

TERTIÄÄRISEN FLOTAATION VAIKUTUS JÄTEVEDEN PUHDIS- TUKSESSA

Sonja Koskinen

Opinnäytetyö
Maaliskuu 2013
Paperi-, tekstiili- ja kemian-
tekniikan koulutusohjelma
Kemiantekniikan koulutus-
ohjelma

TAMPEREEN AMMATTIKORKEAKOULU
Tampere University of Applied Sciences

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Paperi-, tekstiili- ja kemiantekniikan koulutusohjelma
Kemiantekniikka

SONJA KOSKINEN:

Tertiäärinen flotaation vaikutus jäteveden puhdistuksessa

Opinnäytetyö 60 sivua, joista liitteitä 8 sivua

Maaliskuu 2013

Tämä opinnäytetyö tehtiin Oriveden kaupungin Tähtiniemen jätevedenpuhdistamolle. Työn tavoitteena oli selvittää, kuinka tertiäärinen flotaatio eli flotaatio jälkiselkeytysmenetelmänä poistaa indikaattoribakteereita puhdistettavasta jätevedestä. Työn tarkoituksena oli määrittää flotaatioon menevän jäteveden koliformisten, fekaalisten koliformisten ja fekaalisten enterokokki-bakteerien pitoisuudet ja verrata näitä tuloksia flotaatiosta lähtevän jäteveden bakteeripitoisuuksiin. Lisäksi työssä määritettiin *Escherichia coli*-bakteerien vähenemää. Analyysimenetelmäksi työhön valittiin standardin mukainen kalvosuodatusmenetelmä. Työn tutkimusmenetelmä oli kvantitatiivinen eli määrällinen menetelmä.

Työn tulokset olivat suuntaa antavia, sillä otoskoko oli pieni mikrobiologiseen selvitykseen. Tuloksista on kuitenkin selkeästi nähtävissä, että kaikkien tutkittujen bakteerien pitoisuudet pienenevät tertiäärisen flotaation vaikutuksesta. Koliformisten bakteerien pitoisuus väheni keskimäärin 84 %, fekaalisten koliformisten bakteerien pitoisuus väheni 73 % ja fekaalisten enterokokkien pitoisuus väheni 90 % flotaatioprosessissa. *E.Coli*-bakteerien vähenemä oli 88 %.

Tämän työn tuloksista oli nähtävissä, että jälkiselkeytysmenetelmänä käytetty flotaatio puhdistaa vesistöön johdettavaa puhdistettua jätevettä merkittävästi indikaattoribakteerien osalta. Tämä on purkuvesistöjen hygieenisen laadun kannalta merkittävä asia. Flotaation puhdistavaa vaikutusta voisi tutkia laajemmin ottamalla mukaan tutkimukseen esimerkiksi fosforin ja kiintoaineen pitoisuudet. Flotaation bakteereita puhdistavaa vaikutusta voisi myös tutkia lisää keräämällä näytteitä pidemmältä aikaväliltä, jotta tuloksista tulisi luotettavampia ja saataisiin tietoa vuodenaikojen merkityksestä puhdistustulokseen.

Asiasanat: flotaatio, jätevesi, puhdistamo, bakteerit

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree programme in Paper, Textile and Chemical Engineering
Option of Chemical Engineering

KOSKINEN, SONJA:

Cleaning Effect of Tertiary Flotation to Wastewater Treatment

Bachelor's thesis 60 pages, appendices 8 pages

March 2013

This thesis was made in cooperation with Orivesi. The objective of this study was to gather information about the tertiary flotation and find out how effectively it cleans the indicator bacteria from wastewater. The purpose of this thesis was to research indicator bacteria and how much these are decreased by the tertiary flotation. In the theory part of this thesis Tähtiniemi wastewater plant located in Orivesi is described, its flotation process, pathogens and indicator bacteria in wastewater. In the empirical part, water samples taken from the wastewater plant are presented. The analysis method used was membrane filtration method.

The results are indicative because of the small number of samples. The results indicate that the tertiary flotation process cleans wastewater bacteria very well. There were 84 % less of coliform bacteria after flotation. The fecal coliform bacteria were decreased 73 % and fecal enterococcus bacteria were decreased 90 %. *E.Coli* bacteria were decreased 88 %.

The findings indicate that the tertiary flotation cleans indicator bacteria from wastewater efficiently. Further research is required to get more statistically reliable results. Further studies could be done e.g. by studying how tertiary flotation decreases phosphoric concentration and solids content from wastewater.

Key words: wastewater, flotation, pathogens, indicator bacteria

ALKUSANAT

Työ tehtiin Oriveden kaupungin Tähtiniemen jätevedenpuhdistamolle marraskuun 2012 ja helmikuun 2013 välisenä aikana. Haluan kiittää Oriveden kaupunkia mielenkiintoisesta opinnäytetyöaiheesta. Haluan myös kiittää ohjaajiani koulun puolelta lehtori Anne Ojalaa, lehtori Mervi Tapola-Salmista sekä laboratorioinsinööri Marja-Liisa Laaksosta.

Tampereella 2013

Sonja Koskinen

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	8
2	ORIVEDEN TÄHTINIEMEN PUHDISTAMO.....	10
3	YHDYSKUNTAJÄTEVESIEN PUHDISTUSVAATIMUKSET.....	11
	3.1 Hygieeninen laatu	11
	3.2 Uimavesien laatu.....	11
	3.3 Jätevedenpuhdistamon seurannan perusteet	12
4	FLOTAATIO.....	15
	4.1 Flotaatio	15
	4.2 Flotaation puhdistava vaikutus mikrobeihin.....	16
	4.3 Flotaatio jätevedenpuhdistuksessa	16
5	JÄTEVEDEN PATOGEENIT	19
	5.1 Jäteveden patogeeneit	19
	5.2 Taudinaiheuttajabakteerit.....	20
	5.3 Indikaattoribakteerit.....	20
	5.3.1 Koliformiset bakteerit	21
	5.3.2 Fekaaliset koliformiset bakteerit.....	22
	5.3.3 Escherichia coli eli E. Coli.....	22
	5.3.4 Fekaaliset enterokokit	23
6	INDIKAATTORIBAKTEERIEN TUTKIMINEN	24
	6.1 Hygieeninen vesianalyysi	24
	6.2 Kalvosuodatusmenetelmä	24
	6.2.1 Koliformiset bakteerit	25
	6.2.2 Fekaaliset koliformiset bakteerit.....	26
	6.2.3 Fekaaliset enterokokit	27
	6.3 Vesinäytteenotto mikrobiologista tutkimusta varten	27
7	KOKEELLINEN OSUUS.....	29
8	TULOKSET	37
	8.1 Koliformiset bakteerit	38
	8.2 E.Coli	40
	8.3 Fekaaliset koliformiset bakteerit.....	40
	8.4 Fekaaliset enterokokit	43
9	POHDINTA.....	48
	LÄHTEET.....	50

LIITTEET	53
Liite 1. Näytteenottosuunnitelma	53
Liite 2. Tehdyt oksidaasitestit tuloksineen	54
Liite 3. Tehdyt indolitestit tuloksineen.....	55
Liite 4. Koliformiset bakteerit, näytetiedot ja tulokset.....	56
Liite 5. Fekaaliset koliformiset bakteerit, näytetiedot ja tulokset	57
Liite 6. Fekaaliset enterokokki bakteerit, näytetiedot ja tulokset.....	58
Liite 7. Kuvia kasvualustoista	59
Liite 8. Kuvia kasvualustoista	60

ERITYISSANASTO

AVL	Asukasvastineluku, tarkoittaa biologisesti hajoavien epäpuh- tauksien mittayksikköä, joka vastaa yhden henkilön vuoro- kautista keskimääräistä kuormitusta.
BHK ₇ tai BOD ₇	Biologinen hapenkulutus, 7 päivän mittausjakso.
COD _{cr}	Kemiallinen hapen kulutus (dikromaatti hapetus)
Kiintoaine	Hiukkasmaista, eloperäistä eli orgaanista materiaalia tai hiukkasmaista, elotonta eli epäorgaanista materiaalia
Patogeeni	Taudinaiheuttaja
Inkubointi	Bakteerien kasvatusta tietyissä olosuhteissa
Membraani	Kalvosuodatusmenetelmässä käytettävä suodatinkalvo
Pmy	Pesäkkeen muodostava yksikkö
MPN	Most Probably Number, Putkimenetelmä, jolla määritetään bakteerien todennäköinen lukumäärä
Agar	Polysakkaridiseos, jota käytetään hyytelöimisaineena esimerkiksi kasvualustojen valmistuksessa

1 JOHDANTO

Jätevesien puhdistus on lailla ja asetuksilla säädeltyä toimintaa. Laki ja ympäristöluvat määrittävät jäteveden puhdistukselle tietyt tavoitearvot. Jätevedenpuhdistamolta vesistöön päästettävälle puhdistetulle jätevedelle ei ole tällä hetkellä laissa säädetty hygieenisiä laatuvaatimuksia. Jätevedenpuhdistamoiden ympäristöluvat edellyttävät kuitenkin, että jätevesi on käsiteltävä siten, että siitä ei aiheudu terveydellistä haittaa. Tulevaisuudessa lupaehdot voivat kiristyä ja bakteeripitoisuuksille voi tulla raja-arvoja.

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää kuinka jälkiselkeytysmenetelmänä käytetty floataatiotekniikka vähentää koliformisten, fekaalisten koliformisten ja fekaalisten enterokokki-bakteerien pitoisuuksia. Työn tarkoituksena oli tutkia bakteeripitoisuuksia kalvosuodatusmenetelmällä flotaatioon menevästä jätevedestä ja flotaatiosta lähtevästä puhdistetusta jätevedestä. Työhön rajautuivat tutkittavaksi indikaattoribakteerit sen vuoksi, että näitä bakteereita käytetään uimaveden laadun valvonnassa ja niitä pystytään tutkimaan Tampereen ammattikorkeakoulun laboratoriossa. Lisäksi työ rajautui koskemaan ainoastaan Oriveden Tähtiniemen puhdistamaa.

Työn teettäjä oli Oriveden kaupunki ja kokeellinen osuus suoritettiin Tampereen ammattikorkeakoulun laboratoriossa. Oriveden Tähtiniemen jätevedenpuhdistamolla on ollut vuosina 2012 ja 2013 käynnissä saneeraus, jonka myötä käyttöön on tullut flotaatio jälkiselkeytysmenetelmänä. Saneeraukseen on johtanut käsiteltävän jäteveden määrän kasvu, jonka taustalla on päätös johtaa Juupajoen jätevedet puhdistettavaksi Tähtiniemen puhdistamolle. Flotaatio valikoitui käytettäväksi jälkiselkeytysmenetelmäksi, koska toisena vaihtoehtona ollut lamelliselkeytyksen ja hiekkapatjasuodatuksen yhdistelmä olisi vaatinut puhdistusrakennuksen katon korotusta ja toinen syy oli flotaation tehokkaampi puhdistava vaikutus (Hietanen 2012, 8).

Kirjallisessa osassa perehdyttiin yhdyskuntajäteveden sisältämiin patogeeneihin eli taudinaiheuttajiin, indikaattoribakteereihin ja niiden tutkimusmenetelmiin. Flotaatioprosessia on käsitelty työssä sekä yleisesti kiintoaine-neste erotusmenetelmänä että osana jätevedenpuhdistusta. Työssä käsiteltiin yleisesti Oriveden Tähtiniemen jätevedenpuhdistamoa, yhdyskuntajäteveden puhdistusvaatimuksia sekä jäteveden hygieenista laatua. Lisäksi työssä on kokeellinen osuus, joka sisältää jätevesinäytteiden tutkimustulokset ja tulosten analysoinnin.

2 ORIVEDEN TÄHTINIEMEN PUHDISTAMO

Oriveden kaupungin omistama Tähtiniemen jätevedenpuhdistamo on otettu käyttöön vuonna 1975. Tämän jälkeen puhdistamoa on saneerattu useamman kerran. Viimeisin saneeraus on ollut vuosina 2012- 2013 ja sen tarve syntyi päätöksestä johtaa Juupajoen kunnan ja Hirsilän taajaman jätevedet Tähtiniemen puhdistamoon. (Tähtiniemen jätevedenpuhdistamo.)

Tähtiniemen jätevedenpuhdistamo on kolmilinjainen aktiivilietelaitos, joka on varustettu jälkisaostuksella. Saostuskemikaaleina prosessin alkupäässä on käytössä ferrosulfaatti (FeSO_4) ja jälkisaostuksessa ferrisulfaatti ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$). Sammutettua kalkkia eli kalsiumhydroksidia ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) käytetään pH:n säätelyyn. Puhdistusprosessissa syntyvä liete jatkojalostetaan turpeen kanssa kompostiksi. Komposti on tuotteistettu tuote, jota valvoo Elintarviketurvallisuusvirasto (Evira). Komposti soveltuu hyvin viherrakentamiseen sekä heinä- ja viljakasvien viljelyyn. Se ei sovellu mukulakasvien, kuten perunan ja porkkanan viljelyyn, sillä se sisältää esimerkiksi raskasmetalleja ja lääkkeitä. (Hietala 2012.)

Tähtiniemen jätevedenpuhdistamolla prosessia ohjataan lieteikäperusteisesti. Liete kiertää selkeyttämön lietetaskuista takaisin ilmastusaltaan alkupäähän. Ensimmäinen vaihe jätevedenpuhdistuksessa on jäteveden karkeimpien kiinteiden epäpuhtauksien, esimerkiksi talouspaperin ja pumpulipuikkojen, poistaminen välppien avulla. Tämän jälkeen jäteveeseen lisätään kalkki pH:n säätelyä varten. Tavoitteen mukainen pH on yli 6. Jäteveden eliöstön hengissä pitämisen vuoksi ilmastusaltaissa happipitoisuus pidetään 2- 4 mg/l välillä. Aktiivilietteessä on lähinnä nitrifikaatio- ja denitrifikaatiobakteereita sekä BHK: ta poistavia bakteereita (biologinen hapenkulutus) ja alkueläimiä. Ilmastuksen jälkeen seuraava prosessi on selkeytys, jossa liete laskeutetaan vedestä. Palautuslietteeseen lisätään ferrosulfaattia, jolloin fosfaateista saadaan saostumaan niukkaliukoisia metallisuoloja. Selkeytyksestä jätevesi menee jälkiselkeytykseen, joka on nykyään floataatio-prosessi. Flotaation jälkeen puhdistettu jätevesi johdetaan vesistöön, Oriselkäjärveen. (Oksanen 2012.)

3 YHDYSKUNTAJÄTEVESIEN PUHDISTUSVAATIMUKSET

3.1 Hygieeninen laatu

Puhdistetun jäteveden fosforin, typen ja kiintoaineen pitoisuuksille sekä biologiselle ja kemialliselle hapenkulutukselle on asetettu puhdistusvaatimuksia. Sen sijaan hygieenisiä laatuvaatimuksia puhdistetulle yhdyskuntajätevedelle ei ole vielä Suomessa säädetty. Jätevedenpuhdistamoiden ympäristöluvut vaativat kuitenkin, että jätevedet käsitellään niin, että niistä ei aiheudu terveydellistä haittaa. Jäteveden hygieenisen laadun tarkkailu voi perustua esimerkiksi uimavedelle (STM 177/2008) asetettuihin mikrobiologisiin laatuvaatimuksiin. Suolistobakteerien eli indikaattoribakteerien esiintyminen vedessä kertoo sairastumisriskistä, sillä indikaattoribakteerien lisäksi vedessä voi olla patogeeneja eli taudinaiheuttajia. Jos vesi on hygieeniselta laadultaan huonoa, voidaan vedelle asettaa käyttörajoituksia, esimerkiksi uimakielto. (Suolistobakteerit veden laadun kuvaajina 2010; Vesien hygieeninen laatu 2010; Yhdyskuntajätevesien puhdistuslaitosten... 2011, 26.)

3.2 Uimavesien laatu

Uimavesien hygieeniselle laadulle on annettu sosiaali- ja terveysministeriön taholta asetus (177/2008), joka sisältää raja-arvoja laadulle. Nämä raja-arvot on esitetty taulukossa 1. Veden hygieeninen laatu arvioidaan huonoksi, kun vesi sisältää ulosteperäisiä bakteereita. Suomessa sisävesien hygieeninen laatu on parantunut viime vuosikymmenten aikana. Tähän on vaikuttanut esimerkiksi jätevedenpuhdistamoiden määrän lisääntyminen ja jätevedenpuhdistamoiden puhdistustehon parantuminen. (Vesien hygieeninen laatu 2010.)

TAULUKKO1. Uimavesien hygieeniset laatuvaatimukset. Muokattu Sosiaali- ja terveysministeriön laatuvaatimukset uimaveden laadulle (Uimaveden laatuvaatimukset ja –suositukset).

Sisämaan uimavedet	Erinomainen laatu	Hyvä laatu
Suolistoperäiset enterokokit (pmy/100ml)	200*	400*
E.Coli (pmy/100ml)	500*	1000*
Rannikon uimavedet		
Suolistoperäiset enterokokit (pmy/100ml)	100*	200*
E.Coli (pmy/100ml)	250*	500*
pmy= pesäkkeen muodostava yksikkö		
* Perustuu 95. prosenttipisteeseen		

3.3 Jätevedenpuhdistamon seurannan perusteet

Valtioneuvoston antaman asetuksen mukaiset raja-arvot yhdyskuntajätevesille on esitetty taulukossa 2 ja ne tulivat voimaan 12.10.2006. Asetus antaa raja-arvot biologiselle ja kemialliselle hapenkulutukselle, kiintoaineelle, sekä fosforille ja typelle. (Yhdyskuntajätevesien puhdistuslaitosten päästöjen seuranta ja raportointi- hyvien menettelytapojen kuvaus.)

