



HELSINGIN YLIOPISTO  
HELSINGFORS UNIVERSITET  
UNIVERSITY OF HELSINKI

# YHDYSKUNTAJÄTEVESIEN DOM-KUORMA JA SEN BIOLOGINEN HAJOAMINEN SUOMENLAHDELLA

PIETU PANKKONEN

HELSINGIN YLIOPISTO  
YMPÄRISTÖTIETEIDEN LAITOS  
YMPÄRISTÖEKOLOGIA  
PRO GRADU –TUTKIELMA  
12.3.2015



Tiedekunta – Fakultet – Faculty Bio- ja ympäristötieteellinen tiedekunta		Laitos – Institution – Department Ympäristötieteiden laitos	
Tekijä – Författare – Author Pietu Ville Ilmari Pankkonen			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Yhdyskuntajätevesien DOM-kuorma ja sen biologinen hajoaminen Suomenlahdella			
Oppiaine – Läroämne – Subject ympäristöekologia			
Työn laji – Arbetets art – Level pro gradu		Aika – Datum – Month and year maaliskuu 2015	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 60 + 5 (liitteet)
Tiivistelmä – Referat – Abstract			
<p>Toisenvaraiset bakteerit ovat tärkeitä hiilen kierrättäjiä vesiekosysteemeissä, missä ne palauttavat biomassansa sitoman liuennon orgaanisen hiilen (DOC) takaisin klassiseen ravintoketjuun mikrobisilmukan kautta. Jätevedenpuhdistamoilta suoraan Suomenlahteen päätyvä puhdistettu jätevesi lisää liuennon orgaanisen aineksen (DOM) määrää vedessä ja mahdollisesti myös Suomenlahden toisenvaraisten bakteerien ravinnonsaantia. Jätevedenpuhdistamoilla ei kuitenkaan tehdä seurantaan jäteveden DOC-pitoisuuksista. Myöskään puhdistetun jäteveden mukana Suomenlahteen päätyvän DOM:n vastetta toisenvaraisten bakteerien kasvuun Suomenlahdella ei vielä tunneta. DOC, joka on DOM:n suurin osakomponentti, rajoittaa kesällä toisenvaraisten bakteerien kasvua Suomenlahdella. Hajottaessaan DOC:a, bakteerit kuluttavat happea ja tuottavat vastaavasti hiilidioksidia. Lisäksi DOM-yhdisteillä voi olla hapenkulutuksen lisäksi vaikutusta veden väriin ja näin ollen myös vaikutusta kasviplanktonin ja vesikasvillisuuden yhteyttämistehokkuuteen</p> <p>Pro gradu –työn tavoitteena oli selvittää 1) Suomenlahteen laskettavan puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuus sekä Suomenlahteen puhdistetun jäteveden mukana päätyvän DOC:n kokonaiskuorma, 2) puhdistetun jäteveden biologisesti käyttökelpoisen DOC:n ja DOP:n määrät sekä 3) kiekkosuodatinlaitteiston vaikutus jätevedenpuhdistusprosessissa poistuvan DOC:n ja DOP:n määrään ja laatuun. DOC-kuorman määrittämiseksi puhdistetusta jätevedestä mitattiin DOC-pitoisuutta kevään ja kesän aikana ja pitoisuuksia verrattiin puhdistamolla säännöllisesti seurattaviin veden kemiallisen hapenkulutuksen (KHK) ja biologisen hapenkulutuksen (BHK) arvoihin. Vain KHK:n ja DOC-pitoisuuksien välillä oli tilastollisesti merkitsevä positiivinen korrelaatio ja saatua suhdelukua (3,66) hyödyntäen voitiin arvioida DOC-pitoisuuksia ajallisesti taaksepäin. Puhdistetun jäteveden DOM:n käyttökelpoisuutta Suomenlahden bakteereille tutkittiin kokeissa, joissa bakteereita kasvatettiin puhdistetussa jätevedessä +15 °C kaksi kuukautta. Kokeen aikana seurattiin toisenvaraisten bakteerien hapenkulutusta, DOC-pitoisuuden muutosta sekä typpi- ja fosforiravinnepitoisuuksia. Viikinmäen jätevedenpuhdistamolla kokeilussa olevan kiekkosuodatinmenetelmän vaikutusta DOC:n ja DOP:n määrään ja laatuun tutkittiin samoin inkubointikokeessa, joissa bakteereja kasvatettiin tavallisen puhdistusprosessin käyneen jäteveden lisäksi myös kiekkosuodatinlaitteiston kautta kulkeneessa jätevedessä yksi kuukausi. Lisäksi arvioitiin, millaisia vaikutuksia on Suomenlahden veteen laimenevalla puhdistetulla jätevedellä.</p> <p>Viikinmäen jätevedenpuhdistamolta puhdistetun jäteveden mukana tuleva DOC-kuorma on noin 1460 tonnia/vuosi, mikä on noin viidennes vuosittaisesta Vantaanjoen mukanaan tuomasta DOC-kuormasta. Kuorman arvioimiseksi DOC-pitoisuudet laskettiin hyödyntäen KHK:n avulla saatua suhdelukua, mutta tässä saatu suhdeluku pätee vain Viikinmäen jätevedenpuhdistamolla. Muille pistekuormituslähteille suhdeluvut pitää laskea erikseen. Suomenlahden toisenvaraiset bakteerit hyödynsivät tehdyissä kokeissa puhdistetun jäteveden DOC:a yhtä tehokkaasti kuin Vantaanjoen suun DOC:a. Bakteeribiomassaan päätyneen osuus labiilista DOC:sta oli kuitenkin pieni, ja 80 % bakteerien hyödyntämästä DOC:sta poistuu hiilidioksidina. Puhdistetun jäteveden DOC-kuorma ei siksi vaikuta merkittävästi ylempien trofiatasojen toimintaan.</p> <p>Hienopuhdistukseen tarkoitettulla kiekkosuodattimella voisi olla mahdollisuuksia poistaa DOC:a ja DOP:a puhdistettavasta jätevedestä tavanomaiseen puhdistustapaan verrattuna, mikä vähentäisi niiden kokonaiskuormaa Suomenlahteen merkittävästi. Kiekkosuodattimen huomattiin poistavan 14 % DOC:sta verrattuna tavanomaiseen jätevedenpuhdistukseen. Se ei kuitenkaan vaikuttanut DOC:n biologiseen käyttökelpoisuuteen. Kiekkosuodatin poisti yli kolmasosan orgaanisen fosforin pitoisuudesta tavanomaiseen puhdistukseen nähden. Kiekkosuodatin poisti myös mahdollisesti juuri bakteereille käyttökelpoisen orgaanisen fosforin osuuden, mutta kysymyksen selvittäminen vaatii jatkotutkimuksia.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords bakteeribiomassa, bakteerien kasvutehokkuus, hapenkulutus, jätevesigradiendi, kiekkosuodatin, liuennut orgaaninen aines, merivesi, puhdistettu jätevesi, Suomenlahti, Viikinmäen jätevedenpuhdistamo			
Ohjaaja tai ohjaajat – Handledare – Supervisor or supervisors FT Laura Hoikkala ja MMT Helena Soinne			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			



Tiedekunta – Fakultet – Faculty Faculty of Biological and Environmental Sciences		Laitos – Institution – Department Department of Environmental Sciences	
Tekijä – Författare – Author Pietu Ville Ilmari Pankkonen			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Urban wastewater DOM load and its biological degradation in the Gulf of Finland			
Oppiaine – Läroämne – Subject Environmental ecology			
Työn laji – Arbetets art – Level Master's thesis		Aika – Datum – Month and year March 2015	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 60 + 5 (app.)
Tiivistelmä – Referat – Abstract			
<p>Heterotrophic bacteria are essential for carbon cycling in water ecosystems as they bind dissolved organic carbon (DOC) to the biomass and return it to the classical food chain through microbial loop. The treated wastewater from Viikinmäki wastewater treatment plant is discharged to the Gulf of Finland where it increases the quantity of dissolved organic matter (DOM) in the water and furthermore can be an extra energy source for heterotrophic bacteria. There are not yet further studies how the heterotrophic bacteria exploit DOM in the treated wastewater or a monitoring programme for DOC concentrations in the wastewater treatment plants. DOC is the limiting factor for heterotrophic bacteria growth in the Gulf of Finland in the summer. As the bacteria exploit DOC, they consume oxygen and release carbon dioxide. DOM compounds may also diminish light penetration in water which can inhibit the growth and photosynthesis of phytoplankton and macrophytes.</p> <p>The aim of this thesis was to find out 1) the DOC concentrations in the treated wastewater and DOC load in the treated wastewater discharged to the the Gulf of Finland from Viikinmäki wastewater treatment plant, 2) the biodegradability of DOC and DOP in the treated wastewater and 3) how the disc filter about to be used in Viikinmäki wastewater treatment plant affects the quantity and quality of DOC and DOP in the treated wastewater. The DOC load entering the Gulf of Finland with the treated wastewater was quantified by measuring the DOC concentrations in the treated wastewater during the spring and summer 2014. The DOC concentrations correlated positively with chemical oxygen demand (COD) which is regularly measured in wastewater treatment plants. By dividing the COD with 3,66, the DOC concentrations were successfully estimated for a longer period. In order to evaluate the biological degradability of DOC and DOP in the wastewater effluent, treated wastewater was incubated (+15 °C) for two months with surface water heterotrophic bacteria from the Gulf of Finland and changes in DOC concentrations, the biological oxygen demand and nitrogen and phosphorus concentrations were measured. Furthermore the heterotrophic bacteria were incubated for one month in disc filtered wastewater effluent and also in regularly treated wastewater to find out the effect of the new filter on DOM quantity and quality.</p> <p>The yearly DOC load from Viikinmäki wastewater treatment plant to the Gulf of Finland was estimated to be about 1460 tons which is approximately one fifth of the annual DOC load from River Vantaanjoki. The ratio between DOC and COD concentrations calculated here can only be used to quantify the amount of DOC load from Viikinmäki wastewater treatment plant and similar ratio must be calculated individually for every point source. The biodegradability of DOC in the treated wastewater was equally low to the biodegradability of DOC in River Vantaanjoki. The quantity of DOC bound to the bacterial biomass was rather low and the amount of DOC lost via respiration was relatively high. Accordingly the DOC in Viikinmäki wastewater effluent does not become efficiently available to higher trophic levels.</p> <p>The disc filter has the potential to remove DOC and DOP from treated wastewater which would decrease the DOC and DOP load significantly in the Gulf of Finland. The disc filter decreased DOC concentrations 14 % in comparison to regularly treated wastewater. The disc filter didn't affect the quality of DOC, i.e. there was no difference in the biological degradability of DOC between the two wastewater treatment processes. However the disc filter was possibly able to remove the biologically available part of DOP from treated wastewater but the issue still needs further investigation.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords bacterial biomass, bacterial growth efficiency, disc filter, dissolved organic matter, Gulf of Finland, oxygen demand, sea water, treated wastewater, Viikinmäki wastewater treatment plant			
Ohjaaja tai ohjaajat – Handledare – Supervisor or supervisors PhD Laura Hoikkala and PhD Helena Soinne			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

<b>1. Johdanto</b> .....	4
1.1. Liennut orgaaninen aines (DOM) ja sen muodostuminen .....	4
1.1.1. DOM:n lähteet .....	5
1.2. DOM:n kulkeutuminen ja vaikutukset vesistössä.....	6
1.3. Viikinmäen jätevedenpuhdistamo ja jätevedenpuhdistusprosessi .....	9
1.3.1. Puhdistetun jäteveden DOM-kuorma Suomenlahteen.....	10
1.3.2. Kiekkosuodatin .....	11
1.4. Tutkimuksen tarkoitus ja tavoitteet .....	12
<b>2. Aineisto ja menetelmät</b> .....	13
2.1. Puhdistetun jäteveden ravinne- ja DOC-kuorma .....	13
2.2. Puhdistetun jäteveden DOM:n biologinen käyttökelpoisuus.....	14
2.3. Alkuvalmistelut .....	15
2.3.1. Meriveden bakteerikannan ja jäteveden suodatus .....	15
2.3.2. Koejärjestely .....	16
2.3.3. Gradienttikokeen koeasetelma .....	17
2.4. Mitattavat parametrit .....	19
2.4.1. DOC-pitoisuuden määrittäminen .....	20
2.4.2. Happipitoisuuden määrittäminen .....	21
2.4.3. Bakteeri- ja siimaeliönäytteiden kestävyys ja värjäys .....	22
2.4.4. Mikroskopointi ja solutilavuuden määrittäminen .....	23
2.4.5. Bakteerisolulukumäärän mittaaminen virtaussytometrillä .....	24
2.4.6. Biologisesti käyttökelpoisen DOC:n ja DOP:n osuudet .....	25
2.5. Tilastolliset analyysit .....	27
<b>3. Tulokset</b> .....	28
3.1. Puhdistetun jäteveden mukana mereen päätyvä DOC-kuorma.....	28
3.1.1. Puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuuksien arvioiminen seurantaparametrien avulla .....	29
3.2. Puhdistetun jäteveden DOC:n biologinen käyttökelpoisuus.....	32
3.2.1. Bakteerien hengitys ja solutilavuus .....	32
3.2.2. Bakteeribiomassan kasvu ja kasvutehokkuus .....	33
3.2.3. Puhdistetun jäteveden DOC- ja LDOC-pitoisuudet.....	35
3.3. Puhdistetun jäteveden DOP:n biologinen käyttökelpoisuus .....	36
3.4. Kiekkosuodattimen vaikutus DOC- ja DOP-pitoisuuksiin .....	37
3.5. Kiekkosuodattimen vaikutus DOC:n ja DOP:n biologiseen käyttökelpoisuuteen.....	38

<b>4. Tulosten tarkastelu</b> .....	40
4.1 Puhdistetun jäteveden DOC-kuorma Suomenlahteen .....	40
4.2. Puhdistetun jäteveden DOC:n ja DOP:n biologinen hajoavuus.....	42
4.3. Kiekkosuodattimen vaikutus DOC:n ja DOP:n määrään ja laatuun .....	46
4.4. Tutkimuksen virhelähteet ja luotettavuus .....	47
<b>5. Yhteenveto</b> .....	49
<b>6. Jatkotutkimukset</b> .....	50
Kiitokset .....	51
Lähteet.....	52
Liitteet .....	61

## Lyhenteet

BCD	bakteerien hiilentarve (Bacterial Carbon Demand)
BGE	bakteerien kasvutehokkuus (Bacterial Growth Efficiency)
BHK	biologinen hapenkulutus (BOD; Biological Oxygen Demand)
Da	Dalton, molekyyli­massan yksikkö ( $1,66053886 \times 10^{-27}$ kg)
DOC	liuennut orgaaninen hiili (Dissolved Organic Carbon)
DOM	liuennut orgaaninen aines (Dissolved Organic Matter)
DOP	liuennut orgaaninen fosfori (Dissolved Organic Phosphorus)
KHK	kemiallinen hapenkulutus (COD; Chemical Oxygen Demand)
LDOC	biologisesti käyttökelpoinen liuennut orgaaninen hiili (Labile Dissolved Organic Carbon)
LDOP	biologisesti käyttökelpoinen liuennut orgaaninen fosfori (Labile Dissolved Organic Phosphorus)
POC	partikkelimuotoinen orgaaninen hiili (Particulate Organic Carbon)
TDP	liuennut kokonaisfosfori, DOP+PO <sub>4</sub> -P (Total Dissolved Phosphorus)
TOC	orgaaninen kokonaishiili, DOC+POC (Total Organic Carbon)

## 1. Johdanto

### 1.1. Liuennut orgaaninen aines (DOM) ja sen muodostuminen

Liuennut orgaaninen aines (DOM; Dissolved Organic Matter) koostuu suuresta joukosta erilaisia orgaanisia yhdisteitä, jotka läpäisevät 0,2-0,45 mikrometrin suodattimen (Fuhrman & Azam 1980). DOM:a on maailman merissä yhteensä jopa 200 kertaa enemmän kuin koko merieliöiden yhteenlasketussa biomassassa (Verdugo & Santschi 2010) ja siitä yli 90 % on lienneena orgaanisena hiilenä (DOC; Dissolved Organic Carbon). DOC:n kokonaismäärä maailman merissä ( $\sim 650-700 \times 10^{15}$  g/C) on lähes sama kuin ilmakehän hiilidioksidin määrä ( $\sim 750 \times 10^{15}$  g/C) (Hedges 1992) ja siinä on suurin pelkistyneen hiilen varanto maailmassa (Carlson & Ducklow 1995). DOM:iin kuuluu DOC:n lisäksi mm. liuennut orgaaninen typpi (DON) ja liuennut orgaaninen fosfori (DOP).

DOC-yhdisteiden tarkka määrittely on ollut hankalaa, mutta nykyisten kromatografi- ja spektrometritekniikoiden ansiosta sen koostumuksesta on saatu tietoa. DOC:n sisältämistä yhdisteistä biokemialliselta rakenteeltaan tunnetaan mm. hydrolysoituvat hiilihydraatit (esim. glukoosi, galaktoosi ja ksyloosi), hydrolysoituvat aminohapot (esim. arginiini, alaniini, fenyyialaniini ja valiini) ja ligniinistä muodostuneet fenolit (Hertkorn ym. 2006, Minor ym. 2014). Lisäksi se sisältää hydrolysoituvia aminosokereita (Hertkorn ym. 2006), kuten N-asetyyli-glukosamiinia, joka on bakteerien soluseinän rakennusainetta (Riemann & Azam 2002). Edelleen 90 % DOC:sta on kuitenkin yhdisteitä, joiden rakennetta ei tunneta (Hertkorn ym. 2006, Minor ym. 2014). Toisaalta myöskään yllä mainitut yhdisteet eivät esiinny suoraan sellaisinaan vedessä, vaan useiden molekyylien rakenteina eli polymeereinä (Verdugo ym. 2004). Esimerkiksi aminohapot muodostavat proteiineja tai peptidejä ja hiilihydraatit oligosakkarideja.

### *1.1.1. DOM:n lähteet*

DOM:a päätyy mereen alloktonisista eli ulkoisista lähteistä ja sitä muodostuu vesistön sisäisten tapahtumien kautta eli autoktonisesti. Autoktonista DOM:a syntyy kasviplanktonin erittäessä yhteyttämistuotteita ja solujen hajotessa virusten vaikutuksesta (Cole ym. 1984, Billen ym. 1990, Tuomi & Kuuppo 1999, Johannes 2003) sekä eläinplanktonin *sloppy feeding* -prosessissa (Møller 2005). Suomenlahdella tärkein toisenvaraisten bakteerien energianlähde ovat autoktoniset kasviplanktonperäiset DOC-yhdisteet (Fuhrman & Azam 1980, Carlson ym. 2002, Hoikkala 2012).

Suurin osa Itämeren DOM:sta on peräisin maalta (Deutsch ym. 2012). Maalta tulevien alloktonisten DOM-yhdisteiden ylimääräiset ainevirrat muuttavat vesistöjen biogeokemiallisia kiertoja (Kuliński & Pempkowiak 2011). Terrestrisestä lähteestä tulevan DOM:n rakenne ja määrä muuttuvat jatkuvasti sen kulkeutuessa merta kohti. Jokivesissä esimerkiksi ravintoverkosto ja kemialliset reaktiot muokkaavat DOM:n rakennetta jatkuvasti (Wiegner & Seitsinger 2004, Markager ym. 2011). Suomenlahteen laskee Suomen jokien kautta noin 30 000 tonnia DOC:a vuodessa (Räike ym. 2012). Suomenlahden DOC-pitoisuudet ovat ~10-15 % korkeammat kuin Itämeren pääaltaalla johtuen terrestrisen DOC:n kuormasta Suomenlahden rannikoille (Hoikkala ym. 2015). DOC-kuormat vaihtelevat suuresti Itämeressä vesialueittain. Esimerkiksi Perämereen päätyy jokien mukana vuosittain keskimäärin lähes neljä kertaa enemmän DOC:a kuin Suomenlahteen (Räike ym. 2012). Yhä edelleen Vantaanjoen Suomenlahteen tuomasta DOC-kuormasta 7,7 % tulee pistelähteistä, kuten jätevedenpuhdistamoilta (Räike ym. 2012). Itämeressä jopa 60 % kaikista alloktonisista typpipäästöistä on DON-yhdisteitä (Markager ym. 2011). Näihin yhdisteisiin kuuluvat esimerkiksi vapaat aminohapot ja urea.



## 1.2. DOM:n kulkeutuminen ja vaikutukset vesistöissä

DOC:n kierto mikrobien kautta kuuluu tärkeimpiin hiiltä kierrättäviin systeemeihin (Kirchman ym. 1991, Jaffe ym. 2008). DOC voidaan jakaa biologisesti vaikeasti ja helposti hajotettavaan DOC:iin sekä hajoamattomaan DOC:iin. 1–2 viikossa biologisesti käyttökelpoisen LDOC:n (Labile Dissolved Organic Carbon) osuus on yleensä vain noin 20 % kaikesta DOC:sta, mutta LDOC:n osuus vaihtelee suuresti (Søndergaard & Middelboe 1995, Tulonen 2004). Esimerkiksi Itämeren pintaveden DOC:sta 0–17 % on biologisesti hajoavaa päivien tai viikkojen aikana (Hoikkala ym. 2015). Bakteerit eivät kykene käyttämään välttämättä kaikkea käyttökelpoista DOC:a (Thingstad ym. 1997), minkä vuoksi sitä voi päätyä vesipatsaan tuottavasta kerroksesta myös pimeään syvän veden vyöhykkeeseen käytettäväksi veden sekoittumisen myötä. Bakteereille suoraan käyttökelpoisten DOM-yhdisteiden analysoinnille tuottaa haasteita se, että bakteerit käyttävät ne yleensä samalla hetkellä, kun niitä tuotetaan (Kragh & Søndergaard 2004). Tällaisia bakteereille mieluisia yhdisteitä ovat muun muassa glukoosi, aminohapot ja lyhytketjuiset rasvahapot. DOM-yhdisteen on oltava molekyylimassaltaan alle 600 Da, jotta se voi läpäistä bakteerin solukalvon (Verdugo ym. 2004). Bakteerit kykenevät hajottamaan myös isompia yhdisteitä (>10 kDa) erittämällä entsyymejä solun ulkopuolelle (Carlson ym. 2002). Suomenlahden pintaveden ollessa kesällä hiilirajoitteinen (Lignell ym. 2008) toisenvaraiset bakteerit kuluttavatkin kasviplanktonista vapautuvan käyttökelpoisen DOC:n nopeasti (Hoikkala 2012). Heikosti hajoava DOC koostuu pääosin humusaineista kuten humus- ja fulvohapoista sekä humiinista (Tulonen 2004, Park J.H. ym. 2007).

