



Osaamista
ja oivallusta
tulevaisuuden
tekemiseen

Mirjami Niskanen

Teollisten sivuvirtojen soveltuvuuden kartoitus nestemäiseksi lannoitteeksi

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalyttikko

Laboratorioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

20.5.2021

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Mirjami Niskanen Teollisten sivuvirtojen soveltuvuuden kartoitus nestemäiseksi lannoitteeksi 28 sivua + 1 liite 20.5.2021
Tutkinto	laboratorioanalyttikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	laboratorioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Ohjaajat	toimitusjohtaja, Henri Laine lehtori, Miika Kuivikko
<p>Opinnäytetyö tehtiin yhteistyössä Redono Oy:n kanssa. Opinnäytetyön tavoitteena oli koota ja arvioida nopeita ja tarpeeksi tarkkoja menetelmiä erilaisten teollisten sivuvirtojen ravinteiden analysoimiseksi. Tämän lisäksi hankittiin tietoa humalakasvin tarvitsemista ravinteista ja säädöksiä ravinteiden ilmoittamisesta.</p> <p>Analysoitaviksi näytteiksi saatiin kaksi eri teollisuuden alan sivuvirtaa: panimolta pohjalietettä ja biokaasulaitokselta rejektivettä. Käytännön osuus piti sisällään sivuvirtojen esikäsittelymenetelmien testauksen. Esikäsittelyt tehtiin samalla tavalla molemmille näytteille. Näytteiden analysointiin kuului ravintoaineiden ja fysikaalisten ominaisuuksien analysointi.</p> <p>Näytteistä saatiin pääosin lupaavia tuloksia ja moni näytteiden arvoista oli samankaltaisia jo aiemmin toteutettujen tulosten kanssa. Toistojen määrän takia tuloksia ei voida pitää täysin luotettavina ja näin ollen ne ovat suuntaa antavia. Mitattavien parametrien runsaan lukumäärän takia tuloksilta ei haettu täydellistä luotettavuutta, vaan analyysimenetelmien onnistumista tulosten saannissa. Tässä onnistuttiin ja näytteiden esikäsittelyt ja mittaukset saatiin suoritettua.</p> <p>Opinnäytetyöstä pystytään jatkamaan eteenpäin, tarkentaen yksittäisten haluttujen parametrien luotettavuutta tietyllä mittausmenetelmällä. Työssä myös saatiin lisää vahvistusta sille, että teollisia sivuvirtoja voitaisiin käyttää humalan kasvatuksessa hydroviljelyssä ravinteena tai muiden kasvien lannoitteena, esikäsittelyn jälkeen.</p>	
Avainsanat	lannoite, sivuvirta, teollisuus, kiertotalous, analysointi

Author Title Number of Pages Date	Mirjami Niskanen Mapping the Suitability of Industrial Side Streams as a Liquid Fertilizer 28 pages + 1 appendices 20 May 2021
Degree	Bachelor of Laboratory Services
Degree Programme	Laboratory Sciences
Instructors	Henri Laine, CEO of Redono Miika Kuivikko, Senior Lecturer
<p>This thesis work was carried out for Redono Oy. Thesis work's objectives were to assemble and evaluate fast and accurate enough analysis methods for side streams from different industrial fields to analyze nutrients suitable for liquid fertilizer use. In addition, information was obtained on the nutrients needed by the hop plant and regulations on nutrient declaration.</p> <p>Two different side streams were analyzed: brewery bottom sludge and biogas plant's reject water. Practical part included testing pretreatment methods for samples. Finalized pretreatments were done identically for both samples. Analysis included analyzing nutrients and physical parameters from samples.</p> <p>Samples had mostly promising results and many of the results were similar with the results obtained before. Because of the lack of repeats, results are merely indicative. As there were numerally so many parameters to analyze, reliability of the results was not the main goal. Goal was to gather methods to perform analyses and to get results. This goal was achieved and sample pretreatment and measurements were performed.</p> <p>This thesis work can be continued by, for example, specifying method, increasing its reliability and validating it for given parameter. Thesis work also gave more reassurance that industrial side streams could be used as fertilizer for hops nutrient in hydroponic plant growing system, after pretreating the side stream.</p>	
Keywords	fertilizer, side stream, industry, circular economy, analyzing

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Näytteiden ja lannoitteiden teoria	2
2.1	Panimon sivuvirrat	2
2.2	Biokaasulaitoksen rejektivesi	3
2.3	Nestemäisten lannoitteiden ominaisuuksia	3
2.4	Kasvien ravinteita ja nitrifikaatio	5
3	Analyysimenetelmät	6
3.1	Näytteiden esikäsittely	8
3.2	Mikroplasma-atomiemissiospektrometri	9
3.3	Ionikromatografiset analyysit	10
3.4	Spektrofotometriset kyvetit-testikit	11
3.5	pH, sähkönjohtokyky, liuennut happi ja sameus	11
3.6	Nitriittitypen määrittely	11
3.7	XRF-tekniikka	12
3.8	Mikrobiologiset menetelmät	12
4	Laitteistot ja materiaalit	13
4.1	Laitteistot, materiaalit ja kemikaalit	14
4.2	Hach Lange –kitit	15
5	Näytteiden analysointi	16
6	Tulosten käsittely	22
7	Yhteenveto	26
	Lähteet	28
	Liitteet	
	Liite 1. MP-AES mittaustulokset	

Lyhenteet

AAS	Atomiabsorptiospektrofotometri
CHCA	α -syano-4-hydroksi-kanelihappo
FA	Muurahaishappo
FAAS	Liekkiatomiabsorptiospektrofotometri
IC	Ionikromatografia
ICP-OES	Induktiivisesti kytketty plasmaoptinen emissiospektrometri
MALDI-TOF	Matriisi-avusteinen laseri desorptio/ionisaatio – lennon aika
MP-AES	Mikroaaltoplasma-atomi emissiospektroskopia
pmy	Pesäkkeitä muodostava yksikkö
THG	Tryptoni-hiivauute-glukoosi-agar
XRF	Röntgenfluoresenssi-tekniikka

1 Johdanto

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on kartoittaa panimon ja biokaasulaitoksen sivuvirtojen soveltuvuutta nestemäiseksi lannoitteeksi. Opinnäytetyössä myös selvitettiin, mitä analyyseja sivuvirroille pystytään Metropolia Ammattikorkeakoulun Leiritien toimipisteessä tekemään ja miten sivuvirtoja pitäisi esikäsitellä ennen analyysien suoritusta. Samalla lyhyesti selvitettiin minkälainen nestemäisten lannoitteiden ainekoostumus voi olla ja minkälaisia raja-arvoja mm. mikrobeille, tai alkuaineille kuten elohopea, lannoitteille on määritetty turvallisuuteen liittyen.

Opinnäytetyön aihe on globaalisti tärkeä ja ajankohtainen, koska eri teollisuuden alat tuottavat paljon monenlaisia sivuvirtoja prosessien yhteydessä [Berg 2016, s.3–5]. Sivuvirtoja täytyy aina käsitellä, ennen kuin ne voidaan johtaa takaisin vesiverkoston kiertoon [Maa ja metsätalousministeriö 2014]. Käsitelymenetelmät ovat vältettäviä prosesseja, jos pystytään keksimään erilaisia keinoja sivuvirtojen hyödyntämiseksi. Ympäristöministeriö on myös asettanut rajoituksen orgaanisen- ja biohajoavan jätteen sijoittamisesta kaatopaikalle vuoden 2016 tammikuusta alkaen [Ympäristöministeriö 2013]. Tämä edesauttaa elintarviketeollisuuden yritysten sijoittamista sivuvirtojen hyödyntämiseen ja yhteistyön kehittämistä aiheen ympärille.

Elintarvikeliiton teettämän kyselyn mukaan, yritysten sivuvirtojen uudelleenkäytön sijoittamista ohjaavat kustannukset ja vastaanottavan käsittelylaitoksen läheisyys [Berg 2016, s.18]. Redono Oy:n kehittämän BioSyöte-järjestelmän tarkoituksena olisi sijoittua yrityksen suoraan läheisyyteen. Näin muiden Redonon tuottamien vesiviljelytekniikoiden kanssa, yritys voisi itse käsitellä osan sivuvirroista ja hyödyntää sitä omassa tuotannossaan. Tätä toimintamallia voitaisiin toteuttaa esimerkiksi panimossa, joka pystyisi omasta sivuvirrastaan saamaan lannoitetta humalan kasvatukseen. Humalatasoa saa Suomessa vain rajoitetun ajan vuodesta ja loput tarvitusta humalasta tuodaan pelletteinä ulkomailta.

2 Näytteiden ja lannoitteiden teoria

Teoriaselvitykseen pyrittiin kokoamaan opinnäytetyön kannalta oleellisia tekijöitä, kuten humalan tarvitsemaa ravinnepitoisuutta, lannoitteiden säädöksiä, menetelmien teoriaa ja tutkia jo valmiita metodeja samankaltaisille näytteille. Lannoitteiden vaatimuksille on lakisääteisiä raja-arvoja, jotka pitää ottaa huomioon lannoitetta valmistaessa. Valittujen analyysimetodien perustelut pohjautuvat sivuvirtojen eri ominaisuuksiin, huomioiden myös ajankäytön ja näytteiden määrän. Tuloksista haluttiin luotettavia suuntia antavalla tasolla, minkä takia analyysien ja esikäsittelyjen onnistumista arvioitiin suurpiirteisesti ja sillä, että tulos olisi oletusarvoa lähellä tai samankaltainen mitä aiemmissa mittauksissa. Sivuvirtojen eri ominaisuuksien ymmärtäminen edesauttoi analyysien ja esikäsittelyn valinnassa, sekä näkemään kokonaisvaltaisemmin sivuvirtojen potentiaalisen hyötykäytön.

