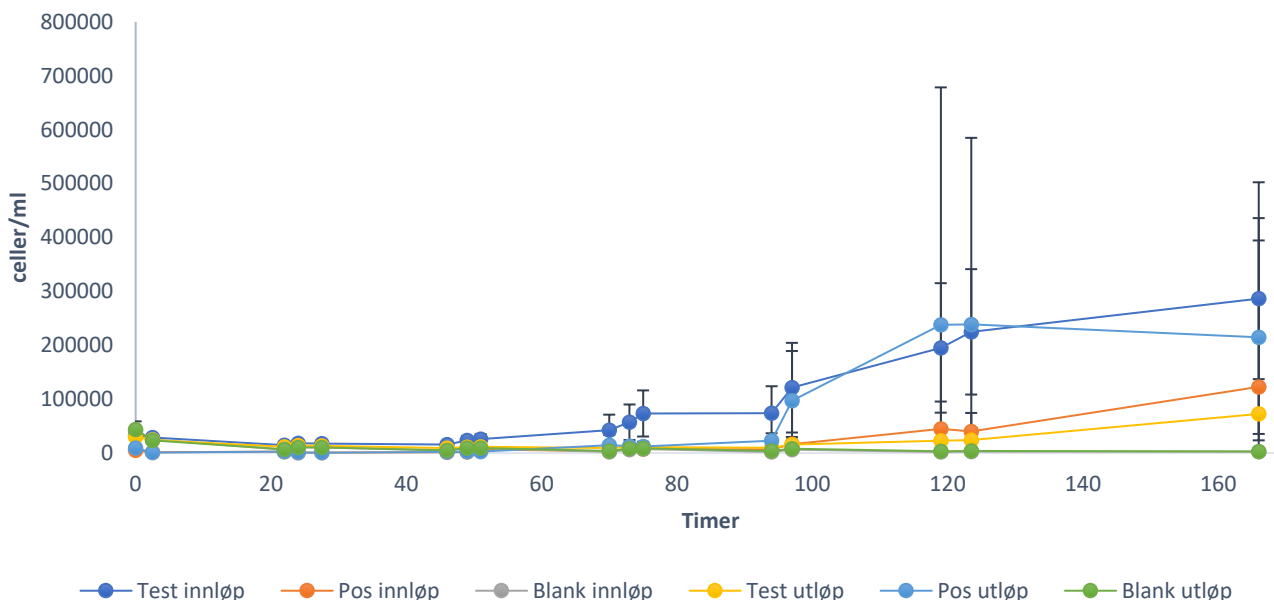
Figur 28: Resultat av test 4 med stedbundet alger fra teststedet.

Resultat av test 4 vises i figur 28. Det er ingen til liten aktivitet de 70 første timene. Etter 70 timer kan en se et utslag på test innløp (blå) som øker til om lag 100 timer før det holder seg stabilt til test slutt. For de andre parameterne med unntak av blank inn- og utløp (grå/grønn), kan en se en vekst etter 90 timer. Positiv kontroll inn- og utløp (oransje/lys blå) er høyest av dem, og test utløp har kun et lite utslag.

Test 5

Test 5 skulle bestått av prøver samlet inn mellom 19. – 26. april, men består kun av prøver fra første del av uken. Det var lite til ingen nedbør den uken, og temperaturen var mellom 1 og 19 °C. Selve

Test 5 LW-I



Figur 29: Resultat av test 5 med stedbundet alger fra teststedet.

testen ble gjennomført 26. april – 3. mai. LW-I er hentet 26. april fra Store Stokkavannet. Testen ble gjennomført med to brønnplater for hver av testene. Målingene ble tatt uten dekke og algene ble vasket før bruk.

Resultatet av test 5 er vist grafisk i figur 29. Etter omkring 50 timer kan en se en aktivitet i test innløp (blå), og aktiviteten øker ut hele testen. Omkring 94 timer kan en se en markant økning i positiv kontroll utløp (lys blå). Rundt samme tid kan en også se en økning i positiv kontroll innløp (oransje) og test utløp (gul). De øker ut hele testen

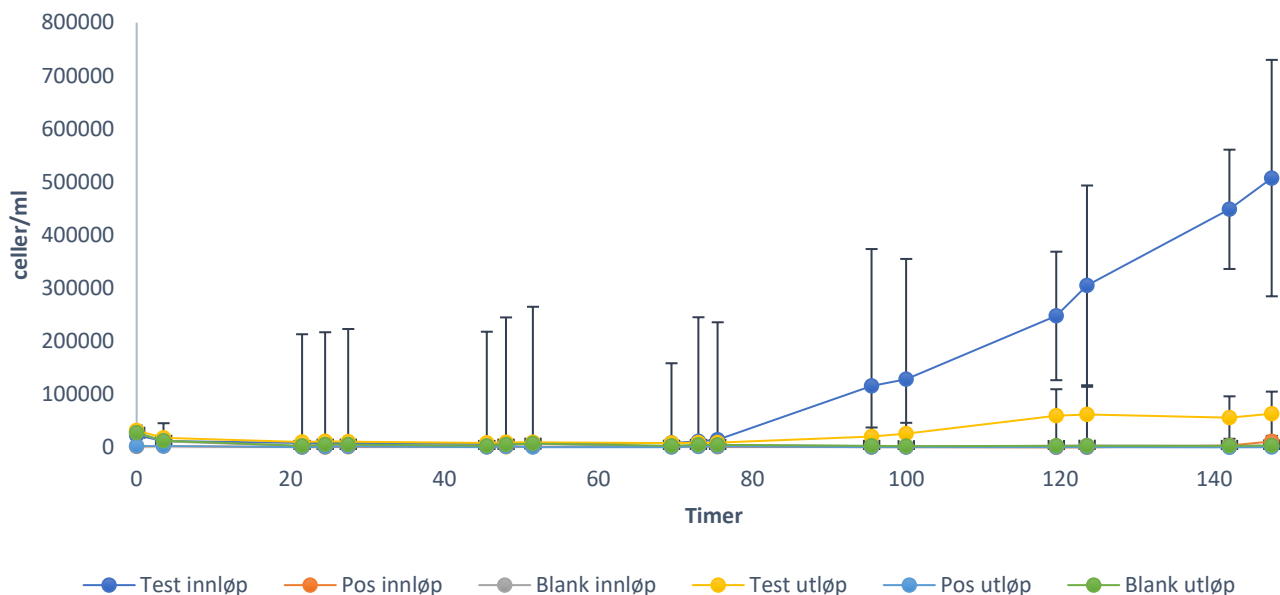
Test 6

Test 6 består av prøver samlet inn mellom 11. – 18. mai. Det var flere dager med nedbør den uken, og temperaturen var mellom 7 og 19 °C. Selve testen ble gjennomført 18. – 24. mai. LW-I er hentet 18.

april fra Store Stokkavannet. Testen ble gjennomført med to brønnplater for hver av testene. Målingene ble tatt uten dekke og algene ble vasket før bruk.

Resultatet av test 6 vises grafisk i figur 23. De 70 første timene er det ingen til lav aktivitet. Etter 75 timer kan en se en økning i test inn- og utløp (blå/gul). Test innløp stiger ut hele testen. Test utløp flater ut etter 120 timer og ligger på samme platå resten av testen.

Test 6 LW-I



Figur 30: Resultat av test 6 med stedbundet alger fra teststedet.

