



LENTOTUHKAN BIOLIUOTUS

Opinnäytetyö

Meri Tissari

Ympäristötekniikan koulutusohjelma
Ympäristönsuojelu ja automaatio- ja mittaustekniikka

Hyväksytty ____ . ____ . ____ _____

SAVONIA-AMMATTIKORKEAKOULU TEKNIikka KUOPIO

Koulutusohjelma

Ympäristötekniikan koulutusohjelma

Tekijä

Meri Tissari

Työn nimi

Lentotuhkan bioliuotus

Työn laji

Insinöörityö

Päiväys

5.5.2011

Sivumäärä

51+1

Työn valvoja

Yliopettaja Merja Tolvanen

Yrityksen yhdyshenkilö

Fil. lis. Arja Ruokojärvi

Yritys

Savonia-ammattikorkeakoulu, Ympäristötekniikan opetus- ja tutkimusyksikkö

Tiivistelmä

Energiantuotannossa syntyy tuhkaa Suomessa vuosittain noin 1,6 miljoonaa tonnia. Noin puolet tuhkista voidaan hyödyntää esimerkiksi maarakentamisessa tai metsälannoitteena. Usein tuhkat kuitenkin sisältävät liian suuria pitoisuuksia haitallisia aineita, jolloin niiden hyötykäyttö estyy. Haitallisten aineiden pitoisuuksien alentaminen on nykytekniikoilla hankalaa tai taloudellisesti kannattamatonta. Bioliuotus voisi olla yksi soveltuva tekniikka metallipitoisten tuhkien laadun parantamiseksi ja arvometallien liuottamiseksi jatkokäyttöä varten. Siinä hyödynnetään mikrobien kykyä tuottaa metalleja liuottavia aineita, kuten happoja ja aineenvaihduntatuotteita. Tämä insinöörityö on osa Savonia-ammattikorkeakoulun Tekesin rahoittamaa PROBIO –projektin rinnakkaishanketta, jossa yhtenä osana tutkittiin turpeen ja hakkeen sekapolton lentotuhkan bioliuotusta *Aspergillus niger* –nuijahomeella. Työn tavoitteena oli tutustua lentotuhkan hyötykäyttömahdollisuuksiin ja bioliuotuksen teoriaan sekä suunnitella koesarjat Savonia-ammattikorkeakoulun tiloissa tehtäviä bioliuotuskokeita varten.

Bioliuotuskokeiden tarkoituksena oli löytää bioliuotukselle optimaaliset olosuhteet muuttamalla liuotusaikaa, tuhkapitoisuutta ja ravinneliuoksen sakkaroosipitoisuutta. Lisäksi teimme solullisia ja soluttomia liuotuksia ja kokeilimme kemiallista liuotusta. Koesarjat suunniteltiin siten, että näiden kaikkien muuttujien vaikutukset liuotuksen tehokkuuteen saatiin kartoitettua. Liukenemisen tehokkuutta seurattiin metallianalysein sekä pH:ta mittauksin, joiden perusteella valittiin parhaita liuotuskokeita tarkempiin analyyseihin. Tämän jälkeen parhaita yhdistelmiä kokeiltiin suuremmissa mittakaavassa fermentorissa.

Tutkimuksessa havaittiin, että paras metallien liukeneminen saavutettiin liuotusajan ollessa vähintään 14 vrk ja lentotuhkapitoisuuden ollessa enintään 5 %. Useiden metallien liukoisuuksissa päästiin yli 70 %:n. Karakterisoinnin perusteella lentotuhka sisälsi joitakin metalleja, kuten arseenia ja sinkkiä, haitallisia määriä, eikä niiden määrää saatu bioliuotuksella riittävästi alennettua, että hyötykäyttö olisi mahdollista. Tulevaisuudessa haasteeksi muodostuvat *Aspergillus nigerin* tuottaman biomassan erotteluun tuhkasta ja sen jatkokäyttö sekä sienen vaatiman energian ja lämmön saanti. Lisäksi prosessin kokonaiskustannukset tulisi laskennallisesti selvittää ja tehdä suuremman mittakaavan kokeita.

Avainsanat

Bioliuotus, lentotuhka, *Aspergillus niger*, hyötykäyttö

Luottamuksellisuus

julkinen

SAVONIA UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Degree Programme

Environmental Engineering

Author

Meri Tissari

Title of Project

Bioleaching of Incineration Fly Ash

Type of Project

Final Project

Date

May 5 2011

Pages

51+1

Academic Supervisor

Ms Merja Tolvanen, Principal Lecturer

Company Supervisor

Ms Arja Ruokojärvi, Ph.L.

Company

Savonia UAS Faculty of Engineering and Technology, R&D in Environmental Engineering

Abstract

Energy production in Finland generates some 1.6 million tons of ash per year. About half of the ashes can be used in earth work or as forest fertilizer. Ash, however, often contain too high concentrations of harmful substances, so its recovery is hindered. The reduction of harmful substances with current techniques is often difficult or economically unfeasible. Bioleaching can be one of the most appropriate techniques to improve the quality of metal-containing ash and to dissolve precious metals for further use. It is based on the ability of microbes to produce metal leaching solvents, such as acids and metabolites. This thesis forms a part of the Savonia University of Applied Sciences PROBIO project, which is a parallel project funded by Tekes. One part of the parallel project was to study the bioleaching of peat and wood chips incineration fly ash by the *Aspergillus niger* mold. The aim was to explore the possibilities of utilization of fly ash and the bioleaching theory and also to design a set of experiments for bioleaching tests to be held at the facilities of Savonia University of Applied Sciences.

The aim of the bioleaching tests was to find the optimum conditions for leaching by changing the leaching time, ash content and the amount of sucrose in the nutrient. In addition, tests were carried out with and without the cells and also chemical leaching was tested. The tests were designed so that the influence of all these variables to the dissolution efficiency was surveyed. Leaching efficiency was monitored by metal analyses and pH measurements, and some experiments were chosen to closer analysis. Subsequently, the best combinations were tested on a larger scale bioreactor.

It was find out in the study that the best metal dissolution was achieved when the leaching time was at least 14 days and the fly ash content was no more than 5%. The leaching efficiency of several metals was over 70 %. Based on characterization the raw fly ash contained some metals such as arsenic and zinc in harmful quantities, and their amount reduced by bioleaching was not enough to allow further utilization. The future challenges will be the separation of *Aspergillus niger* biomass from ash and its subsequent use and the heat and the energy intake of the fungus. Additionally, the total costs of the process should be calculated and larger-scale experiments should be made.

Keywords

bioleaching, fly ash, *Aspergillus niger*, utilization

Confidentiality

public

ALKUSANAT

Tämä insinööriyö on osa valtakunnallista PROBIO-projektia ja se toteutettiin Savonia-ammattikorkeakoulun ympäristötekniikan opetus- ja tutkimusyksikön tiloissa. Työ oli haasteellinen ja mielenkiintoinen ja antoi hyviä taitoja tulevaa työelämää varten.

Ensiksi haluan kiittää työpaikan ohjaajaa, Arja Ruokojärveä, hyvästä insinööriyöaiheesta, erinomaisesta ohjauksesta, osallistumisesta työn eri vaiheisiin sekä auttamisesta käytännön asioiden toteuttamiseen. Muita työpaikan henkilöitä haluan kiittää mukavasta ja rennosta työilmapiiristä. Erityiskiitokseni osoitan insinööriyön ohjaajalle, Merja Tolvaselle, joka on motivoinut, kannustanut ja antanut asiantuntevia neuvoja insinööriyön teossa ja koko opiskelujeni ajan.

KUOPIOSSA 10.5.2011

Meri Tissari

Sisällys

1.	JOHDANTO	3
2.	LENTOTUHKAN OMINAISUUKSISTA JA HYÖDYNTÄMISESTÄ	5
2.1.	Lentotuhkan ominaisuuksia	5
2.2.	Lentotuhkan hyödyntäminen	6
2.2.1	Käyttö metsälannoitteena	7
2.2.2	Käyttö maarakennusaineena	9
2.2.3	Käyttö betonin seosaineena	10
2.2.4	Kaatopaikkakelpoisuus	11
3.	BIOLIUOTUS JA SIENET	14
3.1.	Bioliuotus.....	14
3.2.	<i>Aspergillus niger</i>	15
3.3.	<i>Aspergillus niger</i> –sienen käyttö kivihiilen, yhdykuntajätteen ja hakkeen polton lentotuhkan bioliuotuksessa	16
4.	TUTKITTAVA MATERIAALI JA MIKROBIVILJELMÄ.....	21
4.1.	Lentotuhka	21
4.2.	<i>Aspergillus niger</i>	23
5.	TUTKIMUSMENETELMÄT.....	24
5.1.	Aseptiset työtavat.....	24
5.2.	Mikrobien kasvatus.....	24
5.3.	Lentotuhkan esikäsittely	25
5.4.	Koejärjestelyt.....	26
5.4.1	Ravistelupullokoheet	26
5.4.2	Bioliuotus fermentorissa.....	29
5.4.3	Kemiallinen liuotus	30
5.5.	Näytteiden analysointi	31
6.	TULOKSET.....	32
6.1.	Bioliuotuskokeet ravistelupulloissa	32
6.1.1	Soluton liuotus.....	32
6.1.2	Yhteisvaikutusten kokeilu	33
6.1.3	Liuotus tuhkapitoisuudella 3 ja 5 %.....	37

6.1.4	14 vuorokauden liuotus 1 %:n tuhkapitoisuudella.....	37
6.1.5	Pitkäkestoinen liuotus.....	38
6.1.6	Nollanäytteet.....	38
6.2.	Bioliuotuskokeet fermentorissa	39
6.3.	Kemiallinen liuotus	41
6.4.	Orgaaniset hapot	41
7.	TULOSTEN TARKASTELU	43
7.1.	100-prosenttinen liukeneminen ja vertailuarvot	43
7.2.	Ravistelupullokokeiden parhaimmat yhdistelmät	44
7.3.	Fermentoinnit.....	46
7.4.	Saavutettu liukenemisaste.....	46
7.5.	HACH–analysaattorin soveltuvuus liukoisuustesteihin	47
8.	JOHTOPÄÄTÖKSET.....	48
	LÄHTEET	50
	LIITTEET	
	LIITE 1. Lentotuhkan bioliuotus -posterit	

1. JOHDANTO

Energiantuotannossa, kivihiilen, turpeen ja puun poltossa, syntyy tuhkaa Suomessa vuosittain noin 1,6 miljoonaa tonnia /1/, josta lentotuhkan osuus on noin 1,1 miljoonaa tonnia /2/ ja loput on pohjatuhkaa. Kivihiilen polton tuhkaa voidaan hyödyntää mm. maarakennuskohteissa, betoni- ja sementtiteollisuuden raaka-aineena sekä maa- ja pohjarakenteiden stabiloinnissa. Puhtaat puutuhkat ovat erinomaisia suometsien lannoittamiseen. Turpeen ja seospolton tuhkaa on käytetty maarakenteissa sekä kaatopaikkojen pintatöissä ja maisemoinnissa. Useista hyötykäyttömahdollisuuksista huolimatta, kuitenkin vain noin puolet kaikista tuhista voidaan hyötykäyttää ja seostuhkia sitäkin vähemmän./1/

Tuhkan käyttöä säätelee lainsäädäntö ja erityisesti tuhkan raskasmetallipitoisuudet asettavat rajoituksia tuhkan hyötykäytölle. Nousevien jätekustannusten ja ympäristöstävällisyyden kannustamina tuotantolaitosten motivaatio tuhkien laadun parantamiseen on ensiarvoisen tärkeä /3/. Puhdistusmenetelmät, kuten lämpökäsittely, kemiallinen liuotus ja kloridihaihdutus ovat kuitenkin nykyisellään energiaa vieviä ja usein ympäristöä kuluttavia, eikä kustannuksiltaan edullista ja tarpeeksi tehokasta puhdistusmenetelmää pitoisuuksien alentamiseksi ole saatavilla /4/. Näin ollen tuhkat kuormittavat kaatopaikkoja merkittävästi.

Bioliuotus voi olla yksi potentiaalinen keino alentaa lentotuhkan raskasmetallipitoisuuksia. Sopivien bioliuotusolosuhteiden löytymiseksi ja suuremman mittakaavan liuotuskokeilua varten tarvitaan prosessiparametrien optimointia.

Tekesin rahoittamassa valtakunnallisessa hankkeessa "Bioliuotukseen perustuva jätemateriaalien ja kuonien kustannustehokas jalostaminen (PROBIO)", tutkitaan bioliuotusteknologian ja fysikaalisten erotusteknologioiden sovellusmahdollisuuksia mm. metalliteollisuuden jätteiden sekä energiantuotannon tuhkien ominaisuuksien parantamiseen, siten että materiaalien hyötykäyttö tehostuisi. Tämä insinööri työ on osa Savonia-ammattikorkeakoulun PROBIO-projektin rinnakkaishanketta, jossa tutkitaan turpeen ja sahanpurun sekapolton lentotuhkan bioliuotusta käyttäen apuna *Aspergillus niger* -sienilajia. Työn alkuvaiheeseen kuului aiheen esittely Tekesin SYMBIO-ohjelman verkostoitumispäivänä, jonne tehty posterit on liitteenä (LIITE1).

Insinööri työnsä tarkoituksena on bioliuotuskokeiden avulla löytää lentotuhkan bioliuotukselle optimaaliset olosuhteet siten, että raskasmetallien liukeneminen on kaikkein tehokkainta. Työssä tutustutaan myös tuhkan hyötykäyttöä koskevaan lainsäädäntöön

sekä bioliuotuksen teoriaan. Lisäksi työssä tarkastellaan *Aspergillus niger* –sienellä aiemmin tehtyjä lentotuhkan bioliuotuskokeita sekä eri tuhkien ominaisuuksia.

Parhaiden liukenemisolosuhteiden löytymiseksi tehdään aluksi ravistelupullokokeita, jossa muutetaan liuoksen tuhkapitoisuutta, ravinneliuoksen sakkaroosipitoisuutta, liuotusaikaa sekä tehdään kokeita soluttomilla ja solullisilla liuoksilla. Tämän jälkeen parhaimpia yhdistelmiä tutkitaan suuremmassa mittakaavassa fermentorissa. *Aspergillus niger* tuottaa aineenvaihduntatuotteinaan orgaanisia happoja ja näiden happojen määrää tutkitaan HPLC- tutkimusten avulla. Tuotettujen happojen määrän pohjalta tehdään kemiallinen liuotuskoe, suurimmalla mahdollisella happomäärällä. Tarkoituksena on verrata bioliuotusta ja kemiallista liuotusta keskenään.

Kokeiden onnistumista seurataan metallianalysein, pH-mittauksin sekä HPLC -tutkimusten avulla. Saatuja tuloksia verrataan lainsäädännön raja-arvoihin ja tutkitaan onko tuhkan hyötykäyttö mahdollista bioliuotuksen jälkeen. Lisäksi tutkitaan voidaan-ko tuhkasta liuottaa arvometalleja riittävän suuria määriä jatkokäyttöä varten.

2. LENTOTUHKAN OMINAISUUKSISTA JA HYÖDYNTÄMISESTÄ

Lentotuhkaa syntyy polton yhteydessä, energiantuotannon sivutuotteena. Polttoaineena energiantuotannossa käytetään esimerkiksi kivihiiltä, puuperäisiä polttoaineita ja turvetta. Lentotuhka erotellaan polttoprosessin jälkeen savukaasuista esimerkiksi sähkösuodattimen avulla, puhdistettu savukaasu päästetään ilmaan ja lentotuhka kerätään tuhkasiiloon.

