

**KEMIALLISEN METSÄTEOLLISUUDEN UUTEAINEIDEN
SEDIMENTTIHISTORIA JA SEDIMENTTIEN EKOTOKSIKOLOGINEN
RISKINARVIOINTI**



Jyväskylän yliopisto
Bio- ja ympäristötieteiden laitos
Pro gradu -tutkielma
Heli Rämänen
12.9.2008

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Ympäristötiede

RÄMÄNEN, HELI, J.: Kemiallisen metsäteollisuuden uuteaineiden sedimenttistoria ja sedimenttien ekotoksikologinen riskinarviointi

Pro gradu: 130 s. 10 liitettä (20 s.)

Työn ohjaaja: Prof. Aimo Oikari

Tarkastajat: Prof. Aimo Oikari ja FM (väit.) Juhani Hynynen

Syyskuu 2008

Avainsanat: Sedimentti, sellu- ja paperiteollisuus, uuteaineet, ruskuaispussitauti, siian alkiopoikanen, valobakteeritoksisuus, Äänekoski

TIIVISTELMÄ

Äänekoskella on lähes sadan vuoden perinteet sellun ja paperin tuotannosta. Nykyään tehdasalueella on kuuden eri yksikön integraatio: Oy Metsä-Botnia Ab:n sellutehdas, M-Real Oyj:n paperi- ja kartonkitehtaat, CP Kelco Oy:n CMC-tehdas (karboksimeetylliselluloosa), Nordic Specialty Mineralsin PCC-tehdas (saostettu kalsiumkarbonaatti) ja Äänevoima Oy.

Tutkimuksessa selvittiin Äänekosken kolmen alapuolisen järven – Kuhnamon, Vatianjärven ja Leppäveden – kuormitushistoriaa määrittämällä sedimenteistä puuperäiset uuteaineet. Äänekosken alapuolisen vesistön pitoisuuksia verrattiin yläpuolisten Naarajärven ja Keiteleen pitoisuuksiin. Tutkittavia aineita olivat hartsihapot, puusterolit ja hartsihapoista anaerobisissa oloissa syntyvä reteeni sekä koivun kuoressa esiintyvä betulinoli. Tuloksista kävi ilmi, että teollisuussedimentit sisälsivät kohonneita pitoisuuksia uuteaineita, joista merkittävimpiä olivat puusterolit ja betulinoli. Kuhnamossta mitattiin puusterolien suurin pitoisuus, 2886 µg/g k.a., 2–5 cm:n syvyydestä sedimentissä. Myös betulinolin suurin pitoisuus oli korkea Kuhnamosssa, 1666 µg/g k.a., 5–10 cm:n syvyydessä. Vatianjärven sedimenttien kerrostuneisuutta arvioitiin sedimenttianalyyysien ja teollisuushistorian avulla.

Sedimenttien toksisuutta tutkittiin *Vibrio fischeri* -bakteerilla ja siian (*Coregonus lavaretus*) alkiopoikasilla sedimenteistä valmistetuilla vesiuutteilla. Oleellista tutkimuksessa oli, että toksisuusvaikutusta arvioitiin mahdollisesta sedimenttilähtöisestä päästöstä, eikä vesifaasista, mikä puolestaan johtuisi nykytuotannon aiheuttamista jätevesipäästöistä. Toksisuus mitattiin sedimenttien pintakerroksesta (0-10 cm) valmistetuilla vesiuutteilla. Niitä käytettiin, jotta koeolosuhteet muistuttaisivat luonnossa tapahtuvaa uuteaineiden siirtymistä sedimentistä vesifaasiin. Kokeissa sedimenttien vesiuutteet aiheuttivat siian alkiopoikasten kehityshäiriöiden lisääntymistä ja vaikuttivat poikasten pituuskasvuun. Lisäksi ne inhiboivat valobakteerien valontuottoa. Toksisuuden aiheuttajaa ei kuitenkaan tiedetä, sillä myös käytetyt vertailukokeen sedimentit osoittautuivat toksisiksi. Tutkimuksen kemiallisten määritysten ja toksisuuskokeiden avulla sedimenttien todettiin muodostavan ekotoksikologisen riskin tutkimusalueella, mutta riskin voimakkuus edellyttää lisätutkimuksia.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Department of Biological and Environmental Sciences
Environmental Science

RÄMÄNEN, HELI, J.: History and ecotoxicological risk assessment of wood
extractives in sediments contaminated by pulp and paper
industry

Master of Science Thesis: 130 p. 10 appendices (20 p.)

Supervisor: Prof. Aimo Oikari

Inspectors: Prof. Aimo Oikari ja Dr Juhani Hynynen

September 2008

Keywords: Sediment, pulp and paper industry, wood extractives, blue sac disease (BSD), whitefish embryos, bacterial bioluminescence, Äänekoski

ABSTRACT

There are long traditions of pulp and paper production in Äänekoski, Central Finland. Six units are co-operating in the area today: Oy Metsä-Botnia Ab:s pulp factory, M-Real Oyj:s paper and board factories, CMC-factory (carboxylmethylcellulose) owned by CP Kelco Oy, Nordic Specialty Minerals PCC-factory (precipitated calcium carbonate) and power plant of Äänevoima Oy.

The industrial history of Äänekoski water course was the main focus in this study. Eight sampling sites from three lakes – lakes Kuhnamo, Vatianjärvi and Leppävesi – were chosen below Äänekoski and compared to two lakes upstream used as reference areas, Lake Keitele and Lake Naarajärvi. Sediment samples were taken with Kajak-corer and analysed for wood extractives. The extractives were resin acids, wood sterols and retene, the last one being an anaerobic product of resin acids. Additionally, betulinol, a compound in birch bark, was measured. Industrial sediments contained significantly elevated amounts of wood extractives, the most noteworthy being wood sterols and betulinol. From the Lake Kuhnamo, at a site locating one kilometer from the mill, the highest concentration of wood sterols was 2886 µg/g d.w. from the depth of 2-5 cm. Also, there was high concentration of betulinol (1666 µg/g d.w.) at the depth of 5-10 cm. According to the sediment analysis and known industrial history the chemical stratification and toxicity of Lake Vatianjärvi sediments were further examined.

The toxicity of the sediments was determined with the bacteria *Vibrio fischeri* and sac fry of whitefish (*Coregonus lavaretus*). Toxicological effects were evaluated from sediments, not from current discharges. Toxicity testing was performed using water elutriates made from the surface layer (0-10 cm) of the sediments. It was suggested that water elutriates mimic the exposure of organisms to xenobiotic chemicals. Elutriates caused increased amounts of malformations and altered length in whitefish sac fry, and decreased light emission from bacteria. Used reference elutriates also turn out to be toxic so reason for these effects was not confirmed. According to chemical analyses and toxicity tests, the sediments downstream from Äänekoski mills were considered to pose an ecotoxicological risk to lake biota in the area. Additional tests are recommended to evaluate the strength at the risk.

SISÄLLYSLUETTELO

LYHENTEET	6
1 JOHDANTO	8
1.1 Metsäteollisuus Suomessa	8
1.2 Sellu- ja paperiteollisuus Äänekoskella	10
Sellu- ja paperiteollisuuden jätevedenkäsittely Äänekoskella	14
Äänekosken kaupungin ja Finnforest Oyj:n jätevedenkäsittely 2000-luvulla.....	15
1.3 Tutkittavan vesistöalueen ominaispiirteet – Kuhnamo, Vatianjärvi ja Leppävesi	16
1.4 Puuperäiset uuteaineet ja niiden ominaisuudet jätevesissä	19
Hartsihapot	20
Reteeni	22
Puusterolit ja betulinoli	24
1.5 Testieliöt	26
Vibrio fisheri	26
Siika (Coregonus lavaretus)	27
1.6 Sedimenttien kemialliset ominaisuudet ja haitta-aineiden biosaatavuus	27
Sedimentoituminen ja sedimenttien kemiallinen koostumus	27
Haitta-aineiden biosaatavuuden määräytyminen.....	31
1.7 Sedimenttien ekotoksikologinen riskinarviointi	32
Riskin tunnistaminen	32
Riskin analyysi	33
Riskin luonnehdinta.....	34
1.8 Tutkimuksen tavoitteet	36
2 AINEISTO JA MENETELMÄT	37
2.1 Tutkimusalue, näytteenotto ja esikäsittely	37
2.2 Näytteiden analysointi	41
Kuiva-aineen ja orgaanisen materiaalin määrittäminen	41
Sedimenttinäytteiden analysointi	42
Vesiuutteiden valmistus	45
Vesiuutteiden analysointi	46
2.3 Toksisuuskokeet	46
Bioluminesenssin inhibitio valobakteerilla	46
Alkiopoikaskoe siialla	47
2.4 Tilastolliset menetelmät ja spatiaalinen interpolointi	49
3 TULOKSET	50

3.1 Vesinäytteiden ominaisuudet	50
3.2 Sedimenttinäytteet, haitta-aineet ja niiden pitoisuudet.....	51
Äänekosken reitin sedimenttien rakenne.....	51
Sedimenttien kuiva-aine ja orgaaninen materiaali	53
Hartsihapot ja reteeni sedimenteissä	55
<i>Hartsihapot</i>	55
<i>Reteeni</i>	60
Puusterolit ja betulinoli sedimenteissä	64
<i>Puusterolit</i>	64
<i>Betulinoli</i>	70
<i>Uuteaineiden ja orgaanisen materiaalin pitoisuuksien vertailu</i>	73
3.3 Bioluminesenssin inhibitio vesiuutteista	76
Vesiuutteiden kemialliset ominaisuudet.....	76
Bioluminesenssimittaus	77
3.4 Siian (<i>Coregonus lavaretus</i>) alkiopoikaskoe.....	78
Koeolosuhteet	78
Alkiopoikasten käyttäytyminen, selviytyminen ja kehityshäiriöt	81
4 TULOSTEN TARKASTELU	86
4.1 Menetelmien arviointi.....	86
4.2 Veden laatu Äänekosken alapuolisessa vesistössä keväällä 2007	87
Kuiva-ainepitoisuus ja orgaaninen materiaali	89
4.3 Puun uuteaineet metsäteollisuuden sedimenteissä.....	91
Äänekosken reitin sedimentit	91
<i>Vertailualueet – Naarajärvi ja Keitele</i>	91
<i>Kuhnamo</i>	93
<i>Vatianjärvi</i>	95
<i>Leppävesi</i>	97
Pintasedimentin haitta-ainepitoisuuden alueellinen tarkastelu.....	99
Sedimenttien kuormitushistoria	99
4.4 Sedimenttien toksisuuden arviointi	102
Sedimentin vesiuutteiden ominaisuudet	102
Bioluminesenssin inhibitio	104
Vaikutukset siian alkiopoikasiin	105
4.6 Aiheuttavatko Äänekosken reitin sedimentit ekotoksikologisen riskin?	109
5 YHTEENVETO	117
KIITOKSET	118
KIRJALLISUUS	119
LIITELUETTELO	130

LYHENTEET

AOX	adsorboituvat orgaaniset halogeenit (adsorbable organically bound halogen)
AMP	adenosiinimonofosfaatti
ANF	α -naftoflavoni
ATP	adenosiinitrifosfaatti
BKME	valkaistun sulfaattisellun valmistuksessa syntynyt puhdistettu jätevesi
BOD	biologinen hapenkulutus
BSD	ruskuaispussitauti (blue-sac-disease)
BSTFA	<i>N,O-bis</i> (trimetyylisilyyli)-trifluoroasetamidi, silyloinnissa käytetty reagenssi
CMC	karboksimeetyyliselluloosa
COD	kemiallinen hapenkulutus
CYP1A	sytokromi P 450 1A
DHA	dehydroabietiini
DHAA	dehydroabietinihappo
DOC	liuennut orgaaninen hiili (dissolved organic carbon)
EC ₅₀	konsentraatio, jolla 50 % tutkittavista eliöistä kuolee tai on liikuntakyvyttömiä (effective concentration)
ECF	alkuainekloorivapaa valkaisu (elemental chlorine free)
ERA	ekologinen/ekotoksikologinen riskinarviointi
GC-MS	kaasukromatografi-massaspektrometri
GIS	paikkatietojärjestelmät (Geographical Information Systems)
IDW	Inverse Distance Weighting, spatiaalisen interpoloinnin menetelmä
k.a.	kuiva-aine
LOD	toteamisraja eli pienin pitoisuus, jolla voidaan todeta sisältääkö näyte tutkittavaa yhdistettä (limit of detection)
LOI	hehkutushäviönä määritetty palavan orgaanisen aineen pitoisuus (loss-of-ignition)
nd	pitoisuus alle toteamisrajan; ei havaittu (not detectable)
OM	orgaaninen materiaali
PAH	polyaromaattinen hiilivety
PCC	saostettu kalsiumkarbonaatti
POP	Pysyvät orgaaniset yhdisteet (persistent organic pollutants)
PPi	pyrofosfaatti

SQG	sedimenttien laadun raja-arvotarkastelu (sediment quality guidelines)
SPSS [®]	Statistical Product Service Solutions, tilastotieteellinen menetelmä
SQT	sedimenttien kolmitarkastelu (sediment quality triad)
TCF	täysin kloorivapaa valkaisu (total chlorine free)
THR	tetrahydroreteeni
TMCS	trimetyylikloorisilaani, silyloinnissa käytetty reagenssi
TOC	orgaanisen hiilen kokonaispitoisuus (total organic carbon)
UKME	valkaisemattoman sulfaattisellun valmistuksessa syntynyt puhdistettu jätevesi
WOE	näytön painoarvojen tarkastelu (weight-of-evidence)

1 JOHDANTO

1.1 Metsäteollisuus Suomessa

Metsäteollisuus voidaan jakaa kemialliseen ja puutuoteteollisuuteen (saha- ja rakennusteollisuus) ja sen tuotannosta 70 % on kemiallista. Suomen rakennusteollisuus käyttää puuta etenkin pientalojen rakentamisessa, joista noin 90 % on puutaloja. Suuri osa puurakentamista sisältää myös huonekaluteollisuuden ja sisustuselementtien valmistuksen (mm. ovet ja parketit). Kemiallinen metsäteollisuus taas käsittää paperin, kartongin ja sellun tuotannon sekä sellun jatkokäsittelystä syntyvät muut tuotteet kuten karboksimeetylliselluloosan (CMC) (Metsäteollisuus 2006).

Terva oli jo keskiajalla tunnettu ja sitä valmistettiin raakapuun ohella vientiin. Jo 1500-luvulla Suomessa oli käytössä ensimmäiset vesisahat ja 1700-luvulla sahatuotteita valmistettiin hieman vientiinkin. Sahateollisuudesta tuli 1800-luvun loppupuolella hallitseva osa metsäteollisuutta (Metsäteollisuus 2006). Kemiallinen metsäteollisuus sai alkunsa Suomessa, kun paperin tuotanto koneellistui vuonna 1842. Aluksi paperia ja pahvia valmistettiin lumpuista, kunnes 1800-luvun puolivälissä niitä alettiin valmistaa puunkuidusta (Reunala ym. 1998; Metsäteollisuus 2006). Suomen ensimmäinen puuhiomo aloitti toiminnan vuonna 1859 ja ensimmäinen sellutehdas vuonna 1876 (Reunala ym. 1998). Sahateollisuus alkoi menettää asemaansa paperin ja kartongin valmistukselle 1900-luvun alussa (Reunala ym. 1998; Metsäteollisuus 2006). Massaa alettiin valkaista kloorilla 1950-luvulla. Kloorikaasun käytöstä valkaisussa luovuttiin kuitenkin sen ympäristövaikutusten vuoksi 1990-luvun alkupuolella; ensin siirryttiin alkuainekloorivapaaseen (ECF) ja pian myös täysin kloorittomaan (TCF) valkaisuun. Tuotantokapasiteetin ja jalostusasteen lisäykset aiheuttivat suuria investointeja 1900-luvun puolivälissä (Reunala ym. 1998), mikä on vaikuttanut tietotaidon kehitykseen 1900-luvulla. Nykyään metsäteollisuus kuuluu metalli-, kone- ja sähkötekniikan- sekä elektroniikkateollisuuden ohella Suomen suurimpiin teollisuudenaloihin (Metsäteollisuus 2006).

Suomessa sellua valmistetaan sulfaattimenetelmällä eli puuta keitetään lipeäliuoksessa, jossa on natriumhydroksidia eli lipeää ja natriumsulfidia (Sjöström 1993). Sulfiittiselluloosan valmistuksesta on luovuttu Suomessa kokonaan, koska se kuormittaa ympäristöä sulfaattimenetelmää enemmän. Keitetty sellu valkaistaan joko ECF-valkaisulla

eli klooridioksidia ja muita hapettavia kemikaaleja käyttäen tai TCF-valkaisulla eli happea, vetyperoksidia, otsonia ja entsyymejä käyttäen (Metsäteollisuus 2006).

Yhteenvedona voidaankin ajatella kemiallisen metsäteollisuudet merkittävimpiä käännekohtia olleen: 1) kemiallisen massan valmistuksen aloittaminen puun ja kasvien kuiduista, 2) sulfiitti- ja sulfaattisellun keittomenetelmien kehitys, 3) sellun valkaisu ja alkuainekloorittoman valkaisuun käyttöönotto, 4) ympäristön kuormitusta vähentävät tekijät (mm. rikin poisto savukaasuista) sekä 5) tietotaidon kehitys 1900-luvulla (Metsäteollisuus 2006).

UPM-Kymmene Oyj, Stora Enso Oyj ja Metsäliitto-yhtymä ovat Suomen suurimmat metsäteollisuusyritykset. Suomalaiset metsäyritykset alkoivat 1980-luvulla yhdistyä ja tuotanto kansainvälistyä. Metsäyritykset ovat panostaneet tuotannon lisäämiseen ulkomailla 1990-luvun puolivälistä alkaen ja vuoteen 2004 mennessä yhtiöiden 40 miljardin euron liikevaihdosta syntyikin Suomessa vain 10 %. Suomen metsäteollisuus perustuu pitkälti vientiin – esimerkiksi paperin- ja kartongin tuotannosta noin 90 % viedään ulkomaille (Taulukko 1; Metsäteollisuus 2006).

Taulukko 1. Suomen metsäteollisuuden tuotannon ja viennin määrä, viennin osuus tuotannosta sekä tuotantolaitosten lukumäärä vuonna 2004 (Metsäteollisuus 2006).

Tuoteryhmä milj. t/m ³	Tuotannon määrä	Viennin määrä	Viennin osuus tuotannosta %	Tuotantolaitosten lukumäärä
Paperi	11,2	10,3	92	28
Kartonki	2,8	2,5	89	14
Massa	12,6	2,3	18	43
- markkinasellu	2,5	2,3	92	14
Sahatavara	13,5	8,4	62	170*
Vaneri	1,4	1,2	86	15
Lastulevy	0,4	0,2	50	3
Kuitulevy	0,1	0,06	60	2

* Teollisten sahojen määrä

Metsäteollisuuden ympärillä toimii Suomessa niin sanottu metsäklusteri, joka tarkoittaa

metsäteollisuutta tuotteineen. Metsäklusteria ympäröivät toimijat kuten metsätalouden harjoittajat, logistiikka- ja energiayritykset, pakkausteollisuus ym. Klusteriin kuuluvien toimijoiden hyvinvointi on näin toisistaan riippuvaa ja toisiaan hyödyntävää. Suomen suurimpana klusterina se on merkittävä osa teollisuuden tuotantoa, vientiä ja bruttokansantuotetta. Se työllistää kaiken kaikkiaan noin 200 000 henkeä, josta metsäteollisuuden osuus on noin 70 000 henkeä (Metsäteollisuus 2006).

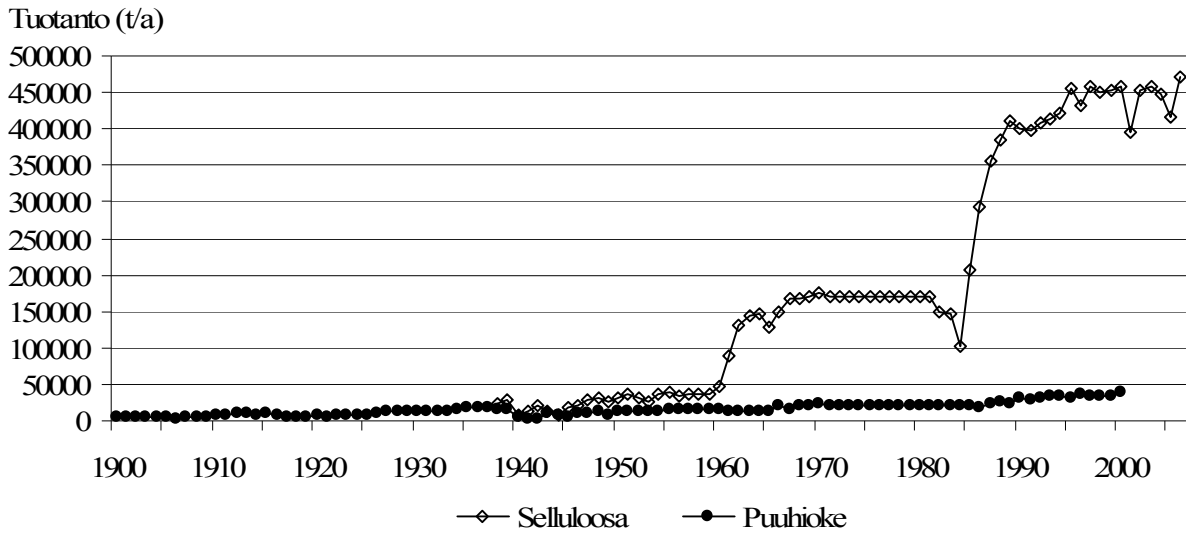
Metsäteollisuus käyttää pääasiassa kotimaista puuta, mutta myös keräyspaperista on tullut oleellinen raaka-aine ja sen osuus on vuosittain 750 000 t, mikä on noin 5 % metsäteollisuuden kuituraaka-aineen käytöstä. Kemiallisen sellun valmistuksessa vain noin puolet puusta saadaan hyödynnettyä, koska puuaineksesta suuri osa on ligniiniä ja uuteaineita. Ligniiniä voidaan kuitenkin käyttää hyödyksi energian tuotannossa ja sen poltto voi tuottaa sähköä myös sellutehtaan ulkopuoliseen verkkoon (Metsäteollisuus 2006).

1.2 Sellu- ja paperiteollisuus Äänekoskella

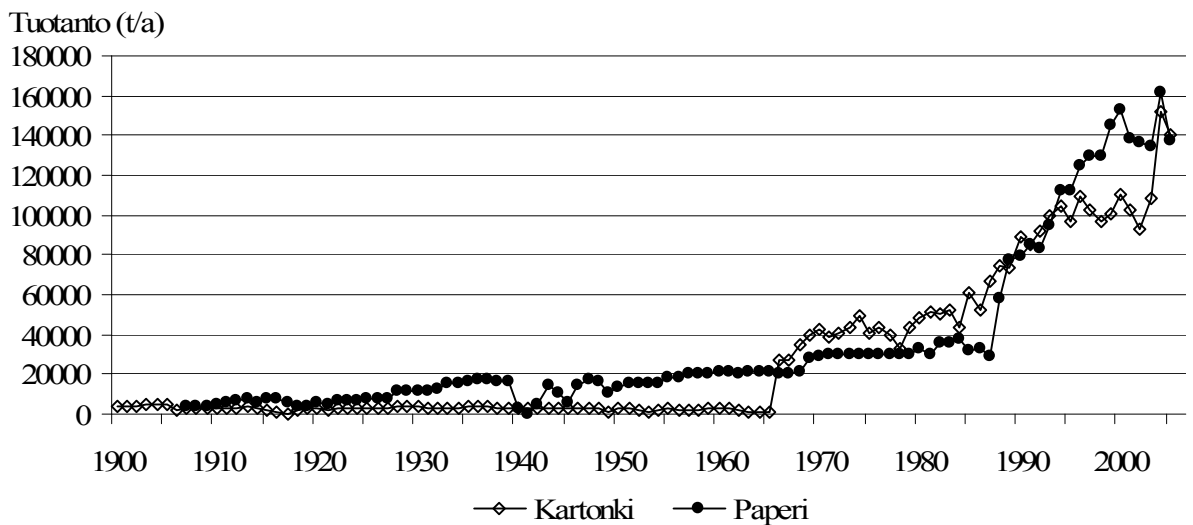
Äänekoskella sellun- ja paperintuotanto sai alkunsa vuonna 1896, jolloin perustettiin Äänekosken osakeyhtiö (Auer 1971; M-Real Äänekoski Paper 2004). Aluksi tuotettiin puuhiokkeesta kartonkia, mutta toiminta laajeni nopeasti myös mm. paperin (Kuva 1) ja sahatavaran valmistukseen (Auer 1971). Äänekosken tehtaiden historian käännekohtat ja tärkeimmät tapahtumat on listattu taulukkoon 2. Sellua Äänekoskella tuottaa nykyään Oy Metsä-Botnia Ab. M-Real Oyj:n tehtaita on kaksi, joista paperitehdas on erikoistunut hienopapereiden valmistukseen (Metsäteollisuus 2006) ja kartonkitehdas taivekartongin valmistukseen (Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2006b). Hienopaperia ovat päällystämättömät sellusta valmistetut painopaperit (toimisto- ja offsetpaperit) ja ne valmistetaan suureksi osaksi kemiallisesta massasta. Hienopapereihin kuuluvat myös päällystetyt sellusta valmistetut painopaperit (taidepainopaperit). Taivekartonki on lähinnä pakkausmateriaalina käytetty monikerroksinen kartonkilaatu (Metsäteollisuus 2006). M-Real on käyttänyt omavaraisesti kuusesta ja koivusta mekaanisesti valmistettua puuhioketta kemiallisen massan lisäksi. Vuonna 1985 lopetettiin puuhiokkeen käyttö paperitehtaalla ja vuonna 2000 hiomo suljettiin (Kovanen 2007). Kun Oy Metsä-Botnia Ab:n uusi sellutehdas aloitti toimintansa vuonna 1985, siirryttiin biologiseen jätevedenpuhdistukseen eli aktiivilieteprosessiin (M-Real Äänekoski paper 2004, 2007). Samaan aikaan lakkautettiin vanhat sellutehtaat (Kovanen 2007). Metsä-Botnian päätuote

on ECF-valkaistu havu- ja lehtipuusellulla (Metsä-Botnia 1999, 2000, 2001).

a)



b)

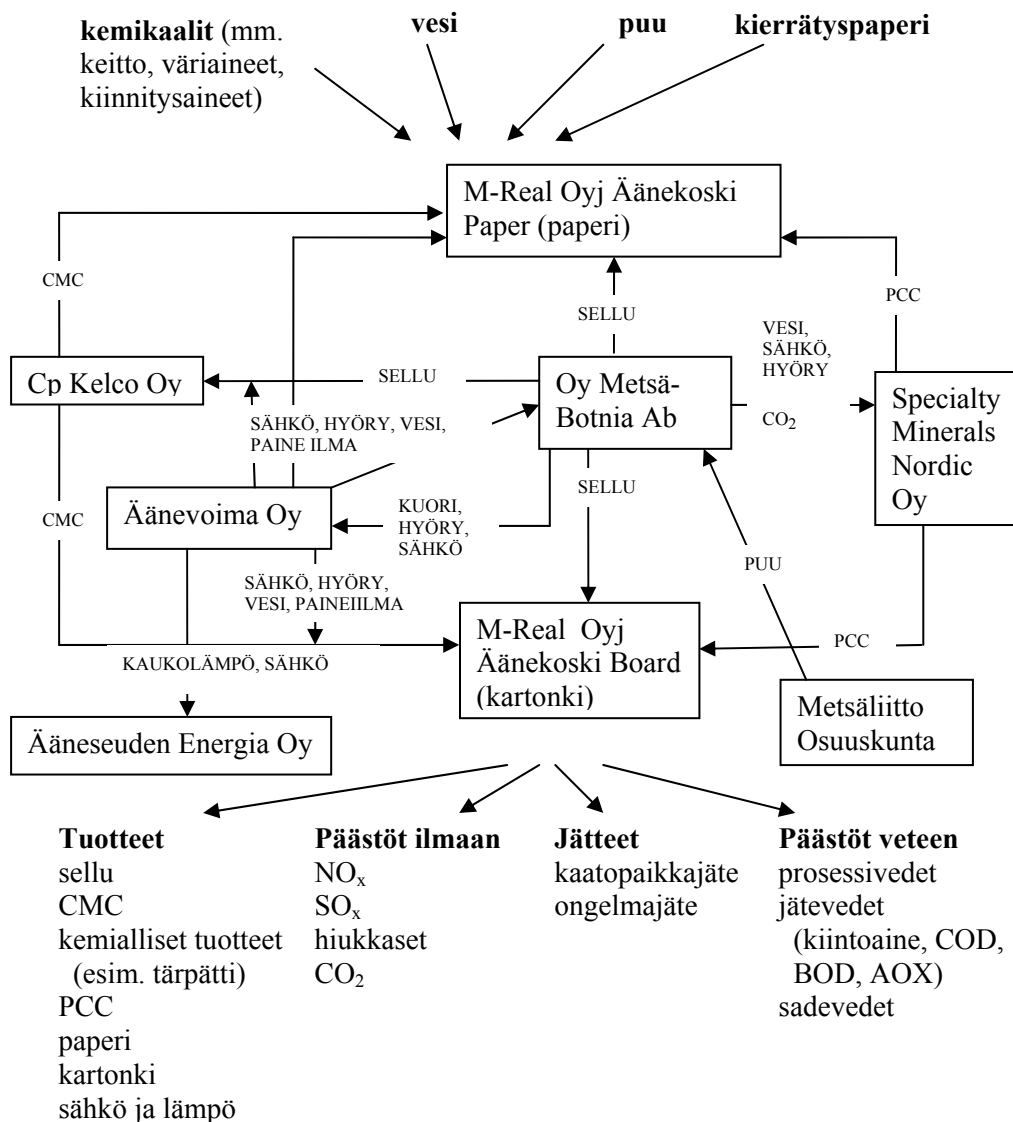


Kuva 1. a) Selluloosan ja puuhiokkeen tuotannot (t/a) Äänekosken tehtailla vuosina 1900–2006. b) Kartongin ja paperin tuotannot (t/a) Äänekosken tehtailla vuosina 1900–2005 (koottu Auer 1971; Granberg ym. 1987; Metsä-Botnia 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005; M-Real 2001, 2002, 2003, 2004, 2005; Kovanen 2007; Tupitsa 2008). Kovanen mukaan vuosien 1971–1984 sulfiitti- ja sulfaattisellun tuotantotietoja on jouduttu osittain arvioimaan.

Taulukko 2. Äänekosken tehtaiden historian tärkeimmät tapahtumat (koottu Auer 1971; Granberg ym. 1987; Metsä-Botnia 1998, 1999; M-Real Äänekoski paper 2004, 2007; Kovanen 2007).

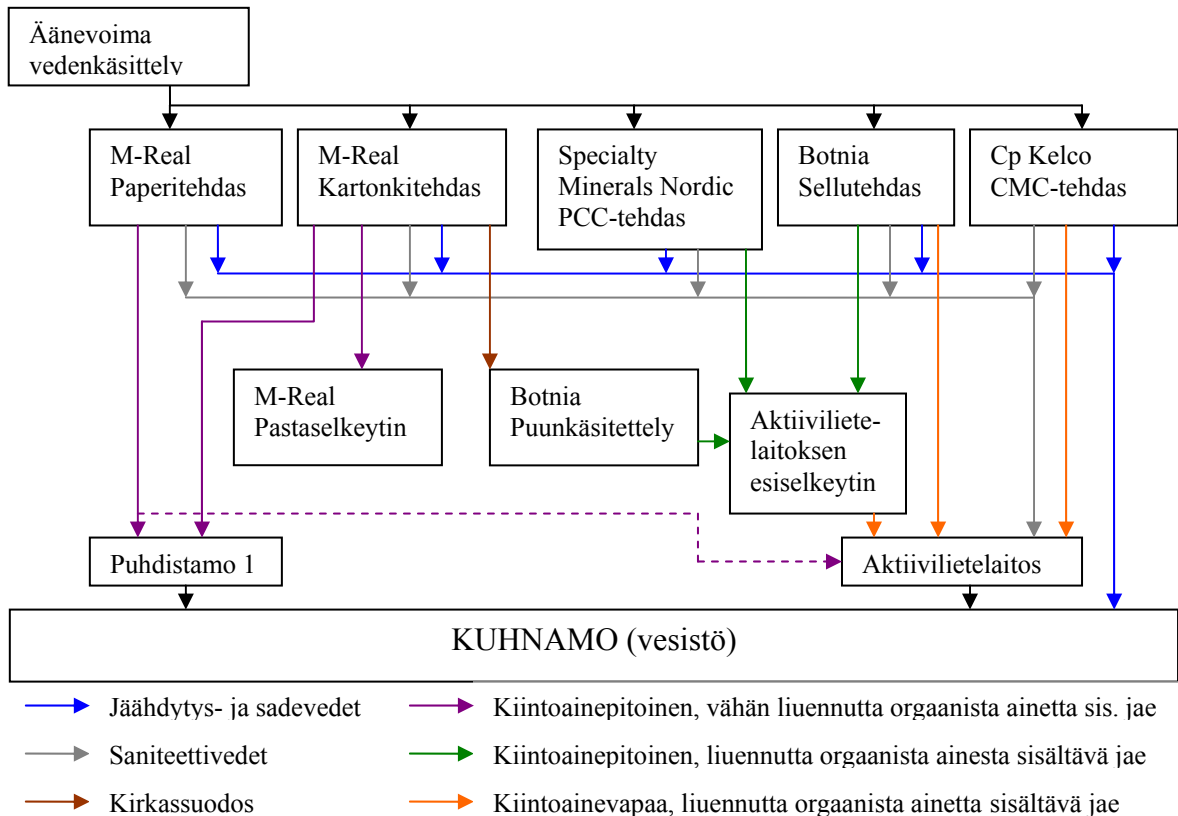
Vuosi	Tapahtuma
1896	Äänekoski Osakeyhtiö perustettiin.
1899	Ensimmäinen kartonkitehdas ja puuhiomo aloittivat toiminnan (pahvia, kartonkia ja hioketta).
1906	Käärepaperin tuotanto alkoi.
1917	Sanomalehtipaperin tuotanto aloitettiin (sota).
1937	Ensimmäinen sulfiittiselluloosatehdas aloitti toiminnan (tehdas rakennettiin kosken rannalle vastapäätä nykyistä tehdasta).
1941	Rehuselluloosan valmistus aloitettiin, mitä jatkettiin vuoteen 1943.
1942	Paperitehtaan tuotanto siirtyi ensisijaisesti painopaperin valmistukseen. Spriitehdas valmistui.
1944	Valmistui kemiallinen tehdas, joka valmisti etikkahappoa, CMC:tä ja pienessä mittakaavassa rikkaruohojen tuhoaineita, peltohormoneja ja erilaisia tuhoaineita.
1949	Sanomalehtipaperin valmistus aloitettiin uudelleen.
1955	Valmistui uusi höyrykattila–voimalaitos, joka mahdollisti sulfiittijäteliemen polton.
1956	Valmistui selluloosatehtaan valkaisulaitos, jäteliemen haihduttamo ja höyryvoimalaitos. Jäteliemeä alettiin polttaa uudessa laitoksessa, joten sitä ei enää laskettu sellaisenaan vesistöön.
1959	Sulfiittiselluloosatehtaan laajennus valmistui.
1961	Sulfaattiselluloosan valmistus aloitettiin, sanomalehtipaperin valmistus loppui.
1962	Sulfiittiselluloosaa valmistettiin 45 000 t ja sulfaattiselluloosaa 87 400 t.
1964	Lopetettiin väkiviinan tuotanto.
1966	Päällystettyjen painopapereiden valmistus alkoi ja uusi kartonkitehdas aloitti tuotannon (kääre- ja taivekartonki).
1968	Paperitehdas siirtyi pelkästään päällystetyn paperin tuotantoon. CMC-tehtaan laajennus. 1970-luvun alusta mekaaniset jätevedenpuhdistamot valmistuivat.
1971	Paperitehtaan laajennus valmistui. Vuosina 1971–1984 sulfiittisellua n. 50 000 t/a ja sulfaattisellua n. 120 000 t/a (70 -luku n. 45 000 t ja 80-luvun alku n. 20 000 t koivusulfiittisellua, loput kuusesta).
1984	Sulfiittiselluloosan tuotanto lopetettiin.
1985	Uusi sulfaattiselluloosatehdas aloitti toiminnan ja siirryttiin biologiseen aktiivilietejätevedenpuhdistukseen. Hiokkeen käyttö loppui paperitehtaalla.
1993	Paperitehtaan tuotanto keskittyi taidepainopaperin valmistukseen. Happivalkaisu käyttöön (osa sellusta ECF-valkaistua).
1999	Toinen puhdistamoista laajennettiin kemiallismekaaniseksi jätevedenpuhdistamoksi. Happivalkaisua täydennetään. Tehtailla ei vielä käytetä TCF-valkaistua.
2001	Hiomo lopetti toiminnan.

Äänekosken metsäteollisuusintegraatin alueella on tällä hetkellä M-Realin paperitehdas (Äänekoski Paper) ja kartonkitehdas (Äänekoski Board), Oy Metsä-Botnia Ab:n sellutehdas ja teollisuuskaatopaikka, Specialty Minerals Nordic Oy:n PCC-tehdas (saostettu kalsiumkarbonaatti), Äänevoima Oy:n voimalaitos ja CP Kelco Oy:n CMC-tehdas (Kuva 2; Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2006a, 2006b). CMC on selluloosan vesiliukoinen johdannainen, jota voidaan käyttää mm. detergenttinä tai jäätelön ja lääkeaineiden valmistuksessa (Sjöström 1993).



Kuva 2. Äänekosken teollisuusintegraatin yhteistyökaavio (muokattu M-Real Äänekoski paper 2007). Kaaviossa on lisäksi koottu aineiden sisääntulo- ja ulosmenovirrat integraatista (CMC eli karboksimeetyyliselluloosa, PCC = saostettu kalsiumkarbonaatti, COD = kemiallinen hapen kulutus, BOD = biologinen hapen kulutus, AOX = orgaaniset halogeeniyhdisteet).

Sellu- ja paperiteollisuuden jätevedenkäsittely Äänekoskella



Kuva 3. Äänekosken metsäteollisuusintegraatin jätevedenkäsittelykaavio (muokattu; Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2006a).

Kaksi jätevedenpuhdistamo on rakennettu 1970-luvulla ja ne olivat alun perin mekaanisia selkeyttimiä, joista ensimmäinen laajennettiin nykyisen M-Realin kemiallismekaaniseksi puhdistamoksi ja otettiin käyttöön ennen vuotta 2000 (Kovanen 2007). Toinen puhdistamoista taas muutettiin Oy Metsä-Botnia Ab:n aktiivilietelaitoksen esiselkeytysosaksi vuonna 1985. Integraatin kaikki jätevedet käsitellään alueen puhdistamoissa (Kuva 3). Tehdasalueella on jätevesien viemärointi jaettu niin, että kiintoainepitoiset vähän orgaanista ainetta sisältävät jätevedet johdetaan kemiallismekaaniselle puhdistamolle. Kiintoainepitoiset jätevedet, jotka sisältävät runsaasti liennuttua orgaanista ainetta, johdetaan esiselkeytysaltaiden kautta biologiselle puhdistamolle. Kiintoainevapaat ja liennuttua ainesta sisältävät jätevedet sekä saniteettivedet taas johdetaan suoraan aktiivilietelaitoksen biologiseen osaan. Jäähdytys- ja sadevedet johdetaan erillisiä putkia pitkin suoraan Kuhnmoon (ks. kuva 11 s. 38) (Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2006a). Paperi- ja kartonkitehtaan jätevedet käsitellään M-Real:n kemiallismekaanisella puhdistamolla, joka sijaitsee kartonkitehtaan yhteydessä. Jos

kemiallismekaanisella puhdistamolla tulee häiriö, voidaan myös paperitehtaan jätevedet johtaa Metsä-Botnian biologiselle puhdistamolle (M-Real Äänekoski paper 2004). Kaiken kaikkiaan puhdistamoilta tulee jätevesiä yhteensä n. 46 000 m³ päivässä. Jäähdytys ja tiivistevesiä johdetaan noin 140 000 m³ päivässä suoraan Kuhnamoon (Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2006a).

Äänekosken kaupungin ja Finnforest Oyj:n jätevedenkäsittely 2000-luvulla

Äänekosken kaupungilla on kaksi yhdyskuntajätevedenpuhdistamoa, jotka kuormittavat Kuhnamoa. Taajaman puhdistamo on biologis-kemiallinen. Se sijaitsee aivan Metsä-Botnian biologisen puhdistamon vieressä Teräväniemessä (ks. kuva 11 s. 38). Teräväniemen puhdistamolla käsitellään myös Äänekoskella sijaitsevan Valion meijerin jätevedet (Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2007). Lisäksi Kuhnamoon johdetaan Suolahden puhdistamon jätevedet purkupaikkanaan ensin Paarlampi, josta puhdistetut jätevedet virtaavat ojaa pitkin Kuhnamon Aatunselälle (Sihvonen 2007).