TAULUKKO 2. Valtioneuvoston asetus yhdyskuntajätevesistä (888/2006) (Yhdyskuntajätevesien puhdistuslaitosten... 2011, 38).

Valtion neuvoston asetus yhdyskuntavesistä (888/2006)	Enimmäispitoisuus, mg/l	Puhdistus-teho
BHK 7 tai BOD 7	30	70 %
Fosfori		
Ammoniumtyppi		
Kemiallinen hapenkulutus (COD)	125	75 %
Kiintoaine	35	90 %
Ravinteet:		
Kokonaisfosfori	3 (alle 2 000 avl)	80 %
	2 (2 000-100 000 avl)	80 %
	1 (yli 100 000 avl)	80 %
Kokonaistyyppi	15 (10 000-100 000 avl) ⁴⁾	70 %
	10 (yli 100 000 avl) ⁴⁾	70 %

Oriveden Tähtiniemen jätevedenpuhdistamon ympäristöluvan mukaiset lupaehdot on esitetty taulukossa 3. Verratessa näitä lupaehtoja valtioneuvoston asetukseen on nähtävissä, että paikalliset ympäristöluvan mukaiset lupaehdot ovat huomattavasti tiukempia.

TAULUKKO 3. Oriveden Tähtiniemen jätevedenpuhdistamon lupaehdot 1.1.2011 alkaen (Hietala 2012).

Tähtiniemen jätevedenpuhdistamon lupaehdot vuodesta 1.1.2011 alkaen	Enimmäispitoisuus, mg/l	Vähimmäis-teho, %
Biologinen hapenkulutus (BOD7ATU),O2	10	95
Kemiallinen hapenkulutus (CODCr),O2	60	85
Fosfori, P	0,3	95
Ammoniumtyppi, N	4	90
Kokonaistyyppi	—	60

Yhdyskuntajätevesien puhdistuslaitosten päästöjen seuranta ja raportointi-oppaan tarkoituksena on yhdyskuntajätevesipuhdistamoiden päästöjen seuranta- ja raportointikäytäntöjen yhtenäistäminen. Yksi tärkeä tavoite on varmistaa, että päästöjen seuranta täyttää Euroopan yhteisöjen neuvoston yhdyskuntajätevesien käsittelystä antaman direktiivin (91/271/ETY) ja myös valtioneuvoston yhdyskuntajätevesistä antaman asetuksen (888/2006) vaatimukset. (Yhdyskuntajätevesien puhdistuslaitosten... 2011, 3.)

Ympäristönsuojelulaki (86/2000) ja – asetus (169/2000) määrää, että asukasvastineluvultaan vähintään 100 henkilön jätevedenpuhdistamo tarvitsee ympäristöluvan. Alue-

hallintovirasto (AVI) toimii lupaviranomaisena. Ympäristölupapäätös sisältää määräykset päästöistä, niiden ehkäisemisestä, päästöpaikan sijainnista sekä jätteistä ja niiden haitallisuuden vähentämisestä. Lisäksi päätöksessä on määräykset toimista häiriö- ja poikkeustilanteissa, käyttötarkkailusta, päästöjen, jätehuollon ja jätteiden toiminnan vaikutuksista ja toiminnan lopettamisen jälkeisen ympäristön tilan tarkkailusta. Jätevedenpuhdistamoiden päästöjen seurannassa tärkeään rooliin nousee ympäristölupapäätöksessä määrätty tarkkailu eli velvoitetarkkailu. Sen tarkoituksena on tuottaa tietoa ympäristöluvan lupamääräysten valvonnasta. Toiminnanharjoittaja on ensisijaisesti vastuussa velvoitetarkkailusta ja tarkkailun toteutusta valvovat valvontaviranomaiset, joita ovat kuntien ympäristönsuojeluviranomaiset sekä elinkeino-, liikenne- ja ympäristökeskukset (ELY- keskuskeskukset). Tarkkailusta tehdyt raportit ja tarkkailun tulokset ovat julkisia asiakirjoja. (Yhdyskuntajätevesien puhdistuslaitosten...2011, 6-7.)

Jätevedenpuhdistamolle tulevasta ja lähtevästä jätevedestä analysoidaan velvoitetarkkailussa pH, sähkönjohtavuus, alkaliteetti, biologinen hapenkulutus $BOD_{7\text{atu}}$, kemiallinen hapenkulutus COD_{Cr} , kiintoaine, kokonaisfosfori ja kokonaistyyppi. Lähtevästä jätevedestä analysoidaan lisäksi liukoinen fosfori, ammoniumtyppi, saostuskemikaalin jäännöspitoisuus (liukoinen alumiini ja/tai rauta) sekä nitraatti- ja nitriittitypen summa, jos puhdistamolla on typenpoistovaatimus. Velvoitetarkkailuun voi sisällyttää myös muun muassa lietteen mikroskopointia ja jätevesien myrkyllisyyden tutkimista. (Yhdyskuntajätevesien puhdistuslaitosten... 2011, 18.)

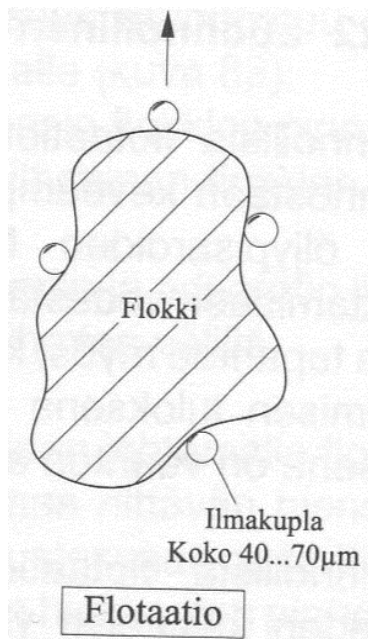
Valtioneuvoston asetus yhdyskuntajätevesistä (888/2006) antaa vähimmäisvaatimukset asukasvastineluvultaan vähintään 100 henkilön suuruisten taajamien jätevesien tarkkailulle ja käsittelylle. Puhdistamon toiminnan minimitason määrää yhdyskuntajätevesiasetus. Tapauskohtaiset varsinaiset jätevesien käsittely- ja tarkkailuvaatimukset määräytyvät ympäristöluvista, jotka tulevat lupaviranomaiselta. (Yhdyskuntajätevesien puhdistuslaitosten.. 2011, 7-8.)

Euroopan yhteisön neuvoston direktiivi yhdyskuntajätevesien käsittelystä (91/271/ETY) on koko Euroopan unionin alueella voimassa oleva yhdyskuntajätevesien käsittelyä määrittävä direktiivi. Direktiivin avulla suojellaan ympäristöä jätevesien haittavaikutuksilta. Se koostuu vaatimuksista, jotka koskevat taajamien viemärointiä, jätevesien käsittelyä ja sen tarkkailua. Suomessa yhdyskuntajätevesidirektiivi astui voimaan 1.6.1994. (Yhdyskuntajätevesien puhdistuslaitosten... 2011, 6.)

4 FLOTAATIO

4.1 Flotaatio

Flotaatio on kiintoaine-neste erotusmenetelmä, jossa nesteessä olevat hiukkaset erotetaan kaasukuplien avulla. Veteen johdetaan kaasukuplia, yleensä ilmaa, jotka kiinnittyvät partikkeliin. Tällöin kaasukuplat saavat partikkelit kellumaan ja ne nousevat nesteen pinnalle, josta ne kerätään pois. Kuva 1 havainnollistaa, kuinka ilmakuplat ovat kiinnittyneet partikkelin pinnalle ja saavat partikkelin nousemaan ylöspäin. Flotaatio voidaan jakaa luonnolliseen flotaatioon ja flotaatioon, jossa käytetään ilmaa. (Hammer & Hammer 2001, 65-66; Karttunen 1999, 56-57; Karttunen 2004, 97.)



KUVA 1. Flotaation periaate .(Karttunen 2004, 97)

Luonnollisessa flotaatiossa partikkelin tiheys on luonnostaan riittävästi pienempi kuin veden tiheys. Tätä menetelmää käytetään esimerkiksi erotettaessa öljy vedestä. (Karttunen 2004, 97- 98.) Partikkelin tiheyden ollessa suurempi kuin veden tiheys, käytetään ilmaa apuna partikkelien nostamissa pintaan. Ilmaflotaatio perustuu siihen, että kiinteä partikkeli ja kaasu muodostavat yhdessä vettä kevyemmän partikkelin. Ilmaflotaatio voidaan jakaa ilmaflotaatioon, paineflotaatioon ja vakuumiflotaatioon. Ilmaflotaatiossa veteen johdetaan ilmaa, joka on normaalipaineessa. Paineflotaatiossa veteen liuotetaan ilmaa painesäiliössä, jolloin saadaan dispersioivettä (DAF-menetelmä). Vakuumiflotaatio

tio on menetelmä, jota käytetään jäteveden käsittelyssä. Siinä jäteveteen johdetaan ilmaa ilmastustankissa tai johtamalla ilmaa jätevesipumpun imupuolelle (Tchobanoglous & Burton 1991, 242-243). Ilmaflotaatiossa paras tulos saadaan, kun ilmakuplien halkaisija on välillä 40 – 70 µm. Parhaiten ilmaflotaatio sopii prosesseihin, joissa poistetaan partikkeilta, joiden tiheys on lähellä veden tiheyttä. (Hammer & Hammer 2001, 65-66; Karttunen 1999, 56-57; Karttunen 2004, 97-99.) Karttusen mukaan (2004) flotaatio itsessään ei käytännössä toimi ellei sitä tehosteta kemikaalien avulla. Tällaisia reagensseja ovat vaahdotteet, kokoojat ja säännöstelyreagenssit. Näiden avulla vaikutetaan partikkelien pintajännitykseen.

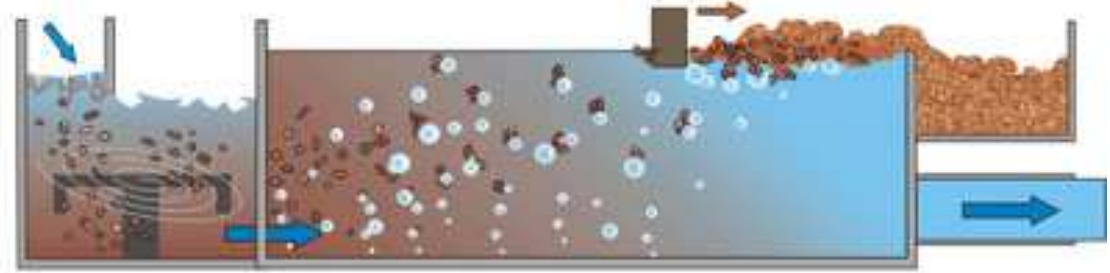
4.2 Flotaation puhdistava vaikutus mikrobeihin

Flotaation mikrobeja puhdistavasta vaikutuksesta ei ole juurikaan saatavilla tutkittua tietoa. Kuopion yliopisto on tehnyt tutkimuksen tertiääriseen flotaation mikrobeja puhdistavasta vaikutuksesta. Tutkimuksessa kerrotaan, että jäteveden sisältämistä mikrobeista poistuu 90-99,9% biologis-kemiallisten puhdistusprosessien avulla. Tästä huolimatta puhdistettu jätevesi sisältää paljon mikrobeja. Tertiääriseen puhdistusprosessin eli jäteveden jälkikäsittelyn tai desinfioinnin avulla voidaan mikrobeja poistaa entistä tehokkaammin. Kuopion Lehtoniemen jätevedenpuhdistamolla on tehty tutkimustyötä pilot-mittakaavassa. Sen tavoitteena oli tuottaa jätevettä, joka täyttäisi tiukat vaatimukset mikrobiologiselta ja fysikaalis-kemialliselta laadultaan. Tämän tutkimuksen mukaan suolistomikrobit vähenivät flotaatioprosessissa 80-90%, mutta silti puhdistettu jätevesi ei täyttänyt uimaveden laatuvaatimuksia. Tutkimuksen tulokset osoittivat, että tertiäärisellä flotaatiolla puhdistetun jäteveden laatu parani huomattavasti. (Koivunen 2005.)

4.3 Flotaatio jätevedenpuhdistuksessa

Karttusen mukaan (2004, 511-515) flotaatiota käytetään harvemmin jätevesien prosessoinnissa. Puhtaan veden käsittelyssä flotaatio on yleisesti käytössä. Yleisin flotaation käyttökohde jätevesiteknikassa on lietteen tiivistyksessä. Jätevedenpuhdistuksessa voidaan flotaatiota käyttää myös jälkiselkeytysmenetelmänä. Tertiäärisessä flotaatiossa jäteveteen sekoitetaan kemikaalia, jonka vaikutuksesta syntyy kiintoainehiukkasten yhteenliittymiä eli flokkeja. Jäteveteen johdetaan ilmaa siten, että syntyy pieniä ilmakup-

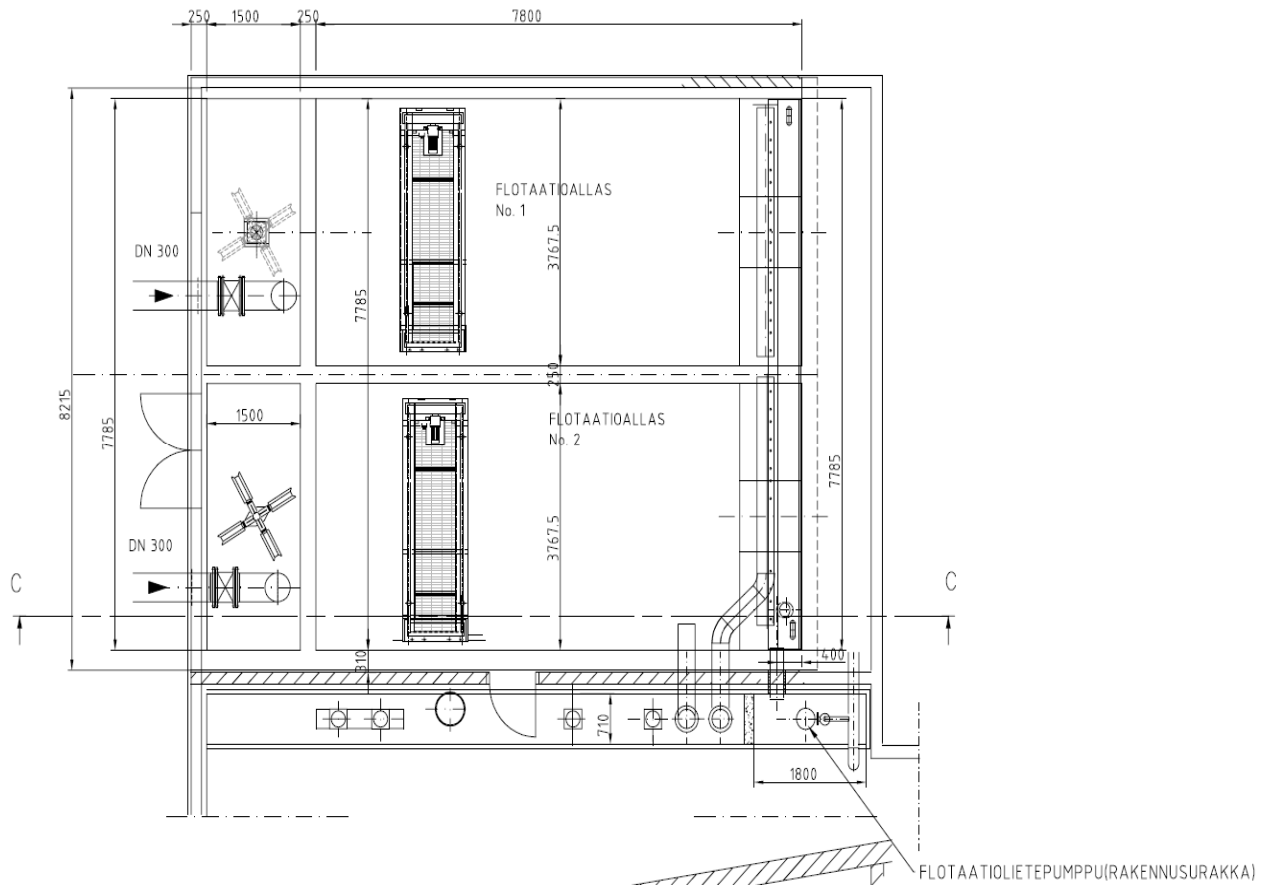
lia. Ilmakuplien avulla flokit nousevat veden pintaan. Jäteveden pinnalle syntynyt liete-kerros kaavitaan pois. Kuvassa 2 on esitetty karkeasti flotaation toimintaperiaate. Puhdistettu vesi johdetaan purkuvesistöön. Tämän prosessin avulla voidaan pienentää entisestään purkuvesistöön laskettavan puhdistetun jäteveden kiintoainepitoisuutta. Myös mikrobien määrä vähenee flotaation avulla, koska niitä poistuu kiintoaineen mukana.



KUVA 2. Perusperiaatekuva flotaatiosta. (Flotaatio)

Flotaation hyviä ominaisuuksia ovat hyvä puhdistustulos kevyelle lietteelle, pieni pintalan tarve ja lyhyt viipymäaika. Lisäksi prosessi sietää hyvin suuria pitoisuuksia kiintoainetta. Huonoina puolina on suuri energian ja kemikaalien tarve. (Pienimäki 2010, 15.)

