



Höskolan
Kristianstad

Höskolan Kristianstad
291 88 Kristianstad
044-250 30 00
www.hkr.se

Självständigt arbete, 15 hp,
Biomedicinska analytikerutbildningen
Kandidatexamen i biomedicinsk laboratorievetenskap
HT 2024
Fakulteten för naturvetenskap

En jämförelse mellan två analysmetoder för bestämning av halten flyktiga fettsyror.

Hilat Aydin

Populärvetenskaplig sammanfattning

Nordvästra Skånes vatten och avlopp (NSVA) är en verksamhet som sköter kommunala vatten och avloppssystem. NSVA har även ett avloppsreningsverk för källsorterat avlopp, så kallat Recolab. Avloppsvattnet som förs till Recolab kommer från det nybyggda området i Helsingborg, Oceanhamnen. Det källsorterade avloppet delas i fastigheten upp i tre rör. Det första röret samlar upp svartvatten från vakuumtoaletter, det andra röret samlar upp gråvatten från bad dusch och tvätt, och det tredje röret tar emot matavfall från matkvarnar.

Fördelen med ett källsorterat avlopp är dess förmåga att kunna återvinna resurser. Gråvattenprocessen har blivit alltmer attraktiv tack vare dess förmåga att återvinna både värmeenergi och vatten av dricksvattenkvalitet. Gråvattnet har däremot visat på problem med filamentbildande bakterier. Filamentbildande bakterier är bakterier som växer som långa trådar. Filamentbildande bakterier har förmågan att störa reningsprocessen och konsumera flyktiga fettsyror som bildas under det anaerobiska reningssteget i gråvattenprocessen. Flyktiga fettsyror är organiska molekyler som bildas under det anaerobiska reningssteget för produktion av biogas.

Flyktiga fettsyror (VFA, volatile fatty acid) är en viktig analysparameter och avgörande för bedömning av processens funktion. VFA kan mätas på olika sätt, bland annat genom kromatografi, spektrofotometri och titreringsmetod. Syftet med denna studie är att jämföra två analysmetoder för bestämning av VFA-halten, spektrofotometrisk med kyvett-test och 5-punkts titrering.

Vattenprover togs 5 gånger om dagen genom att samla 500 ml prov från inkommande gråvatten respektive anaerobiskt gråvatten, under 4 dagar. VFA-koncentrationen analyserades genom spektrofotometri med Hach Langes kyvett test LCK365 och 5-punkts titrering. All statistisk beräkning av medelvärde, standardavvikelse, Bland-Altman och parat t-test genomfördes i Excel.

Resultatet visade en signifikant skillnad i uppmätta halter av VFA mellan metoderna. För både det inkommande gråvattnet och det anaerobiska gråvattnet. Kyvettmetoden gav högre VFA-värden jämfört med titreringsmetoden och

resultatet från Bland-Altman visar på att metoderna inte stämmer överens med varandra. Kyvettmetoden gav högre VFA-värden jämfört med titreringsmetoden.

Studien visade att metoderna inte tillför samma resultat. Trots att titreringsmetoden resulterade i lägre VFA-halter än kyvettmetoden, är den tillräcklig för att bedöma processen. Titreringsmetoden är både billigare och snabbare att utföra, vilket gör den mer kostnadseffektiv.

Författare

Hilat Aydin

Titel

En jämförelse mellan två olika analysmetoder för bestämning av halten flyktiga fettsyror.

Engelsk titel

A comparison between two different analytical methods for determining the content of volatile fatty acids.

Laborativ handledare

Hamse Kjerstadius, doktor i kemiteknik, utvecklingsingenjör, Nordvästra Skånes vatten och avlopp (NSVA).

Skrivhandledare

Britt-Marie Svensson, doktor i analytisk kemi, lektor i miljövetenskap, Högskolan Kristianstad.

Examinator

Ann-Sofi Rehnstam Holm, professor i mikrobiologi, leg. BMA, Högskolan Kristianstad.

Sammanfattning

Recolab är ett avloppsreningsverk med källsorterat avlopp. Det källsorterade avloppet använder 3 rör för att sortera ut gråvatten (bad, dusch och tvätt), svartvatten (vakuumtoaletter) och matavfall (matkvarnar). Fördelen med källsorterat avlopp är dess förmåga att kunna återvinna resurser. I gråvattenprocessen har det däremot förekommit problem med filamentbildande bakterier som har förmågan att störa reningsprocessen samt konsumera flyktiga fettsyror (VFA, volatile fatty acid). VFA är en viktig produkt från den biologiska reningen och är därför en avgörande analysparameter för en säker bedömning av reningsprocesserna. Halten av VFA kan mätas på med olika tekniker, som kromatografi, spektrofotometri och 5-punkstitrering. Syftet med denna studie är att jämföra två analysmetoder (spektrofotometrisk kyvett test och 5-punkstitrering) för att bestämma halten av VFA.

Provtagningsmetoden bestod av att analysera 40 prover från två delar av gråvatten processen, 20 av det inkommande gråvattnet och 20 av det anaerobiska gråvattnet. Proverna analyserades genom en spektrofotometrisk metod med kyvett tester och 5-punkstitreringsmetoden, samt GC-FID vid ett externt laboratorium. Statistiska beräkningar genomfördes genom Excel, där en Bland-Altman analys och ett t-test utfördes.

Resultatet från t-testet förkastade nollhypoteser H_0 , av det inkommande gråvattnet (p -värdet= $7,4E-16$) och av det anaerobiska gråvattnet (p -värdet= $1,5E-21$). Bland-Altman analysen visade en svag överensstämmelse mellan metoderna. Studien visade att kyvettmetoden ger högre resultat än titreringsmetoden, men att titreringsmetoden är mer kostnadseffektiv.

Ämnesord

Flyktiga fettsyror, 5-punkstitreringsmetoden, spektrofotometri, gaskromatografi-flamjoniseringsdetektor, Bland-Altman, t-test, filamentbildande bakterier.

Abstract

Recolab is a sewage treatment plant with source -sorted sewage. The source sorted drain uses 3 pipes to sort out gray water (bath, shower and wash), black water (vacuum toilets) and food waste (food mills). The advantage of source -sorted drains is their ability to recycle resources. In the gray water process, on the other hand, there have been problems with filamentary bacteria that have the ability to interfere with the purification process and consume volatile fatty acids (VFA, volatile Fatty Acid). VFA is an important product from biological purification and is therefore a crucial analysis parameter for a safe assessment of the purification processes. The content of VFA can be measured with different techniques, such as chromatography, spectrophotometry and 5-point titration. The purpose of this study is to compare two analysis methods (spectrophotometric cuvette test and 5-point titration) to determine the content of VFA.

The sampling method consisted of analyzing 40 samples from two parts of the gray water process, 20 of the incoming gray water and 20 of the anaerobic gray water. The samples were analyzed by a spectrophotometric method with cuvette tests and the 5-point titration method, as well as GC-FID at an external laboratory. Statistical calculations were carried out through Excel, where a Bland-Altman analysis and a T-test were performed.

The result from the t-test rejected null hypotheses H_0 , of the incoming gray water ($p\text{-value}=7,4E-16$) and of the anaerobic gray water ($p\text{-value}=1,5E-21$). The Bland-Altman analysis showed a weak agreement between the methods. The study showed that the cuvette method gives higher results than the titration method, but that the titration method is more cost-effective.

Keywords

Volatile fatty acids, 5-point titration method, spectrophotometry, gas chromatography-flame Ionization detector, Bland-Altman, t-test, filament-forming bacteria.

Innehållsförteckning

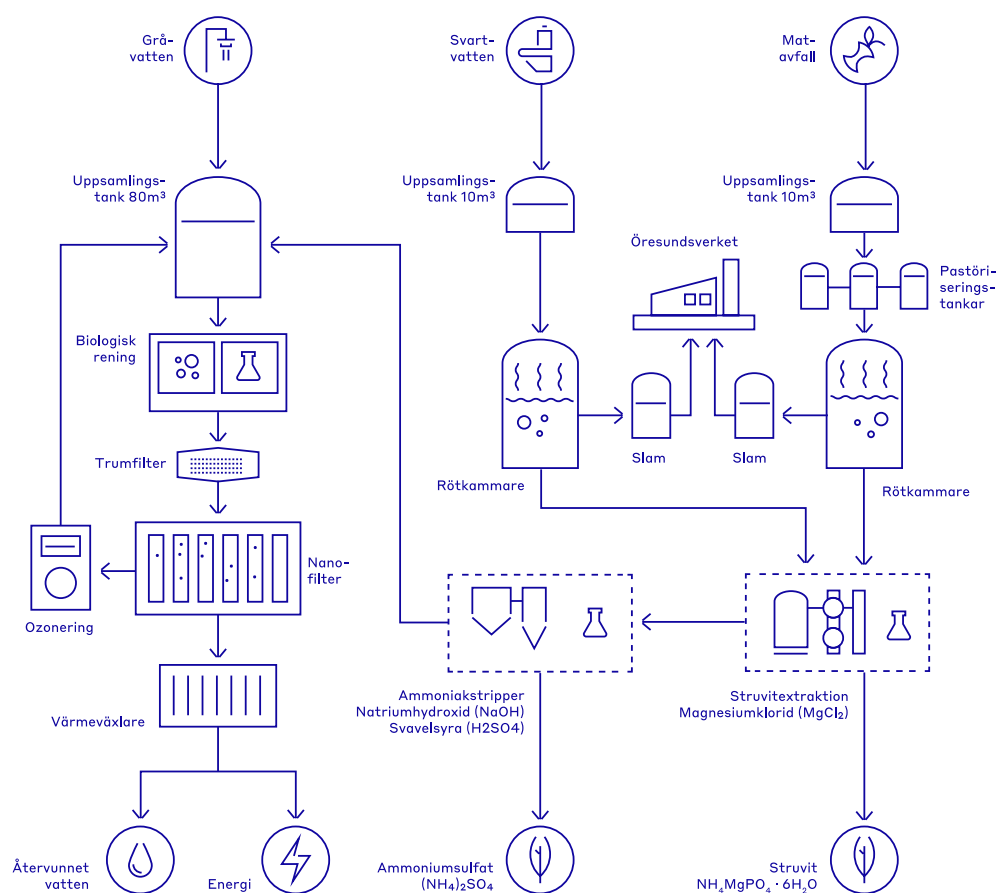
1. Introduktion	9
1.1 Recolab.....	9
1.2 Gråvatten	10
1.3 Analysparametrar	12
1.3.1 Volatile fatty acids (VFA)	12
1.3.2 Chemical oxygen demand (COD)	13
1.4 Analysprinciper	14
1.4.1 Gaskromatografi – flamjoniseringsdetektor	14
1.4.2 Spektrofotometri.....	16
1.4.3 5-punktstitrering.....	17
1.5 Syfte och frågeställningar	18
1.5.1 Syfte.....	18
1.5.2 Frågeställningar	19
2. Material och metod	19
2.1 VFA.....	20
2.1.1 5-punkts titreringsmetoden	20
2.1.2 Kyvett metoden.....	20
2.2 COD	21
2.3 Statistisk analys.....	21
2.4 Etiska aspekter	22
2.5 Miljöaspekter.....	22
3. Resultat	22
3.1 T-test	23
3.2 Bland-Altman.....	24
3.2.1 Inkommande gråvatten.....	24
3.2.2 Anaerobisk gråvatten	24
4. Diskussion	25
5. AI-användning.....	28
6. Tackord.....	29
7. Referenslista.....	30
7.1 Vetenskapliga referenser	30
7.2 Övriga referenser.....	32