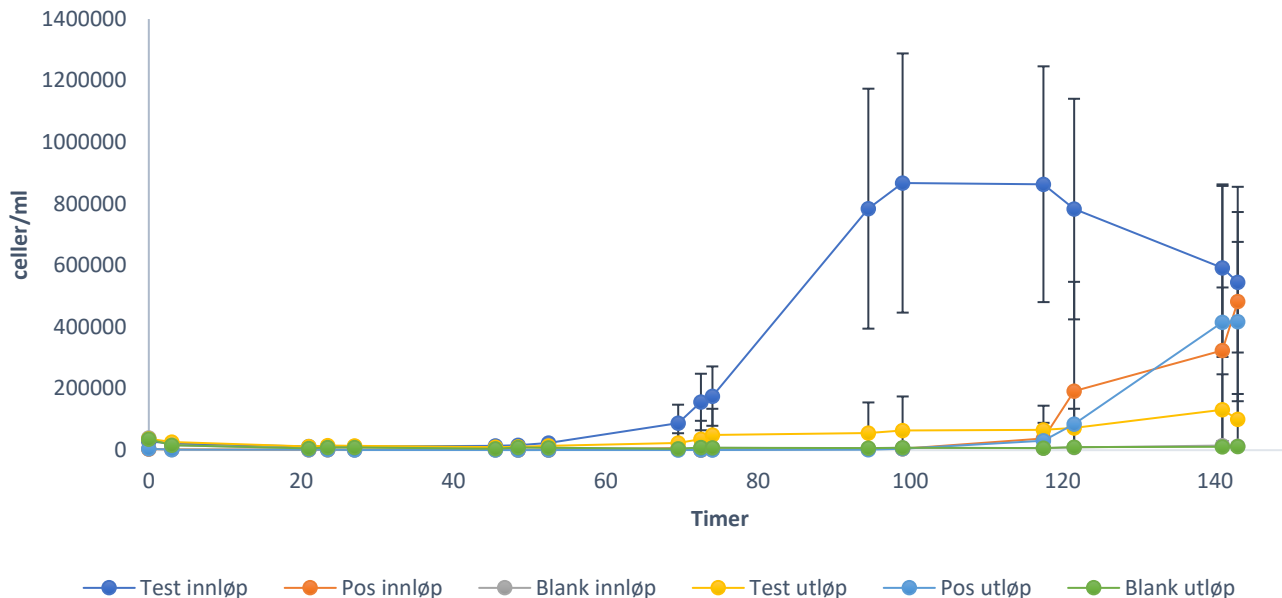
Test 7

Test 7 består av prøver samlet inn mellom 21. – 25. mai. Det var flere dager med nedbør, og temperaturen var mellom 4 og 19 °C. Selve testen ble gjennomført 25. – 31. mai. LW-I er hentet 25. april fra Store Stokkavannet. Testen ble gjennomført med to brønnplater for hver av testene. Målingene ble tatt uten dekke og algene ble vasket før bruk. Det ble lagt et tynt lag med isopor under prøvene for å hindre at varmen fra ristebordet varmer opp algene for mye.

Resultatet av test 7 vises grafisk i figur 31. Det var ingen til lav aktivitet de 50 første timene. Rett i underkant av 70 timer kan en se en neste eksponentiell vekst i test innløp (blå). Etter 99 timer flater den ut og når en stasjonær fase for så etter 118 timer synke igjen. Test utløp (gul) har en svak økning etter omkring 70 timer. Den har ikke et tydelig platå, men når en liten topp etter 143 timer. Positiv

kontroll inn- og utløp (oransje/lyse blå) begynner å øke ved omkring 118 timer og stiger resten av testen. Blank inn- og utløp (grå/grønn) holder seg lave gjennom hele testen.

Test 7 LW-I

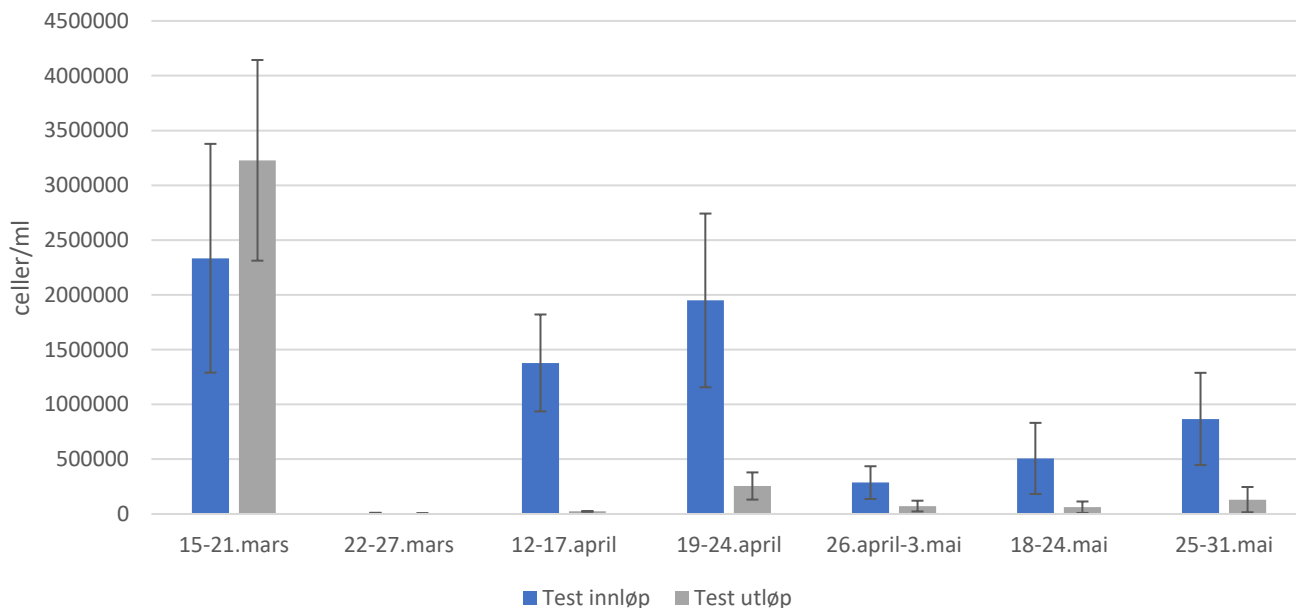


Figur 31: Resultat av test 7 med stedbundet alger fra teststedet.

Test av biotilgjengelig fosfor, LW-I

Resultatet fra test 1-7 er framstilt i grafen i figur 32 med et 95% konfidensintervall og fremstilt numerisk i tabell 4. Ved alle tester utenom test 1 (15. – 21. mars) kan en observere mer aktivitet i

LW-I



Figur 32: Resultatet av differansen mellom inn- og utløp av test 1-7 med stedbundet alger fra teststedet.

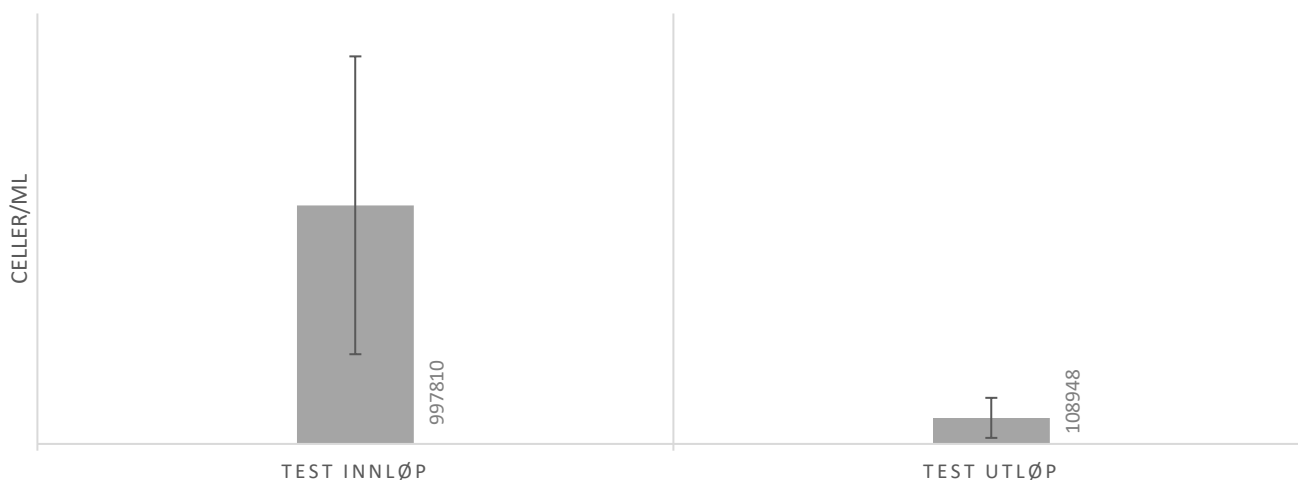
innløp enn utløp. Test 1 og 2 samsvarer ikke med den kjemiske analysen av fosfat gjort for samme tidsintervall. Test 3- 7 viser tydelig mer aktivitet på innløp enn utløp.