Mikrobisilmukassa toisenvaraiset bakteerit tuottavat uutta biomassaa (BP; bacterial production) ja tekevät DOM:sta suurempia orgaanisia yhdisteitä (Azam ym. 1983, del Giorgio & Cole 1998, Ducklow 2000). Bakteeribiomassaan sidottu

DOC joko kulkeutuu ylemmäksi ravintoketjussa tai esimerkiksi sedimentoituu meren pohjaan bakteerisolujen kuollessa. Yleensä suurin osa (vaihteluväli 40–99 %) bakteerien ottamasta DOC:sta kuitenkin poistuu hävikkinä hengityksen kautta (BR; bacterial respiration) hiilidioksidina (CO<sub>2</sub>) eikä siirry eteenpäin ravintoketjussa (Azam ym. 1983, del Giorgio & Cole 1998, Ågren ym. 2008, Lønborg ym. 2011, Berggren ym. 2012). Bakteerien kasvutehokkuus (BGE; bacterial growth efficiency) kuvaa bakteerien kasvuun käytetyn hiilen osuutta niiden ottamasta hiilestä (del Giorgio & Cole 1998, Lønborg ym. 2011), jonka arvo vaihtelee vesiekosysteemeissä yleensä välillä 1–60 % (vrt. respiraatio; Tulonen 2004). Energian siirtyminen toisenvaraisilta bakteereilta ylemmäksi ravintoketjussa on lähes suoraan riippuvaista BGE:stä (Eiler ym. 2003, Lønborg ym. 2011). Bakteerien runsastunut energian saanti voi lisätä niiden biomassaa (Apple & del Giorgio 2007), mikä voi lisätä myös ylempänä ravintoketjussa olevien eliöiden määrää (Sandberg 2007). Tilanteessa, jossa hiili tai ravinteet eivät rajoita meren toisenvaraisten bakteerien määrää, niitä saalistavat siimaeliöt kontrolloivat bakteeribiomassan kasvua (Azam ym. 1983, Søndergaard ym. 2011). Tämän saalistuspaineen lisäksi toisenvaraisten bakteerien kasvua rajoittaa myös kilpailu samoista ravinteista kasviplanktonin kanssa (Azam ym. 1983). Mikrobisilmukassa bakteereita saalistavia siimaeliöitä käyttävät ravinnokseen muun muassa ripsieläimet, joita yhä edelleen saalistaa eläinplankton (Azam ym. 1983).

Ylimääräisillä maalta ja pistelähteistä tulevilla DOM-yhdisteillä on lukuisia vaikutuksia vastaanottavassa vesistössä. Ensinnäkin ne kuljettavat bakteereille energianlähteenä olevien DOC-yhdisteiden lisäksi liuenneessa orgaanisessa muodossa olevia ravinteita (DON ja DOP). Näitä ravinteita voivat hyödyntää meressä niin toisenvaraiset bakteerit kuin kasviplankton (Stepanauskas ym. 1999, Berg ym. 2001, Hansell ym. 2009, Nausch & Nausch 2011). Tämä ylimääräinen DOM-kuorma voi siten edesauttaa rehevöitymistä kasviplanktonin runsastuneen ravinteiden saannin takia (Stepanauskas ym. 1999, Wiegner & Seitsinger 2004), ja voi toisaalta lisätä vesikasvillisuuden määrää samasta syystä (HELCOM 2010). Värilliset DOM-yhdisteet (CDOM) vaikuttavat pintaveden väriin (Cole ym. 1984)

ja voivat siten estää valon kulkeutumista vesipatsaassa heikentäen planktonlevien ja vesikasvien yhteyttämistehokkuutta (Markager ym. 2011, Dupont & Aksnes 2013). CDOM-yhdisteet vaikuttavat erityisesti sinisen ja UV-valon aallonpituuksiin ja tällöin ne myös suojelevat vesieliöitä UV-säteilyltä. DOM voi vedessä myös hajota UV-säteilyn vaikutuksesta tai muuttua valokemiallisten reaktioiden seurauksena käyttökelpoisempaan muotoon (Stedmon ym. 2007, Vähätalo ym. 2011, Aarnos ym. 2012, Deutsch 2012). DOM voi välillisesti lisätä pintavesien hapenkulutusta ja vastaavasti hiilidioksidin tuottoa bakteerien kasvaneen energiansaannin ja hapen tarpeen kautta (Wiegner & Seitsinger 2004, HELCOM 2010). Hiilidioksidin tuotto voi ylittää omavaraisten eliöiden hiilidioksidin oton, jolloin merialue ei sidokaan hiilidioksidia vaan voi päinvastoin päästää sitä ilmakehään (Kuliński & Pempkowiak 2011). Hiilidioksidin sitomiskyky vaihtelee vesialueittain Itämeren sisällä.

Makean jokiveden saapuessa mereen, suolapitoisuuden nousu saa aikaan DOC:n flokkuloitumista (Hedges ym. 1997, Asmala ym. 2014). Tällöin jokiperäisen DOC:n kokonaismäärä pienenee veden pintakerroksissa. Flokkulaattien koon vuoksi ne kulkeutuvat nopeammin kohti sedimenttiä, mutta toisenvaraisten bakteerien on huomattu hyödyntävän niitä paremmin niiden runsaiden substraattivarantojen vuoksi (Tranvik & Sieburth 1989). Tarpeeksi isot flokkulaatit ovat jo osa POM:ia. Jo matala suolapitoisuus (2) saa aikaan DOC:n flokkuloitumista (Asmala ym. 2014). Itämeren alhainenkaan suolapitoisuus ei siten estä flokkuloitumista, mutta voi lieventää ilmiötä (Hietanen 2002) verrattuna valtameriin. DOM-yhdisteet voivat myös sitoa ja kuljettaa metalleja (Park J.H. ym. 2007), mutta DOM:n flokkuloituessa siihen sitoutuneet haitalliset metallit voivat vajota veden pohjaan vähentäen niiden biosaatavuutta (Katsoyiannis & Samara 2007).

### 1.3. Viikinmäen jätevedenpuhdistamo ja jätevedenpuhdistusprosessi

Viikinmäen jätevedenpuhdistamo on Pohjoismaiden suurin. Se puhdistaa yhteensä 800 000 asukkaan ja teollisuuden jätevedet Helsingin, Sipoon, Vantaan keski- ja itäosien, Keravan, Tuusulan ja Järvenpään alueilta. Kotitalouksien ja viemäröintiverkkoon kuuluvan teollisuuden jätevesiä kutsutaan yhteisnimellä yhdyskuntajätevedet. Viikinmäen jätevedenpuhdistamoon päätyy jätevesiä erillis- ja sekaviemäröidyistä viemäröintiverkoista, joista jälkimmäisessä sekä jäte- että hulevedet kulkeutuvat puhdistamolle (Lehtinen & Urho 2014). Sekaviemäröity viemäröintiverkko on käytössä esimerkiksi Helsingin kantakaupungin alueella. Tällaiselta alueelta voi kovien sateiden ja sulamisvesien aikaan aiheutua erilaisten päästöjen ja kokonaisvirtaaman aikaansaamaa lisäkuormitusta jätevedenpuhdistamolle. Viikinmäen jätevedenpuhdistamon puhdistetut jätevedet ohjataan 16 kilometrin pitkän purkutunnelin kautta avomerelle 20 metrin syvyyteen. Purkutunnelin pää sijaitsee kahdeksan kilometrin päässä Helsingin rannikolta Katajaluodon edustalla (Liite 1.).

Viikinmäen jätevedenpuhdistusprosessi perustuu rinnakkaissaostusperiaatteeseen (Lehtinen & Urho 2014). Siinä jätevesi puhdistetaan mekaanisesti mm. hiekan erotuksella, kemiallisesti ferrosulfaatin saostaessa fosforia ja biologisesti aktiivilieteprosessissa typen poistossa. Typpi poistetaan hyödyntämällä anaerobisia denitrifikaatiobakteereita, jotka muuntavat nitraattityppeä ( $\text{NO}_3$ ) typpikaasuksi. Viikinmäen jätevedenpuhdistamolla orgaanisen aineksen määrää puhdistetussa jätevedessä seurataan päivittäistarkkailun yhteydessä mittaamalla biologista (BHK) ja kemiallista hapenkulutusta (KHK; Lehtinen & Urho 2014). Hapenkulutusta lisäävä orgaaninen aines koostuu enimmäkseen proteiineista ja hiilihydraateista, joita bakteerit hyödyntävät kuluttaen samalla happea vedestä. (Muurinen ym. 2012). Puhdistusprosessissa on tavoitteena poistaa orgaanisen aineksen lisäksi ravinteita, kiintoainetta ja haitallisia organismeja (Asare ym. 2014).

### *1.3.1. Puhdistetun jäteveden DOM-kuorma Suomenlahteen*

Jätevedenpuhdistamot ovat pistemäisiä DOM:n päästölähteitä, joista vesistöön johdettava puhdistettu jätevesi kuljettaa ravinteita bakteereille ja kasviplanktonille sekä lisää bakteerien DOC:n saantia. Jätevedenpuhdistamoilla ei yleisesti määritetä DOC-pitoisuuksia. Kemiallisella hapenkulutuksella (KHK) ja biologisella hapenkulutuksella (BHK), joiden pitoisuuksia mitataan jätevedenpuhdistamolla päivittäistarkkailuissa, on kuitenkin huomattu olevan tilastollisesti merkitsevä korrelaatio DOC- ja TOC-pitoisuuksiin (Sandberg 2007, Berggren ym. 2012, Räike ym. 2012, Asare ym. 2014). KHK-pitoisuudet, jotka kertovat kemiallisesti hajotettavissa olevan orgaanisen aineen määrän ilmaisevat samalla biologisesti hajoamattoman DOC:n määrää (Oravainen 1999). Viikinmäen jätevedenpuhdistamon tarkkailuraporttien mukaan puhdistetun jäteveden mukana Suomenlahteen päätyvä BHK-kuorma on noin 2,18 t/vrk (v. 1995–2013) ja KHK-kuorma noin 12,1 t/vrk, (v. 2000–2013).

Haja- ja pistekuormituksen mukana tulevien epäorgaanisten ravinteiden vaikutukset Itämeressä ja Suomenlahdella on paljon tutkittu aihe. Jätevedenpuhdistamoilta vesistöihin laskettavien DOM-kuormien tutkiminen on jäänyt vähemmälle huomiolle (Stepanauskas ym. 2002, Hoikkala ym. 2015). Joet tuovat Suomenlahteen suurimman osuuden ravinteista (Räike ym. 2012), mutta yhdyskuntajätevesien orgaanisten ravinteiden osuus kokonaiskuormasta on huomioonotettava asia.

### *1.3.2. Kiekkosuodatin*

Viikinmäen jätevedenpuhdistamolla kokeilussa olevan kiekkosuodatinmenetelmän tarkoituksena on vähentää puhdistettavasta jätevedestä fosforia hiukkasmaisen kiintoaineen mukana. Kiekkosuodatin sijoitetaan jätevedenpuhdistusprosessin loppuun biologisen puhdistusvaiheen jälkeen. Kiekkosuodattimen toimintaperiaatteena on se, että puhdistettava jätevesi virtaa painovoiman avulla laitteiston suodatinrummuille sijoitettujen suodattimien läpi (Rytkönen 2012). Suodattimiin kertynyt kiintoaine poistetaan suodattimilta imun avulla. Tällä hetkellä Valtioneuvoston asetuksessa 888/2006 määritetty raja-arvo puhdistetun jäteveden kokonaisfosforipitoisuudelle on  $\leq 0,3$  mg /l. Kiekkosuodattimen tarkoitus on vähentää fosforikuorma asteittain 0,2 mg/l  $\rightarrow$  0,1 mg/l (Lehtinen & Urho 2014). Viikinmäen jätevedenpuhdistamon fosforikuorma on ollut noin 0,2 mg/l vuosien 2011–2013 aikana. Fosforinpoiston lisäksi on mahdollista, että kiekkosuodatin poistaisi epäorgaanisen fosforin lisäksi myös DOP:a sekä DOC:a ja siten pienentäisi niiden pitoisuuksia poistuvasta jätevedestä.

#### 1.4. Tutkimuksen tarkoitus ja tavoitteet

Jätevedenpuhdistamolta Suomenlahteen päätyvä puhdistettu jätevesi lisää DOM:n määrää Itämeressä. Se mahdollisesti myös edistää Itämeren toisenvaraisten bakteerien energiansaantia. Jäteveden mukana tulevan DOM:n vastetta toisenvaraisten bakteerien kasvuun Itämerellä ei ole vielä aikaisemmin tutkittu.

Pro gradu –työssäni tutkittiin Viikinmäen jätevedenpuhdistamolta Suomenlahteen laskettavan puhdistetun jäteveden DOC:n ja DOP:n kokonaiskuormat ja niiden biologinen hajoaminen Suomenlahdella. Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää:

- Suomeenlahteen laskettavan puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuus sekä puhdistetun jäteveden mukana mereen päätyvän DOC:n kokonaiskuorma
- Puhdistetun jäteveden biologisesti käyttökelpoisen DOC:n ja DOP:n määrät
- Kiekkosuodatinlaitteiston vaikutus jätevedenpuhdistusprosessissa poistuvan DOC:n ja DOP:n määrään ja laatuun

## 2. Aineisto ja menetelmät

### 2.1. Puhdistetun jäteveden ravinne- ja DOC-kuorma

Työhön liittyvät tutkimukset suoritettiin Suomen ympäristökeskuksen Merikeskuksen tiloissa Kumpulassa helmikuun 2014 ja lokakuun 2014 välisenä aikana. Bakteerikasvuskokeiden yhteydessä otettujen DOC- ja ravinnenäytteiden ( $\text{PO}_4$ , TDP  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$ ) pitoisuudet määritettiin Tvärminnen eläintieteellisellä asemalla. Kaikki kokeissa käytetyt astiat ja muut koevälineet happopestiin suolahapolla (5 % HCl, 24 h). Happokäsittelyn jälkeen ne huuhdeltiin kolmesti milli-RO-vedellä ja kahdesti milli-Q-vedellä. Pestyt astiat kuivattiin lämpökaapissa ja säilytettiin sen jälkeen pimeässä foliolla päällystettyinä.

Jäteveden DOC-pitoisuuden määrittystä varten haettiin Viikinmäen vedenpuhdistamolta 300 ml puhdistettua jätevettä kerran viikossa helmi-kesäkuun aikana. Näytteet otettiin 24 tunnin aikana kerätyistä kokoomanäytteistä puhdistamon päivittäistarkkailun yhteydessä. DOC-mittaukset on esitelty kappaleessa 2.4.1. DOC:n suodattamista jätevedestä varten käytettiin lasikuitusuodattimia (GF/F, nominaalikoko  $\sim 0,7 \mu\text{m}$ ), joita oli hehkutettu muhveliuunissa ( $450 \text{ }^\circ\text{C}$ , 6 tuntia). Lasikuitusuodattimien hehkutus poistaa niistä kaikki orgaaniset aineet (Yoro ym. 1999). Lisäksi lasikuitusuodattimien hehkutus sulattaa lasikuitusäkeet, jolloin sen suodatuskoko pienenee lähelle  $0,2 \mu\text{m}$  (Nayar & Chou 2003). Suodattimia säilöttiin folion sisällä säilytyspussissa ennen käyttöä kontaminaation välttämiseksi (Yoro ym. 1999). Myös lasiset tuikepullot puhdistettiin hehkuttamalla ( $450 \text{ }^\circ\text{C}$ , 6 tuntia) (Spyres ym. 2000).

DOC-suodatuksen näytteenottopäiviltä (Liite 7.) saatiin vastaavalta ajankohdalta puhdistetun jäteveden päivittäistarkkailusta TOC-, BHK- ja KHK-arvot, päivän jäteveden kokonaisvirtaama sekä ravinnetiedot ( $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{PO}_4$ , kokonaistyyppi ja kokonaisfosfori). Analyysit tehtiin MetropoliLabissa Viikinmäen



jätevedenpuhdistamon tilauksesta. DOC-pitoisuuksia verrattiin puhdistamon päivittäistarkkailuun kuuluviin TOC-pitoisuuksiin sekä BHK- ja KHK-arvoihin regression avulla. Viikinmäen jätevesitarkkailun velvoiteraporteista saatiin jäteveden BHK-arvot ja –kokonaiskuormat vuodesta 1995 lähtien ja KHK-arvot ja –kokonaiskuormat vuodesta 2000 lähtien. Regressiosuoran avulla selvitettiin DOC-pitoisuuden ja BHK:n sekä KHK:n välisen korrelaation voimakkuutta. Suoran yhtälön avulla seurantajakson ulkopuolella kerätyt BHK- tai KHK-arvot muutettiin DOC-pitoisuuksiksi. DOC:n päivittäinen kokonaiskuorma laskettiin kertomalla saadut DOC-pitoisuudet vastaavan vuorokauden jäteveden kokonaisvirtaamalla.

Viikinmäen jätevedenpuhdistamolla biologisen hapenkulutuksen mittaamisessa on otettu huomioon vain orgaanisen aineksen hajottamisesta aiheutuva hapenkulutus (BHK<sub>7</sub>-ATU; Lehtinen & Urho 2013) eikä siihen siten sisälly ammoniumtyypen nitrifikaatiosta aiheutuvaa hapenkulutusta (Oravainen 1999). Tämä on tutkimustuloksia varten hyvä asia, sillä DOC-kokonaiskuorman tuloksia tarkastellessa, BHK<sub>7</sub>-ATU-pitoisuuksia voitiin suoraan verrata tutkimuksessa mitattuihin DOC-pitoisuuksiin.

## **2.2. Puhdistetun jäteveden DOM:n biologinen käyttökelpoisuus**

Puhdistetun jäteveden sisältämän DOM:n biologista käyttökelpoisuutta Suomenlahden bakteereille tutkittiin yhteensä neljällä bakteerikasvatuskokeella, joista yhdessä selvitettiin lisäksi jätevesipitoisuuden vaikutusta bakteerien kasvuun (gradienttikoe, ks. 2.3.3.). Jätevesinäytteet saatiin Viikinmäen jätevedenpuhdistamolta puhdistetusta eli poistuvasta jätevedestä sekä kiekkosuodattimen läpikäyneestä puhdistetusta jätevedestä 10 litran happopestyihin kanistereihin ja ne haettiin kokeen aloituspäivää ennen ajankohtina 10.4., 15.5., 3.6. ja 17.6. Ennen <0,2 um suodatusta kanistereita säilytettiin mustassa jätessä +4 °C:ssa kokeen aloituspäivään asti. Kokeiden

aloituspäivät olivat 16.4., 5.6. ja 24.6. 20.5. oli gradienttikokeen aloituspäivä. Muista kolmesta kokeesta käytetään yhteisnimeä ”inkubointikoe”.

Tutkimukseen bakteerilisäystä varten saadut merivesinäytteet ovat Suomenlahdelta avomereltä Helsingin edustalta pintavedestä, 8 kilometriä Helsingin rannikolta (60°08'236 N, 25°12'483 E). Näytepisteen veden syvyys oli 47 metriä. Merivesinäytteet toimitti Helsingin ympäristökeskus.

## **2.3. Alkuvalmistelut**

### ***2.3.1. Meriveden bakteerikannan ja jäteveden suodatus***

Näytteet suodatettiin Heidolf Pumpdrive 5001 –peristalttipumpun avulla kahdella peräkkäin kiinnitettyllä suodattimella: Sartoclean GF Sterile Midicap (Sartorius Stedim Biotech) 3 + 0,8 µm → Sartobran 300 Sterile Capsule (Sartorius Stedim Biotech) 0,45 + 0,2 µm. Ennen jäteveden suodatusta suodattimet ja muoviletkut huuhdeltiin 5 litralla milli-Q-vettä. Tämän jälkeen puhdistettua jätevettä suodatettiin laitteiston avulla yhteensä 8,2 litraa. Suodatuksella pyrittiin poistamaan kaikki yli 0,2 µm kokoiset partikkelit, kuten suurin osa bakteereista ja kaikki sitä suuremmat eliöt.

Bakteerilisäyksiä varten otettuja merivesinäytteitä säilytettiin yön yli pimeässä huoneessa +15 °C:ssa. Seuraavana päivänä ennen merivesinäytteen suodattamista suodatinlaitteistoon (Heidolf Pumpdrive 5001) kiinnitettävät letkut ja yksi suodatinyksikkö, (Sartoclean GF Sterile Midicap [Sartorius Stedim Biotech] 3 + 0,8 µm), huuhdeltiin kolmella litralla milli-Q-vettä. Huuhtelun jälkeen merivesinäytettä suodatettiin suodatinyksikön läpi kolme litraa. Suodattamalla pyrittiin poistamaan bakteereja laiduntavat toisenvaraiset siimaeliöt. Näin pystyttiin tutkimaan suoraan jäteveden LDOC-pitoisuuksia ilman saalistuspaineen vaikutusta bakteerien DOC:n kulutukseen (Søndergaard & Middelboe 1995).

Esisuodatuksen jälkeen merivesinäyte konsentroidiin 100 kD tangenttisuodattimen avulla, jotta siitä saatiin kerättyä puhdistettuun jäteveeseen lisättävä konsentroitunut bakteerilisäys. Tangenttisuodatuslaitteiston (Pumper Masterflex Console Drive, Cole Parmer Instrument Company) suodatinyksikkö (Minimate™ TFF Capsule, Pall Corporation Omega TI 100K Membrane) huuhdeltiin litralla 60 °C milli-Q-vettä ja litralla 20 °C milli-Q-vettä. Huuhtelun jälkeen yhteensä kaksi litraa <0,8 µm merivesisuodosta konsentroidiin tangenttisuodatuksella 50 ml:aan (TFF-retentaatti), josta pipetoitiin 30 ml retentaattia (bakteerilisäys) 8 litraan <0,2 µm suodatettua puhdistettua jätevettä. Bakteerilisäystä lisättiin jätevesikanisteriin ~5 % Suomenlahden veden alkuperäisestä bakteerikonsentraatiosta. Retentaatti sekoitettiin jäteveeseen pyörittämällä kanisteria huolellisesti välttämällä ilmakuplien muodostumista.

