



BIOHAJOAVUUDEN MÄÄRITYS KIINTEÄSSÄ FAASSISSA BOD OXITOP -MENETELMÄLLÄ.

Uusien kemikaalien suunnittelussa ja valmistuksessa tulee nykypäivänä kiinnittää entistä enemmän huomiota käytettyjen kemikaalien, valmistusprosessien ja lopputuotteiden ympäristövaikutuksiin. Euroopan Unionin direktiivin 67/548/ETY mukaan uusien aineiden ihmisen terveydelle ja ympäristölle aiheuttamat riskit on testattava ja arvioitava hyväksytyillä mittaamenetelmillä. EU:n komission strategiassa ehdotetaan, että uusia aineita koskeva järjestelmä muutetaan siten, että se koskisi myös olemassa olevia aineita eli aineita, jotka on ilmoitettu markkinoille saatetuksi syyskuussa 1981. Olemassa olevien aineiden testaus ja arviointi tulisi kokonaisuudessaan saada päätökseen vuoteen 2012 mennessä. Kemikaalien reaaliaikainen ominaisuuksien seuranta vaatii uusien analyttisten menetelmien kehittelyä ja testausta, joten testausmenetelmien tarkastelu ja kehittäminen onkin jatkuva haaste. Direktiivissä 67/548/ETY: liite V, osa C, on listattu useita menetelmiä kemikaalien ympäristömyrkyllisyyden testaukseen, ja biohajoavuuden mittaamenetelmät löytyvät tästä osasta. Menetelmien joukkoon on hyväksytty myös manometrinen respirometrinen testi, jollainen BOD Oxitop –menetelmä on.

BOD Oxitop -menetelmällä Oulun yliopistolla on tehty BOD-mittauksia vesifaasissa vuodesta 2000 lähtien. Menetelmää käytetään erilaisten kemiallisten yhdisteiden, erityisesti erilaisten uusien ja käytettyjen öljyjen (mineraaliöljyt, bioöljyt, synteettiset öljyt) biohajoavuuden ja niihin vaikuttavien tekijöiden tutkimiseen pohjavesissä, OECD 301F standardiolosuhteissa ja luonnonvesissä sekä BOD_n-arvon ennustamiseen lyhytaikaisesta mittauksesta. Ko. menetelmän sovellutuksia on integroitu jätevesipuhdistamoilla prosessin säädön työkaluksi.

Kiinteässä faasissa tapahtuvaan biohajoavuuteen vaikuttaa bakteeritoiminnan lisäksi monta eri tekijää. Kosteuden vaikutus on merkittävä sen nopeuttaessa biohajoamista, koska täysin kuivissa olosuhteissa bakteerit eivät kykene toimimaan. Eräät bakteerilajit muodostavat kuitenkin itiöitä, joiden avulla ne selviävät siihen asti, kunnes ympäröivät olosuhteet muuttuvat niiden kannalta suotuisammiksi. Kosteuden lisääntyessä, varsinkin bakteeriperäisessä hajoamisessa, lähestytään liuosolosuhteita, jolloin biohajoaminen nopeutuu. Toisaalta puun selluloosan ja ligniinin kohdalla hajoamisen aiheuttavat makrosienet, jotka eivät toimi vedessä, minkä vuoksi tällaisten aineiden biohajoavuus voidaan mitata ainoastaan kiinteässä faasissa.

Ravinteiden vaikutus biohajoavuuteen on hyvin selkeä. Ravinneköyhissä maaperissä hajoaminen on erittäin hidasta. Esimerkiksi hiekassa hajoamista ei tapahdu juuri ollenkaan, koska siellä ei ole bakteereille sopivia olosuhteita.

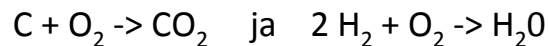
Myös lämpötilan vaikutus on hyvin selkeä. Jäisessä maaperässä ei tapahdu biohajoamista ja lämpötilan noustessa liian korkeaksi biohajoaminen hidastuu. On olemassa myös extreme-olosuhteissa (ääriolosuhteet) toimivia bakteereja, mutta niillä ei ole merkitystä biohajoavuusmittausten kannalta, koska tällaiset olosuhteet ovat hyvin ravinneköyhiä. Kiinteän faasin biohajoavuusmittauslämpötila on yleensä 20 °C.