2.1. Lentotuhkan ominaisuuksia

Lentotuhkan ominaisuuksiin, eli laatuun ja määrään vaikuttaa pääasiassa poltettavan materiaalin laatu. Lisäksi ominaisuuksiin vaikuttavat polttotekniikka ja -lämpötila, palamisnopeus, ilman syöttö sekä kattiloiden kunto ja tuhkan talteenottojärjestelmä. Puutuhkan laatu vaihtelee myös maaperän alkuainepitoisuuksien ja poltettavien puunosien mukaan, energiasisältöä kohden raskasmetallipitoisuudet ovat pienemmät puun rungossa kuin kuorella ja oksissa. Turpeen ja puun polton seostuhka on hienojakoista kivihiilen lentotuhkaa karkeampaa ja alkalisempaa. Rakeisuudeltaan seostuhkat vastaavat silttiä ja hienoa hiekkaa./1/

Kivihiilen ja turpeen lentotuhka koostuu pääosin piin, alumiinin ja raudan oksideista. Puun polton lentotuhkassa on suuri määrä kalsiumoksidia. Pääkomponenttien lisäksi lentotuhkat sisältävät magnesium-, kalium- ja natriumoksideja ja palamatonta hiiltä sekä pieniä määriä raskasmetalleja. Kivihiilituhkassa on useiden raskasmetallien, kuten bariumin ja kromin, raskasmetallipitoisuudet korkeammat kuin puun ja turpeen tuhkassa. Puutuhkan lannoitekäytölle kriittisin raskasmetalli on kadmium, joka saattaa rajoittaa ravinteikkaan puutuhkan käyttöä lannoitteena./1/

Taulukossa 1 on kuvattu kolmen eri lentotuhkan ominaisuuksia. Lentotuhkanäytteet on otettu vähintään kolmena päivänä kolmena eri vuorokaudenaikana ja niistä on tehty kokoomanäytteet. Turve-puutuhka ja puu-turvetuhka ovat peräisin samalta voimalaitokselta, ainoastaan eri polttoaineiden määrät ovat vaihdelleet./1/

Taulukko 1. Esimerkkituuhkien ominaisuuksia /1/

		Turve- puutuhka	Puu- turvetuhka	Kivihiili- tuhka
Kattilatyyppi ja savukaasujen puhdistustekniikka		Kerrosleiju, sähkö-suodatin	Kerrosleiju, sähkö-suodatin	Pölypoltto, sähkö-suodatin
Käytetyt polttoaineet näytteenottojakson aikana		Turve 69 %, puupolttoaineet 31 %	Puupolttoaineet 53 %, Turve 47 %	Kivihiili
Lentotuhkan karakterisointi, analyysimenetelmä		ICP	ICP	XRF
As	mg/kg	50	110	<100
Ba	mg/kg	690	340	1800
Cd	mg/kg	3,1	5,5	<100
Cr	mg/kg	68	110	200
Cu	mg/kg	130	250	100
Pb	mg/kg	85	200	<100
Mo	mg/kg	16	15	<100
V	mg/kg	700	120	200
Zn	mg/kg	130	1400	200

2.2. Lentotuhkan hyödyntäminen

Lainsäädäntö asettaa veloitteita lentotuhkan hyödyntämiseksi. Tuhkan hyötykäyttöä ohjaavat lait, asetukset ja säädökset. Ympäristönsuojelulakia (86/2000) sovelletaan toimintaan, josta aiheutuu tai saattaa aiheutua ympäristön pilaantumista. Lain tavoitteena on mm. ehkäistä ympäristön pilaantumista ja tehostaa ympäristöä pilaavan toiminnan vaikutusten arviointia. Jätelain (1072/1993) mukaan jäte on hyödynnettävä, jos se on teknisesti mahdollista ja se ei aiheuta lisäkustannuksia muulla tavoin järjestettyyn jätehuoltoon. Muita lakeja ja asetuksia tuhkan hyötykäytölle ovat lannoitevalmistelaki (2006) ja –asetus (12/07) sekä asetus eräiden jätteiden hyödyntämisestä maarakennuskäytössä (591/2006). Standardi SFS-EN 450-1 määrittelee pitoisuusrajat kivihiilituhkan hyödyntämiselle betonin seosaineena. Tässä työssä standardia sovelletaan seospolton tuhkan hyödyntämiseen betonin seosainekäytössä.

Lainsäädäntö asettaa erityisesti ehtoja haitallisten aineiden enimmäispitoisuuksille. Ehtojen täytyttyä lentotuhkaa voidaan hyödyntää maarakennuskäytössä, metsälannoitteena tai betonin seosaineena. Jos lentotuhka ei täytä hyödyntämiskriteereitä, tulee se loppusijoittaa liukoisuustestien perusteella kaatopaikkakelpoisuus-kriteereitä vastaavaan loppusijoituspaikkaan.

2.2.1 Käyttö metsälannoitteena

Lannoitevalmistelain (2006) mukaan lannoitevalmisteiden on oltava tasalaatuisia, turvallisia ja käyttötarkoitukseensa sopivia. Lannoitevalmiste ei saa sisältää sellaisia määriä haitallisia aineita, tuotteita tai eliöitä, että sen käytöstä voi aiheutua vaaraa ihmisten tai eläinten terveydelle tai turvallisuudelle, kasvien terveydelle taikka ympäristölle./5/ Tarkempia vaatimuksia lannoitevalmisteille esitetään maa- ja metsätalousministeriön asetuksessa lannoitevalmisteista (asetus 12/07) sekä asetuksessa 19/09 edellä mainitun asetuksen muuttamisesta joiltakin osin.

Maa- ja metsätalousministeriön asetuksessa (19/09) liitteessä IA6 "Epäorgaanisina lannoitteina sellaisenaan käytettävät sivutuotteet", luetellaan lannoitevalmisteen käyttöön vaadittavat ominaisuudet kunkin käyttökohteen osalta erikseen. Metsälannoitekäytölle vaaditut ominaisuudet on esitetty taulukossa 2. Soveltuvuus lannoitekäyttöön määritellään ravinteiden ja muiden ainesosien pitoisuuksien mukaan. Pää- ja sivuravinteiden pitoisuus on ilmoitettava, mikäli se ylittää 0,3 % kuiva-ainetta. Sellaisenaan lannoitevalmisteena käytettävän sivutuotteen epäorgaanisten haitta-aineiden liukoisuus tulee testata valtioneuvoston asetuksen 202/2006 mukaisesti ja liukoisuuden tulee alittaa tavanomaisille jätteille tarkoitetut metallien raja-arvot./6/

Asetuksen liitteessä turpeen ja puun tuhkalla tarkoitetaan lentotuhkaa tai pohjatuhkaa, joka on eroteltu turpeen, puuhakkeen, kuorijätteen, ensiomassan tuotannon tai massasta valmistettavan paperin tuotannon yhteydessä syntyvän kuituainetta sisältävän kasviperäisen jätteen, käsittelemättömän puujätteen tai muun näihin verrattavan puhtaan puuperäisen aineksen tai peltobiomassojen taikka niiden seoksen poltossa syntyvistä savukaasuista mekaanisesti tai sähköisesti tai joka on poistettu polttolaitoksen polttokammion pohjalta./6/

Kaliumin, fosforin ja kalsiumin määrän tulee olla riittävä lannoitekäytölle. Fosforia ja kaliumia tuhkassa tulee olla yhteensä vähintään 1 % ja kalsiumia vähintään 8 %. Kloorin määrä on asetuksen liitteessä rajoitettu 2 %:iin./6/

Taulukko 2. Epäorgaanisina lannoitteina sellaisenaan käytettävät sivutuotteet (Maa- ja metsätalousministeriön asetus 19/09, liite IA6)/6/

Nro IA6	Tyypinimi	Valmistusmenetelmä ja siihen liittyvät vaatimukset sekä käytörajoitukset	Ravinteiden ja muiden ominaisuuksien vähimmäispitoisuus	Tuoteselosteessa ilmoitettavat tiedot	Viranomaisvalvonnan analyysimenetelmä
2	Metsätuhka	<p>Puun, turpeen tai peltobiomassojen tuhka, joka on kovetettu tai rakeistettu.</p> <p>Tuoteselosteessa on oltava maininta "Tuhkan peltokäyttö kielletty, käyttö sallittu ainoastaan metsälannoitukseen."</p> <p><i>Rakeistettuun tuhkaan voidaan lisätä booria, jonka enimmäispitoisuus metsätuhkassa saa olla korkeintaan 400 mg B / kg ka. Hehtaarikohtainen boorin levitysmäärä saa olla korkeintaan 2,5 kg booria/ha. Tyypinimeen on lisättävä maininta "lisätty booria". Tuoteselosteessa on oltava lisäksi maininta "Käyttö sallittu ainoastaan todettuun boorin puutokseen". Tuhkan, johon on lisätty booria, levittäminen pohjavesi-alueilla ja suojelualueilla on kielletty.</i></p> <p><i>Vesistöjen rannoille on jätettävä vähintään 25 metrin levyinen suojavyöhyke. Lisäksi levityksessä on huomioitava kunnan ympäristönsuojelumääräykset.</i></p>	<p><i>P+K vähintään 1 %</i></p> <p><i>Ca vähintään 8 %</i></p> <p><i>Cl enintään 2 %*</i></p>	<p>Kokonaisfosfori (P)</p> <p>Vesiliukoinen fosfori</p> <p>Kokonaiskalium (K)</p> <p>Kokonaiskalsium (Ca)</p> <p>Neutraloiva kyky % (Ca)</p> <p>Kloori (Cl)</p> <p>Kosteus %</p> <p>Haitallisten metallien pitoisuudet As, Cd, Cr, Cu, Pb, Ni, Zn</p> <p>Hg</p> <p>Raaka-aineet</p> <p>Mikäli tuotteeseen on lisätty booria (B), ilmoitetaan lisätyn ja kokonaisboorin määrä.</p>	<p>CEN/TS 15290:en, CEN/TS 15410:en tai uutto EPA Method 3050B tai 3051A ja määrittäminen AAS, ICP tai ICP-MS</p> <p>CEN/TS 15105:en ja määrittäminen ICP tai ICP-MS</p> <p>CEN/TS 15290:en, CEN/TS 15410:en tai uutto EPA Method 3050B tai 3051A ja määrittäminen AAS, ICP tai ICP-MS</p> <p>CEN/TS 15290:en, CEN/TS 15410:en tai uutto EPA Method 3050B tai 3051 ja määrittäminen AAS, ICP tai ICP-MS</p> <p>SFS-EN 12945</p> <p>potentiometrinen titraus, AOAC 1970.</p> <p>Evira 8297</p> <p>SFS-EN 12048, ISO 589:2003</p> <p>CEN/TS 15411 en tai uutto EPA Method 3050B tai 3051A ja määrittäminen AAS, ICP tai ICP-MS</p> <p>AMA 254 happipolttomenetelmä EPA 7473:1998</p> <p>EN/TS 15411</p> <p>EPA 3051A:1998</p>

*CEN/TS 15289:en

Maa- ja metsätalousministeriön asetus määrittelee lannoitevalmisteiden haitallisten aineiden enimmäispitoisuudet. Haitallisten metallien enimmäispitoisuudet epäorgaanisissa lannoitteissa ja kalkitusaineissa typpihapolla uutettuna sekä muissa lannoite-valmisteissa kuningasvesi-märkäpolttonenetelmällä uutettuna on esitetty taulukossa 3./6/

Taulukko 3. Haitallisten metallien enimmäispitoisuudet metsälannoitteessa (Maa- ja metsätalousministeriön asetus 19/09, liite IV)/6/

Alkuaine	Metsätaloudessa sellaisenaan lannoitevalmisteena käytettävässä sivutuotteessa enimmäispitoisuus mg/kg ka.
Arseeni (As)	30
Elohopea (Hg) ¹⁾	1
Kadmium (Cd)	15 ²⁾
Kromi (Cr)	300
Kupari (Cu)	700
Lyijy (Pb)	150
Nikkeli (Ni)	150
Sinkki (Zn)	4500 ³⁾

1) Elohopean määrittely EPA 743-menetelmällä

2) 17,5 mg Cd / kg ka metsätaloudessa käytettävässä puun, turpeen ja peltobiomassan tuhkassa

3) Enimmäispitoisuuden ylitys lannoitevalmisteissa voidaan sallia, kun maaperäanalyysin perusteella on todettu puutetta kuparista tai sinkistä. Metsätaloudessa enimmäispitoisuuden ylitys lannoitevalmisteena käytettävässä sivutuotteessa on sallittu ainoastaan sinkkiä suometsissä käytettäessä, silloin kun sinkin puute on kasvustosta todettu. Tällöin maksimimäärä sinkkiä lannoitevalmisteena käytettävässä sivutuotteessa saa olla enintään 6000 mg Zn/kg ka.

2.2.2 Käyttö maarakennusaineena

Tuhkan käyttöä maarakentamisessa säätelee Valtioneuvoston asetus 591/2006 eräiden jätteiden hyödyntämisessä maarakennuskäytössä. Asetuksen tarkoituksena on edistää jätteiden hyötykäyttöä siten, että erillistä ympäristölupaa käytölle ei tarvittaisi, vaan käytettäisiin niin sanottua ilmoitusmenettelyä. Haitta-aineiden raja-arvot lentotuhkan maarakennuskäytölle ilmoitusmenettelyllä on esitetty taulukossa 4./7/

Taulukko 4. Haitta-aineiden raja-arvot lentotuhkan maarakennuskäytölle ilmoitusmenettelyllä (Valtioneuvoston asetus 591/2006, liite 1)/7/

Haitallinen aine	Raja-arvo, mg/kg kuiva-ainetta Perustutkimukset ¹			Raja-arvo, mg/kg kuiva-ainetta Laadunvalvontatutkimukset ¹		
	Pitoisuus	Liukoisuus (L/S = 10 l/kg) Peitet- ty rakenne	Liukoisuus (L/S = 10 l/kg) Pää- lystetty rakenne	Pitoisuus	Liukoisuus (L/S = 10 l/kg) Pei- tetty ra- kenne	Liukoisuus (L/S = 10 l/kg) Pää- lystetty rakenne
PCB ²	1					
PAH ³	20/40 ⁴					
DOC ⁵		500	500			
Antimoni (Sb)		0,06	0,18			
Arseeni (As)	50	0,5	1,5	50		
Barium (Ba)	3 000	20	60	3 000		
Kadmium (Cd)	15	0,04	0,04	15		
Kromi (Cr)	400	0,5	3	400	0,5	3
Kupari (Cu)	400	2	6	400		
Elohopea (Hg)		0,01	0,01			
Lyijy (Pb)	300	0,5	1,5	300	0,5	1,5
Molybdeeni (Mo)	50	0,5	6	50	0,5	6
Nikkeli (Ni)		0,4	1,2			
Vanadiini (V)	400	2	3	400	2	3
Sinkki (Zn)	2 000	4	12	2 000		
Seleen (Se)		0,1	0,5		0,1	0,5
Fluoridi (F ⁻)		10	50		10	50
Sulfaatti (SO ₄ ²⁻)		1 000	10 000		1 000	10 000
Kloridi (Cl ⁻)		800	2 400		800	2 400

1) Katso VNA 591/2006 liitteessä 2 oleva kohta 2.

2) Polyklooratut bifenyylit, kongeneerit 28, 52, 101, 118, 138, 153 ja 180 kokonaismäärä.

3) Polyaromaattiset hiilivedyt, yhdisteiden (antraseeni, asenafteneeni, asenaftyleeni, bentso(a)antraseeni, bent-so(a)pyreeni, bentso(b)fluoranteeni, bentso(g,h,i)peryleneeni, bentso(k)fluoranteeni, dibent-so(a,h)antraseeni, fenantreeni, fluoranteeni, fluoreeni, indeno(1,2,3-cd)pyreeni, naftaleeni, pyreeni, kryseeni) kokonaismäärä.

4) Peitetty rakenne / päällystetty rakenne.

5) Liuennut orgaaninen hiili.

2.2.3 Käyttö betonin seosaineena

Seostuhkan käytölle betonin seosaineena ei ole vielä olemassa virallista ohjeistusta tai standardeja. Seostuhkan ominaisuuksia on verrattu betonissa yleisesti seosaineena käytettyyn kivihiilen polton lentotuhkaan sekä sille asetettuihin viranomaisvaatimukseen (SFS-EN 450 osat 1 ja 2). Seostuhkan käyttöä rakentamisessa pyritään edistämään ja kehitteillä on laadunvalvontajärjestelmä, joka mahdollistaisi laajemman käytön./3/

Seostuhka poikkeaa kemialliselta koostumukseltaan hieman kivihiilituhkasta. Puutuhkan käyttöä betonin seosaineena voivat rajoittaa tietyt betonin kannalta mahdollisesti haitalliset yhdisteet, joiden määrä voi poltettavan puuperäisen materiaalin mukaan nousta kivihiilituhkalle sallittua määrää korkeammaksi. Erityisesti kloridipitoisuus, rikkiyhdisteiden määrä, vedentarve ja hehkutushäviö on hyvä ottaa huomioon arvioitaessa puutuhkan vaikutusta betonin ominaisuuksiin./3/

Puuperäisten tuhkien tärkeimpiä raja-arvoja betonin seoskäytön kannalta on esitetty taulukossa 5. Arvot ovat betonin seoskäytön kannalta kivihiilituhkan tärkeimpiä raja-arvoja standardista SFS-EN 450-1. Puutuhkan koostumus on betonin seoskäytön kannalta suotuisa muun muassa sen sisältämien mineraalien ja alkuaineiden tuottamien hyvien si-deaineominaisuuksien takia./3/

Taulukko 5. Betonin seoskäytön kannalta tärkeimmät raja-arvot kivihiilen polton lentotuhkassa. (SFS-EN 450-1)./3/

	Raja-arvot (%)
SO ₂	<3
Cl ⁻	<0,1
SiO ₂	reakt.>25
Kok. alkalipitoisuus	<5
SiO ₂ + Al ₂ O ₃ + Fe ₂ O ₃	>70
MgO	<4
CaO	vapaa <2,5, reakt <10
Hehk.-häviöluokka	A < 5, B 5-7, C7-9

2.2.4 Kaatopaikkakelpoisuus

Lentotuhka on testattava kaatopaikkakelpoisuutensa osalta. Kaatopaikkakelpoisuutta säätelee Valtioneuvoston asetus 202/2006, jossa määritetään liukoisuuksien raja-arvot kunkin jäteluokan osalta erikseen. Jätteen kaatopaikkakelpoisuus on jaettu kolmeen luokkaan; pysyvän jätteen (A), tavanomaisen jätteen (B I b) ja ongelmajätteen (C), kelpoisuus-kriteereihin. Kaatopaikkakelpoisuus-kriteerit on esitetty taulukossa 6./8/

Taulukko 6. Jätteen kaatopaikkakelpoisuuskriteerit (Valtioneuvoston asetus 202/2006)/8/

