

Pro gradu -tutkielma

Lisäaineiden vaikutus maissin käsittelyyn biokaasuprosessissa

Ossi Tonteri



Jyväskylän yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Ympäristötiede ja -teknologia

31.8.2012

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta
Bio- ja ympäristötieteiden laitos
Ympäristötiede ja -teknologia

Tonteri Ossi: Lisäaineiden vaikutus maissin käsittelyyn biokaasuprosessissa
Pro gradu -tutkielma: 38 s.
Työn ohjaajat: Professori Jukka Rintala ja FM Suvi Bayr
Tarkastajat: Professori Jukka Rintala ja FT Saija Rasi
Elokuu 2012

Hakusanat: Biokaasu, maissi, hivenaineet, lisäaineet

TIIVISTELMÄ

Biokaasun tuotanto energiakasveista on lupaava menetelmä uusiutuvan energian tuottamiseen. Yksipuolinen yhden kasvilajikkeen käyttö biokaasulaitoksen syötteenä saattaa kuitenkin aiheuttaa hivenainepuutoksia biokaasureaktorissa. Hivenainepuutos häiritsee reaktorin toimintaa erityisesti korkeilla kuormituksilla ja saattaa alentaa biokaasun tuotantoa. Hivenaineet ovat prosessille tärkeitä, koska ne toimivat osana metanogeenisten arkkien metaboliaa ja toimivat osana metanogeneesissä tärkeiden entsyymien kofaktoreita.

Tässä työssä tutkittiin kahden lisäaineen (A1 ja A2) vaikutusta kolmen pelkästään maissilla syötetyn täyssekoitteen puolijatkuvatoimisen täyssekoitteen reaktorin (CSTR) toimintaan. Reaktoreita operoitiin 35°C lämpötilassa 200 vuorokauden ajan. Työssä käytettiin kolmea reaktoria, joista yhteen lisättiin lisäaine A1:tä, toiseen A2:ta ja kolmas toimi kontrollireaktorina johon ei lisätty lisäainetta. Toinen käytetyistä lisäaineista (A1) sisälsi suolahappoa ja rautaa, kun toinen (A2) sisälsi näiden lisäksi viittä eri hivenainetta.

Kokeessa reaktori, johon oli lisätty A2:ta, toimi vakaammin kuin muut reaktorit. Tämä näkyi erityisesti alhaisempina haihtuvien rasvahappojen (VFA) pitoisuuksina koeajojen aikana ja korkeampana metaanintuottona verrattuna muihin reaktoreihin. Lisäaine A1 ei parantanut reaktorin toimintaa. Lisäaine A2:n tehokkuus johtui todennäköisesti sen sisältämistä hivenaineista, erityisesti nikkelistä ja koboltista, joiden on aiemmissa tutkimuksissa havaittu lisäävän anaerobiprosessin stabiilisuutta.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Science
Department of Biological and Environmental Science
Environmental Science and Technology

Tonteri Ossi: The effect of additives on anaerobic digestion of maize
Master thesis: 38 p.
Supervisors: Professor Jukka Rintala and MSc Suvi Bayr
Inspectors: Professor Jukka Rintala and PhD Saija Rasi
August 2012

Key words: Biogas, maize, trace nutrient, additives

ABSTRACT

Production of biogas from energy crop is a promising method for production of sustainable energy. However, use of monosubstrate in anaerobic digestion can cause deficiency of trace nutrients in the reactor. Deficiency of trace nutrients can affect the process especially in higher load. Trace nutrients are important for the process because they have essential role in methanogens metabolic activity during methanogenesis and they are part of cofactors in enzymes involved in methanogenesis.

In this work three continuously stirred reactors (CSTRs) were fed with maize as the only substrate and the effect of two additive solutions (A1 and A2) on reactors performance were evaluated. Reactors were operated in mesophilic (35 °C) temperature for 200 days. One of the reactors was fed with additive A1, one with additive A2 and the third was run as control reactor without additives. One of the additive solutions (A1) consisted from hydrochloride acid and iron, whereas the other additive (A2) also included five trace metals.

Reactor that was implemented with additive A2 seemed to operate more stable than the other reactors. This was shown as lower volatile fatty acids (VFA) and higher methane yield compared to other reactors during a period where all reactors pH and the amounts of volatile fatty acids increased. Additive A1 didn't seem to increase reactors performance. One explanation for the good result of the A2 additive could be in the extra trace nutrients it has compared to A1, especially nickel and cobalt, because previous research has shown that they increase the stability of the process.

YKSIKÖT JA LYHENTEET

$\text{NH}_4\text{-N}$ = ammoniumtyppi

NI = normilitra (273 K, 1,013 bar)

SCOD = soluble chemical oxygen demand, liukoinen kemiallinen hapenkulutus

TS = total solids, kuiva-aine

VFA = volatile fatty acids, haihtuvat rasvahapot

VS = volatile solids, hehkutusjäännös, orgaaninen kuiva-aine

CH_4 = metaani

CO_2 = hiilidioksidi

CSTR = continuously stirred tank reactor, jatkuvatoiminen täyssekoitteinen reaktori

Mtoe = megaöljyekvivalenttonni

TWh = terawattitunti

Sisällysluettelo

1 JOHDANTO	1
2 TUTKIMUKSEN TAUSTA	2
2.1 Anaerobinen hajoaminen	2
2.1.1 Hydrolyysi	3
2.1.2 Asidogeneesi	3
2.1.3 Asetogeneesi	3
2.1.4 Metanogeneesi	4
2.2 Lämpötilan ja pH:n vaikutus anaerobiseen hajoamiseen	4
2.3 VFA:n vaikutus anaerobiseen hajoamiseen	5
2.4 Ammoniakki	5
2.5 Anaerobisen hajoamisen ravinnevaatimukset	6
2.5.1 Makroravinteet	6
2.5.2 Hivenaineet	6
2.6 Hivenaineet anaerobisessa hajoamisessa	6
2.7 Biokaasun tuotanto energiakasveista	9
2.8 Hivenainepuutosten vaikutus metaanin tuotantoon	10
3 AINEISTO JA MENETELMÄT	12
3.1 Reaktorikokeet	12
3.2 Lisäaineet A1 ja A2	15
3.3 Analyysimenetelmät ja laskelmat	15
4. TULOKSET	16
4.1 Metaanintuotto	16
4.2 Reaktorien pH	21
4.3 Ammoniumtyppi	24
4.4 VFA-yhdisteet ja SCOD	24
4.5 TS- ja VS-pitoisuudet	26
5. TULOSTEN TARKASTELU	29
5.1 Metaanintuotto	29
6. JOHTOPÄÄTÖKSET	33
KIITOKSET	34
KIRJALLISUUS	34

1 JOHDANTO

Kiinnostus uusiutuvia energiamuotoja kohtaan on lisääntynyt johtuen energian kallistumisesta, ympäristönkuormituksesta ja pyrkimyksestä alentaa uusiutumattomien energiamuotojen kulutusta. Yksi menetelmä uusiutuvan energian tuottamiseksi on biokaasun tuottaminen anaerobisen hajoamisprosessin avulla. Menetelmällä voidaan tuottaa biokaasua esimerkiksi erilaisista biohajoavista jätevirroista ja peltobiomassoista. Biokaasun etuna on, että sitä voidaan käyttää monipuolisesti sekä ajoneuvojen polttoaineena että lämmön ja sähkön tuottoon. Biokaasulla tuotetun energian määrä on kasvanut viime vuosien aikana ja erityisesti energiakasvien käyttö on lisääntynyt. Vuonna 2009 biokaasulla tuotettiin Euroopassa energiaa 8,3 Mtoe ja 25,2 TWh sähköä (Braun 2010, EurObserv'ER 2010).

Pitkäaikaisen biokaasun tuotannon on havaittu aiheuttavan hivenainepuutoksia anaerobisessa reaktorissa. Hivenaineiden puutos riippuu käytettävästä syöttestä ja sitä on tutkittu erilaisilla jätevirroilla mm. biojätteellä (Murray & Berg 1981), vehnän tislausjätteellä (Gustavsson ym. 2011), yhdyskuntajätevedellä (Ashley ym. 1982), lääketieteellisen jätevedellä (Seif ym. 1993), panimon jätevedellä (Kida ym. 1991) ja siipikarjatiljan jätevedellä (Williams ym. 1986). Hivenainepuutokset haittaavat prosessien toimintaa varsinkin korkeilla kuormituksilla.

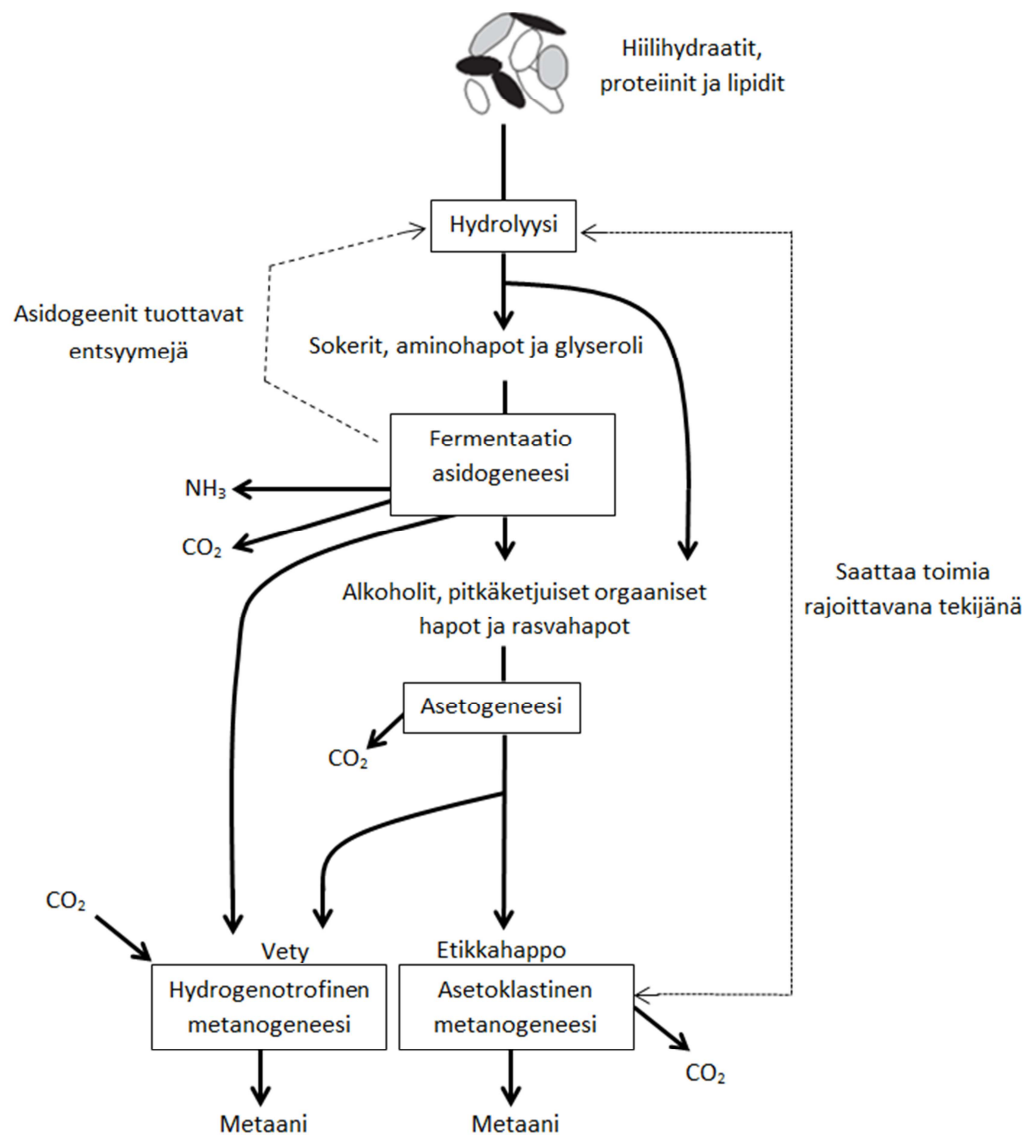
Hivenainepuutosten on huomattu olevan yleinen ongelma varsinkin yksinomaan energiakasveja käyttävillä biokaasulaitoksilla (Demirel & Scherer 2011). Hivenainepuutoksia on havaittu monilla syötteenä käytettävillä energiakasveilla mm. sokerijuurikkaalla (Scherer ym. 2009), maissilla (mm. Hinken ym. 2008, Abdoun & Weiland 2009, Lebuhn ym. 2009), elefanttiheinällä (Wilkie ym. 1986), heinällä ja apilalla (Jarvis ym. 1997) sekä durralla (Richards ym. 1991).

Tutkimuksissa on yleisesti havaittu, että hivenaineiden lisäys on parantanut reaktoreiden metaanintuotantoa ja stabiilisuutta. Tämä mahdollistaa reaktorien korkeamman kuormituksen ilman vaaraa prosessien kaatumisesta. Tämän työn tavoitteena oli tutkia laboratorionkokeilla hivenainelisen vaikutusta maissin biokaasun tuotantoon ja prosessien vakauteen pitkäaikaisessa operoinnissa.

2 TUTKIMUKSEN TAUSTA

2.1 Anaerobinen hajoaminen

Anaerobinen hajoaminen on monivaiheinen mikrobiologinen prosessi, jossa anaerobiset ja fakultatiivisesti anaerobiset mikrobit hajottavat orgaanista ainesta biokaasuksi, joka koostuu pääasiallisesti metaanista ja hiilidioksidista (Naik ym. 2010). Toisin kuin aerobisessa hajoamisessa, anaerobisen hajoamisen aikana ei muodostu lämpöä. Hajoamisprosessi voidaan jakaa neljään vaiheeseen: hydrolyysiin, asidogeneesiin, asetogeneesiin ja metanogeneesiin (Kuva 1) (Angelidaki ym. 2011).