Tabell 4: Resultatet av differansen mellom inn- og utløp av test 1-7 med stedbundet alger fra teststedet.

Differansen mellom inn og utløp med LW-I						
FI						
Dato	Inn/utløp	n	Test \bar{x}	σ	$t_{0,025,n-1}$	δ_x
15-21.mars	inn	12	11770,50	8286,36	2,20	5264,94
	ut	12	16278,20	7268,20	2,20	4618,03
22-27.mars	inn	12	41,42	23,48	2,20	14,92
	ut	12	21,25	12,02	2,20	7,63
12-17.april	inn	12	6953,56	3509,39	2,20	2229,77
	ut	12	119,67	6,26	2,20	3,98
19-24.april	inn	12	9829,92	6293,81	2,20	3998,92
	ut	12	1288,50	985,94	2,20	626,44
26.ap-3.mai	inn	12	1444,67	1185,78	2,20	753,41
	ut	12	365,58	388,82	2,20	247,05
18-24.mai	inn	12	2558,25	2575,96	2,20	1636,70
	ut	12	311,83	415,15	2,20	263,77
25-31.mai	inn	12	4375,25	661,75	2,20	420,46
	ut	12	3340,60	914,49	2,20	581,04

Det totale resultatet av test 3-7 er grafisk framstilt i figur 33 med et 95% konfidensintervall. Test innløp hadde et gjennomsnitt på 997 810 celler/ml \pm 622 759 celler/ml. Test utløp hadde et gjennomsnitt på 108 948 celler/ml \pm 83 723,27 celler/ml. Dette utgjør et gjennomsnitt på 89% flere celler i innløpet enn utløpet.

RESULTATET AV DIFFERANSEN MELLOM INN- OG UTLØP AV TEST 3-7, LW-I



Figur 33: Det totale resultatet av differansen mellom inn- og utløp med stedbundet alger fra teststedet, Store Stokkavannet.

4 Diskusjon

4.1 Fosforanalyse

Mengde fosfor i renseseparken vil variere igjennom sesongen. Da prøven ble hentet 13. mars var det tydelig at våronna var i gang, da det luktet markant av naturgjødning. Resultatet fra den kjemiske analysen gjennomført av ukeblandprøven viste en tydelig økning i mengde fosfor inn i Leikvollbekken.

Standardkurven (kalibreringskurven) som er brukt til fosforanalysen går imellom 10 – 500 µg P/l. I tidligere analyser varierte mengden med fosfor fra Leikvollbekken fra alt mellom 15 til over 1000 µg P/l. Dette gav en liten utfordring i forhold til utførelse. I utgangspunktet var det tanken å ha en kurve som gikk over hele dette spennet. Det ble derimot problemer med at indikasjonsfargen ble for sterk (absorpsjonsmetning) og dette gav problemer med absorpsjonen. Etter flere forsøk viste det seg at verdiene mellom 10- 500 µg P/l gav konsistente målinger. I løpet testperioden ble det ikke målt verdier over 500 µg P/l.

Fosforanalyse er sensitiv for kontaminering av fosfor fra andre laboratorieinterne kilder, som støv, såpe og avtrykk fra fingrene. Det var til tider litt høye standardavvik enn ønskelig. Det kan se ut til at det oftest var størst varians i prøver som hadde gjennomgått autoklaving. Ved mindre avvik er det vanskeligere å lokalisere grunnen til problemet, det kan for eksempel være støv eller utstyr som er vasket med fosforholdig såpe. Det kan også være konterminering av kjemikaliene brukt kun ved autoklaving som gjør at det blir et høyere avvik i den delen analysen.

Sammensetningen av fosforen i Leikvollbekken i innløpet besto av 45% total reaktiv fosfor (TRP) og 55% partikulær fosfor (PP). I utløpet besto sammensetningen av 40% TRP og 17% PP. Det betyr at 43% av TP er total løst fosfor (TDF) minus TRP. TRP er hovedsakelig fosfater og er reaktive og dermed lett biotilgjengelig. De 43 % er da løste fosforbindinger som ikke er lett biotilgjengelig fosfor. Det en ser kan være tilføring av lite reaktive organiske forbindelser fra våtmarken.

En kan observere retensjon av fosfor i våtmarken. Det er en retensjon på 50% av TP, 64% av TRP og 81% av PP. En kan observere en relativ høy tilbakeholdenhet av PP i denne perioden. Dette kan skyldes en relativ tørr vår. Det kan være at nedfallsområde rundt våtmarken hadde høy metningsgrad for vann og dermed blir det lite utvasking av fosfor fra jordsmonnen rundt. Dette vil også føre til at eventuell nedbør blir absorbert og ikke resultere i høy vannføring i våtmarka og ingen stor utvasking av PP.

4.2 Metodeutvikling

Metodeutviklingen er delt i to, en med forkultiverte alger som inokulum og en med stedbundet alger fra teststedet som inokulum. Ved å kunne bruke stedbundne alger fra teststedet som inokulum vil det gjøre testing av alge bioassay betraktelig enklere en ved standard måte å gjennomføre analysen.

Fordelen med å gjøre det på den måten er at enn bruker alger som en vet de vil representere algevekstpotensialet for den aktuelle vannressursen. De har et samspill med de andre mikroorganismene som vil være i prøven og i inokulumet. Dette vil gi en større sjanse for et mer korrekt grunnlag for testen. utfordringer vil være at en ikke vet hvilken vekstfase algene er i, eller hva slags alger som er i inokulumet. Forskjellige typer alger trenger litt forskjellig type næring. Algene i innsjøen er nok fosforbegrenset, og dermed selektert for fosforbegrenset vekst. For-vekst i laboratoriet i fosforrikt medium endret dette, og dette er en metodisk svakhet.

Testene viser ofte stor usikkerhet. I en test kan det være en brønn med høy algevekst mens i en annen brønn er det lite vekst. Ved å bruke brønnplater kan en på en enkel måte få mange paralleller og dermed få usikkerheten ned. Dette er en av de store fordelene ved å bruke brønnplater. Ved store variasjoner i de enkelte brønnene vil totalen av alle parallellene fortsatt gi signifikans. Normalt under en batchkultur er det vanlig med kun 3 paralleller, dermed vil store variasjonene i målingene føre til at en ikke får en signifikant konklusjon.

Det er få brønner som er blitt utelukket gjennom testen. Unntaket er noen brønner fra målinger der det var tydelig feil i resultatet. Ved test 3 ble en brønn utelatt fra test innløp med LW-I, da den ble tilsatt både LW-I og PG-I. I samme test ble en brønn utelatt fra blank utløp med PG-I, da verdien var like høy som positiv kontroll. Mest sannsynlig handler det om kontaminering av brønnen. Dette kan ha skjedd ved at det har kommet en dråpe med POS-P ved fylling av positiv kontroll som er brønnen ved siden av. Etter dette ble det valgt å endre prosedyre ved pipettering for å hindre gjentagelse av feilen. Utenom dette er det valgt å beholde alle målinger selv om de avviker mye fra de andre, da det er vanskelig å si om det er tilfeldige feil, prestasjonene til algene som er forskjellig eller andre årsaker.

Test 1 ble satt opp med en brønnplate for hver test. Det ble brukt en 24 brønners brønnplate for å sikre nok inokulum og bakterier i hver brønn til å kunne utnytte den biotilgjengelige fosforen på best mulig måte. Hver brønn kan romme 2 ml. Det ble brukt en gasspermeabel membran for å hindre kontaminering av prøvene, men likevel gi mulighet for luftgjennomstrømning. Dette er for å sikre best mulig tilgang til CO₂, da dette er den viktigste kilde algene har til karbon. Membranen ble fjernet for hver måling og det ble lagt på en ny etter platelesningen. Det ble observert at ved fjerning av membran fulgte det med dugg fra undersiden, som igjen førte til et lavere innhold av veske i brønnene over tid. Under test 2 forble gasspermeabel membran på under hele testperioden for å prøve å forhindre fordampning. Plateleseren skal kunne gjøre målinger av brønnplater dekket med membran, men det viste seg at det ble interferens i målingen og verdiene ble mye lavere enn de skulle ha vært, se figur 17 eller 26. En måling ble gjort med og uten dekke og det var en betydelig lavere verdi med dekke enn uten. Mot slutten av testen kunne en observere at det likevel hadde fordampet mye

fra prøvene selv med membrandekket på hele tiden. Antagelig er det lyskilden under inkubering som var grunnen til høy avdampning. En kald lyskilde vil redusere denne påvirkningen.