Jäteluokka	Yksikkö	Jätteen kelpoisuus pysyvän jätteen kaatopaikalle (luokka A)	Jätteen sijoitus tavanomaisen epäorgaanisen jätteen kaatopaikalle, johon voidaan sijoittaa käsiteltyä ongelmajätettä (luokka B I b)	Jätteen sijoitus ongelmajätteen kaatopaikalle (luokka C)
Liukoisuusominaisuudet L/S-suhteessa 10 l				
Arseeni (As)	mg/kg	0,5	2	25
Barium (Ba)	mg/kg	20	100	300
Kadmium (Cd)	mg/kg	0,04	1	5
Kromi (Cr) (kok.)	mg/kg	0,5	10	70
Kupari (Cu)	mg/kg	2	50	100
Elohopea (Hg)	mg/kg	0,01	0,2	2
Molybdeeni (Mo)	mg/kg	0,5	10	30
Nikkeli (Ni)	mg/kg	0,4	10	40
Lyijy (Pb)	mg/kg	0,5	10	50
Antimoni (Sb)	mg/kg	0,06	0,7	5
Seleen (Se)	mg/kg	0,1	0,5	7
Sinkki (Zn)	mg/kg	4	50	200
Kloridi (Cl)	mg/kg	800	15 000	25000
Fluoridi (F)	mg/kg	10	150	500
Sulfaatti (SO ₄ ²⁻)	mg/kg	1000 ⁽²⁾	20 000	50 000
Liennut orgaaninen hiili (DOC) ⁽¹⁾	mg/kg	500	800	1000
Fenoli-indeksi	mg/kg	1		
Liuenneiden aineiden kokonaismäärä(TDS) ⁽⁴⁾	mg/kg	4000	60 000	10 000
Kokonaispitoisuudet				
Hehkutushäviö 550 °C	%			10 ⁽⁵⁾
TOC	%	3 ⁽⁶⁾	5 ^(7,8)	6 ⁽⁸⁾
BTEX-yhdisteet	mg/kg	6		
PCB-yhdisteet	mg/kg	1		
Mineraaliöljy	mg/kg	500		
PAH-yhdisteet	mg/kg	40		
Muut ominaisuudet				
pH			>6	
Haponneutralointi-kapasiteetti (ANC)			tutkittava ja arvioitava	tutkittava ja arvioitava

- 1) perusmäärittelyyn myös sisällyttävä vastaavuustesti, jos jätettä muodostuu säännöllisesti.
- 2) vaihtoehtoisesti läpivirtaustestin ensimmäisen fraktion (L/S 0,1) sulfaattipitoisuus enintään 1500 mg/l ja sulfaatin liukoisuus L/S-suhteessa 10 on enintään 6000 mg/kg
- 3) mitattu säädetyssä (neutraalissa) pH-arvossa
- 4) uuttoliukseen liuenneiden aineiden kokonaismäärän arvoja voidaan käyttää sulfaatti- ja kloridiarvojen sijasta
- 5) käytettävä joko hehkutushäviötä tai orgaanisen hiilen kokonaispitoisuutta (TOC). HUOM! eräät epäorgaaniset aineet saattavat hajota 550 °C:ssa ja antaa siten virheellisen arvion orgaanisen aineksen määrästä, joten arviointi tehtävä näissä tapauksissa TOC:n pitoisuuden perusteella.
- 6) maaperälle voidaan sallia korkeampi raja-arvo, jos liukoisuustestissä liuenneelle DOC-lle esitetty enimmäispitoisuus täyttyy
- 7) koskee myös jätettä joka sijoitetaan kipsipohjaisten jätteiden yhteyteen
- 8) jätteelle voidaan sallia korkeampi raja-arvo, jos liukoisuustestissä liuenneelle DOC-lle esitetty enimmäispitoisuus täyttyy
- 9) PCB-kongeneerit : 28, 52, 101, 118, 138, 153 ja 180

3. BIOLIUOTUS JA SIENET

3.1. Bioliuotus

Aiemmin bioliuotuksella tarkoitettiin kaivosteollisuudessa käytettävää malmin prosessointimenetelmää, jossa bakteeria hyödynnetään katalysoimaan metallien liukenemistä sulfidisesta malmista. Bioliuotuksen sovellusalat ovat nykyisellään kuitenkin laajentuneet ja yleisesti voidaan sanoa, että bioliuotus on menetelmä, jossa mikrobeja hyödynnetään muuntamaan kiinteiden metallipitoisten materiaalien metalleja liukoiseen muotoon./9; 10/ Metalleja sisältävää liuotettavaa materiaalia syntyy kaivostoiminnan lisäksi esimerkiksi energiantuotannon sivutuotteena tai metalliteollisuuden sivuvirtana. Yhteistä näille materiaaleille on niiden suhteellisen alhainen metallipitoisuus ja että ne eivät sellaisenaan sovellu hyötykäyttöön. Lisäksi materiaalien käsittely muilla keinoin on taloudellisesti kannattamatonta tai hankalaa./9/

Bioliuotuksen tavoitteena on alentaa materiaalien metallipitoisuudet sellaiselle tasolle, että ympäristölle ei aiheudu haittaa. Samalla vähenee metallipitoisen materiaalin määrä sekä on mahdollista talteenottaa liuotetut metallit jatkokäyttöä varten./9/ Bioliuotus mahdollistaa metallien ja materiaalien kierrätyksen siten, että sen avulla voidaan vähentää kustannuksia, raaka-aineiden, energian ja kaatopaikkojen tarvetta sekä ympäristön saastumista. Bioprosessit viedään yleensä läpi miedoissa olosuhteissa ja ilman myrkyllisten kemikaalien lisäämistä. Lisäksi bioliuotuksen tuotteet päätyvät vesiliuokseen, jota on helppo hallita ja jatkokäsitellä. /10; 11/

Bioliuotuksessa käytetään hyödyksi mikrobeja, jotka voivat kullekin mikrobille suotuisissa eli optimaalisissa olosuhteissa liuottaa kiinteiden metallipitoisten materiaalien sisältämät metallit liukoiseen muotoon. Tutkituimpia bioliuotuksessa hyödynnettäviä mikrobeja ovat autotrofiset *Acidithiobacillus* sukuun kuuluvat bakteerilajit. Myös arkkien ja heterotrofisten bakteerien sekä sienten käyttöä bioliuotuksessa on tutkittu, näistä tutkituimpia ovat heterotrofiset *Aspergillus*- ja *Penicillium*-sukuihin kuuluvat sienet./10/

Mikro-organismien tehtävänä on tuottaa liuottavat kemikaalit ja luoda tila, missä liuotusreaktiot tapahtuvat /12/. Mikrobin kyky liuottaa ja saada metalleja kiinteistä aineista liukoiseen muotoon perustuu kolmeen pääreaktioon/10/:

- orgaanisten ja epäorgaanisten happojen tuotanto
- hapetus-pelkistysreaktiot
- kompleksoivien yhdisteiden erityis.

Acidithiobacillus-lajin mikro-organismit pystyvät luonnollisissa oloissa hapettamaan rikkiä ja epäorgaanisia rikkiyhdisteitä tuottaen samalla rikkihappoa. Tällöin mikrobit ovat hapettuneessa tilassa mineraalien hapetusta varten. Hapetus-pelkistysreaktion avulla tapahtuvassa metallien liukenemisessä liukeneminen perustuu joko elektronien siirtymiseen mineraaleista mikro-organismiin, kun organismin ja kiintoaineen välillä on fyysinen kontakti, tai bakteeri hapetukseen, missä ferri-ioni (Fe^{3+}) katalysoi metallien liukenemistä hapettavana aineena./10; 13/

Heterotofiset bakteerit ja sienet tuottavat aineenvaihduntatuotteinaan useita orgaanisia happoja, jotka liuottavat metalleja. Happojen lisäksi sienet tuottavat kompleksoivia yhdisteitä, kelaatteja, joiden läsnä ollessa metallien liukoisuus sekä hapon tuotanto kasvavat./9; 13/

3.2. *Aspergillus niger*

Sienet ovat moninainen ryhmä organismeja ja niitä esiintyy kaikkialla ympäristössä. Niillä on elintärkeä rooli kaikissa ekosysteemeissä ja ne säätelevät ravinteiden ja energian virtausta rihmastonsa läpi. Sienet voivat selviytyä ja olla olemassa melkein missä tahansa elinympäristössä. Sieniä voidaan käyttää mm. hajottamiseen, indikoimaan ympäristön tilasta, puhdistamaan ympäristö alkuperäiseen tilaansa ja jätevesien puhdistamiseen. /14/

Aspergillus on homesieniin kuuluva sienisuku ja sen alalajiin kuuluva *Aspergillus niger* on rihmamainen, itiöitä tuottava ja kaikkialla luonnossa läsnä oleva nuijahome./15/ *A. niger* on tyypillinen ruuan saastuttaja ja aiheuttaa mustahometta tiettyihin hedelmiin ja vihanneksiin, kuten greippeihin, sipuleihin ja pähkinöihin./16/ *Aspergillus niger* voi aiheuttaa infektioita myös ihmiselle pääasiassa inhalaation välityksellä, jos ihmisellä on heikentynyt immuunivaste./15; 17/ Sen lisäksi, että *Aspergillus niger* voi olla ruualle ja ihmisille haitallinen on se taloudellisesti tärkeä organismi sitruunahapon tuotannossa aineenvaihduntansa avulla. Teollinen sitruunahapon tuotanto *A. niger* -sienellä on yksi tehokkaimmista ja saannoltaan paras bioprosessi mitä teollisuudessa käytetään. Vuosittainen sitruunahapon tuotanto *A. nigerillä* on yli miljoona tonnia./15/

Aspergillus niger on tyypillinen maaperän mikrobiston jäsen ja sillä on täten merkittävä rooli maailmanlaajuisessa hiilen kierrossa toimien maaperässä lahottajana pilkkomalla tuottamiensa entsyymien avulla kasvien ligniiniä ja selluloosaa. Osa näistä hapettavista ja hydrolyyttisistä entsyymeistä ovat myös tärkeitä bioteknologioteollisuuden käytössä./15/

Aspergillus niger kykenee tuottamaan aineenvaihduntatuotteinaan happoja myös korkeammassa pH:ssa eikä vaadi kasvaakseen happamia olosuhteita. Tämän vuoksi *A. niger* on yleisesti valittu mikrobi tuhkien liuotukseen sillä se sietää tuhkan emäksisyyttä.

3.3. *Aspergillus niger* –sienen käyttö kivihiilen, yhdyskuntajätteen ja hakkeen polton lentotuhkan bioliuotuksessa

Lentotuhkan bioliuotusta sienten avulla on tutkittu useassa tutkimuksessa ainakin vuodesta 1992 lähtien. Tässä työssä esitetyissä tutkimuksissa liuottavana sienenä on käytetty *Aspergillus niger* nuijahometta (taulukko 7). Tuhkat ovat olleet kivihiilen, hakkeen tai yhdyskuntajätteen poltossa syntyviä lentotuhkia ja tutkimukset on tehty vuosina 1992 - 2009. Lentotuhkan bioliuotusta on tutkittu sekä yksi- että kaksivaiheisella uutolla sekä myös liuottamalla pelkällä aineenvaihduntaliuoksella ilman solujen lisäämistä. Lisäksi tuhkien kemiallista liuotusta on tutkittu.

Taulukko 7. Lentotuhkan bioliuotuksesta *Aspergillus niger*illä tehtyjä tutkimuksia

Käytetty polttoaine	Vuosi	Artikkeli ja tekijä
Kivihiili	1992	Acidolysis of coal fly ash by <i>Aspergillus niger</i> . Torma A.E. ja Singh A.K.
Yhdyskuntajäte	1996	Metal leaching of fly ash from municipal waste Incineration by <i>Aspergillus niger</i> . Bosshard P.P., Bachofen R. ja Brandtl H.
Yhdyskuntajäte, kivihiili, hake	1998	Lentotuhkien metallien mikrobiologinen käsittely. Junninen H., Ruokojärvi A., Eno T., Martikainen P., Raatikainen O., Karttunen E. ja Ruuskanen J.
Yhdyskuntajäte	2005	Metal extraction from municipal solid waste (MSW) incinerator fly ash - Chemical leaching and fungal bioleaching. Wu HY. ja Ting YP.
Yhdyskuntajäte	2009	Fungal bioleaching of incineration fly ash: Metal extraction and modelling growth kinetics. Xu TJ. ja Ting YP.

1) Kivihiilituhkan liuottaminen 1992

Vuonna 1992 tehdyssä tutkimuksessa oli tutkittu kalsinoidun sekä käsittelemättömän kivihiilituhkan liuotusta *Aspergillus niger* –puhdasviljelmällä. Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää alumiinin liukenemisen kinetiikkaa, eli tekijöitä, joilla on vaikutusta reaktioiden nopeuteen sekä mekanismeja, joilla lähtöaineet muuttuvat reaktiotuotteiksi./18; 19/ Lisäksi tutkimuksessa oli tutkittu kalsinoidun kivihiilituhkan kemiallista liuotusta sitruuna- ja oksaalihapolla. Käsittelemättömän tuhkan alumiinioksidimäärä oli 33,42 % (Al 17,7 %), kun taas kalsinoidussa tuhkassa sitä oli 21,19 % (Al 11,2 %)./18/

Tutkimuksessa oli havaittu, että sieni tuotti sakkaroosista aineenvaihduntatuotteinaan sitruuna- ja oksaalihappoa, jotka vaikuttivat tuhkan metallien liukenemiseen. *Aspergillus nigerillä* tehdyssä 20 vrk:n liuotuksessa 5 %:n tuhkapitoisuudella alumiinin liukeneminen käsittelemättömästä lentotuhkasta oli vain noin 5 %. Samoissa olosuhteissa kalsinoidusta lentotuhkasta alumiinia liukeni 60 %. Huonojen tulosten takia käsittelemättömällä lentotuhkalla ei tehty jatkotutkimuksia./18/

Kalsinoidulla tuhkalla oli tehty sarja kemiallisia liuotuskokeita sitruuna- ja oksaalihapolla. Aluksi oli etsitty oksaalihapon ja sitruunahapon optimimäärät 0,5 M pitoisuuksilla ja saatu selville, että paras tulos saavutetaan, kun kumpaakin happoa oli liuoksessa 50 %. Parhaiden liuotusolosuhteiden selvittämiseksi tutkimuksessa oli tehty sarja kokeita ja oli saatu selville laskennallisesti, että suurin alumiinin liukeneminen oli saavutettu, kun kalsiumoksidin ja sinkkioksidin moolinen suhde oli kaksi, kalsinointilämpötila oli 950 °C, sitruuna- ja oksaalihapon molaarisuus oli 0,9 M ja liuotuslämpötila peräti 88 °C. Kyseisillä parametreilla oli saavutettu alumiinin liukenemisprosentti 93,5 %./18/

2) Yhdyskuntajätteen polton tuhkan liuotus 1996

Vuonna 1996 tehdyn tutkimuksen avulla oli pyritty selvittämään *Aspergillus nigerin* käyttömahdollisuuksia ja soveltuvuutta yhdyskuntajätteen polton lentotuhkan liuottamiseen. Tavoitteena oli ollut parantaa tuhkan ympäristöllistä laatua ja soveltuvuutta rakentamiskäyttöön. Saatuja tuloksia verrattiin kemialliseen liuotukseen. Lentotuhka sisälsi tiettyjä raskasmetalleja, kuten kadmiumia ja lyijyä, haitallisia määriä. Lentotuhkan karakterisointitulokset on esitetty taulukossa 8./20/

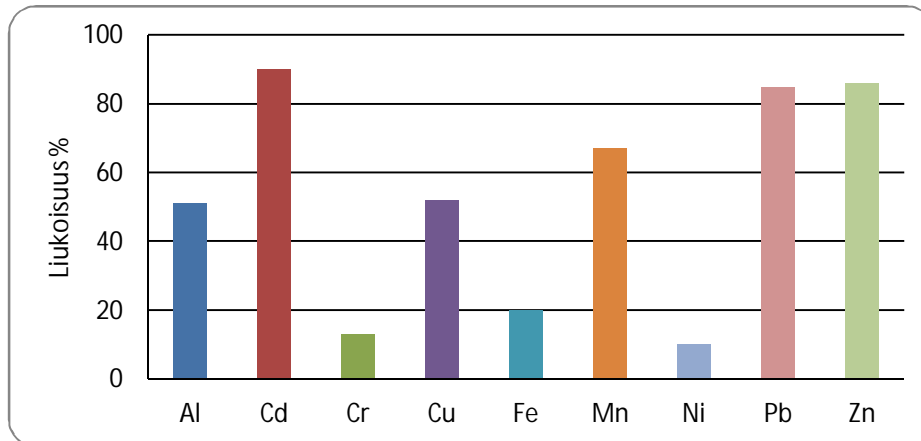
Taulukko 8. Yhdyskuntajätteen polton lentotuhkan karakterisointitulokset. /20/

Aine	mg/kg	Aine	mg/kg
Al	70000	Mn	770
C	43000	Ni	140
Cd	490	Pb	8900
Cr	700	Si	100000
Cu	1100	Zn	31000
Fe	28000		

Tutkimuksessa käytetty lentotuhka oli pesty tuhkan painoon nähden kaksinkertaisella vesimäärällä, tarkoituksena oli saada veteen liukenevat aineet erilleen. Ravistelupullokoheet oli tehty 100 ml:n nestetilavuudessa 30 °C:n lämpötilassa ravistelunopeudella 110

rpm. Solutuhka seosta oli inkuboitu niin kauan kunnes pH ei enää laskenut, 382–836 tuntia (16–35 vrk). Kasvatusliuos sisälsi keskimäärin $2,2 \cdot 10^7$ solua/100 ml./20/

Tutkimuksessa oli kokeiltu lentotuhkan liuottamista 1, 2, 3, 4, 5, 7,5 ja 10 %:n (w/v) pitoisuudella. *Aspergillus niger* kasvoi vielä tuhkapitoisuuden ollessa 10 %. Eri lentotuhkapitoisuuksilla liukeni eri määriä metalleja. Suurin suhteellinen metallien liukeneminen oli saavutettu 3 %:n tuhkapitoisuudella (kaavio 1).