Tähtiniemen saostuskemikaali flotaatiossa on PIX-105. Laitoksen flotaatio on kaksilinjainen ja se on toteutettu jakamalla ennen jälkiselkeytyksessä käytössä ollut lamelliselkeyttämö kahtia. Kuvassa 3 on esitetty allastasokuva Tähtiniemen jätevedenpuhdistamon flotaatioaltaista. Ennen flotaatiota on pikasekoitus-hämmennyslinja, joka koostuu kolmiosaisesta pikasekoitusaltaasta sekä kaksiosaisesta hämmennysaltaasta. (Hietanen 2012, 29).



KUVA 3. Allastasokuva Tähtiniemen flotaatio (Allastasokuva).

5 JÄTEVEDEN PATOGEENIT

5.1 Jäteveden patogeenit

Yhdyskuntajäteveden patogeeneja eli taudinaiheuttajia ovat bakteerit, virukset ja alkueläimet. Päivässä ihminen tuottaa noin 100-400 miljardia kolibakteeria ja ulosteiden mukana näitä bakteereita siirtyy jäteveeseen. Käsittelemätön jätevesi sisältää yli kolme miljoonaa koliformista bakteeria 100 ml jätevettä kohden. (Hammer & Hammer 2001, 65: Puhakka 2002, 437.) Puhdistettaessa jätevettä, sen bakteerimäärä vähenee 80-99 %. Tehokkaasta jätevedenpuhdistuksesta huolimatta puhdistetussa jätevedessä on terveysriski, sillä siihen jää patogeeneja. Esimerkiksi bakteereilla taudinaiheuttamiskyky eli infektion aiheuttamiseen tarvittava bakteerimäärä on 100-10 000 000 bakteeria. (Jäteveden vesistö- ja hygieniavaikutukset.)

Jätevesi sisältää erilaisen määrän bakteereita eri vaiheissa puhdistusprosessia. Taulukossa 4 on esitetty bakteerien määriä jätevedessä eri osaprosessien aikana. Taulukosta on nähtävissä, että bakteeripitoisuudet pienevät jäteveden puhdistusprosesseissa ja erityisesti tertiääriseen käsittelyyn jälkeen elävien bakteerien määrä on pienentynyt. (Puhakka 2002, 439.)

TAULUKKO 4. Bakteeripitoisuudet jätevedessä eri puhdistusprosessien aikana (Puhakka 2002, 439)

	Bakteerimäärä		
	Kokonais lkm/ml	Elävät lkm/ml	Elävien osuus kokonaismäärästä %
Selkeytetty jätevesi	6.8×10^8	1.4×10^7	2.0
Aktiiviliete	6.6×10^9	5.6×10^7	0.85
Biologisesti käsitelty jätevesi	5.2×10^7	5.7×10^5	1.1
Tertiäärisesti käsitelty jätevesi	3.4×10^7	4.1×10^4	0.12

5.2 Taudinaiheuttajabakteerit

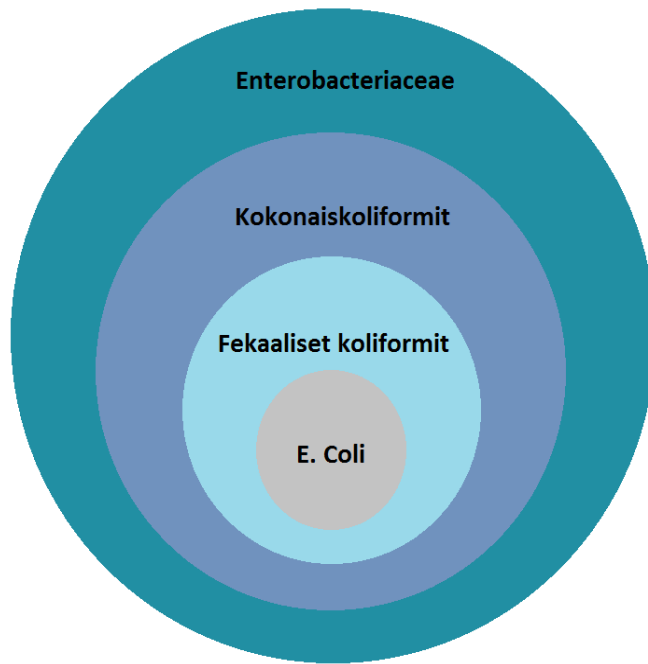
Taudinaiheuttajabakteereita jätevedessä ovat kampylobakteerit, shigellat, salmonellat, yersiniat ja vibriot. (Suolistoinfektioita aiheuttavat mikrobit jätevedessä.) Nämä bakteerit ovat erittäin infektoivia ja aiheuttavat muun muassa ripulia, mahakipuja ja oksentelua. Taudinaiheuttajabakteereita on työlästä ja vaikeaa tutkia ja menetelmät ovat yleensä kalliita, jonka vuoksi hygieeniaindikaattoreina käytetään helpommin tutkittavia indikaattoribakteereita. (Tchobanoglous & Burton 1991, 93.)

5.3 Indikaattoribakteerit

Suolistobakteereita kutsutaan myös indikaattoribakteereiksi, sillä niiden avulla voidaan määrittää veden hygieenista laatua. Hyvä indikaattorimikrobi on ominaisuuksiltaan seuraavanlainen (Hammer & Hammer 2001, 65; Hokajärvi, Pitkänen Torvinen & Miettinen 2008; Karttunen 2003, 245):

- Sitä on runsaasti siellä, missä on taudinaiheuttajamikrobeitakin
- Se ei lisäännä suoliston ulkopuolella
- Sitä esiintyy ainoastaan ihmisen tai tasalämpöisen eläimen suolistossa
- Sen tutkimusmenetelmät ovat yksinkertaisia
- Sen tulee olla pidempi-ikäinen kuin varsinainen taudinaiheuttaja bakteeri

Tutkimusmenetelmät indikaattorimikrobeille ovat usein edullisia ja yksinkertaisia. Paljon käytettyjä hygieeniatestejä ovat kokonaiskoliformien, fekaalisten koliformien ja fekaalisten enterokokkien määritykset (Hammer & Hammer 2001, 65-66; Tchobanoglous & Burton 1991, 93). Kuviossa 1 on havainnollistettu indikaattoribakteerien suhteita toisiinsa. Siitä on nähtävissä, että *Enterobacteriaceae* heimo sisältää kokonaiskoliformit, fekaaliset koliformit ja *Escherichia coli*-bakteerit.



KUVIO 1. Kuviossa on esitetty *Enterobacteriaceae*-heimon, kokonaiskoliformien, fekaalisten koliformien ja *E. Colin* suhteet (Maier, Pepper & Gerba 2009, 486).

Indikaattoribakteerien suotuisa kasvuympäristö on suolisto. Veteen joutuessaan indikaattori bakteerien pitoisuudet pienenevät, sillä vesi ei ole indikaattoribakteereille suotuisa kasvuympäristö. Bakteripitoisuuksien pieneneminen johtuu laimenemisesta, sedimentoitumisesta ja kuolemisesta, esimerkiksi auringonvalon (UV-säteily) vaikutuksesta. (Suolistobakteerit veden laadun kuvaajina, 2010.)

5.3.1 Koliformiset bakteerit

Koliformiset bakteerit ovat *Enterobacteriaceae*-heimoon kuuluvia bakteereita (Hammer & Hammer 2001, 66). Tarkasti määriteltynä koliformiset bakteerit ovat itiöitä muodostamattomia sauvabakteereja, gram-negatiivisia, oksidaasi-negatiivisia ja ne käyttävät laktoosia tuottaen happoa, kaasua ja aldehydiä 48 tunnissa (on laktoosiposiivinen) lämpötilan ollessa 35 °C tai 37 °C. (Veden koliformisten bakteerien kokonaismäärän määrittäminen kalvosuodatusmenetelmällä.)

Koliformiset bakteerit toimivat veden hygieenisen laadun indikaattorina. Yleisimpiä koliformisia bakteerisukuja ovat *Citrobacter* ja *Klebsiella*. (Koliformiset bakteerit ja *Escheria coli* 2005.) Lisäksi koliformiset bakteerit sisältävät *Enterobacteriaceae*-

heimon *Aerobacter*- ja *Escherichia*-bakteereita ja näitä esiintyy myös maaperässä. Tämän vuoksi koliformiset bakteerit eivät aina kerro ulosteperäisestä kontaminaatiosta. Myös *Escherichia coli*- bakteeri kuuluu koliformisiin bakteereihin ja se on yksi parhaita hygieeniaindikaattoreita. (Koliformiset bakteerit ja *Escherichia coli*, 2005; Tchobanoglous & Burton 1991, 93.)

Kokonaiskoliformit viittaavat laboratoriotesteissä kaikkiin koliformisiin bakteereihin ulosteissa, maaperässä ja muista lähteistä (Hammer & Hammer 2001, 65). Leinon (2008) mukaan ne eivät ole suoranaisia ulosteperäisen saastutuksen merkkejä, mutta ne toimivat hyvin likaantumisen yleisindikaattoreina.

5.3.2 Fekaaliset koliformiset bakteerit

Kokonaiskoliformeja on käytetty vuosia veden saastumisen indikaattoreina, mutta ne voivat olla peräisin myös muusta kuin ulosteperäisestä lähteestä. Fekaaliset koliformit osoittavat ulosteperäisen lähteen. Fekaaliset koliformit viittaavat koliformisiin bakteereihin, jotka ovat peräisin ihmisestä tai tasalämpöisestä eläimestä (Hammer & Hammer 2001, 65; Maier, Pepper & Gerba 2009, 490.) Lämmönkestoiset eli fekaaliset koliformiset bakteerit ovat bakteereita, jotka tuottavat happoa ja kaasua 24 tunnissa lämpötilan ollessa 44,5 °C. (Veden koliformisten bakteerien kokonaismäärän määrittäminen kalvosuodatusmenetelmällä.)

5.3.3 *Escherichia coli* eli E. Coli

E. Coli kertoo tuoreesta ihmis- tai eläinperäisestä ulosteperäisestä saastumisesta. Se on gram-negatiivinen, laktoosipositiivinen, sauva bakteeri. *E. Coli* pystyy tuottamaan indolia tryptofaanista. Tryptofaani on aminohappo, jota ihminen tarvitsee proteiinien rakennusaineeksi (Tryptofaani). Näillä bakteereilla on myös β -glukuronidaasi-entsyymi. Suurin osa *E. Coli*- bakteerikannoista on harmittomia ja niitä on ihmisten ja eläinten elimistössä. Ne kuuluvat ihmisten ja tasalämpöisten eläinten suoliston normaalibakteerikantaan ja ovat siten hyödyllisiä mikrobeja. Ne voivat kuitenkin aiheuttaa esimerkiksi suolistotulehduksia. (Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*; *Escherichia coli*/EHEC... 2012; Veden laatu... 2011.)

5.3.4 Fekaaliset enterokokit

Fekaaliset enterokokit ovat peräisin ihmisen ja tasalämpöisten eläinten suolistosta. Ne ovat gram-positiivisia, pyöreitä bakteereita. (Karttunen 2003, 245-246). Suolistoperäiset enterokokit pystyvät pelkistämään 2, 3, 5 – trifenyylitetratsoliumkloridia formatsaaniksi ja ne pystyvät hydrolysoimaan eskuliinin + 44 °C lämpötilassa. Ennen fekaalisia enterokokkeja kutsuttiin fekaalisiksi streptokokeiksi. Ne ovat hyviä indikaattoreita ulosteperäiselle saastumiselle. Enterokokit säilyvät hyvin ympäristössä, joten ne voivat kertoa saastumisesta, joka on tapahtunut kauan ennen näytteenottoa. Suolistoperäisiä enterokokki-lajeja ovat *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *E. durans* ja *E. hirae*. (Suolistoperäiset enterokokit; Veden laatu: Suolistoperäisten enterokokkien havaitseminen ja laskeminen 2000.)

6 INDIKAATTORIBAKTEERIEN TUTKIMINEN

6.1 Hygieeninen vesianalyysi

Hygieeninen vesianalyysi on tutkimus, jolla määritetään suolistobakteereita vedestä. Käytössä on erilaisia menetelmiä hygieenisen vesianalyysin suorittamiseen. Yksi menetelmä on kalvosuodatusmenetelmä, jossa tutkittavat bakteerit kerätään membraanille suodatuksen avulla. Membraani on suodatinkalvo, jota käytetään vesinäytteiden suodatuksessa. Suodatuksen jälkeen se asetetaan kasvualustalle, jossa on bakteereille sopivat elatusaineet. Tältä kasvualustalta tehdään tarvittavat jatkotutkimukset ja -viljelyt. Toinen mahdollinen menetelmä on MPN-menetelmä (Most probable number) eli putkimenetelmä. Tässä menetelmässä bakteereita kasvatetaan putkissa ja niistä tehdään jatkotutkimukset.

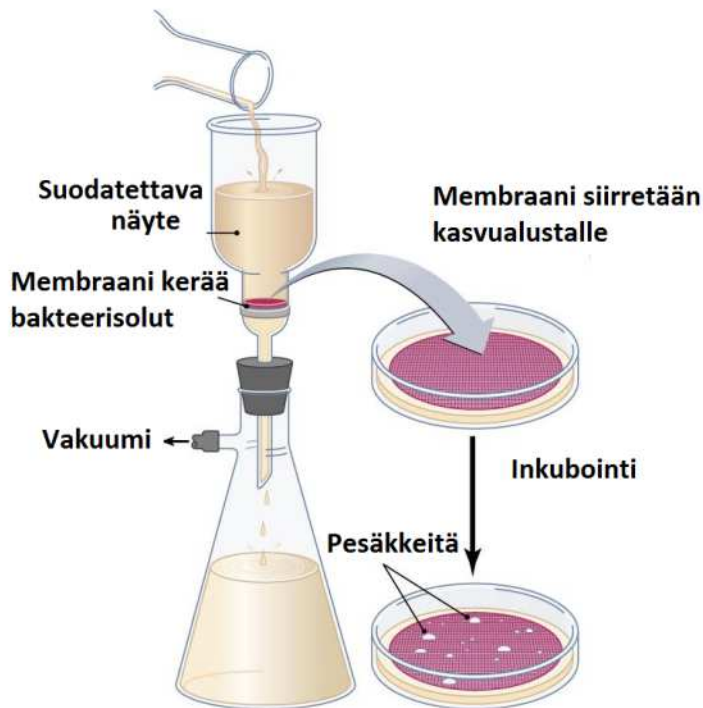
Suomessa hygieeninen vesianalyysi on ollut käytössä jo 1960-luvulta asti. Sen avulla on voitu ehkäistä veden välityksellä kulkeutuvia tauteja. Edelleen vesien ulosteperäinen saastuminen on Suomessa yleisin vesiepidemioiden syy. (Suolistobakteerien määrittäminen ja tutkimus 2010.)

6.2 Kalvosuodatusmenetelmä

Kalvo- eli membraanisuodatusmenetelmä on yksinkertaisempi ja tarkempi kuin putkimenetelmä. Membraani on suodatinkalvo, joka on valmistettu muovista tai selluloosa-asetaatista. Membraanin huokoskoko tulee valikoida siten, että se pidättää tutkittavat bakteerit. Tällöin halutut bakteerit jäävät membraanille. Tässä työssä sopiva huokoskoko on $0.45\mu\text{m}$, koska se on riittävän pieni pidättämään koliformiset, fekaaliset koliformiset ja fekaaliset enterokokki-bakteerit. Kalvosuodatusmenetelmässä vesinäyte suodatetaan membraanin läpi. Tämän jälkeen se asetetaan kiinteälle kasvualustalle siten, että sen ja kasvualustan agarin väliin ei jää ilmaa. Kasvualustaa inkuboidaan standardin mukaisesti tietyssä lämpötilassa ja standardin mukainen aika. Sopivissa olosuhteissa bakteerisolut kasvavat pesäkkeiksi, jotka voidaan laskea kasvualustalta inkuboinnin jälkeen. Ruudutettu suodatinmembraani helpottaa bakteerimäärän laskemista. Tarvittaessa tyypillisen näköisille pesäkkeille tehdään jatkoviljely valikoimattomalle alustalle. (Kal-

vosuodatusmenetelmä veden mikrobiologisessa tutkimuksessa; Maier ym. 2009, 487.)

Kuvassa 4 on havainnollistettu kalvosuodatusmenetelmä.



Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

KUVA 4. Kalvosuodatusmenetelmä. Mukailten lähde Direct Methods.

6.2.1 Koliformiset bakteerit

Kalvosuodatusmenetelmän (SFS 3016) periaatteena on kerätä tutkittavat bakteerit kalvolle, joka siirrostetaan LES Endo -agar -kasvualustalle. Alusta sisältää sopivat elatusaineet tutkittaville koliformisille bakteereille. Kasvualusta ei kuitenkaan täysin estä muiden bakteerien kasvua. Koliformisten bakteerien kasvualustalla on emäksistä fuksiiinia, joka toimii pH-indikaattorina. Koliformiset bakteerit laskevat pH:ta ja muodostavat aldehydiä laktoosin fermentaatioissa eli käymisessä ja tämän vuoksi ne erottuvat muista pesäkkeistä metallinkiillon ja tummanpunaisen värin perusteella. (Veden laatu. Koliformisten bakteerien kokonaismääritys kalvosuodatusmenetelmällä.)

Näyte suodatetaan membraanin (huokoskoko $0.45\mu\text{m}$) läpi ja se asetetaan LES Endo-kasvualustalle. Kasvualustaa inkuboidaan $(21 \pm 3)\text{h}$ lämpötilassa $(36 \pm 2)^\circ\text{C}$ lämpötilassa ja inkubointiajan jälkeen lasketaan tyypilliset pesäkkeet kasvualustalta. Lisäksi tehdään indoli- ja oksidaasitestit. (Veden laatu. Koliformisten bakteerien kokonaismääritys kalvosuodatusmenetelmällä.)