8. Bilaga.....	35
8.1 Rådata från analyserna	35
8.2 Rådata från 5-punkts titreringen.....	37

1. Introduktion

1.1 Recolab

Recolab är ett avloppsreningsverk som startade sin verksamhet 2021, där källsorterad avlopp används från den ombyggda stadsdelen Oceanhamnen i Helsingborg, Sverige. Oceanhamnen är ett område som består av bostäder, kontor, restauranger, hotell, frisörsalonger och skola. I ett traditionellt vattenverk samlas avloppsvatten från hushållen till reningsverket genom ett enda rör. I Oceanhamnen separeras däremot avloppsvattnet upp och delas upp i tre rör från respektive fastighet. Metoden kallas även för ”tre rör ut”. En översikt över Recolabs utvecklingsanläggningen ses i figur 1 (Hall et al., 2024).



Figur 1. Översikt över Recolabs utvecklingsanläggning (Recolab, 2021).

Det första röret samlar upp matavfall från inbyggda matavfallskvarnar under diskbänken, som ersätter papperspåsesystemet. Det andra röret samlar upp så kallat svartvatten från vakuumtoaletter. Det tredje samlar upp vatten från bad, diskmaskiner och tvätt och kallas för gråvatten eller BDT-vatten (bad, dusch, tvätt-vatten) (Hall et al., 2024).

Enligt de föreslagna revideringarna av EU:s direktiv om rening av avloppsvatten från tätbebyggelse, kommer de tillåtna gränserna för halter av organisk kol, kväve, fosfor, suspenderade fasta ämnen och mikroföroreningar i utgående vatten att sänkas (European Commission 2022). Dessa krav kommer att kräva ett mer omfattande reningssystem för avloppsvatten (Hall et al., 2024). En metod för att uppfylla detta krav är genom källsorterad avloppsvatten (Velghe et al., 2019).

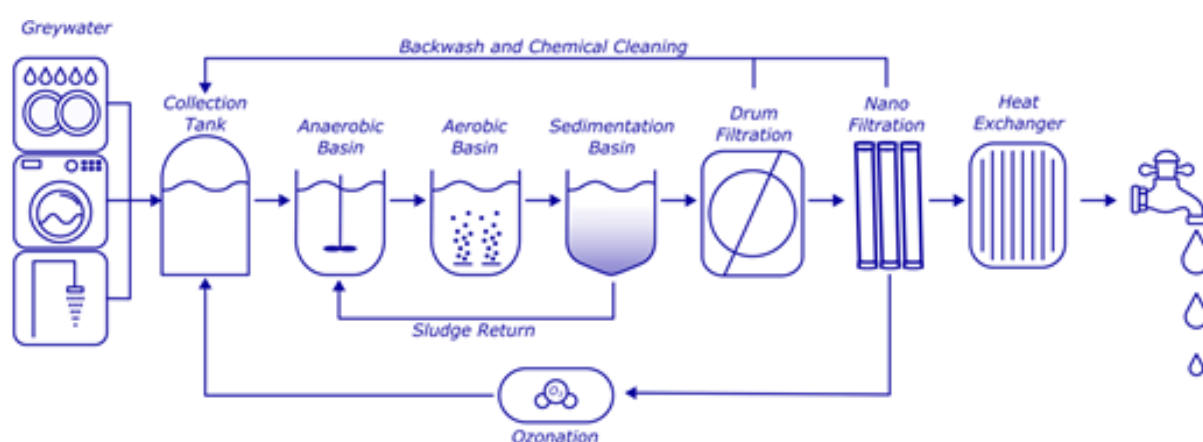
Fördelen med källseparerat avloppsvatten är att det möjliggör återvinning av resurser. Från gråvatten återvinns värme och näringsämnen och biogas återvinns från mer koncentrerad svartvatten (Hall et al., 2024). Ett sätt att återvinna energi på är genom anaerob rötning/nedbrytning av organiskt avfall. Nedbrytning av organiskt avfall sker i tre steg. Det första går ut på att bryta ned organiskt material till lös substans. I det andra steget går bildas det flyktiga fettsyror (VFA, Volatile fatty acids) och väte, och i det sista steget förbrukas VFA och väte för produktion av biogas (Wainaina et al., 2019). Efter att gråvatten passerat vattenverket kan det omvandlas till en vattenförsörjning av så pass hög kvalitet att den kan återanvändas som drickbart vatten (Hall et al., 2024).

Biomassa innefattar organiskt material som är biologiskt nedbrytbart och har förmågan att genom anaerob rötning omvandlas till ekologiskt bränsle eller biogas som är förnybart bränsle som kan användas till värme, el eller fordons gas (Velghe et al., 2019).

1.2 Gråvatten

Processen för gråvatten har blivit ett alltmer lockande alternativ tack vare dess förmåga att kunna återvinna resurser. Processen för gråvatten består av aktivslambehandling, trumfiltermikrosiktning och nanofiltrering, se figur 2. Gråvatten kommer först in till en uppsamlingstank för att jämna ut flödet och förs sedan vidare till en anaerob bassäng och sedan till den aeroba bassängen för att utföra biologisk rening. Syftet med den biologiska reningen är att rena vattnet från organiskt material, kväve och fosfor. Gråvattnet förs därefter genom en sedimentations tank för sedimentation och vidare genom ett 10 µm trumfilter innan det går

genom nanofiltrering. Vid nanofiltreringen passerar vattnet genom ett membranfilter, där alla större molekyler, till exempel läkemedelsrester, rensas bort. Det vatten som passerat nanofiltreringen kallas för "koncentrerat gråvatten". Det som inte passerat går vidare till en ozonerings tank. Vid ozonering bryts de större molekylerna ned, som t.ex läkemedelsrester. Från ozoneringen går vattnet till uppsamlingstanken igen för att åter passera processen. Vattnet som passerar nanofiltreringen kallas för "Permeat" och flödar vidare till värmeväxlaren. Vattnet värms upp genom en värmeväxlare, då vattnet innehåller energi som kan återvinnas. Värmeväxlaren används även för att värma upp rötkastrarna till 37 °C för biogasproduktion (Hall et al., 2024).



Figur 2. Processen för gråvatten (Hall et al., 2024).

I processen med rening av gråvatten har det varit problem med en tillväxt av filamentbildande bakterier. Filamentbildande bakterier är bakterier som växer som långa trådar. De filamentbildande bakterierna utgör ett problem eftersom de har långa trådar som försämrar slammets sedimentations egenskaper. Detta stör processen i avloppsreningsverket, eftersom det försvårar reningen av fosfor och kväve (Björnsdotter & Bennet, 2016).

Koncentrationen av VFA i gråvatten påverkas av mängden hydrolyserande bakterier som omvandlar organiska föreningar till VFA. Filamentbildade bakterier konsumerar VFA och beroende på koncentrationen av VFA kan de konkurrera ut gynnsamma bakterier, vilket medför att reningsprocessen försämras. De filamentbildande bakterierna som konsumerar VFA tillhör ett filamentöst bakteriesläkte med namnet *Thiotrix* (Sam et al., 2022). Det finns dock brist på kunskap om koncentrationen av VFA i inkommande gråvatten samt hur VFA bildas eller förbrukas under reningsprocessen för gråvatten (Hall et al., 2024).

Gråvatten kan variera mycket beroende på flera faktorer, bland annat plats och kultur. Näringssammansättningen i gråvatten skiljer sig från avloppsvatten i ett traditionellt avloppsverk. Däremot har förhållandet mellan biokemiskt syrebehov (BOD) och kemiskt syrebehov (COD) visat sig vara densamma i avloppsvatten från traditionellt avloppsreningsverk och gråvatten från ett källsorterat avloppsreningsverk, vilket tyder på att både traditionellt avloppsreningsverk och ett källsorterat avloppsreningsverk ger god förmåga till biologisk bryttnedbarhet (Hall et al., 2024).

1.3 Analysparametrar

1.3.1 Volatile fatty acids (VFA)

Volatile fatty acids (VFA) är flyktiga fettsyror som består av korta fettsyremolekyler med 2 - 6 kolatomer. Fettsyrorna är organiska föreningar som utvinns från bland annat biomassa och organiskt avfall. Under rening av avloppsvatten har VFA förmågan att avlägsna kväve och fosfor, samt omvandlas till flera olika biokemikalier. Flera olika organiska restprodukter har från tidigare undersökningar visat sig kunna producera VFA, bland annat matavfall, papper och slam (Waiaina et al., 2019). VFA är en mellanprodukt i den anaeroba processen och därför anses kontroll av VFA vara avgörande för bedömning av en effektiv drift av de anaeroba processerna (Yuan et al., 2011).

VFA är karboxylater som har förmågan att omvandlas till olika biokemikalier som är nödvändiga för flera tillverkningsindustrier. Ättiksyra (CH_3COOH) är en flyktig fettsyra som används vid produktion av livsmedelstillsatser, mjukgörare och färgämnen. En annan kortkedjad flyktig fettsyra är 3-metylbutansyra, även känd som Isovaleriansyra ($((\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{COOH})$) som används för att producera läkemedel, parfymer och fungicider (Wainaina et al., 2019).

Flyktiga fettsyror går att mäta på olika sätt, bland annat genom kromatografi high-pressure liquid chromatography (HPLC) och gas chromatography (GC), spektrofotometri och titreringsmetoder (Zan et al., 2020). Kromatografiska- och spektrofotometriska tekniker är däremot tidskrävande dyrt och kräver speciell utrustning. Däremot kräver titreringstekniken ingen avancerat instrumentell utrustning och är därav ett kostnadseffektivare val. Den kan göras genom en 2-, 5- och 8-pH punkts titrering. Titreringsmetoder som tar hänsyn till mer än 2

punkter anses vara mer exakta på grund av att metoden tar hänsyn till fler punkter (Lahav & Morgan 2004).