### ***2.3.2. Koejärjestely***

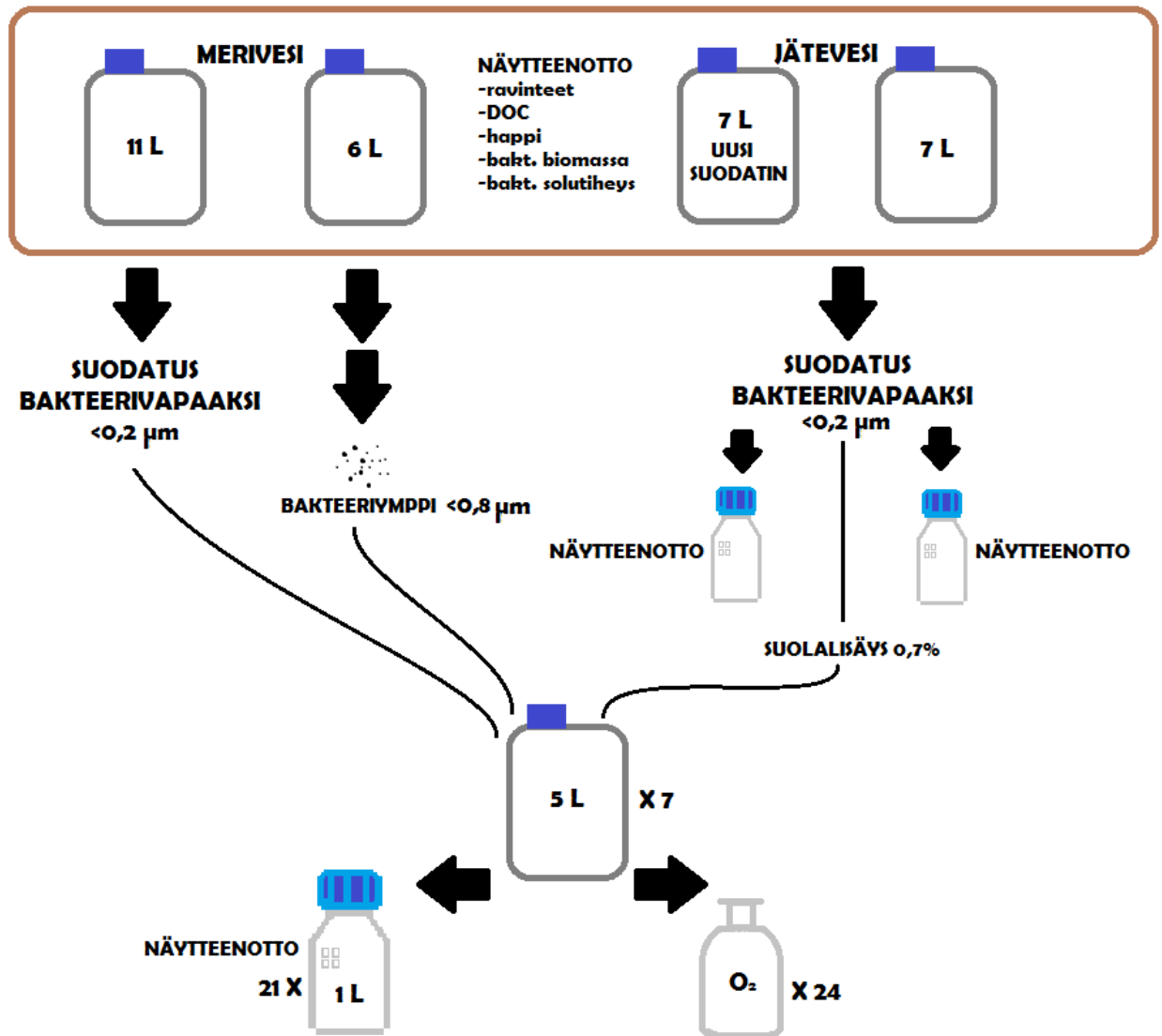
Ennen bakteerilisäystä suodatetusta jätevedestä otettiin seuraavat näytteet: DOC (3 x 15 ml), TDP (1 x 45 ml), PO<sub>4</sub> (1 x 3 ml). Näytteenoton jälkeen inkubointikokeeseen tulevaan vesinäytteeseen lisättiin synteettistä merisuolaa suolapitoisuuden nostamiseksi lisättävän bakteeriyhteisön elinympäristön tasolle (Suomenlahden pintaveden suolapitoisuus Helsingin edustalla 6). Suolalisäys oli inkubointilämpötilan ohella tärkeä, jotta bakteerien kasvuolosuhteet olisivat mahdollisimman luonnolliset. Suolalisäyksen jälkeen kanisteri säilytettiin yön yli valolta suojattuna viileässä (+4 °C). Seuraavana päivänä inkubointikokeen alkutilanteessa kanisterista otettiin samat näytteenotot kuin suolalisäystä ennen (DOC, TDP, PO<sub>4</sub>, <0,2 µm Syringe). Näytteenotoilla ennen ja jälkeen suolalisäystä tarkasteltiin suolapitoisuuden vaikutusta ravinteiden ja DOC:n flokkuloitumiseen.

Näytevesi jaettiin kahteen erään, josta toiseen (5 l) lisättiin fosfaattifosforia (PO<sub>4</sub>-P, 2 µmol P/l), jotta fosfori ei rajoittaisi bakteerien kasvua DOC:n biologista hajoavuutta selvittävissä kokeissa. Typpilisäystä ei tehty, koska näytteestä mitattu

mineraalityypipitoisuus oli korkea, eikä se siten rajoita bakteerien kasvua. Toiseen vesierään (3 l) ei tehty ravinnelisiä, ja siinä tutkittiin DOP:n biologista hajoavuutta. Molemmat vesierät jaettiin 15 inkubointipulloon (300 ml) (kolme rinnakkaisnäytettä jokaista viittä näytteenottohetkeä varten). Fosforilisäystä vesierästä täytettiin lisäksi 15 happipulloa (100 ml) (kolme rinnakkaisnäytettä jokaista viittä näytteenottohetkeä varten).

### ***2.3.3. Gradienttikokeen koeasetelma***

Gradienttikokeessa tutkittiin kahden erilaisen puhdistusmenetelmän läpikäynyttä jätevettä sekä puhdistetun jäteveden meriveteen tapahtuvan laimenemisen vaikutusta puhdistetun jäteveden DOM:n biologiseen hajoamiseen (Kuva 1.). Vedet olivat hienopuhdistukseen tarkoitetun kiekkosuodatinlaitteiston läpikäynyttä jätevettä sekä verrokkina tavanomaista puhdistettua jätevettä (kumpikin näyte 7 l). 7 litraa kiekkosuodatettua jätevettä ja 7 litraa tavanomaisesti puhdistettua jätevettä sekä 11 litraa merivettä jäteveden laimentamista varten suodatettiin lähes bakteerivapaiksi samalla tavalla kuin inkubointikokeessa (ks. 2.3.1). Lisäksi 6 litran merivesinäyte suodatettiin bakteerilisäystä varten <math>0,8\ \mu\text{m}</math> suodattimella (Sartoclean GF Sterile Midicap [Sartorius Stedim Biotech] 3 + 0,8  $\mu\text{m}$ ). Molemmista suodatetuista jätevesistä kaadettiin 200 ml inkubointipulloihin, joista otettiin seuraavat näytteet: DOC (3 x 15 ml), TDP (1 x 45 ml),  $\text{PO}_4$  (1 x 3 ml),  $\text{NH}_4$  (1 x 45 ml),  $\text{NO}_3$  (1 x 3 ml). Tämän jälkeen kanistereihin (6,8 litraa) lisättiin suolaa (47,6 mg). Suolapitoisuuden oli tarkoitus olla 6, mutta annosteluvirheen vuoksi lopullinen suolapitoisuus oli 7. Suolalisäyistä jätevesistä otettiin DOC-näyte (3 x 15 ml; <math>0,2\ \mu\text{m}</math>, Syringe) flokkuloitumisen selvittämiseksi.



**Kuva 1.** Gradienttikokeen koearrangement: meri- ja jätevesien suodatukset sekä näytteenotot päiviltä 0 ja 30. Eri näytteenotosten sekoitussuhteet ovat Taulukossa 1.

Suodatetuista (<math><0,2 \mu\text{m}</math>) merivedestä ja jätevedestä tehtiin sarja, jossa oli eri suhteissa molempia vettä. Kaikkiin näytteisiin lisättiin <math><0,8 \mu\text{m}</math> suodatettua merivettä bakteerilisyyskseen 5 % lopullisesta näytetilavuudesta. Näytteet nimettiin sekä puhdistustavan (U = kiekkosuodatinvesi) että niiden jäteveden prosentuaalisen osuuden mukaan (Taulukko 1). Eri sekoitussuhteita oli seitsemän ja sekoitukseen käytetyistä 5 litran kanistereista vedet siirrettiin litran inkubointipulloihin siten, että jokaista sekoitussuhdetta edusti kolme rinnakkaista pulloa. Yhteensä inkubointipulloja oli 21. Näytteitä inkubointiin 30 päivää pimeässä +15 °C:ssa.

**Taulukko 1.** Gradienttikokeen konsentraatigradientti. Näytetilavuus oli 2,5 l. Prosenttisuudessa on huomioitu ~5 % bakteerilisäyksen tilavuus (U = kiekkosuodatin).

Näytetunnus	jäteveden osuus (%)
JUS0	0
JUS10	10
JUS10U	10
JUS25	25
JUS25U	25
JUS95	95
JUS95U	95

#### 2.4. Mitattavat parametrit

Ravinnenäytteet (PO<sub>4</sub>, TDP, NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>) suodatettiin 0,2 µm Syringe-filtterin läpi, säilöttiin pakastamalla (-20°C) ja analysoitiin Tvärminnen eläintieteellisellä asemalla. Mitattujen parametrien määrittäminen menetelmät ja -laitteet ovat liitteessä 2. DOP-pitoisuudet laskettiin vähentämällä TDP-pitoisuuksista PO<sub>4</sub>-pitoisuudet. Näytteenotot ja niiden ajankohdat ovat Taulukossa 2. Gradienttikokeessa jokaisesta inkubointipullosta otettiin kaikki fosforilisäysnäytteitä vastaavat näytteet ajankohdilta 0 ja 30 päivää.

**Taulukko 2.** Näytteenotot ja niiden ajankohdat fosforilisäyspulloista ja ei-fosforilisätyistä pulloista.

fosforilisä

näyte	ajankohta (pv)
solutilavuus/HNF	0, 1, 14, 30, 60
PO <sub>4</sub>	0, 14, 30, 60
TDP	0, 14, 30, 60
NO <sub>3</sub>	0, 30, 60
NH <sub>4</sub>	0, 30, 60
DOC	0, 1, 14, 30, 60
virtaussytometri	0, 1, 14, 30, 60
O <sub>2</sub>	0, 1, 14, 30, 60

ei-fosforilisää

näyte	ajankohta (pv)
PO <sub>4</sub>	0, 14, 30, 60
TDP	0, 14, 30, 60
DOC	0, 14, 30, 60
solutilavuus/HNF	0, 14, 60

#### ***2.4.1. DOC-pitoisuuden määrittäminen***

Näytteenottovälineistä ruisku (20 ml), letku sekä varsinainen suodatinyksikkö happokäsiteltiin pitämällä niitä vähintään 24 tuntia suolahapolla (2M HCl) täytetyssä muoviastiassa, jossa oli kansi. Vastaavan happokäsittelymenetelmän on todettu vähentävän ylimääräisen DOC-kontaminaation lähes kokonaan (Zweifel ym. 1993, Yoro ym. 1999). DOC-näytteenottohetkellä sekä lasikuitusuodatin että tiiviste laitettiin suodatinyksikköön alkoholilla (EtOh) ja milli-Q-vedellä pestyillä pinseteillä. Ruisku ja suodatinosa huuhdottiin 15 ml:lla näytevetä.

Näytepullosta otettiin 3x15 ml jätevetä, suodatettiin (0,2 µm) lasiampulleihin ja lisättiin 80 µl suolahappoa (2M HCl) (Zweifel ym. 1993). Suolahapon lisäämisellä näytteen pH laskettiin arvoon 2-3, jolloin näytteestä poistuu liennut epäorgaaninen hiili hiilidioksidina eivätkä mikrobit voi toimia niin alhaisessa pH:ssa. Epäorgaanisen hiilen poistuminen perustuu tasapainoreaktioon, jossa happoa lisättäessä epäorgaaninen bikarbonaatti poistuu hiilidioksidina (Joensuu 2010). Kaikki DOC-näytteet säilöttiin -20 °C (Spyres ym. 2000).

DOC-pitoisuuksien määrittämisessä käytettiin HTCO-menetelmää (High Temperature Catalytic Oxidation) (Williams 1992), jossa näytteessä olevat orgaaniset hiilyhdisteet hapetetaan laitteen avulla korkeassa lämpötilassa (600–900°C) hiilidioksidiksi ja määritetään infrapunalla (Spyres ym. 2000). Määrittäminen tehtiin Shimadzu TOC-V CPH -hiili- ja typpi-analysaattorilla.

### *2.4.2. Happipitoisuuden määrittäminen*

Happipullot täytettiin näytevedellä lappoamalla muoviletkun avulla. Pullot täytettiin hitaasti valuttamalla piriipintaan ja mahdollisten ilmakuplien annettiin nousta pintaan ennen hiostulppien asettamista paikoilleen. Happipulloja oli kolme rinnakkaisnäytettä yhtä näytteenottohetkeä kohti.

Happipitoisuuden määrittämistä varten jokaiseen rinnakkaiseen näytteeseen pipetoitiin näytteenottohetkellä 1 ml mangaanikloridiliuosta ( $\text{MnSO}_4, 4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), jonka jälkeen pipetoitiin 1 ml alkaalista jodidiliuosta ( $\text{NaOH } 320\text{g/l} + \text{NaI } 600\text{g/l}$ ). Reagenssien mangaani- ja hydroksidi-ionit muodostavat liuenneen hapen kanssa ruskean mangaani(IV)oksidihydroksidisakan ( $\text{MnO}(\text{OH})_2$ ), jonka annettiin laskeutua vähintään tunnin ajan. Happipitoisuuden määrittämisvaiheella näytteeseen pipetoitiin 1 ml rikkihappoa ( $5\text{M } \text{H}_2\text{SO}_4$ ). Tällöin mangaani pelkistyi kahdenarvoiseksi ja näytteestä vapautui hapen määrää vastaava määrä jodia. Kellanuskeaksi muodostuneesta näytteestä otettiin täyspipetillä 50 ml näytevettä titrauskuppiin, johon laitettiin magneettisekoittaja. Happipitoisuus määritettiin Winkler-menetelmällä 848 Titrino Plus-titrauslaitteella (Metrohm, elektrodi Metrohm 6.0431.100 Pt Titrode), joka mittaa näytteen jodipitoisuutta. Laite määrittää tiiosulfaattiliuoksella titraamalla jodipitoisuuden, joka vastaa veteen liuenneen hapen määrää. Jokaisesta näytteestä otettiin kaksi rinnakkaisnäytettä laitteen mahdollisesti aiheuttaman 5-10 % virhemarginaalin tasaamiseksi. Happipitoisuus ilmoitetaan yksikössä  $\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$ . Mitatut happipitoisuudet ( $\text{O}_2$ ) muunnettiin hiilidioksidiksi ( $\text{CO}_2$ ) kertoimella 1,2, joka on luonnonvesissä tavanomainen muunnoskerroin (Berggren ym. 2012). Kerroin vaihtelee sen mukaan, mitä hapetettavia hiiliyhdisteitä vesi sisältää.



### *2.4.3. Bakteeri- ja siimaeliönäytteiden kestäväinti ja värjäys*

Bakteerien solutilavuuden laskemista ja mahdollisten siimaeliöiden tarkastamista varten näytteenoton yhteydessä otettiin 6 ml näyte tuikepulloon jokaisesta fosforilisällisestä inkubointipullosta. Näytteenotto siimaeliöiden tarkastamista varten otettiin myös niistä näytteistä, joihin ei tehty fosforilisäystä. Näytteisiin lisättiin pipetillä 1200 µl 25 % glutaraldehydiä (Sigma) ( $\text{CH}_2[\text{CH}_2\text{CHO}]_2$ ), joka kestäväi näytteen ja lopetti bakteerisolujen toiminnan (Marie ym. 1996). Näytteen glutaraldehydi-konsentraatio oli ~4 %. Näytteitä säilöttiin jääkaapissa (+4 °C) siihen saakka, kunnes ne suodatettiin mikroskopointia varten.

Bakteerien ja siimaeliöiden mikroskopointinäytteiden valmistusta varten imu-suodattimen pohjalle asetettiin pinseteillä ensin selluloosa-asettaattisuodatin (Sartorius), jonka päälle laitettiin 0,2 µm musta polykarbonaattisuodatin (Osmonics) (Hobbie ym. 1977). Bakteerisolutilavuuden määrittämiseksi näytettä pipetoitiin suodattimelle 5 ml ja värjättiin akridiinioranssilla (AO-värjäys) viiden minuutin ajan (Hobbie ym. 1977, Lauer ym. 1981). Bakteerinäytettä säilöttiin pelkällä kuivalla polykarbonaattisuodattimella, kunnes näyte mikroskoipoitiin (säilytys pimeässä huoneenlämmössä). Siimaeliöiden lukumäärän laskemista varten näytettä pipetoitiin 1 ml vastaaville suodattimille, jonka jälkeen se värjättiin 0,033 % proflaviinilla (Caron 1983). Proflaviinivärjätty suodatin laitettiin aluslasille, jonka alla ja päällä oli tippa parafiiniöljyä ja päällimmäisenä peitinlasi (säilytys pimeässä -20 °C).

Bakteerien solulukumäärän laskemiseksi otetut 1 ml virtaussytometrinäytteet kestäväitiin lisäämällä pipetillä 250 µl paraformaldehydin (AlfaAesar; lopullinen konsentraatio 1 %) ja glutaraldehydin (Sigma; lopullinen konsentraatio 0,05 %) seosta (Marie ym. 1996). Näytteet säilytettiin -80 °C.

#### ***2.4.4. Mikroskopointi ja solutilavuuden määrittäminen***

AO-värjättyjen näytteiden bakteerisolutilavuudet määritettiin epifluoresenssimikroskoopilla (Leitz Aristoplane). Huoneenlämmössä säilytetyt polykarbonaattisuodattimet leikattiin puoliksi. Toinen suodattimen puolikas nimettiin näytteen mukaan ja säilöttiin takaisin mahdollista myöhempää käyttöä varten. Toinen puolikas asetettiin objektiivilasille parafiiniöljyn päälle. Suodattimen päälle laitettiin vielä tippa parafiiniöljyä, peitinlasi ja tippa immersioöljyä. Mikroskopointi tehtiin käyttäen sinistä herätevaloa, 100x objektiivia ja 100/1.32Oil-linssiä. 100-kertainen suurennos riittää AO-värjättyjen bakteerien erottamiseksi (Lauer ym. 1981). Solutilavuudet määritettiin näytteenottopäiviltä 1 ja 14 kahdesta rinnakkaisnäytteestä sekä päiviltä 30 ja 60 yhdestä rinnakkaisnäytteestä. Gradienttikokeessa mikroskojettiin yksi rinnakkaisnäyte päiviltä 0 ja 30. Bakteerit kuvattiin mikroskooppiin kytketyllä kameralla (Photometrics) ja tietokoneessa olevalla PMIS Image Processing Software -ohjelmalla (Massana ym. 1997). Otetut kuvat tallennettiin TIFF8-muodossa kuvien jatkokäsittelyä varten. Jokaisesta näytteestä otettiin 20 kuvaa, jotta bakteereja saataisiin käsiteltyä vähintään 200 näytettä kohti. Virhemarginaali on kuitenkin huomattavasti pienempi jo 4-6 kuvan jälkeen, joissa jokaisessa on noin 50 bakteerisolua (Massana ym. 1997). Kuvat käsiteltiin LabMicrobe-ohjelmalla. Ohjelman avulla kuvista poistettiin muut valottuneet objektit kuin bakteerisolut. Ohjelma laskee jokaisen yksittäisen bakteerisolun solutilavuuden. Jokaisesta käsitellystä näytteestä laskettiin Microsoft Excelin avulla näytteen bakteerisolutilavuuden keskiarvo.

Koska alkutilanteen (päivä 0) näytteissä oli todella alhainen solutiheys ja virtausytometristä määrittystä haittaavaa värjäytynyttä aineetta (noise), kaikista 0 päivän fosforilisäysnäytteistä laskettiin bakteerien solulukumäärä kuvantamisen sijaan. Bakteerisolulukumäärä laskettiin seuraavalla kaavalla:

**Kaava 1.**  $\text{soluja/ml} = X * A * d * 1,000,000 (\mu\text{l}) * (\frac{1}{n*V})$ , missä

X = laskettujen solujen kokonaismäärä

A = suodatuspinta-ala (suppilon sisäpinta-ala)

d = glutaraldehydin laimennoskerroin

n = laskettu pinta-ala

V = suodatettu näytemäärä (ml)

Proflaviinivärjätystä näytteistä mikroskopointiin bakteereita laiduntavat siimaeliöt samanlaisella menetelmällä kuin bakteerimikroskopoinnissa. Määrittämissä määritysrajana käytettiin >150 000 solua/l, joka saatiin laskemalla 10 siimaeliösolua 2 cm:n matkalla (linssi 100/1.32Oil). Mikäli määritysraja ylittyi, laskettiin vähintään 50 solua. Lisäksi laskettiin 50 siimaeliön solutilavuus käyttämällä laskentaan tarkoitettua mikroskoopin okulaaria (New Porton Grid), jossa oli kooltaan 1-10  $\mu\text{m}^2$  laskentaympyröitä. Solutilavuudet muutettiin hiilibiomassaksi muunnoskerroimella 0,22 pg C  $\mu\text{m}^{-3}$  (Børshem & Bratbak 1987).

#### ***2.4.5. Bakteerisolulukumäärän mittaaminen virtaussytometrillä***

Virtaussytometrinäytteisiin lisättiin 12,5  $\mu\text{l}$  fluoresoivaa fluorokromia, Sybr Green-väriainetta (Sigma), joka sitoutuu bakteerien DNA:han ja RNA:han (Marie ym. 1996). Näytteitä pidettiin pimeässä 10 minuutin ajan, jonka jälkeen näytettä pipetoitiin 1,2 ml virtaussytometriputkeen. Näytteisiin lisättiin 20  $\mu\text{l}$  CountBright™ -helmiä, joiden tiheys tunnetaan. Varsinainen mittaus suoritettiin CyFlow® Partec Cube-virtaussytometrillä käyttämällä sinistä 488 nm emittoivaa argon-ioni-laseria. Näytteeseen lisätty Sybr Green-fluorokromi absorboi säteilyä ja siroaa sen näkyvinä valon aallonpituuksina, jonka virtaussytometri pystyy mittaamaan (BD Biosciences 2000). Virtaussytometrin analyysit käsiteltiin FCS Express 4 Flow Research Edition -ohjelmalla. Analyyseissä oli näkyvissä bakteerisolujen lisäksi myös helmet sekä ”noise”, joka koostui muista kuin bakteerisoluista. Bakteerisolut erotettiin näistä partikkeleista sivuttais- ja

suorasironnan sekä punaisen ja vihreän fluoresenssin avulla (Gasol & del Giorgio 2000).

Saaduista bakteerien solulukumääristä laskettiin bakteeribiomassa seuraavalla kaavalla:

$$\text{Kaava 2. } 0,12 \text{ pg C} * (\text{solutilavuus } \mu\text{m}^3)^{0,7}$$

Bakteerien solutilavuudet saatiin mikroskopoiduista ja kuvatuista näytteistä. Koska päivien 0 ja 1 näytteiden solutilavuuksia oli mahdoton kuvata liian pienen bakteerilukumäärän vuoksi, niissä käytettiin Suomenlahden keskimääräistä bakteerisolutilavuutta kesällä ( $0,06 \mu\text{m}^3$ ) (Lignell ym. julkaisematon aineisto).

