



# **Uuring Eesti argilliidist biogeense metaangaasi puuraugus (*in situ*) tootmise võimalikkuse tõestamiseks**

## **LÕPPRAPORT**

Vastavalt lepingule nr 4.3 – 2.14.420, sõlmitud 8.03.14 Ettevõtluse Arendamise Sihtasutuse ja BiotaP OÜ vahel.

**Tallinn 2014**

## SISUKORD

Töö kirjeldus .....	5
1.Eelduste kirjeldus biogeense gaasi kui uue metaankütuse kasutuselevõtuks Eestis.....	6
1.1. Sissejuhatus.....	6
1.2. Looduslik foon .....	7
1.3. Kohalikud vs sisseostetavad energiakandjad.....	8
1.4. Tehingute muutunud iseloom .....	12
1.5. Poliitika mõju energiabilanssidele .....	13
Saksamaa.....	13
Prantsusmaa .....	14
Suurbritannia.....	14
Poola .....	14
Leedus .....	15
Rootsi .....	15
Soome .....	15
1.6. Eesti eeldused ja EIA ressursiprognosisid.....	16
2. Õigusruumi kirjeldus .....	17
2.1. Sissejuhatus.....	17
2.2. Üldosa .....	18
2.3. Õiguslik alus (Visa) .....	18
2.4. Eesmärgid (artikkel 3).....	19
2.5. Säästlikkuse kriteerium (artikkel 15).....	19
2.6. Taastuvenergia osakaalu arvestamine (artikkel 5).....	20
2.7. Biogeense gaasi tootmisrada.....	20
2.8. Üldosa täiendused (COM 2012/0595/EL) .....	22
2.9. Taastuvkütused Faktor 4 ja BGL .....	24
2.10. Side 2008.a kemikaalide direktiivide paketiga REACH.....	26
2.11. Keskkonnakaitse ja energia riigiabi juhend 2014-2020.....	26
2.12. Maailma Kaubandusorganisatsiooni (WTO) lepingutega arvestamine .....	30
2.13. Eesti Vabariigi õigusaktide mõju.....	31
Maagaasiseadus: .....	31
Alkoholi, Tubaka ja Kütuseaktsiisi Seadus (ATKAS) .....	32
Elektrituru Seaduse ja Vedelkütuste Seaduse .....	32

Mõju kaubandusbilansile .....	32
3. Argilliidist lähemalt, füüsikalised-keemilised näitajad .....	33
4. Tingimuste mõju metaani tootmisele – laborikatsete kirjeldus .....	38
4.1. Peamiste seadmete ja tarvikute kasutus .....	38
4.1.1. Peamised seadmed proovide ettevalmistamiseks.....	38
4.1.2. Seadmed proovide kultiveerimiseks .....	38
4.1.3. Seadmed mikrobioloogiliste söötmete valmistamiseks .....	39
4.1.4. Analüütilised seadmed .....	39
4.1.5. Laboritarvikud, kemikaalid ja tehnoloogiad .....	39
4.2. Mikrobioloogiliste söötmete valmistamine kultiveerimiskatseteks.....	40
4.2.1. Mikrobioloogiliste söötmete (toitainelahuste) koostamine.....	40
4.2.2. Anaeroobsete mikroorganismide kasvatamiseks mõeldud söötmete valmistamine ..	45
4.3. Argilliidiproovide ettevalmistamine kultiveerimiskatseteks .....	47
4.4. Kultiveerimiskatsed argilliidi mikrokosmidega.....	47
4.4.1. Kultiveerimiskatsed seerumipudelitega .....	47
4.4.2. Kultiveerimiskatsed Oxitop® süsteemiga .....	50
4.5. Gaasi koostise kromatograafiline määramine .....	55
4.6. Metallide analüüs .....	59
4.7. Viited.....	66
5. Argilliidi metaani tootev mikroobikooslus .....	68
5.1. Metanogeensed arhed.....	68
5.2. Argilliidi mikroobikoosluse analüüs.....	68
5.2.1. Anaeroobse koosluse eraldamine biogeense gaasi tekkekohtadest .....	69
5.2.2. DNA eraldamine ja mikroorganismide identifitseerimine.....	70
5.3. Argilliidi metagenoomi määramine: ettevalmistus.....	71
5.3.1. Töö käik .....	71
5.3.2. Praimerid.....	71
5.3.3. DNA eraldamine .....	72
5.3.4. PCR reaktsioonid ja elektroforees .....	72
5.3.5. PCR-i produktide analüüs geelelektroforeesil 1% agarosgeelis .....	74
5.4. Viited.....	76
6. Mikroorganismide koosluse analüüs.....	77
7. Kokkuvõte: kuidas ja mis tingimustel biogeenne metaangaas eraldub?.....	84

7.1. Viited.....	85
8. Keskkonnamõjud .....	86
8.1. Metaangaas kütusena (energiaallikana) .....	87
8.2. Regulaatiivse raamistiku arendamine .....	88
8.3. Alternatiivsete gaaskütuste ökoloogilise jalajälje kontrollimine. ....	88
8.3.1. Tootmise heade tavade kujundamine.....	88
8.3.2.Regulatsioonide valdkonnad:.....	89
8.3.3. Rakendusaktid.....	89
8.3.4. Vesi .....	90
8.3.5. Välisõhk.....	92
8.3.6. Maakasutus ja maastiku kaitsemeetmed. ....	92
9. Tootmise võimalused .....	94
10. Emissioonid.....	97
10.1. Kasutatud lähteväärtused: .....	97
10.2. Eeldatav mõju Eesti argilliidist energiatootmise emissioonide vähendamisele Eestis....	97
10.3. Biogeense gaasi tootmise emissioonid ( <i>upstream</i> );.....	99
10.4. Biogeense gaasi järeltöötlemise, hoidmise ja transportimise emissioonid ( <i>midstream</i> )	100
10.5. Biogeense gaasi jaemüügil ja tarbimisel moodustuvad emissioonid ( <i>downstream</i> ).....	100
10.6. Kokkuvõte.....	101
11. Võimalikud lahendused .....	102
12. LISAD:.....	104

## Töö kirjeldus

BiotaP OÜ akrediteeritud katselaboratooriumis teostati riigihanke korras Ettevõtluse Arendamise Sihtasutuse (EAS) tellimusel alusuuringud biogeense gaasi tootmiseks mikroorganismide kaasabil. Lisaks määratleti metagenoomsele analüüsile tuginedes biogeenset gaasi tootvate mikroorganismide kooslus. Uuringu tulemused on esitatatud järgnevas aruandes.

Uuring viidi läbi kahes etapis, mis toimusid ajaliselt paralleelselt ajavahemikus 7.04 – 8.09.2014:

I etapis, kestvusega 4 kuud ja kaks nädalat alates seotud lepingule allakirjutamisest, viidi BiotaP OÜ akrediteeritud katselaboratooriumis läbi laboratoorsed uuringud kolmest eri asukohast pärit argilliidi proovidega.

II etapis, kestvusega 4 kuud ja kaks nädalat alates seotud lepingule allakirjutamisest, koostas uurimisrühm biogeense gaasi kui kohaliku energiakandja kasutuselevõtu strateegia eelnõu ja kirjeldas vajalikud tegevused edasiseks.

**Laboratoorsete katsetuste tulemusel saadi 7 g argilliidist 18–23 ml biogeenset gaasi metaanisisaldusega 6–53 ppm, mis teeb saagiseks kuni 121 ml metaani 1 kg kivimi orgaanilise süsiniku kohta. Pärast projekti lõppu käivitatud katsest lisasöötmega saadi 90 päeva jooksul 815 ml gaasi metaanisisaldusega 28%, saagisega 53 l metaani 1 kg orgaanilise süsiniku kohta ehk 6 l metaani 1 kg argilliidi kohta. Tavapärast arvestatakse argilliidi metaanisaagiseks 1,6 l/ kg kohta.**

**Saadud tulemustele tuginedes jätkatakse BiotaP OÜs peale antud projekti lõppu seisuga 15.09.2014 laboratoorseid katseid. Katsete eesmärgiks on välja selgitada võimalused gaasi tootmiseks pikema aja jooksul (üle kahe kuu). Lisaks täpsustatakse tingimused, mille juures gaasi eraldumine on maksimaalselt keskkonnasõbralik.**

# 1. Eelduste kirjeldus biogeense gaasi kui uue metaankütuse kasutuselevõtuks Eestis

## 1.1. Sissejuhatus

Biogeense gaasi tootmise alusuuringu teise etapi eesmärgiks on sõnastada eeldused, mis tulenevalt Rahvusvahelise Energiaagentuuri (IEA) pikkadest ja keskpikkadest prognoosidest, sõltumatutest uuringutest ja rahvusvahelistel energiaturgudel tegevate ettevõtete hinnangutest võivad tähendada täiendavate metaankütuste kasutuselevõtu vajadust Eesti energiabilansis ja regioonis laiemalt.

Küsimus Eesti argilliidist biogeense gaasi leostamise võimalusest kerkis esile 2011. aastal seoses mitmete projektidega, milles uuriti biomassi, biokütuste, biogaasi ja biometaanu kasutuselevõttu elektri ja soojuste hajatootmisel ning transpordikütuste tootmisel. Taastuvkütuste arendamine on sageli kallis ja toetusi vajav tegevus. 2011. aastal ilmunud USA Energy Information Agency kildagaasi ülemaailmsete varude hindamise raportis (LISA 4 - *EIA World Shale Gas Assessment 2011*) on Eesti tähistatud kui geoloogiliselt sobiv piirkond, seetõttu on oluline uurida ka argilliiti kui gaasi lähtekivimit. Eelpool mainitud uuringuid kasutatakse uue Energiamaajanduse Arengukava (ENMAK) koostamisel.

Käesolev uuring on osa EAS-i poolt avaliku hanke korras tellitud tegevustest, kus BiotaP OÜ akrediteeritud labori ja projekti teadusjuhtide poolt määratakse katsetega argilliidi mikroobikoosluse metagenoom ja selle põhjal metaangaasi tootmise eeldused puuraugus kohapeal (*in situ*).

Raportis on vaatluse all:

- metaani kättesaadavus argilliidist toitainetega leostamise teel, et aktiveeridaselles leiduvad mikroorganismidga;
- biogeenselt saadud metaani kasutatavus võrreldes Venemaal toodetud maagaasi ja biogaasiga;
- biogeense metaani tulevase tootmistehnoloogia keskkonnamõjud ja nende vastavus Euroopa Liidu (EL) direktiividele ning CEN (*European Committee for Standardization*) ja Eesti standarditele.

Antud uuringus ei vaadelda USA-s tormiliselt areneva termogeense päritoluga kildagaasi tootmise siirdamist Eesti oludesse. USA-s on kildakihtide paksus 60–120 meetrit. Kildagaasi tootmisel purustatakse kivim 1,5–5 km sügavustes puuraukudes pärast horisontaalpuurimist hüdraulilise löögi, kemikaalide ning liiva või keraamiliste osakeste lisamisega. Vabanenud nafta ja gaas kogutakse kokku. Eestis on argilliidikihindi sügavus 20–200 m, keskmise paksusega 5 m. Uuringu eesmärgiks on analüüsida, kas sobivate tingimuste (pH, rõhk,

mikroorganismide kooslus) koosmõjul on võimalik kivimi orgaanikast *in situ* metaangaasi toota. Analoogiliste, suhteliselt madalal paiknevate ja vähese küpsusega kiltade metaanitekitamise võime ärakasutamist tuntakse maailmas biogeense gaasi tootmisena. Suurim biogeense metaani tootmisala asub USA-s Suure Järvistuga piirnevas Antrim Shale maardlas, mis on oma 8000 puurauguga USA suuruselt neljas maardla.. Alates 2011. aastast on ka Rootsi ettevõtte Grippen Oil/Gas AB Eesti argilliidiga päritolult sarnastes, nn Alum Shale lademetes tulemuslikult biogeenset gaasi puurimisega tootnud. Niisuguste puuraukude probleemiks on aga madal tootlikkus, mida on võimalik bioleostamisega tõsta.

## 1.2. Looduslik foon

Eestis paikneb argilliidikiht piki põhjarannikut lääne suunas paksenedes selliselt, et põhjaranniku saartel ja Soome lahes on see merevee suhtes paljandunud. Merevee alla jäävas anaeroobses keskkonnas tekib metaan. Geoloogidele on tuntud veel metaanilekked rannikumere kohal ja väidetavalt on esinenud ka gaasipurskeid erinevatel puurimistöodel, mida pole küll mõõdetud ega dokumenteeritud.

Rootsis Ölandil ja Motala piirkonnas köetakse maju kohaliku gaasiga. Alum Shale on levinud ka Norras ja Taanis. EIA (USA Energia Informatsiooni Amet) 2013. a raportis (*LISA 2 - Technically Recoverable Shale Oil and Shale Gas Resources: An Assessment of 137 Shale Formations in 41 Countries Outside the United States*) on märgitud, et Taanis on proovitud antud maaki kontserni Shell poolt sarnaselt USA-s kasutatavale frakkimismeetodile purustada, kuid hüdrauliline löök sumbus pehmes kivimis ja seda ümbritsevates savides. Sama nähtust on täheldatud ka ordoviitsiumi kiltade frakkimise katsete puhul Poolas. Toodud kildad on aga leostatavad, mida täheldab ka Eesti Teaduste Akadeemia viidatud uuring, väites, et argilliidist metallide tootmisel oleks eeltöötlusena vajalik leostamine.

Gripen Oil/Gas AB ja mitmed teised energiafirmad on teostanud Rootsis Alum Shale lademetes proovipuurimisi. Erinevalt kildagaasi termogeensest tootmisest tehti puuraugud keskkonda mitte kahjustavate kaevupuurimise seadmetega. Mitmete puuraukude puhul saavutati märkimisväärne gaasi voolutase. Ettevõtte Gripen Oil/Gas AB kodulehe (<http://www.gripenab.com/>) andmetel jõudsid eksperdid järeldusele, et Rootsis on gaasivaru 12 800 TWh energia tootmiseks, mis vastab 1000 aasta pikkusele energiavarule arvestades praegust tarbimiskoormust. Maagaasi magistraalvõrkude puudumine Rootsis takistab biogeense gaasi kasutuselevõttu.

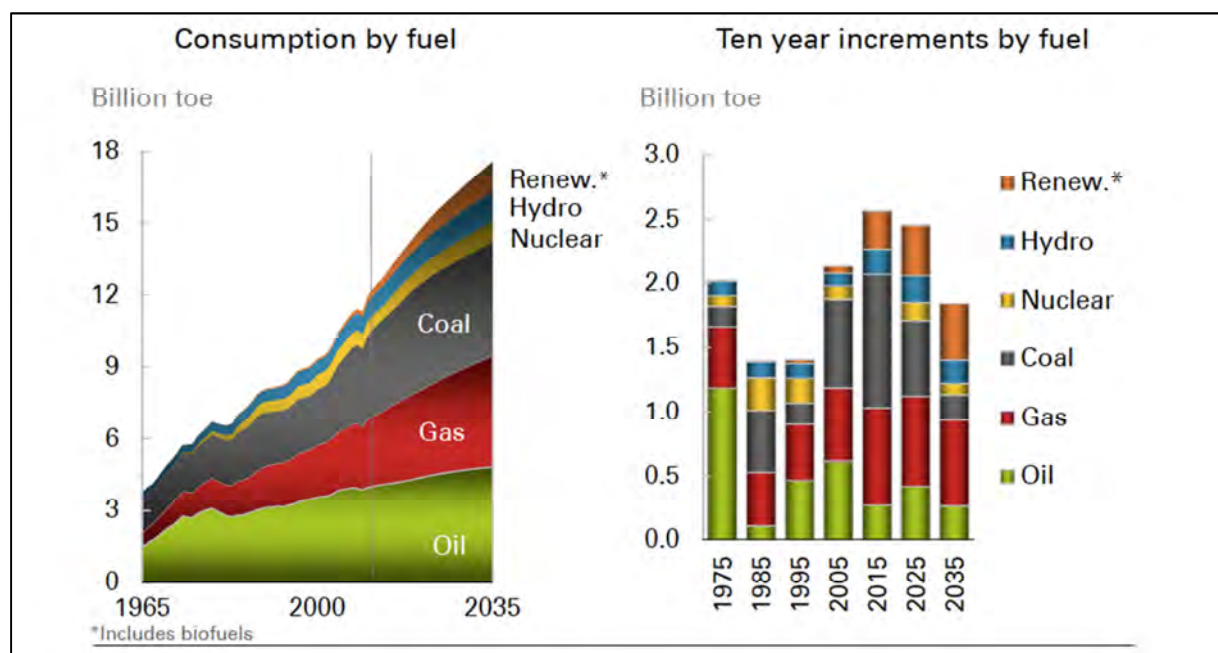
Argilliidi kogumahuks Eestis on arvestatud 60–70 mld tonni. Argilliit ei ole Eestis maavarana arvel, sest varasemad katsed seda energeetikas või metallide tootmisel kasutusele võtta ei ole osutunud majanduslikult kasulikuks. Ajakirjas Oil Shale 2011. aastal avaldatud publikatsiooni järgi (Lisa 1–Lippmaa et al, Oil Shale, 2011, Vol. 28, No. 1) on argilliiti 1940-ndate aastate lõpus kasutatud vähesel määral uraani tootmiseks.

lõpus kasutatud vähesel määral uraani tootmiseks.

Momendil ei ole Eestis ilma täiendavate uuringuteta võimalik väita, kas biogeenset metaani oleks võimalik toota kogustes, mis on arvestatavad elektrijaamade tarbeks. Teostatavuse hindamist raskendab asjaolu, et õlitechaste Petroter ja Enefit kõrvaltootena saadava uttegaasi kasutamine laieneb ka elektri ja soojuse tootmisele. Samas võimaldaksid argilliidi ladestud Tallinna ümbruses ja Lääne-Eestis kasutada ettevõtetel ja kodutarbijatel gaaskütet lokaalselt. Juhul, kui puuraukudes *in situ* toodetava biogeense metaani sisaldus ületaks 97%, oleks see müüdav ka magistraalvõrku ning sobiv täiendava puhastuseta surugaasina transportkütuseks. Viimast ei võimalda biogaas.

### 1.3. Kohalikud vs sisseostetavad energiakandjad

Eesti, olles küll energia isevarustuse osas EL liikmesriikidest Taani järel teisel kohal, ei saa varustuskindluse seisukohalt mööda vaadata faktist, et kogu maailmas kasvab nõudlus energiakandjate järele. Samaaegselt tõusevad alates 2005. aastast energiahinnad. Lisatud joonis (Joonis 1) kujutab British Petroleumi (BP) energiatarbimise kasvu prognoosi (LISA 3 – BP Energy Outlook 2035) kuni aastani 2035.



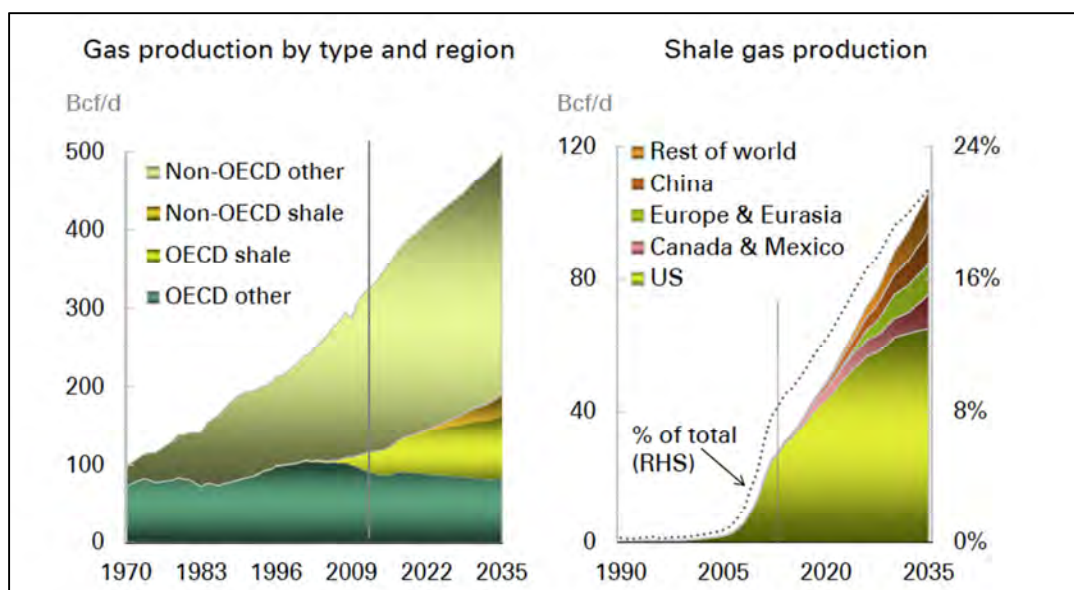
**Joonis 1. Energiatarbimise kasvu prognoos**

Energiatarbimine tõuseb praeguselt 12 mld toe (toe – tonni õliekvivalenti) tasemelt tasemele 18 mld toe, seda põhiliselt Hiina ja India arvelt. Arvestades, et olles järjest enam sõltuvuses muudest vedelkütustest ehk kemikaalidest, biokütustest ja veeldatud maagaasist (LNG), väheneb põhilise mootorikütuse ressursi – nafta tootmine ja tarbimine. Et LNG tootmine kasvab kogu



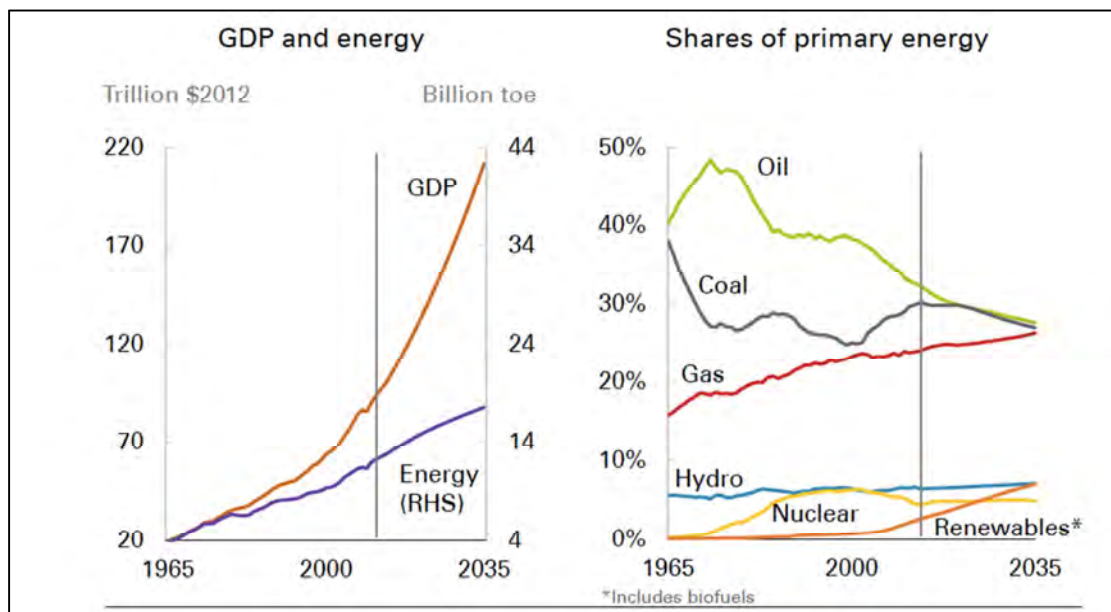
maailmas ja konkurents tiheneb, siis oleks kohalike energiakandjate leidmine Eesti majanduse konkurentsivõimet tõstev.

Joonisel 2 on näidatud prognoositud kildagaasi tootmismahdade silmatorkav tõus Aasias ja vajadus katta 2035. aastaks see peamiselt õlide raskemate fraktsioonide, kildagaasi ja taastuvkütustega. Et Eesti on maagaasi ja mootorikütuste osas 100% sisseveost sõltuv, peaksime võimalike turutõrgete korral olema valmis sisseveo võimalikult suures mahus kohalike kütustega asendama.



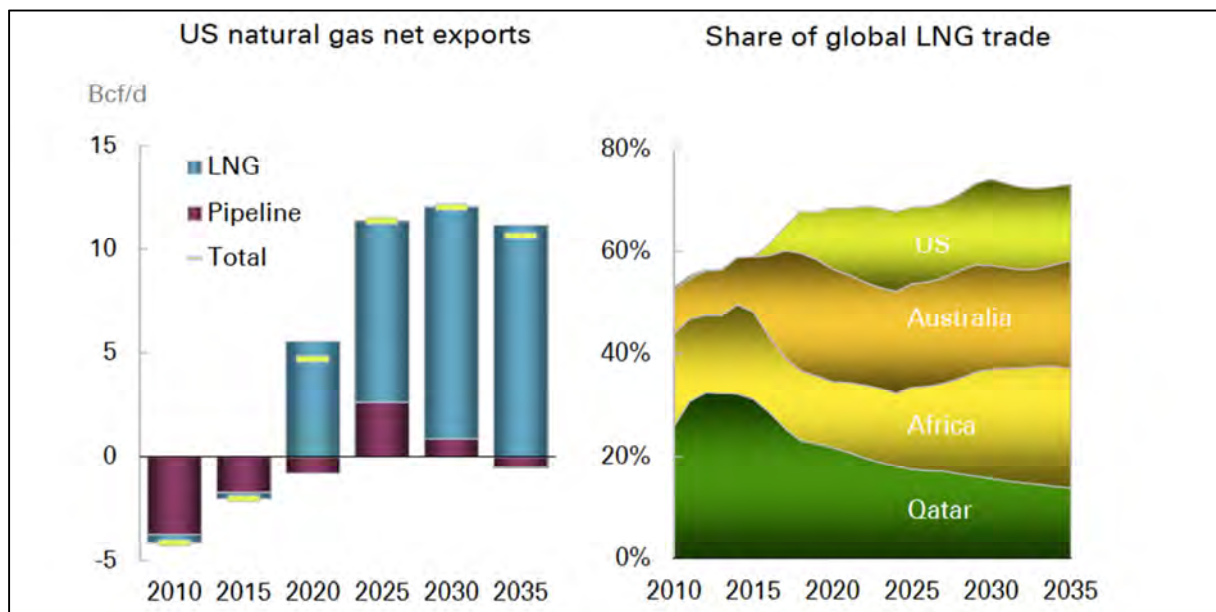
**Joonis 2. Gaasitootmise kasvu allikad BP aruande kohaselt**

Joonisel 3 esitatud parempoolne graafik näitab, et aastaks 2035 on energiakandjatest naftal, kivisöel ja gaasil pea võrdne turuosaka (25–30%), kusjuures nafta ja kivisüsi on turuosalt langevad, aga gaas tõusev kütuseliik. Vastavalt BP kommentaarile pole esimest korda peale tööstusrevolutsiooni algust maailm juhtivalt seotud vaid ühe kütusega. 2028. aastaks ületab taastuvenergia maht maailma primaarenergia bilansis tuumakütuse oma ja jõuab 2035. aastal hüdroenergiaga võrdselt 6–8%-ni.



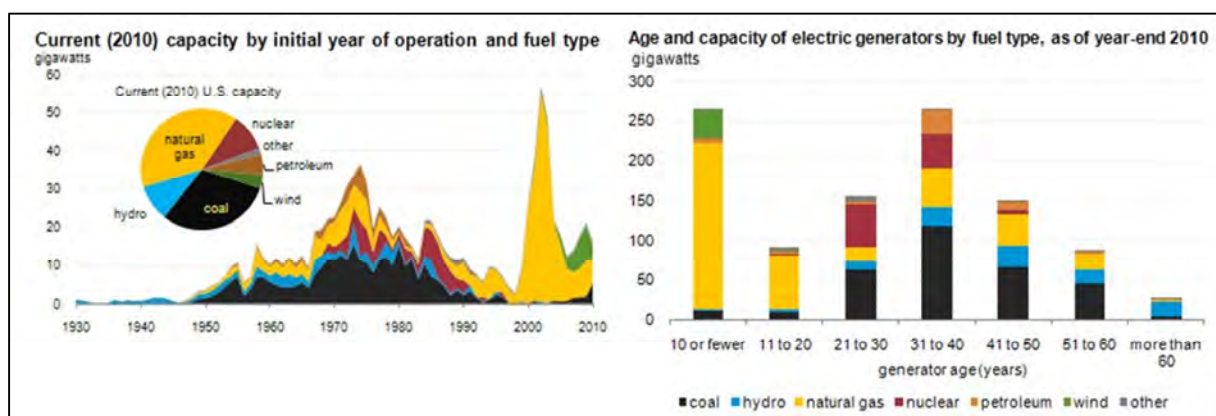
**Joonis 3. Primaarenergia allikate struktuuri prognoos (BP)**

Keerulisem on transpordikütustele alternatiivide leidmine. Selles valdkonnas nafta osa kiirelt vähendada ei saa ja elektritransport jääb suhteliselt marginaalseks nähtuseks. Suurem osa on biokütustel ja gaasil surugaasi või veeldatud maagaasi LNG vormis (Joonis 4). Aastail 2030–2035 muutub gaasi osakaal võrreldes naftaga pea võrdseks. Üsna olulisena nähakse just kildagaasi suurevat rolli. USA tarbimise struktuur on viimastel aastatel kujunenud kildagaasi põhiseks. Isegi niivõrd, et USA-s on korduvalt deklareeritud eelishuvi kasutada gaasi oma tarbeks ning eksportida hoopis oma rikkalikke kivisöe ja biomassi varusid. Mitmetel põhjustel on LNG ekspordiks vajaliku infrastruktuuri ehitamist ka pidurdatud. Kui mitmeil hinnaguil peaks ja võiks USA osa globaalsel LNG päevatehingute SPOT turul olla 6–8%, siis praegu on see 0%.



**Joonis 4. LNG ekspordi prognoos (BP)**

USA on energiamajanduses tuntud kui vabaturu maa. Selles kontekstis pakub huvi, milliseid elektri jaamu, millal ja millisel küttel on ekspluatatsiooni võetud. Viimased 20 aastat on jäägitult domineerinud gaas ja vähem tuuleenergia (vt Joonis 5). 20–30 aastat tagasi domineerisid süsi ja tuumakütus. Põhjuseks võib pidada asjaolu, et riigis, mis möödub prognooside kohaselt nafta ja gaasitoodangus 2016. aastal Venemaast ja 2018. aastal Saudi-Araabiast, on gaasikasutus majanduslikult põhjendatud. Kuna USA näol on tegemist endiselt veel maailma suurima energiatarbijaga, ei või eeldada, et oluline kogus LNG-d sellest riigist Euroopa SPOT turule tuleb. Eriti olukorras, kus toornafta eksport on aastast 1929 keelatud ja LNG terminalide rajamiseks said loada firmad, mis orienteerusid riikidele, kellel on USA-ga vabakaubandusleping. Näiteks ei saanud British Gas Ltd endale õigust kasutada esimese valmiva Sabine Pass terminali mahte, vaid õiguse sai Jaapani Sumimoto Korporatsioon.



**Joonis 5. USA elektritootmise struktuuri aegrida (EIA)**

Vaadakem ka gaasitoodangu struktuuri. Kildanafta ja –gaasi kasutamise ajajärgul on nafta ning gaasitööstus olulisel määral kokku sulanud. Uutest puuraukudest 10% tegutsevad sellistel väljadel nagu Bakken Põhja Dakotas, Eagle Ford ja Petroplex Texas. Esimest korda ajaloos toodetakse nendel mitmekihilistel kildaväljadel naftat ja gaasi enamasti koos neid moodustavast baaskivimist horisontaalpuuraukudes, mida on hakatud rajama peale 2005.aastat, mil nafta hinnad oluliselt tõusid.

Kildaväljadel kasutatav tehnoloogia kirjeldati juba 1951. aastal. Gaasiööstuse tootmis- ja tarneahela võib jagada järgmisteks etappideks:

“*upstream*” - puurimise ja torujuhtmete ala;

“*midstream*” - töötlus ja terminalid ning

“*downstream*” - transport, hulgi- ja jaekaubandus.

Kui varasem vertikaalpuurauk maksis 0,5–1,5 milj USD, siis horisontaalpuurauk kuni 7 milj USD.

Tegelikuses arvestatakse metaankütuste hulka mitmed erinevalt toodetud gaasi- ja naftaproduktid (tootmismahud on esitatud joonisel 6).

Show Data By:	Graph	2007	2008	2009	2010	2011	2012
<input checked="" type="radio"/> Data Series <input type="radio"/> Area	Clear						
Gross Withdrawals	<input type="checkbox"/>	24,663,656	25,636,257	26,056,893	26,816,085	28,479,026	29,542,313
From Gas Wells	<input type="checkbox"/>	14,991,891	15,134,644	14,414,287	13,247,498	12,291,070	12,736,678
From Oil Wells	<input type="checkbox"/>	5,681,871	5,609,425	5,674,120	5,834,703	5,907,919	4,969,668
From Shale Gas Wells	<input type="checkbox"/>	1,990,145	2,869,960	3,958,315	5,817,122	8,500,983	10,296,572
From Coalbed Wells	<input type="checkbox"/>	1,999,748	2,022,228	2,010,171	1,916,762	1,779,055	1,539,395

Joonis 6. USA gaasipuuraude struktuur (EIA)

## 1.4. Tehingute muutunud iseloom

Naftatoodete ja gaasi olulise kallinemise ajal muutusid igandiks suured vertikaalselt integreeritud kütusefirmad, kes omasid nii puurauke, torujuhtmeid, rafineerimistehaseid kui ka terminale ja jaekette. Suurt struktuuri ei jõutud hinnakõikumistes ülal pidada. Eestistki on võtta näide, kus Bakkenis tootmise ostnud Statoil oma jaeäri Kanada kaubandusketile ära müüs.

Praegu ostavad toodete müüjad konsortiumina nn MLP (*Master Limited Partnership*) alusel töötlemise ja terminalidega tegelevatelt ettevõtetelt nafta või gaasi naftasaaduste valmistoodangu eeldatava müügihinnaga, arvestades ümbertöötleva või vedaja teenustasuga. Energy/Capital andmetel on selliste tehingute arv kasvanud juba 70%-ni turu mahust. Et niisugune finantskonsortium ei ole juriidiline isik, ei arvestata igalt tehingult koheselt tulumaksu. Antud lähenemist kasutatakse ulatuslikult ka Venemaal. Eelmisel aastal müüs OAO Gazprom Neft Kiriši tehasesse Transnefti torujuhtmetega transporditud naftast toodetena 38%, mis moodustab valdava osa eksporttehingutest. Eestis on eelpool mainitud kaubandusel kahetine mõju:

- Kohapeal ümberöötlemise võimaluse puudumisel kasutatakse siinseid terminale rohkem vaheladude või hoiustamiskohtadena, mis kahandab veomahtusid. Transpordisektori mahtude langus oligi 2013. aastal suurim.
- Mootorikütuste impordihinnad kasvavad rohkem kui naftahinnad.

Teine arvestatav mõjutus tuleneb maagaasi hindade kujunemisest. Reeglina on gaasitootjad seotud konkreetse torujuhtmete süsteemiga ja hoidlatesse toodetakse gaasi vähe, mis läbi hind jääb sõltuma tarbimisest. USA tuntuim regionaalne hinnaindeks on “Henry Hub”, Austrias näiteks “Baumgartner”. Tehinguid tehakse nõudluse-pakkumise baasilt kujunevate SPOT hindadega. Ka LNG realisatsioon nii Rotterdami sadamas kui ka Jaapanis või Koreas sõltub päevapakkumistest. Gazpromi pikaajalised lepingud on koostatud „võta või maksa“ süsteemis ja seotud naftahindadega. Seetõttu tõusevad naftahinnad ennaktempos.

2012. aastal oli 1000 Btu hind "Henry Hub" väljundis alla 3 USD ja tootjad hakkasid puurauke välja lülitama. LNG ekspordivõimalused puudusid. Samal ajal oli Euroopa gaasihind 12 USD ja Aasias LNG-na 15 USD.

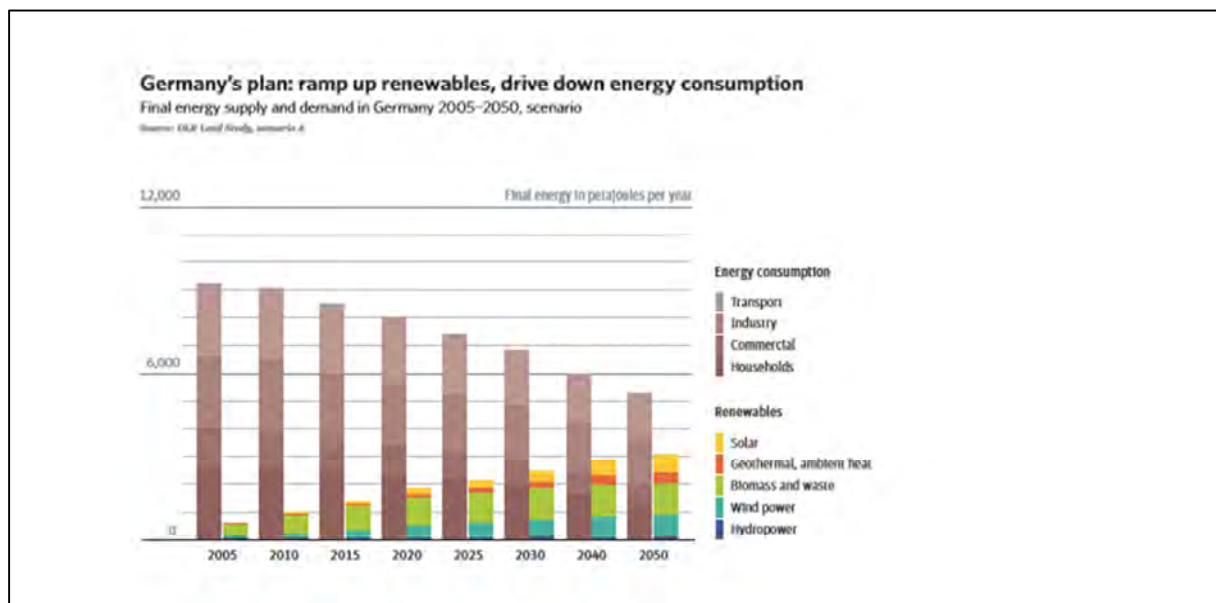
Baltimaade gaasi põhivõrk Läti hoidlaga on samuti omamoodi lokaalne Hub, kuid ainult ühe tootjaga. Balticconnector ja LNG terminali edu sõltub sellest, kas tuleb teisi pakkujaid. Tõenäoliselt tuleb ka teisi pakkujaid, kuid nemad peavad silmas Gazpromi hindu. Olukord oleks teine, kui kohapealsed biogeense gaasi (BGL) tootjad orienteeruksid oma kuludele.

## 1.5. Poliitika mõju energiabilanssidele

Euroopa Liidu seniste energiadirektiivide mõju tuleb hinnata kahepidiseks. Liikmesriikidele ja mitte-energiatootjatele orienteeritult on küll astunud samme turgude ühendamiseks, kuid samas kasutavad suured söel, gaasil või tuumakütusel tuginevad energiafirmad olukorda sihtturgudel omakasupüüdlikult ära. Ka liikmesriikides on rakendatud kohati vastuolulisi meetmeid. See on võrreldes USA-ga kaasa toonud suure hinnatõusu. Samas puudub ühtne plaan odavamate ja vähem saastavate kütuste kasutamiseks.

**Saksamaa** on välja kuulutanud ülemineku energiakasutuse vähendamisele rahvusliku koogutoodangu (RKT) samaaegse tõusu tingimustes, koos kõigi tuumajaamade sulgemisplaaniga aastaks 2020. Tänapäevaks on Saksamaast saanud maailma suurim päikeseenergia tootja ja suur tuuleenergia tootja. Oma tähelepanuväärsete kildagaasi varude suhtes on aga riik kõhkleva positsioonil. Samal ajal tõusis nii 2011. kui 2012. aastal elektritootmine söe baasil, et stabiliseerida elektrivõrku. KWh hind oluliselt seejuures ei tõusnud. Süsiniku püüdmise (*carbon capture and storage*, CCS) tehnoloogiate arendamisel asus Saksamaa möödunud aastal eitava seisukohale, pidades seda kalliks ja ebaefektiivseks. Söekasutuse tõusu peetakse ajutiseks, mille lõpetab CO<sub>2</sub> kõrgem maksustamine. Kava põhjendatakse eesmärgiga vähendada imporditavate kütuste mahtu ja tagada kõrgem tööhõive kohalikus taastuvenergia tootmises (vt Joonis 7).





