

O-94033

# Bakteriell produksjon av sulfid for felling av metaller i avløpsvann fra gruver



# NIVA - RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Prosjektnr.:	Undernr.:
O-94033	
Løpenr.:	Begr. distrib.:
3206	

<b>Hovedkontor</b>	<b>Sørlandsavdelingen</b>	<b>Østlandsavdelingen</b>	<b>Vestlandsavdelingen</b>	<b>Akvaplan-NIVA A/S</b>
Postboks 173, Kjelsås	Televeien 1	Rute 866	Thormøhlensgt 55	Søndre Tollbugate 3
0411 Oslo	4890 Grimstad	2312 Ottestad	5008 Bergen	9000 Tromsø
Telefon (47) 22 18 51 00	Telefon (47) 37 04 30 33	Telefon (47) 62 57 64 00	Telefon (47) 55 32 56 40	Telefon (47) 77 68 52 80
Telefax (47) 22 18 52 00	Telefax (47) 37 04 45 13	Telefax (47) 62 57 66 53	Telefax (47) 55 32 88 33	Telefax (47) 77 68 05 09

Rapportens tittel:	Dato:	Trykket:
Bakteriell produksjon av sulfid for felling av metaller i avløpsvann fra gruver; optimalisering og oppskalering av prosessen	10.02.95	NIVA 1995
	Faggruppe:	
	Mikrobiologi	
Forfatter(e):	Geografisk område:	
Bjørn Christensen Kari Nygaard	Norge	
	Antall sider:	Opplag:
	52	40

Oppdragsgiver:	Oppdragsg. ref.:
Statens Forurensningstilsyn	

<b>Ekstrakt:</b> Det er gjennomført forsøk i laboratorieskala og i liten pilotskala for å vurdere om bakteriell sulfat-reduksjon kan utnyttes til å produsere hydrogensulfid for felling av tungmetaller i sur avrenning fra nedlagte kisgruver. Det ble tilført etanol som vekstsubstrat for bakteriene. I laboratorieforsøkene ble det påvist sulfat-reduksjonsaktivitet allerede etter få dager, mens det i pilotforsøkene tok ca 7 uker å få i gang prosessen. Metaller ble fjernet fra vannfasen som metallsulfider. Effektiviteten avhenger av oppholdstid, tilgang på vekstsubstrat og temperatur. Det er uklart i hvilken grad systemet kan adapteres til lave temperaturer, selv om resultatene tyder på at en viss tilpasning kan finne sted når temperaturforandringene skjer gradvis over tid. Sulfatreduksjonsprosessen vil trolig være best egnet for å ta hånd om mindre sig av forurenset gruvevann.
---

4 emneord, norske

1. Gruveforurensning
2. Sulfatreduserende bakterier
3. Tungmetaller
4. Biologisk vannrensning

4 emneord, engelske

1. Acid mine drainage
2. Sulfate-reducing bacteria
3. Heavy metals
4. Biological water treatment

Prosjektleder  
  
Kari Nygaard

For administrasjonen  
  
Rainer Lichtenthaler

ISBN 82-577-2689 3

**Norsk institutt for vannforskning**

**O-94033**

**Bakteriell produksjon av sulfid for felling av metaller  
i avløpsvann fra gruver**

Kjelsås, februar 1995

Bjørn Christensen,  
Kari Nygaard

## Forord

Denne rapporten sammenfatter resultatene fra NIVA-prosjekt O-94033, *Bakteriell produksjon av sulfid for felling av metaller i avløpsvann fra gruver; optimalisering og oppskalering av prosessen*. Prosjektet bygger på resultater fra tidligere bakteriologiske undersøkelser (NIVA-prosjekt O-92174) presentert i rapporten: *Vannfylling av Wallenberg gruve, Løkken* (Arnesen m.fl. 1994).

De praktiske forsøkene har blitt utført på NIVA i Oslo og på Løkken i tidsrommet fra januar 1994 til september 1994. Forskningsassistent Liv Bente Sckanke har stått for den daglige driften av laboratorieforsøkene på NIVA. Direktør Arve Slørdahl i Orkla Industrier A/S har vært kontaktperson på Løkken og bidratt til å legge forholdene til rette for feltforsøkene på en utmerket måte. Firmaet RuproPlast A/S laget glassfibertankene som ble brukt, og bidro ellers med verdifull hjelp i oppstartingsfasen. John Furuhaug tok vannprøver og hadde det regelmessige tilsynet med forsøket. Alle takkes for godt samarbeide. Vi takker også Rolf T. Arnesen for verdifulle diskusjoner og kritisk gjennomlesning av rapportutkastet.

Kjelsås, februar 1995,

Bjørn Christensen og Kari Nygaard

# Innholdsfortegnelse

1. Sammendrag.....	4
2. Innledning .....	6
3. Laboratorieforsøk.....	8
3.1. Materialer og metoder .....	8
3.1.1. Eksperimentelt oppsett .....	8
3.1.2. Oppstarting og kontinuerlig drift .....	9
3.1.3. Prøvetaking og kjemiske analyser .....	10
3.2. Resultater og diskusjon .....	11
3.2.1. Oversikt over forsøkene .....	11
3.2.2. Omsetning av etanol og næringssalter .....	11
3.2.3. pH .....	14
3.2.4. Redokspotensiale.....	16
3.2.5. Sulfat .....	17
3.2.6. Sulfid .....	18
3.2.7. Metaller .....	19
3.2.8. Bakterier .....	21
3.2.9. Effekt av å tilsette etanol ved pulsing. ....	21
4. Felteksperimenter.....	22
4.1. Materialer og metoder .....	22
4.1.1. Eksperimentelt oppsett .....	22
4.1.2. Oppstarting og kontinuerlig drift .....	23
4.1.3. Måleprogram og analyser.....	23
4.2. Resultater og diskusjon .....	24
4.2.1. Oversikt over forsøksperioden .....	24
4.2.2. Omsetning av etanol og næringssalter .....	26
4.2.3. Temperatur .....	26
4.2.4. pH.....	27
4.2.5. Redokspotensiale.....	28
4.2.6. Sulfat og metaller .....	29
5. Sammenfattende diskusjon .....	32
5.1. Oppsummering av resultatene.....	32
5.2. Status for bruk av sulfat-reduksjonsprosessen til rensing av gruvevann .....	32
5.2.1. In situ-konseptet .....	34
5.2.2. Sulfatreduksjon i resipienten.....	34
5.2.3. Reaktorer og biofiltersystemer .....	35
5.2.4. Sulfatreduksjon kombinert med andre prosesser .....	35
5.3. Prosessens begrensende faktorer.....	36
5.4. Miljøforholdenes innvirkning på prosessen.....	38
5.5. Muligheter for å øke prosessens effektivitet.....	39
5.6. Forsøkene overføringsverdi.....	40
5.7. Konklusjoner .....	41
6. Referanser .....	43
7. Appendix .....	46

# 1. Sammendrag

Avrenning fra nedlagte kisgruver fører til uønsket spredning av tungmetaller som kopper og sink i en rekke norske vassdrag. De fleste tungmetaller danner tungt løselige metallsulfider og kan derfor fjernes effektivt fra vannfasen dersom det tilføres sulfid. Målsetningen med dette prosjektet har vært å vurdere i hvilken grad bakteriell sulfidproduksjon kan bidra til å bedre vannkvaliteten i gruveavrenning dersom aktiviteten til de sulfat-reducerende bakteriene stimuleres ved tilsetning av næringsstoffer. Det ble lagt vekt på å studere prosessen i enkle modellsystemer med relevans for naturlige resipienter. Prosjektet bestod av 2 deler; laboratorie-eksperimenter på NIVA og pilot-studier på Løkken.

I laboratorie-eksperimentene ble et kunstig gruvevann med jern, kopper, sink og sulfat (pH 2,7) pumpet oppstrøms gjennom plexiplast-sylindre tilsatt et lag med sand og et lag med singel i bunnen. To og to sylindre med et væskevolum på 18 liter ble seriekoblet og det ble dosert inn etanol, ammonium og fosfat for å stimulere sulfat-reduksjonen. Systemene ble kjørt ved 22, 15 og 10°C over perioder på ca. 3 uker. Effekter på vannkjemien ble dokumentert ved pH og redoks-målinger, samt analyser av etanol, acetat, fritt sulfid, totalt svovel, ammonium, fosfat og metaller.

Sulfat-reduksjonsprosessen fungerte best ved 22°C. Etanolen ble fullstendig omsatt av bakteriene, og det ble dannet svarte utfellinger i sand- og singellaget såvel som på innsiden av plexiplasten. Kopper, sink og jern ble effektivt fjernet fra vannfasen. Etterhvert som temperaturen ble senket via 15°C til 10°C, ble det påvist en økning i konsentrasjonen av etanol, jern og sink i avløpet. Dette tyder på at temperaturen var den begrensende faktoren for prosessen.

Pilot-studiene på Løkken ble gjennomført for å få erfaringer med oppskalering av prosessen. Det ble laget 2 tanker med volum på ca. 1,4 m<sup>3</sup>. I begge ble det plassert et lag med sand og et lag med pukkstein i bunnen. Det ble brukt naturlig gruvevann fra Wallenberg sjakt som forsøksvann. Dette hadde en pH på 5,7-6,0 og inneholdt jern, sink og sulfat i moderate mengder. Gruvevannet ble presset oppstrøms gjennom tankene. I tank **A** ble vannstrømmen tilsatt etanol, ammonium og fosfat for å stimulere sulfat-reduksjonen, mens tank **B** fungerte som kontroll uten næringsstoffer. Forsøkene med kontinuerlig gjennomstrømning ble gjennomført i tidsrommet fra slutten av juni til slutten av september, totalt 13 uker.

I løpet av forsøksperioden ble det dannet svarte metallsulfid-utfellinger i tank **A**, og det ble periodevis kjent lukt av H<sub>2</sub>S. I tank **B** ble det aldri observert svarte utfellinger. Vannets gjennomsnittlige oppholdstid i tankene var ca. 10 dager. Temperaturen varierte mellom 10 og 20°C under størstedelen av forsøksperioden, men var trolig lavere i de to siste ukene før

forsøket ble avsluttet. P.g.a. et strømbrydd ble det imidlertid ikke logget data fra denne perioden. Kjemiske analyser viste at kopper og sink ble fjernet effektivt fra vannfasen i tank **A** i perioder med god sulfat-reduksjonsaktivitet. Når det gjelder jern var det imidlertid bare mindre konsentrasjonsforskjeller mellom tank **A** og tank **B** under det meste av forsøket.

Resultatene fra både laboratorie-forsøk og pilot-studier viser at det i sommerhalvåret er mulig å utnytte sulfat-reduksjonsprosessen til å fjerne tungmetaller fra vann som lekker ut fra nedlagte kisgruver. Det gjenstår likevel å se om prosessen også kan fungere tilfredsstillende om vinteren når bakterieaktiviteten er liten p.g.a. lav temperatur. Feltforsøkene tyder på at det tar relativt lang tid å etablere et system med god og stabil bakterieaktivitet.

Prosessen vil trolig være best egnet i systemer med relativt liten gjennomstrømning, siden bakteriene kan bli inaktivert og vasket ut av systemet dersom tilførselen av gruvevann med lav pH, høyt redokspotensiale og et betydelig innhold av toksiske metaller blir for stor.

## 2. Innledning

Sulfid danner tungt løselige metallsulfider med en rekke tungmetaller og kan derfor brukes som fellingsreagens i avrenningsvann fra gruver. Sulfid kan produseres biologisk av sulfat-reducerende bakterier (SRB). Vi har tidligere vist i laboratorie og benkeskala-forsøk at den biologiske sulfidproduksjonen i gruvevannssystemer kan stimuleres ved å tilsette lett nedbrytbare organiske forbindelser som laktat og etanol eller avfallsstoffer som myse og berme (avfall fra bryggerier). Resultatene fra disse forsøkene er presentert i rapportene *Vannfylling av Wallenberg gruve, Løkken* (Arnesen, m.fl., 1994), og *Biological fixation of metals in mine drainage and ore wastes* (Johannessen m.fl., 1994).

Internasjonalt har det i løpet av de siste årene vært en betydelig interesse for å utvikle sulfat-reduksjonsprosessen fra laboratorie- og pilot-stadiet til full skala. For å sette våre forsøk inn i en større sammenheng, vil vi i den sammenfattende diskusjonen kort angi status for noen av de forskningsprosjektene som foregår på feltet.

Den generelle målsetningen med dette prosjektet har vært å øke kunnskapen om sulfat-reduksjonsprosessen for å kunne vurdere om den kan være et realistisk alternativ til andre renseprosesser for avrenningsvann fra gruver. Det ble lagt vekt på at det skulle brukes enkle modellsystemer som til en viss grad skulle være relevante for naturlige resipienter. Utfra de generelle målsetningene ble det utarbeidet et prosjektforslag som omfattet følgende to deler:

**Delprosjekt 1** hadde som målsetning å optimalisere substratutnyttelse og sulfidproduksjon gjennom laboratorie-forsøk. Følgende arbeidsplan ble skissert:

1. Dokumentere prosessens massebalanse med hensyn på organiske komponenter, nitrogen, fosfor, svovel og metaller.
2. Sammenligne maksimal teoretisk sulfidproduksjonen med empiriske data, og påvise prosessens begrensende faktorer.
3. Om mulig justere betingelsene underveis med tanke på optimalisering av prosessen.
4. Presse systemene med hensyn på oppholdstid ved å øke gjennomstrømnings-hastigheten gradvis til man eventuelt får sammenbrudd i sulfidproduksjonen.

Målsetningen med **Del-prosjekt 2** var å få praktisk erfaring med oppskalering av prosessen. I prosjektforslaget ble det skissert et forsøksoppsett med 3 seriekoblede bassenger. Under planleggingen av forsøkene valgte vi å forandre dette oppsettet noe, slik at vi i stedet brukte 2



"parallellkoblede" bassenger, hvorav det ene fungerte som kontroll og det andre ble tilsatt karbonkilde for stimulering av sulfat-reduksjonen. Den viktigste årsaken til dette var at gruvevannet som vi valgte å bruke, var såvidt lite forurenset at seriekobling av bassenger ikke ble ansett som nødvendig for å fjerne metallene. Praktiske hensyn gjorde at det var hensiktsmessig å gjennomføre denne delen av prosjektet på Løkken, der det var ubegrenset tilgang på gruvevann og god plass til å sette opp pilotsystemet.

Resultater fra de praktiske forsøkene er dels angitt i form av tabeller og figurer i teksten, dels i tabellform i appendix.

### 3. Laboratorieforsøk

#### 3.1. Materialer og metoder

##### 3.1.1. Eksperimentelt oppsett

Oppsettet for laboratorieforsøkene er skissert i Fig.1. Det ble brukt gjennomsiktige plexiplast-sylindere med indre diameter på 20 cm og høyde på 100 cm. Totalt volum var 31,4 liter. Ca. 5 cm over bunnen i sylindrene ble det plassert en rist med filterduk (500  $\mu\text{m}$ ) på, og det ble lagt på et lag av sand (3 kg) og et lag med singel (6 kg) for å ha en fast fase der bakteriene lettere kunne etablere seg. Sandlaget var ca. 7 cm og singellaget ca. 14 cm tykt. Sanda var på forhånd siktet (355  $\mu\text{m}$ ) for å fjerne det fineste materialet. Både sand og singel ble skylt grundig i springvann før bruk. En tilførselsslange for inngående forsøksvann ble ført ned i bunnen av sylindrene gjennom et plexiplast-rør med diameter ca. 2 cm. Det totale væskevolumet i hver sylinder var 18 liter. Av dette utgjorde porevannet i sandlaget og singellaget 2,0 liter.

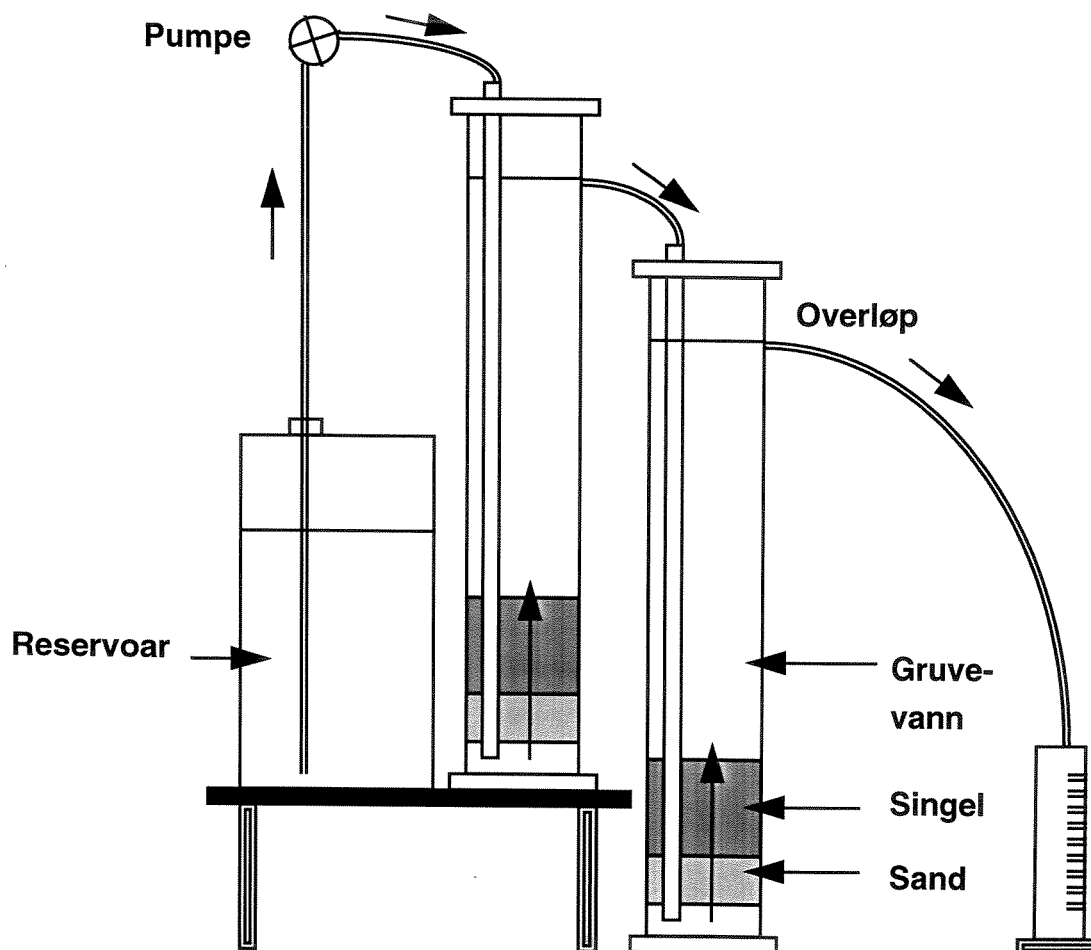


Fig.1. Eksperimentelt oppsett av laboratorieforsøkene. Kunstig gruvevann ble pumpet oppstrøms gjennom de to seriekoblede sylindrene.