Orgaaniset sivuvirrat ovat iso osa elintarviketeollisuuden prosesseja. Sivuvirtoja syntyy niin alkutuotannossa, kuin myös kulutustuotteiden valmistuksen myöhemmissä prosessivaiheissa. Nämä sivuvirrat luokitellaan 02 jätteiksi [oikeusministeriö 2012], mutta jätevedet, jotka eivät poikkea laadullisesti tai määrällisesti asutusten talousvesistä, eivät ole teollisuusjätevettä [Maa- ja metsätalousministeriö 2014]. Elintarviketeollisuuden sivuvirtojen hyödyntäminen kohentaisi kiertotalouden periaatteita sekä lisäisi veden käyttökapasiteettia. Useahko teollinen sivuvirta on hyvä pohja lannoitteeksi kasveille ja mikrolevälle, sivuvirtojen sisältämien orgaanisten aineiden ravinnepitoisuuksien vuoksi [Berg 2016, s.10–13.]

2.1 Panimon sivuvirrat

Panimoiden yksi sivuvirroista on mäski ja kaikista elintarviketeollisuuden sivuvirroista se kattaa lähemmäs 10 %. Panimoissa muita sivuvirtoja syntyy myös hedelmien ja vihannesten kuorista ja jätehiivasta. [Berg 2016]. Tässä työssä kuitenkin painotus oli oluen panemisprosessissa syntyvän rejektiveden analysoinnissa, sillä sen oletettiin sisältävän paljon orgaanista ja ravinnepitoista ainesta, joka soveltuisi humalan hydroviljelyyn. Tätä pystyisi mahdollisesti hyödyntämään lannoitteena Redono Oy aiemman selvityksen perusteella. [REDONO-Hanke Loppuraportti, s.7.]

Oluen panemisprosessissa syntyvää mäski hyödynnetään usein eläinten rehuna. Bioetanoliala valmistavat polttoainejakelijat ottavat vastaan ylijäämähiivaa ja hukkanesteet. Hukkanesteitä voi syntyä pullojen puhdistuksesta ja vaihdettaessa valmistettavaa juomaerää linjastoon. [Hartwallin juomatuotannon sivutuotteet hyötykäyttöön.]

2.2 Biokaasulaitoksen rejektivesi

Biokaasulaitos käyttää monelta eri maatalouden ja teollisuuden alalla syntyviä sivutuotteita tai jätevesien kaltaisia sivuvirtoja, lietteitä. Lietteitä mädättämällä pystytään tuottamaan energiaa moneen eri tarpeeseen, kuten polttoaineeksi tai yhdistettyyn sähkön- ja lämmöntuotantoon. [Latvala 2009, s.44; Biokaasusta kasvua 2016.]

Mädätysprosessissa ja sen sivuvirtana syntyvät rejektivedet ovat usein edelleen ravinnepitoisia. Biokaasulaitoksenkin rejektivesien käytölle on monia vaihtoehtoja, riippuen mitä lietteitä biokaasulaitos käyttää. Jätevesiä ei voida käyttää lannoitteena sellaisenaan, mutta eläin- tai kasvipärisiä lietteitä käyttävän prosessin rejektivesiä voisi. Biokaasulaitoksen rejektivesiä voidaan siis kierrättää uudelleen maatalouteen lannoitteeksi mahdollisesti sellaisenaan, siirtää uudelleen mädätysprosessiin tai puhdistusprosessien kautta siirtää jätevesilaitoksille. [Latvala 2009, s.49–51;55.]

Prosessissa syntyvän rejektiveden koostumus vaihtelee riippuen siitä, mitä menetelmää mädätyksessä ja sen jälkeisissä kuivaus- ja jälkiprosesseissa on käytetty. Koostumuksen määrittelee myös käytetty orgaaninen materiaali. Rejktiveden mahdollisimman tasan laadun kannalta olisi järkevää käyttää samankaltaista syötettä (esim. vain kasvipäristä materiaalia) biokaasun mädätysprosessissa. [Latvala 2009, s.55.]

2.3 Nestemäisten lannoitteiden ominaisuuksia

Laissa on määritetty lannoitteelle tarkat rajat haitallisten aineiden enimmäispitoisuuksille ja hygieniavaatimuksille, jotka on koottu taulukkoon 1. Laki sisältää myös EU:n asettamia asetuksia. Laatuvaatimusten perusteella lannoitteiden kuuluu olla tasalaatuisia ja suositeltuun käyttötarkoitukseen. [Haitalliset aineet]. Lannoitteiden ja lannoitteiksi luoki-

teltujen tuotteiden turvallisuutta ja laatua valvotaan tiukasti lainsäädännöllä ja sen vaatimilla säännöllisillä testauksilla, esimerkiksi mikrobipuhtauden ja laatuvaatimusten osalta. Maa- ja metsätalousministeriön asetuksessa 24/11 on listattu mitkä ovat tuotteen pakkauksessa pakolliset merkinnät.

Taulukko 1. Haitallisten aineiden tai mikrobien enimmäispitoisuudet [Haitalliset aineet]

Alkuaine/mikrobi	Enimmäispitoisuus mg/kg ka.
Arseeni (As)	25
Elohopea (Hg)	1
Kadmium (Cd)	1,5
Kromi (Cr)	300
Kupari (Cu)	600
Lyijy (Pb)	100
Nikkeli (Ni)	100
Sinkki (Zn)	1500
Salmonella	0
<i>Escherichia coli</i>	1000 pmy/g tai < 100 pmy/g ammattimaiseen kasvihuoneviljelyyn tarkoitetuissa kasvualustoissa, joissa syötävät kasvinosat ovat kosketuksissa kasvualustaan
Juuripolte	Ei todettavissa taimituotannossa käytettävissä kasvualustoissa
Kasvintuhoajat	Ei saa esiintyä

Taulukossa 1 mainituilla kasvintuhoajilla tarkoitetaan mikro-organismeja, kuten sieniä, viruksia tai fytoplasmoja, jotka voisivat olla haitallisia viljely- tai luonnonvaraisille kasveille kasvinterveyden kannalta välillisesti tai välittömästi. Enimmäismäärät ilmoitetaan milligrammoina tai pesäkkeitä muodostavana yksikkönä, pmy, kilogrammaa kohden. [Haitalliset aineet.]

Ravinteiden määrä täytyy ilmoittaa vähimmäispitoisuuden painoprosentteina pakkausmerkinnässä, kun niiden pitoisuus nousee määritettyjen raja-arvojen yli lannoitevalmis- teessa [Orgaanisen lannoitteen tuoteseloste]. Pitoisuuksien raja-arvot on esitetty taulukossa 2.

Taulukko 2. Lannoitteiden ja lannoitevalmisteiden painoprosentin raja-arvot sivuravinteille ja hivenravinteille, kun ne pitää ilmoittaa pakkauksessa.

Ilmoitettavat vähimmäispitoisuudet painoprosenteina	Painoprosentin raja (%)
Sivuravinteet	
Kalsium (Ca)	1,4
Magnesium	0,5
Rikki (S)	2,2
Natrium (Na)	1
Hivenravinteet	
Boori (B)	0,01
Koboltti (Co)	0,002
Kupari (Cu)	0,002
Rauta (Fe)	0,02
Mangaani (Mn)	0,01
Molybdeeni (Mo)	0,001
Sinkki (Zn)	0,002

Orgaanisissa lannoitteissa on myös ilmoitettava valmistuksessa käytetyt raaka-aineet. Ne eivät myöskään saa sisältää teollisuudessa tai yhdyskunnassa syntynyttä jätevesilietteitä. Nestemäisten orgaanisten lannoitteiden pitoisuuksille voidaan painoprosentin lisäksi ilmoittaa tilavuusmittana, mg/l tai g/l. [Orgaanisen lannoitteen tuoteseloste.]

2.4 Kasvien ravinteita ja nitrifikaatio

Kasvien tärkeimmät perusravinteet ovat typpi, fosfori ja kalium. Lannoitteissa ne on ilmoitettu NPK-arvona, jossa numerot ilmaisevat prosentuaalisen määrän kyseistä ainetta, esim. 20-25-5. Luku voidaan ilmaista alkuaineen lisäksi myös oksidipitoisuutena puhtaan rinnalla. Kasvien tarve näille kolmelle aineelle vaihtelee kasvuvaiheen mukaan. [Järvinen ym. 2016.]

Typpiä esiintyy luonnossa ja teollisuudessa eri muodoissa, kuten nitraatti, nitriitti ja ammonium. Ilmassa typpi on kaasumuodossa (N₂). Tästä typen kaasun perusmuodosta niin luonto kuin teollisuus pystyy muodostamaan nitrifikaation kautta typen kasveille hyödynnettävään muotoon. Ilmasta kaasumuodossa olevan nitraatin salamat muuttavat ammoniakiksi ja nitraatiksi, joka sitten imeytyy maaperään sateen mukana. [Nitrogen cycle].

Nitrifioivat bakteerit muuttavat typpikaasun ensin ammoniakiksi (NH_3^-), siitä nitriitiksi (NO_2^-) ja lopulta nitraatiksi (NO_3^-). Ammoniumin (NH_4^+) voi myös muuttaa nitriitiksi ja edelleen nitraatiksi. Vedessä ammoniumtyypin muoto riippuu pH:sta: jos veden pH on alle 6,9 ammoniumtyppi on vaarattomassa ammonium-muodossa. [Nitrogen cycle; Biologinen suodatus].

Redonon kehitelemä BioSyöte-laitteisto käsittelee teollisen sivuvirran sellaiseen muotoon, että sitä pystyy käyttämään lannoitteena. Se suodattaa partikkelit sekä nitrifikaatiota hyödyntämällä muuttaa typen kasveille sopivaan ja turvalliseen muotoon.