Kuva 1. Anaerobisen hajoamisprosessin vaiheet (mukaillen: Angelidaki ym. 2011)

2.1.1 Hydrolyysi

Hydrolyysi on anaerobisen hajoamisen ensimmäinen vaihe. Siinä monimutkaiset ja pitkäketjuiset yhdisteet, esim. proteiinit, hiilihydraatit ja rasvat, hajoavat monomeerisiksi yhdisteiksi, kuten aminohapoiksi, sokereiksi ja rasvahapoiksi (Angelidaki ym. 2011). Hydrolyysillä tarkoitetaan reaktiota, jossa vesi hajottaa yhdisteen lähtöaineikseen. Hydrolyysi tapahtuu hydrolysoivien mikrobien erittämien entsyymien, hydrolaasien (proteaasi, lipaasi, amylaasi) avulla (Zieminski & Frac 2012). Hydrolyysi on yksi anaerobisen hajoamisprosessin nopeutta rajoittava vaihe (Pavlostathis & Giraldo-Gomez 1991).

2.1.2 Asidogeneesi

Asidogeneesissä eli happokäymisessä asidogeneettiset bakteerit muuntavat hydrolyysissä muodostuneet tuotteet asetaatiksi, vedyksi, hiilidioksidiksi ja haihtuviksi rasvahapoiksi (VFA). Hajoaminen tapahtuu ilman epäorgaanista elektronin vastaanottajaa, kuten sulfidia, nitraattia tai happea. Vaikka asidogeneesissä mikro-organismit voivatkin hajottaa monipuolisesti monia erilaisia yhdisteitä, kuten monosakkarideja, aminohappoja, tyydyttymättömiä rasvahappoja ja glyserolia, kaikkein yleisintä on hajottaa monosakkarideja ja -aminohappoja (Madigan ym. 2009). Monosakkaridit hajoavat asetyyli-KoA:n avulla joko maitohapoksi ja propionihapoksi tai etikkahapoksi, voihapoksi ja kapronihapoksi. Näistä maitohappoa ja propionihappoa syntyy lähinnä biokaasureaktorin ylikuormitustilanteissa. Etikkahappo, voihapo ja etanoli ovat reaktion yleisimpiä tuotteita ja reaktiossa syntyvä hiili päätyy hiilidioksidiksi ja elektronit vedylle (Rodriguez ym. 2006).

2.1.3 Asetogeneesi

Asetogeneesissä mikro-organismit hapettavat orgaanisia happoja (esim. voihapo ja propionaattihappo) ja alkoholeja (esim. etanoli) etikkahapoksi ja siirtävät reaktiossa syntyneet elektronit protoneille (H^+), jolloin muodostuu vetykaasua (H_2). Asetogeenit ovat yleensä syntrofisia, eli ne toimivat rinnakkaisesti metanogeenien kanssa muodostaen symbioosin, jossa asetogeenit tuottavat vetyä ja metanogeenit kuluttavat sitä omassa aineenvaihdunnassaan. Eri mikro-organismien yhteistoiminta on anaerobisen prosessin kannalta tärkeää, koska jos vetykaasun pitoisuus kasvaa liian korkeaksi, mikro-organismit lopettavat sen tuottamisen johtuen termodynaamisista syistä. (Schink 1997, 2002, Angelidaki 2010)

2.1.4 Metanogeneesi

Metanogeneesi on anaerobisen hajoamisen viimeinen vaihe ja siinä anaerobiset metanogeeniset arkit tuottavat metaania pääasiassa asetaatista, vedystä ja hiilidioksidista. Lisäksi mikro-organismit voivat tuottaa metaania formiaateista, alkoholeista ja metyyliamiineista. Metaanin tuotanto voi tapahtua metanogeenisissä kolmella tavalla: asetiklastisella, hydrogenotrofisella ja metyloτροφisella metanogeenisillä. Näistä asetiklastisessa metanogeenisissä metaania tuotetaan asetaatista, hydrogenotrofisessa vedystä ja metyloτροφisessa metanolista. Asetiklastisessa ja metyloτροφisessa metanogeenisissä syntyy lopputuotteena metaanin lisäksi hiilidioksidia. (Deppenmeier 2002, Liu & Whitman 2008, Conrad ym. 2010).

Metanogeneesi on herkkä erilaisille olosuhdemuutoksille. Biokaasureaktorin ylikuormitus, suuret lämpötilan vaihtelut tai hapen pääsy reaktoriin voivat lopettaa metanogeenin (Al-Seadi ym. 2008). Asetaatti on yleisin metaanin lähde ja n. 70 % metanogeenisissä syntyvästä metaanista on peräisin asetaatista. Loput 30 % tuotetaan hiilidioksidista, vedystä ja formiaatista (Gujer & Zehnder 1983). Asetaatin tuotanto onkin yleensä anaerobista hajoamista rajoittava tekijä, jos substraatti koostuu helposti hajoavasta orgaanisesta aineksestä. Jos substraatti on heikosti biohajoavaa, on hydrolyysi prosessia rajoittava vaihe (Gerardi 2003).

Vaikka asetaatti on yleisin metaanin lähde, sitä hajottavia metanogeeniryhmiä tiedetään vain kaksi: *Methanosaeta* and *Methanosarcina*. Sen sijaan vetyä käyttäviä metanogeeniryhmiä on löydetty useita: *Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanogenium* ja *Methanobrevibacter* (Garcia ym. 2000, Liu & Withman 2008).

2.2 Lämpötilan ja pH:n vaikutus anaerobiseen hajoamiseen

Anaerobinen hajoaminen voi tapahtua erilaisissa lämpötiloissa, jotka voidaan jakaa psykoofiiliseen (< 20 °C), mesofiiliseen (30-35 °C) ja termofiiliseen (43-55 °C). Metanogeenisten mikro-organismien optimilämpötila on 35 °C, mutta termofiilisellä prosessilla on monia etuja mesofiiliseen nähden, kuten tehokkaampi patogeneenien tuhoaminen, lyhyempi viipymäaika ja metanogeenien nopeampi kasvu (Al-Seadi ym. 2008). Lämpötilan valintaan vaikuttavat myös prosessissa käytettävä raaka-aine, esimerkiksi yhdyskuntalietettä käyttävät biokaasulaitokset toimivat usein mesofiilisessä lämpötilassa ja teollisia jätevesilietteitä käyttävät termofiilisessä (Gerardi 2003).

Anaerobisessa reaktorissa vallitseva pH vaikuttaa prosessin tehokkuuteen, koska se vaikuttaa metanogeenien kasvuun ja anaerobiselle hajoamisprosessille tärkeiden yhdisteiden, kuten ammoniumin, sulfaattien ja orgaanisten happojen hajoamiseen. Anaerobinen hajoaminen tapahtuu pH-alueella (5,5-8,5) ja optimi-alue metanogeeneille on 7-8. Asidogeneesissä toimivilla bakteereilla on metanogeenisiä bakteereita alhaisempi optimi-pH (Al-Seadi ym. 2008).

2.3 VFA:n vaikutus anaerobiseen hajoamiseen

Anaerobiproessin toimintaan vaikuttaa oleellisesti prosessissa syntyvien VFA-yhdisteiden pitoisuus. VFA-yhdisteitä muodostuu asidogeneesin aikana ja ne toimivat yleensä välituotteina metanogeneesille. VFA-yhdisteitä ovat esim. etikkahappo, maitohappo, voihamppo ja propionihappo sekä muut enintään kuusihiiliset rasvahapot. Yleisin VFA-yhdiste on etikkahappo, joka kattaa yleensä n. 85 % prosessissa syntyvistä rasvahapoista (Gerardi 2003). Häiriöt anaerobisessa prosessissa nostavat yleensä VFA-pitoisuutta, joka taas laskee pH:ta. VFA:n nousu ei kuitenkaan aina laske prosessin pH:ta, koska prosessin puskurointikyky saattaa estää pH:n laskun. Prosessin puskurointikykyyn vaikuttaa esimerkiksi syöteen laatu, esim. eläinperäinen lanta sisältää paljon ammoniakkia, joka lisää reaktorin puskurointikykyä. Suurissa pitoisuuksissa VFA inhiboi prosessin toimintaa. Kaikkein eniten prosessia inhiboivat propioni- ja voihamppo (Mata-Alvarez 2003, Al-Seadi ym. 2008).

2.4 Ammoniakki

Yksi anaerobista prosessia inhiboivista yhdisteistä on ammoniakki (NH_3). Prosessille haitallisinta on vapaana oleva ammoniakki. Sen haitallisuus johtuu sen kyvystä diffusoitua passiivisesti soluihin solukalvojen lävitse, joissa se aiheuttaa mm. pH:n muutoksia ja inhiboi joidenkin entsyymireaktioiden toimintaa (Sprott & Patel 1986). Ammoniakkia syntyy proteiinien ja aminohappojen hajotessa jolloin vapautuvista aminoryhmistä ($-\text{NH}_2$) muodostuu ammoniakkia. Ammoniakin pitoisuuteen vaikuttaa syöteen proteiinipitoisuus sekä lämpötila. Mitä korkeampi lämpötila on, sitä enemmän ammoniakkia muodostuu. Tämän takia esimerkiksi sianlantaa ei voida käyttää termofiilisessä (55 °C) prosessissa, koska sen hajoaminen tuottaisi liikaa ammoniakkia (Mata-Alvarez 2003).

2.5 Anaerobisen hajoamisen ravinnevaatimukset

2.5.1 Makroravinteet

Anaerobisen prosessin ravinnevaatimukset voidaan jakaa makroravinteisiin ja hivenaineisiin. Mikrobiein kasvun kannalta molemmantyyppisiä ravinteita on oltava saatavilla riittävästi ja molempien puutostilat vaikuttavat anaerobisen hajoamisen tehokkuuteen.

Mikrobiein kasvun kannalta tärkeimpiä makroravinteita ovat hiili, typpi, fosfori, rikki, vety ja happi. Hiili toimii organismien tärkeimpänä alkuaineena ja on tärkeä osa hiilihydraattien, lipidien ja proteiinien rakennetta. Vety ja happi toimivat monien orgaanisten yhdisteiden rakennusosina. Typpi on yksi tärkeimmistä ravinteista ja organismit tarvitsevat sitä proteiinien aminohappojen rakennusaineena. Mikro-organismit saavat tyyppeä joko ottamalla sitä hajottamistaan orgaanisista yhdisteistä (heterotrofit) tai ilmakehän hiilidioksidista (autotrofit). Fosforia tarvitaan nukleiinihappojen ja adenosiinifosfaatin (ATP) rakenteessa. Typpi ja fosfori ovat mikrobieille käytettävissä vain liukoisena ammoniumtyyppinä ($NH_4^+ - N$) ja ortofosfaatti-fosforina ($HPO_4^- - P$) (Gerardi 2003, Mara & Horan 2003).

2.5.2 Hivenaineet

Hivenaineita ovat kalium (K), kalsium (Ca), magnesium (Mg), natrium (Na) ja rauta (Fe). Näiden lisäksi mikro-organismit tarvitsevat pieniä määriä myös muita hivenaineita, kuten mangaania (Mn), sinkkiä (Zn), kuparia (Co), nikkeliä (Ni) molybdeeniä (Mo), seleeniä (Se), volframia (W), bariumia (Ba) ja rikkiä (S). Rikki toimii aminohappojen ja joidenkin vitamiinien rakennusaineena. Rikin anaerobiset mikro-organismit saavat yleensä sulfideina, kuten vetysulfidina (H_2S) (Gerardi 2003, Mara & Horan 2003).

2.6 Hivenaineet anaerobisessa hajoamisessa

Anaerobisessa prosessissa toimivien metanogeenien entsyymijärjestelmä poikkeaa suuresti muiden bakteerien entsyymijärjestelmästä ja tämän takia metanogeenit vaativat hivenaineita erilaisessa suhteessa kuin bakteerit. Monet hivenaineista toimivat tärkeässä roolissa mikrobiein entsyymijärjestelmässä tai osana solujen entsyymien kofaktoreita. Kofaktorit ovat entsyymien ei-proteiiniosia ja ne ovat välttämättömiä entsyymien aktiivisuudelle. Kofaktoreissa hivenaineet toimivat usein metalli-ioneina entsyymien metallikeskuksina (Tirri ym. 2001, Gerardi 2003).

Koboltti, rauta, nikkeli ja rikki ovat välttämättömiä hivenaineita metanogeenille, koska ne toimivat osana entsyymejä, jotka muuttavat asetaattia metaaniksi (Taulukko 1).

Rauta, nikkeli, rikki ja seleeni on yhdistetty hiilimonoksidi dehydrogenaasin (CODH) toimintaan. Rautaa, nikkeliä, molybdeeniä, rikkiä ja seleeniä tarvitaan myös asetyyli-KoA-syntetaasiin (ACS) (Schattauer ym. 2011). Sekä CODH että ACS toimivat asetyylikoentsyymi-A:n (Asetyyli-KoA) rakennusosina. Asetyyli-KoA toimii erittäin tärkeänä entsyyminä metanogeneesissä, koska asetiklastiset metanogeenit tarvitsevat sitä asetaatin muuttamiseen metaaniksi (Madigan ym. 2012). Lisäksi nikkeli toimii myös hydrogenaasien osana ja toimii aktiivisena keskuksena asetaattia tuottavissa entsyymeissä (Aresta ym. 2003). Nikkeliä tarvitsevat anaerobisessa hajoamisprosessissa vain metanogeenit osana metyyli koentsyymi M-reduktaasi F430- entsyymiä (Speece ym. 1983).