Kaavio 1. Metallien liuokoisuusprosentit yhdyskuntajätteen polton tuhasta 3 %:n tuhkapitoisuudella./20/

Mitä suurempi tuhkapitoisuus, sitä kauemmin solujen kasvun viivevaihe kesti ja sitä korkeampi lopullinen pH oli. Kemiallinen liuotus kaupallisella sitruunahapolla tuotti vain hieman suuremman saannon metallien liukenemiselle./20/

Orgaanisia happoja tutkittaessa oli huomattu, että tuhkan ollessa läsnä *A. niger* tuotti glukonihappoa mutta ei sitruunahappoa ollenkaan ja kun tuhkaa ei ollut niin päinvastoin. Matala pH suosi sitruunahapon tuotantoa ja korkea pH paransi oksaali- ja glukonihapon tuotantoa./20/

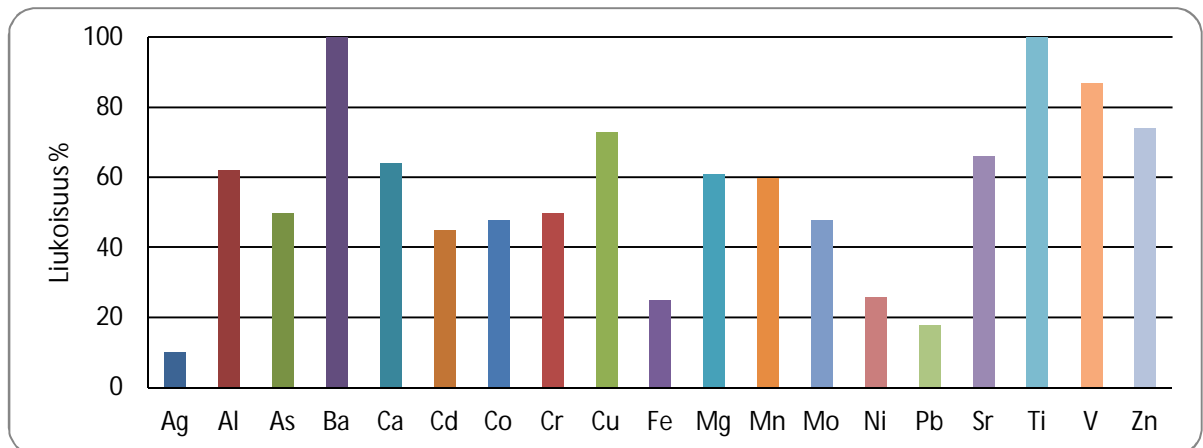
3) Yhdyskuntajätteen, kivihiilen sekä hakkeen polton tuhkien liuotus 1998

Vuonna 1998 Kuopion yliopistolla tehdyssä tutkimuksessa oli tutkittu kolmen eri mikrobin bioliuotuskykyä, tässä työssä käsitellään ainoastaan *A.nigerillä* saatuja tuloksia. Tutkittavana oli ollut tuhkaa kolmelta eri polttolaitokselta; yhdyskuntajätteen, kivihiilen sekä yhdyskuntajätteen (20 %) ja hakkeen (80 %) sekapolton poltosta./21/

Solukasvatukset kokeita varten oli tehty huoneenlämmössä ravistelunopeudella 170 rpm. Inkubaatioaika oli ollut 11 vuorokautta, jonka jälkeen sitruunahapon määrä oli ollut 1 137 µg/ml (kokonaishappomäärä oli 6,0 mmol/l) ja pH oli ollut 2. Ravistelupullokokeita varten

kasvatuksesta oli poistettu solut sentrifugoimalla 10000 rpm 10 minuuttia ja steriilisuodattimella (0,45 µm) suodattamalla./21/

Kaaviossa 2 on esitetty 1 vrk:n aikana tapahtunut metallien liukeneminen yhdyskuntajätteen polton tuhkasta tuhkapitoisuudella 1 % (w/v). Yli 70 %:n liukeneminen on ollut bariumilla, kuparilla, titaanilla, vanadiinilla ja sinkillä. Liuotuskokeissa oli havaittu sitruunahapon olleen merkittävin liuottava tekijä./19/



Kaavio 2. Metallien liukeneminen yhdyskuntajätteen polton tuhkasta 1 vrk:n jälkeen tuhkapitoisuudella 1 %./19/

Metallien liukenemistulosten perusteella *Aspergillus niger* soveltui tässä tutkimuksessa parhaiten puhtaan yhdyskuntajätteen polton tuhkan bioliuotukseen. Yli 70 % liukenemistuloksiin ei päästy yhdyskuntajätteen ja hakkeen seostuhkan tai kivihiilen polton tuhkan liuotuksella ollenkaan ja metallien liuotustehokkuudet jäivät suurimmaksi osaksi alle 30 %:n./21/

4) Yhdyskuntajätteen polton tuhkan liuotus 2005

Karakterisointitulosten perusteella yhdyskuntajätteen polton lentotuhka sisälsi merkittävän määrän myrkyllisiä raskasmetalleja, kuten alumiinia (19 210 mg/kg), lyijyä (2 599 mg/kg) ja sinkkiä (6 288 mg/kg)./4/

Tutkimuksessa oli kokeiltu bioliuotusta kolmella eri tavalla; yksivaiheisena, kaksivaiheisena ja soluttomana (14 vrk:n kasvatuksen jälkeen). Solut oli kasvatettu 30 °C:ssa, 120 rpm ja solujen lukumäärä 100 ml:ssa oli ollut noin $1 \cdot 10^7$ kpl. Kemiallista liuotusta oli kokeiltu (orgaanisilla) sitruuna-, oksaali-, ja glukonihapolla sekä (epäorgaanisilla) rikki- ja typpihapolla pitoisuuksilla 0,1 M ja 0,5 M./4/

Yksivaiheisessa uutossa, kun sieni ja tuhka oli lisätty yhtä aikaa, *Aspergillus niger* kasvoi vain pitoisuuksilla 1-2 % (w/v). Kaksivaiheisessa uutossa, kun tuhka oli lisätty kahden päivän inkuboinnin jälkeen, kasvua oli havaittavissa vielä tuhkapitoisuudella 4 %. /4/

Sekä yksi- että kaksivaiheisessa liuotuksessa liukoisuusprosentit 1 %:n tuhkapitoisuudella olivat samaa luokkaa (Al, Mn ja Zn 80-100 %, Cu ja Pb 60-70 % sekä Fe 30 %). Optimaalisin tuhkapitoisuus oli 1 % (w/v) ja liuotustehokkuus laski lisättäessä tuhkan määrää. Tärkeimmäksi liuottavaksi tekijäksi havaittiin olevan glukonihapon, mitä sieni tuotti ainoastaan tuhkan läsnäollessa. /4/

Verrattuna kemialliseen liuotukseen mangaanin ja sinkin liukeneminen oli sieniliuotuksella tehokkaampi 1 %:n tuhkapitoisuudella. Alumiinin liukeneminen oli samaa suuruusluokkaa ja kupari liukeni paremmin kemiallisella liuotuksella. /4/

5) Yhdyskuntajätteen polton tuhkan bioliuotus 2009

Vuonna 2009 tehdyssä tutkimuksessa oli tutkittu yhdyskuntajätteen polton tuhkan bioliuotusta *Aspergillus niger*illä ja selvitetty samalla *Aspergillus niger* -sienen kasvun kinetiikkaa. Tutkimuksessa oli tarkasteltu alumiinin, raudan ja sinkin liukenemistä. Artikkelissa ei ollut kerrottu lentotuhkan alkuaineiden lähtöpitoisuuksia ollenkaan. /22/

1 %:n tuhkapitoisuudella alumiinista oli liennut 97 %, sinkistä 98 % ja raudasta 56 %. 5 %:n tuhkapitoisuudella liuotusteho oli laskenut 60, 57 ja 48 %:iin. /22/

4. TUTKITTAVA MATERIAALI JA MIKROBIVILJELMÄ

4.1. Lentotuhka

Tässä työssä tutkittava lentotuhka on peräisin lämmöntuotannon arinapolttolaitokselta. Polttoaineena laitoksella käytetään pääasiassa palaturvetta (70 %) ja sahanpurua (30 %) sekä pienissä määrin kuorta, hönkähöyryjä ja lietettä. Lentotuhka kulkeutuu savukaasujen mukana polttoprosessin läpi letkusuotimelle saakka, jossa savukaasuista erotellaan lentotuhka ja puhdistettu savukaasu päästetään ilmaan. Eroteltu lentotuhka, jota syntyy vuosittain noin 17 000 tonnia, kerätään tuhkasiiloon ja lasketaan tuhkalavalle loppusijoitukseen kuljetusta varten. Raekooltaan lentotuhka on 79-prosenttisesti alle 125 µm /23/.

Tutkimuksessa käytettävät tuhkanäytteet oli otettu lavalta sankoon viitenä eri aamuna (taulukko 9). Viimeisimpänä otettu näyte oli väriltään ruskea.

Taulukko 9. Tuhkanäytteet

Pvm	Aika	Polttoaine	Väri
29.3.2010	9:40	Turve, sahanpuru, kuori, hönkähöyry	Mustanharmaa
30.3.2010	8:00	Turve, sahanpuru, kuori, liete, hönkähöyry	Mustanharmaa
31.3.2010	6:15	Turve, sahanpuru, kuori	Mustanharmaa
1.4.2010	9:30	Sahanpuru, kuori, hönkähöyry	Mustanharmaa
2.4.2010	7:15	Sahanpuru, kuori, hönkähöyry	Ruskea

Näytteet homogenisoitiin ravistelemalla ja möyhimällä ja niistä koottiin kokoomanäyte punnitsemalla kutakin näytettä saman verran kannelliseen sankoon, jossa kokoomanäyte (kuva 1) vielä sekoitettiin mahdollisimman perusteellisesti.



Kuva 1. Lentotuhka. Kuva Meri Tissari 2010.

Koostumukseltaan mustanruskea lentotuhka on kevyttä, leijailevaa ja raekooltaan pientä. Homogenoidusta kokoomanäytteestä tehtiin karakterisointi kaksi kertaa Labtiumilla pääosin XRF–tekniikalla. Elohopean määrittäminen oli tehty pyrolyyttisesti ja hiilen määrittäminen hiilianalyysiaattorilla. Analyysitulokset ovat semikvantitatiivisia, sillä matriisi oli epähomogeeninen. Analyysin alkuainetulokset on esitetty taulukossa 10.

Taulukko 10. Lentotuhkan karakterisointitulokset (Labtium)

	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Ag	10	Cl	2340 ³⁾	La	30
Al	17624	Co	200	Mg	10900
As	161,75 ¹⁾²⁾	Cr	79	Mn	3624,5
Ba	823,25	Cs	0	Mo	40
Bi	<30	Cu	101,25	Na	2698,5
C	394750	Fe	63106	Nb	7
Ca	89068	Ga	20	Ni	44,5
Cd	14,3	Hg	3,75 ¹⁾	O	188192
Ce	47,5	K	36506	P	20206
				Ta	10
				Pb	93,5
				Rb	186,5
				S	24910
				Sb	100
				Sc	<20
				Si	58546
				Sn	20
				Sr	424
				Ta	10
				Te	0
				Th	16
				Ti	605,4
				U	<10
				V	46,25
				Y	16,5
				Zn	2150 ²⁾
				Zr	37,5

1) Ylittää metsälannoitekäytön enimmäismetallipitoisuuden (MMM asetus 19/09, liite IV)

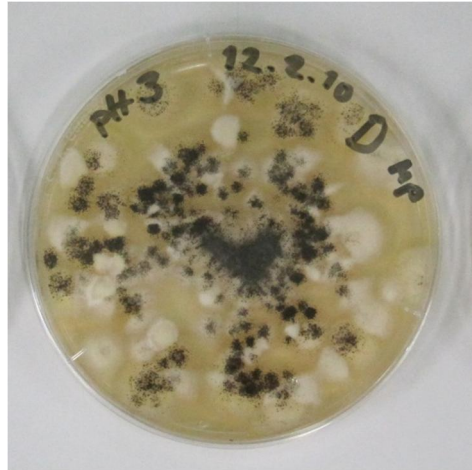
2) Ylittää maarakennuskäytön pitoisuusraja-arvon (VNa 591/2006, liite 1)

3) Ylittää betonin seosaineena käytön raja-arvon (SFS-EN 450-1)

Suurimmat pitoisuudet aineista ovat kalsiumilla ja hapella. Käsittelemätön lentotuhka ylittää tiettyjen aineiden osalta hyötykäyttökohteiden tai sijoituspaikkojen annettuja raja-arvoja. Arseenin määrä ylittää metsälannoite- sekä maarakennuskäytön raja-arvon. Elohopean määrä ylittää metsälannoitekäytön raja-arvon. Sinkin määrä ylittää maarakennuskäytön pitoisuus-raja-arvon. Tuhkan käyttö betonin seosaineena estyy liiallisen kloridipitoisuuden takia sekä liian korkean kalsiumoksidipitoisuuden vuoksi. Piidioksidin, alumiinioksidin ja ferrioksidin yhteenlaskettu pitoisuus (24,9 %) puolestaan on liian alhainen tuhkan käytölle betonin seosaineena.

4.2. *Aspergillus niger*

Tutkimuksissa käytetty *Aspergillus niger* -homekanta on peräisin Kuopion Yliopiston sisäilmatutkimuksen kokoelmasta. Kuvassa 2 on huoneenlämmössä 7 vrk:n ajan inkuboitu *Aspergillus niger* maljakasvatus. Kasvualustana käytimme kaupallisia mallasuuteagar-maljoja. Kuvassa näkyvät mustat itiöt säilyvät kylmähuoneessa jopa useita kuukausia siten, että itiöitä voitiin liuottaa tarpeen mukaan maljalta nestekasvatukseen. Nestekasvatuksesta *Aspergillus niger* voitiin viljellä maljoille.



Kuva 2. *Aspergillus niger* maljakasvatus 7 vrk. Kuva Meri Tissari 2010.

Kuvassa 3 on 9 vrk:n *Aspergillus niger* fermentorikasvatus. Ravinneliuoksena käytimme mineraalisuola-hivenaineseosta ja hiilen lähteenä oli 10 % sakkaroosia. Kuvassa oleva fermentorikasvatus on tehty 25 °C:n lämpötilassa, sekoitusnopeudella 75 kierrosta minuutissa. Myös nestekasvatusta voidaan säilyttää joitakin viikkoja kylmähuoneessa.



Kuva 3. *Aspergillus niger* fermentorikasvatus 9 vrk. Kuva Meri Tissari 2010.

5. TUTKIMUSMENETELMÄT

5.1. Aseptiset työtavat

Laboratoriotyöskentelyssä noudatettiin aseptisiä työtapoja kontaminaation ehkäisemiseksi. Ravinneliuokset, pipetinkärjet sekä tislattu vesi steriloidtiin autoklaavissa 121 °C:ssa 15 minuuttia. Ravistelupullot, tuhkat, lasiset pipetit, dekantterilasit ja kaikki muu töissä tarvittava lasitavara steriloidtiin uunissa 160 °C:ssa 3 tuntia. Ruiskusuodattimet ja ruiskut olivat valmiiksi steriilipakattuja. Steriloimattomat työssä tarvittavat liuokset steriloidtiin ruiskun avulla suodattamalla 0,2 µm:n tai 0,45 µm:n suodattimella. Puhtaita työtiloja vaativat työvaiheet tehtiin laminaarikaapissa ja ennen työskentelyä sekä työskentelyn jälkeen laminaarikaappi pyyhittiin desinfiointiaineella.

Kasvatuksen lopetusvaiheessa soluliuos steriloidtiin 10 %:lla hypokloriitilla ennen viemäriin tai jätteisiin laittamista. Hypokloriitin annettiin vaikuttaa liuoksessa joitakin tunteja ja sen määrän liuoksessa tuli olla n. 5 %.

5.2. Mikrobin kasvatust

Kokeisiin tarvittavia mikrobeja kasvatettiin 25 °C:n lämpötilassa 250 ml:n ravistelupullossa 100 ml:n nestetilavuudessa. Ravinneliuoksena käytettiin mineraalisuola-, ja hivenaineseosta (taulukko 11), jonka sakkaroosipitoisuus yleisimmin oli 10 %. Alkuaineiden pitoisuudet ravinneliuoksessa on esitetty taulukossa 12.

Taulukko 11. Ravinneliuos

Mineraalisuola	mg/l	Hivenaine	mg/l
NaNO ₃	1500	ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	22
KH ₂ PO ₄	500	H ₃ BO ₃	11
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	25	MnCl ₂ · 4 H ₂ O	5
KCl	25	FeSO ₄ · 7 H ₂ O	5
		CoCl ₂ · 6 H ₂ O	1,6
		CuSO ₄ · 5 H ₂ O	1,6
		(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4 H ₂ O	1,1
		EDTA	50

Taulukko 12. Ravinneliuoksen alkuainepitoisuudet

Alkuaine	mg/l	Alkuaine	mg/l
Na	406	Zn	5,00
N	247	Mn	1,39
K	144	Fe	1,00
Mg	2,47	Cu	0,41
Cl	11,9	Mo	0,60
P	121		

Hometta kasvatettiin ravistelijassa erlenmeyerpulloissa 25 °C:ssa. Ravistelupullokokeita varten pullosta otettiin noin 1 ml soluliuosta kullekin mallasuuteagar-kasvatusmaljalle lasisen pasteur-pipetin avulla. Maljoja inkuboitiin huoneenlämmössä 7-9 vuorokautta kunnes pinnalle oli muodostunut silminnähtävää itiötä. Tämän jälkeen maljoja säilytettiin kylmähuoneessa ennen käyttöä ravistelupullokokeisiin.