3 Analyysimenetelmät

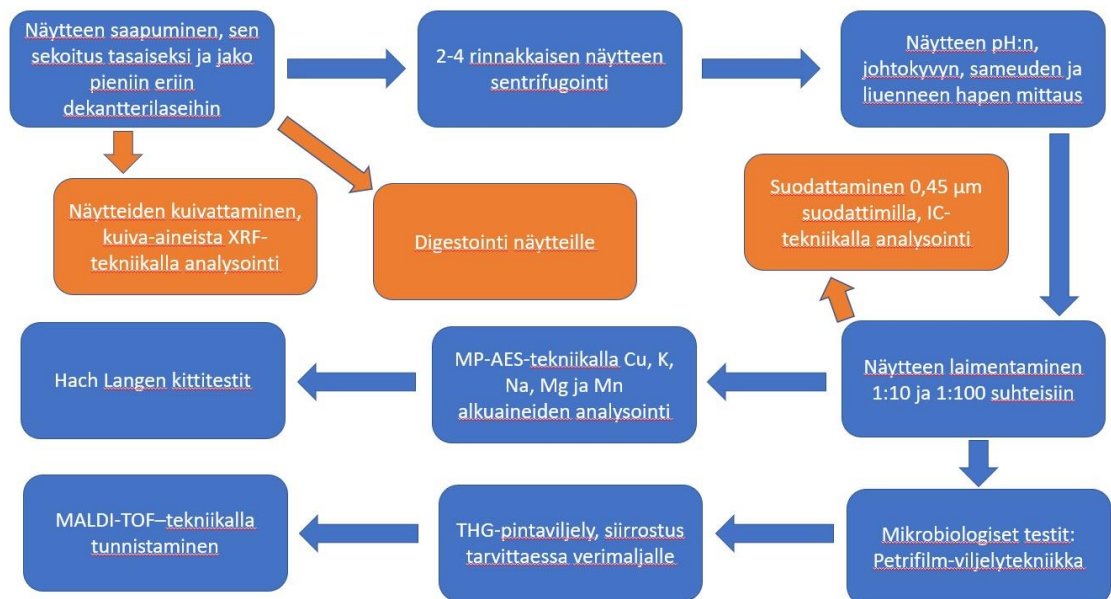
Analyyseja varten päätettiin tutkittavat aineet. Tutkittavien aineiden lista perustui Redonon aiemmissa projekteissa ja hankkeissa suoritettuihin analyysihin. Redonon parametrilistaa täydennettiin mikrobiologisilla analyysillä, sekä muutamalla uudella parametrilla. Tutkittavien aineiden lista ja niille valitut metodit esitellään taulukossa 3. Useat tutkittavat aineet perustuvat myös lannoitteita koskeviin säädöksiin ja pakollisesti ilmoitettavien aineiden listaukseen, esimerkiksi kaliumin, fosforin ja typen määrä.

Taulukko 3. Tutkittavat aineet ja ominaisuudet ja valitut mittaustekniikat/laitteet

Mitattava ominaisuus/aine	Tekniikka/laitteisto analyysia varten
pH	Multi water quality checker U-50
Sähkönjohtokyky	Multi water quality checker U-50
Liuennut happi	Multi water quality checker U-50
Magnesium	MP-AES -tekniikka
Kalium	MP-AES -tekniikka
Kalsium	MP-AES -tekniikka
Kupari	MP-AES -tekniikka
Mangaani	MP-AES -tekniikka
Natrium	MP-AES -tekniikka
Sulfaatti	Hach Lange, kittitesti, spektrofotometrinen
Rauta	Hach Lange, kittitesti, spektrofotometrinen
Sinkki	Hach Lange, kittitesti, spektrofotometrinen

Boori	Hach Lange, kittitesti, spektrofotometrinen
Molybdeeni	Hach Lange, kittitesti, spektrofotometrinen
BOD	Hach Lange, kittitesti, spektrofotometrinen
TOC	Hach Lange, kittitesti, spektrofotometrinen
Nitraatti	Hach Lange, kittitesti, spektrofotometrinen
Fosfaatti	Hach Lange, kittitesti, spektrofotometrinen
Totaalinen typen määrä	Hach Lange, kittitesti, spektrofotometrinen

Kuvassa 1 on esitetty suunniteltu vuokaavio aineiden ja ominaisuuksien analysoinnista eri tekniikoilla. Kuvassa oranssilla taustalla olevat työvaiheet olivat suunniteltuja tekniikoita. Niitä ei kuitenkaan lopullisessa työssä toteutettu, mutta metodeja testattiin käytännössä.



Kuva 1. Analyysimenetelmien suunniteltu järjestys vuokaaviona esitettynä

Analyysimetodin valintaperusteisiin vaikutti metodin nopeus ja yksinkertaisuus, jotta useampi näyte saatiin vaaditussa aikataulussa analysoitua. Näytteen sakkaisuus ja se, että näytteestä ei saa täysin kirkasta, vaikutti siihen miten herkkiä laitteita tai eri tekniikoita pystyttäisiin käyttämään. Näytettä ei haluttu kuivata tai muuttaa kaasuksi, koska kaikki mitattavat parametrit ovat nesteessä, josta on poistettu suurimmat sakat mekaanisesti.

3.1 Näytteiden esikäsittely

Näytteet pyrittiin saamaan lähelle sitä, mitä näytteet olisivat, jos ne menisivät BioSyöte-laitteiston läpi. Suodatuksen todettiin olevan todella hankalaa näytteiden suurten partikkelikoon ja kiintoaineen määrän vuoksi. Parhaaksi tavaksi todettiin sentrifugointi, jolloin isoimmat partikkelit painuivat pohjalle. Suodatus voitaisiin tehdä tämän jälkeen, jos sen vielä kokisi tarpeelliseksi.

Näytettä käännettiin näyteastiassa, jotta aineet saataisiin mahdollisimman tasaisesti sekoittumaan. Tämän jälkeen ne jaettiin eri dekantterilaseihin, joissa niitä jälleen sekoitettiin ja niistä näyte kaadettiin pieniin sentrifugointiputkiin. Näin saatiin muutama rinnakkainen näyte esikäsiteltyä.

Näytteiden laadun takia suunniteltiin myös eri esikäsitteilyjä. Tähän työhön olisi voitu soveltaa myös hajotus- menetelmää, jossa nesteessä olevat partikkelit ja aineet liuotetaan hapon tai happojen, vetyperoksidin ja lämmön avulla. Tämän tekniikan hyviä puolia olisi, että useat laitteet eivät kestä suuria partikkeleita ja hajotuksessa ne liukenevat, sekä näytteet olisivat hyvin tasalaatuisia toisiinsa nähden. Huonoina puolina olisi happojen mahdolliset epäpuhtaudet ja häiritseminen analyyseissä, sekä se, että BioSyöte-laitteisto tekee oman kiintoainesuodatuksen, jolloin kaikki aineet eivät edes pääse lannoitteeksi asti. Näin hajotus-menetelmä ei olisi antanut realistista kuvaa liukenemattomien metallien pitoisuudesta nesteessä. Tällä menetelmällä olisi voinut kuitenkin selvittää kiintoaineissa olevien aineiden pitoisuuden.

Kiintoaineen alkuaineita pystyisi analysoimaan myös röntgenfluoresenssi -tekniikalla (XRF), mutta tämän menetelmän herkkyyys ei riitä kaikkein pienimpiin pitoisuuksiin. Röntgenfluoresenssi -tekniikassa näyte pitäisi kuivata hyvin, jotta kosteus ei häiritse analyysia.

Ionikromatografia (IC) varten taas näytteitä ei haluta hajottaa, jotta saataisiin analysoitua vain nesteessä liuenneessa muodossa olevat nitraatit, nitriitit, sulfaatit, ja mahdollisesti muita ioneja, analysoitua. IC kuitenkin vaati kirkkaan ja partikkelittoman näytteen, joten sitä varten näytettä pitäisi ensin sentrifugoida ja vielä suodattaa monta kertaa. Ensimmäisenä karkealla suodatinpaperilla, jossa poistettaisiin isommat partikkelit. Tämän jälkeen suodatus tapahtuisi 0,45 µm:n suodatinpaperilla. Suodatuksen nopeuttamiseksi pystyisi käyttämään vakuumsuodatusta.

3.2 Mikroplasma-atomiemissiospektrometri

Käytössä olevalla MP-AES-tekniikalla pystytään analysoimaan pieniäkin määriä alkali- ja maa-alkalimetalleja tarkasti. Suoritettavien analyysien kannalta se tarkoitti, että analysoitavaksi valittiin kalium, kalsium, kupari, magnesium, mangaani ja natrium. Näillä aineilla pystyttiin saamaan lineaarinen suora riittävällä tarkkuudella ja sitä kautta laskemaan luotettavia tuloksia pitoisuuksille. Kuvassa 2 on esitetty Agilentin 4100 sarjan MP-AES-laitteiston toimintaperiaate.

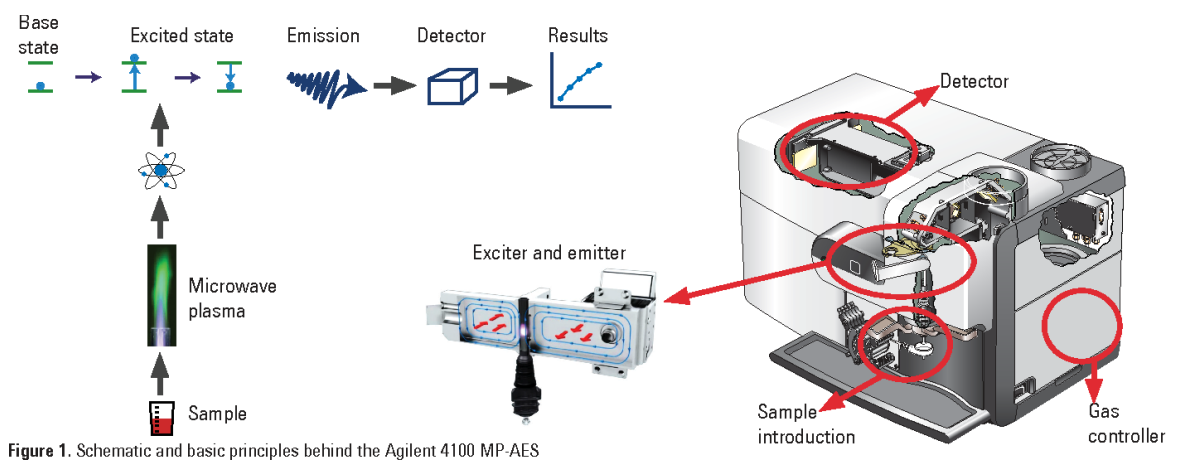


Figure 1. Schematic and basic principles behind the Agilent 4100 MP-AES

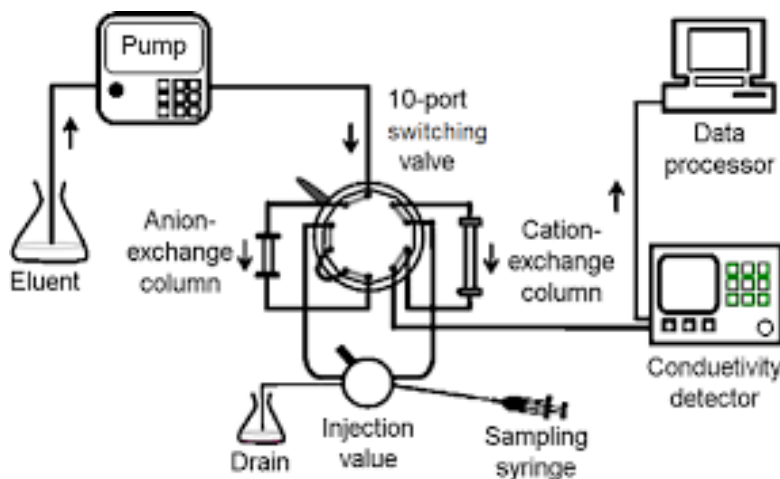
Kuva 2. Agilent 4100 sarjan MP-AES-laitteiston kaavio sen toimintaperiaatteesta [Yoshida]

MP-AES-tekniikka on myös otollinen nopeaan sarjamittaukseen, sillä laitteella pystytään analysoimaan montaa eri ainetta yhdellä näytteensyötöllä. Tämä antaa mahdollisuuden tehdä usean rinnakkaisen lyhyessäkin ajassa.