Oksidaasitestiä varten tulee viljellä vähintään 10 tyypillisen näköistä pesäkettä valikoimattomalle TSA-kasvualustalle (Tryptone Soya Agar). Kasvualustaa inkuboidaan $(21 \pm 2)\text{h}$ lämpötilassa $(36 \pm 2)^\circ\text{C}$ ja tämän jälkeen tehdään oksidaasikoe. Suodatinpaperille laitetaan 2-3 pisaraa oksidaasireagenssia. Tämän jälkeen esimerkiksi puisen tikun avulla poimitaan kasvualustalta pesäke, joka levitetään oksidaasireagenssiin. Positiivinen reaktio on 30 sekunnin aikana ilmestyvä sininen tai sinipunainen värireaktio. Koliformiset bakteerit ovat oksidaasi-negatiivisia. (Veden laatu. Koliformisten bakteerien kokonaismääritys kalvosuodatusmenetelmällä.)

Indolitestissä LES Endo-kasvualustalta poimitaan pesäkkeitä TSB-putkeen (Tryptone Soya Broth) eli koeputkeen, jossa on tryptofaanilientä. Putkeä inkuboidaan $(21 \pm 3)\text{h}$ lämpötilassa $(44 \pm 0,5)^\circ\text{C}$. Indolin tuotto tutkitaan lisäämällä putkeen Kovacsin reagenssia noin 0,2 ml. Liemen pinnalle ilmestyvä punainen rengas on positiivinen reaktio. *E.Coli* on indoli-positiivinen ja oksidaasi-negatiivinen. *E.Coli*-bakteerien prosentuaalinen määrä lasketaan koliformisten bakteerien määrästä. (Veden laatu. Koliformisten bakteerien kokonaismääritys kalvosuodatusmenetelmällä.)

6.2.2 Fekaaliset koliformiset bakteerit

Kalvosuodatusmenetelmässä (SFS 4088) bakteerit kerätään membraanille (huokoskoko $0.45\mu\text{m}$) suodatuksen avulla ja membraani siirretään mFC -agar -kasvualustalle kasvaamaan. Kasvualustaa inkuboidaan $(21 \pm 3)\text{h}$ lämpötilassa $(44 \pm 0,5)^\circ\text{C}$. Kasvualustalla olleella kalvolla kasvaneet fekaaliset koliformiset bakteerit ovat sinisiä. (Veden laatu. Lämpökestoisten koliformisten bakteerien lukumäärän määrittäminen kalvosuodatusmenetelmällä.)

6.2.3 Fekaaliset enterokokit

Kalvosuodatusmenetelmä (SFS 7899-2) perustuu bakteerien keräämiseen membraanille suodatusmenetelmällä. Slanetzin ja Bartleyn -agar -kasvualusta sisältää natriumatsidia, joka estää gram-negatiivisten bakteerien kasvua. Lisäksi kasvualusta sisältää 2, 3, 5 – trifenyylitetratsoliumkloridia, joka muuttuu punaiseksi formatsaaniksi fekaalisten enterokokkien vaikutuksesta. Tyypilliset pesäkkeet ovat punaisia, vaaleanpunaisia tai punaruskeita. Kasvualustaa inkuboidaan (44 ± 4)h lämpötilassa (36 ± 2)°C. (Veden laatu: Suolistoperäisten enterokokkien havaitseminen ja laskeminen.)

Jos Slanetzin ja Bartleyn kasvualustalla on tyypillisen näköisiä pesäkkeitä, siirrostetaan membraani steriileillä pinseteillä esilämmitetylle (44°C) sappi-eskuliini-atsidi kasvualustalle. Kasvualustaa inkuboidaan kaksi tuntia lämpötilassa ($44 \pm 0,5$)°C, jonka aikana enterokokit hydrolysoivat eli hajottavat eskuliiniin. Yksityiskohtaisemmin tarkasteltuna kasvualustalla 6, 7 – dihydroksikumariini yhtyy rauta (III) ioneihin ja syntyy kasvualustalle leviävä yhdiste, jonka väri vaihtelee ruskeasta mustaan. Tämä on positiivinen reaktio. (Veden laatu: Suolistoperäisten enterokokkien havaitseminen ja laskeminen.)

6.3 Vesinäytteenotto mikrobiologista tutkimusta varten

Näytteenotto on suoritettava siten, että näytteeksi saadaan mahdollisimman edustava näyte. Näytettä ei saa kontaminoida näytteenoton yhteydessä. Näytteen kuljetus ja säilytys on suoritettava siten, että näyte säilyy mahdollisimman edustavana. Näyte kerätään vähintään 250 ml pulloon. Pullon materiaalina voi olla borosilikaatti, polyeteeni tai polypropeeni. Pullojen on hyvä olla läpinäkyviä, jotta näytteen ulkonäköä voi arvioida. Näytteet kuljetetaan esimerkiksi kylmälaukussa ja sen aikana tulee huolehtia, että näyte ei jäädy. Näytteenotossa käytetyt pullot on steriloitava. Steriloitavat pullot on peitettävä esimerkiksi voipaperilla ja korkit metallifoliolla steriloinnin ajaksi. Steriloinnissa on hyvä käyttää autoklavointiteippiä kontrollina steriloinnin toimivuudesta. (Vesinäytteenotto mikrobiologista tutkimusta varten.)

Kädet pestään ja kuivataan huolellisesti ennen näytteenottoa. Tarvittava näytemäärä määräytyy muun muassa veden laadun, tehtävien analyysien ja viljelytapojen perusteella. Näyte on kuljetettava alle neljässä tunnissa laboratorioon tutkittavaksi tai muutoin se

täytyy jäähdyttää 2-8 °C lämpötilaan. Kuljetuksen aikana näyte tulee suojata valolta. Näytteen läheteeseen tulee kirjata näytteenottoaika, -aika, lämpötila ja kuljetusolosuhteet. Lisäksi tarvittaessa tulee kirjata ylös haju, vaahto, väri, roskat ja sameus sekä kaikki tulokseen vaikuttavat asiat. (Vesinäytteenotto mikrobiologista tutkimusta varten.)

7 KOKEELLINEN OSUUS

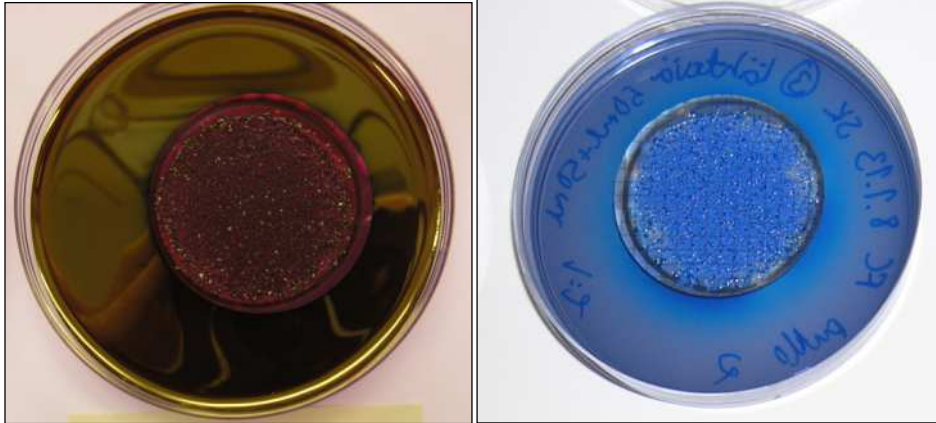
Vesinäytteiden analysointi suoritettiin 7.1-25.1.2013 Tampereen ammattikorkeakoulun Finn-Medi Delta rakennuksessa sijaitsevassa laboratoriossa. Analyysit suoritettiin standardien SFS 3016, SFS 4088 ja SFS-EN ISO 7899-2 mukaisesti, mutta standardista poikettiin käytetyn laimennusveden osalta. Kalvosuodatusmenetelmä valittiin työhön, koska se on yksinkertainen ja paljon käytetty puhdasvesinäytteiden analysoinnissa sekä edullinen. Menetelmän toimivuutta jätevesinäytteille ei tiedetty etukäteen johtuen siitä, että jätevesinäytteet ovat huomattavasti sameampia kuin puhdasvesinäytteet. Menetelmää kokeiltiin ensimmäisillä jätevesinäytteillä ja se toimi hyvin eli näyte suodattui riittävän nopeasti.

Näytteenotossa käytettävästä näytteenottovälineestä keskusteltiin Tampereen ammattikorkeakoulun lehtoreiden kanssa. Keskustelujen pohjalta päädyttiin siihen, että näytteenotossa voi käyttää Tähtiniemen jätevedenpuhdistamolla olevaa näytteenottovälinettä, vaikka se ei olekaan steriili. Flotaatioon menevästä jätevedestä näyte otettiin metallisella kannulla ja flotaatiosta lähtevän veden näytteenottoon käytettiin varrella varustettua muovista astiaa. Näytteenotto suoritettiin liitteessä 1 esitetyn suunnitelman mukaisesti. Kaikkien otettujen jätevesinäytteiden lämpötila oli 9,5°C ja näytteet kuljetettiin puhdistamolta laboratorioon kylmälaukkuun pakattuna.

Mikrobiologisissa tutkimuksissa näytteiden tarkkaa mikrobimäärää ei aina voida selvittää eikä niiden määrä pysy vakiona. Mikrobiologisille näytteille tehdään sopivia laimennoksia, jotta kasvualustalla olisi sopiva määrä yksittäisiä pesäkkeitä. Sopiva laimennos on välttämättömyys, jotta kasvualustan pesäkkeet voidaan laskea. Mikrobiologiassa käytetään yleensä 10-kertaisia laimennoksia. Tässä työssä oikeaa laimennosta lähdettiin hakemaan kokeilemalla. Työn laimennoksissa päädyttiin käyttämään steriiliä vettä, johtuen jäteveden runsaasta mikrobimäärästä.

Jokaiselle erälle steriiliä vettä tulee tehdä kontrolli, jolla varmistetaan veden puhtaus. Tässä työssä steriilin veden kontrolleja tehtiin useita samasta vesierästä, vaikka vain yksi näyte erästä olisi riittänyt. Useampia kontrolleja tehtiin sen vuoksi, että pystyttiin seuraamaan myös oman työskentelyn aseptisuutta.

Ensimmäisen viikon jätevesinäytteistä tehdyt laimennokset kasvoivat kaikki liikaa, kuten kuvissa 5 ja 6 näkyy. Tällaisilta kasvualustoilta ei pystytä laskemaan bakteeripesäkkeiden lukumääriä.

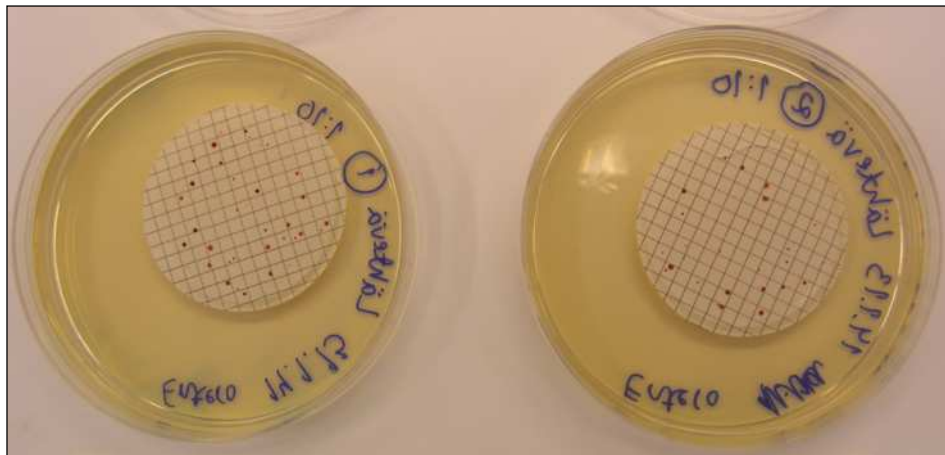


KUVA 5 ja 6. Tiistain 8.1.2013 flotaatiosta lähtevän jäteveden näyte 1:2 kasvoi liikaa vasemmalla LES Endo-kasvualusta ja oikealla mFC -kasvualustalla.

Kokeilemalla sopiviksi laimennoksiksi osoittautui koliformisten bakteerien flotaatioon meneville näytteille 1:1000 ja flotaatiosta lähteville näytteille 1:500 ja 1:1000. Fekaalisten koliformisten bakteerien flotaatioon meneville näytteille hyvä laimennos oli 1:1000 ja lähteville näytteille 1:500 ja 1:1000. Sopiva laimennos fekaalisten enterokokki bakteerien flotaatioon meneville näytteille oli 1:100 ja 1:1000 ja flotaatiosta lähteville 1:10. Kuvat 7,8 ja 9 ovat kasvualustoista, jotka kasvavat sopivasti. Niissä on sopivasti bakteeripesäkkeitä, jotta ne voidaan luotettavasti laskea. Jos kasvualustalla kasvaa liikaa pesäkkeitä ja ne kasvavat päällekkäin, niitä ei voi laskea. Lisää kuvia kasvualustoista on liitteissä 7 ja 8.



KUVA 7 ja 8. Tiistain 15.1.2013 flotaatiosta lähtevän jäteveden näyte 1:500 kasvoi sopivasti LES Endo-kasvualustalla(vasemmalla) ja mFC- kasvualustalla(oikealla).



KUVA 9. Maanantain 14.1.2013 flotaatiosta lähtevän jäteveden näyte 1:10 kasvoi sopivasti Slanetzin ja Bartleyn-kasvualustalla.

Jätevesinäytteille tehdyt laimennokset on esitetty taulukossa 5, jossa näkyy myös mitkä laimennokset kasvoivat sopivasti, mitkä liikaa ja mitkä liian vähän.

TAULUKKO 5. Jätevesinäytteiden käytetyt laimennokset ja bakteerien kasvu.

Näytteen viljelypäivämäärä	Flotaatioon menevä/ Flotaatiosta lähtevä	Koliformiset bakteerit	Maijan kasvu	Fekaaliset koliformiset bakteerit	Maijan kasvu	Fekaaliset enterokokki bakteerit	Maijan kasvu
Ti 8.1.2013	Menevä	1:1	++	1:1	++	1:1	++
		1:2	++	1:2	++	1:2	++
	Lähtevä	1:1	++	1:1	++	1:1	++
		1:2	++	1:2	++	1:2	++
Ke 9.1.2013	Menevä	1:1000	+	1:1000	+	1:1000	+
	Lähtevä	1:1000	+	1:1000	+	1:1000	-
Ma 14.1.2013	Menevä	1:1000	+	1:1000	+	1:100	+
						1:1000	+
	Lähtevä	1:100	++	1:100	++	1:10	+
		1:1000	+	1:1000	+		
Ti 15.1.2013	Menevä	1:1000	+	1:1000	+	1:100	+
						1:1000	+
	Lähtevä	1:500	+	1:500	+	1:10	+
		1:1000	+	1:1000	+		
Ma 21.1.2013	Menevä	1:1000	+	1:1000	+	1:100	+
						1:1000	+
	Lähtevä	1:500	+	1:500	+	1:10	+
		1:1000	+	1:1000	+		
Ti 22.1.2013	Menevä	1:1000	+	1:1000	+	1:100	+
						1:1000	+
	Lähtevä	1:500	+	1:500	+	1:10	+
		1:1000	+	1:1000	+		
		Kasvoi sopivasti +		Kasvoi liikaa ++		Kasvoi liian vähän -	

Kalvosuodatusmenetelmässä tarvitaan erityinen suodatuslaitteisto, joka koottiin veto-kaappiin. Suodatuslaitteistoon kuuluvat suppilo (Sartorius Stedim Biotech), metalliritilä, tiiviste ja imupullo, jotka ovat nähtävissä kuvassa 10 ja 11. Laitteisto tuettiin statiivilla ja imu suodatuslaitteistoon järjestettiin vesihanasta letkujen avulla. Imun aikaansaanti vesihanana avulla perustuu ejektorin toimintaan. Laitteiston toimivuus ja vuotamattomuus on hyvä testata ennen varsinaisia näytteitä esimerkiksi kraanavedellä.



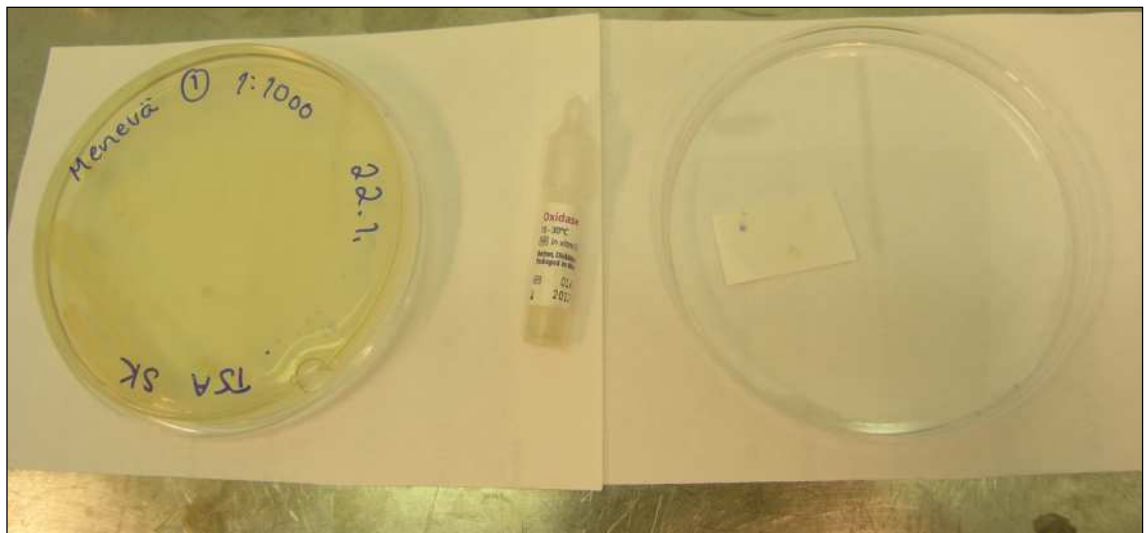
KUVA 10 ja 11. Kuvissa on nähtävissä työssä käytetty suodatuslaitteisto.