#### ***2.4.6. Biologisesti käyttökelpoisen DOC:n ja DOP:n osuudet***

Bakteerien kuluttaman DOC:n määrää tutkittiin näytteistä, joihin oli lisätty fosfaattia. Kokeen aikana kulunut DOC laskettiin alku- ja loppuhetken DOC-pitoisuuksien erotuksena. DOC:n kulutus laskettiin myös bakteerien hiilentarpeena (BCD). Bakteerien hiilentarve saatiin bakteerien hengityksessä vapautuvan hiilidioksidin ja bakteeribiomassan kasvun summana. Bakteeribiomassan kasvu saatiin edelleen vähentämällä näytteenottohetken biomassa aloitushetken (päivä 0) biomassasta. Bakteerien kuluttaman DOP:n pitoisuus laskettiin näytteistä, joihin ei lisätty fosforia kokeen alku- ja loppuhetken DOP-pitoisuuksien erotuksena. Biologisesti hajoavan DOC:n (LDOC) ja DOP:n (LDOP) osuudet vesinäytteen kokonais-DOC- ja kokonais-DOP-pitoisuuksista saatiin jakamalla kolmen rinnakkaisnäytteen alku- ja loppupitoisuuksien keskiarvojen erotus tai BCD vastaavan näytteen alkupitoisuudella.

Lisäksi näytteistä arvioitiin bakteerien kasvutehokkuus (BGE), joka kuvastaa uuden bakteeribiomassan tuotantoa yhtä bakteerien hyödyntämää orgaanisen hiilen yksikköä kohden (del Giorgio & Cole 1998). BGE kuvastaa siis sitä prosenttiosuutta bakteerien ottamasta hiilestä, jonka ne käyttävät kasvuunsa. BGE lasketaan seuraavasti:

$$\mathbf{Kaava\ 3.} \ BGE\ (\%) = 100 * \frac{\text{Bakteeribiomassan kasvu}}{\text{Bakteerien hiilentarve}}$$

## 2.5. Tilastolliset analyysit

Tilastollinen testaus tehtiin Microsoft Excel 2013 –ohjelmalla tilastolliseen testaukseen tarkoitetuilla tietojen analysointityökaluilla. Aineistojen pienestä otoskoosta johtuen normaalisuus testattiin IBM SPSS Statistics 22 –tilasto-ohjelmalla Kolmogorow-Smirnov -testillä sekä Shapiro-Wilk –testillä, joissa nollahypoteesina on muuttujan normaalijakauman noudattaminen. Tilastollisen merkitsevyyden tasoa kuvaamaan käytettiin p-arvoja  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,01$  ja  $p \leq 0,001$ .

Kokonaiskuorman selvittämiseksi tehtyjä seurantajakson aikaisia KHK-, BHK- ja TOC-pitoisuuksia sekä päivittäistä jätevesivirtaamaa verrattiin DOC-pitoisuuksiin ja niille tehtiin hajontakuviot. Parien välisen lineaarisen korrelaation merkitsevyys testattiin yhden selittävän muuttujan regressioanalyysillä. Otoskoko oli 19 jokaisessa muuttujassa. Korrelaatiokertoimen r pohjalta katsottiin 1-suuntainen p-arvo. DOC-pitoisuuden ja jätevesivirtaaman välisen korrelaation suunnasta ei ollut varmuutta, minkä vuoksi sen p-arvo katsottiin 2-suuntaisena. Erot puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuuksissa seurantajakson aikana testattiin varianssianalyysillä kuukauden mukaan. Pienestä otoskoosta johtuen normaalisuus testattiin.

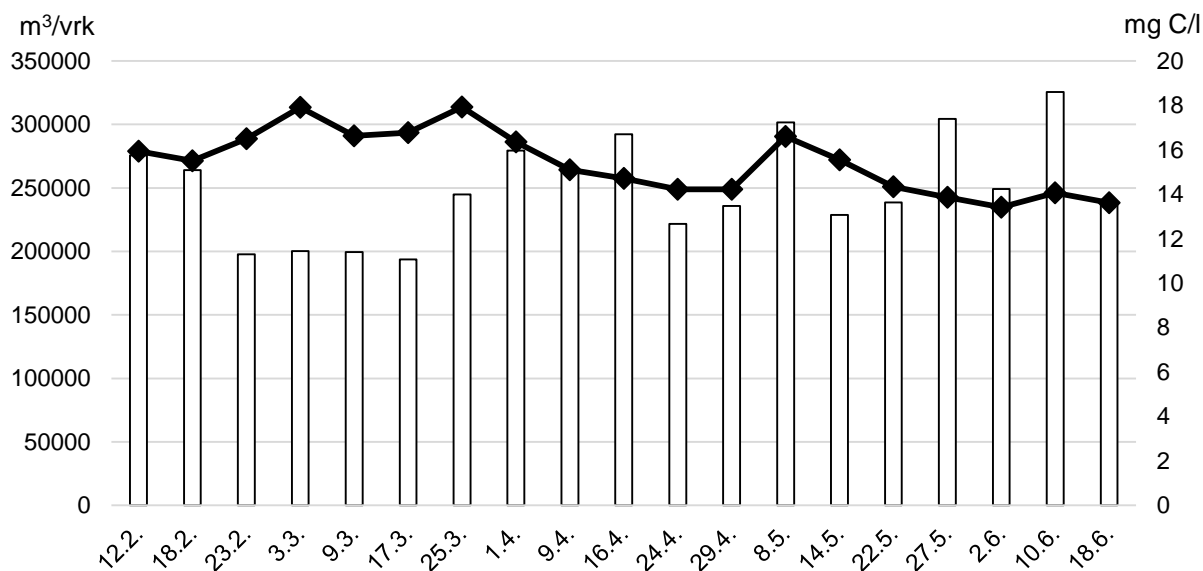
Erot kolmen inkubointikokeen välillä bakteeribiomassan kasvussa, hengityksessä ja kasvutehokkuudessa testattiin yksisuuntaisella varianssianalyysillä ja kokeiden väliset erot testattiin edelleen pareittain kahden otoksen t-testillä olettaen varianssit yhtä suuriksi. Nollahypoteesina oli, ettei kokeen aloitusajankohdalla ole merkitseviä eroja näillä muuttujilla.

Kiekkosuodattimen ja tavanomaisen puhdistustavan välisiä DOC- ja DOP-pitoisuuksia verrattiin kokeen aloitus- ja lopetushetkellä. Pitoisuuksien väliset erot testattiin kahden riippumattoman ja yhtä suurten otosten t-testillä. Testin oletuksena oli yksisuuntaisuus ja nollahypoteesina se, ettei puhdistustapojen välillä ole eroja DOC- ja DOP-pitoisuuksissa kokeen aloitus- tai lopetushetkellä.

### 3. Tulokset

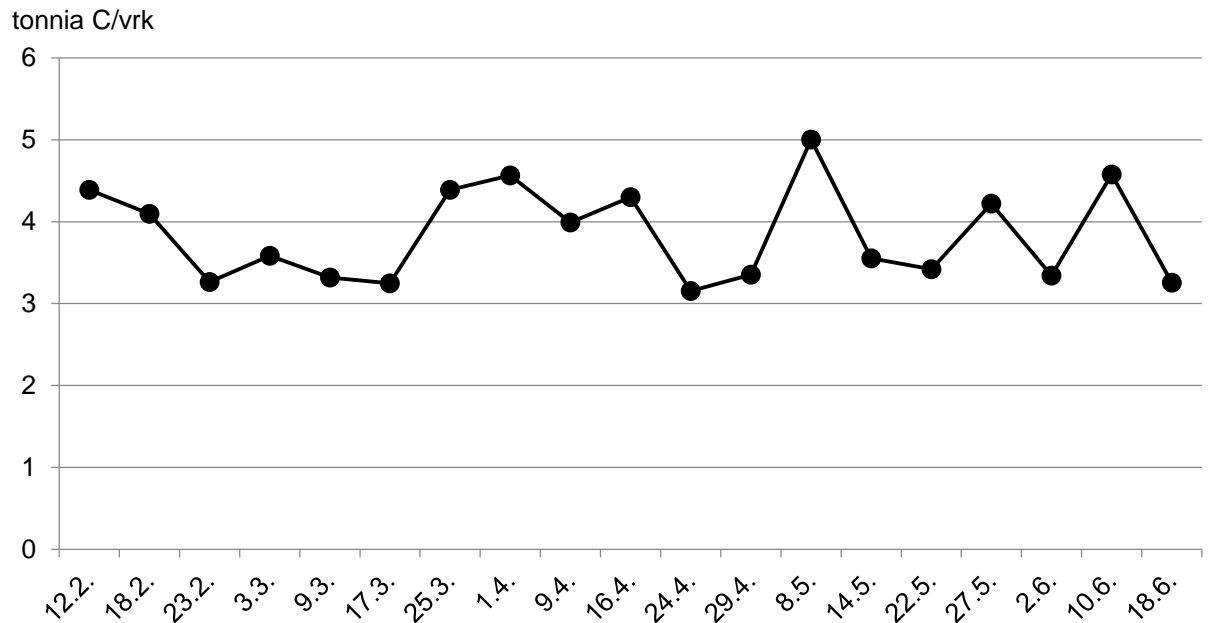
#### 3.1. Puhdistetun jäteveden mukana mereen päätyvä DOC-kuorma

Puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuus vaihteli seurantajakson (12.2.–18.6.2014) aikana välillä 11,07–18,61 mg C/l. Virtaama vaihteli välillä 234 800–313 600 m<sup>3</sup>/vrk (Kuva 2.). DOC-pitoisuuden ja jätevesivirtaamaan korrelaatio ei ollut tilastollisesti merkitsevä ( $r = -0,37$ ; 2-suuntainen  $p = 0,12$ ). DOC-pitoisuus ja virtaama eivät ole olleet siis toisistaan riippuvaisia. DOC-pitoisuudet olivat maaliskuussa 20 % keskiarvoa pienemmät ( $11,98 \pm 1,36$  mg C/l) muihin mittausjakson DOC-pitoisuuksiin nähden ( $F = 7,403$ ;  $p \leq 0,05$ ). Muut kuukaudet eivät poikenneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan ( $F = 1,873$ ;  $p = 0,17$ ). Pienestä otoskoosta johtuen normaalisuus testattiin (Liite 5). Poikkeavia arvoja ei ollut.



**Kuva 2.** DOC-pitoisuudet (mg C/l; pylväät;  $14,30 \pm 2,2$  mg C/l) ja puhdistetun jäteveden vuorokausivirtaama (m<sup>3</sup>/vrk;  $270\ 000 \pm 24\ 600$  m<sup>3</sup>/vrk) seurantajakson aikana (n=19).

Näiden 19 päivän seurantajakson aikana Suomenlahteen päätyneen DOC:n kokonaiskuorma oli 73 tonnia (Kuva 3.; pienin vuorokausikuorma 24.4. [3,15 t C/vrk]; suurin vuorokausikuorma 8.5. [5,00 t C/vrk]).



**Kuva 3.** Viikinmäen jätevedenpuhdistamolta puhdistetun jäteveden mukana Suomenlahteen päätyvän DOC:n vuorokausikuorma ( $3,84 \pm 0,58$  t C/vrk;  $n=19$ ).

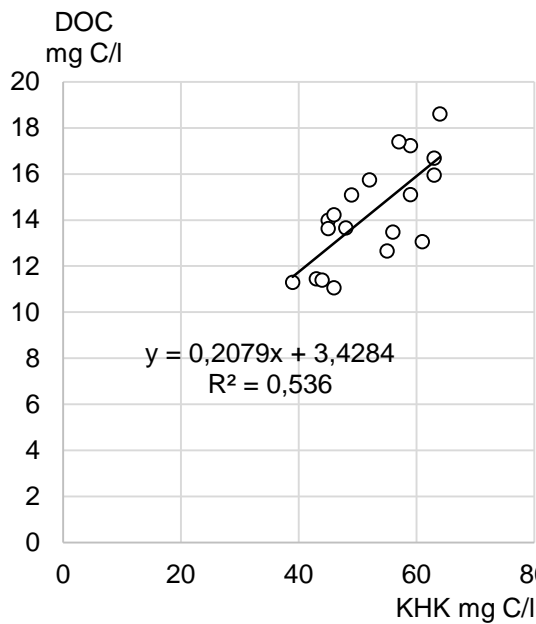
### *3.1.1. Puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuuksien arvioiminen seurantaparametrien avulla*

Viikinmäen jätevedenpuhdistamon seurantaraporteista saatujen KHK-arvojen ja mitattujen DOC-pitoisuuksien välillä oli positiivinen korrelaatio ( $r = 0,73$ ;  $p \leq 0,01$ ; Kuva 4.). KHK- ja DOC-pitoisuuksien välinen suhdeluku oli  $3,66 \pm 0,43$ . DOC- ja BHK-pitoisuuksien keskiarvojen suhdeluku oli  $1,84 \pm 0,63$ , mutta BHK:n ja DOC:n välillä ei kuitenkaan ollut tilastollisesti merkitsevää korrelaatiota ( $r = 0,26$ ;  $p = 0,28$ ; Kuva 5.).

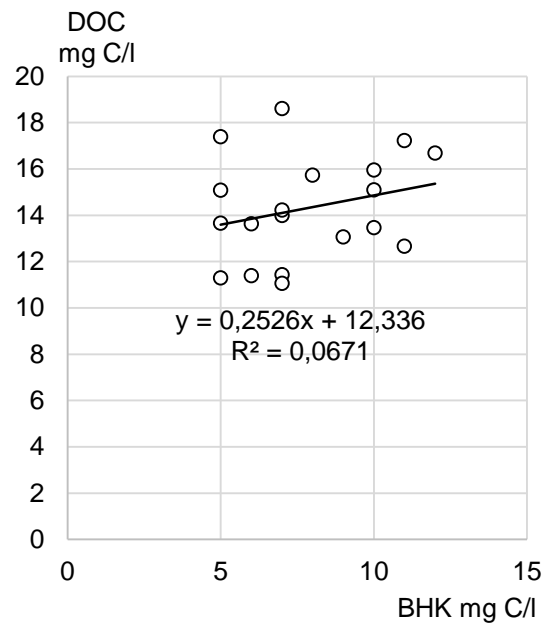
TOC-pitoisuuden noustessa DOC-pitoisuus kasvoi tilastollisesti erittäin merkitsevästi ( $r = 0,79$ ;  $p \leq 0,001$ ; Kuva 6.). Vastaavasti TOC-pitoisuuksien noustessa myös KHK-pitoisuudet kasvoivat tilastollisesti erittäin merkitsevästi ( $r$



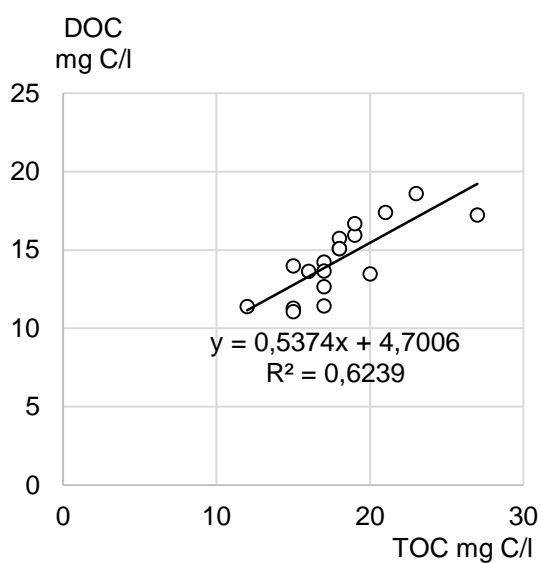
= 0,75;  $p \leq 0,001$ ). Regressioanalyysien tarkemmat tulokset ovat liitteessä 3. Suurin osa TOC:sta oli DOC:na, vaihdellen välillä 64–95 % (ka. 81 %). Seurantapäivän 14.5. DOC/TOC-suhde (54 %) poikkesi yli 10 % prosenttia toiseksi matalimmasta suhdearvosta ja jätettiin siksi pois tarkastelusta.



**Kuva 4.** Kemiallisen hapenkulutuksen riippuvuus DOC-pitoisuudesta seurantajakson aikana (n=19).



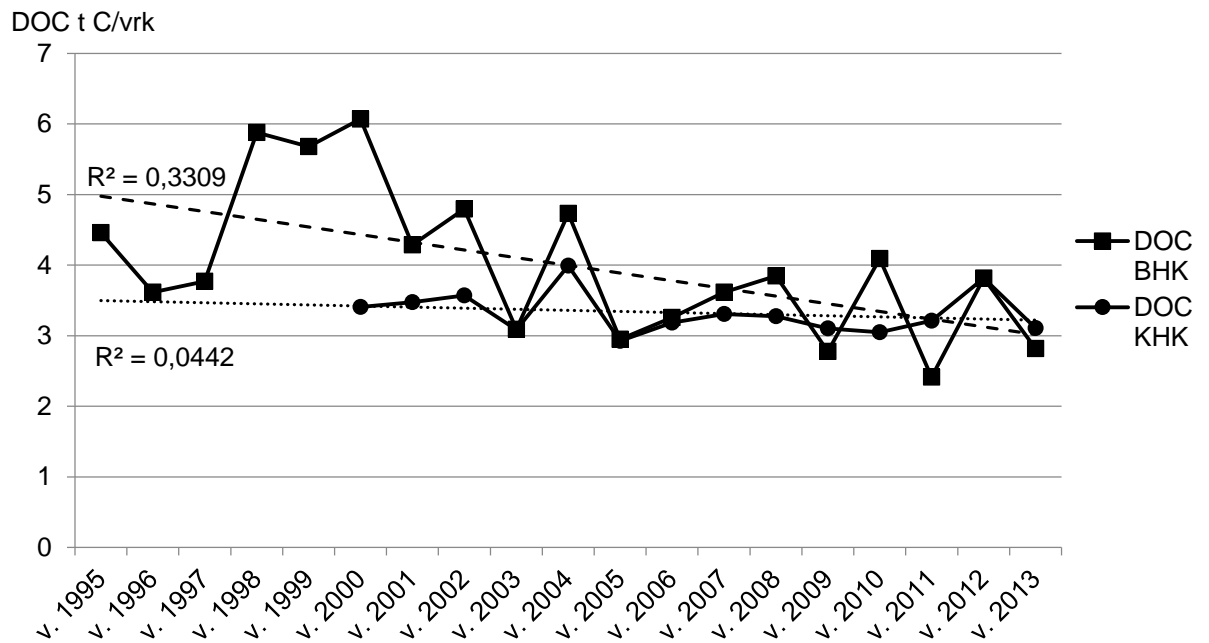
**Kuva 5.** Biologisen hapenkulutuksen riippuvuus DOC-pitoisuudesta seurantajakson aikana (n=19).



**Kuva 6.** TOC ja DOC:n välinen riippuvuus seurantajakson aikana (n=18).

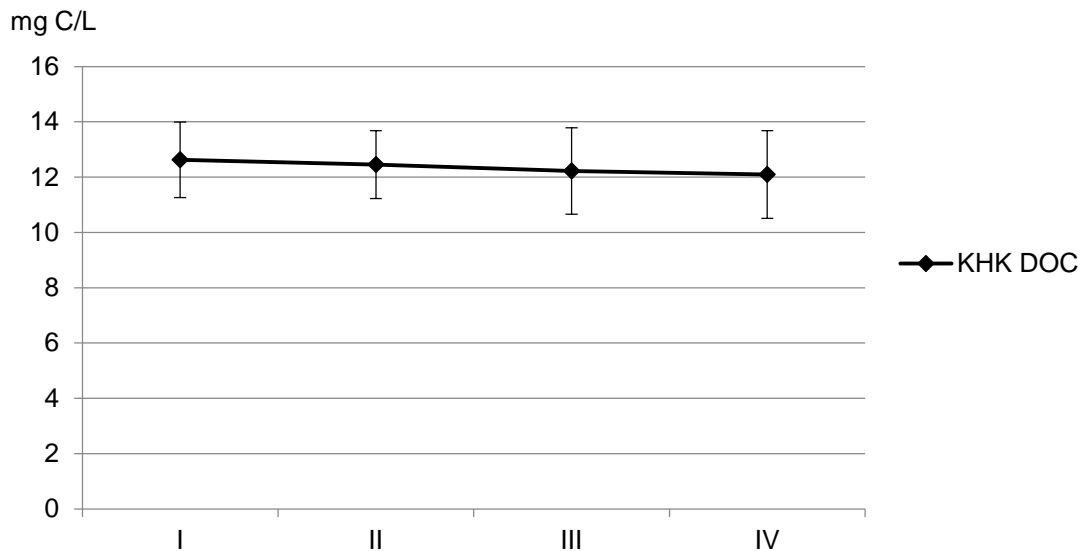
Vuosien 2000–2013 aikana Viikinmäen jätevedenpuhdistamon DOC-kokonaiskuorma puhdistetussa jätevedessä (Kuva 7.) on ollut KHK-pitoisuuksista arvioituna 17 000 tonnia (ka.  $1210 \pm 110$  t C/vuosi).

KHK-kuormista arvioitujen DOC-kuormien perusteella vuosittaiset DOC-kuormat ovat laskeneet hieman vuosien 2000–2013 aikana, yhteensä 7 % verrattuna vuosien 2000–2004 ja 2009–2013 keskiarvoja ( $3,51 \rightarrow 3,26$  t C/vrk). Ero ei kuitenkaan ole tilastollisesti merkittävä ( $F = 1,498$ ;  $p = 0,256$ ). BHK-kuormasta arvioidun DOC-kuorman arvot vaihtelevat todella paljon vuosien välillä, mutta sen perusteella DOC-pitoisuudet ovat laskeneet huomattavasti vuodesta 1995 lähtien. BHK-arvot ovat laskeneet tilastollisesti merkitsevästi ( $F = 6,840$ ,  $p \leq 0,05$ ). Niitä ei kuitenkaan voida luotettavasti käyttää DOC-pitoisuuksien arviointiin, koska BHK/DOC-korrelaatio ei ollut tilastollisesti merkitsevä.



**Kuva 7.** KHK- ja BHK-pitoisuuksista arvioidut keskimääräiset päivittäiset DOC-kuormat (t C/vrk) kertoimilla  $KHK/DOC=3,66$  (pisteviiva;  $3,32 \pm 0,3$  t C/vrk,  $n=19$ ) ja  $DOC/BHK=1,84$  (katkoviiva;  $4,00 \pm 1,1$  t C/vrk;  $n=13$ ) vuosilta 1995–2013 ja 2000–2013. Yksittäisen vuoden arvo on laskettu neljännesvuosikeskiarvojen perusteella.

KHK-pitoisuuksista arvioiduista DOC-pitoisuuksista katsottiin myös, onko DOC-pitoisuuksissa ollut vuodenaikaisvaihtelua vuosien 2000–2013 neljännesvuosikeskiarvoina (KHK/DOC:sta ei arvoa vuodelta 2004; Kuva 8.). Pitoisuuksissa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa eli puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuus ei riipu vuodenaikasta ( $F = 0,326$ ;  $p = 0,776$ ).