Manometrisen respirometrin mittauksen periaate

Kiinteän faasin BOD-määrittämiin soveltuvaa laitteistoa (Kuva 1) voidaan käyttää kiinteiden biomassa-äytteiden ja pilaantuneissa maaperissä tapahtuvien biotuhautuvuuksien määrittämiin. Olosuhteiden optimointi sekä mallintaminen ja ennustaminen tapahtuu iteroimalla biotuhautuvuuden avulla tapahtuvan puhdistumisen edistymistä.

Kiinteän faasin BOD OxiTop -laitteistolla tapahtuva havainnointi perustuu paineen pienenemisen automaattiseen detektointiin tiheällä aikavälillä. Määrittäksen pituus voi vaihdella yhdestä päivästä 99 päivän jaksoon. Koska havainnointi perustuu paineen mittaukseen, määrittästä kutsutaan manometriseksi. Termi respirometrinen tulee puolestaan siitä, kun bakteerit tarvitsevat elintoimintoihinsa happea ja tuottavat hiilidioksidia soluhengitys-toiminnassa. Reaktiotuote eli hiilidioksidi [CO₂] imeytetään väkevään NaOH-liuokseen ja näin havaitaan hapen paineen muutoksesta johtuva paineen alenema kaasufaasissa. Reaktiossa vedyn ja hapen välillä syntyvä vesi ei kulkeudu kaasufaasiin, vaan imeytyy myös NaOH-liuokseen, joten tästäkin hapenkulutuksesta saadaan paineen alenema kaasufaasiin. Biotuhautuvuusaste kiinteässä faasissa voidaan laskea kulutetun hapen avulla.

Yhdisteiden biotuhautuminen täydellisesti tuottaa hiilidioksidia, vettä ja ammoniakkia. Näytteen sisältämien hiilen ja vedyn määrien perusteella voidaan laskea teoreettinen hapenkulutus. Biotuhautuvuus reaktion perusyhtälö yleisesti hiilivedyille on muotoa:



Mahdollisia muita tekijöitä, kuten tyyppiä ja rikkiä ei oteta huomioon. Reaktioyhtälöstä nähdään, että yksi mooli hiiltä kuluttaa yhden moolin happea ja kaksi moolia vetyä kuluttaa yhden moolin happea. Hieman tarkemman teoreettisesta luvusta saisi huomioimalla myös yhdisteen sisältämän hapen, mikä nostaisi teoreettisen biotuhautuvuuden arvoa. Jos laskenta suoritetaan pelkästään hiilen määrään perustuvana, saadaan tulokseksi huomattavasti pienempi teoreettinen arvo, jopa 30 % pienempi, ja näin ollen paljon isompi biotuhautuvuusaste kuin otettaessa myös vety laskennassa huomioon.



Kuva 1. BOD OxiTop -laitteisto kiinteän faasin mittauksiin

Biotuhautuvuustutkimuksissa voidaan selvittää mm. haitta-aineiden biotuhautumisnopeuteen vaikuttavien parametrien, kuten maan tai veden pH:n, ravinnepitoisuuksien sekä lämpötilan merkitystä. Lisäksi erilaisten sovitussyhtälöiden avulla voidaan lyhyempikestoista mittauksista ennustaa kemikaalien biotuhautuvuusasteen edistymistä erilaisissa ympäristöissä. Menetelmää on sovellettu myös pilaantuneiden maiden puhdistustarpeen määrittämiseen. Kiinteässä faasissa tapahtuvista BOD OxiTop -määrittäyksistä on dos. Toivo Kuokkasen tutkimusryhmässä laadittu kansainvälisiä tiedejulkaisuja, kuten:

1. M. Karhu, J. Kaakinen, T. Kuokkanen and J. Rämö: Biodegradation of Light Fuel Oils in Water and Soil as Determined by the Manometric Respirometric Method. - *Water, Air and Soil Pollution*, 2009, 197, 3-14.
2. K. Roppola: Environmental Applications of Manometric Respirometric Methods. PhD thesis. Acta Universitatis Ouluensis, 2009.