Suppilo steriloitiin suihkuttamalla suppiloon 95%:sta etanolia, joka sytytettiin palamaan Bunsen-liekillä. Tämän jälkeen suppiloa jäähdytettiin steriilillä vedellä. Steriloinnin jälkeen se irrotettiin ja laskettiin vetokaapin pinnalle nurinpäin. Imu sai olla päällä koko ajan. Steriili membraani-pakkaus avattiin ja siitä otettiin membraani steriilien pinsettien avulla. Se asetettiin metalliritilän päälle, jonka jälkeen suppilo laitettiin takaisin paikalleen. Tutkittava näyte kaadettiin mittalasista suppiloon ja suodatettiin. Suodatuksessa näyte kulki membraanin läpi imupulloon. Tällöin membraanille jäivät halutut bakteerit. Kun näyte oli suodattunut suppilosta membraanin läpi, suppilo poistettiin paikaltaan. Membraani otettiin steriileillä pinseteillä ja asetettiin rullaten kasvualustalle.

Näytteitä inkuboitiin siten, että koliformiset bakteerit olivat 21 tuntia +36°C:ssa ja ja fekaaliset enterokokki bakteerit olivat 44 tuntia lämpötilassa +36°C. Fekaaliset koliformiset bakteerit olivat inkubaattorissa lämpötilassa 21 tuntia +44°C lämpötilassa.

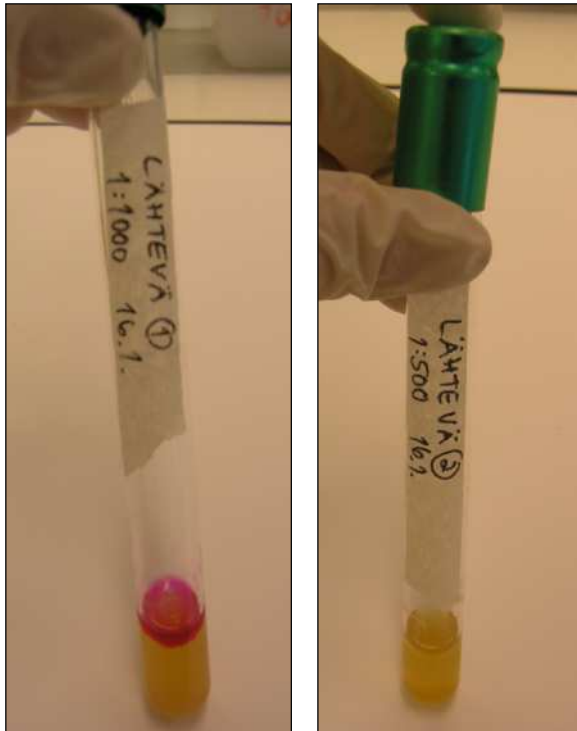
Inkuboinnin jälkeen koliformisten bakteerien bakteeripesäkkeet laskettiin LES Endokasvualustalta. Tämän jälkeen näiltä kasvualustoilta tehtiin viljelyt TSA-kasvualustoille ja TSB-putkiin. Viljelyt sekä TSA- kasvualustoille että TSB-putkiin tehtiin laminaarivirtauskaapissa oman työturvallisuuden ja näytteiden kontaminoitumisriskin pienentämisen vuoksi. Valikoimattomille TSA-kasvualustoille viljeltiin yhdeltä LES Endokasvualustalta pari tyypillisen näköistä pesäkettä. Kaikkiaan viljelyitä TSA-kasvualustoille tehtiin 59 kappaletta. Sama määrä tehtiin myös oksidaasitestejä.

TSA-kasvualustoja inkuboitiin +36°C:ssa 21 tuntia ja inkuboinnin jälkeen tehtiin oksidaasikoe. Kuvassa 12 on esitetty testissä tarvittavat välineet. Oksidaasitestissä TSA-kasvualustalta otettiin viljelysauvalla yksittäinen pesäke. Pesäke siirrostettiin suodatinpaperille, jossa oli kaksi pisaraa oksidaasi-reagenssia. Positiivinen reaktio on 30 sekunnin aikana ilmestyvä sininen tai sinipunainen värireaktio. Negatiivisessa reaktiossa ei tapahdu värimuutosta. Liitteissä kaksi ja kolme on esitetty tutkitut näytteet tuloksineen.



KUVA 12. Oksidaasitestin tarvikkeet: Oksidaasireagenssi, suodatinpaperi ja tutkittavat bakteerit TSA-kasvualustalla.

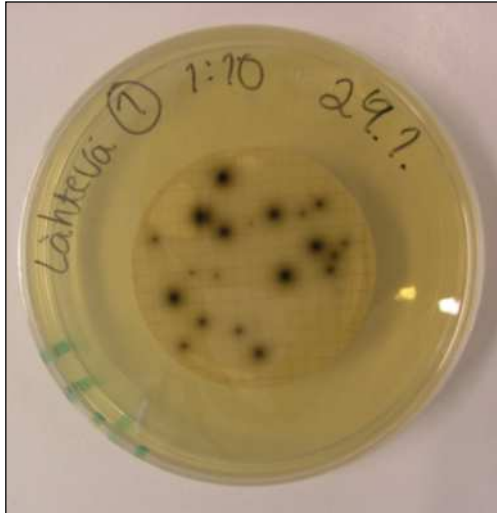
Indolin tuotto testattiin viljelemällä pesäke LES Endo-kasvualustalta TSB-putkeen. Yhdeltä LES Endo-kasvualustalta tehtiin viljely TSB-putkeen 2-3pesäkkeestä. Viljely tehtiin kaikilta LES Endo- kasvualustoilta, joissa oli tyypillisen näköisiä pesäkkeitä. Kaikkiaan indolitestejä tehtiin 48 kappaletta. Putkia inkuboitiin 21 tuntia +44°C lämpötilassa. Inkuboinnin jälkeen putkeen lisättiin pasteur-pipetillä kolme tippaa Kovacsin reagenssia. Punainen rengas liemen päällä oli positiivinen tulos. Kuvassa 13 on esitetty positiivinen ja kuvassa 14 negatiivinen reaktio.



KUVA 13 ja 14 indolikoe. Vasemmalla on positiivinen ja oikealla negatiivinen reaktio.

Inkuboinnin jälkeen fekaalisten koliformisten bakteerien pesäkkeet laskettiin mFC-kasvualustalta. Näille bakteereille ei tehty jatkokokeita, vaan tulos saatiin suoraan kasvualustalla kasvavista pesäkemääristä.

Inkuboinnin jälkeen fekaalisten enterokokki bakteerien pesäkkeet laskettiin Slanetzin ja Bartleyn kasvualustoilta. Tämän jälkeen siirrostettiin muutamalta Slanetzin ja Bartleyn kasvualustalta membraanit sappi-eskuliini kasvualustoille. Yhteensä sappi-eskuliini testejä tehtiin 10 membraanille. Näitä kasvualustoja inkuboitiin kaksi tuntia 44°C lämpötilassa. Sappi-eskuliini kasvualustalta enterokokit hydrolysoivat eskuliinin ja sen seurauksena enterokokki-pesäke tummuu, kuten kuvassa 15 on nähtävissä. Inkuboinnin jälkeen laskettiin tummuneet pesäkkeet.



KUVA 15. Sappi-eskuliini kasvualusta.

Työssä tarvittavista kasvualustoista LES Endo-, mFC- ja Slanetzin ja Bartleyn- kasvualustat tilattiin valmiina Tammer Tutka-yritykseltä. Valikoimattomat TSA-kasvialustat (Tryptone Soy Agar) ja TSB-putket (Tryptone Soy Broth) valmistettiin itse. Taulukossa 6 on esitetty tilattujen kasvialustojen viimeiset käyttöpäivät.

TAULUKKO 6. Tilattujen maljojen viimeiset käyttöpäivät.

Maljat	Viimeinen käyttöpäivä	
LES Endo	3.2.2013	20.2.2013
mFC	14.2.2013	22.2.2013
Slanetzin ja Bartleyn	24.1.2013	20.2.2013

Työssä käytetyt membraanit olivat steriilejä Milliporen ruudutettuja 45µm(huokoskoko) nitroselluloosa-membraaneja. Käytetty autoklaavi oli Systech VX-65 ja jäljitettävyyden vuoksi tallennettiin kaikki ajolistat autoklavoinneista. Steriilivesi oli UHP- eli ultra high purity- vettä, joka steriloitiin autoklaavissa. UHP- vettä käytettiin sen vuoksi, että veden laatu oli tällöin tasaista.

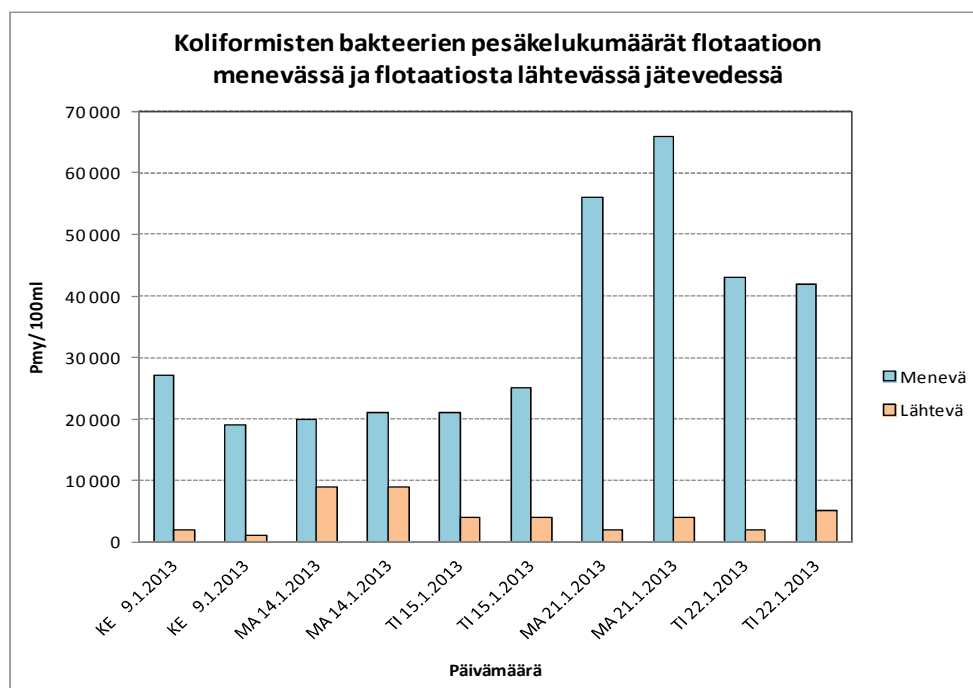
8 TULOKSET

Tuloksista on nähtävissä, että tertiäärinen flotaatio puhdistaa huomattavasti yhdyskunta-jätevesiä koliformisista, fekaalisista koliformisista ja fekaalisista enterokokki bakteereista. Tämä on erittäin positiivinen asia ajatellen purkuvesistöä, koska tällöin purkuvesistön bakteerikuormitus on pienempi ja hygieeninen laatu parempi. Eniten väheni fekaalisten enterokokki-bakteerien pitoisuudet. Fekaalisten koliformisten bakteerien pitoisuus pieneni flotaatiossa vähiten. Tuloksia ei voitu käsitellä tilastollisin menetelmin, koska otoskoko oli niin pieni.

Mikrobiologiassa mittaustuloksen epävarmuus johtuu monista tekijöistä. Aina kuitenkin vähintään kolmesta tekijästä, jotka ovat siirrostilavuuden epävarmuus, pesäkelukumäärän hiukkastilastollinen hajonta ja tuloksen lukemisen epävarmuus. Tuloksen lukemisen epävarmuus tarkoittaa toistettavuuden puutetta eli jos henkilö laskisi bakteeripesäkkeiden määrät uudelleen, tulos ei välttämättä olisi täsmälleen sama kuin ensimmäisellä kerralla. Yleensä henkilö pystyy toistamaan oman lukemansa parin prosenttiyksikön tarkkuudella. Hiukkastilastollinen hajonta tarkoittaa vaihtelua huolellisesti sekoitetun suspension samankokoisiin rinnakkaisnäytteisiin sattuvissa hiukkasmäärissä. Mitattu tilavuus on keskimäärin oikea, mutta silti siihen liittyy aina epävarmuus. Tämä siirrostilavuuden volumetrinen epävarmuus koostuu mittauksen toistettavuudesta, lasitavaran valmistajan ilmoittamasta spesifikaatiosta ja lämpötilan vaikutuksesta. Näytteen säilytyksestä johtuva pitoisuusmuutos eli mikrobipitoisuus voi muuttua näytteen säilytyksen aikana. Yleensä ei voida edes arvata miten pitoisuus muuttuu. (Niemelä 2001) Nämä edellä mainitut epävarmuustekijät vaikuttivat myös tämän työn tuloksiin. Volumetriset epävarmuustekijät eivät koske tätä työtä, sillä niiden vaikutus tässä työssä on hyvin pieni. Mikrobiologiassa yleisin hajontaa lisäävä syy on kontaminaatio, värinmuutos tai pesäkkeiden leviäminen. Näille tekijöille ei ole ennustettavissa todennäköisyyttä eikä matemaattista mallia. (Niemelä 2001).

8.1 Koliformiset bakteerit

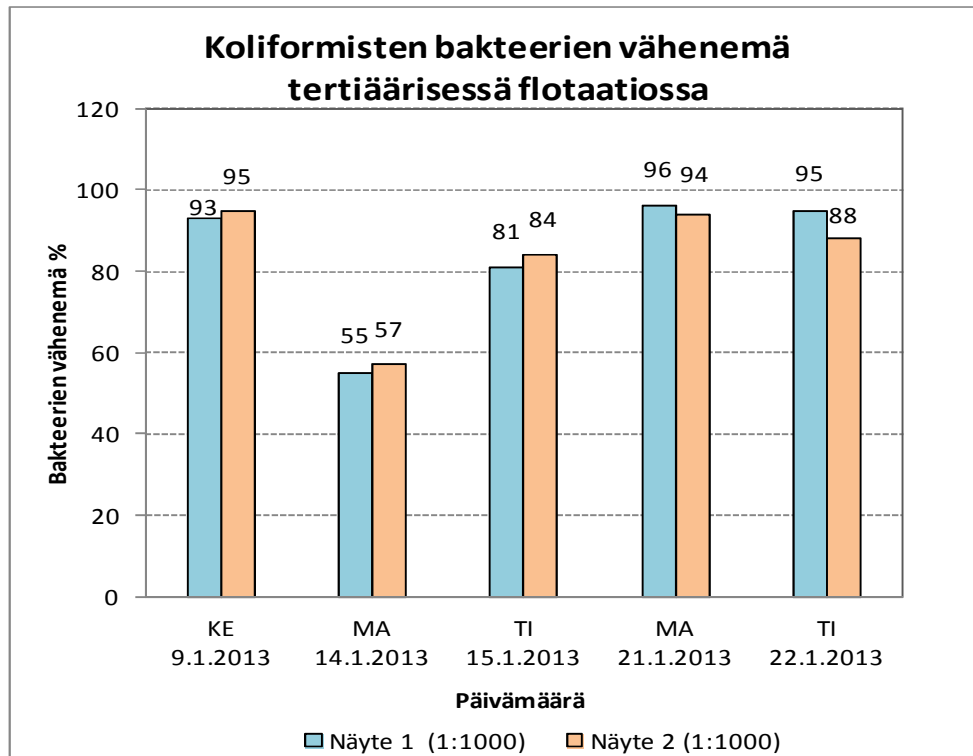
Jätevedenpuhdistuksessa käytettävän tertiäärisen flotaation vaikutuksesta koliformisten bakteerien pitoisuudet pienenevät keskimäärin 84 %. Koliformisten bakteerien tulosten käsittelyssä käytettiin näytteitä, joiden laimennokset olivat 1:1000. Tulokset laskettiin prosenttilaskuina. Kuviossa 2 on esitetty päivittäiset koliformisten bakteerien flotaatioon menevän ja flotaatiosta lähtevän jäteveden pesäkkeitä muodostavien yksiköiden määrät 100ml jätevettä kohden. Siitä nähdään bakteeripitoisuuksien ero flotaatioon menevän ja flotaatiosta lähtevän veden välillä. Nämä pitoisuudet ovat näytteistä, joiden laimennokset olivat 1:1000 ja näitä arvoja on käytetty tulosten käsittelyssä. Suurimmat pitoisuuserot ovat maanantain 21.1.2013 näytteissä.



KUVIO 2. Koliformisten bakteerien pesäkkeiden lukumäärät (pmy) flotaatioon menevästä (1:1000) ja flotaatiosta lähtevästä (1:1000) jätevedestä.

Bakteeripitoisuuksissa on huomattavia eroja näytteiden välillä. Tämä johtunee mikrobiologisten mittaustulosten epävarmuustekijöistä. Mikrobiologisissa näytteissä ja rinnakkaisnäytteissä voi olla suuria pitoisuusvaihteluita ilman, että kyseessä olisi virhe. Lisäksi bakteeripitoisuuksien vaihtelut voivat johtua jätevesiprosessin toiminnan vaihteluista.