**Kuva 8.** KHK/DOC-kertoimen avulla arvioidut DOC-pitoisuudet vuosien 2000–2013 neljännesvuosikeskiarvoista (KHK DOC  $12,35 \pm 0,23$  mg C/l;  $n=14$ ).

I = kk I-III, II = kk IV-VI, III = kk VII-IX, IV = kk X-XII

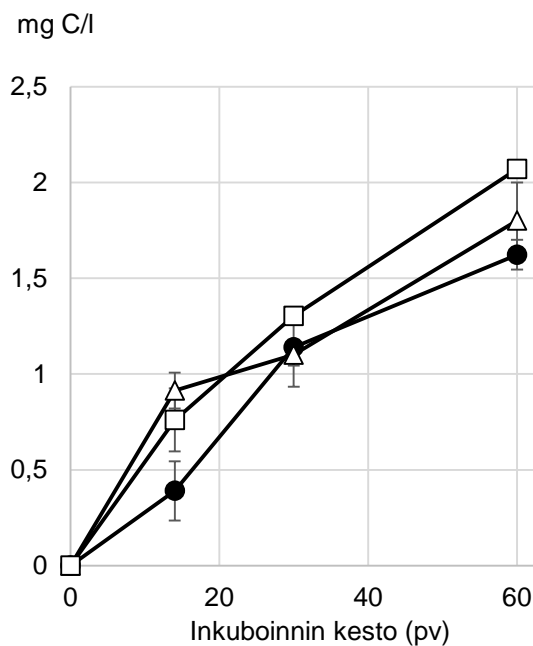
## 3.2. Puhdistetun jäteveden DOC:n biologinen käyttökelpoisuus

### 3.2.1. Bakteerien hengitys ja solutilavuus

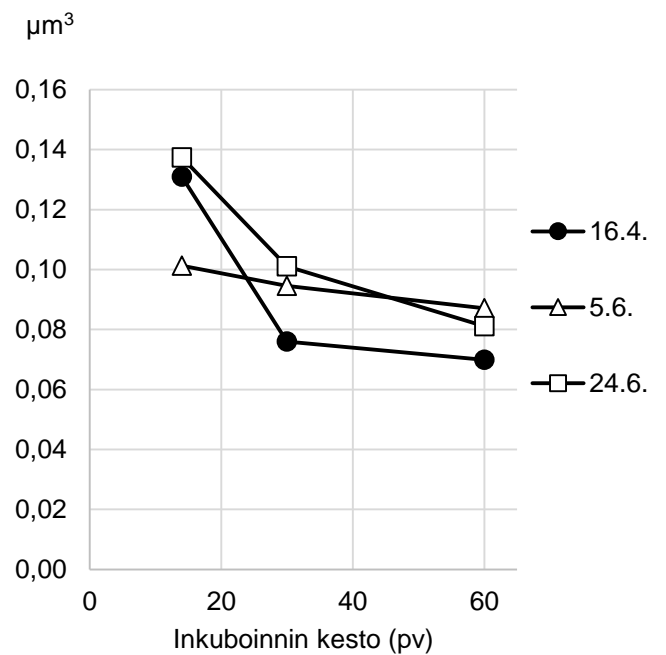
Ensimmäisen kuukauden aikana bakteerit tuottivat hiilidioksidia ( $\text{CO}_2$ )  $1,2 \pm 0,1$  mg C/L. Kahden kuukauden inkuboinnin kohdalla  $\text{CO}_2$ -kokonaistuotanto oli  $1,8 \pm 0,2$  mg C/L (Kuva 10.). Kokonaistuotanto kokeen aikana oli suurinta 24.6. ja pienintä 16.4. aloitetussa kokeessa. Kuukauden inkuboinnin jälkeen bakteerien hengityksessä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa ( $F = 0,728$ ;  $p = 0,55$ ), mutta kahden kuukauden inkuboinnin jälkeen kokeiden välillä oli tilastollisesti hyvin

merkittävä ero bakteerien hengityksessä ( $F = 49,098$ ;  $p \leq 0,001$ ). Bakteerin biomassan kasvun, hengityksen, kasvutehokkuuden sekä solutilavuuden kokeiden välisten parittaisten erojen t-testit ovat liitteessä 4.

Bakteerien solukoko oli suurimmillaan kahden viikon inkuboinnin aikana ( $0,12 \pm 0,2 \mu\text{m}^3$ ). Solutilavuuksien (Kuva 11.) välillä ei kuitenkaan ollut tilastollisesti merkittäviä eroja kokeiden välillä ( $F = 2,626$ ;  $p = 0,22$ ). (ks. liite 4.)



**Kuva 10.** Bakteerien hengitys (mg C/l) hapen kulutuksesta laskettuna käyttäen kerrointa 1,2 (kolmessa inkubointikokeessa 2 kuukauden aikana ( $n=3$ )).



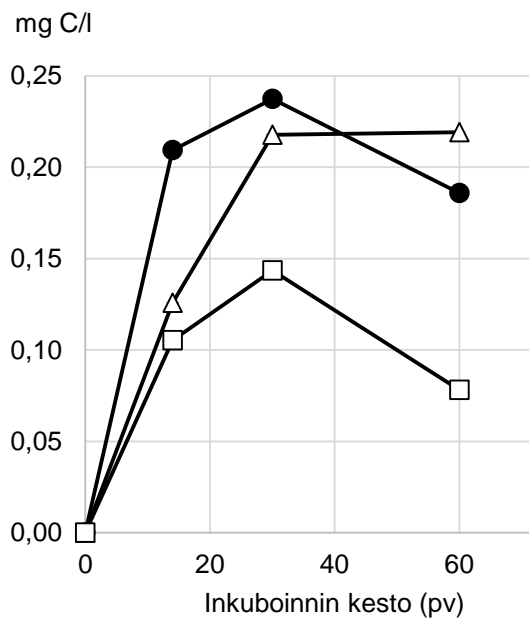
**Kuva 11.** Bakteerin solutilavuuksien muutokset kolmessa inkubointikokeessa kahden kuukauden aikana (ka. järjestyksessä:  $0,12 \pm 0,02 \mu\text{m}^3$ ;  $0,09 \pm 0,01 \mu\text{m}^3$ ;  $0,08 \pm 0,01 \mu\text{m}^3$ ;  $n=3$ ).

### 3.2.2. Bakteeribiomassan kasvu ja kasvutehokkuus

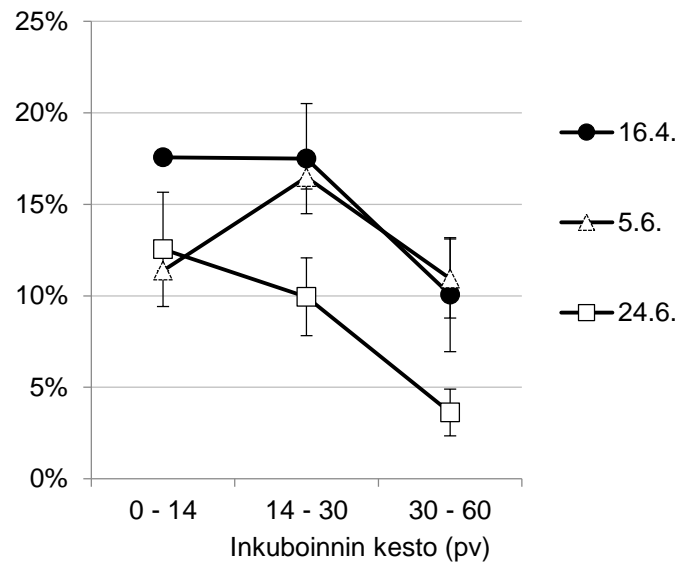
Bakteeribiomassa kasvoi kaikissa kokeissa nopeasti ensimmäisten kahden viikon aikana kokeen aloittamisesta (Kuva 12.). Eniten bakteeribiomassa kasvoi kahden viikon jälkeen 16.4. aloitetussa kokeessa ( $0,21 \text{ mg/l}$ ), jossa kasvu oli lähes kaksinkertainen 24.6. aloitettuun kokeeseen nähden ( $0,11 \text{ mg/l}$ ). Kuukauden jälkeen kahden ensimmäisen kokeen biomassan kasvu oli lähes yhtä suurta ( $0,23$

ja 0,21 mg/l järjestyksessä). Kuukauden inkuboinnin aikana kokeiden välillä oli selkeä ero bakteeribiomassan kasvussa ( $F = 14,719$ ,  $p \leq 0,05$ ). Kahden kuukauden kohdalla kokeiden välillä ei ollut eroa bakteeribiomassan kasvussa ( $F = 10,677$ ;  $p = 0,086$ ). (ks. liite 4.)

Bakteerien kasvutehokkuus (BGE; Kuva 13) lähti 16.4. ja 24.6. aloitetuissa kokeissa selvään laskuun ensimmäisen kuukauden jälkeen. BGE laski ensimmäisen ja toisen kuukauden aikana  $5,6-7,4 \pm 0,9$  prosenttiyksikköä. Kokeessa, joka aloitettiin 5.6., BGE kasvoi kokeen aikana 5,1 prosenttiyksikköä kahden viikon ja kuukauden välillä. BGE oli kuukauden inkuboinnin jälkeen  $14,7 \pm 3,3$  %, jolloin kokeiden välillä oli tilastollisesti merkitsevä ero ( $F = 8,083$ ;  $p \leq 0,05$ ). Kahden kuukauden jälkeen BGE oli  $8,2 \pm 4,0$  % ja kokeiden välinen ero yhtä lailla tilastollisesti merkitsevä ( $F = 10,332$ ;  $p \leq 0,05$ ). (ks. liite 4.)



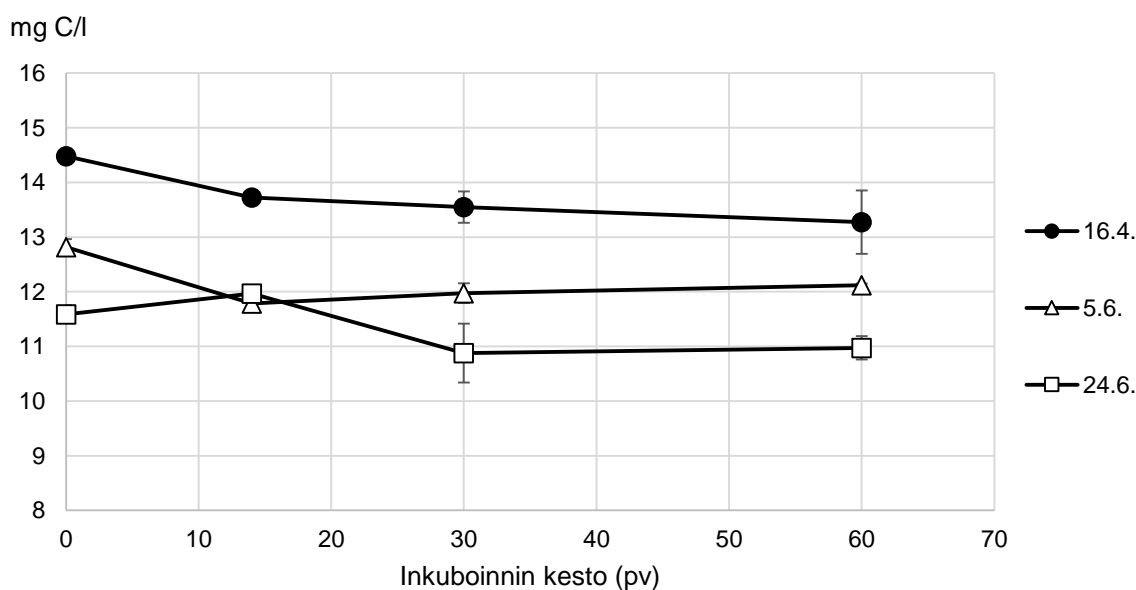
**Kuva 12.** Bakteeribiomassan kasvu kolmessa inkubointikokeessa 2 kuukauden aikana ( $n=3$ ).



**Kuva 13.** Bakteerien kasvutehokkuus (BGE) kolmessa inkubointikokeessa 2 vko:n, 1 kk:n ja 2 kk:n jälkeen inkuboinnin aloittamisesta ( $n=3$ ).

### 3.2.3. Puhdistetun jäteveden DOC- ja LDOC-pitoisuudet

Suolalisäyksen jälkeen mitatut DOC-pitoisuudet olivat korkeampia ( $3,3 \% \pm 2,2 \%$ ) kuin ennen suolalisäystä, mutta ero oli lähellä määrittystarkkuuden alarajaa ( $2,3 \%$ ; Lignell ym. 2008). DOC-pitoisuus aloitushetkellä oli  $13,0 \pm 1,5 \text{ mg C/l}$ . Kahden viikon inkuboinnin aikana DOC-hävikki oli  $0,5 \text{ mg C/l}$ . Kahden viikon jälkeen kuukauteen mennessä DOC-pitoisuudet laskivat vielä  $0,4 \text{ mg C/l}$ , jonka jälkeen DOC-pitoisuudet eivät enää laskeneet merkittävästi eli bakteerit eivät kuluttaneet enää DOC:ia. (Kuva 9.) Bakteereille käyttökelpoisen DOC:n osuus oli BCD:n mukaan  $4,3 \%$  korkeampi 1 kk:n inkuboinnin aikana ja  $9,2 \%$  korkeampi 2 kk:n inkuboinnin aikana DOC-hävikkiin verrattuna. (Taulukko 3). Bakteerien tiheys oli näytteissä  $34\,400 \pm 7\,300 \text{ ml}^{-1}$  kokeen aloitushetkellä. Bakterilukumäärissä ei ollut merkitseviä eroja kokeiden välillä ( $F = 0,7146$ ;  $p = 0,527$ ).



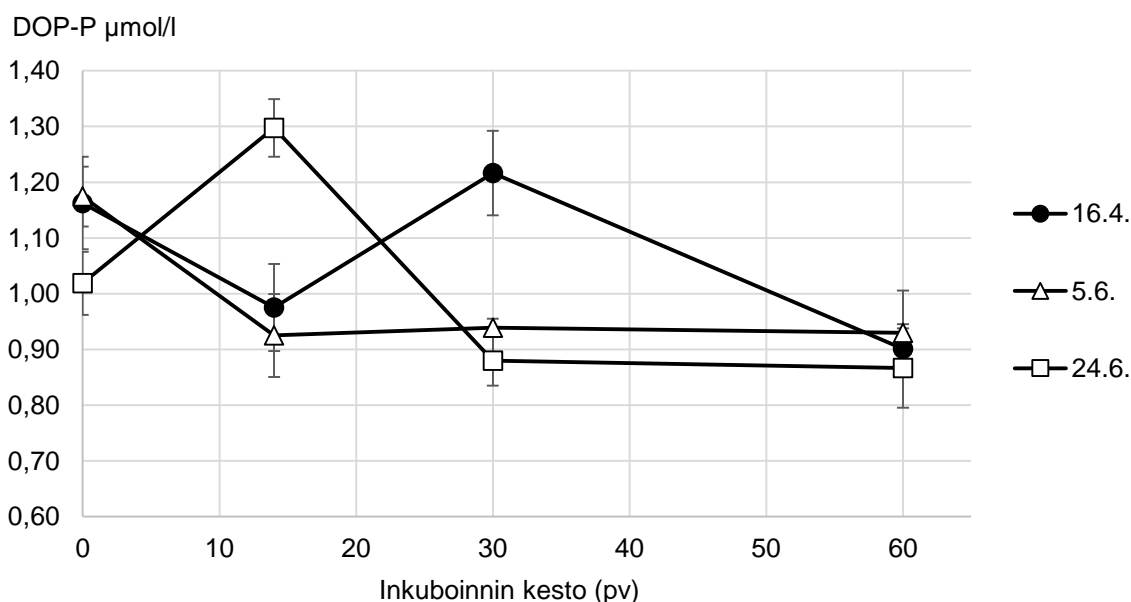
**Kuva 9.** DOC-pitoisuudet (mg C/l) kolmessa inkubointikokeessa kahden kuukauden aikana ( $n=3$ ). Vesinäytteet inkubointia varten on otettu huhti-kesäkuun aikana.

**Taulukko 3.** Bakteereille käyttökelpoisen DOC:n (LDOC) määrä ja osuus kokonais-DOC:sta Viikinmäen puhdistetussa jätevedessä sekä Vantaanjoessa. LDOC:n määrät ja osuudet on laskettu yhden ja kahden kuukauden inkuboinnin jälkeen bakteerien hiilentarpeesta (BCD) ja DOC-hävikistä.

	LDOC BCD:stä				LDOC DOC-hävikistä				Autio (2014)
	1 kk		2 kk		1 kk		2 kk		
	mg/l	%	mg/l	%	mg/l	%	mg/l	%	
<b>Vantaanjoki</b>	0,7	4,8	1,0	6,8	1,1	8	1,5	10,6	
<b>Viikinmäki</b>	1,4	10,7 ± 1,5 %	2,0	15,6 ± 3,0 %	0,8	6,4 ± 0,2 %	0,8	6,4 ± 1,7 %	

### 3.3. Puhdistetun jäteveden DOP:n biologinen käyttökelpoisuus

DOP:n määrä kaikesta liuenneesta fosforista (TDP) oli kokeen alussa  $58,0 \pm 12,8$  % ( $0,86 \pm 0,40$   $\mu\text{mol/l}$ ). Kahden kuukauden aikana bakteerit käyttivät DOP:sta  $19,4 \pm 4,0$  % ( $0,22 \pm 0,06$   $\mu\text{mol/l}$ ). LDOP:n osuus kaikesta bakteereille käyttökelpoisesta fosforista (LDOP +  $\text{PO}_4^{3-}$ ) oli  $37,0 \pm 5,3$  %. DOP-pitoisuudet inkuboinnin aikana ovat Kuvassa 14. LDOP:n osuus puhdistetun jäteveden kokonais-DOP-pitoisuuksista on Taulukossa 4.



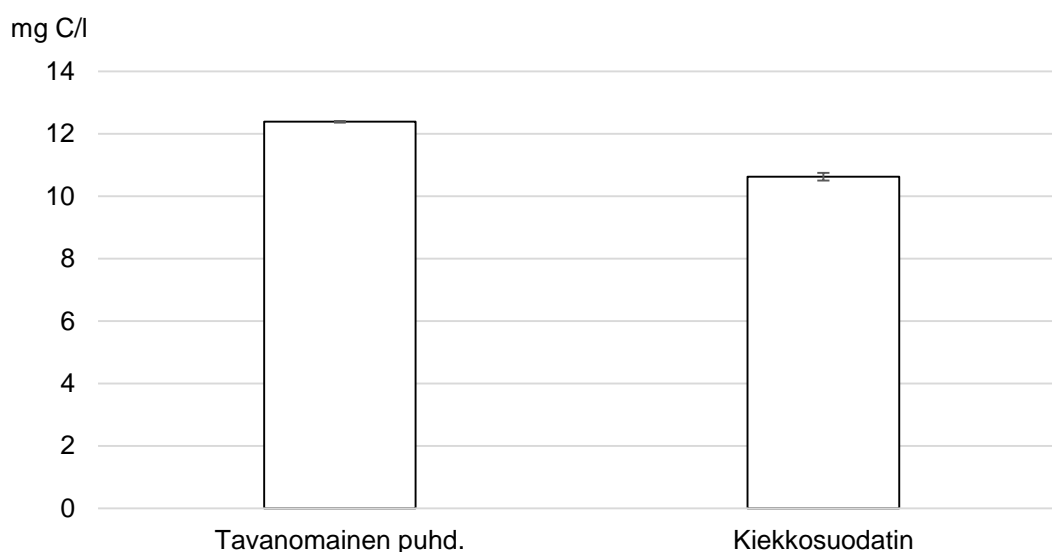
**Kuva 14.** DOP-pitoisuus kolmessa inkubointikokeessa kahden kuukauden aikana (n=3).

**Taulukko 4.** Biologisesti käyttökelpoisen DOP:n (LDOP) määrä ( $\mu\text{mol/l}$ ) ja osuus (%) Viikinmäen puhdistetun jäteveden kokonais-DOP-pitoisuuksista 1 ja 2 kk:n kuluttua inkuboinnin aloittamisesta kolmen kokeen keskiarvona (1 kk,  $n=2$ ; 2 kk,  $n=3$ ).

	1 kk		2 kk	
	LDOP $\mu\text{mol/l}$	osuus DOP:sta %	LDOP $\mu\text{mol/l}$	osuus DOP:sta %
<b>Viikinmäki</b>	$0,17 \pm 0,05$	$18,7 \pm 6,9 \%$	$0,19 \pm 0,04$	$21,9 \pm 5,9 \%$

### 3.4. Kiekkosuodattimen vaikutus DOC- ja DOP-pitoisuuksiin

Kokeen aloitushetkellä kiekkosuodattimen läpikäyneessä jätevedessä oli 14 % vähemmän DOC:a kuin tavanomaisesti puhdistetussa jätevedessä. Kiekkosuodatin poisti DOC:a tilastollisesti merkitsevästi ( $p \leq 0,001$ ) (Kuva 15.). Jätevesigradientin (Taulukko 1.) mukaiset DOC-pitoisuudet puhdistustavan mukaan ovat liitteessä 6.



**Kuva 15.** Tavanomaisesti puhdistetun ja kiekkosuodattimen läpikäyneen jäteveden DOC-pitoisuudet (mg C/l) kokeen aloitushetkellä ( $n=6$ ).

DOP-pitoisuus oli tavanomaisesti puhdistetussa vedessä  $35 \mu\text{g P/l}$  ja kiekkosuodatinvedessä  $22 \mu\text{g P/l}$  kokeen aloitushetkellä. Kaksi rinnakkaistulosta poistettiin liian suuren poikkeavuuden vuoksi ( $>10 \%$ ). Kiekkosuodatin poisti DOP:a 37 % ( $13 \mu\text{g P/l}$ ) tavanomaisesti puhdistettuun veteen verrattuna.



### 3.5. Kiekkosuodattimen vaikutus DOC:n ja DOP:n biologiseen käyttökelpoisuuteen

DOC-pitoisuus kuukausi inkuboinnin aloituksesta oli tavanomaisesti puhdistetussa jätevedessä 11,1 mg C/l ja kiekkosuodatinvedessä 9,5 mg C/l. BCD:stä lasketun LDOC:n mukaan käyttökelpoisen DOC:n osuus kiekkosuodatinvedessä oli kuukauden jälkeen 14,0 % ( $2,0 \pm 0,15$  mg C/l) ja perinteisessä puhdistuksessa 13,5 % ( $1,7 \pm 0,18$  mg C/l). Eri tavoin puhdistettujen jätevesien DOC:n biologisessa hajoamisessa ei ollut merkitsevää eroa kuukauden aikana DOC-hävikin mukaan ( $F = 0,971$ ;  $p = 0,380$ ) eikä BCD:n mukaan ( $F = 3,364$ ;  $p = 0,163$ ) (Taulukko 5. ja 6.)