En 5-punkts titrering går ut på att observera volymen saltsyra som går åt för att uppnå 4 olika pH-punkter, beroende på samspelet mellansvaga syror och baser som finns i provet, vilket är avgörande för att bestämma VFA värdet baserat på dess syrakonstant (pKa) (Vannecke et al., 2015). De flyktiga fettsyror som särskilt produceras i den anaeroba processen är ättiksyra (pKa 4,76), propansyra (pKa 4,87) och smörsyra (pKa 4,82) (Aylward & Findlay, 2008; Hach Lange, 2009).

Produktionen av flyktiga fettsyror påverkas av pH och temperatur (Jiang et al., 2013). Vid en anaerob process omvandlar bakterier organiska föreningar till VFA och sedan till biogas (metan). Ett optimalt pH-värde för bakterierna är mellan 6,5 och 7,5. Ett lågt pH-värde kan orsaka toxiska förhållanden för bakterierna, vilket ger upphov till störningar (Hach Lange, 2019a).

Förändringar i pH avgörs av alkaliniteten. Vatten innehåller olika ämnen så som karbonater och hydroxider som reagerar med vätejoner, vilket höjer pH-värdet. Buffertkapaciteten är viktig av den anledning att den inte tillåter varje syra som tillförs att omedelbart ändra vattnets pH (Addy et al., 2004). Alkanitet är mått på mängden alkaliska ämnen som kan neutralisera starka syror, d.v.s vattnets förmåga att neutralisera syror och baser, med andra ord vattnets buffertkapacitet. Ett högt värde på alkanitet tyder på att det är svårare att kompensera för ändringar i syra koncentration. (Hach Lange, 2019a). Förhållandet mellan alkanitet och VFA ger en indikation på processens effektivitet (Björnsdotter & Bennet, 2016). När den totala koncentrationen av en svag syra/bas bestämts, kan massförändringen i en del av alkanitetens system för en svag syra/bas beräknas (Moosbrugger et al., 1993a).

1.3.2 Chemical oxygen demand (COD)

COD (chemical oxygen demand) är kemisk syreförbrukning och är en viktig parameter vid utvärdering av vattenkvalitet (Balmér, 2015). Kemisk syreförbrukning är ett mått på volymen organiska ämnen i vatten. Halten organiska ämnena visar även på hur förorenat vattnet är av reducerande ämnen. COD hänvisar till mängden oxidation som sker genom tillsatser av oxiderande ämnen och anger halten av föroreningar som kan oxideras (Chen et al., 2018).

Flyktiga fettsyror är som tidigare nämnts organiska molekyler och eftersom COD mäter den del av det organiska materialet som kan oxideras kemiskt, kan det återfinnas ett samband med analysparametrarna VFA och COD (Zuo et al., 2020).

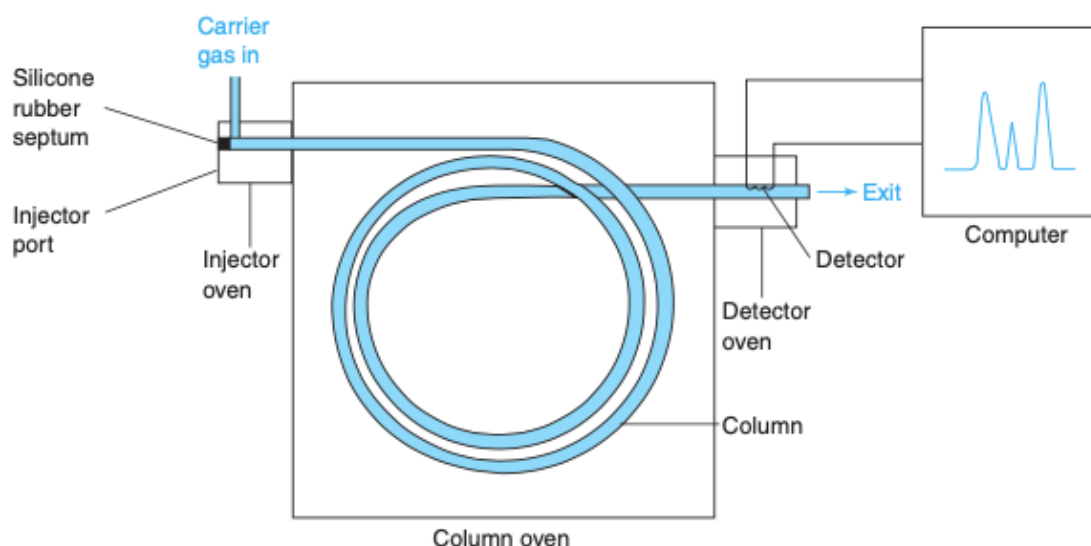
Metoderna för att detektera COD omfattar kemiska och fysikaliska metoder. Den fysikaliska metoden är baserad på Lamber-Beers lag och den spektrofotometriska metoden. Den kemiska metoden går ut på att tillsats av kemikalie (oxidationsmedel) förbrukar syre vid nedbrytning av det organiska materialet i vattnet. Mätresultaten från den kemiska detektionsmetoden för COD anses vara närmare exakta, däremot är reaktionstiden för analysen lång (Youquan et al., 2011).

1.4 Analysprinciper

I detta projekt kommer tre analysmetoder att användas; spektrofotometrisk metod med kyvett-test, 5-punktstitrering- och gaskromatografi med flamjoniseringsdetektor (gaschromatography-flame ionization detector, GC-FID).

1.4.1 Gaskromatografi – flamjoniseringsdetektor

I gaskromatografi används prov i form av flyktig vätska eller gasform. Provet injiceras först genom ett septum i en uppvärmd ingång, där provet snabbt förångas. Ångan förs sedan genom en kolonn av gasformig mobilfas (He, N₂, eller H₂-bärargas). Kolonnen måste vara tillräckligt varm för att kunna ge ett ångtryck som får analyterna att kunna frigöras inom en rimlig tid. Analyterna separeras i kolonnen (stationära fasen) och strömmar genom en detektor. Analyterna måste hållas gasformiga, därav hålls detektorn vid ännu högre temperatur än kolonnen. En översiktlig bild av gaskromatografi metoden visas i figur 3 (Harris & Lucy, 2016).



Figur 3. En översiktlig bild av gaskromatografi (Harris & Lucy, 2016).

Det finns två typer av kolonner vid gaskromatografi, kapillära kolonner och packade kolonner. Kapillära rörformiga kolonner är långa, smala och är den vanligaste kolonnen som används. Kolonen är gjord av smält kiseldioxid (SiO_2) och belagd av polyimid. Polyimid är en plast som kan motstå 350°C och används för skydd mot luftfuktighet. Kapillära rörformiga kolonner har högre upplösning, kortare analysid och större känslighet än packade kolonner. Kapillära rörformiga kolonner finns i två varianter, väggbelagd stationär fas och porösa lager av stationära fasta-fas partiklar. Den vanligaste är den väggbelagda kolonnen med högmolekylär stationär fas vätskefas på innerväggen (Harris & Lucy, 2016).

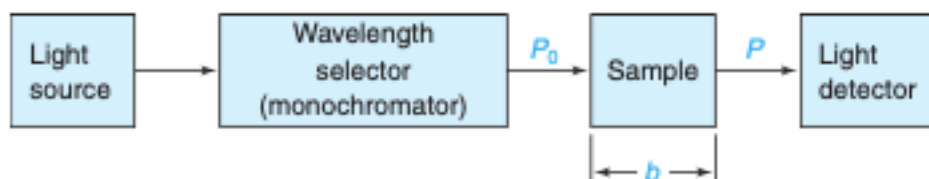
De olika bärargaserna har olika förmågor. Helium är den vanligaste bärargasen och kompatibel med de flesta detektorer. Bärargasen H_2 har förmågan att separera som snabbast. N_2 ger en lägre detektionsgräns i samband med en flamjoniseringsdetektor (FID, Flame Ionization Detector) (Harris & Lucy, 2016).

Detektorer finns anpassade för om allt i provet skall avläsas eller enbart vissa föreningar. Masspektrofotometern är den vanligaste detektorn för kapillär kromatografi. Flamjonisering är den mest populära detektorn men har en förmåga att främst reagera på kolväten. Termisk konduktivitetsdetektor reagerar på alla klasser av föreningar, men är inte särskilt känslig. Elektroninfångsdetektorn är känsligare jämfört med flamjoniseringsdetektorn (Harris & Lucy, 2016).

Flamjoniseringsdetektorn förbränner bärgasen med analyterna i en blandning av H_2 och luft. Kolatomer producerar CH-radikaler, dessa producerar i sin tur CHO^+ -joner och elektroner i lågan. Jonproduktionen är proportionell mot antalet kolatomer som kommer in i lågan. Analyterna producerar en ström som omvandlas till spänning, amplifieras, filtreras och slutligen omvandlas till en digital signal. Flamjoniseringen är tillräcklig känslig för öppna rörformiga kolonner och reagerar på de flesta kolväten. Däremot är detektorn okänslig mot icke-kolväten som H_2 , He, N_2 , O_2 , CO, CO_2 , H_2O , NH_3 , NO, H_2S och SiF_4 (Harris & Lucy, 2016).

1.4.2 Spektrofotometri

Spektrofotometri är en metod som använder ljus för att mäta kemiska koncentrationer. En spektrofotometer med enkel strålning (single beam) innehåller ljuskälla, monokromator, en provbehållare och detektor. Ljus från ljuskällan lyser in i monokromator, där smala våglängdsband separeras och en våglängd väljs ut. Ljuset med den utvalda våglängden träffar ett prov och absorberas, resterande ljus mäts av en detektor. Figur 4 visar en enkel skiss av en spektrofotometer med enkel strålning (Harris & Lucy, 2016).



Figur 4. Schematisk bild av en spektrofotometer med en enkel strålning (Harris & Lucy, 2016).

I en spektrofotometer mäts irradiansen (ljusintensitet, P_0) av ljuset som träffar detektorn med en referenscell (ett blankt prov). Det monokromatiska ljuset med irradians P_0 passerar provet som finns i en kyvett med längden b . När referensen (d.v.s det blanka provet) ersätts med provet av intresse, absorberas enbart en viss strålning och den strålning som träffar detektorn, strålning, P , motsvarar energin per sekund per ytenhet av irradiansen. Transmittans är en del av det ursprungliga ljuset som passerar provet och skrivs i procentform (Harris & Lucy, 2016).

Absorbansen motsvarar logaritmen av kvoten P_0 / P , vilket är lika med negativ logaritmen av transmittans (P / P_0). Detta innebär att när inget ljus absorberats, $P = P_0$, ger $A = 0$ (Harris & Lucy, 2016).