Kuvio 3 havainnollistaa päivittäistä koliformisten bakteerien vähenemää. Siinä on esitetty jokaisen päivän bakteerien vähenemä prosentteina. Keskimäärin bakteerien vähenemä oli 84 % ja sen merkattu kuvioon viivalla.



KUVIO 3. Koliformisten bakteerien vähenemä prosentteina

Taulukossa 7 on esitetty ne koliformisten bakteerien bakteeriviljelytulokset, joita käytettiin tulosten käsittelyssä. Liittessä 4 on esitetty kaikki koliformisten bakteerien viljeltyt ja tulokset.

TAULUKKO 7. Koliformisten bakteerien pesäkelukumäärät 100ml:ssa jätevettä.

Näytteenotto- päivä ja -aika	Näyte	Laimennus- suhde	Koliformiset bakteerit	
			Menevä pmy/100 ml	Lähtevä pmy/100 ml
Ke 9.1.2013	Näyte 1	1:1000	27 000	2000
	2	1:1000	19 000	1000
Ma 14.1.2013	Näyte 1	1:1000	20 000	9000
	2	1:1000	21 000	9000
Ti 15.1.2013	Näyte 1	1:1000	21 000	4000
	2	1:1000	25 000	4000
Ma 21.1.2013	Näyte 1	1:1000	56 000	2000
	2	1:1000	66 000	4000
Ti 22.1.2013	Näyte 1	1:1000	43 000	2000
	2	1:1000	42 000	5000

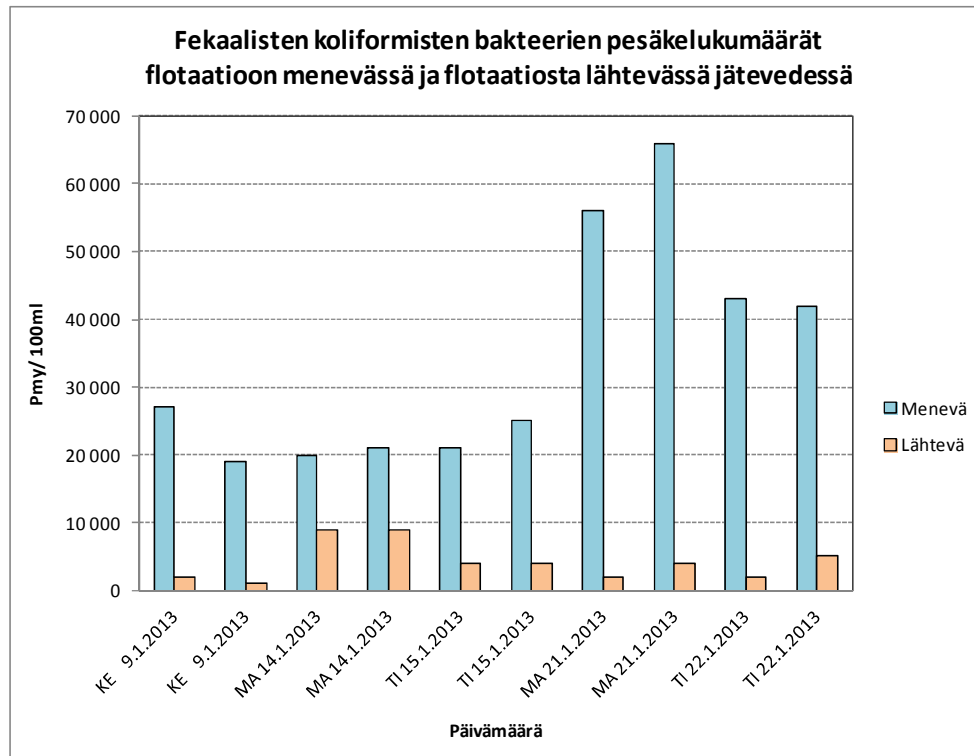
8.2 E.Coli

Koliformisille bakteereille tehtiin 59 oksidaasitestistä ja 58 kappaletta näistä testeistä oli negatiivisia ja yksi oli positiivinen. Tällöin ei- koliformisen bakteerin osuus koliformisista bakteereista on 1.7 %. Tämä osuus on sen verran pieni, että sillä ei ole merkitystä tässä työssä. Oksidaasitestien näytteet ja tulokset on esitetty taulukkona liitteessä 2. Indolikokeita tehtiin koliformisille bakteereille 48 kappaletta ja näiden tulosten perusteella laskettiin *E.Coli*-bakteerien osuus koliformisista bakteereista. Tulosten käsittelyssä käytettiin samoja koliformisten bakteerien pitoisuuksia kuin koliformisten bakteerien tulosten käsittelyssä (menevä 1:1000 ja lähtevä 1:1000). *E.Coli* bakteerien osuus koliformisista bakteereista oli flotaatioon menevässä jätevedessä 38 % (129200 pmy/100ml) ja flotaatiosta lähtevässä 37 % (15540 pmy/100ml). Tällöin *E.Coli*-bakteerien vähenemä on 113660 pmy/100ml eli prosentteina vähenemä on 88 %. Liitteessä 3 on esitetty tehdyt indolitestit tuloksineen.

8.3 Fekaaliset koliformiset bakteerit

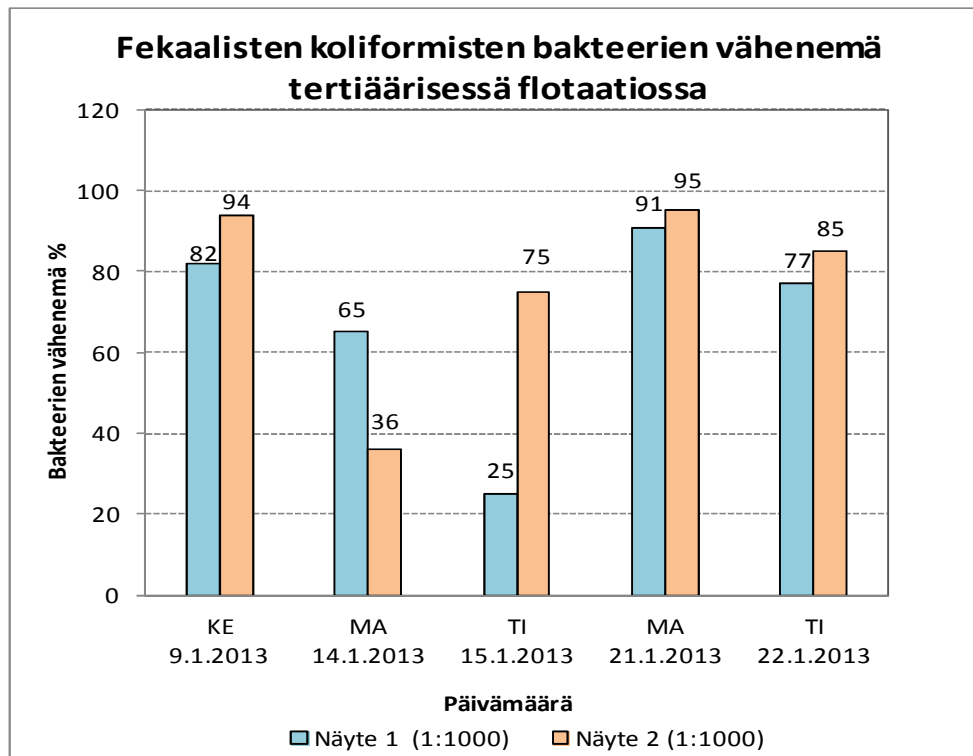
Fekaalisten koliformisten bakteerien määrä jätevedessä väheni tertiääriseen flotaation vaikutuksesta keskimäärin 73 %. Tulokset laskettiin prosenttilaskuina ja laskuun valittiin näytteet, joiden laimennokset olivat 1:1000. Kuviossa 4 on esitetty fekaalisten koliformisten bakteerien flotaatioon menevän ja flotaatiosta lähtevän jäteveden pesäkkeitä muodostavien yksiköiden määrät 100ml jätevettä kohden. Kuviosta nähdään, että bak-

teeripitoisuudet olivat pienempiä flotaatio prosessin jälkeen. Suurin ero flotaatioon menevän ja flotaatiosta lähtevän jäteveden bakteerien määrissä on maanantain 21.1.2013 näytteissä. Arvot kuviossa on näytteistä, joiden laimennokset olivat 1:1000.



KUVIO 4. Fekaalisten koliformisten bakteerien pesäkkeiden lukumäärät flotaatioon menevästä (1:1000) ja flotaatiosta lähtevästä (1:1000) jätevedestä.

Fekaalisten koliformisten bakteerien vähenemä on havainnollistettu kuviossa 5. Siinä on esitetty päivittäiset vähenemät prosentuaalisesti. Tähän kuvioon on otettu mukaan ne bakteeripitoisuudet, jotka olivat mukana tulosten käsittelyssä. Keskimäärin bakteerien vähenemä oli 73% ja se on kuviossa esitetty viivalla. Suurin vähenemä oli maanantain 21.1.2013 jätevesinäytteissä.



KUVIO 5. Fekaalisten koliformisten bakteerien vähenemä prosentteina

Taulukossa 8 on esitetty ne fekaalisten koliformisten bakteerien pesäkemäärät, joita on käytetty tulosten käsittelyssä. Liittestä 5 löytyvät kaikki fekaalisten koliformisten bakteerien viljelyt tuloksineen.

TAULUKKO 8. Fekaalisten koliformisten bakteerien pesäkelukumäärät 100ml:ssa jätevettä.

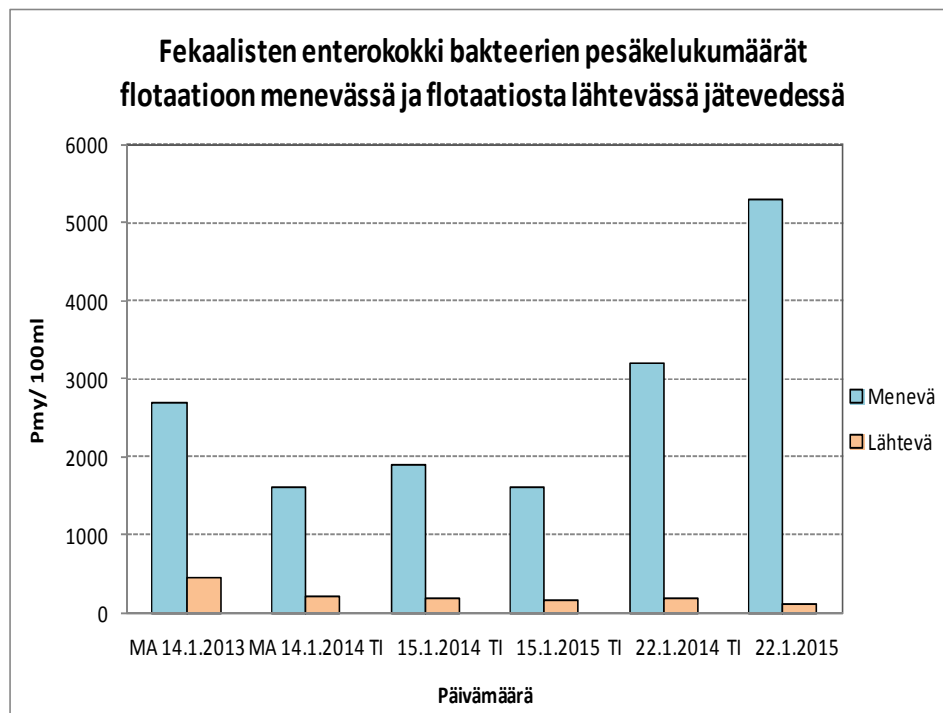
Näytteenotto-päivä ja -aika	Näyte	Laimenus-suhde	Fekaaliset koliformiset bakteerit	
			Menevä pmy/100 ml	Lähtevä pmy/100 ml
Ke 9.1.2013	Näyte 1	1:1000	11 000	2000
	2	1:1000	16 000	1000
Ma 14.1.2013	Näyte 1	1:1000	17 000	6000
	2	1:1000	14 000	9000
Ti 15.1.2013	Näyte 1	1:1000	4000	3000
	2	1:1000	12 000	3000
Ma 21.1.2013	Näyte 1	1:1000	43 000	4000
	2	1:1000	62 000	3000
Ti 22.1.2013	Näyte 1	1:1000	26 000	6000
	2	1:1000	34 000	5000

Myös näiden bakteerien kohdalla on suuria bakteeripitoisuusvaihteluita flotaatioon menevässä jätevedessä. Flotaatiosta lähtevän veden rinnakkaisissa näytteissä ei ole huomattavan suuria pitoisuusvaihteluita. Vaihtelua aiheuttaa mikrobiologisten näytteiden

normaali bakteeripitoisuuksien vaihtelu ja prosessin toiminnan vaihtelut voivat osaltaan vaikuttaa tuloksiin. Mikrobiologisten näytteiden bakteeripesäkemäärien vaihtelu näkyy myös verrattaessa koliformisten ja fekaalisten koliformisten bakteerien määräsuhteita. Fekaaliset koliformiset bakteerit kuuluvat koliformisiin bakteereihin ja näin ollen koliformisten bakteerien pitoisuuksien pitäisi olla suuremmat kuin fekaalisten koliformisten bakteerien. Näin ei kuitenkaan aina ollut ja tämä johtui normaalista mikrobiologisten näytteiden bakteeripesäkemäärien vaihtelusta.

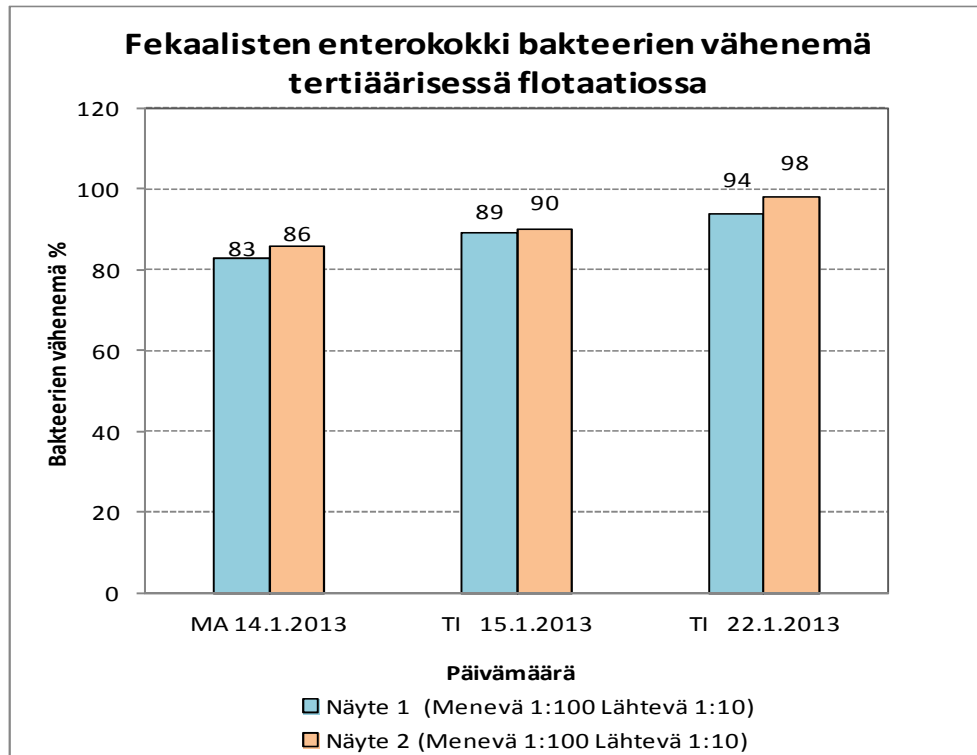
8.4 Fekaaliset enterokokit

Fekaalisten enterokokki bakteerien vähenemä flotaatiossa oli keskimäärin 90%. Tulokset laskettiin prosenttilaskuina. Fekaalisten enterokokki bakteerien tulosten käsittelyyn pesäkemäärät otettiin laimennoksista 1:10 (flotaatiosta lähtevä) ja 1:100 (flotaatioon menevä), joten tulokset eivät ole luotettavasti verrattavissa toisiinsa. Tässä työssä näitä tuloksia kuitenkin verrattiin toisiinsa, sillä samoja laimennoksia ei ollut tehty sekä menevälle että lähtevälle vedelle. Kuviossa 6 on nähtävissä flotaatioon menevän ja siitä lähtevän jäteveden fekaalisten enterokokki bakteeripesäkkeiden määrät 100ml jätevettä kohden.



KUVIO 6. Fekaalisten enterokokki bakteerien pesäkkeiden lukumäärät flotaatioon menevästä (1:100) ja flotaatiosta lähtevästä (1:10) jätevedestä.

Kuviossa 7 on esitetty fekaalisten enterokokki-bakteerien vähenemä prosentteina. Kuvio on tehty näytteistä, jotka olivat mukana tulosten käsittelyssä. Tämä kuvio havainnollistaa erikseen joka päivän bakteerien vähenemän. Keskimäärin bakteerien vähenemä oli 90%, joka on merkattu kuvioon viivalla.



KUVIO 7. Fekaalisten enterokokki bakteerien vähenemä prosentteina

Taulukossa 9 on esitetty ne fekaalisten enterokokki-bakteerien pesäkemäärät, joista tulokset laskettiin. Liitteessä 6 on esitetty kaikki fekaalisten koliformisten enterokokki-bakteerien viljelyt ja tulokset.

TAULUKKO 9. Fekaalisten enterokokki bakteerien pesäkelukumäärät 100ml:ssa jätevettä.