Mellom test 2 og 3 ble det gjort noen endringer. I stedet for å bruke en gasspermeabel membran som dekke ble det bestemt å bruke enkelt plastdekke som følger brønnplaten. En stor usikkerhetsfaktor var om algene ville ta opp nok karbon fra karbonat, da teorien sier at de fleste alger tar karbon kun opp fra CO₂ (Dodson, 2005). I en brønnplate er overflatearealet relativt lite, som kan gjøre at tilførselen av CO₂ kan være begrensende for vekst. Etter de første to testene ble mengden bikarbonat økt i håp om at det skulle hindre CO₂ begrensning. Med dette som grunnlag ble de neste testene inkubert med plastikkdekke. Det ville minke fordampningen og det er lett å ta av når testen kjøres i plateleseren. De sterile gasspermeabel membranene er vanskelig å gjenbruke og måtte skiftes ved hver avlesning. Eliminering av disse vil også spare tide og kostnader ved storskala testing.

I tillegg til å øke mengde bikarbonat, ble også mengden med nitrogen økt, i form av nitrat og ammonium, for å sikre at det ikke er en begrensende faktor. En forhøyet temperatur over optimum kan føre til et økt cellevolum og biokjemisk sammensetting, det vil si at det kreves mer karbon og nitrogen for å holde samme vekstrate (Richmond, 2004).

Avstanden til lyskilden ble holdt på samme nivå som tidligere for å sikre gode nok lysforhold, med innkommende lysintensitet utenfor platene på 45 μmol/m²s¹.

PG-I

Test 1 og 2 gav ikke forventet utfall. De positive kontrollene av både inn- og utløp hadde minimalt med utslag der en kan forvente det høyeste utslaget. Begge blank-prøvene hadde betydelige høyere verdier sammenlignet med både test inn- og utløp og positiv kontroll i samme test. Noe av problemet med den høye algeveksten i blank, kan være at de forkultiverte algene ikke ble ekstrahert og vasket tilstrekkelig fra næringsløsningen som de ble inkubert i som inneholder fosfor. Den gjenværende fosforen ville da bli overført i blank som inneholder kun næringsløsning uten fosfor og DI-vann. Dette kan forklare hvorfor begge blank prøvene hadde høyest verdi. Test inn- og utløp samt positiv kontroll skal ha fått den samme ekstra fosforen og dermed burde ikke blank hatt den høyeste verdien. I de neste testene ble PG-I sekvensielt fortynnet, re-suspendert og sentrifugert 2 ganger på 3000 rpm. i 2 minutter før de ble brukt i testen.

Alger som ble hentet fra Store Stokkavannet den 19. og 24. april ville ikke vokse i næringsmediet. Algene hentet 7. april ble i stedet brukt fremover. Grunnen til at de ikke ville vokse kan være at det er en annen type alge som var mer dominerende enn tidligere, som eksempel kiselalger. Som navnet tilsier trenger kiselalger kisel som er et annet navn for silisium. Næringsløsningen som er brukt inneholder ikke silisium, som kan gi et grunnlag for at det ikke var mulig å se vekst. Kiselalger vokser i

store mengder tidlig vår, og er hoved populasjonen i våroppblomstringen. Det er derfor mulig at innsjøinokulumet fra denne perioden var dominert av kiselalger og lav vekst ved inkubasjon i et medium for grønnalger er da naturlig.

I test 3 -7 kan en se en kurve som er mer det som var forventet. Positiv kontroll har høyest verdi, blank holder seg lav og test inn og utløp er imellom. Selv om usikkerheten er relativt stor til tider, kan en se at det oftest er et tydelig skille mellom testeparameterne, se graf 17-20. Positiv test har høyest algevekst. Etter kraftig vekst i positiv kontroll, faller verdien brått, for så å stige igjen. Antall ganger er forskjellig fra test til test, men positiv kontroll i inn- og utløp speiler hverandre. Så det samme skjer med begge testene. Det er spesielt tydelig i test 5 og 6, se graf 19 og 20. En grunn kan være at en ser en «topp ned» -kontroll såkalt trofisk kaskade som inntreffer på grunn av høy populasjon i brønnene. Dette kan skyldes både algepatogener og virus vekst eller vekstrespons av beitere (algepredatorer). Når det er lite næring til stede, vil det føre til lite vekst. Det kan lede til at andre arter blir mer dominante og det igjen kan øke infeksjonsfaren, som kan forårsakes av bakterier og virus. Dette kan resultere i kollaps av algekulturen i brønnene (Richmond, 2004). Hvis en ser nøye etter er det laveste punktet alltid ved første måling for dagen. Ved måling 2 har aktiviteten økt kraftig og ved måling 3 er toppunktet. Det brukes nå plastlokk når det ikke tas måling, så om morgenen når den første målingen skjer løftes lokket av. Da har lokket vært på omkring 18-20 timer. Når lokket tas av tilføres ny luft til brønnplatene. Etter omkring 3 timer er det en ny måling og det tilføres ny luft. Det kan se ut til at det blir tilført for lite karbon i form av CO₂ og at dette synliggjør seg i en tett populasjon der det er trangt om plassen og næringen. Det er omkring dobbelt så mange celler/ml i positiv kontroll til neste parameter, som kan forklare hvorfor en ikke ser samme tendens i de andre parameterne.

Ved start av hver test kan en se en nedgang i antall alger. I test 3 -5 kan en etter 20 timer se en økning i veksten, og en gang mellom 50 – 70 timer har de fleste nådd toppen. I test 3 ble det brukt forkultivert inokulum overført til nytt medium etter ca. 3 dager. Til test 4 og 5 ville ikke de algene som ble hentet Store Stokkavannet vokse. Så det ble brukt alger som var holdt i live fra test 3. De hadde blitt overført til nytt medium hver 3. dag, 1:2 med inokulum og DI-vann, for å hindre for stor populasjon. For test 6 og 7 ble algene overført i nytt medium hver 7. dag, 1:9 inokulum og DI-vann. Det en kan observere er at i test 6 og 7 når test innløp stasjonær fase kun etter 20 timer mot 50-70 timer i test 3-5.

LW-I

I alle testene kan en se lite aktivitet de første 70 timene. I test 2 kan en ikke se noe aktivitet før etter 125 timer. I starten har de en nedadgående trend, noen parameter forsetter med dette ut hele testen, mens noen parameter får litt utslag mot slutten av testen. Oftest er dette test innløp. I test 1-2 kunne en se utslag på blank, fra test 3-7 kan en noen ganger se utslag på positiv kontroll og test utløp i tillegg

til test innløp. Det kan se ut til at det er en for stor overgang fra en kald innsjø til de varme forholdene under testen. I mars var det flere ganger der det var is på vannet når inokulumet ble hentet, for så å komme rett til laboratoriet med forhold med over 20 °C. En temperatur utenfor det optimale området, kan introduser en ustabilitet som ofte kan være grunn for konterminering og kollaps av kulturen (Richmond, 2004). Kanskje en av grunnene til at test innløp hadde best utslag var på grunn av de ekstra algene fra testvannet og en høyere mengde fosfor enn det test utløp hadde. Det har vært verdier ned i 9 FI i en enkel brønn på positiv kontroll. Det tilsvarer en populasjon i underkant av 1800 celler/ml. Dette er svært lave verdier med tanke på at positiv kontroll med PG-I hadde verdier på flere millioner celler/ml. Det kan se ut til at algene ved noen tilfeller klarer å hente seg inn igjen mot slutten av testen. Om bestanden faller for lavt ser det ut til at de ikke klarer å hente seg inn på de 6-7 dagene testen har vart. Den høye temperaturen under testen ble først antatt å komme fra lyskilden, men det ble oppdaget at ristebordet ble veldig varmt under bruk. Så på test 7 ble det lagt et tynt lag med isopor mellom ristebordet og brønnplatene. Håpet var å se en kortere tilvenningsperiode. Det ble observert litt høyere verdier, men tidsmessig mye det samme som test 4 og 5.