Ravistelupullokokeita varten homeitiö-maljalle lisättiin n. 5 ml:a steriilisuodatettua 0,2 % SDS-liuosta. Itiöt irrotettiin kasvualustastaan kulmasauvan avulla ja itiösuspensio siirrettiin pipetillä steriiliin astiaan. Tämän jälkeen laskettiin itiöiden lukumäärä mikroskoopin ja solulaskukammion avulla ja tehtiin laimennos itiösuspensiosta siten, että solujen lukumäärä ml:ssa oli noin $2,5 \times 10^7$. Laimennettua itiöseosta lisättiin kuhunkin ravistelupulloon 1 ml. Soluja kasvatettiin yksi vuorokausi ravistelijassa 30 °C:n lämpötilassa ennen tuhkan lisäämistä.

Soluttomia kokeita varten solujen alkukasvatusta tehtiin ravistelupulloissa yksi vuorokausi ja siirrettiin suurempaan mittakaavaan fermentoriin tämän jälkeen. Fermentorissa soluja kasvatettiin kaksi vuorokautta, jonka jälkeen liuosta otettiin tarvittava määrä suodatettavaksi. Tarkoituksena oli erottaa solut ja tuhka liuoksesta suodattamisen avulla. Suodattaminen tapahtui siten, että liuos suodatettiin ensiksi imupullolla muutamia kertoja ja sitten steriilisuodattimella (0,45 µm). Liuoksen suodattaminen oli haasteellista sillä suodatin meni tukkoon muutaman millilitran jälkeen.

5.3. Lentotuhkan esikäsitteily

Ennen punnitsemista näyte sekoitettiin ravistelemalla. Näyte punnittiin vaa'alla, jonka tarkkuus oli 0,01 grammaa. Punnittu tuhka steriloidtiin erlenmeyerpulloissa uunissa 160 °C:ssa 3 tuntia.

5.4. Koejärjestelyt

Koejärjestelyjen tarkoituksena oli ensiksi erilaisin ravistelupullokokein selvittää bioliuotuksen optimaaliset olosuhteet muuttamalla liuotusaikaa, tuhkamäärää ja ravinneliuoksen sakkaroosipitoisuutta sekä kokeilla liuotusta solujen kanssa ja ilman soluja. Tämän jälkeen parhaita yhdistelmiä kokeiltiin suuremmissa tilavuudessa (4 l) bioreaktorissa. Viimeisenä metallien liukenemistä tutkittiin myös kemiallisin liuotuskokein.

5.4.1 Ravistelupullokokeet

Ravistelupullokokeet tehtiin tasoravistelijassa (kuva 4) jossa lämpötila oli 25 °C ja ravistelunopeus 120 kierrosta minuutissa.



Kuva 4. Ravistelijä. Kuva Meri Tissari 2010.

Lentotuhkaa punnittiin ravistelupulloihin koesarjasta riippuen 1-10 grammaa (1-10 % w/v). Eri tuhkapitoisuuksia kokeiltiin, sillä halusimme tutkia tuhkamäärän vaikutusta metallien liukenemiseen ja miten suurissa tuhkapitoisuuksissa *A. niger* kykenee kasvamaan. Suuremmissa tuhkapitoisuuksissa jotkin lentotuhkan sisältämät metallit voivat olla toksisia ja inhiboida sienen kasvua.

Sakkaroosi toimii *Aspergillus niger* -sienen pääasiallisena ravinnonlähteenä bioliuotuskokeissa. Kokeita tehtiin sakkaroosipitoisuuksilla 5, 10 ja 15 %. Sakkaroosipitoisuuden muutoksella haluttiin tutkia *Aspergillus nigerin* ravinnon saannin vaikutusta sienen orgaanisten happojen tuottokykyyn ja metallien liukenemiseen. Liuotusajat vaihtelivat pääasiassa 1 ja 14 vuorokauden välillä ja myös muutama pidempi liuotus tehtiin.

Ravistelupullokoekokeiden koesarjat suunniteltiin siten, että eri muuttujien vaikutukset metallien liukenemiseen saatiin kartoitettua mahdollisimman hyvin. Ensimmäisenä tehtiin koesarja soluttomalla liuoksella. Seuraavaksi kokeilimme eri muuttujien yhteisvaikutuksia, jossa liuotusaika oli 1 tai 14 vrk, tuhkapitoisuus oli 1 tai 10 % ja sakkaroosipitoisuus 5 tai 15 %. Kolmannessa koesarjassa kokeiltiin tuhkapitoisuuksia 3 ja 5 % sakkaroosipitoisuuden ollessa 10 %. Lisäksi kokeilimme liuotusta eri aikoina tuhkapitoisuudella 1 % ja sakkaroosipitoisuudella 10 %. Kaikista kokeista tehtiin kolme rinnakkaista lukuun ottamatta nollanäytteitä. Nollanäytteissä tuhkaa liuotettiin pelkässä ravinneliuoksessa. Myös tuhkan liuotusta pelkällä tislattulla vedellä kokeiltiin. Koesarjat on esitetty taulukossa 13.

Taulukko 13. Ravistelupullokokeet.

KOESARJA	Liutusaika (vrk)	Lentotuhka (%, w/v)	Sakkaroosi (%)	Näytetunnus (s=soluton)	Solujen lukumäärä
Bioliuotus ilman soluja	1	1	10	S.1.1.10A...C	1,25*10 ⁷
	1	10	10	S.1.10.10A...C	
	4	1	10	S.4.1.10A...C	
	4	10	10	S.4.10.10A...C	
	8	1	10	S.8.1.10A...C	
	8	10	10	S.8.10.10A...C	
	1	1	10	S(II).1.1.10.A..B	3,2*10 ⁷
	1	10	10	S(II).1.10.10.A..B	
Yhteisvaikutusten kokeilu	1	1	5	1.1.5.A...C	2,5*10 ⁷
	1	1	15	1.1.15.A...C	
	1	10	5	1.1.5.A...C	
	1	10	15	1.1.15.A...C	
	14	1	5	14.1.5.A...C	
	14	1	15	14.1.15.A...C	
	14	10	5	14.10.5.A...C	
	14	10	15	14.10.15.A...C	
Liutus 3 ja 5 % tuhka- pitoisuudella	1	3	10	1.3.10.A...C	2,26*10 ⁷
	1	5	10	1.5.10.A...C	
	3	3	10	3.3.10.A...C	
	3	5	10	3.5.10.A...C	
	6	3	10	6.3.10.A...C	
	6	5	10	6.5.10.A...C	
Liutusajan vaikutus 1% tuhkapitoisuudella	1	1	10	1.1.10.A...C	2,72*10 ⁷
	3	1	10	3.1.10.A	
	7	1	10	7.1.10.B...C	
	14	1	10	14.1.10.A...C	
Pitkäkestoinen liuotus	31	1	10	31.1.10.A...B	3,6*10 ⁷
	31	3	10	31.3.10.A...B	
	31	5	10	31.5.10.A...B	
Liutus ravinneliuoksella (nollanäytteet)	1	1	10	1.1.10.0.A..B	ei soluja
	1	10	10	1.10.10.0.A..B	
	1	1	5	1.1.5.0	
	1	1	15	1.1.15.0	
	1	10	5	1.10.5.0	
	1	10	15	1.10.15.0	
	14	1	5	14.1.5.0	
	14	1	15	14.1.15.0	
	14	10	5	14.10.5.0	
	14	10	15	14.10.15.0	
	1	3	10	1.3.10.0	
	1	5	10	1.5.10.0	
	3	3	10	3.3.10.0	
	3	5	10	3.5.10.0	
	6	3	10	6.3.10.0	
	6	5	10	6.5.10.0	
	1	1	10	1.1.10.0	
	7	1	10	7.1.10.0	
14	1	10	14.1.10.0		
Tislattu vesi	1	1	0	1.1.0	

5.4.2 *Bioliuotus fermentorissa*

Fermentorissa (kuva 5) tehtävää bioliuotusta varten valitsimme ravistelupullokokkeiden perusteella hyviä yhdistelmiä kokeiltavaksi. Fermentorikasvatuksen tilavuus oli 4 litraa, kokeiden lämpötila 25 °C ja sekoittajan pyörimisnopeus 75 kierrosta minuutissa. Fermentorikokeiden etuna oli, että olosuhteita pystyi säätämään helposti ja kontaminaation mahdollisuus oli todella vähäinen. Lisäksi kasvatuksesta oli mahdollista kerätä jatkuva-toimisesti tietoa eri muuttujista, kuten pH:sta, lämpötilasta ja poistokaasujen pitoisuuksista ja laadusta. Fermentorilla pystyi tarpeen vaatiessa myös muuttamaan happipitoisuutta säätämällä tulevan hapen määrää ja liuoksen pH:ta pumppaamalla kasvatukseen joko emästä tai happoa tarpeen mukaan. Kokeen edetessä letkusta voitiin myös ottaa näytteitä ilman, että koe kontaminoitui.



Kuva 5. Fermentori. Kuva Meri Tissari 2010.

Ennen kokeen aloitusta fermentori autoklavoitiin asianmukaisesti. Tarvittava määrä tuhkaa punnittiin sekä ravinneliuos mitattiin lasiseen koesäiliöön ennen autoklavointia. Autoklavoinnin kestävä pH-mittari asennettiin kiinni fermentoriin, suodattimet peiteltiin foliolla ja nesteiden nouseminen letkuihin estettiin sulkijoilla. Fermentorin autoklavoinnin

jälkeen muutaman vuorokauden vanha *Aspergillus niger*-solukasvatus pumpattiin ravinneliuos/tuhka-seoksen sekaan steriloitua muoviletkaa pitkin. *Aspergillus nigerin* solujen määrä fermentorikokeissa oli samaa luokkaa kuin ravistelupullokoikeissakin 100 ml:a kohden. Fermentorilla tehdyt kokeet on esitetty taulukossa 14.

Taulukko 14. Fermentorikokeet

Liuotusaika (vrk)	Lentotuhka (% w/v)	Sakkaroosi (%)
12	3	10
14	5	5
3	1	10
3	3	10

5.4.3 Kemiallinen liuotus

Kemiallista liuotusta varten valittiin HPLC (high performance liquid chromatography) – tulosten perusteella sellainen happomäärä mikä on ollut suurin. 6.4.2010 olleessa fermentorikasvatuksessa sitruunahapon määrä on ollut 932 µg/ml ja glukonihapon määrä 2 979 µg/ml, pH tuolloin on ollut 3,7. Kyseessä on kuuden vuorokauden peruskasvatus 25 °C:n lämpötilassa sakkaroosipitoisuuden ollessa 10 %. Kemiallisessa liuotuksessa glukonihapon pitoisuus oli 0,015 M ja sitruunahapon 0,005 M. Kemiallisen liuotusnesteen pH oli noin 3,5.

Taulukossa 15 on esitetty kemiallisen liuotuksen koesarja. Tutkitut tuhkapitoisuudet olivat 1 ja 3 % ja liuotusajat 1 ja 3 vuorokautta.

Taulukko 15. Kemiallinen liuotus –koesarja.

KOESARJA	Liuotusaika (vrk)	Lentotuhka (% w/v)	Liuoksen pH (alussa)	Näytetunnus (k=kemiallinen)
Kemiallinen liuotus	1	1	3,5	K.1.1
	1	3	3,5	K.1.3
	3	1	3,5	K.3.1
	3	3	3,5	K.3.3

5.5. Näytteen analysointi

Ennen analyysyä solumassa ja tuhka eroteltiin nesteestä ensin sentrifugoimalla 50 ml:n putkissa 3 minuuttia 4000 kierrosta minuutissa (rpm). Tämän jälkeen pinnalle jäänyt liuos suodatettiin ruiskusuodattimella (0,45 µm) happopestyyn näyteputkeen.

Näytteistä analysoitiin Savonia-ammattikorkeakoulun tiloissa alumiini-, ja/tai rautapitoisuus HACH DR 2800 spektrofotometrillä. pH mitattiin pH-paperilla, jonka tarkkuus oli noin 0,5. Lisäksi näytteistä otettiin kuvia ja tehtiin näköhavaintoja sekä merkintöjä.

Orgaaniset hapot määritettiin Itä-Suomen yliopiston HPLC-laitteistolla.

Osa näytteistä analysoitiin Labtiumilla, jossa nestenäytteet analysoitiin plasma-atomiemissiospektrometrillä (*ICP-AES*). Tuhkanäytteistä tehtiin monialkuainemääritys XRF-tekniikalla ja elohopean määrittäminen tehtiin pyrolyytisesti. Hiili on määritetty hiilianalysointilaitteistolla.

6. TULOKSET

Tulosten vertailun helpottamiseksi kaikki metallien liukenemistulokset esitetään liukenemisenä tuhkagrammaa kohden.

6.1. Bioliuotuskokeet ravistelupulloissa

6.1.1 Soluton liuotus

Ensimmäisestä soluttomasta liuotuksesta analysoitiin HACH-spektrofotometrillä ainoastaan alumiini. Taulukossa 16 on esitetty soluttoman liuotuksen avulla tapahtunut alumiinin liukeneminen. Tuloksista voidaan havaita, että liukeneminen ei parane liuotusajan kasvaessa. Myös alumiinin liukeneminen pysyi suhteessa samana lentotuhkapitoisuuksilla 1 ja 10 % (w/v). Myös pH säilyi samana liuotusajasta huolimatta. 10 %:n tuhkapitoisuudessa pH on luonnollisesti korkeampi tuhkan emäksisyydestä johtuen. Rinnakkaisten näytteiden pienet erot alumiinin liukenemisessä voivat johtua tuhkan epätasalaatuisuudesta, analyysivaiheessa tapahtuneista virheistä sekä määrittämenetelmän epätarkkuudesta.

Taulukko 16. Alumiinin liukeneminen soluttomassa liuotuksessa

Näytetunnus	pH	Al HACH (mg/l)/g
S.1.1.10.A	4,5	16,8
S.1.1.10.B	4,5	13,3
S.1.1.10.C	4,5	15,2
S.1.10.10.A	8	14,8
S.1.10.10.B	8	14,4
S.1.10.10.C	8	14,7
S.4.1.10.A	4,5	18,7
S.4.1.10.B	4,5	19,2
S.4.1.10.C	4,5	15,9
S.4.10.10.A	8	13,0
S.4.10.10.B	8	13,3
S.4.10.10.C	8	14,8
8.1.10.A	4,5	14,4
8.1.10.B	4,5	14,2
8.1.10.C	4,5	14,5
8.10.10.A	8	13,45
8.10.10.B	8	14,05
8.10.10.C	8	13,85

Toinen soluton koesarja tehtiin hieman suuremmalla alkukasvatuksen solumäärällä kuin ensimmäinen. Soluttomasta liuotuksesta määritettiin HACH:lla ainoastaan rauta ja kaksi näytettä lähetettiin myös Labtiumille analysoitavaksi. Tulokset on esitetty taulukossa 17. Myös Labtiumin analyysitulokset alumiinin ja raudan osalta on esitetty taulukossa.

Taulukko 17. Soluton liuotus, raudan ja alumiinin liukeneminen (HACH/Savonia ja Labtium analyysit).

Näytetunnus	pH	Fe	Fe	Al
		HACH (mg/l)/g	Labtium (mg/l)/g	Labtium (mg/l)/g
S(II).1.1.10.A	6	5,8		
S(II).1.1.10.B	6	6,4	5,6	13,5
S(II).1.10.10.A	9,5	16,5	13,4	18,4
S(II).1.10.10.B	9,5	32,8		

Labtiumin tulokset poikkeavat hieman Savonia-ammattikorkeakoulun tiloissa tehdyistä tuloksista, mutta ovat samaa suuruusluokkaa. Syynä eroon voi olla erilaiset analyysimenetelmät sekä se, että Labtiumille lähetetty näyte oli pakastettu. Ensimmäisen soluttoman liuotuksen (pH 6) alumiinin liukeneminen on samaa suuruusluokkaa kuin toisen, jossa pH oli 9,5. Raudan liukeneminen on suurempi 10 %:n lentotuhkapitoisuudella, jossa pH on ollut korkeampi.

6.1.2 Yhteisvaikutusten kokeilu

Taulukossa 18 on esitetty yhteisvaikutusten kokeilun raudan ja alumiinin analyysitulokset, kun on muutettu aikaa, pH:ta ja sakkaroosipitoisuutta. Yhden vuorokauden kokeet eivät juuri liuottaneet kumpaakaan metallia, joten jatkotutkimukset niiden osalta eivät olleet tarpeen.

14 vuorokauden liuotuksissa liukeneminen oli tehokkaampaa ja joistakin näytteistä tehtiin myös lisätutkimuksia. Alumiinin liukenemistulokset poikkeavat suuremmissa pitoisuuksissa toisistaan verrattaessa HACH:lla tehtyjä ja Labtiumilla tehtyjä metallianalyysijä. Syynä tähän on se, että HACH:lla tehtävää määrittystä varten näyte tulisi digestoida (hajottaa alumiiniyhdisteet ionimuotoiseksi), jotta laite havaitsee kaiken alumiinin. Menetelmä soveltuu ionimuotoisen alumiinin määrittämiseen, mutta ei havaitse suuremmissa alumiinipitoisuuksissa pitkäkestoisissa liuotuksissa esiintyviä alumiiniyhdisteitä, joita liuotuksen aikana on syntynyt.

Taulukko 18. Liuotusajan, tuhka- ja sakkaroosipitoisuuden yhteisvaikutusten kokeilun metallianalyyysien tulokset.