Suolahden puhdistamolla käsitellään myös Finnforest Oyj:n jätevedet. Finnforest valmistaa lastulevyä, koivu- (n. 70 000 m³/a) ja havuvaneria (n. 200 000 m³/a), muita puulevyjä sekä liimattuja ja laminoituja puutuotteita. Sivutuotteina syntyy erilaisia hakkeita, purua, seulontajaetta ja kuoriainesta. Tehdas sijaitsee aivan Suolahden taajamassa ja sen tukkien pakkasvarasto on Riihivuorella. Finnforest omistaa tehtaan edessä olevasta Keiteleeseen vesialueesta 16 ha ja poikkeustapauksissa enimmäkseen koivuja varastoidaan tehtaan vesialueella. Esimerkiksi vuonna 2003 varastoitiin noin 8000 m³ koivutukkeja ja noin 300 m³ havupuuta, kun taas vuonna 2004 puuta ei varastoitu vesialueella. Tehtaan suorat vesistönpäästöt koostuvat tukkien hautomoaltaiden tyhjennyksestä ja ylivuodosta, jotka johdetaan Keiteleeseen. Vaneritehtaan havupuiden hautomoaltaalla on arvioitu olevan ympäristövaikutuksia, sillä järvioltaaseen on johdettu sellaisenaan uuden hautomoaltaan ja havutukkien hautomoaltaan ylivuotovedet. Tukkien hautomoaltaat (koivualtaat) tyhjenetään aina kesäseisokkien aikana vesistöön, jolloin pumpattava vesimäärä on noin 10 000 m³. Vedet käsitellään hautomoaltaissa Kemwater PAX 18 saostuskemikaalilla kiintoainepitoisuuden vähentämiseksi. Kemikaali vähentää myös kokonaistypen ja -fosforin pitoisuuksia sekä kemiallista hapenkulutusta (COD) vedessä. Saostuskemikaali sekoitetaan veteen ja sen annetaan laskeutua, kunnes vesi kirkastuu. Tämän jälkeen hautomoaltaan vesi johdetaan Keiteleeseen. Uuden tietävästi vuonna 2006 käyttöön otetun

pumppausjärjestelmän ansiosta ylivuotojen määrän olisi pitänyt vähentyä noin neljäsosaan aikaisemmasta ja samalla myös ylivuotovesille tuli saostuskemikaalikäsittely pakolliseksi ennen vesistöön johtamista (Keski-Suomen ympäristökeskus 2006).

1.3 Tutkittavan vesistöalueen ominaispiirteet – Kuhnamo, Vatianjärvi ja Leppävesi

Jo 1950-luvulla huomattiin muutoksia Äänekosken alapuolisten vesistöjen tilassa. Sellu- ja paperiteollisuuden vaikutus vesistöihin oli havaittu myös muilla vesistöalueilla. Tuolloin kuormitus oli suurta ja johtui jäteliemen laskemisesta vesistöön sellaisenaan. Jäteliemessä oli noin puolet puuainesta, koska sitä ei vielä tuolloin hyödynnetty energian tuotannossa tehdasalueella (Auer 1971). Äänekoskella tehtaiden vaikutusta vesistöön on tarkkailtu säännöllisesti 1970-luvulta lähtien (Palomäki ym. 2006). Vesireitin tila kohentui kuitenkin vasta, kun Metsä-Botnian sulfaattisellutehdas ja biologinen jätevedenpuhdistamo rakennettiin vuonna 1985 (Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2006a). Uuden puhdistamon vaikutus näkyi välittömästi seuraavan vuoden seurannan tuloksissa pienentyneenä jätevesikuormituksena (Palomäki & Bibiceanu 1987). Vesistöalueen tila on nykyään kalastukseen ja virkistyskäyttöön soveltuvaa (Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2006a) ja siellä selviytyvät ja lisääntyvät myös vaateliat lajit kuten kuha (*Sander lucioperca*) ja taimen (*Salmo trutta*, Palomäki ym. 2006).

Tässä työssä tutkimusalueesta puhutaan Äänekosken reittinä ja se käsittää Äänekosken alapuoliset vesistöt Kuhnamosta Leppävedeen. Kuhnamo on kohtalaisen pieni ja matala järvi, jonka pinta-ala on 3,5 km², keskisyvyys 6 m ja maksimisyvyys noin 28 m. Sen vesitilavuus on 20,5 milj. m³ ja teoreettinen viipymä kolme vuorokautta. Se on siis jokimainen järvi, jossa on melko voimakas virtaus (Taulukko 3), eikä siinä esiinny kesällä yleensä kerrostuneisuutta. Talvella järvi on voimakkaasti kerrostunut. Viitasaaren suunnalta laskeva Keitele tuo Kuhnamoon kirkasta ja vähäravinteista vettä. Sen sijaan Saarijärven reitiltä Aittokoski tuo Naarajärveen ja edelleen Naarakosken kautta Kuhnamoon väriltään ruskeaa ja runsasravinteista vettä (Palomäki ym. 2006).

Vatianjärven yhdistää Kuhnamoon Kapeenkoski. Vatianjärven pinta-ala on 5,5 km², keskisyvyys noin 4 m ja maksimisyvyys noin 27 m. Sen vesitilavuus on 22,6 milj. m³ ja viipymä noin kolme vuorokautta. Vatianjärvestä vesi virtaa Kuusaankosken kautta Saraaveteen ja edelleen Leppävedeen. Pohjois-Leppävesi on kohtalaisen suuri järvi

verrattuna Kuhnamoon tai Vatianjärveen. Sen pinta-ala on 36 m², keskisyvyys noin 11 m ja maksimisyvyys noin 43 m. Tilavuudeltaan se on 386 milj. m³ ja sen teoreettinen viipymä on 32 vuorokautta (Palomäki ym. 2006).

Taulukko 3. Vuosien 2003 ja 2005 virtaamien (m³/s) vuodenaikaisvaihtelu Äänekosken reitillä. Saarijärven suunnalta Kuhnamoon laskee Naarakoski (tarkkailupiste Aittokoski on Saarijärven reitillä Naarakoskesta ylävirtaan) ja Viitasaaren suunnalta Häränvirta. Kuhnamon ja Vatianjärven yhdistää Kapeenkoski. Vatianjärvestä lähtevä Kuusaankoski laskee Saraaveteen, joka johtaa edelleen Leppäveteen (Palomäki ym. 2004, 2006).

	Aittokoski		Häränvirta		Yhteensä Kuhnamoon tuleva virtaama	
	2003	2005	2003	2005	2003	2005
talvi	13,2	32,1	19,7	55,5	32,9	87,6
kevät	41,9	40,9	24,2	59,5	66,1	100
kesä	39,0	25,8	58,4	48,4	97,4	74,2
syksy	21,1	25,1	30,6	31,5	51,7	56,6
vuosi ka	27,1	29,7	36,5	46,4	62,0	79,7

	Kapeenkoski		Kuusaankoski	
	2003	2005	2003	2005
talvi	33,5	89,4	34,3	91,5
kevät	67,5	102	69,1	105
kesä	99,3	75,7	102	77,6
syksy	52,8	57,7	54,0	59,1
vuosi ka	62,0	77,6	63,5	79,4

Tehtaiden vaikutus näkyy eniten Kuhnamossa ja Vatianjärvestä. Kuhnamon syvänteen (28 m) biologinen kunto luokitellaan edelleen huonoksi, mutta Vatianjärven syvänteen (27 m) kunto on hieman parantunut viime vuosina. Pohjaeläimistö on edelleen molemmissa järvissä yksipuolista ja suurin osa pohjaeläimistöstä koostuu sulkasääsken toukista (*Chaoborus*), mikä viittaa ajoittain huonoon happipitoisuuteen. Myös joitakin muita likaantuneelle ja rehevöityneelle vesistölle tyypillisiä pohjaeläinlajeja esiintyy molemmissa järvissä (Palomäki ym. 2006).

Happipitoisuudet Kuhnamosa pysyivät vuonna 2005 hyvinä (vuoden ka 9,2 mg/l). Myös Vatianjärven happipitoisuus oli hyvä (vuoden ka 9,0 mg/l), vaikka loppukesällä havaittiinkin lämpötilakerrostuneisuuden liittyvää happivajasta (n. 1 mg/l) alimmassa kerroksessa. Tehtaiden jätevesien vaikutus alapuolisissa vesistöissä näkyy myös kohonneina AOX-pitoisuuksina, jotka tosin ovat laskeneet tasaisesti vuosittain. Esimerkiksi vuonna 1994 Kapeenkosken tuleva veden AOX-pitoisuus oli 107 µg/l, mutta vuonna 2005 se oli laskenut tasolle 67 µg/l. Keiteleestä Kuhnamoson tuleva AOX-pitoisuus oli 17 µg/l vuonna 1994 ja 12 µg/l vuonna 2005. Tehtaiden kuormituksen väheneminen näkyy myös pienentyneinä fosfori- ja COD-pitoisuuksina. Saarijärven reitiltä tuleva vesi ilmeisesti lisää Kuhnamon ja Vatianjärven rehevyytensä, sillä niiden klorofyllipitoisuuksien on havaittu kasvaneen sitten 1970-luvun, vaikka tehtailta tuleva kuormitus on laskenut vastaavana aikana (Palomäki ym. 2006).

Tutkittavalla vesistöalueella on kaiken kaikkiaan monipuolinen kalalajisto. Esimerkiksi Vatianjärvestä on hyvä kuha-, hauki- (*Esox lucius*) ja lahnakanta (*Abramis brama*). Alueella tavataan myös siikaa (*Coregonus lavaretus*) ja muikkua (*Coregonus albula*). Alueen kosket: Kapeenkoski, Lujankoski (laskee Kapeenkosken ohella Kuhnamosa Vatianjärveen) ja Kuusaankoski ovat riittävän hyväkuntoisia, jotta lohikalat menestyvät. Niiden kalalajisto on muiden Keski-Suomen suurempien koskikalapaikkojen kaltainen. Taimen ilmeisesti lisääntyy alueen kaikissa koskissa ja parhaiten se menestyy Kuusaankoskessa. Lisäksi alueella esiintyy harjasta (*Thymallus thymallus*, Palomäki ym. 2006).

Herve ja Heinonen (1991) tutkivat Äänekosken vesistöalueella klooriyhdisteiden kertymistä järvisimpukoihin (*Anodonta piscinalis*) 1980-luvulla. Heidän mukaansa biologisen puhdistamon ja uuden sellutehtaan rakentamisen myötä etenkin biologisesti hajoavien orgaanisten aineiden pitoisuudet puhdistetuissa jätevesissä vähenivät 75–80 %. Samalla myös orgaanisten klooriyhdisteiden kuten kloorifenolien kertyminen laski noin kolmasosaan aikaisemmasta (Herve & Heinonen 1991).

Äänekosken vesireitillä on tutkittu vuonna 1986 valkaistujen jätevesien (BKME bleach kraft mill effluent) vaikutusta vesikirppuihin (*Daphnia magna*). Noin vuosi uuden tehtaan käyttöönoton jälkeen Kapeenkosken vesinäytteillä tehtiin akuutin toksisuuden testejä (24 h) laimennetuilla vesinäytteillä helmi-, maaliskuu-, elo- ja marraskuussa. Helmikuussa tehdyissä kokeissa ei ollut kuolleita, mutta kuolleisuus kasvoi syksyä kohti. Kuolleiden tai

liikkumattomien vesikirppujen määrä oli suurin (26 %) marraskuussa 95 % näytevedellä. Tutkimus osoitti, että Kapeenkosken vesi on ollut ilmeisesti ajoittain akuutisti tappavaa herkille vesieläimille (Palomäki & Bibiceanu 1987). Äänekosken tehtaiden jätevesillä on tehty toksisuuskokeita muikulla 1980-luvun alkupuolella eli ennen biologisen puhdistamon rakentamista. Tutkimuksessa selvitettiin jäteveden vaikutusta muikun elämäntietoon alttamalla emokaloja pitoisuuksilla, jotka esiintyivät tuolloin alapuolisissa vesistöissä. Altistettujen emokalojen mäti kerättiin ja hedelmöitettiin. Mädin koossa ja määrässä oli muutoksia. Poikaset myös kuoriutuivat keskimääräistä aikaisemmin. Lisäksi muikun todettiin olevan taimenta ja kirjolohta herkempi jätevedelle (Vuorinen & Vuorinen 1985).

Toksikologisten kokeiden lisäksi Äänekosken alapuolisista sedimenteistä (Vatianjärvestä ja Leppävedestä) on otettu vuosina 1997 ja 2003 näytteet, joista mitattiin hartsihappojen pitoisuuksia (Taulukko 4). Määritykset tehtiin pintasedimentistä (0-2 cm), josta mitattiin hieman korkeammat kokonaispitoisuudet hartsihappoja (Palomäki ym. 2004) verrattuna mm. Etelä-Saimaan sedimentin vertailupitoisuuksiin (mm. Lahdelma & Oikari 2006).

Taulukko 4. Vatianjärven ja Leppäveden pintasedimenttien hartsihappopitoisuudet (mg/kg k.a.) vuonna 1997 ja 2003 (Palomäki ym. 2004).

Yhdiste	Vatianjärvi		Leppävesi	
	1997	2003	1997	2003
Sandarakopimaarihappo	1,6	0,5	0,4	<0,2
Isopimaarihappo	4,4	2,3	2	1,1
Palustrinihappo	0,5	<0,5	<0,5	<0,5
Levopimaarihappo	46	24	5,2	2,6
Dehydroabietiinihappo	25	13	5,5	3,4
Abietiinihappo	6,2	3,9	2	2,1
Neoabietiinihappo	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
Klooridehydroabietiinihappo	<0,2	<0,4	<0,2	<0,4

1.4 Puuperäiset uuteaineet ja niiden ominaisuudet jätevesissä

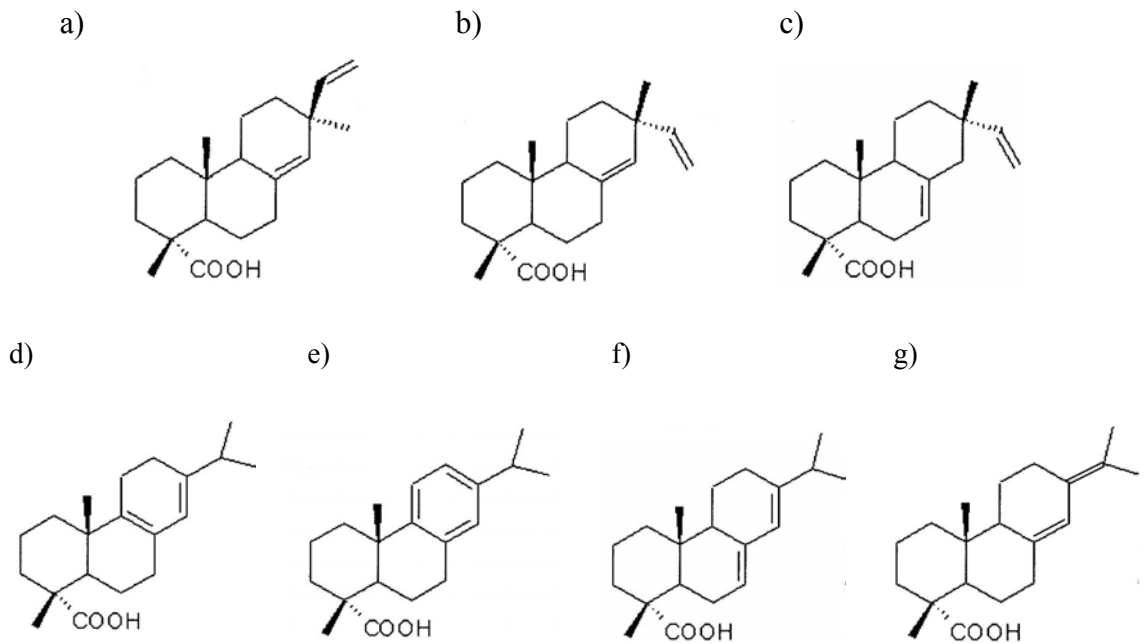
Tutkimuksia sellu- ja paperiteollisuuden valkaistuilla (BKME) ja valkaisuamattomilla (UKME) jätevesillä on tehty paljon (mm. Oikari & Kunnamo-Ojala 1987; McMaster ym.

1991; Soimasuo ym. 1995; Mellanen ym. 1999; Lindesjö ym. 2002). Näissä tutkimuksissa jätevesien on todettu mm. sisältävän estrogeenisia yhdisteitä (Mellanen ym. 1999) ja aineita, jotka lisäävät kalojen (*C. lavaretus*) kasvua ja vähentävät veriplasman immunoglobuliinien pitoisuutta (Soimasuo ym. 1995). McMaster ym. (1999) puolestaan havaitsi BKME:n vähentävän imukalan (*Catostomus commersonii*) kasvua. On mahdollista, että toksisuusvaikutukset ovat erilaisia eri kalalajeilla. McMaster ym. (1999) havaitsivat myös BKME:llä olevan vaikutusta sukukypsyysien myöhästymiseen, sekundaaristen sukupuoliominaisuuksien ilmenemiseen koiraskaloilla ja mm. testosteronin ja 17 β -estradiolin pitoisuuksien vähenemiseen plasmassa. Lindesjöön ym. (2002) mukaan UKME:llä voi olla pitkäkestoisia vaikutuksia, sillä jopa 70 päivää altistuksen lopettamisen jälkeen kirjolohella (*Oncorhynchus mykiss*) oli edelleen kohonneet glutationi-S-trasferaasin ja glutationireduktaasin aktiivisuudet sekä DNA-adduktien pitoisuudet.

Hartsihapot

Edellä mainitut sellu- ja paperiteollisuuden vaikutukset johtunevat suurelta osin puissa – männnyssä, koivussa ja kuusessa – luontaisesti esiintyvistä steroleista ja terpeeniyhdisteistä. Hartsihapot (Kuva 4) ovat diterpeeniyhdisteitä ja ovat vallitseva osa puun pihkassa. Terpeenit koostuvat hiilivetyketjuista, jotka rakentuvat isopreeniyksiköistä (C₅H₈). Terpeenijohdannaisilla eli terpenoideilla on funktionaalisia ryhmiä ja hartsihapoilla se on karboksyyli-ryhmä. Hartsihapot kuuluvat trisykliisiin terpenoideihin ja ne luokitellaan pimaraaneihin ja abietaaneihin. Pimaraaneista yleisin on pimaarihappo ja sen isomeerit sandarakopimaarihappo ja isopimaarihappo. Pimaraaneilla on C-13 asemassa metyyli- ja vinyylisivuketju. Vastaavasti abietaaneista yleisimmät ovat dehydroabietiini- (DHAA), levopimaari-, palustriini-, abietiini- ja neoabietiinihappo. Niillä on C-13 asemassa isopropyylisivuketju ja ne ovat pimaraaneja herkempiä hapettumiselle sekä isomerisaatiolle, sillä ne ovat konjugoituneita dieenejä. Hartsihapoilla on hydrofobinen runko ja vesiliukoinen karboksyyli-ryhmä. Hartsihapot liukenevat sellunkeittoprosessissa emäksiseen keittoliuokseen ja ionisoituneina ne liukenevat suurelta osin myös pesuveteen ja näin päätyvät puhdistamoon ja ympäristöön (Sjöström 1993). Sellun valmistuksessa käytettävät valkaisumenetelmät ovat oleellisia uuteaineiden esiintymiselle jätevesissä. Puhdistustehokkuuteen vaikuttavat lisäksi sellun valmistuksessa käytetty puulaji sekä puhdistusmenetelmät. Kun sellunvalmistuksessa käytetään alkuainekloorivapaata ja täysin klooritonta valkaisua, saadaan biologisilla jätevedenpuhdistusmenetelmillä hartsihapot

poistettua lähes kokonaan (yli 90 %, Strömberg ym. 1996). Silti sellu- ja paperiteollisuuden alapuolisten vesistöjen sedimenttien hartsihappopitoisuudet ovat korkeampia kuin puhtaiden vesistöjen sedimenttien pitoisuudet (Leppänen & Oikari 1999a, 2001; Lahdelma & Oikari 2005). Suurin havaittu hartsihappojen kokonaispitoisuus Suomessa on 3290 µg/g (k.a.) ja se on mitattu Etelä-Saimaan sedimentissä kilometrin päässä tehtaasta (Meriläinen & Oikari 2008a).



Kuva 4. Tutkittavien hartsihappojen rakennekaavat. a) pimaarihappo b) sandarakopimaarihappo c) isopimaarihappo d) palustriinihappo e) dehydroabietiinihappo f) abietiinihappo g) neoabietiinihappo (Sjöström 1993).

Hartsihappojen liukenemista veteen sedimenteistä on mitattu kokeellisesti valmistamalla elutriaatteja, jolloin hartsihappojen pitoisuus (2,3 mg/l) vedessä saavutti tasapainon kolmen päivän sekoituksella. Liuenneista hartsihappoista noin puolet koostui abietaaneihin kuuluvasta DHAA:sta (Meriläinen ym. 2006). Hartsihappojen kokonaisliukoisuus veteen (Taulukko 5) on koostumukseltaan samankaltainen kuin sedimenteistä tapahtuva liukeneminen – DHAA on lähes kaksi kertaa muita hartsihappoja vesiliukoisempi. DHAA:n liukoisuuden taustalla on ilmeisesti sen rakenteellinen ero muihin hartsihappoihin verrattuna: sillä on kolme kaksoissidosta, kun muilla hartsihappoilla on kaksi. Pimaraanien liukoisuus on myös kokonaisuudessaan heikompa kuin abietaanien, mikä ilmeisesti johtuu niiden erilaisista sivuketjuista (Peng & Roberts 2000).

Taulukko 5. Hartsihappojen liukoisuus veteen (mg/l) viiden mittauksen keskiarvona (Peng & Roberts 2000).

Hartsihappo	vesiliukoisuus (mg/l)
isopimaarihappo	1,70
sandarakopimaarihappo	1,82
pimaarihappo	2,17
palustriinihappo	2,41
neobietiinihappo	2,31
levopimaarihappo	2,54
abietiinihappo	2,75
dehydroabietiinihappo	5,11

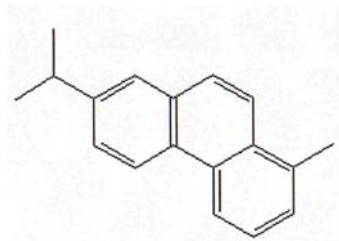
Hartsihapot ovat biosaatavassa muodossa sedimenteissä ja ne voivat akkumuloitua pohjaeläimiin (Meriläinen & Oikari 2008a) ja vedestä mm. kaloihin (Oikari & Kunnamo-Ojala 1987; Soimasuo ym. 1995; Karels & Oikari 2000; Meriläinen ym. 2007; Meriläinen & Oikari 2008b). Suuri osa elimistön hartsihapoista voi olla metaboliitteina, esimerkiksi taimenen (*S. trutta*) sapessa yli 90 % on konjugoituneina (Oikari & Kunnamo-Ojala 1987).

Hartsihapot voivat olla toksisia vesieläimille jo pitoisuudella 20 µg/l (Oikari ym. 1983; Peng & Roberts 2000). Esimerkiksi isopimaarihapon ja DHAA:n maksatoksisuus aiheuttaa kirjolohilla (*O. mykiss*) häiriöitä kalsiumtasapainossa (Råbergh ym. 1999). Hartsihapoilla (DHAA 50 µg/l) on havaittu myös lisääntymistoksisia vaikutuksia esim. seeprakalalla (*Danio rerio*) (Christianson-Heiska ym. 2007a). Pimaraanityypin hartsihapoista vähiten liukoinen isopimaarihappo on ilmeisesti toksisin (Peng & Roberts 2000). Vastaavasti abietaaneista DHAA, jonka log K_{ow} on 1,74 (Råbergh ym. 1999), on vähiten toksinen ja vesiliukoisuudeltaan suurin. Pimaraanien onkin todettu olevan abietaanityypin hartsihappoja toksisempia, mikä johtuu niiden rakenteellisista ominaisuuksista (Peng & Roberts 2000).

Reteeni

Hartsihapoista, lähinnä DHAA:sta, syntyy reteeniä (7-isopropyyli-1-metyylifenantreeni, Kuva 5) anaerobisissa olosuhteissa mikrobien muuntumistoiminnan tuloksena (Tavendale ym. 1997). DHAA:n on todettu muuntuvan reteeniksi seuraavasti: DHAA →

dehydroabietiini (DHA) → tetrahydroreteeni (THR) → Reteeni (Tavendale ym. 1997; Leppänen & Oikari 1999a). Reteeni on polyaromaattinen hiilivety (PAH) ja voimakkaasti hydrofobinen yhdiste, jonka log K_{ow} -arvo on 6,4 (Basu ym. 2001). PAH-yhdisteet voivat olla hyvin rasvaliukoisia ja ne saattavat metaboloitua hitaasti, jolloin ne myös kertyvät elimistöön (Blais & Muir 2004). On kuitenkin havaittu, että 48 tunnin reteenialtistuksen jälkeen, sen puoliintumisaika kirjolohella oli noin 14 tuntia 14,6 °C:n lämpötilassa (Fragoso ym. 1999). Koska reteeni näyttää metaboloituvan kaloilla nopeasti, Fragoso ym. (1998) arvioivat sen toksisuuden olevan sidoksissa jatkuvaan altistukseen. Hodson ym. (2007) olettivat, että reteenin toksisuus perustuisikin sen polaarisiin metaboliatuotteisiin, joita kuitenkin ei ole vielä pystytty eristämään eikä tunnistamaan. Lisäksi α -naftoflavonilla (ANF) on havaittu olevan antagonistinen vaikutus reteenin metaboliatuotteiden syntyyn eli se estää reteenin aiheuttaman toksisuusvaikutuksen (Hodson ym. 2007).



Kuva 5. Reteenin eli 7-isopropyyli-1-metyylifenantreenin rakennekaava (Hawkins ym. 2002).

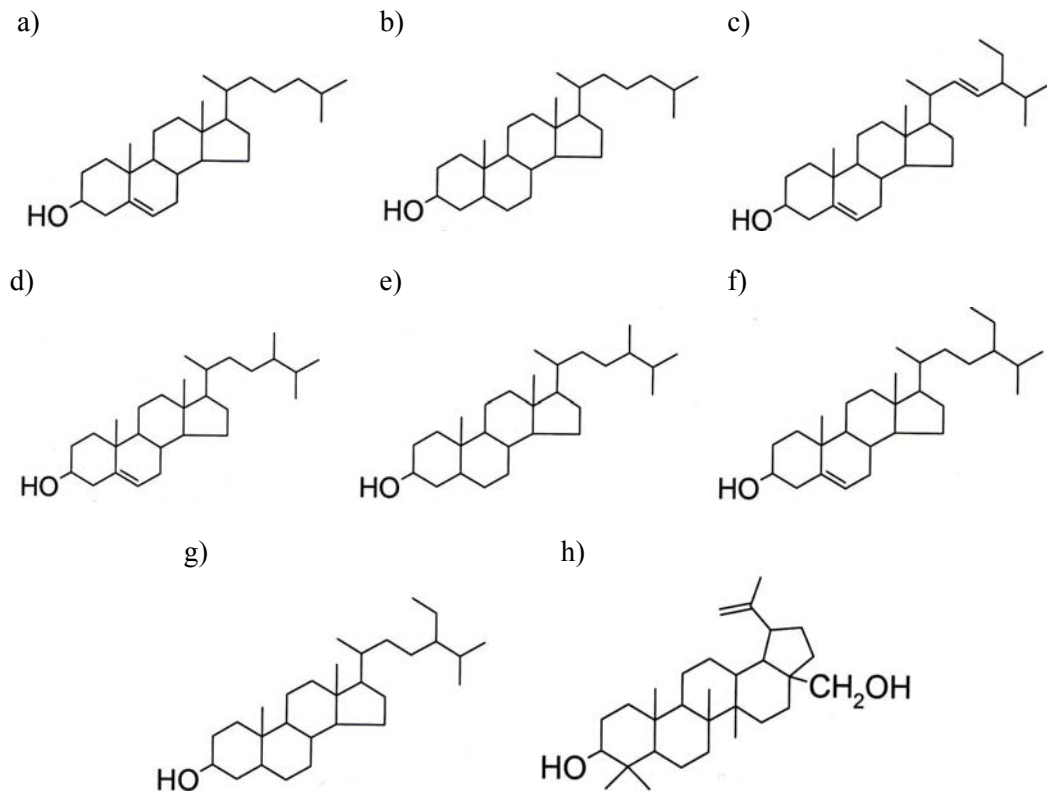
Reteeniä on havaittu suuria pitoisuuksia sellu- ja paperiteollisuuden alapuolisten vesistöjen sedimenteissä (Leppänen & Oikari 1999a, 2001; Lahdelma & Oikari 2005). Suurin havaittu reteenipitoisuus on tietävästi 3300 $\mu\text{g/g}$ (k.a.). Se on mitattu Lievestuoreenjärven sedimentistä, 7–11 cm:n syvyydestä, 1,5 km:n etäisyydellä tehtaasta, joka suljettiin noin 20 vuotta sitten (Leppänen & Oikari 2001). Alkyyli-PAH yhdisteet liukenevan huonosti veteen (Blais & Muir 2004). Reteenin siirtymistä sedimentistä veteen on tutkittu kokeellisesti sekoittamalla sedimentin (500 $\mu\text{g/g}$) veden seosta 23 vuorokautta. Reteenin pitoisuus kasvoi sekoitusajan mukaan ja oli 13 $\mu\text{g/l}$, kun sekoitus lopetettiin (Meriläinen ym. 2006). Reteenin hydrofobisuuden vuoksi orgaaninen hiili sitoo sitä tehokkaasti sedimenteissä (Batley ym. 2005). Kaiken kaikkiaan sedimenttien hydrofobisten yhdisteiden yhteys orgaanisen hiilen pitoisuuksiin on selkeä ja hiilen pitoisuudet antavat myös viitteitä haitta-aineiden kertymismahdollisuuksista (Leppänen & Oikari 1999a, 2001) ja niiden biologisesta saatavuudesta, sillä hydrofobisten yhdisteiden biosaatavuus

sedimenteistä vähenee, kun orgaanisen hiilen määrä kasvaa (Park & Erstfeld 1999).

Reteenin on todettu siirtyvän kaloihin sellu- ja paperiteollisuuden alapuolisen vesistöjen sedimenteistä (Leppänen & Oikari 1999a; Oikari ym. 2002). Se voi olla toksinen vesieläimille jo pitoisuudella 10–32 µg/l. Reteenin on todettu aiheuttavan dioksiinien kaltaisia oireita alkiopoikasilla (kuoriutunut kalan alkio, joka elää ruskuaisen ravinnon varassa) kuten ruskuaispussin turpoamista eli ödeemaa, ihonalaista verenvuotoa ruskuaispussissa, kallon epämuodostumia ja kiduksien rappioitumista, jotka ovat ruskuaispussitautin (blue sac disease) oireita (Brinkworth ym. 2003; Billiard ym. 2004; Bauder ym. 2005; Hodson ym. 2007). Esimerkiksi Billiard ym. (1999) altistivat seeprakalan ja kirjolohen alkioita ja alkiopoikasia reteenille tutkien ruskuaispussitautia. Eniten reteenin aiheuttamaa kuolleisuutta kirjolohen alkiopoikasilla ilmeni kuoriutumisen jälkeen. Ruskuaispussitauti kalanpoikasissa liittyy myös solu- ja molekyylytason vasteisiin, joita ovat mm. CYP1A aktiivisuuden induktio (Brinkworth ym. 2003; Vehniäinen ym. 2003; Bauder ym. 2005).

Puusterolit ja betulinoli

Puusterolit (Kuva 6) ovat runkorakenteeltaan selkärankaisten steroidihormonien kaltaisia. Ne ovat lipofiilisiä yhdisteitä, joita esiintyy kuusessa (*Picea abies*), männyssä (*Pinus sylvestris*) ja koivussa (*Betula ssp.*). Yleisimpiä steroleja ovat β-sitosteroli, kampesteroli ja stigmastanoli, joista yleisin on β-sitosteroli. Stigmastanoli on tyydyttynyt muoto β-sitosterolista (ei kaksoissidosta). Betulinoli on pentasyklinen triterpeenialkoholi, jota esiintyy vapaana koivun kuoressa. Koska sterolit eivät ole vesiliukoisia yhdisteitä, ne voivat aiheuttaa ongelmia sellun ja paperin valmistuksessa (Sjöström 1993). Sterolien poisto jätevesistä ei ole aivan yhtä tehokasta kuin hartsihappojen ja niiden poistotehokkuus voi vaihdella käytettävästä menetelmästä riippuen. Parhaiten sterolit saadaan poistettua aktiivilietemenetelmää käyttäen (Strömberg 1996). Luonnollisesti myös tuotannon määrä vaikuttaa suoraan jätevesien määrään ja siten haitta-aineiden määrään jätevesissä. Toisaalta, jos β-sitosteroli saadaan talteen, voidaan sitä hyödyntää raaka-aineena kemianteollisuudessa (Sjöström 1993). Sterolien muuntumista voi tapahtua hitaasti hapellisissa oloissa sedimentin ja veden rajapinnassa (Sun & Wakeham 1998) ja niiden hajoamista hormonaalisten steroidien kaltaisiksi on mahdollista mikrobien toimesta (Marscheck ym. 1972).



Kuva 6. Sterolien ja betulinolin rakennekaavoja. a) kolesteroli b) kolestanoli c) stigmasteroli d) kampesteroli e) kampestanoli f) β -sitosteroli g) stigmasteranoli h) betulinoli (Sjöström 1993).

Taulukko 6. Hartsihappojen ja puusterolien pitoisuudet (mg/g k.a.) ja jakaantuminen (% k.a.) koivussa (*Betula ssp.*), kuusessa (*Picea abies*) ja männyssä (*Pinus sylvestris*) (Vikström ym. 2005).

	Koivu	Kuusi	Mänty		Koivu	Kuusi	Mänty
	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)		(%)	(%)	(%)
Sterolit yht.	12,2	1	1	sitosteroli	37	52	77
Hartsihapot yht.	-	1,5	4,6	sitostanoli	10	13	13
				kampesteroli	1	19	5
				kampestanoli	-	2	1

Lahdelma ja Oikari (2006) havaitsivat suurimmaksi kokonaispuusterolipitoisuudeksi 1970 $\mu\text{g/g}$ (k.a.) Päijänteen Lehtiselän sedimentissä 12–15 cm:n syvyydessä 7 km:n etäisyydellä Jämsän joen suulta. Taulukossa 6. on esitelty sellun valmistuksessa käytettävien puulajien lipofiilisiä uuteaineita ja niiden jakaantumista eri puulajeissa. β -sitosteroli on kaikissa puulajeissa yleisin steroli (Vikström ym. 2005).

β -sitosteroli ja muut selluteollisuuden jätevesissä olevat puusterolit voivat aiheuttaa hormonitoiminnan häiriöitä kaloilla (Mellanen ym. 1996; Lehtinen ym. 1999; Leusch & MacLatchy 2003). Valkaistut jätevedet ja β -sitosteroli saattavat inhiboida hormoniaineenvaihdunnan entsyymien toimintaa sukupuolihormonien biosynteesissä (McMaster ym. 1996). Esimerkiksi β -sitosteroli ilmeisesti metaboloituu hormonaalisesti aktiiviseksi (Mellanen ym. 1996). Sterolit voivat myös hapettua mm. klooridioksidin kanssa reagoidessaan. Hapetustuotteita on havaittu sellu- ja paperiteollisuuden jätevesistä (van den Heuvel ym. 2006) ja ne saattavat vaikuttaa kalojen lisääntymiseen (Christianson-Heiska ym. 2007b), vaikka van den Heuvel ym. (2006) eivät havainneet niiden aiheuttavan androgeenisien tai estrogeenisien ominaisuuksien muutoksia moskiittokalalla.

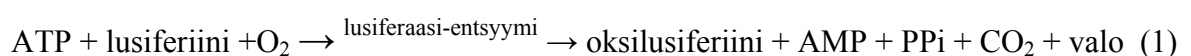
Betulinolillakin näyttäisi olevan vaikutuksia hormonitoimintaan (Mellanen 1996; Christianson-Heiska ym. 2004). Betulinolin vaikutuksia on tutkittu seeprakalalla, joita altistettiin pitoisuudessa 5 $\mu\text{g/l}$. Sen havaittiin vaikuttavan mm. spermatogeneesiin, vitallogeenipitoisuuksiin ja mätimunien tuotantoon (Christianson-Heiska ym. 2004; 2007a).

Koska sellu- ja paperiteollisuuden sedimentit tunnetusti sisältävät suuriakin pitoisuuksia hartsihappoja, reteeniä ja puusteroleja (mm. Leppänen & Oikari 1999a; Lahdelma & Oikari 2006) oli hyvin perusteltua olettaa myös Äänekosken reitin sedimenttien sisältävän normaaleja taustapitoisuuksia enemmän näitä yhdisteitä sen historian huomioon ottaen (Taulukko 2).

1.5 Testieliöt

Vibrio fisheri

V. fisheri on bakteeri, jonka valontuotto perustuu lusiferiinin kemiallisiin reaktioihin. Lusiferiini käyttää entsyymaattisessa reaktiossa happea ja energian lähteenä ATP:tä (adenosiinitrifosfaatti) emittoiden valoa ja hapettuen itse (Yhtälö 1; PPi = pyrofosfaatti; Nelson & Cox 2005). Tätä valon tuottoa eli bioluminosenssiä mitataan luminometrillä.



V. fisheriä on käytetty paljon jätevesien, sedimenttien vesiuutteiden ja huokosveden toksisuuden tutkimisessa (mm. Kostamo & Kukkonen 2003; Lahdelma & Oikari 2006) ja

se on herkkä reagoimaan mm. PAH-yhdisteisiin jo hyvin alhaisillakin pitoisuuksilla (Hyötyläinen & Oikari 1999; van den Brink & Kater 2006). Menetelmänä se soveltuukin hyvin suuntaa antavan toksisuuden esiintymisestä. Lisäksi se on nopea ja melko edullinen menetelmä.

Siika (*Coregonus lavaretus*)

Siika esiintyy koko maassa ja on merkittävä kalastuskohde. Se esiintyy viileissä ja runsashappisissa järvissä ja joissa (Raitaniemi 1998; Lehtonen 2003), lisäksi sitä tavataan rannikolla. Geneettiset tutkimukset ovat osoittaneet, että kaikki Suomessa tavattavat siikat kuuluvat samaan lajiin (Lehtonen 2003). Siikavesistössä on yleensä hiekka-, sora- tai moreenipohja (Raitaniemi 1998; Lehtonen 2003). Siika kutee yleensä 0,5–5 m syvyyteen ja yleisin kutukuukausi on lokakuu, mutta se vaihtelee alalajin ja lämpötilojen mukaan. Mätimunat siika laskee puhtaalle sorapohjalle ja poikaset kuoriutuvat jäiden lähdon aikaan (Raitaniemi 1998; Lehtonen 2003). Siian poikanen on kuoriuduttuaan 10–13 mm pitkä. Ruskuaisen ravinto riittää noin kymmeneksi vuorokaudeksi (Lehtonen 2003), jonka jälkeen poikanen alkaa omatoimisesti hankkia eläinplanktonia ravinnoksi (Raitaniemi 1998; Lehtonen 2003). Poikaset elävät parvissa lähellä rantaa, kunnes ovat 4–5 cm:n mittaisia (Lehtonen 2003).

1.6 Sedimenttien kemialliset ominaisuudet ja haitta-aineiden biosaatavuus

Sedimentit toimivat hydrofobisten pysyvien orgaanisten yhdisteiden (POP) nieluna (Blais & Muir 2004). Ihmiset ovat muuttaneet suuresti ja jopa luoneet akvaattisia ympäristöjä, jotka ovat sedimentoitumisen ja niiden mukana kulkeutuvien vierasaineiden laskeutumisalueita. Merenkulkureitit ja järvien väylät ovat suuresti muokattuja rakentamisen, jatkuvan laivaliikenteen ja ruoppausten vuoksi. Vesistöympäristöt ovat muuttuneita myös jätevedenpuhdistamojen alapuolisilla alueilla, joihin jopa 90 % vedestä voi tulla puhdistamolta (Chapman ym. 2005a).