Som vist i Fig.1 ble to og to sylindre koblet i serie slik at de til sammen dannet en separat enhet. Det ble satt opp 4 slike enheter. Under kontinuerlig drift ble vannet pumpet inn i bunnen av den første sylindren, presset opp gjennom sand- og singellaget og over i den andre sylindren ved naturlig overløp gjennom en slange. Vannstrømmen gjennom den andre sylindren fulgte en tilsvarende rute, men var bare drevet av høydeforskjellen mellom sylindrene og ikke av en pumpe. Overløpet fra den andre sylindren ble samlet opp i en målesylinder for volumbestemmelse. Gummipropper som var satt inn i sylinderveggene muliggjorde prøvetaking på 3 nivåer i vannfasen.

Ved å benytte et forsøksoppsett med to og to sylindre koblet sammen i serie, oppnår man å kunne følge med på hva som skjer i hver sylinder separat. Dette kan gi nyttig informasjon bl.a. om hvor effektiv prosessen er til enhver tid, og hvordan bakteriene reagerer på endrede fysisk-kjemiske betingelser.

### 3.1.2. Oppstarting og kontinuerlig drift

Ved oppstarting av laboratorieforsøkene ble sylindere 1-6 fylt med nitrogen-flushet destillert vann tilsatt ammoniumklorid (134 mg/l  $\text{NH}_4\text{Cl}$  eller 2,5 mM) som nitrogen-kilde, kaliumdihydrogenfosfat (68 mg/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  eller 0,5 mM) som fosforkilde og 96 % etanol (1 ml/l eller 16,7 mM) som karbon- og energikilde (Tabell 1). Hver av sylindrene ble tilsatt 0,5 liter (2,8 % vol/vol) inokulum, bestående av en renkultur av SRB-stammen L-200 tilsatt 1-2 gram sediment fra Fagerlivann på Løkken. L-200 hadde tidligere blitt isolert fra den vannfylte gruva på Løkken og var dyrket opp på et vanlig anaerobt medium (Widdel og Pfennig, 1981) med 20 mM etanol som substrat. Sedimentet fra Fagerlivann ble antatt å inneholde en variert flora av anaerobe bakterier. Sylindrene ble inkubert uten gjennomstrømning ved 26°C for å få etablert bakterieaktivitet.

Tabell 1. Oversikt over næringsstoffer og SRB-inokulum som ble tilført sylindrene ved start og under kontinuerlig drift av laboratorieforsøkene.

Sylinder nr.	Tilført sylindrene ved start	Tilført sylindrene under kontinuerlig drift
1+2	Dest.vann + EtOH + $\text{NH}_4$ + $\text{PO}_4$ + SRB	Kunstig gruvevann
3+4	"	Kunstig gruvevann + EtOH + $\text{NH}_4$ + $\text{PO}_4$
5+6	"	Kunstig gruvevann + EtOH(pulsing) + $\text{NH}_4$ + $\text{PO}_4$
7+8*	Kunstig gruvevann	Kunstig gruvevann

\* = startet kontinuerlig tilførsel av kunstig gruvevann umiddelbart etter oppfylling.

På dag 29 ble det startet kontinuerlig tilførsel av et kunstig gruvevann til sylindrene (Tabell 1). De etterfølgende 13 dagene fungerte som en innkjøringsperiode. I denne perioden ble det ikke foretatt regelmessige målinger av vannkvalitet i sylindrene. Deretter ble det suksessivt gjennomført forsøk ved 22, 15 og 10°C (Tabell 2).

Det kunstige gruvevannet inneholdt 100 mg/l jern, 25 mg/l kopper, 25 mg/l sink og 1354 mg/l sulfat. pH var justert til 2,70 ( $\pm 0,02$ ) med svovelsyre. Ved å bruke så surt vann, oppnår man at det kan lagres uten at jernet i nevneverdig grad blir oksydert til treverdige og felt ut. Dette gjør det enklere å sikre konstant vannkvalitet under forsøkene.

Som vist i Tabell 1, ble sylindere 1+2 tilført kunstig gruvevann uten tilsetninger. Sylindere 3+4 og 5+6 ble tilført kunstig gruvevann tilsatt 16,7 mM etanol, 2,5 mM ammonium og 0,5 mM fosfat. Forskjellen mellom de to sistnevnte systemene var at etanolen ble homogent blandet inn i reservoaret som forsynte sylindere 3+4, mens den ble tilsatt i form av pulser direkte på tilførselsslengen til sylindere 5+6. Det ble pulset inn 12,5 ml 96 % etanol for hver 12,5 liter gruvevann som var pumpet gjennom, slik at den totale doseringen var den samme som i sylindere 3+4.

Det ble gjennomført et separat kontroll eksperiment i sylindere 7+8. Disse sylindrene ble fylt opp med kunstig gruvevann uten tilsetninger, og det ble startet kontinuerlig dosering umiddelbart etter oppfylling. Til forskjell fra sylindere 1 og 2 var det altså ikke etablert sulfat-reduksjonsaktivitet før det ble startet kontinuerlig drift.

### 3.1.3. Prøvetaking og kjemiske analyser

pH, redokspotensiale og fritt sulfid ble målt jevnlig i vannfasen i sylindrene under hele forsøksperioden. Redokspotensiale ble målt mot en Ag/AgCl referanse elektrode. For å finne potensialet mot standard hydrogen-elektroden ( $E_H$ ) ble alle avleste verdier korrigert ved å legge til 199 mV. Sulfid ble analysert spektrofotometrisk i sur koppersulfat-løsning som beskrevet av Cord-Ruwisch (1985).

Innholdet av metaller, sulfat, fettsyrer, etanol og næringssalter i avløpet fra sylindrene ble analysert jevnlig. Metaller og svovel ble analysert ved induktivt koblet plasmaspktroskopi (ICP). Sulfat ble analysert på ionekromatograf eller beregnet ut fra innholdet av totalt svovel og sulfid i vannfasen (forutsetter at andre løselige svovelforbindelser er tilstede i ubetydelige konsentrasjoner). Etanol og lavere fettsyrer ( $C_2 - C_5$ ) ble analysert gasskromatografisk. Ammonium og fosfat ble analysert v.h.a. autoanalyser.

## 3.2. Resultater og diskusjon

### 3.2.1. Oversikt over forsøkene

Etter at sylindrene hadde blitt fylt opp med destillert vann tilsatt næringsstoffer og inokulum, ble de hensatt uten gjennomstrømning eller tilførsel av ny næring. Temperaturen var såvidt høy som 26°C i starten, men ble senket til 22°C etter noen dager. Allerede 2 dager etter inokulering ble det observert svarte utfellinger i sand og singellaget i sylindrene. Dette tyder på at sulfat-reduksjonsprosessen hadde startet opp. Etter 4 dager hadde vannfasen blitt kraftig blakket og det luktet sulfid i rommet. Målinger foretatt midt i vannfasen på dag 7 viste at sulfidinnholdet varierte mellom 0,6 og 3,1 mM, og at  $E_h$  varierte mellom -28 mV og -75 mV.

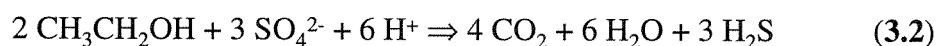
Det ble startet kontinuerlig gjennomstrømning i systemene på dag 29. I løpet av den påfølgende 13 dager lange innkjøringsfasen ble det pumpet gjennom 22,5 liter kunstig gruvevann i hver av systemene. Dette tilsvarer en utskiftning av vannvolumet i hver sylinder 1,25 ganger. Selve forsøksperioden startet på dag 42. Tabell 2 gir en oversikt over varighet, flowrater og oppholdstider ved henholdsvis 22, 15 og 10°C. Flowrate ble holdt tilnærmet konstant ved 22 og 15°C, men ble senket da temperaturen ble justert ned til 10°C.

Tabell 2. Gjennomsnittlig flowrate og oppholdstid i sylinder 1-8 under laboratorie-forsøkene ved 22, 15 og 10°C. Oppholdstidene er beregnet utfra et væskevolum på 18 liter i sylindrene.

Sylinder nr.	22°C			15°C			10°C		
	Varighet (dager)	Flowrate (liter/dag)	Oppholds-tid (dager)	Varighet (dager)	Flowrate (liter/dag)	Oppholds-tid (dager)	Varighet (dager)	Flowrate (liter/dag)	Oppholds-tid (dager)
1+2	20	2,6	6,9	21	2,6	6,9	23	1,6	11,3
3+4	20	2,4	7,5	21	2,7	6,7	23	1,7	10,6
5+6	20	2,6	6,9	21	2,4	7,5	23	1,9	9,5
7+8	47	2,3	7,8	-	-	-	47	1,0	18

### 3.2.2. Omsetning av etanol og næringsalter

Etanol kan oksideres *ufullstendig* til acetat (Ligning 3.1) eller *fullstendig* til CO<sub>2</sub> (Ligning 3.2) av forskjellige typer av SRB:



Lave konsentrasjoner av etanol i avløpet vitner om effektiv bakteriell omsetning. Hvis det samtidig måles høye konsentrasjoner av acetat, tyder dette på at ufullstendig oksidasjon er dominerende. Lave acetatkonsentrasjoner tyder på at det foregår fullstendig oksidasjon.

Konsentrasjonene av etanol og acetat i avløpet fra sylindere 1-6 er vist i Fig.2. For å kunne tolke denne figuren (og andre tilsvarende figurer som følger senere) er det viktig å være klar over hvordan det slår ut at to og to sylindere er koblet i serie. Først og fremst betyr dette at det går relativt lang tid fra man endrer på en parameter i inngående vann til første sylinder, til man observerer en eventuell effekt på vannkjemien i utgående vann fra andre sylindere. Når man f.eks. tilsetter en "puls" med etanol til inngående vann i sylinder 5, vil det med en flowrate på 2,6 liter pr. døgn ta 6,9 døgn før etanolen teoretisk sett har nådd utløpet av sylinder 5, mens det vil ta 13,8 døgn før den har nådd utløpet av sylinder 6.

Ved 22°C ble det målt svært lave etanolkonsentrasjoner i avløpet fra sylindere 4 og 6, som utgjorde siste ledd i de seriekoblede systemene. Dette viser at systemene som helhet fungerte bra og at de tilstedeværende bakteriene klarte å utnytte etanolen nesten fullstendig. Ser man på sylindrene enkeltvis, finner man imidlertid forskjeller mellom det systemet som ble tilført etanol kontinuerlig (sylindere 3+4) og det som ble tilført etanol ved pulsing (sylindere 5+6). I de sylindrene som ble tilført etanol kontinuerlig, foregikk ca. 90 % av etanolomsetningen i første trinn (sylinder 3) og 10 % i siste trinn (sylinder 4). I de sylindrene som ble tilført etanol ved pulsing, foregikk ca. 50 % av omsetningen i første trinn (sylinder 5) og 50 % i annet trinn. Disse resultatene viser for det første at bakteriene ikke klarer å nyttegjøre seg etanolen like godt når den pulses inn som når den tilsettes kontinuerlig sammen med gruvevannet. Videre viser de at bakteriene i sylinder 4 etter all sannsynlighet kunne produsert betydelig mer sulfid dersom de hadde fått bedre tilgang på etanol.

Etter at temperaturen hadde blitt senket til 15°C, var det fremdeles lave etanolkonsentrasjoner i avløpet fra sylindere 4 og 6, men mot slutten av perioden ble det påvist en stigning i nr. 6. Dessuten ble det hele tiden påvist betydelige restkonsentrasjoner av etanol i avløpet fra sylindere 3 og 5. Disse observasjonene viser at etanolomsetningen gikk langsommere enn ved 22°C. Ved 10°C ble det påvist en kraftig økning i etanolkonsentrasjonen i avløpet fra sylinder 6, noe som viser at sulfatreduksjonsaktiviteten var sterkt avtagende. I sylinder 4 var det en svak økning i etanolkonsentrasjonen mot slutten av forsøksperioden. Til tross for at gjennomstrømnings-hastigheten var lavere enn ved 22 og 15°C (Tabell 2), hadde altså bakteriene store problemer med å klare å utnytte etanolen raskt nok ved 10°C.

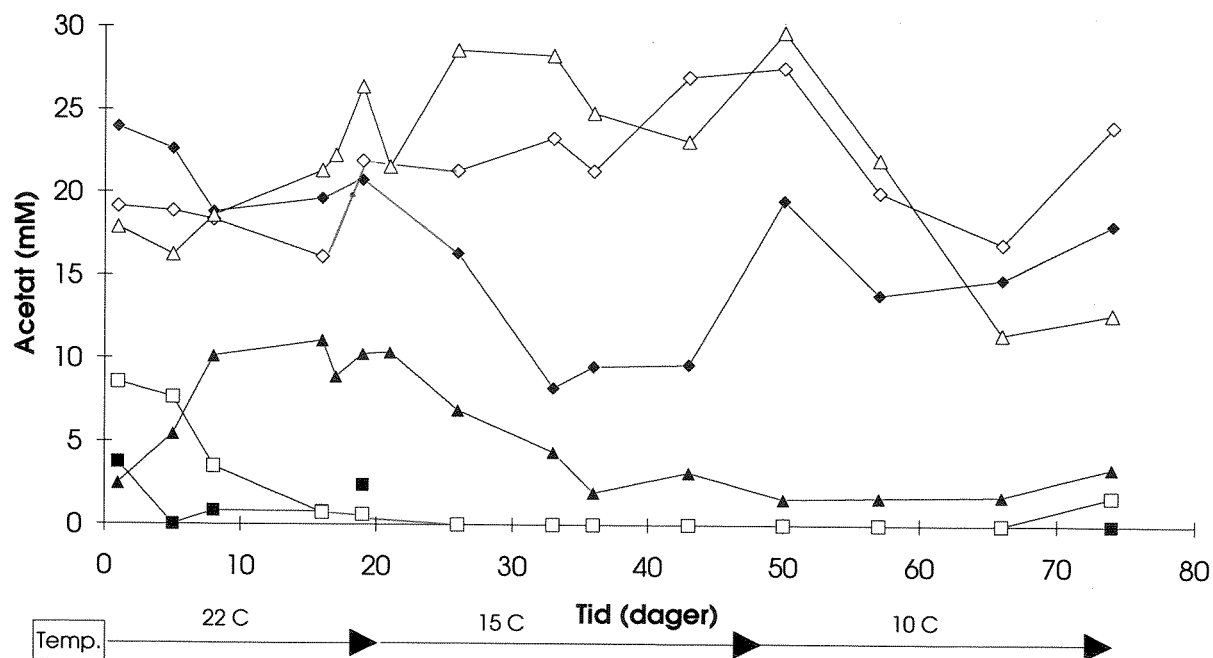
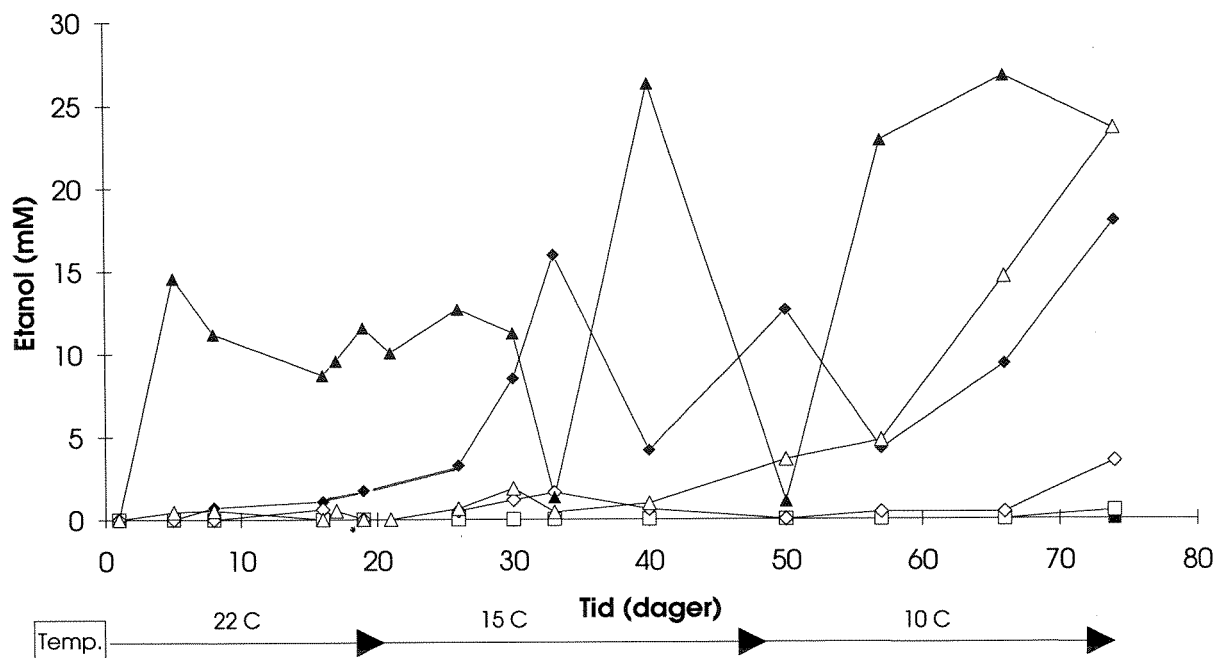


Fig. 2. Konsentrasjoner av etanol og acetat i avløpsvannet fra sylinder 1 (■—■), sylinder 2 (□—□), sylinder 3 (◆—◆), sylinder 4 (◇—◇), sylinder 5 (▲—▲) og sylinder 6 (△—△) under kontinuerlig drift ved 22, 15 og 10°C.

Hvorvidt det organiske substratet (etanolen) blir ufullstendig eller fullstendig oksidert har stor betydning for sulfatreduksjonsprosessens effektivitet, siden fullstendig oksidasjon i henhold til ligning 3.1 og 3.2 gir tre ganger så stor sulfidproduksjon som ufullstendig oksidasjon. Det framgår også av ligningene at fullstendig oksidasjon gir større effekt på pH enn ufullstendig oksidasjon. Utslipp av acetatholdig vann er dessuten uønsket siden det vil bidra til eutrofiering i resipient-vassdraget. De høye konsentrasjonene av acetat som ble målt under det meste av forsøkene (Fig. 2), viser at etanolen i hovedsak ble ufullstendig oksidert i våre forsøk.

For å kontrollere at bakterieaktiviteten ikke var begrenset av mangel på næringsstoffene nitrogen (N) og fosfor (P), ble det sporadisk analysert på ammonium og fosfat (Tabell A2). Kontrollsylindere 1 og 2 ble ikke tilført næringsstoffer etter at det ble startet kontinuerlig dosering av kunstig gruvevann, og det ble derfor funnet gradvis avtagende konsentrasjoner av N og P gjennom forsøksperioden i disse sylindrene. De øvrige sylindrene ble tilført gruvevann som inneholdt h.h.v. 35 mg/l N (som ammonium) og 15,5 mg/l P (som fosfat).

Gjennomsnittlig N-konsentrasjon i avløpet fra sylindere 3 og 5 var h.h.v. 34,1 mg/l N og 33,0 mg/l N, noe som viser at det ble tatt opp lite ammonium i første ledd av de serikoblede systemene. I avløpet fra sylindere 4 og 6 var gjennomsnittskonsentrasjonene redusert til h.h.v. 22,5 mg/l N og 24,6 mg/l N. Dette tyder på et noe større opptak i andre ledd. Det var likevel ingen fare for at mangel på N skulle begrense bakterieaktiviteten i noen av sylindrene. Siden ammonium ikke danner tungt løselige salter med noen av de vanlige anionene, er det lite sannsynlig at avtagende ammoniumkonsentrasjoner skyldes rent kjemiske mekanismer.

