



SAVONIA

OPINNÄYTETYÖ - AMMATTIKORKEAKOULUTUTKINTO
TEKNIKAN JA LIIKENTEEN ALA

SULFAATIN MIKROBIOLOGINEN PELKISTÄMINEN KAIVOSTEOLLISUUDEN VEDESTÄ

TEKIJÄ: Juri Savolainen, EY16SP

Koulutusala Tekniikan ja liikenteen ala	
Koulutusohjelma/Tutkinto-ohjelma Ympäristötekniikan koulutusohjelma	
Työn tekijä(t) Juri Savolainen	
Työn nimi Sulfaatin mikrobiologinen pelkistäminen kaivosteollisuuden vedestä	
Päiväys 8.5.2020	Sivumäärä/Liitteet 51/1
Ohjaaja(t) TKI-asiantuntija Maarit Janhunen, yliopettaja Merja Tolvanen	
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Savonia-ammattikorkeakoulu oy	
Tiivistelmä <p>Tämä opinnäytetyö tehtiin Savonia-ammattikorkeakoulu oy:n teknologia- ja ympäristöalalle. Tavoitteena oli laatia kattava kirjallisuusselvitys kokeellisesta mikrobiologisesta sulfaatinpelkistysprosessista. Savonia-ammattikorkeakoulun sulfaatinpelkistysprosessin käytännön testaaminen toimi yhtenä osana suurempaa DCT-hanketta, jota koordinoi Teknologian Tutkimuskeskus VTT Oy. Opinnäytetyön tarkoituksena oli tukea tätä käytännön sulfaatinpelkistyskokeen teoriapuolta, johon sisältyi mm. aiemmin tehtyjen tutkimusten tarkasteluja sekä niistä saatujen tulosten analysointia ja prosessin toimivuuden kannalta yleisten olosuhdetekijöiden selvittämistä.</p> <p>Opinnäytetyössä tarkasteltiin mikrobiologisen sulfaatinpelkistysreaktorin toimivuutta, siellä tapahtuvaa bakteerien välistä rinnakkaistoimintaa ja niiden toimivuuden kannalta keskeisiä olosuhdetekijöitä, kuten redox-potentiaalia, pH:ta, lämpötilaa, sähkönjohtavuutta, yleisiä prosessille toksisia tekijöitä sekä mikrobien ravinteena käytettäviä hiilenlähteitä. Nämä edellä mainitut olosuhdetekijät vaikuttavat siihen, mitä biologisia toimintoja prosessissa tapahtuu, mitkä toiminnot käynnistyvät, mitkä toiminnot estyvät ja mitkä toiminnot ottavat lopulta vallan prosessissa.</p> <p>Työn tuloksissa ja johtopäätöksissä todettiin, että tehokkaan sulfaatinpelkistysprosessin luominen on erittäin haastavaa, koska mikrobiologinen toiminta on hyvin moniosaista ja näiden osien tasapainon hallitseminen vaatisi hyvin tarkkaa prosessinhallintaa. Myös monissa tutkimuksissa tehdyt kokeet suoritettiin niin pienissä tilavuuksissa, että niiden tulosten vertaaminen teollisella tasolla tapahtuvaan mikrobiologiseen sulfaatinpelkistykseen ei olisi tarkoituksen mukaista.</p>	
Avainsanat Sulfaatti, sulfaatinpelkistys, mikrobiologia, sulfaatinpelkistäjäbakteerit, sulfaatinpelkistysprosessi, metaani, metaanin tuottaja-arkeoni	

Field of Study Technology, Communication and Transport			
Degree Programme Degree Programme in Environmental Technology			
Author(s) Juri Savolainen			
Title of Thesis Microbiological Sulphate Reduction Process from Industrial Waters			
Date	8 May 2020	Pages/Appendices	51/1
Supervisor(s) Ms Maarit Janhunen, RDI Specialist and Ms Merja Tolvanen, Principal Lecturer			
Client Organisation/Partners Savonia University of Applied Sciences			
<p>Abstract</p> <p>This thesis was made for Savonia University of Applied Sciences Ltd., technology- and environmental branch. The goal of this thesis was to compile a comprehensive literature report about an experimental microbiological sulphate reduction process. The client's experimental testing for sulphate reduction was done as part of a larger DCT-project, which was coordinated by Technological Research Center VTT Ltd. The purpose of this thesis was to theoretically support this experimental sulphate reduction process including previously conducted research, analysing their results and general circumstantial factors of a sulphate reduction process that enables its proper activity.</p> <p>In this thesis microbiological functionality, ongoing bacterial co-operation and central environmental factors affecting their activity were examined. These included, for example, redox-potential, pH, temperature, conductivity, general toxic factors for the process as well as the coal source used as nutrition for the target bacteria. These aforementioned factors have a critical effect on the sulphate reduction process and determine what biological operations will be happening inside the process and which of them will eventually take control of the process.</p> <p>In the results and conclusions, it was stated that maintaining an efficient sulphate reduction process is very demanding, because microbiological operations have multiple elements that require highly balanced process control. Also, the experiments conducted in this thesis were performed in such small capacity that a direct use of these results in industrial capacity would not be suitable nor practical.</p>			
<p>Keywords Sulphate, sulphate reduction, microbiology, sulphate reducing bacteria, sulphate reduction process, methane, methane-producing archaea</p>			

ESIPUHE

Kaikki luonnollisen ympäristön ylläpitoon sekä parantamiseen liittyvä työ on jatkuvasti kehittyvässä teollisessa maailmassa ensisijaisen tärkeää. Esimerkiksi teollisuus, teollisuusprosessien sivuvirrat sekä raaka-aineiden hankkiminen eivät koskaan saisi aiheuttaa tarpeetonta kuormitusta ympäristölle, vesistöille, eläimille tai ihmisille. Hyvänä esimerkkinä kaivosteollisuudesta saatavien teollisten raaka-aineiden kysynnän lisääntyminen tulevaisuudessa aiheuttaa samalla vaatimuksia tutkimustyölle, siinä käytettävän teknologian kehittämiseksi sekä täysin uusille innovaatioille.

Lähdin opiskelemaan ympäristötekniikkaa oivaltaessani ympäristöön sekä luontoon liittyvien asioiden kasvavan kehityksen tarpeen ja niiden ylläpitämisen tärkeyden nykypäivänä ja erityisesti tulevaisuudessa. Jokaisella ihmisellä on vastuu huolehtia ympäristöstään sekä ennen kaikkea luonnosta, kunnioittaen sen puhtautta ja ainutlaatuisuutta. Ympäristöteknologian kehitys on täten ensisijaisen tärkeää, jotta ihmistoiminnasta aiheutuvat saasteet ja jätteiden kertyminen saataisiin kuriin ympäri maailmaa.

Otin tämän opinnäytetyön vastaan haasteena koska kiinnostukseni kemiaan, mikrobiologiaan sekä fysiikkaan kasvoi koulutukseni aikana. Myös täysin englanninkielinen aineisto tuntui olevan hyvä tapa haastaa ja kehittää kansainvälisiä työskentelytaitojani tulevana insinööriä.

Haluan kiittää koko Savonian ympäristötekniikan puolen opettajakuntaa sekä tutkimushenkilökuntaa, joihin pääsin koulutukseni aikana tutustumaan, tekemään yhteistyötä ja kehittämään osaamistani tulevana insinööriä. Tämä koulutus on kasvattanut minua ammatillisesti mutta ennen kaikkea ihmisenä.

Suuri kiitos myös kaikille ystäväilleni sekä perheelleni, jotka ovat auttaneet minua hieman vaikeinakin aikoina. He ovat antaneet minulle jaksamista ja motivaatiota suorittaa koulutukseni kunnialla loppuun.

Erityiskiitos TKI-asiantuntija Maarit Janhuselle tästä erinomaisesta opinnäytetyömahdollisuudesta, opinnäytetyön ohjauksesta sekä henkisestä tuesta sen kirjoittamisen aikana.

Kuopiossa

29.4.2020, Juri Savolainen

SISÄLLYSLUETTELO

LYHENTEET JA MÄÄRITELMÄT	7
1 JOHDANTO	8
1.1 Työn tausta ja tavoitteet	9
1.2 Työn tausta- sekä tutkimusaineistot	9
2 KAIVOSTEOLLISUUDEN SULFAATTIPITOISET JÄTEVEDET JA KÄYTETTÄVÄT PUHDISTUSTEKNOLOGIAT	11
2.1 Kaivosvesien tyypilliset ominaisuudet.....	13
2.2 Sulfaatti ja sen riskit ympäristöön.....	14
2.3 Mikrobiologinen sulfaatinpelkistysmenetelmä	14
2.4 Elektrokemiallinen- ja kemiallinen sulfaatinpelkistysmenetelmä	17
2.5 Sulfaatin puhdistuksessa käytettävän syöteveden laatu.....	17
2.6 Sulfaatin puhdistuksessa muodostuvat jäännöstuotteet.....	19
3 MIKROBIOLOGINEN SULFAATINPELKISTYSPROSESSI, OLOSUHDETEKIJÄT JA PROSESSISSA TOIMIVAT MIKRO-ORGANISMIT	20
3.1 pH ja lämpötila	22
3.2 Happi.....	23
3.3 Redox-potentiaali	23
3.4 Veden sähkönjohtavuus ja impedanssi.....	26
3.5 Veden kovuus	27
3.6 Prosessissa käytetty hiilenlähde ja sen vaikutukset.....	27
3.6.1 Etanoli	28
3.6.2 Metanoli	29
3.6.3 Etikkahappo	30
3.6.4 Asetaatti	30
3.6.5 Laktaatti	31
3.7 Täytekappaleet, niiden rakenne ja biomassan muodostuminen reaktorissa.....	31
3.8 Metaanin tuottaja-arkoonit sekä metanogeneesi	33
3.9 Prosessissa toimivat syntrofiset bakteerit ja mikro-organismit.....	35
3.10 Sulfaatinpelkistäjäbakteerit ja sulfaatinpelkistysprosessi.....	36
4 SULFAATINPELKISTÄJÄBAKTEERIEN TOIMINNAN VARMISTAMINEN PROSESSISSA.....	39
4.1 pH:n, lämpötilan ja prosessin puskurointikyvyn vaihtelevuus	39

4.2	Prosessin hapettomuuden lisääntyminen.....	39
4.3	Sulfaatinpelkistysprosessin toksisuustekijät.....	40
4.4	Metanogeenisten arkeonien ja sulfaatinpelkistäjäbakteerien välinen kilpailu	42
5	JOHTOPÄÄTÖKSET	44
	LÄHTEET JA TUOTETUT AINEISTOT.....	46
	LIITTEET	51

LYHENTEET JA MÄÄRITELMÄT

BOD = Biological Oxygen Demand, biologinen hapenkulutus

COD = Chemical Oxygen Demand, kemiallinen hapenkulutus

DCT = Deep Clean Tech

MBBR = Moving Bed Biofilm Reactor, liikkuva biofilmireaktori

ORP = Oxidation-Reduction Potential, redox-potentiaali

SRB = Sulphate Reducing Bacteria, sulfaatinpelkistäjäbakteeri

TDS = Total Dissolved Solids, liuenneet kiintoaineet

YMPPI = prosessiin erikseen viljeltävä mikrobikanta

1 JOHDANTO

Opinnäytetyön tilaajana toimii Savonia-ammattikorkeakoulu oy, joka toimii osana suurempaa Deep Clean Tech-hanketta (DCT), jota koordinoi Teknologian Tutkimuskeskus VTT Oy:n Espoon yksikkö. Opinnäytetyö toimii yhteistyössä Sulfator Oy:n konsulttien sekä muiden hankkeen yhteistyökumppaneiden kanssa. DCT-tutkimushankkeen tavoitteena on selvittää keinoja, joilla voitaisiin vähentää kaivosvoiminnasta aiheutuvaa sulfaattien sekä sulfaattipitoisten aineiden pääsyä takaisin luonnonkiertoon luoden uusia tai kehittämällä jo valmiita digitaalisia menetelmiä sulfaatinpelkistysprosessiin liittyen. Näitä menetelmiä voidaan käyttää sekä uuden sukupolven virtuaalisissa prosessikuvauksissa, että reaali-prosessien kehittämisessä. Tilaajan vastuulla olevassa työpaketissa (TP5) tehdään valittujen tapausten kokeellista varmentamista. Tämän opinnäytetyön tavoitteena on tarkastella kaivosvesien sulfaatinpelkistykseen liittyvää mikrobiologista puhdistusmenetelmää ja laatia menetelmästä tiivis kirjallisuusselvitys.

Opinnäytetyössä tutkitaan ja syvennytään mikrobiologiseen sulfaatinpelkistysprosessiin sekä tarkastellaan hieman elektrokemiallista- ja kemiallista sulfaatinpelkistysmenetelmää. Mikrobiologista sulfaatinpelkistystä on tutkittu jo vuosikymmeniä. Aiemmin suoritettujen tutkimusten ja niissä tehtyjen kokeiden avulla käydään läpi mm. mikrobien elinympäristön ja mikrobiologisen prosessin ylläpitämistä, prosessin veden- ja aineen syöttötasetta, sulfaattien pelkistämssuhteen ja sen erottamisen optimointia sekä prosessin yleistä kehittämistä. Näihin edellä mainittuihin sekä moniin muihin mikrobiologisiin toimintoihin syvennytään myöhemmin opinnäytetyössä. Tutkimushankkeessa todennettuja tuloksia käytetään digitaalisen prosessinohjauksen mahdolliseen kehittämiseen.

Opinnäytetyö perustuu tutkimustyötä käsittelevään kirjallisuuteen sekä olemassa olevaan tutkimusdataan ja lähestyy käytännössä tapahtuvaa prosessinkehitystä kirjallisesta näkökulmasta. Opinnäytetyö toimii hankkeeseen kuuluvan kokeellisen tutkimustyön kirjallisena tuotoksena ja sitä hyödynnetään osana hankkeen loppuraporttia. Työ jakaantuu johdannon lisäksi viiteen lukuun, joista luku 5 sisältää työn johtopäätökset.

Yhdistämällä viime vuosina voimakkaasti kehittyneet digitaaliset järjestelmät uuden sukupolven tarkkoihin prosessimalleihin, voitaisiin päivittää vahva suomalainen laskentaosaaminen 2020-luvulle ja tarjota uusia digitaalisia mahdollisuuksia esimerkiksi malliperusteiseen uusien prosessiratkaisujen suunnitteluun, käytönaikaiseen ongelmanratkaisuun ja erilaisiin järjestelmiin, joissa kehittynyttä laskentaa ja älyä on sulautettu osaksi mitta- ja toimilaitteita (DCT projektisuunnitelma 2018).

1.1 Työn tausta ja tavoitteet

Tutkimus- ja kehitystyön tavoitteena on varmentaa kokeellisesti määrättyjen prosessien toimivuutta, niiden parametreja sekä mahdollisia riippuvuustekijöitä. Työn tilaaja kokoaa kokeista saadun datan ja raportoi niistä saadut tulokset erikseen. Kerätystä tutkimusdatasta luodaan digitaalinen malli pohjautuen realistiseen prosessiin. Yhtenä pää tavoitteena on saada paikkansapitävää ja luotettavaa tutkimusdataa, jotta rakennettava prosessin digitaalinen mallinnus olisi mahdollisimman virheetön. Tulevaisuudessa digitaalinen malli olisi monien tutkimusten pohjalla ja niiden luomaa mallia käytettäisiin perustana uudelle rakennettavalle tai kehitettävälle prosessille. Erilaisia digitaalisia malleja pystyttäisiin tarpeen mukaan testaamaan käyttäjän vaatimus- ja laatutason ehoilla. Tulevaisuudessa tämä digitaalinen mallinnus olisi aina edellä tehtävää konkreettista tutkimusta. Ensin mallinnetaan digitaalisesti jonkun halutun prosessin toimivuutta, jonka jälkeen testattaisiin tämän digitaalisen mallin käytännötoimivuutta.

Keskeisenä tutkimushypoteesina DCT-hankkeessa on yhdistää vahvaan luonnontieteelliseen pohjaan perustuva digitalisoitu kemiallistermodynaaminen prosessilaskenta ja modernit tietotekniset keinot. Näin voidaan luoda uusia hybridisovelluksia, joiden suorituskyky ylittää kummankin tekniikan toimialueen yksinään. Lisäksi integroimalla mallinnusosaaminen ja kokeellisen testaamisen kautta saatava välitön vaste prosessien tilan todellisista muutoksista voidaan nopeuttaa mallien validointia sekä optimaalisten prosessiratkaisujen määrittelyä. Lopulta näillä toimenpiteillä voidaan vähentää tulosten implementointivaiheeseen liittyviä riskejä (DCT projektisuunnitelma 2018.)

1.2 Työn tausta- sekä tutkimusaineistot

Sulfaattia pystytään puhdistamaan vedestä monia erilaisia menetelmiä käyttäen kuten mikrobiologista-, kemiallista- sekä elektrokemiallista puhdistusmenetelmää. Savonia-ammattikorkeakoulussa kokeellista mikrobiologista SRB (Sulphate Reducing Bacteria) -tutkimusta on tehty vuodesta 2015 alkaen. Muualla maailmalla tätä puhdistusmenetelmää on tutkittu monia vuosikymmeniä aikaisemmin. Kairoksilta sekä laboratorio-oloissa ympäri maailmaa tehdyistä tutkimuksista on saatavilla laajasti erilaista tietoa kuten mm. puhdistuksesta syntyvän jäteveden ominaisuuksista, käytetyistä mikrobikannoista, puhdistukseen liittyvistä parametreista sekä olosuhteista. Nämä edellä mainitut sekä monet muut seikat vaikuttavat prosessin sulfaatinerotustehokkuuteen, prosessin ylös tuomiseen ja sen yleiseen toimivuuteen. Tausta-aineistoa sulfaatinpelkistystutkimuksista on runsaasti saatavilla ja niiden tuloksissa on huomattavia eroavaisuuksia. Tilaajalta saadut tausta- sekä tutkimusaineistot on merkitty lähdeluetteloon projektimateriaali nimikkeillä ja niissä tehtyjä havaintoja sekä tuloksia käytetään laajalti tässä opinnäytetyössä. Eri tutkimustöiden eroavaisuudet tekevät tilaajan omista koevedoista äärimmäisen tärkeitä koska käytetyt volymetriset suhteet, käytettyjen hiilenlähteiden ja ravintoaineiden pitoisuudet sekä käytettävät bakteerikannat ja niiden elinolosuhteet voivat vaihdella eri tutkimusten välillä.

Tilaaajan koeajoissa hyödynnetään VTT:n digitaalisesti toteuttamaa mallinnusta konkreettisesta käytännössä tapahtuvasta koeajosta. Aineistosta hyödynnetään eritoten mallin osoittamia mikrobiologisia olosuhdetekijöitä. Tämän koeajon lisäksi työn tukena toimii jo aikaisemmin tehdyt tutkimukset sulfidogeenisten ja metanogeenisten mikrobien sekä niiden ympärillä toimivaan mikrobiologiseen syntrofiaan, johon syvennytään myöhemmin luvussa 3.

Opinnäytetyötä tukee aikaisemmin tehdyt mikrobiologiseen sulfaatinpelkistykseen liittyvät kokeet sekä erilaiset tutkimukset liittyen sulfaatinpelkistäjäbakteerien toimintaan. Tietoa muista sulfaatinpelkistysprosessissa toimivista bakteereista ja mikro-organismeista on myös kattavasti saatavilla. Lisäksi apuna käytetään aikaisempien hankkeiden loppuraportteja, tutkimuksista saatuja mitattuja raja-arvoja, kuvia, erinäisiä parametreja, tieteellisiä artikkeleita sekä -julkaisuja.