MP-AES-laitteen tai perinteisempien titrausmenetelmien herkkyudet eivät riitä havaitsemaan niin pieniä määriä, joita sivuvirroissa oletettiin olevan. Normaalisti metallianalyseissä käytettävä tekniikka on ICP-OES (inductively coupled plasma optical emission spectrometer) tai AAS/FAAS (atomic absorption spectrometer/flame atomic absorption spectrometer). AAS-tekniikka soveltuu hyvin eri alkuaineiden analyysiin [Jaarinen & Niiranen 2008: 69]. Opinnäytetyössä etsittiin vaihtoehtoisia keinoja analysoida metalleja, joita ei pystyisi MP-AES-tekniikalla analysoimaan.

3.3 Ionikromatografiset analyysit

Ionikromatografi on tarkka menetelmä pienillekin pitoisuuksille. Koska useita analysoitavia aineita oli ionimuodossa, kuten sulfaatti (SO_4^{2-}), nitriitti (NO_2^-) ja nitraatti (NO_3^-), tämä menetelmä olisi soveltunut hyvin näiden analysointiin. Kuvassa 3 on esitelty kaavana ionikromatografilaitteiston toimintaperiaate.



Kuva 3. Ionikromatografian vuokaavio toiminnasta laitteiston ajaessa näytettä. [Yasser & Rania].

Laite vaatii kirkkaan nesteen ilman partikkeleita. Siksi standardiliuosten, analysoitavan nesteen esikäsittely ja suodatus kirkkaaksi sekä pullojen puhtaus on tärkeää. Menetelmässä käytettäisiin ionikromatografiaan sopivia muovisia työvälineitä, kuten mittapulloja.

3.4 Spektrofotometriset kyvetit

Työssä pystyttiin käyttämään erilaisia kaupallisia kittejä. Niiden etuna oli nopeus rinnakkaisten näytteiden tekemisessä ja se etteivät näytteet tarvitsisi paljon esikäsitelyä. Jos eri paikoista saataisiin näytteitä (esim. panimosta, kalankasvatuslaitokselta, biokaasulaitokselta jne.), ne voitaisiin karsia nopeasti pois, jos niillä ei ole ollenkaan tai vain vähän potentiaalia lannoitteeksi. Testikiteillä voitaisiin havaita monien eri aineiden läsnäolo tai vaihtoehtoisesti määrittää aineiden pitoisuuksia.

Testikitit valittiin näille näytteille, koska testauksen helppouden vuoksi esim. ammoniumin pitoisuus ja/tai läsnäolo saataisiin tietää nopeasti. Teoriassa esitetty nitrifikaatio ammoniakille tapahtuu luonnostaankin, mutta sen prosessia isolle massalle (esim. rejektivedelle) voidaan keinotekoisesti nopeuttaa erilaisten laitteistojen avulla. Jos halutaan tietää kuinka tehokkaasti avustettu nitrifikaatio toimii, testikiteillä saa nopeasti mitattua ammoniumin tai nitraatin pitoisuuden ennen ja jälkeen.

3.5 pH, sähkönjohtokyky, liuennut happi ja sameus

Jokaisesta näytteestä haluttiin sähkönjohtokyky, pH:n ja liuenneen hapen (DO_2), arvot. Nämä pystyttäisiin mittaamaan samalla mittauskerralla Horiba Multi water quality checker U-50 laitteella, mikä osoittautui hyvin mielekkääksi, kun näytteitä olisi useita. Nämä mitattavat suureet ovat myös sellaisia, jotka pitäisi mitata mahdollisimman nopeasti näytteiden saavuttua, sillä arvot voivat muuttua esimerkiksi ajan, hapettumisen ja aineiden liukenemisen myötä. Samalla laitteella pystyttäisiin myös mittaamaan sameus yhtä aikaa. Sameus ei ole olennainen arvo näytteiden kannalta, mutta se mitattiin mielenkiinnon takia.

3.6 Nitriittitypen määrittäminen

Nitriittitypen määrittäminen pystyttäisiin suorittamaan spektrofotometrisellä metodilla SFS standardin 3029 mukaisesti [SFS 3029]. Spektrofotometrin tarkkuus on paljon parempi kuin

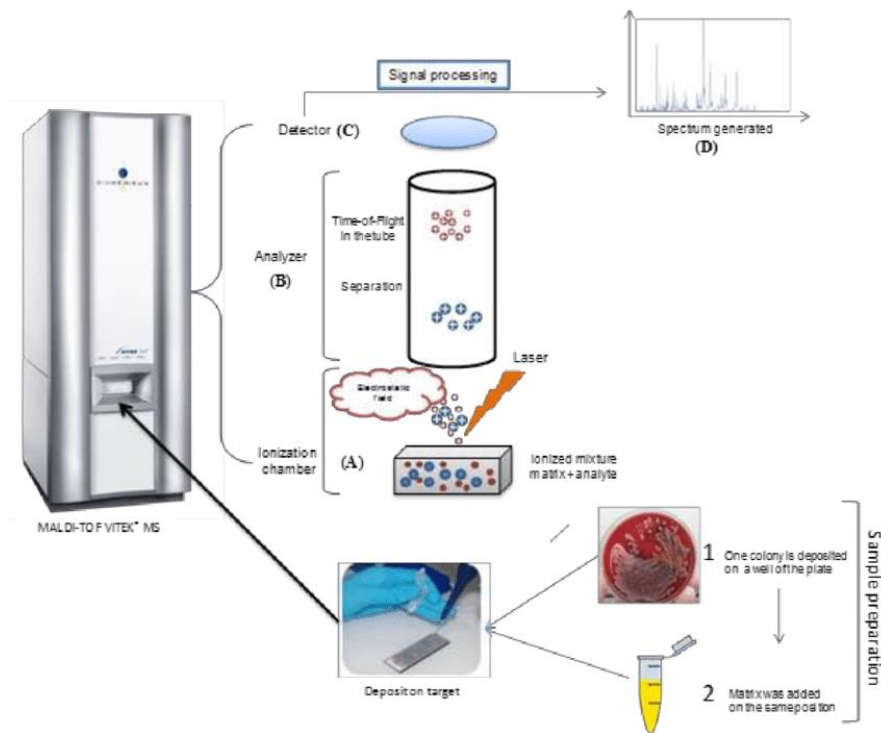
ionikromatografian, ja nitriitti hapettuu helposti ja nopeasti nitraatiksi. Näin näytteistä saataisiin määritettyä tämä yksittäinen ioni. Natriumnitriitti on monelle eliölle myrkyllinen muoto tyypellä liiallisissa määrin.

3.7 XRF-tekniikka

XRF-tekniikka, eli röntgenfluoresenssi, mittaa kiintoaineista alkuaineita. Laitetta voidaan käyttää myös kentällä ja sen virittäminen käyttöön on nopeaa. Analyysit tehtäisiin viimeisenä, kunnolla kuivatuista näytteiden kiintoaineista. Tätä varten näytteitä tulisi kuivattaa alustalla uunissa, jotta kaikki neste on haihtunut.

3.8 Mikrobiologiset menetelmät

Näytteistä haluttiin yleiskuva niiden mikrobiologisesta laadusta. Koska rejektivettä tai pohjalietettä olisi ajatuksena tulevaisuudessa käyttää lannoitteena, niissä ei saa esiintyä ollenkaan esimerkiksi *Escherichia colia* (taulukko 1) ja koliformisten bakteerien esiintyminen voisi viitata ulosteperäiseen kontaminaatioon. Työssä käytettiin petrifilm®-tekniikkaa. 3M-petrifilmeillä saatiin nopeasti ja helposti luotettavat tulokset koliformisten, stafylokokkien ja heterotrofisten bakteerien läsnäolosta.



Kuva 4. MALDI-TOF -laitteistoon laitettavan näytteen esikäsittely ja analysoinnin perustoimintaperiaate [Fall ym. 2017]

Jos jokin viljely antaisi mikrobiologisen kasvuston osalta positiivisia tuloksia, näytteille tehtäisiin THG-viljelymalja, josta halutuista pesäkkeistä tehtäisiin jatkoviljelyt verimaljalle ja sieltä MALDI-TOF-laitteiston analysoitavaksi. MALDI-TOF-analyysia päädyttiin käyttämään sen nopeuden ja helppouden vuoksi. Laitteen tietokannan laajuus olisi ainoa rajallisuus tunnistamisen kannalta.

4 Laitteistot ja materiaalit

Tässä luvussa kerrotaan vain lopullisissa analyyseissä, käytettyjen laitteiden, työvälineiden ja kemikaalien tarkemmat tiedot. Vain kokeilullisissa metodeissa käytettyjä laitteita olivat: MARS mikroaaltouuni, itse koottu hajotus- laitteisto, vakuumisuodatuslaitteisto, XRF- tekniikassa käytettävä röntgenlaite ja ionikromatografi, sekä näiden esikäsittelyihin tai analyyseihin tarvittavat työvälineet ja kemikaalit.