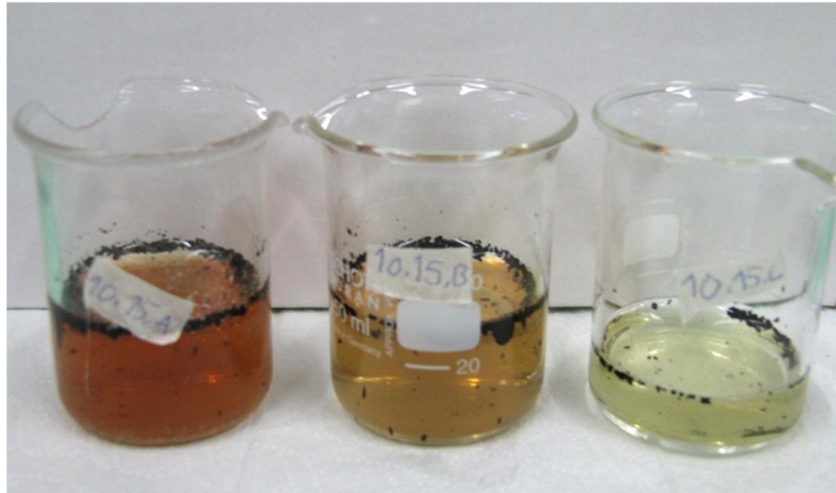
Näytetunnus	pH	Al		Fe	
		HACH (mg/l)/g	Labtium (mg/l)/g	HACH (mg/l)/g	Labtium (mg/l)/g
1.1.5.A	7,5	7,75		8,85	
1.1.5.B	7,5	8,25		9,35	
1.1.5.C	7,5	8,7		8,8	
1.1.15.A	5	1,85		0,95	
1.1.15.B	5	1,3		0,75	
1.1.15.C	5	1,25		0,75	
1.10.5.A	10	5,2		6,4	
1.10.5.B	10	4,7		6,56	
1.10.5.C	10	6,3		7,6	
1.10.15.A	8	15,05		15,6	
1.10.15.B	8	14,65		16,5	
1.10.15.C	8	13,75		15,5	
14.1.5.A	3	7,5	116	200	185
14.1.5.B	3	5,35		180	
14.1.5.C	3	7,7		189	
14.1.15.A	3	11,95	110	177	181
14.1.15.B	3	11,6		193	
14.1.15.C	3	26,15		158	
14.10.5.A	8,5	10		11	
14.10.5.B	8,5	9,9		10,4	
14.10.5.C	9	9,55		9,8	
14.10.15.A	7,5	16,2	18,4	18,8	17,3
14.10.15.B	7	14,25		17,4	
14.10.15.C	5,5	26,15	40,3	36,2	33,7

Kuvassa 6 on rinnakkaiset näytteet (A, B ja C) 14 vrk:n liuotuksesta, jossa tuhkaa oli 1 % ja sakkaroosia 15 %. Rinnakkaiset näytteet poikkeavat ulkonäöltään hieman toisistaan, A ja B pulloissa biomassaa oli selkeästi vihreämpää ja C pullon biomassaa oli harmaata.



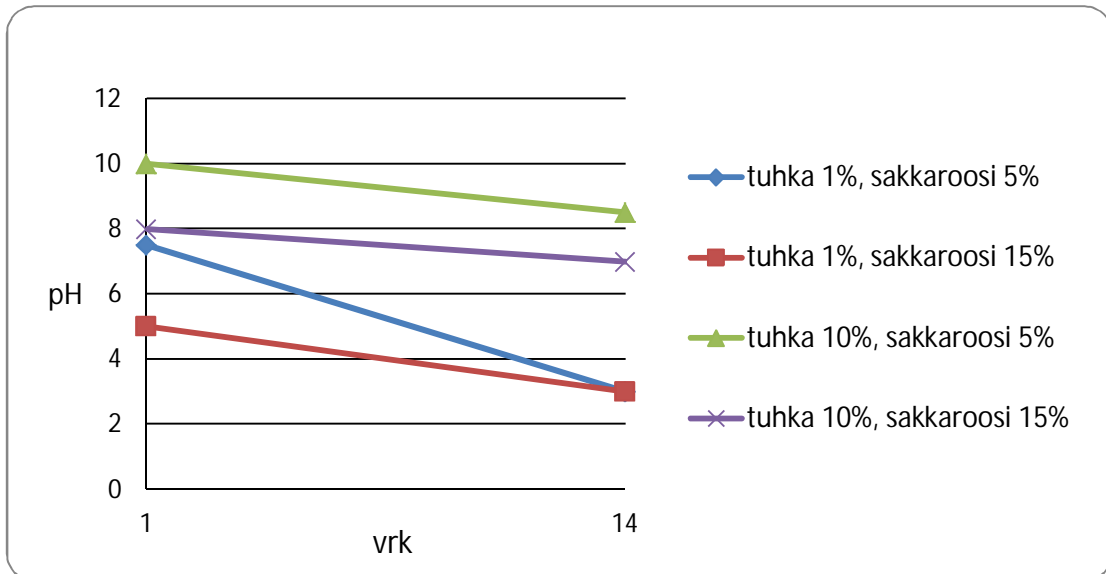
Kuva 6. Rinnakkaisnäytteet A, B ja C (1 % tuhka, 15 % sakkaroosi) 14 vuorokauden liuotuksen jälkeen.
Kuva Meri Tissari 2010.

Kuvassa 7 on esitetty rinnakkaisnäytteiden (10 % tuhka, 15 % sakkaroosi) 14 vrk:n liuotuksen jälkeen. Kuva on otettu fuugauksen jälkeen, pinnalle on jäänyt hieman tuhkaa kellumaan, solumassa jäi fuugausputken pohjalle. Näytteiden pH erosi jonkun verran toisistaan siten, että A:n pH oli korkein ja C:n matalin. Metallien liukoisuudet olivat A ja B näytteissä selkeästi pienemmät kuin C näytteessä.



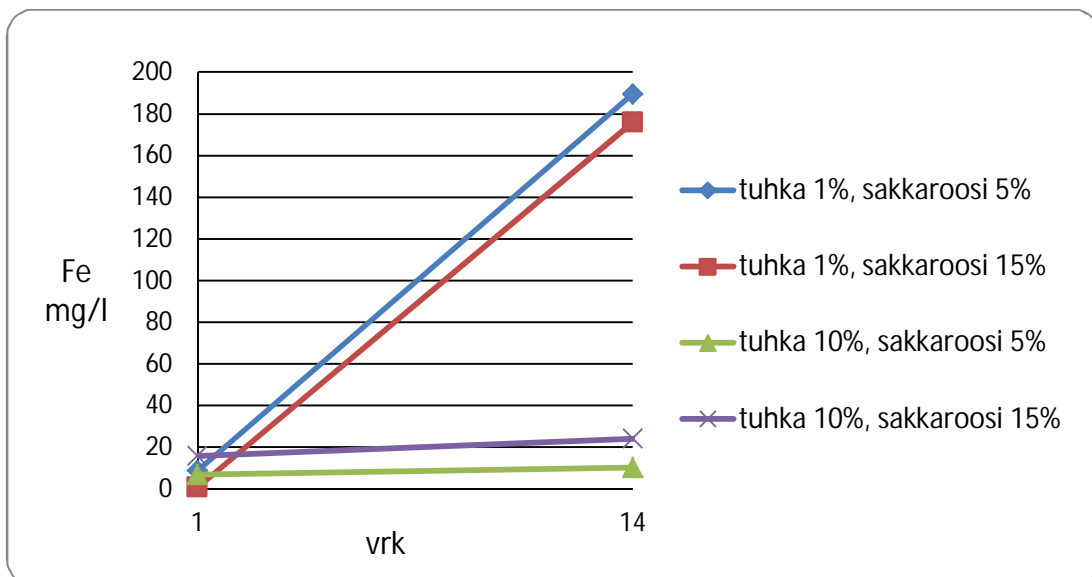
Kuva 7. 14 vrk, 10 % tuhkaa, 15 % sakkaroosia, A, B ja C sentrifuugauksen jälkeen. Kuva Meri Tissari 2010.

Kaaviossa 3 on kuvattu solukasvatuksen pH:n muuttumista yhteisvaikutusten kokeilu-koesarjassa. Kaaviosta huomataan, että pH muuttuu voimakkaimmin, kun tuhkaa on 1 % ja sakkaroosipitoisuus on 5 %. Myös 1 %:n tuhkapitoisuudella ja 15 %:n sakkaroosipitoisuudella päästään samaan pH-arvoon, tällöin kuitenkin 1 vuorokauden pH on ollut jo valmiiksi matalampi. Kaaviosta voidaan myös havaita, että sakkaroosi vaikuttaa jo alussa liuoksen happamuuteen siten, että missä on ollut enemmän sakkaroosia, pH on matalampi. pH:n aleneminen johtuu sienien kasvusta ja sen orgaanisten happojen tuotannosta. Tuhka inhiboi jonkun verran sienien kasvua ja siten orgaanisten happojen tuottoa, sillä missä tuhkan määrä on ollut 10 %, myös pH on laskenut vähiten.



Kaavio 3. Liuoksen pH:n muutos (tuhkaa 1, 10 % ja sakkaroosi 5, 15 %) yhteisvaikutusten kokeilu - koesarjassa 1 ja 14 vrk.

Kaaviossa 4 on kuvattu yhteisvaikutusten kokeilun raudan liukenemista. Kaaviosta voidaan havaita että 1 % tuhkapitoisuudella liukeneminen on ollut kaikkein tehokkainta. 10 % tuhkapitoisuudella rautaa on 14 vuorokauden aikana liuennut huomattavasti vähemmän. Liuotustulokset myötäilevät liuotuskokeen pH:n muutoksia siten, että missä pH on alentunut parhaiten, myös raudan liukeneminen on ollut tehokkainta. Tuhkapitoisuuden ollessa 10 % orgaanisten happojen tuotettu määrä ei ole ollut riittävä saamaan samaa tulosta kuin 1 %:n tuhkapitoisuudella.



Kaavio 4. Raudan liukeneminen yhteisvaikutusten kokeilu -koesarjassa 1 ja 14 vrk.

6.1.3 Liutus tuhkapitoisuudella 3 ja 5 %

Taulukossa 19 on esitetty alumiinin ja raudan liukeneminen tuhkapitoisuudella 3 ja 5 %, kun liotusaika on ollut 1, 3 ja 6 vrk. Labtium tuloksista voidaan havaita selvästi, että ensimmäisen vuorokauden liukeneminen tuhkapitoisuudella 3 ja 5 % on ollut suhteessa sama. Liukenemisen erot syntyvät liotusajan perusteella, sillä 5 %:n tuhkapitoisuudella *Aspergillus niger* –sienellä menee enemmän aikaa sopeutua kasvuolosuhteisiin, joten sekä pH:n lasku, että metallien liukeneminen on hitaampaa. Rinnakkaisnäytteiden analyysitulokset ovat hyvin yhteneväisiä.

Taulukko 19. Alumiinin ja raudan liukeneminen tuhkapitoisuudella 3 ja 5 %

Näytetunnus	pH	Al	Al	Fe	Fe
		HACH (mg/l)/g	Labtium (mg/l)/g	HACH (mg/l)/g	Labtium (mg/l)/g
1.3.10.A	8,5	12,8		12,2	
1.3.10.B	8,5	14,1	16,1	13,3	12
1.3.10.C	8,5	10,8		14,7	
1.5.10.A	9	15,0		15,1	
1.5.10.B	9	15,5		16,4	
1.5.10.C	9	15,2	16,7	15,0	13,2
3.3.10.A	8	13,2		13,1	
3.3.10.C	7,5	13,0		12,7	
3.5.10.A	8,5	14,6		15,1	
3.5.10.B	8,5	12,1		15,4	
3.5.10.C	8,5	15,2		15,8	
6.3.10.A	4	(24,1)	40,7	34,7	32,8
6.3.10.B	4	(25,7)		38,7	
6.3.10.C	4,5	(21,0)		27,3	
6.5.10.A	7	15,2		16,8	
6.5.10.B	7,5	14,9	16,2	15,8	14,1
6.5.10.C	7,5	13,8		16,8	

6.1.4 14 vuorokauden liutus 1 %:n tuhkapitoisuudella

Taulukossa 20 on alumiinin ja raudan metallianalyysien tulokset sekä pH. HACH:lla tehdyn alumiinin analyysitulokset 14 vuorokauden liotuksessa ovat epäluotettavat, kuten edellä on mainittu. Raudan tulos myötäilee myös Labtiumilla saatuja tuloksia.

Taulukko 20. 14 vrk:n liuotus 1 %:n tuhkapitoisuudella.

Näytetunnus	pH	Al	Al	Fe	Fe
		HACH (mg/l)/g	Labtium (mg/l)/g	HACH (mg/l)/g	Labtium (mg/l)/g
1.1.10.A	9	12,35		11,8	
1.1.10.B	9	9,7		12,8	
1.1.10.C	9	11,9	15,8	11,9	12,1
3.1.10.A	7	9,55		11,5	
7.1.10.B	3,5	36,9		83,5	
7.1.10.C	3,5	32,7		63,5	
14.1.10.A	3	(20,3)		163	
14.1.10.B	3	(25,2)	99,7	165	144
14.1.10.C	2,5	(4,4)		184	

6.1.5 Pitkäkestoinen liuotus

Taulukossa 21 on esitetty pitkäkestoisen liuotuksen (31 vrk) analyysitulokset raudan liukenemisen osalta sekä liuosten pH-arvot. Tuloksista voidaan havaita, että rautaa on parhaiten liuennut tuhkapitoisuuden ollessa 1 %. Liukenemiset ovat kuitenkin samaa suuruusluokkaa. Pitkäkestoisessa liuotuksessa metalleja on liuennut paremmin 3 ja 5 %:n tuhkapitoisuudella kuin aiemmin tehdyissä 6 vuorokauden liuotuksissa. Liuotusaika vaikuttaa metallien liukenemiseen merkittävästi.

Taulukko 21. Pitkäkestoinen liuotus (31 vrk)
1, 3 ja 5 % tuhkaa, 10 % sakkaroosia.

Näytetunnus	pH	Fe	Fe Lab-
		HACH g/(mg/l)	tium g/(mg/l)
31.1.10.A	2,5-3	231	
31.1.10.B	3	263	211
31.3.10.A	3	196,67	184
31.3.10.B	3-3,5	150	
31.5.10.A	3,5	132,4	
31.5.10.B	3,5	145	136,2

6.1.6 Nollanäytteet

Nollanäytteiden metallien liukoisuuksissa oli pientä vaihtelua riippuen tuhka- ja sakkaroosimäärästä (taulukko 22). Kuitenkin voidaan selvästi havaita, että liuotus pelkällä ravinneliuoksella liuottaa vähemmän metalleja, kuin liuotettaessa solujen kanssa. Liuotus pelkällä tislattulla vedellä (näytetunnus 1.1.0) tuottaa huonoimman tuloksen metallien liukenemiselle. HACH:n ja Labtiumin analyysitulokset ovat samaa tasoa, joten nollanäytteiden analysoinneissa HACH:lla saadut tulokset ovat luotettavia.

Taulukko 22. Nollanäytteiden analyysit.

Näytetunnus	pH	Al	Al	Fe	Fe
		HACH g/(mg/L)	Labtium g/(mg/L)	HACH g/(mg/L)	Labtium g/(mg/L)
1.1.10.0.A	8	7,3		-	
1.1.10.0.B	8	7,3		-	
1.10.10.0.A	9	11,3		-	
1.10.10.0.B	9	12,6		-	
1.1.5.0	6,5	5,7		2,2	
1.1.15.0	6,5	7,1		3,4	
1.10.5.0	9	3,4		3,7	
1.10.15.0	9,5	10,2		10,8	
14.1.5.0	7,5	1,4	0,7	0,2	<0,5
14.1.15.0	6,5	4,0	5,0	2,4	2,6
14.10.5.0	9	7,0	5,5	6,3	4,7
14.10.15.0	8	17,5	17,2	17,9	15,4
1.3.10.0	8,5	10,8	9,6	9,6	7,0
1.5.10.0	9,5	12,4	11,6	12,3	8,9
3.3.10.0	8	9,6		9,1	
3.5.10.0	9	12,4		12,4	
6.3.10.0	7,5	9,0	10,1	8,7	7,9
6.5.10.0	8,5	12,8	14,4	14,4	11,9
1.1.10.0	10	13,0	16,7	1,1	1,3
7.1.10.0	8	5,8		0,1	
14.1.10.0	8	3,5	1,9	0,4	0,1
1.1.0	10,5		0,49	0,01	0,06

6.2. Bioliuotuskokeet fermentorissa

Fermentoinneista analysoitiin Labtiumilla sekä nestenäytteitä (taulukko 23) että tuhkanäytteitä (taulukko 24). Alumiinin ja raudan liukeneminen on jäänyt ravistelupullokokeisiin verrattuna huomattavasti pienemmäksi.

Taulukko 23. Bioliuotus fermentorissa, alumiinin ja raudan liukeneminen sekä pH.

	vrk	pH	Al	Fe
			Labtium (mg/l)/g	Labtium (mg/l)/g
5 % tuhka, 5 % sakkaroosi	14	4,6	23,4	23,6
1 % tuhka, 10 % sakkaroosi	1	2,2	4,1	2,7
3 % tuhka, 10 % sakkaroosi	3	1,4	42,5	41,5
3 % tuhka, 10 % sakkaroosi	2	8,9	1,57	0,4
3 % tuhka, 10 % sakkaroosi	3	9	0,67	<0,4

Kahdesta fermentoinnista tehtyjen tuhkan alkuaineanalyysien perusteella voidaan havaita, että 3 %:n tuhkapitoisuudella metalleja on liennut paremmin. Taulukosta havaitaan, että lyijyä on prosentuaalisesti liuotuksen jälkeen tuhkassa enemmän. Tämä voi johtua siitä, että tuhkan alkuainepitoisuudet vaihtelevat eri koesarjoissa. Toinen syy voi olla että tuhkasta ei liukene lyijyä juurikaan, jolloin tuhkan muiden alkuaineiden liuetessa tuhkaan jää enemmän lyijyä prosentuaalisesti. Fermentointien tuhka-analyyseistä ei saatu kaikkea tuhkaa talteen siten, että kokonaismassan pienenemisen laskeminen olisi ollut mahdollista.