Taulukko 1. Anaerobisille mikrobeille tärkeitä hivenaineita ja niiden rooleja mikrobien entsyymijärjestelmässä. (Oleszkiewicz & Sharma 1990, Zandvoort 2006)

Hivenaine	Rooli tai entsyymin osa	Hivenaine	Rooli tai entsyymin osa
Mn	Pelkistysreaktiot Stabilisoi metyyli transferaasia metaanintuottajilla Entsyymiaktivaattori erityisesti fosfaattiryhmien siirrossa ^a	Cu	Hydrogenaasi (Fakultatiivit anaerobit) Nitriitti reduktaasi ACS
W	FDH Formylmethanofurande Hydrogenaasi Aldehydioksididoreduktaasi Molybdenumin antagonist	Co	B ₁₂ -entsyymi CODH Metyylitransferaasi Metyylitransferaasi ^a
Ni	CODH Metyyli-CoM reduktaasi F410 F430 Ureaasi Hydrogenaasi F43:ta ja CH ₃ -KoM reduktaasi Stabiloi DNA:ta ja RNA:ta ACS CODH ^b Metyylireduktaasi ^b Hydrogenaasi ^b	Fe	Sytokromien, elektroninsiirtokomponenttien ja proteiininen osa ^a Hydrogenaasi CODH Metaanimono-oksygenaasi SODM Nitriitti- ja nitraattireduktaasi Nitrogenaasi Hydrogenaasi ^b CODH, ACS ^b formyyli-MF-dehydrogenaasi ^b
Mo	FDH Nitraatti redoktaasi Nitrogenaasi Formyyli-MF-dehydrogenaasi ^b Formyyli-MF-dehydrogenaasi ^b	Se	Hydrogenaasi FDH Glysiinireduktaasi Formiaatti dehydrogenaasi ^b formyyli-MF-dehydrogenaasi ^b CODH, ACS ^b Hydrogenaasia
Zn	Hydrogenaasi FDH	Mg	Entsyymiaktivaattori kinaasireaktioissa ^a Stabiloi ribosomeja, soluseiniä ja nukleiinihappoja ^a

FDH: (formate dehydrogenase) Formiaatti dehydrogenaasi

ACS: (acetyl-CoA synthesis) Asetyyli-KoA synteesi

CODH: (carbon monoxide dehydrogenase) CO-dehydrogenaasi

SODM: (Superoxide dismutase) Superoksididismutaasi

^aMara & Horan 2003

^bSomitsch 2007

Mikro-organismit voivat käyttää reaktorissa olevia hivenainemetalleja vain, jos ne ovat biosaatavassa muodossa. Yleensä mikro-organismit ottavat tarvitsemansa metallit vapaassa ionimuodossa. Reaktorissa olevat metallit voivat kuitenkin muuttua biokemiallisten prosessien takia epäorgaanisiksi komplekseiksi tai saostua sulfideiksi, jotka vähentävät reaktio-

rissa biosaatavien hivenaineiden määrää (Zandvoort ym. 2006). Anaerobiset mikro-organismit hankkivat hivenaineita erittämällä soluseinän ympärille limaa joka kelatoituu, eli muodostaa hivenaineiden kanssa metallikomplekseja, jolloin ne voidaan kuljettaa solun sisälle. Solunulkoisen liman avulla mikro-organismit voivat varastoida sisäänsä hivenaineita yli oman tarpeensa (Gerardi 2003).

Vaikka pienet määrät hivenaineita ovat välttämättömiä metanogeneille, saattavat ne suurina pitoisuuksina olla toksisia ja inhiboida anaerobista prosessia. Esimerkiksi panoskokeissa on huomattu, että suuret määrät nikkeliä, kobolttia tai molybdeenia eivät nostaneet metaanin tuottoa vaan laskivat sitä merkittävästi (Pobeheim ym. 2010).

2.7 Biokaasun tuotanto energiakasveista

Anaerobisen prosessin on arvioitu olevan yksi tehokkaimmista uusiutuvan energian tuotantomenetelmistä (Fehrenbach ym. 2008). Suurin biokaasun tuottajamaa Euroopassa on Saksa, jossa biokaasulaitoksia oli vuonna 2011 arvioitu olevan 7100. Niiden arvioitiin tuottavan nettoenergiaa 18 TWh vuodessa. Tämän on arvioitu vastaavan 3,1 %:ia Saksan vuosittaisesta sähkönkulutuksesta. Vuonna 2012 laitosten lukumäärän arvioidaan nousevan 7470:n (Fachverband 2011). Biokaasulaitosten suuri määrä Saksassa johtuu vuonna 2000 voimaantulleesta Uusiutuvien energialähteiden laista (EEG) ja siihen vuonna 2004 tehdystä muutoksesta. EEG teki uusien biokaasulaitosten perustamisesta kannattavaa, koska se takasi kompensatiomaksun enintään 20 vuodeksi ja erityisbonuksen kasvibiomassan käytöstä (Schittenhelm 2008).

Maissi on paljon käytetty energiakasvi, koska se tuottaa paljon metaania hehtaaria kohden, sen korjaaminen pellolta on helppoa ja sen käyttöönotto maatilalla on helppoa (Schittenhelm 2008). Saksassa ja Itävallassa maatilakohtaiset biokaasulaitokset käyttävät syötteenä lähes pelkästään energiakasveja ja vuonna 2004-2006 aloittaneista maatilakohtaisista biokaasuvoimaloista yli 90 % käytti syötteenä maissia (Weiland 2007). Saksassa maissin viljelyyn käytettävän ala oli vuonna 2006 noin 156 000 hehtaaria ja sen odotetaan kasvavan 1,7 miljoonaan hehtaariin vuoteen 2015 mennessä (Gömann ym. 2007).

Keskieurooppalaisten maissilajikkeiden soveltuvuutta Suomen viljelyoloihin on tutkittu vuodesta 2006 lähtien MTT:n Kasvintuotannon Piikkiön toimipaikassa. Suomessa maissia voitaisiin viljellä lähinnä eteläisellä rannikkoalueella aina Vaasaa myöten (Laine 2009). Maissin viljelyä Suomessa rajoittavat erityisesti yöpakkaset, jotka keväisin viivästyttävän

maissin kylvöä ja syksyisin lopettavat maissin kasvun. Lyhyen kasvukauden takia maissin tärkkelyspitoisuus on alhaisempi kuin pitkän kasvukauden maissilla, mutta tämä ei haittaa sen käyttöä biokaasutuotannossa (Laine 2010).

2.8 Hivenainepuutosten vaikutus metaanin tuotantoon

Hivenainepuutoksen vaikutuksia anaerobiseen hajoamiseen ja biokaasun tuotantoon on tutkittu monissa laboratorio- ja pilottimittakaavan kokeissa. Esimerkiksi Mähnert (2007) käsitteli laboratoriomittakaavan jatkuvatoimisissa täyssekoitteisissa reaktoreissa (CSTR-reaktori) maissia ja ruisrehua vuoden ajan ja havaitsi sinkin ja kuparin määrän vähentyvän reaktoreissa kohti kokeen loppua. Raudan määrä sen sijaan kasvoi kokeen lopussa, joka todennäköisesti johtuu käytetyn substraatin ominaisuudesta. Abdoun ja Weiland (2009) käyttivät laboratoriomittakaavan biokaasukokeissa myös maissia ja ruisrehua ja havaitsivat reaktorissa hivenainepuutoksia, jotka vaikuttivat reaktorin toimintaan. Joihinkin reaktoreihin lisättiin ylimääräistä kobolttia ja nikkeliä, mutta tämä ei vaikuttanut reaktoreiden toimintaan. Yhteen reaktoriin lisättiin useasta hivenaineesta koostunutta hivenaineliuosta, jolloin reaktorin VFA:n määrä säilyi alhaisena ja kyseistä reaktoria voitiin syöttää muita reaktoreita suuremmalla syötemäärällä.

Lebuhn ym. (2008) tutki biokaasun tuotantoa CSTR-reaktoreilla käyttäen syötteenä pelkäästään maissia ja huomasi hivenaineiden vähenevän prosessin jatkuessa pitkiä aikoja. Rajoittaviksi hivenaineiksi oli havaittu erityisesti koboltti sekä seleeni ja molybdeeni. Noyola ja Tinajero (2005) tutkivat hivenaineiden roolia biokaasun tuotannossa esikäsitellystä yhdyskunnan jätevesilietteestä. Kokeessa havaittiin hivenaineiden (Fe, Co, Ni ja Mo) lisäämisen parantavan metaanin tuottoa. Useimmiten biokaasulaitoksilla käytetään energiakasvien lisäksi myös jotain muuta syötettä, esim. eläinten lantaa tai orgaanista jätettä, mutta maatilakohtaiset biokaasulaitokset saattavat käyttää pelkäästään yhtä energiakasvilajiketta. Tällaisen yksipuolisen substraatin käytön on havaittu aiheuttavan hivenainepuutoksia reaktorissa. Erityisesti pelkäästään energiamaissia käyttävät biokaasulaitokset kärsivät hivenaineiden puutteesta ja tämä näkyy alentuneena biokaasun tuottona (Clemens 2007).

Schattauer ym. (2011) tutki kymmenen eurooppalaisen biokaasulaitoksen lietteiden hivenainemääriä. Laitokset sijaitsivat Tanskassa, Itävallassa, Saksassa, Italiassa, Puolassa, Isossa-Britanniassa, Tšekissä ja Hollannissa. Tutkimuksen laitokset käyttivät hyvin erilaisia substraatteja, suurin osa käytti sekaisin kasvi- ja eläinperäisiä jätteitä sekä yhdyskuntien

ja teollisuuden jätevirtoja. Tutkituista laitoksista viisi käytti substraattina energiamaissia yhdessä sianlannan ja teollisuuden tai yhdyskuntajätteiden kanssa. Tutkimuksessa yhdessäkään laitoksessa ei havaittu hiivenainemäärien olleen alle kirjallisuudessa esitettyjen minimimäärien, mutta laitosten välillä oli selkeitä eroja hiivenaineiden pitoisuuksissa. Laitokset, joilla käytettiin monipuolisesti erilaisia jätevirtoja, sisälsivät enemmän hiivenaineita kuin pelkästään energiakasveja ja eläinlanta käyttäneet laitokset. Tällaisissa biokaasulaitoksissa havaittiin kaikkein alhaisimmat hiivenainepitoisuudet.

Myös Pobeheim ym. (2010) totesi maissia käyttävien biokaasulaitosten lietteiden sisältävän vähemmän hiivenaineita kuin muita syötteitä käyttävät laitokset. Hän huomasi Itävallan Fürstenfeldissä sijainneen, maissia pääasiallisena syötteenä käyttäneen laitoksen lietteen sisältävän huomattavasti vähemmän nikkeliä ja molybdeenia verrattuna muita syötteitä käyttäviin biokaasulaitoksiin. Lisäksi koboltin määrä oli laitoksella alhainen, mutta yhtä alhaisia pitoisuuksia oli myös muita syötteitä käyttävissä laitoksissa.

Hiivenainepuutokset pelkästään maissia käyttävissä biokaasureaktoreissa johtuvat maissin ravinneominaisuuksista. Maissin on huomattu sisältävän vähemmän hiivenaineita kuin anaerobinen prosessi teoriassa tarvitsee (Taulukko 2). Erityisen vähän verrattuna laskettuun ravinnetarpeeseen maissi sisältää rautaa, nikkeliä, kobolttia sekä molybdeeniä. Anaerobisen prosessin vaatimista hiivenainemääristä löytyy kirjallisuudesta useita erilaisia arvoja jotka poikkeavat toisistaan (mm. Scherer & Sahn 1981, Takashima & Speece 1990, Weiland 2006 ja Pobeheim ym. 2010). Erilaiset arvot johtuvat osin eri tutkimuksissa käytetyistä erilaisista parametreista, esim. erilaisista kuormituksista tai syötteistä. Lisäksi osa tutkimuksista on suoritettu käyttäen puhdasviljelmiä ja panoskokeita, jolloin niiden olosuhteet ovat erilaiset verrattuna todellisiin biokaasulaitoksiin, eivätkä suositusarvot siten ole suoraan sovellettavissa todellisiin reaktoreihin (Takashima ym. 2011).

Taulukko 2. Maissin sisältämien hivenaineiden määrät ja anaerobisten mikrobin laskettu hivenainetarve (Hinken ym. 2008).

	Mikrobien laskettu ravinteiden tarve ^c [mg/kg COD]	Maissin ravinnemäärät ^{ab} [mg/kg COD]
Typpi	7,410	14,737
Fosfori	1,710	2,411
Kalium	1,140	12,823
Kalsium	456	2,082
Magnesium	342	1,534
Rauta	205	111
Sinkki	7	38
Mangaani	2	32
Kupari	1	4
Nikkeli	11	<1 ^c
Koboltti	9	<1 ^c
Molybdeeni	7	<1 ^c

^aEgert ym. 2005

^bKeymer ym. 2004

^cHinken ym. 2008

3 AINEISTO JA MENETELMÄT

3.1 Reaktorikokeet

Kokeessa käytetyt kolme reaktoria olivat viiden litran lasiastioita, joissa oli linjasto Tygon-kumiletkuista ja alumiinipusseista biokaasun keräystä varten. Reaktorit olivat lämpöhuoneessa 35 °C:ssa. Reaktoreiden sisältöä sekoitettiin jatkuvasti magneettisekoittimilla nopeudella 200-300 rpm.

Kokeen alussa reaktoreihin lisättiin ympiä (10 l), joka oli Kalmarin tilan biokaasureaktorin lietettä (haettu 11.10.2011), jossa käsitellään naudan lietelantaa, nurmisäiliörehua ja elintarviketeollisuuden jätteitä. Ympin TS-pitoisuus oli 5,0 % ja VS-pitoisuus 3,8 %. Reaktorien syöttö aloitettiin koepäivänä 5.

Syötteenä käytetty maissi oli kasvatettu Piikkiössä vuonna 2010 ja sitä säilytettiin pakastettuna. Reaktoreista poistettiin ja niihin lisättiin syötettä joka arkipäivä. Samalla mitattiin reaktoreiden tuottaman biokaasun määrä. Jokaisen päivän poistonäytteestä osa kerättiin yhden litran lasipulloon. Seuraavan viikon alussa tämä keräysnäyte sentrifugoitiin (10 min., 3500 rpm) ja nesteosa erotettiin kierrätysnesteeksi. Samaa kierrätysnestettä käytettiin yhden viikon ajan.

Reaktoriin M2 lisättiin rautaa ja suolahappoa sisältänyttä lisäaine A1:tä ja reaktoriin M3 useita hivenaineita sekä suolahappoa sisältänyttä A2:ta (Taulukko 7). Reaktoriin M1 ei lisätty hivenaineita. Kokeen alussa lisäaine A1:ta lisättiin 0,337 g:aa / ja A2:ta 0,375 g:aa vuorokaudessa arkipäivisin (Taulukko 4). Kokeen edetessä lisäaineiden annostusta nostettiin portaittain kuormituksen nostamisen mukana ja kokeen lopussa reaktoriin M2 lisättiin 0,6 g:aa A1:tä ja reaktoriin M3 0,667 g:aa A2:a. Syötteet koostuivat silputusta maissista, kierrätysnesteestä, vedestä sekä mahdollisesta hivenaineliuoksesta (Taulukko 3).