Absorbansen är proportionell mot koncentrationen. Koncentrationen av en lösning kan beräknas genom Beer-Lamberts lag; $A = \epsilon b c$. Koncentrationen (c) av provet har enheten mol per liter. Våglängden (b) har enheten cm och kvantiteten ϵ (epilson), även kallad molär absorptivitet, har enheten $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Absorbans är dimensionslös, men kan skrivas som ”absorbansenheter” (Harris & Lucy, 2016).

Vid analys av VFA kan en spektrofotometrisk kyvettmetod från Hach Lange användas. Det är en metod som bygger på esterifiering. Analysprincipen går ut på att organiska syror reagerar med dioler i en sur miljö och bildar sedan fettsyraestrar. En reduktion av järn-III-salt sker, vilket leder till att ett rödfärgat komplex bildas. Det rödfärgade komplexet mäts fotometriskt vid våglängd 495 nm (Hach Lange 2020).

Kemisk syreförbrukning kan också analyseras med en spektrofotometrisk kyvett metod. Principen går ut på att oxiderbara ämnen i avloppsvattnet reagerar med både svavelhaltig kaliumdikromatlösning och med silversulfat. Silversulfat har i funktion att katalysera. Kvicksilversulfat döljer kloriden. Det sker sedan en grönfärgning på Cr^{3+} som mäts fotometriskt vid våglängd 605 nm (Hach Lange, 2019b).

1.4.3 5-punktstitrering

En 5-punktstitreringsmetod går ut på att fastställa det initiala pH-värdet (pH_0), volymen av tillsatt saltsyra med känd koncentration vid 4 olika pH-punkter (pH_1 , 6,7, pH_2 5,9, pH_3 5,2 och pH_4 4,3), temperaturen och konduktiviteten. Provet titreras med saltsyra från pH_0 till pH_1 ($6,7 \pm 0,1$) och volymen noteras som V_{x1} . Samma procedur repeteras för att titrera från pH_1 till pH_2 ($5,9 \pm 0,1$), från pH_2 till pH_3 ($5,2 \pm 0,1$) och från pH_3 till pH_4 ($4,3 \pm 0,1$). De kumulativa titreringsvolymerna observeras som V_{x2} , V_{x3} och V_{x4} och motsvarar summerade volymer av starka syror tillsatt för att uppnå respektive pH-punkt från det initiala pH-värdet (Moosbrugger et al., 1992).

Analysprincipen för 5-punktstitrerings metoden går ut på att utnyttja buffertförmågan för att beräkna VFA. I 5-punktstitreringsmetoden nyttjas karbonat subsystemet och VFA subsystemet. En komponent i ett system utgör ett system av mindre enheter, så kallat subsystem. Buffertkapaciteten under ett visst pH-värde beror på en enskild komponent, vid fallet mellan pH 5,3 – 4,2 beror det på VFA. Subsystemen har olika jämviktspunkter som fastställs genom pK_a -värden för respektive komponent. Syrans dissociationskonstant, pK_a , motsvarar pH värdet

när syra har lika stor koncentration som dess bas, kan även definieras som den negativa logaritmen (bas 10) av syrakonstanten, K_a (Moosbrugger et al., 1992).

Subsystemen kan illustreras av konceptet buffertindex. Buffertindex mäter massan av stark syra/bas som behöver tillsättas för att förändra pH-värdet. Tillsatt bas till en lösning i jämvikt höjer pH värdet över jämviktspunkten. Plottas massan av stark syra/bas mot pH skapas en titreringskurva. Lutningen av kurvan definierar buffertindex (Moosbrugger et al., 1992).

Buffertens inverkan är som störst omkring syrans pK_a -värde. Karbonat subsystem utgörs av svaga syran H_2CO_3 och dess korresponderande bas HCO_3^- eller CO_3^{2-} medan VFA subsystemet utgörs av svaga syran HA och dess korresponderande bas A^- . Jämviktsekvationerna för karbonatsubsystem (pK_{ac}) och VFA subsystem (pK_{aa}) är följande;

$$pK_{ac1} = \frac{(H^+) \cdot [HCO_3^-]}{[H_2CO_3]} \quad pK_{ac2} = \frac{(H^+) \cdot [CO_3^{2-}]}{[HCO_3^-]}$$

$$pK_{aa} = \frac{(H^+) \cdot [A^-]}{[HA]}$$

Vid tillsättning av stark syra (saltsyra) avges vätejoner H^+ , vilket höjer vätejonskoncentrationen i lösningen och ger ett lägre pH. Metoden mäter koncentrationen av vätejoner som behöver tillsättas för att uppnå jämvikt, koncentrationen av vätejoner konverteras sedan till rätt enhet för att beräkna alkaliniteten och halten VFA (Moosbrugger et al., 1993b). Karbonat subsystem mäts mellan sina symmetriska pK_a -värden 6,7 och 5,9. VFA subsystem mäts mellan sina symmetriska pK_a -värden 5,2 och 4,3. Symmetriska pK_a -värden för respektive subsystem mäts eftersom de sträcker sig över två pK_a -värden där buffertintensiteten är som högst för respektive komponent. Denna symmetri ger den bästa uppskattningen av VFA halten, karbonat halten och den totala alkaliniteten (Lahav & Loewenthal, 2000).

1.5 Syfte och frågeställningar

1.5.1 Syfte

Syftet med studien är att testa två olika analystekniker för VFA, spektrofotometri med kyvetttest och 5-punkts titrering, samt utvärdera dessa med analys gjort med gaskromatografi på externt laboratorium. Analyserna genomförs på två avloppsvatten från olika delar i reningsprocessen

som förväntas ha olika höga koncentrationer av VFA, nämligen inkommande gråvatten och gråvatten efter det anaeroba steget.

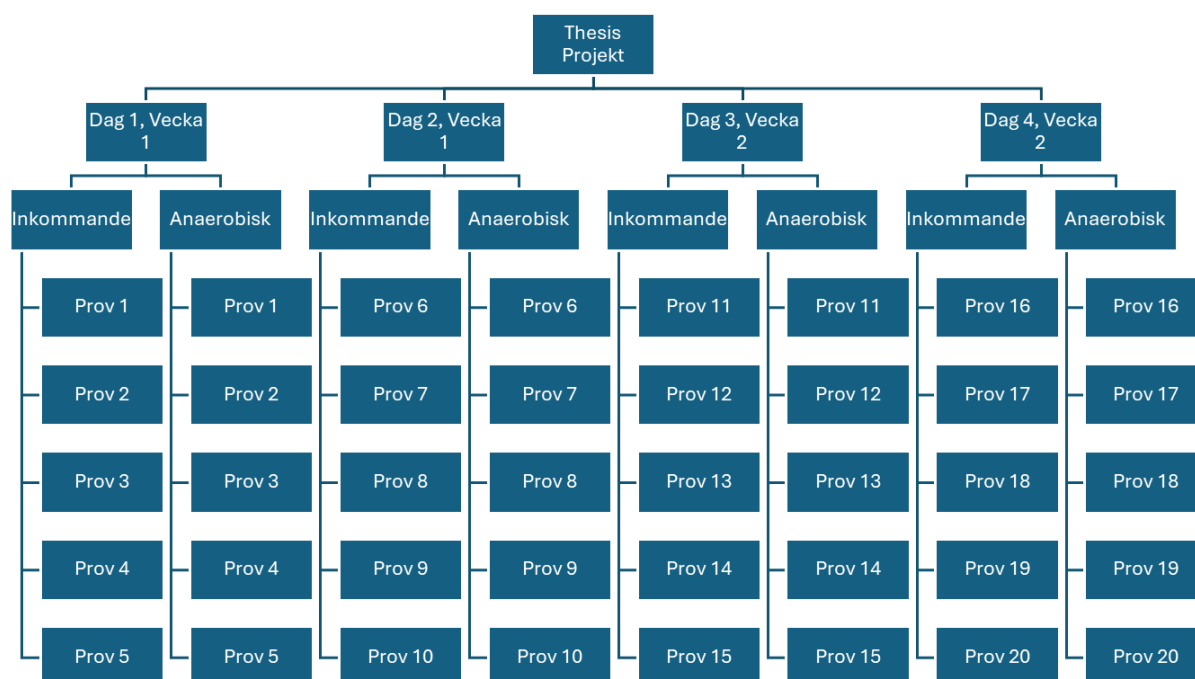
1.5.2 Frågeställningar

- Ger analyserna med kyvett-metoden och 5 punkts titreringsmetoden liknande resultat för att skatta VFA-koncentrationerna?
- Finns det statistiskt säkerhetsställda skillnader i koncentration av VFA mellan inkommande gråvatten och gråvatten efter det anaeroba steget?
- Är det möjligt att uppskatta koncentrationen av VFA baserat på koncentrationen av COD?

2. Material och metod

Prover togs enligt fast schema av ansvarig drifttekniker vid NSVA. Under en period av 2 veckor togs 20 prover fördelade på 4 dagar och 5 prover per dag, se figur 5. Två flaskor om 500 ml av inkommande gråvatten och gråvatten från det anaeroba steget fylldes parvis en gång i halvtimmen. Proverna togs genom en ventil slutet till betongbassänger innehållande inkommande gråvatten och gråvatten som passerat det anaeroba steget i processen inne på Recolabs utvecklingsanläggning. Processerna är kontinuerliga och prover tas efter att de gått genom respektive process. Proverna togs direkt till laboratoriet för analys. 75 ml av proverna filtrerades med filterpapper (Ahlstrom Munksjö, Falun, Sverige) för analys av VFA och COD.

Från det externa laboratoriet Eurofins beställdes analyser av VFA med analyskod LW08K, motsvarande analysmetod gaskromatografi-flamjoniseringsdetektor (GC-FID). Prover för analys till Eurofins förberedes genom att en 250 ml provflaska av vardera prover fylldes. Proverna frystes sedan in. Proverna packades i fryslådor med kylklampar och alla 40 proverna skickades tillsammans.



Figur 5. Schematisk bild över antalet provtagningar.

2.1 VFA

2.1.1 5-punkts titreringsmetoden

Elektroden (VWR, Leuven, Belgien) för temperatur och konduktivitet lades i provburken. Värdena för temperaturen och konduktiviteten stabiliserades och noterades i protokollet.

Det filtrerade provet mättes upp till 50 ml i en mätkolv och hälldes över till en bägare med magnetloppa i. Bägaren fästes sedan i titreringsapparat Titralab av serie AT1000 med modell nummer AT1222.98 (Hach Lange, Dusseldorf, Tyskland). Elektroden lades i provet och provet analyserades sedan i titreringsapparaten. Först fastställer instrumentet den initiala pH-värdet. Vid titrering mäts tillsatt volym av HCl 0,1M (Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland) vid fyra olika pH-punkter (pH 6,7, pH 5,9, pH 5,2 och pH 4,3). Proceduren upprepades för varje nytt prov.