Sedimentoituminen ja sedimenttien kemiallinen koostumus

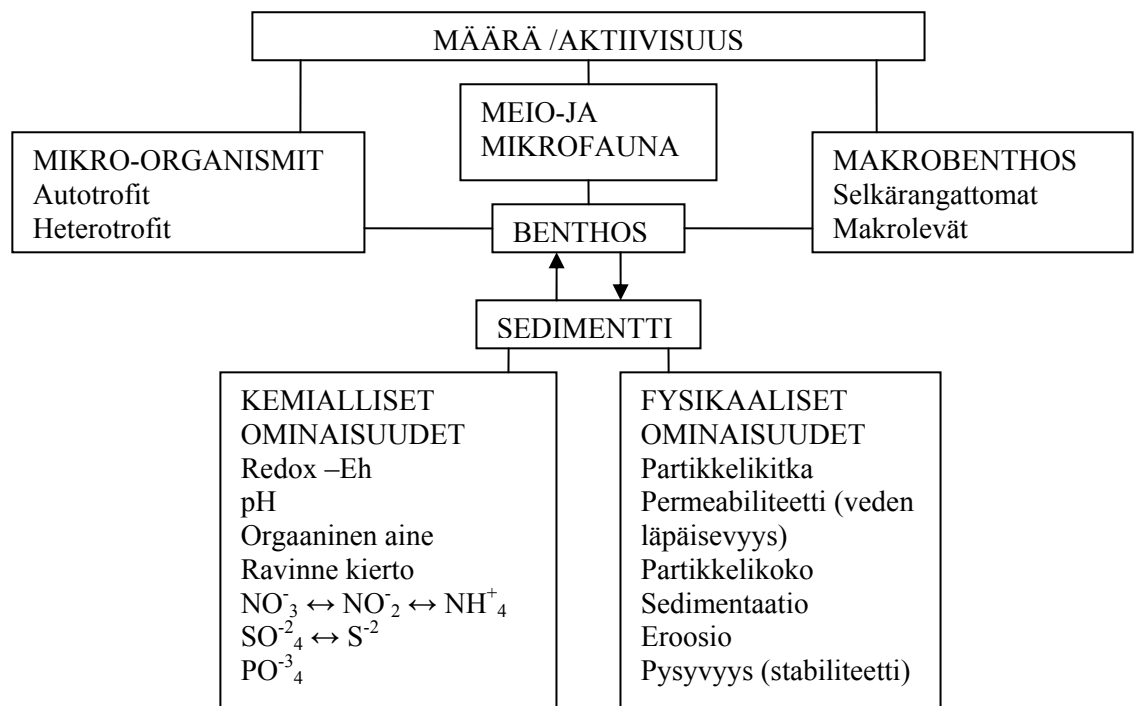
Järvet ovat pääosin matalaenergisiä, hitaasti virtaavia ja niissä on suhteellisen stabiili fysikaalinen ja kemiallinen ympäristö (Rust 1982; Chapman ym. 2005a). Järvissä partikkelien depositio keskittyy lähelle niihin laskevia jokia (Rust 1982) tai lähemmäksi

päästölähdettä kuin voimakkaammin virtaavissa vesistöissä, joissa päästölähteiden vaikutus näkyy pidemmällä. Hitaasti virtaavat joet ovat ympäristöjä, joissa myrskyt ja tulvat voivat suuresti vaikuttaa sedimenttien liikkeisiin vedessä (Chapman ym. 2005a). Saman järven eri alueiden sedimentit voivat erota paljon laadultaan muutenkin kuin ulkoisen päästölähteen vaikutuksesta. Tyypillisesti rantaa lähellä olevat sedimentit heijastavat erilailla ympäristöään kuin järven syvien osien sedimentit. Tämä ilmenee lähinnä eläin- ja pohjakasvilajimäärien vähenemisenä ja erilaisena koostumuksena syvemmälle mentäessä (Håkanson & Janson 1983).

Ominaisuudet, jotka vaikuttavat sedimentoitumiseen, ovat virtausnopeus, vedenpinnan kaltevuuskulma, lämpötila ja veteen liuenneiden aineiden kokonaiskonsentraatio. Tekijät, jotka vaikuttavat itse sedimentoitumisnopeuteen ovat partikkelin koko, kemiallinen koostumus, tiheys ja muoto (Håkanson 1982; Rust 1982). Myös veden ja orgaanisen aineen määrä sedimenteissä, pohjaeläimistön runsaus ja koostumus, veden kerrostuneisuus sekä tuulen suunta ja kesto vaikuttavat sedimentoitumiseen (Håkanson 1982). Partikkelit liikkuvat sedimenttipinnan myötäisesti virtausten, laskeutumisen ja diffuusion yhteisvaikutuksen kautta (Lick 1982). Sedimenttipartikkelit kulkeutuvat veden virtausten mukana kunnes ne laskeutuvat pohjaan, josta ne voivat siirtyä uudelleen vesifaasiin ja kulkeutua jälleen virtausten mukana. Lopulta partikkelit ja niihin sitoutuneet haitta-aineet hautautuvat sedimentin syvempiin kerroksiin (Lick 1987).

Tekijät, kuten veden kerrostuneisuus ja pelkistävät olosuhteet, voivat aiheuttaa vierasaineiden uudelleen liikkeellelähden sedimenteistä (Chapman ym. 2005a). Virtaukset ja aaltojen liike aiheuttavat turbulenssia, joka liikuttaa sedimenttiä sekä horisontaalisesti että vertikaalisesti aiheuttaen partikkelien välille kitkaa sedimentti-vesi yhdyskohdassa, jossa tapahtuu suurin osa sedimenttien uudelleen liikkeelle lähdistä (Lick 1997). Vertikaalista kulkeutumista voi tapahtua myös, kun jokin tapahtuma, kuten tulva, saa aikaan voimakkaan liikkeen (Lick 1982; Westrich & Förster 2005). Tulva voi aiheuttaa jopa kymmenien senttimetrien eroosion pohjan sedimenteistä (Haag ym. 2001). Partikkelit voivat sedimentistä irrotessaan muuttaa muotoaan jakaantumalla pienemmiksi partikkeleiksi tai kiinnittymällä yhteen muodostaen suuria partikkeleita (Lick 1987). Etenkin hienojakoisilla partikkeleilla on taipumus kiinnittyä toisiinsa. Kiinnittymiseen vaikuttaa partikkelin ominaisuudet, lähinnä sen kemiallinen koostumus ja koko. Myös veden ominaisuuksilla on merkitystä, kuten ionien laadulla ja määrällä (Lick 1982).

Partikkelien kiinnittyminen toisiinsa edelleen vaikuttaa niiden kulkeutumiseen, laskeutumisnopeuteen ja kykyyn sitoa orgaanisia yhdisteitä itseensä (Lick 1997). Kokonaisuutena sedimenttien ominaisuudet vaikuttavat sedimenttien liikkeisiin ja sedimentoitumiseen yhdessä vesistön ominaispiirteiden kanssa, jolloin niiden liikkeet ovat tapauskohtaisia ja ennustettavuus vaikeutuu.



Kuva 7. Sedimentti ja pohjaeliöstö integroituna ja dynaamisesti toimivana systeiminä (Forbes & Forbes 1994 mukaan).

Pohjaeliöstön toiminta (Kuva 7) voi myös vaikuttaa sedimentin liikkeisiin sekä fysikaalisiin ja kemiallisiin ominaisuuksiin (Håkanson & Janson 1983; Forbes & Kure 1997). Toisaalta bakteerit ja pohjaeläimet erittävät limaa, jolla on taipumus sitoa sedimenttiä (Lick 1987; Batley ym. 2005). Useimmat makeanveden makroselkärangattomat, kuten hyönteisten toukat ja nilviäiset, kaivautuvat noin 10 cm:n syvyyteen (Batley ym. 2005), mutta esimerkiksi harvasukamadot voivat kaivautua jopa 25 cm:iin ja jotkut lajit selviytyvät pieniä aikoja anoksisissa olosuhteissa (Håkanson & Janson 1983). Kaivautuminen saa aikaan sedimenttien liikkumista eli bioturbaatiota (Lick 1987; Forbes & Kure 1997; Batley ym. 2005). Pohjaeläimet käyttävät sedimenttiin kaivautumista ns. suojaimekanismina, sillä se saa happipitoisemman veden virtaamaan ja korvaamaan vähähappista huokosvettä, jolloin hengityksen vaatima hapentarve tulee tyydytetyksi ja mm. myrkyllisten hapettomissa oloissa esiintyvien sulfidien vaikutus deaktivoituu. On

havaittu, että pohjaeläimistön kaivautuminen sedimenttiin muuttaa mikroympäristön kemiaa suuresti verrattuna hapettomiin sedimentteihin ja huokosvesiin. Sedimenttien geokemia onkin muutaman millimetrin etäisyydellä kaivaumasta erilainen kuin koko sedimentin (Batley ym. 2005).

Håkansonin ja Jansonin (1983) mukaan merkittävä sedimentteihin vaikuttava tekijä on myös metanogeneesi. Metaania syntyy metaanibakteerien käyttäessä vetykaasua energian lähteenä. Kun metaania syntyy sedimentissä anaerobisissa oloissa, kaasu kohoaa sedimentistä veteen aiheuttaen turbulenssia.

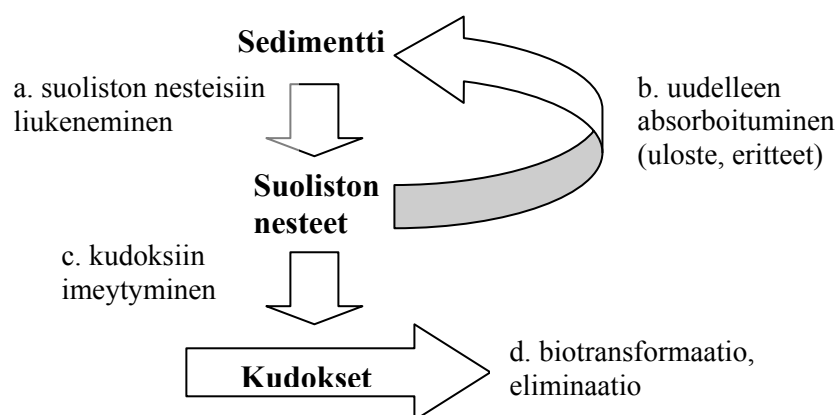
Sedimentit siis ovat heterogeenisiä ja koostuvat kemiallisesti ja fysikaalisesti erilaisista partikkeleista (Lick 1982; Batley ym. 2005) muodostaen niiden seoksia. Sedimenttipartikkelien pinta-ala ja kemiallinen koostumus vaihtelevat, ja tästä riippuu kuinka paljon orgaanisilla vierasaineilla (ja metalleilla) on sitoutumiskohtia ja minkä luonteisia ne ovat (Batley ym. 2005). Hienojakoisilla pienillä partikkeleilla on suhteessa suuri pinta-ala ja siten suurempi adsorptiokapasiteetti (Lick 1982, 1987; Batley ym. 2005) ja täten suurin haitta-ainepitoisuus kuiva-aineessa. Tästä johtuen pienen partikkelikoon sedimentti saattaa olla haitallisempi elinympäristö vaikuttaen näin voimakkaammin eliöyhteisön rakenteeseen.

Mitä enemmän orgaanista ainetta sedimentissä on, sitä suurempi kyky sillä on sitoa yhdisteitä (Batley ym. 2005). Orgaaninen hiili voi olla joko pyro- tai biogeenistä. Biogeenistä alkuperää oleva hiili (mm. humushapoista) sitoo orgaanisia yhdisteitä, mutta pyrogeeninen hiili, erityisesti noki, sitoo vielä tehokkaammin, jopa moninkertaisesti verrattuna biogeeniseen hiileen (Word ym. 2005). Toisaalta biogeeninen orgaaninen hiili vaikuttaa happipitoisuuteen veden ja sedimentin rajapinnassa, sillä se kuluttaa happea hajotessaan. Hienojakoisessa sedimentissä happipitoinen alue voi vaihdella ollen järvessä vain muutamia millimetrejä ja jokimaisessa sedimentissä muutamia senttimetrejä. Syvempi sedimentti on vähähappista ja sen alla hapetonta eli anoksista. Hapen kuluminen aiheuttaa sedimentin ja huokosveden vertikaalisen happikerrostuneisuuden. Happikerrostuneisuus taas muiden ominaisuuksien ohella kuten pH:n, redox-potentiaalain vaihteluiden ja metallien vaikutuksesta johtaa sedimentin ja huokosveden horisontaaliseen vaihteluun etenkin jokisedimentissä, mutta myös järvisedimentissä partikkelien kokoerojen vuoksi (Batley ym. 2005).

Haitta-aineiden biosaatavuuden määräytyminen

Biosaatavuus ja organismin fysiologia vaikuttavat pohjaeläimen vierasainekuormaan (Moore ym. 2005). Biosaatavuus voi vaihdella vuosisyklisesti järvissä, joissa suuren sedimentoitumisnopeuden mukana tulee korkeita ravinnekuormituksia sedimenttiin. Myös järvien kerrostuneisuus vaikuttaa biosaatavuuteen (Chapman ym. 2005a). Vain osa sedimentissä esiintyvistä orgaanisista yhdisteistä on biosaatavassa muodossa. Yhdiste on biosaatava, kun se vapautuu partikkelista joko huokosveteen tai organismin sisällä, jossa se kulkeuduttuaan solukalvon läpi voi aiheuttaa toksisen vasteen (Batley ym. 2005). Suuri osa TOC:stä (orgaanisen hiilen kokonaispitoisuus) vähentää haitta-aineiden biosaatavuutta, mutta esim. puun ja turpeen palaset sitovat huonommin orgaanisia yhdisteitä lisäten suhteellista biosaatavuutta (Word ym. 2005). Lisäksi siihen vaikuttavat kontaktiaika, sedimentin pinta-ala, organismin lipidipitoisuus (Moore ym. 2005), haitta-aineen ominaisuudet (Karickhoff & Morris 1987) ja partikkelikoko (Batley ym. 2005).

Organismien lipidikonsentraatio vaikuttaa yhdessä sedimentin orgaanisen hiilen pitoisuuden kanssa vierasaineen jakaantumiseen sedimentin, veden ja kudosten välillä. Mitä hydrofobisempi haitta-aine sitä enemmän se reagoi poolittoman orgaanisen hiilen ja lipidien kanssa. Hydrofobiset orgaaniset aineet usein akkumuloituvat huokosvedestä (Adams 1987; Batley ym. 2005; Chapman ym. 2005a) tai vähähappisen sedimentin yläpuolisesta vedestä (Batley ym. 2005; Chapman ym. 2005a) pohjaeläimiin passiivisesti epiteelien kautta (Moore ym. 2005). Myös bioturbaatio vaikuttaa bioakkumulaatioon, sillä se voi lisätä haitta-aineiden pitoisuuksia sedimentin yläpuolisessa vedessä. Orgaanisille yhdisteille vesi-oktanoli jakaantumiskerroin on paras yksittäinen vierasaineen jakaantumisen ennustaja, mutta sekään ei kerro täysin vierasaineen käyttäytymisestä ja biosaatavuudesta ympäristössä. Kun $\log K_{ow}$ ylittää 5,5 (Moore ym. 2005), voi ravinnonotto olla dominoiva reitti altistua hydrofobisille orgaanisille yhdisteille (Batley ym. 2005; Chapman ym. 2005a; Moore ym. 2005). Adamsin (1987) mukaan makeanveden pohjaeläimistä vain harvasukasmatoilajit ja jotkin hyönteislajien toukat käyttävät sedimenttiä ravinnon lähteenä. Hydrofobisten haitta-aineiden altistumisen reittinä sedimentin käyttö ravinnon lähteenä on tärkeä ja sen on todettu olevan oleellinen mm. pyreenin bioakkumulaatiossa harvasukamatoon (*Lumbriculus variegatus*, Leppänen & Kukkonen 1998).



Kuva 8. Käsitteellinen malli, jossa haitta-aineiden otto eläimeen tapahtuu suoraan sedimenttistä ravinnonoton kautta (deposit feeding) (Moore ym. 2005).

Kuvassa 8 kohdat a ja b kuvaavat vierasaineen kulkeutumista suolistoon, josta osa kulkeutuu takaisin sedimenttiin ulosteiden ja erityksen mukana. Kudoksiin joutuva osuus vierasaineesta riippuu absorptiionopeudesta. Kudosten haitta-ainekuorma koostuu kokonaiskuorman ja metaboloitavan kuorman erotuksesta (Moore ym. 2005). Bioakkumulaatio on ekotoksikologisesti merkityksellinen silloin, kun kehon kuorman aiheuttama pitoisuus saa aikaan toksisen vasteen.

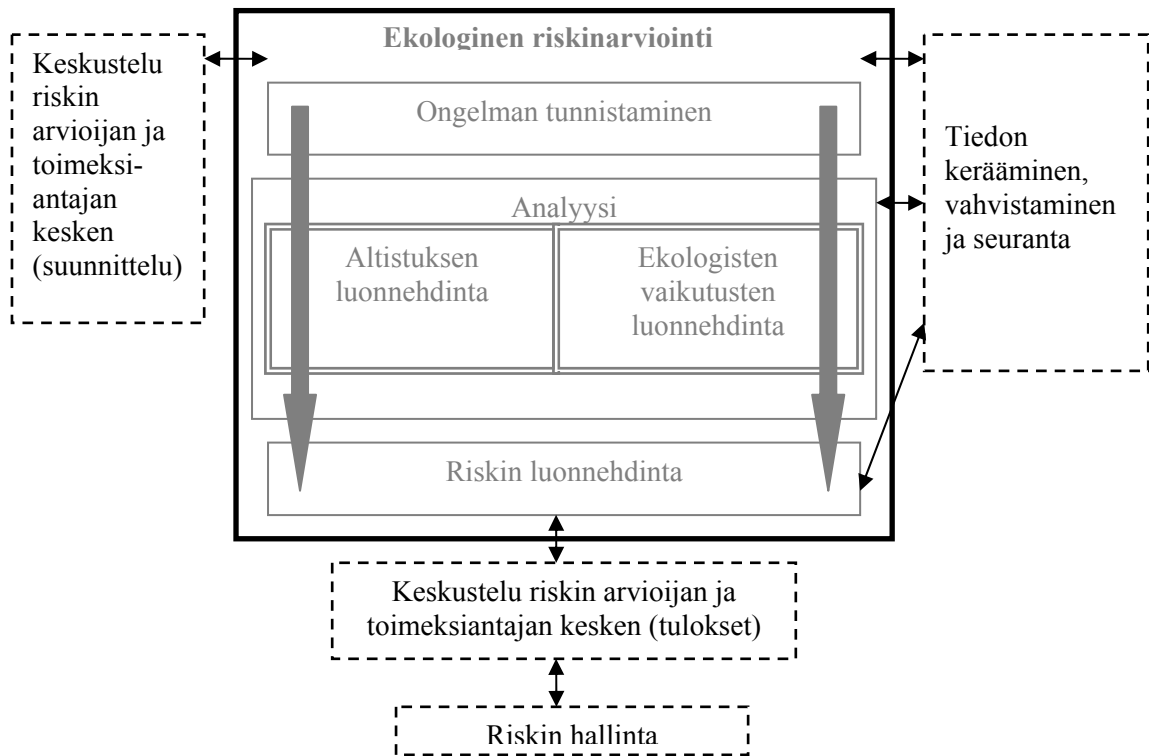
1.7 Sedimenttien ekotoksikologinen riskinarviointi

Sedimenttien arvioinnin pääasiallinen tarkoitus on luonnon pohjaeläimistöön elinympäristön rakenteen ja toiminnan suojeleminen (Batley ym. 2005). Sedimenttien ympäristöriskien muodostuksessa on useita osa-alueita: 1) alueen kuvaus, 2) mittaustapojen valinta ja mitattavat suureet, 3) malli eliöyhteisön, mahdollisen vaikutuksen lähteen ja vaikutusreitien yhteen sitomisesta, 4) populaation ja yhteisöjen suojeleminen tarkastelu sekä 5) vertailualueen tila ja luonnehdinta (Adams ym. 2005).

Riskin tunnistaminen

Sedimenttien ekologisen tai ekotoksikologisen riskiarvioinnin (ERA) lähtökohta on ongelman tunnistaminen (Kuva 9). Se edellyttää kaikkien lähteiden ja haitta-aineiden tunnistamista, tutkimushypoteesien muotoilua ja mitattavien vaikutusten valitsemista (USEPA 1992; Chapman ym. 1997b). Vasteet valitaan tutkimuksen tavoitteita mahdollisimman hyvin palveleviksi. Tärkeää riskin tunnistamisessa on myös päästölähteen

historian selvittäminen, ja esimerkiksi sedimenttien päästöjen osalta tietää niiden liikkeelle lähdön mahdollisuus (Chapman ym. 1997b) sekä muut paikallisia muutoksia aiheuttavat tekijät. Näitä ovat depositio ja bioturbaatio, joiden aiheuttamat kemialliset reaktiot vaikuttavat riskinarviointiin (Batley ym. 2005).



Kuva 9. Haitta-aineiden ekologisen toksisuusriskinarvioinnin kaavio (USEPA 1992).

Sedimenttien haitta-aineidenpitoisuuksien määrittämisessä tulee näytteenkeräyspaikat valita huolellisesti (Chapman ym. 1997b; Batley ym. 2005). Jos näytteenotto on suunniteltu hyvin, saadaan sedimenttien haitta-aineiden pitoisuusmäärittämisestä tietoa, joka kertoo vesistöalueen tilasta (Chapman ym. 1997b). Arvioinnissa on tärkeää ottaa huomioon, että sedimentit voivat sisältää kymmeniä tai jopa satoja haitta-aineyhdisteitä (Swartz & Di Toro 1997), jolloin kunkin aineen vaikutuksen tunnistaminen erilleen muista on hankalaa (Batley ym. 2005).

Riskin analyysi

ERA:n toinen vaihe on analyysi, jossa selvitetään vierasaineiden esiintyminen ja niiden ekologinen merkitys (USEPA 1992; Chapman ym. 1997b). Biologiset vaikutukset ja saastuneen sedimentin kemiallinen luonnehdinta muodostavat suuren osan sedimenttien

riskinarvioinnissa (Adams ym. 2005). Käytännössä tässä vaiheessa kootaan tietoa kemiallisin ja toksikologisin menetelmin sedimenttien haitta-aineiden esiintyvyydestä, niiden laadusta ja aiheuttamista vasteista (Chapman ym. 1997b). Analyysivaiheessa pyritään toteamaan kausaalisuus, vaikka se ei ole välttämätöntä riskinarvioinnin kannalta. Sen toteamisessa ensisijainen vaatimus on Kochin postulaattien toteutuminen eli vaikutuksen ilmeneminen toistuvasti alun perin terveillä yksilöillä, jolloin se voidaan varmuudella todeta tutkittavan vierasaineen aiheuttamaksi (USEPA 1992). Kausaalisuuden toteamisessa käytetään myös ns. Hillin kriteerejä, joita ovat vaikutuksen voimakkuus, johdonmukaisuus, aikariippuvuus, täsmällisyys, biologisen gradientin läsnäolo, uskottavuus, yhtenäisyys, kokeellinen varmistus ja analogia (Rothman 1986).

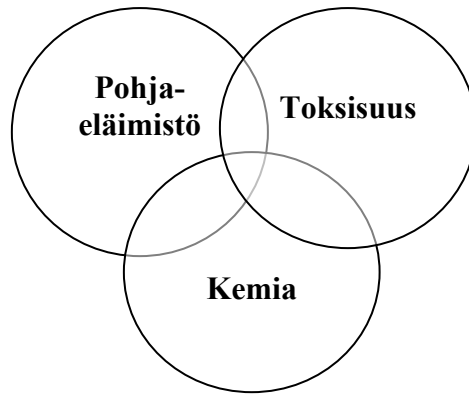
Toksisuustiedon tavoitteena on ennakoida ja suojella eliöyhteisön toimintaa ja rakennetta tutkittavassa kohteessa ja sen kaltaisessa kohteessa. Laboratoriokokeissa sedimenttien toksisuustutkimukset tehdään yleensä useilla organismeilla ja käytetään erilaisia mittareita kestoltaan (akuutti ja krooninen), tavoitteiltaan ja laadultaan (kuolleisuus, kasvu, kehitys, lisääntyminen ym.). Suuri osa toksisuustiedosta koostuu kuolleisuudesta, vaikka subletaalit vaikutukset voivat kertoa enemmän sedimenttien tilasta (Batley ym. 2005).

Biosaatavan haitta-aineen osuutta sedimenteissä ei pystytä kemiallisesti suoraan mittaamaan, koska lajikohtaiset vaikutukset riippuvat aineen ottoreitistä ja herkkydestä. Biosaatavuutta voidaan kuitenkin mitata bioakkumulaation ja metaboliittien tietyillä toksisuuden mittareilla. Kehon haitta-ainekuorma on seuraus altistushistoriasta, haitta-aineen ja sedimentin kemiallisista ja fysikaalisista ominaisuuksista (Batley ym. 2005) sekä sedimentin ja haitta-aineen ikääntymisestä (Moore ym. 2005). Akkumuloitu haitta-ainepitoisuus tai sen metaboliitit eivät kuitenkaan yksistään kerro aineen toksisuudesta, koska organismit voivat detoksifioida tai erittää vierasaineen (Chapman ym. 2005a).

Riskin luonnehdinta

Kun suunnitelman mukaiset tutkimukset on tehty, kootaan kaikki tieto yhteen ERA:n kolmannessa vaiheessa eli tehdään riskin luonnehdinta (USEPA 1992; Chapman ym. 1997b). Riskin luonnehdinta pyrkii luomaan kokonaiskuvan tuloksista ja niiden epävarmuuksista. Se koostuu kahdesta osasta: arvioinnista ja kuvauksesta. Arviointi sisältää tulosten yhdistämisen sekä epävarmuustekijät ja kuvauksen ekotoksikologisten riskien yhteenvedosta ja tulkinnan sen ekologisesta merkityksestä (USEPA 1992). Riskin

luonnehdintaan on kehitetty erilaisia menetelmiä kuten näytön painoarvojen tarkastelu (WOE, weight of evidence; Chapman ym. 1997b), numeerinen raja-arvotarkastelu (SQG, Sediment Quality Guidelines; Chapman ym. 2005a) ja triaditarkastelu (SQT, Sediment Quality Triad; Chapman ym. 1997b).



Kuva 10. Sedimenttien riskiarvioinnin kolmitarkastelu, SQT (Sediment Quality Triad; Chapman 1996).

Tässä gradututkimuksessa käytetään tuloksien kokoamisessa SQT:tä (Chapman 1996). SQT on menetelmä, joka perustuu toksisuuden, yhdisteiden kemian ja yhteisön muutoksen yhteensovittamiseen (Kuva 10). Se soveltuu myös hyvin määrittelemään pohjaeläinten runsauteen ja yhteisön muutoksiin vaikuttavia syitä (Chapman ym. 1997a). SQT:ssä jokainen osa-alue arvioidaan ensin erikseen joko positiivisena tai negatiivisena vaikutuksena. Vaikutukset sovitetaan yhteen Chapmanin (1996) kehittämän arviointitaulukon mukaan. Malli ottaa huomioon jokaisen osa-alueen yhtä arvokkaana, jolloin eri osa-alueiden painottamiseen ei ole tarvetta (Chapman 1996). Jos tutkimuksessa on käytetty useita erilaisia toksisuustestejä, joilla on erilaiset vastekriteerit ja ne ovat kestoltaan erilaisia, voidaan käyttää näytön painoarvojen voimakkuutta (WOE) toksisuuden arvioinnissa. Lisäksi voidaan ottaa huomioon muut sedimenttien toksisuuteen vaikuttavat tekijät, mm. niiden fysikaaliset ominaisuudet (Chapman ym. 1997a).

Sedimenttien arvioinnissa on tärkeää ottaa huomioon ajan suhteen muuttuvat olosuhteet kuten vuodenajan tuomat vaihtelut vesistöön, vuorokauden aikaiset valon ja lämpötilanvaihtelun vaikutukset metabolian nopeuteen sekä poikkeukselliset olosuhteet kuten ruoppaus ja tulva. Näiden tekijöiden vuoksi haitta-ainepitoisuudet voivat luonnonsedimenteissä vaikutuksiltaan vaihdella suuresti (Batley ym. 2005). Useat tekijät

voivat haitta-aineiden lisäksi vaikuttaa kemiallisten reaktioiden kautta pohjaeläinyhteisön toksisuusvasteisiin niin laboratorio-oloissa kuin maastossakin. Näitä voivat olla mm. ammonium- ja sulfidi-ionipitoisuus, partikkelikoko, suolapitoisuus, ruuan määrä ja ravinnonottotapa, sedimenttien stabiilisuus sekä orgaaninen hiili. Sedimenttien laadun arvioinnin tuloksiin voivat vaikuttaa myös näytteenotossa ja käsittelyssä käytetyt menetelmät (Blais & Muir 2004; Word ym. 2005). Esimerkiksi kontaminaation riski voi olla suuri näytteenoton ja pitkän säilytyksen yhteydessä (Blais & Muir 2004).

1.8 Tutkimuksen tavoitteet

Voidaan siis ajatella, että Äänekosken reitin vesistön tilaan ovat vaikuttaneet tehtaiden menneet päästöt ja ne vaikuttavat myös tulevaisuudessa. Tutkimuksen ensisijaisena tavoitteena olikin selvittää Äänekosken sellu- ja paperitehtaan jätevesistä sedimenttiin kertyneet puuperäiset uuteaineet ja niiden pitoisuudet kerrostuneisuuden mukaan. Kuhnamosta, Vatianjärvestä ja Leppävedestä kerätyistä sedimenttinäytteistä tunnistettiin hartsihapot, reteeni, puusterolit ja betulinali ja määritettiin niiden pitoisuudet. Mitattujen pitoisuuksien perusteella arvioitiin Vatianjärven ja Leppäveden sedimenttien sijoittumista teollisuushistorian vaiheisiin 1900-luvulla.

Mikäli haitta-aineet mobilisoituvat, seuraa siitä mm. kalojen ja pohjaeläinyhteisöjen altistumista. Tämän vuoksi uuteaineiden ekotoksikologisia vaikutuksia arvioitiin luonnonsedimenteistä valmistetuilla elutriaateilla tehtävillä toksisuuskokeilla. Niissä jäljiteltiin haitta-aineiden luonnollista siirtymistä sedimentistä veteen. *Vibrio fischeri* -bakteerilla tutkittiin elutriaattien vaikutusta bioluminesenssiin. Elutriaattien vaikutuksia tarkasteltiin myös siian (*C. lavaretus*) alkiopoikasten selviytymisen ja kehityksen avulla yhdeksän vuorokauden altistuksessa. Oleellista tutkimuksessa oli, että mahdollista toksisuusvaikutusta arvioitiin sedimenttilähtöisestä päästöstä eikä tänä päivänä tapahtuvista jätevesipäästöistä. Tavoitteena oli arvioida ekotoksikologisia riskejä tilanteessa, jossa sedimenteistä pääsisi vapautumaan veteen siitä aiemmin poistuneita uuteaineita esimerkiksi ruoppauksen tai suurten tulvien yhteydessä.

Tutkimuksen hypoteesit:

1. Äänekosken alapuolisten vesien sedimentit sisältävät taustapitoisuuksia korkeampia pitoisuuksia sellu- ja paperiteollisuuden jätevesien uuteaineita.
2. Teollisuussedimentit aiheuttavat veteen uuttuessaan vasteen *V. fischeri* -bakteerilla.

3. Teollisuussedimentit aiheuttavat veteen uutuessaan siian alkiopoikasilla kuolleisuutta ja ruskuaispussitautia.
4. Teollisuussedimentit aiheuttavat ekotoksikologisen riskin tutkimusalueella.

2 AINEISTO JA MENETELMÄT

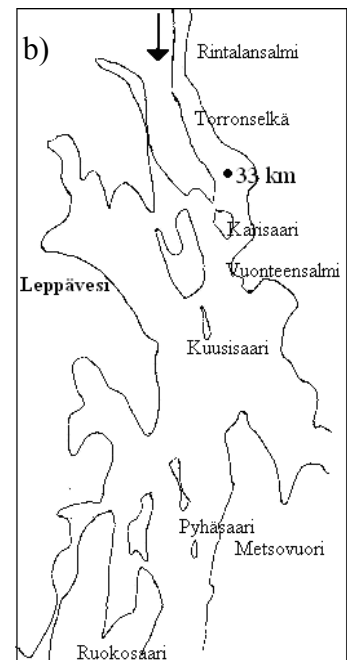
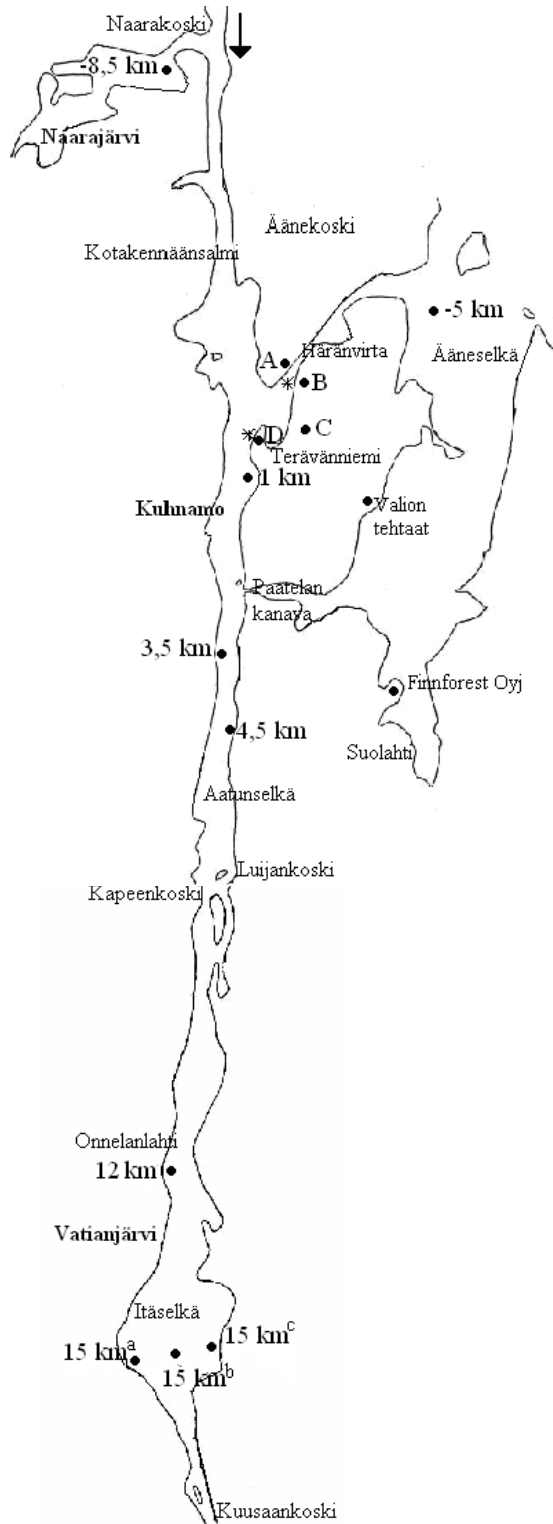
2.1 Tutkimusalue, näytteenotto ja esikäsittely

Tutkimuksessa käytettiin vertailualueina Viitasaaren suunnalta laskevaa Keitelettä sekä Saarijärven reitin järvistä Naarajärveä (Kuva 11, Taulukko 7). Molemmat järvet ovat Äänekosken yläpuolisia vesiä ja kummastakin otettiin kolme rinnakkaista näytettä. Itse tutkimusalue käsitti kolme järveä Äänekosken tehtaiden alapuolisessa vesistöissä. Kuhnamosta otettiin kaksi kolmen rinnakkaisen noston kokoomanäytettä (1 ja 3,5 km) ja yksi yksittäinen näyte (4,5 km). Vatianjärvestä otettiin neljä kolmen rinnakkaisen näytteen kokoomanäytettä (12 km, ja kolme 15 km:n etäisyydellä päästölähteestä, joista käytetään merkintöjä 15 km^a, 15 km^b ja 15 km^c). Leppävedestä otettiin poikkeuksellisesti viisi rinnakkaista näytettä, jotka yhdistettiin kokoomanäytteiksi.

Sedimenttinäytteet otettiin veneestä 23.4.–7.5.2007 välisenä aikana Kajak- ja Ekman-noutimilla. Kajak-noutimella (putkinoudin; Kuva 12) saadaan halkaisijaltaan noin 5 cm:n sedimenttinäyte, joka soveltuu etenkin analyttisten tutkimusten tekoon. Rinnakkaiset Kajak-näytteet viipaloitiin viiteen osaan (0–2, 2–5, 5–10, 10–15 ja 15–20 cm) ja rinnakkaiset syvyysviipaleet yhdistettiin kokoomanäytteiksi. Ekman-noutimella saadaan kerättyä nopeasti sedimenttiä, joka soveltuu erityisesti toksisuuskokeisiin (esimerkiksi elutriaattikokeisiin). Käytetyllä Ekman-noutimella (n. 20 * 20 * 10 cm) saatiin sedimenttiä kerättyä yhdellä nostolla syvyysuunnassa noin 0–10 cm. Sillä otettiin useita nostoja yhdeltä näytealueelta kustakin järvestä (Taulukko 7) ja ne koottiin kokoomanäytteiksi.

Molemmista vertailualueista otettiin yhdet Kajak-kokoomanäytteet altaasta, joka on lähinnä Kuhnamoa (Kuva 11 a). Keiteleen kokoomanäyte oli noin 29 metristä ja Naarajärven noin 25 metristä. Naarajärvestä otettiin Ekman-näytteitä 10 ja Keiteleestä 11 nostoa.

a)



Kuva 11. a) Kuumajoen (1; 3,5 ja 4,5 km), Vatianjärven (12 km, 15 km^a, 15 km^b ja 15 km^c) Keiteleeseen (-5 km) ja Naarajärven (-8,5 km) näytteenottoaikat. Kartassa A on M-Real Oyj:n Paperitehdas ja B kartonkitehdas. Tehdas C esittää Oy Metsä-Botnia Ab:n sellutehdasta ja D Botnian biologista puhdistamoa. Puhdistamojen purkupaikkojen sijainnit on merkitty karttaan * (mittakaava noin 1: 115 000). b) Leppäveden näytteenottoaikat (33 km) kartta (mittakaava noin 1: 200 000).

Kajak-kokoomanäytteitä otettiin Kuhnamosta kolme ja syvin näytteenottoalue oli 20 metrin syvyydestä 3,5 km:n päässä biologisen puhdistamon jätevesien purkupaikasta. Tehdasta lähin kokoomanäyte oli noin kilometrin päässä 19 metrin syvyydestä ja kolmas oli 4,5 km:n (vain yksi näyte) etäisyydeltä noin 16 metristä. Kuhnamon Ekman-kokoomanäyte koostui kuudesta nostosta, jotka otettiin 3,5 km:n etäisyydeltä.

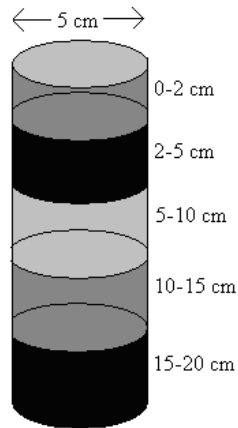
Taulukko 7. Kajak-näytteenottoalueet Äänekosken reitillä: syvyydet (m), etäisyydet (km) jätevedenpuhdistamoista ja Ekman-näytteenottoalueet ja näytteiden lukumäärä. Puhdistamo 1 on M-Real Oyj:n kartonkitehtaan kemiallismekaaninen puhdistamo ja puhdistamo 2 Oy Metsä-Botnia Ab:n aktiivilietelaitos, josta mitatut etäisyydet (teksti lihavoitu) ovat tässä työssä käytetyt etäisyydet tehtaista.

Järvi	Syvyys (m)	Etäisyys puhdistamo 1	Etäisyys puhdistamo 2	Ekman-näytteiden nostojen lkm.
Kuhnamo	19	2,5 km	1 km	0
	20	5 km	3,5 km	6
	16	6 km	4,5 km	0
Vatianjärvi	12	13,5 km	12 km	0
	24	16,5 km ^a	15 km^a	17
	7,5	16,5 km ^b	15 km^b	0
	4	16,5 km ^c	15 km^c	0
Leppävesi	28	34,5 km	33 km	6
Keitele	29	-3,5 km	-5 km	11
Naarajärvi	25	-8,5 km	-8,5 km	10

Vatianjärvestä otettiin neljä Kajak-kokoomanäytettä, yksi 12 km:n etäisyydeltä ja kolme noin 15 km:n etäisyydeltä. Nämä kolme kokoomanäytettä otettiin järven leveimmältä ja syvimmältä kohdalta poikkileikkauksena siten, että syvimmältä kohdalta otettiin kokoomanäyte 24 metristä (15 km^a) noin 250 metriä rannasta. Vatianjärven altaan toiselta laidalta otettiin kokoomanäytteet neljän metrin syvyydestä (15 km^c) noin 220 metriä rannasta. Kolmas kokoomanäyte otettiin näiden alueiden puolivälistä (ei laivaväylältä) 7,5 metrin syvyydestä (15 km^b). Pohjoisin kokoomanäyte (12 km) otettiin 12 metristä siten,

että kaikki Vatianjärven näytteenottoalueet muodostivat likimain kolmion. Vatianjärven Ekman-kokoomanäyte (17 nostoa) otettiin näytealueelta 15 km^a.

Leppävedestä (Kuva 11b) oli Kajak-kokoomanäyte 33 km:n etäisyydeltä Äänekoskelta. Se oli ensimmäisestä altaasta Torronselältä 28 metrin syvyydeltä. Ekman-näytettä otettiin alueelta kuusi nostoa.



Kuva 12. Kajak-noutimella kerättyjen sedimenttinäytteiden viipalointi viiteen osaan 20 cm paksuisesta näytteestä ($\pm 0, 2$ cm).

Näytteenoton jälkeen sedimenttien annettiin laskeutua Kajak-putkissa pimeässä 4 °C:n lämpötilassa noin 24 h, jonka jälkeen ne viipaloitiin ja säilöttiin lasipurkkeihin. Lasipurkkeihin laitettiin kerros keinotekoista makeaa vettä ja typpi-atmosfääri (Aga, Suomi). Keinotekoinen makea vesi valmistettiin ionivaihdettuun veteen, johon liuotettiin 11,8 g/l kalsiumkloridia (Merck, >99,5 %, Hollanti), 4,9 g/l magnesiumsulfaattia (J. T. Baker, >99 %, Hollanti), 2,6 g/l natriumvetykarbonaattia (Merck, min 99,5 %, Saksa) ja 0,2 g/l kaliumkloridia (J. T. Baker >99 %, Hollanti) (Meriläinen ym. 2006). Näytteet säilytettiin pimeässä 4 °C:n lämpötilassa (ASTM 1993).