Taulukko 3. Reaktoreiden syötteet (g/d arkipäivisin) ja niiden koostumukset kokeen aikana.

Reaktori	Koepäivä (d)	Maissia (g)	Vettä (g)	Kier.neste (g)	Yht. (g)	OLR (gVS/l/d)	Viipymä (d)
M1 & M3	4-41	17,2	116,0	0	133,2	1,0	30
	42-152	25,8	108,0	0	133,8	1,5	30
	153-183	30,1	68,0	35	133,1	1,7	30
	184-200	34,4	63,9	35	133,3	2,0	30
M2	4-41	17,2	116,0	0	133,2	1,0	30
	42-166	25,8	108,0	0	133,8	1,5	30
	167-183	30,1	68,0	35	133,1	1,7	30
	184-200	34,4	63,9	35	133,3	2,0	30

Taulukko 4. Lisäaineiden päivittäiset annosmäärät (M1-reaktoriin ei lisätty lisäaineita).

Reaktori	Koepäivä (d)	Päivittäinen annostus	
		A1 (g)	A2 (g)
M2	85-166	0.337	-
	167-189	0.525	-
	190-202	0.600	-
M3	85-152	-	0.375
	153-166	-	0.437
	167-189	-	0.583
	190-202	-	0.667

- Ei lisätty

Taulukko 5. Reaktoreihin lisätyn NaHCO_3 :n määrät ja lisäyspäivät.

Reaktori	M1	M2	M3
Koepäivä	NaHCO_3 (ml)	NaHCO_3 (ml)	NaHCO_3 (ml)
77	1	1	1
78	2	2	2
81-85	3	3	3
86-105	0,4	0,4	0,4
106	4,532	4,532	4,532
109-111	0,532	0,532	0,532
112	5,665	5,665	5,665
113-200	0,665	0,665	0,665

Kun reaktoreiden pH laski alle 6,5:n, sitä nostettiin reaktorin epästabiliin toiminnan välttämiseksi yli 7:ään lisäämällä reaktoriin natriumbikarbonaattia (NaHCO_3) (Taulukko 5) tai 5 molaarista natriumhydroksidia (NaOH) (Taulukko 6). Kokeen alussa kaikkiin reaktoreihin pyrittiin lisäämään aina sama verran NaHCO_3 :a tai NaOH :a, mutta koska joissain reaktoreissa tämä nosti pH:n liiankin korkeaksi, niitä lisättiin vain reaktoreihin joiden pH oli liian alhainen.

Taulukko 6. Reaktoreihin lisätyn NaOH :n määrät ja lisäyspäivät.

Reaktori	M1	M2	M3
Koepäivä	NaOH 5M (ml)	NaOH 5M (ml)	NaOH 5M (ml)
105	5 tippaa	-	-
106	21,5	21,5	15
109	0,95	0,95	0,95
110	0,90	0,90	0,90
111	18,2	18,2	14
112	20	20	20
117	20	20	20
124	-	20	-

- Ei lisätty

3.2 Lisäaineet A1 ja A2

Kokeessa reaktoreihin lisättiin kahta Kemiran kehittämää lisäainetta. Ne lisättiin reaktoreihin sekoittamalla ne syötteen joukkoon. Lisäaine A1 sisälsi rautaa sekä suolahappoa ja lisäaine A2 sisälsi raudan ja suolahapon lisäksi 4:ää eri hivenainetta (Taulukko 7).

Taulukko 7. Lisäaineiden A1 ja A2 sisältämät hivenaineet. (– ei sisällä ko. hivenainetta, + sisältää ko. hivenainetta).

Hivenaine	Hivenainelisiä	
	A1	A2
Fe	+	+
Co	-	+
Ni	-	+
Se	-	+
W	-	+
HCl	+	+

3.3 Analyysimenetelmät ja laskelmat

Reaktorien biokaasun tilavuus ja metaanipitoisuus mitattiin joka arkipäivä. Biokaasun metaanipitoisuus analysoitiin kaasukromatografilla (Perkin-Elmer Clarus 500, Perkin-Elmer, Alumina kolonni 30 m * 0,53 mm). Reaktoreiden kaasuäytteistä otettiin 0,1 ml:n näyte painelukittavalla GC-ruiskulla ja injektointiin laitteeseen. Analysoinnissa käytettiin TCD-detektoria (Thermal Conductivity Detector). Ajo-olosuhteet olivat: injektorin ja detektorin 225 °C, uuni 100 °C. Reaktorien biokaasun tilavuus mitattiin vedensyrjäytysmenetelmällä.

Ennen analysointia sekä SCOD- ja VFA -näytteitä sentrifugoitiin 15 minuuttia 3500 rpm:llä ja suodatettiin käyttäen VWR European Cat. No. 516-0864 Glass microfibres filter 691 –suodatinpaperia. VFA-pitoisuudet mitattiin kaasukromatografilla (Perkin-Elmer Autosystem XL, HP-INNOWax kolonni, 30 m * 0,32 mm). VFA-mittausten ajo-olosuhteet olivat: injektorin 230 °C, detektorin 225 °C, uuni 100-160°C (25 °C / min). Kantajakaasuna käytettiin heliumia.

Liukoinen kemiallinen hapenkulutus (SCOD) määriteltiin SFS 5504 –standardin mukaisesti (Suomen standardointiliitto 1988).

pH-arvo mitattiin Mettler Toledo Seven Easy -pH-mittarilla ja -elektrodilla. kuiva-ainepitoisuus (TS, Total Solids) ja haihtuvan kuiva-aineen määrä (VS, Volatile Solids) määritettiin standardin SFS 3008 mukaisesti (Suomen standardisoimisliitto 1990).

Ammoniumtyppi määritettiin valmistajan ohjeen mukaisesti (Perstorp Analytical 1995) käyttäen Tecator Kjeltac 1002 -höyrytislainta sekä polttovaiheessa Tecator 2020 Digestor-polttolaitetta. Ammoniumtyypin titrauksen pH mitattiin käyttäen Metrohm 774 pH-mittaria.

Biokaasun tuotto viikonloppuna (l/d) laskettiin jakamalla viikonlopun aikana tuotetun biokaasun määrä mittausten välisellä ajalla.

Reaktorin viipymä (Hydraulic retention time, HRT) laskettiin kaavalla 1, jossa V on reaktorin tilavuus ja Q on reaktoriin päivittäin syötettävän orgaanisen aineksen määrä.

$$HRT = \frac{V}{Q} \quad (1)$$

Reaktorin kuormitus (Organic loading rate, OLR) laskettiin kaavalla 2, jossa S on orgaanisen aineksen pitoisuus VS-prosenttina.

$$OLR = \frac{Q \cdot S}{V} \quad (2)$$

4. TULOKSET

4.1 Metaanintuotto

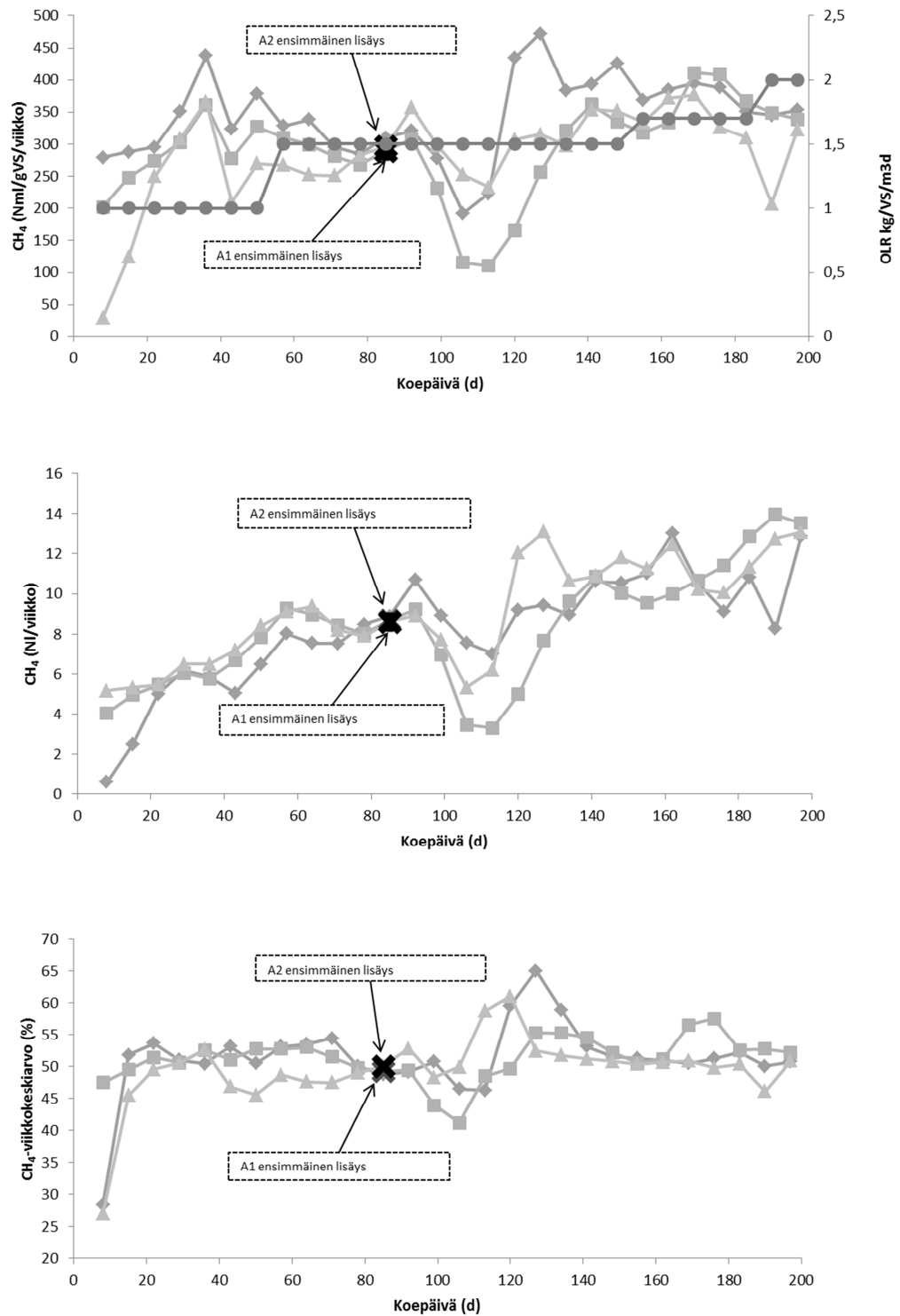
Lisäaineiden vaikutusta maissin metaanintuottopotentiaaliin tutkittiin kolmella CSTR-reaktorilla, joita operoitiin 200 päivän ajan. Reaktori M1 toimi kontrollina eikä siihen lisätty hivenaineita, reaktoriin M2 lisättiin lisäainetta A1:stä ja reaktoriin M3 lisäainetta A2:sta. Kokeen alussa koepäivästä 4 alkaen reaktoreiden kuormitus oli 1,0 kgVS/m³/d (Kuva 2). Koepäivänä 53 kuormitus nostettiin 1,5:een ja koepäivänä 164 1,75 kgVS/m³/d:ään. Kokeen lopussa koepäivänä 197 kuormitus nostettiin edelleen 2,00 kgVS/m³/d:ään. Kuormitus oli kokeen aikana sama kaikissa reaktoreissa. Reaktorien viipymä oli kokeen aikana kaikissa reaktoreissa 30 vuorokautta.

Reaktoreiden metaanintuotanto käynnistyi tasaisesti lukuun ottamatta reaktoria M3, jossa metaanintuotto käynnistyi muita hitaammin. Metaanintuotanto laski kaikissa reaktoreissa koepäivän 100 paikkeilla, mutta nousi sen jälkeen taas tasaiseksi (Kuva 2).

Kokeen alussa kuormituksen ollessa $1,0 \text{ kgVS/m}^3/\text{d}$ (koepäivät 5-42) M3-reaktori tuotti vähemmän metaania ($174 \text{ CH}_4\text{NI/kgVS}$) kuin M1-reaktori ($216 \text{ CH}_4\text{NI/kgVS}$) ja M2-reaktori ($207 \text{ CH}_4\text{NI/kgVS}$) (Taulukko 8).

Kuormituksen ollessa $1,5 \text{ kgVS/m}^3/\text{d}$ (koepäivät 43-153) reaktori M1 tuotti viikkokeskiarvoina laskettuna metaania keskimäärin $221 \text{ CH}_4\text{NI/kgVS}$, joka oli hieman enemmän kuin muissa reaktoreissa; samaan aikaan reaktori M3 tuotti $212 \text{ CH}_4\text{NI/kgVS}$ ja M2:n metaanintuotto laski $187 \text{ CH}_4\text{NI/kgVS}$:ään. Lisäaineiden syöttö reaktoreihin M2 ja M3 aloitettiin koepäivänä 85. Tämän kuormitusjakson aikana metaanintuottopotentiaali laski hetkelisesti kaikissa reaktoreissa ja oli alhaisemmillaan viikkokeskiarvoina M1-reaktorissa 192 Nml/gVS/vko , M2-reaktorissa 115 Nml/gVS/vko ja M3-reaktorissa 252 Nml/gVS/vko (Taulukko 8).

Kokeen lopussa (koepäivät 153-196) kuormitus nostettiin $1,7 \text{ kgVS/m}^3/\text{d}$:ssä ja tällöin reaktori M1 tuotti metaania ($248 \text{ CH}_4\text{NI/kgVS}$) hieman enemmän kuin M3-reaktoria ($243 \text{ CH}_4\text{NI/kgVS}$), ja kaikkein vähiten metaania tuotti M2-reaktori ($233 \text{ CH}_4\text{NI/kgVS}$) (Taulukko 8).



Kuva 2. Reaktoreiden metaanintuottopotentiali, metaanintuotto sekä kaasun metaanipitoisuus kokeen aikana laskettuna viikkokeskiarvoina. Merkkien selitykset: M1-reaktori (◆), M2-reaktori (■), M3-reaktori (▲) ja OLR (●). Hivenaineiden syöttöjen aloitukset on merkitty rasteilla.