2.1.2 Kyvett metoden

Termostaten LT200 (Hach Lange, Dusseldorf, Tyskland) startades och förvärmades till 100 °C. Kyvettkit LCK 365 (Hach Lange, Dusseldorf, Tyskland) hade färdiga reagenser. Till kyvetten

innehållande etandiol pipetterades 400 µl av 10% svavelsyra. Det filtrerade provet skakades väl och 400 µl av provet pipetterades till en kyvett och blandades flera gånger. Kyvetten placerades i termostaten (Hach Lange) i 10 minuter under 100 grader. Provet fick svalna i rumstemperatur. 400 µl av hydroxylammoniumklorid tillsattes och kyvetten blandades om flera gånger. 400 µl natriumhydroxid tillsattes och kyvetten blandades flera gånger. Svavelsyra 5% med en volym av 2 ml pipetterades i kyvett och blandades flera gånger tills en färgutveckling skett. Kyvetten vilade i 3 minuter och avlästes sedan i spektrofotometern DR6000 (Hach Lange, Dusseldorf, Tyskland) vid våglängd 495 nm. Metoden repeterades för varje nytt prov som kom in till laboratoriet var halvtimme.

2.2 COD

Termostaten LT200 startades och förvärmades till 148°C. Kyvetterna LCK114 (Hach Lange, Dusseldorf, Tyskland) för COD togs fram och lades i ett dragskåp. Kyvett kitet hade färdiga reagenser. Kyvetten innehållande svavelsyra 90%, kvicksilversulfat och kaliumdikromat, blandades flera gånger för att få det sedimenterade innehållet homogent. Till en kyvett tillsattes 2 ml av det filtrerade provet och blandades flera gånger. Kyvetten placerades i termostaten i 2 timmar under 148 grader. Kyvetten togs upp från termostaten och blandades försiktigt 2 gånger. Provet fick svalna i rumstemperatur. Sedimentet observerades, då det måste ha sjunkit innan mätning. Kyvetten avlästes i spektrofotometern DR6000 (Tyskland) vid 605 nm. Metoden repeterades för varje nytt prov som kom in till laboratoriet var halvtimme.

2.3 Statistisk analys

De två statistiska analysmetoderna som användes för att analysera resultaten var Bland-Altman och parat t-test. Bland-Altman är en populär metod för att analysera skillnader mellan mätningar från olika mätsystem för att avgöra hur väl systemen stämmer överens. Beräkningar på medelvärde, bias (medelvärdet av resultats skillnaderna), standardavvikelse, det övre gränsvärdet (LOA, limit of agreement) och det undre gränsvärdet för 95% av konfidensintervallet, genomfördes med hjälp av Microsoft Excel. De övre- och undre gränsvärdena för 95% av konfidensintervallet beräknades med formeln; $\text{Mean} + 1,96 \cdot \text{SD}$ och $\text{Mean} - 1,96 \cdot \text{SD}$. En Bland-Altman plot skapades, där y-axeln visade skillnaden mellan mätningarna och x-axeln visade medelvärdet av mätningarna (Giavarina 2015).

Vid parat t-test görs jämförelser av analysteknikernas analysresultat för att avgöra om H_0 kan förkastas eller bekräftas. Nollhypotesen H_0 motsvarar antagandet om att det inte finns någon skillnad mellan medelvärdena för två olika grupper. Signifikansnivån för ett t-test ligger på 0,05, vilket motsvarar 5 %. När ett p-värde beräknats, jämförs det med signifikansnivån, och om p-värdet är lägre än signifikansnivån på 0,05 kan H_0 förkastas. Alla beräkningar genomfördes i Microsoft Excel.

2.4 Etiska aspekter

I detta projekt förekom inga etniska aspekter.

2.5 Miljöaspekter

COD-kyvettesten LCK114 innehöll kvicksilversulfat, vilket är cancerframkallande, samt svavelsyra som är miljöfarligt. VFA-kyvettesten LCK365 innehöll också svavelsyra som är miljöfarligt. Kyvetterna återlades i sina ursprungliga förpackningar, vilka sedan packades, dokumenterades och transporterades tillbaka till Hach Lange i enlighet med avfalls- och farligt godslagstiftningen. Transportören måste ha ett giltigt tillstånd från Länsstyrelsen för att vara behörig att kunna transportera farligt avfall.

Skyddsutrustning som laborationsrock, skyddsglasögon, dragskåp och skyddshandskar användes under de laborativa momenten för att undvika riskexponering.

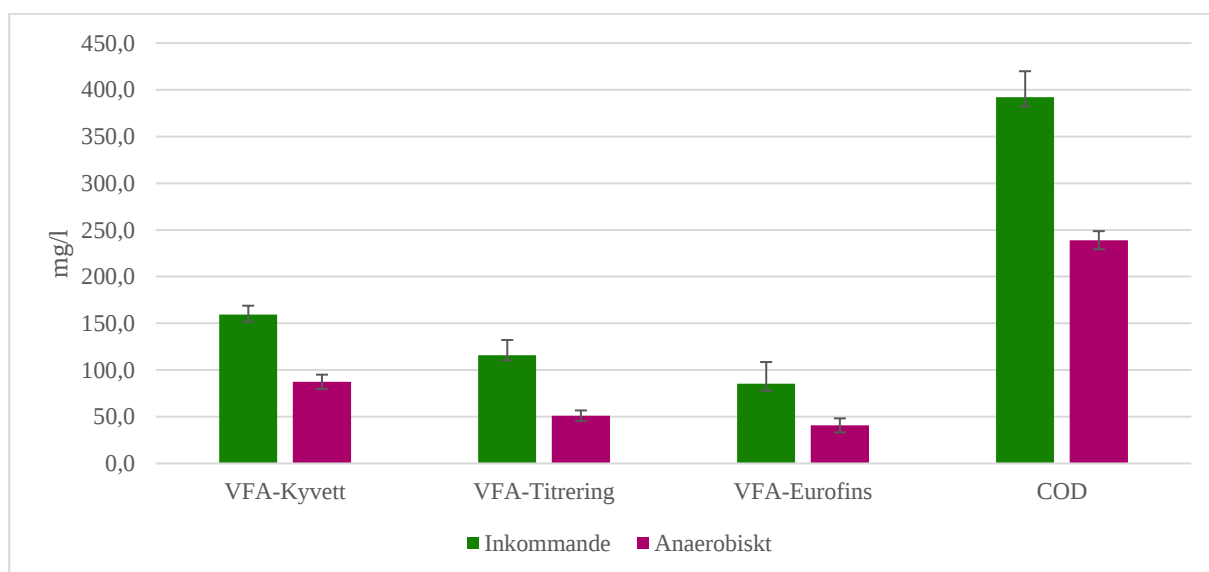
3. Resultat

Medelvärdet av det inkommande gråvattnet med kyvettmetoden var 159 mg/l och med titreringsmetoden 116 mg/l. Standardavvikelsen av det inkommande gråvattnet med kyvettmetoden var 9,5 mg/l och med titreringsmetoden 5,6 mg/ml. Variationskoefficienten av det inkommande gråvattnet med kyvettmetoden var 6,0 % och med titreringsmetoden 4,8 %. VFA-analysen med GC-FID av det inkommande gråvattnet, gav ett medelvärde på 85,4 mg/l, standardavvikelsen var 23,2 mg/l och variationskoefficienten var 27,2 %. Medelvärdet av COD halten i det inkommande gråvattnet var 392 mg/l.

Medelvärdet på det anaerobiska gråvattnet med kyvettmetoden var 87,4 mg/l och med titreringsmetoden 51,1 mg/l. Standardavvikelsen på det inkommande gråvattnet med kyvettmetoden var 7,7 mg/l och med titreringsmetoden 5,6 mg/l. Variationskoefficienten på det

inkommande gråvattnet med kyvettmetoden var 8,8 % och med titreringsmetoden 11,0 %. VFA-analysen med GC-FID av det anaerobiska gråvattnet, gav ett medelvärde på 40,8 mg/l, standardavvikelsen var 7,5 mg/l och variationskoefficienten var 18,5 %. Medelvärdet av COD halten i det anaerobiska gråvattnet var 239 mg/l.

VFA-halterna är högre i det inkommande gråvattnet än i det anaerobiska gråvattnet. Kyvett-testen gav högre värden jämfört med 5-punktstitrering och GC-FID. Resultaten från GC-FID har mer lika värden med titreringen enligt figur 6.



Figur 6. Koncentration av halten VFA i inkommande och anaerobiskt renat gråvatten, analyserade med kyvett-test, 5-punkts titrering och GC-FID, samt halten COD angivet som medelvärde och standardavvikelse (n=20).

3.1 T-test

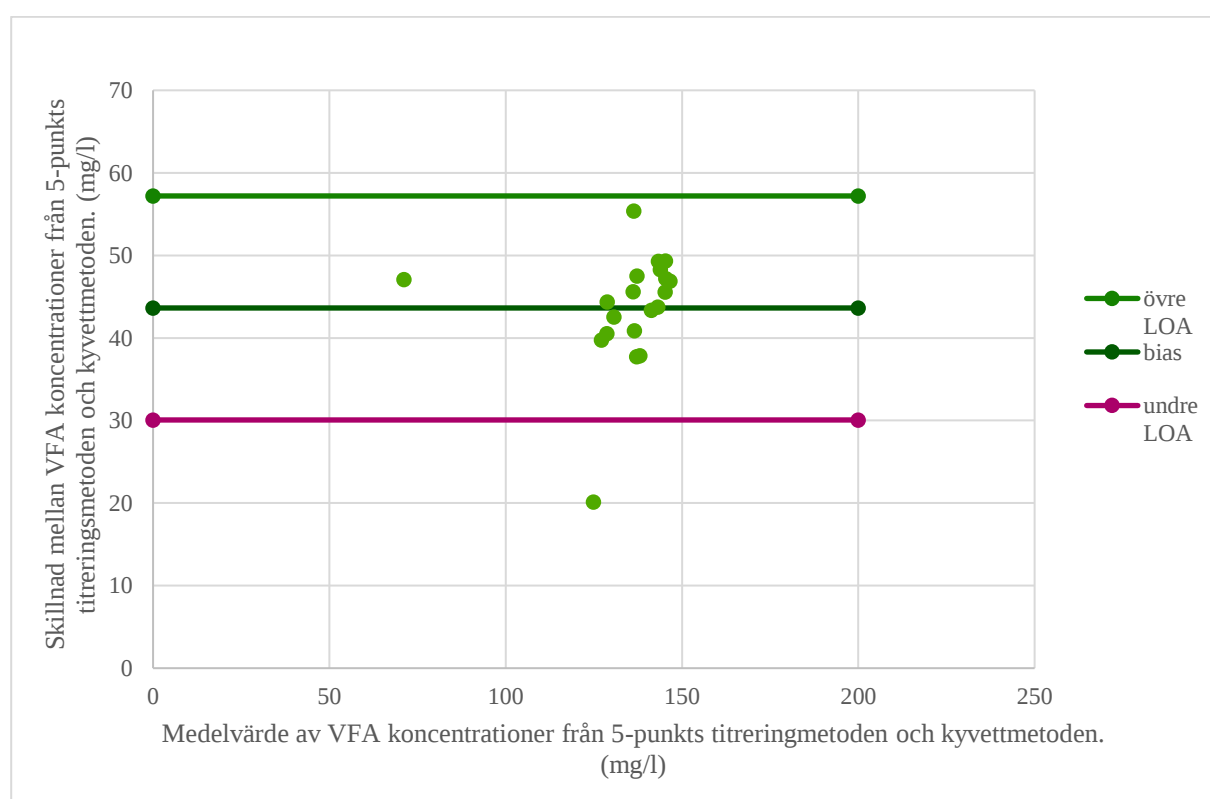
Resultatet från t-testet med skillnaden mellan 5-punktstitreringsmetoden och kyvettmetoden på inkommande gråvatten visade en statistiskt signifikant skillnad, p-värde = 7,4E-16, och därmed kan nollhypotesen H_0 förkastas, då p-värdet är lägre än 0,05. Detta innebär att en statistisk signifikant skillnad mellan analysmetoderna återfinns.