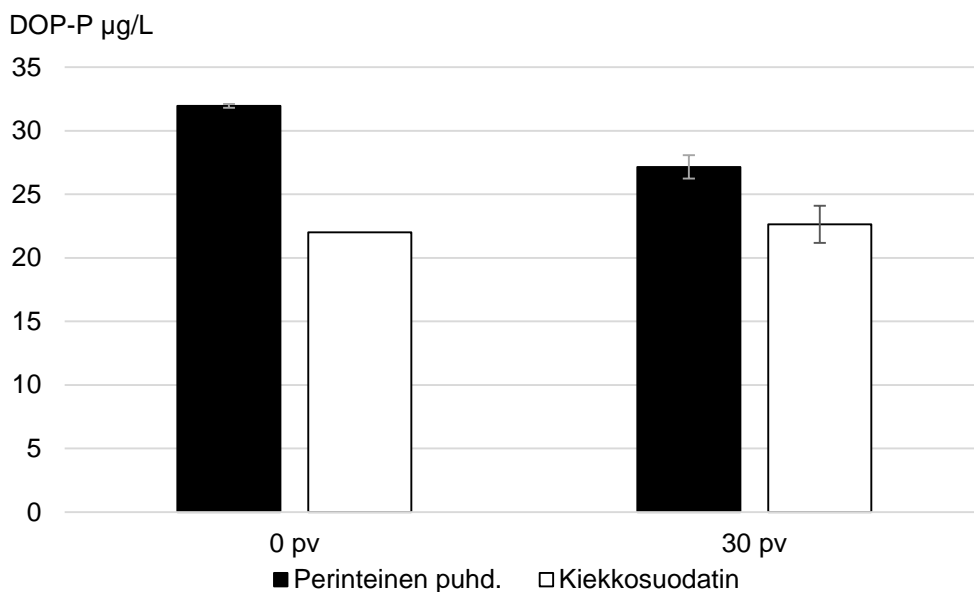
**Taulukko 5.** Biologisesti käyttökelpoisen DOC:n (LDOC) määrä (mg C/l) ja osuus (%) tavanomaisesti puhdistetussa jätevedessä ja kiekkosuodatinvedessä DOC:n kokonaispitoisuudesta yhden kuukauden aikana inkuboinnin aloittamisesta.

Viikinmäki		1 kk		LDOC DOC-hävikistä			
Kiekkosuodatin		Perinteinen puhd.		Kiekkosuodatin		Perinteinen puhd.	
mg/l	%	mg/l	%	mg/l	%	mg/l	%
$2,02 \pm 0,01$	14,0 %	$1,73 \pm 0,02$	13,5 %	$1,10 \pm 0,21$	10,5 %	$1,24 \pm 0,08$	10,0 %

**Taulukko 6.** Tavanomaisesti puhdistetun jäteveden ja kiekkosuodatetun jäteveden bakteeribiomassan kasvu (mg C/l), bakteerien kasvutehokkuus (BGE %) sekä bakteerien hengitys (mg C/l) yhden kuukauden aikana inkuboinnin aloittamisesta.

Viikinmäki		1 kk		Bakteerien kasvutehokkuus	
Bakteeribiomassan kasvu		Bakteerihengitys		Bakteerien kasvutehokkuus	
Kiekkosuod.	Tavanomainen puhd.	Kiekkosuod.	Tavanomainen puhd.	Kiekkosuod.	Tavanomainen puhd.
$0,23 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,06$	1,75	1,7	$11,6 \pm 1,3$ %	$3,2 \pm 2,7$ %

Tavanomaisesti puhdistetun jäteveden LDOP:n osuus oli 22,2 % ( $7,8 \pm 4,5 \mu\text{g P/l}$ ). Kiekkosuodatetun jäteveden DOP-pitoisuus ei muuttunut kokeen aikana eli bakteerit eivät kuluttaneet DOP:a kiekkosuodattimen läpikäyneessä jätevedessä. Kiekkosuodatinvedessä ei näyttäisi olevan LDOP:a lainkaan (Kuva 16.). Kiekkosuodatinveden DOP:n kulutuksesta saatiin vain kuitenkin vain yksi tulos ( $-0,64 \mu\text{g P/l}$ ), koska kaksi kokeen aloitushetken rinnakkaisnäytteestä poistettiin tarkastelusta kontaminaation vuoksi. Rinnakkaisnäytteiden puuttumisen vuoksi tilastollista testausta ei siten voinut tehdä.



**Kuva 16.** DOP-pitoisuudet puhdistustyyppin mukaan kokeen aloitus- ja lopetushetkellä (perinteinen puhd. 0 ja 30 pv sekä kiekkosuodatin 0 pv,  $n=3$ ; kiekkosuodatin 30 pv,  $n=1$ ; hajontaviivat kuvaavat keskihajontaa).

## 4. Tulosten tarkastelu

### 4.1 Puhdistetun jäteveden DOC-kuorma Suomenlahteen

Seurantajakson aikana puhdistetusta jätevedestä mitatut DOC-pitoisuudet olivat samansuuruisia kuin vuonna 2013 Vantaanjoesta mitatut DOC-pitoisuudet (14,1 mg C/l; Autio 2014). Suomenlahden pintaveden DOC-pitoisuudet ovat jo huomattavasti tätä pienempiä vaihdellen välillä 3,5–5,8 mg C/l alueesta riippuen (Hoikkala ym. 2015). Puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuus on siten 2,5-4 kertaa suurempi kuin Suomenlahden pintaveden luontainen DOC-pitoisuus. Suomenlahteen laskevan Vantaanjoen veden virtaama ja DOC-pitoisuudet vaihtelevat kuukauden ja vuoden mukaan (5,8–18,5 mg/l) (Räike ym. 2012, Autio 2014). Tässä tutkimuksessa mitatuista DOC-pitoisuuksista havaittiin kuitenkin, ettei kuukaudella tai vuodenajalla ollut merkitystä puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuuksiin. Myöskään KHK/DOC-suhteen avulla arvioituna vuosien 2000–2013 keskiarvoista vuodenajalla ei ollut vaikutusta DOC-pitoisuuksiin.

Puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuuksia on arvioitu sekä KHK- että BHK-pitoisuuksista (Kuliński & Pempkowiak 2011, Berggren ym. 2012, Räike ym. 2012). Tässä tutkimuksessa havaittiin, että mitattujen DOC-pitoisuuksien ja puhdistetusta jätevedestä määritettyjen BHK-arvojen välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää korrelaatiota eli Viikinmäen puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuuksia ei voida arvioida BHK-arvojen perusteella. Heikkoa korrelaatiota voi osaltaan selittää jäteveden DOC:n huono biologinen hajoavuus inkubointikokeissa (LDOC 2kk = 6,4 %). Kuliński & Pempkowiak (2011) käyttivät tutkimuksessaan BHK-arvoja pistelähteiden hiilikuormien arvioimiseksi TOC/BHK-kertoimella 2,27. He saivat arvioksi, että noin 0,37 % eli 0,04 tonnia kaikesta vuosittaisesta hiilikuormasta Itämereen tulee pistemäisistä päästölähteistä. Arvion luotettavuuteen vaikuttavat kuitenkin samat epävarmuustekijät kuin tähänkin tutkimukseen. Tässä tutkimuksessa havaittiin kuitenkin, että KHK-arvoja voidaan käyttää DOC-pitoisuuksien arvioimiseen Viikinmäen jätevedenpuhdistamolla.

Lasketun suhdeluvun käyttämistä muihin pistekuormituslähteisiin kuin Viikinmäen jätevedenpuhdistamoon ei voida todentaa, minkä vuoksi KHK- ja DOC-pitoisuuksien välinen suhde ja korrelaatio on määritettävä erikseen muille pistekuormituslaitoksille. Suhdeluku (3,66) on kuitenkin lähellä Räike ym. (2012) artikkelissa ilmoitettua jakokerrointa (3), toisin sanoen lisätutkimusten avulla vastaaville suhdeluvuille on mahdollista saada varmennusta myös muille pistekuormituslähteille.

Tässä tutkimuksessa saadun KHK/DOC-suhdeluvun avulla voitiin laskea Viikinmäen jätevedenpuhdistamolta Suomenlahteen päätyneet DOC-kuormat vuodesta 2000 lähtien. Vuosien 1995–2013 Viikinmäen jätevedenpuhdistamon tarkkailuraporttien perusteella puhdistetun jäteveden virtaamanopeus on keskimäärin ollut 3,0 m<sup>3</sup>/s. (korkein virtaama 3,6 m<sup>3</sup>/s vuonna 2012). Virtaamatietojen perusteella Viikinmäen jätevedenpuhdistamolta on laskettu Suomenlahteen vuodesta 2000 lähtien yhteensä 17 000 tonnia DOC:a puhdistetun jäteveden mukana perustuen KHK-pitoisuuksiin (~1460 ± 110 t C/vuosi). Tätä voidaan verrata yhtä lailla Suomenlahteen laskevan Vantaanjoen KHK-pitoisuuksista arvioituun DOC-kuormaan, joka on ~6750 t C/vuosi (Räike ym. 2012). Viikinmäen jätevedenpuhdistamon vuosittainen DOC-kuorma on siten noin viidesosa Vantaanjoen DOC-kuormasta. Jos oletetaan, että pääosa Helsingin lähimerialueen DOC-kuormasta tulee Viikinmäen vedenpuhdistamolta ja Vantaanjoesta, niin Viikinmäen puhdistuslaitokselta tulevan puhdistetun jäteveden mukana tulee noin 18 % DOC-kuormituksesta. Pistemäisten päästölähteiden DOC-kuorman osuus Vantaanjokeen sen valuma-alueelta on yhteensä noin 7,7 % (Räike ym. 2012). Osuuteen lasketaan myös muita pistelähteitä kuin jätevedenpuhdistamoita. Niiden vaikutus Helsingin edustan merialueen DOC-kuormaan vaatii kuitenkin lisätutkimusta. Vuosittaisissa KHK-kuormissa tai niistä arvioituissa DOC-kuormissa ei ole kuitenkaan tapahtunut tilastollisesti merkitsevää laskua vuoteen 2013 mennessä. TOC-arvoja on myös tilastoitu Viikinmäen jätevedenpuhdistamolla vuodesta 2007 lähtien, mutta vuosien välillä ei näytä olevan minkäänlaista trendiä TOC-pitoisuuksissa (15,0 ± 1,1 mg/l). Millään edellä mainittujen seurantaparametrien pitoisuuksilla arvioituna

DOC-kuormissa ei ole siten tapahtunut merkitsevää laskua vuoteen 2013 mennessä.

Suoraan Suomenlahteen laskettava puhdistettu jätevesi lisää DOC-kuormaa vesistöissä ja nostaa DOC-pitoisuuksia paikallisesti. Puhdistetun jäteveden DOC-kuormalla voi olla merkitystä Helsingin edustan kuormituksessa sellaisena aikana, kun Vantaanjoesta mereen päätyvä DOC-kuorma on vähäistä esimerkiksi kesäisin. Vantaanjoen keskimääräinen virtaamanopeus on 16,2 m<sup>3</sup>/s (Räike ym. 2012). Vantaanjoesta mereen päätyvään DOC:n kuormaan vaikuttavat eniten hydrologiset olosuhteet kuten sateisuus (Jaffe ym. 2008) ja veden virtaama sekä vuodenaika (Sarkkola ym. 2009). On kuitenkin huomioitava, että Vantaanjoen DOC-kuorma on vain pieni osa Suomenlahdelle tulevasta kokonaiskuormituksesta (Räike ym. 2012). Suuret sulamis- ja sadevedet vaikuttavat Helsingin alueella jäteveden kokonaisvirtaamaan vain sekaviemäröidyissä verkostoissa (Lehtinen & Urho 2013), eikä niillä siksi ole juurikaan merkitystä jäteveden DOC-kuormaan. Tässä tutkimuksessa saaduista havainnoista jäteveden virtaamalla ja DOC-pitoisuuksilla ei ollut merkitsevää yhteyttä keskenään. DOC-pitoisuuksien seurannasta voisi olla joka tapauksessa hyötyä virtaaman ja DOC:n välisen luotettavan korrelaation saamiseksi.

#### **4.2. Puhdistetun jäteveden DOC:n ja DOP:n biologinen hajoavuus**

Puhdistetun jäteveden LDOC:n osuudeksi DOC-hävikistä laskettiin noin 6,4 %. Autio (2014) on aikaisemmin tutkinut yhdellä bakteerikasvatuskokeella Viikinmäen jätevedenpuhdistamon puhdistetun jäteveden LDOC:n määrää. Kyseisessä tutkimuksessa puhdistetun jäteveden LDOC:n osuus (12,2 %) oli suurempi kuin samassa tutkimuksessa mitattu Vantaanjoen jokiveden LDOC:n osuus (10,6 %). Viikinmäeltä poistuvan jäteveden DOC vaikuttaisi olevan lähes tai yhtä käyttökelpoinen ravinnon ja energian lähde Suomenlahden toisenvaraisille bakteereille kuin Vantaanjoen vesi. Meren toisenvaraisten bakteerien on huomattu kuluttavan jopa 40 % puhdistamattomasta jätevedestä viiden kuukauden aikana

(Borsch ym. 2004). LDOC:n pieni osuus Viikinmäen puhdistamon puhdistetussa jätevedessä viittaakin tehokkaaseen puhdistusprosessiin.

Suomenlahden merivedessä olevan LDOP:n osuus on noin puolet kaikesta DOP:sta (Nausch & Nausch 2007, 2011). Toisenvaraisten bakteerien on huomattu kuluttavan myös ison osan saatavilla olevasta jokien kuljettamasta DOP:sta Suomenlahdella (Stepanauskas ym. 2002). Tässä inkubointikokeessa bakteerit kuluttivat lähes kaiken käyttökelpoisen DOP:n (~20 %) jo ensimmäisen kuukauden aikana. Kaikesta käyttökelpoisesta fosforista LDOP:n osuus oli kuitenkin yli kolmasosa (37 %). Helpoimmin hajotettavat LDOP-yhdisteet kulutetaan merivedessä loppuun nopeasti (Nausch & Nausch 2011). Epäorgaanisen fosforin puute voi rajoittaa Suomenlahden toisenvaraisten bakteerien ja kasviplanktonin kasvua loppukesästä sinileväkukintojen alettua (Jacquet ym. 2002, Stepanauskas ym. 2002, Lignell ym. 2003, Hoikkala ym. 2012), jolloin puhdistetun jäteveden DOP-kuormalla voi silloin erityisesti olla vaikutusta Suomenlahden toisenvaraisten bakteerien ja kasviplanktonin DOP:n ravinteiden lähteenä.

Vähäsuolaisen veden kohdatessa Suomenlahden suolapitoisen meriveden, DOM flokkuloituu (Asmala ym. 2014), ja muodostuvat flokkulaatit voivat substraattivarantojensa vuoksi tarjota bakteereille paremman energian ja ravinteiden lähteen (del Giorgio ym. 1999, Jaffe ym. 2008) kuin pienikokoiset DOM-molekyylit (Tranvik & Sieburth 1989). Tässä tutkimuksessa ei kuitenkaan havaittu puhdistetun jäteveden DOM:n flokkuloitumista.

DOC-hävikistä ja BCD:stä laskettujen DOC-pitoisuuksien (6,4 % ja 15,6 % järjestyksessä) suurta eroa voi osittain selittää se, että bakteerien jo biomassaan sitoma DOC vapautui takaisin näyteveeseen joko bakteerien tuottamina eksopolymeereinä (Stoderegger & Herndl 1999) tai virusten hajottaessa bakteerisoluja (Tuomi & Kuuppo 1999). Toinen selitys tähän voi löytyä BCD-arvojen laskemiseen käytetystä bakteerien hiilidioksidin tuotannosta, joka edelleen laskettiin kokeen aikana kuluneen hapen perusteella käyttäen

muunnoskerrointa (RQ) 1,2. Kerroin perustuu luonnonvesissä tehtyihin tutkimuksiin (Berggren ym. 2012). Kertoimen arvoon vaikuttavat mm. hapetettavien aineiden kemiallinen koostumus, ja koska puhdistetun jäteveden orgaanisen hiilen koostumus poikkeaa luonnonvesistä (Katsoyiannis & Samara 2007) ei käytetty kerroin välttämättä ole validi jätevesien muunnoskertoimeksi. Koska BCD- ja LDOC-arvojen ero oli suuri, muunnoskerroin laskettiin jälkepäin uudelleen saaduista hapenkulutus- sekä DOC-hävikkiin perustuvista LDOC-arvoista. Hiilidioksidin tuotto arvioitiin vähentämällä DOC-hävikistä lasketut LDOC-pitoisuudet biomassan kasvun arvoista. Saatu respiraatio jaettiin sen jälkeen hapen kulutuksella. Puhdistetun jäteveden RQ-arvoksi saatiin tällä tavoin 0,35, mikä viittaisi siihen, että bakteerit kuluttivat kolme kertaa enemmän happea kuin tuottivat hiilidioksidia. Vastaavia RQ-arvoja on mitattu aikaisemmin luonnonjärivistä (Berggren ym. 2012). Puhdistetun jäteveden todellisen RQ-arvon varmentaminen vaatii kuitenkin lisätutkimuksia.

Inkubointikokeessa saaduista tuloksista puhdistetun jätevedessä kasvatettujen toisenvaraisten bakteerien BGE oli kahden viikon aikana 14 % ja vielä kahden kuukauden aikana 8 %. Applen ja del Giorgion (2007) mukaan DOM:n ravinnesisällöllä ei ole niinkään vaikutusta BGE:hen eutrofisissa vesistöissä toisin kuin DOC:n energiasisällöllä eli DOC:n laadulla. Puhdistetussa jätevedessä olevat DOC-yhdisteet koostuvatkin todennäköisesti suurimmaksi osaksi laadultaan vaikeasti hajotettavista komponenteista. Suomenlahteen laskevissa jokivesissä kasvatettujen Suomenlahden toisenvaraisten bakteerien BGE vaihteli toukokuussa 2013 tehtyjen mittausten mukaan 10–25 % välillä vielä kahden kuukauden inkuboinnin aikana (Autio 2014). Suomenlahden toisenvaraiset bakteerit kykenevät siten sitomaan suuremman osan DOC:a osaksi biomassansa Suomenlahteen pääkaupunkiseudun valuma-alueelta laskevista jokivesistä kuin Viikinmäen jätevedenpuhdistamon puhdistetusta jätevedestä kahden kuukauden aikana. Tämä tulos tukee sitä, että Suomenlahteen päätyvä terrestrinen DOC siirtyy paremmin ylempien trofiatasojen käyttöön kuin puhdistetun jäteveden DOC. Mikäli uusi RQ-arvo pitää paikkansa, myös BGE-arvot olisivat todellista suurempia. Tämä tarkoittaisi sitä, että laskettua suurempi osa puhdistetun

jäteveden DOC:sta menisi osaksi Suomenlahden toisenvaraisten bakteerien biomassaa. Sen todentaminen vaatisi kuitenkin lisätutkimusta.

BGE-arvoista sekä LDOC- ja KHK-pitoisuuksista arvioidun DOC-kokonaiskuorman avulla voitiin arvioida sitä osuutta DOC:sta, joka menee yhden päivän aikana osaksi Helsingin edustan meriveden bakteeribiomassaa, poistuu hiilidioksidina tai ei hajoa biologisesti kahteen kuukauteen kyseisten bakteerien toimesta. DOC:a päätyy Suomenlahteen keskimäärin 3,8 tonnia päivässä seurantajakson DOC-pitoisuuksien ja virtaaman arvoista laskettuna. Ensimmäisen kuukauden jälkeen 36 kg ja kahden kuukauden jälkeen yhteensä 53 kg siitä on jäänyt osaksi Suomenlahden toisenvaraisten bakteerien biomassaa. Bakterin hyödyntämästä DOC:sta 190 kg eli noin 5 % poistuu hengityksen myötä. Loput 3,6 tonnia DOC:a ei hajoa ensimmäisten kahden kuukauden kuluessa Suomenlahdella Helsingin edustalla. Bakteerien heikon kasvutehokkuuden vuoksi suurin osa puhdistetun jäteveden bakteerien käyttämästä DOC:sta menetetään respiraation kautta veteen hiilidioksidina (Joensuu 2010), mutta Viikinmäen jätevedenpuhdistamon DOC-kuormasta bakteerien kautta vapautuvan hiilidioksidin osuus Itämeren CO<sub>2</sub>-vuosta on marginaalinen eikä siksi heikennä Itämeren hiilensitomiskykyä (Rivkin & Legendre 2001, Kuliński & Pempkowiak 2011). Hengitykseen kuluva osuutta selittävät myös puhdistetun jäteveden DOC:n laatu sekä mahdollisesti lämpötila (Rivkin & Legendre 2001). On myös huomioitava, että tämän tutkimuksen mitattu DOC:n hajoaminen koskee vain kesälämpötiloja. Lämpötilan nousu mahdollisesti lisää bakteerien kasvunopeutta eli DOC:n kulutusta ja hiilidioksidin tuotantoa, mutta siitä ei ole saatu riittävästi tutkimustuloksia (Lønborg ym. 2011). Puhdistetulla jätevedellä voi olla jonkinasteista ja hyvin paikallista vaikutusta meriveden hapenkulutukseen Helsingin edustan merialueella.

Inkuboinnin aloitusajankohdalla oli myös vaikutusta sekä puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuuteen että bakteerien kykyyn hajottaa siinä ollutta DOC:a. 24. kesäkuuta aloitetussa inkubointikokeessa puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuus oli lähes 3 mg C/l pienempi kuin 16.4. aloitetun kokeen DOC-pitoisuus. Lisäksi BGE



oli pienintä ja vastaavasti hengitys oli suurinta 24. kesäkuuta aloitetussa kokeessa. Bakteerilukumäärä ei selitä näitä muutoksia, sillä bakteerilukumäärissä ei ollut merkitsevää eroa minkään kolmen inkubointikokeen välillä. Syynä 24. kesäkuuta aloitetun kokeen heikkoon BGE:hen ja suhteessa korkeaan respiraatioon kahteen muuhun inkubointikokeeseen (16.4. ja 5.6.) nähden voikin olla, että DOC-yhdisteet eivät olleet niin labiileja kyseisen kokeen puhdistetussa jätevedessä. Puhdistetun jäteveden DOC:n laatu voi siten vaihdella ajankohdittain.

### **4.3. Kiekkosuodattimen vaikutus DOC:n ja DOP:n määrään ja laatuun**

Kiekkosuodatin poisti DOC:sta 14 % enemmän verrattuna tavanomaisesti puhdistettuun jäteveteen. DOC mahdollisesti poistui adsorptioitumalla jätevedessä olleen kiintoaineen pinnalle (Borsch ym. 2004). LDOC:n osuus oli puhdistustavasta riippumatta ~10–11 % yhden kuukauden aikana. Kiekkosuodatin poistaa samalla myös biologisesti käyttökelpoista DOC:a puhdistetussa jätevedessä ja vähentää myös DOC-kuormaa Suomenlahdella. Puhdistustavalla ei ollut merkitystä bakteerien CO<sub>2</sub>-tuotantoon (vrt. hapenkulutus). Tehdyssä gradienttikokeessa bakteerit kuluttivat kuitenkin yli kaksi kertaa enemmän happea litrassa puhdistettua jätevettä kuin Suomenlahden merivedessä. Puhdistustavasta riippumatta puhdistettu jätevesi lisää hapenkulutusta paikallisesti Helsingin edustan merialueilla ja voi siten vaikuttaa pintaveden happitilanteeseen sellaisina ajankohtina, kun hapen kulutus on jo valmiiksi suurta esimerkiksi rehevöitymisprosessin aikana.