Joonis 7. Saksamaa energiaprogrammi mõju prognoos

Eelmisel EL eelarveperioodil arendati Saksamaal erinevate toetuste abil välja maailma suurim biodiisli tööstus, mis maksustati hiljem fossiilkütustega võrdse maksumääraga. Antud tehased töötavad 30% võimsusega. Biomassi kasutamisel ollekase suhteliselt ettevaatlik, viidates maakasutuse kaudsetele muudatustele (nn ILUC direktiiv, mida kirjeldatakse allpool lähemalt).

Prantsusmaal on François Hollande juhitud valitsus deklareerinud, et nende valitsusajal kehtib kildagaasi uuringutele täielik moratorium. Sealjuures on Prantsusmaal sobivaim kilt kildagaasi tootmiseks just Pariisi linna all. Prantsusmaal jätkatakse elektri tootmist 70%-l tuumaenergiaga ja kavatakse tootmisvõimsusi tõsta. Järjest rohkem eksporditakse elektrit Saksamaale, et stabiliseerida sealset võrku. Prantsusmaal kasutatakse biomassi kohaliku küttena.

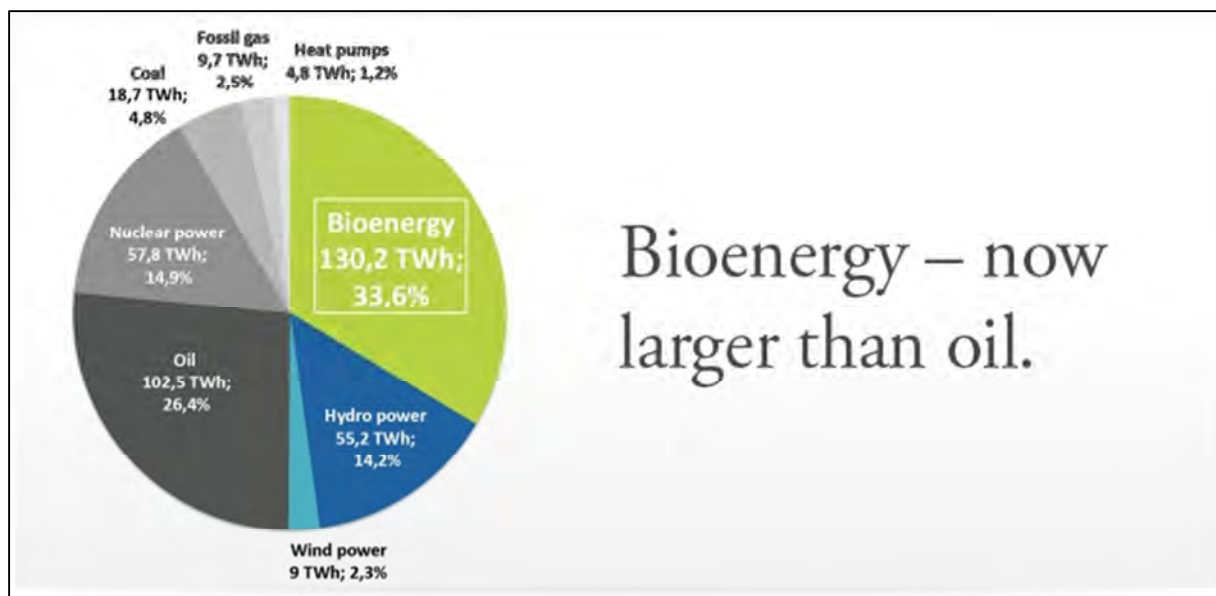
Suurbritannias olid kuni 2013. aasta juunini kildagaasi uuringud keelatud. 2013. aasta kevadel üritas British Gas sõlmida USA Cheniere Energy Sabine Pass terminaliga tehingu LNG impordiks, kuid kaotas selle lepingu vabakaubanduse lepingu olemasolul USA ja Jaapani vahel ettevõttele Sumimoto. Seejärel vahetas David Cameroni poolt juhitud valitsus kiiresti kurssi ja koostas programmi kildagaasi uuringuteks ning kasutuselevõtuks eeskätt Šotimaal. Suurbritannia avamere nafta ja gaasi tootmine on languses. Praegu liigub just Suurbritannia Euroopa Liidus kildagaasi tootmise teemaga kõige kiiremini edasi. Briti rannikul on ka ohtralt suuri tuuleparke.

Poola on Euroopa mitmekesiseima kiltade valikuga EL liikmesriik. Esimesed puurimise kontsessioonid väljastati ettevõttele Exxon Mobil juba 2011. aastal. Samal ajal valmis ka Poola valitsuse plaan välja arendada kildagaasi leiukohad 2014. aastaks. Kontsessioone on vallanud nii

Chevron kui ka kohalikud energiafirmad ning rajatud on kümneid puurauke. Paraku on tulemused EIA 2011. aasta prognoosidele (LISA 4) tootlikkuses kümnekordselt alla jäänud.

**Leedus** on 2011. aastal USAs avaldatud raporti kohaselt (LISA 7 - *EIAARI World Shale Gas and Shale Oil Resource Assessment*) purustamiseks sobivas sügavuses 1,5-2 km kiltasid. 2013. aasta kevadel väljastas Leedu Keskkonnaministeerium üldgeoloogilisteks uuringuteks kolm luba: kaks Chevronile ja üks kohalikule ettevõttele Šilute, Klaipeda ja Telšiai piirkondades. Kirjanduses pole veel tulemustele viidatud.

**Rootsil on** erinevalt teistest EL liikmesriikidest alates 1990. aastatest plaanid ja tegevused, kuidas loobuda fossiilsete kütuste sisseveost ja minna üle taastuvenergiale. Rootsi primaarenergia bilanss on seetõttu eeskujulik – alates eelmisest aastast on kasutatava biomassi osa suurem kui sisseveetud vedelkütustel (Joonis 8). Rootsis on kasutusel etanooli ja gaaskütusel töötavad bussid ja raskeveokid ning ka biometaani tanklad. Viimased on puuduliku gaasivõrgustiku tõttu tankurautodelt laaditavad. Norrast imporditav maagaas moodustab vaid 6% Rootsi primaarenergia tarbimisest, kuid sellegi saaks asendada kohaliku biogeense gaasiga, mida Rootsi on seni fossiilkütuseks lugenud. Gripen Oil/Gas on kohaliku biogeense gaasi kasutuselevõtu arendamisega tulemuslikult tegelenud ja on ka Eestis puurimiseks load saanud.

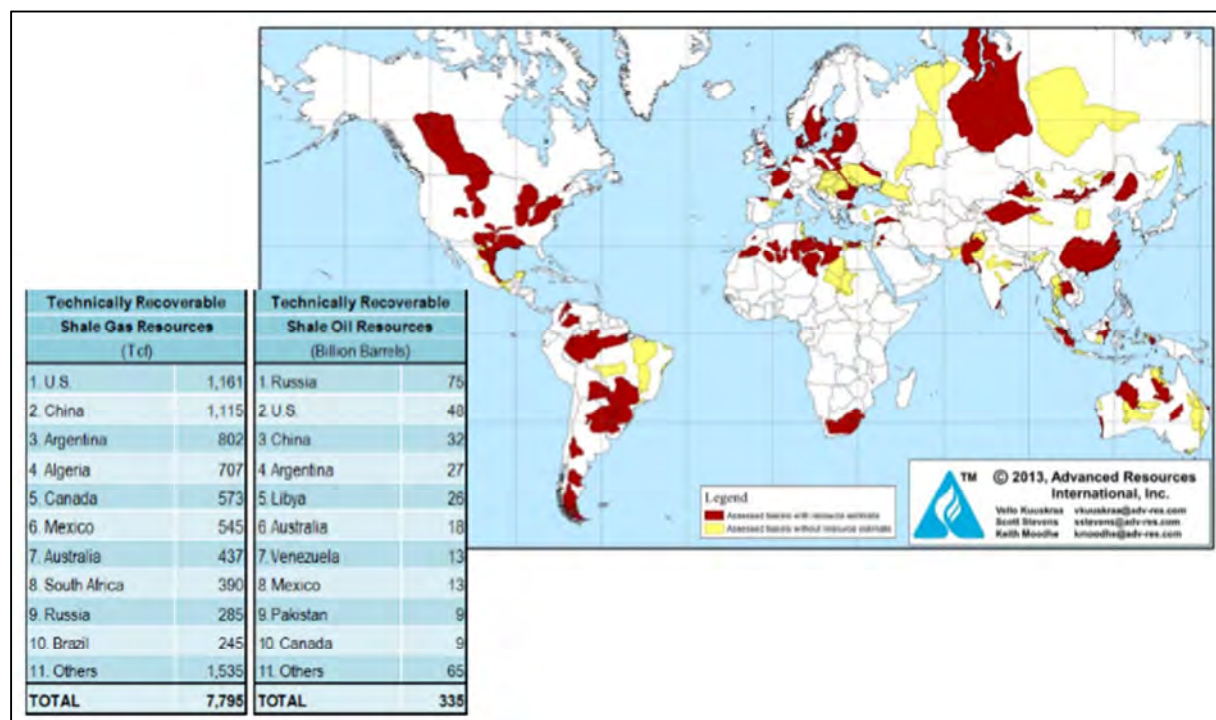


**Joonis 8. Rootsi primaarenergia struktuur (Svebio)**

**Soomes** rohkelt on kasutusel kohalikku puitset biomassi ja tselluloositööstuse jäätmeid, sealhulgas nn musta leelist. Maagaasi imporditakse siiski 100% ulatuses Venemaalt. Teadaolevalt ei ole Soomes selliseid settekivimeid nagu Eestis, Rootsis või Taanis. Ka biogaasi sektor ei ole Rootsi või Saksamaaga võrreldav. Soome tööstus on küllalt energiamahukas, kuid neil on ka tugev tehnoloogiline tase soojuse ja elektri tootmisel.

## 1.6. Eesti eeldused ja EIA ressursiprognosid

USA Energia Informatsiooni Amet (EIA) on avaldanud 2011. ja 2013. aastal maailmas nafta ja gaasi tootmiseks sobivate kiltade kaardid koos prognoosidega nendest täiendavate nafta- ja gaasivarude tootmise kohta (Joonis 9). EIA prognoosid muudavad oluliselt kättesaadavate energiaallikate mahte ning nende paiknevust maailmas. Praegu on kiltadest energia tootmise pioneeriks USA ja Kanada, kuid aktiivselt planeeritakse investeeringuid Argentiina (Vaca Muerta) ja Mehhiko (Eagle Ford South) leiukohtade kasutuselevõtuks ning LNG ekspordiks Aasiasse. Investeeringud on ka Austraalia, Uus Meremaa, Hiina ja koguni Pakistani leiukohtade kasutuselevõtuks.



Joonis 9. USGS ja EIA maailma kildagaasi allikad

Kuigi Eesti on EIA prognoosides näidatud alana, kus asuvad energiatootmiseks sobivad kildad, puuduvad uuringute tekstilises osas andmed võimalike tootmiskahtude kohta. Juba läbiviidud uuringud käsitlevad Eestit koos Poola, Leedu ja Kaliningradi oblastiga kui nn Balti kilda. Geoloogiliselt on eelpool mainitud aladel samad settekiivid, mis Eestiski, kuid neil aladel asuvad kildad sügavamal (1,2-2 km), mis on purustamiseks sobiv sügavus. (Lisa 1 - uuringute kokkuvõte ja Balti kilda käsitlev osa VIII).

Hetkel BiotaP OÜ poolt teostatava uuringu eesmärgiks on tuvastada Eestis viimastel aastatel tekkinud primaarset võimekust kasutades, kas kohalikust argilliidist oleks mikrobioloogilist leostamist kasutades võimalik toota biogeenset metaankütust.



## 2. Õigusruumi kirjeldus

### 2.1. Sissejuhatus

Käesolev kokkuvõte on koostatud EAS tellitud temaatilise uuringu täitja BiotaP OÜ lepingulise eksperdi poolt vahearuande kolmanda osana. Aruandes käsitletakse õigusruumi, milles arendatakse Eesti argilliidist võimalikku biogeense metaangaasi tootmist. Käsitletakse Euroopa Liidu õigusest lähtuvalt Kliimapaketi direktiivide üldosa Taastuvenergia arendamise nn RES direktiivi 2009/28/EL. Direktiivi nõuete alusel hinnatakse mitmesugustest rakendus- ja mõjumehhanismidest lähtuvalt, kas energeetika, kütuste kvaliteedi, tooteohutuse, nõuetelevastavuse tõendamise ja muude sidusvaldkondade direktiivides kodifitseeritud õigused on käsitletavad eriosa seadustena. Vaadeldakse ka Eesti seadusandluse mõjusid.

Kuna energiamajanduse reformimine on mitmekülgne, ulatuslik ja ajas kiirelt arenev protsess, ei ole teadus- ja arendusfaasis olevaid uusi energiatehnoloogiaid võimalik käsitleda millegi lõplikult paikapandu ja stabiilselt kehtivana. Eesti argilliit on energeetiline toore, mille kasutamist seni ei ole tasuvaks peetud. Hetkel ei ole argilliit Eestis maavarana registreeritud. Ehkki selle varud on teadaolevalt 60–70mld t võrrelduna põlevkivi 4,5mld tonniga, ei peeta argilliidi kaevandamist gaasi tootmiseks keskkonnasäästlikuks. Puuraugus *in-situ* mikrobioloogiline leostamine uute, tänaseks Eestis kättesaadavate DNA määramiste põhiste meetodikatega on aga perspektiivne. Samas on õigusruum ebaselge ja riske ning võimalusi tuleb teadvustada.

Analüüs põhineb kogemustel ja materjalidel, mis on saadud alates 2006. aastast koostöös Eesti Biokütuste Ühingu (EBÜ) ja Euroopa Biomassi Assotsiatsiooni (AEBIOM) partneritega üldistatud praktikatest, kontaktidest teadusasutuste, rahvusvaheliste konsultantide või Põhjamaade tootjate ühingutega, nagu Svebio ja Finbio.

Õigupoolest on Eesti argilliidist mikrobioloogiliselt (leostamise teel) biogeense gaasi tootmise idee ise esile kerkinud varasemate arenduste käigus kogumõjudelt parima võimaliku tehnoloogia selgitamise kogemustest, meetodikatega, mis käsitlevad massbilansside selgitamist asendusmeetodil ja vastavaid hinnajuhtimise meetodikaid rakendades. Tehniliselt tuleb kõiki primaarenergia allikaid põhi- ja lisatoodete kaskaadis käsitleda õigusinseneeriana (*legal engineering*), mida arendustes teostatakse protsesside õigusliku modelleerimisena koos tehnoloogiliste, keskkonnaalaste vms planeeringutega, mida enne investeerimisotsuse langetamist menetletakse koos ja koordineeritult. Seega ei ole tegemist projekti suhtes õigusliku hinnangu andmisega, vaid ühega nõutavatest arendustegevustest.

Hetkel on Euroopa Parlamendis esimese lugemise läbinud nn. RES direktiiv (Taastuvenergia direktiiv) ja kütusekvaliteedi direktiiv ning teised taastuvenergia üldosa puudutavad direktiivid 2009/30/EL ja 1998/70/ EL täiendusi puudutav direktiiv COM 2012/0595/, tuntud ILUC direktiivina, mistõttu ei eksisteeri veel lõppteksti. Viimasest selguks, kas mikroorganismide abil

toodetavat kildametaani tuleks käsitleda maagaasi liigina nagu termogeenset päritolu kildagaasi või hoopis vetikate ja süsinikupüüdmise (CCS) tehnoloogiatega võrdsustatud traditsioonilise biomassi välise taastuvkütusena, mis põhineb biolagundamise mikrobioloogilistel tehnoloogiatel.

Taastuvkütuste arenduste õigusinseneeria uutele tehnoloogiatele on mitte niivõrd kehtiva õiguse tõlgendamine, kuivõrd õiguspoliitiliste arengute modelleerimine D. Rumsfeldti stiilis: "Kui miski näeb välja nagu part, taarub nagu part ja prääksub, siis tuleb asuda seisukohale, et tegu ongi pardiga." Lisaks on tegu kompleksarendusega, kus hiljem võib selguda, et näeb välja küll nagu part aga siiski majanduslikult "ei lenda" või saastab lendamisel lubamatult palju keskkonda.

## 2.2. Üldosa

Kliimapaketi üldosa moodustab Euroopa Parlamendi ja Nõukogu direktiiv 2009/28/EÜ Taastuvatest energiaallikatest toodetud energia kasutamise edendamise kohta ning direktiivide 2001/77/EÜ ja 2003/30/EÜ muutmise ja hilisema kehtetuks tunnistamise kohta (RES). Varasemad direktiivid on kehtestanud Liidu üldised eesmärgid, jättes nende täitmise meetmed liikmesriikide kujundada, 2009. aastast on aga eesmärgid siduvad ja kohustuslikud nn. 20–20–10 eesmärkidena. Valdavalt regulatsioonid gaasi- ja elektrituru, kütteseadmete, jäätmekäitluse, vastavustõendamise vms. kohta muutusid direktiivi nr 28 jõustumisel Euroopa Liidu õiguses eriosa seadusteks. Osa võeti vastu paketi üldosaga, nagu Kütusekvaliteedi standardite direktiiv 2009/30/EÜ (FQD) või säästvate sõidukite nõuete direktiiv 2009/32/EÜ. Eesmärk oli tekitada ühtne kodifitseeritud õigussüsteem ka liikmesriikide tasandil ja tagada eesmärkide täitmine.

## 2.3. Õiguslik alus (Visa)

Õigusliku alusena RES direktiivi kehtestamiseks toodi kaks Euroopa aluslepingu artiklit. Artikkel 175(1) ja artikkel 95. Esimene sätestab otsustusprotsessi reeglid keskkonna kohta käivast seadusandlusest. Artikkel 95 sätestab ühise siseturu harmoniseerimise reeglid, eriti RES direktiivi artiklite 15, 16 ja 17 osas. Selline õiguslik alus rõhutas liikmesriikide poolt selliste täiendavate säästlikkuse kriteeriumide, nende tõendamismenetluste ja KHG mõju arvestamise meetodite kasutamist, nagu RES direktiivis ja selle lisades sätestatud.

Artikkel 2 on menetluste alusena välja toonud kolme liiki arvestuslikud väärtused:

1. tegelik väärtus – massbilansi asendusmeetodil kõigi põhi ja lisatoodete arvestuses leitud KHG mõju (harilikult vabatahtlikus tõendamismenetluses);
2. tüüpiline väärtus - tavaline tootmise KHG mõjuarvestus;
3. vaikeväärtus - tüüpilisest väärtusest tuletatud väärtus, mida võib energiatarbimises või energiakandjate kaubanduses kasutada tegeliku väärtuse asemel.

Jätab kummalise kolmikjaotuse mulje, kuid 2008. aastal kehtisid veel Kyoto reeglid ja EL liikmesriikidel oli tavalise nõuetevastavuse risttõendamise reeglite alusel võimalik lugeda elektri

ja soojuse koostootmisel taastuenergia mõjuarvestus täidetuks tüüpilise väärtuse alusel. Transpordis kasutatavatele vedelatele ja gaasilistele biokütustele laienesid aga kohe tegeliku väärtuse tõendamise kohustused. Vaikeväärtus eeldas, et deklareerimisel kasutatakse EL Peadirektoraadi Ühinenud Uurimiskeskus (JRC) tüüpiliste väärtuste alusel arvestatud erinevate energiakandjate "keskmisi" tegelikke väärtusi.

## 2.4. Eesmärgid (artikkel 3)

Deklareeritud eesmäärke nn. 20–20–10% on enim kõneaineks võetud, kuid need kehtivad kohustusena 2020 aastani. Eksisteerib probleem, kuidas neid täita, eriti transpordis, arvestades säästlikkuse kriteeriumide nõudeid. Kohe hakati riiklike kohustuste täitmisena arvestama vaid biokütuseid, mis tegelike väärtuste alusel arvestatult omasid vähemalt 35% suuremat KHG kõrpevõimet, kui näiteks fossiilbenssiini standardtase puuraugust ratasteni (WTW) ette nägi. Taastuvkütustel arvestatakse kogumõju küll näiteks biomassi korral põllult paagini (WTT).

Arvestuslik preemia sätestati aga alljärgnevalt:

1. taastuvelekter maanteetranspordis (välja arvatud rongid) 2,5 korda elektri sisendi järgi;
2. biokütused jäätmetest, jääkidest ja ligno-tselluloosist arvestatakse kahekordselt;
3. Komisjonil lubati esitada metodoloogia arvestamiseks taastuvvesinikku kohustuste täitmisel (vesinikuelement ei saa kasutada biomassi, küll aga näiteks etanooli või metaani).

## 2.5. Säästlikkuse kriteerium (artikkel 15)

Biokütuste toore peab läbima täieliku tõendamismenetluse, va arvatud jäätmed ja loeteluga antud jäägid kui need ei pärine põllumajandusest, vesiviljelusest, kalandusest ja metsandusest. Põhku, maisi haljasmassi ja suhkruroo bagassi kui põllumajandustootmise jääke tuleb seega mõjuarvestuses arvestada alates viljelusest.

Nõuded KHG säästmise tasemetele (paragrahv 2):

1. algsest tasemest 35% võrreldes kütuse fossiilkomponendiga peab säästlikkus võrdluses tõusma 50%-ni alates 01.01.2017 ;
2. tootmistel, mis on tegutsenud 01.01.2008.a .seisuga, tuleb 35% tase saavutada 01.04.2013;
3. Peale 01.01.2017 tootmist alustavad tehased peavad saavutama minimaalse säästlikkuse taseme 60%.

Kohapiirangud (paragrahv 3) sätestavad teatud maade kasutusotstarbe muutmise keelu võrreldes 01.01.2008.a seisuga. Nendeks on:

1. primaarmetsad;
2. looduskaitse ja Natura alad;
3. liigirikkad rohumaad, sh üle 10.a.kasutusest väljas põllumaad;
4. märgalad;

5. metsastunud alad;
6. turbaalad.

## 2.6. Taastuenergia osakaalu arvestamine (artikkel 5)

- a) Taastuenergia osakaalu arvestamine artiklis 5 toimub:elektrienergia lõpptarbimise järgi;
- b) soojusenergia lõpptarbimise järgi;
- c) transpordikütus lõpptarbimises paagis ehk WTT.

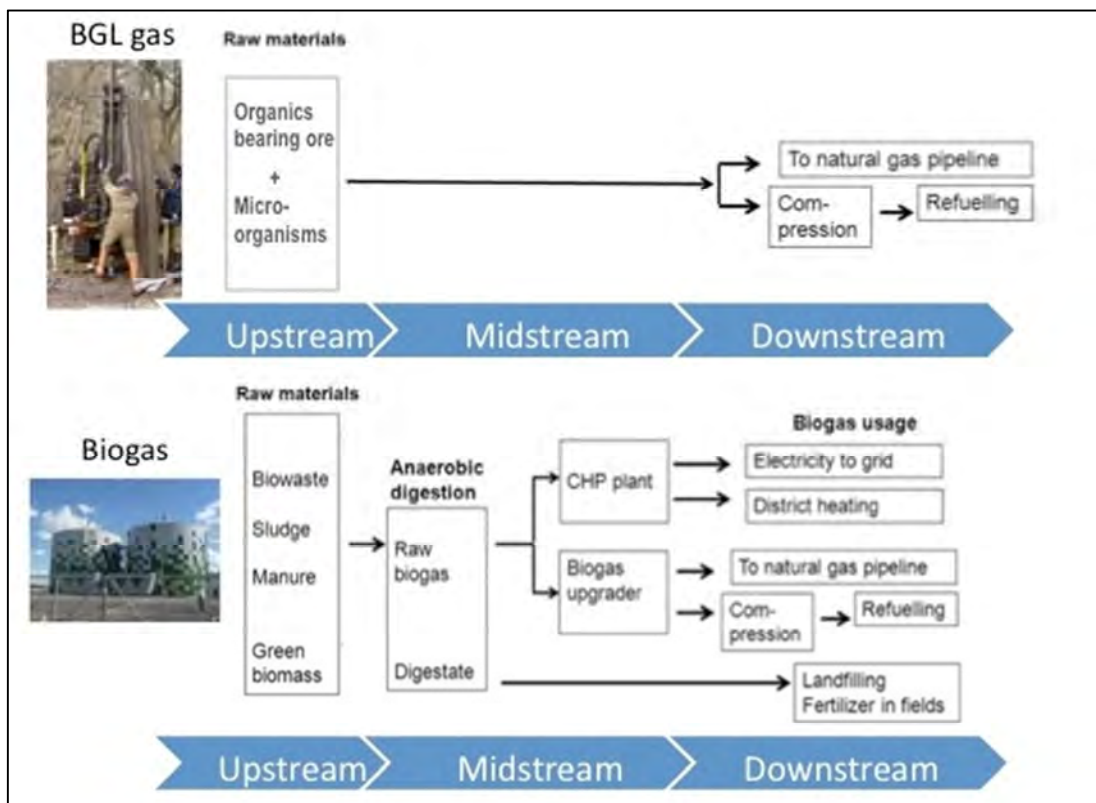
Artikkel 5 käsitleb ka soojuspumpadega saadava energia arvestamist. Arvestatakse lõplikku saadavat energiakogust, mis peab oluliselt ületama seadme käitamiseks kasutatava traditsioonilise energia (elekter või gaas) koguse.

Võrdluseks: Biogeense gaasi tootmiseks tuleks soojustarbija või jaotusvõrgu liitumispunkti läheduses rajada maasoojuspumbaga analoogsed puurkaevud argilliidikihini ja leostada kiht DNA alusel määratud metagenoomi metaani tootvate bakterite ja arhede anaeroobses keskkonnas aktiveeriva pH taseme ja vesilahusega. Tulemusena eraldub soojustarbijale või võrku suunatav metaan. Teisiti on tegu soojuspumbaga, mis ei vajagi käitamiseks elektrit või gaaskütust, kuid toodab ise gaaskütust kütte või elektritootmise seadmele.

## 2.7. Biogeense gaasi tootmisrada

Tootmisraja mõistet kasutab JRC kasvuhoonegaaside (KHG) tüüpiliste väärtuste alusel mingi energiatootmise viisi iseloomulike tegelike väärtuste ja vaikeväärtuste määramiseks. Massbilansis arvestatakse kõigi tootmisüksuste ja tarneahela lülide KHG summaarset mõju – antud juhul puuraukude puurimisest kuni sõiduki gaaskütuse kasutamise heideteni (WTW) kõigi sisendite ja väljundite järgi ühtsete meetodikate alusel.

Analoogiline skeemina kirjeldatav tootmisrada on olemas näiteks biogaasil ja biometaanil, mille puhul kasutatakse KHG tegelikke väärtusi. Joonisel 10 on nende kahe gaaskütuse tootmisradu võrreldud.



Joonis 10. Biogeense gaasi (BGL) ja biogaasi tootmisradade võrdlus (A.Menert)

Jooniselt ilmneb, et tegevuste jada ja tehnoloogiliste seadmete hulk on argilliidis salvestunud fossiilse biokomponendi mikrobioloogilisel leostamisel oluliselt väiksemad kui biogaasil. Jäävad ära biomassi käitlemine, töötlemine, anaeroobne kääritamine ning energiaks muundamine, mis kindlasti väljendub lõpptoote omahinnas. Säästlikkuse kriteeriumi mõttes on biogaas tunnustatud biokütus, leostatud biogeenne gaas aga tundmatu energiakandja, mida samastatakse fossiilse kildagaasiga.

Puurkaevus *in-situ* naftat ja gaasi moodustava kivimi töötlemisel tekitatud sama keemilise koostisega saadusena ongi tulemus sarnane, kuigi tootmisprotsess on erinev. Kildagaasi saamiseks purustatakse kilomeetrite sügavusel asuv kivim hüdraulilise löögiga ja tagatakse kemikaalide ning liiva seguga kunagi moodustunud gaasi ja nafta väljapääs kivimist. Argilliiti kui poorset ja pehmet kivimit sel viisil töödelda pole võimalik, eriti veel maapinna lähedal. Küll aga leidub sellel sügavusel metaani tootvaid mikroorganisme, kelle aeglaselt kulgevat elutegevust on võimalik toitelahuste lisamisega aktiveerida. Iseenesesliku aeglase protsessina toimub metaani tootmine ka looduslikult.

Biogaasi ja biogeense gaasi oluline erinevus seisneb nende metaanisalduses. Puhastamata biogaasi metaanisaldus on 60-75%, biogeensel gaasil, nagu ka maagaasil 97%. Viimasel ajal on leitud, et biogaasi tootmisel rõhu all on võimalik suurendada selle metaanisaldust.

Samasugused protsessid toimuvad ka Maa sügavuses. Rõhu suurenedes hakkab metanogeenesil domineerima hüdrogenotroofne rada, mille abil kivimis geoloogiliselt salvestunud või anaeroobsel lagunemisel tekkiv süsihappegaas muudetakse samuti metaaniks. Seetõttu pole biogeense gaasi täiendav puhastamine autokütusena kasutamiseks enam vajalik ja selle võib otse maagaasi põhivõrku suunata. Puudub süsinikuleke tootmisel ja lisaks on juba salvestunud CO<sub>2</sub> võrdne selle CO<sub>2</sub> hulgaga, mis gaasi hilisemal põletamisel eraldub. Seega on biogeenne gaas süsinikneutraalne, sest lähtekivimi fossiilset süsinikku mitte ei paisata põletamisel õhku, vaid toodetakse sellest metaani. Seega on biogeense gaasi tehnoloogia omamoodi süsinikupüüdmise tehnoloogia, mille puhul kinnipüütud fossiilse kivimi süsinikku mitte ei ladustata, vaid väärindatakse gaaskütuseks.

## 2.8. Üldosa täiendused (COM 2012/0595/EL)

Euroopa Parlament hääletas 12.10.2013 esimesel lugemisel RES ja kütusekvaliteedi direktiivide 1998/70/EL ja 2009/30/EL eelnõusid, mis on tuntud ka ILUC direktiivina. See eelnõu kujutab endast muudatusi, mis on põhjustatud alates RES kehtestamisest tema järkjärgulisel rakendamisel esile kerkinud probleemidest, samuti muudatusi, mis tulenevad baastehnoloogiate arengust ning kaubavahetusel kolmandate riikidega esilekerkinud probleemidest.

Lühend ILUC (*indirect land use change impacts of biofuels*) tähendab biokütustest tingitud maakasutuse kaudsete muudatuste mõjusid. Neid mõjusid tuleb taastuvenergia, aga ka naftatoodete puhul arvestada massbilansi alusel tegelike väärtuste tõendamisel juhul, kui nad on tüüpilistest väärtustest erinevad. Nad on oluline osa Euroopas kehtivast säästlikkuse kriteeriumist. ILUC direktiivi üheks põhjuseks võib pidada kõikjal maailmas järjest suurenevat looduslike maade kasutuselevõttu, asendamaks seniseid põllumassiive, millel nüüd kasvatatakse biokütuste toorainet. Looduslikud kooslused, nt vihmametsad, rohumaad, märgalad püüavad ja säilitavad oma mullastikus ja biomassis kasvuhooonegaase (KHG) üles haritud maadest tunduvalt paremini, mistõttu muutunud maakasutuse mõju arvestamine biokütuste KHG bilansis on igati õigustatud. Näiteks maisist etanooli tootmine suurendab kasvuhooonegaaside emissiooni 93% võrra.

Kohe jõustumisel 01.01.2011 ei hakanud toorme alusel tegelike väärtuste deklareerimine ja risttõendamine tööle ning Euroopa enda biokütuste tööstus langes subsideeritud USA ja odava Aasia ekspordi surve alla. Märtsis 2012 kehtestas Euroopa Komisjon tasendustollid ja ILUC rakendamine otsustati RES paranduste ja täienduste eelnõu vastuvõtmiseni vähemalt 2014. aastani edasi lükata.

Euroopa Parlament hääletas tõsiseid vaidlusi põhjustanud parandusi 12.10.2012 ja praeguses redaktsioonis on AEBIOM (*European Biomass Association*) kokkuvõtte järgi olulisemad punktid:



- Tühistada RES direktiivi lisa V, mis käsitleb ILUC arvestuse nõudeid;
- Kinnitati bensiinile mahuliselt 7,5% etanooli segamise kohustus;
- Kuni 6% segust võivad mootorikütused sisaldada biokütuseid tärklitest, suhkrutest, taimeõlidest jt tavaliselt kasutatavatest toormetest. Neile lisati ka puitne biomass, mis on lignotselluloos ja nn teise põlvkonna tehnoloogiline toore;
- Kuni 2,5% küttesegu mahust lisanduvad biokütused olme- ja tootmisjätmetest ning reoveest, glütseriinist, suhkrutööstuse jäägist (*bagasse*) jne. Madala väärtusega ümarpuit nende hulka ei kvalifitseeru. Taastuvkütuste toormete kvalifitseerimine viiakse läbi faktorite kaupa, kus
  - Faktor 1 on eelnevalt loetletud toormete alagrupp;
  - Faktor 2 on kasutatud toiduõli ja loomsed rasvad;
  - Faktor 4 on taastuvad vedelad ja gaaskütused, mis ei ole toodetud biomassist, nagu näiteks vetikate ja bakterite abil toodetud kütused (vastab BGL tehnoloogiale) ning süsinikupüüdmistehnoloogia (CCS) kasutus transpordis.
- Biomassi ja jätmete puhul eelistatakse väärtusahela põhise kaskaadkasutust;
- Tulevikus säilitatakse võimalus spetsiifiliste ILUC nõuete rakendamiseks;
- Puidust biokütustele eraldi säästlikkuse kriteeriumi nõude rakendamise ettepaneku lükkas parlament tagasi.

Täiendavalt on oluline rõhutada RES direktiivi parandust 4 (*amendment*) selle kohta, et biokütuste ja vedelate biokütuste säästlikkuse kriteeriumide nõudeid rakendatakse kõigi taastuvkütuste kohta.

Mida see peaks tähendama? Definiitsiooni järgi on biokütused transpordis kasutatavad vedelad ja gaasilised taastuvkütused KHG mõjuarvestusega WTT (*well-to-tank*, ahel tootmisest kuni tankimiseni) metodoloogia alusel. Vedelad biokütused on biomassist õlid ja vedelikud elektri ja soojuse tootmiseks, st säästlikkuse kriteeriumi mõjuarvestusega tüüpilise väärtuse järgi. Kõik ülejäänud on jäätmed ja biomass, mille kasutamist tuleb võrdleva väärtuskaskaadi massibilansside alusel arvestada nagu vedelaid biokütuseid. Seni käsitletakse neid kas tahkete biokütuste või jäätmekütusena.

### Muudatuste kehtimahakkamine

Et Euroopa Parlament ei andnud raportöör Corinne Lepage'le volitusi läbirääkimisteks Komisjoniga nn triloogi vormis, peavad liikmesriigid kujundama Komisjonis ühispositsiooni. Kui see on erinev Parlamendi esimese lugemise tekstist – mis on tõenäoline, siis on nõutav teine lugemine. Seda menetleb aga juba uus, mais 2015. a. valitav EP ja uus Komisjon. NB! 2014. aasta seisuga kehtib RES 2009 aasta redaktsioonis. Sageli väidetakse, et RES kehtibki juba muudetud kujul.

## 2.9. Taastuvkütused Faktor 4 ja BGL

Küsimus ulatub tagasi kehtiva RES redaktsiooni artikkel 3 sätteni, milles riiklike taastuvenergia täitmise kohustuste arvestuses reserveeriti Komisjonile ettepaneku tegemise õigus esitada metodoloogia taastuvvesiniku arvestamiseks riiklike kohustuste täitmisel. Tollal transpordis veel kommertskaotuses vesinikuelementi ei olnud. Vahepeal arendati teadusuuringutega suunda, kus vesinikuelement töötab OBR (*on board recorder*) muundurina sõiduki pardal, kasutades kütusepaagis bioetanooli või surugaasi. Teine variant oli vesinikutankla, kusjuures vesiniku tootmise lähteaineks oli metaan või vesinikku sisaldavad alkoholid (etanool, metanool, butanool jne), mille tootmise lähteainena saab kasutada süsinikupüüdmise (CCS) tehnoloogiaga tahkeks muudetud süsinikku. Niisuguse metaani või vedelkütuse toore ei ole aga biomass ja need ei ole biokütused.

Et vesinikutehnoloogiad on kasutamiseks endiselt liiga kallid, koostas Euroopa Komisjon metodoloogia, mille põhjal mikroorganismide, vetikate või CCS tehnoloogiatega toodetud vedelad või gaasilised taastuvkütused on transpordis kasutatavad ka neid vahepeal vesinikuks muundamata ja lubas selliseid toiminguid taastuvenergia kohustuste täitmisel arvestada neljakordselt.

Surugaasina või LNG-ks töödelduna on aga BGL kui kütus kõigi Faktor 4 kütuste tunnustega:

- on mikrobioloogilise tehnoloogiaga *in-situ* toodetud gaas, kusjuures üks energialiik muudetakse teiseks, mitte aga maapõues juba olemasolev vabastatud metaangaas, nagu seda on maagaas;
- tootmissisendis puudub vajadus kasutada traditsioonilist energiat, nagu see on vetikate puhul;
- tootmisel ei teki süsinikuleket nagu CCS tehnoloogiatelgi;
- on kasutusvalmis gaaskütus nii elektri kui soojuste koostootmiseks ja ka transpordikütusena kasutamiseks;
- sobib lisaks LNG tootmisele ka vesiniku tootmiseks, ehkki see pole enam nõutav.

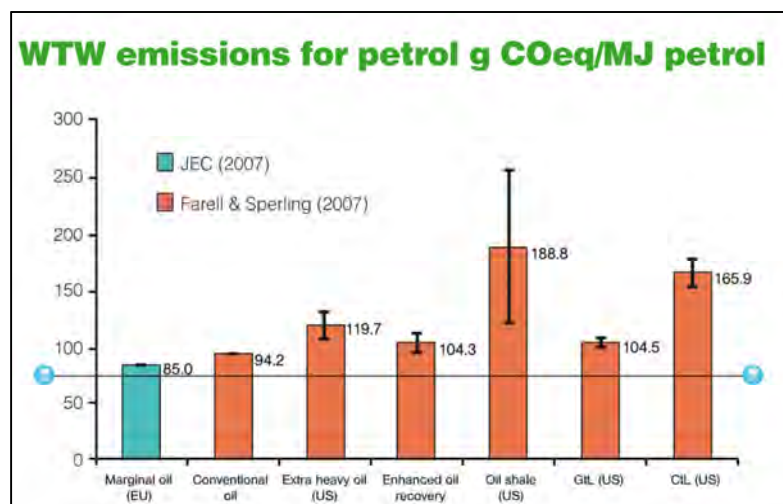
### Eriosa seadused

Kliimapaketi enda eriosa seadused on need valdkondlikud direktiivid, mis 2009.a. RES-ga koos vastu võeti, nagu 2009/29/, /30/, /31/ jmt, kooskõlastamaks mootorikütuste standardeid, sõidukite energiasäästu nõudeid, energiaefektiivsust, välisõhu kaitset jne. Neid direktiive on aga suhteliselt vähe. RES nõuded on ülimuslikud energiaturgude toimimist, suurte soojusseadmete käitamist, energiamärgiste taotlemist jne käsitlevate direktiivide üle, kuigi otsesed vastastikused viited tekstides puuduvad. Siduvad on toimetehhanismid, KHG mõju hindamine ja nõuetelevastavuse registreerimine, eriti kui küsimuseks on mitmete valdkondlike normide koostoime. Toome niisuguste toimetehhanismide kohta näite.



Mootorikütuste kvaliteedi standardite direktiiv (FQD) 2009/30/EL sisaldab endas kütuste koostisele esitatud nõuded nagu väävli, vee, raskmetallide sisaldus; suurendatud on nende komponentide osa, mis lubavad kütusesegus kasutada kuni 10% etanooli, metanooli vms biokütuseid. Ilmunud on teatud piirangud surveastme osas. Varasemas direktiivis eeldati toorbensiini oksüdeerimisel (oktaanarvu ja leektäpi reguleerimine) kuni 5% ETBE või MTBE kasutamist. Uue kütusesegu CEN standard on nn Euro 5 ja selle tanklamärgis tarbijale E 10. Uus standard jõustus alates 01.01.2011. Et sõidukid peavad olema vastavalt seadistatud, hakkas uutele autodele 10% biokütuste kasutamise norm kehtima 01.10.2010. Autopargi tavaiga arvestades määrati, et vanale Euro 4 standardile vastavad transpordikütused peavad müügil olema kuni 01.01.2018. Saksamaa asendab 95 bensiini E 10 ga ja jätab 98 vanale standardile, samuti plaanib teha Soome.