2 KAIVOSTEOLLISUUDEN SULFAATTIPITOISET JÄTEVEDET JA KÄYTETTÄVÄT PUHDISTUSTEKNOLOGIAT

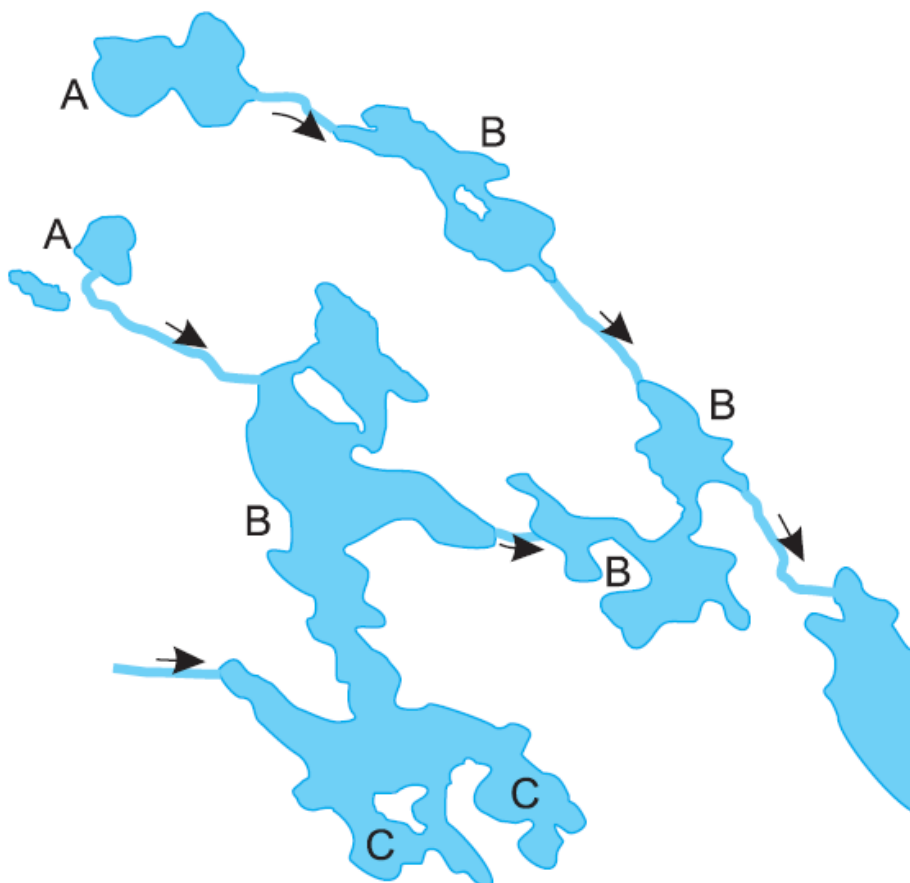
Sulfaatinpelkistys on anaerobisissa eli hapettomissa vesiympäristöissä luonnollisesti esiintyvä bakteerien katalysoima prosessi, jonka tuloksena vesien sulfaatti pelkistyy ja metallit saostuvat niukkaliukoisina yhdisteinä. Sulfaatinpelkistystä voidaan hyödyntää kaivosvesien käsittelyssä erilaisina sovelluksina. (Mroueh, U-M. & Vestola, E. 2008.)

Kaivosteollisuudessa muodostuu suuria määriä, sulfaattipitoisia jätevesiä, jotka ovat erittäin haitallisia kaikille vesistöille, kiihdyttävät happamien vesien määrää kaivoksen kuivatuksessa sekä pidättävät suuresti veden uudelleenkäyttöä sekä kierrätystä. Kaivoksen jätevedet sekä kaivostuotanto sisältävät suuria määriä sulfaatti-ioneja mutta kaivosalueen happamat vedet ovat yleensä suurin sulfaatin lähde. Sulfaattipitoisen veden kulkeutuminen on luonnollinen prosessi, joka kiihtyy huomattavasti kaivostuotannon seurauksena. (Häkkinen, A. Mamelkina, M. Sillanpää, M. & Tuunila, R. 2019.)

Maailmanlaajuisesti kaivoksista poistettavan veden sulfaattipitoisuudet ovat välillä 250–1 000 mg/l, josta 250 mg/l raja on asetettu Yhdysvalloissa, kun taas 1 000 mg/l pitoisuudet ovat hyväksytyjä mm. Brasiliassa ja Chilessä. Suomessa sulfaatin erotusmäärälle ei olla asetettu yleistä rajaa, sillä jokaiselle kaivokselle asetetaan erilliset rajapitoisuudet ja uusia säädäntöjä on odotettavissa tulevaisuudessa. (Häkkinen et al. 2019.)

Nämä kaivoskohtaiset raja-arvot riippuvat mm. kaivospinta-alasta, kaivostuotteista, malmin laadusta sekä KUVA 1 mukaisesti kaivosta ympäröivien purkuvesistöjen koosta sekä -muodoista. Jos veden purkupiste sijaitsee KUVA 1 näkyvillä latvavesistöalueilla, tulisi huomioida alemmat vesistöalueet sekä niiden lahtien ja pohjukoiden muodot veden vaihtuvuuden kannalta.

Esimerkkinä yksi tärkeimmistä järven tilaan vaikuttavista tekijöistä on veden vaihtumiseen kuluva keskimääräinen aika eli veden viipymä (Ympäristöopas 2005), ja se vaikuttaa huomattavasti kaivosten purkuvesien yleisiin laatuvaatimuksiin.



KUVA 1. Tyypillinen suomalaisen pienvesistön rakenne, jossa on latvajärviä (A), läpivirtausjärviä (B) sekä veden vaihtuvuudelta suojaisia lahtia (C) (Ympäristöopas 2005).

Sulfaatinpoistamiseen soveltuvia prosesseja on olemassa useita ja näistä kolmea tutkittua menetelmää sekä niiden välistä korrelaatiota tarkastellaan myöhemmin. Kaikilla menetelmillä sulfaatinpelkistys happamista kaivosvesistä tapahtuu luotettavasti. Tiettyjä prosessin rajoitteita ei olla vielä täysin selvitetty, koska prosessimenetelmää ei olla käytetty täyden mittakaavan sovelluksissa. Jokainen sovellettava puhdistusmenetelmä perustuu kaivoksen sijaintiin ja sen tyyppiin. Tähän sisältyy muuttujia kuten kaivosveden laatu, prosessin purkuvesien laatuvaatimukset, erilaiset jäännösten hävitysmenetelmät sekä pääoma-, käyttöaikaiset- ja laitteiston huoltamisen kustannukset. Täten mitään yksittäistä puhdistusmenetelmää ei voida suoraan suositella parhaaksi mahdolliseksi vaihtoehdoksi. (Coaltech es 2020.)

Kittilässä sijaitsevassa Agnico Eaglen kultakaivoksessa on 30.6.2014 lähtien purkuveden sulfaattipitoisuuden raja-arvo ollut 2 000 mg/l. Määräyksessä sulfaattipäästöjen osalta kaivoksen on pitänyt kehittää puhdistustekniikkaa siten, että sulfaatin tavoitearvona käsitellyille jätevesille on alle 1 000 mg/l 2017 vuodesta alkaen. TAULUKKO 1 mukaisesti 2013 vuodesta alkaen vuosittaisia kokonaissulfaattipäästöjä vesistöön tulee vähentää jatkuvasti. (KHO 2020.)

TAULUKKO 1. Määrätyt sulfaatin maksimipäästömäärät Agnico Eaglen kultakaivoksella (KHO 2020)

Vuosiluku	Jos tuotanto laajenee (tonnia/vuosi)	Jos tuotanto ei laajene (tonnia/vuosi)
2013	12 500 t/v	12 500 t/v
2014	8 000 t/v	8 000 t/v
2015	5 500 t/v	4 000 t/v

Kaivos oli tehnyt valituksen Vaasan hallinto-oikeuteen mm. jätevesien pitoisuusrajoituksista ja hallinto-oikeus kumosi vuodelle 2013 annetun vanhan 2 000 mg/l raja-arvon ja muutti sen 3 000 mg/l raja-arvoksi 1.1.2016 alkaen, jonka jälkeen se määräsi että 1.1.2018 alkaen päästörajana olisi 2 000 mg/l (KHO 2020). Näiden raja-arvojen päätösten muuttumiset kertovat siitä, että sulfaatin tehokas ja taloudellinen puhdistaminen on kaivoksille hyvin haastavaa ja sitä tulisi tulevaisuudessa kehittää mahdollisimman paljon. Päästöarvojen muutoksiin voi myös olla syynä, että päästörajoja asettavat sekä valvovat tahot eivät ole pystyneet toimimaan kaivosten omien asiantuntijoiden kanssa tiiviissä yhteistyössä.

2.1 Kaivosvesien tyypilliset ominaisuudet

Kaivosten jätevedet sisältävät tyypillisesti runsaasti ympäristölle haitallisia anionisia eli negatiivisesti varautuneita- sekä kationisia eli positiivisesti varautuneita aineita. Näistä vallitsevimpien sekä haitallisimpien aineiden joukkoon kuuluvat mm. sulfaatit, nitraatit, kloridit, syanidi, fluoridi sekä monet raskasmetallit, kuten esimerkiksi kupari (Cu) ja nikkeli (Ni). Yksi yleisimmistä anionisista lajeista on sulfaatti, joka on viimeisen hapetusasteen tuote rikkipitoisissa mineraaleissa. Lisäksi ylimääräisten kemikaalien käyttö kaivostoiminnassa, kuten rikkihapon käyttö, voi lisätä kaivosvesien sulfaattipitoisuuksia merkittävästi. Kaivosvesien rikkipitoisuudet voivat vaihdella sadoista milligrammoista jopa moniin kymmeneen tuhansiin milligrammoin litraa kohden. (Häkkinen et al. 2019.)

Haitallisten aineiden pitoisuudet vaikuttavat kriittisesti biologiseen sulfaatinpelkistysprosessiin. Niiden erottaminen kaivosvesistä täytyy olla pelkistysprosessin toimivuuden kannalta riittävää, jotta eloperäiset sulfaatinpelkistäjäbakteerit saisivat optimaalisimman kasvu- sekä elinympäristön. Tämän elinympäristön parametrit ovat suoraan verrannollisia prosessin ylläpitoon, erotusasteisiin sekä yleiseen toimivuuteen. (Janhunen 2020.)

Puhdistusprosessissa jäteveden sisältämät raskasmetallit tulisi määrittää niiden yhdistemuotojen sekä määrän mukaan, koska jätevedeen liuenneiden raskasmetallien eri yhdisteet voivat olla mikrobiologille prosessille toksisia häiriten prosessissa toimivien mikrobien toimintaa (Chaudhary, N. Govind, R. Haines, J. R. Harmon, S. M. Tabak, H. H. & Utgikar, V. P. 2002). Raskasmetallien toksisuus johtuu siitä, että ne muodostavat yhdisteitä esimerkiksi rikin sekä muiden prosessissa olevien aineiden kanssa. Nämä raskasmetalliyhdisteet voivat olla erittäin haitallisia prosessissa toimiville bakteereille sekä mikro-organismeille ja ne voivat myös aiheuttaa saostumia syöttöputkistoihin vaurioittaen yleisesti prosessilaitteistoa.

2.2 Sulfaatti ja sen riskit ympäristöön

Sulfaatti (SO_4^{2-}) on yleinen moniatominen anioni elollisessa sekä elottomassa luonnossa (Sulfaatit vesissämme 2017) ja se voidaan käsittää vallitsevana kahdenarvoisena anionina ympäristöllisissä- sekä biologisissa systeemeissä. Lisäksi sulfaatilla on huomattava molaarinen johtokyky saostaen mm. lyijyä, bariumia sekä strontiumia ja sen toksikologiaan vaikuttaa veden kovuus (Cosuma 2018). Kasveille sulfaatti on tärkeä rikinlähde. Kemiallisesti määriteltynä sulfaatti on rikkihapon H_2SO_4 anioni, ja antropologisesti aiheutetut sulfaattipäästöt liittyvät pääosin teolliseen rikkihapon käyttöön. Rikkihappo on maailman käytetyin kemiallinen yhdiste ja sitä käytetään laajasti teollisuudessa mm. lannoitteiden valmistukseen, sellun keittoon sekä pigmenttien valmistukseen. (Sulfaatit vesissämme 2017.)

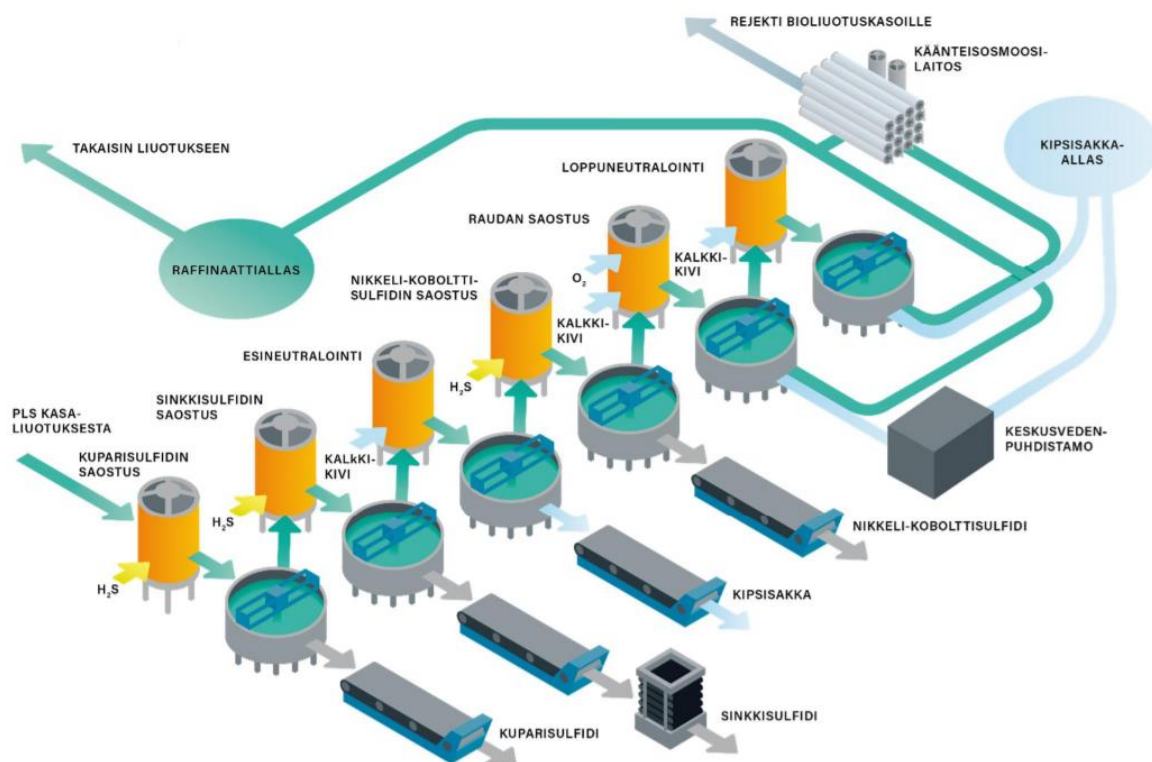
Ympäristön tutkijat kiinnostuivat sulfaatista 1970-luvulla, kun maailma havahtui happosateiden aiheuttamiin ongelmiin. Nämä happosateet johtuivat teollisuuden ilmaan päästetystä rikkidioksidista, joka edelleen muuntui ilmakehässä rikkihapoksi. Nykyään teollisia savukaasuja pestään ja happamoittavat rikkipäästöt ovat vähentyneet. Liialliset sulfaattipäästöt läheisiin vesistöihin voivat mm. aiheuttaa niiden voimakkaan suolautumisen ja tätä kautta pilata vesistön sekä sitä ympäröivän luonnon. Sulfaattia syntyy ihmisten käyttämän rikkihapon lisäksi kaivosten malmin sisältämissä rikkiyhdisteissä eli sulfideissa sekä kivihielessä, joka on syntynyt meriveteen kontaktissa olleesta turpeesta. (Sulfaatit vesissämme 2017.) Sulfaatti kykenee syövyttämään ruostumatonta terästä, myös haihduntana, varsinkin jos pistemäistä korroosiota on ilmennyt jo aikaisemmin. Pahimmassa tapauksessa sulfaattihöyryt voivat aiheuttaa halkeilua teräspalkeissa jännitysasennoissa. Sulfaatti vahingoittaa myös betonia. (Cosuma 2018.)

Järviin sulfaattipitoista purkuvettä ei pitäisi päästää suuria määriä, sillä se voi vähentää järvien pohja-aineksen kykyä sitoa fosforia sen sedimenttiin täten pahentaen järvien sisäistä kuormitusta ja rehevöitymiskierrettä (Sulfaatit vesissämme 2017) ja luonnossa elävät sulfaatinpelkistäjäbakteerit voivat tuottaa rikkivetyä (H_2S), joka on erittäin vaarallista suurina määrinä (Cosuma 2018). Sulfaattia kuitenkin päätyy järviin monista eri lähteistä, koska sulfaattikuormitusta seurataan ainoastaan muutamien kuormittajien osalta. Suomessa kolme suurinta järvien sulfaatinkuormittajaa ovat maatalous, ilmalaskeuma sekä selluteollisuus. (Sulfaatit vesissämme 2017.)

2.3 Mikrobiologinen sulfaatinpelkistysmenetelmä

Mikrobiologinen sulfaatinpelkistysprosessi perustuu sulfaatin sekä sulfiitin pelkistämisestä sulfidiksi sekä rikkivedyksi anaerobisissa olosuhteissa, joka myöhemmin osittain hapettuu alkuaine rikiksi sulfaatinpelkistäjäbakteerien toimesta (Wejima 2002). Sulfaatinpelkistysprosessi asettuisi kaivosteollisuudessa yhdeksi osaksi KUVA 2 suurempaa teollisten vesien kokonaispuhdistusprosessia ja se tulisi sijoittumaan käänteisosmoosilaitoksen jälkeisiin prosesseihin. Mikrobiologinen sulfaatinpelkistys toimii tällä hetkellä yhtenä vaihtoehtoisena sulfaatin puhdistusmenetelmänä. Käänteisosmoosilaitosta sekä muita syöteveden esikäsittelyprosesseja kuten loppuneutralointia tarvitaan ennen kaivosveden syöt-

tämistä sulfaatinpelkistysprosessiin, koska puhdistamaton kaivosvesi voi olla liian väkevää sulfaatinpelkistysprosessissa toimiville bakteereille. Mikrobiologinen sulfaatinpoisto on vanhastaan tunnettu teknologia, jota on kaivosteollisuuden ohella käytetty mm. öljyteollisuudessa (Kekko 2020).



KUVA 2. Terraframe Oy:n kaivoksen malmin käsittelyn prosessikaavio (Pöyry 2018, 55)

Mikrobiologisen sulfaatinpelkistysprosessin prosessikaavio nähdään KUVA 3 ja yksityiskohtaisemmin KUVA 4. Alkupäässä prosessiin syötettävää kaivosvettä lämmitetään, koska siellä toimivien bakteerien ja mikro-organismien toiminta voi heikentyä huomattavasti suurten lämpötilamuutosten takia. Hiilenlähteiden ja muiden ravinto- sekä hivenainesten syöttö tapahtuu myös tässä vaiheessa. Prosessissa syntyvät pelkistustuotteet, aineyhdisteet, biomassa sekä prosessilietteet käsitellään erikseen jälkiprosesseissa. Prosessin olosuhteiden muutoksia ja niiden kokonaisvaikutuksia käydään myöhemmin läpi luvussa 3. Kun sulfaatti on pelkistetty prosessissa mm. sulfidiksi sekä muiksi rikkiyhdisteiksi kuten rikkivedyksi, ne erotellaan jätevedestä ennen lopullista purkamista takaisin vesistöön. Mikrobiologisen sulfaatinpelkistysmenetelmän lisäksi muita sulfaatinpelkistysmenetelmiä on testattu kuten esimerkiksi elektrokemiallista- ja kemiallista sulfaatinpelkistysmenetelmää.

Mikrobiologisessa CSIRosure nimisessä puhdistusmenetelmässä toimintatapana sulfaattia erotetaan kaasulla ja sulfaatti myöhemmin muutetaan alkuaainerikiksi. Toisessa Thiopaq nimisessä puhdistusmenetelmässä sulfaatti muutetaan suoraan rikiksi ja muodostunut rikki erotetaan pääprosessin nestevirrasta. (Coaltech es 2020.)