Kiekkosuodatin poisti DOP:a yli kolmasosan enemmän tavanomaiseen puhdistustapaan nähden. DOP:a todennäköisesti poistuu kiintoaineeseen sitoutuneena fosforina samalla tavoin kuin epäorgaanista fosforia (Rytkönen 2012). Lisäksi vaikuttaa siltä, että kiekkosuodatin poisti jätevedestä juuri bakteereille käyttökelpoisen DOP:n. Tavanomaisesti puhdistetussa jätevedessä LDOP:n osuus oli 22 % ja kiekkosuodatetussa jätevedessä LDOP:a ei tässä kokeessa havaittu olevan lainkaan. Kiekkosuodatinnäytteiden kokeen

alkutilanteen DOP-pitoisuuksissa oli kuitenkin suurta hajontaa, mikä voi johtua mm. kontaminaatiosta ja tämän vuoksi eroja DOP-pitoisuuksissa puhdistustapojen välillä ei voida varmentaa. Inkubointikokeissa havaittiin, että puhdistetun jäteveden DOP-varannot voivat mahdollisesti parantaa bakteerien ravinteiden saantia loppukesällä, epäorgaanisen fosforin rajoittaessa kasvua. Mikäli kiekkosuodattimen kyky poistaa käyttökelpoista DOP:a voidaan vahvistaa, kiekkosuodattimen läpi kulkenut jätevesi voisi loppukesäisin rajoittaa rehevöitymisprosessia Helsingin edustalla.

#### **4.4. Tutkimuksen virhelähteet ja luotettavuus**

Seurantajakson aikana mitatuista DOC-näytteistä yhteensä kahdeksan yksittäistä eri mittauspäivän rinnakkaisnäytettä (kolme rinnakkaisnäytettä jokaista näytteenottopäivää kohden) oli jätettävä pois tarkastelusta kontaminaation vuoksi. Näytteiden kontaminoitumista voi jatkossa estää puhtaammalla näytteiden esikäsittelyllä ja näytteenottovälineistön huolellisella pesemisellä (Yoro ym. 1999). Lisäksi analyysilaitteiden toiminnassa on voinut esiintyä ongelmia, mikä vaikuttaa lopullisiin tuloksiin. Inkubointikokeissa suolalisäys nosti DOC-pitoisuuksia keskimäärin 3,3 %, mutta tuloksissa oli suurta hajontaa ( $\pm 2,2$  %) ja arvot olivat lisäksi lähellä määrittystarkkuuden alarajaa (2,3 %; Lignell ym. 2008).

Huomioitavaa on se, ettei siimaeliöitä esiintynyt yhdessäkään bakteeribiomassaa mittaavassa kokeessa, vaan ainoastaan DOP:n biologista hajoavuutta mittaavissa kokeissa. Siimaeliöiden esiintyminen osassa rinnakkaisnäytteitä ei vaikuttanut niiden DOP-pitoisuuksiin. DON-pitoisuuksien suuren hajonnan vuoksi niitä ei kannattanut sisällyttää tulosten analysointiin. Korkeat mineraalityypipitoisuudet hankaloittivat TDN-näytteiden analysointia, minkä vuoksi myös TDN- ja mineraalityypipitoisuuksien erotuksista lasketut DON-arvot eivät olleet luotettavia. Siksi tässä työssä otettiin DOM:sta huomioon vain DOC ja DOP.

Tavanomaisesti puhdistetun jäteveden BGE oli huomattavan alhainen (3,23 %) verrattuna kiekkosuodatinveden BGE:hen (11,6 %). Tavanomaisesti puhdistetussa jätevedessä oli kuukauden jälkeen 43 % vähemmän bakteereja kuin kiekkosuodatinvedessä. Syy tavanomaisesti puhdistetun jäteveden matalaan bakteerilukumäärään ja sitä kautta alhaiseen BGE:hen voi olla virtaussytometrianalyysissä, missä bakteerien todellinen lukumäärä voi olla virheellisesti laskettu kuukauden näytteenottohetkellä. Analyysistä on saattanut jäädä erehdyksessä bakteereja sirontarajoittelun ulkopuolelle ”noisena”. Kolmeen näytteeseen laitettiin myös liian vähän CountBright™ -helmiä.

Bakteerien hiilentarpeesta lasketut DOC-pitoisuudet antoivat eri tuloksen kuin DOC-hävikistä lasketut pitoisuudet. Syy tähän voi olla luonnonvesiin tarkoitettussa hengityskertoimessa 1.2 (Berggren ym. 2012), joka ei välttämättä sovi puhdistetulle jätevedelle.

## 5. Yhteenveto

Viikinmäen jätevedenpuhdistamolta Helsingin lähimerialueelle puhdistetun jäteveden mukana tullut DOC-kuorma on vuosien 2000–2013 aikana ollut noin 1460 tonnia/vuosi, mikä on noin viidennes vuosittaisesta Vantaanjoen mukanaan tuomasta DOC-kuormasta. Puhdistamalla säännöllisesti mitatun kemiallisen hapenkulutuksen (KHK) ja DOC-pitoisuuden välillä on positiivinen korrelaatio ja KHK-pitoisuuksia hyödyntäen voidaan laskea DOC-kuormia ajallisesti taaksepäin käyttäen suhdelukua 3,66. Suomenlahteen laskettavan puhdistetun jäteveden DOC-pitoisuudet eivät juuri poikkea Vantaanjoen DOC-pitoisuuksista. Kuitenkin toisin kuin Vantaanjoen jokivedessä, DOC:n pitoisuudet ja laatu puhdistetussa jätevedessä ovat kuukaudesta toiseen tasaisempia. Jäteveden DOC-kuorma nostaa Suomenlahden DOC-pitoisuuksia paikallisesti, mutta laimentuessaan meriveteen purkuputken suulla sen vaikutukset jäävät hyvin paikalliseksi. Kun Vantaanjoen DOC-kuorma kesäisin ja talvisin on pientä, puhdistetun jäteveden osuus kokonaiskuormituksesta on suhteellisesti suurempi jokiveteen nähden. Tällöin puhdistetun jäteveden DOC-kuormalla voi olla paikallista merkitystä Helsingin edustan vedenlaadussa.

Suomenlahden pintavedessä elävät toisenvaraiset bakteerit käyttävät puhdistetun jäteveden DOC:a yhtä tehokkaasti kuin Vantaanjoen veden DOC:a. Kuitenkin puhdistetussa jätevedessä bakteerien kyky sitoa DOC:a osaksi biomassansa on heikko, jolloin suuri osa niiden ottamasta DOC:sta poistuu respiraation myötä hiilidioksidina. Vain alle 10 % biologisesti käyttökelpoisesta hiilestä päätyy osaksi bakteeribiomassaa ja sitä kautta lisää ylempien trofiatasojen ravinnon ja energian saantia. Puhdistetulla jätevedellä voikin olla paikallisesti merkitystä merivedessä tapahtuvaan hapenkulutukseen Helsingin edustalla. Puhdistetun jäteveden DOP:lla voi puolestaan olla merkitystä Suomenlahden toisenvaraisten bakteerien toimintaan erityisesti silloin, kun epäorgaanisten fosforiravinteiden puute loppukesästä sinileväkukintojen aikaan rajoittaa niiden kasvua. Jokien kuljettama ja autoktonisesti muodostuva DOP voivat kuitenkin olla Suomenlahden bakteereille käyttökelpoisempia. Kiekkosuodatin poistaa sekä

DOC:a että DOP:a, todennäköisesti kiintoaineen mukana vähentäen sekä hiilen että orgaanisen fosforin kuormaa Suomenlahdella.

Pistekuormituslähteiden DOC-kuorman määrittämisestä ja puhdistamisesta on hyötyä Itämeren hiilitaseen arvioimiseksi ja ylimääräisen DOC-kuorman vähentämiseksi. Tämän tutkimuksen perusteella Viikinmäen puhdistamon puhdistetun jäteveden DOC ei ole erityisen käyttökelpoista Suomenlahden toisenvaraisille bakteereille ja onkin käyttökelpoisuudeltaan rinnastettavissa Vantaanjoen suun DOC:iin.

## **6. Jatkotutkimukset**

Pistekuormituslähteiden DOM-kuormasta ei ole juurikaan aikaisempaa tutkimustietoa. Koska kemialliselle hapenkulutukselle ja DOC-pitoisuuksille saatiin laskettua hyvä suhdeluku, muidenkin pistekuormituslähteiden DOC-pitoisuuksien ajallinen arviointi on todennäköisesti hyvin mahdollista. DOC-kuorman ja kuukausittaisen vaihtelun välisten suhteiden tutkimisesta saataisiin tietoa niistä vuodenaajoista, joina DOC-kuormalla olisi eniten merkitystä Suomenlahdella. Myös biologisesti käyttökelpoisen typen (DON) määrittäminen puhdistetusta jätevedestä voisi kertoa paikallisesti vesistöön kohdistuvasta ravinnekuormasta ja vaikutuksesta rehevöitymiseen, joka on Itämerellä jo pitkään jatkunut ympäristöongelma. Lisäksi Itämeren alueella toisenvaraisilla bakteereilla on mahdollisesti keskenään erilainen kyky hyödyntää DOM:a, minkä vuoksi olisi erityistä syytä tutkia puhdistetun jäteveden DOM:n hajoavuutta Itämeren eri alueilta otetuilla pintaveden bakteerilisäyksillä. Puhdistetun jäteveden DOM:n käyttökelpoisuutta voisi tutkia myös kasviplanktonin osalta, jotta voitaisiin selvittää puhdistetun jäteveden liuenneiden orgaanisten ravinteiden vaikutusta rehevöitymiseen Itämeressä.

## **Kiitokset**

Ensimmäiseksi haluan erittäin suuresti kiittää ohjaajiani FT Laura Hoikkalaa ja MMT Helena Soinnea tutkielmani valmistumisesta. Olitte innostavia ja todella asiantuntevia, ja teidän ansiostanne olen saanut pro gradu -työni päätökseen kunniaakkaasti. Autoitte tekemään grafiitista timanttia!

Isot kiitokset Helsingin Energialle sekä Helsingin yliopiston ympäristötutkimuksen ja -opetuksen yksikölle HENVI:lle, joilta sain apurahan tämän tutkimuksen tekoon. Yhtä suuri kiitos Ympäristön ystävät –rahastolle, jonka myöntämän stipendin turvin pystyin työskentelemään koko kesän työni parissa.

Kiitos myös Aninka Urholle ja Kari Murtoselle Viikinmäen jätevedenpuhdistamolta toimittamistanne tiedoista, raporteista sekä avusta näytteenotossa. Kiitän myös Emil Vahteraa Helsingin kaupungin ympäristökeskukselta toimittamistasi merivesinäytteistä. Kiitos lisäksi graduryhmälleni vertaistuesta.

Haluan lopuksi kiittää Reettaa jatkuvasta ja tärkeästä tukemisesta koko graduprosessin ajan. Kiitos myös perheelleni ja ystävilleni lukuisista kahvihetkistä, joilla jaksoitte kuunnella avautumistani gradusta. Nyt on syytä juhlaan!

## Lähteet

- A 888/2006. Valtioneuvoston asetus yhdyskuntajätevesistä. Viitattu 10.1.2015.  
Valtion säädöstietopankki Finlex, WWW-linkki  
[<http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2006/20060888>]
- Aarnos H., Ylöstalo P. & Vähätalo A. 2012: Seasonal phototransformation of dissolved organic matter to ammonium, dissolved inorganic carbon, and labile substrates supporting bacterial biomass across the Baltic Sea — *Journal of Geophysical Research*, Vol. 117, p. 1-14
- Apple J. & del Giorgio P. 2007: Organic substrate quality as the link between bacterioplankton carbon demand and growth efficiency in a temperate salt-marsh estuary — *The ISME Journal*, Vol. 1, p. 729-742
- Asare E., Helin J., Hovi M., Safiqul Islam M. & Slinn L. 2014: Flushing Carbon to the Baltic Sea — *HENVI Interdisciplinary workshop on past and future challenges to the Baltic Sea*, May 2014.
- Asmala E., Autio R., Kaartokallio H., Pitkänen L., Stedmon C.A. & Thomas D. 2013: Bioavailability of riverine dissolved organic matter in three Baltic Sea estuaries and the effect of catchment land use — *Biogeosciences*, Vol. 10, p. 6969–6986
- Asmala E., Bowers D., Autio R., Kaartokallio H. & Thomas D. 2014: Qualitative changes of riverine dissolved organic matter at low salinities due to flocculation — *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, Vol. 119, p. 1919-1933
- Autio I. 2014: Vantaanjoen vesistöalueen liuennut orgaaninen aines – lähteet, määrä ja laatu sekä käyttökelpoisuus Itämeren bakteerien energianlähteenä — Helsingin yliopiston bio- ja ympäristötieteellinen tdk, ympäristöbiologia, pro gradu –tutkielma, lokakuu 2014, 64 p.
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J., Gray, J., Meyer-Reil, L. & Thingstad, F. 1983: The ecological role of water-column microbes in the sea — *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Vol. 10, p. 257-263
- BD Biosciences 2000: Introduction to Flow Cytometry: A learning guide — Manual Part Number: 11-11032-01
- Berg G., Glibert P., Jorgensen N., Balode M. & Purina I. 2001: Variability of inorganic and organic nitrogen uptake associated with riverine nutrient input in the Gulf of Riga, Baltic Sea — *Estuaries*, Vol. 24, p. 204-214

- Berggren M., Lapierre J.H. & del Giorgio P 2012: Magnitude and regulation of bacterioplankton respiratory quotient across freshwater environmental gradients — *The ISME Journal*, Vol. 6, p. 984–993
- Billen G., Servais P. & Becquevort S. 1990: Dynamics of bacterioplankton in oligotrophic and eutrophic aquatic environments: bottom-up or top-down control? — *Hydrobiologia*, Vol. 207, p. 37-42
- Borch N. H., Deliat G., Pujo-Pay M., & Stedmon C. 2004: Fate of DOM in estuaries — *Dissolved Organic Matter (DOM) in Aquatic Ecosystems: A Study of European Catchments and Coastal Waters*. pp. 37-42. Søndergaard M., Thomas D.N. (toim.)
- Børsheim K. & Bratbak G. 1987: Cell volume to cell carbon conversion factors for a bacteriovorous *Monas* sp. enriched from seawater — *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 36, p. 171-175
- Carlson C., Ducklow H. & Michaels A. 1994: Annual flux of dissolved organic carbon from the euphotic zone in the northwestern Sargasso Sea — *Letters to Nature*, Vol. 371, p. 405-408
- Carlson C. & Ducklow H. 1995: DOC in the upper ocean of the central equatorial Pacific Ocean, 1992: Daily and finescale vertical variations — *Deep-Sea Research II*, Vol 42., No. 2-3, p. 639-656
- Carlson C., Giovannoni S., Hansell D., Goldberg S., Parsons R., Otero M., Vergin K. & Wheeler B. 2002: Effect of nutrient amendments on bacterioplankton production, community structure, and DOC utilization in the northwestern Sargasso Sea — *Aquatic Microbial Ecology*, Vol. 30, p. 19-36
- Caron D. 1983: Technique for enumeration of heterotrophic and phototrophic nanoplankton, using epifluorescence microscopy, and comparison with other procedures — *Applied and Environmental Microbiology*, Aug. 1983, p. 491-498
- Coffin R. 1989: Bacterial uptake of dissolved free and combined amino acids in estuarine waters — *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 34(3), p. 531-542
- Cole J., McDowell W & Likens G. 1984: Sources and molecular weight of "dissolved" organic carbon in an oligotrophic lake — *Oikos* Vol. 42, p. 1-9
- del Giorgio P. & Cole J. 1998: Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems — *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, Vol. 29, p. 503–41
- del Giorgio P., Cole J., Caraco N. & Peters R. 1999: Linking planktonic biomass and metabolism to net gas fluxes in northern temperate lakes — *Ecology*, Vol. 80(4), p. 1422–1431



- Deutsch B., Alling V., Humborg C., Korth F. & Mörth C. 2012: Tracing inputs of terrestrial high molecular weight dissolved organic matter within the Baltic Sea ecosystem — *Biogeosciences*, 9, p. 4465–4475
- Ducklow H. 2000: Bacterial production and biomass in the oceans — *Microbial Ecology of the Oceans* (4), p. 85-120
- Dupont N. & Aksnes D.L. 2013: Centennial changes in water clarity of the Baltic Sea and the North Sea. Estuarine — *Coastal and Shelf Science*, Vol. 131, p. 282-289
- Eiler A., Langenheder S., Bertilsson S. & Tranvik L. 2003: Heterotrophic bacterial growth efficiency and community structure at different natural organic carbon concentrations — *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 69, No. 7, p. 3701-3709
- Fuhrman J. & Azam F. 1980: Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Antarctica, and California — *Applied and Environmental Microbiology* Vol. 39 No. 6, p. 1085-1095
- Grasshoff K., Erhardt M. & Kremling K. (toim.) 1983: Methods of seawater analysis — *Verlag GmbH*, 317 p.
- Hansell D., Carlson C., Repeta D. & Schlitzer R. 2009: Dissolved organic matter in the ocean - a controversy stimulates new insights — Vol. 22, No.4
- Hedges J. 1992: Global biogeochemical cycles: progress and problems — *Marine Chemistry*, Vol. 39, p. 67-93
- Hedges J., Keil R. & Benner R. 1997: What happens to terrestrial organic matter in the ocean? — *Org. Geochem.* Vol. 27, No. 5/6, p. 195-212
- HELCOM 2010: Eutrophication in the Baltic Sea, An integrated thematic assessment of the effects of nutrient enrichment in the Baltic Sea region — *Baltic Sea Environment Proceedings* No. 115A
- Hertkorn N., Benner R., Frommberger M., Schmitt-Kopplin P., Witt M., Kaiser K., Kettrup A. & Hedges J. 2006: Characterization of a major refractory component of marine dissolved organic matter — *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. 70, p. 2990–3010
- Hobbie J., Daley R. & Jasper S. 1977: Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy — *Applied and Environmental Microbiology*, May 1977, Vol. 33, No 5. p. 1225-1228

- Hoikkala L. 2012: Dynamics of dissolved organic matter and its bioavailability to heterotrophic bacteria in the Gulf of Finland, northern Baltic Sea. Helsingin yliopiston bio- ja ympäristötieteellinen tdk, akvaattiset tieteet, väitöskirja, 23.3.2012
- Hoikkala L., Lahtinen T., Perttilä M. & Lignell R. 2012: Seasonal dynamics of dissolved organic matter on a coastal salinity gradient in the northern Baltic Sea — *Continental Shelf Research*, Vol. 45, p. 1–14
- Hoikkala L., Kortelainen P., Soenne H. & Kuosa H. 2015: Dissolved organic matter in the Baltic Sea — *Journal of Marine Systems*, Vol. 142, p. 47–61
- IAP 2006: Determination of dissolved oxygen by winkler titration — *Environmental Chemistry of Boston Harbor*, 12.097, 10 p.
- Jacquet S., Havskum H., Thingstad T. & Vaulot D. 2002: Effects of inorganic and organic nutrient addition on a coastal microbial community (Isefjord, Denmark) — *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 228, p. 3-14
- Jaffe R., McKnight D., Maie N., Cory R., McDowell W.H. & Campbell J.L. 2008: Spatial and temporal variations in DOM composition in ecosystems: The importance of long-term monitoring of optical properties — *Journal of Geophysical Research*, Vol. 113, p. 1-15
- Joensuu L. 2010: Epäorgaaninen hiili Itämeressä – komponenttien jakautuminen ja niiden väliset vuorovaikutussuhteet — Helsingin yliopiston bio- ja ympäristötieteellinen tdk, ympäristöbiologia, pro gradu –tutkielma, maaliskuu 2010, 73 p.
- Johannes R.E. 2003: Uptake and release of dissolved organic phosphorus by representatives of a coastal marine ecosystem — *Limnology and Oceanography*, Vol. 9, p. 224-234
- Katsoyiannis A. & Samara C. 2007: The fate of dissolved organic carbon (DOC) in the wastewater treatment process and its importance in the removal of wastewater contaminants — *Env. Sci. Pollut. Res.* 14 (5), p. 284–292
- Kiiskinen S. 1999: Helsingin kaupungin jätevesien johtamisen ja käsittelyn velvoitetarkkailun tulokset vuodelta 1999 — *Helsingin Vesi – Viikinmäen jätevedenpuhdistamo*, Liite 2(3), 21.2.2000
- Kirchman D., Suzuki Y., Garside C. & Ducklow H. 1991: High turnover rates of dissolved organic carbon during a spring phytoplankton bloom — *Letters to Nature*, Vol. 352, p. 612-614
- Koroleff F. 1979: Determination of nutrients Verlag GmbH, p. 117-133, Grasshoff K., Erhardt M. & Kremling K. (toim.)