Jaemüüja esitab kütusetootjale kauba sisseostmisel spetsifikatsiooni valmistoote osas, kuid see ei määra, milliseid toorbensiine ja kemikaale ning biokütuseid see segu peaks sisaldama. Destilleerimistehastele kehtib sellega seoses nn "kütuste dekarboniseerimise mehhanism". RES nõue 10% taastuvkütusest segus, mille CO<sub>2</sub> sisaldus on vähemalt 35% suurem kui fossiilbensiinil, eeldab arvestuslikult, et kasutatava bensiini CO<sub>2</sub> heitmete tase on 83,8g CO<sub>2</sub>/MJ WTW mõjuarvestuses. Kuna destillatsioonitehas ostab sisendis sisse erinevaid toornaftasid naftaplatsilt ja toorbensiine, kondensaate, lubrikaate ning biokütuseid nn RBOB (*Reformulated Blendstock for Oxygenate Blending*) platsilt päevatehingute alusel, peab lõpptulemuse saavutamiseks valida sisseostetavat mitte vaid hinna, vaid ka KHG heitme järgi. Erinevus on juba nafta kvaliteedis (vt joonis 11 ning Lisad 11,12,13).



**Joonis 11. WTW heitmete tase tulenevalt toormest (eBio)**

Seega on dekarboniseerimise mehhanismi idee jätta kütuste käitlejatele valik, millises ulatuses sisendis päevapakkumiste alusel ostetakse odavamaid, kuid suurema KHG-ga tooteid ja millises ulatuses kallimaid, kuid madala KHG-ga tooteid, sest CO<sub>2</sub> deklareerimise alus on mittemahuline. Kui kärbitakse mahuühikus rohkem, võib sisse segada ja kulutada vähem. Nii standardiseerib

FQD rakendusmehhanismina RES eesmärke. Samal ajal ei sisalda FQD kütuste päritolu registreerimise, käitlejate poolt andmete esitamise kohustust ja nõuetelevastavuse risttõendamise mehhanisme. RES selliseid kohustusi deklareerib, kuid ei anna rakendusmehhanismi.

## 2.10. Side 2008.a kemikaalide direktiivide paketiga REACH

Puuduva rakendusmehhanismi annab kemikaalide direktiivi pakett REACH. Tegemist on eri kemikaalide ohutusnõudeid ja käitlemistingimusi, aga ka registreerimise, arvestamise ja deklareerimise tingimusi sätestava korraga. Seega on tegu CO<sub>2</sub> arvestuse ja massbilansside registreerimises nn. vabatahtliku tõendamismenetlusega KHG tegeliku väärtuse registreerimiseks. Kütustel võib registreerida ka vaikeväärtuse. Registreerimata jätmise korral realiseerub REACH artikkel 5 kogu EL siseturu kohta – kui puuduvad andmed, järelikult puudub ka turg. Deklareerimata tohib sisse vedada või käidelda kuni ühe tonni kemikaale aastas katse või esitluse eesmärkidel.

Biokütuste osas realiseerus deklareerimiskohustus 2009. aastal RES ja FQD kehtima hakkamisel. Naftaplatsi ja ülejäänud RBOB kemikaalide osas toimus jõustumine 01.01.2011. Nii on REACH jällegi RES eesmärkide ja FQD dekarboniseerimise mehhanismi rakendusakt. Samas ei mõjuta kogu see keeruline protseduur elektri ja soojatootmisel siseturul olevaid ei taastuvaid ega fossiilseid tahkekütuseid. Kaskaadkasutuse mõjutamisest tuleb juttu edaspidi. Kemikaalide direktiivi pakett REACH ei mõjutata ka elektri ja soojatootmisel ning transportkütustena kasutatavaid gaaskütuseid.

Analoogiline olukord on biogeensel metaangaasil (BGL) kõigi energiaturu, kütteseadmete, vms direktiividega. BGL on käsitletav kui maagaasiga sarnaste omadustega metaankütus; mingeid täiendavaid probleeme BGL kasutuselevõtiga ei peaks kaasnema. Kui BGL peaks registreeritama taastuvkütusena, on see bonus taastuvkütuste eesmärkide täitmiseks. Kui mitte, täidab biogeenne gaas KHG vähendamise ja energiaefektiivsuse eesmärke. BGL kasutuselevõtt kasvatab oluliselt Eesti energiajulgeolekut, eriti olukorras, kus kogu Euroopa otsib Vene maagaasile alternatiive. Eestil on koos põlevkivi uttegaasi ja biogaasi ressursiga Vene maagaasile 100% kohalike kütuste ressursikate ning täiesti ilmselt LNG näol ekspordipotentsiaali teistesse Euroopa riikidesse (Läti ning edaspidi Soome on magistraalvõrguga ühendatud).

## 2.11. Keskkonnakaitse ja energia riigiabi juhend 2014-2020

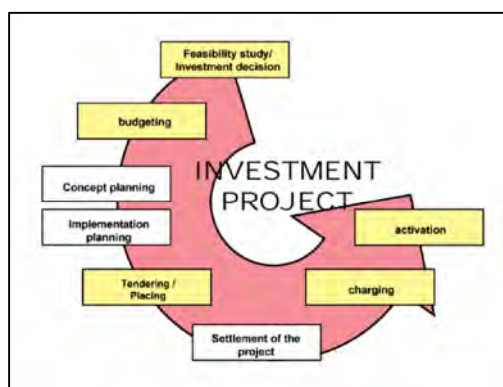
Varasemate perioodide kohta on dokumendil kasutatud pealkirja “Riigiabi keskkonnakaitse juhised” ja need on erinevate finantsperioodide osas olnud muutuvad. Euroopa Parlament on

2014–2020 perioodi juhised (LISA 8 - *Guidelines on State aid for environmental protection and energy 2014-2020*) kinnitanud 09.04.2014 ja need jõustuvad peale ametliku teksti avaldamist liikmesriikide keeltes Euroopa Liidu Teatajas. Käesolevas uuringus kasutatud teksti edastas AEBIOM.

Ka selle õigusakti sissejuhatuse lõige 3 viitab RES 2009/28/EL eesmärkidele energiasäästu ja KHG heitmete kärpe kohta ning sätestab tingimused, mille kohaselt võib liikmesriikides energiaprojektidele riigiabi anda. Defineeritud on Artikkel 1.3 alusel just transpordikütustel massbilansi asendusmeetodil WTW ja WTT vabatahtlik tõendamismenetlus kui Liidu standard (*Union standard*), mis on ette nähtud kemikaalide osas REACH pakettis.

Teine Liidu standardina viidatud metoodika on nn “Parim võimalik tehnika” (*best available technology - BAT*), mille menetlus on kirjeldatud direktiivis 2010/75/EL. See eeldab kogu massbilansi kaskaadi põhi- ja lisatoodete võrdlevat kirjeldust koos tavaliselt saavutatava tulemusega, milleks energeetikas on harilikult fossiilkütuste kasutamine. Biogeense gaasi tootmisel argilliidist on kogu tootmisrada oluliselt lühem kui teistel tahke- ja gaaskütustel nende ökoloogilise jalajälje arvestuses, mis peaks võimaldama tootjatel ja kodutarbijatel saavutada olulist säästu. Võrreldes biomassiga jääks ära biomassi eelnev kogumine ja töötlus.

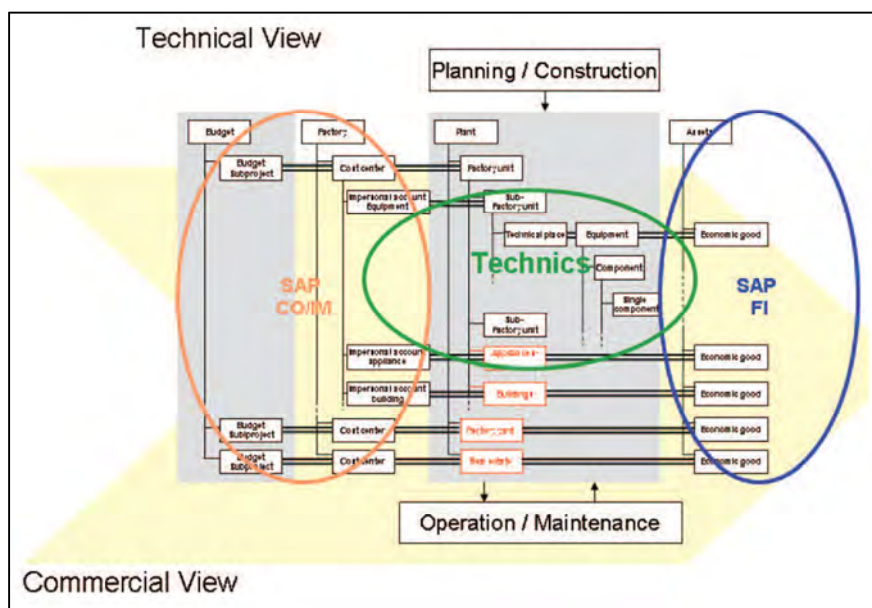
BAT metoodikate kasutamine on taastuvenergia projektides olnud kohustuslik Saksamaal. Sealse kogemuse põhjal võib väita, et planeerimise õigel korraldamisel saab taastuvenergia kasutamise keskkonnavalaseid ja finantsriske enne investeerimisotsuse tegemist, just ettevalmistuse käigus oluliselt maandada. Vastav menetlus on aluseks ka võimalikule riigiabi nõuetekohasele taotlemisele. Keskkonna- ja finantsmõjusid käsitletakse etappideks jaotatud planeerimistegevuses projekti kogumõjudena. Oluline on arvestustes läbida võimalikult kogu küsimuste ring.



**Joonis 12. Projekterimine olelusringi järgi (C.Schweitzer)**

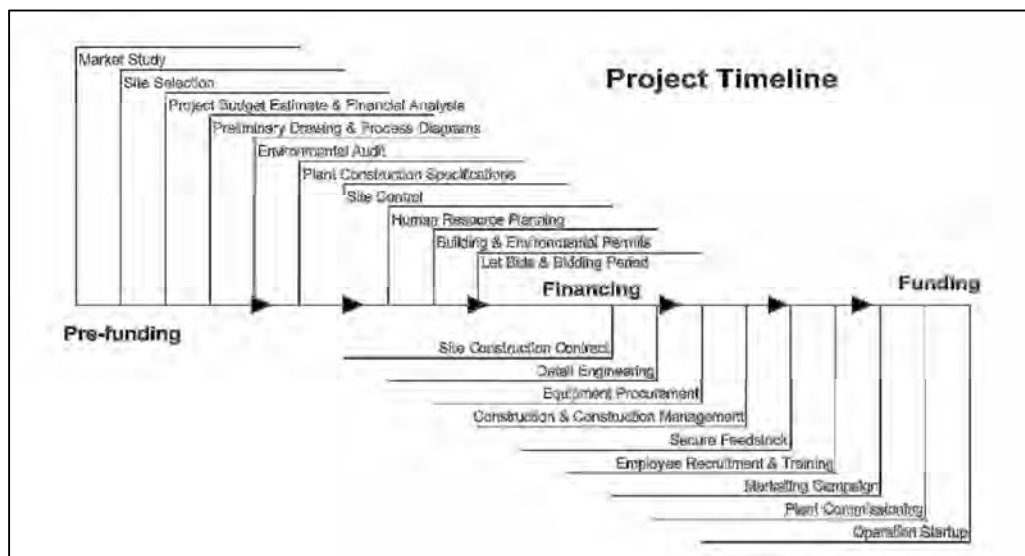
Mingi toote või teenuse planeerimisel jaotatakse massbilanss juba eelprojekteerimisel tehnoloogilisteks etappideks ja üritatakse nende etappide sisendite ja väljundite kaupa luua

parima võimaliku kasutatava tehnika mudel. Määravaks on otsuste langetamisel ikkagi hinnajuhtimine (*cost management*), kuid sealjuures vähima võimaliku keskkonnamõju arvestamisega. BGLi puhul saab arvestada varem tehnoloogiliselt kasutatud kütuse kohaliku gaaskütusega asendamise positiivset mõju. Protsessi näitlikustamiseks toome järgneva joonise (Joonis 13).



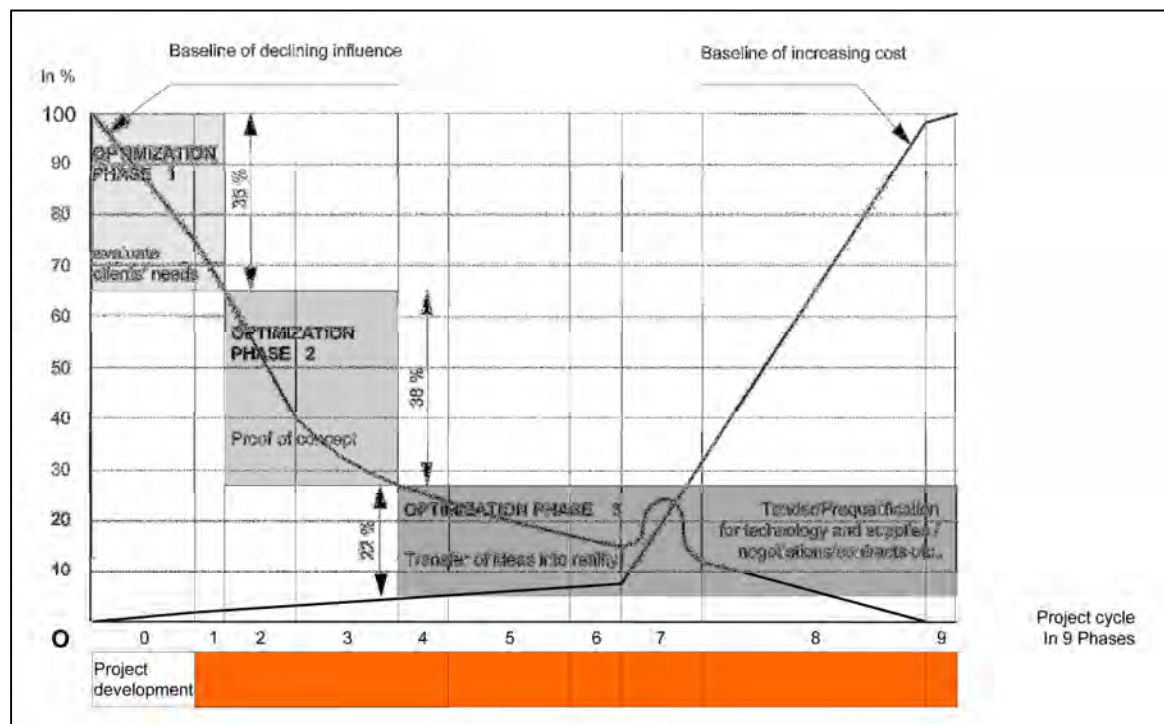
**Joonis 13. Massbilansi optimeerimise skeem (C Schweitzer)**

Parima võimaliku tulemuse saavutamiseks on investeerimisotsuse kujundamisel oluline planeerida tegevusi samaaegselt, mitte liikuda järjestikuselt üldplaneeringult detailplaneeringule, siis keskkonnamõjude hindamisele, edasi äriplaanile ja siis tehnilisele projektile. Varasemate kogemuste põhjal eeldatakse teatud robustse äriplaani ja keskkonnamõjude hinnangu olemasolu lõpptulemuse suhtes. Oluline on enne finantsotsuseid läbi viia tegevused, mis võimaldaksid saavutada optimaalse tulemuse (Joonis 14).



Joonis 14. Planeeringu tegevuste aegrida (C.Schweitzer)

Suuremad planeeringud jagatakse eeltoodust tulenevalt kuni 8 etappi, mis enne finantsotsust läbivad kuni 3 optimeerimise faasi. Lisatud jooniselt on näha, et vasakpoolse langeva graafikuga on optimeerimisel kuni 90% mõjudest arvestatud enne kui asutakse investeerima 93% projekti kogukuludest. Keskkonnamõjude arvestus tagab ka nende rahalise arvestuse lõpptoodete omahinnas.



Joonis 15. Etapilise planeeringu kogumõju arvestus (C.Schweitzer)

Juhul, kui kütuste ja kemikaalide grupis tuleb toote EL siseturul müümiseks läbida REACH vabatahtlik tõendamismenetlus, on eeltoodud viisil koostatud dokumentatsioon aluseks vastava REACH toimiku (dossier) koostamiseks ning toote järgneva deklareerimiseks. Turul oleval tootel on toimikus kajastatu ka tooteohutuse, nõuetelevastavuse ja tootevastutuse arvestamise faktiliseks materjaliks.

## 2.12. Maailma Kaubandusorganisatsiooni (WTO) lepingutega arvestamine

Kirjeldatud süsteemi on nii Ühenduse siseselt, kui ka väljaspoolt korduvalt kritiseeritud kui liigselt bürookraatlikku ja ebamõistlikult koormavat. Teistes riikides ja rahvusvahelises kaubanduses säästlikkuse kriteeriume ei arvestata. Mõningal määral on maakasutuse kaudsete mõjude (ILUC) arvestuse (ajutise) väljajätmisega süsteemi ka lihtsustatud, kuid säästlikkuse kriteeriumist kui RES üldpõhimõttest pole EL nõus loobuma. See on ka arusaadav, sest mõiste ILUC kasutusele võtja Timothy Searchinger'i sõnade kohaselt mõjutab see nähtus olulusringi analüüsi väga tugevalt. Näiteks bioetanooli tootmine nii maisist kui tselluloosist süsinikuemissioonide (KHG) vähendamise asemel hoopis suurendab neid<sup>1</sup>

<sup>1</sup> T. Searchinger et al. (2008). Use of U.S. Croplands for Biofuels Increases Greenhouse Gases Through Emissions from Land-Use Change. *Science* **319** (5867): 1238–1240. doi:10.1126/science.1151861



Seega osutub taastuvenergiadirektiiv RES tegelikult ja eriti veel REACH kontekstis turulepääsu piiranguks, täpsemalt KHG sisalduste arvestamise kohustusega kaubanduse tehniliseks barjääriks. Tulenevalt WTO lepetest tohib tehnilisi barjääre kasutada vaid inimeste ja eluslooduse ohutuse tagamiseks ning kaitseks (TBT leping). Nii ongi Liit real juhtudel kolmandatest riikidest pärit biomassist toodete osas kasutanud tasandustolle ja vaikeväärtusi, kui tegeliku väärtuse deklareerimist pole tagatud.

### 2.13. Eesti Vabariigi õigusaktide mõju

Ka Eestis on Riigikogu 16.02.2011. aastal vastuvõetud Keskkonnaseadustiku Üldosa Seaduse vastuvõtmisega asunud vastava seadusandluse kodifitseerimise teele. Kuna olulist mõju omavad eriosa seadused, nagu Maapõueseadus, pole veel vastu võetud, on nendest tuleneva võimaliku mõju hindamine keeruline.

Praegu saab vaid tõdeda, et argilliit maavarana arvel ei ole ja seda ei kasutata ei energeetilistel ega tööstuslikel eesmärkidel. Eestis ei ole maavarana arvel ka kohapeal toodetavat maagaasi. Avalikult kättesaadava informatsiooni kohaselt ei ole vastavate üldgeoloogiliste uurimistööde luba argilliidi *in situ* leostamiseks samuti taotletud. Käesolev uuring peaks selgitama eeskätt just laboratoorsete uuringutega, kas seda oleks otstarbekas taotleda.

Importitava Vene maagaasi keskkonnamõjudest on teada, et selle energia tootmiseks kasutamise tüüpilised keskkonnamõjud on väiksemad kui tahkekütuste või õli kasutamisel. Biogaasil ja biometaanil kui biokütustel neid mõjusid kokkuleppeliselt ei arvestata. Seega eelduslikult oleks BGL tootmisel selle kasutamine kohapeal tahke- ja vedelkütuste asendamiseks positiivse keskkonnamõjuga. Selles mõttes tuleks kaaluda niisuguse loodusressursi kui vähemalt kohaliku kütuse kasutamist. Tõstatatud küsimus, kas tegu võiks olla ka RES direktiivi ILUC täienduse Faktor 4 märgitud vedela või gaasilise taastuvkütusega, on Euroopa õiguse tasandi küsimus, kuid palju sõltub kohapeal läbiviidavate edasiste uuringute tulemustest.

Tüüpiliste KHG mõjude arvestamine BGL lühikese tootmisraja olemasolul lubab eeldada, et selle loodusressursi kasutuselevõtt elektri ja soojatootmises või transpordikütusena on positiivse mõjuga ka Välisõhu Kaitse Seadusega reguleeritud valdkonnas. Gaaskütuste kasutamine vähendab reeglina tahkeosakeste kontsentratsiooni.

**Maagaasiseadus:** juhul, kui kasutada biogeenset gaasi maagaasi magistraalvõrgus, kerkib küsimus maagaasile kehtestatud kvaliteedinõuetest. BGL on küll erinevalt biogaasist maagaasile sarnase metaanisaldusega, kuid ei ole alust eeldada, et see on kõigilt komponentidelt identne importitava Vene maagaasiga. Uuringute käigus tuleb komponendid analüüsiga määrata. Et praegune kvaliteedinõuete kirjeldus vastabki just Vene maagaasile, siis tuleks kvaliteedinõuete muutmist kaaluda ka teiste metaankütuste nagu põlevkivi uttegaas, LPG või biogaas

kasutamiseks magistraalvõrgus. Reas EL riikides, näiteks Hollandis, on metaanisalduse ja muud normid oluliselt madalamad kui Eestis. See võimaldaks gaaskütuseid ja nende tarneallikaid mitmekesistada.

**Alkoholi, Tubaka ja Kütuseaktsiisi Seadus (ATKAS)**: praeguses redaktsioonis tuleb arvestada, et kui biogeenset gaasi käsitleda maagaasi liigina, siis oleks selle tootmisel nõutav aktsiisiladu. Et aga biogaas on biomassi käitlemise saadus, siis selles osas pole vastavat nõuet rakendatud. On selge, et niisuguste nõuete olemasolul tuleks seda gaasi müüa vaid magistraalvõrgu kaudu. Et argilliit on aga Eesti alal laialt levinud, võib olla otstarbekas kasutada seda kinnistuomaniku küttena, nagu see on maakütte ja teiste soojuspumpade puhul. Biogeense gaasi laiem levik võimaldaks ulatuslikumalt kärpida ka KHG mõju olemasolevatest kütteallikatest. Lisaks saaks vähendada tootjate ja kodumajapidamiste kulusid. Praegustest Gazpromi naftahindadega seotud müügihindadest kujuneks BGL tootmise omahind arvestuslikult odavamaks, kui seda mitte kõrgema aktsiisimääraga koormata. Ilmselt on otstarbekas erinevalt käsitleda BGL tootmist edasiseks elektri ja soojuse müügiks ning tootmist omatarbeks. Seda on võimalik eristada Majandustegevuse Seaduse regulatsiooniga. Omatarbeks tootmine ei vajaks toetusi aga kindlasti, nagu seda vajab praegune biogaasi tootmine.

Uuringutega on vajalik selgitada ka **võimalik mõju põhjaveele**. Iseenesest võimaldab kasutatav DNA-põhine metagenoomi määramine põhjavee seisundit määratleda täpsemalt ja paremini kui senikasutatud meetodid. Vastav metoodika on teistes riikides kasutusel ja uuringute läbiviijatel on võimekus seda ka Eestis kasutada.

**Elektrituru Seaduse ja Vedelkütuste Seaduse** reguleerimisaladele BGL kütusena kasutuselevõtt otsesest mõju ei avaldaks. Tegemist on ühega metaankütustest ja eriregulatsioon ei ole vajalik., vähemalt mitte uuringute staadiumis. Mõju ilmnemiseks nendes valdkondades oleks vaja juba tehnoloogia ulatuslikumat levikut. Ka USA kildagaas hakkas turgudele mõju avaldama alles mitmete aastate möödudes.

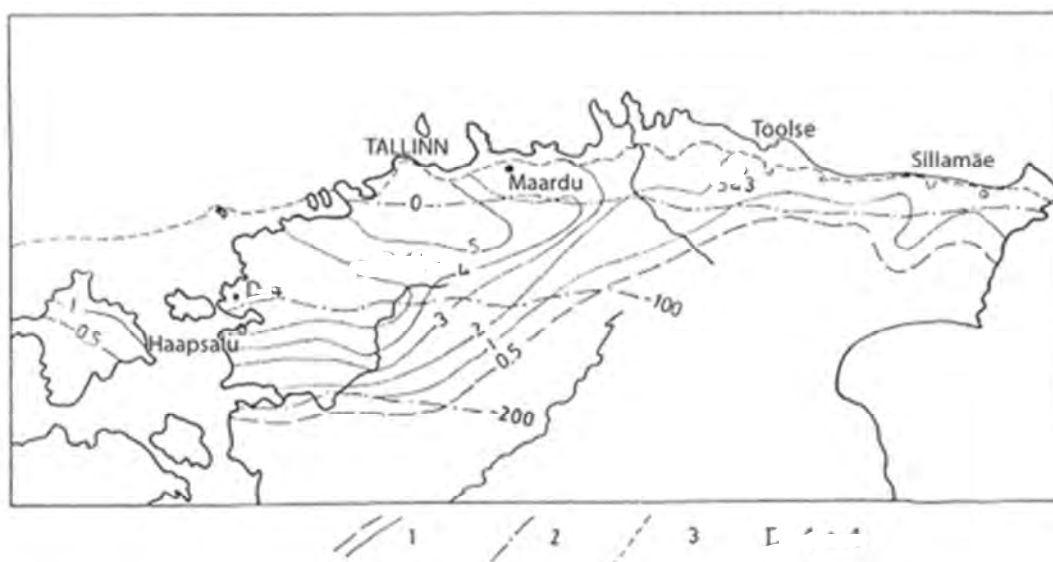
**Mõju kaubandusbilansile** oleks kindlasti positiivne. Esiteks väheneks imporditava gaasi vajadus ning piisava omamaise ressursi olemasolul langeks ka selle hind. Suuremates mahtudes tootmise korral saab seda torugaasina eksportida Läti, Leetu ja Soome, LNG tootmise võimaluste olemasolul ka mujale. Leedus proovitakse küll rakendada USA tehnoloogial kildagaasi tootmist sügavamates kihtides. Lätis ja Soomes teadaolevaid gaasitootmise (v.a. biogaas) projekte ei ole teada (Lisad 4, 7).



### 3. Argilliidist lähemalt, füüsikalise-keemilised näitajad

Argilliit ehk sageli nimetatud ka kui diktüoneemakilt levib kogu Põhja-Eestis umbes 10 000 km<sup>2</sup> suurusel alal ja kuulub ulatuslikku Kambriumi-Ordoviitsiumi mustade kiltade formatsiooni. Viimase esindajad on laikudena säilinud laiusesuunaliselt võõtmes Onega järvest idas kuni Jüüti poolsaareni läänes. Diktüoneemakilt korreleerub Lõuna- ja Kesk-Rootsi Kambriumi ja Ordoviitsiumi ladestu maarjaskilda (Alum Shale) läbilõike ülemise osaga.

Argilliidi avamused Eestis on jälgitavad Põhja-Eesti klindil Narvast kuni Pakri saarteni. Lääne-Eestis jäävad avamused juba merepinna alla. Lõuna suunas muutub kilda lasund sügavamaks, keskmiselt 3 m 1 km kohta. Lasundi alumine piir on setteline, litoloogiliselt terav, ülemine piir aga erosiooniline. Üksikuid, kuni 20 cm paksuseid kilda vahekihte, esineb ka kilda all levivas oobolusliivakivis. Kõige paksem on kilt Loode-Eestis, ulatudes 6 meetrini, Osmussaarel isegi 8 meetrini. Kilda paksus väheneb läänest ida ja põhjast lõuna suunas.



**Joonis 16. Argilliidi levik Eestis (V. Petersell, 2008)**

- 1 – kilda samapaksusjoon, m;
- 2 – kilda ülemise pinna samasügavusjoon merepinnast, m;
- 3 – kildalasundi erosiooniline põhjapiir.

Argilliidi koguaru suuruseks Eestis hinnatakse **60-70 miljardit tonni**.

Argilliit on suhteliselt pehme, kihilise struktuuriga, peenteraline settekivim. Kildas on ülekaalus peenaleuriitne fraktsioon (2–10 µm), mis moodustab kilda mineraalsest osast keskmiselt 52%. Peliitse fraktsiooni (<2 µm) osakaal on ligi 26% (Utsal jt, 1982).

Diktüoneemakilt koosneb ligi 65–75% mineraalsest aineist, 15% röntgenoamorfsest ja 10–20% orgaanilisest aineist. Röntgenstruktuuri analüüsi andmetel koosneb peliitne fraktsioon peamiselt savimineraalidest, aleuriitne fraktsioon ortoklassist, kvartsist ja savimineraalidest. Vilkude (muskoviidi, roheline ja pruuni biotiidi) ning kloriidi osatähtsus on tagasihoidlik. Koos 2–5 µm suuruste osakeste fraktsiooni sisalduse järsu tõusuga toimub savimineraalide asendumine K-päevakivi ja kvartsiga.

Püriidisisaldus (FeS<sub>2</sub>) on kildas muutlik, varieerudes tavaliselt 1,5–9% piirides. Püriit moodustab peenkristalseid külve, läätseid ja õhukesti vahelihikesi ning erineva kuju ja suurusega konkretsioone. Sageli sisaldab kildas leviv püriit markasiiti, mis atmosfääritingimustes asendub jarosiidi ja anhüdriidiga. Mõnede konkretsioonide sisemuses esineb galeniiti ja sfaleriiti. Püriidis sisalduv väävel (S) sarnaneb isotoopkoostiselt püriidi süvapäritoluga väävlile (Petersell jt, 1987).

Püriidi sisaldus suureneb sageli kilda läbilõike alumises osas, kus see võib ulatuda 25–30%-ni. Kilda ja oobolusliivakivi kontaktivööndis levib Pakri–Kuusalu vahelisel alal tugevasti püritiseerunud liivakivi kuni püriidist koosnev kiht, mille paksus ulatub 20–22 cm-ni. Püriidikihi ja kildas esineva püriidi mikroelementide sisaldus on üksikute analüüside andmetel madalam kui kildas. M. Althauseni info alusel võib püriidis Au sisaldus ulatuda kohati kuni 4 g/t.

Kildas esineb fosfaatseid ooide, samuti tsirkooni, turmaliini, granaate, korundi, amfiboole ja disteeni. P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> sisaldus varieerub kildas tavaliselt 0,05–1,52% piirides.

Diktüoneemakilda orgaaniline aines on peendisdispersne, jaotunud suhteliselt ühtlaselt kogu kildas ja selle sisaldus varieerub valdavalt 15–20% piirides. Orgaanilise aine mõningane tõus on jälgitav Lääne-Eestis lasundi läbilõike keskses osas. Orgaaniline aines otsekui tsementeerib kilda ja muudab selle vees pundumatuks. Diktüoneemakilda orgaaniline aines on sapropeliitse päritoluga, lämmastiku-, väävli- ja hapnikurikas (Tabel 1).

Kuigi orgaanilises aines on süsiniku ja vesiniku suhe lähedane 9-le, on selle kütteväärtus tagasihoidlik, keskmiselt 3,3 MJ/kg ehk 788,2 kcal/kg (Petersell jt, 1992). Toorõli väljatulek moodustab kilda orgaanilisest aineist Fischeri alumiiniumretordis ainult 22–26% .

Keemiliselt koostiselt on diktüoneemakilt huviäratav. Kui orgaaniline materjal välja arvata, on diktüoneemakilt väga K-rikas ning Na- ja Ca-vaene, makrokomponentide koostiselt küllalt lähedane hüdrovilkuderikkale savile. Diktüoneemakildas on palju raskeid ja haruldasi metalle. Tööstuspotentsiaali suhtes on olulisemad elemendid uraan (U), molübdeen (Mo) ja vanaadium (V). Kohati esineb rohkesti seatina (Pb), tsinki (Zn) ja niklit (Ni) ning kõikjal esineb kõrges kontsentratsioonis reenumit (Re). On leitud ka kulda ja plaatinat

**Tabel 1. Argilliidi orgaanilise aine (OM) elementne koostis, kütteväärtus ja õli väljatulek**

Põlevkivi maardla	OM Elementide sisaldus, %					OM*, MJ/kg	OM**, %
	C	H	N	O	S		
Eesti (kukersiit)	77,0	9,7	0,4	10,6	1,6	3,9	66
Diktüoneemakilt	67,6	7,6	3,6	18,6	2,6	3,3	22-26
Sh Paldiski	72,8	7,4	2,6	17,2	?		
Maardu	69,3	8,4	3,7	16,1	2,6		
Ontika	58,3	5,3	2,4	34,4	?		

OM\* - orgaanilise aine kütteväärtus; OM\*\* - õli väljatulek orgaanilisest ainest

Argilliidis on kirjanduse andmeil teada üle 14 mikroelemendi (Tabel 1), mille valdav sisaldus ületab savide klarki 2–100 ja enam korda. Mikroelementide sisaldus on nii piirkonniti kui ka läbilõikes muutlik. Tööstuspotentsiaali suhtes olulisemate elementide – uraani, molübdeeni ja vanaadiumi kõrge sisaldus esineb Kirde-Eestis paiknevas kivimis, kus kilda paksus ei ületa tavaliselt 1–2 m. Lääne-Eestis, kus kilda paksus on suur, on nende elementidega piirkonniti rikastunud ainult alumine, ligi 2 m paksune kiht. Nendel rikastunud aladel on elementide sisaldus lähedane või isegi kõrgem Toolse piirkonna mikroelementide sisaldusest (Tabel 2).

**Tabel 2. Argilliidi makro- ja mikroelementide sisaldus (V. Petersell 2008)**

Komponent, element	Mõõtühik	Piirkond				Savide klark
		Lääne-Eesti	Maardu	Toolse	Sillamäe	
Orgaaniline materjal	%	21,39	17,83	18,76		
SiO <sub>2</sub>	%	48,92	52,09	51,15		50,93
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	%	13,09	13,09	9,76		19,75
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	%	5,61	5,68	8,03	5,41	5,23
TiO <sub>2</sub>	%	0,73	0,64	0,73	0,69	0,77
CaO	%	0,49	0,82	2,82	1,64	3,45
MgO	%	1,49	1,42	1,08	0,67	2,24
Na <sub>2</sub> O	%	0,08	0,56	0,09	0,07	0,89
K <sub>2</sub> O	%	7,89	7,74	5,72	6,93	2,75
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	%	0,2	0,23	0,39		0,16
Ag	g/t	1,5	0,6	1,6	2,5	0,08
Au	g/t	0,08	0,2	0,04	0,08	0,001
As	g/t	49	44	38	124	13
Cd	g/t	0,5	0,2	1,6	4,7	0,3
Cu	g/t	94	80	75	114	45
Mo	g/t	162	53	406	1100	2,6
Pb	g/t	130	98	120	400	20
Re	g/t	0,1	0,08	0,18		0,0007
Sb	g/t	11	6,4	34	37	1,4
Se	g/t	2,8	1,4	2,9	4,6	0,6
Ta	g/t	2,7	2,9	2,4	2,5	0,8
Tl	g/t	8,2	2,3	7,4	1,4	1,4
U	g/t	86	36	162	450	3,7
V	g/t	724	350	1040	900	130

Uuringu tegevusplaani kohaselt määrati katsetes kolmest erinevast kivimiproovist kokkusegatud proovi füüsikalise-keemilised näitajad (orgaanilise aine sisaldus, sulfaatide sisaldus, sulfiidide sisaldus jms, Tabel 3). Kuigi orgaanilise aine sisaldus uuritavas proovis on pisut üle miinimumi (11,4%), on väävlisisaldus sealjuures suhteliselt madal (2,3%). Seega on uuritaval materjalil kõik eeldused biogeense gaasi tootmiseks.

**Tabel 3. Uuritava proovi füüsikalised-keemilised näitajad**

Näitaja	Katsemeetod	Mõõtühik	Tulemus
Analüütiline niiskus, W	EVS 668	massi %	1,2
Utmise produktide saagis kuivainele:			
utteõli	GOST 3168	massi %	2,5
poolkoks			92,3
pürogeenne vesi			2,1
uttegaas ja kaod			3,1
Tuhasus, A	ISO 1171	massi %	82,9
Lenduvate ainete saagis	GOST 6382	massi %	11,7
Karbonaatide süsinikdioksiidi sisaldus	GOST 7752	massi %	Ei leitud
Tinglik orgaaniline mass, TOM	arvutus	massi %	17,1
Kütteväärtus pommi meetodil	GOST 147	MJ/kg	5,040
Kütteväärtus ülemine			4,800
Kütteväärtus alumine			4,500
Elementkoostis:			
C	ASTM D5373	massi %	11,4
H			1,3
N			0,3
Üldise orgaanilise süsiniku sisaldus, TOC	arvutus	massi %	
Üldväävli sisaldus	GOST 8606	massi %	2,30
S orgaaniline	GOST 30404	massi %	0,25
S püriitne		massi %	1,53
S sulfaatne		massi %	0,52
Kloori sisaldus	GOST 9326	massi %	0,04

Antud peatükk on koostatud kasutades muuhulgas geoloog Valter Peterselli poolt kogutud materjale.

## 4. Tingimuste mõju metaani tootmisele – laborikatsete kirjeldus

### 4.1. Peamiste seadmete ja tarvikute kasutus

#### 4.1.1. Peamised seadmed proovide ettevalmistamiseks

##### Tehnilised ja analüütilised kaalud

Tehnilised ja analüütilised kaalud kasutati argilliidiproovide ja mikrobioloogiliste söötmete ettevalmistamiseks.

Kaalude täpsused:

tehnilised kaalud - täpsus 0,01 g ja 0,001 g,

analüütilised kaalud - täpsus 0,0001 g.

#### 4.1.2. Seadmed proovide kultiveerimiseks

##### AMPTS II (Automaatne metaani potentsiaali testsüsteem)

AMPTS II seadet kasutatakse kivimiproovides leiduvate metanogeensete mikroorganismide kultiveerimiskatsetes metaanipotentsiaali määramiseks. Ettevõtte Bioprocess Control AB (Lund, Rootsi) poolt välja töötatud täisautomaatne testsüsteem võimaldab ka automaatset andmeanalüüsi. Ühtlasi on kultiveerimise kulgu ja metaani teket võimalik reaalajas distantisilt jälgida. Katse saab käivitada korraga 15 erineva prooviga, kuid katse ajal erinevate proovide termostateerimise temperatuure muuta ei saa, samuti pole soovitatavad muud manipulatsioonid üksikute proovipudelitega. Seade installeeriti ettevõttesse BiotaP OÜ juunis 2014.

##### Oxitop-süsteem

Oxitop-süsteem on muldade, kompostisegude jms respiratsiooniaktiivsuse (hapnikutarbe) mõõtmiseks mõeldud manomeetriline mõõtesüsteem, mida saab kasutada ka metaankääritamise intensiivsuse hindamiseks. Selle süsteemiga määratakse rõhu muutused proovidega täidetud katsepudelites, mis asuvad termostateeritud kambris. Protsessi käigus eralduva süsihappegaasi sidumiseks võib mõõtepudelitesse lisada leelisegraanuleid. Erinevalt AMPTS II süsteemist on keskkonnatingimuste valik üksikutele proovipudelitele üksteisest sõltumatu. Kultiveerimiskatsed Oxitop-süsteemiga algasid 30. mail 2014.

##### Termostateeritav loksuti

Seadet kasutati kultiveeritavatele mikroorganismidele sobivate temperatuuride saavutamiseks ja hoidmiseks ning toitekeskkondade segamiseks. Kokkuleppel projekti teaduslike konsultantide prof. Maia Kivisaare ja prof. Ain Heinaruga kasutati projekti täitmiseks Tartu Ülikooli Molekulaar- ja rakubioloogia instituudis asuvaid loksuteid. Lisaks kasutati ettevõtte BiotaP OÜ termostateeritavat loksutit.

### **4.1.3. Seadmed mikrobioloogiliste söötmete valmistamiseks**

#### Tehnilised ja analüütilised kaalud

Kasutati samu seadmeid, mida argilliidi proovide ettevalmistamisel (vt p. 4.1.2).

#### Autoklaav

oli vajalik mikroorganismide toitekeskkondade ja laborinõude steriliseerimiseks.

### **4.1.4. Analüütilised seadmed**

#### Gaaskromatograaf

Gaaskromatograaf oli vajalik eralduva gaasisegu koostise mõõtmiseks kõigis kultiveerimise katsetes. Proovide gaaskromatograafiline analüüs tehti TTÜ Virumaa Kolledži Põlevkivi Kompetentsikeskuses ja TÜ Ökoloogia ja maateaduste instituudis

#### Süsteem gaasi kogumiseks

Projektis kasutati gaasiproovide võtmiseks TÜ Ökoloogia ja maateaduste instituudi keskkonnaseire gaasiproovide kogumise süsteemi.

#### pH-meeter

pH meetrit kasutati pH reguleerimiseks söötmete valmistamisel ja kultiveerimiskatsetest võetud proovide kontrolliks. BiotaP OÜ soetas selleks tööks pH-meetri Voltcraft PH-100 ATC pH Meter.