En fordel med å bruke stedbundne alger fra teststedet som inokulum er at algene er i en mer sultet tilstand og vil være mer mottakelig for opptak av fosfor, men dette kan ofte kreve en lang tilpasning (lag-fase) noe som ses som forsinket vekst. Tidsmessig er det gunstig å ikke måtte forkultivere algene på forhånd. Det som kan ha vært problemet med de dårlige resultatene er at det stedbundet inokulumet er tilpasset omgivelser med lavt innhold av fosfater. Når det så kommer over i et medium med høy konsentrasjon av fosfor, som det er i positiv kontroll vil de trenge lang tid til å omstille seg den nye vekstsituasjonen. Dette kan forklare hvorfor en ser vekst i test inn- og utløp før i positiv kontroll. I algetest med PG-I har algene hatt en uke på å omstille seg vekstsituasjonen og dermed ser en alger som responderer godt på høyt innhold av fosfor i positiv kontroll i motsetning til LW-I.

Ved test 1-2 var det spesielt et problem med fordamping av brønnene. Sannsynligvis virker ikke fordampningen inn på selve avlesningen av fluorescens intensitet, men det blir trangere i brønnen for algene og det gir mindre optimale vekstforhold. Det vil gi mindre likheter mellom testene, da fordampningen ikke ser ut til å være lik i alle brønnene. Test 1 har fin vekst i test inn- og utløp, men liten aktivitet på positiv kontroll og blank. Etter gjennomført test ble det registrert lave pH-verdier helt ned i 4 for positiv kontroll. Hvorfor det ble så lave verdier er usikkert, men det kan være grunnen til at det ikke var vekst. Ammonium som kilde til nitrogen, kan senke pH ved høy aktivitet (Richmond, 2004), men det var lite algevekst gjennom hele testen for positiv kontroll. I tillegg krever det at det er kun ammonium alene som er kilde til nitrogen, noe det ikke er i dette tilfelle. Normalt er det ofte et problem med for høy pH på grunn av høy aktivitet fra algene. Selv med lav aktivitet i andre tester var aldri pH mye lavere en 7. Normalt lå pH på rundt 8 selv ved høy algevekst.

Det ble gjort noen endringer mellom test 2 og 3. For testene der det ble brukt PG-I kunne en se en positiv utvikling, mens for LW-I kunne en ikke se noe særlig forandring. Test 4, 5 og 7 viste lovende utslag, men på grunn av tiden kunne en ikke se om positiv kontroll for inn- og utløp ville passere test innløp. Grunnlaget for at de vokser senere kan være at det er mindre alger initialt i positiv kontroll enn test innløp. Algene hentet 12. og 19. april ville ikke vokse når de ble prøvd forkultivert. Det er de samme algene som ble brukt i test 3 og 4 som LW-I. Det er ikke lett å se om dette kan ha en årsak da det er stor variasjon i testresultatet. Eksempel hadde test 3 lite utslag, mens test 4 hadde utslag på alle parameterne. Et annet alternativ kan være som nevnt tidligere at LW-I kommer fra en vekstsituasjon med lav mengde fosfor.

4.3 Biotilgjengelig fosfor

Målet var å se om våtmarken ville kunne endre den biotilgjengelige fosforen fra innløpet til utløpet. Det endelige resultatet av denne testen ble basert på test 3-7 med PG-I. Resultatet fra test 1-2 ble ikke tatt med fordi en ikke kan være sikre på om testene var representative for det som virkelig skjedde i våtmarken, grunnet at testmetoden ikke var optimalisert. Grunnlaget for dette er at positiv kontroll, som skal være en indikasjon på at det ikke er andre begrensende faktorer i testen, ikke viste utslag. Blank hadde derimot, som brukes til basislinje for konterminering, høyest algevekst i testen. Dette kan tyde på at det er andre begrensinger som nitrogen eller karbon som ble den begrensede faktor for testen og ikke fosfor. Grunnlaget for at testene som brukte LW-I ikke ble lagt til grunn er at de ikke viste noen kontinuitet mellom testene. Utslagene kom så sent i testperioden at en bare kunne observere starten av den eksponentielle vekstfasen, i beste fall. Dette gir dårlig grunnlag for en konklusjon.

Resultatet er beregnet ut fra når algene når stasjonær fase. Det er den fasen der det begynner å bli en begrensning av fosfor i testen. Stasjonær fase ble nådd til forskjellig tid. Spesielt PG-I mot LW-I, men også de forskjellige testene som brukte PG-I oppnådde stasjonær fase ved forskjellige tider.

Fra resultatet kan en se en tydelig retensjon av biotilgjengelig fosfor i våtmarken da det er 54% flere alger i innløp enn utløp. Det skal også sies at våren er den mest gunstige tiden. Våtmarken blir riktig nok tilført mye fosfor på grunn av blant annet gjødsling, men samtidig våkner plantene og algene til liv når varmen og solen kommer tilbake. Opptaket av fosfor er derfor høyest om våren, da planter og alger trenger mye fosfor for å vokse.

Total reaktiv fosfor (TRP) hadde en total gjennomsnitts-reduksjon fra inn- til utløp på 64% i hele perioden. Dersom en kun tar med de kjemiske analysene gjort samtidig med algetest 3-7 blir reduksjonen av TRP på 79%. Hvis en ser dette opp mot algetesten der en kun ser en reduksjon på 54% på algeveksten, hadde en nok forventet en enda større differanse mellom algeveksten på inn- og utløp.

Spesielt med tanke på at alger lett bør kunne utnytte TRP. Så er det vi ser et resultat av at metoden ikke er optimal nok, eller at algene utnytter andre former for fosfor enn kun TRP. Dermed vil en ikke se like stor differanse på biotilgjengelig fosforen selv om reduksjonen av TRP var en del høyere.

4.4 Veien videre

Metodeutvikling

Under er det beskrevet noen faktorer som det kunne vært fordelaktig å endre på for å videreutvikle metoden. Det kan se ut til at CO₂ kan utgjøre en begrensende faktor. Så for å eliminere den faktoren kunne en brukt en CO₂-inkubator til algene istedenfor luft. Da har en større mulighet til å sikre god tilgang til karbon. Det bør brukes en bedre løsning på tildekking av brønnplatene, da en trenger noen som kan hindrer kontaminering og fordampning, men samtidig gi god nok tilførsel av CO₂. Et eksempel kan være hydrofobisk membran for å la gass gå gjennom, men hindre fordampning av vann. Det kan være lurt å undersøke om det er mulig å regulere varmen på en bedre måte. Isoporen isolerte ikke tilstrekkelig varmen fra underlaget. Både med tanke på fordampning, men også at algene, spesielt de som ikke er akklimatiserte, hadde en vanskelig overgang fra kaldt til varmt miljø.

Biotilgjengelig fosfor

Denne testperioden var begrenset til 3 måneder. For å se om en våtmark kan holde igjen biotilgjengelig fosfor er det viktig å se på differanse gjennom flere sesonger. Det er store muligheter for å kjøre flere paralleller enn det som ble gjort under denne testen. Selve målingen tar underkant av ett minutt, så det å ha flere brønnplater er gjennomførbart og tar liten plass. Ved å kvantifisere målingen kan en lettere fastslå om algene utnytter noe mer enn kun TRP, og hvor mye av TP som er biotilgjengelig.

Konklusjon

Målet med denne bacheloroppgaven var todelt. Den ene delen var å utvikle en testmetode for algebiotilgjengelighet der en bruker brønnplater og brønnplateavlesning som er enklere og mindre tidskrevende, men samtidig gi like gode resultat som enkel batchkulturer. Etter etablering av metoden er del to av oppgaven å konkludere om Leikvollbekken rensepark har endret den biotilgjengelig fosfor. Spesielt interessant er det om reduksjonen i biotilgjengelig fosfor er større enn den totale retensjonen av fosfor.