Når det gjelder P-konsentrasjonene, var disse betydelig lavere i avløpet fra sylindrene enn i det tilførte gruvevannet. Det ble også påvist betydelige svingninger i de enkelte sylindrene gjennom forsøksperioden. Disse observasjonene kan forklares ved at fosfat i langt sterkere grad enn ammonium kan fjernes fra vannfasen ved kjemisk felling, og at utfellingsreaksjonene er følsomme for svingninger i redokspotensialet. Under oksyderte forhold vil det dannes tungt løselig Fe(III)fosfat og det observeres lave fosfat-konsentrasjoner i vannfasen. Under reduserte forhold vil jern foreligge som toverdige, og fosfatkonsentrasjonene i vannfasen kan bli langt høyere. Selv om det periodevis ble funnet lave P-konsentrasjoner i vannfasen er det altså ingenting som tyder på at bakterieaktiviteten var begrenset av mangel på P.

### 3.2.3. pH

Variasjoner i pH i sylindere 1-6 under forsøkene er vist i Fig. 3. Ved start var pH i alle sylindere høyere enn 6,0. Etter at det ble startet kontinuerlig dosering av surt gruvevann (pH 2,7), begynte pH ganske raskt å synke i sylindere nr. 1,3 og 5, som utgjorde første ledd i de



seriekoblede systemene. I sylindere nr. 2,4 og 6, som utgjorde andre ledd, holdt pH seg relativt konstant i første del av forsøksperioden.

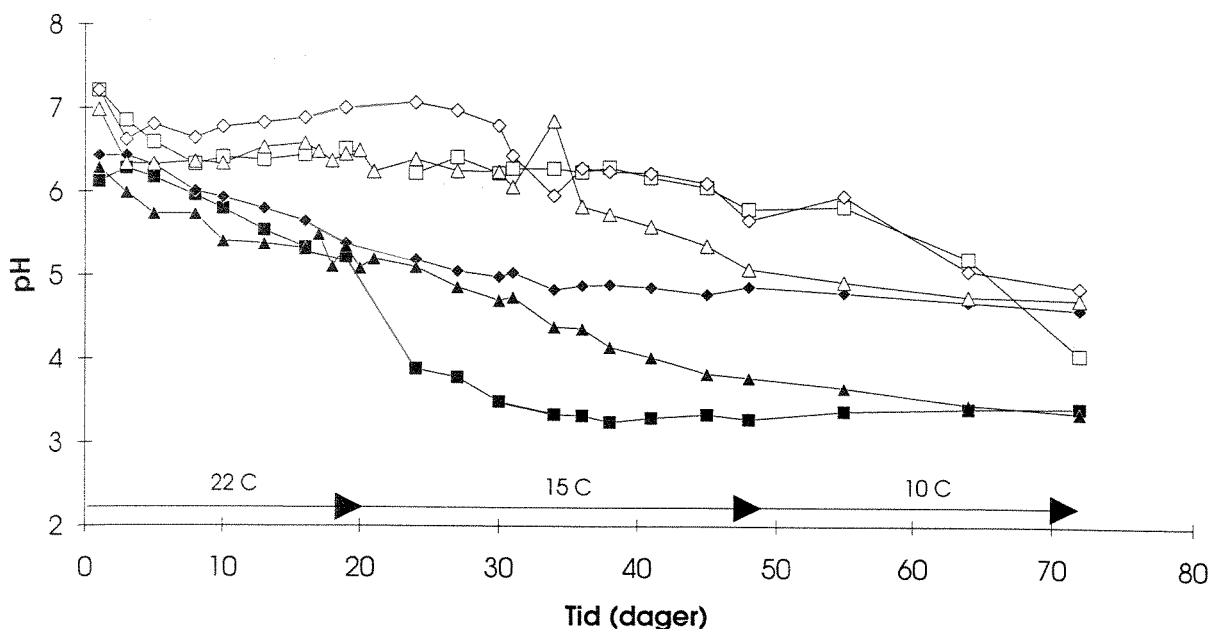


Fig. 3. pH i sylindere 1 (■—■), sylindere 2 (□—□), sylindere 3 (◆—◆), sylindere 4 (◇—◇), sylindere 5 (▲—▲) og sylindere 6 (△—△) under kontinuerlig drift ved 22, 15 og 10°C.

Inntil dag 20 var det bare mindre forskjeller i pH mellom sylindere 1,3 og 5, men etter denne tid sank pH raskt i sylindere nr 1 (kontrollen) til et nivå omkring 3,4. pH i sylindere nr. 5, som ble tilført etanol i pulser, sank langsommere, men nådde et tilsvarende lavt nivå helt mot slutten av forsøket. Sylindere 3, som ble tilført næring kontinuerlig, klarte seg best og endte opp med en pH-verdi rundt 5,0. Når det gjelder sylindere 2,4 og 6 holdt pH seg generelt på et høyere nivå, men tendensen var likevel synkende i andre halvdel av forsøksperioden. Det er verdt å merke seg at sylindere nr 2, som ikke ble tilført næring, hadde nesten nøyaktig samme pH som sylindere 4 under det meste av forsøket. Først helt mot slutten begynte pH å synke raskt. Dette tyder på at sand og singellaget hadde et betydelig potensiale for kjemisk nøytralisering av surt vann, men at kapasiteten ble oppbrukt i løpet av forsøket. Disse observasjonene ble bekreftet gjennom kontroll eksperimentet i sylindere 7 og 8, der det også ble observert en forbigående kjemisk nøytralisering av det sure gruvevannet (Tabell A4).

pH-utviklingen i sylindrene gjennom forsøksperioden viser at det tok lang tid å nærme seg "steady state"-betingelser. Først mot slutten er de fleste kurvene i Fig. 3 tilnærmet flate. I ettertid synes det derfor klart at det hadde vært ønskelig å kjøre forsøket over lengre tid.

### 3.2.4. Redokspotensiale

Alle angitte verdier for redokspotensiale er angitt som  $E_h$ , dvs. at de refererer seg til standard hydrogenelektroden. Fig. 4 viser hvordan  $E_h$  forandret seg i vannfasen i de ulike sylindrene under laboratorieeksperimentene.

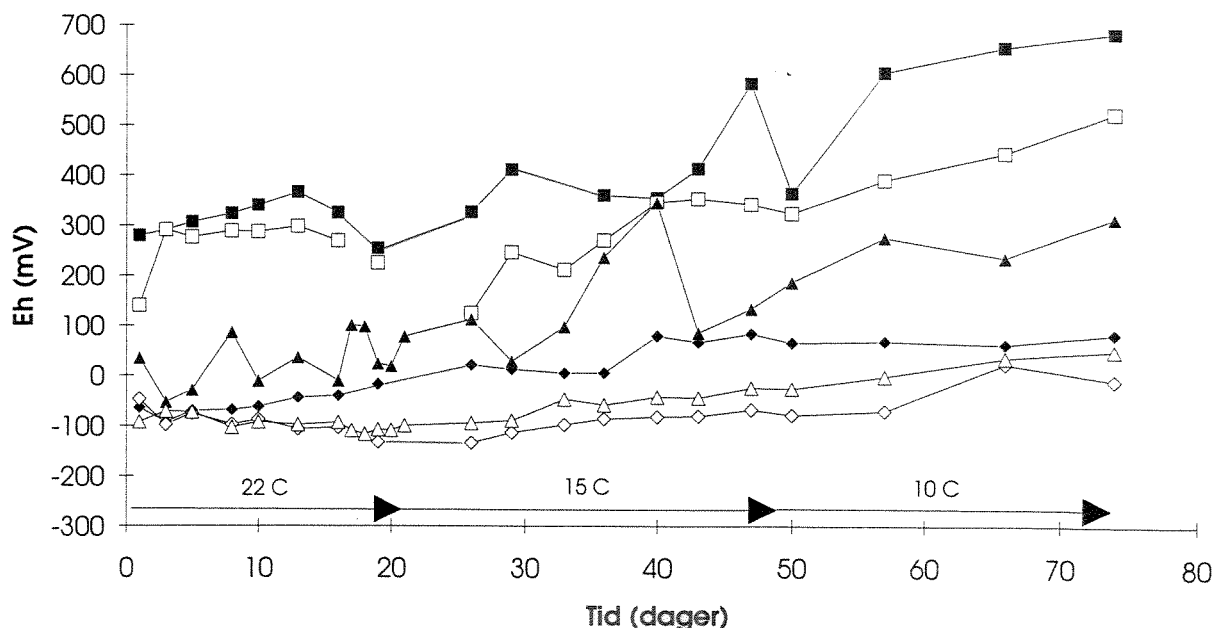


Fig.4.  $E_h$  i sylinder 1 (■—■), sylinder 2 (□—□), sylinder 3 (◆—◆), sylinder 4 (◇—◇), sylinder 5 (▲—▲) og sylinder 6 (△—△) under kontinuerlig drift ved 22, 15 og 10°C.

$E_h$  gir en god indikasjon på den kjemiske tilstanden i et system. I gruvevann som ikke inneholder sulfid i løsning utgjør vanligvis  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  det viktigste redoks-paret, og  $E_h$  ligger gjerne mellom +300 og +700 mV. Det kunstige gruvevannet som ble brukt under våre laboratorieeksperimenter hadde en  $E_h$ -verdi på 576 mV. Dersom systemet tilføres sulfid vil jern fjernes fra løsningen ved utfelling, og  $E_h$  drives nedover på minussiden etterhvert som det bygges opp et overskudd av fritt sulfid.

$E_h$ -verdiene som ble målt i kontrollsylindere nr. 1 og 2 skilte seg ut ved å ligge høyere enn i resten av sylindrene under hele forsøksperioden, og tendensen var hele tiden stigende. I sylinder 5, som ble tilført etanol ved pulsing, ble det påvist svingninger i  $E_h$  som kan tilskrives bakterienes respons på pulsingen. Økt tilførsel av etanol gir ganske umiddelbart økt sulfidproduksjon og dermed lavere  $E_h$ -verdier. Tendensen gjennom hele forsøksperioden var likevel at  $E_h$  steg jevnt og trutt i sylinder 5. Dette tyder på at bakteriene var karbon-begrenset i periodene mellom etanolkulsene, slik at den totale sulfidproduksjonen var for liten til å

oppretholde et konstant redokspotensiale over tid. I sylindere nr. 3, 4 og 6 holdt  $E_h$  seg på et lavt nivå gjennom hele forsøksperioden. Tendensen over tid var svakt stigende.

I kontrollsylindere nr. 7 og 8 ble det målt høye  $E_h$ -verdier i vannfasen ved start (Tabell A4). Etterhvert som det opprinnelige gruvevannet ble erstattet med vann som hadde passert gjennom sand- og singellaaget, sank  $E_h$  raskt. De laveste verdiene (344 mV og 347 mV) ble målt på dag 19. Videre utover i forsøksperioden begynte  $E_h$  å stige igjen, og ved avslutningen ble det målt 634 mV og 407 mV i avløpet fra henholdsvis sylindere 7 og 8.

### 3.2.5. Sulfat

Alle sylindrene ble tilført kunstig gruvevann som inneholdt ca. 1354 mg/l sulfat. Denne konsentrasjonen er beregnet ut fra mengden innveide salter og mengden svovelsyre som ble brukt til pH-justering. Målte konsentrasjoner i avløpet fra sylindere 1-6 er vist i Fig. 6.

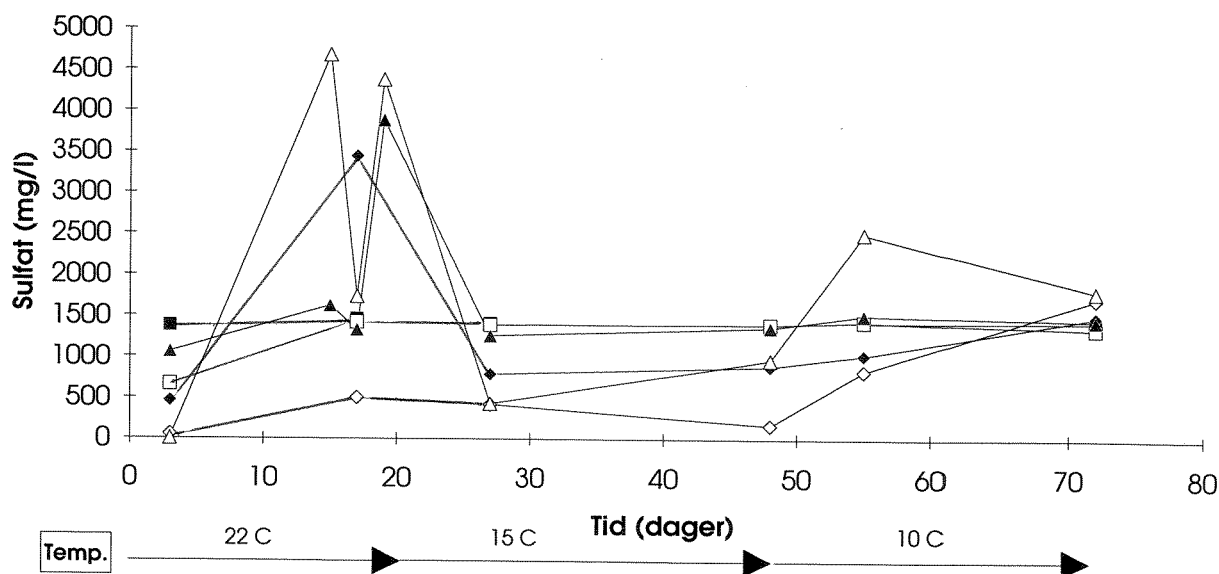


Fig. 6. Konsentrasjoner av sulfat i avløpsvannet fra sylindere 1 (■—■), sylindere 2 (□—□), sylindere 3 (◆—◆), sylindere 4 (◇—◇), sylindere 5 (▲—▲) og sylindere 6 (△—△) under kontinuerlig drift ved 22, 15 og 10°C. Verdiene er beregnet ut fra totalt svovel og sulfid.

I kontrollsylindere nr. 1 og 2 holdt sulfat-konsentrasjonene seg mer eller mindre konstant rundt 1350 mg/l under hele forsøksperioden, noe som tyder på at sulfaten gikk rett gjennom. Fra sylindere 3, 5 og 6 ble det påvist en kraftig utvasking av sulfat 15 og 20 dager etter forsøksstart. Årsaken til dette er ikke klarlagt. I avløpet fra sylindere 4 var sulfatkonsentrasjonen betydelig

lavere enn i alle andre sylindre under det meste av forsøket. Dette skyldes etter alt å dømme sulfat-reduksjonsaktivitet. Mot slutten av forsøket økte også sulfat-transporten ut av sylinder 4 til et nivå som tydet på at det foregikk en netto utvasking.

### 3.2.6. Sulfid

Variasjoner i konsentrasjonen av fritt sulfid i sylindre 1-6 er vist i Fig.5. Det ble ikke påvist fritt sulfid i kontrollsylindere nr. 1 og 2 etter dag 3. Dette viser at den sulfiden som var produsert under oppstartingsfasen ble vasket ut i løpet av kort tid. I sylindere 3,4 og 6 var det betydelige sulfidkonsentrasjoner til stede under hele forsøksperioden. Dette vitner om god sulfat-reduksjonsaktivitet. Når det gjelder sylinder 5, som ble tilført pulser med etanol, varierte sulfidkonsentrasjonen ganske mye i takt med tilgangen på etanol i første del av forsøket. Etter dag 33 ble det imidlertid ikke påvist målbare mengder fritt sulfid i vannfasen i sylinder 5. I kontrollsylindere 7 og 8 ble det aldri påvist fritt sulfid.

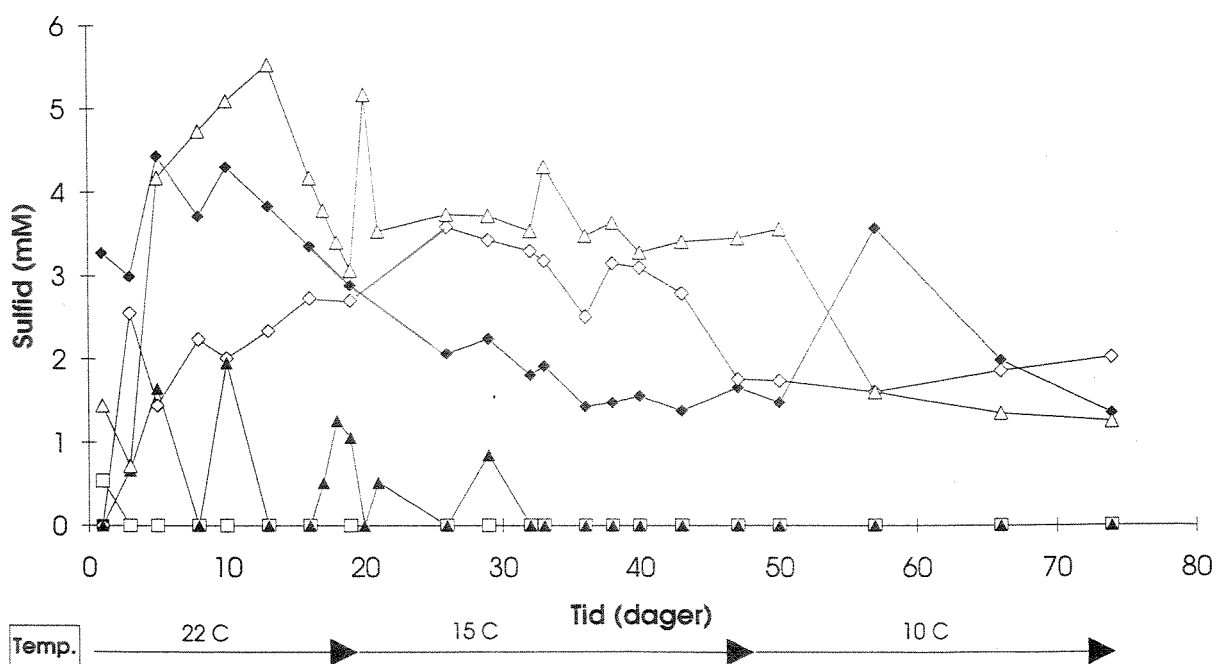


Fig.5. Konsentrasjoner av fritt sulfid i vannfasen i sylindere 1 (■—■), sylindere 2 (□—□), sylindere 3 (◆—◆), sylindere 4 (◇—◇), sylindere 5 (▲—▲) og sylindere 6 (△—△) under kontinuerlig drift ved 22, 15 og 10°C.

Det er vanskelig å beregne den totale sulfidproduksjonen som har funnet sted i sylindrene. Sulfiden har delvis gått med til å danne metallsulfider, men kan også i noen grad ha blitt oksidert til elementært svovel, siden sylindrelukkene og slangene som ble brukt ikke var gasstette.

### 3.2.7. Metaller

Resultater av metallanalyser på avløpsvannet fra sylindrene er vist i Fig. 7 og Tabell A3. Siden det kunstige gruvevannet i utgangspunktet bare inneholdt kopper, sink, jern og sulfat, stammer de andre metallene som ble påvist sannsynligvis fra sand- og singellaget som var tilstede i alle sylindre.