#### Põleti

Gaasi olemasolu demonstreerimiseks võib kasutada katseseadme väljavoolus laboratoorset gaasipõletit, mis soetati firmalt Total Eesti OÜ.

### **4.1.5. Laboritarvikud, kemikaalid ja tehnoloogiad**

#### Gaasisegu Ar, N<sub>2</sub> või N<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub>

oli vajalik anaeroobse keskkonna tekitamiseks. Kasutatakse nii inertgaas argooni, tööstusliku puhtusega lämmastikku, lämmastiku ja süsihappegaasi segu kui ka segu 90% N<sub>2</sub>, 5% H<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>. Süsteemi kuulusid gaasiballoon, reduktor, manomeeter, survevoolik ja gaasipüstol.

#### Mikrobioloogiliste söötmete komponendid

Söötmete komponentidena kasutati mitmesuguseid suhkruid ja alkohole C-allikana, NH<sub>4</sub>-soolasid lämmastikuallikana, mikro- ja makroelemente ning puhversüsteemi.

#### Süstlad, nõelad

Korduvkasutatavad süstlad ja nõelad on gaaskromatograafi lisatarvikud ja vajalikud gaasiproovide gaaskromatograafi sisestamiseks. Ühekordseid süstlaid ja nõelu kasutati söötmeproovide võtmiseks DNA eraldamise eesmärgil.

Söötmeproovidest DNA eraldamise komplekt

Söötmeproovidest DNA eraldamiseks kasutati *MoBio Power Soil DNA Isolation* komplekti.

#### Lauatsentrifuug

Lauatsentrifuug oli vajalik vedelfaasi proovide ettevalmistamiseks kromatograafilisteks mõõtmisteks, samuti proovidest DNA eraldamisel ja amplikonide valmistamisel.

Bakteriaalse rDNA ja arhede rDNA tuvastamine

Bakteriaalse rDNA ja arhede rDNA tuvastamiseks teostati polümeraasi ahelreaktsioon (PCR) kasutades PCR masinat. Lisaks tuvastati DNA proovidest atsetogeenidele ja metanogeenidele spetsiifilisi markergeene

#### Bakteriaalse ja arhede rDNA sekveneerimine

Bakteriaalse ja arhede rDNA amplikonide järjestused komplekteeriti nings sekveneeriti kasutades teise põlvkonna 454 Life Sciences pürosekveneerimise tehnoloogiat. Pürosekveneerimise tulemusel valminud toorfailid töödeldi bioinformaatiliselt ning identifitseeriti proovides esinevad mikroorganismid.

## **4.2. Mikrobioloogiliste söötmete valmistamine kultiveerimiskatseteks**

### **4.2.1. Mikrobioloogiliste söötmete (toitainelahuste) koostamine**

Mikrobioloogilised söötmed on gaaside ning anorgaaniliste ja/või orgaaniliste anioonide ja katioonide (soolade) segud, mis hõlbustavad mikroorganismide kasvu kultuuris. Söötmete komponentideks on mitmesugused suhkrud ja alkoholid C-allikana,  $\text{NH}_4$ -soolad lämmastikuallikana, mikro- ja makroelemendid ning puhversüsteem. Toitained võib jagada endogeenseteks (puuraugust võetud materjalis juba olemas) ja eksogeenseteks (need, mis uuritavas proovis puuduvad). Tavaliselt koosnevad metaani tootva koosluse toitainelahused anorgaaniliste soolade segust, mida valitakse järgmisest nimekirjast:  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaMoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KHPO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaHPO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_3$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_2$ ,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_{20}$  alküülfosfaatühendid,  $(\text{C}_1$ - $\text{C}_{20})_3$  trialküülfosfaadid, nt trietüülfosfaat, tripolüfosfaadid, fosforhappe kondenseeritud vormid, sh tripolüfosforhappe, pürofosforhappe, kondenseeritud fosforhappe soolad, nt kaaliumi ja naatriumi tripolüfosfaadid (McCutcheon et al, 2011). Mõned ühendid on metanogeenidele kahjulikud (sulfaadid, nitraadid, nitritid, hapnik). Seega metanogeenide toitainelahustes tuleb nende kasutamist vältida. Projekti käigus tehti



kirjanduse otsing metanogeensete arhede kasvuks sobivate toitekeskkondade kohta (Tabel 4, Tabel 5).

**Tabel 4. Metanogeenide eraldamiseks sobivate kasvukeskkondade võrdlus, komponentide kogused 1 liitri toitainelahuse valmistamiseks.**

<b>Makroelemendid</b>	Khelaifia, S., Raoult, D. and Drancourt, M., 2013	Kotelnikova, S. and Pedersen, K., 1998	Youngsukkasem, S., Rakshit, S.K. and Taherzadeh, M.J., 2012
NiCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1,5 mg/L		0,5 mg/L
FeSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0,5 mg/L	0,1 g/L	
FeCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O			0,04 g/L
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,8 g/L	3 g/L	0,4 g/L
KCl	0,05 g/L		0,4 g/L
KI			0,01 g/L
CaCl <sub>2</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,05 g/L	0,1 g/L	0,05 g/L (2·H <sub>2</sub> O)
NaCl	1,5 g/L	1 g/L	
<b>Puhver</b>			
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5 g/L		
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5 g/L		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>			0,08 g/L
<b>N-allikad</b>			
NH <sub>4</sub> Cl	1 g/L		1,2 g/L
<b>Mikroelemendid</b>			
MnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,6 mg/L	0,5 g/L	
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O			0,5 mg/L
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,1 mg/L	0,1 g/L	
ZnCl <sub>2</sub>			0,5 mg/L
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,02 mg/L	0,1 g/L	
CuCl <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O			0,5 mg/L
KAl(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·12H <sub>2</sub> O	0,2 ug/L	0,1 g/L	
AlCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O			0,5 mg/L
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	7 ug/L	0,1 g/L	0,5 mg/L
CoSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	4 ug/L		
CoCl <sub>2</sub>		0,1 g/L	0,01 g/L (6·H <sub>2</sub> O)
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,5 mg/L	0,1 g/L	0,5 mg/L
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O	3 ug/L		0,5 mg/L (ilma H <sub>2</sub> O-ta)
Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	4 ug/L		0,5 mg/L
Nitriilotriäädikhape	0,15 mg/L	1,5 g/L	

<b>Mikroelementide lahus SL-6</b>		10 mL	
<b>C-allikad</b>			
Na-atsetaat	1 g/L	20 mM	300 g/L
glükoos			100 g/L
metanool	4 M	30 mM	100 g/L
Na- formaat	8 M	30 mM	
monometüülamiin		20 mM	
Trimetüülamiin (TMA)		20 mM	
H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>		80:20% v/v (p = 2 bar)	
<b>Kasvustimulaatorid</b>			
trüptikaas	2 g/L		
koensüüm M (merkaptotaansulfooonhape)		5 mg/L	
pärmiekstrakt	2 g/L	0,1 g/L	
L-tüsteiin hüdrokloriidmonohüdraat	0,5 g/L	0,5 g/L	0,01 g/L
CAS-aminohapped		0,1 g/L	
trüptoon		0,1 g/L	
<b>Metabolismi vaheproduktid</b>			
palderjanhape	5 mM	3 mg/L	
isopalderjanhape	5 mM		
N-võihape		16 mg/L	100 g/L
2-metüülvõihape (DL-2- metüülvõihape)	5 mM	3 mg/L	
isovõihape	6 mM	3 mg/L	
2-metüülpalderjanhape	5 mM		
propionhape		20 mg/L	100 g/L
<b>Redutseeriva keskkonna indikaator</b>			
resazuriin	1 mg/L	2 mg/L	
<b>Puhver / C-allikas</b>			
NaHCO <sub>3</sub>	10%	2,0 g/L	6,0 g/L
<b>Redutseeriv agent</b>			
Na <sub>2</sub> S	2%	0,5 g/L	0,3 g/L
<b>Vitamiinide lahus</b>			
	<b>Balch, 1979</b>	<b>Wolin et al, 1963</b>	
biotiin	2 mg/L	2 mg/L	
foolhape	2 mg/L	2 mg/L	
püridoksiin (hüdrokloriid)	10 mg/L	10 mg/L	
tiamiin (hüdrokloriid)	5 mg/L	5 mg/L	
riboflaviin	5 mg/L	5 mg/L	

nikotiinhape	5 mg/L	5 mg/L	
DL-kaltsium pantotenaat	5 mg/L		
pantoteenhape		5 mg/L	
vitamiin B12	0,1 mg/L	0,1 mg/L	
p-aminobensoehape	5 mg/L	5 mg/L	
lipohape( <i>thioctic acid, α-lipoic acid</i> )	5 mg/L	5 mg/L	
vitamiinide lahus		5 mL/L	
<b>põhjavesi analüüsitavast puuraugust</b>		985 mL	

**Tabel 5. Metanogeenide kasvukeskkonna võrdlus teiste anaeroobsete mikroorganismide kasvukeskkondadega**

Metanogeenide toitaineahuse komponendid (McCutcheon, I.; Richard, S. and Donald, I. 2011)		Fermentatiivsete bakterite toitainelahuse komponendid (Huang, 2008)		Sulfaate taandavate bakterite toitainelahuse komponendid (Huang, 2008)	
Toitaine	Kontsentratsioon(g/L)	Toitaine	Kontsentratsioon (g/L)	Toitaine	Kontsentratsioon (g/L)
MgCl <sub>2</sub>	0.363543	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.53	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.53
NH <sub>4</sub> Cl	0.066819	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.33	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.33
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.016991	NH <sub>4</sub> Cl	0.10	NH <sub>4</sub> Cl	0.90
NaHCO <sub>3</sub>	0.800235	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.10	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.394
FeSO <sub>4</sub>	0.001012	NaBr	0.024	NaBr	0.024
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	2.65 x 10 <sup>-5</sup>	NaHCO <sub>3</sub>	2.10	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	4.50
MnCl <sub>2</sub>	5.61 x 10 <sup>-5</sup>	NaCl	10.96	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.40
CoCl <sub>2</sub>	0.000914	NaMoO <sub>4</sub>	2.42	NaHCO <sub>3</sub>	2.10
NiCl <sub>2</sub>	0.000115			NaCl	8.76
CuCl <sub>2</sub>	1.39 x 10 <sup>-6</sup>				
ZnSO <sub>4</sub>	7.13 x 10 <sup>-5</sup>				
Na <sub>2</sub> MoSO <sub>4</sub>	1.97 x 10 <sup>-5</sup>				
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	4.38 x 10 <sup>-6</sup>				
NaWO <sub>4</sub>	6.28 x 10 <sup>-5</sup>				
NaCl	7				
CaCl <sub>2</sub>	0.12				
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.175				

Tabelis 4 on esitatud kolm metanogeensete mikroorganismide kasvatamiseks sobivat toitainelahust ning tabelis 5 metanogeenste mikroorganismide toitainelahused võrrelduna fermentatiivsete ja sulfaati redutseerivate mikroorganismide toitaineahustega. Metanogeensete mikroorganismide kasvatamisel segakultuuris on eriti oluline toitainelahuse piisav puhverduusvõime, sest kasvukeskkond kipub fermentatiivsete mikroorganismide

metabolismiproduktide tõttu kiiresti hapustuma, metanogeenidele on aga soodne vaid leeliseline kasvukeskkond (vahemikus pH 7–9). Oluline on mikroelementide ja vitamiinide lisamine, samuti soodustab metanogeenide kasvu metabolismi vaheproduktide ja metanogeneesi substraatide (atsetaat, metanool, trimetüülamiin, CO<sub>2</sub> ja H<sub>2</sub> segu jms) lisamine. Nii on kirjanduse andmetel (Khelaifia, S. et al, 2013) metanogeenide isoleerimiseks kasutatud SAB sööde nn. rikas sööde, mis koosneb enam kui 40-st komponendist.

Mikroorganismide isoleerimisel keskkonnaproovidest võib välja tuua kaks söötmete valiku strateegiat:

**Rikas sööde**, mis sisaldab kõiki isoleeritava(te) mikroorganismi(de) kasvuks vajalikke komponente.

Eelis: mikroorganismid kasvavad kiiremini

Puudused: söötme valmistamine on keerukas (söötme komponente võib olla üle 40), söötme komponendid on kallid ja söötme majanduslik tasuvus biokaevandamisel võib olla küsitav

**Baassööde + komponendid**, mis soodustavad metanogeneesi erinevate faaside toimimist.

Eelised: söödet on lihtne valmistada ning on lihtne leida seost metaani saagise ja komponendi lisamise vahel; sööde on majanduslikult tasuvam

Puudused: veidi suurem ajakulu, selle vältimiseks võib käivitada paralleelselt katsed erinevate söötme komponentidega

Keskkonnaproovidest eraldatakse mikroorganisme tavaliselt minimaalsöötmetega mida antud kontekstis võib käsitleda baassöötmena. Käesolevas projektis valiti selleks R2A, mis on sobiv sööde keskkonnast, sh veest mikroorganismide eraldamiseks. Sellele baassöötmele võib lisada täiendavaid komponente, nagu nt atsetaat, propionaat, butüraat, metanool, glükoos, etanool jne. Söötme R2A koostis on järgmine (Reasoner, D.J. and. Geldreich, E.E., 1985):

0,5 g pärmiekstrakti, 0,5 g Difco peptooni (Difco Laboratories), 0,5 g CAS-aminohappeid (Difco), 0,5 g glükoosi, 0,5 g lahustuvat tärklist, 0,3 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,05 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,3 g Na-püruvaati 1 liitri milliQ vee kohta. pH viiakse 7,2-ni kristallilise K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> või KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> abil ja toitekeskkonda autoklaavitakse 121°C juures 15 min.

Järgnevates argilliidiproovide mikrokosmi katsetes lisati R2A põhisöötmele täiendavalt erinevaid süsinikuallikaid ja metanogeneesi soodustavaid substraate (Tabel 6). Kõikidele söötmevariantidele lisati NaHCO<sub>3</sub> puhver (edaspidises tekstis käsitletakse baassöötmena R2A söödet, millele on lisatud ainult puhver)

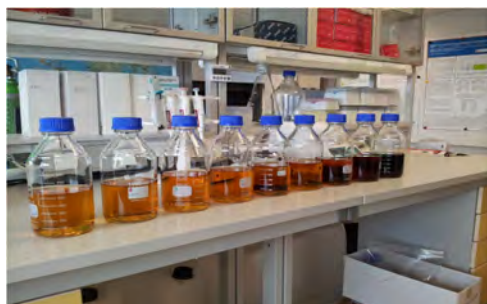
**Tabel 6. Erinevad lisandid R2A põhisisõõtmele mikrokosmi katsetes argilliidiga**

Komponent	Molekulmass	Kontsentratsioon, mM	Kontsentratsioon, g/l	Katse
<b>Süsinikuallikad</b>				
Glükoos	180,16	20	3,60	Seerumipudelid, Oxitop, AMPTS II
Etanool	46,07	20	0,92	Seerumipudelid
Võihape	88,11	20	1,76	Seerumipudelid
Propioonhape	74,08	20	1,48	Seerumipudelid
<b>Metanogeneesi substraadid</b>				
Metanool	32,04	20	0,64	Seerumipudelid, Oxitop, AMPTS II
Na-atsetaat	82,03	20	1,64	Seerumipudelid, Oxitop, AMPTS II

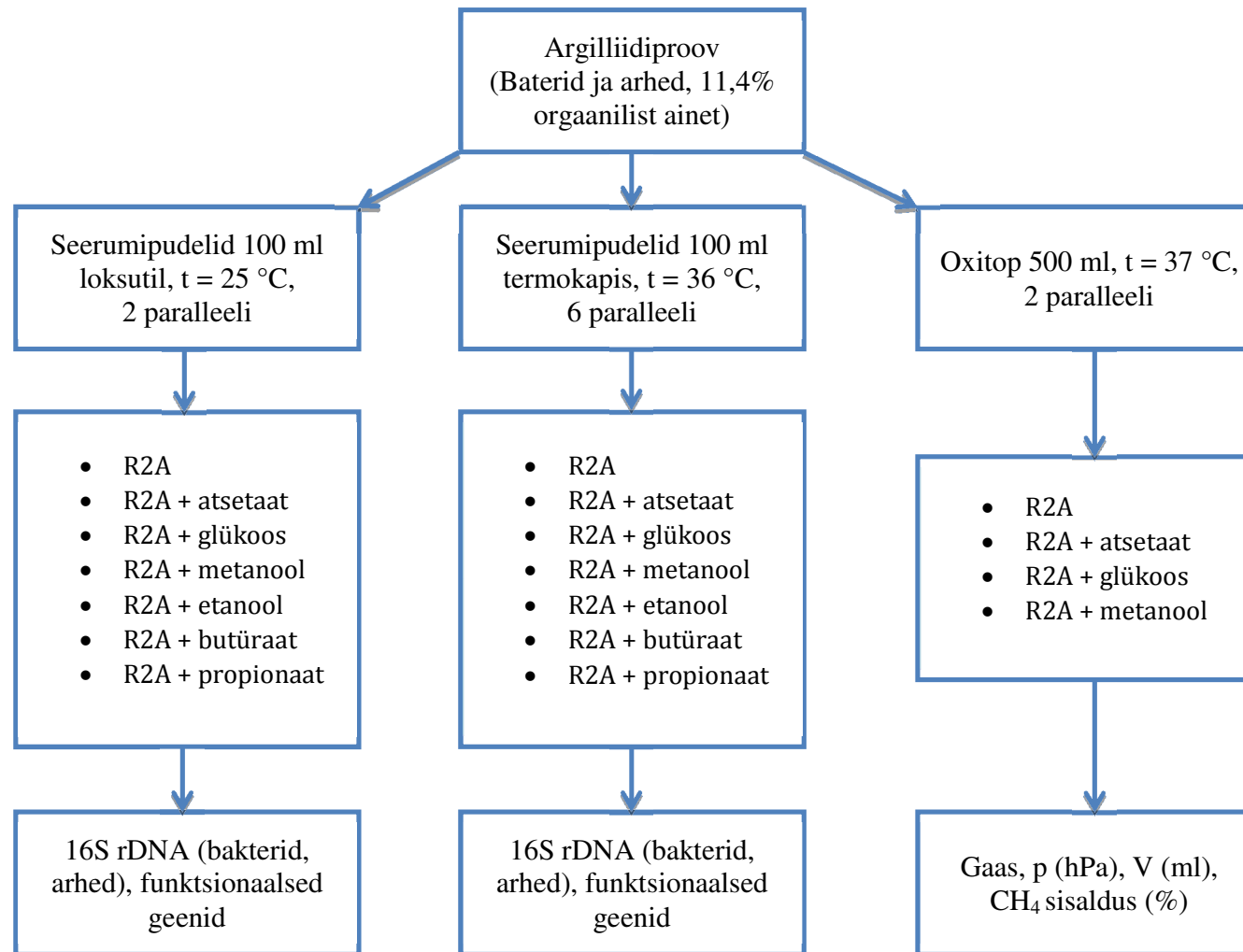
#### **4.2.2. Anaeroobsete mikroorganismide kasvatamiseks mõeldud söötmete valmistamine**

Seerumipudelites olevatele argilliidiproovidele valati peale autoklaavitud sööde, misjärel lisati gaas anaeroobse keskkonna tekitamiseks, ning suleti õhukindlalt spetsiaalse sulguriga. Söötmetest eemaldati hapnik, juhtides läbi söötme lämmastikku.

Et kõik anaeroobsed bakterid vajavad madalat redokspotentsiaali, siis lisati söötmetele redutseerivad agendid. Argilliidikatsete jaoks autoklaavitud söötmete foto ja kultiveerimise katse alustamiseks valmis seerumipudelid on joonisel 21 ning söötmete valmistamise skeem koos katseplaaniga on joonisel 22.



**Joonis 21. Autoklaavitud söötmete pudelid vasakul; kultiveerimiseks valmis seerumipudelid paremal**



**Joonis 22. Söötmete valmistamise skeem erinevate katsete jaoks (kõikidele söötmevariantidele on lisatud NaHCO<sub>3</sub> puhver)**

### **4.3. Argilliidiproovide ettevalmistamine kultiveerimiskatseteks**

Katsetes kasutati inokulumina Eesti Geoloogiakeskusest saadud proove argilliidikihindist. Proovid purustati haamriga väiksemateks tükkideks, suurima mõõtmega 1 cm. Oluline oli saavutada võimalikult ühtlase suurusega proovitükikesed, samas vältides kokkupuudet õhuhapnikuga. Seepärast viidi purustamise protseduur läbi võimalikult kiirelt. Saadud argilliidiproov oli üheaegselt nii inokulumiks (mikroorganismide allikas) kui ka substraadiks (toitainete allikas), sest proovitüki orgaanilise süsiniku sisaldus oli 11,4% (sh väävlit 2,3%).

### **4.4. Kultiveerimiskatsed argilliidi mikrokosmidega**

Argilliidi mikrokosmi katsed teostati vastavalt joonisel 22 esitatud katseplaanile. Katsed Oxitop® süsteemiga 37 °C juures käivitati Tartu Ülikooli Molekulaar- ja rakubioloogia instituudis 30.05.2014 ning temperatuuril 25 °C ja 36 °C termostateeritud seerumipudelites ettevõttes BiotaP OÜ 06.06.2014. Seerumipudeli katsete ja Oxitop® süsteemiga katsete tulemuste põhjal otsustati söötmete valik ja tingimused AMPTS II süsteemi katses ning viimase põhjal omakorda pilootkatse söötmed ja tingimused.

#### **4.4.1. Kultiveerimiskatsed seerumipudelitega**

Metaani tootmiseks looduslike protsesside mõjutamise teel on oluline iseloomustada biogeense gaasi tekkekohtades olevat mikrobikooslust ning selles osalevate mikroorganismide rolli metanogeneesis. Tundes nende mikroorganismide metabolismi ja põhiomadusi, on võimalik tunduvalt suurendada metaani tootmise efektiivsust ning tulevikus kasutada biogeenset metaani ühena taastuvatest energiaallikatest (Logunova, A., 2013; Koide, H. and Yamazaki, K., 2001).

Argilliidi metaani tootva mikrobikoosluse analüüsiks käivitati 6. juunil 2014 kõigi söötmekombinatsioonidega 6 paralleelkatset 36 °C juures ning 2 paralleelkatset 25 °C juures (joonis 22). Iga kahe nädala järel avati üks 36 °C juures olev ning iga 4 nädala tagant 25 °C juures olev seerumipudel. Avatud seerumipudelitest võeti söötmeproovid, millest eraldati biomass filtreerimise teel ning sellest omakorda eraldati DNA. Järgnes PCR analüüs atsetogeenidele või metanogeenidele spetsiifiliste praimeritega ning seejärel pürosekveneerimise märgisega amplikonide valmistamine PCR meetodil ning pürosekveneerimine (ptk. 6).

6.06.2014 kõigi söötmekombinatsioonidega t=20°C juures käivitatud 2 paralleeliga katse seerumipudelid avati vastavalt 30 päeva ja 60 päeva möödudes. Biomass eraldati filtreerimise teel, sellest omakorda DNA ning järgnevalt toimiti samuti, nagu t=36°C katse puhul.





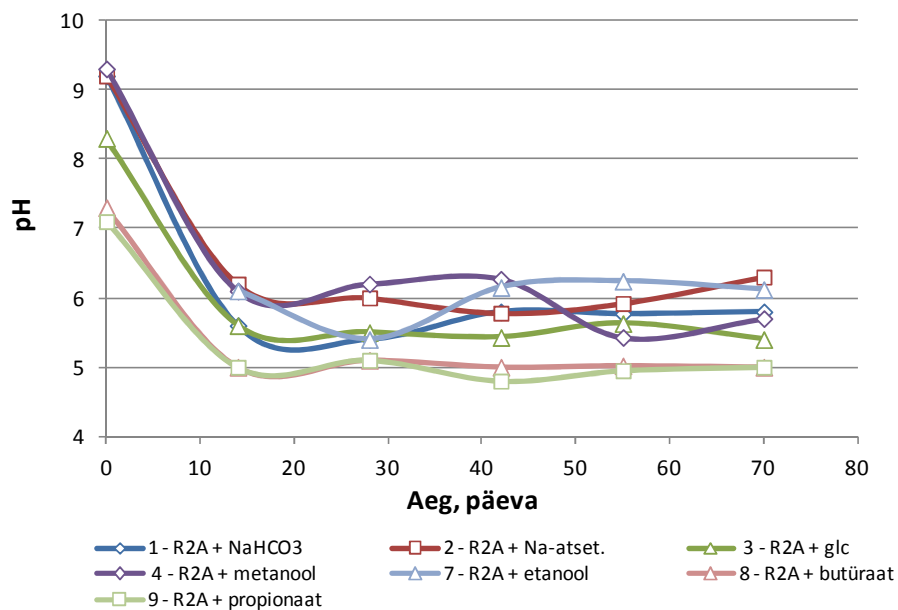
a



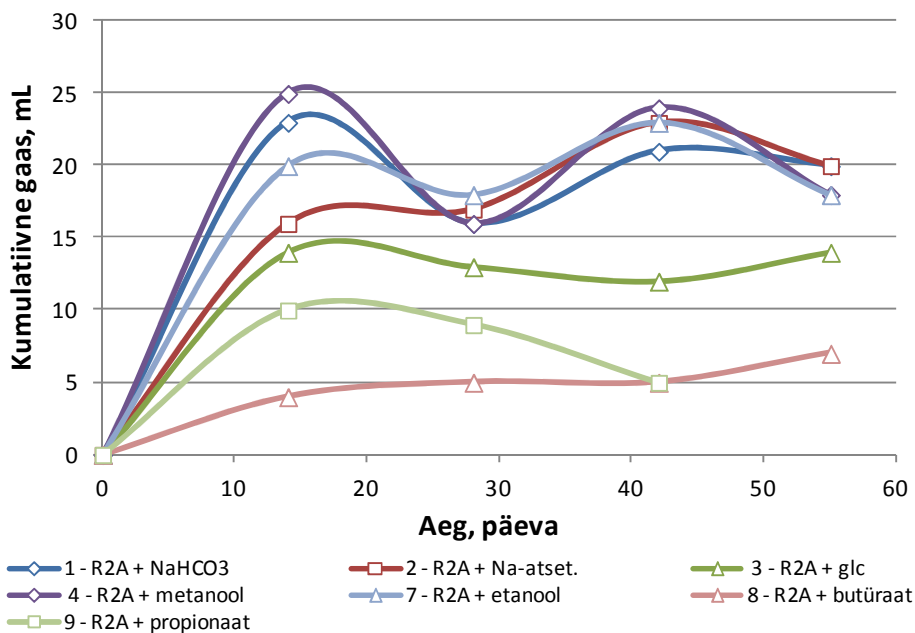
b

**Joonis 24. Termostateeritud seerumipudelitega käivitatud katsed BiotaP OÜ-s 06.06.14, a – t = 25 °C, b – T = 36 °C )**

Seerumipudeli katsetes kasutati täiendavate süsinikku sisaldavate substraatidena (lisaks baassöötmele) glükoosi, etanooli, võihapet ja propioonhapet ning metanogeensete substraatidena atsetaati ja metanooli (tabel 5). pH muutuste põhjal oli nende lisandite mõju üsna samalaadne (joonis 25), kuid gaasi oli siiski rohkem eraldunud veidi kõrgema pH-ga proovidest, millele oli lisatud metanooli, etanooli või atsetaati (joonis 22). Ka funktsionaalsete geenide analüüsi põhjal soodustasid metanogeeni kasvu kõik lisandid peale glükoosi ja orgaaniliste hapete (ptk-d 5 ja 6). Nimetatud peatükkides kirjeldatakse lisaks atsetogeeni järjestuste (praimeripaariga fhs1 ja FTHFS-r) ning metanogeneesi raja järjestuste (*mrcA* geeni alusel) määramise tulemustele ka koosluse taksonoomilist koosseisu 16S ribosomaalse RNA geenide järjestuse alusel.



Joonis 25. pH seerumipudeli katsetes , t = 36 °C



Joonis 26. Gaasi eraldumine seerumipudeli katsetest, t = 36 °C

#### 4.4.2. Kultiveerimiskatsed Oxitop® süsteemiga

Oxitop® süsteemiga katsetes on mõõdetavateks parameetriteks katsepudeli sisene rõhk ja gaasisegu koostis, mille alusel on võimalik genereerida mikroorganismide kasvukõver. Oxitop® süsteem (WTW, Saksamaa) on muldade, kompostisegude jms respiratsiooniaktiivsuse (hapnikutarbe) mõõtmiseks mõeldud manomeetriline mõõtesüsteem, mida saab kasutada ka metaankääritamise intensiivsuse hindamiseks. Selle süsteemiga määratakse rõhumuutused proovidega täidetud, termostateeritud katsepudelites. Erinevalt AMPTS II-süsteemist on keskkonnatingimuste valik üksikutele proovipudelitele üksteisest sõltumatu. Tartu Ülikooli Molekulaar- ja rakubioloogia instituudis on olemas Oxitop® Control AN 6 manomeetriline katseseade 12 proovi analüüsiks (pudelid + mõõtepead + andmehõiveseadet koos juhtprogrammiga).



#### Joonis 27. Argilliidiproovide ja kasvukeskkonnaga täidetud Oxitop-pudelid

Katseseade koosneb 500 ml mahuga reaktoritest (klaaspudelitest) ning andmehõiveseadmest (joonis 27). Oxitop süsteemi põhimõte seisneb rõhu piesoelektrilises mõõtmises. Mõõtepead võtavad pudelite sulgemisel olnud õhurõhu nullnivooks ja salvestavad süsteemis oleva suhtelise rõhu etteantud sagedusega. Anaeroobsel lagundamisel eralduv biogaas tõstab rõhku korgiga suletud gaasikindlas kalibreeritud Oxitop® klaaspudelis. Rõhuanuriga varustatud pea salvestab automaatselt kuni 360 katsepunkti, mis hiljem kogutakse andmehõiveseadmesse. Andmehõiveseadet võimaldab üheaegselt jälgida gaasi rõhumuutusi 99-s erinevas Oxitop® reaktoris. Rõhku mõõdetakse hektopaskalites ( $1 \text{ hPa} = 102,1 \text{ Pa} = 1 \text{ mbar}$ ). Rõhumuutuse alusel arvutatakse eraldunud gaasi kogus võrrandi (4.1) järgi:

$$pV = nRT, \text{ kus} \quad (4.1)$$

p – gaasi rõhk [ $\text{N/m}^2$ ] või [hPa]

V – gaasi ruumala [ $\text{m}^3$ ]

R – universaalne gaasikonstant [ $\text{J/mol}\cdot\text{K}$ ],  $R = 8,314 \text{ J/mol}\cdot\text{K}$

T – absoluutne temperatuur [K]

n – moolide arv [mol]; moolide arvule  $n = 1$  vastab normaaltingimustel 22,4 L gaasi.

Reaktorina võib kasutada ka mitmekaelalist pudelit, sel juhul keskmine kael kaetakse rõhuanduriga varustatud peaga ning külgmised hermeetiliste korkidega, mida saab kasutada proovide võtmiseks (Koplimaa et al, 2010). See võimaldab lisaks biogaasi tekke kvantiteerimisele mõõta ka lenduvate rasvhapete sisaldust, keemilist hapnikutarvet, pH-d, biogaasi koostist ja teisi protsessi kulgu hindavaid parameetreid. Antud projektis võetakse gaasiproovid reaktorist katse ajal spetsiaalse lisaseadmega.

#### Katse käik

Kultiveerimiskatsed Oxitop-süsteemiga algasid 30. mail 2014 vastavalt katseplaanile (Joonis 22). Mesofiilne temperatuur  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  valiti kui metanogeensele protsessile sobivaim, kuigi maakoore süvakihtides võib temperatuur olla oluliselt madalam. Kasutati puursüdamiku argilliidikihindist (sügavuselt 50 m) eraldatud tükke. Puursüdamik ( $\varnothing 10 \text{ cm}$ ) purustati haamriga väiksemateks tükikesteks, suurima mõõtmega 1 cm.

#### Katse tulemused.

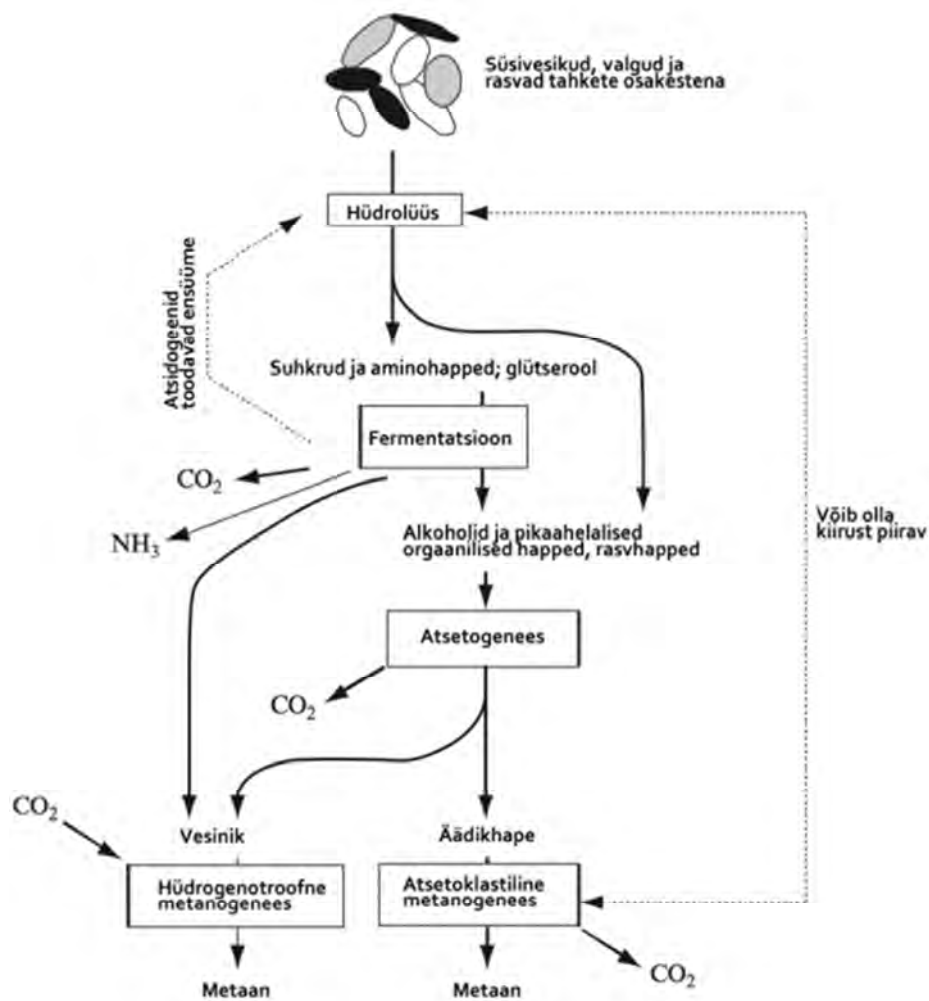
Orgaanilise aine anaeroobne lagunemine kulgeb vastavalt skeemile joonisel 28. Terviklikuna on anaeroobne lagunemine neljaastmeline protsess, mis koosneb hüdrolüüsist, fermentatsioonist, atsetogeneesist ja lõpuks metanogeneesist. Selle käigus orgaaniline aine lagundatakse setetes leiduvate mikroorganismide poolt metaaniks ja süsihapegaasiks. Lagundamisega tegelevad kolm põhilist mikroorganismide gruppi: fermenteerivad bakterid, orgaanilist ainet oksüdeerivad bakterid ja metanogeensed mikroorganismid (*Archaea*). Esimesel etapil lagundatakse polümeerid nagu süsivesikud, valgud ja rasvhapped hüdrolüüsi käigus monosahhariidideks, aminohapeteks ja pikaahelalisteks rasvhapeteks. Seda protsessi vahendavad bakterite poolt toodetud ekstratsellulaarsed ensüümid. Edasi algab fermentatsioon, mille käigus atsidogeensed mikroorganismid lagundavad esimesel etapil tekkinud monomeerid lenduvateks orgaanilisteks hapeteks, süsihapegaasiks ja vesinikuks. Atsetogeensed bakterid oksüdeerivad fermentatsiooni käigus toodetud orgaanilised happed atsetaadiks (Angelidaki et al, 2011).

On tõenäoline, et esimeste nädalate jooksul jõudsid toimuda vaid orgaanilise aine tarbimise kaks esimest faasi – hüdrolüüs ja fermentatsioon ning rõhku suurendavatest gaasidest on tekkinud  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{NH}_3$  ja veeaur. Seda oletust kontrolliti gaaskromatograafilise analüüsiga (p. 4.5). Oxitop-süsteemiga katsetes kasutati substraatidena nii täiendavat süsinikuallikat (glükoosi) sisaldavat toitekeskkonda kui ka täiendavaid metanogeenide söötmeid e

metanogeenseid substraate (atsetaati, metanooli) sisaldavaid toitekeskkondi. Atsetaadi kasutamine võrreldes baassöötme  $R2A + NaHCO_3$ -ga täiendavat efekti gaasiproduksioonile ei andnud (joonised 29 ja 30).

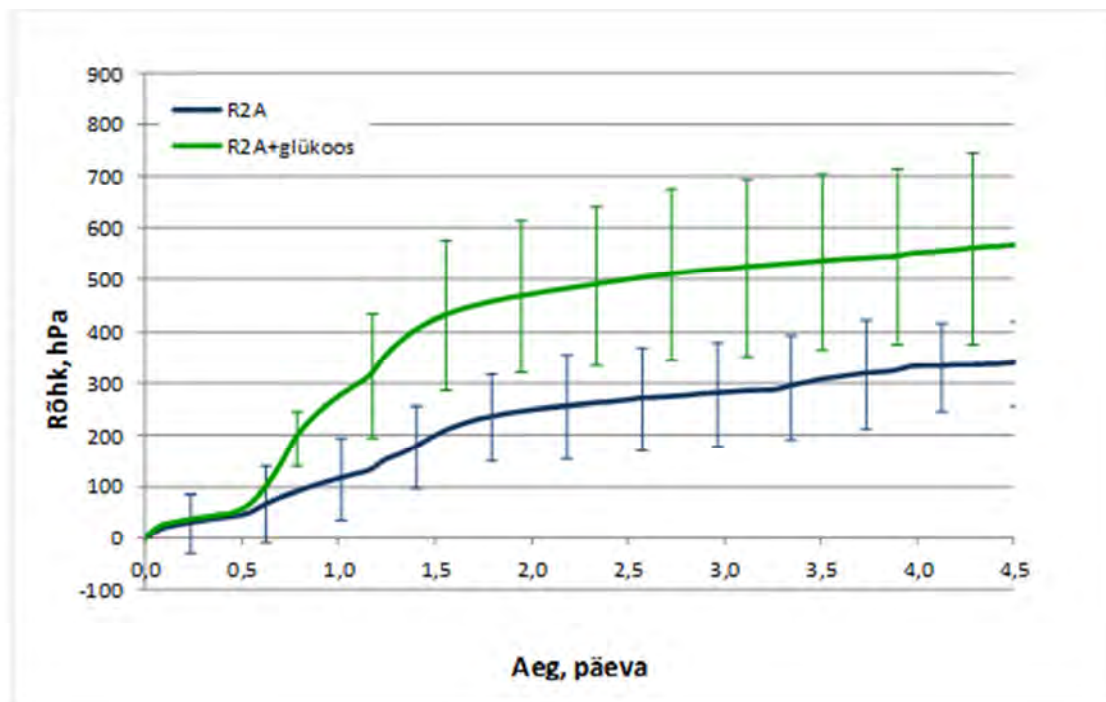
Veidi suurema gaasitootlikkuse on andnud glükoos, kuid katset tuleb korrata paralleelkatsete suure hajuvuse tõttu. Põhjuseks on ilmselt kivimimaterjali tükikeste ebahühtlane suurus ja metaani tootva mikroobikoosluse ebahühtlane jaotus kivimis.