Näytteenotto- päivä ja -aika	Näyte	Laimennus- suhde	Fekaaliset enterokokki bakteerit	
			Menevä pmy/100 ml	Lähtevä pmy/100 ml
Ma 14.1.2013	Näyte 1	1:10		450
	2			220
	Näyte 1	1:100	2700	
	2		1600	
Ti 15.1.2013	Näyte 1	1:10		200
	2			160
	Näyte 1	1:100	1900	
	2		1600	
Ti 22.1.2013	Näyte 1	1:10		190
	2			110
	Näyte 1	1:100	2300	
	2		5300	

Taulukossa 10 on esitetty enterokokeille tehdyt sappi-eskuliini kokeiden tulokset. Kaikki pesäkkeet tummuivat, jotka oli laskettu enterokokeiksi Slanetzin ja Bartleyn maljalta. Taulukossa on esitetty tarkat hydrolysoituvien eli tummuvien pesäkkeiden lukumäärät.

TAULUKKO 10. Sappi-eskuliini kasvualustalla hydrolysoituvien eli tummuvien pesäkkeiden lukumäärät.

Näytteen viljelypäivämäärä	Näyte	Hydrolysoituvien pesäkkeiden lkm
Ke 9.1.2013	Menevä 2, 1:1000	6
Ma 14.1.2013	Lähtevä 2, 1:10	22
	Menevä 1, 1:100	27
Ti 15.1.2013	Lähtevä 1, 1:10	20
	Menevä 2, 1:100	16
Ma 21.1.2013	Lähtevä 1, 1:10	16
	Lähtevä 2, 1:10	17
	Menevä 2, 1:1000	6
Ti 22.1.2013	Lähtevä 2, 1:10	11
	Menevä 1, 1:100	32

Taulukossa 11 on esitetty tutkittujen bakteerien minimi- ja maksimimäärät sekä keskiarvot. Siitä on nähtävissä, että suurin bakteeripitoisuus 66 000 pmy/100ml oli koliformisten bakteerien flotaatioon menevässä jätevesinäytteessä. Pienin pitoisuus puolestaan oli 110 pmy/100ml, joka oli fekaalisten enterokokki bakteerien flotaatiosta lähtevässä näytteessä.

TAULUKKO 11. Koliformisten, fekaalisten koliformisten ja fekaalisten enterokokki bakteerien minimi- ja maksimiarvot ja keskiarvot sekä flotaatioon menevästä ja flotaatiosta lähtevästä vedestä.

	Koliformiset bakteerit/ pmy/100ml		Fekaaliset koliformiset bakteerit / pmy/100ml		Fekaaliset enterokokki bakteerit pmy/100ml	
	Menevä	Lähtevä	Menevä	Lähtevä	Menevä	Lähtevä
Minimi	19000	1000	4000	1000	1600	110
Maksimi	66000	9000	62000	9000	5300	450
Keskiarvo	34000	4200	23900	4200	2567	222

Steriilivesi-kontrolli osoitti kalvosuodatuksessa käytetyn veden olleen puhdasta. Yhdessä steriilin veden näytteessä (keskiviikko 9.1.) kasvoi yksi pesäke. Tämä kontaminaatio oli ilmeisesti muualta kuin vedestä, sillä muut saman vesierän näytteistä olivat täysin puhtaita. Liitteissä 4, 5 ja 6 on nähtävissä steriilin veden viljelytuloksineen.

Tuloksiin on vaikuttanut myös mittalasi-tarkkuus toisin sanoen näytetilavuudet mitattiin mittalaseilla. Tarkemmin tilavuuksien mittaukset olisi voitu suorittaa esimerkiksi sopivalla pipetillä. Tässä työssä päädyttiin käyttämään mittalasi-tarkkuutta, sillä se oli riittävä tarkkuus tähän tarkoitukseen.

Näytteissä esiintyi jonkin verran taustakasvua, vaikka kasvualustat olivat selektiivisiä. Tämä johtuu näytemateriaalista eli jätevedestä, sillä se sisältää paljon erilaisia mikrobeja. Selektiivinen kasvualusta antaa hyvät kasvuolosuhteet tietyille bakteerille. Se ei kuitenkaan täysin poissulje myös muiden bakteerien kasvua kasvualustalla. Taustakasvu ei kuitenkaan häirinnyt tyypillisten pesäkkeiden laskemista.

9 POHDINTA

Työn tavoitteena oli selvittää tertiäärisen flotaatioon puhdistavaa vaikutusta indikaattoribakteereihin. Tämä tavoite saavutettiin ja työn avulla saatiin tietoa tertiäärisen flotaation indikaattoribakteereita puhdistavasta vaikutuksesta. Työn tulosten perusteella oli nähtävissä, että tertiäärinen flotaatio vähentää huomattavasti indikaattoribakteerien pitoisuuksia yhdyskuntajätevedessä.

Mikrobiologisissa tutkimuksissa tarvitaan näytteitä runsaasti, jotta tuloksia voidaan pitää luotettavina. Tässä työssä näytteiden lukumäärä oli pieni eikä tuloksia voida pitää tilastollisesti luotettavina. Työn tarkoitus oli kuitenkin selvittää suuntaa antavasti kuinka tertiäärinen flotaatio puhdistaa jäteveden indikaattoribakteereja ja siihen tarkoitukseen työn näytemäärät riittivät.

Tulosten luotettavuuden lisäämiseksi työhön olisi voinut ottaa mukaan kontrollikannat tutkittavista bakteereista. Niiden avulla olisi voitu vertailla tyypillisiä pesäkkeitä. Työssä tyypillisten pesäkkeiden tunnistus kuitenkin sujui hyvin ja oli helppoa. Työn laimennoksissa käytettiin steriiliä vettä ja se on voinut vaikuttaa saatuihin tuloksiin. Steriilin veden käyttöön päädyttiin sen vuoksi, että jätevesi sisältää runsaasti kasvualustaa bakteereille. Jos näyte itsessään olisi ollut ravinneköyhempi, niin peptonivesi olisi voinut olla mahdollinen laimennosliuos. Steriilivesi voi vaikuttaa bakteerien selviämiseen (heikentäen niiden kasvua) ja siten se saattaa parantaa tuloksia.

Mikrobiologisissa näytteissä sekä rinnakkaisnäytteissä pesäkemäärät saattavat vaihdella huomattavasti ilman, että kyseessä olisi virhe. Tämä näkyi myös työn tuloksissa, sillä jätevesinäytteiden bakteeripitoisuuksissa oli huomattavia vaihteluita. Tuloksiin on voinut vaikuttaa myös se, että näytteenottovälineet eivät olleet steriilejä. Keskustelujen pohjalta päädyttiin siihen, että näytteenottovälineiden ei tarvitse tässä työssä olla steriilejä. Tämä päätös perustui siihen, että näytteenottoväline ei kontaminoidu jäteveden ulkopuolisilla mikrobeilla. *E.Coli*-bakteeria tutkittiin standardin mukaisesti lukuun ottamatta β -glukuronidaasitestiiä. Tämä testi on suositeltavaa tehdä mahdollisille *E.Coli*-bakteereille luotettavuuden parantamiseksi. Tässä työssä sitä ei tehty, joten se hiukan heikentää tulosten luotettavuutta.

Työssä olisi kannattanut lähteä liikkeelle laimennossarjan avulla, jolloin olisi löytynyt sopivat laimennokset jokaiselle näytteelle. Tämä olisi nopeuttanut oikeiden laimennosten löytymistä ja olisi saatu useampi rinnakkainen tulos samalle laimennossuhteelle. Tässä työssä sopivat laimennokset löytyivät kokeilemalla ja sen huonona puolena oli, että oikean laimennoksen löytämiseen meni hieman pidempi aika. Oikean laimennoksen löytäminen on tärkeää, sillä pesäkkeiden määrän kasvualustalla tulisi olla mahdollisimman suuri, jotta ne kuitenkin pystytään luotettavasti laskemaan. Vähäisessä pesäkkeiden määrässä yhden pesäkkeen ero on suhteellisen suuri ja vaikuttaa merkittävästi tuloksiin.

Työtä voisi lähteä kehittämään siten, että tertiäärisen flotaation puhdistavaa vaikutusta tutkittaisiin laajemmin. Työhön voisi tällöin ottaa mukaan esimerkiksi fosforin ja kiintoaineen pitoisuusmääritykset. Lisäksi näytteiden lukumäärää voitaisiin lisätä huomattavasti, jotta saataisiin luotettavampia tuloksia. Mielekästä olisi myös tutkia, onko vuodenajoilla ja puhdistettavan jäteveden lämpötilalla vaikutusta tertiäärisen flotaation toimintaan ja puhdistustulokseen. Myös laimennosvetenä käytetyn steriilin veden vaikutusta bakteerien määrään voisi tutkia. Mielenkiintoista olisi myös tutkia, vaikuttiko näytteenottoväline tuloksiin.

LÄHTEET

Direct Methods. Luettu 4.3.2013.

<http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%206/counting.html>.

Allastasokuva. Econet. 2012.

Enterohaemorrhagic Escherichia coli (EHEC). Luettu 12.12.2012.

<http://www.who.int>

Escherichia coli/EHEC (VTEC/STEC) ruokamyrkytysten aiheuttajana. Elintarviketurvalisuusvirasto. Päivitetty 28.8.2012. Luettu 5.12.2012.

<http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet>

Flotaatio. Vaasan vesi. Päivitetty 17.4.2008. Luettu 30.1.2013.

http://www.vaasanvesi.fi/Suomeksi/Esittely/Pattin_puhdistamo/Flotaatio

Hammer, M. & Hammer, M. Jr. Water and wastewater technology. 2001. 4. painos. New Jersey: Upper Saddle River: Prentice Hall

Hietala, K. 2012. Keskustelu 14.12.2012..

Hokajärvi, A-M., Pitkänen, T., Torvinen, E. & Miettinen, I. 2008. Suolistoperäisten taudinaiheuttajamikrobien esiintyminen luonnon vesissä. Kirjallisuuskatsaus terveystieteistä ja niiden suuruuteen vaikuttavista tekijöistä. Kansanterveyslaitoksen julkaisu B 1/2008. Luettu 26.11.2012.

<http://www.julkari.fi>

Kalvosuodatusmenetelmä veden mikrobiologisessa tutkimuksessa. SFS Standardi 3950. Vahvistettu 30.06.1979

Karttunen, E. Vesihuoltotekniikan perusteet. 1999. Opetushallitus. Helsinki: Hakapaino Oy.

Kattunen, E. Vesihuolto I. 2003. RIL: Vammalan kirjapaino Oy.

Karttunen, E. Vesihuolto II. 2004. RIL. Vammalan kirjapaino Oy.

Koivunen, J. 2005. Korkeapaineflotaatio ja peretikkahappodesinfiointi jäteveden käsittelyssä. Vesitalous 3/2005.

Koliformiset bakteerit ja Escheria coli. Terveystieteiden ja hyvinvoinninlaitos. Päivitetty 13.7.2005. Luettu 26.11.2012.

<http://www.ktl.fi>

Leino, N. 2008. Puhdistetun jäteveden patogeeneit ja desinfiointitarve. Lounais- Suomen vesi- ja ympäristötutkimus Oy.

Maier, R., Pepper, I. & Gerba, C. Environmental microbiology. 2009. 2. painos. Academic Press.

Niemelä, S. 2001. Mikrobiologian kvantitatiivisten viljelymääritysten mittausepävarmuus. Julkaisu. Mittatekniikan keskus. Helsinki.

Oksanen, A. 2012. Tampereen ammattikorkeakoulu. Laboratorioala. Harjoitteluraportti.

Pienimäki, T. 2010. Paperitehtaan jätevesien puhdistus sekä Tervakoski Oy:n kiintoainepäästökartoitus. Tampereen teknillinen yliopisto. Diplomityö.

Puhakka, J. 2002. Ympäristöbiotekniikka ja biofilmit, jätevedet. Teoksessa Salkinoja-Salonen, M. (toim.) Mikrobiologian perusteita 2002. Jyväskylä: Gummerus kirjapaino Oy.

Sosiaali- ja terveysministeriön asetus 177/2008 yleisten uima-rantojen uimaveden laatuvaatimuksista ja valvonnasta. Luettu 20.11.2012.

<http://www.valvira.fi>

Suolistobakteerien määrittäminen ja tutkimus. Suomen ympäristökeskus. Päivitetty 21.4.2010. Luettu 7.2.2013.

<http://www.ymparisto.fi>

Suolistobakteerit veden laadun kuvaajina. Suomen ympäristökeskus. Päivitetty 21.4.2010. Luettu 26.11.2012.

<http://www.ymparisto.fi>

Suolistoperäiset enterokokit. Terveyden- ja hyvinvoinninlaitos. Päivitetty 13.7.2005. Luettu 5.12.2012.

<http://www.ktl.fi>

Suolistoinfektioita aiheuttavat mikrobit jätevedessä. Terveyden- ja hyvinvoinninlaitos. Päivitetty 13.2.2008. Luettu 29.11.2012.

<http://www.ktl.fi>

Tchobanoglous, G. & Burton, F. Wastewater engineering treatment, disposal and reuse. 1991. 3. painos. Singapore; McGraw-Hill.

Tryptofaani. Fineli. Terveyden- ja hyvinvoinnin laitos. Luettu 4.2.2013.

<http://www.fineli.fi>

Tähtiniemen jätevedenpuhdistamo. Orivesi. Luettu 26.11.2012.

<http://www.orivesi.fi>

Veden koliformisten bakteerien kokonaismäärän määrittäminen kalvosuodatusmenetelmällä. Laboratorioanalyysit. Opetushallitus. Luettu 26.11.2012.

<http://www.03edu.fi>

Veden laatu. Koliformisten bakteerien kokonaismääritys kalvosuodatusmenetelmällä. Standardi SFS 3016. Vahvistettu 15.8.2011.

Veden laatu. Lämpökestoisten koliformisten bakteerien lukumäärän määrittäminen kalvosuodatusmenetelmällä. Standardi SFS 4088. Vahvistettu 21.05.2001.

Veden laatu. Suolistoperäisten enterokokkien havaitseminen ja laskeminen. Osa 2: Kalvosuodatusmenetelmä. Standardi SFS –EN ISO 7899-2. Vahvistettu 6.11.2000.

Vesien hygieeninen laatu. Suomen ympäristökeskus. Päivitetty 2.11.2010. Luettu 10.2.2013

<http://www.ymparisto.fi>

Vesinäytteenotto mikrobiologista tutkimusta varten. Standardi SFS 3951. Vahvistettu 05.03.1984.

Yhdyskuntajätevesien puhdistuslaitosten päästöjen seuranta ja raportointi- hyvien menettelytapojen kuvaus. Ympäristöhallinto. 30.12.2011.

Jäteveden vesistö- ja hygieniavaikutukset. Opas jätevesien maailmaan. Luettu 29.11.2012.

<http://www.vesiensuojelu.fi/jatevesi/vesistovaikutukset.html>

LIITTEET

Liite 1. Näytteenottosuunnitelma

Näytteenottosuunnitelma, pohjautuen SFS 3951 standardiin

Oikea näytteenotto, kuljetus ja varastointi ovat merkittävässä asemassa arvioitaessa veden hygieenista laatua mikrobiologisten tutkimusten avulla. Näyte pyrittävä ottamaan mahdollisimman edustavasti. Näytteenotossa näytteeseen ei saa joutua vieraita mikrobeja.

- Näytteet otetaan steriileihin 500ml borosilikaattipulloihin
- Näytteenotossa käytetään kertakäyttöhanskoja
- Näytteenotto suoritetaan aseptista työtappaa noudattaen
- Näyte tarvitsee ilmaa säilyäkseen edustavana, näytettä 4/5 osaa pullon tilavuudesta
- Näytteen kuljetus kylmälaukussa
 - * Näyte ei saa jäätyä
- Näytteenottolupa, sertifiointi: ei ole, joten näytteenotto- asiasta on sovittu yhteistyötahon kanssa.
- Näytteet otetaan flotaatioon menevästä ja flotaatiosta lähtevästä vedestä.
 - * Näytettä tarvitaan 1000ml / näytteenottopaikka = Kaksi pulloa (500ml)

Steriloitu pullo avataan juuri ennen näytteenottoa. Pullon korkki avataan ja se asetetaan siten, että se ei kontaminoidu vierailta mikrobeilla.

Paikalliset olosuhteet määräävät sen, kuinka näyte otetaan kyseissä paikoissa. Jos käytetään avointa tai suljettua pullonoudinta, se on liekitettävä juuri ennen näytteenottoa. Jos veden pintaan on helppo ylettyä, näyte voidaan ottaa suoraan pulloon, upottamalla pullon suu nopeasti 20-30 cm syvyyteen veden pinnan alapuolelle.

Pullot suljetaan huolellisesti välittömästi näytteenoton jälkeen. Lämpötila mitataan näytteenottosyvyydestä ja kirjataan ylös $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ tarkkuudella.

Näytteen merkitseminen:

Näytteenottaja, näytteenottoaika ja -paikka, päivämäärä, kuljetusolosuhteet, muut tekijät (haju, väri, roskat, vaahto, sameus)

Näytteet suojattava valolta näytteenoton jälkeen ja kuljetuksen ajan. Näytteiden säilytys on aina haitallista ja sen vuoksi säilytysaika tulisi pitää mahdollisimman lyhyenä.

Näytteet haetaan aamuisin Orivedeltä, jonka jälkeen ne kuljetetaan Tampereen ammattikorkeakoulun laboratorioon kylmälaukkuun pakattuna. Ruotsalaisessa standardissa kuljetuslämpötilaksi on määritelty 4-8 °C. Näytteenottoaika noin klo 7.30.