Reaktoreiden biokaasun metaanipitoisuus kasvoi kaikissa reaktoreissa koepäivään 22 mennessä hieman yli 50 %:iin ja vaihteli tämän jälkeen 40 %:n ja 60 %:n välillä. Koepäivän 100 paikkeilla kaikkien reaktoreiden metaanipitoisuus laski lähelle 40 %:a, mutta nousi tämän jälkeen hetkellisesti n. 60-70 % välille. Kokeen loppuaikana reaktoreiden metaanipitoisuus pysytteli tasaisena. Vaihtelu oli suurinta reaktorissa M2 (45-55%), kun taas pienintä se oli reaktorissa M3 (n. 48-51%).

Taulukko 8. Reaktoreiden poistolietteiden ominaisuuksia jaettuna eri kuormitusjaksoille. Keskihajonta on ilmoitettu tuloksen perässä ±-merkillä.

Reaktori	M1				M2				M3			
Koepäivät	5-42	43-153	154-193	194-200	5-42	43-153	154-193	194-200	5-42	43-153	154-193	194-200
OLR (kgVS/m ³ /d)	1,0	1,5	1,75	2,0	1,0	1,5	1,75	2,0	1,0	1,5	1,75	2,0
pH	7,2-7,6	6,6-8,0	7,3-7,5	7,3-7,4	7,2-7,8	6,4-8,1	7,1-7,3	7,2-7,5	7,2-7,8	6,7-8,1	7,2-7,4	7,2-7,3
CH ₄ (Nml/gVS/d)	217 ± 68	221 ± 65	248 ± 44	240 ± 44	206 ± 59	187 ± 62	233 ± 59	245 ± 41	174 ± 84	212 ± 52	243 ± 50	235 ± 47
SCOD (g/l)	8,0 ± 1,0	1,8 ± 1,9	2,9 ± 0,4	2,3	8,8 ± 1,8	7,5 ± 2,3	7,0 ± 2,4	3,9	8,2 ± 1,1	3,3 ± 1,4	1,9 ± 0,2	1,8
TVFA (mg/ml)	28 ± 20	1531 ± 1657	91 ± 42	80 ± 48	14 ± 20	3513 ± 3289	3334 ± 1441	1182 ± 204	24 ± 34	215 ± 218	46 ± 19	20 ± 1
NH ₄ (mg/l)	1127 ± 379	209 ± 152	46 ± 22	-	1030 ± 583	216 ± 149	6 ± 3	-	1155 ± 351	211 ± 193	47 ± 17	-
VS-vähennemä (%)	88 ± 2,8	92 ± 0,7	93 ± 1,0	91	88 ± 2,8	92 ± 1,0	91 ± 1,8	94,9	88 ± 2,7	92 ± 1,0	91 ± 2,2	94
VS/TS (%)	75, ± 0,5	71 ± 7,2	67 ± 3,6	72,9	74 ± 0,3	73 ± 5,4	68 ± 4,3	58,7	75 ± 0,3	73 ± 4,8	70 ± 4,3	61
TS (%)	3,7 ± 0,9	2,6 ± 0,4	2,6 ± 0,2	3,0	3,6 ± 0,8	2,7 ± 0,5	3,0 ± 0,4	2,0	3,7 ± 0,8	2,6 ± 0,4	3,0 ± 0,5	2,1
VS (%)	2,8 ± 0,7	1,8 ± 0,2	1,7 ± 0,2	2,2	2,7 ± 0,6	2,0 ± 0,2	2,0 ± 0,4	1,2	2,8 ± 0,6	1,9 ± 0,2	2,1 ± 0,5	1,3

Taulukko 9. Reaktorien poistolietteiden ominaisuuksia ennen lisäaineiden lisäystä (koepäivät 5-85) ja lisäyksen jälkeen (koepäivät 86-200). Keskihajonta on ilmoitettu tuloksen perässä ±-merkillä.

Reaktori	M1		M2		M3	
	5-85	86-200	5-85	86-200	5-85	86-200
Koepäivät	5-85	86-200	5-85	86-200	5-85	86-200
pH	6,7-7,6	6,6-8	6,7-7,6	6,7-8,1	6,7-7,8	7,0-8,1
CH ₄ (Nml/gVS/d)	207 ± 54	240 ± 97	204 ± 48	199 ± 68	179 ± 65	235 ± 49
SCOD (g/l)	6,8 ± 1,6	3,4 ± 1,8	7,1 ± 2,2	6,2 ± 3,2	6,3 ± 2,3	2,1 ± 0,6
TVFA (mg/ml)	580 ± 795	1163 ± 1715	443 ± 660	4313 ± 2624	231 ± 285	98 ± 101
NH ₄ (mg/l)	667 ± 491	74 ± 48	631 ± 509	82 ± 65	698 ± 485	58 ± 24
VS-vähennemä (%)	91 ± 2,9	92 ± 0,9	91 ± 2,5	92 ± 1,6	91 ± 2,8	92 ± 1,8
VS/TS (%)	76 ± 1,7	68 ± 5,9	76 ± 2,4	69 ± 5,3	76 ± 1,8	70 ± 4,5
TS (%)	2,9 ± 0,9	2,7 ± 0,3	2,9 ± 0,8	2,9 ± 0,5	2,9 ± 0,9	2,8 ± 0,5
VS (%)	2,2 ± 0,7	1,8 ± 0,2	2,2 ± 0,6	2,0 ± 0,4	2,2 ± 0,7	2,0 ± 0,4

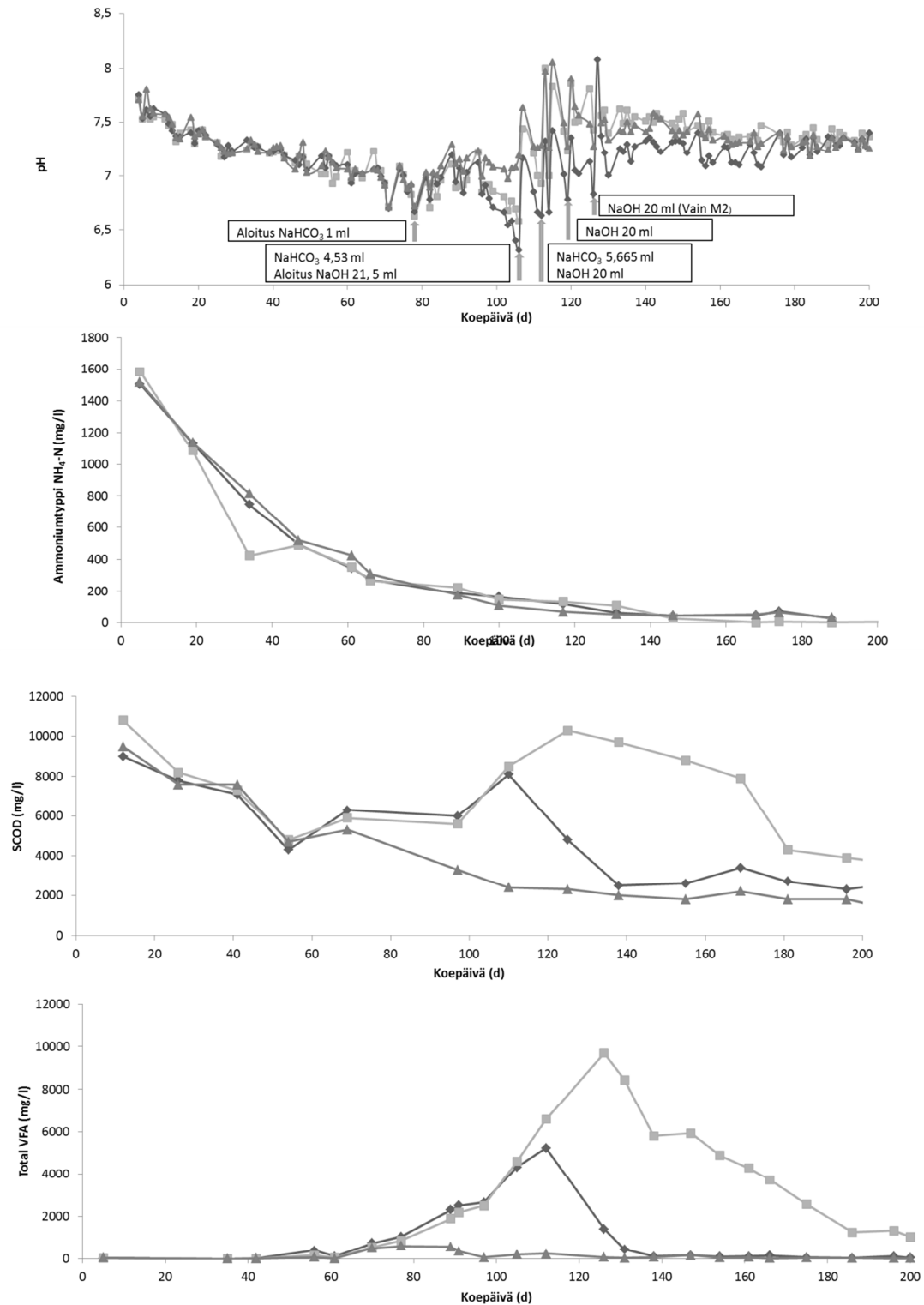
4.2 Reaktorien pH

Kaikkien reaktorien pH-arvo oli kokeen alussa n. 7,7 (Kuva 3). Kokeen edetessä pH laski tasaisesti ja oli 60 koepäivän tienoilla alle 7. NaHCO₃:n lisäys aloitettiin koepäivänä 77, kun reaktoreiden pH oli laskenut n. 6,8-6,9:ään jotta välttyttäisiin reaktoreiden epästabiililta toiminnalta. NaHCO₃:a lisättiin aluksi 1-3 g/d, jolloin reaktoreiden pH nousi lähelle 7:ää. Tämän jälkeen NaHCO₃:n lisäystä vähennettiin 0,4 g:aan päivässä. Alimmillaan pH oli koepäivänä 106, jolloin M1-reaktorin pH oli 6,6 ja M2-reaktorin 6,3. Tällöin reaktoreihin lisättiin NaHCO₃:n 4,5 ml:aa. M3-reaktorin pH oli alimmillaan seuraavana koepäivänä 7,2. Koepäivänä 106 reaktoreihin lisättiin NaOH:ia, jota lisättiin M1- ja M2-reaktoreihin 21,5 ml:aa ja reaktoriin M3 15ml:aa. Reaktoreiden pH nousi lisäysten jälkeen väliaikaisesti 7,2-7,4 välille, mutta laski viikonlopun jälkeen arvoon 6,9-7,2. Koepäivinä 109-110 reaktorien pH pysyi tasaisena ja NaHCO₃:n ja NaOH:n lisäystä vähennettiin 0,90-0,95 ml:aan (NaHCO₃) ja 0,532 g:aan (NaOH). Lisäysten jälkeen reaktorien pH alkoi vähitellen nousta.

Eniten pH nousi reaktorissa M3, jonka pH oli koepäivänä 110 korkeimmillaan 8,0. Myös M2-reaktorin pH kävi 8,0:ssa natriumhydroksidin lisäyksen jälkeen (koepäivä 131), mutta laski tämän jälkeen 7,4:ään. M1-reaktorissa pH nousi lisäyksen jäljiltä 7,8:een. Koepäivänä 112 reaktoreiden pH laski nopeasti ja kaikkiin reaktoreihin lisättiin natriumhydroksidia 20 ml:aa. Lisäksi kaikkiin reaktoreihin lisättiin 5,56 g:aa NaHCO₃:a jonka jälkeen annostus laskettiin 0,665 g:aan, jota jatkettiin kokeen loppuun asti. Koepäivänä 117 reaktoreiden pH laski jälleen ja natriumhydroksidia lisättiin uudestaan 20 ml:aa. Reaktorin M2 pH laski koepäivänä 124 6,8:aan ja siihen lisättiin natriumhydroksidia 20 ml:aa. Kokeen

loppuaikana (koepäivät 130-200) kaikkien reaktorien pH tasaantui välille 7,2-7,4, eikä natriumhydroksidia enää lisätty.

Jaksokeskiarvoina suurimmat vaihtelut eri reaktoreiden pH-arvoissa olivat koepäivinä 43-153, jolloin M1-reaktorin pH vaihteli välillä 6,6-8,0 ja M2:n välillä 6,4-8,1 mutta M3-reaktorin pH pysyi tasaisesti välillä 7,3-7,5. Loppuaikana (koepäivät 154-194) kaikkien reaktoreiden pH tasaantui ja vaihteli kaikissa reaktoreissa 7,1-7,4 välillä.



Kuva 3. Reaktorien pH-arvot sekä SCOD-, kokonais-VFA ja NH₄-pitoisuudet kokeen aikana. M1-reaktori (◆), M2-reaktori (■), M3-reaktori (▲). pH-kuvaajassa NaHCO₃:n ja NaOH:n lisäysten aloitukset ja merkittävimmät lisäykset on merkitty nuolilla.