**Suuremat gaasi eraldumist võrreldes baassöötmega oli märganud metanooli kui metanogeneesi soodustava söetmelisandi puhul 10. katsepäevast alates.**

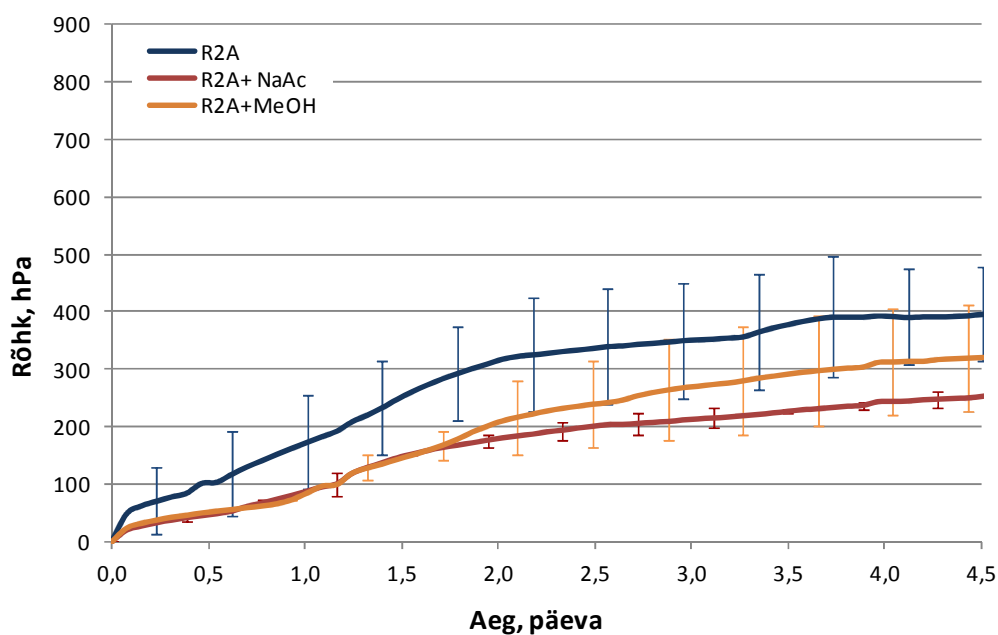


**Joonis 28. Orgaanilise aine lagunemine anaeroobses keskkonnas (Angelidaki, et al 2011)**

**a**

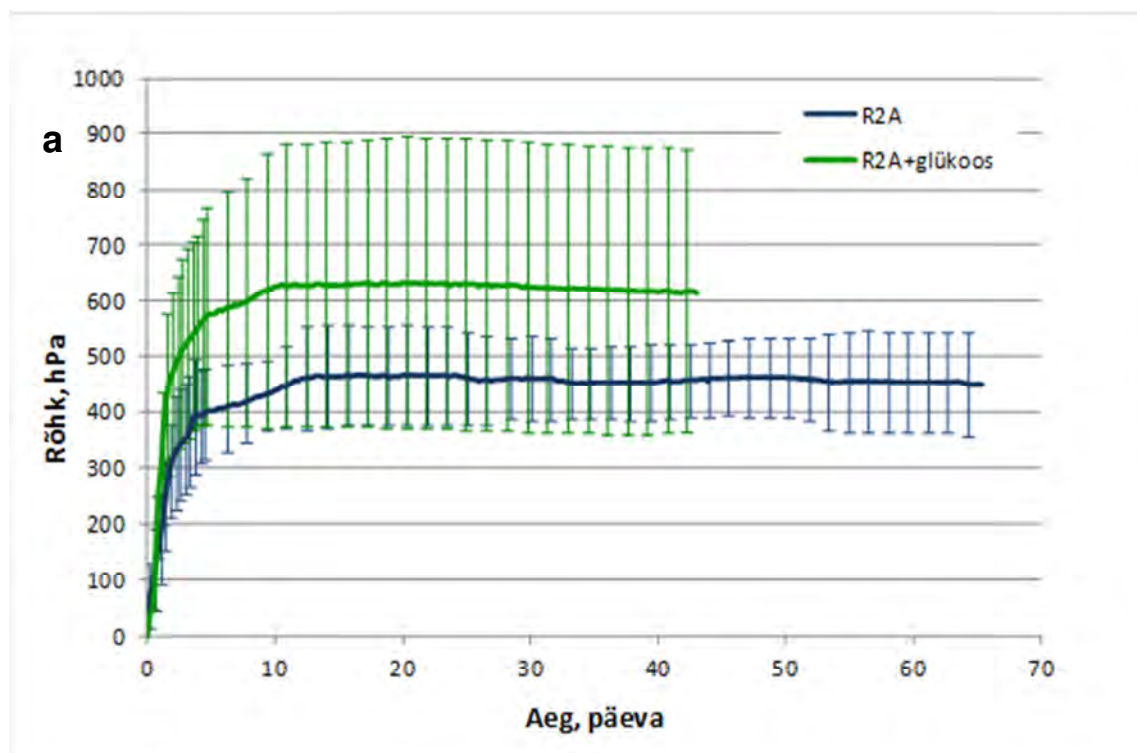


**b**

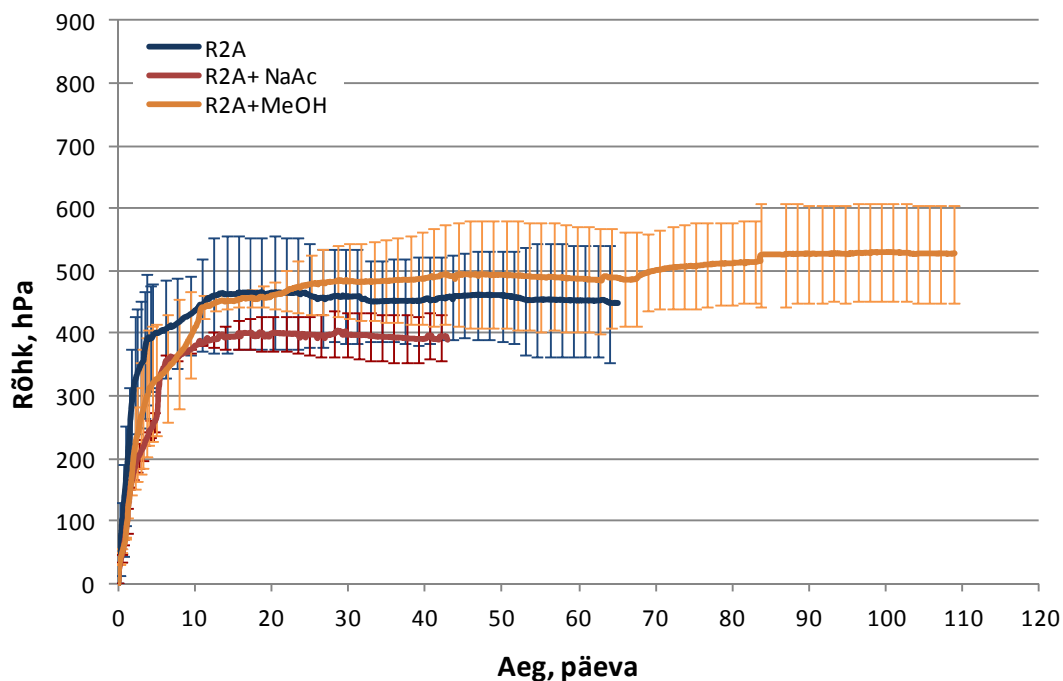


**Joonis 29. Rõhmuutused argilliidiproovide mikrokosmides (t = 37 °C) 30.05.14 alustatud katsete esimestel päevadel; a- suhkruid sisaldavad söötmed, b- metanogeneesi soodustavad söötmed (kõikidele söötmevariantidele on lisatud NaHCO<sub>3</sub> puhver)**





**b**



**Joonis 30. Rõhmuutused argilliidiproovide mikrokosmides (t = 37 °C) 30.05.14 alustatud katsetes; a- suhkruid sisaldavad söötmed, b- metanogeneesi soodustavad söötmed (kõikidele söötmevariantidele on lisatud NaHCO<sub>3</sub> puhver)**



#### 4.5. Gaasi koostise kromatograafiline määramine

Gaaskromatograaf on vajalik eralduva gaasisegu koostise mõõtmiseks kõigis kultiveerimise katsetes. Metaankääritamise katsega, kasutades manomeetrilist süsteemi Oxitop selgitati argilliidiproovidest metaani eraldumine. Kuna metaankääritamise käigus eraldub ka CO<sub>2</sub>, siis tekkiva gaasi sidumiseks võib lisada mõõtepudelisse KOH või NaOH graanuleid. Antud katsetes seda ei tehtud, vaid gaasi koostist mõõdeti kromatograafiga.

Proovide gaaskromatograafiline analüüs tehti TTÜ Virumaa Kolledži Põlevkivi Kompetentsikeskuses ja TÜ Ökoloogia ja maateaduste instituudis. Osutus, et seerumipudeli katsetes on võimalik süstla abil mõõta ka tekkinud gaasi kogust ning, kasutades TÜ ökoloogia ja maateaduste instituudi katsepudeleid, mõõta ka tekkiva gaasi koostist. Esimesed gaasiproovid seerumipudelitest võeti 28. katsepäeval, gaasianalüüside tulemused on tabelites 7 ja 8.

Võrdluseks on joonisel 33 esitatud andmed määratavate gaaside sisalduse kohta Maa atmosfääris viimase 40 aasta jooksul.

**Tabel 7. 25 °C (a) ja 36 °C (b) juures inkubeeritud seerumipudelite gaasianalüüsi tulemused (kõikidele söötmete on lisatud NaHCO<sub>3</sub>)**

a) Kultiveerimise temperatuur 25 °C

Ühend	R2A	R2A + Na-atsetaat	R2A + glükoos	R2A + metanool	R2A + etanool	R2A+ butüraat	R2A+ propionaat
	Maht %						
H <sub>2</sub>	2,3	0,0	4,2	0,0	8,1	0,0	0,0
CO <sub>2</sub>	73,3	31,0	20,7	76,1	73,3	3,6	31,4
O <sub>2</sub>	4,8	13,7	14,9	4,7	3,7	19,1	13,6
N <sub>2</sub>	19,6	55,3	60,2	19,1	14,8	77,2	55,0

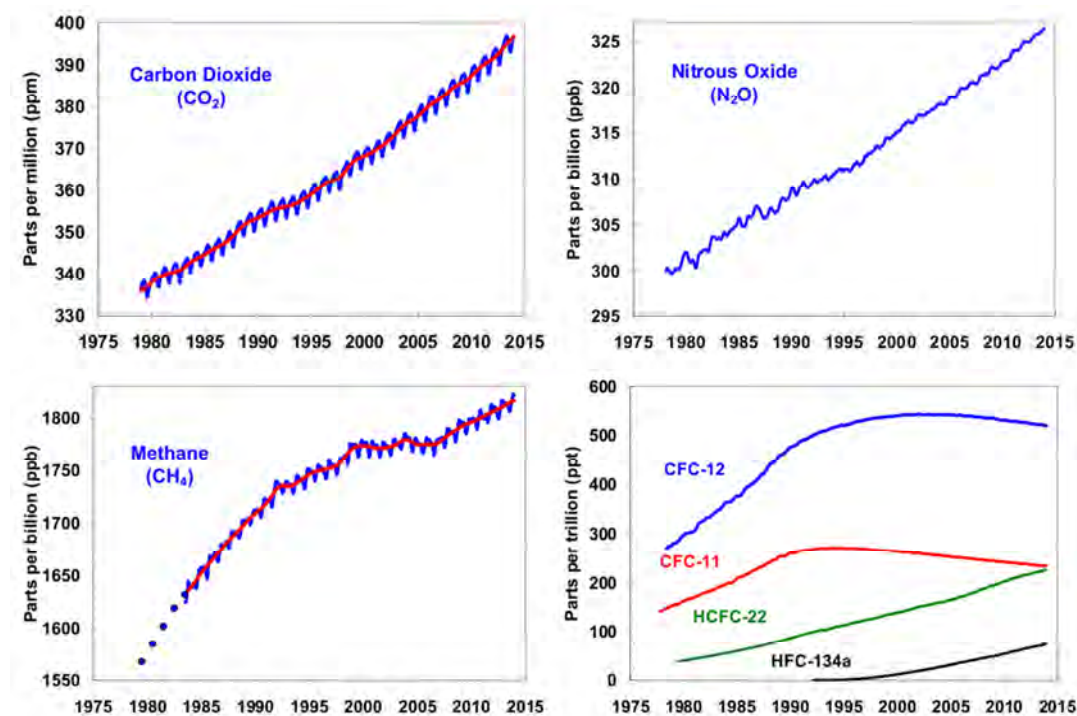
b) Kultiveerimise temperatuur 36 °C

Ühend	R2A	R2A + Na-atsetaat	R2A + glükoos	R2A + metanool	R2A + etanool	R2A+ butüraat	R2A+ propionaat
	Maht %						
H <sub>2</sub>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CO <sub>2</sub>	74,7	66,7	64,7	72,9	3,3	2,4	14,4
O <sub>2</sub>	5,0	6,5	7,0	5,4	19,0	19,4	17,0
N <sub>2</sub>	20,3	26,8	28,3	21,7	77,7	78,2	68,6

**Tabel 8. Gaasianalüüsi tulemused, mõõdetud Tartu Ülikooli Ökoloogia ja maateaduste instituudis, metaanisalduse väärtused, mis ületavad metaanisalduse väärtust atmosfääris on tähistatud kollasega (kõikidele söötmetele on lisatud NaHCO<sub>3</sub>)**

Sööde	Temp.	Katse algus	Mõõtmine	CO <sub>2</sub> (ppm)	CO <sub>2</sub> (%)	N <sub>2</sub> O (ppb)	CH <sub>4</sub> (ppm)	CH <sub>4</sub> (%)	Proovi kvaliteet
R2A	25 °C	06.06.2014	31.07.2014	13 693,65	1,37	569,51	25,53	0,00255	Ebapiisav kogus
R2A + Na-atsetaat	25 °C	06.06.2014	31.07.2014	1 037,97	0,10	329,65	2,47	0,00025	Ebapiisav kogus
R2A + glükoos	25 °C	06.06.2014	31.07.2014	12 727,56	1,27	328,83	4,00	0,00040	Ebapiisav kogus
R2A + metanool	25 °C	06.06.2014	31.07.2014	745,38	0,07	326,72	2,02	0,00020	Ebapiisav kogus
R2A + etanool	25 °C	06.06.2014	31.07.2014	3 811,21	0,38	338,15	6,91	0,00069	Ebapiisav kogus
R2A + butüraat	25 °C	06.06.2014	31.07.2014	566,89	0,06	331,87	2,14	0,00021	Ebapiisav kogus
R2A + propionaat	25 °C	06.06.2014	31.07.2014	569,97	0,06	327,36	4,62	0,00046	Ebapiisav kogus
R2A + red. agendid	36 °C	06.06.2014	31.07.2014	1 437,84	0,14	328,83	2,75	0,00027	Ebapiisav kogus
R2A	36 °C	06.06.2014	31.07.2014	36 517,22	3,65	347,79	2,72	0,00027	Ebapiisav kogus
R2A + Na-atsetaat	36 °C	06.06.2014	31.07.2014	6 304,43	0,63	378,92	9,16	0,00092	Ebapiisav kogus
R2A + glükoos	36 °C	06.06.2014	31.07.2014	24 310,46	2,43	326,15	34,59	0,00346	Korrektne
R2A + metanool	36 °C	06.06.2014	31.07.2014	23 429,05	2,34	336,81	3,25	0,00032	Korrektne
R2A + etanool	36 °C	06.06.2014	31.07.2014	755,60	0,08	333,35	1,96	0,00020	Ebapiisav kogus
R2A + butüraat	36 °C	06.06.2014	31.07.2014	8 887,02	0,89	326,97	2,01	0,00020	Ebapiisav kogus
R2A + propionaat	36 °C	06.06.2014	31.07.2014	557,34	0,06	331,29	1,95	0,00019	Ebapiisav kogus
R2A	37 °C	13.07.2014	06.08.2014	68 319,23	6,83	354,57	6,02	0,00060	Korrektne
R2A + metanool	37 °C	13.07.2014	06.08.14	109 413,93	10,94	1 908,44	19,90	0,00199	Korrektne
R2A + metanool	37 °C	30.05.2014	13.08.2014	734,00	0,07	256,02	4,75	0,00048	Korrektne

Lõpprapordi valmimise ajaks (15.09.14) on laboris lisaks väljaspool antud esimest alusuuringu etappi alustatud katsetatud mikrobioloogilise söötmekombinatsiooniga saadud argilliidist toodetud metaani sisalduseks gaasifaasis kuni 30%, viidatud metaani eraldumine algas 52. katsepäeval. Seetõttu võib lugeda ühte käesoleva projekti ülesannetest – tõestada metaani tootmise võimalikkus Eestis leiduvast graptoliitargilliidist – täidetuks.



**Joonis 32. Joonis 27. Kasvuhoonegaaside CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> ja freonide (CFC-12 – diklorodifluorometaan, CFC-11 – triklorofluorometaan, HCFC-22 – klorodifluorometaan, HFC-134a – tetrafluoroetaan) keskmise sisalduse muutused Maa atmosfääris viimase 40 a jooksul (Wikipedia).**

Argilliidi orgaaniline materjal on raskesti lagundatav süsinikuallikas ja gaaside teke sellest võtab mõnevõrra rohkem aega, võrreldes nt biometaaniga tootmisega. Metaani keskmine sisaldus Maa atmosfääris on 1,8-1,9 ppm, seega metaani tootmise seisukohalt võib positiivseteks lugeda kõik tulemused, milles metaanisaldus oli Maa atmosfääri väärtusest suurem (tähistatud kollasega tabelis 8). 25 °C juures teostatud seerumipudelite katetest andsid metaani osas positiivse tulemuse baassööde ning R2A + etanool; 36 °C juures teostatud katetest R2A + glükoos ning R2A + Na-atsetaat. Oxitop-süsteemiga teostatud katetest (t = 37 °C) eraldus metaani kõige enam baassöötme ning R2A + metanooli katses.

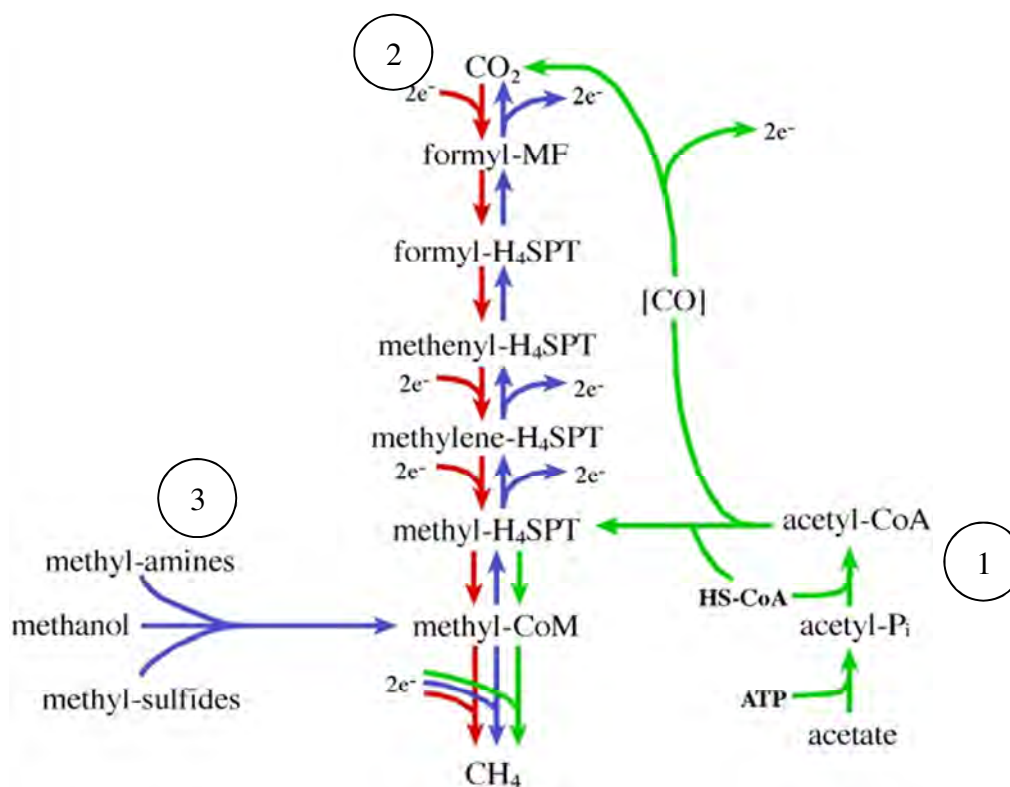
Metanogenees on orgaanilisest materjalist metaani tekke protsessi viimane etapp. Metaani tootmine võib toimuda kolme põhilist rada pidi (joonis 33):

- atsetoklastiline metanogenees ( $\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$ ),
- hüdrogenotroofne metanogenees ( $\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + \text{H}_2\text{O}$ ),
- metülotroofne metanogenees ( $4\text{CH}_3\text{OH} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ ).

Joonisel 33 esimene rada on atsetoklastiline metanogenees: atsetaat lõhutakse metaaniks ja süsinikdioksiidiks. Teine rada on hüdrogenotroofne metanogenees: süsinikdioksiid taandatakse metaaniks, kasutades vesinikku elektrondonorina. Kolmas rada on metülotroofne metanogenees: metüleeritud C1 ühendid (metanool, metüülamiin jne)

konverteeritakse metaaniks, kusjuures mõned C1 ühendid oksüdeeritakse CO<sub>2</sub>-ks, et moodustada elektronid, mis on vajalikud teiste C1 molekulide taandamiseks.

Kildagaasi tekkimisel toodetakse metaani peamiselt kahte rada pidi: atsetoklastiline metanogenees ehk äädikahappeline fermentatsioon (CH<sub>3</sub>COOH → CH<sub>4</sub> + CO<sub>2</sub>) või hüdrogenotroofne metanogenees ehk CO<sub>2</sub> taandamine (CO<sub>2</sub>+4H<sub>2</sub>→ CH<sub>4</sub>+2H<sub>2</sub>O).



### Joonis 33. Metanogeneesi kolm rada

Käesolevates katsetes nähti suurenenud metaani kogust glükoosi, NaHCO<sub>3</sub>, metanooli, atsestaadi ja etanooli lisandiga söötmete, st kõigi söötmete, v.a. orgaanilised happed kasutamisel. Seega võib argilliidi orgaanilisest ainest saadud gaasi analüüsi põhjal öelda, et töötavad nii hüdrogenotroofne, atsetoklastiline kui metülotroofne rada. Veidi suuremad metaanisaldused saadi kultiveerimisel temperatuuril 36°C, võrreldes temperatuuriga t=20°C, mistõttu on mõistlik just seda temperatuuri ka edaspidistes katsetes rakendada. Söötmetest on mõistlik edasi töötada metülotroofse raja söötmetega (nt metanool).

Laboris lisaks väljaspool antud projekti katsetatud mikrobioloogilise söötmekombinatsiooniga on aga saadud argilliidist toodetud metaani sisalduseks gaasifaasis kuni 30%, kusjuures metaani eraldumine algas 52. katsepäeval. Seetõttu võib lugeda ühte käesoleva projekti ülesannetest – tõestada metaani tootmise võimalikkus Eestis leiduvast graptoliitargilliidist – täidetuks.

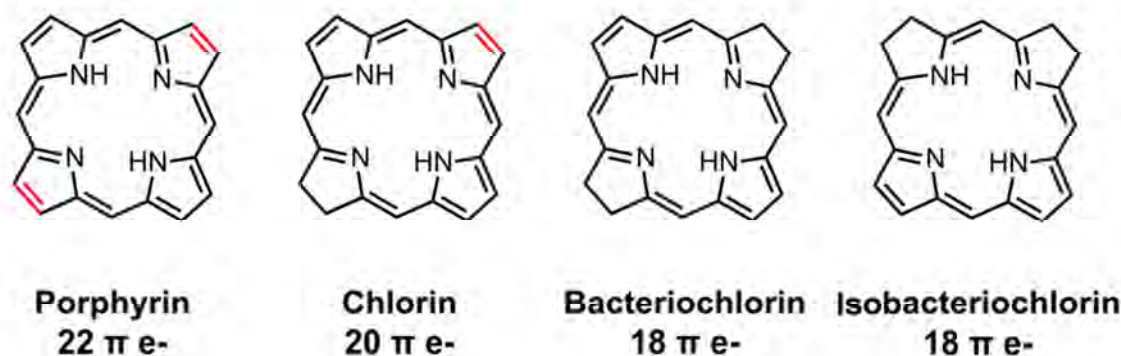
## 4.6. Metallide analüüs

Graptoliitargilliidi kihi (diktüoneemakilda) all lasub Ordoviitsiumi kõrgendatud fosfori, fluori, uraani ja srantsiumi sisaldusega oobolusliivakivi ning Kambriumi liivakivi ja aleuroliit. Nendesse terrigeensetesse kivimitesse on koondunud Ordoviitsiumi-Kambriumi veekihi survealine vesi, mille mineraalsus suureneb lõuna suunas peamiselt Na ja Cl sisalduse arvel. Vee mikroelementide sisaldus on fooniline ja ei ületa künnisarvu taset (Ohtlike ainete põhjavee kvaliteedi piirväärtused. Keskkonnaministri 11. augusti 2010. a määrus nr 39). On teada ainult tektooniliste rikete piires kõrgendatud U sisaldus (kuni 20 µg/l) (Petersell, 2012). Viimase arvamuse kohaselt võiksid diktüoneemakilt ja selle rikastusjäätmel kui kaaliumi-, fosfori-, molübdeeni-, uraani-, vase- jt elementide rikas toore olla kasutatav põllumaade viljakuse tõstmisel paljudes Eesti piirkondades, kus nende elementide sisaldus on mullas oluliselt madalam mulla keskmisest (Petersell, 2007).

Kuna gaasi põhikomponent, orgaaniline aine, on kildas peendispeerses olekus, jaotub kivimis ebahühtlaselt ja on metallorgaaniliste ühendite (Lippmaa et al, 2011) kaudu otseselt seotud mikroelementidega, võib nende mõju keskkonnale (esimeses järjekorras põhjaveele) olla erinev. Siiski on diktüoneemakilt oma omadustelt veepide ja veepideme omadustega on samuti kilda kattev savirikas glaukoniitliivakivi, mille paksus jääb 1–2 m piiridesse (Petersell, 2012).

Mikroorganismide mõju kohta argilliidis olevate metallide leostumisele metaangaasi tootmise eesmärgil on varasemaid andmeid vähe. On küll uuritud metallide leostumist veega põlevkivituhast (Kangor, 2014). Mineraalse koostise muutustes täheldati reaktiivsete Ca ja S sisaldavate mineraalide lahustumist (lubi, beliit, anhüdriit, trikaltsiumaluminaat) ja sekundaarsete faaside teket (portlandiit, kips) koos karboniseerumisega, mis väljendus kaltsiidi sisalduse kasvus. Apatiidis võib kõrgtemperatuuriliselt toimuda heksavalentse kroomi ioonvahetus fosfaatiooniga. Põhiliselt on uuritud aga metallide leostamist argilliidist hapetega, nt väävelhappega, kuid ka muid metallide kivimist vabastamise meetodeid, nagu oksüdeerimine ja hüdrogeenimine (Lippmaa et al, 2009 ja 2011).

Argilliidis olevad metallid (Mo, Ni, Re, U, V) pole kergesti leostatavad, sest nad on immobiliseeritud porfüriini ringidesse. Orgaanilises keemias nimetatakse suurt heterotsükklilist aroomaatset ringi, mille tuum koosneb kolmest pürroolist ja ühest pürrolidiinist kloriiniks (joonis 34). Erinevalt porfüriinidest koosnevast porfiinist on kloriin küll aroomaatne, kuid mitte ringi kogu ulatuses. Mg sisaldavad kloriinid on klorofüllid – kloroplastide kesksed fototundlikud pigmendid. Kloriiniringe on võimalik katkestada oksüdeerimise teel, kasutades põletamist või termilist töötlust. E. Lippmaa on välja pakkunud, et porfüriiniringe võiks katkestada hüdrogeenimise teel. Metallidega kelaaditud porfüriiniringe saab elektrolüütiliselt hüdrogeenida esmalt kloriinideks ja seejärel katkestada, vabastades kelaaditud metallid U, V ja Ni. Seda meetodit on kasutatud Venetsueela toorbituumeni suspensiooni puhul (Lippmaa et al, 2011).



### Joonis 34. Porfüriin ja erinevad kloriinid.

Porfüriine leidub kõikjal, sh meteoritides ja kosmilises tolmus (Lippmaa et al, 2011). Alpiinsetest põlevkividest on porfüriine leitud juba möödunud sajandi alguses (Treibs, 1934). Australian Government Analytical Laboratories on avaldanud rea eluprotsessideks vajalikest metallidest (AGAL). Nimekiri hõlmab võimalike kiltadest toodetavate metallidena Ag, Au, Cd, Ce, Co, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Re, Zn, Zr, Th, U, V ja Y, samas on need metallid mõnede liikide eksistentsiks hädavajalikud. Kõik need metallid, sh U ja Th isotoobid moodustavad väga stabiilseid kelaate. Mida raskem on tsentraalne kelaaditud aatom, seda tugevama kompleksi ta porfüriiniringiga moodustab. Paljud raskmetallid (Re, U, Mo) akumuleeruvadki vaid kiltades, tänu suurele afiinsusele porfüriinringi suhtes. Kõik mustad kildad on oma põhikoostiselt ja neis sisalduvate väärismetallide reallt üllatavalt sarnased. Kiltades domineerivad kaks rühma metalle Mo, Ni, Re, U, V ja Ag, Bi, Cd, Cu, Se. Esimene metallirühm on orgaanilise ainega seotud molekulaarsel tasemel, kuid teine rühm moodustab eraldi mineraale. Ilmselt pole elu keemia eoonide jooksul selles osas palju muutunud. (Lippmaa et al, 2011)

Käesolevas töös telliti metallide analüüs Eesti Geoloogiakeskuse laborist (tabel 9) ja Eesti Keskkonnauuringute Keskusest (tabel 9). Analüüsitavateks proovideks olid 69. katsepäeva proovid. Et analüüsides vastused saabusid vahetult lõppraporti esitamise tähtajale eelneval päeval, siis tulemuste täpsem analüüs esitatakse koos proovide pürosekveneerimise tulemuste ja bioinformaatilise analüüsiga. Vanaadiumi sisalduse põhjal kultiveerimiskatsetes eeldati esialgu, et tulevasel gaasitootmisel on võimalik selle metalliooni leostumist põhjavette vältida. Vanaadiumisisalduse piirid graptoliitargilliidis Toivo Kallaste andmetel (297 puurauku) on 482-1083 ppm. (Voolma et al, 2013). Proovivõtupiirkonna graptoliitargilliidi keskmine vanaadiumisisaldus on 724 ppm (tabel 2, joonis 35). Erinevate söötmetega graptoliitargilliidiproovide leostamisel jäi vanaadiumisisaldus vedelfaasis 11 000-22 000 korda väiksemaks kui see on lähtekivimis. Ühes proovis (proov 14A) oli vanaadiumisisaldus 3000 korda väiksem kui argilliidis, tulenevalt söötme komponentidest (tabel 10).



## Tabel 9. Metallide analüüs Eesti Geoloogiakeskuse laboris

**EESTI  
GEOLOOGIA-  
KESKUSE  
LABOR**

EAK poolt  
akrediteeritud  
katselabor

registreerimisnumbriga L093

Kadaka tee 82, 12613, Tallinn

Tel. 6720074 / 5256298

### VEE ANALÜÜSI TULEMUSED

TELLIJA: BiotaP OÜ

Objekt:

Tellimus nr. V14-  
327

lk.1/1

Kuupäev: 22.08.2014

Analüüsitava komponent								Meetod/ standardi nr.																		
Ca, Mg, Cl, HCO <sub>3</sub> , CO <sub>3</sub> ,karedus, PHT								tiitrimine - ISO 6058, ISO 6059, ISO 9297, ISO 9963-1,EVS-EN ISO 8467																		
pH								elektromeetria - EVS-EN ISO 10523																		
F, Fe, PO <sub>4</sub> , üldP								spektrofotomeetria -GOST 4386, GOST 4011-4, EVS-EN ISO 6878,																		
üld N, SiO <sub>2</sub>								spektrofotomeetria - EVS-EN ISO 11905/ISO 7890-3, STV-1,																		
Cu, Zn								AAS-leek - ISO 8288																		
Ba, Co, Mo, Ni, Pb								AAS-grafiit - EVS-EN ISO 15586																		
K, Na								leek-fotomeetria - ISO 9964-3																		
SO <sub>4</sub>								kaalanalüüs - GOST 4389-2																		
värvus								visuaalne - EVS-EN ISO 7887																		
Proovi nr.,	Mõõtühik	Ba	Co	Cu	Mo	Ni	Pb	Zn	Ca	Mg	K	Na	F	Fe	Cl	SO <sub>4</sub>	PO <sub>4</sub>	HCO <sub>3</sub>	CO <sub>3</sub>	N	PO <sub>4</sub>	pH	PHT	SiO <sub>2</sub>	karedus	värvus
														üld						üld	üldP				mg- ekv/l	kraadi
R2A + NaHCO <sub>3</sub>	mg/l	<0,2	0,098	0,025	0,097	0,421	<0,002	0,04	49,1	29,8	30,0	237,5	10,75	10,52	67,4	539,9	0,69	170,8	<6,0	5,07	1,65	5,89	76,0	21,64	4,90	>80
R2A + glükoos	mg/l	<0,2	0,105	0,03	0,113	0,671	<0,002	0,05	39,3	53,6	30,0	225,0	24,24	10,67	75,5	475,7	3,86	122,0	<6,0	11,85	5,25	5,33	504,0	25,34	6,37	>80
R2A + metanool	mg/l	<0,2	0,059	<0,02	0,100	0,347	<0,002	<0,04	29,5	53,6	32,1	240,0	12,66	11,06	67,4	538,2	1,57	195,3	<6,0	7,41	1,90	5,90	70,4	20,36	5,88	>80
Määramispiir	mg/l	0,20	0,003	0,02	0,006	0,005	0,002	0,04	1,0	0,6	0,6	0,6	0,07	0,02	3,5	3,3	0,01	6,0	6,0	0,5	0,03		0,5	0,4	0,05	

Analüüs on tehtud filtreeritud proovidest.

Analüütik: V.Kalašnikova,  
S.Safonova

\*PHT – permanganaatne hapnikutarve



**Tabel 10. Vanaadiumi sisalduse analüüs Eesti Keskkonnauuringute Keskuses**

OÜ Eesti Keskkonnauuringute Keskus  
 Registrikood 10057662 | KMKR EE100067068  
 Mäe 4d, 10617 Tallinn  
 tel 611 2900 | faks 611 2901 | info@kint.ee | www.klab.ee  
 a/a 10022002522004 .SEB. , kood 401



**ANALÜÜSIAKTID: EE14002337 - EE14002340**

Tellijä: Biotap OÜ  
 Mäealuse 4

Proovivõtjad:  
 Juuresolijad:  
 Proovivõtuaeg:

Laborisse tulek: 19.08.2014 12:00  
 Analüüsi lõpp: 19.08.2014 15:14

**Akt nr. EE14002337 - Pinnavesi**

Proovivõtukoha valdaja: Biotap OÜ  
 Proovivõtkoht: Tallinn, Harjumaa

Proovi nr.: 14A

Näitaja	Katsemeetod	Tulemus	Ühik
Vanaadium (V)	EVS-EN ISO 17294-2	215	µg/l

**Akt nr. EE14002338 - Pinnavesi**

Proovivõtkoha valdaja: Biotap OÜ  
 Proovivõtkoht: Tallinn, Harjumaa

Proovi nr.: 13A

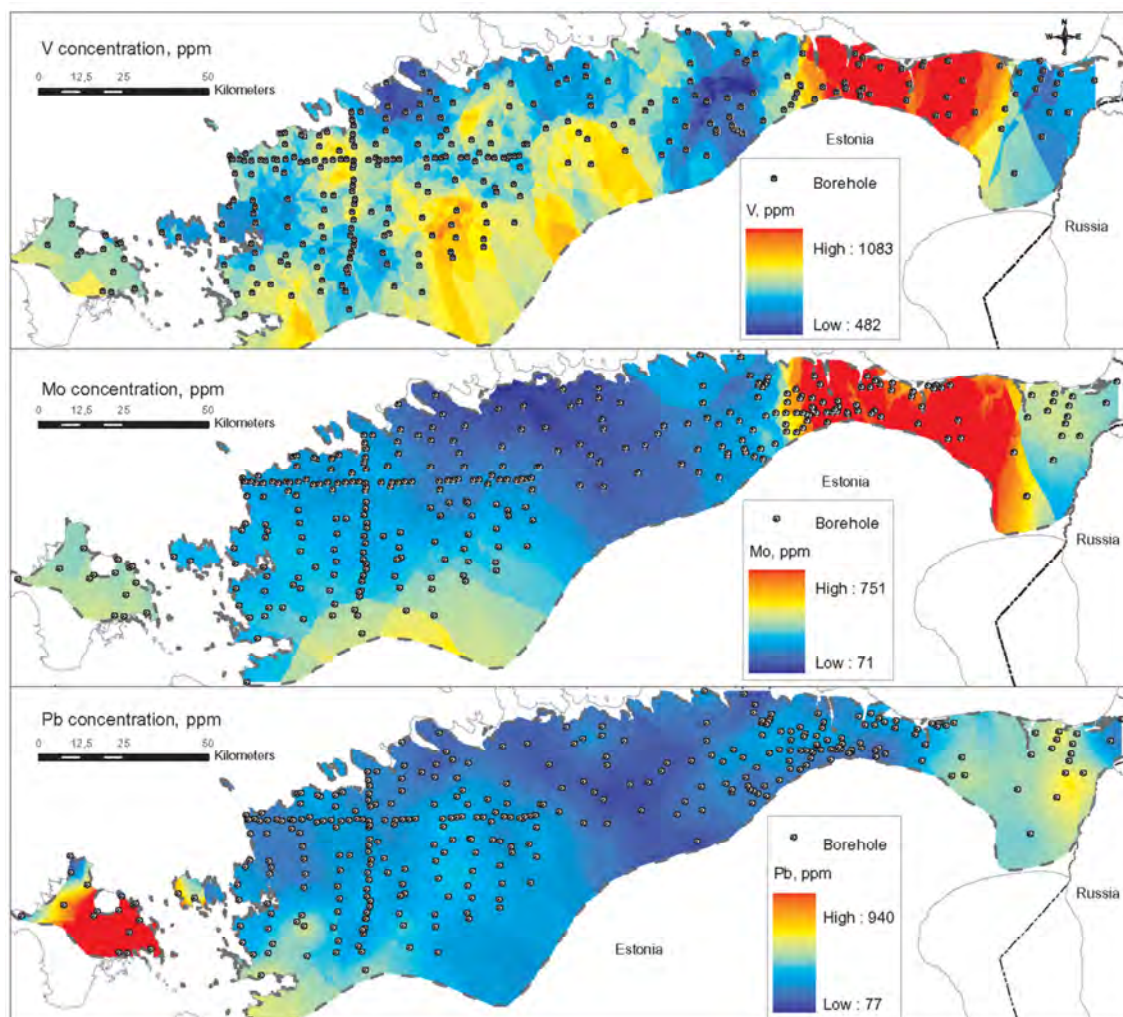
Näitaja	Katsemeetod	Tulemus	Ühik
Vanaadium (V)	EVS-EN ISO 17294-2	64	µg/l

Kinnitas: keskkonnakeemia osakonna juhataja Katri Voro



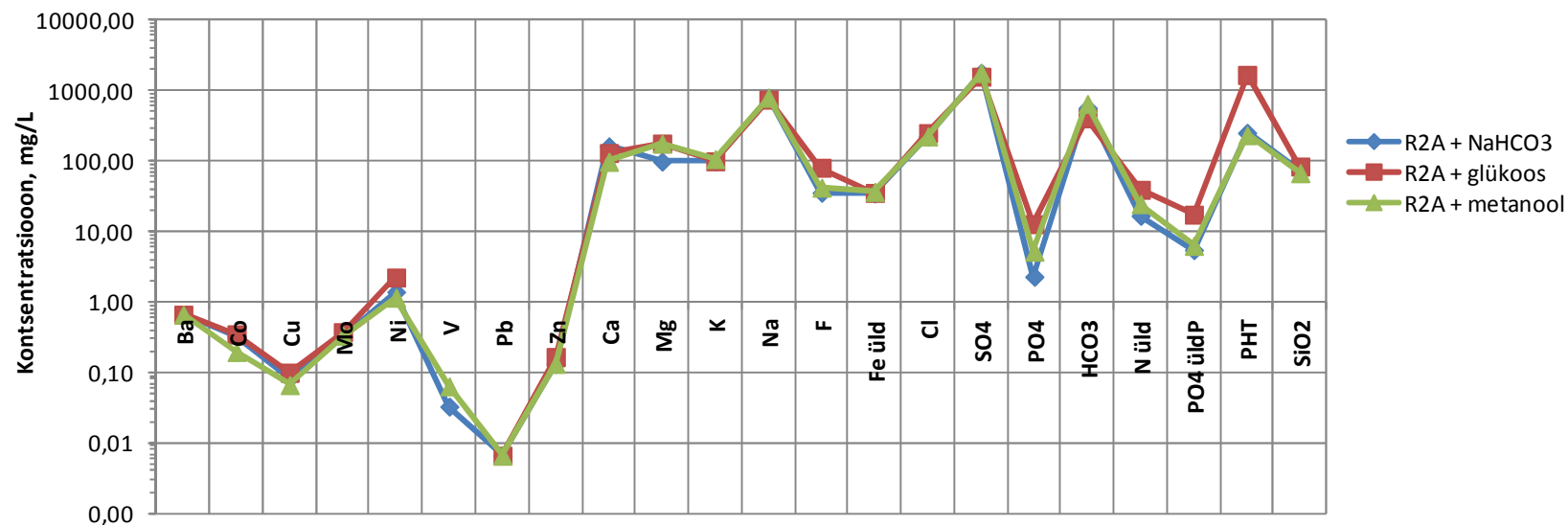
19.08.2014

Siiski on need väärtused suuremad kui varasem sisalduse künnisarv põhjavees (50 µg/mL), vanaadiumisisaldus proovides oli 1,28 kuni 4,3 korda suurem kui varasem lubatud künnisarv (Pinnases ja põhjavees ohtlike ainete sisalduse piirnormid Keskkonnaministri 2. aprilli 2004 määrus nr 12.). Praegu kehtivas määrukses ei ole vanaadiumisisalduse piirnormi põhjavees välja toodud (Ohtlike ainete põhjavee kvaliteedi piirväärtused. Keskkonnaministri 11. augusti 2010. a määrus nr 39).