Sedimenttinäytteenoton yhteydessä kerättiin vesinäytteet Limnos-noutimella metri pohjasta ylöspäin. Näytteistä määritettiin paikan päällä lämpötila. Happipitoisuus mitattiin laboratoriossa titraamalla ns. Winklerin menetelmällä kestäväidystä (lisättiin välittömästi näytteenoton jälkeen mangaani(II)liuos ja alkalinen jodidiliuos) näytteistä (SFS 3040). Happipitoisuusmäärittystä varten otettiin myös toinen vesinäyte sedimentin ja veden rajapinnasta. Rajapinnan vesinäyte saatiin Kajak-putkesta, johon oli otettu sedimenttinäyte (putken yläosaan jäi happipitoisuusmäärittämiseen riittävä vesimäärä). Myös

sähkönjohtokyky ($\mu\text{S}/\text{cm}$), pH ja väri (Pt mg/l) määritettiin myöhemmin laboratoriossa. Liuennut orgaaninen hiili (DOC) mitattiin vertailujärvistä eli Keiteleestä ja Naarajärvestä sekä Vatianjärvestä. Määrittäminen tehtiin Jyväskylän yliopiston ympäristöntutkimuskeskuksessa standardin SFS-EN 1484: 1997 mukaisesti.

2.2 Näytteiden analysointi

Sedimenttien hartsihappojen, reteenin, puusterolien ja betulinolin analysointia varten näytteet uutettiin Soxhlet-laitteella (Büchi B-811, Sveitsi). Näytteiden uutto perustui menetelmiin, joita ovat käyttäneet Tavendale ym. (1995), Leppänen ja Oikari (1999a, 2001) sekä Lahdelma ja Oikari (2005, 2006). Jokaisen sedimenttikerroksen uuteaineet tutkittiin erikseen (ks. alkaen s. 42) ja niiden pitoisuudet laskettiin kuiva-ainetta kohden.

Kuiva-aineen ja orgaanisen materiaalin määrittäminen

Viipaloiduista sedimenttinäytteistä määritettiin kuiva-ainepitoisuus ja orgaanisen materiaalin (OM) osuus kahtena rinnakkaisena määrittämisellä (SFS 3008). OM eli hehkutushäviö (LOI) tarkoittaa palavaa orgaanista ainetta eli sitä paino-osuutta, joka hehkutuksessa palaa pois. Kuiva-ainemäärittämisessä tuore sedimenttikokoomanäyte homogenisoitiin ja punnittiin upokkaaseen, jota oli hehkutettu kaksi tuntia $550\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa (vakiopainoon). Sedimenttinäytettä punnittiin upokkaaseen 10–30 g riippuen näytteen silmin nähtävästä vesipitoisuudesta. Näyte kuivattiin $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ lämpökaapissa noin 17 h, minkä jälkeen se jäädytettiin eksikaattorissa ja punnittiin. Kuivattu näyte hehkutettiin $550\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa noin 2 h, jäädytettiin eksikaattorissa ja punnittiin. Tuloksista laskettiin kuivan sedimentin osuus märkää sedimenttiä kohti (mg/g) (Yhtälö 2) ja LOI:n pitoisuus laskettiin palavan orgaanisen aineen osuutena suhteessa kuiva-aineeseen (mg/g) (Yhtälö 3).

$$\text{k.a.} = (m_2 - m_1)/m \quad (2)$$

$$\text{OM} = \text{LOI} = [1000 * (m_2 - m_3)]/(m_2 - m_1) \quad (3)$$

Yhtälöissä k.a. = kuiva-aine (mg/g), OM = orgaanisen materiaalin pitoisuus kuiva-ainetta kohti (mg/g), m = sedimenttinäytteen massa märkänä (g), m_1 = astian massa (g), m_2 = astian ja kuivatun sedimenttinäytteen yhteismassa (g), m_3 = astian ja hehkutetun sedimenttinäytteen yhteismassa (g). Standardissa on ohje hehkutusjäännöksen laskemiseen, mutta ei OM:n laskemiseen, mikä on otettu huomioon yhtälössä 4 (SFS 3008).

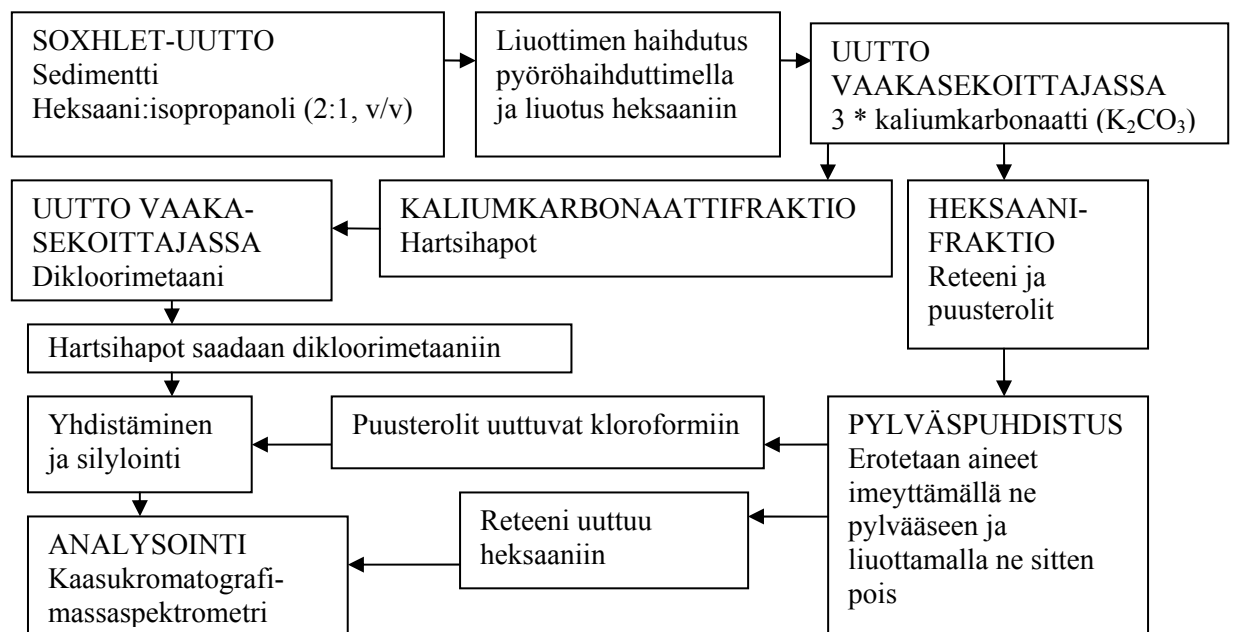
Sedimenttinäytteiden analysointi

Ennen uuttoa näytteet kylmäkuivattiin (Christ Alpha 2–4, B. Braun Biotech International, Saksa; tyhjiöpumppu RV5, Edwards Iso-Britannia) veden poistamiseksi. Kuivattua näytettä punnittiin uuttohylsyyn (Whatman[®], 28 * 80 mm, Saksa) 0,3–1,2 g. Uuttohylsyt puhdistettiin asetonilla (Rathburn Chemicals, HPLC-Grade, Iso-Britannia) ultraäänilaitteessa (Branson 5210, Yhdysvallat). Punnitun sedimentin määrään vaikutti oletus, että puuperäisten aineiden pitoisuudet vaihtelevat sedimentin eri syvyyksissä ja ovat erilaiset eri järvissä niiden etäisyyden Äänekoskeen muuttuessa. Näytteisiin lisättiin ennen uuttoa sisäiset standardit. Hartsihapoille käytettiin heptadekaanihappoa (Fluka, ~99 %, Sveitsi), reteenille antraseeniä-*d*10 (Isotec[™], 98 % atomi D, Yhdysvallat) ja puusteroleille 17 α -metyylitestosteronia (17 α -methyl-4-androsten-17 β -ol-3-one, Sigma[®], Yhdysvallat).

Näytteet uutettiin Soxhlet-laitteella heksaani:isopropanoli (molemmat Rathburn Chemicals, HPLC Grade, Iso-Britannia) liuoksessa (2:1, v/v; Kuva 13). Uuton kesto oli 16 h käsittäen yhteensä 70 kierrosta. Uute haihdutettiin Rotavaporilla (Heidolph 2000, Saksa) noin 5 ml:ksi, jonka jälkeen lisättiin 50 ml heksaania. Näyte uutettiin kolme kertaa 40 ml:lla 0,1 M K₂CO₃-vesiliuosta (Merck, >99 %, Saksa) vaakasekoittajassa 5 min (180 kierrosta/min) (Leppänen & Oikari 1999a).

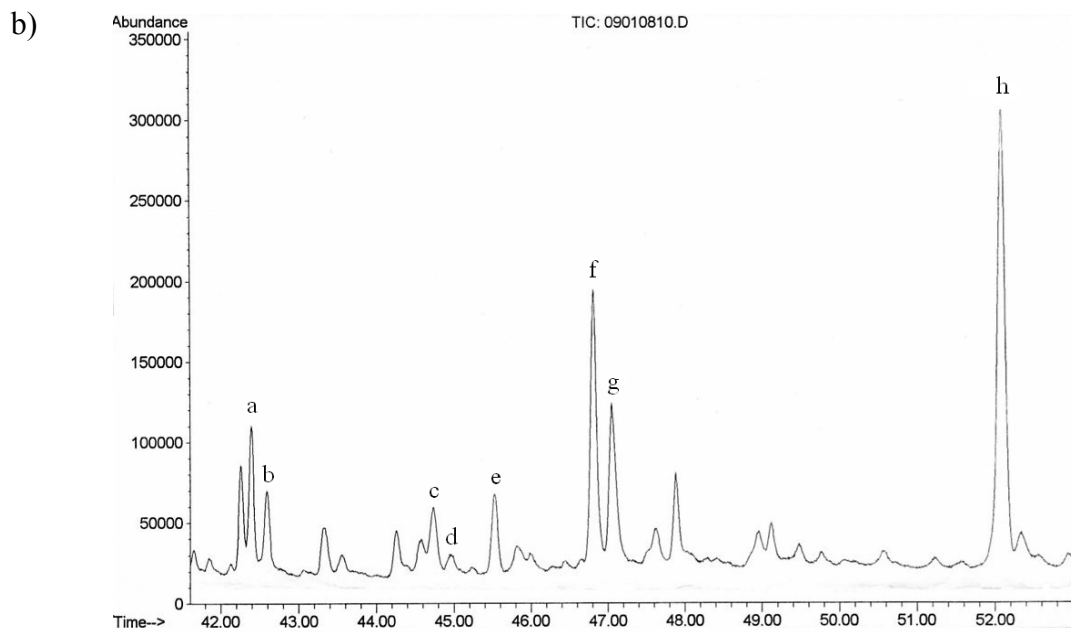
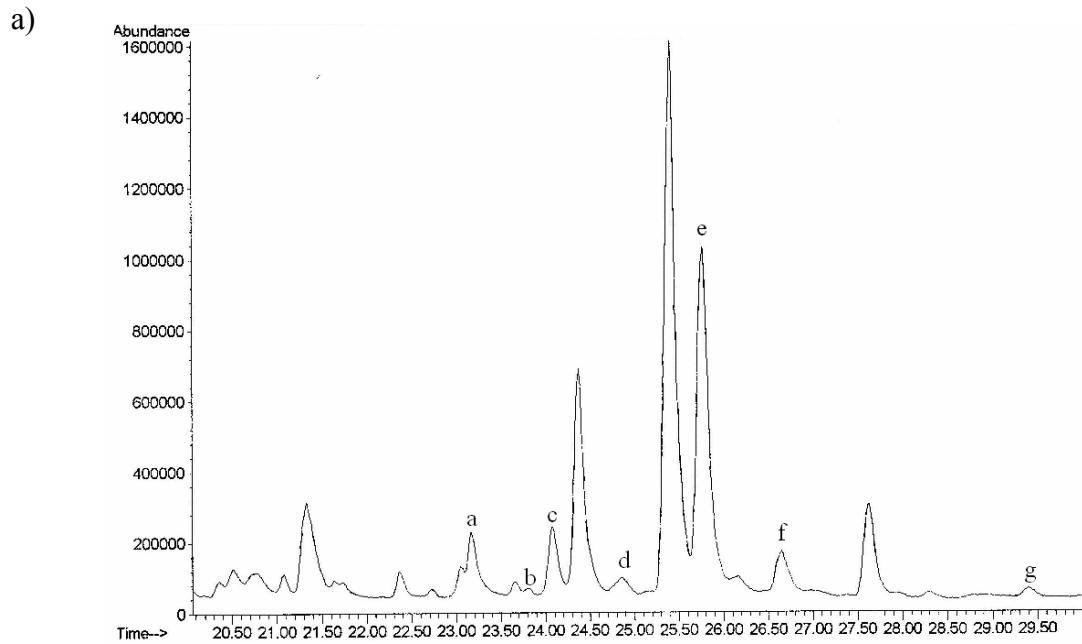
Heksaanifraktiot yhdistettiin ja haihdutettiin Rotavaporilla noin 5 ml:ksi ja edelleen typpivirran avulla kuivaksi. Tämän jälkeen valmistettiin Pasteur-pipettiin pylväs 5 % silikageelistä (Baker Analyzed[®], 0,062–0,200 mm, Hollanti). Silikageeli aktivoitiin lämpökaapissa noin 16 h 150 °C:ssa, minkä jälkeen se deaktivoitiin lisäämällä 5 % tislattua vettä (m/m) ja sekoittamalla voimakkaasti magneettisekoittajalla noin kaksi tuntia. Pasteur-pipettiin laitettiin pieni pala asetonilla ultraäänilaitteessa puhdistettua pumpulia ja veden poistoon kidevedetöntä NaSO₄ (Riedel-de-Häen, >99 %, Saksa). Silikageeli pakattiin pylvääseen heksaanilla niin, että pylvääseen ei jäänyt ilmakuplia. Heksaani:kloroformi -seokseen (4:1, v/v) (kloroformi: Sigma-Aldrich, \geq 99,8 %, Saksa) liuotettu 0,5 ml:n uute lisättiin pylvääseen ja sen annettiin absorboitua silikageeliin. Tämän jälkeen pylvästä eluoiitiin ensin 12 ml:lla heksaania ja edelleen 15 ml:lla kloroformia. Heksaanifraktioon eluoiutui reteeni ja kloroformifraktioon puusterolit. Molemmat fraktiot haihdutettiin ensin Rotavaporilla 2–3 ml:ksi ja edelleen kuivaksi typpikaasuvirrassa (Lahdelma & Oikari 2005, 2006). Kuiviin haihdutettu heksaanifraktio liuotettiin uudelleen 300 μ l:lla heksaania reteenin analysointia varten.

Hartsihappojen määrittystä varten karbonaattifraktion pH säädettiin noin yhdeksään 5 M rikkihapolla (Merck, 95–97 %, Saksa). Näyte uutettiin 16 tuntia 50 ml:lla dikloorimetaania (Rathburn Chemicals, HPLC Grade, Iso-Britannia) vaakasekoittajalla, jonka nopeus oli 150 kierrosta/min. Näyte haihdutettiin Rotavaporilla 5 ml:ksi ja edelleen typpivirrassa kuivaksi (Leppänen & Oikari 1999a). Sekä hartsihappo- että puusterolinäyte laimennettiin pyridiinillä (J. T. Baker, >99 %, Hollanti), minkä jälkeen ne yhdistettiin. Yhdistetty näyte haihdutettiin ensin typpivirrassa kuivaksi ja liuotettiin 125 µl:lla pyridiiniä. Näytteeseen lisättiin 175 µl *N,O-bis*(trimetyylisilyyli)-trifluoroasetamidi (BSTFA) – 1 %:lla trimetyylikloorisilaaniseosta (TMCS) (Fluka, GC-laatu, Sveitsi) ja laitettiin lämpökaappiin 70 °C:een 30 min:ksi (Lahdelma & Oikari 2006).



Kuva 13. Sedimenttiuuton päävaiheet (Tavendale 1995; Leppänen & Oikari 1999a, 2000; Lahdelma & Oikari 2005, 2006).

Uuteaineiden pitoisuudet määritettiin kaasukromatografi-massaspektrometrillä (HP 6890 MS, Saksa ja HP 5973 GC, Yhdysvallat, HP-5 polysiloksaani polymeerikolonin pituus oli 30 m, ID 0.25 µm, injektointitilavuus 0,1 µl). Kantajakaasuna oli helium (Aga, Yhdysvallat). Hartsihapoille ja puusteroleille käytettiin lämpötilaohjelmaa, jossa aloituslämpötila oli 100 °C (1,5 min), minkä jälkeen lämpötila nousi nopeudella 6 °C/min 180 °C (15 min) ja edelleen nopeudella 4 °C/min lämpötilaan 290 °C (13 min). Reteenille käytettiin ohjelmaa, jossa ensin lämpötila oli 120 °C (1 min), josta se nousi 5 °C/min 250 °C (5 min) ja edelleen 5 °C/min 290 °C (5 min).



Kuva 14. Kromatogrammit tutkittavista yhdisteistä. Kromatogrammeista laskettiin pinta-alojen mukaiset pitoisuudet kullekin yhdisteelle sisäisen standardin menetelmällä. a) Kromatogrammi Kuhnamon (1 km, syvyys 5-10 cm) hartsihapoista: a = pimaarihappo, b = sandarakopimaarihappo c = isopimaarihappo, d = palustrinihappo, e = dehydroabietiinihappo, f = abietiinihappo ja g = neoabietiinihappo. b) Kromatogrammi Leppäveden (33 km, syvyys 2-5 cm) steroleista: a = kolesteroli, b = kolestanoli, c = kampesteroli, d = kampestanoli, e = stigmasteroli, f = β -sitosteroli, g = stigmastanoli ja h = betulinoli.

Näytteistä saatiin kromatogrammit (Kuva 14), joista tunnistettiin ja integroitiin sisäiset standardit ja tutkittavat yhdisteet. Tunnettujen standardien avulla laskettiin yhdisteille pitoisuudet µg/g (k.a.) (Yhtälö 4).

$$C_{\text{näyte}}(\mu\text{g/g}) = (C_{\text{std}} * A_{\text{näyte}}) / A_{\text{std}} * R \quad (4)$$

Yhtälössä C_{std} = sisäisen standardin pitoisuus näytteessä (µg/g), $A_{\text{näyte}}$ = näytteen pinta-ala kromatogrammissa, A_{std} = sisäisen standardin pinta-ala kromatogrammissa ja R = responsikerroin. Tässä tutkimuksessa ei hartsihapoille ja puusteroleille määritetty responsikerrointa, jolloin sen arvo on yksi ($R=1$). Reteenille sen sijaan määritettiin responsikerroin ($R=1,8952$).

Vesiuutteiden valmistus

Sedimenttien pintakerroksen toksisuutta tutkittiin *V. fischeri* -bakteerilla (Aboatox, Suomi) ja siian (*C. lavaretus*) alkiopoikasilla. Ekman-kokoomanäytteistä valmistettiin vesiuutteet eli elutriaatit jokaisen järven sedimentin pintakerroksesta (0–10 cm). Elutriaattien uuteaineiden pitoisuudet määritettiin (s. 46) molemmissa kokeissa.

Vesielutriaatit valobakteerikokeeseen valmistettiin siten, että ilmastettua keinotekoista makeaa vettä ja tuoretta homogenisoitua sedimenttiä mitattiin 1+4 tilavuussuhteessa lasipurkkiin. Elutriaattia valmistettiin noin 600 ml jokaisen järven sedimentistä. Kokeessa tutkittiin kahta erilailla valmistettua elutriaattisarjaa. Ensimmäisessä sarjassa elutriaatit sekoitettiin vaakasekoittajassa 180 rpm/min noin 20 °C:n lämpötilassa yhden tunnin ajan ja annettiin laskeutua noin 24 tuntia pimeässä 4 °C:ssa, minkä jälkeen näytteet sentrifugoitiin 15 min noin 200 rpm/min ja niiden pH säädettiin 7,0±0,1:ksi. Tämän jälkeen näytteet vielä sentrifugoitiin (Sanyo, Harrier 18/80, Iso-Britannia) 2000 rpm/min 5 min. Vastaavasti toinen sarja sekoitettiin vaakasekoittajassa 180 rpm/min 46 h 10 °C:n lämpötilassa. Muilta osin käsittely oli samanlainen molemmissa sarjoissa.

Kalanpoikaskokeeseen valmistettiin vesi:sedimenttiseosta 1+4 tilavuussuhteessa. Jokaiseen pitoisuuteen valmistettiin 1000 ml elutriaatin laimennosta. Sedimenttiä punnittiin 250 g 1000 ml:aan vettä ja sekoitettiin 46 h pyörösekoittajassa 10 °C:ssa (n. 45 rpm/min). Sekoitus tehtiin litran lasipulloissa, joihin kuhunkin laitettiin 187–188 g tuoretta sedimenttiä 750 ml:aan vettä ja typpi-atmosfääri. Näytteet sentrifugoitiin (200 rpm/min, 5 min) välittömästi sekoituksen päätyttyä ja yhdistettiin. Näytteitä ilmastettiin yön yli eli n.

16 h, jonka jälkeen niiden pH säädettiin 7,0±0,1:ksi (Hyötyläinen & Oikari 1999; Lahdelma & Oikari 2005). Elutriaatit valmistettiin juuri ennen kokeiden aloittamista, jotta aineiden hajoamista ei ehtisi tapahtua.

Vesiuutteiden analysointi

Hartsihapot, puusterolit ja betulinoli uutettiin elutriaateista erotussuppilossa kolme kertaa 25 ml:lla heksaani:asetoniseosta (3:1 v/v) vaakasekoittajassa nopeudella 180 rpm/min 5 min. Näytteissä kehittyi voimakkaasti emulsiota, jonka vuoksi faasien erotuksen jälkeen liuotinseos vielä sentrifugoitiin 200 rpm/min 5 min. Liuotinseos haihdutettiin Rotavaporilla noin 5 ml:ksi ja haihdutettiin typpivirrassa kuivaksi, jonka jälkeen näyte laimennettiin 50 µl:lla pyridiiniä ja silyloitiin 150 µl:lla BSTFA:ta ja 1 %:lla TMCS:llä 70 °C:ssa 30 min (Meriläinen ym. 2006).

Reteeni uutettiin elutriaateista 50 ml:lla heksaania neljä tuntia vaakasekoittajassa noin 150 rpm/min. Myös reteenin liuotinfaktio sentrifugoitiin (5 min 200 rpm/min) faasien erottumisen varmistamiseksi. Heksaani haihdutettiin Rotavaporilla ja typpivirrassa kuivaksi. Näyte laimennettiin 250 µl:lla heksaania (Meriläinen ym. 2006).

Näytteet analysoitiin GC-MS:llä samoilla lämpötilaohjelmilla kuin sedimenttiuutteetkin ja niistä saatiin kromatogrammit (esim. Kuva 14), joista integroitiin sisäiset standardit ja tutkittavat yhdisteet. Tunnettujen standardien avulla laskettiin tutkittaville yhdisteille pitoisuudet µg/l (Yhtälö 5).

$$C_{\text{näyte}}(\mu\text{g/l}) = R * (C_{\text{std}} * A_{\text{näyte}} / A_{\text{std}}) / V \quad (5)$$

Yhtälössä C_{std} = standardin pitoisuus näytteessä (µg/l), $A_{\text{näyte}}$ = näytteen pinta-ala kromatogrammissa, A_{std} = standardin pinta-ala kromatogrammissa, V = näytteen tilavuus (l) ja R = responsikerroin (hartsihapoille ja puusteroleille $R=1$ ja reteenille $R=1,8952$).

2.3 Toksisuuskokeet

Bioluminesenssin inhibitio valobakteerilla

Mikrotox Flash[®] -menetelmään (Berthold Detectien System, Sirius 1 Single Tube Luminometer 20, Saksa) on valmisteilla ISO-standardi, jonka mukaisesti mittaus tehtiin (ISO 2006). Menetelmän etuna on, että sillä pystytään mittaamaan näytteitä, jotka ovat

sameita tai ne voivat jopa sisältää pieniä partikkeleja. Tämän vuoksi menetelmä soveltuu hyvin elutriaattien toksisuuden mittaamiseen. Tutkimuksessa mitattiin bioluminesenssi jokaiselta näytealueelta kerätyistä Ekman-kokoomanäytteistä valmistetuista elutriaateista. Elutriaattien toksisuutta testattiin kylmäkuivatuilla *V. fischeri* -bakteereilla, jotka aktivoitiin 2 % NaCl-liuoksella ja asetettiin 15 °C:een vähintään 15 min:ksi. Tuloksista laskettiin valontuoton inhibitioprosentti 30 min inkuboinnin jälkeen (Yhtälö 6). Inhibitioprosenttien avulla saatiin laskettua EC₂₀ ja EC₅₀-arvot lineaarisen regression mukaisen yhtälön avulla.

$$I (\%) = (I_0 - I_t) / I_0 * 100 \quad (6)$$

Yhtälössä I (%) = inhibitioprosentti, I₀ = maksimivalontuotto ja I_t = valontuotto tietyllä ajanhetkellä.

Näytteiden 100 % elutriaateista valmistettiin kaksi rinnakkaista näytesarjaa ja neljän eri pitoisuuden laimennokset (50, 25, 12,5 ja 6,1 %:n vahvuiset elutriaatit). Lisäksi valmistettiin positiivinen kontrolli neljän pitoisuuden laimennossarjalla sinkkisulfaatista (ZnSO₄ * 7H₂O, Riedel-deHäen, >99,5 %, Hollanti). Sinkkisulfaatille standardissa annettu pitoisuusraja, jonka sisällä EC₅₀-arvon tulee olla, on 2–25 mg/l. Jokaisessa mittauksessa oli oma kontrollinäyte eli 2 % NaCl-liuos ja näytetilavuus oli 250 µl. Näytekyvetti (Sarstedt, 5 ml, 7,5*12 ml, Saksa) asetettiin laitteeseen, joka annosteli 250 µl bakteeriliuosta jokaiseen näytteeseen. Mittaus tehtiin standardiluonnoksen ohjeen mukaan (ISO 2006).

Alkiopoikaskoe siialla

Siian alkiopoikasilla tehtiin yhdeksän vuorokautta kestävä toksisuuskoe toukokuussa 2007. Alkiopoikaset olivat kuoriutuneet edellisen illan ja yön aikana. Hankasalmen kalankasvattamo Hanka-Taimen Oy:ltä tuotuja alkiopoikasia pidettiin 10 °C puhtaassa vedessä (ts. samaa vettä, johon elutriaatit ja muut laimennossarjat valmistettiin) noin puoli tuntia ennen koeastioihin siirtämistä. Vatianjärven elutriaateista valmistettiin laimennossarjat. Elutriaateista tutkittavat pitoisuudet olivat samat kuin bioluminesenssin inhibitiokokeessa. Tutkimuksessa valmistettiin myös näyte positiiviselle kontrollille eli reteenille (ICN Biomedicals, 98 %, Yhdysvallat), liuotinkontrollille eli DMSO:lle (Rathburn Chemicals, HPLC Grade, Iso-Britannia) ja puhtaalle kontrollivedelle. Positiivisena kontrolliaineena käytettiin siis reteeniä (100µg/l), joka lisättiin veteen DMSO:hon liuotettuna. Vertailunäytteistä (Naarajärvi ja Keitele) valmistettiin

elutriaattilaimennokset vain kahdella eri pitoisuudella (50 ja 6,2 %). Jokaisessa rinnakkaiskokeessa oli 20 siikaa.

Elutriaattia mitattiin jokaiseen koeastiaan (Pyrex[®]-vuoka) 1000 ml, jolloin vesikerroksen paksuus oli noin 50 mm. Puolet (noin 500 ml) elutriaateista vaihdettiin joka toinen päivä (3, 5, ja 7 päivä). Veden vaihdon yhteydessä kaikista koeastioista kerättiin näytteet uuteaineiden pitoisuusmäärytyksiä varten. Joka toinen päivä (0, 2 ja 4 päivä) valmistettiin veden vaihtoa varten uudet elutriaatit, jotka uutettiin pitoisuusmäärytyksiä varten 24 h sisällä niiden valmistamisesta. Kokoomanäytteet kerättiin neljän vuorokauden osalta yhteen ja ne uutettiin myös 24 h tunnin sisällä. Poikkeuksena oli kokeen lopetuksessa kerätyt kokoomanäytteet, joista osa uutettiin vasta neljän vuorokauden kuluttua. Kaikkiin elutriaatteihin (joista tehtiin pitoisuusmäärytys) lisättiin välittömästi niiden ottamisen jälkeen sisäiset standardit ja niitä säilytettiin typpi-atmosfäärissä pimeässä 4 °C:ssa.

Koeolosuhteet pyrkivät jäljittelemään luonnonoloja. Käytettävä lämpötila oli 10±1 °C ja se tarkistettiin vähintään kerran päivässä. Lämpötilaan vaikutti vesien vaihdon yhteydessä mm. pitkäaikainen oleskelu huoneessa. Astioiden sijaintia koetilassa vaihdettiin vedenvaihtojen yhteydessä, jotta pienet lämpötilaerot eri puolella huonetta eivät olisi vaikuttaneet tuloksiin. Valorytmi oli noin 8/16 h (valo/pimeä). Kaikkien koevesien pH säädettiin 7,0±0,1 ennen kokeen aloitusta ja vesien vaihdon yhteydessä. pH mitattiin myös koeastioista aina veden vaihdon yhteydessä ja kokeen lopuksi. Lisäksi elutriaattien happipitoisuus ja sähkönjohtokyky mitattiin ennen kokeen aloittamista, veden vaihtojen yhteydessä ja kokeen lopetuksessa.

Kuolleisuus laskettiin kokeen päättymisen jälkeen (9 vrk), koska kokeen aikana se oli mahdotonta elutriaattien voimakkaan värin vuoksi. Alkiopoikasten käyttäytymisen seuraaminen oli myös värin vuoksi vaikeaa, mutta sitä tarkkailtiin etenkin kolmen ensimmäisen vuorokauden aikana.

Kokeen lopussa elossa olevat alkiopoikaset lopetettiin nukutusaineen (Samariini, Cedertroth AB) yliannostuksella, jonka jälkeen kuolleisuus laskettiin. Alkiopoikaset kestäväitään 10 % formaliiniliuoksella, jossa niitä pidettiin noin 24 h. Formaliiniliuos valmistettiin 900 ml:aan vettä, johon liuotettiin 4 g NaH₂PO₄ * H₂O (J. T. Baker, pro analyysi, Yhdysvallat), 8,15 g Na₂HPO₄ * 2H₂O (Merck, >99,5 %, Saksa) ja lopuksi lisättiin 100 ml 37 % formaldehydiliuosta (Sigma[®], 37 %, Yhdysvallat). Seuraavana

päivänä siat siirrettiin kestäväintiliuoksesta 70 % etanoliin (Etax Aa, Altia, 99,5 %). Etanoliin säilötyistä alkiopoikasista tutkittiin stereomikroskoopilla (Olympus SZ-ST, Japani) mahdollisia ruskuaispussitaudin epämuodostumia ja muita rakennepiirteitä. Näitä olivat erilaiset selkärangan kehityshäiriöt ja pään, silmien sekä leuan epämuodostumat. Selkärangan kehityshäiriöt jaettiin kolmeen eri luokkaan: lordoosi (notkoselkä), skolioosi (vinoselkä) ja kyfoosi (köyryselkä). Kehityshäiriöt voidaan jakaa useampaankin alaluokkaan, esimerkiksi skolioosi voi olla pyrstönpuoleinen tai vatsan alueella (Jeziarska ym. 2000), mutta tässä tutkimuksessa niiden jaottelu pidettiin yksinkertaisena asian helpottamiseksi. Myös Brzuzan ym. (2007) tutkimus ruskuaispussitaudin vaikutuksista siian alkiopoikasilla auttoi epämuodostumien tunnistamisessa. Lisäksi tutkittiin altistuksen vaikutuksia alkiopoikasten pituuskasvun ja pigmentaation voimakkuuteen.

2.4 Tilastolliset menetelmät ja spatiaalinen interpolointi

Tilastollisissa menetelmissä käytetty ohjelma oli SPSS[®] versio 14.0 (Statistical Product Service Solutions, Yhdysvallat). Pearsonin korrelaatiota käyttäen verrattiin sedimenttien kuiva-ainepitoisuuksien (k.a.) ja hehikutushäviönä (LOI) määritettyjen orgaanisen materiaalin (OM) pitoisuuksien eroja toisiinsa. Pearsonin korrelaatiota käyttäen verrattiin myös sedimenttien hartsihappojen ja reteenin sekä puusterolien ja betulinolin pitoisuuksien eroja toisiinsa ja OM:n pitoisuuksiin jokaisella näytealueella. Siian alkiopoikaskokeen kuolleisuuden esiintymistä tarkasteltiin Fisherin testillä ja epämuodostumien esiintymistä verrattiin kontrolliin χ^2 -riippumattomuustestillä. Lisäksi pituuksien keskiarvoja eri altistuspitoisuuksissa verrattiin kontrolliin Mann-Whitney U-testillä.

Sedimenttien pitoisuuksista FT Anssi Lensu teki spatiaalisen interpoloinnin (GIS, Geographic Information Systems) koko vesistöalueella. Käytetty ohjelma oli ArcGIS (Geostatistical Analysis Extencion) ja menetelmä Inverse Distance Weighting (IDW). Interpolointi tehtiin erikseen kahdesta ylimmästä sedimenttikerroksesta (0–2 ja 2–5 cm) sedimenteistä määritettyjen hartsihappojen ja puusterolien pitoisuuksilla. Tuloksessa on otettu huomioon kaikki näytealueet, vaikka tulos esitetään vain Kuhnamon ja Vatianjärven osalta. Menetelmässä kaikilla interpolointipisteillä (näytealueet) on painoarvo, jonka avulla menetelmä laskee etäisyyksien käänteisarvojen mukaiset painoarvot kaikilla etäisyyksillä interpolointipisteistä (Yhtälö 7). Etäisyyden käänteisarvoa laskettaessa pisteen painoarvo vähenee, kun etäisyys pisteeseen kasvaa (Shepard 1968). Tässä tapauksessa käytettiin

neliöllistä käänteisarvoa.

$$w_k(x) = 1/d(x,x_k)^p \quad (7)$$

Yhtälössä $w_k(x)$ = interpoloinnin painoarvo etäisyydellä x , x_k = tunnettu interpolointipiste, x = tuntematon piste, d = etäisyys x_k :sta, p = positiivinen tehollinen muuttuja (tässä käytetty muuttujan arvoa 2).

3 TULOKSET

3.1 Vesinäytteiden ominaisuudet

Vesinäytteet otettiin sedimenttinäytteenoton yhteydessä 23.4.–7.5.2007 (Taulukko 8). Silloin Äänekosken reitin järvien pH vaihteli välillä 6,5–7,1. Sähkönjohtokyvyssä oli suuria eroja ja se laski huomattavasti etäisyyden kasvaessa Äänekoskelta alavirtaan. Sähkönjohtavuus oli vertailualueilla matalin, ollen Keiteleessä 17,1 ja Naarajärvessä 18,8 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Kuhnamon pohjoisosassa, lähimpänä tehtaita, se kohosi noin kuusinkertaiseksi (112 $\mu\text{S}/\text{cm}$) vertailualueisiin nähden. Happipitoisuudet metrin korkeudella pohjasta vaihtelivat välillä 10,6–13,1 mg/l. Sedimentin ja veden rajapinnassa happipitoisuudet olivat pääsääntöisesti vain hieman vesifaasia alhaisempia (11,0–12,6 mg/l) ja vaihtelu oli näytealueiden kesken vähäisempää. DOC:n pitoisuus mukaili hyvin veden väriä: mitä tummempi vesi, sitä suurempi DOC-pitoisuus. On huomattava kuitenkin, että veden värin erot vertailualueiden välillä olivat suuret, sillä Keiteleen väri oli 20 mg Pt l⁻¹ ja Naarajärven 125 mg Pt l⁻¹. Ne siis yhdistyvät Kuhnamossa samaksi virraksi (ks. kuva 11 s. 38), jossa väri oli 60 mg Pt l⁻¹. Vesi kirkastui etäisyyden Äänekoskeen kasvaessa ja Leppävedessä väri oli enää 40 mg Pt l⁻¹.

Taulukko 8. Sedimenttien näytteenoton yhteydessä otettujen vesinäytteiden ominaisuudet metri pohjan yläpuolelta. Vesinäytteistä määritettiin sähkönjohtokyky, väri, pH, happipitoisuus (a = alusvesi, 1 m pohjan yläpuolelta ja b = sedimentti-vesi rajapinta) ja liennut orgaaninen hiili (DOC). Näytteenottoalueiden sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38).

Näytealue	pvm	syvyys (m)	lämpötila (C°)	pH	johtokyky (µS/cm)	väri (mg Pt l ⁻¹)	O ₂ (a) (mg/l)	O ₂ (b) (mg/l)	DOC (mg/l)
Kuhnamo									
1 km	7.5.07	19	7,0	6,5	111,7	60	11,8	11,3	
3,5 km	25.4.07	20	5,2	7,0	71,7	60	12,1	11,0	
4,5 km	25.4.07	16	5,2	7,0	46,3	60	12,2	11,7	
Vatianjärvi									
12 km	23.4.07	12	5,0	7,0	48,4	45	12,3	11,9	
15 km ^a	23.4.07	24	5,0	7,0	64,3	50	12,1	12,1	9,3
15 km ^b	23.4.07	7,5	5,3	7,0	61,2	50	12,6	12,3	
15 km ^c	23.4.07	4	5,6	7,1	60,0	50	10,6	12,2	
Leppävesi									
33 km	7.5.07	28	6,6	6,6	29,4	40	12,6	11,9	
Keitele									
-5 km	23.4.07	29	3,6	6,9	17,1	20	13,1	12,6	6,6
Naarajärvi									
-8,5 km	25.4.07	25	5,1	6,6	18,8	125	11,8	11,3	12,8

3.2 Sedimenttinäytteet, haitta-aineet ja niiden pitoisuudet

Äänekosken reitin sedimenttien rakenne

Sedimenttien rakenteen ja värin silmin nähtäviä eroja verrattiin kerätyistä Kajak- ja Ekman-näytteistä (Kuva 15; Liite1). Vertailualueiden sedimenttinäytteet poikkesivat toisistaan suuresti rakenteeltaan ja koostumukseltaan (Kuva 16). Naarajärven näyte oli hienoa ja pienistä partikkeleista koostuvaa, ja laskeuduttuaan se pakkaantui tiiviiksi. Keiteleen näyte taas oli rakenteeltaan kaikista muista poiketen partikkelikooltaan suurempaa. Myös värierot olivat huomattavat vertailualueiden sedimenteissä. Naarajärven

näyte oli kauttaaltaan ruskeaa. Keiteleen näytteen pinta (n. 4 cm) oli sävyltään voimakkaan karmiininpunainen, mutta muuten vallitseva väri oli harmaanruskea ja sedimenttipartikkelit olivat selvästi rakeisia. Noin 15 cm:n jälkeen Keiteleen sedimentti oli tiiviimpää, partikkelikooltaan pienempää ja väriltään ruskeampaa. Kaiken kaikkiaan Keiteleen sedimentti oli selkeästi löysempää, eikä pakkaantunut samalla tavoin kuin Naarajärven sedimentti, mikä ilmeisesti johtui suuremmasta partikkelikoosta.

a)



b)



Kuva 15. a) Kajak-näyte b) Ekman-näyte. Kuvat ovat Vatianjärvestä (näytealue 15 km^a).

a)



b)



Kuva 16. Vertailualueiden viipaloitujen sedimenttinäytteiden partikkelikokojen erot (suurennos n. 5,5-kertainen alkuperäisestä kuvakoosta) a) Keitele b) Naarajärvi.

Kuhnamon näytteet olivat toisistaan ja kaikista muista tutkittavista sedimenteistä poikkeavia. Tehdasta lähinnä (1 km) sedimentti oli hienoa ja kevytrakenteista, ja sen laskeutuminen oli hidasta. Sedimentti oli 20 cm syvyyteen lähes musta, eikä kerrostuneisuutta ollut havaittavissa. Näyte haisi voimakkaasti rikkivedylle ja siitä havaittiin myös metaanipurkauksia Kajak-putkessa. Kuhnamosta 3,5 km:n päässä tehtaasta otetussa näytteessä oli hieman kerrostuneisuutta, ts. pintakerros (n. 2 cm) erottui muista kerroksista ja se oli hieman punertavan ruskea. Muilta osin sedimentti oli pääasiassa tummanruskea, mutta harmaamustan sävyä esiintyi yhä enemmän syvemmälle mentäessä. Rikkivedyn haju oli näytteessä edelleen voimakas, mutta ei läheskään yhtä pistävä kuin yhden kilometrin päässä tehtaasta otetussa näytteessä. Kuhnamosta 4,5 km:n etäisyydeltä tehtaasta otettu näyte oli pituudeltaan noin 12 cm, josta vain osa oli orgaanista sedimenttiä ja suuri osa savea tai hiekkaa. Näyte, joka alueelta saatiin, oli ilmeisesti täysin sattumanvarainen sillä, koko alueen havaittiin olevan kauttaaltaan kovapohjainen ja näin sedimenttinäytteenotto käytössä olevilla laitteilla ei ollut mahdollista. Lisäksi Kuhnamossa havaittiin kaikuluotaimella useita puita järven pohjassa ja joitakin puita näkyi osittain vedenpinnan yläpuolellakin.