Kjemisk analyse av fosfor gav disse resultatene for perioden 1. mars – 1. juni:

- Test innløp hadde et gjennomsnitt av total fosfor (TP) på $295,62 \pm 51,03 \mu\text{g P/l}$, total reaktiv fosfor (TRP) på $161,67 \pm 34,54 \mu\text{g P/l}$, total løst fosfor (TDP) på $163,74 \pm 45,50 \mu\text{g P/l}$, og partikulært fosfor (PP) på $131,87 \pm 41,12 \mu\text{g P/l}$.

- Test utløp hadde et gjennomsnitt av TP på $148,58 \pm 50,36$ $\mu\text{g P/l}$, TRP på $58,04 \pm 8,32$ $\mu\text{g P/l}$, TDP på $122,98 \pm 49,80$ $\mu\text{g P/l}$ og PP på $25,70 \pm 6,89$ $\mu\text{g P/l}$.

Dette utgjør en retensjon av TP på 50% i Leikvollbekken, retensjon på 64% av TRP og retensjon på 81% av PP.

Det gjennomsnittlige resultatet av den kjemiske analysen gjort samtidig som algetest 3-7 (uke 14 – 20) hadde en retensjon av TP på 77%, retensjon av TRP var på 79% og retensjon av PP var på 87%.

Testene ble kjørt med to forskjellige alge-inokulum, PG-I og LW-I:

- PG -I
Test 1 og 2 gav ikke et konkluderbart resultat på grunn av lav vekst. Blank parameter var høy og positiv kontroll var lav. Test parameterne svinget mye opp og ned.
Test 3 -7 viste konsistente resultat, med høye positiv kontroll og lav blank. Tatt usikkerheten i betraktning kan en fortsatt se et godt skille mellom testparameterne.
- Bruk av innsjøvann som inokulum var ufullstendig. Kun noen få tester viste noe likhet og lite utslag på parameterne.

Med utgangspunkt i at test 3-7 med PG-I var valide ble differansen av biotilgjengelig fosfor beregnet ut fra resultatet fra disse 5 testene. Det gav disse resultatene med et 95% konfidensintervall:

- Test innløp hadde et gjennomsnitt på $2\,273\,469 \pm 1\,358\,468$ celler/ml.
- Test utløp hadde et gjennomsnitt på $1\,038\,976 \pm 568\,372$ celler/ml.

Dette utgjør et gjennomsnitt på 54 % flere celler i innløpet enn i utløpet av våtmarken. Det gir en sterk indikasjon på at det er en positiv retensjon av biotilgjengelig fosfor i perioden mars til juni.

Sammenligning av biotilgjengelig fosfor og TRP viser at TRP har en mye større gjennomsnitts-reduksjon fra inn- til utløp enn biotilgjengelig fosfor har ved måling av algevekst. Dette kan antyde at algene kan utnytte andre former for fosfor enn kun de lett tilgjengelige fosfatene, da en imidlertid burde ha sett en større differanse om dette var tilfelle.

Referanser

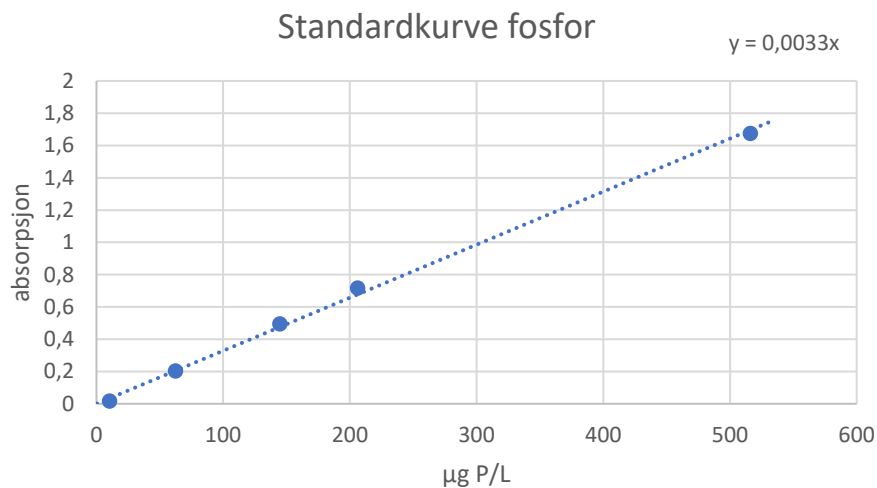
- APHA. (1992). *Standard methods for examination of water and wastewater 4500-P Phosphorus* (18th. utg.). Washington DC: American Public Health Association [APHA], American Water Works Association [AWWA], Water Environment Federation [WEF], .
- Barsanti, L. & Gualtieri, P. (2014). *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology* (2nd. utg.) CRC Press.
- Bjørnå, F. (2019, 11.06.2021). Kunstgjødsel. I *Store norske leksikon*. Hentet fra <https://snl.no/eutrofiering>

- Bratberg, E. (2018, 11.6). Den grønne revolusjon. I *Store norske leksikon*. Hentet fra https://snl.no/den_gr%C3%B8nne_revolusjon
- Dodson, S. I. (2005). *Introduction to Limnology* Margaret J. Kemp.
- Dunne, E. J. & Reddy, K. R. (2005). Phosphorus biogeochemistry of wetlands in agricultural watersheds: A wetlands solution. I E. J. Dunne, K. R. Reddy & O. T. Carton (Red.), *Nutrient management in agricultural watersheds* (s. 105-119). Wageningen Academic Publishers.
- Egeland, E. S. & Throndsen, J. (2021, 14.01). Alger. I *Store norske leksikon*. Hentet fra <https://snl.no/alger>
- Ekholm, P. (1994). Bioavailability of phosphorus in agriculturally loaded rivers in southern Finland. *Hydrobiologia*, 287, 179-194. <https://doi.org/https://doi-org.ezproxy.uis.no/10.1007/BF00010733>
- Ekholm, P. (1998). Alge-available phosphorus originating from agriculture and municipalities. *Monographs of the Boreal Environment Research 11*. Hentet fra <http://hdl.handle.net/10138/39316>
- Handley, B. N. (2016). *Determination of the Effect of Constructed Wetlands on the Bioavailability of Phosphorus using Alge Bioassays* (Masteroppgave). Universitetet i Stavanger
- Jordkvalitet. (2017). I *Kilden - jordsmonn*. Norsk institutt for bioøkonomi. Hentet fra <https://www.nibio.no/tema/jord/jordkartlegging/jordsmonnkart/jordkvalitet>
- Kadlec, R. H. & Wallace, S. D. (2009). *Treatment wetlands* (2.nd utg.) CRC Press.
- Kalff, J. (2002). *Limnology : inland water ecosystems* Prentice Hall.
- Kjensmo, J. & Hongve, D. (2018, 14.05). Eutrofiering. I *Store norske leksikon*. Hentet fra <https://snl.no/eutrofiering>
- Krahner, F. (2017). *Retention and biological uptake of phosphorous in the Leikvollbekken constructed wetland* (Masteroppgave). Universitetet i Stavanger
- Luth-Hanssen, L. M. (2018). *Phosphorus retention in a mature constructed wetland under base flow and storm flow conditions* (Masteroppgave). Universitetet i Stavanger
- Miljødirektoratet. (2014, 31.01.2014). Kunstige våtmarker fanger forurensning. Hentet fra <https://nettarkiv.miljodirektoratet.no/hoeringer/tema.miljodirektoratet.no/no/Nyheter/Nyheter/2014/Januar-2014/Kunstige-vatmarker-fanger-forurensning/index.html>
- Organisk materiale. (2017). I *Kilden - jordsmonn*. Norsk institutt for bioøkonomi. Hentet fra <https://www.nibio.no/tema/jord/jordkartlegging/jordsmonnkart/organisk-materiale>
- Reynolds, C. S. & Davies, P. S. (2001). Sources and bioavailability of phosphorus fractions in freshwaters: a British perspective. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* 76(1), 27-64. <https://doi.org/10.1017/S1464793100005625>
- Richmond, A. (Red.). (2004). *Handbook of microalgal culture : biotechnology and applied phycology* Blackwell Science.
- Safitri, A. S. (2021). *Nutrient limited kinetic growth analysis of Chlorella sorokiniana in microplate well* (2917737).
- Uusitalo, R. & Ekholm, P. (2003). Phosphorus in runoff assessed by anion exchange resin extraction and an algal assay. *Journal of environmental quality*, 32(2), 633-641. <https://doi.org/10.2134/jeq2003.0633>
- Uusitalo, R., Turtola, E., Puustinen, M., Paasonen-Kivekas, M. & Uusi-Kamppa, J. (2003). Contribution of particulate phosphorus to runoff phosphorus bioavailability. *Journal of Environmental Quality; Madison*, 32(6), 2007-2016. Hentet fra <https://search-proquest-com.ezproxy.uis.no/scholarly-journals/contribution-particulate-phosphorus-runoff/docview/197405404/se-2?accountid=136945>
- Wagenen, J. V., Susan Løvstad Holdt, Davide De Francisci, Valverde-Pérez, B., Plòsz, B. G. & Angelidaki, I. (2014). Microplate-based method for high-throughput screening of microalgae growth potential. *Bioresource Technology*, 196(2014-10), 566-572. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.096>