Kopper ble fjernet effektivt fra vannfasen i alle sylindre tilsatt etanol og næringsstoffer under hele forsøksperioden. I kontrollsystemet bestående av sylindere 1+2 ble også alt kopper holdt tilbake. I kontrollsystemet bestående av sylindere 7+8 ble kopper fjernet til under analysemetodens deteksjonsgrense (0,02 mg/l) i første del av forsøket, men senere målinger viste at både kopper, sink, jern og sulfat etterhvert gikk rett gjennom systemet (Tabell A3). Forskjeller mellom de to kontrollsystemene kan mest sannsynlig forklares med at det var dannet metallsulfider i sylindere 1 og 2 under oppstartingsfasen, og at kopperionene p.g.a. sin store affinitet for sulfid gradvis erstattet andre metallioner i de utfelte sulfid-forbindelsene mens forsøket pågikk. I sylindere 7+8 var det ikke dannet metallsulfider i starten, og den kjemiske bindingskapasiteten var derfor mindre.

Sink ble fjernet effektivt fra vannfasen i sylindere 3, 4 og 6 under hele forsøksperioden. I avløpet fra sylindere 5 foregikk det derimot en netto utvasking av sink mot slutten. Dette viser at bakteriene i denne sylinderen ikke klarte å nyttegjøre seg etanolen på en optimal måte. Aktiviteten i sylindere 6 var likevel stor nok til at systemet som helhet fjernet sink på en effektiv måte.

Når det gjelder jern ble det observert et lignende forløp, selv om fjerningen av jern totalt sett var mindre effektiv enn fjerningen av sink. Første ledd i de seriekoblede systemene (sylindere 3 og 5) klarte bare i liten grad å holde tilbake jern som jernsulfid, mens aktiviteten var såvidt bra i sylindere 4 og 6 at systemene som helhet fungerte tilfredsstillende ved 22°C og delvis ved 15°C. Mot slutten av forsøket økte imidlertid også konsentrasjonen i avløpet fra nr. 4 og 6.

I alle kontrollsylindrene (1,2,7 og 8) ble det dannet rødbrune utfellinger i løpet av forsøksperioden. Dette viser at det foregikk utfelling av metallhydroksider, og da særlig jern(III)-hydroksider.

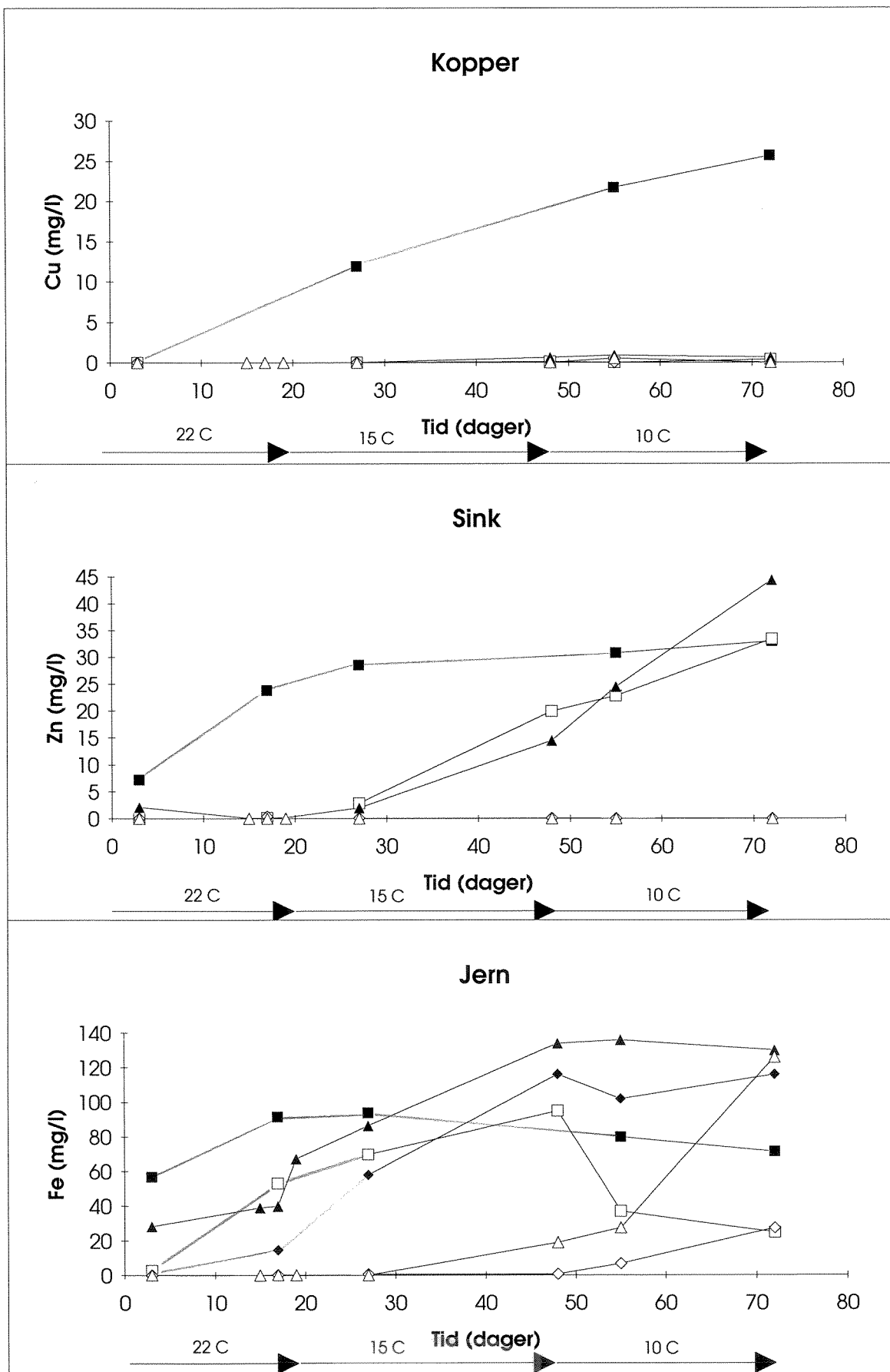


Fig. 7. Konsentrasjoner av kopper, sink og jern i avløpsvannet fra sylinter 1 (■—■), sylinter 2 (□—□), sylinter 3 (◆—◆), sylinter 4 (◇—◇), sylinter 5 (▲—▲) og sylinter 6 (△—△) under kontinuerlig drift ved 22, 15 og 10°C.

### 3.2.8. Bakterier

Under forsøket ble det sporadisk tatt prøver for mikroskopering av bakterier. I sylindere 3 og 5, som utgjorde første ledd i de seriekoblede systemene, var det lite bakterier å se i vannfasen, og de som var tilstede så ut til å være i dårlig forfatning. I sylindere 4 og 6, derimot var det betydelig tettere med bakterier, og de fleste var aktive og så fine ut. Dette tyder på at bakterieaktiviteten i nr. 3 og 5 nesten utelukkende foregår i sand- og singellaget, mens det er aktivitet også i de frie vannmassene i sylindere 4 og 6. De bakteriene som opptrådte i klart størst antall i vannfasen i sylindere 4 og 6 var vibrioformede og sannsynligvis identiske med stamme L-200, som ble brukt som inokulum.

### 3.2.9. Effekt av å tilsette etanol ved pulsing.

Etter tilsetning av en puls med etanol til sylindere 5, ble det tatt prøver daglig over en 4-dagers periode for å følge responsen. Dette ble gjort mens temperaturen var 22°C og gjennomstrømningshastigheten 2,3 liter pr. døgn. Resultatene er sammenfattet i Tabell 3.

Redokspotensialet sank raskt etter pulsing, men steg like raskt igjen etter at pulsen hadde passert. Konsentrasjonen av fritt sulfid økte midlertidig på samme måte. Dette viser at etanulpulsingen førte til en kortvarig stimulering av sulfatreduksjonsaktiviteten, som altså hadde vært begrenset av tilgangen på etanol før pulsingen. Bakterietallet i avløpet var synkende de to første dagene etter pulsing, men økte kraftig på dag 3 (Tabell 3). Dette var omtrent samtidig med at etanulpulsen var forventet å nå fram til dette prøvetakingspunktet. Observasjonene viser at bakterietallet i vannfasen kunne variere med ca. en tierpotens med tilgangen på etanol.

Tabell 3. Endringer i pH,  $E_h$ , fritt sulfid og bakterietall midt i vannfasen i sylindere 5 over en 5-dagers periode etter tilsetning av en puls med etanol. \* = Prøver tatt i avløpet fra sylindere.

Dag	pH	$E_h$ (mV)	Sulfid (mM)	Bakterier (ml <sup>-1</sup> )
0	5,49	101	0,52	$5,7 \times 10^6$ *
1	5,11	98	1,26	$1,5 \times 10^6$ *
2	5,35	24	1,06	$6,0 \times 10^5$ *
3	5,09	19	0,44	$3,4 \times 10^6$ *
4	5,20	78	0,52	-

## 4. Felteksperimenter

### 4.1. Materialer og metoder

#### 4.1.1. Eksperimentelt oppsett

Til felteksperimentene ble det brukt to spesiellagede glassfibertanker med en utforming som framgår av Fig.8. I prinsippet er tankene nokså like de sylindrene som ble brukt under laboratorieforsøkene, ved at vannet ledes inn i bunnen gjennom en slange og presses opp gjennom sand og pukkstein før det renner ut via et overløp nær toppen.

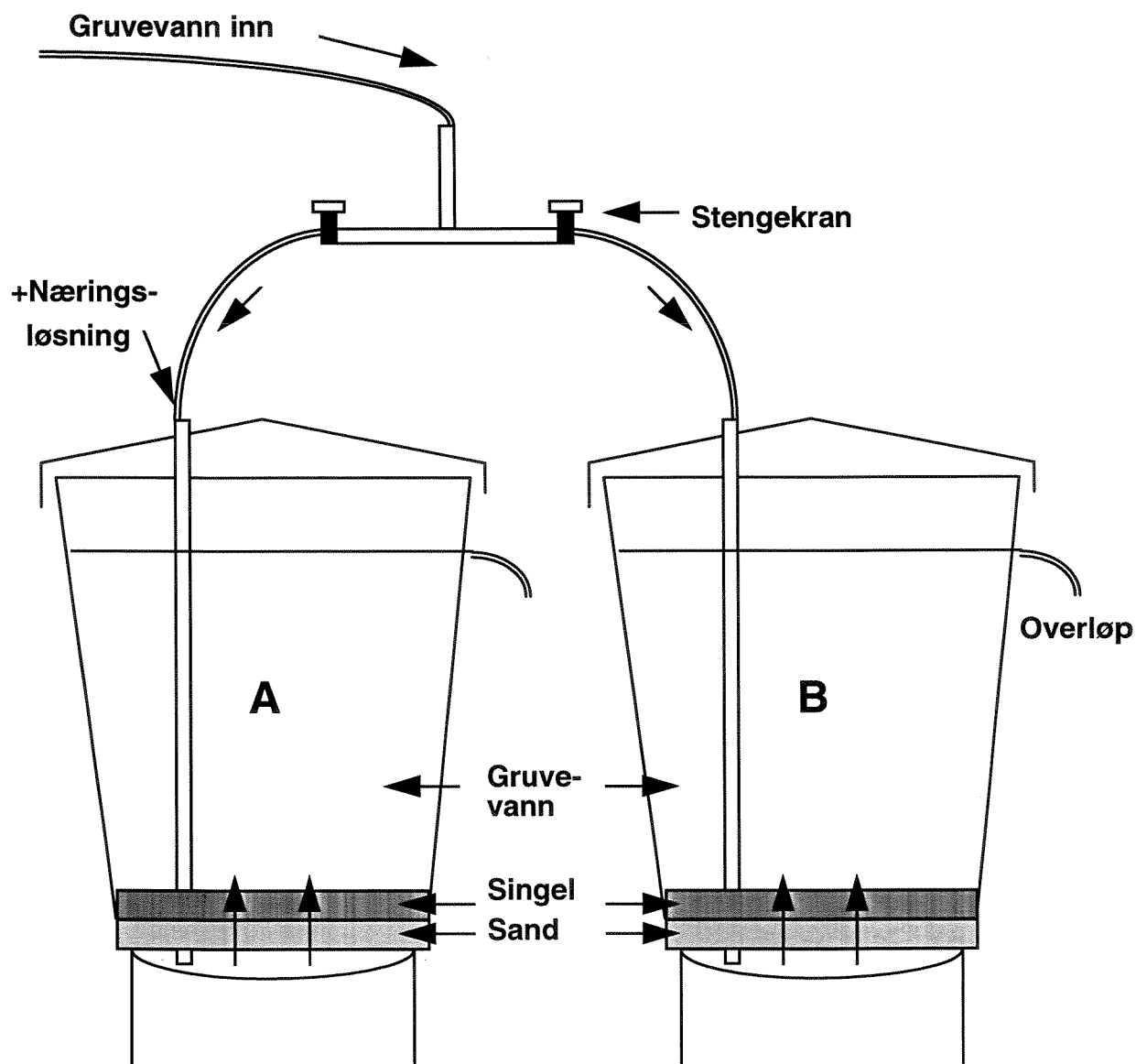


Fig.8. Skisse av forsøksoppsettet som ble brukt under felteksperimentene på Løkken.



Hver av de to tankene rommet ca. 1400 liter. Tankene ble satt opp utenfor inngangen til Wallenberg sjakt på Løkken. Gruvevann ble tilført tankene fra et 8000 liter stort reservoar som var plassert høyere i terrenget for å slippe å bruke pumper. Vannstrømmen ble fordelt på de to tankene ved at et T-rør ble satt inn på tilførselsslangen. Stengekraner muliggjorde individuell regulering av hastigheten på vannstrømmen til hver tank.

Rista i bunnen av tankene hadde huller med en diameter på ca. 5 mm, og ble dekket med gasstoff med porestørrelse på ca. 0,5-1 mm. Det ble lagt på 5-7 cm sand (ca. 70 liter pr. tank) med noe varierende kornstørrelse og deretter ca. 10 cm med relativt fin pukkstein (ca. 90 liter pr. tank). Sanda ble hentet på bredden av Orkla umiddelbart før oppstartning. Pukksteinen, bestående hovedsaklig av gabbro, ble hentet fra veivesenets fylling inne på gruveområdet.

#### **4.1.2. Oppstartning og kontinuerlig drift**

Tankene ble merket **A** og **B**. Begge ble tilført gruvevann fra Wallenberg sjakt til vannstanden var omtrent i bunnen av pukksteinslaget. Tank **A** ble deretter tilsatt 0,5 liter 96 % etanol (0,03 % vol/vol), 1 liter av en standard næringsløsning (Tabell A1) og 10 liter SRB-inokulum for å stimulere mikrobiell vekst i oppstartingsfasen. Inokulumet var en renkultur av stamme L-200 dyrket 10 dager på 0,1 % etanol i et vanlig anaerobt medium (Widdel og Pfennig, 1981). Løsningene ble fordelt utover overflaten av singellaget. Mengden etanol som ble tilsatt tilsvarte en konsentrasjon på 8,4 mM i vannfasen, forutsatt at det skjedde en fullstendig innblanding. Tank **B**, negativ kontroll, ble ikke tilsatt næringsstoffer eller inokulum. Begge tankene ble deretter fylt opp med gruvevann til overløpet og hensatt uten gjennomstrømning slik at bakteriene skulle få tid til å etablere seg i biofilmer i sand- og pukksteinslaget.

28. juni, 18 dager etter oppfylling av tankene, ble det startet kontinuerlig drift av systemet. Vannstrømmen til tank **A** ble tilsatt 0,5 liter 96 % etanol og 0,5 liter av en nærings saltløsning pr. uke. Nærings saltløsningen inneholdt 44,7 g/l  $\text{NH}_4\text{Cl}$  og 22,8 g/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Det ble ikke tilsatt etanol eller nærings salter til tank **B**. 8000 liters-reservoaret ble fylt opp med gruvevann fra Wallenberg sjakt ved starten av forsøket og senere etterfylt ved behov.

#### **4.1.3. Måleprogram og analyser**

Ved start av kontinuerlig drift 28. juni ble det montert instrumentering for kontinuerlig måling av pH, redokspotensiale og temperatur i tank **A**. Instrumentene ble koblet til en datalogger (AAC-2, Interface-Teknik AB). Elektrodene ble montert i en "plattform" av isopor som fløt på overflata i tanken. Redoks-elektroden var en kombinert elektrode (Amagruss, Irland) med

innebygd Ag/AgCl-referanse. Loggeren ble innstilt for å lagre data hvert 10. minutt.

Ukentlig ble det dessuten tatt prøver som ble sendt til NIVA for analyse av metaller (ICP), etanol og lavere fettsyrer (gasskromatografi). Det ble dessuten målt pH og  $E_h$  i prøvene for å ha noen data å falle tilbake på dersom det skulle oppstå tekniske problemer med den kontinuerlige dataregistreringen på Løkken. Vannprøver ble sporadisk mikroskopert for bakterier. Alle vannprøver fra tank **A** og **B** ble tatt direkte fra overløpet, mens prøver fra 8000 liters reservoaret ble tatt i overflata.

Da forsøket ble avsluttet 27. september ble vannet tappet ut av tankene og det ble tatt prøver av svart slam fra pukksteinslaget i tank **A** for påvisning av metallsulfider. Det svarte slammene på steinene ble skylt av med destillert vann, og suspensjonen ble dampet inn over natten ved 105°C. Det gjenværende faste stoffet ble deretter veid, oppløst ved autoklaving i salpetersyre og analysert v.h.a. ICP.

## 4.2. Resultater og diskusjon

Gruvevannet som ble pumpet opp fra Wallenberg sjakt og brukt som forsøksvann, hadde en pH på 5,9 og inneholdt moderate mengder metaller (Tabell 4). På grunn av at vannet ble luftet under pumpingen, ble det umiddelbart utfelt en del Fe(III)-forbindelser som ga vannet i tankene en gulbrun farge.

Tabell 4. Metallkonsentrasjoner i gruvevannet som ble brukt til oppfylling av tank **A** og **B** ved oppstartning av feltforsøket på Løkken 10. juni 1994. Alle konsentrasjoner er angitt i mg/l.

Ca	Mg	Al	Cd	Co	Cu	Fe	Mn	Ni	S	Si	Zn
508	253	3,35	0,02	0,68	2,01	100	10,1	0,19	766	13,8	16,9

Etter oppfylling ble tankene hensatt i 18 dager uten gjennomstrømning. Det ble ikke dannet synlige svarte utfellinger i noen av tankene i løpet av denne perioden, og det ble heller ikke påvist endringer i vannkjemien som vitnet om sulfat-reduksjonsaktivitet. Innblanding av oksygen under oppstartingen og relativt lave temperaturer i tankene (Fig. 10) bidro etter all sannsynlighet til at det tok såvidt lang tid å få etablert aktivitet.