4.1 Laitteistot, materiaalit ja kemikaalit

Taulukossa 4 näytetään aineet, joita on käytetty standardien valmistamiseen MP-AES-analyysissä, happopesussa sekä näytteiden ja standardien kestäväinnissä.

Taulukko 4. Analyyseissa käytettyjä kemikaaleja ja standardiliuoksia

Aine	Valmistaja	tuotenumero	viim. käyttöpäivä	Erän numero
Kalsiumnitraatti tetrahydraatti	sigma-aldrich	21197		138 217 713 208 048
Mg-standardiliuos AAS:lle	sigma-aldrich	42992	syys.20	BCBV9988
Na-standardiliuos AAS:lle	VWR chemicals	86693.180	15.3.2021	637193
vahva HNO ₃	-	-	-	-
Sulfaniiliamidi GR, analyysia varten	MERCK	1.11799.010 0	L510799040	-
Magnesiumsulfaatti heptahydraatti	VWR chemicals	25165.260	tammi.19	14A170008
Natriumhydroksidi	J.T.Baker	0402	syys.10	824506016
K-standardiliuos AAS:lle	VWR chemicals	86686.180	28.2.2021	624785

Lopullisissa analyyseissa käytetyt laitteistot ja työvälineet on listattu seuraavassa:

- vaaka, Precisa, LS 220 A
- BioHitin automaattisia pipettejä, 1 ja 5 millilitran
- 4100 MP-AES, Agilent
- dr3900-spektrofometri, Hach Lange

- Multi water quality checker U-50- moniparametrimittari, Horiba
- sentrifuugi, Heraeus instruments, Biofuge primo
- spaatteleita
- lasitavarat: dekanttereja, kooltaan 25–500 ml, mittapulloja 50–1000 ml
- 15 millilitran sentrifugointiputkia
- suodatinpaperi, PALL corporation, GH Polypro, 0,45 µm
- kasvualustoja; heterotrofisille, koliformeille ja stafylokeille, 3M Petrifilm ®
- THG- ja veri-agar kasvatusmaljoja
- Inkubointikaappi/lämpökaappi
- Siirrostusilmukoita, koko 1 µl
- MALDI-TOF, Biomerioux, VITEK MS ®

Analyseissä käytettiin aina samaa pipettiä pipetoidessa ja vaaka kalibroitiin päivittäin, jos käyttöä sille oli. MP-AES, Multi water quality checker U-50 ja MALDI-TOF kalibroitiin käyttöohjeiden mukaisesti. Hach Langen spektrofotometri kalibroi itsensä aina käyttöön ottaessa.

4.2 Hach Lange –kitit

Taulukossa 5 on esitetty kittien kaupalliset nimet, sekä aineet joita kiteillä analysoitiin.

Taulukko 5. Testikittien nimet sekä analysoitavat aineet

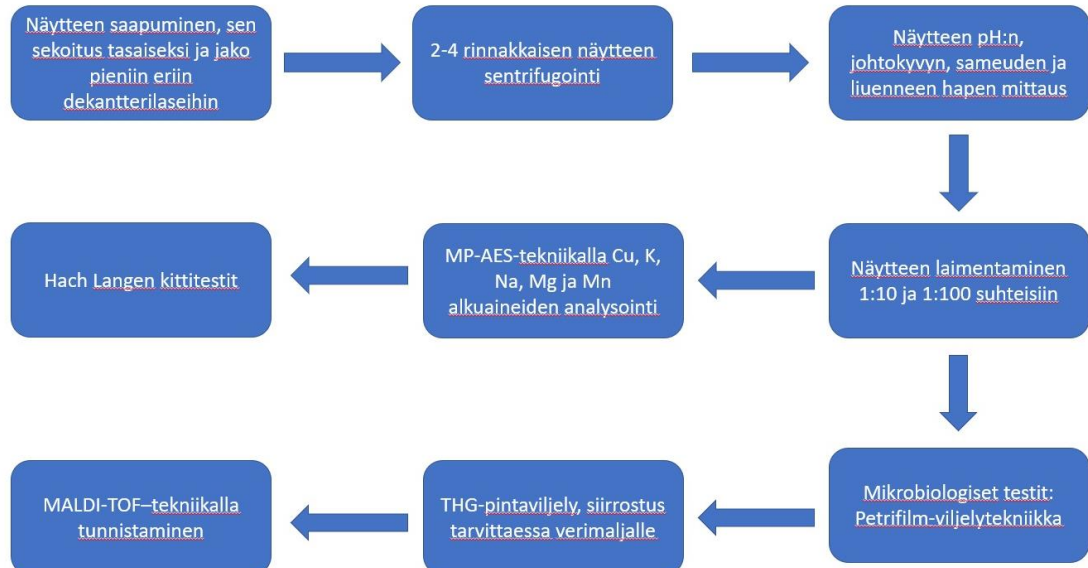
Kitin numero	Kitin tiedot	Analysoitava aine
LCK349	Phosphate PO ₄ -P (ortho/total), 0,05-1,5 mg/l pk/25 (UN3316) 9.II	Totaalifosfaatti ja orto-fosfaatti
LCK338	LATON, 20-100 mg/l pk/25 (UN3316 9.II)	Totaalityppi
LCK303	Ammonium NH ₄ -N, 2-47 mg/l pk/25 (UN3316 9.II)	Ammonium
LCK386	TOC (total organic carbon), 30-300 mg/l pk/25	Totaali orgaaniset hiilet
LCK555	BOD ₅ (biological oxygen demand), 4-1650 mg/l pk/39	Biologinen hapenkulutus
LCK307	Boron, 0,05-2,5 mg/l pk/25	Boori
LCK360	Zinc, 0,2-6 mg/l pk/24 (UN3316) 9.II	Sinkki
LCK321	Iron, 0,2-6 mg/l pk/25	Rauta
LCK339	Nitrate NO ₃ , 1-60 mg/l	Nitraatti
2106769	SULFATE SO ₄ , SULFAVER4 PP PK/100 10 ml	Sulfaatti
2449400	MOLYBDENUM, PP 0,02-3,00MG/L PK/100	Molybdeeni

Taulukossa nähdään myös jokaisen kitin mittausalueet pitoisuutena mg/l. Laite ilmoittaa, jos mittausalue ylittyy tai alittuu analyysia tehdessä. Näin näytettä voidaan tarvittaessa laimentaa tai konsentroida. Hach Langen kittien metodeissa kerrotaan myös aineet ja yhdisteet jotka voivat häiritä mittaustulosta.

5 Näytteiden analysointi

Näytteinä oli biokaasulaitoksen rejektivettä, noin 1 litra, ja panimon pohjalietettä, noin 1 litra. Kuvassa 5 on esitetty yksinkertaistettu vuokaavio siitä, kuinka näyte analysoitiin lopulta laboratoriossa. Näytteen sentrifugoinnin jälkeen tehtiin ensin mikrobiologiset määritelmät, jotta näytteet kontaminoituisivat mahdollisimman vähän tai mahdolliset kon-

taminaatiot eivät lisääntyisi näytteen säilytysaikana. Seuraavien analyysivaiheiden järjestys suunniteltiin sen mukaan, mitkä analysoitavat aineet mahdollisesti muuttaisivat muotoaan nopeimmin ajan kuluessa, kuten nitraatit ja sulfaatit.



Kuva 5. Vuokaavio näytteiden eri analyysivaiheista

Näytteiden esikäsittely tehtiin pelkästään sentrifugoimalla kiintoaineet pohjalle. Tämä todettiin riittäväksi sakan poistamiseksi ja laimennosten kanssa herkimmillekin laitteille sopivaksi.

Kuvassa 6 biokaasulaitoksen rejektivesinäyte sentrifugoinnin jälkeen. Siihen on muodostunut kolme selkeää kerrosta, joista alimmassa on isoimmat kiintoainepartikkelit, keskellä hienommat partikkelit ja lopulta ylimpänä nestekerros. Panimon näyte näytti hyvin samankaltaiselta. Sentrifugoinnissa käytettiin ohjelmaa, jonka aika oli 20 minuuttia ja kierrosnopeudet 1800 min^{-1} .



Kuva 6. Biokaasulaitoksen sentrifugoidut rektivesinäytteet.

Sentrifugoinnin jälkeen näytteistä mitattiin pH, johtokyky, sameus ja liuennut happi samalla kerralla. Näytteiden mittaus tehtiin Horiba U-50 laitteistolla, laitteen valmistajan ohjeiden mukaisesti.

Digestointia kokeiltiin ensimmäisen kerran kuvassa 7 esitetyllä menetelmällä. Kuvan 7 menetelmässä näytteisiin lisättiin typpi- ja suolahappoa 1–3 millilitraa noin grammaan näytettä ja lisäksi seosta refluksoitiin kolvissa. Ongelmana oli, ettei hapon määrä riittänyt hajottamaan näytettä kokonaan kirkkaaksi. Jos happoa olisi lisätty enemmän, olisi näytteitä tarvinnut laimentaa MP-AES- laitteiston hapon kestävyden vuoksi eikä kaikkien menetelmien herkkyys olisi enää riittänyt havaitsemaan pieniä pitoisuuksia tietyissä aineissa.

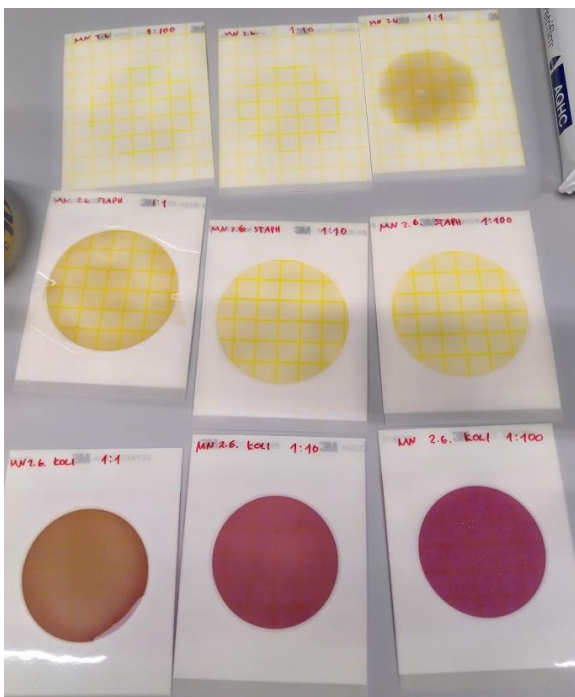


Kuva 7. Digestointi/refluksointi -laitteisto

Digestoinnin pystyi tekemään hyvin yksinkertaisesti tarvittaessa. Näytteitä ei kuitenkaan lopullisissa analyyseissa digestoitu. Digestoinnille löytyisi myös mikroaaltouuni -tekniikka hajottamaan ja liuottamaan kiinteitä materiaaleja näytteistä [Microwave Digestion of Fertilizer]. Tällöin digestointi suoritettaisiin MARS 6 mikroaaltouunilla. Tätä mikroaaltouuni -tekniikkaa voitaisiin käyttää, jos koko liuos olisi haluttaisiin analysoida puhtaiden alkuaikneiden osalta.