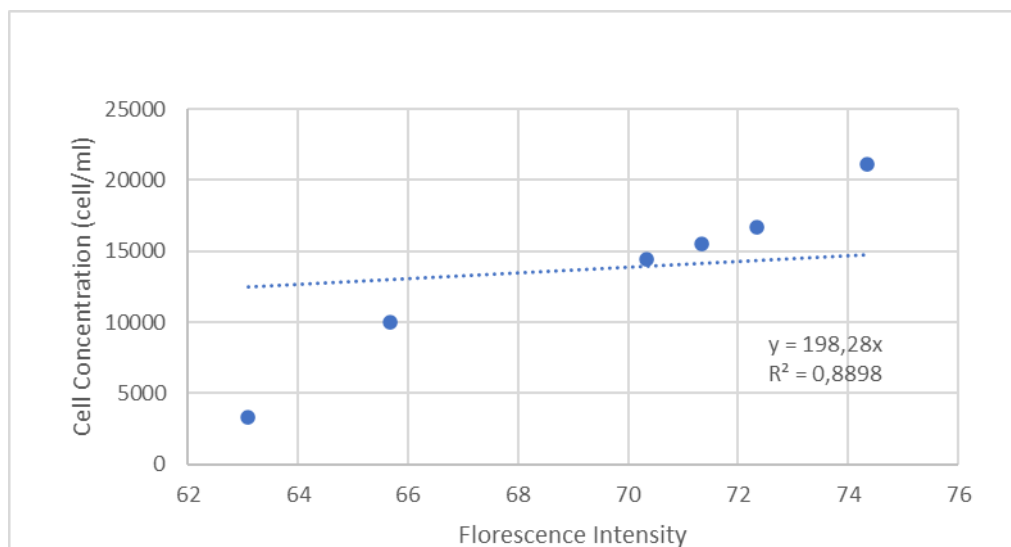
Vedlegg

Tabell 5: WEB, forklaring av jordkvaliteter ("Jordkvalitet," 2017).

WRB (World Reference Base for Soil Resources)		
Umbrisol	Næringsfattig jord med mørkt matjordlag	Lavt innhold av næring, høyt innhold av organisk materiale, stort kalkingsbehov
Stagnosol	Jordsmonn som er periodevis mettet med stagnert overflatevann	Dårlig evne til å drenere bort overflatevann, kan mangle jordstruktur og være utsatt for pakking, varierende innhold av næringsstoffer og organisk materialer
Gleysol	Grunnvannspåvirket jord	Har stort grøftebehov, kan ha organisk overflatelag, ofte høyt innhold av næringsstoffer, men har svak eller ingen struktur



Figur 34: Standardkurve for fosfor



Figur 35: Standardkurve for alger.

Endres biotilgjengeligheten av fosfor av våtmarken?

Tabell 6: Resultat av test 1 med PG-I

Dato	inn/ut-løp	Timer	FI			FI			FI			FI			
			n	Test \bar{x}	σ	t 0,025,1-n	δx	n	Pos.kont. \bar{x}	σ	t 0,025,1-n	δx	n	Blank \bar{x}	σ
15.03.21	inn	0,0	6	370,50	218,84	2,571	229,70	3	0,00	4,30	3	10373,00	389,22	4,30	966,94
	ut		6	359,67	206,24	2,571	216,47	3	49,19	4,30	3	10071,67	46,06	4,30	114,42
16.03.21	inn	19,0	6	7123,00	2000,41	2,571	2099,65	3	0,00	4,30	3	11096,33	1195,26	4,30	2969,44
	ut		6	3090,67	2390,02	2,571	2508,58	3	0,00	4,30	3	9192,33	2441,40	4,30	6065,27
	inn	22,0	6	10636,67	1673,77	2,571	1756,80	3	0,00	4,30	3	11341,33	766,93	4,30	1905,32
	ut		6	4396,17	2484,26	2,571	2607,50	3	0,00	4,30	3	11234,33	1549,87	4,30	3850,41
	inn	25,0	6	11971,47	3647,09	2,571	3828,01	3	0,00	4,30	3	11438,33	1476,95	4,30	3669,24
	ut		6	6926,53	3485,40	2,571	3658,29	3	0,00	4,30	3	12723,67	2533,21	4,30	6293,34
17.03.21	inn	43,0	6	9025,40	4832,15	2,571	5071,85	3	0,00	4,30	3	25873,00	11251,84	4,30	27953,39
	ut		6	10496,92	2122,22	2,571	2227,50	3	0,00	4,30	3	25675,33	2615,00	4,30	6496,55
	inn	46,0	6	17629,67	6253,33	2,571	6563,54	3	0,00	4,30	3	23093,33	6196,06	4,30	15393,12
	ut		6	12986,42	3711,15	2,571	3895,25	3	0,00	4,30	3	27319,33	1549,76	4,30	3850,14
	inn	48,0	6	14252,07	7146,61	2,571	7501,13	3	0,00	4,30	3	27542,33	6842,42	4,30	16998,88
	ut		6	17338,58	3857,23	2,571	4048,57	3	0,00	4,30	3	25638,67	4835,57	4,30	12013,20
18.03.21	inn	66,0	6	3777,00	970,95	2,571	1019,12	3	0,00	4,30	3	37052,33	10587,80	4,30	26303,68
	ut		6	6139,33	1940,76	2,571	2037,03	3	0,00	4,30	3	46769,67	3091,67	4,30	7680,75
	inn	69,0	6	2348,00	0,00	2,571	0,00	3	0,00	4,30	3	42435,00	0,00	4,30	0,00
	ut		6	9141,67	2681,20	2,571	2814,20	3	0,00	4,30	3	48829,00	12936,91	4,30	32139,66
19.03.21	inn	90,0	6	11935,67	1977,41	2,571	2075,51	3	0,00	4,30	3	38565,00	2824,49	4,30	7016,99
	ut		6	9378,33	4055,96	2,571	4257,17	3	0,00	4,30	3	43803,00	10066,33	4,30	25008,18
	inn	93,0	6	8699,17	5299,77	2,571	5562,67	3	0,00	4,30	3	46901,67	7663,57	4,30	19038,90
	ut		6	11142,33	5751,85	2,571	6037,18	3	0,00	4,30	3	44224,67	5687,84	4,30	14130,51
	inn	95,0	6	4011,17	5021,17	2,571	5270,25	3	0,00	4,30	3	42595,00	3507,97	4,30	8714,98
	ut		6	5992,00	1808,78	2,571	1898,51	3	0,00	4,30	3	43368,33	4051,38	4,30	10065,00
20.03.21	inn	114,5	6	3710,67	2828,43	2,571	2968,74	3	0,00	4,30	3	43867,00	4250,73	4,30	10560,24
	ut		6	13285,00	5645,47	2,571	5925,53	3	0,00	4,30	3	37659,33	2819,62	4,30	7004,90
	inn	122,5	6	8141,00	3971,48	2,571	4168,49	3	0,00	4,30	3	38353,33	927,07	4,30	2303,15
	ut		6	8274,33	3812,63	2,571	4001,76	3	0,00	4,30	3	39632,33	1414,22	4,30	3513,39
21.03.21	inn	141,5	6	3991,00	5950,30	2,571	6245,48	3	0,00	4,30	3	30909,00	487,52	4,30	1211,16
	ut		6	8274,33	3812,63	2,571	4001,76	3	0,00	4,30	3	34853,67	3562,20	4,30	8849,72