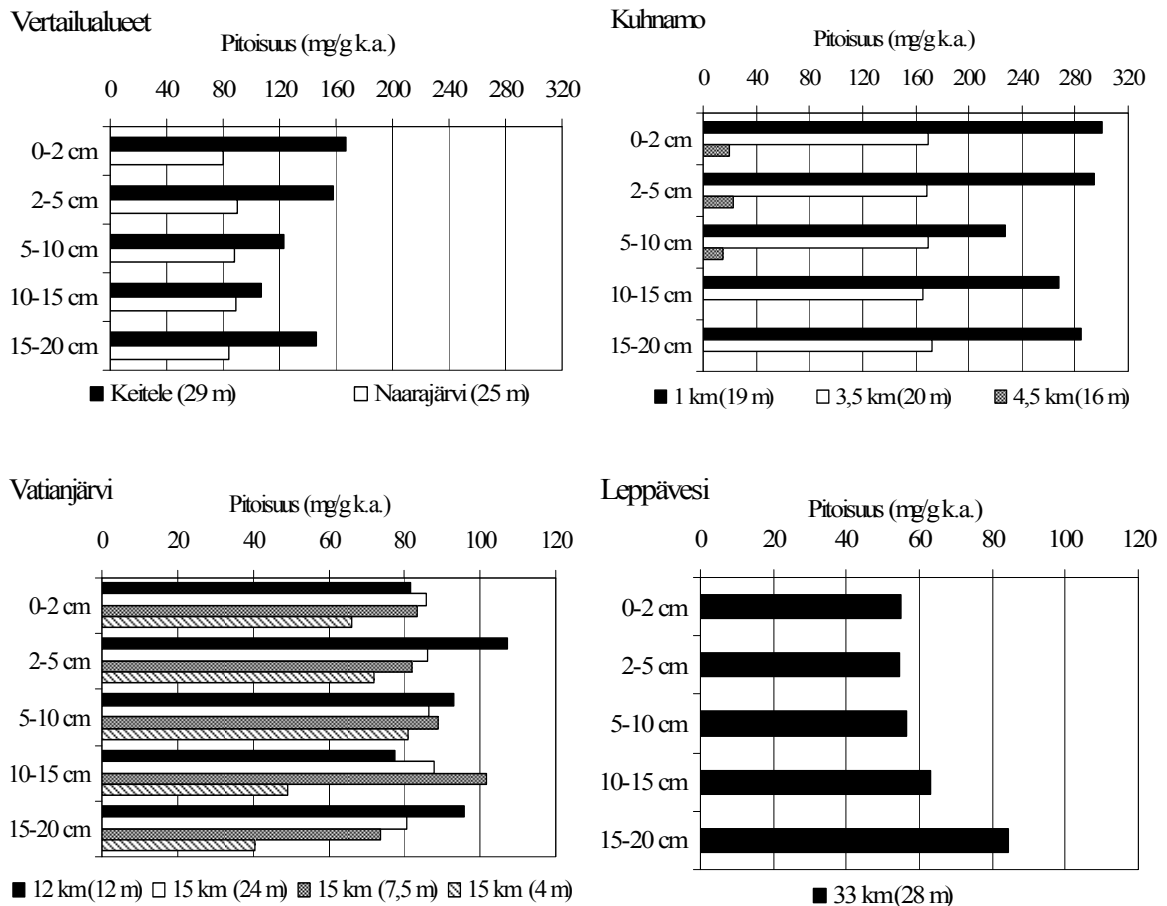
Vatianjärven näytteet olivat rakenteeltaan ja väriltään enemmän Naarajärven kuin Keiteleeseen sedimentin kaltaisia (ks. kuva 16 ja liitteen 1 kuva 51 i ja j). Kaikissa pinta (n. 2 cm) oli hieman oranssinpunertava (Kuva 15). Syvemmältä sedimentti oli ruskeaa tai tummanruskeaa ja toisin paikoin esiintyi harmaanmustaa väriä (ks. esim. liitteen 1 kuva 56 c). Ruskean eri sävyt vaihtelivat hieman näytteenotto paikasta riippuen. Kaikki Vatianjärven näytteet eivät olleet aivan 20 cm syvyyteen saakka, sillä näytteenottoa vaikeutti vallitseva kova tuuli. Noin 15 cm syvyyteen näytteet olivat kuitenkin kolmena rinnakkaisena.

Leppäveden näyte oli Vatianjärven näytteiden kaltainen niin rakenteeltaan kuin väritykseltäänkin (ks. kuva 51 b). Leppäveden kokoomanäyte oli poikkeuksellisesti viidestä rinnakkaisesta koottu.

Sedimenttien kuiva-aine ja orgaaninen materiaali

Kuiva-ainepitoisuudet ja hehikutushäviönä (LOI) määritetty orgaanisen materiaalin (OM) osuus kuiva-aineesta (Kuva 17, Liite 4) vaihtelivat etäisyyden mukaan Äänekoskelta etelään. Vertailujärvien kuiva-ainepitoisuuksissa ja LOI:n pitoisuuksissa oli suuri ero

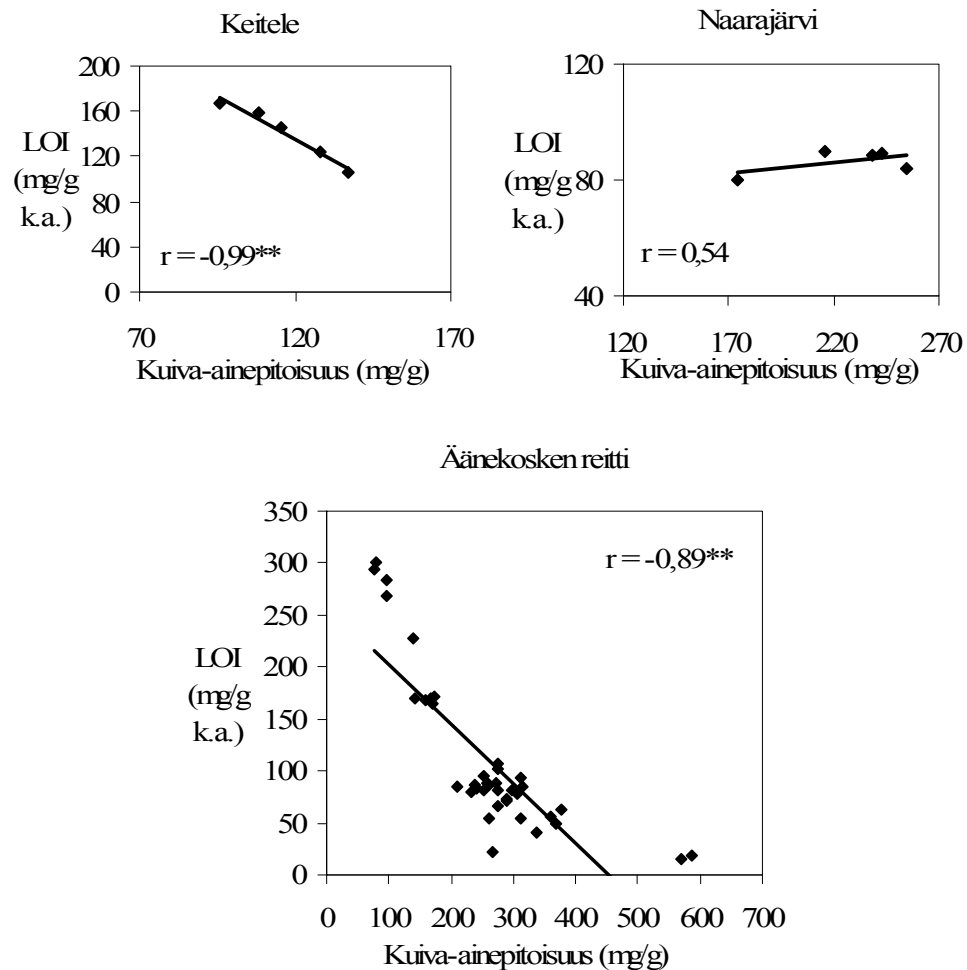
toisiinsa nähden, sillä Keiteleen sedimentti oli vesipitoisempaa ja sen orgaanisen aineen osuus oli keskimäärin 40 % suurempi kuin Naarajärven sedimentin. Myös niiden kuiva-ainepitoisuuden ja LOI:n välinen vertailu osoitti ne erilaisiksi, sillä Keiteleessä pitoisuuksien välillä oli Pearsonin korrelaatiotestin mukaan erittäin merkitsevä negatiivinen korrelaatio ($r=-0,99$; $p<0,01$; $n=5$) ja Naarajärven sedimentissä se oli positiivinen ja melko voimakas, mutta ei merkitsevä (Kuva 18).



Kuva 17. Hehkutushäviönä (LOI) mitatut orgaanisen materiaalin (OM) pitoisuudet (mg/g k.a.) sedimenttinäytteissä kuiva-ainetta kohti. Näytteenottosyvyydet on ilmoitettu suluissa. Näytteenottoalueiden sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38).

Yleisilmeeltään Äänekosken reitin sedimenttien kuiva-ainepitoisuus lisääntyi etäisyyden kasvaessa. Vastaavasti etäisyyden kasvaessa LOI:n määrä väheni. Kuiva-ainepitoisuuksilla olikin Keiteleen tavoin erittäin merkitsevä negatiivinen korrelaatio ($r=-0,89$; $p<0,01$; $n=38$) LOI:n pitoisuuksien kanssa Äänekosken reitin sedimentissä (Kuva 18). Kuhnamon sedimentissä LOI:n pitoisuus laski nopeasti, sillä kilometrin etäisyydellä se oli keskimäärin

275 mg/g, kun taas 3,5 km:n etäisyydellä se oli noin 60 % kilometrin etäisyyden tasosta. Vatianjärven kaikilla näytealueilla LOI:n pitoisuus (noin 85 mg/g) sedimentissä oli noin 30 % verrattuna pitoisuustasoon kilometrin etäisyydellä tehtaista.



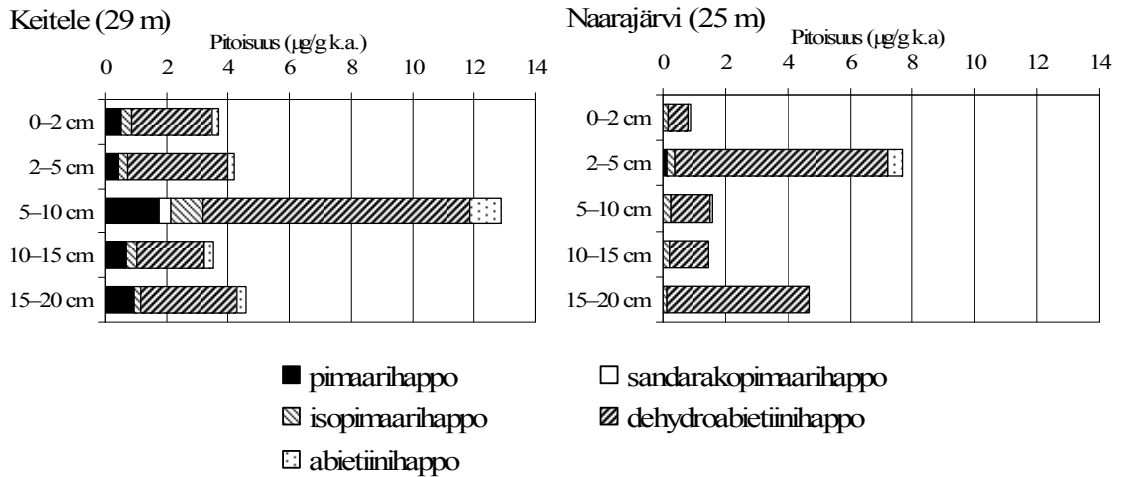
Kuva 18. Sedimenttien kuiva-aineen ja hehkutushäviönä (LOI) määritetyn orgaanisen aineen (OM) pitoisuuksien (mg/g k.a.) vertailu Pearsonin korrelaatiotestillä ($p < 0,01^{**}$). Vertailualueiden (Keitele ja Naarajärvi) $n=5$ ja Äänekosken reitin (Kuhnamo, Vatianjärvi ja Leppävesi) $n=38$. Näytteenottoaikojen sijainnit ja syvyudet on esitetty ss. 38–39 (Kuva 11; Taulukko 7).

Hartsihapot ja reteeni sedimenteissä

Hartsihapot

Sedimenttianalyseissä pitoisuudet on laskettu kaikissa määrittelyissä kuiva-ainetta kohti (k.a.). Hartsihapoista havaittiin dehydroabietiinihapon (DHAA) olevan runsain (keskimäärin 66 %). Lähes kaikissa näytteissä oli abietiini-, pimaari-, isopimaari-,

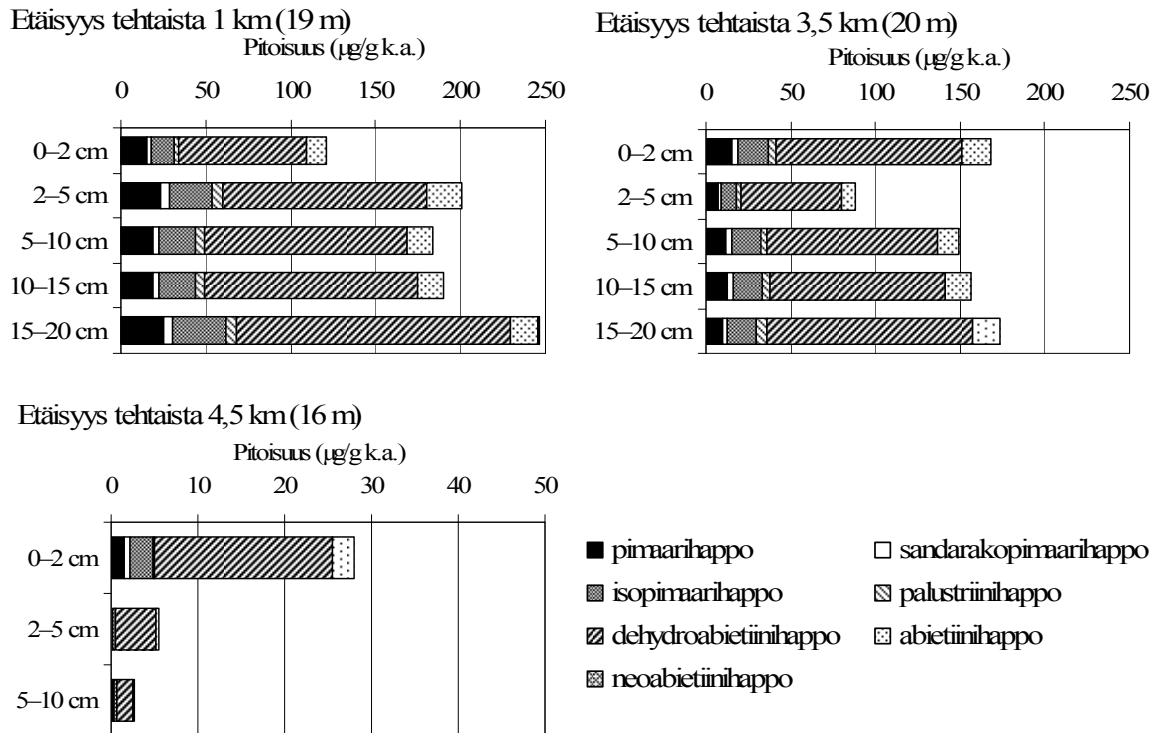
sandarakopimaari- ja palustriinihappoa. Muutamassa Kuhnamon näytteessä oli myös pieni määrä neoabietiinihappoa. Levopimaarihappoa ei näytteistä tunnistettu, sillä retentioajalla, jolla se ilmenee, oli lähes kaikissa näytteissä tunnistamaton yhdiste, jonka alle se ilmeisesti on jäänyt.



Kuva 19. Vertailualueiden (Keitele ja Naarajärvi) hartsihappopitoisuudet ($\mu\text{g/g k.a.}$) sedimentin eri syvyyksissä. Näytteenottoalueen syvyys on ilmoitettu suluissa ja sijainnit on esitetty s. 38 (Kuva 11).

Vertailunäytteissä hartsihappopitoisuudet (Kuva 19, Liite 3) olivat korkeimmillaan Keiteleen näytteessä 5–10 cm:n syvyydessä sedimentissä, jossa kokonaispitoisuus oli $12,9 \mu\text{g/g}$. Naarajärven suurin kokonaispitoisuus $7,7 \mu\text{g/g}$ oli 2–5 cm:n syvyydessä. Keiteleen sedimentissä esiintyi pimaari- ja abietiinihappoa suhteessa enemmän kuin Naarajärven näytteessä, ja myös sandarakopimaarihappoa, jota ei Naarajärven sedimentissä havaittu.

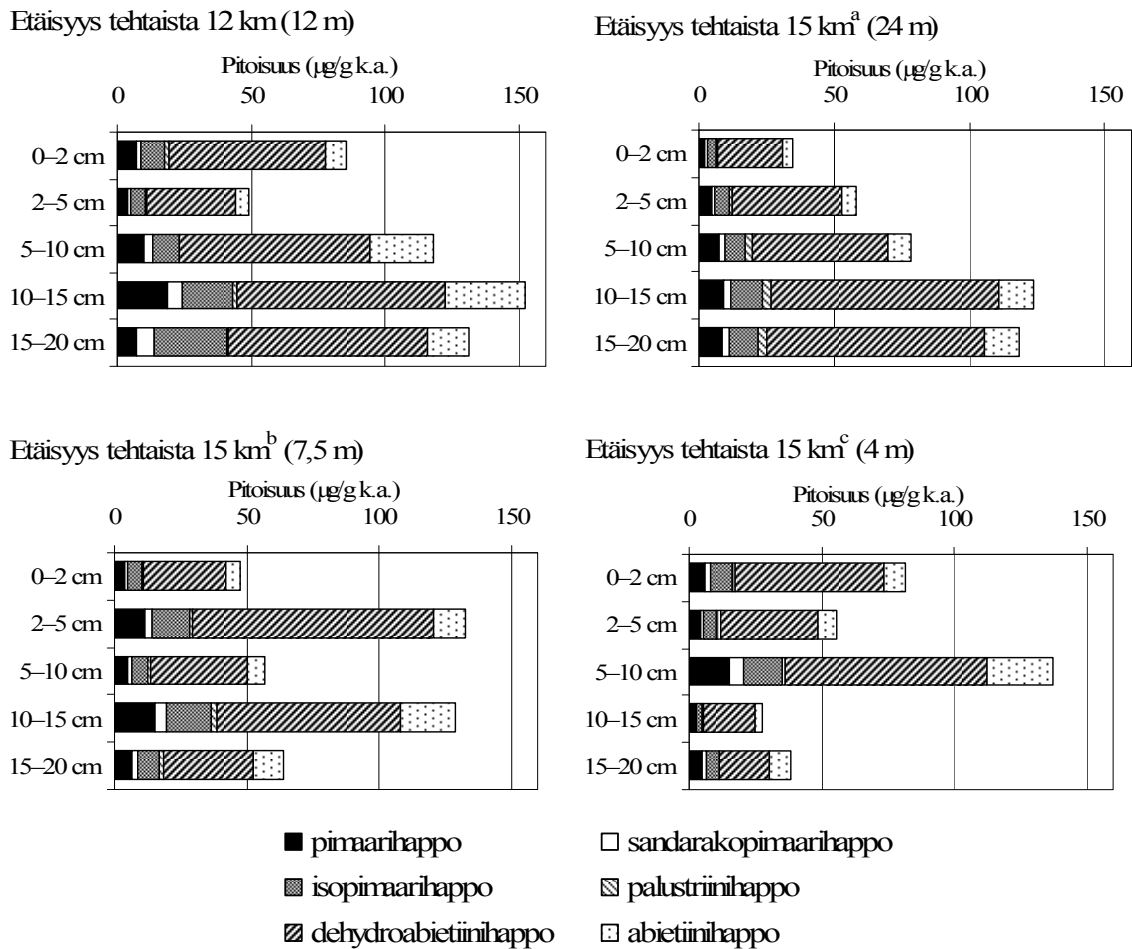
Kuhnamosssa havaittiin tutkimuksen suurimmat hartsihappopitoisuudet (Kuva 20, Liite 3). Suurin kokonaispitoisuus oli $249 \mu\text{g/g}$, joka mitattiin yhden kilometrin etäisyydellä tehtaista 15–20 cm:n syvyydessä. Suurin pitoisuus sedimentissä 3,5 km:n etäisyydellä oli $174 \mu\text{g/g}$ 15–20 cm:n syvyydessä, mutta se oli lähes yhtä korkea ($168 \mu\text{g/g}$) pintasedimentissä. Alhaisin pitoisuus ($88 \mu\text{g/g}$) oli 2–5 cm:n syvyydessä. Kuhnamosssa 4,5 km:n päässä tehtaista pitoisuudet olivat alhaiset, muttei vertailukelpoiset, sillä näytealue oli kovapohjaista ja mineraalipitoista. Analysoitu yksittäinen näyte oli suurelta osin hiekan ja saven seosta, mikä näkyy myös kuiva-aineen ja orgaanisen materiaalin (OM) pitoisuudessa (Kuva 17).



Kuva 20. Kuhnamon hartsihappopitoisuudet ($\mu\text{g/g}$ k.a.) sedimentin eri syvyyksissä. Näytteenottoalueiden syvyyydet on ilmoitettu suluissa ja sijainnit on esitetty s. 38 (Kuva 11).

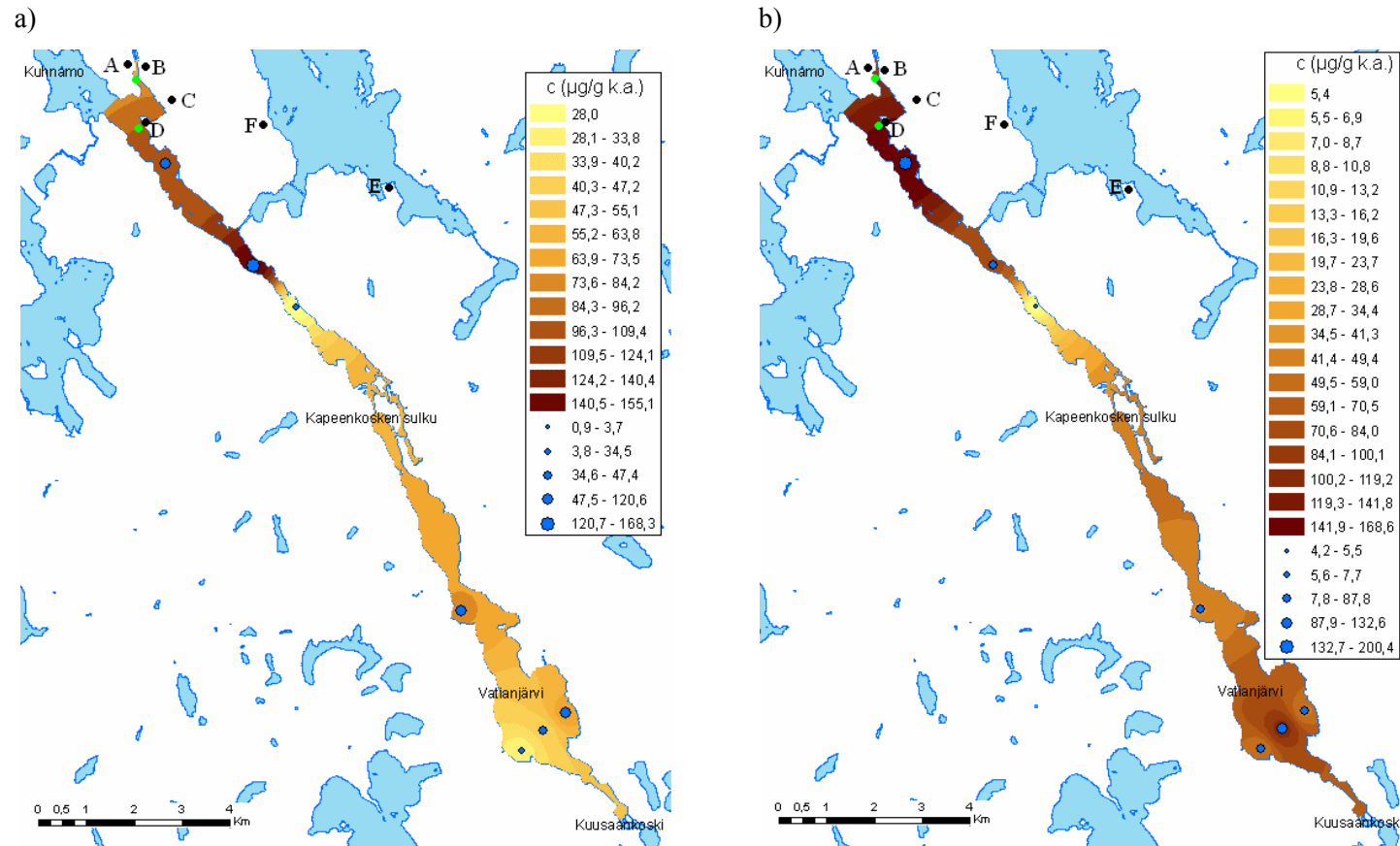
Vatianjärven sedimenttinäytteiden hartsihappopitoisuuksien syvyysprofiilit olivat toisistaan poikkeavia (Kuva 21). Äänekoskelta alavirtaan 12 km:n päässä tehtailta sedimentin hartsihappojen syvyysprofiili oli samantyylinen kuin 15 km^a:n etäisyydeltä otetun sedimenttinäytteen, mutta kaksi muuta 15 km:n näytettä poikkesivat näistä ja toisistaan. Vatianjärven sedimenteissä suurin pitoisuus oli 152 $\mu\text{g/g}$ (Kuva 21, Liite 3) ja se havaittiin 12 km:n päässä tehtaista 10–15 cm:n syvyydestä. Noin 15 km:n etäisyydellä suurin pitoisuus oli jokaisella kolmella osa-alueella samaa tasoa ja noin 16-kertainen Naarajärven ja 10-kertainen Keiteleeseen suurimpaan pitoisuuteen verrattuna. Näytteenotto paikan sijainti järvioltaassa (ks. kuva 11 s. 38) ja näytteenottosyvyys (ks. taulukko 7 s. 39) ovat saattaneet vaikuttaa pitoisuusvaihteluihin 15 km osa-alueiden kesken. Sedimentissä 15 km^c:n etäisyydellä tehtaista oli korkein pitoisuus 138 $\mu\text{g/g}$, joka mitattiin 5–10 cm:n syvyydestä. Vatianjärvessä 15 km^b tehtaista alavirtaan suurin pitoisuus (133 $\mu\text{g/g}$) oli 2–5 cm:n syvyydessä. Järven syvimältä kohdalta 24 metristä (15 km^a) otetussa näytteessä korkein pitoisuus (124 $\mu\text{g/g}$) 10–15 cm:n syvyydessä sedimentissä oli noin puolet Kuhnamon suurimmasta pitoisuudesta kilometri Äänekoskelta alavirtaan. Vatianjärven alhaisin hartsihappopitoisuus oli (28 $\mu\text{g/g}$) noin kolminkertainen Naarajärven

korkeimpaan pitoisuuteen verrattuna ja se mitattiin 15 km^c:n etäisyydeltä 10–15 cm:n syvyydestä sedimentissä.



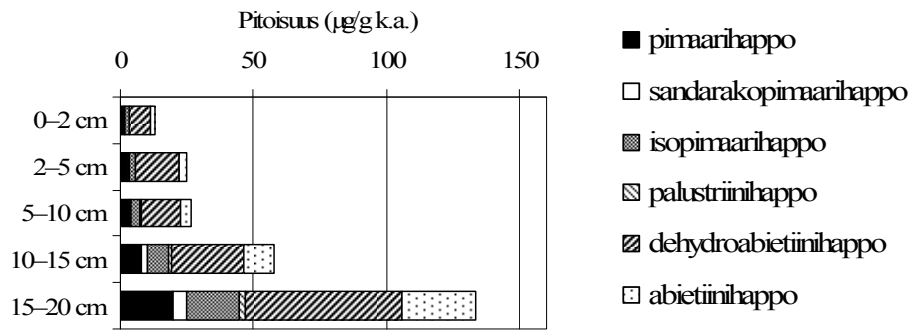
Kuva 21. Vatianjärven sedimenttien hartsihappopitoisuudet (µg/g k.a.) eri syvyyksissä. Näytealueiden syvyydet on ilmoitettu suluisissa ja sijainnit kuvassa 11 (s. 38).

Leppäveden sedimenttinäytteissä oli syvyyssuunnassa selkeä kasvava suuntaus (Kuva 22 s. 60, Liite 3). Pintakerroksen hartsihappopitoisuus (13µg/g) oli Keiteleen sedimentin korkeimman pitoisuuden luokkaa (Kuva 19). Pitoisuudet suurenivat syvemmälle sedimenttiin mentäessä ja 15–20 cm:n syvyydellä se oli korkein, 133 µg/g. Tämä on Vatianjärven sedimenttinäytteiden korkeimpien pitoisuuksien tasolla ja siksi mielenkiintoinen, vaikka etäisyys tehtaisiin on yli kaksinkertainen Vatianjärven etäisyyteen verrattuna.



Kuva 23. Spatiaalinen interpolointi sedimentinäytteiden hartsihappopitoisuuksista Kuhnämossa ja Vätianjärvessä. Interpolointi a) on 0–2 cm ja b) 2–5 cm:n syvyydestä. Kuvassa on merkitty tuotantolaitokset: A = M-Real Paper, B = M-Real Board ja puhdistamo 1, C = Metsä-Botnian sellutehdas, D = Metsä-Botnian biologinen puhdistamo (vieressä myös Äänekosken yhdyskuntajätevedenpuhdistamo), E = Finnforest Oyj:n vaneritehdas ja F = Valion meijeri. Karttaan on merkitty vihreillä pallolla puhdistamoiden jätevedenpurkupaikat. Sinisellä merkityt alueet kuvaavat interpolointiin käytettyjä näyte-alueita ja niitä vastaavat pitoisuudet sedimentissä on merkitty koon mukaan (µg/g k.a.) (pohjakartta-aineisto C, Maanmittauslaitos lupanro. 51/MML/08).

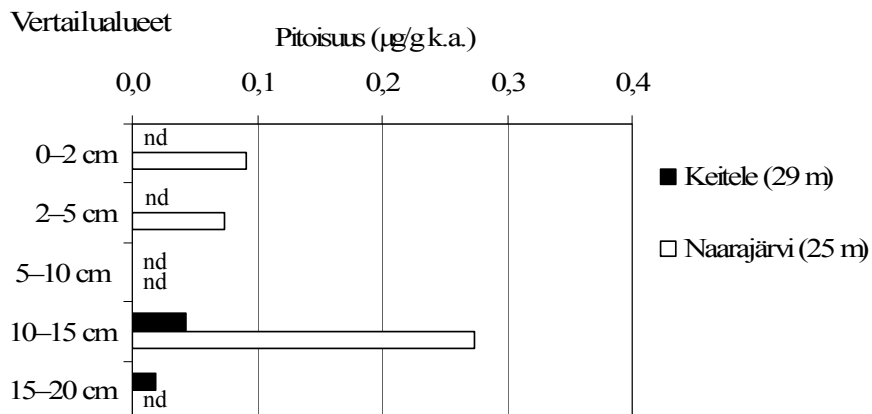
Etäisyys tehtaista 33 km (28 m)



Kuva 22. Leppäveden hartsihappopitoisuudet ($\mu\text{g/g}$ k.a.) sedimentin eri syvyyksissä 33 km:n etäisyydellä tehtaasta ja 28 m:n syvyydestä (Kuva 11 s. 38).

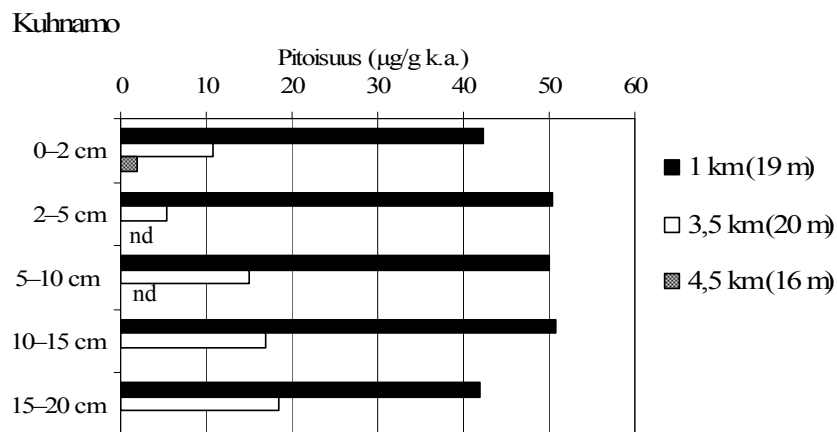
Hartsihappopitoisuuksilla tehtiin spatiaalinen interpolointi erikseen kahdesta ylimmästä sedimenttikerroksesta (0–2 cm ja 2–5 cm) (Kuva 23). Interpolointi ennustaa pitoisuuksien jakaantumisen Kuhnamossa ja Vatianjärvessä myös alueille, joilta pitoisuuksia ei määritetty. Pintakerroksessa hartsihappojen pitoisuuksien lasku oli selkeä etäisyyden Äänekoskeen kasvaessa. Alemmassa kerroksessa (2–5 cm) hartsihappojen jakaantumisessa oli selkeä ero pintakerrokseen verrattuna, eikä pitoisuuksien lasku ollut yhtä voimakas kuin pintakerroksessa. Itse asiassa alemman kerroksen pitoisuudet Vatianjärvessä olivat samaa suuruusluokkaa (noin $80 \mu\text{g/g}$) kuin pintakerroksen pitoisuudet tehtaiden lähialueella Kuhnamossa (noin 3 km:n etäisyydellä tehtaista).

Reteeni



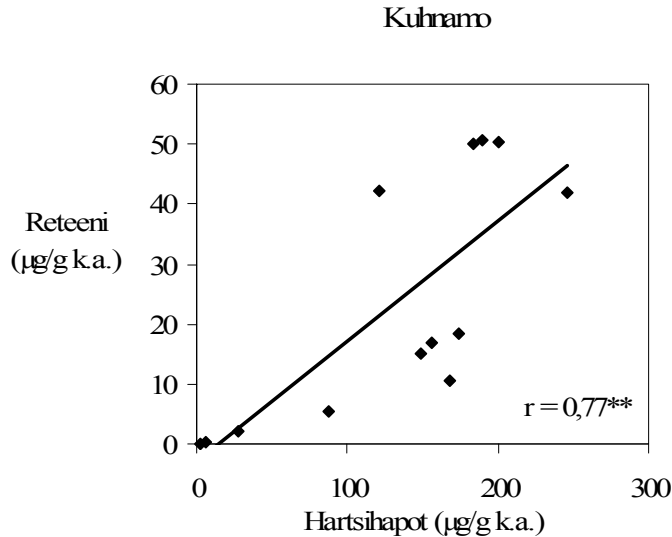
Kuva 24. Vertailualueiden (Keitele ja Naarajärvi) reteenipitoisuudet ($\mu\text{g/g}$ k.a.; $\text{LOD} \leq 0,02 \mu\text{g/l}$; nd = ei havaittu) sedimentin eri syvyyksissä. Näytealueiden syvyydet on ilmoitettu suluissa ja sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38).

Vertailujärvien suurin reteenipitoisuus oli 0,27 µg/g (Kuva 24, Liite 3). Se mitattiin Naarajärven näytteestä sedimentin syvyydessä 10–15 cm. Naarajärven sedimentistä havaittiin (toteamisraja $LOD \leq 0,02 \mu\text{g/g}$) kolmessa kerroksessa reteeniä ja Keiteleellä vastaavasti kahdessa. Reteenipitoisuus oli korkeampi Naarajärvessä kuin Keiteleessä. Tämä johtui ilmeisesti luontaisesta happipitoisuuksien erosta näiden järvien välillä, sillä reteenin muodostuminen hartsihapoista on riippuvaista sedimentin happipitoisuudesta (Tavendale ym. 1997).

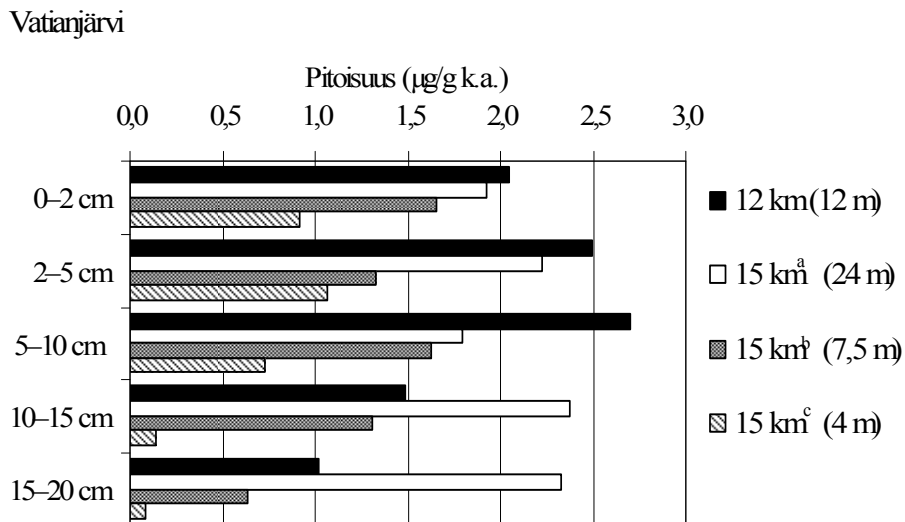


Kuva 25. Kuhnamon reteenipitoisuudet (µg/g k.a.; $LOD \leq 0,02 \mu\text{g/g}$; nd = ei havaittu) sedimentin eri syvyyksissä. Näytteenottoalueiden syvyydet on ilmoitettu suluissa ja sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38).

Kuhnamon sedimentistä mitattiin tämän työn suurimmat reteenipitoisuudet ja yhden kilometrin etäisyydellä tehtaista ne olivat hyvin tasaiset kaikissa sedimentin kerroksissa, kuten olivat hartsihappopitoisuudetkin (ks. kuva 20 s. 57). Reteenipitoisuudet vaihtelivat välillä 41–52 µg/g ja korkeimmillaan se oli 2–15 cm:n syvyydellä sedimentissä (Kuva 25). Tehtailta 3,5 km alavirtaan reteenipitoisuus vaihteli 5,4–18,4 µg/g välillä ja laski siten noin kolmasosaan verrattuna pitoisuuksiin kilometri tehdasalueelta. Pitoisuudet kohosivat hieman syvemmällä sedimentissä ja suurin pitoisuus oli 15–20 cm:n syvyydessä. Kun reteenin ja hartsihappopitoisuuksien välisiä eroja tarkasteltiin Pearsonin korrelaatiotestillä, korreloivat ne Kuhnamossa positiivisesti ja erittäin merkitsevästi ($r=0,77$; $p<0,01$; $n=13$; Kuva 26, Liite 5).



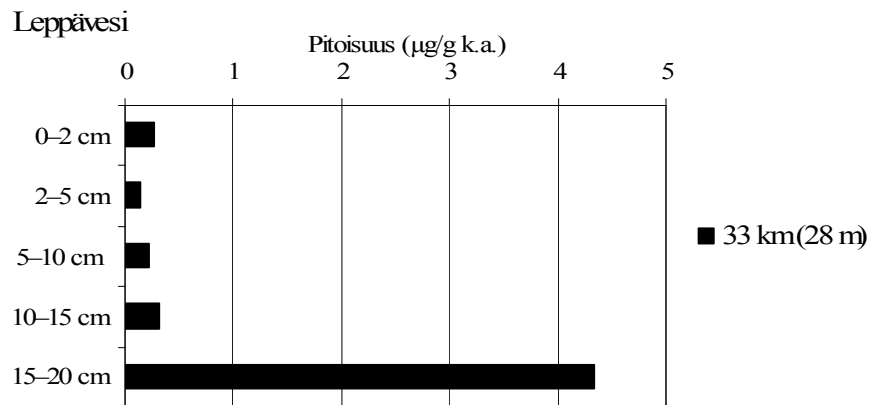
Kuva 26. Kuhnamon (näytealueet: 1 km, 3,5 km ja 4,5 km) sedimentin hartsihappo- ja reteenipitoisuuksien ($\mu\text{g/g k.a.}$) vertailu Pearsonin korrelaatiotestillä ($n=13$; $p<0,01^{**}$). Näytteenottoalueiden sijainnit ja syvyydet on ilmoitettu kuvassa 11 (s. 38) ja taulukossa 7 (s. 39).



Kuva 27. Vatianjärven reteenipitoisuudet ($\mu\text{g/g k.a.}$) sedimentin eri syvyyksissä. Näytealueiden syvyydet on ilmoitettu suluissa ja sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38).