Mikrobiologinen sulfaatinpoistomenetelmä on oikein rakennettuna erittäin edullinen verrattuna kemialliseen, elektrokemialliseen sekä muihin mahdollisiin erotusmenetelmiin. Tämä johtuu siitä, että itse bakteerien toiminta sulfaatinpelkistyksessä ei maksa mitään. (Janhunen 2020.)

2.4 Elektrokemiallinen- ja kemiallinen sulfaatinpelkistysmenetelmä

Elektrokemiallinen sulfaatinpelkistysmenetelmä perustuu sähköiseen kaivosveden lataamiseen erityisissä ympäristöolosuhteissa. Prosessin tarkoituksena on saostaa sulfaatti sinkkihydroksidisulfaatiksi. Sinkkihydroksidisulfaatti täytyy edelleen puhdistaa, jotta erotuksessa käytetty sinkki saadaan otettua talteen uudelleenkäyttöä varten. Prosessi toimii erityisesti happamien kaivosvesien hoidossa poistamalla pienen osan syöttöveden sulfaatista, riippuen täysin kaivosveden laadusta sekä mahdollisten prosessia haittaavien aineiden määrästä. Kemiallinen sulfaatinpelkistysmenetelmä perustuu valitun sulfaatin pelkistykseen ettringiittisaostuksella. Asetteluun sisältyy kalkkihoito, ettringiittisaostus sekä uudelleenkarbonointi. Ettringiitti prosessoidaan myöhemmin sivuvirrassa, jotta siitä saadaan palautettua alumiinihydroksidi, jota voidaan kierrättää prosessissa uudelleen. (Coaltech es 2020.)

2.5 Sulfaatin puhdistuksessa käytettävän syöteveden laatu

Mikrobiologiseen sulfaatinpelkistysprosessiin vaikuttaa prosessiin johdetun veden laatu. TAULUKKO 2 luetteloidaan ne aineet ja niiden ainepitoisuudet, joita prosessiin syötettävä vesi voi sisältää. Riippuen syötevedessä olevista raskasmetalleista, orgaanisista yhdisteistä sekä TAULUKKO 2 lueteltujen aineiden ainemäärästä, tietyt mikrobiologiset toiminnot voivat hidastua, heikentyä tai pahimmillaan estyä kokonaan (Karlsson, N. Mattson, M. & Rundstedt, J. 2011; Papirio 2012).

Reaktoriin ajettu vesi voi myös sisältää valmiiksi sulfaatinpelkistäjäbakteerien lisäksi muita bakteereja, mikrobeja sekä mikro-organismeja, kuten sieniä. Nämä syötevedessä olevat muut eliöt voivat haitata sulfaatinpelkistysprosessia, koska ne käyttävät bioreaktorissa olevaa hiilenlähdettä ja ravinteita oman metabolian ylläpitämiseksi ja aiheuttavat heti reduktiota sulfaatin pelkistymisen määrässä. (Aurola 2019.) Kaikki prosessissa toimivat mikrobit sekä mikro-organismit eivät ole kuitenkaan haitallisia, tähän syvennyttään myöhemmin luvussa 3. Elektrokemiallisessa- sekä kemiallisessa sulfaatinpelkistysmenetelmässä erotusmääriin tai saostumisen määriin vaikuttaa syöteveden liuenneiden aineiden määrä sekä sen sisältämän muut aineet tai materiaalit, jotka voivat haitata puhdistusmenetelmän toimivuutta.

TAULUKKO 2. Esimerkki mikrobiologiseen sulfaatinpelkistysprosessiin syötettävästä kaivosvedestä, jota käytettiin CSIRosuren sekä Thiopaqin puhdistusmenetelmien koeajoissa (Coaltech es 2020).

Ominaisuus	Pitoisuus
Sähkönjohtavuus	560 mS/m
pH	2,8
Kalsium	580 mg/l
Magnesium	200 mg/l
Natrium	50 mg/l
Sulfaatti	2 530 mg/l
Kloridi	55 mg/l
Rauta	100 mg/l
Alumiini	20 mg/l
Mangaani	25 mg/l

Jokaisella sulfaatinpelkistysmenetelmällä on omat hyöty- ja haittapuolensa. TAULUKKO 3 kertoo edellä mainittujen menetelmien sulfaatin vähennyksen prosessin jätevedestä ja kuinka suuri osa siitä on pelkistynyt sulfidiksi (S^{2-}). Sulfaatin erotusaste ja sen hapettuminen sulfidiksi ei ole ainoa parametri, josta halutaan ottaa selvää. Menetelmiin sisältyy myös muita rasitteita, kuten esimerkiksi mitä jätettä prosessissa syntyy ja miten sen käsittely vaikuttaa taloudellisesti laitoksen toimintaan tai mitä tietyn menetelmän käyttö kustantaa prosessin koon muuttuessa laboratoriokoosta teolliseen kokoluokkaan. Biologinen sulfaatinpelkistysmenetelmä tuottaa esimerkiksi biomassaa jatkuvasti ja on riskialtis prosessin kaatumiselle, jos syöteveden laatu muuttuu hetkessä radikaalisti, kun taas elektrokemialliseen sulfaatinpelkistysmenetelmään voi vaikuttaa suoraan syötetyn veden ominaisuudet ja koostumus. (Coaltech es 2020.)

TAULUKKO 3. Eri sulfaatinerotusmenetelmien sulfaatin vähennysmääriä (Coaltech es 2020)

Hoitoprosessi	Sulfaatinerotus
Biologinen sulfaatinpelkistysmenetelmä (CSIRosure prosessi)	SO ₄ vähennys = 85 – 95 % kemiallisen hapenkulutuksen ja SO ₄ massasuhteen ollessa > 1,1 Sulfidin hapettuminen = 50–80 %
Biologinen sulfaatinpelkistysmenetelmä (Thiopaq prosessi)	SO ₄ vähennys = 85–90 % Sulfidin hapettuminen = 50–80 %
Elektrokemiallinen sulfaatinpelkistysmenetelmä (Ecodose prosessi)	SO ₄ erotus = 30–70 % riippuen syötetyn kaivosveden ominaisuuksista sekä koostumuksesta
Kemiallinen sulfaatinpelkistysmenetelmä (Savmin prosessi)	SO ₄ erotus > 90 % Keskimääräinen SO ₄ -pitoisuus 123 mg/l

2.6 Sulfaatin puhdistuksessa muodostuvat jäännöstuotteet

Edellä mainitut sulfaatin puhdistusmenetelmät tuottavat TAULUKKO 4 mukaisesti erilaisia jäännöstuotteita ja TAULUKKO 5 luetteloii niiden määrät. Näitä kiintojäännöstuotteita käsitellään prosessista syntyvänä jätteenä. Tämän jätteen laatu ja määrä vaikuttaa käytettävän menetelmän käytännön soveltuvuuteen. Käsiteltävä prosessimalli luotiin esittämään 5 000 kuution puhdistuskapasiteettia vuorokaudessa ja siinä käytettiin keinotekoista kaivosvettä, joka sisälsi kipsiä ja oli tyypillisen kaivosveden tapaan hyvin hapanta. (Coaltech es 2020.) Keinotekoisella kaivosvedellä on hankala päästä todellisen tyypillisen kaivosveden ominaisuuksiin sekä ainepitoisuuksiin, joten keinotekoista vettä käytettäessä on huomioitava tulosten paikkansa pitävyys, jos tuloksia käytettäisiin todellisen kaivosveden käytön mallin luomiseen.

TAULUKKO 4. Eri sulfaatinpelkistysprosesseissa tuotetut jäännösjätteet (Coaltech es 2020)

Puhdistusmenetelmä	Jäännöstuotteet
Biologinen sulfaatinpelkistys	Metallihydroksideja, ylimääräistä biomassaa, kalkkikiveä sekä rikkiä
Elektrokemiallinen sulfaatinpelkistys	Metallihydroksidilietettä (sinkki-hydroksidi-sulfaattia ei olla luokiteltu jätevirraksi)
Kemiallinen sulfaatinpelkistys	Metallihydroksideja sekä kalsiumsulfaattia eli kipsiä

TAULUKKO 5. Eri sulfaatinpelkistys prosesseissa tuotettujen kiinteiden jäännösjätteiden määrät (Coaltech es 2020)

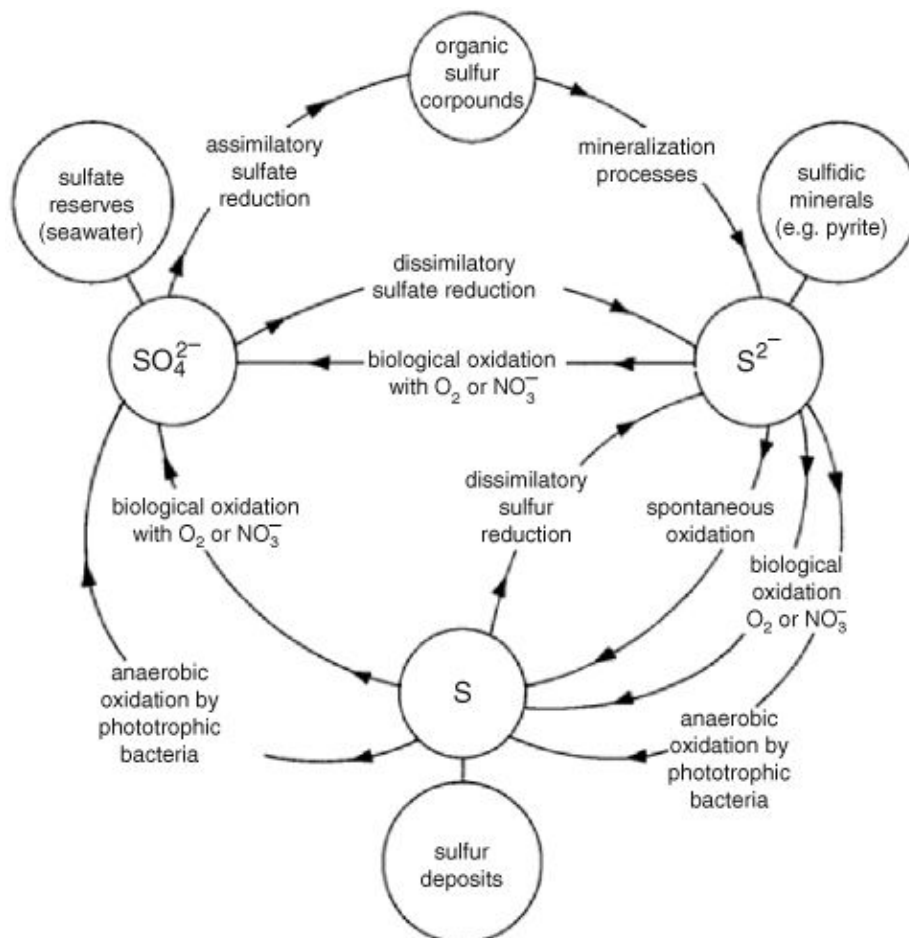
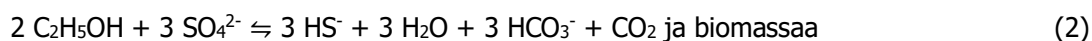
Puhdistusmenetelmä	Kiinteän jäännösjätteen tuotanto
Biologinen sulfaatinpelkistys	2,3 tonnia / 1 000 m ³ puhdistettua vettä
Elektrokemiallinen sulfaatinpelkistys	0,6 tonnia / 1 000 m ³ puhdistettua vettä
Kemiallinen sulfaatinpelkistys	7,9 tonnia / 1 000 m ³ puhdistettua vettä

3 MIKROBIOLOGINEN SULFAATINPELKISTYSPROSESSI, OLOSUHDETEKIJÄT JA PROSESSISSA TOIMIVAT MIKRO-ORGANISMIT

Anaerobinen mikrobiologinen sulfaatinpelkistysprosessi perustuu biologiseen sulfaatin muuntamiseen pelkistyneiksi sulfiitti-ioneiksi ja kokonaisvaltaisempi sulfaatin kiertokulku nähdään KUVA 5 ja kompleksien orgaanisten yhdisteiden hajoaminen sulfaatin läsnä ollessa kuviossa 1. Kaava 1 esittää tyyppillisen pelkistysreaktion, jossa formaldehydiä käyttämällä sulfaatti pelkistyy vetysulfidiksi, vetykarbonaatiksi, vapaaksi vedyksi sekä biomassaksi. Sulfaatinpelkistystehokkuuteen vaikuttaa sulfaatinpelkistäjäbakteereille sekä prosessissa muille prosessissa toimiville bakteereille vallitsevat suotuisat ympäristöolosuhteet (Coaltech a 2020).

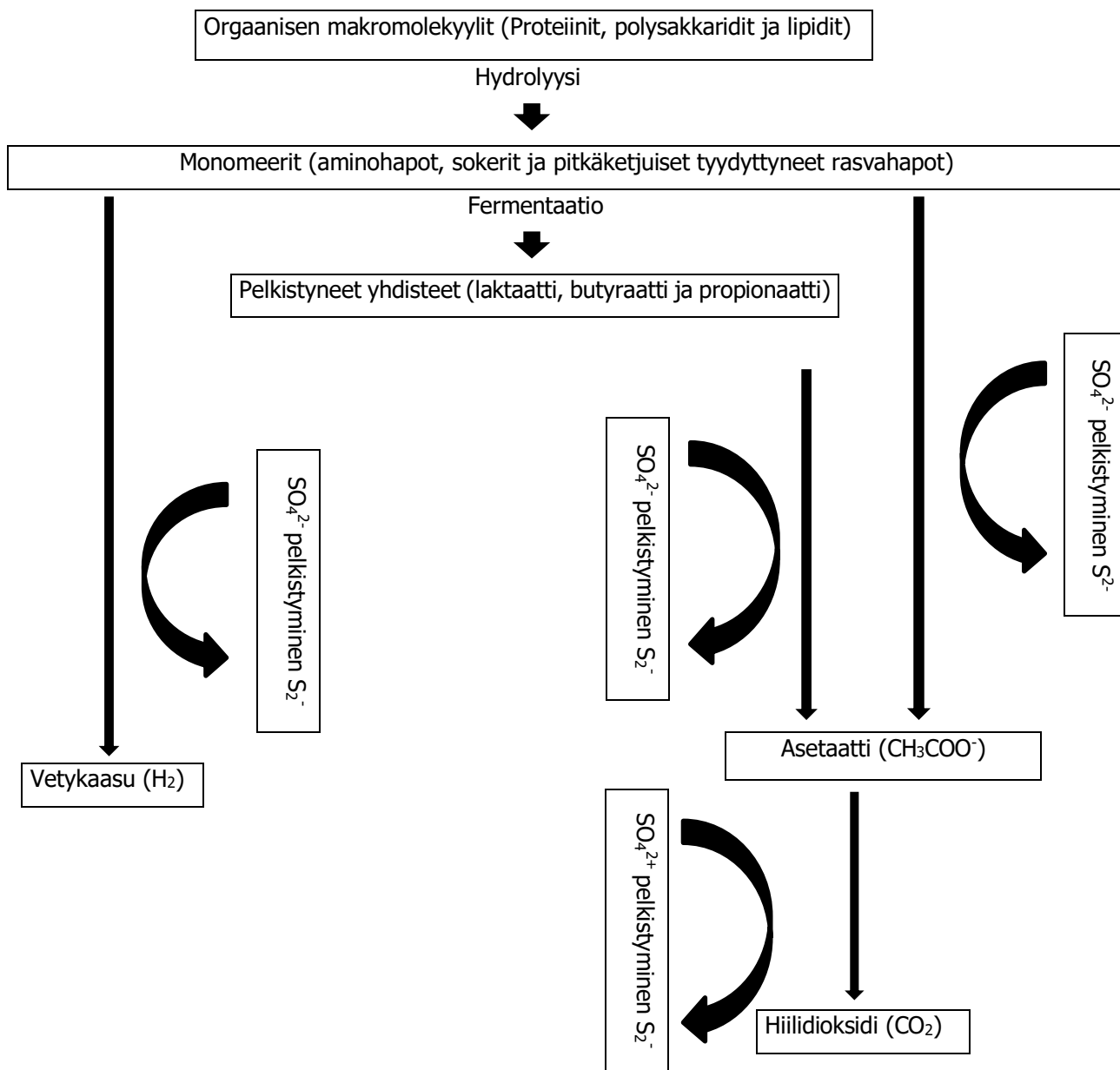


Kun sulfaatinpelkistäjäbakteerit käyttävät esimerkiksi etanolia hiilen-/energian lähteenä, kaava 2, muodostuu vetysulfidia, vettä, bikarbonaattia, hiilidioksidia sekä biomassaa. (Coaltech a 2020). Riippuen käytetystä energian lähteestä, prosessin seurauksena muodostuu sulfidien lisäksi muita hiili- sekä rikkiyhdisteitä.



KUVA 5. Rikin alkuainekierto, jonka kiertokulkuun liittyy olennaisesti luonnossa esiintyvät sulfaatinpelkistäjäbakteerit. Rikin kierrossa on hapettava sekä pelkistävä osa, joka on tasapainossa valtaosassa ekosysteemeitä (Kuenen J. G. & Robertson L. A. 2006.)

Sulfaatinpelkistäjäbakteerit ovat jatkuvassa kilpailussa toisten bakteerien kanssa. Hiili toimii tärkeimpänä ravinnonlähteenä reaktorissa työskenteleville bakteereille. Bakteerit tarvitsevat myös hivenaineita sekä muita ravinteita toiminnoissaan. Ympäriöillä olosuhteilla, kuten lämpötilalla sekä pH:lla on tärkeä rooli tämän kilpailun kanssa, määrittäen lopputuloksen näille sulfidogeenisille sekä metanogeenisille toiminnoille. (Coaltech a 2020.) Mikrobin muodostamat biofilmit voivat olla useita millimetrejä paksuja ja tavanomaista biofilmimallia tarkastelemalla sulfaatinpelkistykseen ennakoita tapahtuvan syvemmissä biofilmikerroksissa (Hvitved-Jacobsen, T. Nielsen, P. H. & Norsker N. H 1995, 160).



KUVIO 1. Kompleksisen orgaanisen materiaalin mikrobiologinen järjestyksellinen hajoaminen sulfaatin läsnä ollessa (Wageningen 2020)

3.1 pH ja lämpötila

Valtaosa tekniikan alan sovelluksista, jotka käyttävät mikrobiologista sulfaatinpelkistystä on suoritettu normaalissa pH:ssa nopeamman bakteerien kasvamisen sekä aktiviteetin vuoksi, mutta myös alhaisen pH-tason sietäviä pelkistäjäbakteereita on käytetty sulfaatin pelkistyksessä, jopa pH 3:ssa. (Papirio 2012, 34–35). Suurin osa sulfaatinpelkistäjäbakteereista, joita on eristetty, ovat neutrofiilisiä eli normaali pH:ssa toimivia tai lievästi happamuudenkestäviä. Raportteja sulfaatinpelkistäjäbakteereista, jotka kestävät happamia olosuhteita on julkaistu hyvin rajallisesti. Optimaaliselle kasvulle pH:n suositellaan olevan yli 7,5 ja se on myös suhteellinen potentiaaliselle rikkivedyn toksisuudelle alemmilla pH-tasoilla. (Coaltech a 2020.) Alhainen pH on prosessille toksista siksi, koska se happamoittaa sytoplasmaa eli solulimaa, sekä haittaa yleisesti mikrobiologista metaboliaa. Lisäksi alhainen pH edistää haihtuvien rasvahappojen ja sulfidien kerääntymistä estäen protonin liikevoiman muodostumista. (Papirio 2012, 34). Lopuksi alhaisessa pH:ssa muodostuneet sulfidit esiintyvät enemmän rikkivetynä, joka on toksisempaa jo alhaisemmissa pitoisuuksissa kuin HS⁻-muodossa oleva (Janhunen 2020).

Kaikki bakteerit tarvitsevat protonin liikevoimaa kasvaakseen ja pysyäkseen toimintakykyisinä jakaantuvissa ja jakaantumattomissa olosuhteissa. Soluhengityksen aikana energiaa säästyy protonin liikevoiman muodostumisen avulla protonia läpäisemättömän solukalvon läpi. Elektronin siirtoketjun komponentit ovat solukalvoon sidottuja ja epäsymmetrisesti järjestetty läpi solukalvon saavuttaakseen protonien nettokulutuksen solulimasta ja protonien nettovapautuksen solun ulkopuolella. (Advances in microbial physiology 2014.)