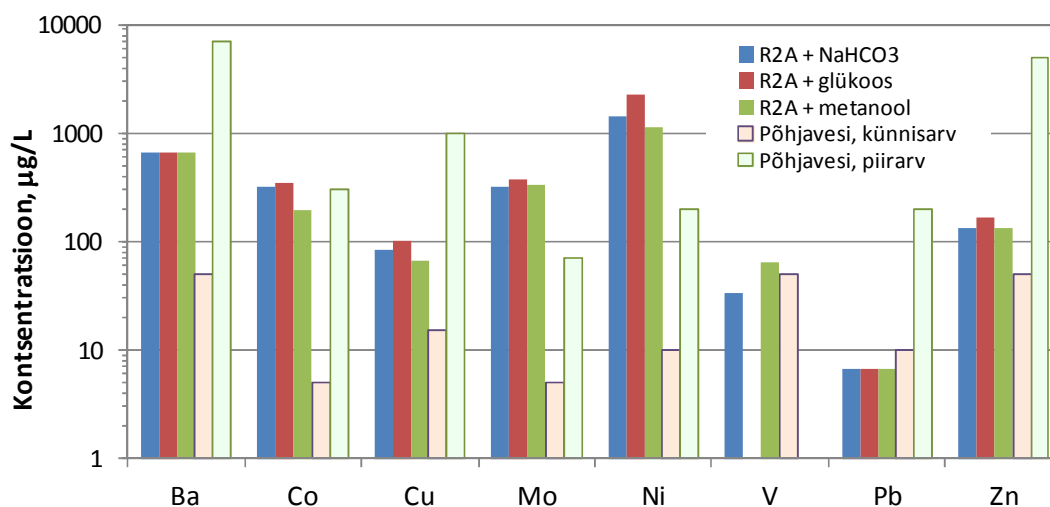


**Joonis 35. V, Mo ja Pb kontsentratsioonid Eesti graptoliitargilliidis modelleerituna puursüdämike andmete põhjal (Voolma et al, 2013)**

Raskemetallid, nagu vanaadium (V), molübdeen (Mo), seleen (Se), arseen (As) ja kroom (Cr) muutuvad liikuvaks ka üksnes aluselistes tingimustes, ilma mikroorganismide lisandita ja kujutavad endast vee saastumise ohtu (El-Hasan *et al.* 2011). Käesolevas töös analüüsitud argilliidiproovide mikrobioloogilistes söötmetes ületasid raskemetallidest põhjaveele seatud piirväärtuse veel Ni (11,2 korda), Mo (5,4 korda) ja Co (1,17 korda) ja (joonis 37). See on esialgse analüüsi tulemus, muuhulgas tuleb välistada raskemetallide leostumine kultiveerimiskatsetes kasutatavast katseaparatuurist.



Joonis 36. Erinevate mikrobioloogiliste söötmetega argilliidist leostunud metallide sisaldus.



### Joonis 37. Raskmetallide sisaldus kultiveerimiskeskonnas

Viimasel ajal peetakse argilliiti lisaks energeetilise väärtusega toorainele ka haruldaste ja väärismetallide maagiks (Lippmaa et al, 2011; Voolma et al, 2013). Kui omavahel võrrelda metalle sisaldavate mustade kiltade minimaalseid rikastusväärtusi (minimum enrichment value, m.e.v.), võib Eesti argilliidi lugeda rikastatuks uraani (m.e.v. 30 ppm), molübdeeni (m.e.v. 200 ppm), vanaadiumi (m.e.v. 1000 ppm), plii (m.e.v. 100 ppm) ja koobaltiga (m.e.v. 30 ppm) (Voolma et al, 2013).

### Kokkuvõte

Kiltades domineerivad kaks rühma metalle Mo, Ni, Re, U,V ning Ag, Bi, Cd, Cu, Se. Esimene metalliderühm on orgaanilise ainega seotud molekulaarsel tasemel, teine rühm moodustab eraldi mineraale. Esimese rühma metallidega kaasneb ka suurem orgaanilise aine sisaldus.

Käesolevas töös analüüsitud argilliidiproovide mikrobioloogilites söötmetes ületasid raskmetallidest põhjaveele seotud piirväärtuse Ni, Mo, Co ja V. Ülejäänud leostunud mineraalsete ühendite analüüsitulemuste tõlgendamine jätkub.

Et vältida täielikult metallide võimalikku leostumist põhjavette, on alustatud väljaspool projekti antud etappi lisakatseid siderofooride kaasamisega. Eesmärk on leida tingimused, kus metalliühendid seotakse bakterite abil.

#### 4.7. Viited

1. Biogeense gaasi tootmistingimuste määramine – argilliidist lähemalt, füüsikalise-keemilised näitajad. Projekti „Biogeense gaasi tootmisvõimaluste uuringud“ osa, esitatud 12.05.2014.
2. Petersell, V. Konsultatsioon 14.08.2012.
3. <http://www.vernier.com/>
4. McCutcheon, I.; Richard, S. and Donald, I. (2011) Methods for increasing methanogenesis in subsurface reservoirs. Patent application No: PTC/GB2010/052215, Pub. date: 07.07.2011.
5. Huang, R. (2008) Shale-derived dissolved organic matter as a substrate for subsurface methanogenic communities in the antrim shale, Michigan Basin, USA. Master Thesis, University of Massachusetts Amherst, 131 pp.
6. Khelaifia, S.; Raoult, D. and Drancourt, M. (2013) A versatile medium for cultivating methanogenic archaea. *PLoS ONE* 8(4): e61563. doi:10.1371/journal.pone.0061563
7. Kotelnikova, S. and Pedersen, K. (1998) Distribution and activity of methanogens and homoacetogens in deep granitic aquifers at Äspö Hard Rock Laboratory, Sweden. *FEMS Microbiol Ecol.* 26, 121-134
8. Youngsukkasem, S.; Rakshit, S.K. and Taherzadeh, M.J. (2012) Biogas production by encapsulated methane-producing bacteria. *Bioresources*, 7(1), 56-65.
9. Reasoner, D.J. and Geldreich, E.E. (1985) A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Appl. Environm. Microbiol.* 49(1) 1-7.
10. Uchino, Y and Ken-Ichiro, S. A simple preparation of liquid media for the cultivation of strict anaerobes (2011) Uchino and Ken-ichiro, *J Pet Environ Biotechnol*, S3, <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7463.S3-001>
11. Logunova, A. (2013) Mikroorganismide DNA-põhised määramismeetodid raskesti lagundatavates C-allikates. Bakalaureusetöö, juh-d A. Menert., S. Sipp Kulli. TTÜ, Tallinn, 69 lk.
12. Koide, H. and Yamazaki, K. (2001) Subsurface CO<sub>2</sub> disposal with enhanced gas recovery and biogeochemical carbon recycling. *Environmental Geosciences*, 8(3) 218–224.
13. Koplmaa, M.; Menert, A.; Blonskaja, V.; Kurisoo, T.; Zub, S.; Saareleht, M.; Vaarmets, E. and Menert, T. (2010). Liquid and gas chromatographic studies of the anaerobic degradation of baker's yeast wastewater. *Procedia Chemistry*, 2(S1) 120 - 129.
14. Uuring Eesti argilliidist biogeenilise metaangaasi puuraugus (*in situ*) tootmise võimalikkuse tõestamiseks. (2014) Vahteraport No 3. Koostaja A. Menert, 13 lk.
15. Angelidaki, I.; Karakashev, D.; Batstone, D.J.; Plugge, C.M. and Stams, A.J.M. (2011) Biomethanation and its Potential. *Methods in Enzymology*, 494(16) 327 - 351.
16. [http://en.wikipedia.org/wiki/Greenhouse\\_gas](http://en.wikipedia.org/wiki/Greenhouse_gas) [7.08.2014]
17. Ohtlike ainete põhjavee kvaliteedi piirväärtused. Keskkonnaministri 11. augusti 2010.a. määrus nr 38.
18. El-Hasan, T., Szczerba, W., Buzanich, G., Radtke, M., Riesemeier, H., Kersten, M. 2011. Cr(VI)/Cr(III) and As(V)/As(III) Ratio Assessments in Jordanian Spent Oil Shale Produced by Aerobic Combustion and Anaerobic Pyrolysis. Geology Department, Faculty of Science, Taibah University. BAM Federal Institute for Materials Research and Testing, Department 1: Analytical Chemistry and Reference Materials. Geosciences Institute, Johannes Gutenberg-University, 1 – 7.

19. Kangor, M. Kroomi fraktsioneerumine ja leostumine Jordaania põlevkivi tuhajäätmetest. Bakalaureusetöö, juh. P. Paiste, Tartu Ülikool, 2014.
20. Petersell, V. Diktiõneemakilt. Eesti Põlevloodusvarad ja jäätmed, 2007, 7.
21. <http://en.wikipedia.org/wiki/Chlorin> [7.09.2014]
22. Lippmaa, E., Maremäe, E., Pihlak, A.-T. (2011) Resources, production and processing of Baltoscandian multimetal black shales. *Oil Shale*, 28(1) 68–77.
23. Lippmaa, E., Maremäe, E., Pihlak, A.-T., Agurauja, R. (2009) Estonian graptolitic argillites – ancient ores or future fuels? *Oil Shale*, 26(4) 530–539
24. Treibs, A. Chlorophyll- und Häminderivate in bituminösen Gesteinen // *Annalen*. 1934. Vol. 509. P. 108.
25. AGAL, Plant derived minerals: The Reference // Contact International P/L.
26. Voolma, M., Soesoo, A., Hade, S., Hints, R., Kallaste, T. (2013) Geochemical heterogeneity of Estonian graptolite argillite. *Oil Shale*, 30(3) 377–401.
27. Pinnases ja põhjavees ohtlike ainete sisalduse piirnormid. Keskkonnaministri 02. aprilli 2004 määrus nr 12. *RTL* 2004, 40, 662



## 5. Argilliidi metaani tootev mikroobikooslus

### 5.1. Metanogeensed arhed

Kui Woese ja Fox 1977. a. esmakordselt domeeni ürgid e arhed (*Archea*) kirjeldasid, peeti neid Maa varajases evolutsioonilises ajaloos kujunenud prokariotide iidseks haruks (Woese, C.R. et al 1977). Maa atmosfäär ja hüdrofäär olid arhede ilmumise ajal praegusega võrreldes tunduvalt kuumemad ja redutseeritumad ning vastavalt ka esimesed isoleeritud arhed olid kas ekstremofiilid või anaeroobid. Viimase kahe aastakümne keskkonnauuringutega molekulaarsete meetodite abil on arhede järjestusi avastatud aga ka praktiliselt kõigist mesotermilistest keskkondadest, kaasa arvatud hapnikurikas muld, ookeanid ja mageveekogud. Seetõttu peetakse arhesid tänapäeval bakteritega samaväärselt kosmopoliitseteks eluvormideks, kes on kohandunud oma ökoloogiliste nišsidega ning kellel on mitmeid erinevaid metabolismiradu (Angel, R.; Claus, P. and Conrad, R. 2012)

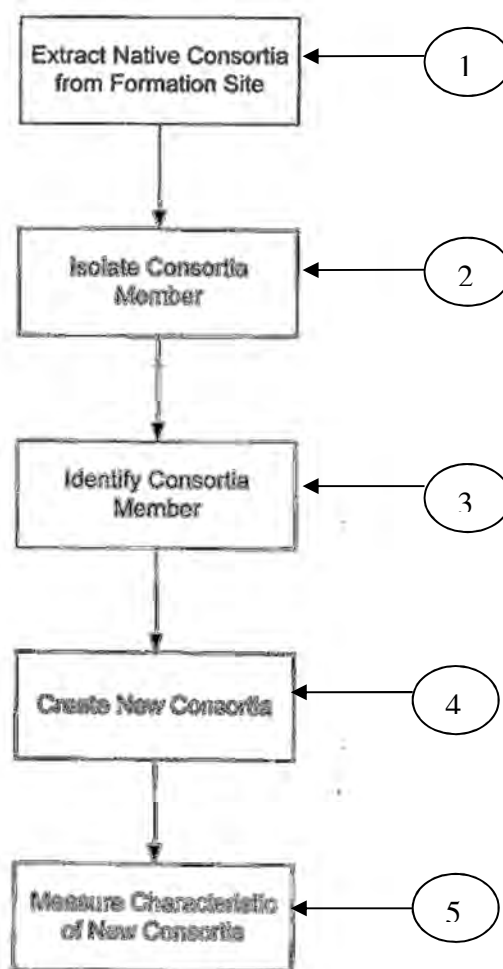
Metanogeensed arhed (metanogeenid) ei kasva hapniku juuresolekul, kuid taluvad seda mõnest tunnist kuni mõne ööpäevani. Metanogeene on inkubeerimisel eraldatud isegi kuni 10 aasta vanusest proovist. Mullas on metanogeenid inaktiivses olekus. Angel *et al* (2012) uurisid arhede leidumist erinevate piirkondade mulla mikrobioomides. Nad kaalusid rõhukindlasse süstlasse 5 g mulda, tekitasid lämmastiku abil (0,5 bar) anaeroobse keskkonna, lisasid 5 ml milliQ vett ja inkubeerisid proove 25°C juures pimedas 48 ööpäeva, täiendavaid söötmeid lisamata. Koosluse analüüs arhede 16S ribosomaalse RNA geeni järgi, kasutades TRFLP (*terminal restriction fragment length polymorphism*) ja qPCR analüüsi näitas hõimkonna *Methanosarcina* domineerimist. Selle hõimkonna geenikoopiate arv korreleerus väga hästi metaaniproduktiooni kiirusega. Täiendava  $\delta^{13}\text{C}$  analüüsi alusel selgus, et domineeriv metanogeneesi rada oli atsetiklastiline. Enne inkubeerimist võetud mullaproovide metanogeense võtmeensüümi metüül koensüüm M reduktaasi järjestuste põhjal oli teine domineeriv hõimkond *Methanocella*, lisaks tuvastati mõned *Methanobrevibacter* ja *Methanobacterium* järjestused. Vaid kahe hõimkonna globaalne leidumine kinnitab hüpoteesi, et nad on mulla bioomi autohtoonsed liikmed, kes on väga hästi oma elukeskkonnaga kohastunud (Angel, R.; Claus, P. and Conrad, R. 2012).

### 5.2. Argilliidi mikroobikoosluse analüüs

Tundes kivimites, sh argilliidis leiduvate mikroorganismide metabolismi ja põhiomadusi, on võimalik tunduvalt suurendada metaani tootmise efektiivsust ning tulevikus kasutada biogeenset metaani ühena taastuvatest energiaallikatest (Logunova, A. 2013; Koide, H. and Yamazaki, K. 2001).



Senised uuringud on toimunud põhiliselt järgneval lehel toodud skeemi alusel:



**Joonis 34. Vookeem biogeense gaasi mikroorganismide konsortsiumi moodustumisest (Vanzin, G. 2006).**

Esmalt isoleeritakse mikroorganismid nende kasvukoha kas tahkest substraadist või selles sisalduvast veest (*formation water*) (1). Järgmisena eraldatakse konsortsiumist väiksemad mikroobikooslused või üksikud liigid (2). Järgneb mikroorganismide identifitseerimine (3). Võidakse luua ka uued kooslused, kombineerides liike esialgsest konsortsiumist (4). Lõpuks hinnatakse uue konsortsiumi omadusi (5).

### **5.2.1. Anaeroobse koosluse eraldamine biogeense gaasi tekkekohtadest**

Anaeroobseid mikroorganisme on võimalik koguda maakoore pinnalähedastest kihtidest (*subsurface layers*), kasutades väga erinevaid proovivõtu kohti ja tehnikaid. Nende hulgas:

- värske või töödeldud formatsioonivesi (*formation water*);
- tahked proovitükikesed puuraukudest (*drill cuttings*);
- puursüdame külgeinast võetud proovid (*sidewall core samples*);
- tervest puursüdamikust võetud proovid (*whole core-samples*);
- survestatud puursüdame proovid (*pressurized whole core samples*).

Eelpool nimetatud mikroorganismide allikad jagunevad vedelateks ja tahketeks substraatideks. Vedelate substraatide puhul kogutakse mikroorganisme lihtsa anaeroobse filtreerimise meetodil. Tahke substraadi puhul tuleb mikroorganismide kättesaamiseks substraat tükeldada, et saada proovid substraadi keskelt. Protsessi võib läbi viia kas anaeroobses kambris või kasutades „glove bag’i“ (Vanzin, G. 2006).

Tänapäeval peetakse survestatud puursüdame proove sobivaimaks mikroorganismide allikaks elujõulise populatsiooni saamisel (Toledo, G.V.; et al 2011). Töötamise vältel hoitakse substraati anaeroobsetes tingimustes, sest kõik maakoore pinnalähedastest kihtidest pärit mikroorganismid surevad hapniku käes. Samuti valmistatakse anaeroobsetes tingimustes kõik mikroobikultuuri moodustamiseks vajalikud söötmed ja puhvrid (Vanzin, G. 2006). Lisaks on oluline säilitada mikroorganismide jaoks sobiv temperatuur, pH, redokspotentsiaal (Eh), toitainete kontsentratsioon, soolsus, ioontugevus ja metalliioonide sisaldus. Pärast kultiveerimist anaeroobses keskkonnas teostatakse edasine koosluse analüüs molekulaarseid meetodeid kasutades.

### **5.2.2. DNA eraldamine ja mikroorganismide identifitseerimine raskesti lagundatavatest süsinikuaallikatest**

Protsess algab kivimiproovis olevate mikroorganismide kultiveerimisega, millele järgneb DNA eraldamine proovist. Pärast seda amplifitseeritakse 16S rDNA geenid PCR-i abil, kasutades universaalseid primereid. PCR-i ampliconid visualiseeritakse agarosogeelil. Bändid on võimalik geelist eraldada ja sekveneerida. Viimasena toimub saadud sekvenside võrdlus, kasutades 16S rDNA andmebaasi, ja fülogeneetilise puu ehitamine.

### 5.3. Argilliidi metagenoomi määramine: ettevalmistus

#### 5.3.1. Töö käik

Et välja selgitada metaani tootmises osalevate mikroorganismide kooslus DNA sekveeneerimise abil, eraldati kasutatud söötmetest kindlate ajavahemike tagant DNA ning teostati polümeraasi ahelreaktsioon (PCR) atsetogeensete ja metanogeensete bakterite ja arhede markergeenide määramiseks (atsetogeenes on enamasti vajalik metanogeneesi toimimiseks). Proovid, milles tehti kindlaks atsetogeenide ja/või metanogeenide olemasolu, valmistati ette sekveeneerimiseks. Valitud DNA proovidega teostati PCR bakterite ja arhede 16S rRNA geenide amplifitseerimiseks, puhastati saadud amplikonide raamatukogu reaktsiooni komponentidest agaros-geelelektroforeesil, eraldati geelist, ühtlustati proovide kontsentratsioonid järgnevas sekveeneerimiseks firmas Microsynth AG (Šveits) kasutades teise põlvkonna 454 pürosekveeneerimise tehnoloogiat. Amplikonide raamatukogu koostamiseks kasutati kaheosalist PCRi, mille abil DNA järjestused paljundati ning lisati sorteerimis-märgis ja pürosekveeneerimiseks vajalikud GS Titanium adapterjärjestused. Amplikonide raamatukogu koostamisel lähtuti 454 sekveeneerimisjuhendist (Roche) “454 Sequencing System. Guidelines for amplicon experimental design” (suunised amplikonide disainimiseks), meetodist “Universal tailed amplicon sequencing” (universaalsete adapterjärjestustega amplikonide sekveeneerimine).

#### 5.3.2. Praimerid

Metanogeensete arhede detekteerimiseks kasutati kolme praimeripaari, mis seonduvad metanogeneesi markergeenile *mcrA*, mis kodeerib metüül-koensüüm M reduktaasi (MCR) subühikut A (allpool toodud tabel).

Atsetogeensete bakterite detekteerimiseks kasutati praimeripaari, mis seonduvad atsetogeneesi markergeenile *fhs*, mis kodeerib formüültetraahüdrofolaadid süntetaasi (FTHFS) (Tabel 11).

**Tabel 9. Praimerid atsetogeensete ja metanogeensete mikroorganismide detekteerimiseks**

Praimeripaar	Määratav geen	Amplikoni pikkus (bp)	Määratav mikroorganismide grupp	Allikas
MLf-MLr	<i>mcrA</i>	~470	metanogeenid	Juottonen <i>et al.</i> , 2006
MCRf-MCRr	<i>mcrA</i>	~490	metanogeenid	
ME1-ME2	<i>mcrA</i>	~760	metanogeenid	
Fhs1-FTHFSr	<i>fhs</i>	~250	atsetogeenid	Xu <i>et al.</i> , 2009

Proovide ettevalmistamisel sekveeneerimiseks kasutati primereid, mis seonduvad bakterite ja arhede 16S rRNA geenidega:

**Tabel 10. Skeveneerimispraimerid bakterite 16S rRNA ja arhede 16S rRNA geenide amplifitseerimiseks**

Praimeripaar	Amplikoni pikkus (bp)	Määratav mikroorganismide grupp	Allikas
BSR357-BSF8	~400	bakterid	McKenna <i>et al.</i> , 2008
Arch349F-A934b	~650	arhed	Takai <i>et al.</i> , 2000; Grosskopf <i>et al.</i> , 1998

### 5.3.3. DNA eraldamine

DNA eraldamiseks filtreeriti 10 ml söötmeproovi läbi 30 mm Whatman süstlafiltri (poori suurus 0,2 µm). Pärast proovi filtreerimist mõõdeti söötme pH.

Proovidest DNA isoleerimiseks kasutati *MoBio PowerSoil®DNA Isolation* komplekti. Eraldamisprotsessi kaasati negatiivsed kontrollid (Blank), söötmeproovi asemel kasutati puhast vett, et kontrollida DNA eralduse kvaliteeti. Pärast DNA eraldamist mõõdeti proovide DNA kontsentratsioon, kasutades fluoromeetrit *Qubit* ja fluorestsentsvärvi *Quant-iT™ dsDNA BR Assay* komplekti.

### 5.3.4. PCR reaktsioonid ja elektroforees

Atsetogeenide ja metanogeenide tuvastamiseks paljundati uuritavad DNA järjestused PCR meetodi abil. Reaktsioonis kasutati 3 µl algset DNA proovi. Reaktsiooni kogumaht oli 30 µl, mis sisaldas praimereid lõppkontsentratsiooniga 0.2 µM ja *Smart-Taq Hot Red 2x PCR Mix* lahust (0.1U/µL *Smart Taq Hot Red* termostabiilne DNA polümeraas, 4mM MgCl<sub>2</sub>, 0.4mM dATP, 0.4mM dCTP, 0.4mM dGTP, 0.4mM dTTP; Naxo OÜ, Eesti).

Atsetogeenide tuvastamiseks kasutati *Fhs1-FTHFSr* praimereid ja varasemalt publitseeritud PCR programmi (Xu *et al.*, 2009). Metanogeenide olemasolu proovides tuvastati ME1-ME2, MLf-MLr ja MCRf-MCRr praimerite ja vastavate PCR programmide abil (Juttonen *et al.*, 2006).

Bakterite 16S rRNA ja arhede 16S rRNA geenide sekveneerimiseks paljundati uuritavad DNA järjestused kaheosalise PCR meetodi abil. Esimeses PCR-is oli spetsiifilise praimeri küljes poolik adapterjärjestus ja sorteerimis-märgis ning teise PCR-i käigus pikendati adapterjärjestust. Esimeses PCR-s kasutati 3 µl algset DNA proovi. Teises PCR-s kasutati DNA amplikoni 10 kordset lahendust. Reaktsiooni kogumaht oli 30 µl, mis sisaldas praimereid lõppkontsentratsiooniga 0.2 µM ja vastavat lahust. **Arhede** 16S rDNA tuvastamiseks kasutati lahust *Smart-Taq Hot Red 2x PCR Mix* (0.1U/µL *Smart Taq Hot Red* termostabiilne DNA polümeraas, 4mM MgCl<sub>2</sub>, 0.4mM dATP, 0.4mM dCTP, 0.4mM dGTP,

0.4mM dTTP; Naxo OÜ, Eesti). **Bakteriaalse** 16S rRNA geenide tuvastamiseks kasutati lahust *Maxima® Hot Start PCR Master Mix (2x)*(*Maxima® Hot Start Taq* polümeraas *2X Hot Start PCR* puhvis, 400 µM dATP, 400 µM dGTP, 400 µM dCTP, 400 µM dTTP, 4mM MgCl<sub>2</sub>; Thermo Scientific).

NTC (*no template control*) ehk negatiivne kontroll lisati kõikidele PCR reaktsioonidele.

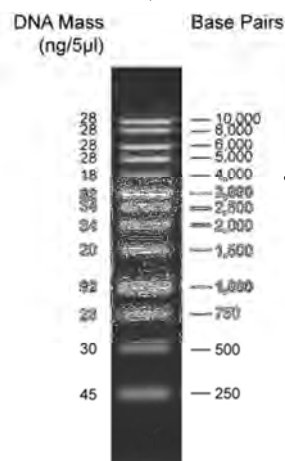
**Tabel 11. Programm arhede 16S rRNA geenide tuvastamiseks**

PCR I			PCR II	
95°C	15 min	} 5x	95°C	15 min
92°C	45 sec		92°C	45 sec
42°C	30 sec		42°C	30 sec
72°C	90 sec		72°C	90 sec
92°C	45 sec		92°C	45 sec
65°C	30 sec	} 35x	65°C	30 sec
72°C	90 sec		72°C	90 sec
65°C	30 sec		65°C	30 sec
72°C	10 min		72°C	10 min
4°C	∞		4°C	∞

**Tabel 12. PCR programm bakteriaalse 16S rRNA geenide tuvastamiseks**

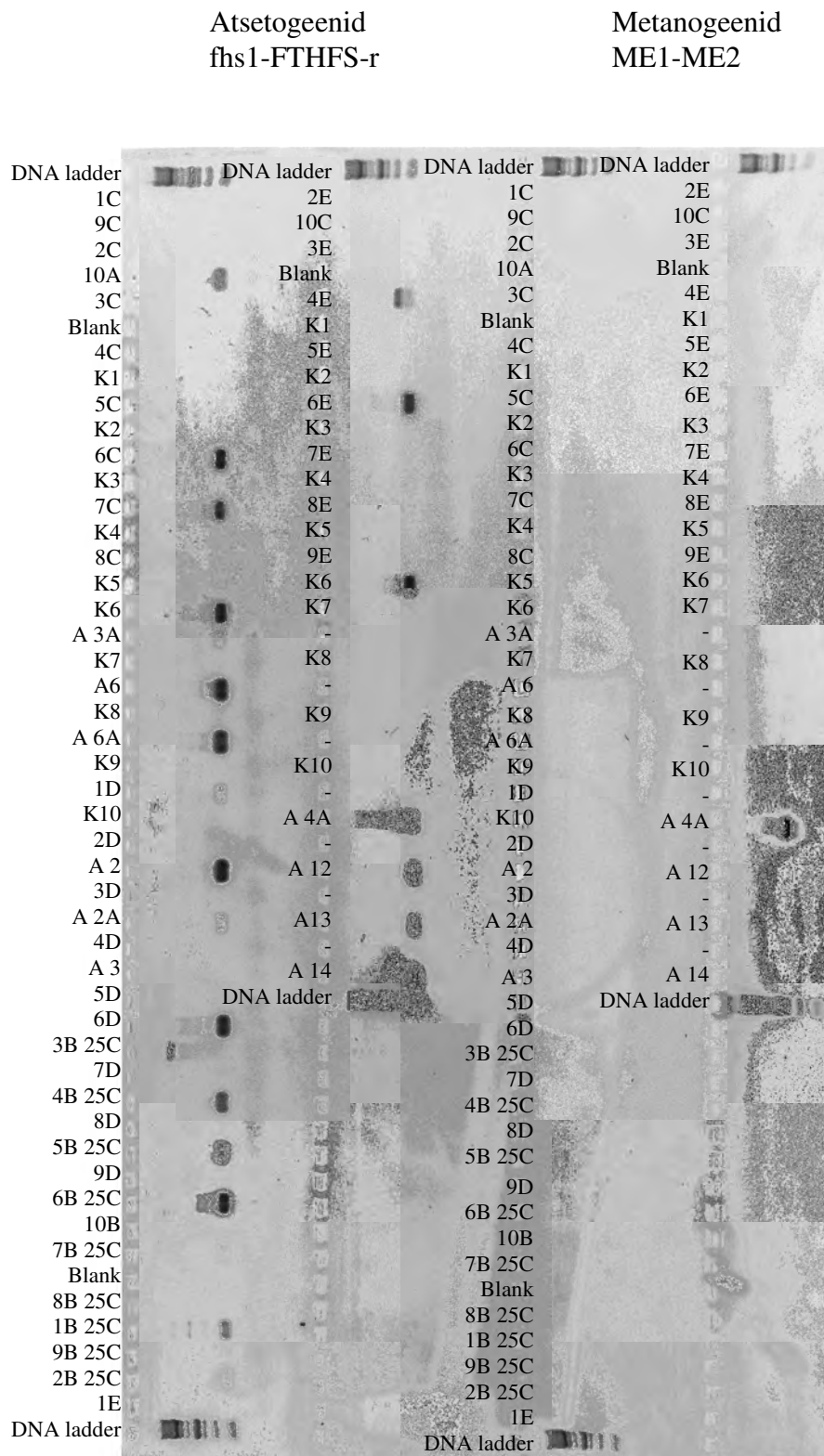
PCR I			PCR II	
95°C	15 min	} 3x	95°C	15 min
95°C	30 sec		95°C	30 sec
50°C	30 sec		62°C	30 sec
72°C	60 sec	} 28x	72°C	60 sec
95°C	30 sec		95°C	30 sec
65°C	30 sec		72°C	60 sec
72°C	60 sec		72°C	10 min
72°C	10 min		4°C	∞
4°C	∞			

PCR amplikonide pikkuste identifitseerimiseks agaros geleelektroforeesil kasutati 1 kb DNA markerit (Naxo OÜ, Estonia). PCR amplikonide värvimiseks kasutati Smart 6x Loading Dye Orange G värvi (Naxo OÜ, Estonia).



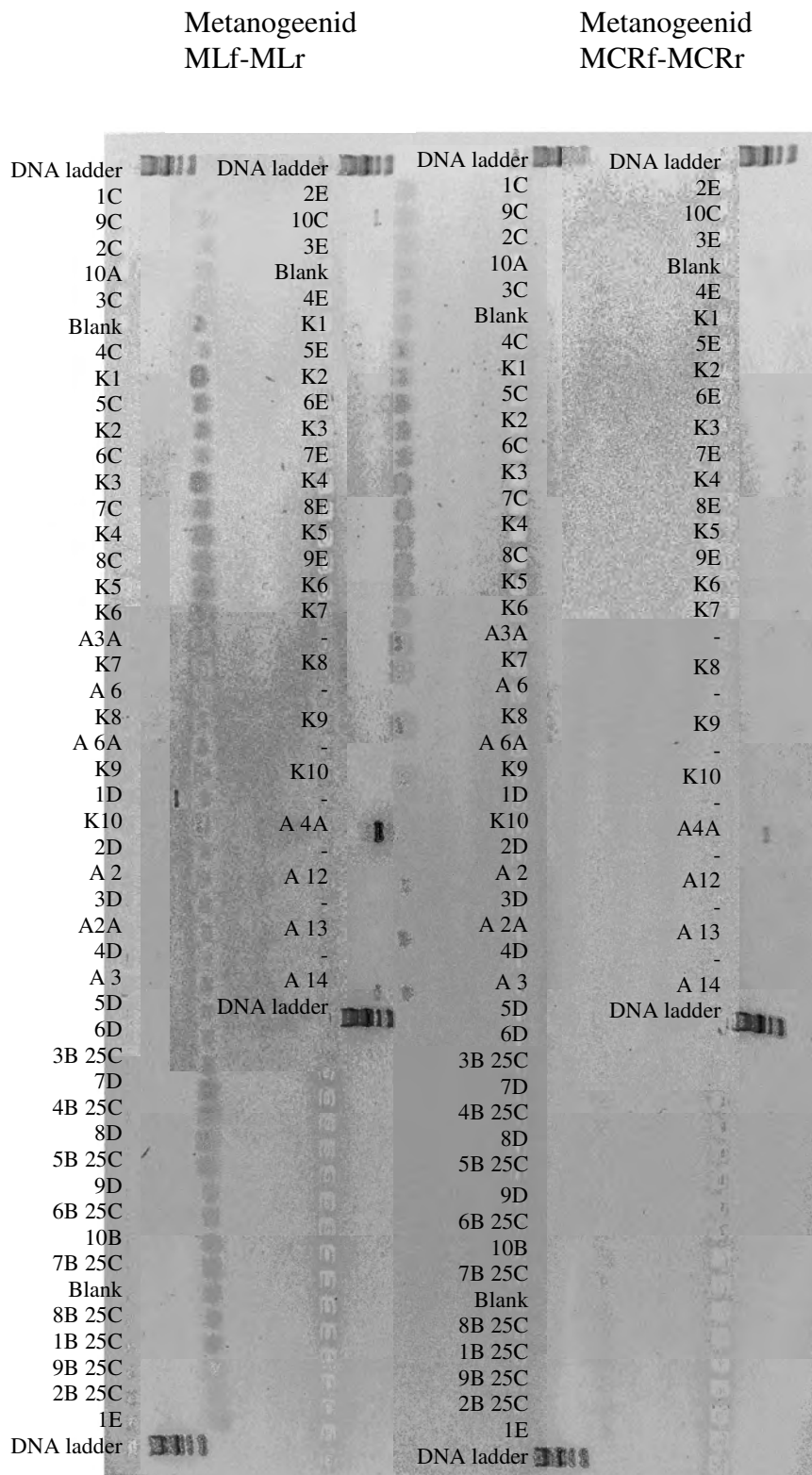
**Joonis 36. Geleelektroforeesil kasutatud 1kb DNA marker**

**5.3.5. PCR-i produktide analüüs geelektroforeesil 1% agarosgeelis**



**Joonis 37. Argilliidi kasvatuskatetest 18.08.14 eraldatud DNA proovide PCR produktide geelektroforees.**





**Joonis 38. Argilliidi kasvatuskatetest 20.08.14 eraldatud DNA provide PCR produktide geelelektroforees.**



Joonisel 37 on kujutatud 18.08.14 argilliidi kasvatuskatsetest eraldatud (18.07.14; 01.08.14 ja 15.08.14) DNA proovide PCR-i produktide geelelektroforeesi geelipilt atsetogeenide (vasakult esimesed 2 tulpa) ja metanogeenide ME1-ME2 (vasakult 3. ja 4. tulp) praimeritega. Joonisel 38 on kujutatud 20.08.14 argilliidi kasvatuskatsest eraldatud (18.07.14; 01.08.14 ja 15.08.14) DNA proovide PCR-i produktide geelelektroforeesi geelipilt metanogeenide MLf-MLr (vasakult esimesed 2 tulpa) ja MCRf-MCRR (vasakult 3. ja 4. tulp) praimeritega. Kasutatud on labori sisemises kasutuses olnud proovide tähiseid. Tulemuste analüüs on esitatud ptk-s 6.

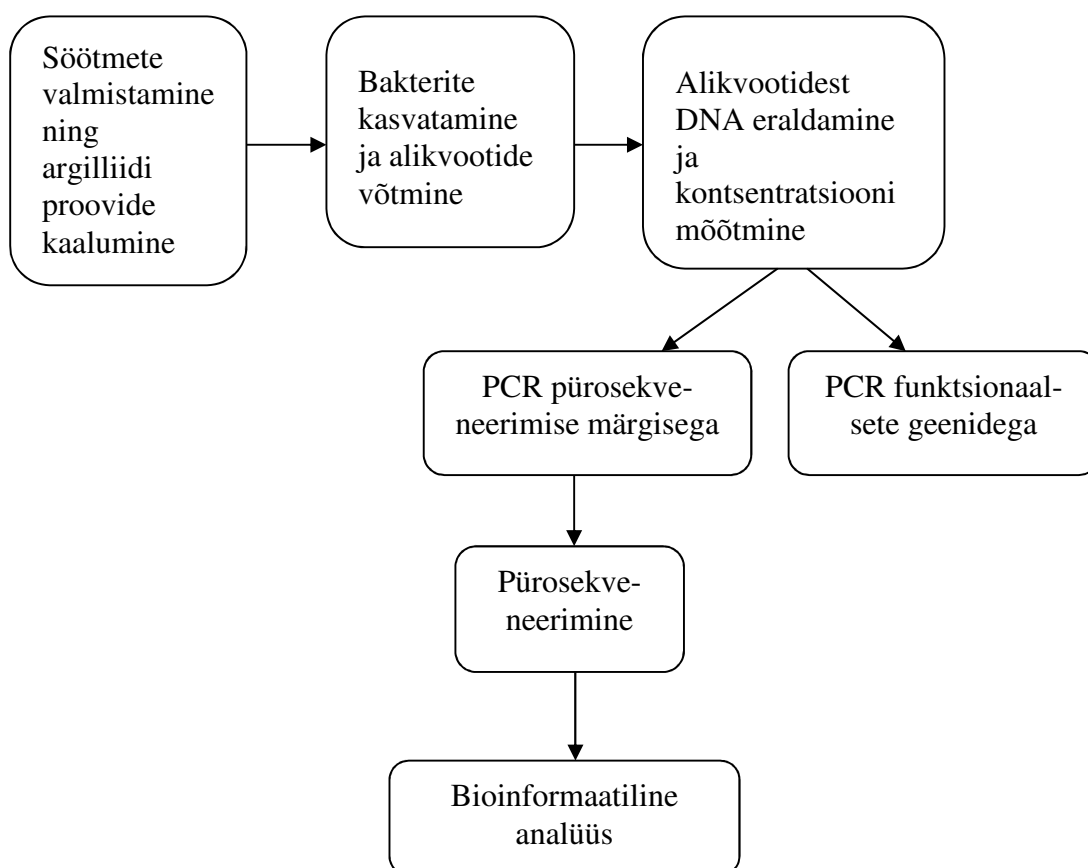
## 5.4. Viited

1. Grosskopf R., Janssen P.H., Liesack W. (1997) *Diversity and Structure of the Methanogenic Community in Anoxic Rice Paddy Soil Microcosms as Examined by Cultivation and Direct 16S rRNA Gene Sequence Retrieval*. Applied and environmental microbiology 64: 960–969.
2. Juottonen H., Galand P.E., Yrjälä K. (2006). *Detection of methanogenic Archaea in peat: comparison of PCR primers targeting the mcrA gene*. Research in Microbiology 157: 914–921.
3. McKenna P., Hoffmann C., Minkah N. et al. (2008). *The macaque gut microbiome in health, lentiviral infection, and chronic enterocolitis*. PLoS Pathogens 4(2): e20.
4. Takai K. and Horikoshi K. (2000) *Rapid detection and quantification of members of the archaeal community by quantitative PCR using fluorogenic probes*. Applied and environmental microbiology 66: 5066–5072.
5. Xu K., Liu H., Du G., Chen J. (2009). *Real-time PCR assays targeting formyltetrahydrofolate synthetase gene to enumerate acetogens in natural and engineered environments*. Anaerobe 15: 204-213.