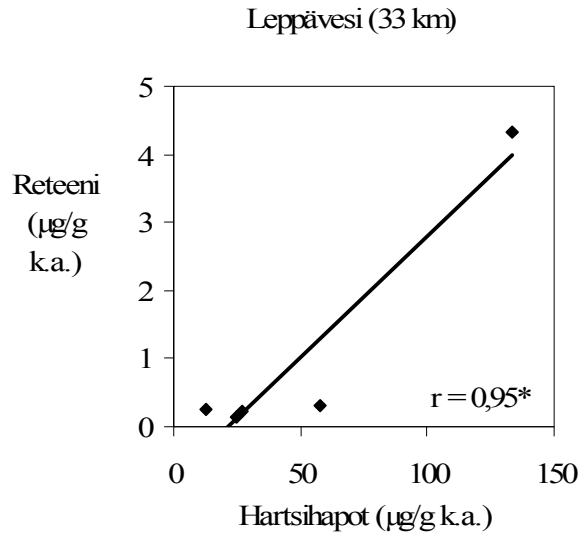
Vatianjärven reteenipitoisuudet olivat Kuhnamon pitoisuuksiin verrattuna alhaisia ja vaihtelivat välillä $0,08\text{--}2,7 \mu\text{g/g}$ (Kuva 27). Suurin pitoisuus mitattiin 5–10 cm:n syvyydessä sedimentissä järven pohjoispäästä 12 km Äänekoskelta alavirtaan. Alhaisin pitoisuus ($0,08 \mu\text{g/g}$) oli ylävirran vertailualueiden pitoisuuksien tasolla ja se havaittiin 15 km^c :n etäisyydellä tehtaista 15–20 cm:n syvyydessä sedimentissä. Vatianjärven sedimentin hartsihappo- ja reteenipitoisuuksien välillä oli positiivinen korrelaatio ($r=0,19$; $p=0,43$;

n=20), mutta se ei ollut tilastollisesti merkitsevä toisin kuin Kuhnamosssa. Yksittäisillä Vatianjärven näytealueillaakaan hartsihappojen ja reteenin väliset korrelaatiot eivät olleet merkitseviä (Liite 5). Mielenkiintoista Vatianjärven riippuvuuksissa oli yksittäisten näytealueiden väliset erot toisiinsa verrattuna, sillä kahdella näytealueella (15 km^a ja 15 km^c) korrelaatio oli positiivinen ja kahdella (12 km ja 15 km^b) se oli negatiivinen (Liite 5).



Kuva 28. Leppäveden reteenipitoisuudet (µg/g k.a.) 33 km:n päässä tehtaista sedimentin eri syvyyksissä. Näytteenottoalueen syvyys on ilmoitettu suluissa ja sijainti ilmenee kuvasta 11 (s. 38).

Leppäveden reteenipitoisuudet 0–15 cm:n syvyydessä sedimentissä olivat välillä 0,14–0,32 µg/g, ts. ylävirran vertailupitoisuuksien tasolla (Kuva 28). Syvemmillä sedimentissä, 15–20 cm:n syvyydessä pitoisuus oli moninkertainen (4,33 µg/g) Leppäveden sedimentin muihin syvyyksiin verrattuna ja kaksinkertainen Vatianjärven suurimpaan pitoisuuteen (2,7 µg/g) verrattuna. Reteenipitoisuusprofiili Leppäveden sedimentissä mukailee hartsihappojen pitoisuusprofiilia, ts. molemmissa pitoisuudet kasvavat syvemmälle sedimenttiin (Kuva 22). Pitoisuuksien välinen korrelaatio olikin positiivinen ja Kuhnamon tavoin tilastollisesti merkitsevä ($r=0,95$; $p<0,05$; $n=5$; Kuva 30; Liite 5).



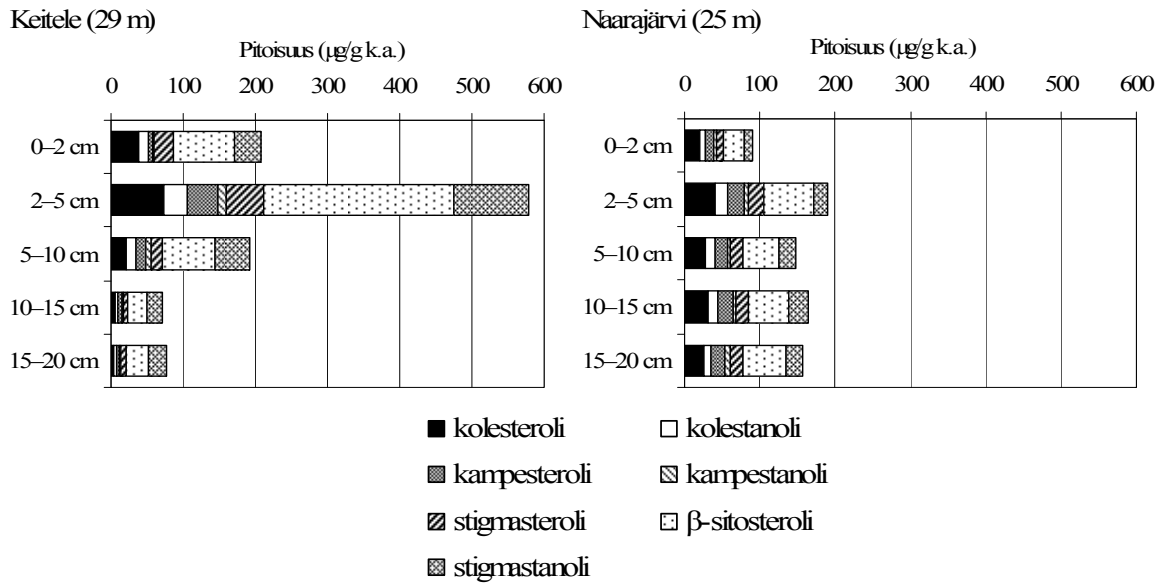
Kuva 29. Leppäveden sedimentin hartsihappo- ja reteenipitoisuuksien ($\mu\text{g/g k.a.}$) vertailu Pearsonin korrelaatiotestillä ($n=5$; $p<0,05^*$). Näytteenottoalueen sijainti ja syvyys on ilmoitettu kuvassa 11 (s. 38) ja taulukossa 7 (s. 39).

Puusterolit ja betulinoli sedimenteissä

Puusteroleista yleisin oli β -sitosteroli (keskimäärin 36 % kokonaispitoisuudesta). Myös stigmastanolia, kampesterolia, kampestanolia ja stigmasterolia oli lähes kaikissa näytteissä. Sedimenteistä mitattiin lisäksi yleisesti kasveissa ja eläimissä esiintyvät kolesterolin ja kolestanolin pitoisuudet sekä koivun kuoresta lähtöisin olevan betulinolin pitoisuudet (ks. alkaen s. 70; Sjöström 1993).

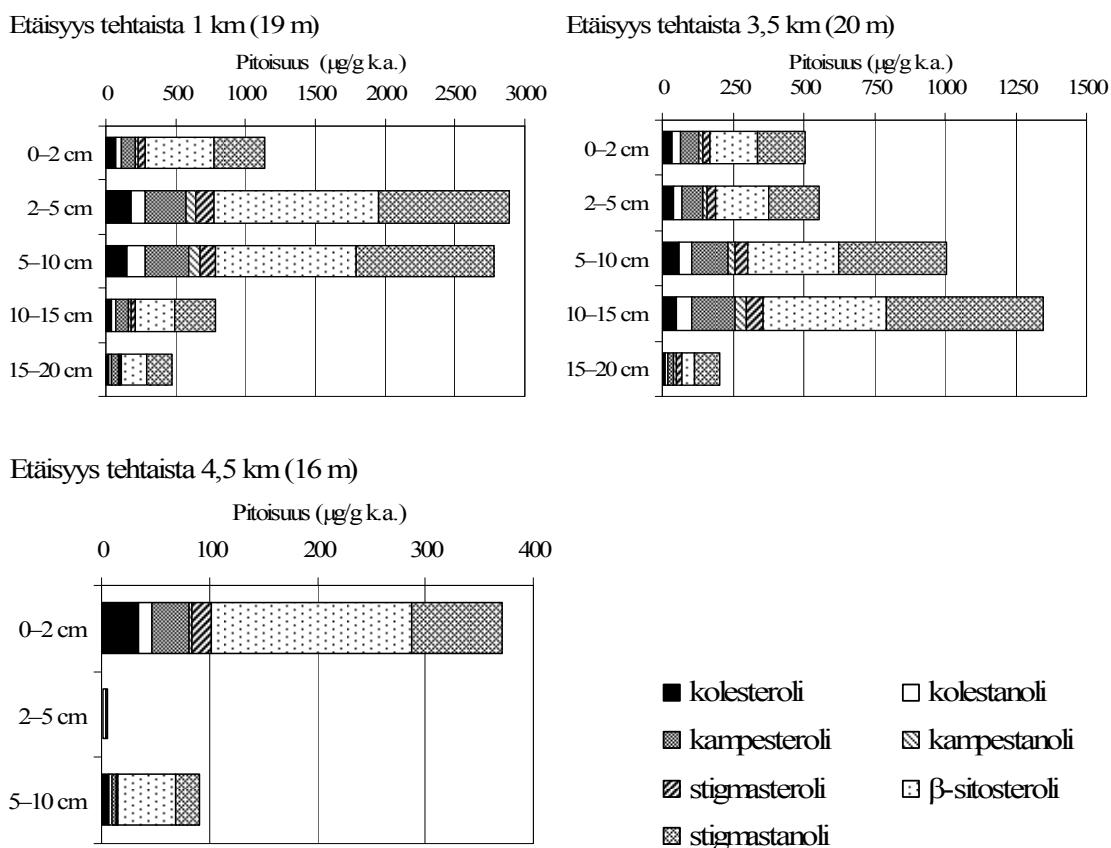
Puusterolit

Vertailualueiden puusterolipitoisuudet (Kuva 30) olivat kaiken kaikkiaan aika korkeat verrattuna esimerkiksi Lahdelman & Oikarin (2006) tekemiin mittauksiin Lappeenrannan tehtaan ylävirran vertailualueen (korkeintaan $50 \mu\text{g/g k.a.}$) sedimentissä. Naarajärnessä pitoisuudet vaihtelivat välillä $90\text{--}191 \mu\text{g/g}$ ollen kuitenkin melko tasaiset verrattuna Keiteleen suurimpaan pitoisuuteen ($578 \mu\text{g/g}$) sedimentin syvyydessä 2–5 cm. Alhaisin Keiteleen pitoisuus oli $66 \mu\text{g/g}$ sedimentin syvyydellä 10–15 cm.



Kuva 30. Vertailualueiden (Keitele ja Naarajärvi) sedimenttien puusterolipitoisuudet ($\mu\text{g/g k.a.}$) eri syvyyksissä. Näytteenottoalueiden syvyydet on ilmoitettu suluissa ja sijainnit on esitetty s. 38 (Kuva 11).

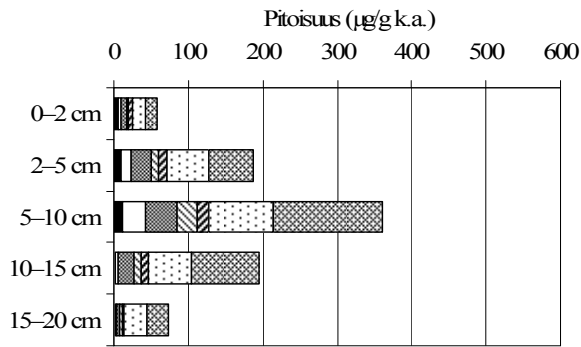
Tehtaiden jätevesiä vastaanottavassa järvessä Kuhnamosssa mitattiin kilometrin etäisyydellä tutkimuksen suurin kokonaissterolipitoisuus ($2886 \mu\text{g/g}$) sedimentin syvyudessa 2–5 cm (Kuva 31, Liite 3). Toiseksi suurin pitoisuus oli $2779 \mu\text{g/g}$ 5–10 cm:n syvyudessa ollen noin 15-kertainen Naarajärven korkeimpaan pitoisuuteen verrattuna. Yllättävää tuloksissa oli puusterolipitoisuuksien voimakas pieneneminen syvemmälle sedimenttiin mentäessä, sillä 15–20 cm:n syvyudessa kokonaispitoisuus oli vain $476 \mu\text{g/g}$. Tilanne kuitenkin muuttui lyhyellä matkalla, sillä tehtailta 3,5 km alavirtaan suurin pitoisuus ($1349 \mu\text{g/g}$) havaittiin 10–15 cm:n syvyudessa sedimentissä ja se oli noin puolet kilometrin etäisyyden korkeimmasta pitoisuudesta. Pienin pitoisuus 3,5 km:n päässä tehtailta oli $202 \mu\text{g/g}$ ja se mitattiin myös syvimmästä (15–20 cm) tutkitusta sedimentin kerroksesta. Koska 4,5 km:n päässä tehtaista sedimentinäyte oli hyvin mineraalipitoinen, oli puusterolien pitoisuus pintakerroksessa yllättävän korkea eli $371 \mu\text{g/g}$.



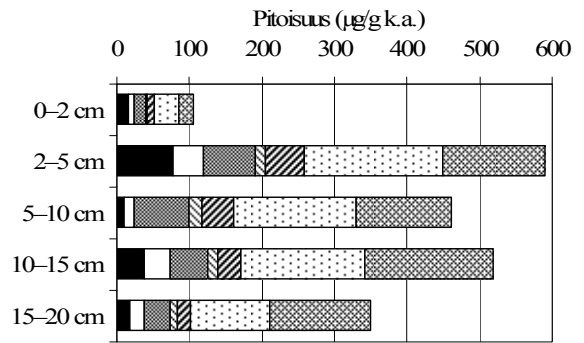
Kuva 31. Kuhnamon puusterolipitoisuudet ($\mu\text{g/g}$ k.a.) sedimentin eri syvyyksissä. Näytteenottoalueiden syvyyydet on ilmoitettu suluissa ja sijainnit s. 38 (Kuva 11).

Vatianjärven puusterolipitoisuudet (Kuva 32, Liite 3) olivat lähes kaikilla näytealueilla likimain ylävirran vertailujärvien pitoisuuksien tasolla. Järven syvimmältä kohdalta (24 m) otettu näyte 15 km^a :n päässä tehtaista erosi kuitenkin selkeästi muista Vatianjärven sedimenteistä. Pienin kokonaispitoisuus oli pintakerroksessa (0–2 cm; $105 \mu\text{g/g}$) ja suurin (590 mg/g) 2–5 cm:n syvydessä sedimentissä. Tehtaiden päästöalueelta 12 km alavirtaan alhaisin pitoisuus ($57 \mu\text{g/g}$) oli noin puolet 15 km^a :n pienimmästä pitoisuudesta. Suurinkin pitoisuus ($361 \mu\text{g/g}$) oli noin 40 % alhaisempi kuin näytealueen 15 km^a suurin pitoisuus. Äänekoskelta 15 km^c alavirtaan suurin kokonaispitoisuus oli muista poiketen pintakerroksessa ($432 \mu\text{g/g}$). Näytealueen pienin pitoisuus ($14 \mu\text{g/g}$) oli sedimentin syvyudessa 10–15 cm, ja oli jopa alhaisempi kuin ylävirran vertailualueiden puusterolipitoisuudet, ts. noin viidesosa Keitelelen ja kuudesosa Naarajärven alhaisimmasta pitoisuudesta. Alueella (15 km^c) puusterolipitoisuudet noudattivat samankaltaista syvyysprofiilia kuin hartsihappo- ja reteenipitoisuudet (ks. kuvat 21 ja 27). Tehtailta 15 km^b alavirtaan puusterolipitoisuudet olivat hyvin tasaiset sedimentin eri syvyyksillä ja vaihtelivat välillä $95\text{--}122 \mu\text{g/g}$.

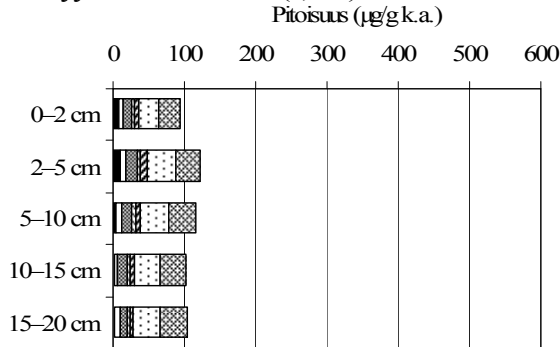
Etäisyys tehtaista 12 km (12 m)



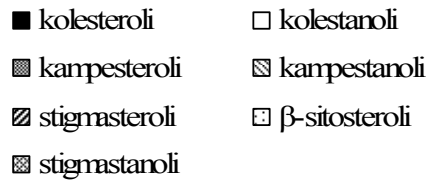
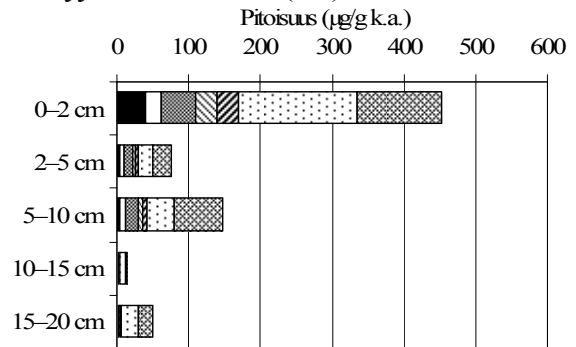
Etäisyys tehtaista 15 km^a (24 m)



Etäisyys tehtaista 15 km^b (7,5 m)

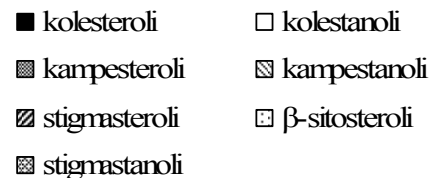
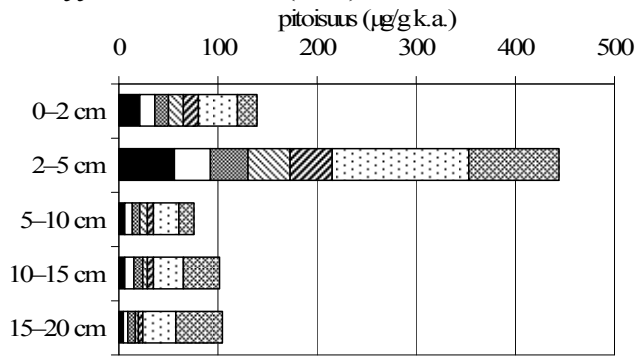


Etäisyys tehtaista 15 km^c (4 m)



Kuva 32. Vatianjärven puusterolipitoisuudet (µg/g k.a.) sedimentin eri syvyyksissä. Näytteenottoalueiden syvyudet on ilmoitettu suluisissa ja sijainnit s. 38 (Kuva 11).

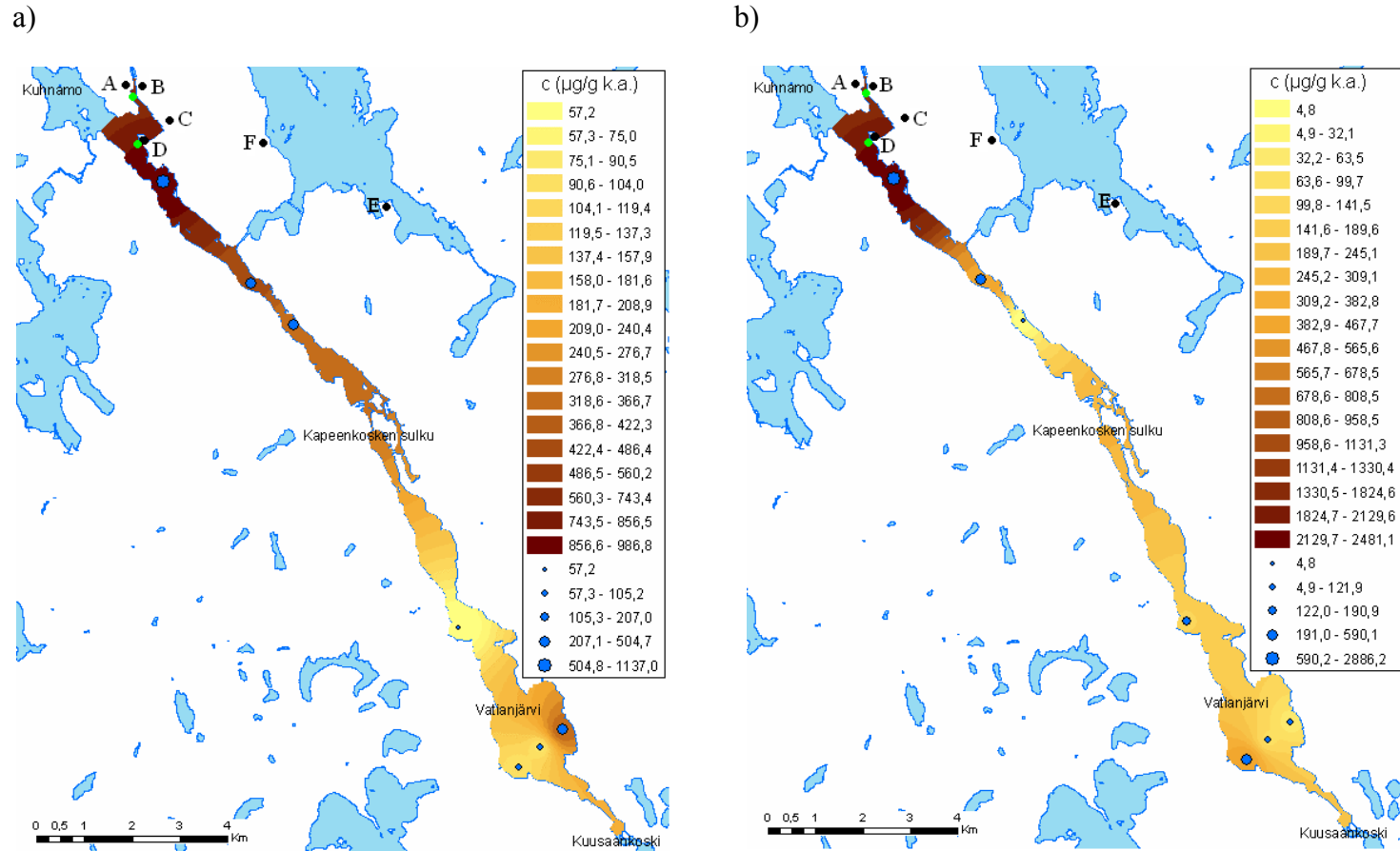
Etäisyys tehtaista 33 km (28 m)



Kuva 33. Leppäveden puusterolipitoisuudet sedimentin eri syvyyksissä 33 km:n etäisyydeltä Äänekoskelta ja 28 m:n syvyydestä (µg/g k.a.). Näytteenottoalueen sijainti ilmenee kuvasta 11 (s. 38).

Leppäveden puusterolipitoisuudet vaihtelivat välillä 72–411 µg/g (Kuva 33), mutta olivat 2–5 cm:n kerrosta lukuun ottamatta ylävirran vertailupitoisuuksien tasolla. Sedimentin syvyydellä kuitenkin oli maksimipitoisuus 411 µg/g, mikä on Naarajärven pitoisuuksiin verrattuna korkea (2–4,5-kertainen) ja noin 30 % alhaisempi kuin Keiteleen suurin pitoisuus. Mielenkiintoista oli Leppäveden ja Keiteleen sedimenttiprofilien samankaltaisuus (ks. kuva 30). Lisäksi kiinnostavaa oli, että kokonaissterolipitoisuus oli korkeimmillaan useissa (Keitele, Naarajärvi, 1 km, 15 km^a ja 33 km) näytteissä sedimentin syvyydellä 2–5 cm.

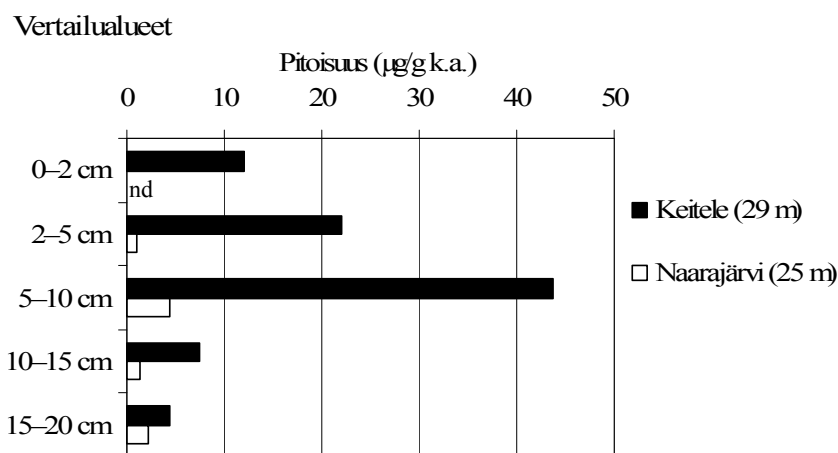
Puusterolipitoisuuksille tehtiin spatiaalinen interpolointi erikseen kahdesta ylimmästä kerroksesta (0–2 cm ja 2–5 cm; Kuva 34). Pitoisuudet pienenevät molemmissa kerroksissa selvästi etäisyyden tehtaaseen kasvaessa. Huomattavaa on alemman kerroksen (2–5 cm) alue Kuhnamossa 4,5 km:n etäisyydellä, jossa mitattu pitoisuus oli 4,8 µg/g. Tämä aiheuttaa tarkasteluun virhettä, mutta toisaalta ilmaisee alueen, jossa järven pohja on erilainen kuin muilla näytealueilla, ts. kova ja mineraalipitoinen. Pääsääntöisesti sedimentin alemmassa kerroksessa oli pintakerrosta huomattavasti suuremmat kokonaispuusterolipitoisuudet. Kuten aiemmin oli esillä, pintakerroksen suurin pitoisuus Kuhnamossa kilometrin etäisyydellä tehtaasta oli 1137 µg/g, kun alemman kerroksen suurin pitoisuus oli noin 2,5-kertainen (2886 µg/g, Kuva 31). Lisäksi ero näiden kahden kerroksen välillä on havaittavissa Vatianjärven leveimmällä kohdalla, jossa oli kolme mittausaluetta 15 km:n etäisyydellä tehtaista. Pintakerroksessa ennusteen mukaiset pitoisuudet ovat korkeampia järvioltaan itäpuolella (15 km^c:n puolella) verrattuna länsipuoleen. Täysin päinvastainen ilmiö on kuitenkin nähtävillä sedimentin alemmassa kerroksessa (2–5 cm), jossa pitoisuudet olisivat ennusteen mukaan korkeampia järven länsipuolella (15 km^a:n puolella).



Kuva 34. Spatiaalinen interpolointi sedimenttinäytteiden puusterolipitoisuuksista Kunnamossa ja Vattianjärvessä. Interpolointi a) on 0–2 cm ja b) 2–5 cm:n syvyydestä. Kuvassa on merkitty tuotantolaitokset: A = M-Real Paper, B = M-Real Board ja puhdistamo 1, C = Metsä-Botnian sellutehdas, D = Metsä-Botnian biologinen puhdistamo (vieressä myös Äänekosken yhdyskuntajätevedenpuhdistamo), E = Finnforest Oyj:n vaneritehdas ja F = Valion meijeri. Karttaan on merkitty vihreillä palloilla puhdistamojen jätevedenpurkupaikat (ks. kuva 11 s. 38). Sinisellä merkityt alueet kuvaavat interpolointiin käytettyjä näyte-alueita ja niitä vastaavat pitoisuudet sedimentissä on merkitty koon mukaan ($\mu\text{g/g k.a.}$) (pohjakartta-aineisto C, Maanmittauslaitos nro. 51/MML/08).

Betulinoli

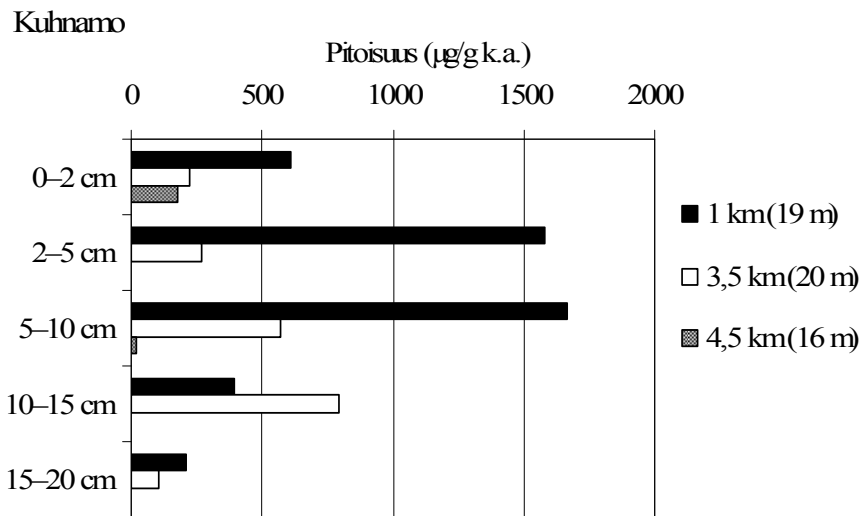
Vertailualueista Naarajärven korkein betulinolipitoisuus oli 4,5 µg/g (Kuva 35, Liite 3), mikä löytyi sedimentin syvyydessä 5–10 cm. Naarajärven pintakerros oli poikkeuksellinen, sillä se oli ainut sedimentin kerros, jossa betulinolia ei havaittu (toteamisraja $LOD \leq 0,04$ µg/g). Keiteleessä betulinolin pitoisuudet vaihtelivat 15–20 cm syvyyden 4,4 µg/g:sta aina 5–10 cm:n arvoon 44 µg/g. Keiteleen suurin betulinolipitoisuus olikin lähes kymmenkertainen Naarajärven korkeimpaan pitoisuuteen verrattuna.



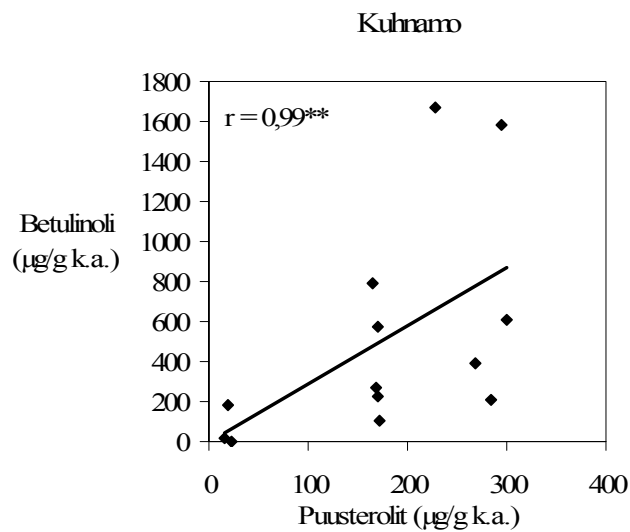
Kuva 35. Vertailualueiden (Keitele ja Naarajärvi) betulinolipitoisuudet (µg/g k.a.; $LOD \leq 0,04$ µg/g; nd = ei havaittu) sedimentin eri syvyyksissä. Näytealueiden syvyydet on ilmoitettu suluissa ja sijainnit kuvassa 11 (s. 38).

Betulinolin pitoisuudet olivat Kuhnamon sedimentissä korkeita (Kuva 36) ja sieltä mitattiin tämän tutkimuksen suurimmat pitoisuudet, niin kuin muidenkin uuteaineiden (Liite 3). Kuhnamon suurin pitoisuus kilometrin päässä purkupaikasta oli Naarajärven pitoisuuteen verrattuna noin 370-kertainen eli 1666 µg/g sedimentissä 5–10 cm:n syvyydessä. Pienin pitoisuus (213 µg/g) oli puusterolien tavoin sedimentissä 15–20 cm:n syvyydessä. Betulinolin pitoisuudet olivat 3,5 km:n etäisyydellä Äänekoskelta alavirtaan keskimäärin puolet kilometrin etäisyydellä mitatuista pitoisuuksista ja ne vaihtelivat välillä 107–794 µg/g. Kuten puusterolipitoisuus mineraaliainesta sisältävässä pintakerroksessa 4,5 km:n etäisyydellä tehtaasta (ks. kuva 32 s. 66), oli myös betulinolin pitoisuus korkea (180 µg/g) syvempiin sedimentin kerroksiin verrattuna, joissa pitoisuus vaihteli välillä 1,2–18,4 µg/g. Pearsonin korrelaatiotestillä havaittiin, että Kuhnamon sedimentissä betulinolin ja puusterolien kokonaispitoisuuksilla oli positiivinen erittäin merkitsevä korrelaatio ($r=0,99$;

$p < 0,01$; $n = 13$; Kuva 37; Liite 5).

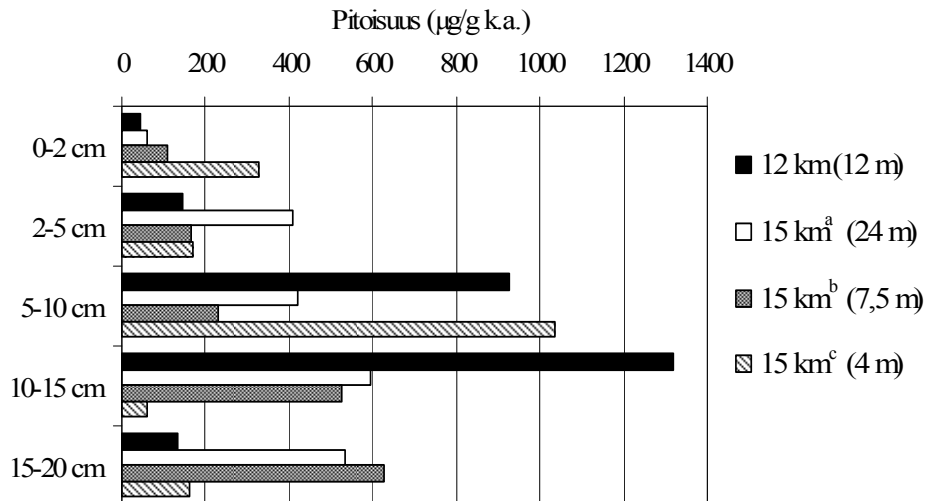


Kuva 36. Kuhnamon sedimenttien betulinolipitoisuudet ($\mu\text{g/g k.a.}$) eri syvyyksissä. Näytteenottoalueiden syvyydet on ilmoitettu suluissa ja sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38).



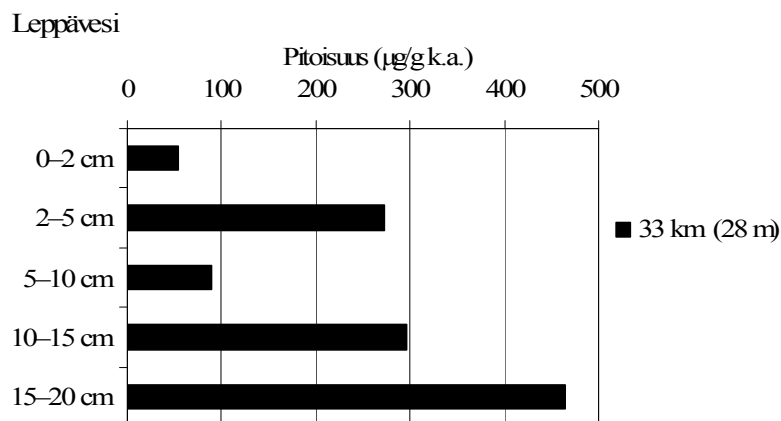
Kuva 37. Kuhnamon (1 km, 3,5 km ja 4,5 km) sedimentin puusteroli- ja betulinolipitoisuuksien ($\mu\text{g/g k.a.}$) vertailu Pearsonin korrelaatiotestillä ($n = 13$; $p < 0,01^{**}$). Näytteenottoalueiden sijainnit ja syvyydet on esitetty kuvassa 11 (s. 38) ja taulukossa 7 (s. 39).

Vatianjärvi



Kuva 38. Vatianjärven betulinolipitoisuudet ($\mu\text{g/g}$ k.a.) sedimentin eri syvyyksissä. Näytteenottoalueiden syvyydet on ilmoitettu suluisissa ja sijainnit kuvassa 11 (s. 38).

Vatianjärven sedimenteissä oli mielenkiintoista suuremmat pitoisuudet betulinolia (Kuva 38, Liite 3) kaikilla etäisyyksillä (12 km ja 15 km:n osa-alueet) verrattuna Kuhnamon 3,5 km:n näytealueen pitoisuuksiin (ks. Kuva 35). Vatianjärven suurin pitoisuus ($1318 \mu\text{g/g}$) oli lähes kaksinkertainen verrattuna sedimentin suurimpaan pitoisuuteen 3,5 km:n näytealueella. Se mitattiin järven pohjoisimmalta alueelta (12 km) sedimentin syvyydessä 10–15 cm. Vatianjärven toiseksi suurin pitoisuus ($997 \mu\text{g/g}$) oli 15 km^c:n päässä tehtailta sedimentin syvyydellä 5–10 cm. Korkeita pitoisuuksia betulinolia oli myös mm. 12 km:n päässä tehtaista sedimentissä 5–10 cm:n syvyydessä ($926 \mu\text{g/g}$) ja 15 km^b tehtailta alavirtaan, missä suurin pitoisuus ($626 \mu\text{g/g}$) oli noin 270-kertainen Naarajärven sedimenttiin verrattuna. Yllättäen Vatianjärven syvimmän alueen (15 km^a) suurin pitoisuus ($593 \mu\text{g/g}$) sedimentissä 10–15 cm:n syvyydessä oli järven muiden näytealueiden pitoisuuksia alhaisempi. Kaikkiaan betulinoli oli Vatianjärven näytteissä lähes poikkeuksetta runsaampi kuin yksikään yksittäinen puusteroli. Vatianjärvessä betulinolin ja puusterolien välinen korrelaatio oli positiivinen ($r=0,33$; $p=0,15$; $n=20$), mutta ei tilastollisesti merkitsevä (Liite 5), ts. samoin kuin oli myös hartsihappojen ja reteeninkin välinen korrelaatio (Kuva 27).

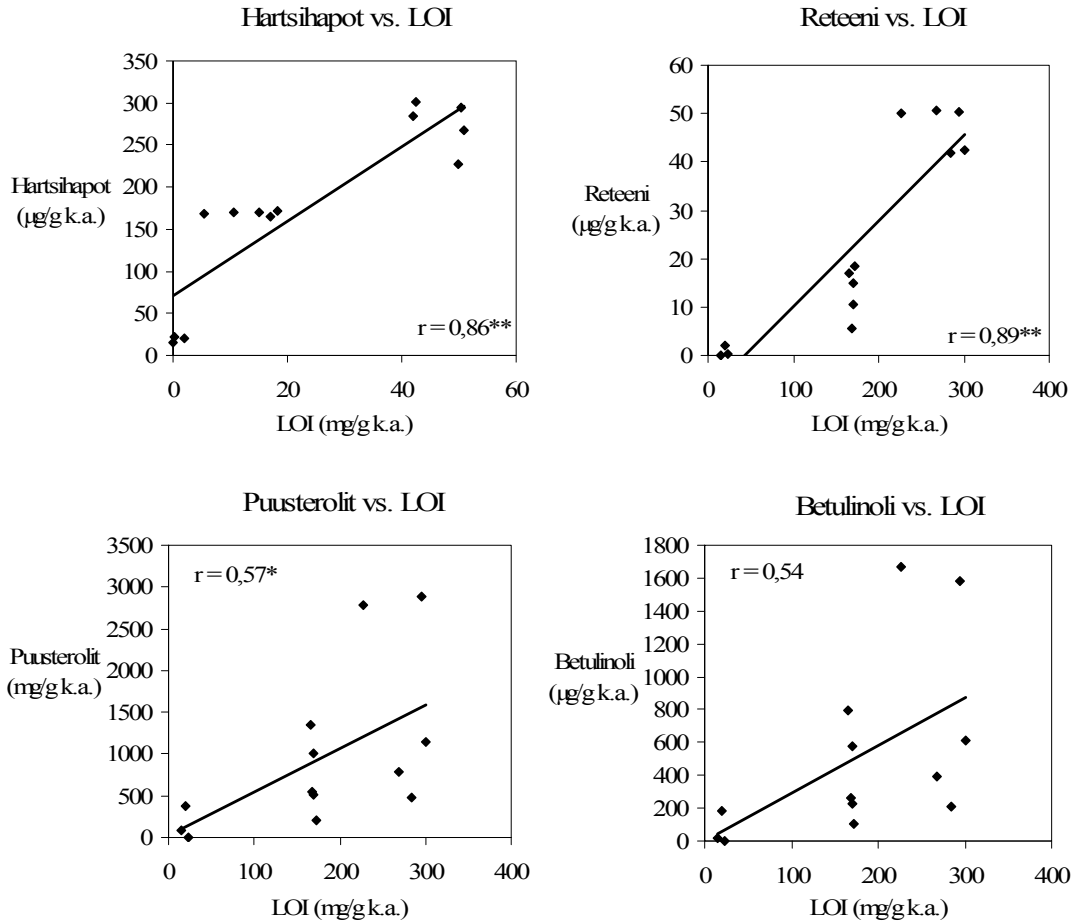


Kuva 39. Leppäveden betulinolipitoisuudet ($\mu\text{g/g}$ k.a.) sedimentin eri syvyyksissä 33 km:n etäisyydeltä Äänekoskelta ja 28 m:n syvyydestä. Näytteenottoalueen sijainti on esitetty s. 38 (Kuva 11).