Näytteitä laimennettiin mittapulloihin suhteella 1:10 ja 1:100 sentrifugoinnin jälkeen, Redonon aiemmin hankkimien mittaustulosten perusteella. Näin ajateltiin jonkin laimennoksisista, tai laimentamattomasta näytteestä, menevän mitta-alueille eri analyyseissa.

Näytteiden laimentamisen jälkeen tehtiin heti ensimmäisenä mikrobiologiset analyysit. Mikrobiologissa analyyseissa ensimmäinen viljely tapahtui petrifilm-tekniikalla. Tekniikkaa käytettiin sen nopeuden ja tiettyjen alustojen selektiivisyyden takia. Työssä käytettiin heterotrofisen luvun antavaa alustaa sekä koliformeille ja stafylokokkeille selektiivisiä petrifilmejä, jotka näkyvät kuvassa 8 viljeltynä alustoille, ennen inkubointia. Viljelyt ja kasvatukset suoritettiin valmistajan ohjeiden mukaisesti laimennossuhteista 1:1, 1:10 ja 1:100. Petrifilmien kasvatuksessa noudatettiin 3M Petrifilm -valmistajan protokollaa.



Kuva 8. Petrifilm-viljelyt ennen kasvatusta inkubointikaapissa; ylärivillä hetetrofiset viljelmät, keskimmaisella rivillä stafylokokkiselektiiviset petrifilmit ja alimmalla rivillä koliformi-selektiiviset petrifilmit.

Kun petrifilm -kasvatukset olivat valmiita, tehtiin jatkoviljelyt tryptoni-hiivauute-glukoosi-agarille (THG-agar), jos jollakin alustalla oli positiivisia tuloksia. Näytteitä siirrostettiin THG-agarille 1 ml pintaviljelytekniikalla ja kasvatusalustoja inkuboitettiin 24–48 tuntia 37 celsius asteessa. THG-agarilla kasvavasta yksittäisistä eri pesäkkeistä tehtiin jatkoviljely veri-agarille. Veri-agarilta pystyttiin suorittamaan MALDI-TOF-tekniikalla tunnistaminen.

MALDI-TOF-analyysi suoritettiin teoriaosuudessa esitetyn kuvan 4 tavalla. Jos pesäke näytti ja käyttäytyi silmukkasiirrostuksessa homemaisen tai hiivamaisen kasvuston kaltaisesti, sillä käytettiin FA (muurahaishappo)/CHCA (kanelihappo) matriisisekoitusta. Bakteerimaisille pesäkkeille käytettiin pelkästään CHCA matriisia.

Näytteiden ja standardien laimennoksia varten mittapullot ja niiden korkit pestiin noin 30 prosenttisella typpihapolla, mahdollisten metallijäämien tai muiden epäpuhtauksien tai mitattavien aineiden häiriötekijöiden varalta. MP-AES-tekniikkaa varten laimennettuja

näytteitä ja standardeja kestävästi lisäämällä pienet määrät (noin 1–2 ml/50 ml) väkevää (noin 60–63 %) typpihappoa sekä kaikki liuokset suodatettiin ruiskun ja 0,45 µm:n kokoisella suodatinosalla, jotta laitteen osat eivät tukkeutuisi.

MP-AES-tekniikassa käytetyt standardisuorien pitoisuudet olivat 1, 2, 3, 4 ja 5 mg/l aineille kalium, magnesium, magnaani ja natrium, kupari ja kalsium. Näillä standardipitoisuuksilla todettiin, että saadaan MP-AES-tekniikalla riittävän hyvät standardisuorat, joiden kautta näytteiden pitoisuudet voitaisiin laskea. MP-AES-laitteen analyysia varten luotiin ajo-ohjelma, jonne syötettiin tarvittavat tiedot, eli ajoparametrit, analysoitavat aineet ja standardien pitoisuudet. Ajoparametrit on esitetty taulukossa 6.

Taulukko 6. MP-AES –laitteiston ajoparametrit

Laitteparametrit MP-AES analyysin ajolle	
Pumpun nopeus (pump speed)	15 rpm
Nopea pumppaus (fast pump)	Päällä (on)
Stablisointiaika (stabilization time)	30 s
Lukuaika (read time)	5 s

Hach Langen kittitestejä tehtiin monesti useita kerralla samanaikaisesti, jos näytteen analysointi käsittelyineen kestäisi ajallisesti suurin piirtein saman verran, esimerkiksi 5-15 minuuttia ja 45-60 minuuttia. Testikittien ohjeisiin tutustuttiin huolellisesti sekä tehtiin etukäteen koetestejä, jotta analyysit saataisiin suoritettua mahdollisimman sujuvasti. Testikitteihin käytettiin jotain kolmesta eri näytelaimennoksesta. Laimennos valittiin aiempien mittaustulosten perusteella, mikä laimennoksista olisi odotettavasti lähin testikitin mittauksen pitoisuusalueelle. Jos mittausalue meni yli tai ali, ja laite ei antanut tulosta tai ilmoitti tuloksen olevan epäluotettava, pyrittiin tekemään uusintamittaus vahvemalla tai laimeammalla näytteellä. Kuvassa 9 on Hach Langen LCK 349 ja LCK 307 kittien analyysien suoritus samaan aikaan. Kittitestit tehtiin Hach Langen laatiman protokollan mukaan.



Kuva 9. Testikittien LCK 349 ja LCK 307 analyysin suoritusta yhtä aikaa laboratoriossa.

Taulukossa 5 oli esitetty testikittien luotettavat pitoisuusalueet mittaustulokselle.

6 Tulosten käsittely

Näytteen pakastaminen ennen analyysien aloittamista ja pidempi säilytysaika jääkaapissa on voinut vaikuttaa tuloksiin. Pidempi säilytysaika jääkaapissa sulatuksen jälkeen vaikuttaa varsinkin herkästi muuttuviin parametreihin, kuten johtokykyyn, pH-arvoon, liuenneseen happeen sekä ionimuodossa oleviin aineisiin kuten sulfaattiin ja nitraattiin.

Kaikkien tulokset koottiin yhteen taulukkoon (taulukko 7). Taulukossa ensimmäisenä olevat ”mittaustulokset” ovat Metropolian Myyrmäen kampuksella käytetystä ravinneliuos-sekoituksesta humalan kasvatuksessa. Tällä on humala kasvanut hyvin Metropolian tiloissa käytetyssä humalan kasvatukseen rakennetussa hydroviljelyjärjestelmässä. Tätä käytettyä ravinneliuosta pidettiin yhtenä vertauksena hyviin ravinnearvoihin.

Toisena taulukossa on Gasumin rejektiveden näyte ja kolmantena UG Brewery Oy:n pohjalietteen näyte. Viimeisenä on esitetty humalan hydroviljelylle optimiarvot, jotka Redono on selvittänyt [REDONO Hanke]. Taulukossa on eritelty parametrit ja aineet mitausmenetelmän mukaan. Taulukkoon ei laitettu viimeiseen sarakkeeseen optimaalisiin arvoihin rikkiä ja fosforia, koska taulukon mittaustulokset ovat eri muodossa (rikki sulfaattimuodossa ja fosfori orto- ja totaalifosfaattina). Rikin (S) ja fosforin (P) optimaalinen arvo ravinneliuoksessa olisi 50 mg/l.

Taulukko 7. Mittaustulokset rinnakkain esitettynä ja vertailuna hydroviljelyssä käytettävän lannoitteen optimipitoisuudet humalan kasvatukselle.

	Parametri ja yksikkö	Mittaustulokset	GASUM	Panimo	Optimaalinen arvo humalalle hydroviljelyssä
Horiba	pH	5,29	5,7	3,89	5-5,8
	Johtokyky mS/cm	1,09	25,2	3,08	-
	DO (dissolved oxygen) mg/l	8,83	10,08	8,94	-
	NTU	1,5	0	104	-
MP-AES	Kalsium (mg/l)	94	74	44	150
	Kupari (mg/l)	NA	5	NA	0,8
	Kalium (mg/l)	93	1294	41	240
	Magnesium (mg/l)	22	12	2	50
	Mangaani (mg/l)	11	20	24	0,6
	Natrium (mg/l)	53	1508	5	-
Kittitestit	Boori (mg/l)	0,13	8	8	0
	BOD (Biologinen hapenkulutus/biological oxygen demand) mg/l	*	*	36,5	-
	Rauta mg/l	0,95 *	21,4	2,8	1,5
	totaali-fosfaatti mg/l	4,6	143,5	145	-
	orto-fosfaatti mg/l	21,4	78,7	247,8	
	Sinkki mg/l	0,25	3,4	0,93 *	0,40
	Nitraatti (mg/l)	51	13	36,8	-
	Ammonium (mg/l)	16	3185	73,6	-
	totaali-typpi (mg/l)	100	3348	7190	175
	TOC (total organic carbon) mg/l	41	4245	17858	-
	Molybdeeni (mg/l)	*	2	1,4	0,05

Sulfaatti (mg/l)	*	600	1063	-
------------------	---	-----	------	---

Horiban multiwater laitteistolla saatiin mittaukset nopeasti tehtyä pH:lle, johtokyvyille, happelle ja sameudelle. Näytteille ei tehty kuin yhden rinnakkaiset mittaukset laitteella, joten mitatut parametrit ovat suurpiirteiset. Mitatuilta arvoilta pH, liennut happi ja sameus ovat hyvin samaa luokkaa kaikissa kolmessa näytteessä. Ainoastaan biokaasulaitoksen näytteessä johtokyky on huomattavasti korkeampi. Tähän syy löytyy suuresta määrästä mm. kaliumia ja natriumia, jotka ovat rejektivedessä ionimuodossa nostaten johtokykyä. Verrattuna optimiin, pH on matalampi panimonäytteessä, mahdollisesti johtuen oluen panemisesta syntyvästä hiilidioksidista.