Även resultatet från t-testet för skillnaden mellan 5-punktstitreringsmetoden och kyvettmetoden på anaerobiskt gråvatten visade en statistiskt signifikant skillnad med ett p-värde = 1,5E-21, dvs $p < 0,05$ och nollhypotesen H_0 förkastas.

3.2 Bland-Altman

3.2.1 Inkommande gråvatten

Bias motsvarar medelvärdet på skillnaderna mellan metoderna och var 43,6 mg/l. Det undre gränsvärdet (LOA) motsvarar 95% av konfidensintervallets undre gräns som var 30,1 mg/l. Det övre gränsvärdet (LOA) motsvarar 95% av konfidensintervallets övre gräns som var 57,2 mg/l. Figur 7 visar en Bland-Altman plot av medelvärde av VFA koncentrationerna och skillnaderna mellan VFA koncentrationer från det inkommande gråvatten mellan kyvettmetoden och titreringsmetoden.

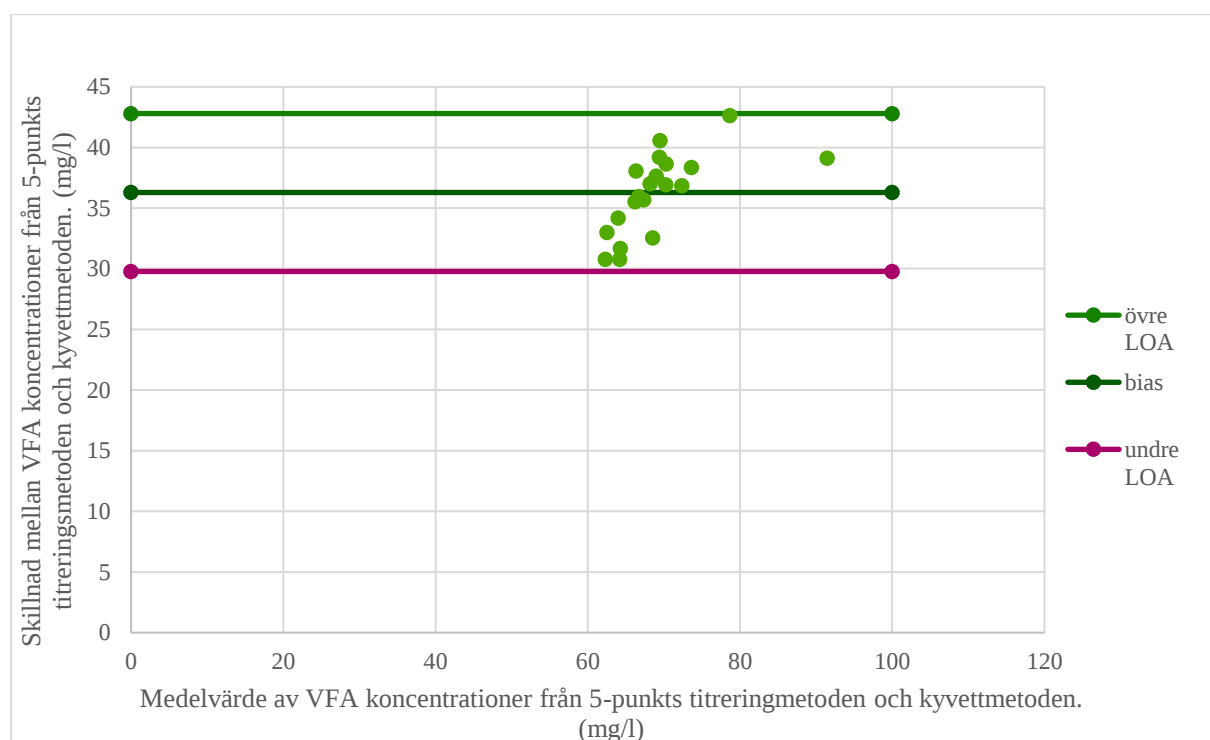


Figur 7. Bland-Altman plot för skillnaden på VFA koncentrationerna i inkommande gråvatten, mellan kyvettmetoden och titreringsmetoden.

3.2.2 Anaerobisk gråvatten

Bias motsvarar medelvärdet på skillnaderna mellan metoderna och var 36,3 mg/l. Det undre gränsvärdet (LOA) motsvarar 95% av konfidensintervallets undre gräns som var 29,8 mg/l. Det övre gränsvärdet (LOA) motsvarar 95% av konfidensintervallets övre gräns som var 42,8 mg/l. I figur 8 ses en Bland-Altman plot av medelvärde av VFA koncentrationerna och skillnaderna

mellan VFA koncentrationer från gråvatten som passerat det anaeroba steget, mellan kyvettmetoden och titreringsmetoden.



Figur 8. Bland-Altman plot för skillnaden på VFA koncentrationerna i gråvatten efter det anaeroba steget, mellan kyvettmetoden och titreringsmetoden.

4. Diskussion

Resultaten av halten VFA från kyvett metoden och titreringsmetoden uppvisade olika resultat. Medelvärdena av inkommande gråvatten var 156 mg/l från kyvett metoden och 113 mg/l från titreringsmetoden, vilket ger en procentuell skillnad på närmare 30 %. För anaerobiskt gråvatten var medelvärdet på halten VFA 87,4 mg/l mätt med kyvett metoden och 51,1 mg/l från titreringsmetoden, vilket ger en procentuell skillnad på cirka 40 %. Den procentuella skillnaden

mellan metoderna visar på att överensstämmelsen mellan metoderna är lägre desto mindre enheter.

Titreringsmetoden gav enligt bilagorna av rådata resultat med fler antalet decimaler än kyvett metoden, vilket indikerar på mer exakta värden. Standardavvikelsen (SD) av titreringsmetoden observerades vara lägre än kyvett metoden, som kan bero på mindre enheter från titreringsmetoden. Variationskoefficienten av anaerobiskt gråvatten visade vara högre för titreringsmetoden än kyvettmetoden, detta tyder på att standardavvikelsen för titreringsmetoden utgör en större andel av medelvärdet, trots de lägre resultaten av standardavvikelsen från titreringsmetoden (Menditto et al., 2007).

Däremot var variationskoefficienten av inkommande gråvatten för titreringsmetoden lägre. Detta har ett samband med de avvikande värdena att göra. Avvikande värden förekommer enligt tabell 1, se bilaga från bland annat 2024-11-28, prov 1 (inkommande gråvatten), detta värde har därav tagits bort vid beräkningar av medelvärde, standardavvikelse och variationskoefficient. Det avvikande värdet hade enligt tabell 4 i bilagan en temperatur på 10,3 °C. Detta skiljer sig avsevärt från temperaturen på de andra proverna, vilket är anledningen till det avvikande VFA-värdet (Jiang et al., 2013).

Däremot var sambandet mellan VFA värdena från det inkommande- och anaerobiska-gråvattnet densamma med båda metoderna. Det inkommande gråvattnet uppvisade ungefär dubbel så hög halt av VFA än det anaerobiska gråvattnet, vilket tyder på att den anaerobiska gråvattenprocessen inte är funktionell. Syftet med processen av det anaeroba steget bland annat är att omvandla organiska föreningar till VFA, visar resultaten från båda metoderna att processerna inte fullgör funktionen (Hach Lange, 2019a).

Vid bedömning av gråvatten processen finns inga gränsvärden, utan förhållandet mellan värdena från de olika proverna av gråvatten processerna granskas för att bedöma processernas funktion (Hall et al., 2024). I det här projektet indikerade resultaten på att funktionen av det anaerobiska steget ej fungerade väl, vilket behöver åtgärdas av processansvarig. Processen kan vid detta fall åtgärdas genom 2 metoder. Det första är att förlänga uppehållstiden för processen i den anaeroba steget. Uppehållstiden förlängs genom att minska flödet och skicka ut gråvatten till ett utjämningsmagasin, så de hydrolyserande bakterierna får längre tid på sig att producera

VFA. Det andra alternativet går ut på att öka mängden returslam till det anaeroba steget (Björnsdotter & Bennet, 2016).

Värdet på COD indikerar hur mycket oxiderbart material som återfinns i proverna, vilket i stort sett är organiskt material. Eftersom hydrolyserande bakterier omvandlar organiskt material till VFA, kan förhållandet mellan måttet av organiskt material och VFA-halten beräknas (Björnsdotter & Bennet, 2016). VFA kan därför uppskattas genom att använda det tidigare beräknade förhållandet mellan VFA-halten och COD.

Nollhypotesen H_0 från t-testen av både den inkommande och det anaerobiska vattnet förkastades, detta indikerar på att medelvärdesskillnaden inte beror på slumpen eftersom där är en statistisk signifikant skillnad mellan metoderna. Resultaten är således väldigt skilda från varandra, vilket innebär att medelvärdet är betydligt högre än normen för medelvärdet.

Bland-Altman analyserna för både metoderna visade tillräckligt höga resultat för att visa att de både metoderna inte stämde överens. Bland-Altman ploten från båda proverna visar en hög spridning i skillnad mellan VFA-halterna från båda metoderna. Spridningen i skillnad mellan VFA-halter från båda metoderna sträcker sig från 30 – 50 enheter.