Betulinolipitoisuudet olivat vielä Leppävedessäkin (Kuva 39, Liite 3) korkeita ja sedimentin syvyydessä 15–20 cm mitattu suurin pitoisuus ($465 \mu\text{g/g}$) oli 100-kertainen Naarajärven pitoisuustasoon verrattuna. Pitoisuus oli alhaisin pintakerroksessa ($54 \mu\text{g/g}$), vain noin 19 % Keiteleen vertailualueen suurinta pitoisuutta suurempi. Kuhnamon ja Vatianjärven tavoin myös Leppäveden betulinoli- ja puusterolipitoisuuksien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää riippuvuutta ($r=0,12$; $p=0,84$ $n=5$, Liite 5).

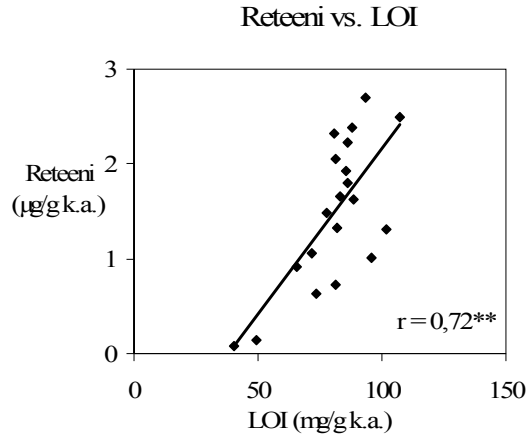
Uuteaineiden ja orgaanisen materiaalin pitoisuuksien vertailu

LOI:n pitoisuuksien eroja testattiin tilastollisesti Pearsonin korrelaatiotestillä muihin vastaavissa syvyyksissä oleviin muuttujiin eli hartsihappojen, reteenin, puusterolien ja betulinolin pitoisuuksiin (Liite 5). Kuhnamosssa hartsihapoilla ($r=0,86$; $p<0,01$; $n=13$) ja reteenillä ($r=0,89$; $p<0,01$; $n=13$) oli erittäin merkitsevä positiivinen korrelaatio ja puusteroleilla ($r=0,57$; $p<0,05$; $n=13$) merkitsevä positiivinen korrelaatio LOI:n pitoisuuksiin verrattuna (Kuva 40). Myös betulinolilla ($r=0,54$; $p=0,55$; $n=13$) oli positiivinen melko vahva riippuvuus LOI:n pitoisuuksista, mutta ei merkitsevä. Kiinnostavaa oli, että Kuhnamon yksittäisten näytealojen sedimenteissä ($n=5$) oli LOI:n pitoisuuksilla negatiivinen korrelaatio useiden uuteaineiden kanssa, mutta koko järven tilannetta tarkasteltaessa ($n=13$) korrelaatiot muodostuivat kuitenkin positiivisiksi (Liite 5).

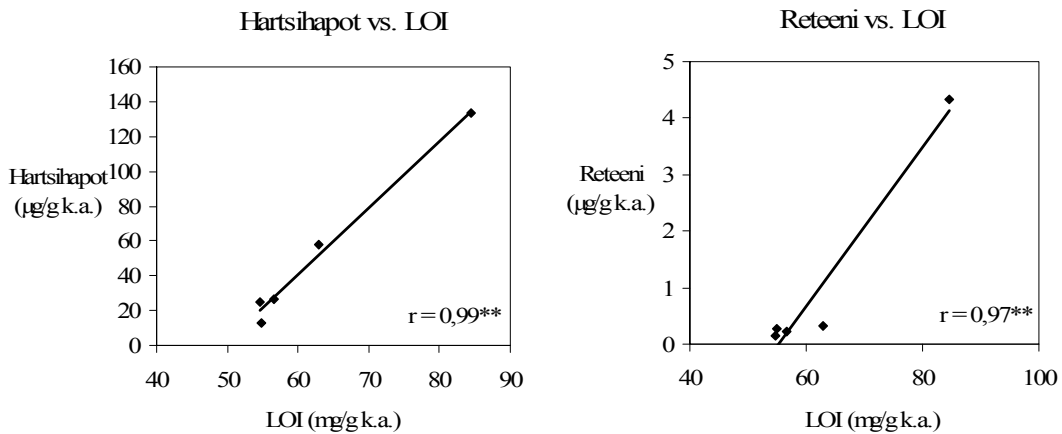


Kuva 40. Kuhnamon (näytealueet 1 km, 3,5 km ja 4,5 km) sedimentin hartsihappojen, reteenin, puusterolien ja betulinolin pitoisuuksien ($\mu\text{g/g k.a.}$) vertailu hehkutushäviönä (LOI) määritetyn orgaanisen materiaalin (OM) pitoisuuksiin (mg/g k.a.) Pearsonin korrelaatiotestillä ($n=13$; $p<0,05^*$; $p<0,01^{**}$). Näytealueiden sijainnit ja syvyydet on ilmoitettu ss. 38–39 (Kuva 11; Taulukko 7).

Vatianjärven sedimentissä kaikilla uuteaineilla oli positiivinen yhteys LOI:n pitoisuuksien kanssa (Kuva 41; Liite 5). Huomattavaa Vatianjärven korrelaatioissa oli, että ainoastaan reteenin ja LOI:n välinen korrelaatio ($r=0,72$; $p<0,01$; $n=20$) oli tilastollisesti erittäin merkitsevä. Muiden uuteaineiden ja LOI:n väliset riippuvuudet olivat heikkoja. Vatianjärven yksittäisten näytealojen korrelaatioita verrattaessa havaittiin eroja niiden välillä, sillä kaikilla näytealoilla vähintään yhdellä oli negatiivinen korrelaatio LOI:n pitoisuuksien kanssa (Liite 5).



Kuva 41. Vatianjärven (näytealueet 12 km, 15 km^a, 15 km^b ja 15 km^c) sedimentin reteenipitoisuuksien (µg/g k.a.) vertailu hehkutushäviönä (LOI) määritetyn orgaanisen materiaalin (OM) pitoisuuksiin (mg/g k.a.) Pearsonin korrelaatiotestillä (n=20; p<0,01**). Näytteenottoalueiden sijainnit ja syvyydet ss. 38–39 (Kuva 11; Taulukko 7).



Kuva 42. Leppäveden hartsihappojen ja reteenin pitoisuuksien (µg/g k.a.) vertailu hehkutushäviönä (LOI) määritetyn orgaanisen materiaalin (OM) pitoisuuksiin (mg/g k.a.) Pearsonin korrelaatiotestillä (n=5; p<0,01**). Näytteenottoalueiden sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38) ja syvyydet taulukossa 7 (s. 39).

Leppäveden sedimentissä ainoastaan hartsihapoilla ($r=0,99$; $p<0,01$; $n=5$) ja reteenillä ($r=0,97$; $p<0,01$; $n=5$) oli erittäin merkitsevä positiivinen korrelaatio LOI:n pitoisuuksiin verrattuna (Kuva 42). Myös betulinolilla näytti olevan vahva positiivinen korrelaatio LOI:n pitoisuuksien kanssa, mutta se ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Kaikista muista poiketen puusteroleilla oli negatiivinen korrelaatio LOI:n pitoisuuksiin verrattuna, mutta ei tilastollisesti merkitsevä.

3.3 Bioluminesenssin inhibitio vesiutteista

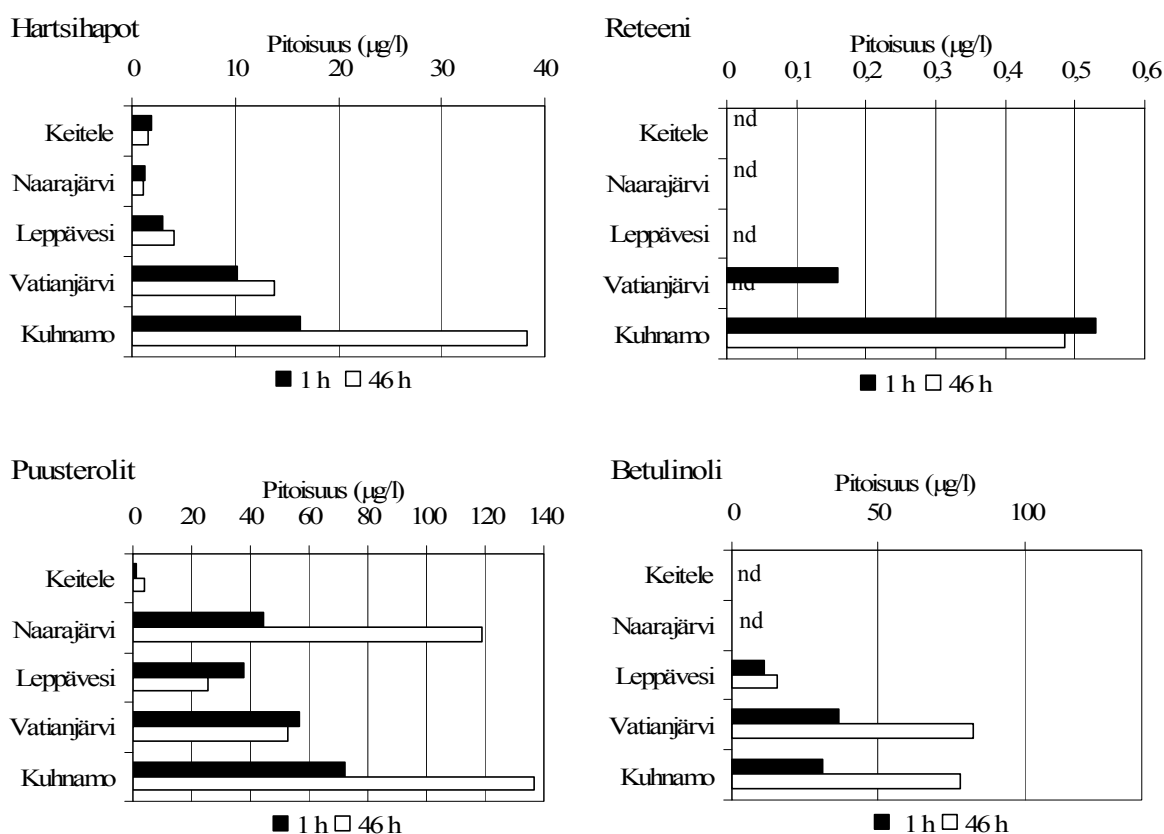
Vesiutteiden kemialliset ominaisuudet

Bioluminesenssimittaus tehtiin Äänekosken reitin kaikkien järvien sedimenttien vesiutteilla käyttäen yhden ja 46 tunnin sekoitusaikoja. Kuten on aikaisemmin mainittu, elutriaatit valmistettiin Ekman-noutimella otetuista pintakerroksen (n. 0–10 cm) sedimenttinäytteistä (ks. taulukko 7 s. 39). Vertailualueiden elutriaattien hartsihappopitoisuuksissa ($\mu\text{g/l}$) (Kuva 43) ei ollut eroa kahden eri sekoitusajan välillä. Puusterolipitoisuudet taas kasvoivat pidemmällä sekoitusajalla etenkin Naarajärven vertailunäytteessä. Naarajärven elutriaatissa olikin yllättävän korkea puusterolipitoisuus verrattuna Keiteleeseen, mikä voisi viitata näiden sedimenttien väliseen eroon puusterolien ja muiden orgaanisten yhdisteiden sitomispotentiaalissa (ks. kuva 17 s. 54). Reteeniä (toteamisraja $\text{LOD} \leq 0,02 \mu\text{g/l}$) ja betulinolia ($\text{LOD} \leq 0,01 \mu\text{g/l}$) ei vertailunäytteissä havaittu.

Kuhnamon näytteissä elutriaattien hartsihappopitoisuus muodostui suuremmaksi pidemmällä (46 h) kuin lyhyemmällä (1 h) sekoitusajalla ja korkein mitattu pitoisuus oli $38 \mu\text{g/l}$. Reteeniä havaittiin ($\text{LOD} \leq 0,02 \mu\text{g/l}$) molemmissa Kuhnamon näytteissä, mutta ne eivät eronneet toisistaan (n. $0,5 \mu\text{g/l}$). Pidemmällä sekoitusajalla puusterolipitoisuus kasvoi Kuhnamon elutriaatissa. Suurin puusterolien kokonaispitoisuus ($137 \mu\text{g/l}$) olikin pidemmällä sekoituksella Kuhnamon vesiutteessa. Betulinolipitoisuus kasvoi Kuhnamon elutriaatissa sekoitusajan edetessä ja saavutti pitoisuuden n. $80 \mu\text{g/l}$.

Vatianjärven vesiutteissa hartsihappo- ja betulinolipitoisuudet muodostuivat suuremmiksi pidemmällä sekoitusajalla kuin yhden tunnin sekoituksella. Vatianjärven pidemmän sekoitusajan elutriaatissa olikin suurin mitattu betulinolin pitoisuus ($82 \mu\text{g/l}$). Reteeniä havaittiin vain Vatianjärven yhden tunnin sekoituksen näytteessä. Hartsihappojen ja puusterolien kokonaispitoisuuksissa ei ollut muutosta.

Leppäveden vesiutteen hartsihappo- ja betulinolipitoisuuksissa ei ollut muutosta sekoitusaikojen kesken. Reteeniä ei elutriaatissa havaittu ($\text{LOD} \leq 0,02 \mu\text{g/l}$) ja puusterolipitoisuus laski noin kolmasosan sekoitusajan kasvaessa.



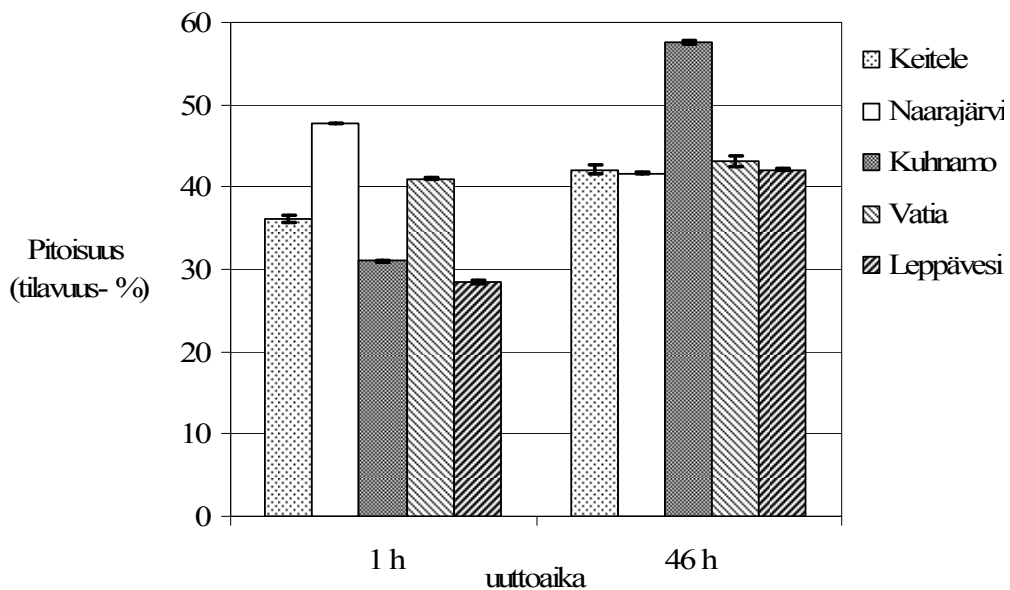
Kuva 43. Bakterikokeen 50 tilavuus-% elutriaattien pitoisuusmääritykset lyhyellä (1 h) ja pitkällä (46 h) sekoitusajalla. Elutriaatit on valmistettu Ekman-näytteistä (0–10 cm, ks. s. 45). a) Hartsihappojen, b) reteenin ($LOD \leq 0,02 \mu\text{g/l}$; nd = ei havaittu), c) puusterolien ja d) betulinolin ($LOD \leq 0,01 \mu\text{g/l}$) pitoisuudet ($\mu\text{g/l}$).

Bioluminesenssimittaus

Valoa tuottavalla bakteerilla (*V. fischeri*) mitattiin elutriaattilaimennossarjoilla bioluminesenssin inhibitiota 30 min aikana (Kuva 44, Liite 4). Positiivisena kontrollina käytettiin sinkkisulfaattia, jonka EC_{50} -arvo oli keskimäärin 15 mg/l asettuen standardiluonnoksen pitoisuusvälin puoliväliin. Näin ollen bakteerien aktiivisuus varmistui.

Sedimenttielutriaattien pitoisuudet olivat 50, 46, 36 ja 25 tilavuus-%. Kaikki altistuspitoisuudet olivat *V. fischeri*:lle toksisia, mukaan lukien vertailualueiden sedimenteistä tehdyt vesiutteet, ts. tuloksissa ei siis ilmennyt eroja ylävirran vertailualueiden ja äänekosken alavirran vesiutteiden välillä. Toksisin oli lyhyen sekoitusajan Leppäveden vesiute ($EC_{50}=29$ tilavuus-%). Kuhnamon mittaukset

poikkesivat toisistaan hieman, sillä lyhyemmällä sekoitusajalla saatiin puolet voimakkaampi toksisuusvaste ($EC_{50}=31$ tilavuus-%) kuin pidemmän sekoitusajan elutriaatilla ($EC_{50}=58$ tilavuus-%). Mielenkiintoista oli, että Kuhnamon yhden tunnin elutriaatti oli lähes yhtä toksinen kuin Leppäveden, vaikka sen pidemmän sekoitusajan vesiuute oli kaikista vähiten toksinen. Muissa mittauksissa ei ollut eroa eri sekoitusajoilla ja niissä EC_{50} -arvot vaihtelivat välillä 36–48 tilavuus-%.



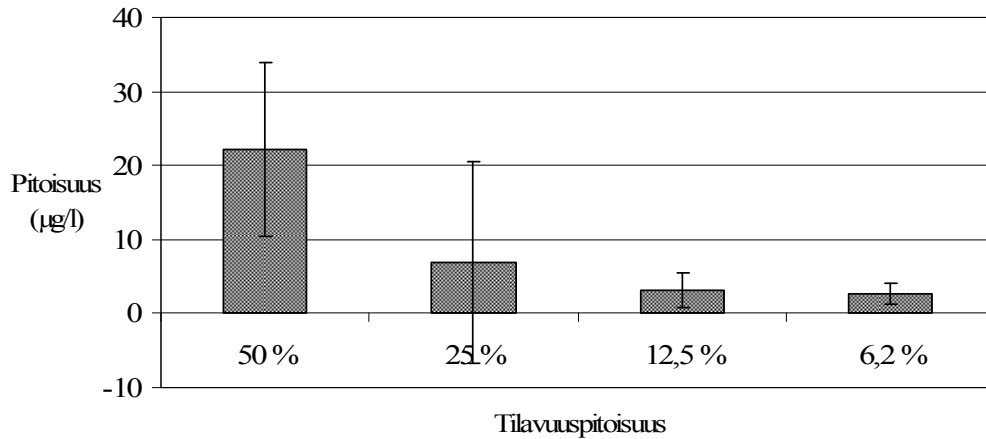
Kuva 44. Äänekosken reitin pintasedimenttien (0–10 cm) vesiutteen toksisuus: bakteerikokeen (*V. fischeri*) EC_{50} -arvojen keskiarvo lyhyen (1 h) ja pitkän (46 h) uuttoajan jälkeen. Kuvaan on merkitty erillisten mittausten arvot hajontapylväällä (n=2). EC_{50} -arvot on laskettu 30 minuutin koeajan mukaan. Pitoisuus (tilavuus-%) tarkoittaa elutriaatin vahvuutta, jolla saadaan 50 % valontuoton inhibitio mittaauksessa.

3.4 Siian (*Coregonus lavaretus*) alkiopoikaskoe

Koelosuhteet

Äänekosken alapuolisen vesistön sedimenttien toksisuutta siian alkiopoikasilla tutkittiin vain Vatianjärven osalta. Elutriaattien hartsihappopitoisuudet määritettiin uuttamalla ennen kokeen aloitusta ja kokeen aikana sekä sen jälkeen kerätyistä kokoomanäytteistä. Vertailualueiden hartsihappopitoisuudet olivat alhaisia: Naarajärven elutriaatin pitoisuus oli $0,71 \mu\text{g/l}$ ($\pm 0,47 \mu\text{g/l}$; n=5) ja Keiteleen $0,60 \mu\text{g/l}$ ($\pm 0,30 \mu\text{g/l}$; n=5). Vatianjärven elutriaattien hartsihappopitoisuudet (Kuva 45) sen sijaan vaihtelivat odotetusti, mutta

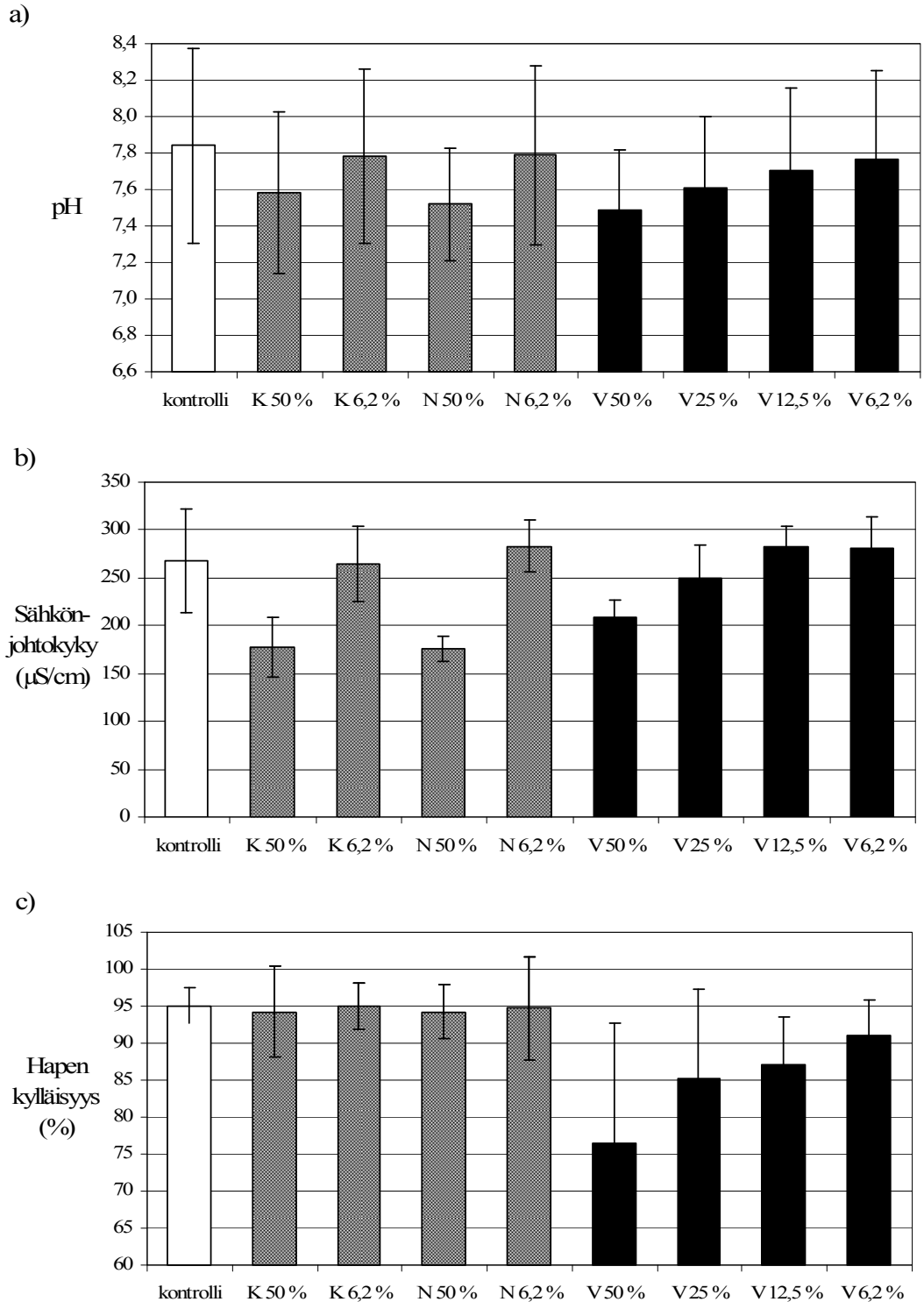
hajonta oli suurta. Hajonnan suuruus selittynee mm. biohajoamisella yhdeksän vuorokautta kestäneen kokeen aikana.



Kuva 45. Siian (*C. lavaretus*) alkiopoikaskokeen hartsihappopitoisuuksien (µg/l) kokeenaikaiset keskiarvot (\pm keskihajonta; n=5) Vätternjärven vesiuutteissa. Elutriaattien tilavuuspitoisuudet on ilmoitettu prosentteina.

Myös reteenin pitoisuuksia mitattiin elutriaateista, mutta vain vahvimmista pitoisuuksista (50 % elutriaateista), koska sen pitoisuuksien oletettiin olevan alhaisia huonon vesiliukoisuuden vuoksi (Blais & Muir 2004). Vertailuelutriaateista pitoisuudet mitattiin vain kahtena rinnakkaisena. Naarajärven 50 tilavuus-% elutriaatissa reteeniä oli keskimäärin 0,5 µg/l. Keiteleen elutriaatissa reteeniä ei havaittu ($LOD \leq 0,02$ µg/g). Vätternjärven 50 % elutriaatissa reteeniä oli keskimäärin 2,45 µg/l, mutta hajonta ($\pm 1,49$ µg/l; n=5) oli suurta kuten hartsihapoillakin.

Siian alkiopoikaskokeen vesien pH:n, sähkönjohtokyvyn ja happipitoisuuden tuloksien keskiarvot on ilmoitettu kuvassa 46 ja liitteessä 8. Hapen kylläisyysasteiden keskiarvot olivat yli 80 % kaikissa muissa elutriaateissa paitsi Vätternjärven 50 tilavuus-%:n elutriaatissa. Kuten edellä on kuvattu, säädettiin elutriaattien ja puhtaan laimennusveden pH:t 7,0:ksi kokeen alussa ja vesien vaihdon yhteydessä. pH:n ja sähkönjohtokyvyn arvojen vaihtelu oli suurta eri altispitoisuuksien välillä, mutta myös ajan suhteen samassa laimennoksessa; esimerkiksi pH:n hajonta oli yhden yksikön luokkaa kaikissa pitoisuuksissa. pH:n ja sähkönjohtavuuden muutokset mukailivat toisiaan eli pH:n ollessa korkeampi, oli myös sähkönjohtokyky korkeampi.

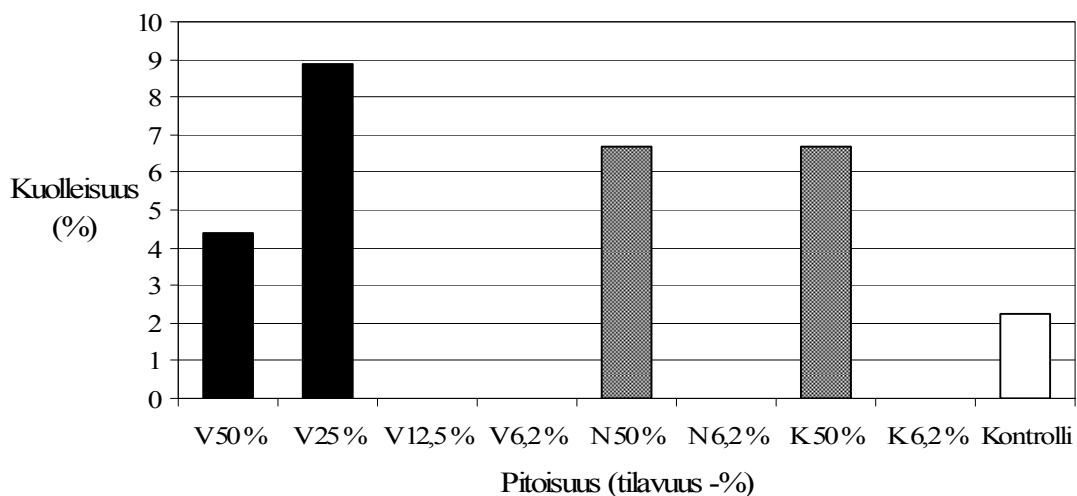


Kuva 46. Siian (*C. lavaretus*) alkiopoikaskokeen vesiututteiden eri pitoisuuksien ja kontrollin seurannan keskiarvot keskihajontoineen. a) pH (n=5), b) sähköjohtokyky (µS/cm; n=4; kontrollissa n=3) ja c) hapen kylläisyysaste (%; n=4; kontrollissa n=3). Kontrolli oli puhdas laimennusvesi (valkoinen), K = Keitele (harmaa), N = Naarajärvi (harmaa) ja V = Vatianjärvi (musta). Elutriaattien pitoisuudet on ilmoitettu tilavuusprosentteina.

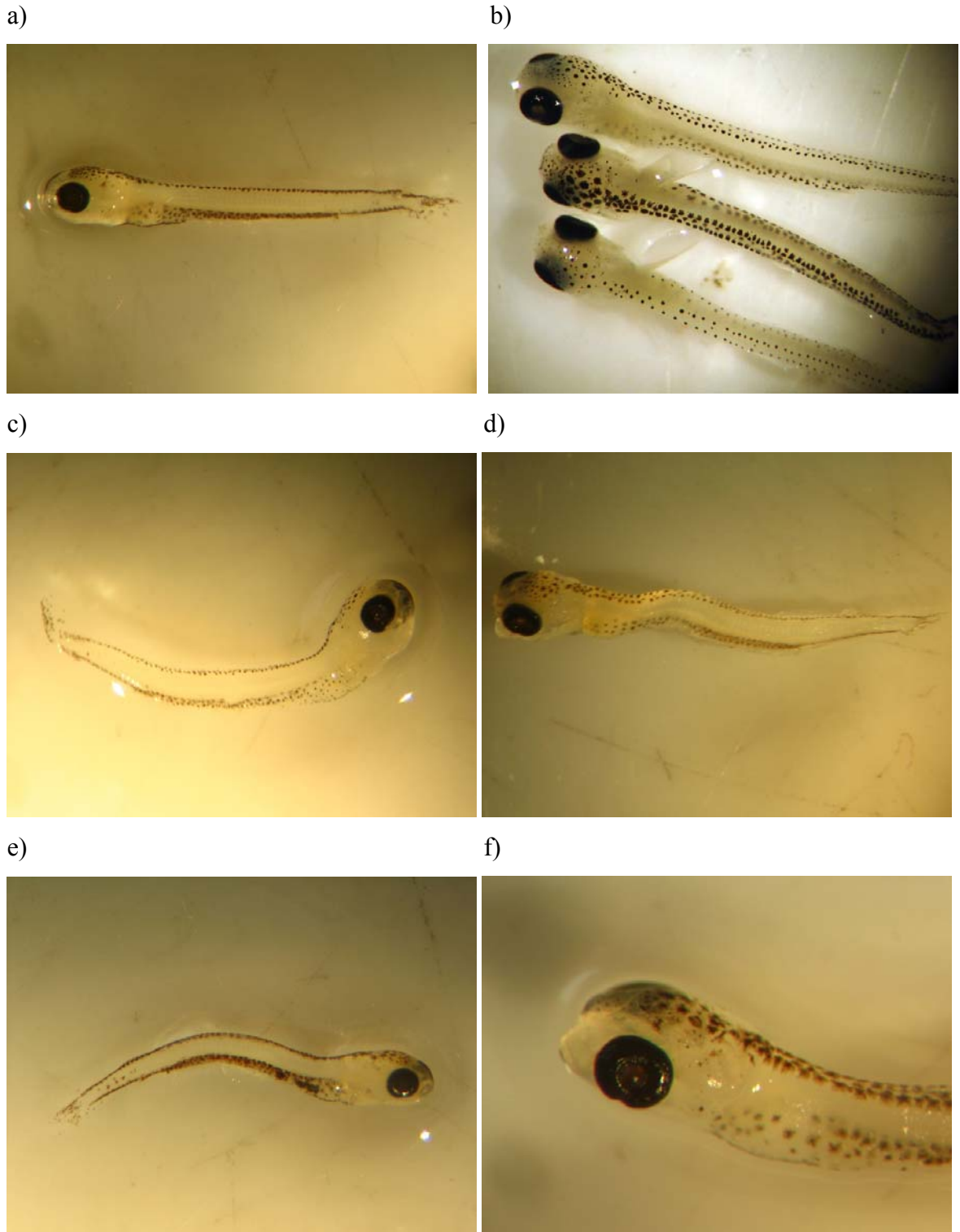
Alkiopoikasten käyttäytyminen, selviytyminen ja kehityshäiriöt

Yhdeksän vuorokautta kestäneiden siian alkiopoikaskokeiden aikana kalojen käyttäytymistä seurattiin etenkin ensimmäisten päivien aikana, mutta niillä ei havaittu mitään erityistä kontrollista poikkeavaa käyttäytymismallia. Toisaalta vahvimpien pitoisuuksien poikasten seuranta ei ollut mahdollista elutriaattien voimakkaan värin vuoksi (Liite 7).

Siian alkiopoikaskokeiden kuolleisuus (Kuva 47, Liite 9) määritettiin kokeiden päätyttyä elutriaattien voimakkaan värin vuoksi (Liite 7). Puhtaassa laimennusvesikontrollissa kuolleisuus oli 2,2 % (1 kuollut/45). Suurin kuolleisuus (8,9 %; 4 kuollutta/45) havaittiin Vatianjärven sedimentin 25 tilavuus-% elutriaatissa. Vatianjärven 50 %:n elutriaatissa oli 4,4 %:n kuolleisuus (2 kuollutta/45) ja molempien vertailunäytteiden (Keitele ja Naarajärvi) 50 % elutriaateissa kuolleisuus oli 6,7 % (3 kuollutta/45). Laimeimmissa pitoisuuksissa (6,2 tilavuus-%) ei ollut kuolleita. Kaikkiaan kuolleisuudet eivät eronneet merkittävästi kontrollista (Liite 9).



Kuva 47. Siian (*C. lavaretus*) alkiopoikaskokeen kuolleisuudet (%) eri altistuspitoisuuksissa. Elutriaattien pitoisuudet on ilmoitettu tilavuusprosentteina ja kontrollina oli puhdas laimennusvesi (valkoinen). V = Vatianjärvi (musta), N = Naarajärvi (harmaa) ja K = Keitele (harmaa). Kuolleisuuden erojen merkittävyydet tarkasteltiin Fisherin testillä ja niitä verrattiin kontrolliin.

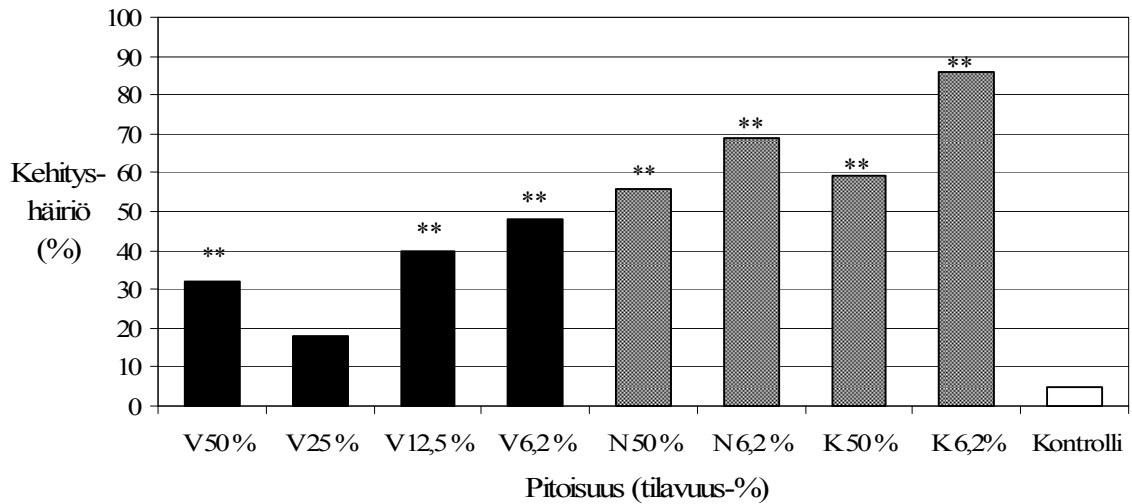


Kuva 48. Esimerkkikuvia siian (*C. lavaretus*) alkioipoikasten rakenteesta 9 vrk kuoriutumisesta, jolloin ruskuaisen ravinnosta on käytetty lähes 100 %. a) Terve siianpoikanen. b) Siianpoikasten pigmentin voimakkuuden vaihtelut koesarjan (reteeni 100 µg/g) poikasissa. c) Selkärangan kehityshäiriö (lordoosi) sekä lyhyt ja epämuodostunut alaleuka. d) Selkärangan sivusuuntainen kehityshäiriö (skolioosi). e) Selkärangan kehityshäiriö (kyfoosi ja skolioosi), poikasella on lisäksi kiintoainetta suolistossa. f) Pään turvotus.

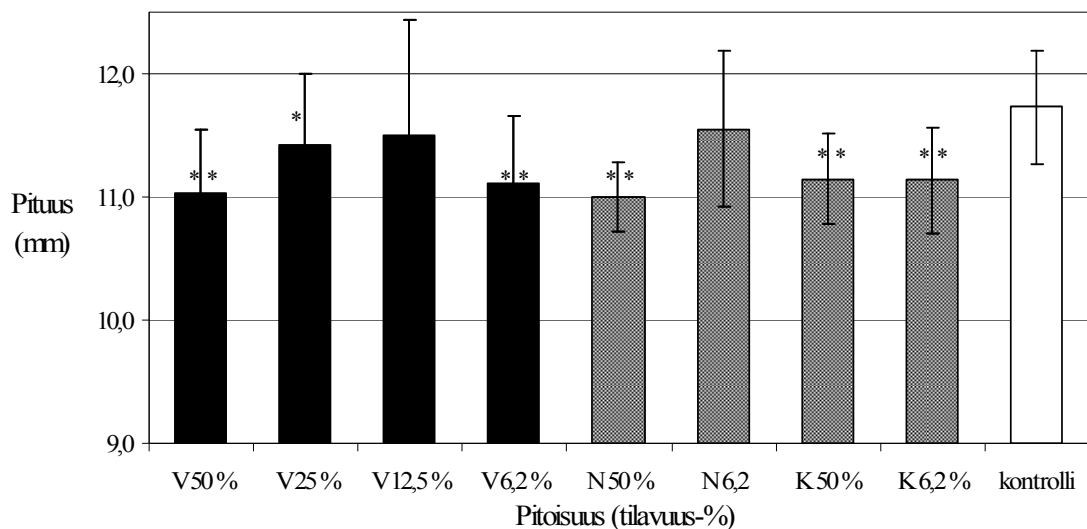
Siian alkiopoikasten kehityshäiriöitä tarkasteltiin stereomikroskoopilla. Alkiopoikasia verrattiin puhtaan laimennusvesikontrollin poikasiin ja eri kehityshäiriöt tunnistettiin pääasiassa Jezierskan ym. (2000) mukaan. Kuvassa 48 on esimerkkikuvia terveestä (a) ja kehityshäiriöisistä (c–f) siian poikasista yhdeksän vuorokautta kuoriutumisen jälkeen (ks. lisäksi liite 10). Terve poikanen on melko suora ja sen pää on symmetrinen. Siian alkiopoikasilla voi olla myös suuria eroja pigmentin voimakkuudessa (b). Kuvassa 48 on lisäksi neljä kehityshäiriöistä poikasta, joista ensimmäisellä (c) on lordoosi (notkoselkä) ja lyhyt sekä hieman epämuodostunut leuka. Toisella (d) on skolioosi (vinoselkä). Tämänkaltaiset kehityshäiriöt olivat yleisimpiä. Kolmannella poikasella (e) on yhtäaikaista skolioosi ja kyfoosi (köyryselkä), minkä lisäksi sillä on kiintoainetta suolistossa. Neljännellä poikasella (f) on päässä silmän edessä turpoama (ödeema), mutta tällainen kallon ödeema ei ollut yleinen.

Yleisin kehityshäiriö oli lordoosi (korkeintaan 55 %:lla poikasista). Kaikissa koepitoisuuksissa havaittiin alkiopoikasilla skolioosia, lordoosia ja epämuodostumia leuassa (Liite 9). Silmän ja pään epämuodostumat olivat harvinaisimpia ja niitä havaittiin vain Naarajärven 50 % elutriaatissa (8 %:lla; 2 poikasella/28) ja Keiteleen 6,2 % elutriaatissa (11 %:lla; 3 poikasella/27). Kaikkiaan odottamattominta oli, että laimennusveteen verrattuna eniten kehityshäiriöitä (86 %:lla; 24 poikasella/28) esiintyi Keiteleen laimeammassa (6,2 %:n vesiuteessa) koesarjassa. Keiteleen näytteiden alkiopoikasilla esiintyi myös kyfoosia ja kahdella poikasella oli lyhyt alaleuka. Naarajärvenkin näytteissä kehityshäiriöiden runsas esiintyminen oli yllättävää. Kehityshäiriöiden aiheuttajasta ei Keiteleen, Naarajärven ja Vatianjärven koesarjoissa ole tietoa.