Mikrobiologinen aktiviteetti on hyvin herkkä lämpötilan ja pH:n muutoksille ja se kiihtyy lämpötilan kasvaessa. Anaerobisten bakteerien kasvu hidastuu huomattavasti alle 14–16°C. Optimaalinen lämpötila sulfaatinpelkistysprosessille on 25–35°C (Coaltech a 2020), kun taas Papirio (2012) kertoo lämpötilojen vaihtelevan huoneenlämpöisestä (25°C) mesofiiliseen lämpötilaan (45°C) asti ja että jokainen sulfaatinpelkistäjäbakteeri toimii omalla lämpötila-alueellaan, jossa tiettyjen bakteerikantojen kasvu on optimaalisinta.

Sulfaatinpelkistäjäbakteerit kykenevät syrjäyttämään muita mikrobikantoja korkeissa lämpötiloissa (65°C), kun taas päinvastaisesti mesofiilissä oloissa 90 % käytetystä metanolista muunnettiin metaaniksi metaania tuottavien bakteerien toimesta (Papirio 2012, 42). Nämä tulokset riippuvat vahvasti muista prosessissa toimivista mikrobikannoista.

Yleensä sulfaatinpelkistäjäbakteerien kasvu ja muunnosnopeus kiihtyy korkeammassa lämpötiloissa, mutta energia, jota tarvitaan prosessin lämmitykseen, on suoraan verrannollinen sen ylläpitokustannuksiin. Täten on sopivinta operoida bioreaktoria mahdollisimman lähellä sitä lämpötilaa, joka on sulfaattipitoiseen reaktoriin syötettävän veden lämpötila. Matalissa lämpötiloissa kemialliset- ja biologiset kineettiset toimet kuitenkin hidastuvat selvästi. Kuitenkin monien lajien on huomattu reagoineen nopeisiin lämpötilan muutoksiin ja mukautuneen niihin välittömästi. (Papirio 2012, 35–36.)

Yleensä sulfaatinpelkistys toimii parhaiten pH:n ollessa 7–8, vaikkakin selkeästi verrattavia sulfaatinpelkistystuloksia on huomattu tapahtuvan hyvin happamassa pH 4:ssä (Arnold, M. Bomberg, M. Mäkinen, J. & Salo M. 2017).

3.2 Happi

Hapelle altistuminen rajoittaa yleisesti sulfaatinpelkistäjäbakteerien metaboliaa ja täten sulfaatinpelkistysprosessin toimintaa, vaikka rajoittuneisuutta pystytään hoitamaan prosessissa. Jotkut sulfaatinpelkistäjäbakteerikannat, kuten *Desulfovibrio aerotolerant* kykenee sietämään pieniä määriä happea, koska ne pystyvät hapettamaan solunulkoista polyglukoosia tai muuntamaan vetysulfidia (HS^-) aineeksi kuten tiosulfaatiksi ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), joka pelkistyy takaisin sulfidiksi, kunnes anaerobiset olosuhteet ovat palanneet takaisin (Papiro 2012, 36.)

Sulfaatinpelkistyksessä pelkistynyt sulfidi pystyy uudelleen hapettumaan riippuen siitä, kuinka syvälle prosessiin liukoinen happi tunkeutuu. Teoreettisesti valtaosa veden happipitoisuudesta määrää uudelleenhapettumisen kapasiteettia tunkeutumissyvyyden kautta ja se voi myös kontrolloida sulfaatinpelkistäjäbakteerien toimintaa. Tutkimus osoittaa, että likimäärin 50 % hapen kulutuksesta tapahtuu sisäisen sulfidin hapettumisen kautta, kun sitä viljeltiin alhaisessa veden virtausnopeudessa sekä orgaanisen aineen korkeissa pitoisuuksissa. (Hvitved-Jacobsen et al. 1995, 160.)

3.3 Redox-potentiaali

Redox-potentiaali eli hapetuspelkistyspotentiaali on sähköinen potentiaali, joka tarvitaan elektronien siirtämiseksi yhdisteestä tai alkuaineesta eli hapettimesta toiseen yhdisteeseen tai alkuaineeseen eli pelkistimeen, jota käytetään kvalitatiiviseen veden hapetustilan mittaamiseen vedenpuhdistusprosesseissa ja sen arvoa mitataan millivolteina suhteessa vakioituun vetyelektrodiin. (Tieteen Termipankki 2020; Søndergaard 2009). Pelkistyneissä olosuhteissa, kuten syvissä kerrostuneissa järvissä tai eutrofisten eli rehevien järvien sedimentissä redox-potentiaali on alhainen, alle 100 mV tai jopa täysin negatiivinen arvo. Lisäksi redox-potentiaali luonnehtii tärkeitä hiilen- sekä ravinteiden kiertoreaktioita, joissa sekä soilla (Søndergaard 2009). Sulfaatinpelkistäjäbakteerit tarvitsevat erityiset ympäristöolosuhteet sulfaatinpelkistykseen kuten alhaisen redox-potentiaalilin (Arnold et al. 2017). Prosessissa olevat sekä siellä muodostuvat rikkiyhdisteet voivat alentaa redox-potentiaalia, suosien metanogeenisten arkeonien toimintaa (Paulo, L. M. Sousa, D. Z. & Stams, A. J. M. 2015).

Jätevesien puhdistukseen liittyvässä biologiassa redox-potentiaalilin merkitys vaikuttaa elektronin luovuttajiin, usein orgaanisiin yhdisteisiin, ja elektronien vastaanottajiin. Nämä elektronien liikkeet tuottavat energiaa, jota puhdistettavissa vesissä toimivat biologiset organismit käyttävät. Redox-potentiaalilla on siis suora suhde puhdistettavassa vedessä saatavilla oleville elektronien vastaanottajille. TAULUKKO 6 luotteloidaan yleisimmät puhdistettavissa vesissä olevat elektronien vastaanottajat järjestyksessä parhaimmasta heikoimpaan verraten mikrobien metabolismissa tuotettuun energiaan sekä redox-potentiaalilin laskiessa. (BWTE 2018.) Elektronien luovuttajia/hiilen lähteitä käydään myöhemmin läpi tässä luvussa.

TAULUKKO 6. Erialaisten elektronin vastaanottajien merkitys mikrobien metaboliassa (BWTE 2018)

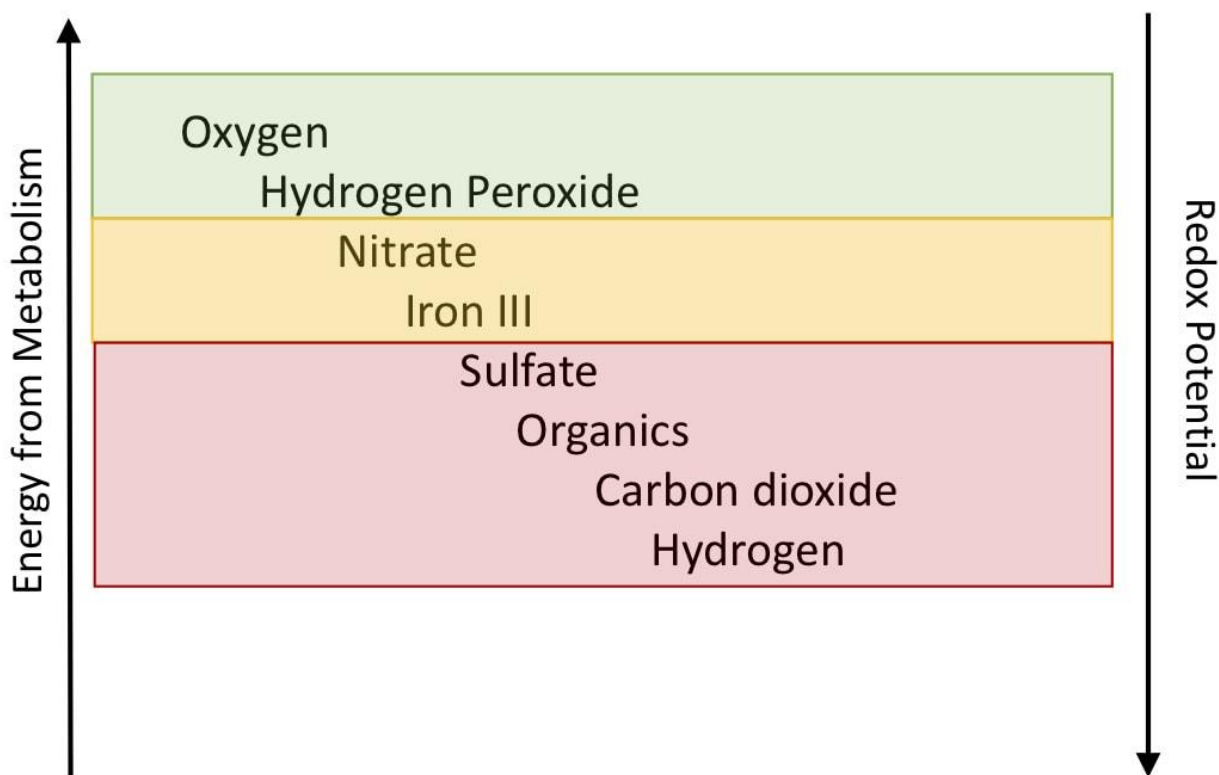
Happi	Aerobisissa eli hapellisissa olosuhteissa happi toimii elektronin vastaanottajana. Neutraalissa pH:ssa se edustaa ORP (Oxidation-reduction potential) ≥ 0 arvoa. Aerobisessa metabolismissa se järjestää enemmän energiaa mikrobiologiselle kasvulle ja -uudistumiselle.
Nitraatti/nitriitti	Monet mikrobiologiset organismit kykenevät käyttämään nitraattia sekä nitriittiä vaihtoehtoisena elektronin vastaanottajana, kun liuennutta happea ei ole saatavilla (osa kuitenkin jatkaa nitraatin/nitriitin käyttöä aerobisissa olosuhteissa). Nitraatti/nitriitti lopullisena elektronin vastaanottajana tuottaa enemmän energiaa, kun KUVA 6 esitetyt sen alapuolella olevat muut elektronin vastaanottajat.
Sulfaatti	Redox-potentiaalin pudotessa alle -125 mV neutraalissa pH:ssa, sulfaattia käyttävät mikrobit alkavat esiintymään. Sulfaatti muuntuu pelkistyneeksi rikki-ioniksi ja yhä edelleen rikkivedyksi pH:n laskiessa. Saatu energia sulfaatin pelkistyksestä on alhaisempi kuin hapen, nitraatin ja raudan.
Orgaaniset yhdisteet	Kun elektronin vastaanottajana toimii orgaaninen yhdiste, tapahtuu käymistä aiheuttavaa hengittämistä. Tämä on ensiaskel anaerobisten mädättäjien mikrobiologisessa prosessissa ja sitä tapahtuu myös hapettomissa toiminnoissa alhaisissa redox-potentiaalin arvoissa. Tämä prosessi tuottaa lyhytketjuisia rasvahappoja kuten etikka-, butyraatti- sekä propionihappoja.
Metaani	Metaanin tuotanto tapahtuu, kun orgaanisia happoja ja vetyä käytetään metaanin tuottamiseksi arkeoniorganismien kuten metanogeenisten bakteerien toimesta. Tässä tapauksessa, alhainen redox-potentiaali (alle -400 mV) mahdollistaa energian tuotannon yhdistämällä hiilidioksidin, vedyn ja orgaaniset yhdisteet muodostaen metaania lopputuotteena.

KUVA 6 mukaisesti veden ollessa hyvin happipitoinen ja samalla redox-potentiaalin ollessa korkea, tapahtuu siellä aerobinen mikrobien toiminta ja siinä käytetyn ja siitä tuotetun energian määrä on suurempi, kun vertaa anaerobisiin prosesseihin, joissa redox-potentiaali saavuttaa negatiiviset arvot ja jossa toisenlaiset aineet kuten sulfaatti ja orgaaniset yhdisteet toimivat pelkistiminä.

BWTE (2018) huomasi sulfaatinpelkistäjäbakteerien ilmestymisen sekä niiden toiminnan alkavan, kun redox-potentiaali saavutti -125 mV alhaisemman arvon, kun taas metanogeeniset prosessit alkoivat redox-potentiaalin ollessa alle -400 mV. Paulo et al. (2015) kertoo metanogeenisten toimintojen alkavan korkeammassa, jopa -200 mV lukemissa.

Søndergaard (2019) kertoo kun redox-potentiaalin on suurempi kuin 200 mV, niin alkaa raudalla olemaan korkea fosforin imeytymiskyky, kun taas sen alhaisella arvolla rauta pelkistyy ja fosforia alkaa vapautumaan raudan kanssa muodostuneista yhdisteistä. Jos tätä toimintaa suhteutetaan sulfaatinpelkistysprosessissa toimiviin sulfaatinpelkistäjäbakteereihin sekä metanogeenisiin bakteereihin ja nii-

den väliseen kilpailuun, tulee vedessä olevan redox-potentiaalilla olla aina mahdollisimman lähellä sulfaatinpelkistäjien käyttämiä pelkistäjiä vastaava arvo. Arvolle täytyy kuitenkin olla raja-arvo, jotta orgaanisten yhdisteet eivät alkaisi hajoamaan, joka alkaisi puolestaan suosimaan metanogeenisiä kantoja



KUVA 6. Bakteerien metaboliassa tuotettu energian määrä sekä redox-potentiaalilla arvon suhde, vihreällä pohjalla on korkea tuotetun energian määrä sekä korkea redox-potentiaali, kun taas punaisella pohjalla energian tuotanto on heikompaa redox-potentiaalilla laskiessa (BWTE 2018).

Nitraatin on huomattu jopa pieninä määrinä estävän kokonaan tai osittain sulfaatinpelkistystä, kun pelkistäjäbakteereina on toiminut *Desulfovibrio*-kanta. Tämä johtuu mahdollisesti siitä, että nitriitti pelkistyy suoraan ammoniakiksi nitraatin pelkistysprosessilla, kuitenkin todennäköisemmin nitriitti on hapettunut kaivosvedessä nitraatiksi sen varastoinnin aikana, jossa muodostunutta nitraattia on käytetty elektronin vastaanottajana hapetusprosessissa. Nitraattia voidaan mahdollisesti käyttää elektronin vastaanottajana sulfidin hapetusprosessissa sulfiittia hapettavien bakteerien toimesta. (Arnold et al. 2017.) KUVA 6 KUVA 6. Bakteerien metaboliassa tuotettu energian määrä sekä redox-potentiaalilla arvon suhde, vihreällä pohjalla on korkea tuotetun energian määrä sekä korkea redox-potentiaali, kun taas punaisella pohjalla energian tuotanto on heikompaa redox-potentiaalilla laskiessa (BWTE 2018) todetaan tämän nitraatin käytön johtuvan toimintahetkellä vallitsevasta redox-potentiaalista. Myös saatavilla olevan nitraatin ja sulfaatin määrällä voi olla merkitystä prosessin kannalta.

Arnold et al. (2017) kertoo sulfaatinpelkistäjäbakteerien vaativan vähintään -150 mV redox-potentiaalilla, jotta ne toimisivat asianmukaisesti. Jos redox-potentiaali on tätä korkeampi, korkeamman happipitoisuuden vallitessa, sulfaattiarvot pysyvät tasaisina ja sulfideja ei muodostu. Sulfaatinpelkistymistehokkuuden ei huomattu muuttuvan, kun mitatut redox-potentiaalivot olivat jopa -400 mV.

3.4 Veden sähkönjohtavuus ja impedanssi

Sähkönjohtavuus on mitta, jolla kuvataan sähköisen latauksen määrää tai materiaalin kykyä johtaa sähkövirtaa. Sähkönjohtavuus tunnetaan myös tietynlaisena konduktanssina ja se on ominainen materiaalin ominaisuus. Sähkönjohtavuus merkitään symbolilla σ ja se merkitään SI-järjestelmässä S/m eli siemensä per metri. Esimerkiksi metallit, kuten hopea, sekä plasma ovat korkean sähkönjohtavuuden omaavia materiaaleja, kun taas lasilla sekä puhtaalla vedellä on huono sähkönjohtokyky. (Helmetine, A. M. 2020.) Sähkönjohtavuutta on käytetty bakteeritoimintojen mittauksiin mm. bakteeriviljelmissä sekä maaperissä (Lyew, D. & Sheppard, J. 2001, 2082).

Liuenneiden kiinteiden aineiden kokonaismäärät, TDS (Total Dissolved Solids) mittaa vedessä olevien ionien kokonaismäärää. Sähkönjohtavuus on todellisuudessa mitta tästä ionitoiminnasta vedessä ja kuinka paljon se kykenee siirtämään virran kulkemista. Laimennetussa vedessä TDS ja sähkönjohtavuus ovat hyvin verrattavissa. Kun vedessä olevat kiintoaineet ylittävät 1 000 mg/l ja sähkönjohtavuus ollessa yli 2 000 mS/cm, vedessä olevien ionien läheisyys alkaa heikentämään niiden aktiiviteettia heikentäen niiden virranjohtokykyä. (Lenntech 2020.) Näitä liuenneita aineita voivat olla mm. monet mineraalisuolat sekä kaivosvesissä tyypillisesti esiintyvät sulfaatit ja sulfiitit. Sähkönjohtavuuden kasvu voi osoittaa suoraan näiden aineiden kertymisestä sekä sulfaatin rikastumista prosessiin. Täten sähkönjohtavuutta mittaamalla voitaisiin selvittää prosessissa olevia sulfaatti- ja sulfiittipitoisuuksia ollen suoraan taloudellisempaa kuin ainepitoisuuksien suora mittaaminen. (Janhunen 2020; Lyew, D. & Sheppard, J. 2001.)

Lyew, D. & Sheppard, J. (2001) tutkivat sähkönjohtavuutta sulfaatinpelkistysprosessin mittausparametrina, ja että sen muutokset eivät tapahdu samanaikaisesti redox-potentiaalin ja pH:n muutoksissa, osoittaen sähkönjohtavuuden olevan tärkeä mittausparametri pH:n sekä redox-potentiaalin mittausten rinnalla. Bakteerien metabolia aiheuttaa impedanssin eli näennäisvastuksen heikkenemistä lisäten prosessiveden sähkönjohtavuutta positiivisesti latautuneen aineenvaihduntatuotteiden, kuten orgaanisten happojen tai suurten molekyylien hajoamisten takia. Nämä impedanssin sekä sähkönjohtavuuden muutokset korreloivat bakteerien toiminnan kanssa ja näillä arvoilla voidaan listata ja laskea erilaisia bakteereita sekä niiden määriä. Tutkimuksessaan he totesivat sähkönjohtavuuden toimivan tarkkana työkaluna sulfaatinpelkistäjäbakteerien toiminnan tarkastelussa samalla tavoin kuin pH sekä redox-potentiaali. Lisäksi se tarjoaa potentiaalisesti nopean sekä jatkuvan datan mittaamisen prosessista.

3.5 Veden kovuus

Veden kovuus kertoo veteen liuenneiden mineraalien määrästä, suurimmilta osin kalsiumin sekä magnesiumin määrästä ja se merkitään yleisimmin milligrammoina per litra (mg/l). Vesi toimii mainiona liuottimena kalsiumille ja magnesiumille. Monet teollisuuden toimijat sekä yksityiskäyttäjät kiinnittävät huomiota veden kovuuteen koska kovaa vettä lämmitettäessä kalsiumkarbonaattia alkaa muodostumaan ja se voi alkaa saostumaan KUVA 7 mukaisesti veden siirtämiseen käytetyille pinnoille. Saostuminen voi heikentää käytetyn kaluston, tässä tapauksessa putkiston käyttöikä ja pahimmassa tapauksessa tukkia veden siirtoon käytettäviä putkia (USGS 2020) tai häiritä erilaisten prosessien yleistä toimivuutta, jos esimerkiksi veteen liuenneet mineraalit alkavat reagoimaan prosessissa olevien aineiden kanssa.