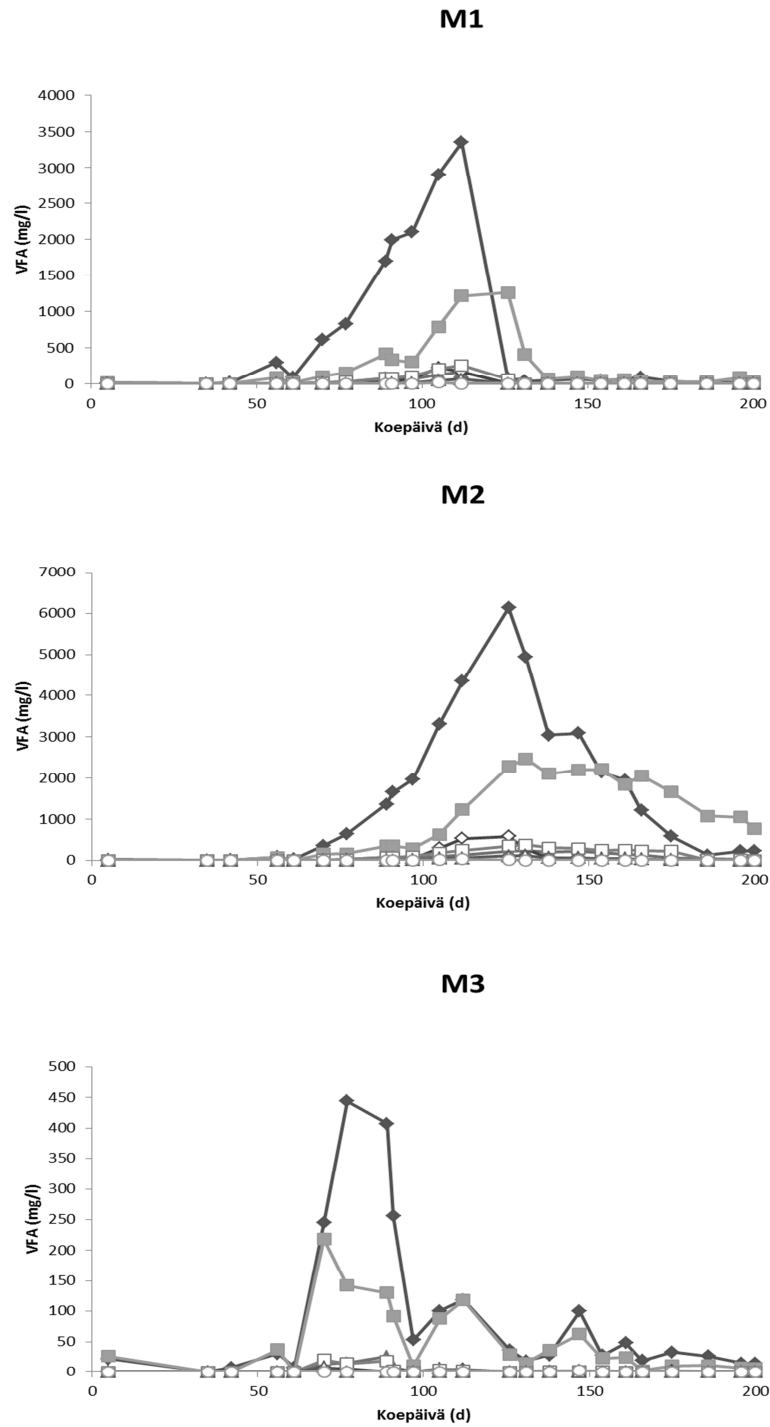
4.3 Ammoniumtyppi

Reaktoreiden ammoniumtyppipitoisuus oli kokeen alussa n. 1500-1580 mg/l. Kokeen aloituksen jälkeen ammoniumtyppipitoisuus laski kaikissa reaktoreissa tasaisesti (Kuva 3). Koepäivän 89 jälkeen M3-reaktorin ammoniumtyppipitoisuus alkoi laskea verrattuna muihin reaktoreihin. Koepäivästä 146 lähtien M2-reaktorissa oli kuitenkin vähiten ammoniumtyppiä ja koepäivänä 174 sitä oli vain 6 mg/l, kun muissa reaktoreissa sitä oli 25 ja 30 mg/l.

4.4 VFA-yhdisteet ja SCOD

Reaktoreissa oli eniten VFA-yhdisteitä koepäivien 100-160 aikana, jolloin reaktorien toiminta oli epästabiilia. Tämä näkyy kokonais-VFA:n jaksokeskiarvoissa, jotka koepäivinä 43-153 olivat reaktorissa M1 1513 mg/l, reaktorissa M2 3513mg/l ja reaktorissa M3 215 mg/l.

Suurin kokonais-VFA- pitoisuus havaittiin M2-reaktorissa, jossa VFA-pitoisuus oli hetkellisesti yli 10000 mg/l (Kuva 4). M1-reaktorissa pitoisuus oli suurimmillaan n. 4500 mg/l ja vähiten VFA-yhdisteitä oli M3-reaktorissa, jossa VFA:ta oli suurimmillaankin vain n. 600 mg/l.



Kuva 4. Reaktoreiden M1-M3 VFA-pitoisuudet. Etikkahappo (◆), propionihappo(■), iso-voihappo (▲), voihappo (◇), isovaleriaanihappo (□), valeriaanihappo(Δ) ja kapronihappo (○).

Yleisimmät VFA-yhdisteet reaktoreissa olivat etikka- ja propionihappo (Kuva 4). Suurimmat pitoisuudet etikkahappoa olivat M2-reaktorissa, jossa sitä oli suurimmillaan yli 6000 mg/l. M1-reaktorissa etikkahappoa oli n. 3500 mg/l. Vähiten etikkahappoa oli M3-reaktorissa, jossa sitä oli enimmillään vain 450 mg/l. M1- ja M2-reaktoreissa havaittiin myös pieniä määriä voi- ja isovoihappoja sekä valeriaani- ja isovaleriaanihappoja. M3-reaktorissa näitä ei havaittu.

Kokeen alussa reaktoreiden SCOD-arvot olivat välillä 9-11 mg/l. Koepäivien 1-50 aikana kaikkien reaktoreiden SCOD-pitoisuudet olivat lähellä toisiaan ja laskivat tasaisesti. Koepäivän 50 jälkeen reaktoreiden SCOD-pitoisuudet alkoivat nousta. Tällöin M2-reaktorin SCOD-pitoisuudet alkoivat nousta M1 ja M3 reaktoria korkeammiksi. Koepäivien 45-153 aikana M2-reaktorin SCOD-pitoisuus oli keskimäärin 7,5 mg/l, kun M1-reaktorin oli 1,8 mg/l ja M3-reaktorin 3,3 mg/l. M2-reaktorin korkein SCOD-pitoisuus oli koepäivänä 125 yli 10 mg/l. M1-reaktorissa SCOD-pitoisuus oli korkeimmillaan 8,0 mg/l ja sen SCOD-pitoisuudet alkoivat laskea jo koepäivän 110 jälkeen. Verrattuna muihin reaktoreihin, M3-reaktorin SCOD-pitoisuus nousi koepäivän 50 jälkeen hetkellisesti ja laski sen jälkeen muita reaktoreita nopeammin. Korkeimmillaan M3-reaktorin SCOD-pitoisuus oli 5,3 mg/l koepäivänä 69.

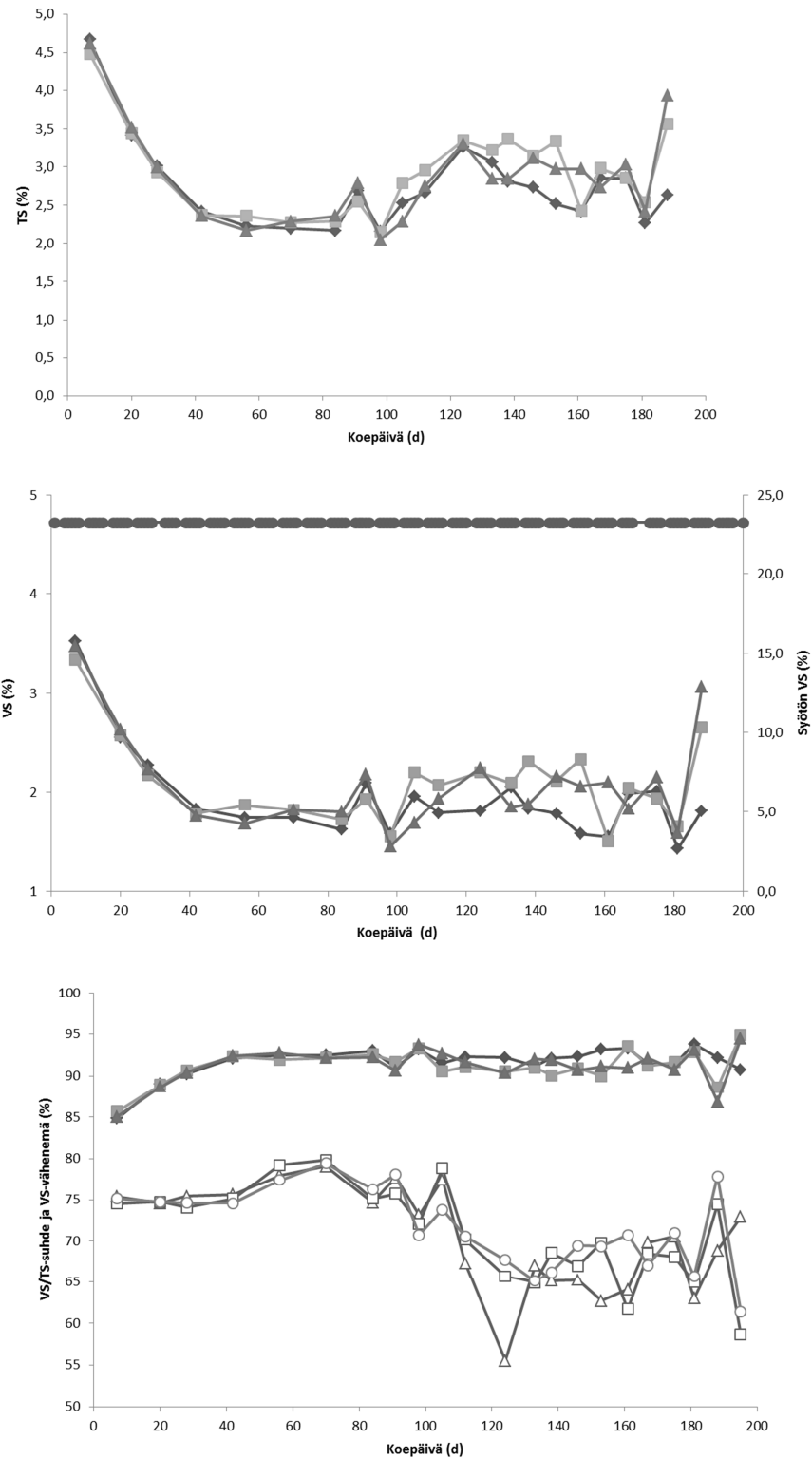
4.5 TS- ja VS-pitoisuudet

Reaktorista otettujen poistotolietteen TS-pitoisuus oli kokeen alussa kaikissa reaktoreissa n. 4,5, mutta laski 2,4-2,6 %:iin ja pysyi siinä lähes 50 koepäivän ajan (Kuva 5). Reaktoreiden TS-pitoisuus alkoi nousta kohti 3,5 %:ia koepäivän 100 jälkeen, mutta laski kokeen lopussa 2-3 %:n välille. Kokeen loppupuolella reaktoreiden TS-pitoisuuksissa oli vaihtelua.

Reaktoreiden VS-pitoisuus vaihteli samalla tavalla kuin TS-pitoisuus. Kokeen alussa VS-pitoisuus oli 3,3-3,5 %:ia, mutta laski kokeen aikana 2-2,5 %:iin. Koepäivän 100 tienoilla VS-pitoisuus nousi myös hetkellisesti mutta laski loppua kohden ja kokeen loppuajana VS-pitoisuuksissa oli vaihtelua.

Reaktorien VS-vähenemä oli kokeen alussa kaikissa reaktoreissa n. 88 %. Koepäivien 43-153 aikana kaikkien reaktorien VS-vähenemä nousi 91-92%:iin eikä reaktorien välillä ollut suuria eroja. Kokeen lopussa (koepäivät 194-200) M1 reaktorin VS-vähenemä (91%) oli tosin hieman muita reaktoreita alhaisempi (M2 95 % ja M3 95 %)

VS/TS-suhde oli kokeen alussa kaikissa reaktoreissa 74-75 %:n välillä, eikä reaktoreiden välillä ollut suuria vaihteluita. Koepäivien 154-193 aikana M1-reaktorin VS/TS-suhde laski 67 %:iin ja M2-reaktorin 68 %:iin, mutta M3 reaktorin VS/TS-suhde oli näitä hieman korkeampi (71 %). Aivan kokeen lopussa (koepäivät 194-200) M3-reaktorin VS/TS-suhde kuitenkin laski 61 %:iin kun VS/TS-suhde M2 reaktorissa oli 59 % ja kaikkein suurin VS/TS-suhde oli reaktorissa M1 (73 %).



Kuva 5. Reaktoreiden poistojen TS- pitoisuus, poiston ja syötön VS-pitoisuus (syötön VS-pitoisuus skaalattu oikealle y-akselille) sekä VS-vähennä ja VS/TS-suhde. VS, TS ja VS-vähennä-merkkien selitykset: M1-reaktori (◆), M2-reaktori (■), M3-reaktori (▲) ja syöttö (●). VS/TS-suhde on merkitty avoimilla symboleilla: M1 (Δ), M2 (□) ja M3 (○).

5. TULOSTEN TARKASTELU

5.1 Metaanintuotto

Koeajojen perusteella lisäaine A2 mahdollisti prosessin vakaamman toiminnan, mikä näkyi erityisesti reaktorin M3 paremmassa toiminnassa verrattuna M1- ja M2-reaktoreihin. Eri-tyisesti tämä näkyi reaktorien M1 ja M2 toimiessa hetkellisesti epävakaaasti koepäivän 100 paikkeilla. Tällöin M3-reaktorissa VFA-pitoisuudet olivat alhaisemmat kuin muissa reaktoreissa, korkeimmillaan kokonais-VFA oli M3-reaktorissa 621 mg/l, kun se oli reaktorissa M1 5222 mg/l ja reaktorissa M2 9697 mg/l. Tämän lisäksi M3-reaktorin pH-arvo nousi epästabiilin jakson jälkeen muita reaktoreita nopeammin. M3-reaktori tuotti epästabiilin jakson aikana myös enemmän metaania kuin muut reaktorit. Alimmillaan reaktorit tuottivat metaania koepäivänä 106, jolloin M3-reaktori tuotti 252 Nml/gVS/vko, M1-reaktori 192 Nml/gVS/vko ja M2-reaktori 115 Nml/gVS/vko.