- Kragh T. & Søndergaard M. 2004: Production and bioavailability of autochthonous dissolved organic carbon – effects of mesozooplankton — *Aquatic Microbial Ecology*, Vol. 36, p. 61-72
- Kuliński K. & Pempkowiak J. 2011: The carbon budget in the Baltic Sea — *Biogeosciences*, Vol. 8, p. 3219-3230
- Lauer B., Reller L. & Mirrett S. 1981: Comparison of acridine orange and gram stains for detection of microorganisms in cerebrospinal fluid and other clinical specimens — *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 14, No. 2, p. 201-205
- Lehtinen E. & Urho A. 2013: Jätevedenpuhdistus pääkaupunkiseudulla 2013 - Viikinmäen ja Suomenojan puhdistamot — *HSY:n julkaisuja 4/2013*
- Lehtinen E. & Urho A. 2014: Jätevedenpuhdistus pääkaupunkiseudulla 2013 - Viikinmäen ja Suomenojan puhdistamot — *HSY:n julkaisuja 2/2014*
- Lignell R., Seppälä J., Kuuppo P., Tamminen T., Andersen T. & Gismervik I. 2003: Beyond bulk properties: Responses of coastal summer plankton communities to nutrient enrichment in the northern Baltic Sea — *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 48, p. 189-209
- Lignell, R., Hoikkala, L. & Lahtinen, T. 2008: Effects of inorganic nutrients, glucose and solar radiation on bacterial growth and exploitation of dissolved organic carbon and nitrogen in the northern Baltic Sea — *Aquatic Microbial Ecology*, Vol. 51, p. 209–221
- Lønborg C., Martínez-García S., Teira E. & Álvarez-Salgado X. 2011: Bacterial carbon demand and growth efficiency in a coastal upwelling system — *Aquatic Microbial Ecology*, Vol. 63, p. 183-191
- Marie D., Vaultot D. & Partensky F. 1996: Application of the novel nucleic acid dyes YOYO-1, YO-PRO-1 and PicoGreen for Flow Cytometric analysis of marine prokaryotes — *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 62, No. 5, p. 1649-1655
- Markager S., Stedmon C. & Conan P. 2011: Effects of DOM in marine ecosystems — *Dissolved Organic Matter (DOM) in Aquatic Ecosystems: A Study of European Catchments and Coastal Waters*. pp. 37-42. Søndergaard M., Thomas D.N. (toim.)
- Massana, R., Gasol, J., Bjørnsen, P., Blackburn, N., Hagström, Å., Hietanen S., Hygum B., Kuparinen J. & Pedrós-Alió C. 1997: Measurement of bacterial size via image analysis of epifluorescence preparations: description of an inexpensive system and solutions to some of the most common problems — *Scientia Marina*, Vol. 61, p. 397-407

- Matsson T., Kortelainen P. & Rääke A. 2005: Export of DOM from boreal catchments: impacts of land use cover and climate — *Biogeochemistry*, Vol. 76, p. 373-394
- Minor E., Swenson M., Mattson B. & Oyler A. 2014: Structural characterization of dissolved organic matter: a review of current techniques for isolation and analysis — *Environ. Sci.: Processes Impacts*, Vol. 16, p. 2064–2079
- Muurinen J., Pääkkönen J-P., Räsänen M., Vahtera E., Turja R. & Lehtonen K. 2012: Helsingin ja Espoon merialueen tila vuosina 2007–2011 - Jätevesien vaikutusten velvoitetarkkailu — *Helsingin kaupungin ympäristökeskuksen julkaisuja* 4/2012
- Møller E. 2005: Sloppy feeding in marine copepods: prey-size-dependent production of dissolved organic carbon — *Journal of Plankton Research*, Vol. 27, p. 27-35
- Nausch M. & Nausch G. 2007: Bioavailable dissolved organic phosphorus and phosphorus use by heterotrophic bacteria — *Aquatic Biology*, Vol 1., p. 151-160
- Nausch M. & Nausch G. 2011: Dissolved organic phosphorus in the Baltic Sea – Occurrence and relevance — *Journal of Marine Systems*, Vol 87., p. 37-46
- Nayar S. & Chou L.M. 2003: Relative efficiencies of different filters in retaining phytoplankton for pigment and productivity studies — *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, Vol. 58, p. 241–248
- Oravainen R. 1999: Opasvihkonen vesistötulosten tulkitsemiseksi havaintoesimerkein varustettuna — Kokemäen vesistön vesiensuojeluyhdistys ry, 25 p., julkaistu 11.11.1999
- Park J.H., Lee J.H., Kang S.Y. & Kim S.Y. 2007: Hydroclimatic controls on dissolved organic matter (DOM) characteristics and implications for trace metal transport in Hwangryong River Watershed, Korea, during a summer monsoon period — *Hydrol. Process.* 21, p. 3025–3034
- Piekkari J., Fred T., Melakari A., Uuksulainen J., Andersson R., Koskentalo T. & Kankaanpää S. 2012: Itämerihaaste. HSY:n toimenpideohjelma 2012-2014 — Helsingin seudun ympäristöpalvelut –kuntayhtymä, 20.3.2012, p. 9
- Riemann L. & Azam F. 2002: Widespread N-Acetyl-D-Glucosamine Uptake among Pelagic Marine Bacteria and Its Ecological Implications — *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 68, No. 11, p. 5554–5562
- Rivkin R. & Legendre L. 2001: Biogenic carbon cycling in the upper ocean - effects of microbial respiration — *Science* 291, p. 2398-2400

- Rytkönen M. 2012: Kiintoaineen poiston tehostaminen kiekkosuodatuksella Iisalmen jätevedenpuhdistamolla. Opinnäytetyö. Savonia-ammattikorkeakoulun tekniikan ja liikenteen ala, 70 p.
- Räike A., Kortelainen P., Matsson T. & Thomas D. 2012: 36 year trends in dissolved organic carbon export from Finnish rivers to the Baltic Sea — *Science of the Total Environment* 435–436, p. 188–201
- Sandberg J. 2007: Cross-ecosystem analyses of pelagic food web structure and processes in the Baltic Sea — *Ecological Modelling*, Vol. 201, p. 243–261
- Sarkkola S., Koivusalo H., Laurén A., Kortelainen P., Mattsson T., Palviainen M., Piirainen S., Starr M. & Finér L. 2009: Trends in hydrometeorological conditions and stream water organic carbon in boreal forested catchments — *Science of the Total Environment*, Vol. 408, p. 92–101
- Sheldon R., Prakash A. & Sutcliffe Jr. W. 1972: The size distribution of particles in the ocean — *Limnology and oceanography*, Vol. 17, No. 3
- Spyres G., Nimmo M., Worsfold P., Achterberg E. & Miller A. 2000: Determination of dissolved organic carbon in seawater using high temperature catalytic oxidation techniques — *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 19, p. 498–506
- Stedmon C., Markager S., Tranvik L., Kronberg L., Slätis T. & Martinsen W. 2007: Photochemical production of ammonium and transformation of dissolved organic matter in the Baltic Sea — *Marine Chemistry*, Vol. 104, p. 227–240
- Stepanauskas R., Leonardson L. & Tranvik L. 1999: Bioavailability of wetland-derived DON to freshwater and marine bacterioplankton — *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 44, p. 1477–1485
- Stepanauskas, R., Jorgensen N., Eigaard O., Zvikas A., Tranvik L. & Leonardson L. 2002: Summer inputs of riverine nutrients to the Baltic Sea: Bioavailability and eutrophication relevance — *Ecol. Monogr.*, Vol. 72, p. 579–597
- Stoderegger K. & Herndl G. 1999: Production of exopolymer particles by marine bacterioplankton under contrasting turbulence conditions — *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 189, p. 9–16
- Søndergaard M. & Middleboe M. 1995: A cross-system analysis of labile dissolved organic carbon — *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 118, p. 283–294

- Søndergaard M., Thingstad F., Stedmon C., Kragh T. & Cauwet G. 2011: DOM sources and microbes in lakes and coastal waters — *Dissolved Organic Matter (DOM) in Aquatic Ecosystems: A Study of European Catchments and Coastal Waters*. p. 23-36, Søndergaard M., Thomas D.N. (toim.)
- Thingstad T., Hagström Å. & Rassoulzadegan F. 1997: Accumulation of degradable DOC in surface waters: Is it caused by a malfunctioning microbial loop? — *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 42, p. 398-404
- Tranvik L. & Sieburth J. 1989: Effects of flocculated humic matter on free and attached pelagic microorganisms — *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 34(4), p. 688-699
- Tulonen T. 2004: Role of allochthonous and autochthonous dissolved organic matter (DOM) as a carbon source for bacterioplankton in boreal humic lakes — Helsingin yliopiston bio- ja ympäristötieteellinen tdk, hydrobiologia, väitöskirja, 16.4.2004
- Tuomi P. & Kuuppo P. 1999: Viral lysis and grazing loss of bacteria in nutrient- and carbon-manipulated brackish water enclosures — *Journal of Plankton Research*, Vol. 21, p. 923-937
- Verdugo P., Alldredge A., Farooq A., Kirchman D., Passow U. & Santschi P. 2004: The oceanic gel phase: a bridge in the DOM-POM continuum — *Marine Chemistry*, Vol. 92, p. 67– 85
- Verdugo P. & Santschi P. 2010: Polymer dynamics of DOC networks and gel formation in seawater — *Deep-Sea Research*, Vol. 57, p. 1486–1493
- Vähätalo A., Aarnos H., Hoikkala L. & Lignell R. 2011: Photochemical transformation of terrestrial dissolved organic matter supports hetero- and autotrophic production in coastal waters — *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 423, p. 1–14
- Wiegner T. & Seitzinger S. 2004: Seasonal bioavailability of dissolved organic carbon and nitrogen from pristine and polluted freshwater wetlands — *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 49, p. 1703–1712
- Williams P. 1992: Measurement of dissolved organic carbon and nitrogen in natural waters — *Oceanography*, Vol. 5, No. 2, p. 107-116
- Winkler, L.W. (1888): Die Bestimmung des in Wasser gelösten Sauerstoffes. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Vol. 21, p. 2843–2855
- Yoro S., Panagiotopoulos C. & Sempéré R. 1999: Dissolved organic carbon contamination by filters and storage bottles — *Water Research*, Vol. 33, p. 1956-1959

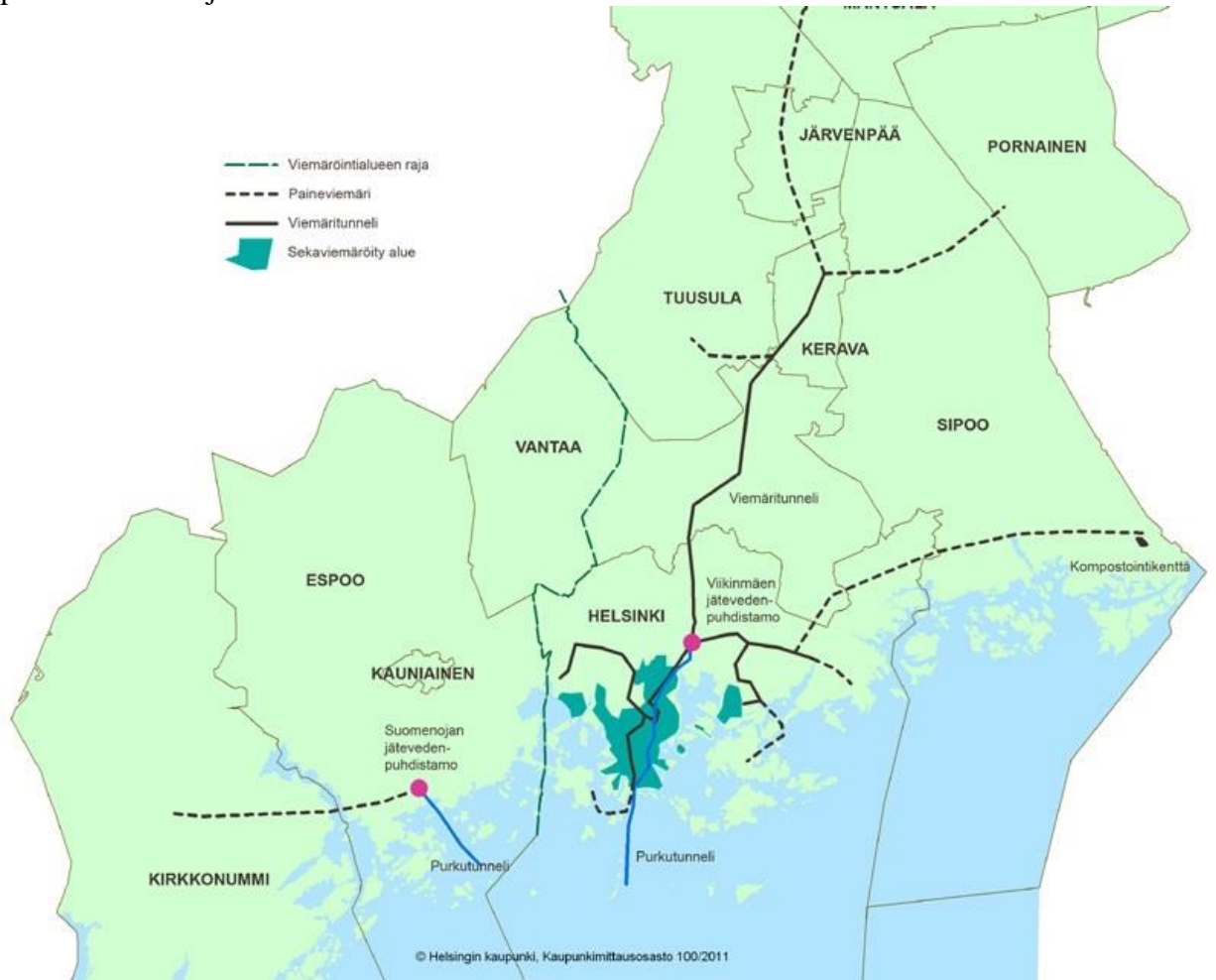
Zweifel U., Norrman B. & Hagström Å. 1993: Consumption of dissolved organic carbon by marine bacteria and demand for inorganic nutrient — *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 101, p. 23-32

Ågren A., Berggren M., Laudon H. & Jansson M. 2008: Terrestrial export of highly bioavailable carbon from small boreal catchments in spring floods — *Freshwater Biology* 53, p. 964–972

## Liitteet

### Liite 1

Viikinmäen jätevedenpuhdistamon viemäröintialue ja puhdistetun jäteveden purkutunnelin sijainti.





Liite 2

Mitattujen parametrin määrittäminen menetelmät ja -laitteet.

Määrittäminen	Menetelmä	Laitteet	
DOC	HTCO	Shimadzu TOC-V CPH	Williams (1992)
Bakteeritiheys	Virtaussytometria	CyFlow® Partec Cube	Gasol & del Giorgio 2000
Bakteeritilavuus	Image Analysis	LabMicrobe & PMIS Image Processing Software	Massana ym. (1997)
PO <sub>4</sub> -P	Kolorimetrinen menetelmä		Grasshoff ym. (1983)
TDP	Peroksisulfaattioksidointi ja kolorimetrinen menetelmä		
NH <sub>4</sub> -N	SFS 3032		Koroleff (1979)
NO <sub>3</sub> +NO <sub>2</sub> -N	SFS 3030	FIA-analysaattori	Grasshoff ym. (1983)
O <sub>2</sub>	Winkler	848 Titrimo Plus	Winkler (1888) cit. IAP (2006)

Liite 3

Regressioanalyysin tulokset seurantajakson parametreista.

Tutkittu muuttuja	Selittävä muuttuja	df	F	p-arvo	r <sup>2</sup>
TOC-pitoisuus	DOC-pitoisuus	17	26,546	≤0,001	0,624
BHK-pitoisuus	DOC-pitoisuus	18	1,223	0,284	0,067
KHK-pitoisuus	DOC-pitoisuus	18	19,639	≤0,001	0,536
TOC-pitoisuus	KHK-pitoisuus	18	21,421	≤0,001	0,558

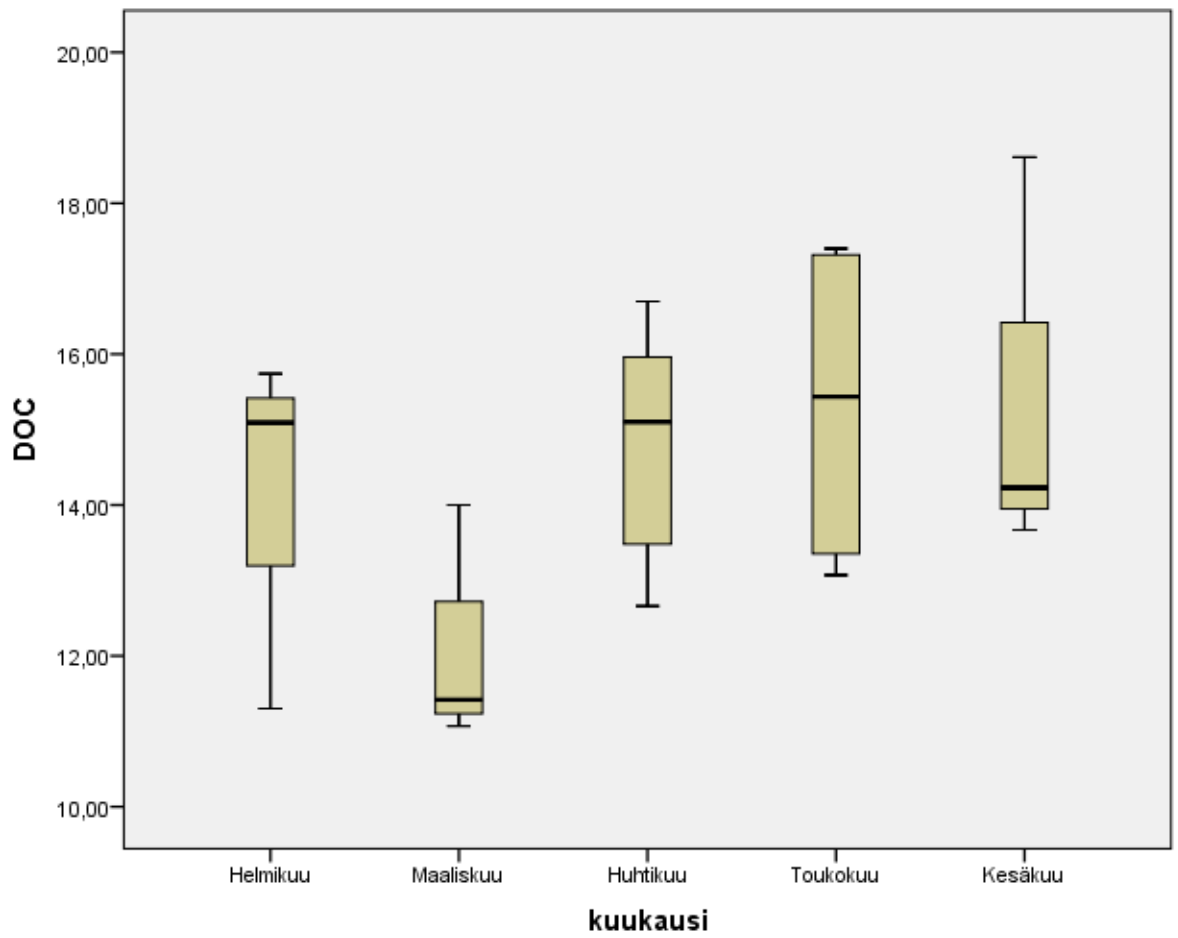
Liite 4

Kahden otoksen yksisuuntainen t-testi bakteerien biomassalle, hengitykselle ja kasvutehokkuudelle 1 ja 2 kk:n inkuboinnin aikana olettaen varianssit yhtäsuuriksi.

	<i>Kokeen aloituspäivät</i>	<i>Keskiarvojen erotus</i>	<i>t-jakauman kriittinen arvo</i>	<i>p-arvo</i>
<b>Biomassa 1kk</b>				
	16.4. vs 5.6.	1,630	2,353	0,136
	16.4. vs 24.6.	7,815	0,136	≤0,01
	5.6. vs 24.6.	6,185	2,353	≤0,05
<b>Hengitys 1kk</b>				
	16.4. vs 5.6.	0,179	2,132	0,110
	16.4. vs 24.6.	0,447	2,132	≤0,001
	5.6. vs 24.6.	0,268	2,132	≤0,05
<b>Kasvutehokkuus 1kk</b>				
	16.4. vs 5.6.	0,010	2,132	0,301
	16.4. vs 24.6.	0,076	2,353	≤0,05
	5.6. vs 24.6.	0,065	2,353	≤0,01
	<i>Kokeen aloituspäivä</i>	<i>Keskiarvojen erotus</i>	<i>t-jakauman kriittinen arvo</i>	<i>p-arvo</i>
<b>Biomassa 2kk</b>				
	16.4. vs 5.6.	2,776	2,353	0,261
	16.4. vs 24.6.	8,964	2,353	≤0,05
	5.6. vs 24.6.	11,740	2,132	≤0,01
<b>Hengitys 2kk</b>				
	16.4. vs 5.6.	0,039	2,132	0,384
	16.4. vs 24.6.	0,164	2,132	0,122
	5.6. vs 24.6.	0,203	2,132	≤0,01
<b>Kasvutehokkuus 2kk</b>				
	16.4. vs 5.6.	0,009	2,353	0,362
	16.4. vs 24.6.	0,064	2,353	≤0,05
	5.6. vs 24.6.	0,073	2,132	≤0,01

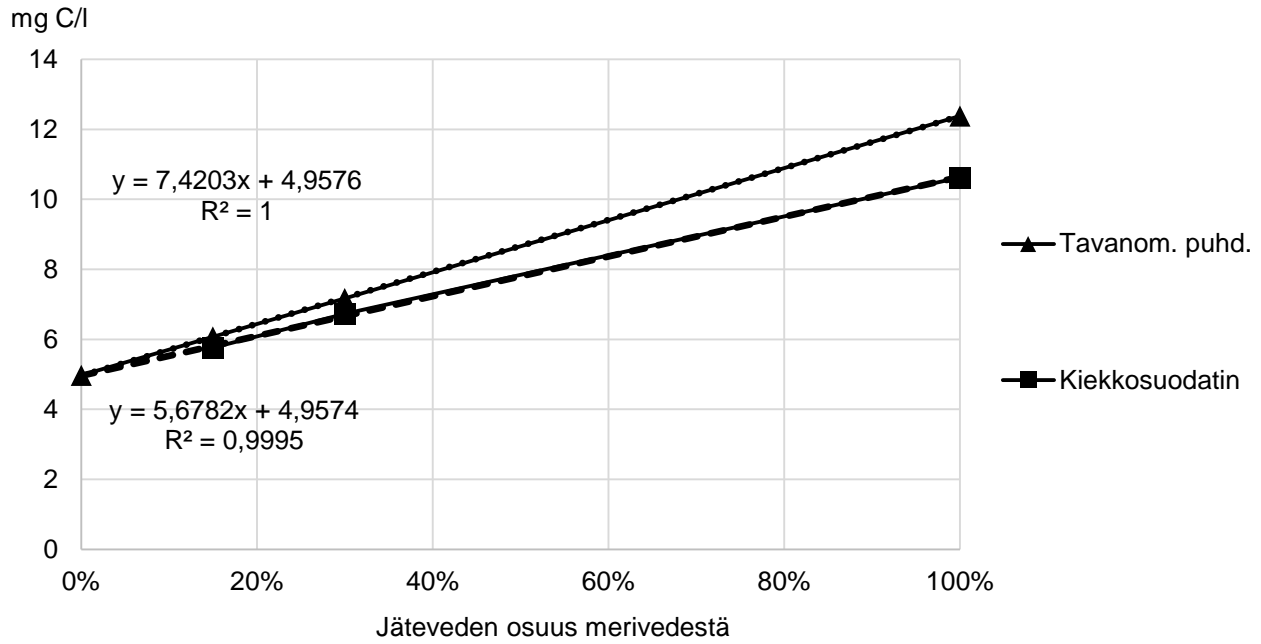
## Liite 5

Kuukauden aikaiset DOC-pitoisuuksien vaihtelut seurantajakson aikana. Hajonta kuvaa suurinta ja pienintä arvoa, keskiviiva kuvaa mediaania.



Liite 6

Tavanomaisesti puhdistetun jäteveden ja kiekkosuodatetun jäteveden DOC-pitoisuuksien ja jätevesigradientin väliset korrelaatiot



Liite 7

DOC-mittausten näytteenottopäivät

helmikuu	maaliskuu	huhtikuu	toukokuu	kesäkuu
13.2.	4.3.	2.4.	9.5.	3.6.
19.2.	10.3.	10.4.	15.5.	11.6.
24.2.	18.3.	17.4.	23.5.	19.6.
	26.3.	25.4.	28.5.	27.6.
		30.4.		