## 6. Mikroorganismide koosluse analüüs pürosekvenerimise ja funktsionaalsete geenide meetodil.

Käesolevas projektis kasutatakse koosluse analüüsiks DGGE asemel amplifitseerimist bakterite ja arhede 16S rDNA praimeritega, millele järgneb pürosekvenerimine 454 meetodil. Lisaks analüüsitakse kooslust funktsionaalsete geenide, nt metanogeenidele spetsiifilise *mrcA* geeni järgi. *Mcr* (metüül-koensüüm M reduktaasi  $\alpha$ -subühik) katalüüsib metanogeneesi viimast etappi ja on konserveerunud kõigis metanogeenides.

Koosluse taksonoomiline koosseis 16S ribosomaalse RNA geenide järjestuse alusel, atsetogeenide järjestused praimeripaariga *fhs1* ja *FTHFS-r* ning metanogeneesi raja järjestused *mrcA* geeni alusel määrati biomassist seerumipudelitega kultiveerimiskatsetes (joonis 22). Koosluse analüüsiks käivitati 6. juunil 2014 kõigi söotmekombinatsioonidega 6 paralleelkatset ( $t = 36\text{ }^{\circ}\text{C}$  ja  $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Iga kahe nädala järel avati üks seerumipudel, eraldati biomass filtrimise teel ning sellest omakorda DNA. Järgnes pürosekvenerimise märgisega amplikonide valmistamine PCR meetodil ning pürosekvenerimine või PCR analüüs atsetogeenidele või metanogeenidele spetsiifiliste praimeritega. Mõlemal viisil saadud järjestustele tehti bioinformaatiline analüüs (joonis 39). Sealjuures järgiti viites Vanzin, G. (2006) kirjeldatud vooskeemi (joonis 34).



**Joonis 39. Seerumipudelitega kultiveerimiskatsete koosluse analüüs pürosekvenerimise ja funktsionaalsete geenide määramise meetodil.**

Tabel 13. Funktsionaalsete geenide analüüsi tulemused

Katse nr	Sööde	pH	DNA konts, ng/ul	PCR Fhs1-FTHFSr (atsetogeen)	PCR MLf-MLr (metanogeen)	PCR MCRf-MCRr (metanogeen)	PCR ME1-ME2 (metanogeen)
1A	R2A + NaHCO <sub>3</sub>	5,6	3,2	olemas			
2A	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + Na-atset.	6,2					
3A	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + glc	5,6					
4A	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + metanool	6,1	3,0	redel			
7A	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + etanool	6,1					
8A	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + butüraat	5,0	0,1				
9A	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + propionaat	5,0					
K1	R2A + NaHCO <sub>3</sub>	9,2					
K2	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + Na-atset.	9,2					
K3	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + glc	8,3					
K4	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + metanool	9,3					
K7	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + etanool	9,0					
K8	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + butüraat	7,3					
K9	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + propionaat	7,1					
1A	R2A + NaHCO <sub>3</sub>	5,8	1,15	õrn bänd			
2A	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + Na-atset.	6,2					
3A	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + glc	5,6	0,93				
4A	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + metanool	5,5					
7A	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + etanool	6,2	0,978	olemas			
8A	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + butüraat	4,9					
9A	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + propionaat	4,7					
1B	R2A + NaHCO <sub>3</sub>	5,4					
2B	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + Na-atset.	6,0					
3B	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + glc	5,5					
4B	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + metanool	6,2	0,399	olemas			
7B	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + etanool	5,4					
8B	R2A + NaHCO <sub>3</sub> +	5,1					

	butüraat					
<b>9B</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + propionaat	5,1				
<b>1C</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub>	5,8	2,2			
<b>2C</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + Na-atset.	5,8	2,2			
<b>3C</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + glc	5,4	0,5			
<b>4C</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + metanool	6,3	0,7			
<b>7C</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + etanool	6,2	16,8	olemas		
<b>8C</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + butüraat	5,0	0,4			
<b>9C</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + propionaat	4,8	0,5			
<b>10A</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + red. agendid	5,2	14,4	olemas		
<b>K1</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub>	7,7	0,5			
<b>K2</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + Na-atset.	7,5	0,4			
<b>K3</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + glc	7,0	0,9			
<b>K4</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + metanool	7,7	0,4			
<b>K7</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + etanool	7,7	0,5			
<b>K8</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + butüraat	7,0	1,2			
<b>K9</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + propionaat	7,1	0,5			
<b>K10</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + red. agendid	7,5	0,5			
<b>1B</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub>	6,1	3,9	olemas		
<b>2B</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + Na-atset.	6,1	2,3	olemas		
<b>3B</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + glc	5,3	3,4			
<b>4B</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + metanool	6,3	2,6	olemas		
<b>7B</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + etanool	5,6	1,2	nõrk bänd		
<b>8B</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + butüraat	4,9	0,3			
<b>9B</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + propionaat	5,1	0,2			
<b>1D</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub>	5,8	2,7	olemas	olemas	
<b>2D</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + Na-atset.	5,9	1,7			
<b>3D</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + glc	5,6	0,4			
<b>4D</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + metanool	5,4	0,9			
<b>7D</b>	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + etanool	6,2	0,6			

8D	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + butüraat	5,0	0,6				
9D	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + propionaat	5,0	1,1				
10B	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + red. agendid	6,2	2,0				
1E	R2A + NaHCO <sub>3</sub>	5,8	2,1				
2E	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + Na-atset.	6,3	0,4				
3E	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + glc	5,4	0,4				
4E	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + metanool	5,7	0,8	olemas			
7E	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + etanool	6,1	0,2				
8E	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + butüraat	5,0	0,2				
9E	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + propionaat	5,0	0,2				
10C	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + red. agendid	5,1	0,3		olemas		
K1	R2A + NaHCO <sub>3</sub>	7,7	0,2				
K2	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + Na-atset.	7,7	0,1				
K3	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + glc	6,7	0,1				
K4	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + metanool	7,8	0,1				
K7	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + etanool	7,8	0,2				
K8	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + butüraat	7,1	0,6				
K9	R2A + NaHCO <sub>3</sub> + propionaat	7,2	0,2				
K10	aHCO <sub>3</sub> red. agendid	7,7	0,2				

**Atsetogeenidele spetsiifilise praimeripaariga fhs1-FTHFS-r on seni andnud positiivse tulemuse järgmised söötmed:**

- R2A + NaHCO<sub>3</sub>,**
- R2A + NaHCO<sub>3</sub> + metanool,**
- R2A + NaHCO<sub>3</sub> + etanool,**
- R2A + NaHCO<sub>3</sub> + redutseerivate agentide (Na<sub>2</sub>S ja tsüsteiin) lahus.**

**Metanogeenidele spetsiifilise praimeripaariga MLf-MLr on andnud positiivse tulemuse söötmed**

- R2A + NaHCO<sub>3</sub>,**
- R2A + NaHCO<sub>3</sub> + redutseerivate agentide (Na<sub>2</sub>S ja tsüsteiin) lahus.**

Tulemustele lisab usaldusväarsust tõsiasi, et kõik ühe ja sama söötmega katsed on üksteisest sõltumatud paralleelkatsed. See tähendab, et nt söötmetes (R2A+NaHCO<sub>3</sub>) ja (R2A+NaHCO<sub>3</sub>+metanool) on atsetogeene tuvastatud neljas erinevas proovis, söötmes

(R2A+NaHCO<sub>3</sub>+etanool) kolmes erinevas proovis ja söötmes (R2A+NaHCO<sub>3</sub>+redutseerivad agendid) kahes erinevas proovis (Tabel 10).

Sekveneeritud ehk järjestatud proovide tulemustega viidi läbi bioinformaatiline analüüs ning tuvastatud järjestuste kaardistamine teadaolevate järjestuste andmebaasidest lähtuvalt ja uute järjestuste klasterdamine vastavuses teadaolevate taksonite evolutsioonilise kontekstiga. Mikroorganismid konkreetsetes proovis identifitseeriti sekvenaatori poolt toodetud 16S rRNA geeni järjestuste võrdlemisel andmebaasides leiduvate järjestuste vastu, kasutades NCBI Blast+ tarkvara ja mikroorganismide fülogeneetiliseks analüüsiks Mega5.0 vms tarkvara. Saadi alljärgnev loetelu kivimiproovides leiduvatest mikroorganismidest taksonite järgi (*operational taxonomic unit*).

**Tabel 14 Praimeripaariga BSR357-BSF8 pürosekvenerimisel tuvastatud mikroorganismid erinevate taksonite tasemel.**

Söötme koostis	Katse-variant	Mikroorganismid hõimkonna tasemel	Mirkoorganismid klassi tasemel	Mikroorganismid seltsi tasemel	Mikroorganismid sugukonna tasemel	Mikroorganismid perekonna tasemel	Mikroorganismid liigi tasemel
R2A	Oxitop 37 °C	<i>Firmicutes</i> (93,8%), <i>Proteobacteria</i> (0,1%)	<i>Clostridia</i> (80,1%), <i>Bacilli</i> (13,7%), <i>Alphaproteobacteria</i> (0,1%)	<i>Clostridiales</i> (80,1%), <i>Bacillales</i> (13,7%), <i>Rhodospirillales</i> (0,1%)	<i>Lachnospiraceae</i> (42,1%), <i>Tissierellaceae</i> (24,0%), <i>Paenibacillaceae</i> (13,5%), <i>Ruminococcaceae</i> (5,9%), <i>Peptococcaceae</i> (5,4%), <i>Clostridiaceae</i> (2,4%), <i>Planococcaceae</i> (0,3%), <i>Veillonellaceae</i> (0,2%), <i>Acetobacteraceae</i> (0,1%)	<i>Coprococcus</i> (41,2%), <i>Sporanaerobacter</i> (24,0%), <i>Paenibacillus</i> (13,5%), <i>Ruminococcus</i> (5,9%), <i>Desulfotomaculum</i> (5,4%), <i>Clostridium</i> (1,7%), <i>Dorea</i> (0,9%), <i>Lysinibacillus</i> (0,3%), <i>Pelosinus</i> (0,2%), <i>Thermoanaerobacterium</i> (0,1%)	<i>Lysinibacillus boronitolerans</i> (0,3%), <i>Clostridium intestinale</i> (0,3%)
R2A	Seerumi-pudel 25 °C	<i>Firmicutes</i> (53,8%)	<i>Clostridia</i> (52,2%), <i>Bacilli</i> (1,3%)	<i>Clostridiales</i> (52,2%), <i>Bacillales</i> (1,3%)	<i>Veillonellaceae</i> (37,1%), <i>Lachnospiraceae</i> (15,3%), <i>Paenibacillaceae</i> (1,3%)	<i>Pelosinus</i> (37,0%), <i>Coprococcus</i> (15,2%), <i>Paenibacillus</i> (1,3%)	<i>Paenibacillus barengoltzii</i> (0,2%)
R2A + glükoos	Oxitop 37 °C	<i>Firmicutes</i> (100%)	<i>Bacilli</i> (99,6%)	<i>Bacillales</i> (99,6%), <i>Clostridiales</i> (0,4%)	<i>Bacillaceae</i> (99,6%), <i>Veillonellaceae</i> (0,3%), <i>Ruminococcaceae</i> (0,1%)	<i>Bacillus</i> (99,6%), <i>Pelosinus</i> (0,3%)	<i>Bacillus cereus</i> (96,4%)
R2A + metanool	Oxitop 37 °C	<i>Firmicutes</i> (92,7%), <i>Actinobacteria</i> (0,1%), <i>Proteobacteria</i> (0,1%)	<i>Clostridia</i> (92,0%), <i>Bacilli</i> (0,7%), <i>Actinobacteria</i> (0,1%), <i>Alphaproteobacteria</i> (0,1%)	<i>Clostridiales</i> (92,0%), <i>Bacillales</i> (0,7%), <i>Actinomycetales</i> (0,1%), <i>Rhodospirillales</i> (0,1%)	<i>Corynebacteriaceae</i> (80,1%), <i>Lachnospiraceae</i> (63,1%), <i>Ruminococcaceae</i> (12,8%), <i>Peptococcaceae</i> (9,1%), <i>Clostridiaceae</i> (3,6%), <i>Tissierellaceae</i> (3,3%), <i>Bacillaceae</i> (0,4%), <i>Planococcaceae</i> (0,2%), <i>Veillonellaceae</i> (0,1%), <i>Acetobacteraceae</i> (0,1%)	<i>Coprococcus</i> (63,0%), <i>Ruminococcus</i> (12,7%), <i>Desulfotomaculum</i> (9,0%), <i>Sporanaerobacter</i> (3,3%), <i>Clostridium</i> (3,3%), <i>Bacillus</i> (0,4%), <i>Lysinibacillus</i> (0,2%), <i>Corynebacterium</i> (0,1%), <i>Desulfotomaculum</i> (0,1%), <i>Pelosinus</i> (0,1%)	<i>Lysinibacillus boronitolerans</i> (0,2%), <i>Bacillus cereus</i> (0,4%)
R2A + metanool	Seerumi-pudel 36 °C	<i>Actinobacteria</i> (52,4%), <i>Firmicutes</i> (25,2%)	<i>Actinobacteria</i> (52,4%), <i>Clostridia</i> (23,9%), <i>Bacilli</i> (1,3%)	<i>Actinomycetales</i> (52,4%), <i>Clostridiales</i> (23,9%), <i>Bacillales</i> (1,3%)	<i>Propionibacteriaceae</i> (52,4%), <i>Lachnospiraceae</i> (22,4%), <i>Paenibacillaceae</i> (1,0%), <i>Clostridiaceae</i> (0,9%), <i>Veillonellaceae</i> (0,5%), <i>Bacillaceae</i> (0,2%), <i>Planococcaceae</i> (0,1%), <i>Ruminococcaceae</i> (0,1%)	<i>Propionibacterium</i> (52,4%), <i>Coprococcus</i> (19,6%), <i>Paenibacillus</i> (1,0%), <i>Thermoanaerobacterium</i> (0,9%), <i>Pelosinus</i> (0,5%), <i>Bacillus</i> (0,2%), <i>Lysinibacillus</i> (0,1%)	<i>Lysinibacillus boronitolerans</i> (0,1%), <i>Propionibacterium acnes</i> (52,4%), <i>Bacillus cereus</i> (0,2%), <i>Paenibacillus barengoltzii</i> (0,2%)
R2A + etanool	Seerumi-pudel 36 °C	<i>Firmicutes</i> (84,4%)	<i>Clostridia</i> (84,3%), <i>Actinobacteria</i> (0,6%), <i>Bacilli</i> (0,1%)	<i>Clostridiales</i> (84,3%), <i>Actinomycetales</i> (0,6%), <i>Bacillales</i> (0,1%)	<i>Clostridiaceae</i> (72,8%), <i>Lachnospiraceae</i> (6,0%), <i>Ruminococcaceae</i> (5,0%), <i>Veillonellaceae</i> (0,5%), <i>Propionibacteriaceae</i> (0,4%),	<i>Thermoanaerobacterium</i> (69,3%), <i>Coprococcus</i> (6,0%), <i>Ruminococcus</i> (5,0%), <i>Clostridium</i> (3,5%),	<i>Propionibacterium acnes</i> (0,4%)



					<i>Corynebacteriaceae</i> (0,2%), <i>Paenibacillaceae</i> (0,1%)	<i>Pelosinus</i> (0,5%), <i>Propionibacterium</i> (0,4%), <i>Corynebacterium</i> (0,2%), <i>Paenibacillus</i> (0,1%)	
R2A + etanool	Seerumi- pudel 25 °C	<i>Firmicutes</i> (68,0%)	<i>Clostridia</i> (67,2%), <i>Bacilli</i> (0,8%)	<i>Clostridiales</i> (67,2%), <i>Bacillales</i> (0,8%)	<i>Clostridiaceae</i> (63,9%), <i>Veillonellaceae</i> (2,9%), <i>Paenibacillaceae</i> (0,6%), <i>Lachnospiraceae</i> (0,3%), <i>Bacillaceae</i> (0,2%)	<i>Propionispora</i> (1,6%), <i>Pelosinus</i> (1,3%), <i>Thermoanaerobacterium</i> (1,0%), <i>Paenibacillus</i> (0,6%), <i>Bacillus</i> (0,2%), <i>Coprococcus</i> (0,2%)	<i>Thermoanaerobacteri- um saccharolyticum</i> (0,7%), <i>Bacillus cereus</i> (0,2%), <i>Paenibacillus stellifer</i> (0,3%)
R2A + Na- atsetaat	Oxitop 37 °C	<i>Firmicutes</i> (90,7%), <i>Actinobacteria</i> (3,9%)	<i>Clostridia</i> (90,1%), <i>Actinobacteria</i> (3,9%), <i>Bacilli</i> (0,6%)	<i>Clostridiales</i> (90,1%), <i>Actinomycetales</i> (3,9%), <i>Lactobacillales</i> (0,4%), <i>Bacillales</i> (0,2%)	<i>Lachnospiraceae</i> (66,9%), <i>Clostridiaceae</i> (22,3%), <i>Propionibacteriaceae</i> (3,8%), <i>Veillonellaceae</i> (0,9%), <i>Streptococcaceae</i> (0,4%), <i>Corynebacteriaceae</i> (0,1%), <i>Bacillaceae</i> (0,1%)	<i>Coprococcus</i> (66,9%), <i>Thermoanaerobacterium</i> (22,3%), <i>Propionibacterium</i> (3,8%), <i>Streptococcus</i> (0,4%), <i>Pelosinus</i> (0,9%), <i>Corynebacterium</i> (0,1%), <i>Bacillus</i> (0,1%), <i>Paenibacillus</i> (0,1%)	<i>Thermoanaerobacteri- um saccharolyticum</i> (1,7%), <i>Propionibacterium acnes</i> (3,8%)
R2A + red. agendid	Seerumi- pudel 36 °C	<i>Firmicutes</i> (3,7%)	<i>Bacilli</i> (3,7%)	<i>Bacillales</i> (3,7%)	<i>Bacillaceae</i> (3,7%)	<i>Bacillus</i> (3,7%)	

## 7. Kokkuvõte: kuidas ja mis tingimustel biogeenne metaangaas eraldub?

1. Erinevatel tingimustel (temperatuur, pH, rõhk) ning erinevates mikrobioloogilistes söötmetes läbi viidud kultiveerimiskatsed näitasid, et kasutatud toitainete järgi on metaani tootmisel Eestis leiduvast graptoliitargilliidist eelistatud nii täiendavaid süsinikuallikaid kui ka metanogeeniseid substraate sisaldavad söötmed. Kuna metaani tootmine suurenes osades R2A + glükoos söötmega katsetes, viitab see, et eelistatud on atsetoklastiline metanogeneesi rada. Sellele järgnevad metaani tootmine söötmetega R2A (hüdrogenotroofne rada) ja R2A + metanool (metülotroofne rada). Orgaaniliste hapete kasutamine söötmelisandina metaani teket ei soodustanud.
2. Kultiveerimiskatsetes leidis kinnitust varem tuntud tõsiasia, et metanogeenised mikroorganismid eelistavad leeliselist kasvukeskkonda (vahemikus pH 7 kuni pH 9) (ptk 4.3.1). Suurenenud gaasitootlikkus ja iseloomulike funktsionaalsete geenide olemasolu tõestati proovides, mille pH>5,7.
3. Metanogeensete arhede detekteerimiseks kasutati kolme praimeripaari, mis seonduvad metanogeneesi markergeenile *mcrA*, mis kodeerib metüül-koensüüm M reduktaasi (MCR) subühikut A. Atsetogeensete bakterite detekteerimiseks kasutati praimeripaari, mis seonduvad atsetogeneesi markergeenile *fhs*, mis kodeerib formüültetraahüdrofolaadi süntetaasi (FTHFS). Metanogeenidele spetsiifilise praimeripaariga MLf-MLr andsid positiivse tulemuse söötmed R2A+NaHCO<sub>3</sub> ja R2A+NaHCO<sub>3</sub>+redutseerivate agentide (Na<sub>2</sub>S ja tsüsteiin) lahus. Atsetogeenidele spetsiifilise praimeripaariga Fhs1-FTHFSr andsid positiivseid tulemusi järgmised söötmed: R2A+NaHCO<sub>3</sub>, R2A+NaHCO<sub>3</sub>+metanool, R2A+NaHCO<sub>3</sub>+etanool ja R2A+NaHCO<sub>3</sub>+ redutseerivate agentide (Na<sub>2</sub>S ja tsüsteiin) lahus. Tulemustele lisab usaldusväärsust tõsiasia, et kõik ühe ja sama söötmega katsed olid üksteisest sõltumatud paralleelkatsed (ptk 5).
4. Molekulaarbioloogilise analüüsi tulemusi kinnitas gaaskromatograafiline analüüs – nende söötmekomponentidega katsetes, mis andsid positiivse tulemuse atsetogeenide ja /või metanogeenide praimeritega oli ka metaani eraldumine atmosfääri baastasemest (~2000 ppm) tunduvalt suurem. Et argilliidi orgaaniline materjal on raskesti lagundatav süsinikuallikas, võtab gaaside teke sellest mõnevõrra kauem aega, võrreldes nt biometaani tootmisega. Siiski oleme laboris ühe hiljuti katsetatud mikrobioloogilise söötmekombinatsiooniga saanud argilliidist toodetud metaani sisalduseks gaasifaasis kuni 30%, kusjuures metaani eraldumine algas 52. katsepäeval (vastavasisuline patenditaotlus on ettevalmistamisel). Seetõttu võib lugeda ühe käesoleva projekti ülesannetest – tõestada metaani tootmise võimalikkus Eestis leiduvast graptoliitargilliidist täidetuks.

5. Metallide leostumise kohta kultiveerimiseks valitud katsetingimustel on olemas esialgsed katsetulemused. Vanaadiumi sisalduse määramise põhjal võib siiski öelda, et tulevasel gaasitootmisel on võimalik selle metalliiooni leostumist põhjavele vältida. Katsetes kasutatud söötmetega graptoliitargiliidi proovide leostamisel jäi vanaadiumisisaldus vedelfaasis 12-24 korda väiksemaks kui see on lähtekivimis. Tulemuste täpsem analüüs esitatakse 8.09.2014. Vältimaks põhjavee reostust, on alustatud uuringuid metallide vesilahusest sidumise uurimiseks, kasutades spetsiifilisi siderofoore
6. **Koguseliselt saadi 18-23 mL biogeenset gaasi metaanisaldusega 6-53 ppm 7 g argilliidist, mis teeb saagiseks kuni 121 mL metaani 1 kg kivimi orgaanilise süsiniku kohta. Paljulubavad tulemused (815 ml gaasi metaanisaldusega 28% 90 päeva jooksul, saagis 53 L metaani /kg orgaanilise süsiniku kohta ehk 6 L metaani /kg kivimi kohta) on saadud nüüdseks antud projekti käigus teostatud katsete lõppedes lisaks käivitatud katsest. Tavapäraselt arvestatakse argilliidi metaanisaagiseks 1,6 L/ kg kohta.**

## 7.1. Viited

1. Woese, C.R. and Fox, G.E. (1977). Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 5088–5090.
2. Angel, R.; Claus, P. and Conrad, R. (2012) Methanogenic archaea are globally ubiquitous in aerated soils and become active under wet anoxic conditions. *The ISME Journal*, 6,847–862
3. Logunova, A. (2013) Mikroorganismide DNA-põhised määramismeetodid raskesti lagundatavates C-allikates. Bakalaureusetöö, juh-d A. Menert., S. Sipp Kulli. TTÜ, Tallinn, 69 lk.
4. Koide, H. and Yamazaki, K. (2001) Subsurface CO<sub>2</sub> disposal with enhanced gas recovery and biogeochemical carbon recycling. *Environmental Geosciences*, 8(3) 218–224.
5. Vanzin, G. (2006) Systems and methods for the isolation and identification of microorganisms from hydrocarbon deposits. Pub. No.: US2006/0223160 A1, Pub. Date: 05.10.2006.
6. Toledo, G.V.; Richardson, T.H.; Stingl, U.; Mathur, E.J. and Venter, J.C. (2011) Methods of identifying stimulants for methane production from hydrocarbon bearing formations. Patent application No: 2011027991, Pub. Date: 17.11.2011.
7. Fischer, S.G. and Lerman, L.S. (1983) DNA fragments differing by single base-pair substitutions are separated in denaturing gradient gels: Correspondence with melting theory. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80, 1579-1583.

## 8. Keskkonnamõjud

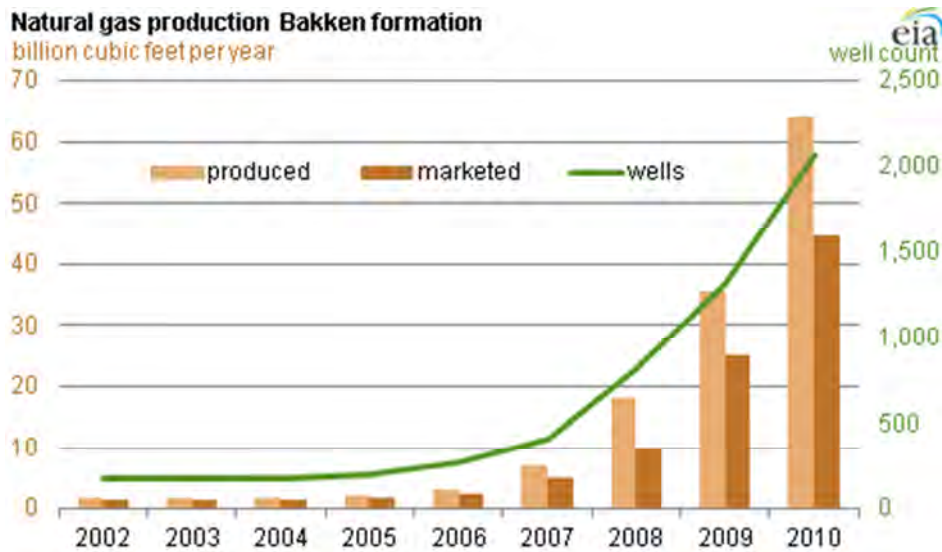
Argilliidist biogeense gaasi tootmise eeldatavaid keskkonnamõjusid tuleb vaadelda võrdluses muude metaankütustega ja Euroopa Liidu vastavate direktiivide taustal. Nafta ja gaasi käitlemine on Ühenduse õiguses üks enimreguleeritud sektoreid. Muidugi on need kütused ka energiasektori, tööstustarbimise, kodumajapidamiste, transpordi ja põllumajanduse kogumõjus suurimad saasteallikad, kuid seda eelkõige intensiivsest kasutusest tulenevalt.

George Bushi administratsiooni Energiadepartemangu juhile kuulus 2005.a. nn. õlitipu harjal ütlus: *“Nafta on kuningas. Kuningas on surnud. Uut kuningat ei tule, tuleb lõpmatu arv lokaalselt kõige sobivamaid energialahendeid”*. Ometi algas samal ajal just USA-s seoses horisontaalpuurimise laialdase levikuga kildanafta ja -gaasi tootmise buum. Niisiis ei olnud kuningas nende jaoks surnud, sest uute Bakkeni naftaväljade (Põhja Dakota osariik) puuraugud tootsid nii kildanaftat kui -gaasi, tavapärasest mõistes alternatiivkütuseid.

Et Bakken oli alles uus leiukoht, puudusid seal magistraalorustikud nafta ja gaasi transpordiks. Nafta transport toimus põhiliselt raudteed pidi, gaas jäi enamasti üle ning see põletati tõrvikutes. Joonisel 40 on öine satelliidifoto, kus põletamine kui probleem on visuaalselt nähtav. Ometi arendatakse gaaskütet tormiliselt ja piiratakse kivisöe kasutamist ning toornafta sissevedu OPEC riikidest. Aastal 2015 valmivad uued gaasitrassid ja naftatootjad peavad gaasi selle põletamise asemel nendesse suunama.



**Joonis 40. Bakkeni leiukoht öösel, võrrelduna Chicago, Detroiti'i jt linnadega.**



**Joonis 41. Kildagaasi tootmise ja müügi vahe Bakkenis.**

Et maailma energiatarbimine tõuseb, tuleb leida lokaalselt sobivaimaid lahendusi, mis kataksid nõudlust, arvestades samal ajal parimal viisil nii majanduslike kulutuste kui ka keskkonnakaitsega. Ökoloogiline jalajälg on kõigil energialiikidel, sealhulgas taastuenergiail. Energiatarbimist lõpetada ei ole võimalik, küsimus on ressursi säästlikus kasutamises.

### 8.1. Metaangaas kütusena (energiaallikana)

Maagaas torustranspordiga või LNG on osa võimalustest metaangaasi energiaallikana kasutada. Teine osa on alternatiivsed metaangaasid, nagu kildagaas, uttegaasid kivisööst või põlevkivist, biogaas ja -metaan ning ka biogeenne gaas. Viimased kolm, erinevalt teistest pole termogeenset päritolu.

Euroopa komisjon on viimati 2014.a. jaanuaris alternatiivsete energiaallikate kirjeldamisel sedastanud, et Euroopas kildagaasi varude kasutuselevõtmine võimaldaks lahendada kaheksa probleemi:

1. vähendada emissioone nende kütuste kasutamisest, mis on süsinikintensiivsemad kui metaangaas, eriti liikmesriikides, kus on kõrge söe osakaal energiatootmises;
2. vähendada energiasõltuvust nendest kolmandatest riikidest, kust EL gaasi ja LNG-d impordib.

Præguses ebaselges Venemaa gaasitarnete olukorras rõhutatakse erilist vajadust tagada uute omatoodete arvel energiavajaduste ohutu ja jätkusuutlik rahuldamine tarnetega, mis ei sõltu EL liikmesriikide väheneva traditsioonilise maagaasi tootmisest või Venemaa poolsetest tarnetest, millel on oht katkeda või ootamatult väheneda. Teemakohane Komisjoni uuring märgib, et kaasaegse gaasküttele koostootmisjaama heitmed on 41-49% madalamad, kui samal võimsusel söeküttega jaamal. Ka on elektritootmise heitmed 2-10% madalamad kui kolmandatest riikidest torustranspordiga imporditud maagaasi puhul ja 7-10% madalamad, kui imporditud LNG baasil elektrienergia tootmisel. Rahvusvahelise Energiaagentuuri (IEA)

raporti alusel on USA analoogiline kildagaasi kasutamine vähendanud energiatootmise CO<sub>2</sub> heitmeid 450 milj. tonni viimase viie aasta jooksul.

## 8.2. Regulaatiivse raamistiku arendamine

Eeldades, et alternatiivne metaangaas on olulisel kohal EL liikmesriikide tulevastest primaarenergia allikatest (*energy mix*), on Euroopa Komisjoni seisukohalt esmatähtis maandada nende kasutamisest tulenevad võimalikud riskid, eriti keskkonna alased. Rõhutatakse eri majandussektorite parimate praktikate kohaldamise vajadust viisil, kus keskkonnamõjud on kohaselt ja nõuetele vastavalt juhitud.

Rahvusvaheline Energiaagentuur (IEA) avaldas 2012 a. "Gaasi kuldaja kuldreeglite raporti", kutsudes üles üldiste, kuid kohaste regulatsioonide režiimiga kehtestama ohutuid soovitusi mittetraditsiooniliste (*unconventional*) gaasivarude kasutamiseks. Niisuguste gaasivarude hulka liigitub ka biogeenne metaangaas (BGL). Euroopa Komisjon avaldas 2014 a. jaanuaris omapoolsed "Soovitused Euroopa Liidus kildagaasi uuringute ja tootmise arendamiseks". Määratletakse üheselt, et liikmesriikidel on õigus määrata, millistel tingimustel nende energiaressursse kasutatakse, kuni need arvestavad keskkonna hoidmise, säilitamise ja kaitsmise tunnustatud vajadusi. IEA raporti eeskujul antakse miinimumpõhimõtted kildagaasi tootmiseks Euroopa Liidus.

Vastavalt sellele on nüüd iga liikmesriik kohustatud üldiste põhimõtete alusel välja arendama oma regulatsioonid, mida Komisjon jälgib, tehes üldistused 2015. aastal. Järgnevad otsused tehakse nõutavatest õiguslikest meetmetest lähtudes parimate praktikate jõustamiseks.

## 8.3. Alternatiivsete gaaskütuste ökoloogilise jalajälje kontrollimine.

### 8.3.1. Tootmise heade tavade kujundamine

Euroopa energiaallikate ohutu ja keskkonnahoidlik arendamine on energiatootmise tuleviku seisukohalt keskne küsimus. Paljude uute ressursside, nagu kildagaas või biogaas kasutuselevõtule on eelnenud pikad aastad põhjalikke uuringuid. Nende tehnoloogiate arendamisega kaasnevaid riske võib pidada täielikult defineerituks; nõuded tehnoloogiale ning arendustegevuse korraldamisele on välja kujundatud riskijuhtimise põhimõtetele vastavateks. Biogeense gaasi leostamine on küll uus, kuid Eesti oludele kohaldatav tehnoloogia ja selle arendamisel tuleb lähtuda teistele tuntud metaankütustele kehtivatest normidest ning üldistest põhimõtetest.

Kuidas siis defineerida biogeense gaasi keskkonnamõjusid ja vältida arendamisega kaasnevaid keskkonnariske?



### **8.3.2. Regulatsioonide valdkonnad:**

- Puuraukude rajamine ja kaasnevad tehnoarajatised. Lähtutakse kehtivatest planeeringute ja lubade nõuetest. Tehniliselt ei erine biogeense gaasi puuraukud eksisteerivatest vee- ja kaablikaevudest ning maasoojuspumpade puuraukudest; neid puudutav normistik on olemas. Lisada tuleb projektide tehniliste näitajate ning keskkonnamõjude hindamise, arvestamise ja aruandluse normistik.
- Kemikaalide ning mikrobioloogiliste materjalide käitlemine. Aluseks on EL kemikaalide REACH direktiivide paketi nõuded, nende rakendusaktid Eesti seadusandluses, nõuded mikrobioloogiliste materjalide käitlemisele ning vastavate lubadega ettevõtjate kaasamisele. Otstarbekas oleks rakendada parima võimaliku tehnika (*best available technology*, BAT) arvestamise ja deklareerimise kohustust, mis põhineks massbilansi asendusmeetodil võrdlusandmetel teiste antud kohas võimalike kütuseliikidega.
- Veekasutus ja -käitlemine. Pinna ja põhjavee kasutus on üksikasjalikult reguleeritud ja vastavate lubade süsteem on olemas. Biogeense gaasi leostamine ei saa kaasa tuua muutusi pinna- ja põhjavee kvaliteedi halvenemise suunas.
- Jäätmekäitlus. Erinevalt kildagaasist biogeense gaasi leostamisel täiendava reovee käitlemise vajadust ei teki ja ohtlikke jäätmeid ei lisandu. Arvestada tuleb kõiki arendustele esitatavaid tavalisi nõudeid.
- Müra ja kaasnev häirimine. Kehtivad regulatsioonid on rakendatavad nii puurtöödel kui hilisemal tehnoarajatiste eksploatatsioonil.

### **8.3.3. Rakendusaktid**

Alternatiivsete metaankütuste tootmisel ja kasutamisel rakendatakse igas EL liikmesriigis siseriiklikke õigusakte, mis on vastavuses eelkõige kohalike oludega. Siiski tuleb silmas pidada Ühenduse õiguse üldisi põhimõtteid, millel dekarboniseerimise mehhanism rajaneb, nimelt:

Süsivesinike direktiiv: kõik vedel- ja gaaskütused peavad EL territooriumil nende arvelevõtmisel, tootmisel, töötlemisel ja müügil omama lubasid ning autoriseeringuid, mis ühenduse tolliterritooriumil süsivesinike osas kehtivad. Biogeense gaasi puhul kerkib esmalt küsimus, et argilliit kui tootmise lähtekivim pole Eestis maavarana arvel.

Vee raamidirektiiv: kehtestab nõuded pinnavee käitlemisele, selle ökoloogilisele ja keemilisele seisundile ning inimtekkelise reostuse vältimisele.

REACH ehk kemikaalide direktiivide pakett: kehtestab nõuded, registreerimise ja autoriseerimise korra kogu toote jaotusahela suhtes tekkida võivate ohtlike ainete käitlemiseks.

Eluslooduse kaitse direktiivid: näevad ette piiranguid tööstuslike ja kodutarbijate rajatiste ja tehnovõrkude sobitamise osas looduskeskkonda.



Põhjavee direktiiv: katab kõiki põhjavee võimalikke saasteallikaid. Nõuded lähtuvad kehtivatest põhjavee kvaliteedi standarditest ja uute rajatiste planeerimisel on vajalik arvestada nende hilisemat mõju põhjaveele.

Kaevandussaste direktiiv: sätestab riskijuhtimise nõuded planeeringute ja lubade menetlemisele, kaevandusalade tegevusele, sulgemisele ja järelhooldusele.

Eeltoodud valdkondlike mõjude arvestamine on biogeense gaasi leostamise alustamisel oluline just seetõttu, et nafta- ja gaasitööstus esmase tootmise (*upstream*) mõttes on Eestis seni puudunud ja praktikat nende direktiivide rakendamise osas ei ole. Olemas on see toodete hilisema kaubandusliku käitlemise ja energiatootmiseks kasutamise osas. Siiski pole see takistanud näiteks biogaasijaamade rajamist, kus samuti toodetakse metaankütust.

### **8.3.4. Vesi**

esi on oluline loodusressurss kõigi energialiikide tootmisel. Et veekasutus on olnud energiatootmisel tõusvas trendis, on nüüd oluline selliste tehnoloogiate kasutamine, mis veetarvet võimalikult vähendaksid ja viiksid miinimumini põhjavee saaste ohu. Termogeense päritoluga kildagaas oma hüdraulilise pragundamise protsessiga näiteks nõuab märkimisväärseid veekoguseid ja vajab heitvee puhastamist ning järeltöötlust. Biogeense gaasi puuraugu mikrobioloogilise söötme leostamine nõuab kordades vähem vett ainuüksi juba puurimissügavuste erinevuse tõttu. Metaani eraldumise alguse järk-järgulise rakendumise tõttu puudub ka gaasipurskega kaasneva tehnoloogilise vee tagasipaiskumine kui kaasnähtus.

#### 8.3.4.1. Veetarbe võrdlus teiste alternatiividega:

- Seniste uuringute põhjal on kildagaasi veetarve toodetud energiaühiku kohta puuraugu eluea jooksul väiksem kui söe või tuumaenergeetikas. Veetarve on isegi väiksem kui kontsentreeritud energiaga päikesejaamadel. Biogeense gaasi leostamine võimaldab seda veevajadust veelgi vähendada.
- Vertikaalpuuraugu rajamine süvisele 3500 m nõuab 500-750 m<sup>3</sup> vett, ehk 0,2 m<sup>3</sup> jooksva meetri kohta. Kui argilliidikihti puurida horisontaalselt maksimaalse 400 m ulatuses, on veevajadus ainult 80 m<sup>3</sup>. Kildakihi hüdrauliline pragundamine nõuab täiendavalt 10 000 kuni 20 000 m<sup>3</sup> vett. 400 m puuraugu leostamiseks vajalik veesammas sõltub puuraugu diameetrist kuid on suurusjärgu võrra väiksem.
- Biogeense gaasi leostamiseks on eelnevalt vajalik võtta mikrobioloogilise söötme määratlemiseks kivimiproov ja seda laboris analüüsida. Määratakse ka konkreetse puuraugu argilliidikihi geoloogilised omadused ja selgitatakse vajaliku söötmelahuse kogus igal konkreetset juhul.

- Kildagaasi tootmisel paiskub sõltuvalt tingimustest 20-40% keemilisest segust pinnale tagasi, kus see kogutakse, puhastatakse ja hoiustatakse. Bioleostamisel seda kaasnähtust ei esine ja söötme biokomponendi tarbivad mikroorganismid gaasi eraldamiseks ära.
- Alternatiivsed metaankütused on arenev tehnoloogia, mille konkreetsete projektid on suunatud vee kui tehnoloogilise sisendi kasutamise efektiivsusele ja koguste vähendamisele ning heitmete vältimisele.

#### 8.3.4.2. Puurimisega kaasnevad mõjud.

Mõju põhjaveele võib tuleneda puurimisel põhjaveekihtide läbistamisest. Põhjavee kihid võivad Eestis kulgeda nii argilliidikihi all kui peal, seega alati ei pruugi puurimisega mõjusid kaasneda. Alljärgnevalt on välja toodud riskid, millega tuleb siiski arvestada ja mida vältida:

1. Leostamisprotsessiga seonduvad mõjud: erinevalt kildagaasist ei kasutata kilda purustamiseks hüdraulilist kõrgsurvet. Seega on lekked külgsuundades võimalikud vaid sarnaselt joogivee puurkaevudega. Puuraugu rajamisel tuleb kuni leostatava kihini paigaldada põhjaveest isoleeritud torustik. See väldib pH muutumise põhjavees, samuti puuraugu töötava osa üleujutamise põhjaveega. Argilliidist leostamisel raskemetallide võimalikku sattumist põhjavette on käesolevas uuringus eraldi kontrollitud.
2. Vahetud puurimistöde mõjud on analoogilised vee- ja kaablikaevude ning trasside rajamise mõjudega põhjaveele, sest kasutatakse sama tehnikat ja materjale.