Enligt kvalitetscertifikat utfärdat av Hach Lange (2013) har kyvett metoden gentemot standardmetoden ISO 8466-1 (Svenska Institutet för Standarder, 2024), en variationskoefficient på 1,32 % och en standardavvikelse på 18,2 mg/ l. Variationskoefficienten enligt Hach Langes kvalitetscertifikat är cirka 6-8 gånger lägre än de värden som erhöles i denna studie. Även vid jämförelse med värden på standardavvikelsen visar projektets analys med kyvett-testen på lägre värden, men den tekniska data för kyvett metoden var däremot hämtad från prover med en koncentration på 1500 mg/ml, jämfört med projektets prover som varierar mellan 47,3 – 170 mg/l.

En tidigare undersökning visar på att resultat från titreringsmetoden och kromatografi stämmer bra överens med varandra. Här analyserades lägre koncentrationer av VFA (10-50 mg/l) med en 9-punkts titrering och kromatografi (Ai et al., 2011). Titreringsmetoden påverkas däremot av flera faktorer som bör observeras, för att säkerhetsställa ett bra resultat. Vid de beräkningar som görs enligt Moosbrugger et al. (1993a) dataprogram, finns ett systematiskt pH-fel inbyggt för att kompensera för skillnader i salthalter mellan buffert- och provlösning. Enligt en

undersökning av Lahav & Loewenthal (2000) behöver dock inte det systematiska pH-felet kompenseras för, eftersom störningarna som uppstår härstammar från de matematiska beräkningarna. Däremot är en korrekt kalibrering av pH-mätaren viktig (Moosbrugger et al, 1993a).

Resultaten från Eurofins bättre överens med resultaten från 5-punktstitreringen än med kyvettmetoden (figur 6). Trots att Eurofins använder en mer exakt och direkt metod jämfört med de indirekta metoderna spektrofotometri och 5-punktstitrering, kan deras resultat inte anses vara de sanna värdena. Detta beror på att flyktiga fettsyror kan påverkas över tid, vilket kan leda till variationer (Wagner et al., 2016).

Priset för spektrofotometern DR600 från Hach Lange som användes för att utföra analyserna med kyvetttester var 165 000 SEK (Hach Lange, 2025a). Ett kyvett-kit (LCK365) från Hach Lange med 25 tester kostar 1760 SEK, dvs cirka 70 SEK/prov (Hach Lange, 2025c). Priset för titreringsmaskinen Titralab serie AT1000 med modell nummer AT1222.98 var 50 000 SEK (Hach Lange, 2025b). Saltsyran kostar cirka 120 SEK/l (VWR, 2025), volymen som går åt varje prov är cirka 5 ml, vilket ger en kostnad mindre än 1 SEK/prov. Priserna för VFA-analyser från GC-FID kostade 982 kronor per prov, för 40 prover blev det 39 280 kronor. Eurofins har en svarstid på 10 dagar (Eurofins, 2025). Analystiden för kyvettmetoden är cirka 30 minuter och för titreringsmetoden är den mellan 5-15 minuter. Titreringsmetoden är således billigare samt en metod som går snabbare att utföra.

5. AI-användning

AI har inte använts.

6. Tackord

Jag vill uttrycka mitt djupa tack till alla som bidragit till genomförandet av denna studie. Ett särskilt tack riktas till Hamse Kjerstadius (Utvecklingsingenjör, Nordvästra Skåne vatten och avlopp, Doktor i kemiteknik), vars vägledning och kunskap varit till stor hjälp under arbetets gång. Jag vill även tacka Björn Paulsson (Driftchef, Nordvästra Skåne vatten och avlopp, Maskiningenjör) för tillståndet att utföra detta arbete.

Slutligen vill jag uttrycka mitt stora tack till min skrivhandledare Britt-Marie Svensson (Lektor, Högskolan Kristianstad, Doktor i miljövetenskap) för all den tid och vägledning som hon lagt ner för att noggrant granska mitt arbete.

7. Referenslista

7.1 Vetenskapliga referenser

Ai, H., Zhang, D., Lu, P., & He, Q. (2011) A nine-point pH titration method to determine low-concentration VFA in municipal wastewater. *Water Science & Technology*, 63(4), 583-589. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.203>

Chen, J., Liu, S., Qi, X., Yan, S., & Guo, Q. (2018). Study and design on chemical oxygen demand measurement based on ultraviolet absorption. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 254, 778-784. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.04.070>

Giavarina, D. (2015). Understanding Bland Altman analysis. *Biochemia Medica*, 25(2), 141-51. <https://doi.org/10.11613/BM.2015.015>

Hall, A., Widén, A., Edefell, E., Davidsson, Å., & Kjerstadius, H. (2024). Treatment of greywater with nanofiltration for nutrient removal – 2 year experience from Helsingborg. *Water Practice Technology*, 19(3), 900-910. <https://doi.org/10.2166/wpt.2024.050>

Jiang, J., Zhang, Y., Li, K., Wang, Q., Gong, C., & Li, M. (2013). Volatile fatty acids production from food waste: effects of pH, temperature, and organic loading rate. *Bioresource Technology*, 143, 525-530. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.025>

Lahav, O., & Loewenthal, R. E. (2000). Measurement of VFA in anaerobic digestion: The five-point titration revisited. *Water SA*, 26(3). https://www.researchgate.net/publication/267934481_Measurement_of_VFA_in_anaerobic_digestion_The_five-point_titration_method_revisited

Lahav, O., & Morgan, B. E. (2004). Titration methodologies for monitoring of anaerobic digestion in developing countries-a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 79(12), 1331-1341. <https://doi.org/10.1002/jctb.1143>

Menditto, A., Patriarca, M., & Magnusson, B. (2007). Understanding the meaning of accuracy, trueness and precision. *Accreditation and Quality Assurance*, 12, 45-47. <https://doi.org/10.1007/s00769-006-0191-z>

Moosbrugger, R. E., Wentzel, M. C., Loewenthal, R. E., Ekama, G. A., & Marais, G. R. (1993b). Alkalinity measurement: Part 3 – A 5 pH point titration method to determine the carbonate and SCFA weak acid/base in aqueous solution containing also known concentrations of other weak acid/bases. *Water SA*, 19(1), 29-40. https://www.wrc.org.za/wp-content/uploads/mdocs/WaterSA_1993_19_0723.PDF

Sam, T., Le Roes-Hill, M., Hoosain, N., & Welz, P. J. (2022). Strategies for Controlling Filamentous Bulking in Activated Sludge Wastewater Treatment Plants: The Old and the New. *Water*, 14(20), 3223. <https://doi.org/10.3390/w14203223>

Sharma, A. K., Tjandraatmadja, G., Cook, S., & Gardner, T. (2013). Decentralised systems- Definition and drivers in the current context. *Water Science and Technology*, 67(9), 2091-2101. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.093>

Vannecke, T. P. W., Lampens, D. R. A., Ekama, G. A., & Volcke, E. I. P. (2015). Evaluation of the 5 and 8 pH point titration methods for monitoring anaerobic digesters treating solid waste. *Environmental Technology*, 36(7), 861-869. <https://dx.doi.org/10.1080/09593330.2014.964334>

Velghe, F., De Wilde, F., Snellinx, S., Farahbakhsh, S., Belderbos, E., Peral, C., Wiedemann, A., Hiessl, A., Michels, J., Pierrard, M-A., & Dietrich, T. (2021). Volatile fatty acid platform – a cornerstone for the circular bioeconomy. *FEMS Microbiology Letters*, 368(9), fnab056. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnab056>

Wagner, A. O., Markt R., Puempel, T., Illmer P., Insam, H., & Ebner. C. (2016). Sample preparation, preservation, and storage for volatile fatty acid quantification in biogas plants. *Engineering in Life Sciences*, 17(2), 132-139. <https://doi.org/10.1002/elsc.201600095>

Wainaina, S., L. Awasthi, M. K., & Taherzadeh, M. J. (2019). Bioengineering of anaerobic digestion for volatile fatty acids, hydrogen or methane production: A critical review. *Bioengineered*, 10(1), 437-458. <https://doi.org/10.1080/21655979.2019.1673937>

Zan, F., Zeng, Q., Chi, K., Hao, T., & Ekama, G. A. (2020). A novel approach for rapidly measuring volatile fatty acids in anaerobics process. *Water research*, 182, 115960. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115960>

Zuo, X., Yuan, H., Wachemo, A., Wang, X., Zhang, L., Li, J., Wen, H., Wang, J., & Li, X. (2020). The relationships among sCOD, VFAs, microbial community, and biogas production during anaerobic digestion of rice straw pretreated with ammonia. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 28(1), 286-292. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2019.07.015>

Youquan, Z., Yuchun, L., Yang, Z., & Yanjun, F. (2011). A Novel Monitoring System for COD Using Optical Ultraviolet Absorption Method. *Procedia Environmental Sciences*, 10(C), 2348-2353. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2011.09.366>

Yuan, Q., Sparling, R., & Oleszkiewicz, J. A. (2011). VFA generation from waste activated sludge: effect of temperature and mixing. *Chemosphere*, 82(4), 603-607. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.10.084>

7.2 Övriga referenser

Addy, K., Green, L., & Herron, E. (2004). *pH and Alkalinity* (Rapport URIWW-3). University of Rhode Island. <https://web.uri.edu/wp-content/uploads/sites/1667/pHalkalinityFINAL.pdf>

Aylard, G., & Findlay, T. (2008). *SI Chemical Data* (6 uppl.). John Wiley & Sons Australia, Ltd.

Balmér, P. (2015). *Parametrar för organiskt material i avloppsvatten och slam och något om deras användning* (Rapport Nr 2015-11). Svenskt Vatten Utveckling. https://vav.griffel.net/filer/svu-rapport_2015-11.pdf

Björnsdotter, L., & Bennet, M. (2016). *Introduktion till Avloppsteknik* (2 utgåva). Svenskt vatten AB.