Liite 2. Tehdyt oksidaasitestit tuloksineen

Näytteiden viljelypäivämäärä	Näyte		Tulos
Ke 9.1.2013	Menevä 1, 1:1000	1	-
		2	-
		3	-
	Menevä 2, 1:1000	1	-
		2	-
		3	-
	Lähtevä 1, 1:1000	1	-
	2	-	
Ma 14.1.2013	Menevä 1, 1:1000	1	-
		2	-
		3	-
	Menevä 2, 1:1000	1	-
		2	-
		3	-
	Lähtevä 1, 1:1000	1	-
		2	-
		3	-
	Lähtevä 2, 1:1000	1	-
	2	-	
	3	-	
Ti 15.1.2013	Menevä 1, 1:1000	1	-
		2	-
		3	-
	Menevä 2, 1:1000	1	-
		2	-
		3	-
	Lähtevä 1, 1:1000	1	-
		2	-
	Lähtevä 2, 1:1000	1	-
		2	-
		2	-
Lähtevä 1, 1:500	1	-	
	2	-	
Lähtevä 2, 1:500	1	-	
	2	-	
Ma 21.1.2013	Menevä 1, 1:1000	1	-
		2	-
		3	-
	Menevä 2, 1:1000	1	-
		2	-
		3	-
	Lähtevä 1, 1:1000	1	-
		2	-
	Lähtevä 2, 1:1000	1	-
		2	+
		2	-
Lähtevä 1, 1:500	1	-	
	2	-	
Lähtevä 2, 1:500	1	-	
	2	-	
Ti 22.1.2013	Menevä 1, 1:1000	1	-
		2	-
	Menevä 2, 1:1000	1	-
		2	-
		3	-
	Lähtevä 1, 1:1000	1	-
	Lähtevä 2, 1:1000	1	-
	Lähtevä 1, 1:500	1	-
		2	-
		3	-
Lähtevä 2, 1:500	1	-	
Negatiivinen - Positiivinen +			

Liite 3. Tehdyt indolitestit tuloksineen.

Näytteen viljelypäivämäärä	Näyte		Tulos
Ke 9.1.2013	Menevä 1, 1:1000	1	+
		2	+
		3	-
	Menevä 2, 1:1000	1	-
		2	+
	Lähtevä 1, 1:1000	1	-
Ma 14.1.2013	Menevä 1, 1:1000	1	-
		2	+
	Menevä 2, 1:1000	1	-
		2	-
	Lähtevä 1, 1:1000	1	-
		2	-
Ti 15.1.2013	Lähtevä 2, 1:1000	1	+
		2	+
	Menevä 1, 1:1000	1	-
		2	-
	Menevä 2, 1:1000	1	-
		2	-
	Lähtevä 1, 1:1000	1	+
		2	-
Ma 21.1.2013	Lähtevä 2, 1:1000	1	-
		2	-
	Lähtevä 1, 1:1000	1	-
		2	+
	Menevä 1, 1:1000	1	+
		2	+
	Menevä 2, 1:1000	1	-
		2	-
Ti 22.1.2013	Lähtevä 1, 1:1000	1	+
		2	+
	Lähtevä 2, 1:1000	1	-
		2	-
	Menevä 1, 1:1000	1	-
		2	+
	Lähtevä 1, 1:500	1	+
		2	-
	3	+	
	Negatiivinen - Positiivinen +		

Liite 4. Koliformiset bakteerit, näytetiedot ja tulokset

Näytteenotto- päivä ja -aika	Näyte	Laimmenus- suhde	Koliformiset bakteerit		
			Menevä pmy/100ml	Lähtevä pmy/100ml	Bakteerien vähennämä %
Ti 8.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1	0	0	
	Näyte 1	1:1	+	+	
		1:1	+	+	
	Steriilivesi	1:1	0	0	
	Näyte 2	1:2	+	+	
		1:2	+	+	
Ke 9.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1	0	1	
	Näyte 1	1:1000	27 000	2000	93
	2	1:1000	19 000	1000	95
Ma 14.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1		0	
	Näyte 1	1:100		+	
	2	1:100		+	
	Steriilivesi	1:1	0	en tehnyt	
	Näyte 1	1:1000	20 000	9000	55
	2	1:1000	21 000	9000	57
Ti 15.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1		0	
	Näyte 1	1:500		8000	
	2	1:500		2500	
	Steriilivesi	1:1	0	en tehnyt	
	Näyte 1	1:1000	21 000	4000	81
	2	1:1000	25 000	4000	84
Ma 21.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1		0	
	Näyte 1	1:500		9500	
	2	1:500		5500	
	Steriilivesi	1:1	0	en tehnyt	
	Näyte 1	1:1000	56 000	2000	96
	2	1:1000	66 000	4000	94
Ti 22.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1		0	
	Näyte 1	1:500		5000	
	2	1:500		5000	
	Steriilivesi	1:1	0	en tehnyt	
	Näyte 1	1:1000	43 000	2000	95
	2	1:1000	42 000	5000	88
			Kasvoi liikaa +		

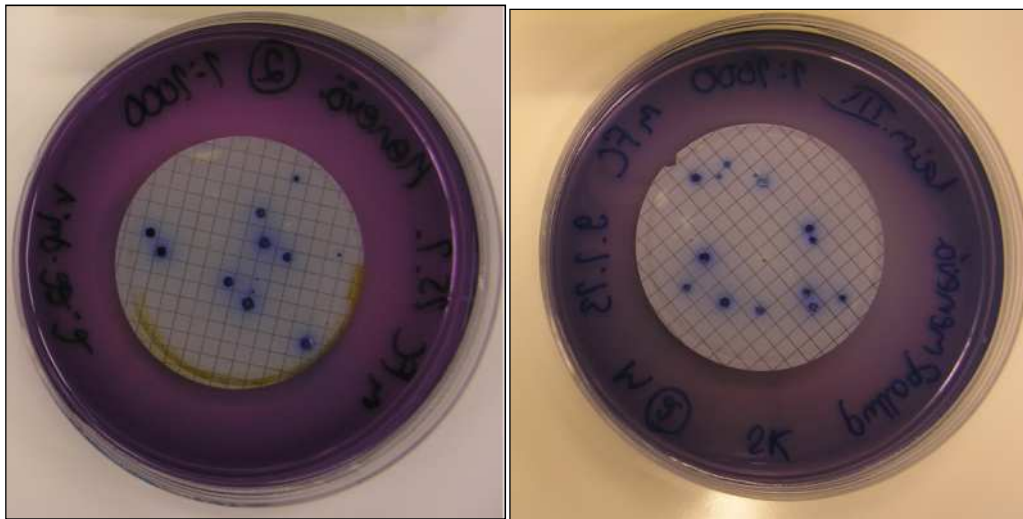
Liite 5. Fekaaliset koliformiset bakteerit, näytetiedot ja tulokset

Näytteenotto- päivä ja -aika	Näyte	Laimenus- suhde	Fekaaliset koliformiset bakteerit		
			Menevä pmy/100ml	Lähtevä pmy/100ml	Bakteerien vähennämä %
Ti 8.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1	0	0	
	Näyte 1	1:1	+	+	
		1:1	+	+	
	Steriilivesi	1:1	0	0	
	Näyte 2	1:2	+	+	
		1:2	+	+	
Ke 9.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1	0	0	
	Näyte 1	1:1000	11 000	2000	82
		1:1000	16 000	1000	94
Ma 14.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1		0	
	Näyte 1	1:100		+	
	2	1:100		+	
	Steriilivesi	1:1	0	en tehnyt	
	Näyte 1	1:1000	17 000	6000	65
	2	1:1000	14 000	9000	36
Ti 15.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1		0	
	Näyte 1	1:500		5000	
	2	1:500		4000	
	Steriilivesi	1:1	0	en tehnyt	
	Näyte 1	1:1000	4000	3000	25
	2	1:1000	12 000	3000	75
Ma 21.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1		0	
	Näyte 1	1:500		3000	
	2	1:500		4500	
	Steriilivesi	1:1	en tehnyt	en tehnyt	
	Näyte 1	1:1000	43 000	4000	91
	2	1:1000	62 000	3000	95
Ti 22.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1		0	
	Näyte 1	1:500		4000	
	2	1:500		3500	
	Steriilivesi	1:1	0	en tehnyt	
	Näyte 1	1:1000	26 000	6000	77
	2	1:1000	34 000	5000	85
			Kasvoi liikaa +		

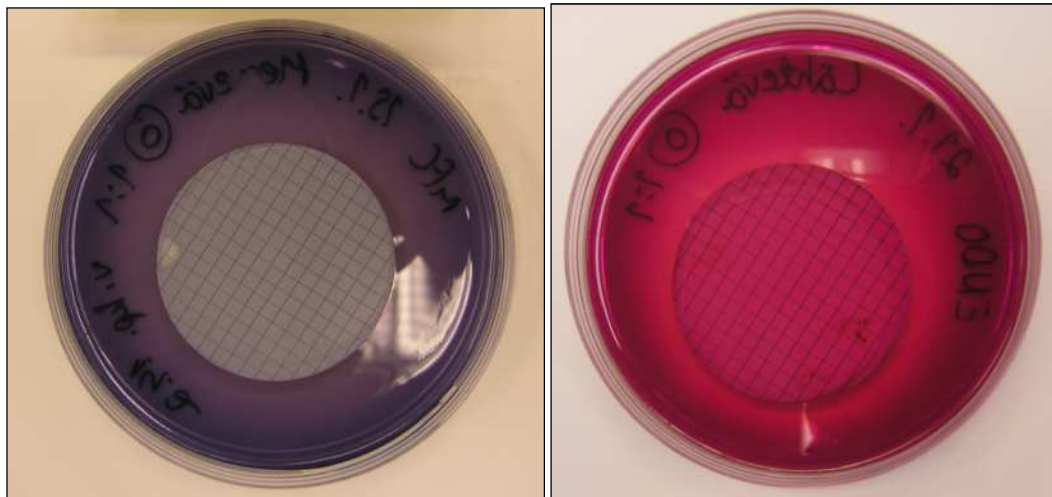
Liite 6. Fekaaliset enterokokki bakteerit, näytetiedot ja tulokset

Näytteenotto- päivä ja -aika	Näyte	Laimmenus- suhde	Fekaaliset enterokokki bakteerit		
			Menevä pmy/100ml	Lähtevä pmy/100ml	Bakteerien vähennä %
Ti 8.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1	0	0	
	Näyte 1	1:1	+	+	
		1:1	+	+	
	Steriilivesi	1:1	0	0	
	Näyte 2	1:2	+	+	
		1:2	+	+	
Ke 9.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1	0	0	
	Näyte 1	1:1000	4000	-	
	2	1:1000	6000	-	
Ma 14.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1		0	
	Näyte 1	1:10		450	83
	2	1:10		220	86
	Steriilivesi	1:1	0		
	Näyte 1	1:100	2700		
	2	1:100	1600		
	Steriilivesi	1:1	en tehnyt		
	Näyte 1	1:1000	4000		
2	1:1000	2000			
Ti 15.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1		0	
	Näyte 1	1:10		200	89
	2	1:10		160	90
	Steriilivesi	1:1	0		
	Näyte 1	1:100	1900		
	2	1:100	1600		
	Steriilivesi	1:1	en tehnyt		
	Näyte 1	1:1000	2000		
2	1:1000	1000			
Ma 21.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1		0	
	Näyte 1	1:10		160	
	2	1:10		170	
	Steriilivesi	1:1	0		
	Näyte 1	1:100	noin 80		
	2	1:100	noin 80		
	Steriilivesi	1:1	en tehnyt		
	Näyte 1	1:1000	7000		
2	1:1000	6000			
Ti 22.1.2013 klo 7.20 Lämpötila 9,5°C	Steriilivesi	1:1		0	
	Näyte 1	1:10		190	94
	2	1:10		110	98
	Steriilivesi	1:1	0		
	Näyte 1	1:100	3200		
	2	1:100	5300		
	Steriilivesi	1:1	en tehnyt		
	Näyte 1	1:1000	3000		
2	1:1000	5000			
			Kasvoi liikaa + Kasvoi liian vähän-		

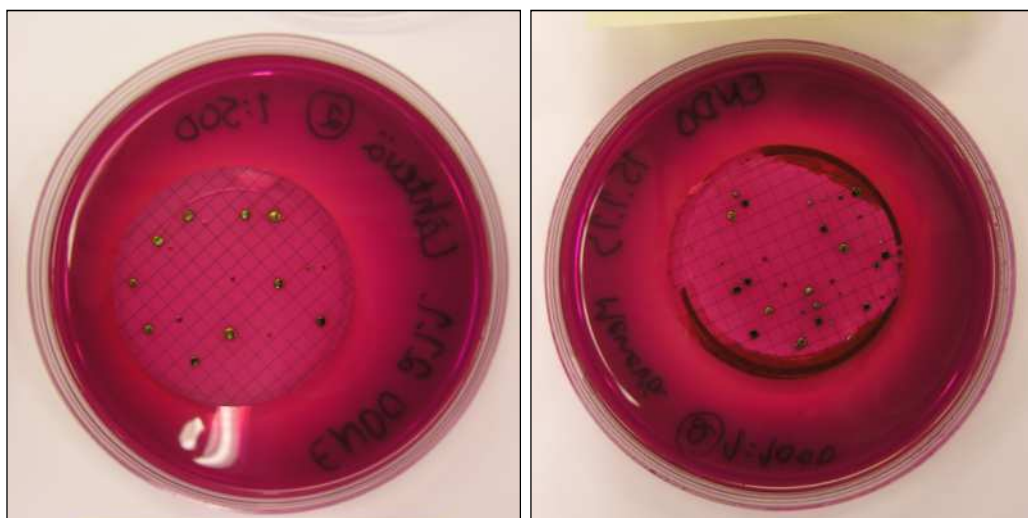
Liite 7. Kuvia kasvualustoista



mFC: Vasemmalla flotaatioon menevä 1:1000 (Ti 15.1) ja oikealla flotaatioon menevä 1:1000 (Ke 9.1.)

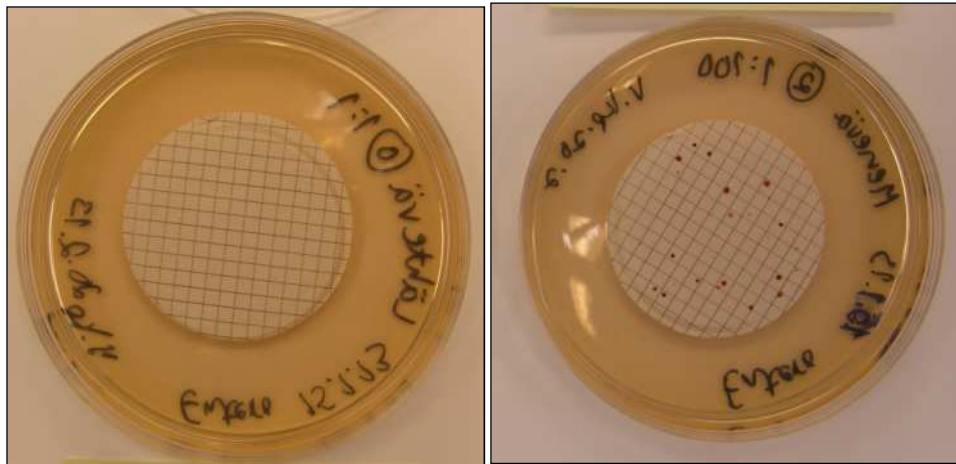


mFC: Vasemmalla steriilivesi 1:1 (Ti 15.1.) ja oikealla LES Endo: Steriilivesi 1:1 (Ma 21.1.)

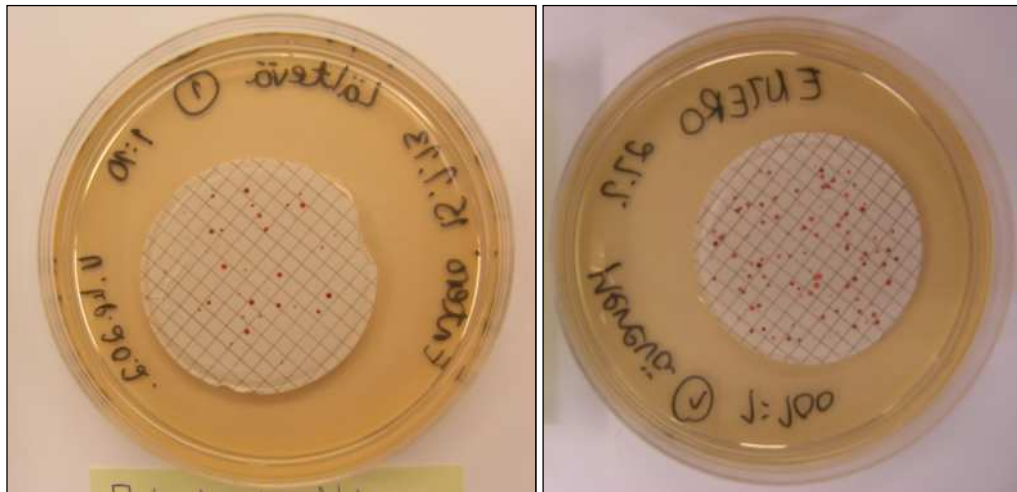


LES Endo: Vasemmalla flotaatiosta lähtevä 1:500 (Ma 21.1.) ja oikealla flotaatioon menevä 1:1000 (Ti 15.1.)

Liite 8. Kuvia kasvualustoista



Slanetzin ja Bartleyn: Vasemmalla steriilivesi 1:1 (Ti 15.1.) ja oikealla flotaatioon menevä 1:100 (Ti 15.1.)



Slanetzin ja Bartleyn: Vasemmalla flotaatiosta lähtevä 1:10 (Ti 15.1.) ja oikealla flotaatioon menevä 1:100 (Ma 21.1.)