#### 8.3.4.3. Jälgimis- ja kaitseabinõud.

Nagu eelpool mainitud, peavad kõik energiatootmise ja -tarbimise protsessid vastama Eesti ja EL seadusandlusega kehtestatud nõuetele. Uue tehnoloogilise protsessi korral on aga nõutav algusest peale järgida majandussektori parimaid praktikaid.

1. Iga puuraugu rajamise ja kasutamisega peab kaasnema veenäidiste analüüsimine. Näidiseid kogutakse enne ja pärast puurimistöid ning enne leostamise algust ja pärast metaani eraldumise käivitumist. Näidiseid kogutakse nii veekaevudest, puuraugust endast kui ka piirnevatest pinnavee allikatest. Proovid peavad olema standardsed ja analüüsitud tunnustatud järelevalves. Analüüsides on soovitatav hõlmata raskemetallid, tahkeosakesed, orgaanika sisaldus, vastavus radiatsiooni foonile ning metaanisaldus.
2. Tagasivoolu käitlus. Kildagaasi tootmise alustamisel voolab peale frakkimist 20-40% kasutatud veest 2-5 nädala jooksul pinnale tagasi. Et see sisaldab kemikaale ja liiva, isoleeritakse puuraugu ümbrus 100 x 130 m suurusel alal veekindla kattega, nn plaastriga ja dreenitakse. Sel viisil välditakse kemikaalide sattumist pinnavette. Tagasivoolu vesi kogutakse ja puhastatakse või kasutatakse järgmisel frakkimisel. Biogeenne gaas vajab tootmise alustamisel esmase gaasieralduse (H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>) kogumist. Vee tagasivool ei ole tõenäoline.

3. Alalist järelevalvet teostavad selleks määratud Keskkonnakaitse organisatsioonid, teostades mõõtmisi enne ja pärast puuraugu tööerakendamist. Saadud tulemusi võrreldakse projekteerimisel koostatud Keskkonnaseisundi hindamise käigus koostatud mõjuprognosisega. Olulistel kõrvalekalletel rakendatakse asjakohaseid meetmeid.

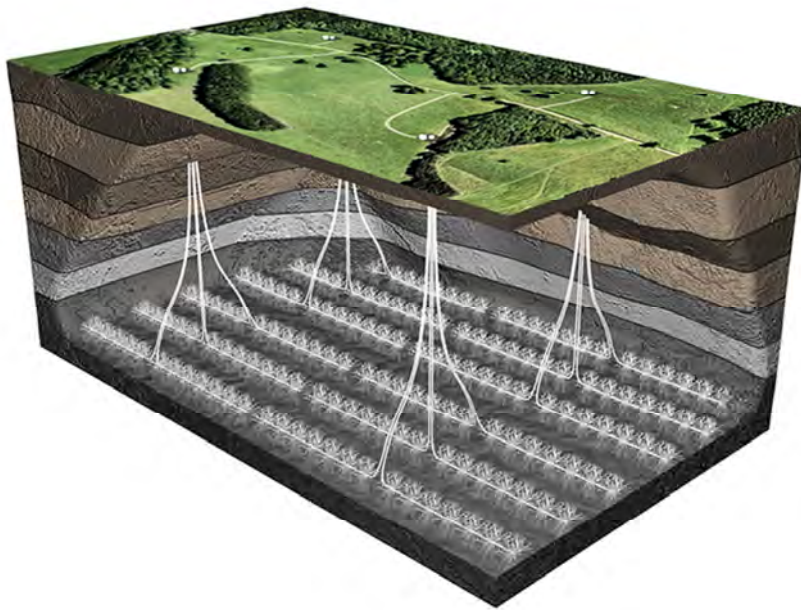
### **8.3.5. Välisõhk**

Välisõhu kvaliteedi kaitseks rakendab puuraugu valdaja nõuetekohase hooldusega meetmeid nii gaasi tootmise, töötlemise kui ka nendega seotud kütteseadmetel, nii tootmisega seotud kinnistul kui ka selle ümbruses. Lähemalt käsitleb emissioonidega seonduvat käesoleva uuringu ptk nr. 9 "Emissioonid".

Välisõhu kaitse tegevustes lähtutakse väärtuspõhise kaskaadi põhimõttest. Kõigepealt nähakse ette metaani ja muude KHG gaaside kogumine ja järeltöötlemisele suunamine. Teiseks tuleb võimalike tehnoloogiliste metaanilekete kahjutustamiseks ette näha nende tehnoloogiline tõrvikus põletamise võimalus juhaks, kui mingil põhjusel pole võimalik gaasi koguda. See vähendab KHG mõju CO<sub>2</sub> arvestuses 25 korda. Lõpuks tagatakse töötava seadmestiku nõuetekohane hooldus ja häiresüsteemi olemasolu tehniliste rikete avastamiseks.

### **8.3.6. Maakasutus ja maastiku kaitsemeetmed.**

Gaasipuuraukude rajamiseks horisontaalpuurimisega on tänapäeval vajalik väga väike maa-ala. Harilikult tehakse ühe suudme kaudu kuni kaheksa puurkäiku, mis viib pinnal kasutatava ala miinimumini. Vastavalt on väiksem ka ökoloogiline jalajälg looduses. Biogeense gaasi tootmiseks argilliidist selle harilikul sügavusel Eestis 20-200 m ja keskmise sügavusega 50 m on otstarbekas kasutada olemasolevaid liikurseadmeid, mis võimaldavad juhitavalt läbistada kuni 400 m igasuguses pinnases. Kasutatav tehnika on mitmeotstarbeline. Käesoleval ajal kasutatakse seda Eestis kaablitrasside ja torustike rajamiseks. Nii välditakse ajutiste statsionaarsete rajatiste püstitamist, nagu seda on kildagaasi puurtornid. Ka maastikku kahjustavad pinnase ettevalmistustööd pole vajalikud. Lähemalt saab lugeda [www.horisontaalpuur.ee](http://www.horisontaalpuur.ee). Puurimistööde põhimõtteline skeem on esitatud järgneval Statoili joonisel. Erinevuseks kildagaasi tootmisest on see, et biogeense gaasi puhul toimuks puurimine madalates süvistes ja ilma kilda hüdrauliliselt pragundamata.



#### Joonis 42. Statoili gaasivälja skeem kildagaasi tootmiseks

Kinnistu piires puurkaevude rajamisele eelneb proovipuurimisega uuring, mille käigus määratakse argilliidi struktuur, geoloogiline kivimite ja muude pinnasekihtide paiknemine ning gaasi tootlikkus. Nende näitajate järgi valitakse puurkaevude asukohad ja puurkäikude suunad. Välditakse kahjulikku mõju ümbruskonna objektidele ja senisele maakasutusele. Gaasi järeltöötlemiseks vajalik seadmestik, juhul kui seda on vaja, paigaldatakse puurkaevu juurde, vältimaks täiendavate gaasitrasside rajamise vajadust ja nende kaitsetsoone, mis häirivad mud tegevust.

Võrdluseks: Suurbritannia Direktorite Instituut (IoD) avaldas uuringu, mille kohaselt 0,02 km<sup>2</sup> ala suudab kildagaasi tootmisel mahutada 40 puurkäiku, mis suudaksid toodangult katta 474 000 kodumajapidamise küttevajaduse metaangaasiga. Maakasutuse kontekstis tuuakse võrdluseks üks Lancashire tuulepark 26 tuulikuga, mis katab 5,45 km<sup>2</sup> ala ja suudab oma esimese viie aasta elektritootmise näitajate alusel toota energiaekvivalendis 1/5 energiast, mille toodab 0,02 km<sup>2</sup> kildagaasi väli oma elueal. Biogeense gaasi puhul on küll eeldatavasti madalam gaasi väljavool ja –surve, kuid samas on eluiga eksploatatsioonis pikem kui kildagaasil. Ka ei ole madalates kihtides leostamisest oodata seismilise aktiivsuse suurenemist, mida on kildagaasi tootmisel täheldatud.

## 9. Tootmise võimalused

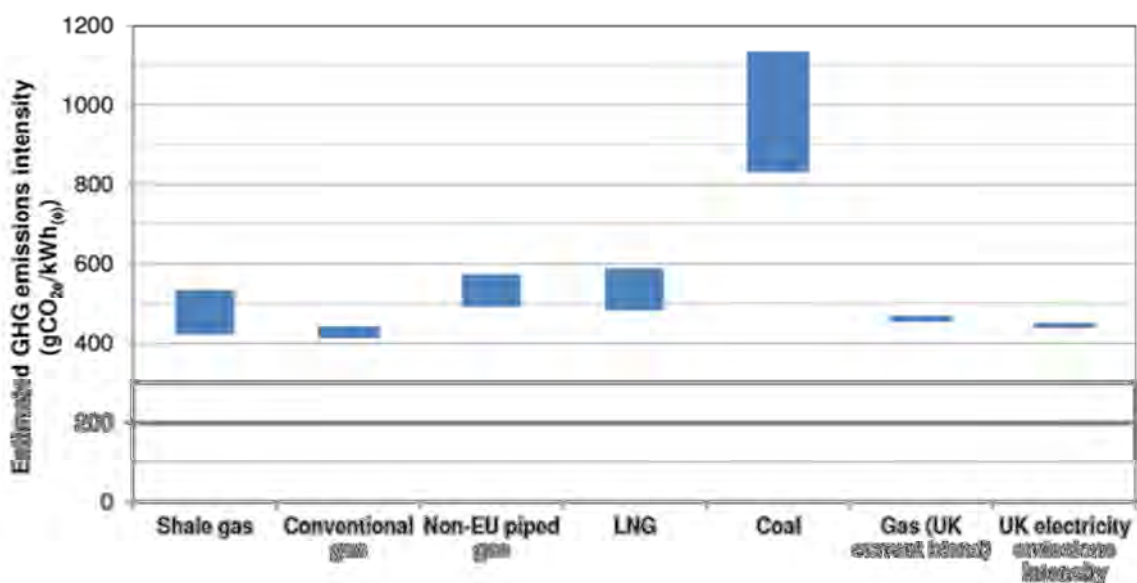
Käesolevas uuringus tehti laboris katseliselt kindlaks, et Eesti argilliidi leostamisel erinevate mikrobioloogiliste söötmetega on võimalik puuraugus *in situ* kivimi orgaanikast metaangaasi eraldada.

**Teostatud katsete kinnitamiseks, efektiivsuse tõstmiseks, ning keskkonnasõbralikkuse kindlustamiseks tuleb järgnevalt katsetada gaasi eraldumist pikema aja jooksul esmalt laboratoorselt, hiljem ka konkreetsetest puuraukudest.**

Biogeense gaasi projekti arendustegevuses saaks seda lugeda prototüübi staadiumiks. Alljärgnevalt on toodud põhjused, miks selle arendustegevusega võiks ja peaks jätkama.

Eestis seni oma maagaasi ei toodeta. Alternatiivsetest metaankütustest on olemas põlevkivi uttegaas ja biogaas. Maagaas on siiani torujuhtmetega 100% Venemaalt imporditav. Selle hind ja tarnetingimused ei ole turumajanduslikud, vaid monopoolsed, seetõttu on viimase tarbimine olnud pikka aega langevas trendis. On planeeritud LNG impordiks infrastruktuuri loomine, et tarneallikaid mitmekesistada. Euroopa gaasiimpordist moodustab LNG praeguseks ca 30%, kuid see on kallim ja mõnevõrra suurema CO<sub>2</sub> emissiooniga kui torugaas.

Alates 2013. aastast on EL oma liikmesriikide väheneva maagaasi toodangu asendajana USA-ga sarnaselt järjest enam pöördunud kildagaasi tootmise võimaluste kasutamise poole. Juhtriigid on praegu Suurbritannia ja Poola, kus on vastavad programmid alates 2011. aastast. Ühendkuningriigis on Riigisekretäri Energia ja Kliimamuutuste osakonna (DECC) tellimisel võrdlevalt uuritud erinevate metaankütuste ja kivisöe CO<sub>2</sub> intensiivsust. Viimase uuringu keskmised tulemused on toodud järgmisel joonisel (Joonis 43).



Joonis 43. Emissioonid metaankütustel

Eestis on põhiline gaasi moodustav kivimikiht argilliit, varuga 60-70 mld tonni praegu kasutamata ja maavarana arvele võtmata. Pinnalähedase lasumina on see sarnane Skandinaaviamaade maarjaskilda (nn Alum Shale) lademega, mida on ka leostamata kujul edukalt kasutatud biogeense metaangaasi tootmiseks väiksemas mahus. Võrdluseks – Eesti kaubapõlevkivi varude maht on 4,5 mld tonni. USA kildagaasi tootmisel kasutatav hüdraulilise pragundamise (nn *fracking*) tehnoloogia kihtides, mille keskmine sügavus maapinnalt on vaid 50 m, kasutamiseks ei sobi. Leostamistehnoloogia võimaldab aga pragundamistehnoloogia puudusi vältida.

Mikrobioloogilised tehnoloogiad koos süsinikladustamisega (nn *CCS – carbon capture and storage*) on Euroopa Komisjoni plaanides 2025. aastaks KHG emissioonide vähendamisel märgitud eelisarendatavate ja baasilistena. Olulise ressursi olemasolu Eestis on põhjuseks, miks biogeense gaasi tootmisvõimekus tuleks arendada tootmistasemele. Seda enam, et mikrobioloogia ja DNA-alaste uuringute võimekus Eestis on samuti tiptasemel.

### Soovitused:

Kõigi alternatiiv- ja taastuvkütuste arendamisel on võimalik kasutada väga erinevaid tootmisradu ja tehnoloogilisi lahendusi. Seetõttu rõhutatakse planeerimis- ja arendustegevuses sageli parima võimaliku tehnika (BAT) ja praktikate rakendamise vajalikkust.

Järgnevat tuleb arvesse võtta:

1. Täiendavaid metaani ning muude KHG gaaside lekkeid puurimisel, töötlemata gaasi tootmisel, järeltöötlusel ja transpordil tuleb võimalikult vältida. Lekkeid välditakse parimate tehniliste lahendite kasutamisega nende väärtuskaskaadi alusel, kus kõrgeim aste on gaaside kinnipüüdmine ja järeltöötlus, madalaim lekete fikseerimine ja rikete kiire kõrvaldamine. Vahepealse astmena tuleks ette näha võimalus lekkinud metaani tehnoloogilises tõrvikus põletamiseks. Nendel meetmetel on oma hind, seetõttu on soovitus – ka Eesti seadusandluses rakendada alternatiiv- ja taastuvkütuste arendustele kohustuslikku parima võimaliku tehnika (BAT) meetodikate kasutamist, nagu see on nt Saksamaal. See peaks olema nõutav vähemalt toetuste kasutamisel, nagu ka EL riigiabi energia ja keskkonnakaitselised juhendid ette näevad.
2. Järelevalve korraldamise nõuded KHG emissioonide ja veekasutuse üle peavad olema standardsed ja järgimiseks kohustuslikud. Tulemused on soovitatav dokumenteerida ja üldistada vähemalt ajani, mil erinevaid tehnoloogiaid saab lugeda hästi tuntuks Eesti ja EL ulatuses.
3. Ettevõtete operaatorid peaksid olema kohustatud korraldama varase eelhoiatuse süsteemi ootamatute gaasilekete vältimiseks ja esitama mõõtmistulemuste alusel emissioonide andmedjärelvalvet korraldavatele riigiasutustele (Keskkonnainspektsioon) andmete üldistamiseks.
4. Biogeense gaasi tootmise arendamine peab olema täiendatud jätkuva teadus- ja arendustööga parimate mikrobioloogiliste söötmete, puurimistehnikate ja



tehnoloogiliste komponentide leidmiseks, mis võimaldaksid vähendada nii emissioone kui ka tootmiskulusid. Leitud lahendeid on võimalik kasutada ka teistes liikmesriikides ja kolmandates riikides.

5. Teistes riikides on BAT põhimõtete arendamisel saavutatud parimaid tulemusi avaliku ja erasektori koostööprojektides (nn *PPP – Private Public Partnership*). Soovitav on seda ka Eestis rakendada.
6. Ettevõtted peaksid rakendama alaliselt meetmeid veekasutuse ja sõidukite liikluse vähendamiseks protsessis, minimiseerimaks kohapealseid KHG emissioone.
7. Otstarbekas oleks hõlmata uurimistöodega ka muud metaankütused, nagu maagaas, uttegaas, biogaas ja biometaan ning LNG. Oluline on tagada niisuguste uuringute sõltumatus. Siiani on ettevõtted oma informatsiooni lugenud konfidentsiaalseks.

Nimetatud meetmed peaksid tagama mitmekülgse varustatuse gaaskütustega nii majanduslikult kui ka keskkonnakaitseliselt optimaalses mahus ja vahekorras. Vastasel korral tekivad huvigruppide poolt ülekiidetud üksikteemad (nt 100% taastuenergiale ülemineku kava). Tegelikkus nõuab Eestis primaarenergia bilansi mitmekesistamist majanduslikult vastuvõetavate lahenditega, mitte uut domineerivat energiaallikat.

## 10. Emissioonid

Raport esitab biogeense gaasi KHG emissioonide arvutamise lähteandmed tootmisradades, olusringis, väljundite järgi, alates puurauguga kinnistul oleva ehitise gaasküttest kuni surugaasiga sõiduki kütuseni puuraugust ratasteni (nn *WTW - Well To Wheels*) arvestuses, massbilansi asendusmeetodi alusel.

### 10.1. Kasutatud lähteväärtused:

- Töötlemata gaasi metaanisaldus: 62-98%
- Süsinikdioksiidi sisaldus töötlemata gaasis: 7-10%
- Töödeldud gaasina arvestatakse 100% metaani
- Kütteväärtus metaangaasil: 52 MJ/kg ehk 40 MJ/m<sup>3</sup>
- Tihedus: 0,76 kg/m<sup>3</sup>
- Metaani KHG mõju koefitsient CO<sup>2</sup> suhtes arvestustes: 25

Puuraugu tootlus olusringis on biogeense gaasi puhul individuaalne, sõltudes eelkõige argilliidi orgaanika sisaldusest. Kildagaasi puuraugul on võrdluseks tootlus keskmiselt 85 milj.m<sup>3</sup>

### 10.2. Eeldatav mõju Eesti argilliidist biogeense gaasi leostamisel energiatootmise emissioonide vähendamisele Eestis.

Eesti argilliidist kohapeal (*in situ*) leostamise teel metaangaasi tootmise alustamisel on selle suurim mõju energiatootmisele asjaolu, et tegemist on laialt levinud kohaliku kütuseressurssiga, mis võimaldaks nii elektri- kui soojusenergia hajatootmist ning oleks kasutatav transpordikütusena (ka raskeveokites ning bussides, ja ka merelaevanduses).

EL liikmesriikides on oma gaasi osatähtsus energiabilansis ja tootmisnäitajates aastaid langenud ning suurenenud on gaasi import torujuhtmete kaudu või LNG-na kolmandatest riikidest. Kuna enam kui kolmandiku gaasist tarnib liikmesriikidele Venemaa, kes kasutab gaasiekporti poliitilise relvana, on vajadus tarneallikaid mitmekesistada erakordselt suur. Vajadus on eriti suur Soome ja Balti riikide puhul, kus 100% maagaasist tuleb Venemaalt. Põlevkivitööstuse uttegaasi kasutamine, biogaasi tootmine, LNG import kolmandatest riikidest, Leedus kildagaasi kasutuselevõtt ja uue tehnoloogiana Eestis *in situ* argilliidist metaangaasi leostamine on teadaolevad reaalsed alternatiivid Vene maagaasi impordile.

Seejuures on gaaskütus energeetikas universaalne, võimaldades toota elektrit nii baaskoormusel kui avariirežiimis, vähendades hajatootmisel võrgukadusid ja vältides soojatootmise lähemale toomisega kaugküttevõrkude soojuskadusid, olles tööstuslikus või kodumajapidamiste tarbimises ühtseks universaalseks elektri, soojuse ja mootorikütusen allikaks. Vaatamata eeltoodule on Eesti primaarenergia bilansis maagaasi kasutamine

Gazpromi hinnapoliitika tõttu ja energiajulgeoleku kaalutlustel aasta-aastalt langenud. Suurtarbijatest näiteks seisab Kohtla-Järvel Nitrofert ning Iru Elektri jaam viidi üle jäätme põletusele. Väiksemad soojatootjad on valdavalt üle läinud puiduhakkele ja gaas on jäetud tipukoormuse reservkütuseks.

KHG emissioonide vähendamine energeetikas ja energiatarbimises eeldaks aga metaankütuse laialdasemat kasutamist. Võrreldes kivisöega on maagaasi põletamisel CO<sub>2</sub> emissioon 50% väiksem. EL Peadirektoraadi Ühinenud Uurimiskeskus (JRC) avaldas 2006.a. tootmisradade CO<sub>2</sub> tüüpiliste emissioonide publikatsioonis, et 1000 Btu tootmiseks kivisöe põletamisega emiteeritakse 0,8 t heitmeid. Sama energiakoguse saamisel maagaasist on aga emiteeritavete heitmete kogus 0,45 t. USA Energia Informatsiooni Agentuur (EIA) on avaldanud, et põlevkivi puhul on analoog 1,13 t, raskemate masuudi fraktsioonide puhul aga 1,31 t.

Maagaasi puhul on põletamisel tekkivast emissioonist ohtlikumad võimalikud metaanilekked gaasi tootmisel puuraukudest, töötlemisseadmetest, hoidlatest ja trassidest. Metaan on 25 korda tugevama kasvuhoonegaasi mõjuga kui CO<sub>2</sub>. Samal ajal on tehnoloogiliste täiustustega võimalik ära hoida 95-100% metaanileketest; see tegevus on aga rahaliselt kulukas. Seepärast on soovitatav metaanitootmise projektide arendamisel kasutada parima võimaliku tehnika (BAT) meetodikat, arvestamaks välja optimaalselt tasakaalus hinna ja keskkonnasäästlikkuse suhe. Saksamaal on viimane lähenemine kohustuslik. USA rakendab kildagaasibuumis samu põhimõtteid ja sealne Keskkonnakaitse Agentuur EPA avaldas 2010.aastal, et 58% metaanileketest pärineb maagaasi tootmisest ning 2,27% magistraalvõrkudest. Lekkemäärade kontrollimisel sedastati juba 2013. aastal, et tootmisest pärineb 37% ja võrkudest 1,54%.

Hinna, kvaliteedi ja kasutuse paindlikkuse tõttu USA energiatarbimises langes söe osakaal 2003.aastal 53%-le; 2012. aastal 37%-ni. Maagaasi osakaal on seevastu samal ajavahemikul tõusnud 14%-lt kuni 29%-ni. Samas, emissioonide tase oli antud perioodil madalaim peale 1991. aastat. EPA ja EIA (*Energy Information Administration*) prognoosivad, et 2005.a. tasemele jõuavad emissioonid energiatarbimise kasvades peale 2045 aastat. Saksamaal on aga söe tarbimine taastuenergia tasakaalustamiseks võrgus tuumaenergia vähenemisel oluliselt tõusnud.

Eestis biogeense gaasi leostamisel argilliidist on puuraukude madala süvise ja järk-järgulise käitamisega mitte eriti tugeva surve all metaanilekete oht väga minimaalne. Erituva gaasi saab kinni püüda ja käidelda. Mikroorganismide söötmetest tuleb leida efektiivseimad ning keskkonnale kahjutud lahused. Esialgsed katsed laboris näitavad, et tulemused erinevate toitesegudega on erinevad. Parim lahendus tuleb leida iga kinnistu ulatuses eraldi. Kogumõju Eesti energiatarbimise emissioonidele võib ajapikku olla sama olulise positiivse mõjuga kui seda oli USA-le kildagaasi buum.

### 10.3. Biogeense gaasi tootmise emissioonid (*upstream*);

1. Puuraugu rajamise ettevalmistustööd: Eesti argilliidi lasumissügavustel 20-200 m piisab kaevude, maasoojuspumpade, kaablitrasside ja torustike paigaldamisel Eestis olemasolevast ja kasutatavast liikurtehnikast, mis võimaldab rajada puurauke igasuguses pinnases kuni 400 m pikkuselt. Minimaalne mõju tekib vastava tehnika objektile toomisest. Võrreldes kildagaasi puhul kasutatavate töödega puudub vajadus teostada puurtorni paigaldustöid, rajada selleks juurdepääse ning valmistada ette pragundamise (nn *fracking*) surve segu tagasilöögi kogumisbasseinid.
2. Puurimistööd: emissioone tekitavad mootorikütuste ja elektrienergia kulu läbindamisel, mille arvestuslikud emissioonid on:  
vertikaalpuurauk sügavusega 50 m (keskmine süvis): 13,16 t/CO<sub>2</sub> puurauk  
horisontaalpuurauk 4 haruga a 100 m: 105,28 t/CO<sub>2</sub> puurauk
3. Argilliidis olevate mikroorganismide elutegevuse soodustamiseks on vajalik vastava toitesegu koostamine, valmistamine ja puuraugu leostamine. Eraldi tehakse arvutused kolme erineva söötme (söötmed 1, 2 ja 3) puhul, arvestades veevajadust vastavalt veesambale sügavusega 50 m: emissioon keskmiselt 89,9 t/CO<sub>2</sub> puurauk
4. Leostamisperioodi metaani ja CO<sub>2</sub> lekked puuraugust. Maagaasi tootmisel tekitavad emissioone tavaliselt esmane gaasipurse ja avariilised lekked (*fugitive emissions*). Biogeense gaasi leostamisel eraldub esmasel gaasi tekkel madalal surve sega vesinikust, lämmastikust ja süsinikdioksiidist. Metaan eraldub ja protsess intensiivistub alles hiljem. Keskkonnakaitseliselt oleks soovituslik esimese etapi gaas koguda
5. Tehnoloogiline emissioon, on see, mis tekib metaani tarbimise puudumisel või seadmete rike eralduva metaani põletamisel tõrvikus (*flaring*) või suunamisel välisõhku (*venting*). Neid emissioone saab vähendada 90-100% ulatuses, kasutades projekteerimisel ja planeerimisel parima võimaliku tehnika (BAT) meetodeid. Biogeense gaasi puhul on nõudluse puudumisel võimalik ka leostamine ajutiselt katkestada, katkestades nii gaasi eraldumise. Arvestuslik emissioon on lähedane nullile.

**Esimene väljund - töötlemata gaasi suunamine kinnistul oleva rajatise gaaskütte seadmesse, koostootmisjaama või lokaalsesse gaasivõrku:**

Emissioon gaasküttest: soojusenergia tuhat kWh 19-33 gr/CO<sub>2</sub>

#### Võrdluskütused ja säästlikkuse % võrdluses

LNG ehk veeldatud maagaas: 38-89 gr/CO<sub>2</sub> säästlikkus kuni + 269%

Tootmisel ja töötlemisel 90% tõrvikus põletatud lekkega maagaas 12-16 gr/CO<sub>2</sub>, säästlikkus – 206% (ületab kehtiva biokütuste säästlikkuse kriteeriumi normi)

---

100% püütud lekkega metaangaas (BGL) 10-11 gr/CO<sub>2</sub> säästlikkus 300% võrreldes Briti maagaasiga.

Põlevkivi uttegaas: Eesti Energia AS ja VKG andmed pole kahjuks avalikud.

#### **10.4 Biogeense gaasi järeltöötlemise, hoidmise ja transportimise emissioonid (*midstream*)**

- Emissioonid gaasi puhastamisel ja metaanisisalduse tõstmisel ning gaasihoidlas hoidmisel (Suurbritannia näitel “flaring” ja “venting” variandis)
- Emissioonid puhastatud gaasi magistraalvõrgus hoidlatesse või tarbijateni suunamisel.
- Tüüpilised emissioonid surugaasi toimetamisel autotranspordiga 50 km raadiuses gaasitanklasse, tööstusliku, põllumajandusliku või kodutarbija lokaalsesse, magistraalvõrguga ühendamata gaasimahutisse.

#### **Teine väljund - kuni 98% standardse metaanisisaldusega gaasi tarbimine kütteks, jahutuseks või koostootmiseks:**

Emissioon gaasküttest: võrreldes esimese väljundiga väheneb suurema metaanisisalduse arvel kWh tootmiseks vajaliku gaaskütte kogus, kuid lisandub midstream töötlemise emissioon m<sup>3</sup> kohta

Võrdluskütused ja säästlikkuse % Suurbritannia ja USA näidetel:

Maagaas gaasivõrgust: 100 t CO<sub>2</sub> miljon m<sup>3</sup> kohta ehk 9 g/CO<sub>2</sub> kWh primaarenergias.  
Kolmandatest riikidest torujuhtmetega imporditud maagaas (JRC): kuni + 20% Euroopas toodetust.

LNG impordituna: Kuni 2,6 korda Euroopas toodetud maagaasist enam.

Euroopas toodetud kildagaas: Täpsed andmed puuduvad, eeldatakse kolmandatest riikidest torujuhtmetega imporditud maagaasiga samast taset.

#### **10.5. Biogeense gaasi jaemüügil ja tarbimisel moodustuvad emissioonid (*downstream*)**

Tarbimisel esimese ja teise väljundi järgi kütteks, jahutuseks ja koostootmiseks kohapeal täiendavaid emissioone toodetud soojuse või elektri tarbimisel ei ole.

Arvestamata KHG emissioon tekib surugaasi kasutamisel mootorikütusena:

1. Lekked võivad tekkida tankla gaasimahutist, torustikest ja tankimispüstolist. Tankimispüstolist tekivad lekked ka tööstus- või kodutarbija gaasisüsteemiga ühendatud tarbija puhul. Antud lekked võib jätta arvestamata, sest need on avariilised ning standard- või keskmisi väärtusi ei ole avaldatud. Täiesti korras gaasisüsteem on projekteeritud hermeetilisena, ning arvestuslik emissioon puudub.

2. Emissioon sõiduauto paagist velgedeni (nn WTW transpordi emissioon). See on metaanitarbe  $3,9 \text{ Nm}^3$  100 km kohta korral samane maagaasi ja biogaasi CO<sub>2</sub> emissiooniga, [www.cleanvehicle.org](http://www.cleanvehicle.org) toodud kalkulaatori järgi 69,01 g/km

#### Võrdluskütused:

Bensiinil ja diiselmootoril on sama energiamahukuse juures (säästlikkuse klass) juures WTW arvestuses CO<sub>2</sub> emissioon 90,48 g/km. Tulemustes näeme, et surugaasi kasutamine on 23,7% säästlikum.

Etanool: emissioon on sama energiamahukuse juures 63,95 g/km, vaikeväärtuse järgi on 7,4 % säästlikum kui gaas. Etanool on alati segus fossiilbensiiniga, mistõttu see gaaskütusest suuremat efekti ei anna, sest fossiilbensiin on kõrgema emissiooniga kui surugaas.

LPG: emissioon sama energiamahukuse korral 69,42 g/km. Seda on 0,41 g/km kohta rohkem kui surugaasil, aga sisult sarnane tulemus.

Elekter ja gaasiline vesinik vesinikelemendis: Sõiduki emissioon on null, kuid samas on Eestis elektritootmise emissioonid väga kõrged ja ülekandekaod suured. Vesinikku saab aga toota samast biogeensest maagaasist, mille tootmise ja hoiustamise ökoloogiline jalajälg on oluliselt väiksem kui imporditava maagaasil ja LPG-l.

Emissioonide arvestamise alusena on kasutatud USA Kliima ja Energialahenduste Keskuse kokkuvõtet (LISA 5 - *C2ES Summary Report June 13 - Leveraging natural gas reduce ghg emissions*) ja Suurbritannia Riigisekretäri Energia ja Kliimamuutuste Agentuuri raportit (LISA 6 - *DECC Shale Study Report 2013*).

## **10.6. Kokkuvõte.**

Võrreldes muude gaaskütustega, nagu imporditud maagaas, veeldatud maagaas (LNG) või kildagaas, on kohapeal leostatud biogeenne gaas oluliselt madalamate KHG emissioonidega, tulenevalt väiksemast puurimissügavusest, puurtornide rajamise mittevajalikkusest, gaasi tootmise alustamise järk-järgulisest tsüklist koos võimalusega koguda algselt eralduvad gaasid ja ümber töödelda ning tarbija (kütteseadme) võimalikust asetsemisest puurauguga samal kinnistul.

Emissioonid ei erine oluliselt biogaasi emissioonidest, mis taastuvkütusena arvestatakse kokkuleppeliselt töötlemisel null emissiooniga kütuseks kuni transpordikütusena tankimiseni (WTT). Biomassi käitlemisel kuni biogaasijaamani esinevad ikkagi arvestatavad KHG emissioonid, mis võivad olla erinevad, kuid pigem ületavad emissioone (*in situ*) puuraugu rajamisest leostatava orgaanilise materjalini.

## 11. Võimalikud lahendused

Käesolev peatükk puudutab biogeense gaasi tootmise alustamise võimalusi Eesti argilliidi mikrobioloogilise leostamisega “in situ” puuraugus. Sisendeid ja väljundeid on kirjeldatud uuringu eelnenud peatükid. Seetõttu piirduakse siinkohal lühikokkuvõttega resümee vormis.

Katsetega erinevatel mikrobioloogilistel söötmetel selgitati laboris, missugused toitelahustest vallandavad argilliidi leostamisel metageneesi ja missugused mitte. Et metaani tootmise kolm määravat tegurit on pH tase, temperatuur ja rõhk, ning äärmiselt tähtis on elimineerida metalliühendite võimalik leostumine põhjavette, siis korrektsete gaasikoguste määramiseks on vaja pikema aja jooksul jälgida nii labori skaalas kui ka hiljema prototüübina käsitletavaid puurkaeve ja nendes toimuvaid protsesse. Laboratoorselt leidis kinnitust fakt, et sobivatel tingimustel teatud proovidega eraldus kolmekuulise leostamise jooksul märkimisväärne kogus gaasi metaanisaldusega üle 30%. Puuraugus suurema rõhu all käivitub metaanitekke rada, mille kaudu mikroorganismid muudavad metaaniks ka salvestunud CO<sub>2</sub>, seega peaks metaanisaldus veelgi tõusma

Samas võib töötavat prototüüpi lugeda juba tootmise alustamiseks, ehkki mitte veel ärilistel eesmärkidel. Tulemuste baasil on võimalik parima võimaliku tehnika meetodikal planeerida biogeense gaasi tootmist soojuse ja elektri koostootmiseks seadmetele, mis praegu on kasutatavad biogaasijaamades. Samuti planeerida järeltöötuse puhastusseadmeid, ühendamaks biogeense gaasi tootmine maagaasi magistraalvõrguga või müüa seda surugaasina mootorikütusena. Kui toota biogeenset gaasi lokaalse gaasivõrgu tarbeks, piisab ka madalamast järeltöötuse astmest.

Biogeense gaasi kasutamiseks on eelistatavaim ja odavaim variant kinnistul hoonete ja rajatiste kütmisel ja elektri tootmisel põhikütusena oma puurkaevus biogeense gaasi tootmine. Koostootmise režiim on eelistatum, sest soojuskoormuse langemisel saab suurendada elektritootmist. Puurkaevu saab küll mõneks ajaks sulgeda, kuna eralduva gaasi rõhk ei ole väga kõrge, kuid see suurendab metaanilekete ohtu. Samal põhjusel pole kohapealne biogeenne gaas eriti sobilik reservkütus, kuid kõige paremini peaks sobima tööstustarbijale. Mitmed Tallinna ja Paldiski tööstuspargid asuvad tootmiseks sobiva argilliidikihi peal, samuti näiteks Keila ning Haapsalu linnad.

Võimalik on planeerida ka lokaalseid küttevõrke, seda eriti kohtades, kus maagaasi varustus puudub, kuid argilliidikiht on olemas. Toorgaasi järeltöötlus on perspektiivne tarbijale, kes soovib kasutada surgugaasi mootorikütusena oma masinapargis, nii tankides otse asukohas. Suurema logistika juures võib kütusekulu kokkuvõtte olla märkimisväärne, kuna gaasi ei pea sisse ostma, nagu maagaasi puhul. Eksisteerib vaid investeringu kapitalikulu.

Rootsis, kus maagaasi magistraalvõrk on ainult lõuna- ja läänerannikul, on biometaani tanklad (97% metaanisaldust) välja arendatud gaasi tarnimisega tanklasse autotranspordiga, seda siiskas kas spetsiaalveokiga või balloonidega. Ka Eesti biogaasi ja biometaani arendamise



tegevuskava näeb viidatud variandi arendamist ette. Taolistesse tanklatesse saab tarnida ka puhastatud biogeenset gaasi. Biogeense gaasi omahind peaks jääma oluliselt väiksemaks kui biogaasil, sest ei vaja biomassi kasvatamist ja käitlemist.

Maagaasi seadusega ettenähtud metaanisisaldusega biogeenset gaasi saab müüa ka gaasi võrguettevõtjale. Eestis on magistraalvõrk tunduvalt tihedam kui Rootsis. Taoline võimalus on eriti oluline, kui kohapealne tarbimine on hooajaliselt kõikumine ja tekivad gaasi ülejäägid. Ühenduse olemasolul on võimalik maagaasiga kompenseerida ka puudujääk, kui see peaks tekkima.

Väiksematele kodutarbijatele on ilmselt puuraugu rajamine ja selle leostamine liialt koormav, tõenäolisem oleks lokaalne küttevõrk. Samas mitme korteriühistu peale oleks konteinerkatlamaja ja puurkaevu rajamine juba perspektiivne. Näiteks on sobiva paksusega argilliidikiht Tallinnas Lasnamäe klindis olemas. Praegu on aga linnades Kaugkütteseaduse alusel lokaalsete katlamajade rajamine elamutele pärsitud. Samas on kütteperioodil hinnad tõusnud juba tasemele, kus need lokaalsed lahendused on tarbija seisukohalt õigustatud.

Kriteeriumiks tuleks taas võtta võrdlev parima võimaliku tehnika meetoodika. Kui majanduslikult ja keskkonnamõjudelt on lokaalküte säästvam ning väiksemate soojakadudega, siis pole kaugkütte soojamonopolil õigustust. Ka EL on seadnud eesmärgiks kaugkütte osakaalu vähendamise energiatarbimises just suurte kadude tõttu trassides.

Eelpool viidatud kasutusvõimalused kohaliku kütusena on esimesed sammud ressursi kasutuselevõtul, mis on kordades väiksema ökoloogilise jalajälega kui näiteks põlevkivi kasutamine, ka väiksema jalajäljega kui LNG ja Euroopas toodetud kildagaasil. Samas on biogeenne gaas suhteliselt lihtsalt ja suurte investeeringuteta kättesaadav. Nii oleks kõigist võimalikest lahendustest tähtsaim tõdemus, et järgmise sammu astumine argilliidi in situ leostamiseks on Eestis õigustatud.

**Teostatud paljulubavad katsetused annavad kinnitust, et edasised rakendusuringu mahukad katsetused biogeense gaasi keskkonnasõbralikuks ja efektiivseks tootmiseks (sh *in situ*) on vajalikud.**

## 12. LISAD:

- LISA 1 - Lippmaa et al , Shale Oil 2011, vol 1; lk 68-77
- LISA 2 - EIA Recoverable Shale Oil & Gas Assessment in US LISA 3
- LISA 3 - BP Energy Outlook 2035
- LISA 4 - EIA World Shale Gas Assessment 2011
- LISA 5 - C2ES Summary Report June 13 - Leveraging natural gas reduce ghg emissions
- LISA 6 - DECC Shale Study Report 2013
- LISA 7 - EIAARI World Shale Gas and Shale Oil Resource Assessment
- LISA 8 - Guidelines on State aid for environmental protection and energy 2014-2020
- LISA 9 - V\_Mo\_Pb\_GA\_s\_Kallaste \_et\_al\_2013
- LISA 10 - Lippmaa 2009
- LISA 11 - Lippmaa 2011
- LISA 12 - Summary RES-D
- LISA 13- eBIO on FQD for BFI
- LISA 14 - RED for BFI by eBIO

### Uuringurühma liikmed:

Sirli Sipp Kulli, Dipl Eng, MSc BiotaP OÜ, juhatuse liige, projektijuht  
Anne Menert, PhD, Tartu Ülikool, teadur / BiotaP OÜ, konsultant  
Maia Kivisaar, PhD, Tartu Ülikool, professor, teaduslik konsultant  
Tiit Maidre, Argipäev OÜ/BiotaP OÜ, ekspert  
Anneli Rander, MSc, BiotaP OÜ, tehniline konsultant  
Jana Lillo, MSc, BiotaP OÜ, tehniline konsultant.