### 4.2.1. Oversikt over forsøksperioden

Forsøkene ble kjørt med kontinuerlig gjennomstrømning fra 28. juni til 26. september, dvs. over en periode på 90 dager. Under første halvdel av denne perioden var gjennomstrømnings-

hastigheten sterkt variabel. Tilførselen av gruvevann til tank **A** og **B** stoppet helt opp i en periode fra 26. juli til 3. august på grunn av at reservoaret gikk tomt. I perioden fra 3. til 12. august var det spesielt stor gjennomstrømning, og dette førte til at reservoaret igjen gikk tomt slik at tilførselen stanset opp i 3 dager mellom 12. og 15. august. Etter dette lyktes det å stille inn hastigheten på vannstrømmen på et nivå omkring 6-7 liter pr. time. Dette tilsvarer en oppholdstid på ca.10 dager i tankene. Gjennomstrømningshastigheter på noen tidspunkter er angitt i Tabell A6.

Vannkvaliteten i gruvevannet som ble tilført tankene framgår av Tabell A5 og A6. Det ble etterhvert felt ut en god del gulbrune Fe(III)-forbindelser både i selve reservoaret og i tilførselsslagen til tankene. Dette bidro til at metallinnholdet i gruvevannet som nådde tankene var noe variabelt.



Fig. 9. Vannprøver fra overløpet i tank **A** og **B**, og fra reservoaret **R**, tatt under siste del av felteksperimentet på Løkken. Den svarte fargen i tank **A** skyldes utfelling av metallsulfider.

Fram til 3. august ble det ikke observert synlige tegn på sulfatreduksjonsaktivitet i noen av tankene, men den 10. august hadde det blitt dannet betydelige mengder svarte utfellinger i tank **A**, og det ble kjent lukt av hydrogensulfid (John Furuhaug, personlig meddelelse). Vannet i tank **A** holdt seg mørkt under resten av forsøksperioden, mens vannet i reservoaret og tank **B** forble gulbrunt (Fig. 9).

#### 4.2.2. Omsetning av etanol og næringsalter

I første del av forsøksperioden ble det målt varierende og tildels høye etanolkonsentrasjoner i avløpet fra tank A (Tabell A6). Dette viser at den bakterielle aktiviteten var relativt liten, slik at bare en mindre del av den tilførte etanolen ble omsatt. I siste del av forsøksperioden forandret dette seg, og restkonsentrasjonene lå stort sett under deteksjonsgrensen på 20 mg/l. Dette tyder på god bakteriell aktivitet. Helt mot slutten ble det likevel påvist en svak økning i etanolkonsentrasjonen igjen. Tank B (kontrollen) ble aldri tilsatt etanol, og det ble som ventet heller ikke påvist etanol i avløpet.

Når SRB eller andre anaerobe bakterier vokser på etanol, dannes det som regel acetat som avfallsprodukt. Acetat ble påvist i avløpsvannet fra tank A lenge før det ble funnet tegn til sulfat-reduksjonsaktivitet. Dette tyder på at andre typer anaerobe bakterier var aktive i starten. Mest sannsynlig dreier det seg om denitrifiserende (nitratreducerende) bakterier, siden næringsløsningen som ble tilsatt ved start inneholdt nitrat (Tabell A1). Konsentrasjonen av acetat var likevel klart høyest mot slutten av forsøksperioden, med 804 mg/l (13,4 mM) den 27. september som høyeste målte verdi. I denne perioden var sulfat sannsynlig den eneste tilgjengelige elektron-akseptoren i systemet, og alt tyder på at acetaten var produsert av SRB.

Fosfat-konsentrasjonene var lave i avløpet fra tank A under første del av forsøksperioden. Dette tyder på at det foregikk en kjemisk utfelling av metallfosfater. Etterhvert som forholdene ble reduserende p.g.a. økt sulfat-reduksjonsaktivitet ble det imidlertid målt høyere fosfat-konsentrasjoner igjen (Tabell A6). Det er altså ikke grunnlag for å anta at fosfat er en begrensende faktor for sulfat-reduksjonen, selv om konsentrasjonene i vannfasen var lave i starten av forsøksperioden.

Ammonium-konsentrasjonene i avløpet fra tank A var høye gjennom hele forsøksperioden (Tabell A6), og det var derfor ingen fare for at nitrogen-mangel skulle begrense bakteriell aktivitet.

#### 4.2.3. Temperatur

Fig. 10 viser variasjoner i vanntemperatur i tank A fra det ble startet kontinuerlig vanngjennomstrømning den 28.06.94 til loggingen ble avbrutt 09.09.94. Det ble ikke logget data etter 09.09.94 p.g.a. et strømbrudd til instrumentene. Fra en startverdi rundt 10°C steg vanntemperaturen i tankene til ca. 20°C i løpet av den første måneden, for så å svinge mellom 10 og 17°C fram til 09.09.94. Det ble registrert døgnvariasjoner på opptil 3,6°C. I tiden etter

09.09.94 var det en relativt kjølig værtype med nattefrost 2-3 netter (John Furuhaug, personlig meddelelse). Det antas derfor at vanntemperaturen periodevis har ligget godt under 10°C i dette tidsrommet.

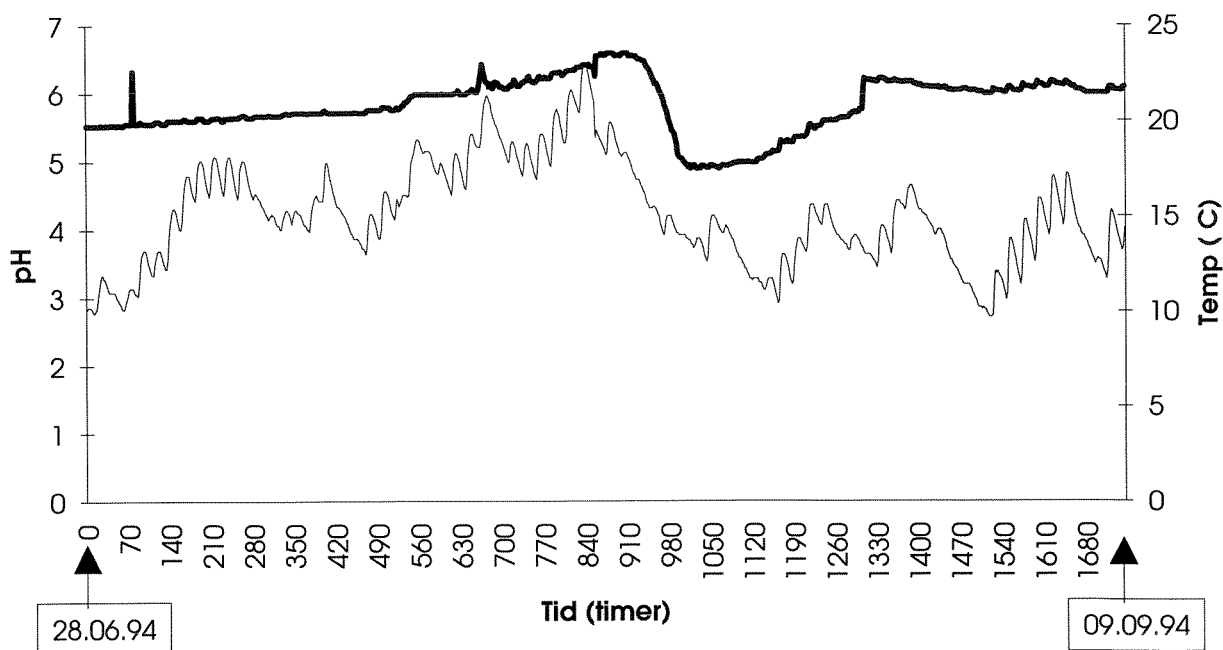
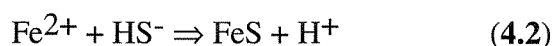
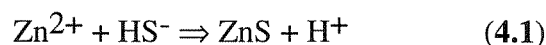


Fig. 10. Variasjoner i temperatur (—) og pH (—) i tank A i perioden 28.06.94 til 09.09.94. Dataene ble samlet inn kontinuerlig v.h.a. datalogger.

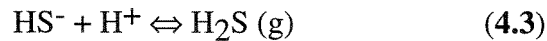
#### 4.2.4. pH

Det ble påvist betydelige pH-svingninger i tank A under siste halvdel av forsøket (Fig. 10). Fra en svakt økende verdi rundt 5,5-6,5, sank pH til ca. 5,0 i løpet av en 2 dagers periode mellom 7. og 9. august. Dette faller sammen med tidspunktet da sulfat-reduksjonsprosessen for alvor begynte å gjøre seg gjeldende, og kan skyldes at metaller som sink og jern ble utfelt som metallsulfider under frigivelse av protoner i henhold til ligning 4.1 og 4.2:



Etter å ha holdt seg konstant rundt 5,0 noen dager, steg pH deretter til ca. 6,2 i løpet av en 10-dagers periode, for så å holde seg konstant igjen fram til loggingen ble avbrutt 09.09.94. Den relativt raske pH-stigningen startet omtrent samtidig med at det for første gang ble påvist sulfidlukkt fra tank A (J. Furuhaug, pers. meddelelse), noe som tyder på at et overskudd av fritt

sulfid begynte å gjøre seg gjeldende som buffer i systemet (ligning 4.3).



Det kan også ha blitt produsert noe bikarbonat som har bidratt til å heve pH. De høye acetatkonsentrasjonene i avløpsvannet tyder imidlertid på at ufullstendig oksidasjon var den dominerende prosessen og at bikarbonat-produksjonen var liten (lign. 3.1 og 3.2).

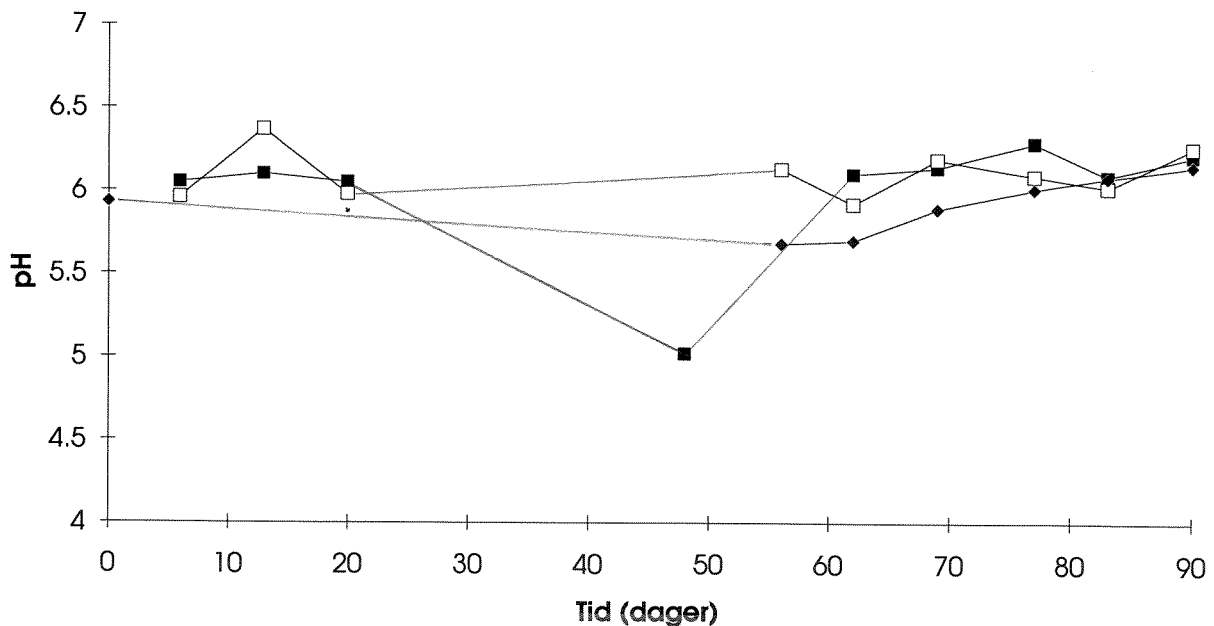


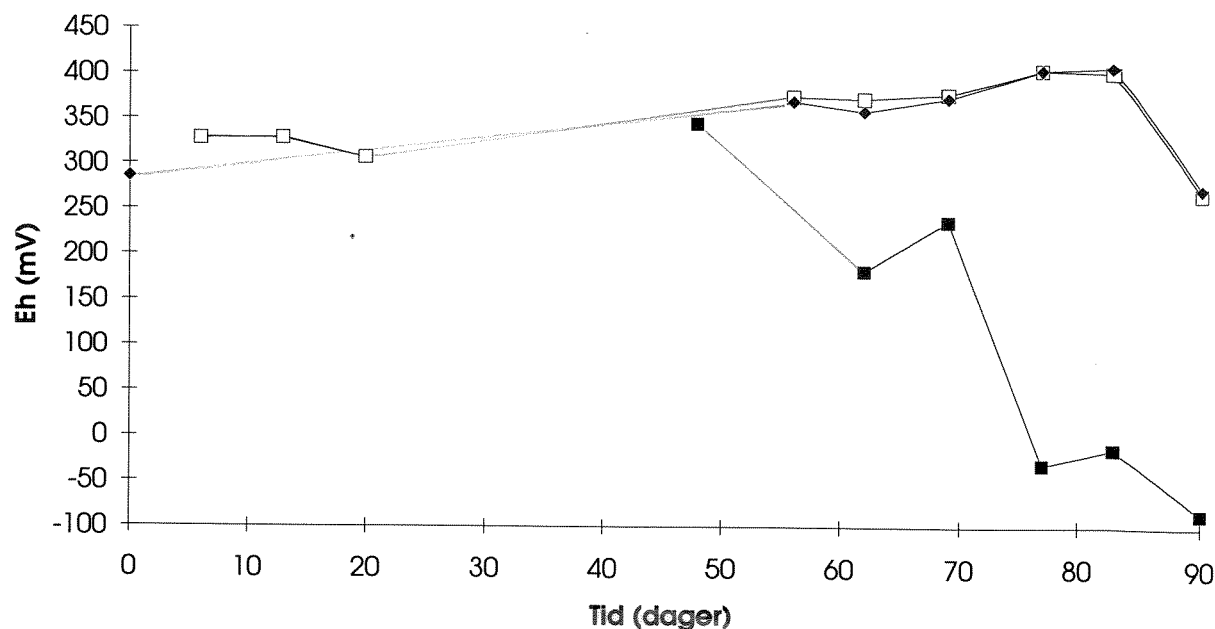
Fig. 11. Variasjoner i pH i tank A (■—■), tank B (□—□) og reservoaret R (◆—◆) under feltforsøkene. Målingene ble gjort i vannprøver som ble sendt ukentlig til NIVA.

De manuelle pH-målingene som ble gjort under forsøket viser at det ikke var noen tilsvarende store svingninger i pH i tank B eller i reservoaret (Fig. 11). Dette viser at den omtalte pH-senkningen i tank A ikke skyldtes endringer i gruvevannets kjemi, men etter all sannsynlighet hadde sammenheng med biologiske prosesser som var stimulert av næringsstoffene som var tilført denne tanken.

#### 4.2.5. Redokspotensiale

De kontinuerlige målingene av redokspotensiale i tank A ga resultater som syntes å være upålitelige. Dette skyldtes etter alt å dømme at det ble avsatt utfellinger på elektroden. Vi vil derfor bare bruke resultatene fra de manuelle målingene som ble gjort i vannprøver som ble sendt til NIVA fra Løkken hver uke. Alle verdier er angitt i forhold til standard hydrogen-

elektroden og følgelig benevnt  $E_h$ . Resultatene er vist i Fig. 12.



Figur 12. Variasjoner i redokspotensiale ( $E_h$ ) i avløpet fra tank A (■—■), tank B (□—□) og reservoaret R (◆—◆) under feltforsøkene. Målingene ble gjort i vannprøver som ble sendt ukentlig til NIVA.

Det viste seg at  $E_h$  holdt seg nesten konstant gjennom hele forsøket i reservoaret og tank B, mens det ble påvist en kraftig nedgang i tank A i løpet av de siste ukene (Fig.12, Tabell A6). Det at nedgangen kom så sent, tyder på at sulfat-reduksjonsaktiviteten i tank A fremdeles var i ferd med å ta seg opp da forsøket ble stoppet 27. september.

#### 4.2.6. Sulfat og metaller

Svovelkonsentrasjoner i avløpet fra tankene er vist i Fig. 13. Det antas at svovel stort sett foreligger som sulfat, men vi har ikke foretatt omregning siden vi ikke har data på innholdet av sulfid. Svovelkonsentrasjoner i avløpet fra tankene avviker såvidt lite fra hverandre, og fra konsentrasjonene i reservoaret, at det er vanskelig å se klare tendenser.

Metallkonsentrasjoner i avløpsvannet fra tankene er vist i Fig. 14 og Tabell A5. Kopper var tilstede i lave konsentrasjoner i gruvevannet og ble fjernet fra vannfasen både i tank A og B. Når det gjelder sink og jern var det imidlertid betydelige innbyrdes forskjeller mellom tankene. De periodevis lave konsentrasjonene i avløpet fra tank A, samt dannelsen av svarte utfellinger i denne tanken (Fig. 9), indikerer metallsulfid-utfelling.



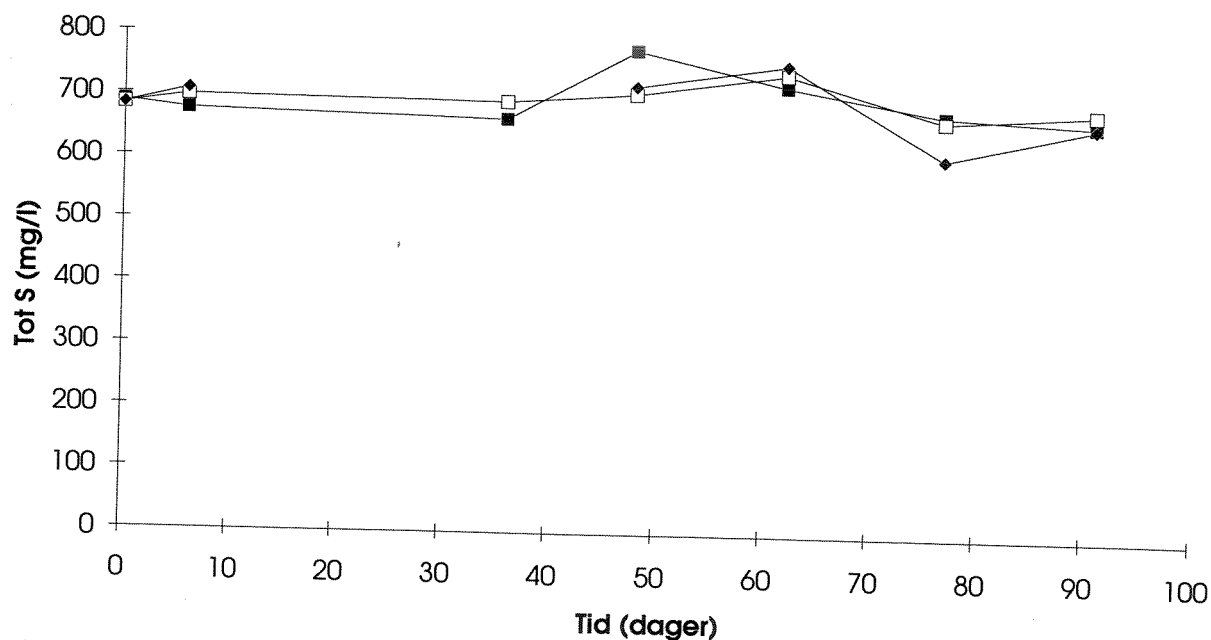


Fig. 13. Konsentrasjoner av svovel i reservoaret R (◆—◆) og i avløpet fra tank A (■—■) og B (□—□) under felteksperimentene.