Kittitesteissä nähtiin muutamia poikkeuksia. Orto-fosfaatin ja kokonaisfosforin lukemien pitäisi olla niin päin, että orto-fosfaatista saatu tulos on pienempi pitoisuudeltaan, kuin kokonaisfosforin. Panimon näytteessä ja ravinneliuoksessa totaalifosforin pitoisuus oli kuitenkin pienempi. Kitin valmistajalta löytyy tiedot mahdollisista häiriötekijöistä, kuten huomattavan suuresta natrium pitoisuudesta. Näytteissä ei kuitenkaan ollut yksittäisenä häiriötekijäksi laskettavia pitoisuuksia. Valmistajan mukaan mahdollisia ristivaikutuksia monen häiriötekijän ja mitattavan aineen kesken ei ole tutkittu ja nämä kannattaa huomioida mittaustuloksissa. Tämä voi olla yksi tekijä, mikä vaikuttaa orto-fosfaatin totaalifosfaattia suurempaan pitoisuuteen. Mittausepävarmuudet saa jokaiselle testille erikseen valmistajan sivuilta.

Mikrobiologisissa petrifilm-viljelmissä ei todettu yhdessäkään näytteessä stafylokokki- tai koliformi- positiivisia pesäkkeitä. Heterotrofisissa petrifilmeissä todettiin mikrobiologisten pesäkkeiden kasvua biokaasulaitoksen näytteestä kaikilla laimennoksilla. Myös THG-maljoille tehdyillä jatkoviljelmillä todettiin kasvustoa. THG-maljojen kasvusto oli haalean vaaleita pesäkkeitä. Veri-agarille tehdyillä jatkoviljelmillä pesäkkeet olivat harmahtavan valkoisia ja muodot sekä pesäkkeiden koostumukset vaihtelivat. Veriagarilla kasvaneet pesäkkeet nähdään kuvasta 10. Kasvustot poikkesivat toisistaan ulkonäöllisesti, vaikka ne THG-maljalla näyttivät samanlaisilta pesäkkeiltä.



Kuva 10. Veriagarilla kasvatetut jatkoviljelmät MALDI-TOF analyysia varten, näytteet 1, 1.1, 2, 2.1 ja 2.2.

MALDI-TOF-analyysi tunnisti veriagarilla kasvatetut jatkoviljellyt pesäkkeet muutamaksi eri *Bacillus* suvun bakteereiksi. Bakteerit näkyvät taulukossa 8.

Taulukko 8. MALDI-TOF-analyysin rinnakkaiset tulokset 5:stä eri pesäkkeestä

Näyte nro.	Mikrobi
Näyte 1	-
Näyte 1	-
Näyte 1.1	<i>Bacillus subtilis</i>
Näyte 1.1	<i>Bacillus subtilis</i>
Näyte 2	<i>Bacillus cereus</i> group
Näyte 2	<i>Bacillus cereus</i> group
Näyte 2.1	-
Näyte 2.1	-
Näyte 2.2	<i>Bacillus pumilus</i>
Näyte 2.2.	<i>Bacillus pumilus</i>

Näytteille 1.1 ja 2 MALDI-TOF antoi 99,90 % todennäköisyyden tunnistuksen varmuudelle ja näytteelle 2.2 tunnistuksen varmuudesta 90,40 % todennäköisyyden. Pienempiä todennäköisyyksiä ei otettu enää tässä opinnäytetyössä huomioon ollenkaan. Syy pienelle todennäköisyydelle on luultavasti tietokannan rajallisuus ko. laitteella, eli menetelmä vain tunnistaa mikrobin samankaltaiseksi jonkun toisen kanssa.

MP-AES-tekniikalla saadut mittaustulokset olivat oletettavissa arvoissa. Analysoitaville aineille saatiin hyvät lineaariset suorat (liite 1), joiden kautta näytteiden pitoisuudet laskettiin. Näytteille tehtiin rinnakkaisia mittauksia myös eri laimennoksilla. Biokaasulaitoksen näytteen rinnakkaisissa näytteiden pitoisuuksissa on heittoa ja todennäköisin syy on näytematriisin epätasaisuus. Eli esimerkiksi kääntelyä näytteelle pitäisi tehdä vielä enemmän.

MP-AES-tekniikassa tulokset saadaan koneelta intensiteettinä per sekunti. Tämä ei ole absoluuttinen arvo ja c/s-arvoon voi vaikuttaa moni eri tekijä, kuten analysoitavan liuoksen hyvä sekoittaminen ennen syöttämistä laitteeseen tai näyte ei sumutu plasmalle täysin tasalaatuisena, mikä vaikuttaa mitatun intensiteetin arvoon. Laite tekee useamman mittauksen yhdestä näytteensyötöstä ja antaa niiden lasketun keskiarvon. Jo tämä kompensoi intensiteetin muuttuvaa arvoa.

7 Yhteenveto

Opinnäytetyön tavoitteet näytteiden esikäsittelystä ja monen eri aineen ja parametrin analysoimisesta toteutuivat kohtalaisesti. Analysoitavien aineiden ja parametrien numeerisen määrän ja pitkän säilytysajan takia mittausten toistojen määrä ja täydellisen luotettavuuden saaminen jäi toissijaiseksi. Työssä keskityttiin metodien onnistumiseen ja mittaustuloksen saamiseen näytteistä.

Analyysien kannalta kätevimmin käytettäviä olivat valmiit testikit ja Horiban multimittari. Molemmat tai niitä vastaava tekniikka voisivat olla hyviä investointeja laadunseurantaa varten paikkoihin, missä käytetään teollista sivuvirtaa lannoitteena tai halutaan nopeasti tuloksia vastaavista sivuvirroista. Laitteilla voidaan mahdollisesti myös seurata teollisesta sivuvirrasta jo jatkokäsittelyllä tehtyä nestemäistä ravinneliuosta tai lannoitetta.

Laitteiden nopea ja helppo käyttäminen mahdollistaisi usean mittauksen monesta näytteestä pienessä ajassa.

MP-AES laitteisto on nopea ja helppo analyysien suoritukselle laboratorio-olosuhteissa, mutta ajatellen mittaustarvetta paikan päällä mahdollisissa tuotanto- tai kasvatustiloissa, olisi sen toteuttaminen mahdotonta ilman investointia laitteeseen, reagensseihin ja koulutettuun työntekijään. MP-AES-tekniikalle pitäisi myös validoida menetelmät erilaisille näytteille ja mittaussparametrit aineille, jotta tulokset olisivat aina luotettavia.

Näytteiden esikäsittelyyn kuulunut sentrifugointi voitaisiin käytännössä korvata suodattamalla näytteitä halutun tai tarvitun partikkelikoon suodattimella. Käytännössä isoja määriä sivuvirtoja ei todennäköisesti kuitenkaan sentrifugoida, mutta niistä pitää jotenkin poistaa isot partikkelit tiettyyn kokoon asti, sillä muuten ne tukkisivat ravinneliuosta kuljettavat linjastot ja välineet.

Redonon BioSyöte-laitteisto sopisi hyvin työssä analysoitujen sivuvirtojen käsittelyyn. Laitteesta saatu lannoitevalmiste olisi sopiva lannoitteeksi humalalle. Sivuvirran mukaan lannoitetta pitäisi mahdollisesti vielä laimentaa ennen kasveille syöttämistä, sekä muuttaa pH tasapainoa.

Lähteet

Berg, Jenny. 2016. ETL:n jäte- ja sivuvirtaselvitys 2016. Verkkoaineisto. <http://www.etl.fi/media/aineistot/raportit-ja-katsaukset/etl-jate_ja_sivuvirtaselvitys_2016.pdf>. Luettu 13.5.2019

Biokaasusta kasvua - Biokaasuliiketoiminnan ekosysteemien mahdollisuudet, 2016. Haikonen T., Mutikainen M., Sormunen K., Väisänen M., ja Ramboll Finland.

Biologinen suodatus. Vesiviljelyn innovaatio-ohjelma 2014-2020. Verkkoaineisto. <<https://peda.net/hankkeet/vesiviljely/koulutus/kp/k/biologinen-suodatus>>. Luettu 8.4.2021.

Elintarviketeollisuus vesihuoltolaitoksen asiakkaana. Maa- ja metsätalousministeriö. 2014. <<http://www.etl.fi/media/aineistot/suosituksset-ja-ohjeet/mmm-elintarviketeollisuus-vesihuollon-asiakkaana.pdf>>. Luettu 18.5.2019

Fall Becaye, Flaudrops Christophe, Ibrahima Cheikh, Sam-Ba Bissoume. 2017. Value of matrix assisted laser desorption ionization time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry in clinical microbiology and infectious diseases in Africa and tropical areas.

Haitalliset aineet. Ruokavirasto. Verkkoaineisto. <<https://www.ruokavirasto.fi/yritykset/rehu--ja-lannoiteala/lannoitevalmisteet/laatuvaatimukset/haitalliset-aineet-ja-hygienia/>>. Luettu 13.5.2019

Harris, Daniel C. Quantitative Chemical Analysis. 2007. W.H. Freeman and Company.

Hartwallin juomatuotannon sivutuotteet hyötykäyttöön. Verkkoaineisto. <<https://www.hartwall.fi/inspiroidu/trendit/2018/hartwallin-juomatuotannon-sivutuotteet-hyotykykayttoon/>>. Luettu 6.4.2021.

Jaarinen, Soili & Niiranen, Jukka. Laboratorion analyysitekniikka. 2008. Edita.

Jäteluettelo: yleisimmät jätteet sekä vaaralliset jätteet. Oikeusministeriö. 2012.

Järvinen Mika, Karjalainen Kaisa, Vuollet Arto, Raninen Laura. Kasvihuoneviljely, tuotantotekniikan perusteet. 2016. Opetushallitus.