KUVA 7. Putken sisäpintaan ajan myötä muodostunutta kalkkiliusketta (Usgs 2020)

3.6 Prosessissa käytetty hiilenlähte ja sen vaikutukset

Kaikki ihmiset, eläimet ja bakteerit tarvitsevat energiaa pysyäkseen toimintakykyisinä. Sulfaatinpelkistäjäbakteerit tarvitsevat hiiltä ravinnokseen, jotta niiden sulfaatinpelkistämiseen käytettävä metabolia pysyy toimintakykyisenä prosessin toiminnan aikana. Hyvänä hiilenlähteenä toimii mm. etanoli, metanoli, etikkahappo, asetaatti sekä näistä optimaalisimpana sulfaatinpelkistystehokkuuteen verrattaessa laktaatti. (Janhunen 2020.) Kaikki sulfaatinpelkistäjät kykenevät yleensä hyödyntämään vetykaasua (H_2), laktaattia ja pyruvaattia. Lisäksi useimmat epätäydellisesti hiilenlähdettä hapettavat sulfaatinpelkistäjät hyödyntävät malaattia, sulfonaattia ja primäärisiä alkoholeja, kuten metanolia, etanolia, propanolia ja butanolia kun taas puhtaaseen hiilenlähteen hapetukseen kykenevät organismit käyttävät elektroninluovuttajana puolestaan rasvahappoja, laktaattia, sukkiinaattia ja bentsoaattia (Mroueh, U-

M. & Vestola, E. 2008, 3). Prosessi tarvitsee myös ravinteita, kuten typpeä, fosforia ja hivenaineita, joilla stimuloidaan biologista kasvua (Coaltech es 2020).

Greben et al. (2000) tutkivat, kuinka eri hiilenlähteitä käyttämällä voidaan vaikuttaa prosessin sulfaatinpelkistystehokkuuteen. Tutkimuksessa testattiin etanolin sekä metanolin käyttöä hiilen- ja energian lähteenä. Esimerkiksi metanolin tai haihtuvien rasvahappojen käyttö ravinteena sai aikaan metanogeenitistä kasvua heikentäen sulfidogeenisten bakteerien toimintaa ja täten koko sulfaatinpelkistysprosessia.

Käytetyn hiilenlähteen hinta määrittää valtaosin sen pysyvää käyttöä teollisen koon prosessissa, ottaen huomioon myös hiilenlähteen käytännöllisyys, hyötysuhde ja prosessin erotustehokkuus. Esimerkiksi etanolin hinnan on ilmoitettu helmikuussa 2020 olevan Yhdysvalloissa 2,19 \$ per gallona, globaalin keskihinnan ollessa 3,82 \$ per gallona (GPP 2020), kun taas metanolin hinnaksi ilmoitettiin Yhdysvalloissa 1,19 \$ per gallona, globaalin keskihinnan ollessa 1,01 \$ per gallona (Methanex 2020). Etanolia sekä metanolia voitaisiin myös valmistaa teollisuuden omissa prosessivirroissa, joten niiden käyttö voi olla tuotantomenetelmän mukaan huomattavasti taloudellisempaa kuin sen valmiina ostaminen.

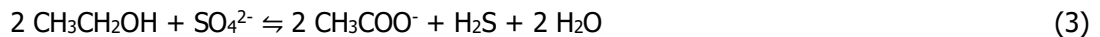
3.6.1 Etanoli

Etanoli (C_2H_5OH) on primaarinen alkoholi ja kaksihiilinen hiilivety, jossa yksi vedyistä korvataan hydroksidilla. Etanolia käytetään mm. antiseptisenä lääkkeenä, johtavana liuottimena ja ihmisten, eläinten sekä monien mikrobien aineenvaihdunnan tuotteena (Pubchem 2020), toimien myös hyvänä hiilenlähteenä sekä elektronin luovuttajana sulfaatinpelkistysprosessissa toimiville bakteereille (Greben et al. 2000). Etanolin käyttö on huomattavasti kalliimpaa kuin metanolin käyttö. Prosessissa käytettäväksi etanolin käyttö voisi olla metanolia suotuisempaa, koska metaanin tuottajat suosivat metanolia hiilenlähteenään.

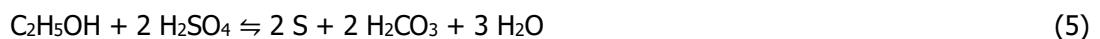
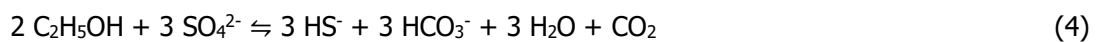
Etanoli on yleisin käytetty aine sen suhteellisen alhaisen hintansa, helpon kuljettamisen sekä hyvän soveltuvuutensa ansiosta monille sulfaatinpelkistäjäbakteereille. Etanoli hapettuu alkoholin dehydrogenaasilla hapettavuutta tuottavassa reaktiossa tuottaen asetaldehydia. Asetaldehydi hapettuu edelleen etikkahapoksi sekä vetyioneiksi energiansaamisreaktiossa tai sitä voidaan kondensoida ammoniakilla muodostaen etanoliamiinia. Etanoliamiini toimii merkittävänä ainesosana bakteerien solukalvoissa ja toimii myös hiilen sekä typen varastona, jota bakteerit käyttävän nälkiintymisjakson aikana. (Arnold et al. 2017.)

Sulfaatin pelkistystehokkuudeksi on ilmoitettu yli 80 % lukemia, kun etanolia on käytetty korkeina massasiirroksina. Lisäksi *Desulfovibrio desulfuricans*- ja *Desulfobacter postgatei*-kantojen on huomattu hapettaneen etanolia täysin, kuitenkin joidenkin sulfaatinpelkistäjäkantojen on huomattu hapettaneen etanolia epätäydellisesti (Papirio 2012, 27; Arnold et al. 2017). Etanolia käyttävät sulfaatinpelkistäjäkannat osoittavat heikomman biomassan tuotantomääriä ja monissa tapauksissa etanoli

pelkistyy osittain asetaatiksi, jonka muodostuminen esitetään kaavalla 3, jossa sulfaatti pelkistyy etanolin toimiessa hiilenlähteenä asetaatiksi, rikkivedyksi sekä vedeksi (Papirio 2020, 27). Tämä ei tuota prosessiin emäksisyyttä lisääviä aineita heikentäen samalla sen alkaliteettia, eli puskurointikykyä happamuuden torjumiseksi. Heikomman biomassan tuotannon syitä voi olla, että muodostunutta asetaattia käyttävät muut kilpailevat mikro-organismit ja niiden toiminnan sekä populaation lisääntyminen heikentää sulfaatinpelkistäjäbakteerien kasvutilaa sekä yleistä toimintaa.



Teoreettisesti laskettuna kulutettu etanoli jaettuna pelkistyneen sulfaatin määrällä on 0,32 sulfaatin pelkistyessä sulfiitiksi, kaava 4 ja 0,24 sulfaatin pelkistyessä rikiksi, kaava 5 (Greben et al. 2000, 252).



3.6.2 Metanoli

Metanoli (CH_3OH) on primaarinen alkoholi, joka on yksinkertaisin alifaattinen alkoholi. Se koostuu metyylistä sekä hydroksidiryhmästä. Metanoli toimii amfiproottisena liuottimena, polttoaineena, ihmisten, eläimien sekä mikrobien aineenvaihdunnan tuotteena (Pubchem 2020) ja toimii hyvänä hiilenlähteenä erityisesti metaania tuottaville arkeoneille. Sulfaatinpelkistäjät pystyvät käyttämään metanolia hiilenlähteenä, mutta metaanin tuottajilla on valta-asema sulfaatinpelkistäjien sijaan (Antikainen, E. Huttunen, J. Janhunen, M. & Vepsäläinen, J. 2018). Metanolia käytetään sen saatavuuden sekä edullisen hintansa vuoksi ja sitä on käytetty laajasti sulfaatinpelkistyssovelluksissa (Papirio 2012, 26). Metanolin käyttö ei kuitenkaan ole suotuisaa prosessin sulfaatinpelkistykseen kannalta, koska metanoli pystyy aiheuttamaan metanogeenisten mikrobien kasvua vieden kasvupotentiaalia sulfaatinpelkistäjäkannoilta. Mesofiilisessä (20–45 °C:n) lämpötilassa metanolin toimiessa hiilenlähteenä sulfaatinpelkistäjien kasvu on hidasta tuplaantumisaikana ollessa yli päivän, kun taas termofiilisissä (yli 55 °C:en) olosuhteissa sulfaatinpelkistystoiminta on metanogeneesia tai homoasetogeneesia vilkkaampaa (Papirio 2012, 26–27).

Greben et al. (2000) totesivat metanolin olevan huono vaihtoehto sulfaatinpelkistysprosessin hiilenlähteeksi, koska kemiallisen hapenkulutuksen ja poistetun sulfaatin suhteeksi saatiin erittäin huono tulos, lisäksi muiden syntrofisten bakteerien kilpailu metanolin hiilestä heikensi sulfaatinpelkistystehokkuutta. On todettu, että metanogeeniset arkeonit syrjäyttävät sulfaatinpelkistäjäbakteerit, jos hiilenlähteenä käytetään metanolia. Kuitenkin, jos vetyä tai anaerobisen toiminnan seurauksena hajonnutta orgaanista ainetta on saatavilla, sulfaatinpelkistäjäbakteerit kykenevät syrjäyttämään metanogeeniset arkeonit ja saavuttamaan valta-aseman prosessissa. Jos kumpaakaan ainetta ei ole saatavilla, metanoli käytetään metanogeneesiin sulfaatinpelkistykseen sijasta.

Lopuksi termofiilissä oloissa metanolin käyttö energian lähteenä on ollut jopa 50-kertaisesti parempi kuin mesofiilissä oloissa. Näiden lämpötilojen sulfaatinpelkistymisen erot voi johtua eri lämpötiloissa toimivien sulfaatinpelkistäjäbakteerikantojen mieltymyksestä metanoliin energianlähteenä. (Greben et al. 2000.)

3.6.3 Etikkahappo

Etikkahappo (CH_3COOH) on synteettinen karboksyylihappo, jolla on mm. antibakteerisia ja antifungaalisia ominaisuuksia. Se on asetaatin konjugaattihappo. Vahva etikkahappo voi parantaa rasva-aineiden liukoisuutta mahdollistaen lisääntyvää rasvahapon kertymistä solukalvoille tai muille solujen seinämille. Se on heikko happo, joka pystyy estämään hiilihydraatin metaboliaa aiheuttaen kuolemia eläville organismeille. Asetyyliiryhmä, joka on johdannainen etikkahaposta, on olennainen osa biokemiaa sekä kaikkia elämänmuotoja. Tietyt bakteerit pystyvät tuottamaan ja erittävät etikkahappoa, kuten *Acetobacter genus* sekä *Clostridium acetobutylium*. (Pubchem 2020.)

Opinnäytetyön tilaaja käytti etikkahappoa hiilenlähteenään sulfaatinpelkistyskoeajoissaan ja Torvinen (2019) huomasi koeajojen aikana asetaatin kertymisen prosessiin ja epäili sen johtuneen sulfaatinpelkistäjäbakteerien vähäisestä aktiiviteetista. Tämä saattoi johtua siitä, että muut prosessissa toimivat mikro-organismit käyttivät etikkahappoa sulfaatinpelkistäjiä tehokkaammin. Läpikäydyssä ja saatavilla olleessa kirjallisuudessa sekä tutkimuksissa oli hyvin niukasti tietoa etikkahaposta ja sen hyödyistä sulfaatinpelkistysprosessissa hiilenlähteenä.

3.6.4 Asetaatti

Asetaatti (CH_3COO^-) on monokarboksyylihapoanioni, jota syntyy yhden protonin irrotessa etikkahaposta. Sillä on rooli ihmisten sekä hiivojen aineenvaihduntatuotteena. Asetaatti on etikkahapon suola. (Pubchem 2020.) Propionaatti, eli propaanihapon suola ja butyraatti eli voihiapon suola on yleisiä käymistuotteita anaerobisissa prosesseissa, kuten sulfaatinpelkistysprosessissa ja eri sulfaatinpelkistäjäbakteerien on huomattu käyttävän näitä aineita kokonaan tai osittain muodostaen asetaattia. Kuitenkin vedyn käyttö jatkoenergianlähteenä on välttämätöntä, jotta sulfaatinpelkistäjäbakteerit pystyvät hapettamaan propionaattia ja butyraattia. (Papiro 2020, 27.) Mikrobiologinen kasvu ainoastaan asetaatilla tapahtuisi, jos asetaatin hiiliosuus (C_2) saataisiin hapettumaan ja reaktio loisi samanarvoisia pelkistimiä. Prosessissa siirtyneet elektronit muutettaisiin edelleen solumateriaaliksi. Jos tätä tapahtuisi, hiilidioksidia muodostuisi suuria määriä näistä asetaatin hiiliosista. Vaihtoehtoisesti asetaatin fermentaatio voisi olla huomattava energian lähde mutta muita aineita, kuten vetyä ja orgaanisia yhdisteitä tarvittaisiin tarjoamaan vastaavia pelkistimiä tai esiasteita solujen hiilisynteesiin. (Zeikus 1977, 519.)

Hyvin harva sulfaatinpelkistäjäkanta pystyy käyttämään asetaattia ainoana energian lähteenään. Esimerkiksi *Desulfotomaculum acetoxidans* ja muutamat epäpuhtaaseen hapettamiseen kykenevät bakteerit pystyvät käyttämään asetaattia hiilenlähteenään, jos vetykaasua käytetään elektronin luovuttajana eli pelkistimenä. (Papiro 2012, 27–28.)

Vedyn respiraatio, eli kun vetykaasua siirtyy solukalvon läpi vedyksi, tuottaa energiaa protonin liikevoiman avulla. Esimerkiksi metanogeesissä, vedyn käyttö osoittaa neljä kertaa suuremman energiamäärän saatavuuden verrattuna asetaatin fermentaatioon. Asetaatin käyttö ainoana energianlähteenä voi olla hyvin rasittavaa metaanin tuottajille sekä sulfaatinpelkistäjille ja niiden kasvu voi tämän johdosta olla luontaisesti hidasta. Pitkällä tähtäimellä pelkän asetaatin käyttö voi olla täysin riittämätön ylläpitämään bakteerien normaalia kasvua sekä toimintaa. (Zeikus 1977, 518.)

Kuitenkin mikä tahansa vaihtoehtoinen elektronin luovuttaja, jota on läsnä asetaattiliuoksessa, kykenee toimimaan energian lähteenä mikrobien kasvuille. Myös jatkuva kykenemättömyys eristää ja kasvattaa asetaattia fermentoivaa metanogeesiä, jossa asetaatti toimii ainoana elektronin luovuttajana voi olla tulosta kelpottomista kasvatusoloista. (Zeikus 1977, 519.)

3.6.5 Laktaatti

Laktaatti ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$) on maitohapon anioni, joka on maitohapon konjugaattipohja ja sillä on rooli mm. ihmisten metaboliassa (Pubchem 2020). Laktaatti toimii erittäin hyvänä hiilenlähteenä sulfaatinpelkistysprosessin bakteereille ja sitä käytetäänkin monissa laboratorio kokeissa ollen optimaalisin käytetty hiilenlähde. Laktaatin käytön haittapuolek ovatkin sen tuottamisessa. Laktaattia on hyvin hankala tuottaa kemiallisesti ja monimutkaisuutensa takia sen hinta on erittäin korkea käytettäväksi teollisessa mittakaavassa. (Janhunen 2020; Aurola 2019).

Laktaatti on ylivoimainen elektronin luovuttaja verrattuna etanoliin, asetaattiin tai propionaattiin kun vertaa energian ja biomassan tuotantoa ja etanolin käyttöön verrattuna se enemmän bikarbonaattia neutraloiden siten päästöveden happamuutta paremmalla tapaa. Lisähaittapuolina vain tietyt sulfaatinpelkistäjäbakteerit kuten *Desulfotomaculum*-kanta pystyy hapettamaan laktaattia hiilidioksidiksi, kun taas *Desulfovibrio desulfuricans*-kanta hapettaa laktaattia asetaatiksi. Viimeisimpänä haittapuolena laktaatin käytössä hiilenlähteenä on, että se on lähinnä stabiili molekyyli happamissa kaivosveissä, mikä voi olla estävä tekijä tai jopa tappava sulfaatinpelkistäjäbakteereille (Papirio 2012, 28.)

3.7 Täytekappaleet, niiden rakenne ja biomassan muodostuminen reaktorissa

Bioreaktorin toiminnan tehostamiseksi reaktoriin lisätään täytekappaleita, joiden tehtävänä on toimia kasvu- ja toiminta-alustana sulfaatinpelkistäjäbakteereille sekä lisätä niiden toiminta-aikaa reaktorissa niitä bakteereja pidempään, jotka toimivat suoraan vedessä. Nämä täytekappaleet voivat olla mm. haketta, polyeteeni- tai polypropeenimuovia ja niiden täytyy olla sen painoisia, jotta ne kelluvat reaktorissa. Niitä voidaan valmistaa mm. kierrätetyistä tuotantojäämistä, KUVA 8 näkyvän mustan ja alkuperäisen muovin värisinä sekä tarvittaessa tilaajan toiveiden mukaan (RVT 2020).



KUVA 8. Polyeteenistä sekä polypropeenista valmistetut täytekappaleet (RVT 2020)

Biologiset täytekappaleet, joita käytetään erityisesti liikkuvassa biofilmireaktorissa, MBBR (Moving Bed Biofilm Reactor) ovat jatkuvasti liikkeessä johtuen reaktorin veden kierrätyksestä ja tämä liike johtuu sen ilmastuksesta. TAULUKKO 7 luetteloii esimerkkejä valmistettavista täytekappaleista ja niiden tyyppillisistä ominaisuuksista. Näitä täytekappaleita on saatavilla eri valmistajien toimesta ja ne voidaan valmistaa tilaajan toivomuksista erilaisista materiaaleista eri kokoisiksi sekä -muotoisiksi. Niiden koko ei kuitenkaan saa olla niin suuri, että ne eivät kykenisi kellumaan prosessissa liiallisen painonsa vuoksi.

On myös otettava huomioon mikrobien metaboliasta aiheutuva biomassan muodostuminen reaktoriin sekä täytekappaleiden pinnalle, joka kasvattaa niiden todellista tiheyttä ja samalla niiden painoa. Verrattuna pisarabiosuodattimiin sekä upotetuista paikalleen sijoitetuista kasvualustoista, liikkuvan biofilmireaktorin etuna toimii ohuen biofilmikalvon muodostuminen täytekappaleisiin, jotka mahdollistavat paremmat tartuntapinnat mikrobeille. (RVT 2020.)