ICP-analyser av det svarte slammet fra tank A viste betydelig innhold av Zn, Fe og S, samt Al, Ca og Mg (Tabell 5). Hvis man foretar en omregning fra milligram til millimol, finner man at slammet inneholder 2,28 mmol svovel og tilsammen 4,14 mmol kopper, sink og jern. Dette tyder på at en del av jernet var utfelt som hydroksid, og ikke som sulfid.

Tabell. 5. Sammensetning av svart slam tatt fra pukksteinslaget i tank A ved avslutning av feltforsøkene.

Element	Konsentrasjon (mg/g tørrvekt)	% av tørrvekt
Ca	20,6	4,8
Mg	25,8	6,0
Al	33,1	7,7
Cu	6,6	1,5
Fe	146	40,0
Zn	93,3	21,7
S	73,1	17,0
Si	4,3	1,0



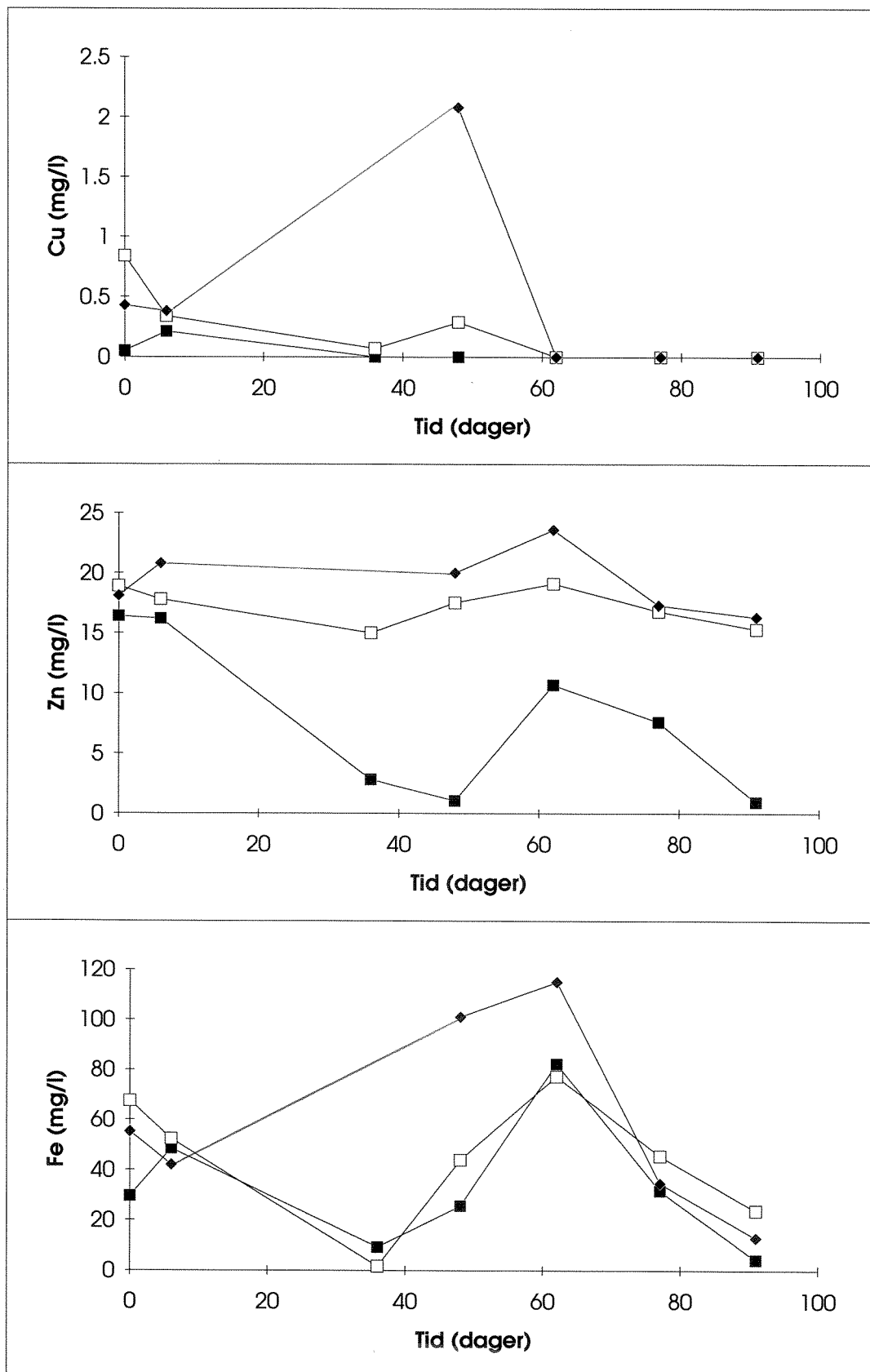


Fig. 14. Konsentrasjoner av metaller i reservoaret R (◆—◆) og i avløpet fra tank A (■—■) og B (□—□) under felteksperimentene.

## 5. Sammenfattende diskusjon

### 5.1. Oppsummering av resultatene

I laboratorieforsøkene startet sulfatreduksjonsaktiviteten nesten umiddelbart i de sylindrene som var tilført etanol og næringssalter, og det ble observert svarte metallsulfidutfellinger allerede 4 dager etter start. Etanolomsetningen og sulfidproduksjonen var størst ved 22°C og avtok markert når temperaturen ble senket via 15°C til 10°C. Kopper, sink og jern ble effektivt fjernet fra vannfasen ved 22°C, mens bare kopper og sink ble felt ut ved 10°C. pH ble hevet og  $E_h$  ble senket i de sylindrene som ble tilført etanol og næringssalter. Etanolen ble utnyttet mer effektivt av bakteriene når den ble blandet homogent inn i gruvevannet enn når den ble tilsatt ved pulsing.

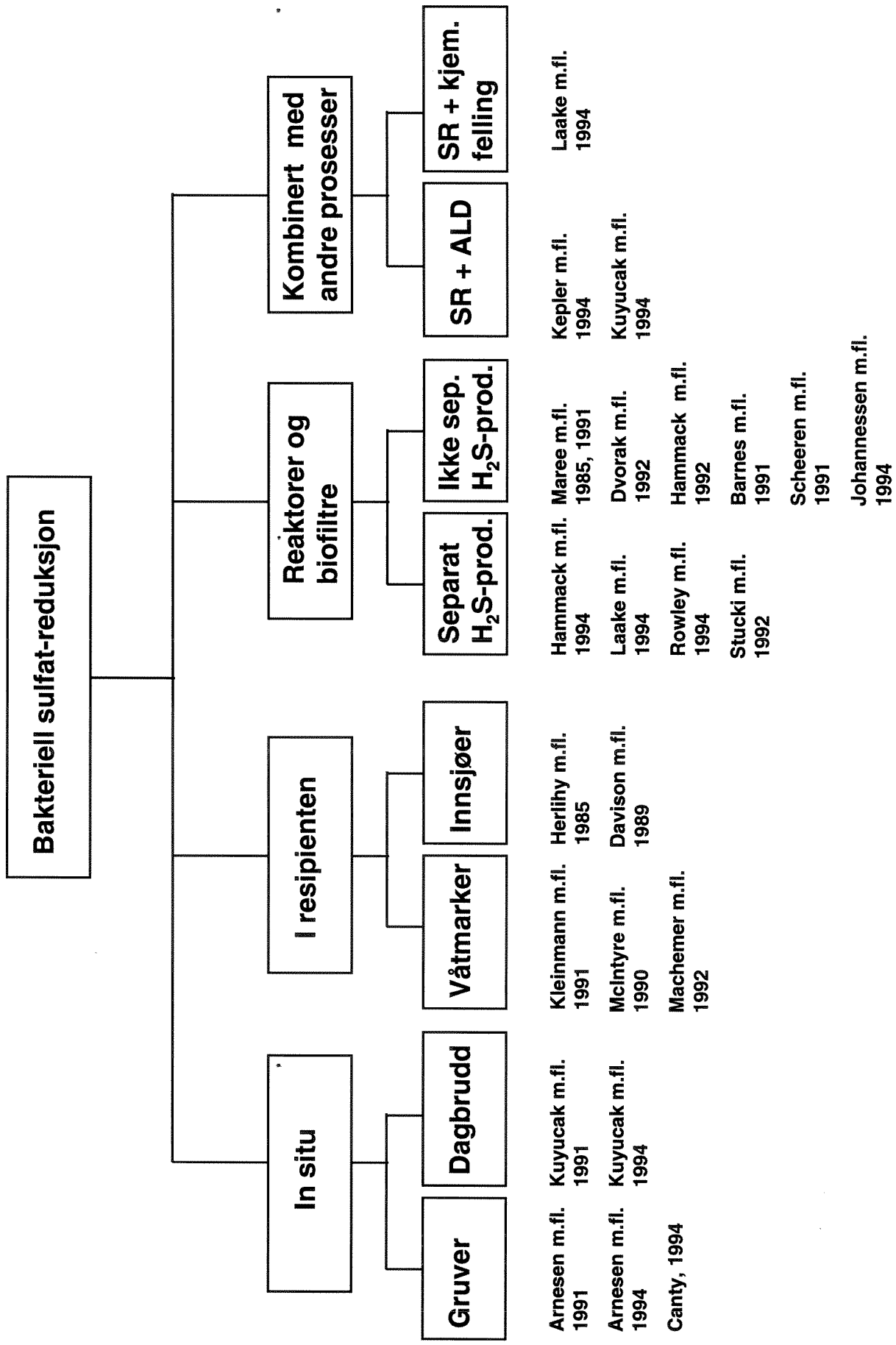
Under feltforsøkene på Løkken tok det ca. 8 uker å få etablert sulfat-reduksjonsaktivitet i tank A, som ble tilført etanol og næringssalter. Etter denne tid fungerte prosessen tilfredsstillende; etanolen ble effektivt omsatt og det ble dannet svarte metallsulfidutfellinger. Konsentrasjonen av kopper og sink i vannet ble redusert betraktelig, mens jern-konsentrasjonen bare i liten grad ble påvirket. pH i inngående og utgående vann holdt seg relativt konstant rundt 6,0, mens  $E_h$  sank kraftig mot slutten av forsøket i tank A.

Både under laboratorieforsøkene og feltforsøkene ble det målt høye konsentrasjoner av acetat i avløpsvannet. Dette innebærer at etanolen i all hovedsak ble oksidert ufullstendig, og at sulfidproduksjonen dermed utgjorde maksimalt en tredjedel av det som var teoretisk mulig (jfr. ligning 3.1 og 3.2).

### 5.2. Status for bruk av sulfat-reduksjonsprosessen til rensing av gruvevann

Internasjonalt forgår det en betydelig aktivitet med sikte på utnytte sulfatreduksjonsprosessen til rensing av gruvevann. Fig.15 viser en oversikt over ulike konsepter som har blitt foreslått for utnyttelse av prosessen, og gir henvisninger til noen sentrale publikasjoner. Vi vil i dette avsnittet kort diskutere de ulike konseptene for senere å sette våre undersøkelser inn i en større sammenheng

Fig.15 ( neste side). Foreslåtte konsepter for utnyttelse av sulfat-reduksjonsprosessen til rensing av gruvevann med henvisning til et utvalg publikasjoner.



### 5.2.1. *In situ*-konseptet

*In situ*-konseptet innebærer at man stimulerer sulfat-reduksjonsprosessen direkte i vannfylte gruver eller dagbrudd ved å tilsette organisk materiale. I tillegg til NIVA's aktiviteter på området (Arnesen m.fl., 1991, Arnesen m.fl., 1994, Johannessen m.fl., 1994), har en gruppe ved Noranda Technology Center i Montreal, Canada har gjort en serie med laboratorie- og benkeskala-forsøk for å prøve ut konseptet (Kuyucak m.fl., 1991, Kuyucak & St-Germain, 1994). Et fullskala-eksperiment er planlagt startet opp i en vannfylt gruve i Montana, USA i løpet av høsten 1994 (Canty, 1994).

### 5.2.2. Sulfatreduksjon i resipienten

Kunstige våtmarker brukes allerede i dag i stor utstrekning til å rense avrenning fra kullgruver i USA og Canada. Typisk for slik avrenning er lave pH-verdier og høyt innhold av jern, mangan og aluminium. Ca. 400 anlegg er for tiden i drift. Oksydasjon og utfelling av jern er den kvantitativt viktigste prosessen i disse anleggene, og sulfatreduksjonsprosessen spiller en helt underordnet rolle. Vannet strømmer stort sett langs overflaten og ikke gjennom sedimentene.

I løpet av de siste årene er det imidlertid gjort flere pilotstudier med en annen type kunstige våtmarker for behandling av vann fra metallgruver. Prinsippet for disse såkalte "kompost-våtmarkene" er at man leder vannet gjennom kompostert organisk materiale iblandet kalkstein. Det oppstår raskt anoksiske forhold, og SRB utnytter det organiske materialet til å produsere sulfid og bikarbonat-alkalitet. I tillegg tilføres vannet alkalitet ved at det foregår en gradvis oppløsning av kalksteinen. Siden vannstrømmen går under overflatenivået, kan disse våtmarkene fungere også på vinteren, selv om de biologiske prosessene naturlig nok går langsommere ved lave temperaturer.

Det er tidligere gjort noen få studier på innsjøer som resipienter for sur gruveavrenning. Herlihy & Mills (1989) viste at sulfatreduksjonsaktivitet i sedimenter var kvantitativt viktig for fjerning av sulfat fra vannfasen i en naturlig innsjø forurenset med sur gruveavrenning. Davison m.fl. (1989) viste at tilsetning av husdyrgjødsel til en sur og metallforurenset dam stimulerte sulfat-reduksjonsaktiviteten og bidro til nøytralisering og metallutfelling. Fotosyntetisk primærproduksjon (alger og høyere planter) tilførte ekstra organisk karbon til dette systemet. Etter 2 år ble imidlertid systemet fosfatbegrenset, fotosyntese og mikrobielle nedbrytningsprosesser stoppet mer eller mindre opp, og dammen ble igjen sur.

### 5.2.3. Reaktorer og biofiltersystemer

Når det gjelder bruk av reaktorer og biofiltersystemer for rensing av gruvevann, har vi valgt å skille mellom 2 typer av systemer i denne oversikten:

I den første typen opererer man med separate reaktorer for  $H_2S$ -produksjon og metallsulfidutfelling. Fordelen med denne typen systemer er at man kan optimalisere forholdene for både sulfidproduksjon og sulfidutfelling og om ønskelig felle metallsulfider ( $CuS$ ,  $ZnS$ ) selektivt med tanke på gjenvinning. Ulempen er at de er relativt teknisk kompliserte og krever en del overvåkning og styring. Alle publikasjonene som er listet opp i Fig. 15 refererer til forsøk som er gjort i benkeskala, dvs. med reaktorvolumer i størrelseorden 10-100 liter.

I den andre typen systemer leder man det forurensede vannet direkte gjennom enkle biofiltre der det er etablert sulfatreduksjonsaktivitet. Fordelene med slike løsninger er at de teknisk sett er svært enkle, og at de kan drives med et minimum av tilsyn. Ulempene er at forholdene for sulfidproduksjonen vanskeligere kan optimaliseres, og at bakteriene kan inaktiveres dersom tilførselen av surt vann med høyt redokspotensiale og metallinnhold blir for stor. I Nederland er en fullskala-reaktor (reaktorvolum  $1800\text{ m}^3$ ) i drift for å fjerne sink og sulfat fra forurenset grunnvann under et smelteverk. Etanol brukes som substrat for SRB i denne reaktoren.

### 5.2.4. Sulfatreduksjon kombinert med andre prosesser

Bare et fåtall publikasjoner omhandler bruk av sulfatreduksjonsprosessen i kombinasjon med andre prosesser for rensing av gruvevann. Et mulig konsept er å forbehandle gruvevann ved hjelp av sulfatreduksjon før det ledes inn i såkalte "anoxic limestone drains" (ALD).

ALD ble først utprøvd av Turner & McCoy (1990). Et ALD-system består simpelthen av en grøft fylt med kalkstein, der gruvevannet tilføres alkalitet under anoksiske forhold når det strømmer igjennom. Ved utløpet av grøfta blir vannet luftet, slik at det felles ut metallhydroksider i et nedenforliggende gruntnvannsbasseng ("kunstig våtmark"). ALD brukes nå i større og større omfang til rensing av gruvevann i USA og Canada fordi de er billige å bygge og nesten vedlikeholdsfrie (Hedin & Watzlaf, 1994). I mange tilfeller kan de være et godt alternativ til tradisjonelle kalkfellingsanlegg. For at et ALD-system skal fungere godt over lang tid, må det opprettholdes anoksiske forhold i grøfta, og innholdet av treverdige jern og aluminium i inngående gruvevann bør være lavt. Oksygen vil oksidere toverdige jern til treverdige, som vil felles ut på overflaten av kalksteinen og hindre videre oppløsning ("armorering" av kalksteinen). Aluminium vil kunne felles ut som hydroksydforbindelser og

redusere permeabiliteten.

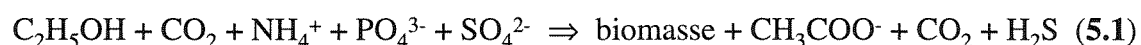
Hensikten med å bruke sulfatreduksjonsprosessen til å forbehandle gruvevann før det ledes inn i et ALD-system, er at man kan fjerne spor av oksygen og redusere treverdig jern til toverdig, slik at risikoen for armorering av kalksteinen minskes. Dessuten kan man få felt ut en del metaller og få redusert netto aciditet gjennom en slik forbehandling. Flere typer gruvevann kan dermed bli egnet for behandling i ALD-systemer. I de undersøkelsene som er gjort til nå har man brukt kompost-våtmarker til dette forbehandlingstrinnet (Kuyucak & St-Germain, 1994, Kepler & McCleary, 1994).

Sulfatreduksjonsprosessen kan også tenkes brukt sammen med hydroksid-felling i et reaktor-system. Et konsept som nylig er utprøvd av Laake m.fl. (1994), innebærer at man først feller ut jern som jern(III)hydroksid ved å justere pH med lut, for deretter å felle andre metaller ved å tilføre sulfid fra en bioreaktor. Med god kontroll over pH, er det mulig å felle metaller som kopper og sink relativt selektivt i et slikt system.

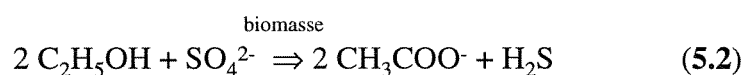
### 5.3. Prosessens begrensende faktorer

For å kunne optimalisere en biologisk/kjemisk prosess må man kunne identifisere de faktorene som til enhver tid er begrensende for prosessens hastighet. Dette gjør man enklest ved at man setter opp en ligning som beskriver prosessen, analyserer på konsentrasjoner av de forbindelsene som inngår, og vurderer om en økning eller senkning av konsentrasjonen til noen av forbindelsene vil kunne øke prosessens hastighet.