Taulukko 24. Fermentointien tuhka-analyysit.

	Alkup. tuhka	12 vrk, 3 % tuhka, 10 % sakkaroosi		14 vrk, 5 % tuhka, 5 % sakkaroosi	
Aine	mg/kg	mg/kg	reduktio	mg/kg	reduktio
Al	17624	9844,06	44 %	15772	11 %
As	162	60	63 %	110	32 %
Ba	823	510	38 %	710	14 %
Cd	14	<50	-	ei analys.	-
Cl	2340	410	82 %	600	74 %
Cr	79	60	24 %	60	24 %
Cu	101	80	21 %	80	21 %
Fe	63106	39518	37 %	54346	14 %
Hg	3,75	2,16	42 %	2,47	34 %
Mg	10900	6030	45 %	7176	34 %
Mn	3624	2277	37 %	2757	24 %
O	188192	106922	43 %	152310	19 %
P	20206	13613	32 %	19508	3 %
Pb	94	120	-28 %	90	4 %
Rb	187	60	68 %	90	52 %
S	24910	6100	76 %	7790	69 %
Si	58546	32720	44 %	48146	18 %
Sr	424	200	53 %	310	27 %
Th	16	15	6 %	<10	-
Ti	605	372	39 %	515	15 %
V	46	30	35 %	40	14 %
Zn	2150	1360	37 %	1790	17 %
Zr	38	30	20 %	30	20 %

6.3. Kemiallinen liuotus

Kemiallisen liuotuksen raudan ja alumiinin liukeneminen on esitetty taulukossa 25.

Taulukko 25. Kemiallinen liuotus

Näytetunnus	pH	Fe	Fe	Al
		HACH (mg/l)/g	Labtium (mg/l)/g	Labtium (mg/l)/g
K.1.1	6,5	5,3		
K.1.3	11	11,5		
K.3.1	6,5	5,1	5,37	6,75
K.3.3	10	16,3	16,8	16,8

6.4. Orgaaniset hapot

Taulukossa 26 on esitetty joidenkin näytteiden orgaanisten happojen pitoisuudet. Oksaalihappoa on muodostunut vain ensimmäisessä fermentorikasvatuksessa. Taulukosta nähdään ensimmäisen fermentointianalyysin perusteella, että ensin muodostuu glukonihappoa, seuraavaksi oksaalihappoa ja viimeisenä sitruunahappoa. Ensimmäinen ja toinen fermentointi on kierrosnopeutta lukuun ottamatta tehty samoilla parametreilla. Sitruunahappoa on muodostunut joidenkin näytteiden osalta, glukonihappoa puolestaan on muodostunut kaikissa näytteissä. Kemiallinen liuotuskoe tehtiin 6.4.2010 otetun näytteen syntyneiden happojen perusteella.

Taulukko 26. HPLC –analyysit

Näytetunnus	Oksaali- happo µg/ml	Sitruuna- happo µg/ml	Glukoni- happo µg/ml	Hapot yhteensä µg/ml	Liuoksen pH
15.3.10 (1) ^{*)}	-	-	125,9	125,9	
16.3.10 (2) ^{*)}	10,2	-	50,4	60,7	7,38
17.3.10 (3) ^{*)}	9,9	113,0	148,3	271,1	7,56
19.3.10 (5) ^{*)}	9,0	47,8	98,3	155,1	7,37
24.3.10 (6) ^{*)}	14,2	100,3	314,7	429,3	7,03
26.3.10 (L) ^{*)}	15,9	107,8	358,1	481,8	
31.3.10 II ^{**)}	-	-	564,5	564,5	5,24
31.3.10 III, 13.30 ^{**)}	-	-	899,8	899,8	3,8
1.4.2010 IV ^{*)}	-	324,4	1591,9	1916,3	4,37
1.4.2010 (5) ^{**)}	-	515,5	1543,5	2059,0	4,5
6.4.2010 ^{*)}	-	931,6	2979,1	3910,7	3,7
15.4.2010 soluton alku	-	-	611,5	611,5	3,42
1.1.5A	-	-	132,9	132,9	7,5
1.1.5B			177,9	177,9	7,5
1.1.5C			144,0	144,0	7,5
1.10.5A			115,9	115,9	10
1.10.5B			112,7	112,7	10
1.10.5C			130,2	130,2	10
1.1.15A		166,3	765,1	931,4	5
1.1.15B		1,2	256,1	257,3	5
1.1.15C		1,0	261,6	262,6	5
1.10.15A			253,3	253,3	8
1.10.15B		2,0	291,4	293,4	8
1.10.15C		2,8	342,8	345,6	8
14.1.5A		96,8	289,8	386,6	3
14.1.5B			124,5	124,5	3
14.1.5C			113,4	113,4	3
14.10.5A			108,4	108,4	8,5
14.10.5B			80,2	80,2	8,5
14.10.5C			73,8	73,8	9
14.1.15B		5,7	261,2	266,9	3
14.1.15C		8,4	294,9	303,4	3
14.10.15A		6,8	340,4	347,2	7,5
14.10.15B		0,8	267,9	268,7	7
14.10.15C		1,7	280,0	281,7	5,5

*) *A. niger* kasvatus fermentorissa, 30 °C, 100 rpm, 10 % sakkaroosi

**) *A. niger* kasvatus fermentorissa, 30 °C, 75 rpm, 10 % sakkaroosi

15.4.2010 soluton alku. *A. niger* kasvatus fermentorissa, 30 °C, 75 rpm, 10 % sakkaroosi

1.1.5.A...14.10.15.C. Ravistelupullokoikeiden lopetusvaiheesta analysoitu näyte.

7. TULOSTEN TARKASTELU

7.1. 100-prosenttinen liukeneminen ja vertailuarvot

Taulukossa 27 on esitetty liuoksen metallipitoisuudet mg/l, kun tuhkan metallit ovat lienneet 100-prosenttisesti. Kyseessä on tilanne, jossa 100 ml:ssa ajatellaan olevan 1 % tuhkaa (w/v). Pitoisuudet ovat suoraan vertailukelpoisia saatuihin metallien liukenemistuloksiin. Esimerkiksi alumiini on liennut tuhkasta 100 %:sti, kun liuoksessa on 176,2 mg/l alumiinia. Liukenemisprosentit on laskettu näiden pohjalta. Tulosten tarkastelussa on otettu huomioon mahdollinen ravinneliuoksen vaikutus alkuaineiden pitoisuuksiin liuoksessa.

Taulukko 27. Metallien 100 % liukeneminen, kun 100 ml:ssa on 1 % (w/v) tuhkaa.

	mg/l		mg/l		mg/l		mg/l
Ag	0,1	Cl	23,4	La	0,3	Pb	0,94
Al	176,2	Co	2	Mg	109	Rb	1,87
As	1,62	Cr	0,79	Mn	36,25	S	249,1
Ba	8,23	Cs	0	Mo	0,4	Sb	1
Bi	0,3	Cu	1,01	Na	26,99	Sc	<0,2
C	3948	Fe	631,1	Nb	0,07	Si	585,5
Ca	890,7	Ga	0,2	Ni	0,45	Sn	0,2
Cd	0,14	Hg	0,037	O	1882	Sr	4,24
Ce	0,48	K	365,1	P	202,1	Ta	0,1
						Te	0
						Th	0,16
						Ti	6,05
						U	<0,1
						V	0,46
						Y	0,17
						Zn	21,5
						Zr	0,38

Hyötykäyttökohteita ajatellen arseenin, elohopean ja sinkin liukeneminen ovat ratkaisevimpia. Taulukossa 28 luetellaan kyseisten aineiden pitoisuudet käsittelemättömässä tuhkassa sekä niiden raja-arvot hyötykäyttökohteen mukaan. Betonin seoskäytön kannalta klooripitoisuutta ei tässä ole tutkittu, sillä tuhka ei täytä laatuvaatimuksia muiden aineiden osalta, eikä hyötykäyttö kloorin määrästä. Metsälannoitekäytölle tuhkassa tulee olla fosforia ja kaliumia yhteensä 1 %.

Taulukko 28. Haitallisten alkuaineiden raja-arvot ja pitoisuudet käsittelemättömässä tuhkassa.

Käyttökohte	Aine	Raja-arvo mg/kg	Pitoisuus tuhkassa mg/kg
Metsälannoitekäyttö	As	30	161,75
	Hg	1	3,75
Maarakennuskäyttö	As	50	161,75
	Zn	2000	2150,3

Muita haitallisia aineita, jotka eivät ylittäneet hyötykäyttökohteiden raja-arvoja, ovat kadmium, kromi ja lyijy. Kupari, sinkki ja nikkeli ovat haitallisia metalleja, mutta ne ovat myös arvometalleja.

7.2. Ravistelupullokokeiden parhaimmat yhdistelmät

Parhaisiin tuloksiin päästiin 14 vuorokauden liuotuksissa, tuhkamäärän ollessa 1 % kaikilla kolmella sakkaroosipitoisuudella ja pitkäkestoisessa (31 vrk) liuotuksessa tuhkapitoisuudella 1, 3 ja 5 %. Taulukossa 29 on esitetty 14 ja 31 vuorokauden liuotusten metallien liukenemisprosentit. Yli 100 % liuotustulos johtuu tuhkan epätasalaatuisuudesta. Ravistelupullokokeiden nestenäytteiden perusteella tuhkan metallipitoisuuksien laskeminen on mahdotonta, sillä samalla, kun metalleja liukenee nestefaasiin myös tuhkan massa pienee.

Arvometalleista liukenee parhaimmillaan kuparia noin 0,4 mg/l (40 %), nikkeliä 0,26 mg/l (58 %) ja sinkkiä 20 mg/l (93 %).

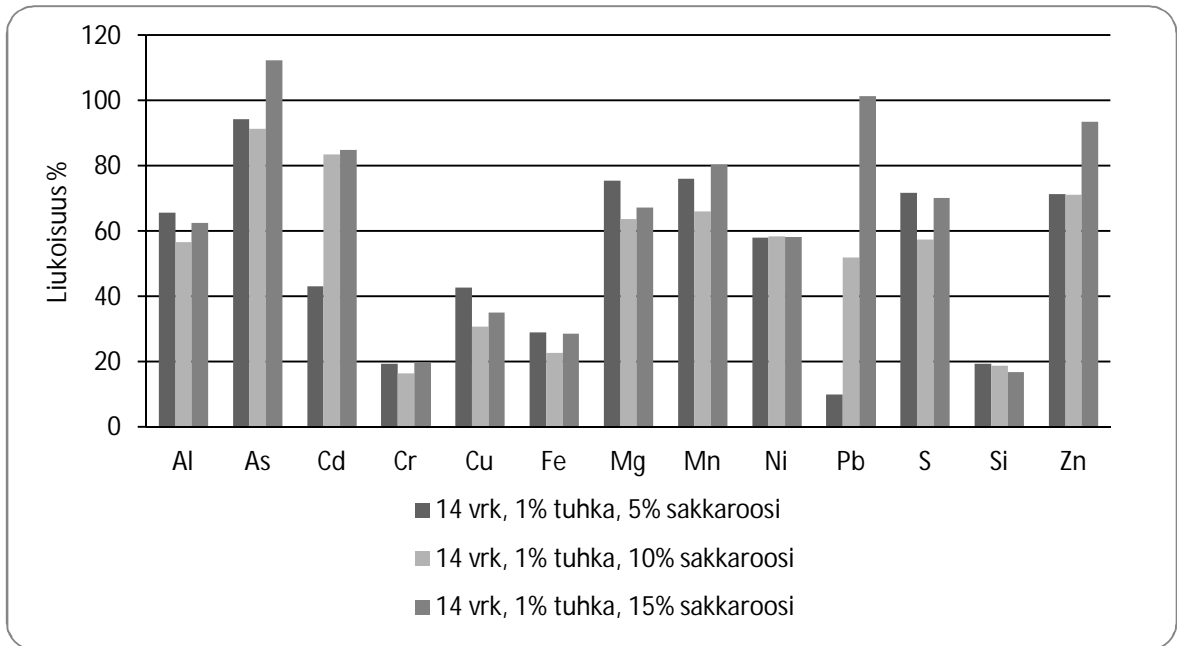
Taulukko 29. Metallien liukenemisprosentit 14 ja 30 vuorokauden liuotuksissa.

Näytetunnus	Al	As ²⁾	Cd ²⁾	Cr ²⁾	Cu ¹⁾²⁾	Fe	Mg	Mn	Ni ¹⁾²⁾	Pb ²⁾	S	Si	Zn ¹⁾²⁾
14.1.5.A	66	94	43	19	43	29	75	76	58	10	72	19	71
14.1.10.B	57	91	84	16	31	23	64	66	58	52	57	19	71
14.1.15.A	63	112	85	20	35	29	67	80	58	101	70	17	93
31.1.10.B	64	86	73	20	44	33	74	77	57	99	63	17	86
31.3.10.A	62	89	76	19	18	29	74	79	32	55	74	12	85
31.5.10.B	51	74	62	16	12	22	65	69	22	71	68	8	73

1) Arvometalli

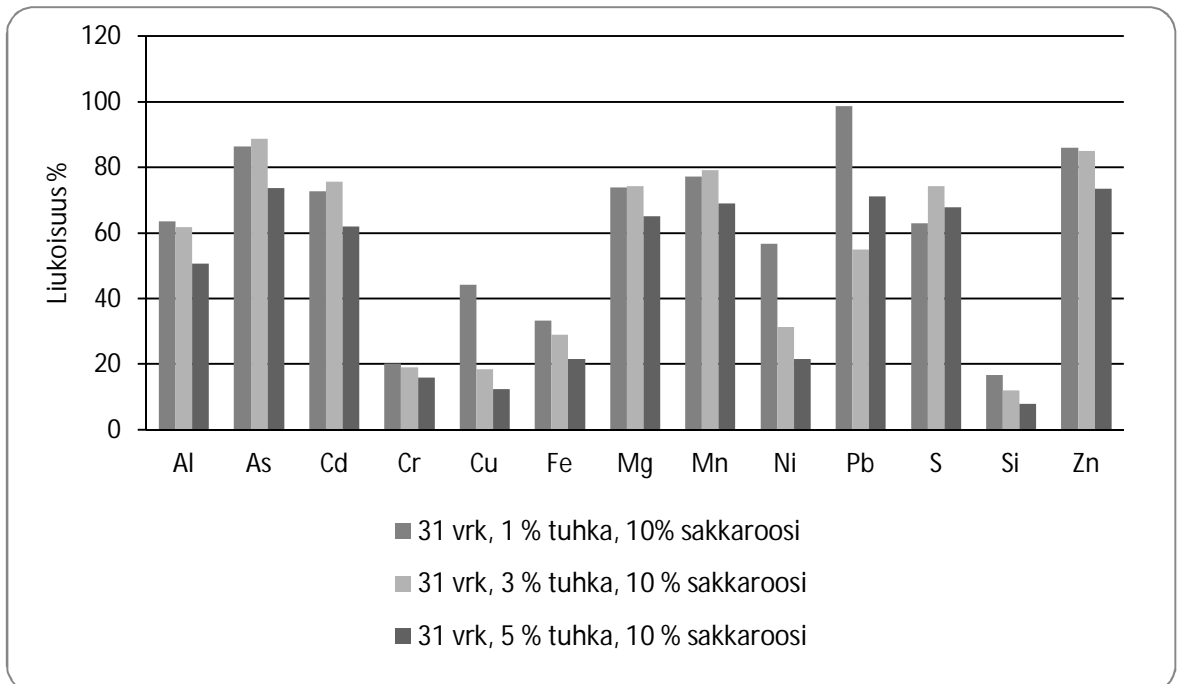
2) Haitallinen metalli

Kaaviossa 5 esitetään metallien liukeneminen 14 vrk:n näytteiden osalta. Eri sakkaroosipitoisuuksilla liukenee eri määriä metalleja. 15 %:n sakkaroosipitoisuus suosii mm. arseenin, kadmiumin, raudan ja sinkin liukenemistä kun taas 5 %:n sakkaroosipitoisuudella liukenee parhaiten mm. alumiini, arseeni ja kupari.



Kaavio 5. Metallien liukoisuusprosentit 14 vuorokauden liuotuksissa (1 % tuhka, 5,10,15 % sakkaroosi)

Kaaviossa 6 on esitetty metallien liukeneminen 31 vuorokauden liuotuksissa. Metallien liukeneminen on ollut samaa suuruusluokkaa kuin 14 vuorokauden liuotuksissa. Pitkäkestoisissa liuotuksissa myös suuremmilla tuhkamäärillä (3 ja 5 %) päästään suhteessa lähes yhtä hyvin liuotustuloksiin kuin pienemmälläkin pitoisuudella.



Kaavio 6. Metallien liukoisuusprosentit 31 vrk:n liuotuksessa (1,3,5 % tuhka, 10 % sakkaroosi)

7.3. Fermentoinnit

Tuhka-analyysien perusteella metallien liukeneminen ei ole riittävä arseenin raja-arvojen (50 ja 30 mg/kg) alittumiseksi metsälannoite- eikä maarakennuskäytön osalta, sillä tuhkaan jää arseenia vielä vähintään 60 mg/kg. Elohopean raja-arvo (1 mg/kg) metsälannoitekäytön osalta ei alitu sillä liuotuksen jälkeen tuhkassa on elohopeaa 2,16 mg/kg. Metsälannoitekäytölle tuhkaan kuitenkin jää riittävä määrä fosforia ja kaliumia.