Lisäaineiden vaikutus M3-reaktorin metaanintuottoon näkyy hieman selkeämmin tarkasteltaessa metaanintuottoa ajanjaksolla ennen lisäaineiden lisäämistä ja sen jälkeen (Taulukko 9). Ajanjaksolla ennen lisäaineiden lisäämistä M3 tuotti metaania 179 Nml/gVS/d ja lisäämisen jälkeen 235 Nml/gVS/d. Myös kontrollireaktorissa M1 lisäaineet paransivat metaanintuottopotentiaali, reaktorissa metaanintuottopotentiaali oli ennen lisäysajankohtaa 207 Nml/gVS/d ja sen jälkeisellä ajalla 240 Nml/gVS/d. Reaktorissa M2 lisäaineet sen sijaan laskivat metaanintuottoa (204 Nml/gVS/d ennen lisäämistä ja 199 Nml/gVS/d jälkeen).

Epästabiilin toiminnan aikana (koepäivät 70-120) myös reaktorilietteiden TS-, VS- ja SCOD-pitoisuudet nousivat. Epästabiili toiminta ei kuitenkaan vaikuttanut reaktoreiden ammoniumtyyppipitoisuuksiin. Kontrollireaktori M1 tuotti koeajojen aikana metaania parhaimmillaan 338 NI CH₄/kg VS. Tämä on suhteellisen lähellä kirjallisuudesta raportoituja arvoja maissin metaanintuottomääriä (Taulukko 10). Esimerkiksi panoskokeissa on maissilajikkeiden ja lannan yhdistelmällä saavutettu 236-370 NI CH₄/kg VS (Pyykkönen 2009) sekä eri maissilajikkeille 357-470 NI CH₄/kg VS (Koponen 2010) ja 295-415 NI CH₄/kg VS (Schittenhelm 2008). On huomattava, että panoskokeissa saavutetaan usein isompia metaanintuottopotentiaaleja kuin jatkuvatoimisissa CSTR-reaktorikokeissa, koska panoskokeissa mikrobeilla on enemmän aikaa hajottaa orgaanista ainetta, eikä mikrobeja huuhtoudu reaktorista (Kreuger & Björnsson 2006, Nordberg & Nordberg 2007).

Syyt M2-reaktorin huonompaan toimintaan verrattuna M3-reaktoriin ja varsinkin kontrollina toimineeseen M1-reaktoriin jäivät epäselviksi. Kun reaktorit alkoivat toimia epävaakaasti, vaikutukset näkyivät voimakkaimmin M2-reaktorissa. Siinä mitattiin suurimmat VFA- ja SCOD-pitoisuudet sekä alhaisimmat pH-, TS- ja VS-pitoisuudet. VFA-pitoisuudet myös pysyivät korkeampana pidempään kuin muissa reaktoreissa. Reaktorin kuormitus oli kokeen ajan sama kuin muissa reaktoreissa, joten tämä ei selitä eroja. On myös huomattava, että reaktorikokeiden kannalta aika loppui kesken ja kokeen lopussa reaktorit M1 ja M3 toimivat vielä hyvin. Siten selkeiden johtopäätösten teko lisäaineiden toimivuudesta on vaikeaa. Johtopäätöksiä olisi ollut helpompi tehdä, jos reaktoreita olisi päästy ajamaan korkeammilla kuormilla ja nähty lisäaineiden vaikutukset reaktorien maksimikuormituksilla.

Lisäaineiden suuri keskinäinen ero reaktorin toimintaan saattaa johtua niiden erilaisista vaikutuksista reaktoreiden VFA-pitoisuuteen ja sitä kautta prosessin vakauteen. Lisäaine A2:n saattoi alentaa reaktorin VFA:ta ja siten piti pH:n korkeana, jolloin sen sisältämä happolisäys ei laskenut reaktorin pH-arvoa. Lisäaine A1 taas ei onnistunut laskemaan reaktorin VFA-pitoisuutta riittävästi, jolloin sen sisältämä happolisäys laski reaktorin pH-arvoa ja sitä kautta myös lopulta nosti entistä enemmän VFA-pitoisuutta. Siten lisäaine A1 olisi oikeastaan haitannut reaktorin toimintaa.

A2-lisäaineen parempi kyky alentaa reaktorin VFA-pitoisuutta saattoi johtua sen ominaisuuksista. Lisäaine A2 sisältää kobolttia ja nikkeliä joita lisäaine A1 ei sisällä ja tämä saattaa selittää sen paremman tehon. Kirjallisuudesta löytyy useita tutkimuksia (Taulukko 10), joiden mukaan erityisesti nikkeli ja koboltti parantavat biokaasureaktorin toimintaa ja metaanintuottoa.. Esim. Hinken ym. (2008) tutki panosreaktorikokeissa hivenaineiden vaikutusta energiamaissin ja yhdyskuntajätevedenpuhdistamon lietteen biokaasuntuotantoon. Reaktoreihin lisättiin kobolttia, nikkeliä ja rautaa. Hivenaineet lisäsivät energiamaissilla syötettyjen reaktoreiden biokaasuntuotantoa (180 NI/gVSS) ja se tuottivat enemmän biokaasua kuin ilman hivenaineita toiminut kontrollireaktori (130 NI/gVSS). Enimmillään hivenaineiden lisäys nosti biokaasun tuotantoa maissisyötettä käyttäneessä reaktorissa 35 %.

Pobeheim ym. (2010) tutki panoskokeessa nikkelin, koboltin ja molybdeenin vaikutuksia anaerobiseen hajoamiseen. Syötteenä käytettiin keinotekoista maissia. Kokeessa nikkelin,

koboltin ja molybdeenin huomattiin lisäävän biokaasun määrää 30 %. Pelkän nikkelin lisääminen lisäsi biokaasun määrää 30 % ja koboltin 15 %.

Myöhemmässä kokeessa (Pobeheim ym. 2011) tutki uudestaan nikkelin ja koboltin vaikutusta anaerobiseen hajottamiseen käyttäen CSTR-reaktoreita ja syötteenä edelleen synteettistä maissia. Kokeissa yhteen kontrollireaktoriin lisättiin useita hivenaineita sisältänyttä ravinneliuosta sekä kobolttia ja lisäksi kokeen aikana reaktorin nikkelpitoisuutta lisättiin tasaisesti. Kokeissa tutkittiin nikkelin ja koboltin vaikutusta yksittäin reaktorin toimintaan. Tulokset osoittivat, että nikkelin ja koboltin lisääminen paransi reaktorin vakautta ja biokaasun tuotantoa varsinkin korkeammalla kuormituksella. Tulokset osoittivat, että jo alhaiset nikkelpitoisuudet riittivät ylläpitämään prosessia alhaisella kuormituksella, mutta korkeampi kuormitus vaati suurempia pitoisuuksia. Lisäksi nikkellillä vaikutti olevan suurempi vaikutus reaktoreiden toimintaan kuin koboltilla.

Joissain tutkimuksissa on huomattu monista eri hivenaineseoksen vaikuttavan tehokkaammin biokaasureaktorin toimintaan kuin yksittäisten hivenaineiden lisäämisen. Esimerkiksi Lebuhn ym. (2008) käytti kokeessaan maissia mesofiilisen CSTR-reaktorin syötteenä. Vertailureaktoreihin syötettiin lisäksi hivenaineseosta, joka sisälsi rautaa, mangaania, kuparia, molybdeenia, kuparia, sinkkiä, booria, seleeniä sekä nikkeliä (Taulukko 10). Vertailureaktoreihin lisättiin yksinkertainen- tai kymmenkertainen määrä hivenaineliuosta. Kokeessa hivenaineet syötettiin yleensä siinä vaiheessa, kun koereaktorin toiminta meni epästabiiliksi ja pH sekä VFA-pitoisuudet alkoivat nousta. Kokeessa pelkällä maissilla syötetty reaktorin metaanintuottopotentiaali oli korkeimmillaan 370 $\text{NICH}_4/\text{kgVS}$ -kuormituksen ollessa 0,5 ($\text{kg VS}/\text{m}^3/\text{d}$), kun yksinkertaisella hivenaineliuoksella syötetyn reaktorin oli korkeimmillaan 500 $\text{NICH}_4/\text{kgVS}$ syötön ollessa 3,8 ($\text{kg VS}/\text{m}^3/\text{d}$). Lisäksi, kun syöttöä lisättiin 2,5 $\text{kg VS}/\text{m}^3/\text{d}$:iin, kontrollireaktori kaatui eikä enää tämän jälkeen toiminut vakaasti.

Taulukko 10. Vertailua eri tutkimuksissa saaduista hivenaineiden vaikutuksista metaanintuotantomäärään erilaisilla syötteillä ja hivenaineilla.

Syöte	Reaktori	Hivenainelisäys	CH ₄ -potentiaali (NI CH ₄ /kg VS)	OLR (kg VS/m ³ /d)	T (°C)	Viite
Säilötty maissi	Panos	Ei	357-470	-	35	Koponen 2010
Maissi (Eri lajikkeita)	Panos	Ei	295-419	-	37	Schittenhelm 2008
Energiamaissi	Panos	Ei	130 (Biokaasua NI/g VS)	-	-	Hinken ym. 2008
		Fe 20 mg/kg CODin Ni 11 mg/kg CODin Co 9 mg/kg CODin	180 (Biokaasua NI/g VS)	-	-	
Maissi + liete	CSTR	Ei	236-370	2-3	35	Pyykkönen 2009
Synteettinen maissi	CSTR	Ni 0,88 mgkg ⁻¹ FM Co 0,17mgkg ⁻¹ FM	278	3	35	Pobeheim ym .2011
		Ni 0,06 mgkg ⁻¹ FM Co 0,16 mgkg ⁻¹ FM	173	3	35	
		Ni 0,79 mgkg ⁻¹ FM Co 0,06 mgkg ⁻¹ FM	261	3	35	
Maissi	CSTR	Ei	400	3,5	37	Weiland & Abdoun 2009
		Koboltti 10 g	486	3,5	37	
		Nikkeli 10 g	429	3,5	37	
		DSMZ 144 ^b	443	3,5	37	
Maissi	CSTR	1xTE ^a	500	3,8	38	Lebuhn ym. 2008
		10xTE ^a	470	2,4	38	
		Ei	370	0,5	38	
Maissi	CSTR	A2	370	2.2	35	Tämä tutkimus
		A1	305	2.2	35	
		Ei	338	2.2	35	

^a Ravinneliuoksen koostumus TE_{x1}: Fe (18 µg), Co (13,2 µg), Mn (15,6 µg), Mo (6,9 µg), Cu (0,005 µg), Zn (0,049 µg), B (0,198 µg), Se (0,627 µg) ja Ni (9,66 µg)

^bDSMZ 144 (5-kertainen liuos) koostumus: C₆H₉NO₆ 64 g, FeCl₂ x 4 H₂O 1 g, MnCl₂ x 4 H₂O 0,5 g, CoCl₂ x 6 H₂O 0,9 g, CaCl₂ x 2 H₂O 0,5 g, ZnCl₂ 0,5 g, CuCl₂ 0,1 g, H₃BO₃ 0,1 g, Na₂MoO₄ x 2 H₂O 0,1 g, NiCl₂ x 6 H₂O 0,1g, NaCl 5 g, Na₂SeO₃ x 5 H₂O 0,1 g

Toisessa kokeessa (Abdoun & Weiland 2009) havaittiin myös usean hivenaineen lisäyksen olevan tehokkaampi kuin yksittäisen hivenaineen. Siinä tutkittiin CSTR-reakteoreissa nikkelin, koboltin ja hivenainelisä DSMZ 144:n vaikutusta biokaasuntuottoon ja reaktorin stabiiliuteen käyttäen syötteenä pelkästään maissia. Kokeessa reaktoreiden syöttöä nostet-

tiin kunnes ne kaatuisivat. Pisimpään reaktoreista pysyi toiminnassa DSMZ 144, joka toimi vielä kuormituksen ollessa suuri (5,5 kg VS/m³/d), toiseksi pisimpään reaktori johon oli lisätty kobolttia (kuormitus 5 kg VS/m³/d), kolmanneksi reaktori jossa oli nikkeliä (kuormitus 3,5 kg VS/m³/d), ja ensimmäisenä kaatui reaktori johon ei ollut lisätty hivenaineita (3,5 kg VS/m³/d). Tulosten perusteella yksittäisten hivenaineiden lisäys ei riittänyt tyydyttämään reaktoreiden hivenainepuutosta, vaan siihen tarvittiin useita hivenaineita sisältänyttä DSMZ 144:ta.

6. JOHTOPÄÄTÖKSET

Työssä tutkittiin lisäaineiden vaikutusta maissia käsittelevien puolijatkuvatoimisten reaktoreiden metaanintuotantoon ja toimintaan. Kokeessa lisäaine A2 lisäsi reaktorin stabiilisuutta ja nopeutti toipumista häiriötilanteesta verrattuna muihin reaktoreihin, mikä voitiin havaita mm. alhaisempina VFA-pitoisuuksina verrattuna muihin reaktoreihin. Reaktorilla, johon oli lisätty lisäaine A2:ta, havaittiin myös suurin metaanintuottopotentiali (370 NI CH₄/kgVS) epästabiilin toiminnan aikana. Lisäaineen A1 lisäyksen ei havaittu lisäävän reaktorin metaanintuottoa eikä parantavan stabiilisuutta. Siten hivenaineiden vaikutuksen tulkinta on vaikeaa. Jos reaktoreita olisi ajettu pidempään ja saavutettu maksimikuorma, olisi johtopäätösten teko lisäaineiden vaikutuksesta ollut ehkä helpompaa.

KIITOKSET

Tämä työ oli tehty osana Kemira Oyj:n tilaustutkimusta ADDBiogas, projekti G-0021.

Kiitokset Kemira Oyj:lle tutkimuksen rahoittamisesta. Kiitokset Jukka Rintalalle gradun tarkastamisesta ja ohjaamisesta sekä Suvi Bayrille gradun ohjaamisesta. Kiitokset myös Prasad Kaparajulle, Mervi Koistiselle, Leena Siitoselle ja Hanna Kuposelle, Ida Harlinille sekä muille työn laboratorio-osuudessa auttaneille.