Biohajoavuusasteen laskeminen kiinteässä faasissa

Biohajoavuusasteen ja biologisen hapenkulutuksen laskemiseen tarvitaan näytteen lähtötiedot. Määritettäviä parametreja ovat tilavuuspaino (josta saadaan laskettua tiheys), kosteusprosentti sekä C- että H-pitoisuudet. Mittaustiaan laitettaessa näyte on myös punnittava.

Teoreettinen BOD -arvo [ThOD] lasketaan käyttäen lähtötietona näytteen sisältämää hiilen ja vedyn määrää ja tulos ilmoitetaan yksiköissä milligrammaa happea näytelitraa kohti [$\text{mg O}_2/\text{dm}^3$].

Biohajoavuusastetta $[\text{BOD}/\text{ThOD}] \times 100 \%$ laskettaessa mitatuista arvoista määritetään:

- 1) Näytteen todellinen paino huomioiden kosteuspitoisuus.
- 2) Näytteen tilavuus saadaan jakamalla massa tiheydellä.
- 3) Näyteastian vapaa kaasufaasin tilavuus V , joka saadaan vähentämällä näytepullon tilavuudesta sen sisältämien aineiden ja astioiden tilavuudet.
- 4) Lasketaan biohajoavuudessa kuluneen hapen massa Δm ideaalikaasujen tilanyhtälöstä:

$$\Delta m = \Delta p \times V \times M_{\text{O}_2} / (R_{\text{O}_2} \times T) \quad (R = \text{kaasuvakio ja } T = \text{lämpötila})$$

- 5) Kun massa $[m_{\text{näyte}}]$ tunnetaan, saadaan BOD-arvo laskettua:

$$\text{BOD} [\text{g/g}] = \Delta m / m_{\text{näyte}}$$

- 6) Hiilen massan $[m_C]$ avulla saadaan laskettua ja tästä teoreettinen hapenkulutus [ThOD]:

$$\text{ThOD} [\text{g/g}] = [m_C \times (M_{\text{O}_2}/M_C)] / m_{\text{näyte}}$$

- 7) Lopuksi saadaan laskettua biohajoavuusaste yhtälöllä:

$$\text{Biohajoavuusaste } (\%) = [\text{BOD}/\text{ThOD}] \times 100\%$$

Teoreettinen tarkasteltuna öljyille (hiilivedyt):

100 g näytettä, sisältää keskimäärin 75 g hiiltä ja 10 g vetyä, vastaten 200 g hapenkulutusta reaktiossa $\text{C} \Rightarrow \text{CO}_2$ ja 80 g hapenkulutusta reaktiossa $\text{H}_2 + 1/2\text{O}_2 \Rightarrow \text{H}_2\text{O}$ eli yhteenlaskettuna ThOD = 280 g.

Yleisiä mittausaikoja ja niitä vastaavia symboleja, joissa mittausaika on alaindeksinä: BOD_7 , BOD_{28} , yleisemmin BOD_n

Kiinteät näytteet tutkitaan joko sellaisenaan tai käytetään väliainematriiseja, kuten erilaiset maaperät.

Punnittavat näytemäärät vaihtelevat milligrammoista satoihin grammoihin johtuen biohajoavan aineksen määrästä.

Pitkäkestoissa BOD-määrittelyissä saattaa mittausastioihin syntyä hometta, hiivoja ja/tai sieniä, joista johtuva biohajoaminen vääristää BOD-tulosta. Tuloksen vääristymää on mahdotonta estimoida ko. mittausmenetelmällä. Tulosten vääristymä johtuu siitä, että hajoamisessa syntyviä kaasuja ei voida identifioida paineen muutokseen perustuvalla detektoinnilla.

Hanna Prokkola, hanna.prokkola@oulu.fi,
Matti Kuokkanen, matti.kuokkanen@oulu.fi
Toivo Kuokkanen, toivo.kuokkanen@oulu.fi