7.4. Saavutettu liukenemisaste

Aikaisempiin tutkimuksiin vertaaminen on haasteellista, mutta joidenkin metallien liukenemista voidaan kuitenkin tarkastella siten, että ovatko liukenemisprosentit olleet samaa suuruusluokkaa ja mihin tämä tutkimus sijoittuu liuotustulosten perusteella. Tuhkien laatuvaihteluiden lisäksi myös analyysimenetelmät sekä koejärjestelyt eri tutkimuksissa poikkeavat toisistaan.

Taulukossa 30 on esitetty alumiinin raudan ja sinkin liukenemisen osalta vertailua aiemmin tehtyihin tutkimuksiin. Ainoastaan vuonna 2005 ja 2009 tehdyissä tutkimuksissa on päästy parempiin tuloksiin. Vuoden 1998 tutkimuksessa tuhkan polttoaineena on käytetty yhdyskuntajätteen (20 %) ja hakkeen (80 %) seosta, joka on edes hieman vertailukelpoinen tämän tutkimuksen kanssa. Tuolloin liuotustulokset ovat jääneet huomattavasti alhaisemmiksi.

Taulukko 30. Alumiinin, raudan ja sinkin liukenemisen vertailu aiemmin tehtyihin tutkimuksiin. Vuoden 2009 tutkimuksen tuhkan lähtöpitoisuudet puuttuivat.

Vuosi	Polttoaine		Alumiini	Rauta	Sinkki
	Tämä työ	Tuhka mg/kg	17 624	63 106	2 150
		Liukoisuus %	66	33	93
1992	Kivihili	Tuhka mg/kg	177 000	-	-
		Liukoisuus %	5	-	-
1996	Yhdyskuntajäte	Tuhka mg/kg	70 000	28 000	31 000
		Liukoisuus %	50	20	85
1998	Yhdyskuntajäte	Tuhka mg/kg	34 200	12 300	20 100
		Liukoisuus %	62	25	74
	Kivihili	Tuhka mg/kg	32 700	28 200	139
		Liukoisuus %	<30	<30	<30
Yhdyskuntajäte (20 %), hake (80%)	Tuhka mg/kg	16 300	9 800	3 700	
	Liukoisuus %	<30	<30	<30	
2005	Yhdyskuntajäte	Tuhka mg/kg	19 210	5 240	6 288
		Liukoisuus %	>90	30	100
2009	Yhdyskuntajäte	Tuhka mg/kg	-	-	-
		Liukoisuus %	97	56	98

7.5. HACH-analysaattorin soveltuvuus liukoisuustesteihin

HACH DR 2800 soveltuu hyvin tiettyjen metallien analysointiin bioliuotuksen nestenäytteistä. Analyysiohjeissa on mainittu kunkin metallin osalta rajoittavat tekijät, kuten joidenkin aineiden häiritsevä pitoisuus tai liian korkea tai alhainen pH, joiden perusteella valitaan sopivat metallit analysoitavaksi. Raudan määrittämisen osalta näitä rajoituksia ei bioliuotuksen nestenäytteissä ollut. Kokonaisalumiinin määrittämiseksi näyte tulisi digestoida.

Metallien määrittäminen HACH:lla on nopeaa, vaivatonta ja turvallista. Analyysiohjeet ovat selkeät ja työvaiheet helppoja.

8. JOHTOPÄÄTÖKSET

Metallipitoisten jätteiden käsittelylle on tulevaisuudessa yhä suurempi tarve, sillä neitseelliset raaka-aineet ovat hupenemassa samalla, kun kaatopaikkoja täytetään näillä metallipitoisilla jätteillä, joita voidaan kutsua keinotekoisiksi malmeiksi. Bioliuotus on menetelmänä kustannustehokkaampi ja ekologisempi, kuin perinteiset menetelmät sillä mikrobit tekevät suurimman työn ja vain pieniä materiaali- ja ravinnelisäyksiä tarvitaan.

Insinööriyön tavoitteena oli selvittää seospolton lentotuhkan bioliuotukselle *Aspergillus niger* -sienellä optimaaliset olosuhteet, sekä tutkia onko tuhkan hyötykäyttö esitetyissä käyttökohteissa bioliuotuksen jälkeen mahdollista.

Tutkimuksessa havaittiin, että ravistelupullokokeiden perusteella parhaat liukenemistulokset saavutettiin liuotusajan ollessa vähintään 14 vuorokautta ja tuhkamäärän ollessa enintään 5 %. Sakkaroosipitoisuudella huomattiin olevan vaikutusta yksittäisten metallien liukenemisiin. 14 vrk:n, 1 %:n tuhkapitoisuudella metallien liukeneminen oli kolmella eri sakkaroosipitoisuudella hyvin samansuuruiset. Yllättävää oli se, että hyviä tuloksia saavutettiin myös sakkaroosipitoisuuden ollessa 5 %. Syynä tähän voi olla mikrobin hanakampi sopeutumistarve vallitseviin olosuhteisiin käyttämällä tuhkan alkuaineita kasvuunsa ja tuottamalla liuottavia elementtejä tehokkaammin. 31 vuorokauden liuotuksessa havaittiin, että metallien liukeneminen on lähes yhtä hyvä kaikilla kolmella tuhkapitoisuudella (1, 3, 5 %).

Fermentorimittakaavan kokeissa pienin kokeiltu tuhkamäärä oli 3 %. Fermentointitutkimuksen perusteella lentotuhkasta ei saada alennettua haitallisten aineiden pitoisuuksia siten, että tuhkan hyötykäyttö missään käyttökohteessa olisi mahdollista. Tuhkamäärityksiä varten tuhkaa tulee voida erottaa bioliuotuskokeista riittävä määrä ja pienemmällä fermentointikokeen tuhkapitoisuudella tuhkaa ei olisi ollut riittävästi. Samalla, kun sieni tuottaa orgaanisia happoja ja aineenvaihduntatuotteita, se kasvattaa myös biomassansa. Fermentorikasvatusten aikaraja muodostui juuri tästä biomassan kasvusta, sillä fermentori kasvoi täyteen biomassaa. Myös ravistelupulloissa riittävän ajan kuluessa sieni kasvoi täyttäneen koko nestetilavuuden (100 ml). Näytteen saamiseksi biomassaa piti litistellä nesteen irrottamiseksi.

Lentotuhkan bioliuotus on pääpiirteissään helppo hallita, sillä voimakkaita kemikaaleja ei tarvitse käyttää ja sieni on helppo mikrobi käsitellä ja kasvattaa. Homesieni haisee voimakkaalle ja tuottaa kasvaessaan itiöitä, joten hengityssuojaimen käyttö on suotavaa. Mikrobin kasvattaminen vaatii kuitenkin aseptiset olosuhteet ja oman työpanoksensa.

Siemen energian saannin tulee olla riittävä, jotta liuottavaa ainetta, orgaanisia happoja ja muita aineenvaihduntatuotteita syntyy tarpeeksi. Fermentointikokeiden perustella havaittiin, että myös lämpötilan on oltava riittävän korkea, vähintään 14 °C, että nuijahome kasvaa.

Tuhkan laatu vaikuttaa olennaisesti tietyllä mikrobilla ja tietyissä olosuhteissa suoritettavan bioliuotuksen tehokkuuteen ja soveltuvuuteen. Yksi haaste bioliuotukselle onkin tuhkan laadun vaihtelu ja sen takia muutettavat prosessiparametrit bioliuotuksen olosuhteissa. Bioliuotuksessa käytettävä mikrobi tulee osata valita myös käyttökohteeseen sopivaksi, liuotettavan materiaalin laadun mukaan.

Bioliuotuksen soveltuvuudelle lentotuhkan metallipitoisuuksien alentamiseksi on tämän tutkimuksen perusteella sekä käytännön tason että taloudellisia haasteita. Suurimpia näistä ovat energian ja lämmön saanti, biomassan erottaminen tuhkasta ja sen jatkokäyttö, liuotus suuremmissa mittakaavassa sekä lentotuhkan epätasalaatuisuus. Tulevaisuudessa tulisikin tutkia bioliuotusta suuremmissa mittakaavassa ja kartoittaa eri energialähteiden käyttöä sekä miettiä tuotetulle biomassalle erottelukeinoja ja käyttökohteita. Myös prosessin kokonaiskustannusten arvioiminen olisi tarpeen.

LÄHTEET

1. Korpijärvi, Kirsi ym. *Energian tuotannon tuhkien jalostaminen maarakennuskäyttöön*. VTT-tiedotteita 2499. 2009.
2. Fosfokipsin ja lentotuhkan hyötykäyttö maarakentamisessa[verkkodokumentti]. 20.8.2004 [viitattu 18.4.2011]. ympäristö.fi > Kansainväliset asiat > Euroopan unioni > Life+ -rahoitus > Suomen LIFE Ympäristö –hankkeet > *Fosfokipsin ja lentotuhkan hyötykäyttö maarakentamisessa*. Saatavissa: <http://www.environment.fi/default.asp?contentid=91510&lan=fi>
3. Vornanen, Camilla – Penttala, Vesa. Puuperäisestä lentotuhkasta uusi betonin sideaine. *Betoni* [verkkolehti]. 2008, nro 4, s. 72-77 [viitattu 12.1.2011]. Saatavissa: <http://www.betoni.com/download.asp?intFileID=1887&intLinkedFromObjectID=10487>
4. Wu, Hung-Yee – Ting, Yen-Peng. Metal extraction from municipal solid waste (MSW) incinerator fly ash - Chemical leaching and fungal bioleaching. *Enzyme and microbial technology* 38 (2005) s. 839-847.
5. L539/2006. Lannoitevalmistelaki. 29.6.2006.
6. MMM- asetus 19/09. Maa- ja metsätalousministeriön asetus lannoitevalmisteista annetun maa- ja metsätalousministeriön asetuksen 12/07 muuttamisesta. 29.7.2009.
7. VNa 591/2006. Valtioneuvoston asetus eräiden jätteiden hyödyntämisessä maarakentamisessa. 28.6.2006.
8. VNa202/2006. Valtioneuvoston asetus kaatopaikoista annetun valtioneuvoston päätöksen muuttamisesta. 23.3.2006
9. Vestola, Elina ym. *Metallipitoisten jätteiden biologinen kokonaishallinta*. Tutkimusraportti VTT-R-05083-09. 2009.
10. Krebs, Walter ym. Microbial recovery of metals from solids. *FEMS Microbiology reviews* 20 (1997) s. 605-617.
11. Devasia, Preston – Natarajan, K A. Bacterial leaching: biotechnology in the mining industry. General article. 2004.
12. Rawlings, Douglas. Characteristics and adaptability of iron- and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates. *Microbial Cell Factories* (2005).
13. Brandl, H. – Faramarzi, M. A. Microbe-metal-interactions for The biotechnological treatment of metal containing solid waste. *China particuology* 4 (2006) Nro. 2, s. 93-97.

14. Harbhajan, Singh. *Mycoremediation : Fungal bioremediation*. 1. painos. New Jersey. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken. 2006.
15. Baker, Scott. Aspergillus niger genomics: Past, present and into the future. [verkkolehti] *Medical Mycology Septembe* (2006), nro. 44, s. 17-21. [viitattu 1.3.2011] Saatavissa:
<http://www.aspergillus.org.uk/secure/articles/pdfs/MM44supplement1/17050415.pdf> 13
16. Zaykoski, Leigh. An overview of Aspergillus niger [verkkodokumentti]. 1.10.2008 [viitattu 27.4.2011] Home > Health > Conditions & Treatments > Infectious Diseases > *An overview of Aspergillus niger*. Saatavissa:
<http://www.brighthub.com/health/conditions-treatments/articles/9543.aspx>
17. Hautala, Timo. Opportunistiset sieninfektioit [verkkodokumentti]. Oulun Yliopisto, sisätautien klinikka 17.4.2004 [viitattu 1.3.2011]. Saatavissa:
<http://cc oulu.fi/~sisawww/esit/030417.htm>.
18. Torma, Arpad – Singh, Ashok. Acidolysis of coal fly ash by Aspergillus niger. *Fuel* 72 (1993), nro 12.
19. Pajari, Anni. *Kemiallinen reaktio opetuksessa-stoikiometria ja kemiallinen tasapaino ylioppilaskokeessa*. Pro gradu – tutkielma. Helsingin yliopisto, matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta. 2007.
20. Bosshard, Philipp – Bachofen, Reinhard – Brandtl, Helmut. Metal leaching of fly ash from municipal waste Incineration by Aspergillus niger. *Environmental Science & Technology* 30 (1996), s. 3066-3070.
21. Junninen H ym. Bioleaching of metals from fly ashes. Teoksessa *Sihtti 2, Energy and Environmental Technology, Final report 1993-1998*. Espoo: Rabbe Thun & Maija Korhonen. 1999.
22. Xu, Tong-Jiang – Ting, Yen-Peng. Fungal bioleaching of incineration fly ash: Metal extraction and modelling growth kinetics. *Enzyme and microbial technology* 44 (2009), s. 323-328.
23. PROBIO -johtoryhmän aloituskokous. Espoo. 16.2.2010.

LIITE 1.

LENTOTUHKAN BIOLIUOTUS

Savonia-ammattikorkeakoulu,
Meri Penttinen

PROBIO-projektin
Savonia-ammattikorkeakoulun rinnakkaisohjelmassa selvitetään mahdollisuuksia hyödyntää sienen avulla tehtävää bioliuotusta lentotuhkan raskasmetallipitoisuuksien vähentämiseksi. Tarkoituksena on saada tuhkan metallipitoisuus tarpeeksi alhaiselle tasolle, jolloin sen hyötykäyttö esimerkiksi maanrakennuksessa tai lannoituskäytössä parantuisi.

Aspergillus niger

LENTOTUHKA

Tutkimuksessa käytettävä lentotuhka on peräisin lämmöntuotannon arinapolttolaitoksesta, jossa polttoaineena käytetään pääasiassa turvetta (70%) ja sahanpurua (30%).

Lentotuhka kulkeutuu savukaasujen mukana poltto prosessin eri vaiheiden läpi letkusuotimelle saakka, jossa savukaasut puhdistetaan ja päästetään savupiippua pitkin ilmaan. Lentotuhka kerätään tuhkasiiloon ja lasketaan konttiin loppusijoitukseen kuljettamista varten. Lentotuhkaa syntyy vuositasolla noin 17 000 tonnia.

BIOLIUOTUS

METALLI-PITOINEN MATERIAALI

MIKRO-ORGANISMI

Lentotuhka

Aspergillus niger

Bioliuotus on prosessi jossa mikro-organismia kuten bakteeria tai sientä käytetään liuottamaan metallipitoisesta materiaalista kuten tuhasta tai elektroniikkaromusta metalleja liukoiseen muotoon.

KOEJÄRJESTELYT

RAVISTELUPULLOKOKEET

14 vuorokautta
1% tuhkaa
5% sakkaroosi
B rinnakkainen

14.1.5.B

FERMENTORIKOKEET

Metallien liukenemistä tutkitaan aluksi ravistelupullokokein. Kokeissa optimoidaan bioliuotuksen olosuhteet muuttamalla:

- tuhkamaarää
- ravinneliuoksen sakkaroosipitoisuutta
- liuotusaikaa

Lisäksi kokeita tehdään solullisilla ja soluttomilla liuoksilla. Ravistelupullokokeiden jälkeen metallien liukenemistä tutkitaan parhaimmilla yhdistelmillä suuremmassa 4 litran tilavuudessa fermentorissa.

Tutkimuksessa käytettävä mikrobi on sieniin kuuluva nuijahome *Aspergillus niger*, jota käytetään mm. sitruunahapon ja glukonihapon tuotannossa. *Aspergillus nigerin* bioliuotuskyky perustuu pääasiassa sen orgaanisten happojen tuottokykyyn. Lisäksi se sietää hyvin lentotuhkan emäksisyyttä.

Metallien liukenemistä seurataan metallianalysien avulla. Lisäksi näytteistä mitataan pH sekä tutkitaan orgaanisten happojen sekä sokerien määrää. Fermentorikokeissa tehdään jatkuvoimaisia mittauksia keinoisen ja antureiden avulla.

TARKOITUS

Voimalaitokselta syntyy lentotuhkaa 17 000 t. vuodessa. Tuhkan raskasmetallipitoisuudet ovat tällä hetkellä liian korkeat hyötykäyttöä ajatellen ja se kuljetetaan satojen kilometrien päähän loppusijoitettavaksi. Loppusijoittaminen kuormittaa kaatopaikkoja ja myös raaka-aineita menee hukkaan.

Tutkimuksen tarkoituksena on löytää bioliuotukselle sellaiset olosuhteet jolloin metallien liukeneminen on kaikkein tehokkainta. Lentotuhkan metallipitoisuuden aleneminen mahdollistaisi tuhkan hyötykäytön ja neitseellisten raaka-aineiden käyttö vähentäisi. Lisäksi välttyään loppusijoittamiselta ja mahdollisesti myös arvokkaita metalleja saataisiin kerättyä talteen.

HYÖTYJÄT

Hyötyinä ovat ympäristön lisäksi tuhkan tuottajat eli voimalaitokset sekä puhdistettua tuhkaa jatkossa esimerkiksi lannoitteena käyttävät yritykset.

LISÄTIETOJA: meri.penttinen@student.savonia.fi,
p. 044-5338557