Når det gjelder sulfat-reduksjonsprosessen, ble det i vårt tilfelle tilført etanol som karbon- og energikilde,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  som nitrogenkilde,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  som fosforkilde, samt sulfat som elektronakseptor og svovelkilde. Utfra disse råstoffene, samt en rekke mikronæringsstoffer som vi ser bort fra i denne sammenheng, ble det produsert bakterie-biomasse og avfallsprodukter. Følgende forenklete ligning (ikke balansert) beskriver prosessen:



For å bygge opp biomasse trengs det en balansert næringstilsetning. Det er vanlig å regne at forholdet mellom karbon, nitrogen og fosfor (CNP-forholdet) er ca.100:16:5 i bakteriebiomasse (Bratbak, 1988). Biomassen er satt opp som et produkt i lign. 5.1, men kan også betraktes som en katalysator for respirasjonsprosessen:



Biomassen bør være tilstede i tilstrekkelig konsentrasjon til å kunne fungere som effektiv katalysator, men det er ingen fordel at det er stor netto tilvekst av biomasse under prosessen, siden dette binder opp karbon som kunne vært respirert og dermed utnyttet til sulfidproduksjon. I våre eksperimenter forekom det meste av biomassen nede i sedimentlaget. Det ble ikke gjort forsøk på å kvantifisere biomassen.

Etanolkonsentrasjonen lå stort sett under deteksjonsgrensa i første del av laboratorieforsøkene (ved 22°C) og i siste halvdel av feltforsøkene (etter at sulfat-reduksjonsaktiviteten hadde tatt seg opp), og etanol kan ha vært en begrensende faktor for prosessen i disse periodene. Etanolbehovet er stort i forhold til behovet for andre næringsstoffer. Det er vanlig å anta at anaerobe bakterier respirerer 90 % av karbon- og energikilden (etanol) og bruker 10 % til å bygge opp cellemateriale.

Under laboratorieforsøkene viste det seg at homogen innblanding av etanolen i reservoaret var gunstigere for prosessen enn tilsetning av pulser med etanol direkte inn i tilførselsslangen til første sylinder. Dette skyldes at bakteriene (særlig i den første av de seriekoblede sylindrene) periodevis ble konfrontert med større etanolkonsentrasjoner enn de klarte å omsette, og periodevis var næringsbegrenset. Deres kapasitet ble derfor ikke fullt utnyttet. Når vi allikevel valgte å tilsette etanol og næringssalter i form av pulser under feltforsøkene på Løkken, var dette for å slippe å installere en doseringspumpe som ville ha krevd jevnlig ettersyn.

CO<sub>2</sub> står oppført både som et nødvendig næringsstoff og som avfallsprodukt i ligning 5.1. Bakgrunnen for dette er følgende: De fleste SRB som vokser på organiske forbindelser bestående av 2 karbonatomer (C<sub>2</sub>-forbindelser), som f.eks. etanol, krever en C<sub>1</sub>-forbindelse for å bygge opp C<sub>3</sub>-forbindelser til cellemateriale. Det er tidligere vist at dette er tilfelle for den SRB-stammen som ble brukt som inokulum i eksperimentene (Johannessen m.fl. 1994). Samtidig kan det bli produsert CO<sub>2</sub> dersom det foregår fullstendig oksidasjon i systemet. Ufullstendig oksidasjon av etanol til acetat gir ingen CO<sub>2</sub>-produksjon. Vi har ingen analyser som sier noe om CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen i sylindrene, men det kan ikke utelukkes at mangel på CO<sub>2</sub> kan ha begrenset biomasseøkningen i systemet.

Ammonium ble påvist i vannfasen ved alle målinger både i laboratorie- og felteksperimentene og var neppe noen begrensende faktor for prosessen. Når det gjelder forfor var konsentrasjonene under analysemetodens deteksjonsgrense (0,1 mg/l) i tank **A** og **B** i første del av feltforsøkene. Etter at SR-aktiviteten hadde tatt seg opp midt i august ble det påvist høyere konsentrasjoner i tank **A**. Dette skyldes trolig at fosfat ble felt ut kjemisk i første del av forsøket, men gikk i løsning igjen etter at forholdene ble anaerobe. Det er derfor ikke grunnlag for å si at systemet var begrenset av tilgangen på fosfor selv om konsentrasjonene i vannfasen

periodevis var lave. Sulfat var tilstede i overskudd under hele forsøksperioden, både under laboratorie-eksperimentene og felteksperimentene.

Det er viktig å være klar over at ikke bare næringsbegrensning, men også produktinhibering kan begrense prosessen. Acetat kan i likhet med andre organiske syrer virke hemmende på en rekke forskjellige bakterietyper. Særlig er dette tilfelle ved lave pH-verdier. Det ble påvist betydelige konsentrasjoner av acetat i avløpsvannet både under laboratorie- og feltforsøk. Videre er det velkjent at  $H_2S$  virker toksisk. Dette gjelder også for SRB, som altså er i stand til å forgifte seg selv.  $H_2S$  er mest giftig i surt miljø. Dette tyder på at det er den udisosierte formen som gjør mest skade, trolig ved å diffundere inn gjennom cellemembranen og reagere med viktige komponenter som f.eks jernholdige enzymer og koenzymer.

#### **5.4. Miljøforholdenes innvirkning på prosessen**

I tillegg til komponentene som inngår i ligning 5.1, vil selvsagt miljøforholdene ha stor innvirkning på sulfatreduksjonsprosessens effektivitet og "driftsikkerhet". Resultatene fra våre forsøk tyder på at temperaturen var en viktig hastighetsbegrensende faktor. Under laboratorieforsøkene ble det f.eks. påvist økende etanol-konsentrasjoner i avløpet etterhvert som temperaturen ble senket fra 22 via 15 til  $10^{\circ}C$ . Dette tyder på at omsetningshastigheten ble gradvis mindre. Også under felteksperimentene ble det gjort observasjoner som tyder på at temperaturen hadde stor betydning. En økning i sinkkonsentrasjonen i avløpsvannet etter en periode med kjølig vær i september tyder på at sulfidproduksjonen avtok midlertidig slik at mindre sink ble utfelt som sink-sulfid. Mot slutten av forsøksperioden ble det igjen noe mildere vær, og sinkkonsentrasjonen i avløpet sank fra 10,7 mg/l til under 1 mg/l. Temperaturen kom likevel ikke opp mot  $10^{\circ}C$  i denne perioden, og det virket altså som om systemet til en viss grad hadde klart å tilpasse seg en lavere temperatur.

Man kan tenke seg minst 3 mekanismer for hvordan tilpasningen til en lavere temperatur kan foregå i et slikt økosystem. For det første er det mulig at man kan få en seleksjon av bakterier som har en lavere optimumstemperatur for vekst og aktivitet enn de som var aktive i utgangspunktet. Dernest kan man tenke seg at hver enkelt bakteriecelle kan være i stand til å tilpasse seg de endrede forholdene, f.eks ved at det syntetiseres flere enzymer og øvrige molekyler som er involvert i respirasjonsprosessen. Til sist kan man tenke seg at sulfidproduksjonen fra hver enkelt bakteriecelle avtar, men at systemet som helhet opprettholder en tilnærmet konstant sulfidproduksjon ved at antall bakterier øker. Forutsetningen for å få en økning i bakteriebiomassen er selvsagt at det ikke er mangel på karbon- og energikilde eller andre næringsstoffer i systemet. Mangel på  $CO_2$  kan ha begrenset oppbygningen av biomasse i våre eksperimentelle systemer og dermed bidratt til at



tilpasningen ble vanskeliggjort. Hvorvidt et system klarer i tilpasse seg svingninger i temperaturen kan til en viss grad være avhengig av hvor raskt forholdene skifter. Langsomme forandringer gjør tilpasningen lettere.

Når det gjelder andre miljøfaktorer, vil lave pH-verdier, høyt redokspotensiale og høye tungmetallkonsentrasjoner representere de viktigste truslene for driftsikkerheten til et rensesystem for gruvevann basert på bakteriell sulfatreduksjon. Bakteriene er avhengige av å generere sitt eget reduserte og tilnærmet pH-nøytrale miljø, og kan bli inaktivert eller vasket ut av systemet dersom tilførselen av gruvevann blir for stor i forhold til sulfidproduksjonen.

Det kunstige gruvevannet som ble brukt i laboratorieforsøkene hadde pH 2,7,  $E_h$  576 mV og et kopperinnhold på 25 mg/l og representerte derfor en potensiell trussel mot de sulfat-reducerende bakteriene. Aktiviteten i sylindrene holdt seg på et tilfredsstillende nivå under det meste av forsøket, men avtok betydelig etter at temperaturen var senket til 10°C. Dette viste seg først og fremst ved at konsentrasjonen av etanol og jern økte i avløpet i denne perioden. Resultatene tyder altså på at bakteriene har små problemer med å avgifte gruvevannet så lenge temperaturen ikke er for lav og gjennomstrømningshastigheten ikke er for høy.

Det naturlige gruvevannet som ble brukt i feltforsøkene hadde en pH på 5,8-6,0 og et lavt kopperinnhold og ble derfor antatt å være mindre giftig. Det faktum at sulfatreduksjonen tok seg kraftig opp i tank A like etter en periode med meget høy gjennomstrømning i begynnelsen av august bekrefter dette.

## 5.5. Muligheter for å øke prosessens effektivitet

Utfra de observasjoner som ble gjort under den eksperimentelle delen av prosjektet, kan det synes som om det eksisterer et betydelig potensiale for å øke prosessens effektivitet. Vi vil kort omtale tre faktorer.

- Vekst- og respirasjonshastigheten til SRB øker vanligvis med mellom 2 og 3,8 ganger når man hever temperaturen med 10°C (Widdel, 1988). De fleste SRB har en optimumstemperatur i området 30-37°C og en maksimumstemperatur i området 37-39°C. Noen termofile arter har en optimumstemperatur på ca. 60°C. Dersom man eksempelvis hever temperaturen i et system med aktiv sulfat-reduksjon fra 10 til 30°C, kan man altså forvente at sulfidproduksjonshastigheten øker 4-14 ganger, forutsatt at ikke mangel på næringsstoffer begrenser aktiviteten.
- Feltforsøkene viste at det tar lang tid å få etablert et system som fungerer godt. Det vil hele

tiden foregå en seleksjon av bakterier og det kan ta lang tid å nå fram til sammensetning som er gunstig. Redokspotensialet i tank A var fremdeles synkende da forsøket ble avsluttet, og dette kan tyde på at man kunne økt effektiviteten ved å kjøre systemet over lengre tid.

- Det ble ikke funnet tegn til at acetat i nevneverdig grad ble oksidert videre til CO<sub>2</sub> i forsøkene. Både utfra hensyn til prosessens effektivitet og avløpsvannets kvalitet ville en slik omsetning være sterkt ønskelig. For det første ville en fullstendig oksidasjon medføre at det ble produsert 1,5 mol sulfid pr. mol etanol forbrukt, mot 0,5 mol ved ufullstendig oksidasjon til acetat (ligning 3.1 og 3.2). Dernest ville man redusere eller eliminere et problem med utslipp av organisk materiale fra prosessen.

Det er uklart hvorfor det tilsynelatende bare foregikk ufullstendig oksidasjon av etanol til acetat i forsøkene. Flere acetatutnyttende SRB-arter er nemlig kjent (Widdel, 1988), og enkelte av disse har vist seg å ha en svært høy spesifikk veksthastighet under kontrollerte og gunstige vekstbetingelser i laboratoriet (Stucki m.fl., 1993). Utfra rent termodynamiske betraktninger er dessuten acetatoksidasjon koblet til sulfat-reduksjon en prosess som gir et betydelig energiutbytte for bakteriene.

Observasjoner fra laboratorieeksperimenter kan tyde på at acetatoksiderende SRB er mer følsomme for fritt sulfid enn andre typer SRB (Stucki m.fl. 1993), og derfor kan bli hemmet i systemer der fritt sulfid akkumuleres. I forbindelse med byggingen av et fullskala-anlegg for rensing av sinkholdig grunnvann ved hjelp av sulfat-reduksjon i Nedreland, ble det gjort forsøk som viste at man kunne stimulere til fullstendig oksidasjon av substratet (etanol) ved å forlenge vannets oppholdstid i bioreaktoren (Barnes m.fl., 1991). Det viste seg likevel å være mer lønnsomt å kjøre reaktoren med kortere oppholdstid slik at det ble produsert acetat som avfallsprodukt, for så å bruke acetaten som substrat for bakteriell metanproduksjon.

## 5.6. Forsøkernes overføringsverdi

Både i laboratorieforsøkene og feltforsøkene ble det lagt vekt på å bruke enkle modellsystemer, slik at resultatene skulle ha overføringsverdi til naturlige resipienter for gruvevann.

Den viktigste forskjellen mellom våre forsøksoppsett og en naturlig innsjø-resipient var at vannstrømmen gikk *gjennom* sedimentene i våre eksperimenter, mens den hovedsaklig vil gå *langs* sedimentoverflaten i en innsjø. Dette betyr på den ene siden at bakterier som er etablert nede i et naturlig sediment får dårligere tilgang til vanntransporterte næringsstoffer enn det som var tilfellet i våre forsøk, siden diffusjonshastigheten nedover i sedimentene vil være

liten. På den annen side kan det bli lettere å opprettholde gunstige pH/E<sub>H</sub>-betingelser for sulfat-reduksjonsprosessen i et naturlig sediment, siden bakteriene ikke blir så direkte eksponert for det forurensede vannet og i langt større grad vil være beskyttet mot utvasking.

Forsøkene er også til en viss grad relevante for å vurdere hvordan enkle biofiltersystemer for rensing av gruvevann kan tenkes å virke. Særlig gjelder dette laboratorieforsøkene, der vannstrømmen gikk gjennom forholdsvis tykke lag med sand og singel. Observasjoner som ble gjort tyder på at det foregikk en viss kjemisk nøytralisering av det sure vannet når dette strømmet gjennom sand- og singellaget, men at denne kapasiteten ble brukt opp i løpet av forsøksperioden. Det ble gradvis dannet svarte soner som viste at det foregikk sulfatreduksjon og sulfidfelling av metaller.

Mikroskopering av prøver fra vannfasen i den første av de seriekoblede sylindrene viste at det var liten bakterietetthet, noe som tyder på at den alt overveiende delen av bakteriene var festet til overflaten av sand og singel. Det er velkjent at bakterier foretrekker å vokse i beskyttende biofilmer på faste overflater når de utsettes for ugunstige miljøforhold. I den andre av de seriekoblede sylindrene ble det derimot adskillig tettere med bakterier i vannfasen (størrelsesorden 10<sup>7</sup> celler pr. ml). Dette viser at miljøforholdene for anaerobe bakterier hadde blitt bedre, slik at det ikke lenger var nødvendig å vokse i biofilmer for å klare seg.

Vi valgte å tilføre lett nedbrytbart organisk materiale (etanol) oppløst i vannfasen i våre modellsystemer. Alternativt, eller som et supplement, kan man bruke organisk materiale i fast form, f.eks. sagflis eller halm, blandet inn i sanden (Tuttle, m.fl., 1969). Ulempen er at nedbrytning av slike avfallstoffer går langsomt, og at man dermed må forvente en økning i oppholdstiden. Fordelen er at man kan få etablert systemer som fungerer over lengre tid med lite ettersyn og vedlikehold. Dessuten kan man i utgangspunktet ha en jevn fordeling av substratet, slik at man kan ha en aktiv biomasse fordelt i hele systemet. I systemer som tilføres organisk materiale oppløst i vannfasen vil det trolig lettere kunne oppstå short-cup-passasjer som gjør at aktiviteten avgrenses til mindre soner der det stadig tilføres ny næring.

## 5.7. Konklusjoner

- Både laboratorie- og feltforsøkene viste at tilsetning av etanol og næringssalter til gruvevann stimulerte bakteriell reduksjon av sulfat til sulfid, og dermed utfelling av metallsulfider.
- I laboratorieforsøkene ble det dosert inn 0,1 % (768 mg/l) etanol som substrat for bakteriene. Dette var tilstrekkelig til å fjerne 25 mg/l Zn og 100 mg/l Fe fra det kunstige gruvevannet, samt til å gi et betydelig overskudd av fritt sulfid.

- I feltforsøkene ble det dosert inn ca. 0,03 % (vol/vol) etanol. Dette var tilstrekkelig til å fjerne ca. 2 mg/l Cu og ca. 20 mg/l Zn fra gruvevannet og periodevis gi et lite overskudd av fritt sulfid.
- Laboratorieeksperimentene ble gjennomført ved 22, 15 og 10°C. Prosessen var langt mindre effektiv ved 10°C enn ved 22°C. Under felteksperimentene varierte temperaturen innenfor det samme intervallet, og delvis noe under 10°C på slutten, men aktiviteten holdt seg likevel på et akseptabelt nivå. Dette kan tyde på at gradvis temperatursenkninger tåles bedre enn plutselige.
- Etanolen ble utnyttet mer effektivt når den ble blandet homogent inn i gruvevannet enn når den ble tilsatt som pulser med jevne mellomrom.
- Gjennomsnittlig oppholdstid i tankene var ca. 10 døgn. Dersom man tenker seg en direkte oppskalering av prosessen for å ta hånd om den samlede avrenningen fra Løkken-gruva (ca. 1600 m<sup>3</sup> pr. døgn) ville man trenge et system på 16000 m<sup>3</sup> og man ville måtte dosere ca. 540 liter etanol pr. døgn.
- Prosessens effektivitet kan tenkes økt på flere måter, bl.a. ved å la bakteriene få bedre tid til å etablere seg og ved å kjøre prosessen ved høyere temperatur. Dessuten ville sulfidproduksjonen teoretisk sett kunne økes med bortimot 300 % dersom det var mulig å styre prosessen slik at substratet (etanolen) ble fullstendig oksidert til CO<sub>2</sub> og ikke bare til acetat.
- Internasjonalt foregår det en betydelig aktivitet med sikte på utnytte sulfat-reduksjonsprosessen til rensing av gruvevann. Det forskes både på teknisk kompliserte løsninger for selektiv felling og gjenvinning av verdifulle metaller og på enkle systemer der vannet strømmer passivt gjennom en sone med aktiv sulfat-reduksjon. Tendensen synes å være at utviklingen av enkle systemer som krever lite oppfølging og vedlikehold blir prioritert.
- Forsøkene som er gjennomført som en del av dette prosjektet har økt vår forståelse av sulfat-reduksjonsprosessen og bidratt til å avklare hva som kan være aktuelle og realistiske bruksområder. Etter vår oppfatning vil prosessen være best egnet til å ta hånd om små sig av forurenset gruvevann. Siden bakterieaktiviteten stort sett foregikk nede i sand-, singel- og pukkesteinslaget, mener vi at det mest interessante konseptet er en form for biofiltersystem der vannet strømmer langsomt gjennom en anoksisk sone hvor det foregår aktiv sulfat-reduksjon.

## 6. Referanser

**Arnesen, R.T., Iversen, E.R., Källquist, S.T., Laake, M., Lien, T. and Christensen, B.** (1991). Monitoring water quality during filling of the Løkken mine: A possible role of sulfate-reducing bacteria in metal removal. Proceedings, Sec. Int. Conference on the Abatement of Acidic Drainage, Montreal, Canada, Sept. 1991.