TAULUKKO 7. Täytekappaleiden tekniset tiedot. Käytettyjen mittasuhteiden toleranssi on +/- 5 % (RVT 2020)

Tyyppi & koko	Katettu pinta m ² /m ³	Kappaleen mittasuhteet (mm)
Muovit		
Bioflow 9	1 525	9 x 7
Bioflow 35 S	815	35 x 5
Bioflow 40	307	40/45 x 35

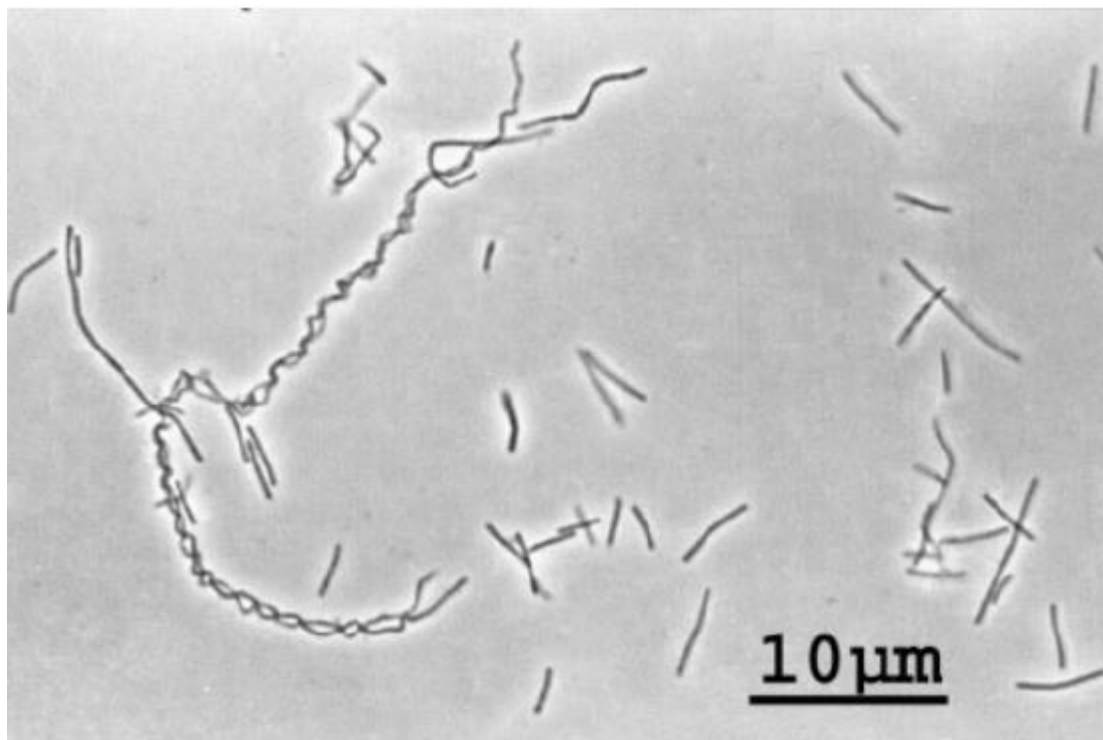
Täytekappaleiden pinnoille voidaan valmistaa erityinen nupupinta, joka varmistaa poikkeuksellisen pinnan kostumisen välittömästi tankkiin asettaessa. Valmistaja myös tarjoaa tilaajan pyynnöstä teoreettisen laskelman pystyreaktorin malliin perustuen operoinnin olosuhteisiin, joka kattaa hydraulikan ja massan siirron, teoreettisen reaktorin halkaisijan ja korkeuden riippuen käytettävien täytekappaleiden määrästä sekä tyypistä. (VFF 2020.)

TAULUKKO 7 nähdään esimerkkejä täytekappalevaihtoehdoista ja niiden mitoista. Täytekappaleen valinta riippuu niiden valmistamisen hinnasta ja tilauksen kokoluokasta. Hintaan vaikuttaa suuresti niiden valmistuksen monimutkaisuus, esimerkiksi harvasiipisen (Pall-ring) täytekappaleen valmistaminen on huomattavasti edullisempaa kuin tiheäsiipisen (Igel). Myös käytettävän materiaalin laatu sekä kestävyys vaikuttavat reaktorissa käytettävien täytekappaleiden valintaan. Tiheäsiipinen vaihtoehto on prosessin kannalta parempi, koska se tarjoaa enemmän kasvupinta-alaa mikrobeille, mahdollistaen suuremman erotustehokkuuden sulfaatinpelkistyksessä. Liitteessä 1 on esitetty muita vaihtoehtoisia bioreaktorissa käytettäviä täytekappaleita. Yksinkertaisemmat mallit ovat kasvupinta-alaltaan pienempiä mutta myös huomattavasti edullisempia ja tiheämmät monisiipiset mallit mahdollistavat enemmän kasvupinta-alaa mikrobeille, mutta biofilmin muodostuessa voivat muuttua raskaammiksi heikentäen niiden leijumiskykyä. Myös biomassalle on enemmän tilaa ja veden viipymäajan reaktorissa ei tarvitse olla lyhyempää, koska biomassaa ei tarvitse poistaa reaktorista nopeammin. Biomassaa ei kuitenkaan saisi muodostua liikaa prosessiin koska liiallinen biomassa voi tukkia ja haitata reaktorin toimintaa sekä sulfaatinpelkistysprosessia (Janhunen 2020.)

3.8 Metaanin tuottaja-arkeonit sekä metanogeneesi

Metanogeeniset arkeonit ovat ehdottoman anaerobisia. Ne pystyvät käyttämään vetyä ainoana energian lähteenä metanogeneesiin sekä solujen hiilisynteesiin. Osa lajeista kykenee hyödyntämään formaattia, eli muurahaishapon suolaa, ja osa taas hyödyntämään metanolia. Toinen metabolinen piirre monille metanogeneettisille lajeille on kyky syntetisoida hiilidioksidista kaikki hiili, populaation kasvaessa vedyn hapettumisen kustannuksella. Asetaatti on suurin metanogeenin lähtöaine monissa anaerobisissa ekosysteemeissä. Kuitenkin asetatti ei ole ollut ainoa elektroninluovuttaja mikrobien kasvuun ja metanogeenille puhtaassa kasvuympäristössä. (Zeikus 1977, 517.) Hyvin pieni määrä sulfaattia on suotuisaa metanogeneesiin, koska alkuaainerikkiä vaaditaan metanogeneesiin ja metanogeenisten arkeonien toimintaan (Paulo et al. 2015).

Siperian turvesoilla on tutkittu KUVA 9 esitettyä *Methanobacterium*-metaanin tuottajakantaa ja on todettu, että korkea happamuus sekä matalat lämpötilat vaikuttavat metanogeenisten arkeonien toimintaan ja koko metanogeneesiin. Kuvasta huomaa myös, että kannat kykenevät toimimaan yksittäin sekä ryhmissä. Metanogeeniset kannat kykenevät sietämään äärimmäisiä pH:n vaihteluita ja mukautumaan niihin. Yleisimmin *Methanobacterium*-kannat toimivat 3,8–6,0 pH:ssa sekä 5–30 °C:en lämpötilassa. Osa näistä metanogeenisistä bakteereista ovat hyvin alkalifilisiä eli emäksisyyttä kestäviä, säilyttäen toimintansa jopa 9,9 pH:ssa. Aktiivisin metanogeneettinen kasvu ja -toiminta tapahtui pH välillä 5,0–5,5 ja 25–30 °C:en lämpötilassa. PH:lla on hyvin suuri vaikutus metanogeneesiin. *Methanobacterium*-kanta pystyy myös toimimaan alimmillaan 3,8 pH:ssa käyttäen ainoastaan vetykaasua sekä hiilidioksidia hiilen lähteenään. (Conrad, R. Friedrich, M. W. Golyshin, P. N. Kotsyurbenko, O. R. Nozhevnikova, A. N. Simankova, M. V. & Timmis, K. N. 2007.) Metanogeneettisille kannoille optimaalinen pH biokaasun tuotannossa on välillä 7,8–8,2 (Karlsson et al. 2011, 9).



KUVA 9. Faasikontrastikuva yhdestä *Methanobacterium*-kannasta, joka on geneettisesti hyvin samankaltainen *Methanothermobacter thermautotrophicus*-kantaan verrattuna (Conrad et al. 2006).

Jos sulfaatinpelkistysprosessin syöttöveden happamuus kasvaa hetkellisesti se voi vähentää tai täysin estää sulfaatinpelkistäjäbakteerien toimintaa, kun taas tietyt metanogeeniset kannat pystyvät jatkamaan normaalia toimintaansa ja ottamaan valtaa prosessissa, aiheuttaen heikentynyttä sulfaatinpelkistystehokkuutta.

Methanobacterium-kanta kykeni käyttämään asetaattia metaanin tuotantoon kompleksisessa kasvualustassa. Kasvu tällaisessa elinympäristössä jatkuvassa kasvatuksessa oli hidasta tuplaantumisaajan ollessa jopa 65 tuntia. Metanogeenit kykenevät hyödyntämään asetaattia metabolisissa toiminnissaan huomattavasti paremmin, kun ne toimivat yhdessä muiden syntrofisten- sekä sulfaatinpelkistäjäbakteerien kanssa samassa elinympäristössä. (Zeikus 1977, 518.)

TAULUKKO 8 esitetään esimerkkejä eri hiiliyhdisteiden käytöstä metanogeenisten arkeonien metaboliassa ja kuinka paljon energiaa jokaista tuotettua moolia kohti on luovutettu. Kaikki reaktioista saadut luovutetun energian määrät on mitattu NTP-olosuhteissa.

TAULUKKO 8. Metanogeenisten bakteerien aineenvaihduntaan luovutetun energian määrä kilokaloreina moolia kohti ja aineenvaihdunnasta syntynyt lopputuote (Zeikus 1977)

Alkutuotteet sekä hiilenlähde	Lopputuotteet	Reaktioon käytetty energia
$4 \text{ H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	$\text{CH}_4 + 3 \text{ H}_2\text{O}$	-32,7 kcal/mol
$4 \text{ HCO}_2^- + 4 \text{ H}^+$	$\text{CH}_4 + 3 \text{ CO}_2 + 2 \text{ H}_2\text{O}$	-34,7 kcal/mol
$4 \text{ CH}_3\text{OH}$	$3 \text{ CH}_4 + \text{CO}_2 + 2 \text{ H}_2\text{O}$	-76,4 kcal/mol
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+$	$\text{CH}_4 + \text{CO}_2$	-8,6 kcal/mol

Normaalit energiansiirtotehokkuudet bakteereilla ovat 30 %:sta 50 %:iin. Joten energian määrä, jota kuluu aineiden pelkistymiseen, tulisi olla yli 11,7 kcal/mol vakio-olosuhteissa, muuten energiarikkaiden yhdisteiden muodostuminen kasvualustassa fosforylaation avulla on epätodennäköistä ja riittämätöntä solukasvulle. TAULUKKO 8 alin kaava esittää reaktioon käytetyn energian olevan -8,6 kcal/mol, joka kuvaa molekyylin sisäistä redox-prosessia, täten energiaa pitäisi pystyä saamaan elektronin siirron fosforilyysillä ja mekaanisesti ei tiedetä kuinka metanogeenit pystyvät käyttämään asetaattia hiilen lähteenään (Zeikus 1977, 518–519.)

Metanogeenisten bakteerien hiilen vaatimukset vaihtelevat huomattavasti eri kantojen välillä ja niiden kasvun vasteeseen vaikuttaa eri tavoin lisättyjen orgaanisten aineiden laatu ja tyyppi (Zeikus 1977, 520). Metanogeenisten bakteerien toiminnoille ominaisia aineita, hivenaineita ja kasvun stimulantteja pystyttäisiin vertaamaan sulfaatinpelkistäjäbakteerien kanssa ja tietynlaisten aineiden lisäämisellä tai poistamisella voitaisiin vaikuttaa, jos esimerkiksi metanogeenisten kantojen aktiviteetti alkaa lisääntymään prosessissa ja sulfaatinpelkistystehokkuus heikkenee.

3.9 Prosessissa toimivat syntrofiset bakteerit ja mikro-organismit

Syntrofisia mikrobiologisia kumppanuuksia löytyy monista ympäristöistä ja niiden toiminta on hyvin tärkeää kaikessa jätevesien hoidossa, ravinnon kokonaiskierrossa sekä suoliston toiminnassa. (Angenent, L. Guzman, J. & Sousa, D. 2019). Sulfaatinpelkistys on vaihtoehtoinen kilpaileva prosessi metaanin tuotannolle anaerobisissa ympäristöissä. Sulfaatin läsnä ollessa sulfaatinpelkistäjät kilpailevat metaania tuottavien bakteerien kanssa näiden reaktion seurauksena muodostuneesta asetaatista ja vetykaasusta. Kilpailun lopputulokseen vaikuttavat sopivien hiilyhdisteiden määrä, sekä muut liuoksen olosuhteet, kuten pH ja sulfidipitoisuus (Mroueh, U-M. & Vestola, E. 2008, 18). Erityisesti syntrofista mikrobiologista toimintaa esiintyy anaerobisessa ravinnonsulatuksessa, maaperässä, soissa, öljytankeissa, kuumissa lähteissä ja monien nisäkkäiden suolistossa. (Angenent et al. 2019).

Syntrofinen mikrobiologinen kumppanuus koostuu kahdesta toisiinsa hyvin vahvasti sidoksissa olevasta mikrobista, jotka ovat riippuvaisia toisistaan, parantaakseen niiden metabolian energiatoimintoja. Esimerkki tärkeästä syntrofisesta toiminnasta on anaerobinen konversio karboksyylihaposta vetykaasuksi. Tällaisessa mikrobiologisessa syntrofiassa hajonnut vetykaasu, jonka bakteerit ovat tuottaneet, käytetään välittömästi metaanin tuottajien toimesta. Lopputuloksena syntyy metaanikaasua. Syntrofiset toiminnat ovat siis vahvasti sidoksissa luonnolliseen hajotustoimintaan ja tämä mekanismi on välttämättömyys, jotta termodynaaminen mikrobiologinen toiminta olisi ylipäätään mahdollista. Tästä syystä syntrofista toimintaa ei yleensä pystytä erottelamaan tai manipuloimaan laboratorio-olosuhteissa, koska näiden mikrobien viljely on hankalaa. Samalla niiden manipulointi voi haitata ymmärrystä niiden todellisesta fysiologiasta. (Angenent et al. 2019.)

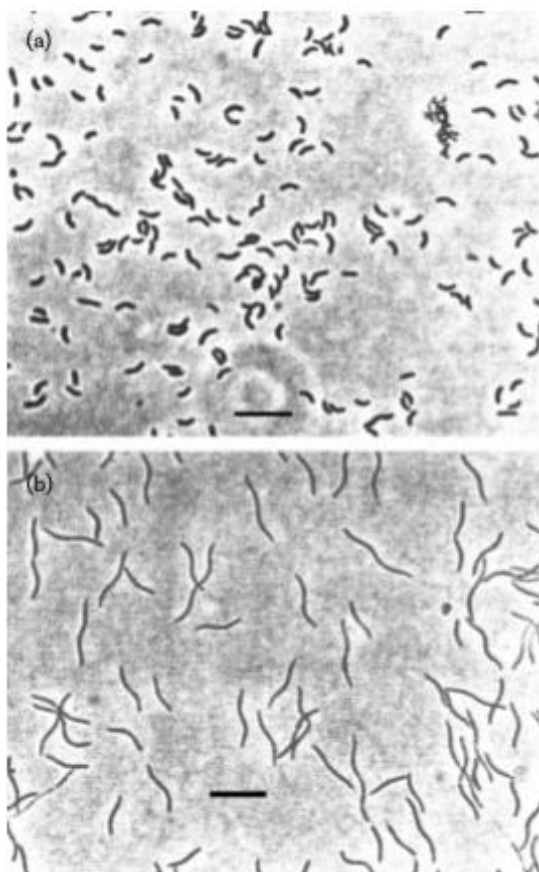
3.10 Sulfaatinpelkistäjäbakteerit ja sulfaatinpelkistysprosessi

Sulfaatinpelkistäjäbakteerit voidaan jakaa kahteen pääryhmään, pelkistäjäbakteereihin, jotka pystyvät täysin hapettamaan orgaanista materiaa rikkivedyksi sekä hiilidioksidiksi ja niihin bakteereihin, jotka tähän eivät täysin kykene, tuottaen rikkivedyn sekä hiilidioksidin sijasta asetaattia (CH_3COO^-) (Colleran et al. 1998).

Sulfaatinpelkistäjäbakteerit käsittävät laajan kirjon erilaisia bakteerilajeja, jotka ovat mukautuneet erilaisiin ympäristöolosuhteisiin sekä substraatteihin. Bakteerit pystyvät käyttämään erilaisia hiilenlähteitä energian lähteenään kompleksisista selluloosayhdisteistä yksinkertaisiin hiiliyhdisteisiin ja kykenevät jopa käyttämään vetyä metaboliassaan (Coaltech a 2020).

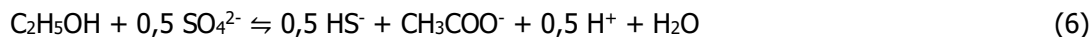
Yhtenä esimerkkinä (Basso, O. Caumette, P. Magot, M. & Tardy-Jacquenod, C. 2004) eristivät sekä tutkivat mm. kahta *Desulfovibrio*-sulfaatinpelkistäjäkanta. Nämä eristetyt sulfaatinpelkistäjäkannat ovat KUVA 10 nähtävät *Desulfovibrio bastinii* ja *Desulfovibrio gracilis*. Kannat ovat lievästi halofiilisiä eli suolaisuutta suosivia.

Erilaisissa olosuhteissa ja elinympäristöissä toimivia sulfaatinpelkistäjäkantoja on olemassa laajalti ja tietyn tyyppisten bakteerien käyttö riippuen prosessissa vallitsevista oloista sekä syötettävän veden laadusta tulisi ottaa selvälle ennen käyttöönottoa. Esimerkiksi edellä mainitut sulfaatinpelkistäjäkannat voisivat toimia hyvin suolapitoisien kaivosvesien puhdistusprosessissa, koska niiden ei tarvitse aluksi sopeutua korkeisiin suolapitoisuuksiin.



KUVA 10. Faasikontrastikuvat *Desulfovibrio bastinii* (a) ja *Desulfovibrio gracilis* (b) sulfaatinpelkistäjäbakteereista. Tumman vaakapalkin mitta on 5 μm (Basso et al. 2004)

Kantojen fysiologiaa sekä metaboliaan tutkiessa niitä pyrittiin luonnehtimaan erilaisten testien kautta. Näihin testeihin sisältyi niiden käymiskasvun tarkkailu, lämpötilan, pH:n ja suolan optimiarvojen seuranta, vitamiinien tarvetta sekä pigmenttipitoisuutta (Basso et al. 2004.) Näihin testeihin sisältyi myös eri energialähteiden käyttöä, esimerkiksi etanolia käyttämällä sulfaatti pelkistyy vetysulfidiksi, asetaatiksi, vedyksi sekä vedeksi, kaava 6 (Cosuma, 2018).



Riippuen kannasta, mitä puhdistettava vesi sisältää, reaktorin olosuhteet kuten lämpötilan sekä pH:n tulisi olla mahdollisimman lähellä alkuperäistä. Tällä pyritään estämään mahdolliset haitat bakteerien toimintaan, kasvuun sekä yleisesti sulfaatinpelkistystehokkuuteen. Bakteerit pystyvät tarvittaessa sopeutumaan olosuhteiden muutoksiin mutta näihin muutoksiin sopeutuminen voi kestää pitkiä aikoja, riippuen bakteerikannasta, muutoksen laadusta ja -määrästä. Tämä voi olla prosessin ylös ajon sekä toimivuuden kannalta epäsuotuisaa. Käytettävien bakteerien valinnalla on hyvin paljon merkitystä sille minkä laatuista puhdistusprosessiin ajettava vesi on. Tehokkaan ylös ajon sekä prosessin toimivuuden edellytyksenä on tuottaa bakteereille mahdollisimman samankaltainen elinympäristö, josta ne alun perin on kerätty, muutoin ylös ajo voi olla hidasta ja tehotonta bakteerien olosuhteisiin sopeutumiseen vaaditun ajan takia.

Optimaalisissa olosuhteissa, laktaatin toimiessa hiilenlähteenä ja sulfaatin ollessa pelkistettävänä *Desulfovibrio bastinii* ja *Desulfovibrio gracilixen* tuplaantumisaajat olivat 15 ja 22 tuntia (Basso et al. 2004) ja Heikkinen et al. (2017) kertoo yleisesti käytetyn etanolin haittapuolena jokseenkin alhaisen sulfaatinpelkistäjäbakteerien kasvutahdin.

Desulfovibrio bastinii, solut ovat vibrioidisia, esiintyvät yksittäin tai pareittain ja ovat liikkumiskykyisiä yksittäisellä hännällä. Kanta on gram-negatiivinen ja itiöitä muodostamaton. Kolonnit ovat pyöreitä kokonaisilla reunoilla, sileitä ja harmaasta tumman harmaaseen väriin. Optimi kasvulämpötila on 35–40 °C, kuitenkin välillä 20–50 °C. Optimi pH on 5,8–6,2, kuitenkin välillä 5,2–7,4. Tarvitsee vitamiineja kasvuun. Ehdottoman anaerobinen. Sulfaatti, sulfiitti, tiosulfaatti ja puhdas rikki toimivat elektronin vastaanottajina, kuitenkin ilman nitraattia ja fumaraattia. Ei kykene omavaraiseen kasvuun. Laktaattia, pyruvaattia, malaattia, fumaraattia, etanolia, butanolia, glyserolia sekä vetyä asetaatin läsnä ollessa käytetään pääravinteena. (Basso et al. 2004.)