Eurofins. (4 januari 2025). *Analyskatalog*. <https://analyskatalog.eurofins.se/Search/SearchView/?mg=13m0Z86l3ZZk0Z81jC0Zi0Z6h30ZgZ81fCZeZ6d3Zc091bD8aA6&sg=13m0Z86l3ZZk0Z81jC0Zi0Z6h30ZgZ81fCZeZ6d3Zc091bD8aA6>

Hach Lange. (2009). *Determination of the Organic Acids in fermente samples* [Broschyr]. <https://se.hach.com/organiska-syror-kyvetttest-50-2-500-mg-l-25-tester/product-downloads?id=26370292936&callback=qs>

Hach Lange. (2013). *Quality certificate Technical data for Validation of LCK365 (50-2500 mg/l Organic acid)* [Broschyr]. <https://se.hach.com/organiska-syror-kyvettest-50-2-500-mg-l-25-tester/product-downloads?id=26370292936&callback=qs>
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.04.070>

Hach Lange. (2019a). *Anaerob rötning och gasproduktion: Mäta flyktiga fettsyror och alkanitet för optimal drift* [Broschyr]. <https://se.hach.com/ez-series-analysers/ez-series-volatile-fatty-acids-analysers/family-downloads?productCategoryId=55069466040>

Hach Lange. (2019b). *Analysbeskrivningar: LCK114 Kemisk syreförbrukning (COD)* [Broschyr]. <https://se.hach.com/cod-kyvettest-150-1-000-mg-l-o-25-tester/product-downloads?id=26370270207&callback=qs>

Hach Lange. (2020). *Analysbeskrivningar: LCK 365 Organiska (syror fettsyror) / Butansyra* [Broschyr]. <https://se.hach.com/organiska-syror-kyvettest-50-2-500-mg-l-25-tester/product-downloads?id=26370292936&callback=qs>

Hach Lange. (4 januari 2025a). *DR6000 spektrofotometer*. <https://se.hach.com/spektrofotometrar/dr6000-spektrofotometer/family?productCategoryId=24970700855>

Hach Lange. (4 januari 2025b). *Titralab AT1000/KF1000-serien automatiska titreringsapparater*. <https://se.hach.com/titrering/titralab-at1000-kf1000-serien-automatiska-titreringsapparater/family?productCategoryId=29859019205>

Hach Lange. (24 januari 2025c). *Organiska syror, kyvettest, 50-2 500 mg/l, 25 tester*. <https://se.hach.com/organiska-syror-kyvettest-50-2-500-mg-l-25-tester/product?id=26370292936>

Harris, D. C., & Lucy, C. A. (2016). *Quantitative Chemical Analysis* (9:th edition). W. H Freeman and Company.

Moosbrugger, R. E., Wentzel, M. C., Loewenthal, R. E., Ekama, G. A., & Marais, G. R. (1992). *Simple titration procedures to determine H_2CO_3 *alkalinity and short-chain fatty acids in aqueous solutions containing known concentrations of ammonium, phosphate and sulphide*

weak acid/bases (Rapport nr TT 57/92). University of Cape Town, Department of Civil Engineering. <https://www.wrc.org.za/wp-content/uploads/mdocs/TT-57-92.pdf>

Moosbrugger, R. E., Sam-Soon, P. A. L. N. S., Wentzel, M. C., Ekama, G. A., Loewenthal, R. E., & Marais, G. R. (1993a). *Pelletization in Upflow Anaerobic Sludge Bed (UASB) Systems* (Rapport 249/1/93). University of Cape Town, Department of Civil Engineering. <https://www.wrc.org.za/wp-content/uploads/mdocs/249-1-93.pdf>

Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council concerning Urban Wastewater Treatment (recast) Annex I (2022:541). European Commission. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A52022PC0541>

Recolab. (2 november 2021). *Utvecklingsanläggning*. <https://www.recolab.se/utvecklingsanlaggning/>

Svenska Institutet för Standarder. (23 januari 2025). *Water quality – Calibration and evaluation of analytical methods – Part 1: Linear calibration function*. <https://www.sis.se/produkter/miljo-och-halsoskydd-sakerhet/vattenkvalitet/allmant/iso-8466-12021/>

VWR. (24 januari 2025). *Saltsyra 0.1 mol/l i koncentrerad vattenhaltig lösning, Titrisol, Superco*. <https://se.vwr.com/store/product/711007/null>

8. Bilaga

8.1 Rådata från analyserna

Tabell 1. Rådata med värden från VFA-analyser och COD-analyser av inkommande gråvatten.

Datum	Prov	VFA Eurofins (mg/l)	COD (mg/l)	VFA Kyvettmetoden (mg/l)	VFA Titreringsmetoden (mg/l)
2024-11-26	1	85	379	149	108
	2	101	384	147	107
	3	94	388	152	109
	4	98	395	151	107
	5	91	396	164	109
2024-11-28	1	0	279	94,7	47,6
	2	80	395	157	116
	3	78	397	135	115
	4	77	401	161	114
	5	85	395	159	113
2024-12-03	1	105	402	168	119
	2	70	402	168	120
	3	74	399	156	118
	4	106	396	170	121
	5	82	401	168	122
2024-12-05	1	104	408	165	121
	2	103	412	170	123
	3	104	412	169	122
	4	78	402	163	120
	5	92	401	157	119

Tabell 2. Rådata från VFA-analyser och COD-analyser av anaerobiskt grävatten.

Datum	Prov	VFA Eurofins (mg/l)	COD (mg/l)	VFA Kyvettmetoden (mg/l)	VFA Titreringsmetoden (mg/l)
2024-11-26	1	44	231	80,1	48,4
	2	46	233	79	46,0
	3	47	236	77,7	46,9
	4	46	244	81,1	46,9
	5	45	241	84,7	48,8
2024-11-28	1	45	245	89,8	49,2
	2	47	242	85,2	49,5
	3	29	249	79,6	48,8
	4	39	252	89	49,8
	5	34	250	86,7	49,7
2024-12-04	1	33	233	87,8	50,2
	2	45	241	84,8	52,2
	3	44	230	84	48,5
	4	42	239	88,7	51,8
	5	40	250	92,8	54,4
2024-12-05	1	48	247	111	71,9
	2	41	230	90,8	53,9
	3	42	246	100	57,4
	4	41	225	89,6	51,0
	5	17	215	85,4	47,3

8.2 Rådata från 5-punkts titreringen

Tabell 4. Rådata från 5-punkts titreringen av inkommande grävatten.

Datum		PROV 1	PROV 2	PROV 3	PROV 4	PROV 5
2024-11-26	initialt pH	6,9	6,85	6,82	6,92	6,79
	Vx1 (ml)	0,076	0,058	0,046	0,084	0,038
	Vx2 (ml)	0,709	0,678	0,676	0,691	0,663
	Vx3 (ml)	1,157	1,13	1,132	1,129	1,123
	Vx4 (ml)	1,695	1,664	1,675	1,657	1,664
	Temperatur (°C)	20,1	20	19,5	19,9	20
	Konduktivitet (ms/m)	56,5	56,9	57,2	55,9	56,8
	VFA (mg/l)	108,4808	107,2369	109,4725	106,6474	108,6148
2024-11-28	initialt pH	7,28	7,01	6,75	6,76	6,91
	Vx1 (ml)	0,218	0,107	0,017	0,023	0,066
	Vx2 (ml)	0,839	0,675	0,606	0,669	0,656
	Vx3 (ml)	1,187	1,12	1,087	1,148	1,109
	Vx4 (ml)	1,477	1,68	1,648	1,712	1,663
	Temperatur (°C)	10,3	20	20,3	20,4	20,2
	Konduktivitet (ms/m)	55,6	58,1	56,7	56,7	57,4
	VFA (mg/l)	47,60346	116,1067	114,8683	113,5067	113,3785
2024-12-03	initialt pH	6,72	6,7	6,72	6,72	6,83
	Vx1 (ml)	0,008	0	0,007	0,01	0,043
	Vx2 (ml)	0,677	0,64	0,663	0,628	0,666
	Vx3 (ml)	1,176	1,151	1,163	1,115	1,139
	Vx4 (ml)	1,763	1,739	1,748	1,702	1,732
	Temperatur (°C)	19,1	19,4	19,5	19,4	20
	Konduktivitet (ms/m)	61,2	62,5	60,9	60,2	61,9
	VFA (mg/l)	118,6982	119,7082	118,2633	120,6763	122,4415
2024-12-05	initialt pH	6,87	6,73	6,7	6,7	6,71
	Vx1 (ml)	0,05	0,012	0	0	0,004
	Vx2 (ml)	0,61	0,554	0,565	0,564	0,572
	Vx3 (ml)	1,067	1,022	1,063	1,052	1,049
	Vx4 (ml)	1,644	1,602	1,643	1,624	1,62
	Temperatur (°C)	19,4	19,3	19,3	19,4	19,4
	Konduktivitet (ms/m)	57,6	57,9	57,1	56,2	56,2
	VFA (mg/l)	121,2345	123,1015	121,8086	119,6598	119,1652

Tabell 5. Rådata från 5-punkts titreringen av anaerobiskt gråvatten.

Datum		PROV 1	PROV 2	PROV 3	PROV 4	PROV 5
2024-11-26	initialt pH	7,09	7,13	7,24	7,06	7,17
	Vx1 (ml)	0,264	0,292	0,323	0,259	0,296
	Vx2 (ml)	0,963	0,999	0,99	0,955	0,966
	Vx3 (ml)	1,323	1,358	1,339	1,318	1,315
	Vx4 (ml)	1,621	1,647	1,629	1,612	1,611
	Temperatur (°C)	19,8	20,4	20	20,2	20,4
	Konduktivitet (ms/m)	55,9	54,2	54,7	55,1	55,6
	VFA (mg/l)	48,43105	45,99393	46,92399	46,90375	48,75333
2024-11-28	initialt pH	7,07	7,12	7,07	7,12	7,06
	Vx1 (ml)	0,254	0,277	0,243	0,264	0,245
	Vx2 (ml)	0,938	0,94	0,912	0,929	0,945
	Vx3 (ml)	1,3	1,303	1,283	1,29	1,326
	Vx4 (ml)	1,602	1,607	1,587	1,594	1,636
	Temperatur (°C)	20,6	20,6	20,5	20,7	20,6
	Konduktivitet (ms/m)	55	54,4	55,8	55,3	55
	VFA (mg/l)	49,22578	49,51437	48,81757	49,80632	49,69307
2024-12-03	initialt pH	7,04	7,08	7,02	7	7,03
	Vx1 (ml)	0,241	0,266	0,226	0,221	0,249
	Vx2 (ml)	0,981	0,986	0,971	0,967	0,992
	Vx3 (ml)	1,368	1,368	1,363	1,361	1,376
	Vx4 (ml)	1,68	1,686	1,671	1,681	1,701
	Temperatur (°C)	19,7	19,9	20	19,5	20,5
	Konduktivitet (ms/m)	57,9	57,1	56,5	58,2	58,6
	VFA (mg/l)	50,15149	52,24671	48,46273	51,78261	54,44295
2024-12-05	initialt pH	7,14	6,92	7,02	7,05	6,97
	Vx1 (ml)	0,312	0,162	0,192	0,218	0,197
	Vx2 (ml)	1,123	0,891	0,873	0,905	0,925
	Vx3 (ml)	1,584	1,297	1,268	1,292	1,306
	Vx4 (ml)	1,995	1,63	1,61	1,609	1,607
	Temperatur (°C)	19,8	19,3	19,3	19,5	19,6
	Konduktivitet (ms/m)	62,6	55,7	55,5	56,6	56,1
	VFA (mg/l)	71,88634	53,93868	57,3669	50,96219	47,3255