**Arnesen, R.T., Nygaard, K., Iversen, E.R., Christensen, B., Slørdahl, A. og Bollingmo, Å.** (1992). Vannfylling av Wallenberg gruve, Løkken. Rapport til SFT (NIVA-rapport nr. 3079).

**Barnes, L.J., Janssen, F.J., Scheeren, P.J.H., Versteegh, J.H. and Koch, R.O.** (1991) Simultaneous microbial removal of sulphate and heavy metals from waste water. Presented at the first European Metals Conference, Bruxelles, Belgium, 15-20. sept. 1991.

**Bratbak, G.**, (1988). Production, amount and fate of a bacterial biomass in marine waters. Dr.philos-avhandling, Universitetet i Bergen.

**Canty, M.** (1994) Practical applications of SRB to control acid mine drainage at the Lilly Orphan Boy near Elliston, Montana. Presented at Mine Design, Operations and closure Conference, April, 12-14, 1994, Whitefish, MT.

**Cord-Ruwisch, R.** 1985. A quick method for the determination of dissolved and precipitated sulfides in cultures of sulfate-reducing bacteria. *J. Microbiol. Methods*, 4:33-36.

**Davison, W., Reynolds, C.S., Tipping, E. and Needham, R.F.** (1989). Reclamation of acid waters using sewage sludge. *Environ. Pollut.* 251-274.

**Hammack, R.W., Dvorak, D.H. and Edenborn, H.M.** (1993). The use of biogenic hydrogen sulfide to selectively recover copper and zinc from severely contaminated mine drainage. In: Proceedings of the International Biohydrometallurgy Symposium, Jackson Hole, WY. Edited by A.E. Torma, J.E. Way and V.L. Lakshmanan, pp 631-639.

**Hammack, R.W., Dvorak, D.H. and Edenborn, H.M.** (1994). Selective metal recovery using biogenic hydrogen sulfide: Rio Tinto Mine, Nevada. International Symposium on Extraction and Processing for the Treatment and Minimization of Wastes, San Fransisco, February 27- March 3, 1994.

**Hedin, R.S. and Watzlaf, G.R.** (1994) The effects of anoxic limestone drains on mine water chemistry. Proceedings, Third Int. Conference on the Abatement of Acidic Drainage,

Pittsburgh, PA, April 1994.

**Herlihy, A.T and Mills, A.L.** (1989). Factors controlling the removal of sulphate and metals from the waters of an acidified lake. *Water Air Soil Pollut.* **45**,135-155.

**Johannessen, M., Christensen, B.A. and Nygaard, K.** (1994). Biological fixation of metals in mine drainage and ore wastes. Rapport til Nordisk Industrifond.

**Kepler, D.A. and McCleary, E.C.** (1994) Successive alkalinity-producing systems for the treatment of acid mine drainage. Proceedings, Third Int. Conference on the Abatement of Acidic Drainage, Pittsburgh, PA, April 1994.

**Kleinmann, R.L.P., Hedin, R.S. and Edenborn, H.M.** (1991) Biological treatment of mine water-an overview. Proceedings, Sec. Int. Conference on the Abatement of Acidic Drainage, Montreal, Canada, Sept. 1991.

**Kuyucak, N., Lyew, D., St-Germain, P. and Wheeland, K.** (1991). *In situ* treatment of acid mine drainage in open pits. Proceedings, Sec. Int. Conference on the Abatement of Acidic Drainage, Montreal, Canada, Sept. 1991.

**Kuyucak, N. and St-Germain, P.** (1994 a). *In situ* treatment of acid mine drainage by sulfate-reducing bacteria in open pits. Proceedings, Third Int. Conference on the Abatement of Acidic Drainage, Pittsburgh, PA, April 1994.

**Kuyucak, N. and St-Germain, P.** (1994 b). Possible options for *in situ* treatment of acid mine drainage seepages. Proceedings, Third Int. Conference on the Abatement of Acidic Drainage, Pittsburgh, PA, April 1994.

**Laake, M., Håøya, A.O., Huisman, J. and Gerritsen, R.** (1994). Sulphate reduction bioreactor development. Rapport til Nordisk Industrifond.

**Machemer, S.D. and Wildeman, T.R.** (1992) Organic complexation compared with sulfide precipitation as metal removal processes from acid mine drainage in a constructed wetland. *J. Contaminant Hydrology*, **9**, 115-131.

**Maree, J.P. and Strydom, W.F.** (1985) Biological sulphate removal in an upflow packed bed reactor. *Water. Res.* **19**(9), 1101-1106.

**Maree, J.P., Hulse, G., Dods, D. and Schutte, C.E.** (1991) Pilot plant studies on microbial sulphate removal from industrial effluent. *Wat. Sci. Tech.* **23**, 1293-1300.

**McIntyre, P.E. and Edenborn, H.M.** (1990) The use of bacterial sulfate reduction in the treatment of drainage from coal mines. Paper presented at the 1990 Mining and Reclamation Conference and Exhibition, Charleston, WV, April 23-26, 1990.

**Rowley, M., Warkentin, D.D., Yan, V.T. and Piroshco, B.M.** (1994). The biosulfide process: Integrated biological/chemical acid mine drainage treatment-results of laboratory piloting. Proceedings, Third Int. Conference on the Abatement of Acidic Drainage, Pittsburgh, PA, April 24-29, 1994.

**Scheeren, P.J.H., Koch, R.O., Buisman, C.J.N., Barnes, L.J. and Versteegh, J.H.** (1991) New biological treatment plant for heavy metal-contaminated groundwater. Presented at the First European Metals Conference, Bruxelles, Belgium, 15-20. Sept. 1991.

**Stucki, G., Hanselmann, K.W. and Hürzeler, R.A.** (1993). Biological sulfuric acid transformation: reactor design and process optimization. *Biotechnol. Bioeng.* **41**,303-315.

**Turner, D. and McCoy, D.** (1990) Anoxic alkaline drain system, a low cost acid mine drainage treatment alternative. Proceedings, National Symposium of Mining, Lexington, KY, May 14-18, 1990.

**Tuttle, J.H., Dugan, P.R., Macmillan, C.B. and Randles, C.I.** (1969) Microbial dissimilatory sulfur cycle in acid mine water. *J.Bacteriol.* **97**, 594-602.

**Widdel, F.** (1988) Microbiology and ecology of sulfate- and sulfur-reducing bacteria. In: *Biology of anaerobic microorganisms*. Ed. by A.J.B. Zehnder. J. Wiley & Sons, Inc.

**Widdel, F. and Pfennig, N.** (1981) Studies on dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. I. Isolation of new sulfate-reducing bacteria enriched with acetate from saline environments. Description of *Desulfobacter postgateii* gen. nov, sp. nov. *Arch. Microbiol.* **129**:395-400.

## 7. Appendix

Tabell A1. Nærings salt-løsninger brukt for å stimulere mikrobiell vekst i oppstartingsfasen av felt-forsøket på Løkken 10. juni-94. Z81 og Z82 ble blandet 1:1 og det ble tilsatt 1 liter til tank A.

Z81	Z82
NaNO <sub>3</sub> : 46,7 g/l	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> : 3,1 g/l
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> x 4 H <sub>2</sub> O: 5,9 g/l	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> : 2,1 g/l
MgSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O: 2,5 g/l	
Vanlig dosering i algemedium: 10 ml/l	Vanlig dosering i algemedium: 10 ml/l

Tabell A2. Konsentrasjoner av nærings saltene ammonium og fosfat, angitt henholdsvis som mg N/l og mg P/l, i avløpet fra sylinder 1-6 under kontinuerlig drift av laboratorieforsøkene.

Dato	Dag	Ammonium (mg N/l)					
		Syl. 1	Syl. 2	Syl. 3	Syl. 4	Syl. 5	Syl. 6
25.03	4	1	10,2	28,9	13,8	32,1	10,5
06.04	16					34,8	27,6
08.04	18	0,7	1,9	42,7	27,6	32,0	30,0
10.04	20					35,0	25,0
18.04	28	0,35	0,95	30,8	23,8	31,2	22,9
02.06	73		0,35		24,7		31,7

Dato	Dag	Fosfat (µg P/L)					
		Syl. 1	Syl. 2	Syl. 3	Syl. 4	Syl. 5	Syl. 6
25.03	4	83	4520	1650	6190	126	676
06.04	16					15	190
08.04	18	20	468	2440	1880	7	120
10.04	20					22	56
18.04	28	8	277	2510	1880	145	18
02.06	73		1		1060		97



Tabell A3. Metallkonsentrasjoner (mg/l) i reservoarer og avløp fra sylindre under laboratorie-  
 forsøkene. R.1,2 = reservoar for syl.1+2, R.3,4 = reservoar for syl.3+4, R.5,6 = reservoar for syl.5+6.

Dato	Temp (°C)	Syl.	Ca	Mg	Al	Cd	Co	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	S	Si	Zn	
24.03		R.1,2						25.2	118				487		27.9	
		R.3,4						25.7	149				473		28.4	
		R.5,6						26.3	210				466		28.3	
25.03	22	1						0.07	56.7				460		7.2	
		2						<0.02	2.76				220		0.03	
		3							<0.02	0.55				295		0.01
		4							<0.02	<0.02				69		0.01
		5							<0.02	28.2				406		2.10
		6							<0.02	0.14				59		0.03
08.04	22	1						3.37	91.6				487		23.8	
		2						<0.02	53.0				474		0.18	
		3							<0.02	14.6				1240		0.03
		4							0.02	0.14				253		0.37
		5							<0.02	39.9				477		0.12
		6							<0.02	0.30				676		<0.01
18.04	15	1						11.9	93.8				470		28.5	
		2						<0.05	69.7				464		2.85	
		3							<0.05	57.8				335		0.01
		4							<0.05	0.56				248		0.04
		5							<0.05	86.5				420		2.02
		6							<0.05	<0.05				261		0.02
09.05	15	1														
		2	144	5.26	0.35	<0.01	0.02	0.10	95.0	2.38	0.06	<0.10	466	9.60	19.9	
		3	22.7	4.60	0.70	<0.01	<0.02	<0.05	116	0.72	<0.02	<0.10	342	8.62	0.04	
		4	66.5	2.33	<0.15	<0.03	<0.05	<0.05	0.65	2.28	<0.05	<0.20	111	8.81	0.07	
		5	45.3	3.18	4.31	<0.01	<0.02	0.61	134	0.97	<0.02	<0.10	455	5.52	14.5	
		6	129	3.45	<0.15	<0.01	<0.02	<0.05	18.9	2.91	<0.02	<0.10	436	6.28	0.02	

Tabell A3. (fortsatt). Sylinder 7 og 8 er negative kontroller som er tilført kunstig gruvevann uten tilsetninger.

Dato	Temp (°C)	Syl.	Ca	Mg	Al	Cd	Co	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	S	Si	Zn
16.05	10	1	38.2	5.02	7.25	<0.01	0.02	21.8	79.9	0.89	0.05	<0.10	476	8.91	30.8
		2	139	5.52	<0.05	<0.01	0.02	<0.02	36.9	2.11	0.04	<0.10	478	8.31	22.8
		3	23.7	4.58	0.45	<0.01	<0.02	<0.02	102	0.80	0.02	<0.10	455	9.02	0.03
		4	116	4.64	<0.05	<0.01	<0.02	<0.02	6.79	2.30	0.02	<0.10	327	9.31	<0.02
		5	42.1	3.51	5.84	<0.01	0.03	0.91	136	0.89	0.09	<0.10	504	6.30	24.5
		6	124	3.93	<0.05	<0.01	<0.02	0.54	27.4	2.25	<0.02	<0.10	885	5.49	<0.02
02.06	10	1	35.0	5.98	8.64	0.01	0.02	25.7	71.3	0.86	0.09	<0.10	476	9.83	33.0
		2	112	5.97	0.77	0.01	0.03	0.38	24.7	1.92	0.11	<0.10	448	9.85	33.4
		3	17.9	4.92	0.73	<0.01	<0.02	<0.02	116	0.58	0.02	<0.10	540	8.64	0.05
		4	78.8	5.04	0.17	<0.01	<0.02	<0.02	27.3	1.98	0.02	<0.10	635	9.72	<0.02
		5	23.9	4.19	8.02	<0.01	0.02	0.66	130	0.66	0.11	<0.10	483	6.28	44.4
		6	51.9	4.01	0.32	<0.01	0.02	<0.02	126	1.28	0.03	<0.10	639	6.75	0.03

29.06	22	7	43.9	6.18	1.28	<0.01	0.06	20.9	93.6	1.23	0.09	<0.10	474	2.80	25.2
		8	60.0	7.28	1.52	<0.01	0.05	17.5	71.1	1.42	0.08	<0.10	462	3.73	21.5
08.08	22	7	87.1	4.58	0.89	<0.01	0.03	22.7	65.2	1.44	0.06	<0.10	499	9.84	33.5
		8	193	4.58	<0.05	<0.01	0.04	<0.02	2.48	2.90	0.11	<0.10	475	8.87	19.8
26.09	10	7	21.6	4.92	11.0	<0.02	<0.05	37.9	57.2	0.72	0.28	0.71	456	11.2	34.8
		8	101	5.21	<0.15	<0.02	<0.05	25.9	1.50	1.80	0.40	<0.20	444	9.65	38.2

Tabell A4. pH og redokspotensiale ( $E_h$ ) i avløp fra sylinder 7 og 8 under kontrolleksperimentet.

Dato	Dag	Sylinder nr.	pH	Eh
27.06	5	7	3,36	-
		8	3,58	-
29.06	7	7	3,22	530
		8	3,30	674
11.07	19	7	5,76	347
		8	6,56	344
20.07	28	7	5,72	385
		8	6,87	382
08.08	47	7	4,31	404
		8	6,59	409
01.09	71	7	3,40	634
		8	6,10	407
26.09	96	7	3,33	-
		8	5,39	-

Tabell A5. Metallkonsentrasjoner (mg/l) i avløpet fra tank A (tilsatt næringsstoffer), tank B (kontroll) og reservoaret R under feltforsøkene.

Dato	Tank	Ca	Mg	Al	Cd	Co	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	S	Si	Zn
28.06	A	490	245	<0.05	0.02	0.76	0.05	29.5	11.0	0.09	<0.20	688	11.5	16.4
	B	488	245	<0.05	0.02	0.82	0.84	67.4	11.4	0.14	<0.20	683	13.0	18.9
	R	486	247	<0.05	0.03	0.76	0.43	55.2	11.3	0.13	<0.20	683	12.6	18.1
04.07	A	491	236	<0.05	0.03	0.75	0.21	48.5	11.9	0.11	<0.20	676	12.5	16.2
	B	511	248	0.45	0.03	0.74	0.34	52.3	12.1	0.16	<0.20	698	12.5	17.8
	R	502	253	<0.05	0.03	0.75	0.38	42.0	11.0	<0.05	<0.20	708	12.1	20.8
03.08	A	490	231	<0.05	0.04	0.52	<0.05	9.22	11.7	<0.05	<0.10	665	11.0	2.81
	B	504	232	<0.05	0.02	0.70	0.07	1.69	12.8	0.14	<0.10	693	9.6	15.0
	R													
15.08	A	492	245	<0.05	0.04	0.25	<0.05	25.6	12.5	<0.05	<0.10	778	11.5	1.06
	B	503	237	<0.05	0.04	0.72	0.29	43.9	11.8	0.10	<0.10	708	11.6	17.5
	R	489	237	3.23	0.06	0.68	2.08	101	10.4	0.12	<0.10	720	14.8	20.0
29.08	A	530	248	<0.15	0.05	0.50	<0.05	82.2	11.5	<0.05	<0.20	722	14.6	10.7
	B	519	248	<0.15	0.02	0.74	<0.05	77.2	11.3	0.10	<0.20	742	12.8	19.1
	R	513	254	<0.15	0.05	0.77	<0.05	115	11.5	<0.05	<0.20	757	15.8	23.6
13.09	A	487	227	<0.15	<0.02	0.22	<0.05	31.6	10.5	0.20	<0.20	679	11.8	7.60
	B	491	225	<0.15	<0.02	0.69	<0.05	45.5	11.5	0.32	0.47	670	11.4	16.8
	R	426	201	<0.15	<0.02	0.57	<0.05	34.6	10.1	0.45	<0.20	610	12.1	17.3
27.09	A	482	226	<0.15	<0.02	<0.05	<0.05	4.21	9.30	<0.05	<0.20	667	11.4	0.95
	B	519	233	<0.15	0.04	0.64	<0.05	23.7	10.1	<0.05	<0.20	686	10.6	15.3
	R	464	228	<0.15	0.03	0.60	<0.05	12.8	9.70	0.15	<0.20	664	11.2	16.3

Tabell A6. Diverse analyseresultater og observasjoner fra felteksperimentet på Løkken. Fosfat ble analysert med 2 forskjellige metoder og det er derfor angitt forskjellige deteksjonsgrenser.

Dato	Dag nr	Tank	Flow (l/h)	pH	E <sub>h</sub> (mV)	NH <sub>4</sub> (mg/l)	PO <sub>4</sub> (µg/l)	Etanol (mg/l)	Acetat (mg/l)	Farge
28.06	0	A				0,49	<300	54	36	Gulbrun
		B				0,05	<300	<20	<20	"
		R		5.93	286	0,46	<300	<20	<20	"
04.07	6	A		6.05	329			86	36	Gulbrun
		B		5.96	328			<20	<20	"
		R								
11.07	13	A		6.10	328			78	68	Gulbrun
		B		6.37	329			<20	<20	"
		R								
18.07	20	A	1.9	6.05	307			66	150	Gulbrun
		B	1.1	5.98	307			<20	<20	"
		R								
03.08	36	A	9.7			18,0	16500	498	134	Gulbrun
		B	15			0,06	<300	<20	<20	"
		R				0,36	<300			
15.08	48	A	0	5.02	345					Mørk grå
		B (knust)	0							
		R								Gulbrun
23.08	56	A(knust)	9.5					<20	228	
		B	9.5	6.13	375			<20	<20	Gulbrun
		R		5.68	370					"
29.08	62	A	8.4	6.10	182			<20	278	Svart
		B	8.4	5.92	373			<20	<20	Gulbrun
		R		5.70	359					"

Tabell A6. (fortsatt) Analyseresultater og observasjoner fra felteksperimentet på Løkken.

Dato	Dag nr.	Tank	Flow (l/h)	pH	E <sub>h</sub> (mV)	NH <sub>4</sub> (mg/l)	PO <sub>4</sub> (µg/l)	Etanol (mg/l)	Acetat (mg/l)	Farge
05.09	69	A	7.9	6.14	237			<20	170	Svart
		B	6.7	6.19	378			<20	<20	Gulbrun
		R		5.89	374					"
13.09	77	A	6.4	6.29	-31			<20	340	Svart
		B	4.4	6.09	405			<20	<20	Gulbrun
		R		6.01	405					"
19.09	83	A	4.4	6.09	-14			54	664	Svart
		B	4.4	6.02	402			<20	<20	Gulbrun
		R		6.08	408					"
26.09	90	A	4.3	6.21	-49	1,74	960	74	804	Svart
		B	1.8	6.26	304	0,33	1	<20	<20	Gulbrun
		R		6.15	310	0,36	2			"

---

**NIVA**



**Norsk institutt for vannforskning**

Postboks 173 Kjelsås, 0411 Oslo

Telefon: 22 18 51 00 Fax: 22 18 52 00

ISBN 82-577-2689 3