Desulfovibrio gracilis, solut ovat sauvamaisia, suoraa, kaarevia tai vibrioidisia ja ohuita, esiintyvät yksittäin ja ovat liikkumiskykyisiä yksittäisellä hännällä. Gram negatiivinen ja itiöitä muodostamaton. Kolonnit samankaltaisia sekä saman värisiä *Desulfovibrio bastini:n* kanssa. Optimi lämpötila 37–40 °C, kuitenkin välillä 20–40 °C. Optimi pH on 6,8–7,2, kuitenkin välillä 5,4–8,4. Tarvitsee vitamiineja kasvuun. Ehdottoman anaerobinen. Sulfaatti, sulfiitti, tiosulfaatti, puhdas rikki sekä fumaraatti toimivat elektronin vastaanottajina, nitraattia ei olla käytetty. Ei omavaraista kasvua. Laktaattia ja pyruvaattia käytetty kasvun perustana. Laktaatti hapettuu asetaatiksi ja hiilidioksidiksi. Fumaraattia ja vetyä käytetään asetaatin läsnä ollessa. Glukoosi, fruktoosi, sukkiinaatti, malaatti, fumaraatti, pyruvaatti, laktaatti, systeini ja glyseroli eivät ole fermentoituneet. (Basso et al. 2004).

Kun tarkastelee näiden kahden *Desulfovibrio*-kannan yhteistekijöitä, voidaan olettaa muidenkin kantojen ominaisuuksien, elinehtojen sekä ravinteiden noudattavan selkeää peruskaavaa. Jokaisella sulfaatinpelkistäjäkannalla on omat erikoisominaisuudet ja näitä kantoja pystytään etsimään, kehittämään sekä jalostamaan vastaamaan tilaajan vaatimuksia. Kuitenkin on hyvä pitää mielessä, että in situ kannat ovat paras vaihtoehto sulfaatinpelkistysprosessissa käytettäväksi.

4 SULFAATINPELKISTÄJÄBAKTEERIEN TOIMINNAN VARMISTAMINEN PROSESSISSA

Sulfaatinpelkistysprosessin jatkuvan ja tehokkaan toimivuuden varmistamiseksi mikrobiologista sulfaatinpelkistystä käyttävällä toimijalla tulisi olla tarkat toimintaohjeet siltä varalta, jos sulfaatinpelkistysprosessin pelkistystehokkuus alkaisi heikkenemään, prosessin syöttöputkistoihin tulee syöttövi-koja, prosessiin joutuu jotain täysin sinne kuulumatonta ainetta, syöteveden toksisten- tai muiden veteen liuenneiden aineiden pitoisuudet nousevat kriittiselle tasolle. Tässä vaiheessa digitaalinen mallinnus sekä automaattinen valvontajärjestelmä tulee vahvasti esille. Automaattinen ohjausjärjes-telmä säätää esimerkiksi prosessin pH:n, sen lämpötilan sekä katkaisee tarvittaessa veden syötön kokonaan, jotta prosessissa toimivat mikro-organismit sekä bakteerit eivät menehtyisi. Tämän jäl-keen prosessin optimaaliset olosuhteet palautettaisiin ja prosessi palaisi takaisin normaaliin toimin-taansa. Mahdollisimman tarkkojen sallittujen ainemäärien ja prosessissa toimivien mikro-organis-mien sekä bakteerien kestokyvyn selvittäminen on ensisijaisen tärkeää, jotta prosessin jatkuvatoimi-nen sulfaatinpelkistystoiminta teollisella tasolla toimisi aina niin, että sallittujen päästöjen raja-arvot eivät ylittyisi missään vaiheessa. Huonoin mahdollinen lopputulos olisi sellainen, missä sulfaatinpel-kistysprosessin tärkeimmät mikro-organismit ja bakteerit menehtyisivät kokonaan.

4.1 pH:n, lämpötilan ja prosessin puskurointikyvyn vaihtelevuus

Lämpötilan pudotessa alle 14–16 °C:en lämpötilaan anaerobisten bakteerien kasvu hidastuu huomattavasti (Coaltech a 2020). Korkeimmissa lämpötiloissa sulfaatinpelkistäjät voivat ottaa valtaa metaanin tuottajiin nähden ja lämpötilan kuuluisi olla sillä alueella, millä prosessissa käytetty sulfaatinpelkistä-jäkanta toimii parhaiten. Hetkellisetkin lämpötilan muutokset voivat rajoittaa prosessin sulfaatinpel-kistystehokkuutta ja pahimmillaan antaa valtaa muille mikro-organismeille.

Prosessi pystyy luonnollisesti sekä omavaraisesti neutraloimaan happamoitumista mm. bikarbonaa-tilla, joka on yksi sulfaatinpelkistysprosessin tuote (Greben et al. 2000). Syötevedessä olevien happa-muutta aiheuttavien aineiden määrä vaikuttaa prosessin pH:hon ja jos prosessi ei luonnostaan ehdi tuottamaan tarvittavia emäksisyyttä lisääviä aineita, tulisi syötevedessä sisältävien happamien ainei-den määrää säädellä ennen prosessiin syöttämistä. Puskurointikykyä voidaan parantaa myös lisää-mällä prosessiin keinotekoisesti emäksisyyttä lisäävää ainetta, esimerkiksi kalsiumkarbonaattia (Tor-vinen 2019).

4.2 Prosessin hapettomuuden lisääntyminen

Prosessissa tapahtuvat biologiset- (BOD) sekä kemialliset (COD) reaktiot kuluttavat luonnollisesti ve-teen liuennutta happea, lisäten prosessin hapettomuutta. Sulfaatin pelkistyminen sulfidiksi sulfaatin-pelkistysprosessissa aiheuttaa luonnostaan huomattavaa kemiallista hapen kulutusta, joka vähentää liukoisen hapen määrää prosessivedessä aiheuttaen prosessin hapettomuuden lisääntymistä. Sulfidin hapettuminen aiheuttaa, jopa 50 % hapen kulutusta (Hvitved-Jacobsen et al. 1995) ja (Cotner, J. B. & Suplee, M. W. 1996) kertoo tuloksissaan sulfidin hapettumisen käyttäneen keskimäärin 84 % saa-tavilla olevasta hapestä. Sulfaatinpelkistäjäbakteerien kasvukaudella hapenkulutus jopa nelinkertaistui alkuperäiseen kulutukseen nähden, kun sulfaatinpelkistäjien määrä nousi yhdellä suuruusluokalla ja

sulfaatinpelkistystehokkuus kasvoi jopa kahdella suuruusluokalla (Cotner, J. B. & Suplee, M. W. 1996). Edeltävässä lähteessä viitatulla suuruusluokalla tarkoitetaan bakteerien määrän korotusta yhdellä potenssiluvulla eli kymmenkertaisesti.

4.3 Sulfaatinpelkistysprosessin toksisuustekijät

Reaktiokinetiikka, massan ja aineen siirron rajoitteet sekä prosessin veden sekoituksen tehokkuus rajoittavat kemiallisten prosessien etenemistä kohti tasapainoa teollisissa sovelluksissa. Monissa tapauksissa on mahdollista löytää muutama prosessin etenemistä rajoittava tekijä, jotka voidaan liittää osaksi termodynaamista tasapainolaskentaa. Varsinkin korkealämpö- ja vesiliuosprosesseissa tämä oletus on usein voimassa. VTT:llä on pitkäaikainen kokemus tämän kaltaisten systeemien mallinnuksesta. (DCT-projektisuunnitelma 2018, 7.) Näiden rajoitustekijöiden huomaaminen ajoissa voi mahdollisesti estää toksisten aineiden kertymisen sekä joidenkin aineiden toksisuusrajan ylittymisen sulfaatinpelkistysprosessissa.

Erilaisilla orgaanisilla yhdisteillä voi olla toksisia vaikutuksia sulfaatinpelkistäjäbakteerien toimintaan erityisesti alhaisen pH:n bioreaktoreissa, koska orgaaniset hapot ovat lähinnä niiden ionisoitumattomuudessa muodossaan. Happojen päätyessä bakteerien solulimaan korkeissa konsentraatioissa sytoplasman happamuus lisääntyy mikä johtaa lopulta bakteerien kuolemaan. Liian alhainen pH bioreaktorissa on myrkyllistä bakteereille, koska se happamoittaa niiden solulimaa ja tätä kautta estää niiden energian saantia. (Papirio 2012, 34.) Luvussa 3.6.5 käytiin myös läpi laktaatin mahdollista toksista vaikutusta sulfaatinpelkistäjäbakteereille.

Metanogeeniset arkeonit ovat hyvin herkkiä hapelle ja niiden solut muodostuvat ainutlaatuisista kemiallisista yhdisteistä, jotka tekevät niistä hyvin herkkiä toksisuustekijöille (Karlsson et al. 2011). Myös sulfaatinpelkistäjäbakteerit ovat herkkiä hapelle mutta esimerkiksi luvussa 3.2 kerrottu kanta kestää hetkellisesti hapen läsnäoloa prosessissa.

Raskasmetalleilla, kuten sinkillä ja kuparilla voi olla stimuloivia vaikutuksia matalissa pitoisuuksissa ja toksisia sekä estäviä vaikutuksia korkeimmissa pitoisuuksissa. Lisäksi metallisulfiitit voivat rajoittaa sulfaatinpelkistäjäbakteerien toimintaa myös. Tutkimukset osoittivat metallisulfidien toimivan kilpenä ja estäen reagoivan aineen, kuten sulfaatin tai orgaanisen aineen, pääsyn tarpeellisille entsyymeille tai bakteereille.

Sulfaatinpelkistäjäbakteerit kuitenkin säilyttivät sulfaatinpelkistys toimivuutensa, joten metallisulfiitit eivät ole tappavan myrkyllisiä niille. Täten kaikki prosessissa muodostuneet metallisulfiitit täytyy poistaa välittömästi, jotta tehokas sulfaatinpelkistystoiminta jatkuisi. (Chaudhary et al. 2002.) Metallien täytyy kuitenkin esiintyä vapaassa muodossa, jotta niiden toksiset ja mikrobien toimintaa estävät vaikutukset tapahtuisivat (Coaltech a 2020). Tyypillinen prosessiin lisääntyvien metallien mikrobiologisten toimintojen estämisen hierarkia alkaen myrkyllisimmästä vähemmän myrkylliseen on seuraava: Kupari > Kadmium (Cd) > Nikkeli > Sinkki (Zn) > Kromi (Cr) > Lyijy (Pb). (Coaltech a 2020.)

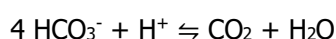
Asetaatin liiallinen kertyminen bakteerien metabolian johdosta voi happamoittaa prosessia heikentäen sen sulfaatinpelkistystehokkuutta, myös liiallisen sulfaatin määrä prosessissa voi vaikuttaa sen tehokkuuteen toimintaan, koska se voi aiheuttaa redox-potentiaalin kasvua ja prosessiveden happamoitumista. Nämä olosuhteen muutokset voivat olla suosiollisia muille prosessissa toimiville bakteereille, heikentäen sulfaatinpelkistäjien valta-asemaa. Lisäksi suuret bakteerimäärät, jotka kokoavat sulfaattia biomassaksi, kuten L-kysteiiniksi, aiheuttavat asetaatin kertymistä, joka puolestaan lisää prosessin happamuutta. Myös prosessissa olevat sienet voivat lisätä fermentaation avulla asetaatin, orgaanisten happojen sekä vedyn tuotantoa ja täten sen kokonaishappamuutta käyttäen orgaanisia yhdisteitä hapen puuttuessa. (Arnold et al. 2017.)

Coaltech a (2020) kertoo prosessin toiminnan yhtenä estävänä tekijänä olevan sulfidi, jonka oletetaan esiintyvän prosessissa vapaana rikkivetyä. Toimintaa estävien tekijöiden tiedetään toimivan korrelaatioissa yhdessä vapaan rikkivedyn- sekä kokonaissulfidien pitoisuuksilla. Mikro-organismeilla voi olla kahta eri toiminnan estymisen kynnyksiä, jossa alempi kynnys korreloi vapaan rikkivedyn kanssa ja ylempi kynnys korreloi kokonaissulfidien kanssa. Lisäksi sulfidin toksisuuteen vaikuttaa bakteerien kasvutapojen eroavaisuus, viivästynyt kasvu tai rakeinen sekä pelleteitunut, eli pallomainen kasvu. Vapaana rikkivetyä esiintyneen sulfidin toksisuuspitoisuuden huomattiin olleen 100–180 mg/l pH:n ollessa 7,6. Tämä riippuu siitä mitä substraattia sulfaatinpelkistäjäbakteerit käyttävät pelkistystoiminnassaan.

Prosessin toksisuus voi olla akuuttia tai kroonista, eli lyhytkestoista ja välitöntä tai pitkäkestoista ja toistuvaa. (Karlsson et al. 2011, 15). Kuten aikaisemmissa luvuissa on käyty läpi, akuutti prosessin toksisuus ei välttämättä tuhoa prosessia mutta se voi hidastaa tai pysäyttää prosessin toiminnan kokonaan. Joillakin bakteereilla on kyky sopeutua pitkäaikaisiin muutoksiin prosessissa. Nämä muutokset voivat liittyä prosessin happamuuteen, alkaliteettiin, johtokykyyn sekä prosessissa kiertäviin aineisiin, yhdisteisiin sekä metalleihin. Kaikilla kemiallisilla ja mikrobiologisilla toiminnoilla on substraatti, jota käytetään bakteerien metaboliassa. Substraatin muuntautuessa bakteerien toimesta sen pH muuttuu samalla, vaikuttaen prosessin kokonais-pH:n arvoon. Esimerkiksi metaanin tuottajat ovat erityisen herkkiä sulfaatinpelkistyksestä muodostuneelle rikkivedylle, koska se estää suoraan bakteerien metabolisten aktiiviteettia ja vapaata rikkivetyä voidaan poistaa prosessista hiilidioksidin-, vedyn- tai metaanin tuotannon avulla (Karlsson et al. 2011, 16).

Lyhytkestoisten ionisoitumattomien haihtuvien happojen kuten asetaatin, butyraatin ja propionaatin korkeat pitoisuudet voivat aiheuttaa prosessin happamoitumista ja vähentää alkaliteettia, koska pitkäketjuisten rasvahappojen kemiallinen koostumus voi liuoittaa bakteerien soluseinämiä. (Karlsson et al. 2011, 16).

Kaavassa 7, etanolin hapettuessa täysin, se nostaa pH:ta, koska bikarbonaatti muuntuu hiilidioksidiksi nostaten prosessin alkaliteettia (Arnold, M. Blomberg, M. Mäkinen, J. & Salo, M. 2017).

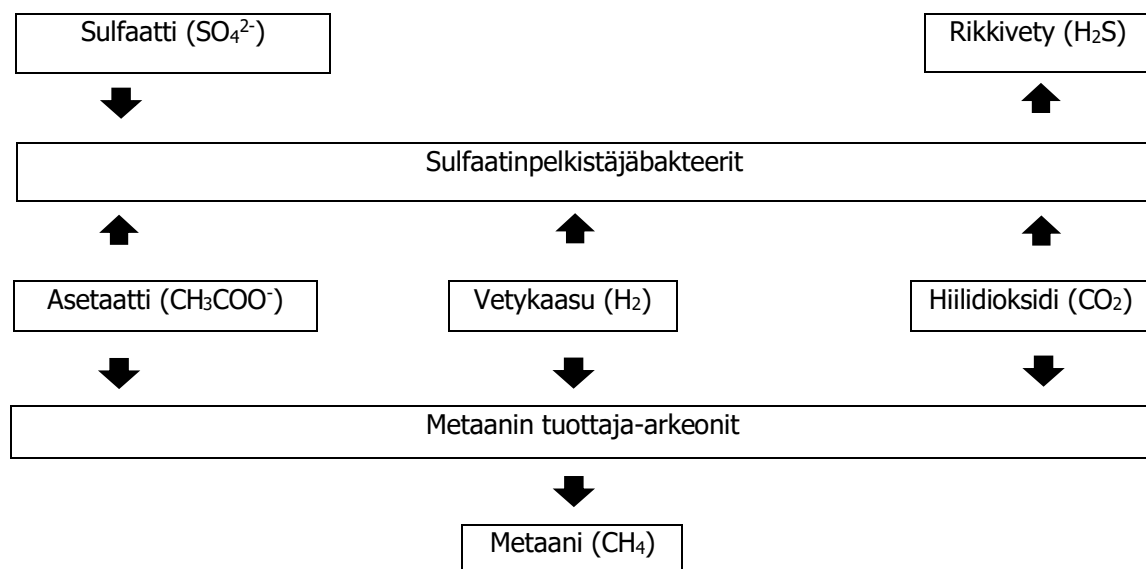


Cotner, J. B. & Suplee, M. W. (1996) huomasivat, että korkeiden sulfaattipitoisuuksien ei huomattu rajoittavat sulfaatinpelkistystä lainkaan. Sulfidin läsnä ollessa suurella osalla prosessissa olevien metallien liukoisuus on hyvin alhaista. Metallisulfidien liukoisuus on pienempi kuin sitä vastaavat hydroksidien tai karbonaattien liukoisuudet, poikkeuksena näihin toimii alumiini (Al), mangaani (Mn) sekä mahdollisesti sinkki. Metallien toksisuus reaktoriin on tästä syystä alentunut anaerobisissa oloissa. (Coaltech a 2020.)

4.4 Metanogeenisten arkeonien ja sulfaatinpelkistäjäbakteerien välinen kilpailu

Prosessin tasaisen ja tehokkaan toimivuuden kannalta on hyvä varmistaa prosessiin syötettävän veden laatu, kuten vedessä sisältävien metallien määrä sekä mahdolliset prosessia haittaavat aineet. Myös prosessiin lisättävän hiilenlähdettä ja sen määrää tulisi tarkkailla, koska laktaatti pelkistyy mm. aseetaatiksi, jota sulfaatinpelkistäjäbakteerien lisäksi muutkin bakteerit pystyvät edelleen käyttämään energian lähteenä omissa toiminnoissaan. Prosessin toimintaa tulee valvoa indikaattoreiden avulla, kuten tuotetun rikkivedyn tai metaanin määrästä, jotka kertovat reaktorin biologisesta toiminnasta ja sitä kautta siellä toimivien bakteerien määrästä.

KUVIO 2 havainnollistaa kuinka saatavilla olevat hiilenlähteet muuntautuvat metaanin tuottajien sekä sulfaatinpelkistäjien metaboliassa rikkivedyksi ja metaaniksi. Vallitsevat olosuhteet prosessissa määrittävät mitkä mikrobiologiset toiminnot ottavat vallan prosessissa.



KUVIO 2. Kilpailu sulfaatinpelkistäjäbakteerien ja metaanin tuottajien kesken saatavilla olevasta aseetaatista, vedystä sekä hiilidioksidista (Karlsson et al. 2011, 9).

Kun sulfaatinpelkistäjät ja metanogeeniset bakteerit lisääntyvät esimerkiksi vedyn ja aseataatin avulla, niin tilanne aiheuttaa luonnollisen kilpailun niiden välillä saatavilla olevasta hiilen- sekä energianlähteestä. Jos aseataatin saatavuus on huono, käytetyn substraatin ja käytetyn sulfaatin suhteen ollessa pienempi kuin 2, sulfaatinpelkistäjäbakteerit hankkivat vedyn sekä aseataatin metaanin tuottajia helpommin. Suhteen ollessa 2–3 välillä, bakteerien välinen kilpailu on hyvin kiivasta. Suhteen ollessa suurempi kuin 3, niin metaanin tuottajat hankkivat vedyn sekä aseataatin sulfaatinpelkistäjiä helpommin. (Karlsson et al. 2011, 9.)

Mitä enemmän hiilenlähdettä on saatavilla, sitä enemmän muiden hiilestä kilpailevien mikro-organismien toiminta lisääntyy, vähentäen haluttua sulfaatinpelkistystoimintaa.