Endres biotilgjengeligheten av fosfor av våtmarken?

	inn	27,5	12	42,8	12,3	7,8	6	5,8	3,7	3,9	21,7	2,8	2,9
	ut		12	54,8	9,7	6,2	6	7,3	5,6	5,9	26,3	2,9	3,1
20.05.21	inn	45,5	12	33,2	10,8	6,9	6	4,7	0,0	0,0	9,3	3,4	3,6
	ut		12	42,8	11,0	7,0	6	2,5	2,6	2,7	14,2	2,2	2,3
	inn	48,0	12	35,5	10,6	6,7	6	6,8	4,5	4,7	19,5	3,3	3,4
	ut		12	47,7	9,0	5,7	6	8,3	5,8	6,1	26,5	3,9	4,1
	inn	51,5	12	38,0	9,3	5,9	6	6,8	1,9	2,0	32,5	4,6	4,9
	ut		12	48,3	6,0	3,8	6	3,7	0,8	0,8	35,5	2,4	2,5
21.05.21	inn	69,5	12	42,3	25,1	15,9	6	5,3	0,6	0,6	9,3	3,7	3,9
	ut		12	40,8	8,2	5,2	6	1,6	1,1	1,2	15,8	1,2	1,2
	inn	73,0	12	56,6	52,8	33,6	6	8,7	6,5	6,8	20,3	4,0	4,2
	ut		12	44,5	7,8	5,0	6	7,8	6,2	6,5	24,7	4,5	4,7
	inn	75,5	12	73,5	70,0	44,5	6	5,2	2,8	3,0	23,3	2,5	2,6
	ut		12	45,9	8,4	5,3	6	9,5	4,8	5,0	23,3	2,2	2,3
22.05.21	inn	95,5	12	584,7	863,3	548,5	6	3,5	0,0	0,0	10,5	5,3	5,6
	ut		12	101,6	137,8	87,6	6	1,7	1,7	1,8	14,8	2,8	2,9
	inn	100,0	12	646,4	762,6	484,5	6	1,2	0,6	0,6	10,2	5,1	5,4
	ut		12	129,1	164,2	104,3	6	1,9	1,5	1,6	11,8	1,9	2,0
23.05.21	inn	119,5	12	1248,8	1272,7	808,6	6	0,0	0,0	0,0	14,2	11,7	12,3
	ut		12	299,2	399,0	253,5	6	1,8	1,3	1,4	13,7	2,7	2,8
	inn	123,5	12	1539,2	1832,8	1164,5	6			0,0	18,0	12,9	13,6
	ut		12	311,8	415,1	263,8	6	1,8	1,4	1,5	16,2	2,1	2,2
24.05.21	inn	142,0	12	2261,7	2507,0	1592,9	6	18,8		0,0	16,2	11,9	12,5
	ut		12	283,3	317,5	201,7	6	1,0	1,2	1,2	14,7	4,1	4,3
	inn	147,5	12	2558,3	2576,0	1636,7	6	56,3		0,0	14,7	10,8	11,3
	ut		12	319,8	330,6	210,0	6	1,5		0,0	18,5	4,2	4,4

Tabell 19: Resultat av test 7 med LW-I.

Test 7 LW-I														
Dato	inn/ut-løp	Timer	FI			FI			FI			FI		
			n	Test \bar{x}	σ	δx	n	Pos.k. \bar{x}	σ	δx	Blank \bar{x}	σ	δx	
25.05.21	inn	0,0	12	145,6	24,5	15,6	6	17,8	19,0	19,9	200,2	23,7	24,9	
	ut		12	188,1	27,9	17,7	6	24,5	22,1	23,2	180,0	15,6	16,4	
	inn	3,0	12	108,8	13,9	8,8	6	11,5	11,5	12,1	79,5	2,6	2,7	
	ut		12	133,4	16,8	10,7	6	6,3	2,4	2,6	80,7	5,4	5,6	
26.05.21	inn	21,0	12	60,8	14,9	9,5	6	7,7	6,3	6,7	26,7	5,0	5,2	
	ut		12	62,5	9,0	5,7	6	6,5	3,0	3,2	31,2	4,1	4,3	
	inn	23,5	12	61,7	8,8	5,6	6	5,8	2,8	2,9	47,0	1,7	1,8	
	ut		12	74,2	5,0	3,2	6	8,8	9,3	9,7	45,8	1,5	1,5	
	inn	27,0	12	60,9	10,1	6,4	6	7,5	6,5	6,9	45,8	2,6	2,7	
	ut		12	68,3	7,6	4,8	6	3,3	1,6	1,7	45,5	4,1	4,3	
27.05.21	inn	45,5	12	68,6	18,6	11,8	6	10,4	8,7	9,1	26,0	5,1	5,4	
	ut		12	50,0	7,2	4,6	6	4,7	3,5	3,7	25,2	2,3	2,4	
	inn	48,5	12	81,4	35,6	22,6	6	3,5	3,5	3,6	42,5	1,6	1,7	
	ut		12	55,8	8,5	5,4	6	0,8	0,0	0,0	47,2	17,5	18,4	
	inn	52,5	12	117,3	72,7	46,2	6	3,8	2,3	2,4	41,5	1,6	1,7	
	ut		12	69,3	24,2	15,4	6	3,7	0,8	0,9	38,8	2,1	2,2	
28.05.21	inn	69,5	12	441,1	478,5	304,0	6	34,0	37,7	39,5	21,5	3,9	4,1	
	ut		12	117,8	251,0	159,5	6	4,7	3,8	4,0	22,3	3,6	3,7	
	inn	72,5	12	788,8	728,5	462,8	6	3,6	2,4	2,5	39,2	1,5	1,5	
	ut		12	180,3	473,5	300,9	6	3,8	4,2	4,5	42,2	12,1	12,7	
	inn	74,0	12	885,4	765,2	486,2	6	11,8	18,9	19,9	38,8	1,5	1,5	
	ut		12	249,5	674,2	428,4	6	1,3	1,4	1,5	37,7	3,6	3,8	
29.05.21	inn	94,5	12	3955,2	3092,6	1964,9	6	18,2	17,2	18,0	29,8	2,6	2,8	
	ut		12	281,0	787,8	500,5	6	6,7	11,3	11,9	36,3	9,0	9,5	
	inn	99,0	12	4375,3	3340,6	2122,5	6	23,7	20,7	21,8	39,3	4,3	4,5	
	ut		12	324,9	873,2	554,8	6	21,8	21,2	22,3	38,2	8,1	8,5	
	inn	117,5	12	4355,5	3038,5	1930,6	6	190,7	244,9	257,0	36,7	5,2	5,4	
30.05.21	ut		12	335,3	618,5	393,0	6	154,5	104,7	109,8	36,3	9,0	9,5	
	inn	121,5	12	3948,6	2843,2	1806,5	6	967,8	1705,0	1789,5	42,2	14,7	15,5	
	ut		12	364,4	494,7	314,3	6	428,8	34,6	36,4	47,7	24,6	25,8	

Endres biotilgjengeligheten av fosfor av våtmarken?

31.05.21	inn	141,0	12	2986,4	2150,7	1366,5	6	1631,5	2569,2	2696,7	78,0	68,5	71,9
	ut		12	661,8	914,5	581,0	6	2095,7	542,4	569,3	56,8	45,1	47,3
	inn	143,0	12	2749,7	1811,0	1150,6	6	2436,2	1788,5	1877,2	65,3	56,6	59,4
	ut		12	504,3	654,3	415,7	6	2106,2	1243,1	1304,8	60,8	46,3	48,6