KIRJALLISUUS

- Abdoun, E., & Weiland, P. 2009: Optimierung der Monovergärung von nachwachsenden Rohstoffen durch die Zugabe von Spurenelementen (Optimization of monofermentation from renewable raw materials by the addition of trace elements). -Bornimer Agrartechnische Berichte 68: 69-75.
- Al-Seadi, T., Rutz, D., Prasel, H., Köttner, M., Finsterwalder, T., Volk, S. & Janssen, R. 2008: Biogas handbook. 125 s. -University of Southern Denmark, Esbjerg.
- Angelidaki, I., Karakashev, D., Bastone, D.J, Plugge, C.M. & Stams, A.J.M. 2011: Biomethanation and its potential. -Methods in Enzymology 494: 327–351
- Ashley, N.V., Davies, M. & Hurst, T. 1982: The effect of increased nickel ion concentrations on microbial populations in the anaerobic digestion of sewage sludge. -Water Research 16: 963–971
- Aresta, M., Narracci, M. & Tommasi, I. 2003: Influence of iron, nickel and cobalt on biogas production during the anaerobic fermentation of fresh residual biomass. -Chemistry and Ecology 19(6): 451-459
- Braun, R., Weiland, P. & Wellinger, A. 2010: Biogas from energy crop digestion. International Energy Agency (IEA) Bioenergy Task 37- Energy from Biogas and Landfill Gas. -IEA, Pariisi. Saatavilla: http://www.iea-biogas.net/_download/publi-task37/energycrop_def_Low_Res.pdf (Viitattu 15.4.2012)
- Clemens, J. 2007: Die Auslastung der Biogasanlage Optimieren. -Bauernblatt 34.
- Conrad, R., Klose, M., Claus, P., & Enrich-Prast, A. 2010: Methanogenic pathway, 13 C isotope fractionation, and archaeal community composition in the sediment of two clear-water lakes of Amazonia. -Limnology and Oceanography 55 (2): 689–702.
- Demirel, B. & Scherer, P. 2011: Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. -Biomass and Bioenergy Volume 35: 992–998
- Deppenmeier, U. 2002: The unique biochemistry of methanogenesis. -Progress in Nucleic Acid Research & Molecular Biology 71: 223–283.
- Egert, M. 2005: Institut für Futtermittel, LUFÄ Nord-West. Oldenburg.
- EurObserv'ER. 2010: Biogas barometer. N° 200 – 2010: 104-119 -Systèmes Solaires, Pariisi.
- Fachverband Biogas e.V. 2011: Biogas Segment Statistics 201. -German Biogas Association, Freising. Saatavilla: [http://www.biogas.org/edcom/webfvb.nsf/id/DE_Branchenzahlen/\\$file/11-11-15_Biogas%20Branchenzahlen%202011_eng.pdf](http://www.biogas.org/edcom/webfvb.nsf/id/DE_Branchenzahlen/$file/11-11-15_Biogas%20Branchenzahlen%202011_eng.pdf). (Viitattu 13.4.2012)

- Fehrenbach, H., Giegrich, J., Reinhardt, G., Sayer, U., Gretz, M., Lanje, K. & Schmitz, J. 2008: Kriterien einer nach haltigen Bioenergienutzungim globalen Maßstab. -UBA-Forschungsbericht 206: 41–112
- Gujer, W. & Zehnder, A.J.B. 1983: Conversion processes in anaerobic digestion. -Water Science Technology 15: 49-77.
- Gustavsson, J., Svensson, B.H., & Karlsson, A. 2011: The feasibility of trace element supplementation for stable operation of wheat stillage-fed biogas tank reactors. -Water Science and Technology 64(2): 320-325
- Garcia, M.T., Campos, E., Sanchez-Leal, J. & Ribosa, I. 2000: Anaerobic degradation and toxicity of commercial cationic surfactants in anaerobic screening tests. -Chemosphere 41: 705-710.
- Gerardi, M.H. 2003: The Microbiology of Anaerobic Digester. 176 s. -John Wiley & Sons Inc. New Jersey.
- Gömann, H., Kreins, P., Osterburg, B. & Breuer, T. 2007: Nutzungskonkurrenzen durch die Förderung von Biogas und anderen Energieträgern. -Agrarspectrum 40,135–150
- Hinken L., Urban I., Haun E., Urban I., Weichgrebe D. & Rosenwinkel K.H. 2008: The valuation of malnutrition in the mono-digestion of maize silage by anaerobic batch tests. -Water Science Technology 58(7): 1453-9.
- Jarvis, Å., Nordberg, Å., Jarlsvik, T., Mathisen, B. & Svensson, B.H. 1997: Improvement of a grass-clover silage-fed biogas process by the addition of cobalt. -Biomass and Bioenergy 12: 453-60.
- Keymer, U. 2004: Biogasausbeuten verschiedener Substrate. –Verkkójulkaisu, Institut für Landliche Strukturentwicklung, Betriebswirtschaft und Agrarinformatik, München. Saatavilla: http://www.lfl.bayern.de/ilb/technik/10225/?sel_list=36%2Cb&strsearch=&pos=left (Viitattu 3.10.2012)
- Kida, K., Sonoda, Y., Kawase, M. & Nomura T. 1991: Influence of mineral nutrients on high performance during anaerobic treatment of wastewater from a beer brewery. - Journal of Fermentation and Bioengineering 72: 54–57
- Koponen, H. 2010: Biogas production from ensiled maize with and without hydrothermal pretreatment. 28 s. -Pro gradu, Jyväskylän yliopisto.
- Kreuger, E. & Björnsson, L. 2006: Anaerobic digestion of horse manure with and without co-digestion with grass-clover silage in a batch loaded reactor with percolation. - Raportti, Institutionen för Bioteknologi, Lunds universitet.
- Laine, A. 2009: Maissin viljelyn mahdollisuudet ja viljelytekniikka koetulosten valossa. – Esitelmä (3.2.2009), ProAgria, Tampere. Saatavilla: <http://portal.mtt.fi/portal/page/portal/Artturi/Artturikirjasto/Esitelmadiasarjat/627D93F0C406407EE040A8C0023C4BD1>. (Viitattu 10.6.2012).
- Laine, A. 2010: Onko maissista rehuksi tai bioenergiaksi Suomessa? Anneli Hopponen (toim.). Suomen maataloustieteellisen seuran tiedote 26: 1p. –Posteritiivistelmä, Maataloustieteen Päivät 2010, 12.-13.1.2010, Viikki. Saatavilla: <http://www.smts.fi/jul2010/poste2010/021.pdf> . (Viitattu 10.6.2012).
- Lebuhn, M., Liu, F., Heuwinkel, H. & Gronauer, A. 2008: Biogas production from mono-digestion of maize silage–long-term process stability and requirements. -Water Science Technology, 58:45–51.

- Lebuhn, M., Bauer, C., Munk, B. & Gronauer, A. 2009: Population dynamics of methanogens during acidification of biogas fermenters fed with maize silage – a causal analysis. -Proceedings of the 1st international congress biogas science, Erding, LfL-Schriftenreihe 16/2; 2–4: 319–332. ISSN:2009; 1611-4159.
- Liu, Y. & Whitman, W.B. 2008: Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic archaea. -Annual New York Academy of Sciences 1125: 171-189.
- Mara, D. & Horan, N. 2003. Handbook of Water and Wastewater Microbiology. 832 s. - Academic Press, London.
- Mata-Alvarez, J. 2003. Fundamentals of anaerobic digestion process. Teoksessa: Mata-Alvarez, J.(toim.), Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. 317 s. -IWA Publishing, Cornwall.
- Murray, W.D. & Berg, L., 1981: Effects of nickel, cobalt, and molybdenum on performance of methanogenic fixed-film reactors. -Applied and Environmental Microbiology 42: 502-505.
- Mähnert, P. 2007: Kinetik der Biogasproduktion aus nachwachsenden Rohstoffen und Gülle. Väitöstyö. Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät der Humboldt. Universität zu Berlin. Berliini. Saatavissa: <http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/maehnert-pia-2007-07-23/PDF/maehnert.pdf>
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V. & Clark, D.P. 2009: Brock Biology of Microorganisms. 1168 s. 12th edition. Pearson Benjamin Cummings. San Francisco.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V. & Clark, D.P. 2012: Brock Biology of Microorganisms. 1152 s. 13th edition. Pearson Benjamin Cummings. San Francisco.
- Naik, S.N., Goud, V.V., Rout, P.K., & Dalai, A.K. 2010: Production of first and second generation biofuels: a comprehensive review. -Renewable & Sustainable Energy Reviews 14:578–597.
- Nordberg, U. & Nordberg, Å. 2007: Torrötning – kunskapssammanställning och bedömning av utvecklingsbehov. JTI-report. 64 s. -Lantbruk & Industri nr. 357, Uppsala.
- Noyola, A. & Tinajero, A. 2005: Effect of biological additives and micronutrients on the anaerobic digestion of physicochemical sludge. -Water Science and Technology 52(1-2): 275-281.
- Oleszkiewicz, J.A. & Sharma, V.K. 1990: Stimulation and inhibition of anaerobic processes by heavy-metals - a review. -Biological Wastes 31: 45–67.
- Pavlostathis, S.G., & Giraldo-Gomez, E. 1991: Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. -Environmental Control 21(5–6): 411–490.
- Perstorp Analytical Tecator AB 1995: The determination of nitrogen according to Kjeldahl using block digestion and steam distillation. Tecator käyttöohje.
- Pobeheim, H., Munk, B., Johansson, J. & Guebitz, G.M. 2010: Influence of trace elements on methane formation from a synthetic model substrate for maize silage. -Biore-source Technology 101: 836-839.
- Pobeheim, H., Bernhard, M., Harald, L. & Georg M. G. 2011: Impact of nickel and cobalt on biogas production and process stability during semi-continuous anaerobic fermentation of a model substrate for maize silage. -Water Research Volume 45, Issue 2: 781–787.

- Pyykkönen V. 2009: Biokaasua maissista – lajikkeen vaikutus energiasaantoon sekä maisin ja lehmän lietelannan yhteiskäsittely biokaasureaktorissa. 39 s. -Pro gradu, Jyväskylän yliopisto.
- Richards, B.K., Cummings, R.J., Jewell, W.J. & Herndon, F.G. 1991: High solids anaerobic methane fermentation of sorghum and cellulose. -Biomass and Bioenergy 1(1): 47–53
- Rodriguez, J., Kleerebezem, R., Lema, J. M., & van Loosdrecht, M. C. M. 2006: Modeling product formation in anaerobic mixed culture fermentations. -Biotechnology and Bioengineering 93(3): 592–606.
- Seif, H.A.A., Joshi, S.G. & Gupta, S.K. 1993: Effect of temperature and cobalt addition on the performance of anaerobic thermophilic fixed film reactor in the treatment of pharmaceutical wastewater. -Environmental Technology 14: 143–150
- Scherer P. & H. Sahn. 1981. Effect of trace elements and vitamins on the growth of *Methanosarcina barkeri*. -Acta Biotechnol. 1: 57–65.
- Scherer, P., Neumanna, L., Demirel, B., Schmidta, O. & Unbehauena, M. 2009: Long term fermentation studies about the nutritional requirements for biogasification of fodder beet silage as mono-substrate. -Biomass and Bioenergy Volume 33: 873–881
- Schattauer, A., Abdoun, E., Weiland, P., Plochl, M. & Heiermann, M. 2011: Abundance of trace elements in demonstration biogas plants. -Biosystems Engineering 108:57-65
- Schink. B. 1997: Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. -Microbiological Molecular Biological Review 61: 262-280.
- Schink. B. 2002: Synergistic interactions in the microbial world. -Antonie van Leeuwenhoek 81: 257-261.
- Schittenhelm, S. 2008: Chemical composition and methane yield of maize hybrids with contrasting maturity. -European Journal of Agronomy 29: 72-79.
- Somitsch, W. 2007: Prozesstechnische und biochemische Wirkungsweise von Betriebshilfsmitteln in der Methangärung. 16. OTTI-Symposium Bioenergie 22.-23.11.2007. 456 s. -Regensburg, Saksa.
- Speece, R.E. 1983: Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. -Environmental Science & Technology 17: 416– 427
- Sprott, G.D. & Patel, G.B. 1986: Ammonia toxicity in pure cultures of methanogenic bacteria. -Systematic and Applied Microbiology 7: 358–363
- Suomen standardisoimisliitto 1988. SFS5504, Veden kemiallisen hapenkulutuksen (CODCr) määrittäminen suljetulla putkimenetelmällä, hapetus dikromaatilla. -Suomen standardisoimisliitto SFS, Helsinki.
- Takashima, M. & Speece, R.E. 1990 Mineral requirements for methane fermentation. -Reviews in Environmental Control 19: 465 – 479.
- Takashima, M., Shimada, K. & Speece, R.E. 2011: Minimum requirements for trace metals (iron, nickel, cobalt, and zinc) in thermophilic and mesophilic methane fermentation from glucose. -Water Environment Research 83: 339–346.
- Tirri, R., Lehtonen, J., Lemmetyinen, E.R., Pihakaski, S. & Portin, P. 2001: Biologian sanakirja. s. 341. -Otavan Kirjapaino, Keuruu.

- Weiland, P. 2006: Anforderungen an Pflanzen seitens des Biogasanlagenbetreibers. Esi-
telmä: Thüringer Bioenergietag; Schriftenreihe der TLL, 12:26–32. Saatavilla
<http://www.tll.de/ainfo/pdf/biotag/bt061106.pdf>. (Viitattu 14.6.2012)
- Weiland, P. 2007: Biogas - Stand und Perspektiven der Erzeugung und Nutzung in
Deutschland. -Agrarspectrum 40: 111–122
- Williams, C.M., Shih, J.C.H. & Spears, J.W. 1986: Effect of nickel on biological methane
generation from a laboratory poultry waste digester -Biotechnology and Bioengineer-
ing 18: 1608–1610
- Wilkie, A., Goto, M., Bordeaux, F.M. & Smith, P.H. 1986: Enhancement of anaerobic
methanogenesis from napiergrass by addition of micronutrients. -Biomass 11: 135–
146
- Zandvoort, M.H., Hullebusch, E.D., Feroso, F.G. & Lens, P. 2006: Trace metals in an-
aerobic granular sludge reactors: bioavailability and dosing strategies. -Engineering
in Life Sciences 6: 293–301
- Ziemiński, K., & Frąc, M. 2012: Methane fermentation process as anaerobic digestion of
biomass: Transformations, stages and microorganisms. -African Journal of Biotech-
nology 11: 4127-4139