Asetaattia muodostavilla bakteereilla on symbioottinen suhde metaanin tuottajien kanssa ja niiden kasvunopeus on hyvin hidasta. Näiden bakteerien tuottamaa asetaattia käytetään hyväksi metanogeenisten bakteerien metaanin tuotannossa, myös sulfaatinpelkistäjäbakteerien sulfaatinpelkistyksessä. Kun asetaattia syntyy, tuottaa asetaattia muodostavat bakteerit sivutuotteenaan vetyä. Tämä tuotettu vety aiheuttaa prosessiin painetta, joka vaikuttaa haitallisesti asetaattia tuottavien bakteerien toimintaan, koska ne ovat hyvin herkkiä itse tuottamalleen vedylle. Ne pystyvät selviämään ainoastaan, jos niiden tuottamaa vetyä poistetaan jatkuvasti prosessista. Metaanin tuottajat käyttävät osan tästä vedystä omassa metanogeneesissä, luonnollisesti poistaen merkittävän määrän tätä vedystä aiheutuvaa painetta. (Karlsson et al. 2011, 9.) Useat tutkimukset viittaavat siihen, että sulfaatinpelkistäjäbakteerit yleisesti ottaen päihittävät metanogeeniset arkeonit sekä asetogeeniset bakteerit kun niille on saatavilla sopivat elektronin vastaanottajat ja riittävä määrä sulfaattia on saatavilla niiden suuremmasta mieltymyksestä vetykaasulle. Kuitenkin eräänlainen tutkimus osoittaa, että riippuen täysin siitä mihin kantaan nämä edellämainitut bakteerit kuuluvat, ne voivat elää täysin sovussa keskenään, kilpailematta lainkaan saatavilla olevista resursseista. (Arnold et al. 2017.)

5 JOHTOPÄÄTÖKSET

Monet työssä käydyt tieteelliset artikkelit sulfaatin pelkistykseen liittyen, niiden koeajot sekä tutkimustulokset eroavat suuresti. Niissä ilmoitetut tulokset, prosessin yleinen aktiivisuus sekä sulfaatinpelkistystehokkuus ovat riippuvaisia monista tekijöistä, kuten minkälaisia sulfaatinpelkistäjäkantoja, syntrofisia bakteerikantoja, sieniä sekä arkeoneja prosessissa toimii. Myös prosessiin syötettävän veden laadun vaihtelevuus vaikuttaa suuresti prosessiin, koska eri prosessivesissä on luonnostaan erilainen puskurointikyky, johon vaikuttaa mm. pH, redox-potentiaali sekä sähkönjohtavuus. Prosessin täydellinen mallintaminen vaatisi teoriassa jokaisen prosessissa toimivan mikrobikannan tarkan määrittämisen, jokaiselle mikrobille ominaisen kasvuympäristön luomisen, siitä aiheutuvan vuorovaikutuksen täydellisen tasapainon ja lopulta kaikkien näiden toimintojen välisen suhteen optimoimisen sulfaatinpelkistystehokkuuden ollessa ylitse muiden toimintojen. Arnold et al. (2017) pitää mahdollisena geneettisesti muunnettujen mikrobien tai mikrobiyhtymien käyttöä mahdollisimman tehokkaan prosessin sekä prosessihallinnan luomiseksi.

Torvinen (2019) toimi tilaajan omana sulfaatinpelkistyskoeajojen testausvastaavana ja epäili omassa koeajossaan mm. asetaatin kertymisen syynä olleen sulfaatinpelkistäjäbakteerien vähäinen aktiivisuus, jonka vuoksi prosessiin syötettävää etikkahappoa alettiin vähentämään. Tämä johtui siitä, että epäiltiin muiden prosessissa toimivien mikro-organismien käyttävän etikkahappoa omassa toiminnossaan, syrjäyttäen sulfaatinpelkistäjäkannat. Luvussa 4.3.2 todettiin, että sulfaatinpelkistäjäbakteerit kykenevät käyttämään asetaattia metanogeenisiä bakteereja paremmin, jos pelkistetyn sulfaatin ja käytetyn substraatin suhde on pienempi kuin 2. Myös liiallinen asetaatin sekä vedyn määrä voi aiheuttaa toksisuutta sulfaatinpelkistysprosessiin, varsinkin jos ympäristö on sisältänyt luonnostaan asidofiilisiä metaanin tuottajia, joiden toimintaan happamuus ei vaikuta.

Luvussa 4.3.2 todettiin asetogeenisten bakteerien tuottavan vetyä prosessiin, joka puolestaan aiheuttaa hydraulista painetta prosessiin, tämä paine voi olla sulfaatinpelkistäjille hyvin rajoittava tekijä ja vetyä tulisi saada johdettua ulos prosessista. Metanogeeniset bakteerit käyttävät tätä vetyä omassa metaboliassaan, täten vedyn kertyminen prosessiin edesauttaa metanogeenisten kantojen hyvinvointia sekä kasvua, samalla heikentäen sulfaatinpelkistäjien valta-asemaa.

Luvussa 3.3 läpikäydylä redox-potentiaalilla on myös erittäin suuri vaikutus sulfaatinpelkistysprosessiin, sen ollessa suoraan verrannollinen prosessissa tapahtuvien kemiallisten reaktioiden määrään, niiden nopeuteen sekä tyyppiin. Esimerkiksi orgaanisten yhdisteiden pelkistymisen mahdollistavan metanogeenisten bakteerien toiminta tapahtuu < -400 mV lukemissa, kun taas sulfaatinpelkistystoiminta tapahtuu < -125 mV arvossa. Myös luvussa 3.6.1 läpikäytiin happamuuden aiheuttavan asetaatin muodostumista prosessiin parantaen metanogeenisten bakteerien asemaa samalla heikentäen sulfaatinpelkistystehokkuutta.

Prosessin tehokkaan toimivuuden kannalta sinne on aina syytä lisätä hiilenlähde, joka mahdollistaa siellä toimivien bakteerien tehokkaan pelkistystoiminnan. Etanoli oli yleisin käytetty ulkoinen hiilenlähde monissa läpikäydyissä tutkimuksissa sen edullisen tuottamisen, kuljettamisen sekä varastoinnin

helppouden ja turvallisuuden vuoksi. Arnold et al. (2017) huomasi etanolin toimiessa hiilenlähteenä, että heidän tapauksessaan etanoli hapettui epätäydellisesti. Lisäksi koeajon aikana vallinneet olosuhteet mahdollistivat biomassan liiallisen kertymisen, joka puolestaan lisäsi käymisprosesseja aiheuttavien mikrobien määrää. He myös epäilivät, että tehokkaamman sulfaatin pelkistymisen saavuttamiseksi syöteveden oloaika prosessissa tulisi nopeuttaa, jotta liiallista biomassaa ei ehtisi kertymään. Myös mikrobit, jotka hapettavat prosessissa muodostuvaa asetaldehydia ja josta edelleen asetaattia käyttämällä hiilidioksidiksi, tulisi erotella prosessivirrasta.

LÄHTEET JA TUOTETUT AINEISTOT

ADVANCES IN MICROBIAL PHYSIOLOGY, 2014. Generation of the proton motive force: An essential property of all bacterial cells. [Verkkojulkaisu]. [Viitattu 2020-10-04.] Saatavilla: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/proton-motive-force>

ANGENENT, L., GUZMAN, J. & SOUSA D. 2019. Development of a bioelectrochemical system as a tool to enrich H₂-producing syntrophic bacteria. [Verkkojulkaisu]. [Viitattu 2020-24-02.] Saatavilla: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00110/full>

ANTIKAINEN, E., HUTTUNEN, J., JANHUNEN, M. & VEPSÄLÄINEN J. 2018. Savonia ammattikorkeakoulu & Itä-Suomen yliopisto. Metsäteollisuuden jätevesien energiategokas esikäsittely. Loppuraportti. [Projektimateriaali]. [Viitattu 2020-27-02.]

AUROLA, R. 2019. Sulfator Oy. Biokemian diplomi-insinööri. Palaveri.

ARNOLD, M., BOMBERG, M., MÄKINEN J. & SALO, M. 2017. Microbial community structure and functions in ethanol-fed sulphate removal bioreactors for treatment of mine water. VTT technical centre of Finland. [Projektimateriaali]. [Viitattu 2020-20-03.]

BASSO, O., CAUMETTE, P., MAGOT, M. & TARDY-JACQUENOD, C. 2004. *Desulfovibrio bastinii* sp. nov. and *Desulfovibrio gracilis* sp. nov., moderately halophilic, sulphate-reducing bacteria isolated from deep subsurface oilfield water. [Projektimateriaali]. Université de Pau et des Pays de l'Adour. [Viitattu 2020-03-03.]

BWTE. 2018. Biological waste treatment expert. Redox-potential or ORP – how it relates to wastewater treatment. [Verkkojulkaisu]. [Viitattu 2020-29-03.] Saatavilla: <https://www.biologicalwasteexpert.com/blog/redox-potential-or-orp-how-it-relates-to-wastewater-treatment>

CHAUDHARY, N., GOVIND, R., HAINES J. R., HARMON, S. M., TABAK, H. H. & UTGIKAR, V. P. 2002. Inhibition of sulphate-reducing bacteria by metal sulphide formation in bioremediation of acid mine drainage. Abstract. [Verkkojulkaisu]. [Viitattu 2020-06-03.] Saatavilla: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/tox.10031>

COALTECH A. 2020. Evaluation of new and emerging mine water treatment technologies, Part A, Evaluation of the CSIRosure sulphate removal process. [Projektimateriaali]. [Viitattu 2020-06-02.]

COALTECH ES. 2020. NIEKERK, V. Evaluation of new and emerging mine water treatment technology, Executive summary. [Projektimateriaali]. [Viitattu 2020-06-02.]

COLLERAN, E., LEAHY, B., LENS, A. & O'FLAHERTY, V. 1998. Environmental research unit, Department of microbiology, University college, Galway, Ireland and ADM Ringaskiddy, Co. Cork, Ireland. Long-term competition between sulphate reducing and methane producing bacteria during full-scale anaerobic treatment of citric acid production wastewater.

CONRAD, R., FRIEDRICH M.W., GOLYSHIN P. N., KOTSYURBENKO O. R., NOZHEVNIKOVA A. N., SIMANKOVA M. V. & TIMMIS K. N. 2007. Shift from acetoplastic to H₂-dependent methanogenesis in a west Siberian peat bog at low pH values and isolation of an acidophilic *Methanobacterium* strain. Microbiological institute, Carolo-Wilhelmina technical university. [Viitattu 2020–15–03.] Saatavilla: https://www.researchgate.net/publication/6527959_Shift_from_Acetoclastic_to_H2-Dependent_Methanogenesis_in_a_West_Siberian_Peat_Bog_at_Low_pH_Values_and_Isolation_of_an_Acidophilic_Methanobacterium_Strain/download

COSUMA. 2018. KANGAS, J. & RÄMÖ, J. Comprehensive sulphate management in cold mining waters. Environmental and health impacts of sulphate [Projektimateriaali]. [Viitattu 2020–17–02.]

COTNER, J. B. & SUPLEE, M. W. 1996. Temporal changed in oxygen demand and bacterial sulphate reduction inland shrimp ponds. Abstract. [Verkkojulkaisu]. [Viitattu 2020-13-04.] Saatavilla: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848696013397>

DCT-PROJEKTISUUNNITELMA. 2018. LAHTINEN, T., PASANEN, A., LERSSI, J., TURUNEN, K., PULLINEN, A. & MURIZZAMAN Md. Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy, Deep Clean Tech-hanke. KaivosVW-hanke pohjavesiopas, Geological survey of Finland, Industrial Environments and recycling. [Projektimateriaali]. [Viitattu 2020–02–03.]

GPP. 2020. Global petrol prices. [Verkkojulkaisu]. [Viitattu 2020–24–02.] Saatavilla: https://globalpetrolprices.com/ethanol_prices/

GREBEN, H.A., MAREE, J.P. & MNQANQENI, S. 2000. Division of water, environment and forestry technology. Comparison between sucrose, ethanol and methanol as carbon and energy sources for biological sulphate reduction. [Projektimateriaali]. [Viitattu 2020–17–02.]

HEIKKINEN, J., KAARTINEN, T., KINNUNEN, P., KYLLÖNEN, H., MIETTINEN, V. & MÄKINEN, J. 2017. Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy. Sulphate removal from mine water with chemical, biological and membrane technologies. [Projektimateriaali]. [Viitattu 2020–06–04.]

HELMESTINE, A. M. 2020. Ph.D. Electrical conductivity definition. ThoughtCo. [Viitattu 2020–17–02.] Saatavilla: <https://www.thoughtco.com/definition-of-electrical-conductivity-605064>

HVITVED-JACOBSEN, T., NIELSEN P. H. & NORSKER N.H. 1995. Environmental engineering laboratory, Aalborg university, Denmark. Influence of oxygen on biofilm growth and potential sulphate reduction in gravity sewer biofilm, pp. 159–167. [Viitattu 2020–12–04.]

JANHUNEN, M. 2020. TKI-asiantuntija. Kuopio: Savonia Ammattikorkeakoulu. Teknologia- ja ympäristöala. Suullinen tiedonanto.

KARLSSON, N., MATTSON M. & RUNSTEDT J. 2011. Improving biogas production by anaerobic digestion of different substrates. Calculation of potential energy outcomes. [Projektimateriaali]. [Viitattu 2020–17–02.]

KEKKO, T. 2020. Sulfator Oy. Kehitysvastaava. Sähköpostikeskustelu.

KHO. 2020. Korkein hallinto-oikeus. Kittilän kaivoksen ympäristölupa. Sulfaattipäästöjen raja-arvoja. [Verkkajulkaisu]. [Viitattu 2020–05–04.] Saatavilla: <https://www.kho.fi/fi/index/paatoksia/muitapaa-toksia/muupaatos/1463659061749.html>

KUENEN, J. G. & ROBERTSON L. A. 2006. The prokaryotes, the colorless sulphur bacteria. Saatavilla: https://media.springernature.com/lw785/springer-static/image/chp%3A10.1007%2F0-387-30742-7_31/MediaObjects/978-0-387-30742-8_31_Fig1_HTML.jpg

LENNTECH. 2020. Water conductivity, definition and description. [Verkkajulkaisu]. [Viitattu 2020–29–03.] Saatavilla: <https://www.lenntech.com/applications/ultrapure/conductivity/water-conductivity.htm>

LYEW, D. & SHEPPARD, J. 2001. Department of agricultural and biosystems engineering, Macdonald campus, McGill university. Use of conductivity to monitor the treatment of acid drainage by sulphate-reducing bacteria, pp. 2081–2086. [Viitattu 2020–12–04.] Saatavilla: https://www.academia.edu/20650793/Use_of_conductivity_to_monitor_the_treatment_of_acid_mine_drainage_by_sulphate-reducing_bacteria

METHANEX. 2020. [Verkkajulkaisu]. [Viitattu 2020–24–02.] Saatavilla: <https://methanex.com/our-business/pricing>

MROUEH, U-M. & VESTOLA E. 2008. Sulfaatinpelkistyksen hyödyntäminen happamien kaivosvesien käsittelyssä. Opas louhoskäsittelyn hallintaan. [Projektimateriaali]. [Viitattu 2020–27–02.]

PAPIRIO, S. 2012. Università degli Studi di Cassino e del Lazio Meridionale. Thesis for the Ph.D. degree in civil engineering, Fluidized-bed bioreactor applications for the treatment of metal-, sulphate- and nitrate contaminated mine waters. Opinnäytetyö. [Viitattu 2020–06–02.]

PAULO, L. M., SOUSA, D. Z. & STAMS, A. J. M. 2015. Methanogens, sulphate and heavy metals: a complex system, pp. 537–553. [Verkkajulkaisu]. [Viitattu 2020–13–04.] Saatavilla: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11157-015-9387-1>

PUBCHEM. 2020. U.S. national library of medicine. National center for biotechnology information. [Verkkajulkaisu]. [Viitattu 2020–27–02.] Saatavilla: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

PÖYRY. 2018. Terrafame Oy:n ympäristövaikutusten arviointiselostus. [Viitattu 2020–20–04.] Saatavilla: https://www.terrafame.fi/media/mediapankki/kaivostoimintaa-koskeva-yva/yva-selostus/aa-terrafame_tuotanto_yva_selostus_180817_web.pdf

RVT. 2020. Biological carrier media. [Verkkajulkaisu]. [Viitattu 2020–04–03.] Saatavilla: <https://www.rvtpe.com/en/products/biological-carriers/>

SØNDERGAARD, M. 2009. Redox potential. [Verkkajulkaisu]. [Viitattu 2020–29–03.] Saatavilla: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123706263001150?via%3Dihub>

SULPHATE REMOVAL FROM MINING WATERS. 2019. HÄKKINEN, A., MAMELKINA, M., SILLANPÄÄ, M. & TUUNILA, R. Lappeenranta-Lahti University of Technology. [Viitattu 2020–03–02.]

SULFAATIT VESSÄMME. 2017. SAVE-hanke, San Pellegrino ja Savijoki – sulfaatit vesissämmme. [Verkkajulkaisu]. [Viitattu 2020–06–02.] Saatavilla: <https://blogs.helsinki.fi/save-kipsi-hanke/2017/08/28/san-pellegrino-ja-savijoki-sulfaatit-vesissamme/>

TIETEEN TERMIPANKKI. 2020. Ympäristötieteet, redox-potentiaali. [Verkkajulkaisu]. [Viitattu 2020–17–02.] Saatavilla: <https://tieteentermipankki.fi/wiki/Ymp%C3%A4rist%C3%B6tieteet:redox-potentiaali>

TORVINEN, O. 2019. Testausinsinööri. Kuopio: Savonia-ammattikorkeakoulu oy. Teknologia- ja ympäristöala. Palaveri.

USGS. 2020. Science for a changing world. Hardness of water. [Verkkajulkaisu]. [Viitattu 2020–17–02.] Saatavilla: https://www.usgs.gov/special-topic/water-science-school/science/hardness-water?qt-science_center_objects=0#qt-science_center_objects

VFF. 2020. Thurne teknik plastic. Random packings made of plastic. [Projektimateriaali]. [Viitattu 2020–04–03.]






WAGENINGEN, 2020. Microbial interactions in marine anoxic sediments: competition or teamwork? [Verkkoaineisto]. [Viitattu 2020–17–03.] Saatavilla: <https://www.wur.nl/en/show/Microbial-interactions-in-marine-anoxic-sediments-competition-or-teamwork-1.htm>

WEJIMA. 2002. ResearchGate. Optimization of sulphate reduction in a methanol-fed thermophilic bioreactor. [Projektimateriaali]. [Viitattu 2020–03–03.] Saatavilla: https://www.researchgate.net/publication/11329345_Optimization_of_sulfate_reduction_in_a_methanol-fed_thermophilic_bioreactor

YMPÄRISTÖOPAS. 2005. LAKSO, E. & ULVI, T. Edita, Suomen Ympäristökeskus. Ympäristönsuojelu, Järvien kunnostus. [Viitattu 2020-17-02.] Saatavissa: <https://ymparisto.fi/julkaisut>

ZEIKUS, J. G. 1977. Department of bacteriology, University of Wisconsin. The biology of methanogenic bacteria. American society for microbiology. Bacteriological reviews, June 1977, p. 514-541 [Viitattu 2020-27-02.] Saatavilla: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC414011/pdf/bactrev00056-0156.pdf>

LIITTEET

Physical properties				
Description	Nominal size [mm]	Spec. weight* [kg/m ³] (*PP)	Spec. surface [m ² /m ³]	Free volume [%]
Novalox®- Saddle 	38	80	170	91
	50	75	120	92
Pall®-Ring 	15	80	350	91
	25	80	220	91
	38	60	145	93
	50	45	110	95
	90	60	78	93
VSP® 	25	60	185	93
	50	45	100	95
	90	30	78	97
Igel® 	40	120	300	87
VFF-NetBall® 	45	42	140	95
	90	41	130	95

Materials for VFF-Random Packings made of plastic

Standard: <ul style="list-style-type: none"> • PE • PP • PVDF 	Upon request: <ul style="list-style-type: none"> • PVC • PFA, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> Carbon endowment Electric conductivity
--	--	---

LIITE 1. Tuotekatalogi. VF:n valmistamia täytekappalevaihtoehtoja, täytekappaleita on saatavilla PE-, PP-, PVDF-, PVC- sekä PFA-muoveina.