Lannoitteet ja lannoitevalmisteet. Ruokavirasto. Verkkoaineisto. <<https://www.ruokavirasto.fi/yritykset/rehu--ja-lannoiteala/lannoitevalmisteet/laatuvaatimukset/>>. Luettu 18.5.2019

Latvala Markus, Biokaasun tuotanto suomalaisessa toimintaympäristössä. 2009.

Nitrogen cycle. Science Learning Hub, Pokapu Akoranga Putaiao. Verkkoaineisto. <<https://www.sciencelearn.org.nz/resources/960-the-nitrogen-cycle>>. Luettu 8.4.2021.

Orgaanisen lannoitteen tuoteseloste. Ruokavirasto. Verkkoaineisto. <<https://www.ruokavirasto.fi/yritykset/rehu--ja-lannoiteala/lannoitevalmisteet/laatuvaatimukset/pakkausmerkinnat/orgaaniset-lannoitteet/>>. Luettu. 20.5.2020.

REDONO-hanke Loppuraportti, Ravinteiden kierrätyksen kokeiluohjelma Vaihe I, Esiselvitys, 2018.

SFS 3029, Suomen standardisoimisliitto, Veden nitriittitypen määrittäminen.

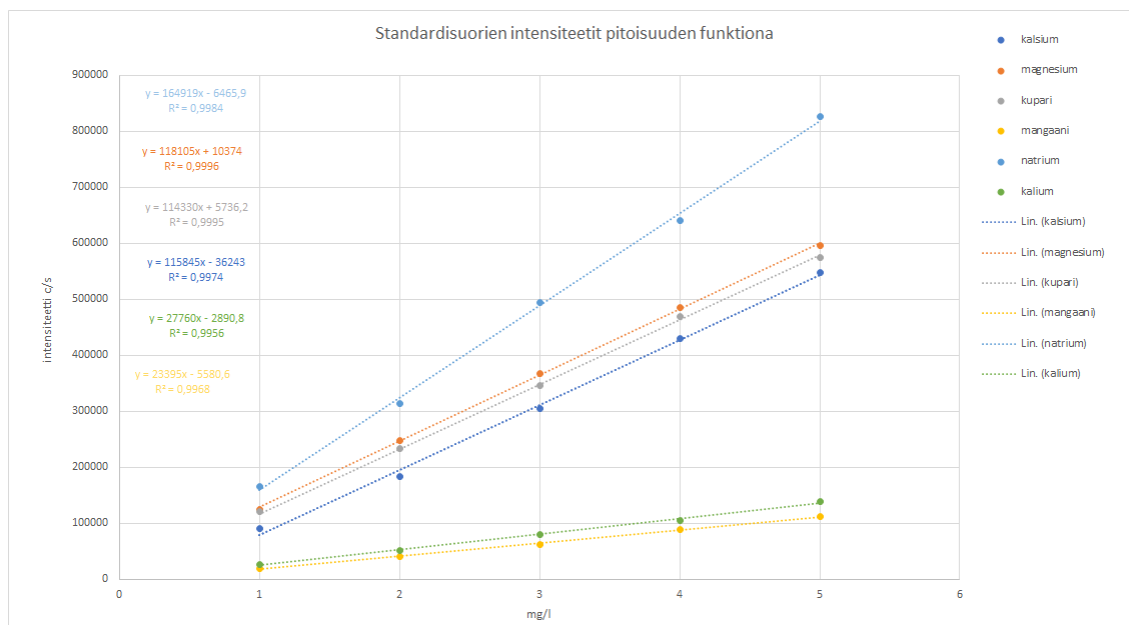
Valtioneuvoston asetus rajoittaa orgaanisen jätteen sijoittamista kaatopaikalle. Ympäristöministeriö, 2013. Verkkoaineisto. <[https://www.ymparisto.fi/FI/Ymparisto/Jatteen/Valtioneuvoston_asetus_rajoittaa_orgaani\(9922\)](https://www.ymparisto.fi/FI/Ymparisto/Jatteen/Valtioneuvoston_asetus_rajoittaa_orgaani(9922))>. Luettu 18.5.2019

Yoshida, Yuki. 2013. Analysis of aluminum in beverages using the Agilent 4100 Microwave Plasma-Atomic Emission Spectrometer (MP-AES) Application note.

Yasser M. Moustafa & Rania E. Morsi. Ion Exchange Chromatography – An Overview.

MP-AES mittaustulokset

Tässä liitteessä on esitelty MP-AES mittauksen kalibrintisuorat, mittaustulokset taulukoissa ja laskuesimerkkejä tulosten laskemisesta.



Kuva 11. MP-AES mittauksen intensiteettien ja standardiliuosten pitoisuuksien kautta saadut kalibrintisuorat

Taulukoissa X-Y on mitattujen intensiteettien kautta lasketut tulokset aineille kupari, kalsium, natrium, magnesium, mangaani ja kalium.

Taulukko 9. MP-AES mittauksen standardien intensiteetit

		Standardit					
mg/l		Ca	Mg	Cu	Mn	Na	K
intensiteetit c/s	1	91332,56	125251,48	120771,21	19934,88	166201,59	26756,56
	2	183814,46	247564,38	232876,71	40153,41	313195,57	51433,9
	3	304026,85	368076,13	346156,2	61446,49	494231,62	80497,09
	4	429636,81	485984,15	469934,21	88993,81	640858,51	103968,33
	5	547645,06	596566,24	573892,45	112487,79	826963,59	139288,92
	slope	115844,7	118104,9	114330,0	23394,6	164918,7	27759,9
intercept		-36243,1	10373,7	5736,2	-5580,6	-6465,9	-2890,8

Taulukko 10. MP-AES mittauksen biokaasulaitoksen näytteiden mittaustulokset intensiteettinä ja laskettuina pitoisuuksina

		GASUM rejektiveden mittaustulokset					
mg/l		Ca	Mg	Cu	Mn	Na	K
intensiteetit c/s	N1.1	95096	11125,70	1914,43	119,26	2812963,81	374902,43
	N1.2	98464,66	10996,02	2046,86	97,72	2878785,86	381928,87
	N2.1	32747,88	3248,72	1266,30	53,6	2405833,65	355928,06
	N2.2	34181,7	3232,62	1120,26	56,2	2415550,1	351835,0
	N3.1	72791,1	5936,28	1640,91	83,3	4387677,5	685428,7
	N3.2	70105,3	5917,13	1615,68	79,32	4355594,7	668678,0
mg/l, laimennusker-	N1.1 mg/l	113	18	7	24	1710	1361
	N1.2 mg/l	116	18	7	24	1749	1386
	N2.1 mg/l	60	12	6	24	1463	1293
	N2.2 mg/l	61	12	6	24	1469	1278
	N3.1 mg/l	47	7	3	12	1332	1240
	N3.2 mg/l	46	7	3	12	1322	1210
	Keskiarvot	74	12	5	20	1508	1294

Taulukko 11. MP-AES mittauksen panimon näytteiden mittaustulokset intensiteettinä ja laskettuina pitoisuuksina

UG Brewery:n pohjalietteen mittaustulokset							
		Ca	Mg	Cu	Mn	Na	K
intensiteetit c/s	1:100 suhde, N1	13002,49	11686,44	288,21	-19,06	1350,25	7140,38
	1:100 suhde, N1-2	16264,39	13026,22	55,85	-17,87	1831,02	8698,85
	1:100 suhde, N2	15557,82	13141,97	71,95	-18,91	1392,11	9382,57
	1:100 suhde, N2-2	15684,83	13500,14	23,43	-15,28	1403,54	9244,87
mg/l, laimennuskerroin	1:100 suhde N1, mg/l	43	1	-5	24	5	36
	1:100 suhde N1-2, mg/l	45	2	-5	24	5	42
	1:100 suhde N2, mg/l	45	2	-5	24	5	44
	1:100 suhde N2-2, mg/l	45	3	-5	24	5	44
Keskiarvot		44	2	-5	24	5	41

Taulukko 12. MP-AES mittauksen projektissa käytetyn ravinneliuoksen näytteiden mittaustulokset intensiteettinä ja laskettuina pitoisuuksina

Projektissa käytetyn ravinneliuoksen mittaustulokset							
		Ca	Mg	Cu	Mn	Na	K
intensiteetit c/s	1:100 suhde N1	100137,2	39678,27	1880,22	174,89	111998,3	32191,31
	1:100 suhde N2	102839,6	37935,94	1933,97	189,78	119892,52	33702,98
	1:10 suhde N1	978269,8	286337,6 9	6039,67	1904,22	818787,84	191496,28
	1:10 suhde N2	961006,1	295355,4 7	6309,19	2002,11	852853,38	210872,24
	1:1 suhde	7000000	1782343, 8	51549,2 5	27062,3 9	2307614,8 2	1590674,0 2
mg/l, laimennuskerroin	1:100 suhde N1 mg/l	118	25	-3	25	72	126
	1:100 suhde N2 mg/l	120	23	-3	25	77	132
	1:10 suhde N1, mg/l	88	23	0	3	50	70
	1:10 suhde N2, mg/l	86	24	0	3	52	77
	1:1 suhde mg/l	61	15	0	1	14	57
Keskiarvot		94	22	-1	11	53	93

Näytteiden pitoisuuksien laskuihin on käytetty standardeista saatuja suoran yhtälöitä. Suoranyhtälössä

$$y = mx + b$$

y on saatu intensiteetti, m on suoran slope, eli kulmakerroin ja b on intercept, eli leikkauskohta. X on määritettävän aineen pitoisuus, joka selvitetään kääntämällä suoranyhtälö muotoon

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Tämän lisäksi tuloksia laskettaessa on otettu huomioon suoraan laimennuskertoimet, jotka vaihtelivat 1:10 ja 1:100. Taulukossa X näkyy näytteen tunnisteiden vierellä myös laimennuskerroin. Näytteen pitoisuus on siis kerrottu joko kymmenellä tai sadalla. Lopulta tuloksista on laskettu keskiarvot.

Esimerkkinä UG Breweryn 1:100 suhde, N1 näyte kaliumin pitoisuus (taulukko 11)

$$x = \frac{7140,38 - (-2890,8)}{27759,9} * 10 = 36,135504801$$