Siian alkiopoikaskokeen kaikkia koesarjoja verrattiin χ^2 -testillä kontrolliin (puhtas laimennusvesi; Kuva 48; Liite 9) erittelemättä eri kehityshäiriöitä. Laimennusvesikontrolliin verrattuna Vatianjärven 50 % elutriaatissa kehityshäiriöiden esiintyminen oli merkitsevä ($\chi^2=2,067$; $p=0,02$; $n=28$). Vatianjärven 25 % elutriaatin kehityshäiriöiden esiintyvyydessä ei ollut merkitsevää eroa kontrolliin. Kaikissa muissa altistuksissa havaittiin erittäin merkitsevä ero ($p<0,01$) puhtaan veden kontrolliin verrattuna. Vatianjärven erojen testaus vertailunäytteisiin ei ollut tutkimusten tavoitteiden mukaista, koska vertailualueiden sedimenttien vesiutteen aiheuttivat kehityshäiriöitä Vatianjärven elutriaatteja enemmän.



Kuva 48. Kehityshäiriöiden (kaikkien epämuodostumien summa) esiintyminen (%) siian (*C. lavaretus*) alkiopoikaskokeessa. Elutriaattien pitoisuudet on ilmoitettu tilavuusprosentteina ja kontrolli oli puhdas laimennusvesi (valkoinen). V = Vatiansjärvi (musta), N = Naarajärvi (harmaa) ja K = Keitele (harmaa). Kokeen kaikki altispitoisuudet verrattiin kontrolliin (puhdas vesi) χ^2 -testillä, $p < 0,05^*$ ja $p < 0,01^{**}$.



Kuva 49. Yhdeksän vuorokautta vanhojen siian alkiopoikasten pituuksien keskiarvot ja -hajonnat (mm). Havaintojen määrä eri pitoisuuksissa vaihteli välillä 22–30 (ks. taulukko 25 s. 147). Elutriaattien pitoisuudet on ilmoitettu tilavuusprosentteina ja kontrolli oli puhdas laimennusvesi (valkoinen). V = Vatiansjärvi (musta), N = Naarajärvi (harmaa) ja K = Keitele (harmaa). Kokeen eri altispitoisuuksia verrattiin kontrolliin (puhdas vesi) Mann-Whitney U-testillä, $p < 0,05^*$ ja $p < 0,01^{**}$.

Yhdeksän vuorokautta vanhojen siian alkiopoikasten pituuskasvussa oli hieman eroja pitoisuuksien kesken (Kuva 49; Liite 9). Pääsääntöisesti poikaset olivat 11,0–12,0 mm pituudeltaan muutamaa poikkeusta lukuun ottamatta (mittaustarkkuus oli $\pm 0,5$ mm). Kokeissa koesarjojen pituuksien keskiarvot asettuivatkin välille 11,0–11,7 mm. Yksi 15,0 mm pitkä ja muutenkin suurikokoinen yksilö oli Vatianjärven näytteessä (12,5 tilavuus-%:n elutriaatti). Samasta Vatianjärven pitoisuudesta havaittiin myös kokeen pienimmät yksilöt, jotka olivat vain 10,0 mm pitkiä. Lyhimmät poikaset olivat Naarajärven 50 %:n ja Vatianjärven 12,5 %:n elutriaateissa ja pisimmät kontrollissa. Pituuksia eri altistuspitoisuuksissa verrattiin puhdasvesikontrolliin Mann-Whitneyn U-testillä. Erittäin merkitsevästi lyhyemmät poikaset kontrolliin verrattuna olivat Naarajärven (U=86,0; $p < 0,001$; n=27), Keiteleen (U=125,0; $p < 0,001$; n=27) ja Vatianjärven (U=119,0; $p < 0,001$; n=28) sedimenttien 50 % vesiuutteissa. Myös Vatianjärven (U=144,0; $p < 0,001$; n=29) ja Keiteleen (U=142,0; $p < 0,001$; n=28) laimeimman pitoisuuden (6,2 tilavuus-%) alkiopoikaset olivat erittäin merkitsevästi lyhyempiä kuin puhtaan laimennusveden poikaset. Vatianjärven (U=196,0; $p = 0,033$; n=28) 25 % vesiuutealtistuksen alkiopoikaset olivat tilastollisesti merkitsevästi lyhyempiä kuin puhtaan laimennusveden.

Yhdeksän vuorokautta kestäneen siian alkiopoikaskokeen aikana ruskuainen oli suurella osalla poikasista kulunut lähes loppuun, mukaan lukien puhtaan laimennusvesikontrollin poikaset. Siian poikasella ruskuaisen ravinto riittää noin kymmeneksi vuorokaudeksi, joten sen kuluminen oli normaalia (Lehtonen 2003). Vatianjärven elutriaattien alkiopoikasilla ruskuaista oli kuitenkin keskimäärin enemmän jäljellä kuin muiden altistuspitoisuuksien poikasilla. Vatianjärven alkiopoikasille oli ominaista myös ruskuaisen keltaisuus (21 %; 6 poikasta/29) (ks. kuva 56 f) Naarajärven elutriaatin ja vesikontrollin poikasiin verrattuna. Keltaisuutta esiintyi nimenomaan poikasilla, joilla ruskuainen ei ollut kulunut loppuun. Myös Keiteleen kokeen poikasilla (26 %; 7 poikasella/27) ja kahdella (9 %) kontrollikokeen poikasella oli vastaavanlaista ruskuaispussin keltaisuutta. Keltaisuuden lisäksi ruskuaispussissa saattoi olla kirkas alue (rakkula), jota esiintyi enemmän Vatianjärven kaloilla kuin vertailukaloilla. Tämä kirkas alue on saattanut olla ruskuaispussiin kerääntynyttä nestettä eli ödeemaa, mutta asiasta ei ole täyttä varmuutta. Naarajärven koesarjojen poikasilla, joilla ruskuaista oli vielä selvästi jäljellä, ei havaittu keltaisuutta ruskuaispussissa.

Tuloksien tarkastelussa on huomioitava, että kaikissa vesiuutekoeastioissa oli kiintoainetta,

vaikka näytteet oli sentrifugoitu (5 min nopeudella 200 rpm/min) kiintoaineen poistamiseksi ennen astioihin mittaamista. Kiintoainetta oli lähes kaikilla vahvimpien pitoisuuksien (50 %:n elutriaatti) poikasilla suolessa, nielussa tai kiduksissa. Partikkelien esiintyminen poikasten elimistössä oli joko ravinnonoton vuoksi nieltyä tai hengityksen kautta kulkeutunutta.

Mikroskopoinnissa kiinnitettiin huomiota myös pigmentin eroihin (Kuva 48 b) alkipoikasten välillä. Pigmentin voimakkuus ja väri vaihteli (ruskeasta mustaan) hieman eri koesarjoissa. Valtaosalla poikasista pigmentin väri oli musta. Ruskeaa pigmenttiä esiintyi jonkun verran ja näistä lähes kaikki Naarajärven altistuksissa. Lisäksi havaittiin, että kehityshäiriöiset poikaset olivat keskimääräisesti heikommin pigmentoituneita.

4 TULOSTEN TARKASTELU

4.1 Menetelmien arviointi

Kokoomanäytteet koottiin pääasiassa kolmesta Kajak-näytteestä. Poikkeuksina olivat Keiteleen ja Leppäveden näytteet. Keiteleen analyysinäytteessä oli vain kaksi nostoa, koska yksi näytteistä kontaminoitui. Leppäveden sedimenttinäyte taas koottiin viidestä rinnakkaisesta näytteestä. Lisäksi Kuhnamosta 4,5 km:n näytealueelta otettiin vain yksi Kajak-nosto. Sedimenttikokoomanäytteitä otettiin yhteensä kahdeksan Äänekoskelta alavirtaan, minkä ansiosta saatiin laajalta alueelta tietoa sellu- ja paperiteollisuuden haitta-aineiden vaikutusalueesta.

Sedimenttianalyyseissä ei tehty rinnakkaismäärittäyksiä, joten alueellisten vaihteluiden heterogeenisyyden vähentämiseksi analysointi tehtiin kokoomanäytteistä, jolloin suurin virhelähde on analyysin tekijä. Hartsihappojen ja reteenin osalta käytetty menetelmä oli mielestäni toimiva, koska sitä on käytetty jo useissa aikaisemmissakin tutkimuksissa ja samalla kehitetty eteenpäin (mm. Leppänen & Oikari 1999a; Lahdelma & Oikari 2005). Hartsihappojen uuttomenetelmä on monivaiheinen ja työläs, mutta kuitenkin melko yksinkertainen toteuttaa. Puusterolien ja betulinolin osalta menetelmä on muutoin toimiva, mutta pylväspuhdistuksen häiriöherkkyys edellyttää tarkkuutta ja huolellisuutta. Puusterolien analyysimenetelmää on myös käytetty vähemmän kuin hartsihappojen menetelmää, jolloin vertailuarvoja on vähän. Luotettavuutta kaikissa menetelmissä lisää

sisäisen standardin käyttö.

Tutkimuksessa saatiin uutta tietoa koskien siian alkiopoikaskoetta, sillä sedimentistä valmistetulla vesiuutteella ei tiettävästi vastaavanlaista koetta ole aiemmin tehty. Vesiuutteissa odottamatonta oli niiden voimakas väri ja hyvin hienojakoinen kiintoaine, jota ei käytetyllä sentrifugilla saatu laskeutettua. Tämä vaikeutti alkiopoikasten käyttäytymisen seuranta, eikä niiden kuolleisuuden laskeminen ollut mahdollista kokeen aikana. Nimenomaan runsas kiintoainepitoisuus elutriaattikokeissa saattoi aiheuttaa alkiopoikasilla ilmenneet kehityshäiriöt. Jos vastaavanlainen elutriaattikoe kalanpoikasilla tehtäisiin uudelleen, suosittelen kiinnittämään huomiota kiintoaineen määrään vesiuutteissa.

Vesiuutteiden analysoinnissa oli hyvää menetelmän nopeus. Etenkin ylävirran vertailunäytteiden alhaiset haitta-ainepitoisuudet (esim. Naarajärven hartsihappopitoisuus $<1 \mu\text{g/l}$) käytetyssä näytetilavuudessa (200–250 ml) heikensivät uuteaineiden pitoisuuksien mittaustarkkuutta. Sen parantamiseksi olisikin hyvä käyttää suurempaa näytetilavuutta. Toisaalta määrittämiä tehtiin alkiopoikaskokeen aikana useampia kuin yksi samasta pitoisuudesta, mikä taas paransi mittaustarkkuutta.

Bioluminesenssin inhibitiokokeen elutriaatit ja mittaukset tehtiin tarkkaan aikataulutetusti kolmena eri päivänä: 1) Ennen mittausta elutriaattia säilytettiin kylmähuoneessa ($4 \text{ }^\circ\text{C}$) vain 24 h, mikä paransi vertailukelpoisuutta ja luotettavuutta. 2) Bioluminesenssimittaukset tehtiin välittömästi laimennossarjojen valmistuksen jälkeen luminometrillä (Mikrotox Flash[®]). 3) Kaikki pitoisuusmäärittäykset tehtiin yhtä pitkän säilytysajan jälkeen, jolloin niiden vertailukelpoisuus oli hyvä, mutta alkiopoikaskokeen pitoisuusmäärittäyksistä poiketen pitoisuusmäärittäykset tehtiin ilman toistoja.

4.2 Veden laatu Äänekosken alapuolisessa vesistössä keväällä 2007

Vertailualueiden vesinäytteet otettiin 23.–25.4.2007. Naarajärven ja Keiteleen veden laadun erot olivat selkeät tässä tutkimuksessa, kuten aikaisempien tietojen perusteella oletettiin (Palomäki ym. 2006). Naarajärven vesi oli väriltään tummaa (125 mg Pt l^{-1}) ja sen DOC-pitoisuus oli mitatuista järvivesistä korkein ($12,8 \text{ mg/l}$). Saarijärven reitin järvet ovat reheviä, mistä kertoo velvoitetarkkailun näytesteestä Aittokoskesta (tuo Saarijärven reitin veden Naarajärveen) mm. vuonna 2005 määritetyt vuosikeskiarvot: väri oli 140 mg

Pt l⁻¹, kokonaistypen pitoisuus oli 650 µg/l ja fosforin pitoisuus 34 µg/l (Palomäki ym. 2006). Tässä tutkimuksessa veden väri ja DOC-pitoisuus kuvaavat Naarajärven rehevyyttä. Keväällä 2007 Keiteleen veden väriarvo oli noin kuudesosa Naarajärven arvosta ja DOC:n pitoisuus noin puolet. Myös vuonna 2005 väri oli Aittokoskessa noin kuusinkertainen Häränvirtaan (tuo Keiteleen veden Äänejärven kautta Kuhnamoon) verrattuna (Palomäki ym. 2006). Keväällä 2007 sähkönjohtokyvyssä ei ollut eroa vertailualueiden välillä, sillä Naarajärvessä se oli 18,8 µS/cm ja Keiteleessä 17,1 µS/cm, kun vuonna 2005 vuosikeskiarvo oli molemmissa järvissä noin kaksinkertainen (Palomäki ym. 2006). Vuoden 2005 ja tämän tutkimuksen väliset erot sähkönjohtokyvyssä ovat todennäköisesti johtuneet sulamisvesien vaikutuksesta, koska tässä tutkimuksessa näytteenotto oli pian jäiden lähdön jälkeen. Häränvirrassa oli Palomäen ym. (2006) mukaan vuonna 2005 typen pitoisuus (330 µg/l) noin puolet Naarajärven tasosta ja fosforin (8 µg/l) noin neljäsosa.

Kuhnamon vesinäytteet otettiin 25.4. ja 7.5.2007. Kuhnamon vesi oli voimakkaan ruskeaa (60 Pt l⁻¹) ja sähkönjohtokyky vaihteli runsaasti ollen 4,5 km:n etäisyydellä tehtaasta yli puolet alhaisempi kuin yhden kilometrin etäisyydellä tehtaasta mitattu (112 µS/cm). Heti Äänekosken alapuolisessa vesistössä sähkönjohtokyky oli yli kuusi kertaa ylävirran vertailualueita korkeampi. Kuhnamon ja vertailualueiden välisellä sähkönjohtokyvyn erolla on selvä yhteys yhdyskuntajätevedenpuhdistamon ja tehtaiden aiheuttamaan natriumkuormaan vedessä, sillä natriumin pitoisuus oli Palomäen ym. (2006) mukaan vuonna 2005 Kuhnamon tarkkailupisteessä 17 mg/l, kun taas vertailualueilla (Aittokoski ja Häränvirta) se oli lähes 90 % alhaisempi. Vuonna 2005 Kuhnamossa kokonaistypen (510 µg/l) ja fosforin (26 µg/l) pitoisuudet olivat noin 20 % alhaisempia kuin Saarijärven reitillä (Palomäki ym. 2006), mikä osoittaa Saarijärven reitiltä tulevan veden olevan ravinnepitoisempaa kuin Äänekosken alapuolisen vesistön. Lisäksi Kuhnamon Vatianjärveen yhdistävässä Kapeenkoskessa tehtailta tulevan kiintoainekuorman osuus kokonaiskiintoaineesta on vaihdellut vuosina 1993–2005 välillä 8–33 %. Tästä puolestaan jopa 50 % on ollut peräisin sedimentistä tai hajakuormituksesta. Samaan aikaan Saarijärven reitiltä tulevan typen, fosforin ja kiintoainekuorman (noin 35 % vuonna 2004) osuus on kasvanut Äänekosken vesireitillä (Palomäki ym. 2006), jolloin tehtaiden suhteellinen osuus kiintoainekuormasta Äänekosken alapuolisissa vesistöissä on pienentynyt.

Vatianjärven vesinäytteet otettiin 23.4.2007. Sen veden väri oli hieman kirkastunut (50 Pt

l⁻¹) Kuhnamon tasosta ja sen DOC-pitoisuus oli 9,3 mg/l. Vuonna 2005 väri oli 63 Pt l⁻¹ eli noin 26 % korkeampi kuin tässä tutkimuksessa määritetty. Vuonna 2005 määritetty typen pitoisuus oli 460 µg/l ja fosforin 21 µg/l, mitkä ovat hyvin lähellä Kuhnamon tasoa. Vuonna 2005 natriumpitoisuus oli kuitenkin noin 40 % Kuhnamon tasoa alhaisempi (10 µg/l) (Palomäki ym. 2006). Keväällä 2007 sähkönjohtavuudet Vatianjärvessä vaihtelivat välillä 48–64 µS/cm, mikä oli noin puolet alhaisempi kuin Kuhnamon korkein johtavuus kilometri Äänekoskelta alavirtaan.

Leppäveden vesinäyte otettiin 7.5.2007 ja sen veden väri oli järvoreitin matalin, 40 Pt l⁻¹. Sen sähkönjohtokyky (29 µS/cm) oli puolet Vatianjärven tasosta. Vuonna 2005 Leppäveden sähkönjohtavuus oli noin kaksinkertainen kevään 2007 tasoon verrattuna ja natriumpitoisuus (5,5 mg/l) oli noin puolet Vatianjärven tasosta (Palomäki ym. 2006). Leppäveden typen pitoisuus (410 µg/l) vuonna 2005 oli noin neljäsosan ja fosforin (14 µg/l) lähes puolet Kuhnamon tasoa alhaisempi (Palomäki ym. 2006).

Veden laadun erojen tarkastelu osoittaa, että se paranee tasaisesti Äänekoskelta alavirtaan niin vuoden 2005 vuosikeskiarvojen mukaan (Palomäki ym. 2006) kuin kevään 2007 mittaustuloksissakin. Vertailualueiden veden laadun erojen tarkastelu taas vahvistaa vertailualueiden erilaisuuden, minkä vuoksi olikin hyvin perusteltua käyttää kahta vertailualueita. Vaikka mittauksissa oli hieman vaihtelua kevään 2007 ja vuoden 2005 keskiarvojen välillä, molemmissa on sama suuntaus näkyvissä, mitä tulee veden laatuun vertailualueilla ja Äänekosken reitillä. Lisäksi mittausarvojen suhteet olivat melko samat molempina ajankohtina. Esimerkiksi molemmissa väri kirkastuu Kuhnamon tasosta Leppäveden tasoon noin 33 %.

Kuiva-ainepitoisuus ja orgaaninen materiaali

Tässä tutkimuksessa sedimenteistä määritettiin kuiva-ainepitoisuus ja orgaanisen materiaalin (OM) pitoisuus kuiva-ainetta kohti ja niitä verrattiin toisiinsa Pearsonin korrelaatiotestillä. OM:lla tarkoitetaan hehkutushäviötä (LOI = loss-of-ignition) ja se sisältää kaiken palavan orgaanisen aineen, mitä sedimentissä on. Tässä tutkimuksessa ei TOC-määrittystä (orgaanisen hiilen kokonaispitoisuus) tehty, mutta LOI:n avulla voidaan arvioida sen osuutta sedimentissä, sillä Ristolán ym. (1996) mukaan TOC-pitoisuus sedimentissä on keskimäärin kolmasosa LOI:n pitoisuudesta.

Naarajärven kaikissa sedimentin syvyyksissä kuiva-ainepitoisuus oli noin kaksinkertainen

Keiteleen sedimenttiin verrattuna. Vastaavasti Keiteleen sedimentissä LOI:n pitoisuudet olivat lähes kaksikertaiset Naarajärveen verrattuna. Tämä viittaa, että Keiteleen sedimentillä voi olla suurempi potentiaali sitoa orgaanisia yhdisteitä kuin Naarajärven sedimentillä. Kuiva-aineen ja LOI:n välisissä riippuvuuksissa oli huomattavaa erot vertailualueiden kesken, sillä Keiteleessä niiden välillä oli erittäin merkittävä negatiivinen korrelaatio ($r=-0,99$; $p<0,01$; $n=5$) ja Naarajärvestä taas positiivinen riippuvuus ($r=0,54$; $p=0,35$; $n=5$), joka ei ollut merkitsevää.

Äänekosken reitin (Kuhnamo, Vatianjärvi ja Leppävesi) sedimenteissä kuiva-ainepitoisuuden kasvaessa LOI:n pitoisuudet laskivat ja niiden välillä olikin Äänekosken reitillä Keiteleen tavoin erittäin merkitsevä negatiivinen riippuvuus ($r=-0,89$; $p<0,01$; $n=38$). Havaittu vahva riippuvuus sedimentin vesipitoisuuden ja orgaanisen aineen pitoisuuden välillä onkin Håkanssonin ja Janssonin (1983) mukaan tyypillistä sedimenteissä.

Yhden kilometrin etäisyydellä jätevesien purkupaikasta kuiva-ainepitoisuus oli alhaisimmillaan ja LOI:n pitoisuudet olivat Äänekosken reitin korkeimmat vaihdellen välillä 227–300 mg/g. Kuhnamon sedimentissä lähimpänä tehdasta (1 km) näkyikin erittäin hyvin sellu- ja paperiteollisuuden vaikutus LOI:n pitoisuuksissa (Leppänen & Oikari 1999a). Lisäksi LOI:n pitoisuutta lisää Äänekosken yhdyskuntajäteveden puhdistamolta tuleva jätevesi, missä käsitellään myös Valion meijerin jätevedet (Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2007).

Vatianjärven sedimentin kuiva-ainepitoisuudet olivat pääsääntöisesti samaa tasoa kuin Naarajärven, mutta joissain sedimentin syvyyksissä ne olivat jopa puolitoistakertaisia. Vatianjärvestä keskimäärin suurin kuiva-ainepitoisuus oli noin 15 km:n etäisyydellä Äänekoskelta neljän metrin syvyydestä otetussa näytteessä, mikä selittyy Håkanssonin ja Janssonin (1983) mukaan näytteenotto-syvyydellä, sillä matalassa vedessä sedimentin vesipitoisuus on tyypillisesti vähäisempi kuin syvässä vedessä. Alhaisempi vesipitoisuus taas johtuu suurempien partikkelien nopeammasta laskeutumisesta matalassa vedessä (Håkanson & Jansson 1983). Vatianjärven LOI:n pitoisuudet olivat melko tasaiset (78–107 mg/g) lähes kaikilla mittausalueilla. Sedimentissä 15 km:n päässä tehtailta (neljän metrin syvyydeltä) LOI:n pitoisuudet olivat kuitenkin osittain alhaisia vaihdellen välillä 40–81 mg/g. Alhaisimmillaan se oli syvimmissä kerroksessa (15–20 cm), noin puolet muiden Vatianjärven vastaavan sedimentin syvyyden pitoisuuksista.

Leppäveden sedimentin kuiva-ainepitoisuus oli hieman korkeampi Vatianjärveen verrattuna ja noin kolminkertainen Keiteleen sedimentin pitoisuuksiin verrattuna. LOI:n pitoisuudet taas pysyivät likimain samalla tasolla kuin Vatianjärven 15 km:n (4 m) mittausalueella, mutta kasvoivat syvemmälle sedimenttiin mentäessä.

4.3 Puun uuteaineet metsäteollisuuden sedimenteissä

Äänekosken reitin sedimentit

Äänekosken reitin sedimentit ovat pääasiassa transportaationsedimenteitä, eivätkä ne kerrostu selkeästi erillisiksi vuosiksi kuten lustosedimentit (Håkanson & Jansson 1983). Sen sijaan niissä tapahtuu vuosittaista uudelleen liikkeelle lähtöä ja sedimentoitumista. Sedimentoitumistavan tulkintaa Äänekosken reitillä tukevat hydrologisten tietojen lisäksi otettujen sedimenttinäytteiden profiilit, joista ei ollut selkeää vuosikerrostuneisuutta havaittavissa (Liite 1). Vastaavanlainen sedimentoituminen on havaittu muun muassa Etelä-Saimaalla (Lahdelma & Oikari 2005). Kuhnamosssa 4,5 km:n etäisyydellä tehtaista sedimentti kuitenkin oli ilmeisesti eroosiotyyppiä, koska siinä oli suuri mineraalimaan osuus ja alhainen vesipitoisuus (Håkanson & Jansson 1983).

Vertailualueet – Naarajärvi ja Keitele

Ylävirran vertailualueiden hartsihappo- ja reteenipitoisuudet olivat tyypillisiä taustapitoisuuksiksi, vaikka Naarajärven suurin vertailupitoisuus (0,3 µg/g) 10–15 cm:n syvyydessä olikin hieman tyypillistä korkeampi. Taulukkoon 9 on listattu tämän työn vertailupitoisuudet ja lisäksi joidenkin aikaisemmissa tutkimuksissa käytettyjen vertailualueiden sedimenttien uuteainepitoisuuksia ja esiteollisia pitoisuuksia.

Puusterolien vertailupitoisuudet olivat korkeampia kuin Lahdelman ja Oikarin (2006) Saimaan vertailualueelta mitaamat pitoisuudet (Taulukko 9). Naarajärven pitoisuudet olivat kolminkertaisia Etelä-Saimaan pitoisuuksiin verrattuna ja Keiteleen jopa kymmenkertaisia. Naarajärven pitoisuuksiin vaikuttavia tekijöitä voidaan kuitenkin pitää luonnollisista syistä johtuvina, koska sedimenttiin ei päädy teollisuudesta peräisin olevia haitta-aineita. Keiteleen sedimentin korkeisiin puusterolipitoisuuksiin 0-10 cm:n syvyydessä on ilmeisesti vaikuttanut Suolahdessa sijaitseva Finnforest Oyj:n vaneritehdas, joka sijaitsee noin kuuden kilometrin päässä Keiteleen näytteenottoalueesta.

Taulukko 9. Yhteenveto puun uuteaineiden vertailupitoisuuksista ja esiteollisista pitoisuuksista sedimenteissä. Vertailupitoisuudet ovat Äänekoskelta ylävirtaan (Naarajärvi ja Keitele), Etelä-Saimaasta ja Kuusvedestä (sulkuihin on merkitty etäisyys teollisuusyksiköstä ylävirtaan). Esiteolliset pitoisuudet on mitattu Etelä-Saimaasta, Lievestuoreenjärvestä ja Päijänteen Lehtiselältä sekä Tiirinselältä. Pitoisuussarakkeeseen on merkitty pitoisuusväli tai pitoisuus (jos vain yksi sedimentin kerros), millä uuteaineet on mitattu sedimentissä.

Sijainti	Yhdiste	Pitoisuus (µg/g k.a.)	Sedimentin syvyys (cm)	Lähde
Naarajärvi (-8,5 km)	hartsihapot	0,9–4,7	0–20 ¹⁾	
Keitele (-5 km)	hartsihapot	3,5–13	0–20 ¹⁾	
Etelä-Saimaa (-8 km)	hartsihapot	5	30–45 ²⁾	Leppänen & Oikari 1999a
Kuusvesi	hartsihapot	0,3–1,7	0–9 ³⁾	Leppänen & Oikari 2001
Etelä-Saimaa (-8 km)	hartsihapot	<11	0–30 ⁴⁾	Lahdelma & Oikari 2005
Päijänne Lehtiselkä	hartsihapot	<15	40–44 ⁵⁾	Lahdelma & Oikari 2005
Päijänne Tiirinselkä	hartsihapot	26	40–44 ⁵⁾	Lahdelma & Oikari 2005
Naarajärvi (-8,5 km)	reteeni	0–0,27	0–20 ¹⁾	
Keitele (-5 km)	reteeni	0–0,04	0–20 ¹⁾	
Lievestuoreenjärvi	reteeni	0,09	27–32 ⁶⁾	Leppänen & Oikari 2001
Etelä-Saimaa (-8 km)	reteeni	<0,1	10–30 ²⁾	Leppänen & Oikari 1999a
Kuusvesi	reteeni	0,01–0,13	0–9 ³⁾	Leppänen & Oikari 2001
Etelä-Saimaa (-8 km)	reteeni	<0,1	0–30 ⁴⁾	Lahdelma & Oikari 2005
Päijänne Lehtiselkä/Tiirinselkä	reteeni	<0,1	40–44 ⁵⁾	Lahdelma & Oikari 2005
Naarajärvi (-8,5 km)	sterolit	90–191	0–20 ¹⁾	
Etelä-Saimaa (-8 km)	sterolit	10–50	0–30 ⁴⁾	Lahdelma & Oikari 2006
Päijänne Lehtiselkä/Tiirinselkä	sterolit	30–50	36–44 ⁵⁾	Lahdelma & Oikari 2006
Naarajärvi (-8,5 km)	betulinoli	0–4,5	0–20 ¹⁾	
Keitele (-5 km)	betulinoli	4,4–44	0–20 ¹⁾	
Etelä-Saimaa (-8 km)	betulinoli	<25	0–30 ⁴⁾	Lahdelma & Oikari 2006

*Hartsihapot = pimaari-, isopimaari-, sandarakopimaari-, palustriini-, dehydroabietiini-, abietiini- ja neoabietiinihappo.

*Sterolit = kolesteroli, kolestanoli, kampesteroli, kampestanoli, stigmasteroli, β-sitosteroli ja stigmastanoli.

- | | |
|--|---|
| 1) Katso viipalointi kuvasta 12 (s.40). | 4) Sedimentin viipalointitarkkuus oli 5 cm. |
| 2) Esiteollinen sedimentti, jossa oli yhdistetty kaikki sedimentti välillä 30–45 cm. | 5) Esiteollinen sedimentti, jossa viipalointitarkkuus oli 4 cm. |
| 3) Sedimentin viipalointitarkkuus oli 1 cm. | 6) Esiteollinen sedimentti, jonka viipaleen paksuus oli 5 cm. |

Vaneritehtaalta Paatelan kanavan kautta Kuhnamoon on matkaa noin neljä kilometriä ja

Riihivuoren pakkasvarastolta, jossa säilötään tukkeja, noin kaksi kilometriä (Keski-Suomen ympäristökeskus 2006). Kun vesi ei pääse virtaamaan kanavan kautta, on ulosvirtaus Keiteleestä nimenomaan näytteenottoalueen kautta Äänejärveen ja sieltä Häränvirran kautta Kuhnamoon (ks. Kuva 11 s. 38). Keiteleen pintasedimentissä (0-10 cm) mitatut korkeat puusterolipitoisuudet (korkeimmillaan 578 µg/g) johtuvat todennäköisesti vaneritehtaan läheisyydestä (noin 6 km näytteenottoalueeseen). Vaneritehtaan ja korkeiden puusterolipitoisuuksien vuoksi voidaan Keiteleen näytteenottoaluetta pitää soveltumattomana vertailualueeksi. Sen sijaan Naarajärven kaikkien pitoisuusmääritysten arvot lienevät tyypillisen suomalaisen järvisedimentin pitoisuuksien tasolla (Taulukko 9).

Keiteleen sedimentissä oli Naarajärveen verrattuna korkeimmillaan kymmenkertaiset betulinolipitoisuudet, mikä ilmeisesti johtuu puun uitosta Keiteleen kautta Äänekosken tehtaille (Auer 1971). Suolahden vaneritehtaan läheisyys on myös voinut vaikuttaa betulinolin pitoisuuksiin. Naarajärven sedimentin betulinolipitoisuudet olivat puusterolipitoisuuksien tavoin korkeita (noin 20-kertaisia) verrattuna Etelä-Saimaasta mitattuihin vertailupitoisuuksiin (Taulukko 9).

Kuhnamo

Äänekosken tehdasalueen alapuolisen vesistön hartsihappopitoisuudet olivat melko alhaisia suurimman pitoisuuden (246 µg/g) ollessa Kuhnamon sedimentissä noin neljäsosa mm. Päijänteen Lehtiselän korkeimmasta pitoisuudesta (Lahdelma & Oikari 2005). Tässä tutkimuksessa korkeimmat reteenipitoisuudet olivat Kuhnamossa kilometrin etäisyydellä tehtaasta, jossa ne vaihtelivat välillä 42–51 µg/g. Reteenin pitoisuudet olivat todella alhaisia verrattuna aikaisemmin havaittuihin pitoisuuksiin, esimerkiksi Lievestuoreenjärven korkeimpaan pitoisuuteen 3300 µg/g k.a. (Leppänen & Oikari 2001), tai Etelä-Saimaan sedimentistä mitattuun 1678 µg/g k.a. (Leppänen & Oikari 1999a). Tyypillisesti korkeita pitoisuuksia reteeniä havaitaan melko syvällä sedimentissä, sillä sitä muodostuu hitaasti mikrobitoiminnan seurauksena anaerobisissa olosuhteissa hartsihapoista (Tavendale ym. 1997). Hartsihappojen anaerobisia muuntumistuotteita ovat myös tetrahydrofenantreeni (THR) (Tavendale ym. 1997), dehydroabietiini (DHA) ja fikteliitti (Tavendale ym. 1997; Leppänen & Oikari 1999a, 2001), mutta niitä ei tässä tutkimuksessa määritetty.

Tässä työssä puusteroli- ja betulinolipitoisuudet olivat korkeimmat Kuhnamossa kilometrin

etäisyydellä tehtailta. Puusterolien korkein pitoisuus (2886 µg/g) on tiettävästi suurin mitattu pitoisuus sellu- ja paperiteollisuuden alapuolisessa sedimentissä. Lahdelma ja Oikari (2006) mittasivat Päijänteen Lehtiselän sedimentissä puusterolien suurimmaksi kokonaispitoisuudeksi 1970 µg/g k.a., mikä on noin 2/3 tämän tutkimuksen suurimmasta pitoisuudesta. Myös Etelä-Saimaan sedimentistä on mitattu lähes yhtä korkeita pitoisuuksia kuin Päijänteessä (Lahdelma & Oikari 2006). Kuhnamon sedimentin puusterolipitoisuudet laskivat nopeasti etäisyyden tehtaaseen kasvaessa. Suurin kokonaispitoisuus 3,5 km:n päässä tehtaasta oli enää noin puolet kilometrin päässä mitatusta. Vastaava nopea pitoisuuden lasku oli havaittavissa Etelä-Saimaan sedimentissä yhden ja kolmen kilometrin välillä, mutta siellä se oli vielä voimakkaampi kuin Kuhnamossa (Lahdelma & Oikari 2006). Sterolien pitoisuuksiin sedimentissä voi vaikuttaa tehtailla käytetyt puulajit, sillä esimerkiksi koivu sisältää noin 12 kertaa mäntyä enemmän steroleja. Toisaalta koivussa taas ei ole hartsihappoja (Vikström ym. 2005). Käytetyllä puhdistusmenetelmälläkin on vaikutusta jätevesien haitta-ainekuormaan, sillä uuteaineiden poistotehokkuus vaihtelee eri menetelmillä. Lisäksi sterolien poistotehokkuus ei ole yleensä yhtä hyvä kuin hartsihappojen (Strömberg ym. 1996), eikä esimerkiksi 1990-luvun alkupuolella tehty jätevedenpuhdistuksen prosessimuutos Lappeenrannan tehtaalla vaikuttanut sitosterolin pitoisuuksiin jätevesissä (Oikari & Holmbom 1996).

Kuhnamosta, kilometri tehtailta alavirtaan mitattiin Äänekosken reitin suurin betulinolipitoisuus, 1666 µg/g. Etelä-Saimaasta on mitattu betulinolia noin kaksinkertainen pitoisuus (3810 µg/g) siihen verrattuna (Lahdelma & Oikari 2006). Betulinolia, jota on koivun kuoressa (Sjöström 1993), havaittiin runsaasti etenkin Kuhnamon ja Vatianjärven näytteistä, koska näissä järvissä puuta on uitettu lähes koko tehtaiden historian ajan (Auer 1971; Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2006c).

Hartsihappojen ja reteenin välisiä eroja sekä niiden ja hehkutushäviönä (LOI) määritetyn OM:n pitoisuuksien eroja tarkasteltiin Pearsonin korrelaatiotestillä. Kuhnamossa havaittiin hartsihappojen ja reteenin pitoisuuksien välillä erittäin merkitsevä positiivinen riippuvuus ($r=0,77$; $p<0,01$; $n=13$). Orgaanisen aineen pitoisuus, lähinnä TOC, voi korreloida hartsihappojen ja reteenin pitoisuuksien kanssa sedimentin eri kerroksissa (Leppänen & Oikari 1999a). Tässä tutkimuksessa vertailtiin kuitenkin puun uuteaineiden ja LOI:n pitoisuuksien suhteita sedimentissä, koska TOC:n määrittystä ei tehty. Kuhnamossa reteenin ja hartsihappojen pitoisuudet korreloivat positiivisesti ja erittäin merkitsevästi

LOI:n pitoisuuksien kanssa ($r=0,86$; $p<0,01$; $n=13$ ja $r=0,89$; $p<0,01$; $n=13$). Leppänen ja Oikari (1999a) ovat havainneet Etelä-Saimaan sedimentissä vastaavan riippuvuuden, mikä viittaa sedimentin orgaanisen aineen olevan suurelta osin peräisin sellu- ja paperiteollisuudesta. Lisäksi Teräväniemen ja Suolahden jätevedenpuhdistamot lisäävät myös Äänekosken reitin sedimentin orgaanisen aineen pitoisuuksia (Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2007). Kuhnamon sedimentissä puusterolit ja betulinoli korreloivat keskenään positiivisesti ja erittäin merkitsevästi ($r=0,99$; $p<0,01$; $n=13$). Molemmilla oli positiivinen riippuvuus myös LOI:n pitoisuudesta, mutta vain puusteroleilla se oli merkitsevä ($r=0,57$; $p<0,05$; $n=13$). Mielestäni puusterolien, betulinolin ja LOI:n voimakkaat riippuvuudet tukevat havaintoa siitä, että Äänekosken tehtaat tuottavat suuren määrän orgaanista ainetta Kuhnamon sedimenttiin.

Vatianjärvi

Vatianjärven sedimentin kokonaishartsihappopitoisuudet vaihtelivat välillä 35–152 $\mu\text{g/g}$. Suurin pitoisuus mitattiin järven pohjoisosassa 12 km:n etäisyydellä tehtaista, jossa se oli noin 60 % yhden kilometrin etäisyydellä mitatusta Kuhnamon sedimentin korkeimmasta pitoisuudesta. Myös 15 km:n kolmelta osa-alueelta havaittiin lähes yhtä korkeita pitoisuuksia kuin 12 km:n etäisyydellä.

Vatianjärvessä reteenipitoisuudet olivat todella alhaisia korkeimman pitoisuuden ollessa (2,7 $\mu\text{g/g}$) alle sadasosa Etelä-Saimaan sedimentistä mitatuista pitoisuuksista (Leppänen & Oikari 1999a). Itse asiassa reteeniä oletettiin olevan Äänekosken reitin sedimentissä huomattavasti enemmän kuin mitä sitä tässä tutkimuksessa mitattiin ja sen pitoisuudet olivatkin lähellä taustapitoisuuksia (Taulukko 9). On tietysti mahdollista, että reteeniä on sedimentissä havaittuja pitoisuuksia runsaammin, mutta syvemmillä kuin mitä tässä tutkimuksessa mitattiin. Reteenin pitoisuudet voivat olla korkeimmillaan pintakerroksessa tai vasta syvemmissä sedimentin kerroksissa, riippuen olosuhteista sedimentissä (Tavendale ym. 1997; Leppänen & Oikari 1999a). Esimerkiksi Etelä-Saimaalla on mitattu tähän tutkimukseen verrattuna korkeita reteenipitoisuuksia pintakerroksessa (yli 100 $\mu\text{g/g}$; Leppänen & Oikari 1999a; Lahdelma & Oikari 2005), kun Päijänteen Lehtiselällä sedimentin pinnassa pitoisuudet olivat alhaisia (alle 0,3 $\mu\text{g/g}$) nousten yllättäen tasolle 560 $\mu\text{g/g}$ sedimentin syvyydessä 12–15 cm (Lahdelma & Oikari 2005). Reteeniä muodostuu anaerobisia olosuhteissa hartsihapoista etenkin DHAA:sta (dehydroabietiinihaposta), eikä sitä täten muodostu pintasedimentissä, jossa on hapelliset olosuhteet (Tavendale ym.

1997). Tyypillisesti reteenin muodostuminen sedimentissä on hidas prosessi, mutta sen muodostuminen voi alkaa anaerobisissa oloissa jo puhdistamolla, jolloin reteeni on ehtinyt muodostua sedimenttipartikkelin sisällä ennen sen laskeutumista tai pian laskeutumisen jälkeen. Näin reteenipitoisuudet voivat olla korkeita myös pintasedimentissä (Leppänen ym. 2000) kuten Etelä-Saimaan sedimentissä (Leppänen & Oikari 1999a). Lisäksi anaerobiset olosuhteet sedimentissä voivat vähentää orgaanisen hiilen määrää sedimentissä, sillä anaerobiset bakteerit kuluttavat sitä. Samalla hydrofobisten yhdisteiden sitomispotentiaali sedimentissä vähenee (Håkanson & Jansson 1983; Leppänen & Oikari 1999b). Leppänen ja Oikarin (1999b) mukaan korkea DHAA:n pitoisuus voi inhiboida bakteereja ja näin estää reteenin muodostumisen sedimentissä, mikä ei kylläkään ole Äänekosken reitin sedimenteissä todennäköistä, sillä reteeniä oli eniten sedimentissä, jossa oli korkeimmat DHAA:n pitoisuudet.

Vatianjärvessä puusterolipitoisuudet vaihtelivat paljon eri mittausalueilla: alhaisimmillaan se oli vain 14 µg/g, joka on noin viidesosa pienimmästä Keiteleen vertailupitoisuudesta ja kuudesosa Naarajärven alhaisimmasta pitoisuudesta. Korkeimmillaan sen kokonaispitoisuus oli 590 µg/g ja se mitattiin sedimentissä 15 km:n päässä tehtailta. Tyypillisesti yleisin puusteroleista on β-sitosteroli, mutta poikkeuksellisesti etenkin Vatianjärven sedimenteissä stigmastanolin pitoisuudet olivat korkeampia kuin β-sitosterolin varsinkin syvemmissä sedimentin kerroksissa. Tulos saattaa viitata β-sitosterolin pelkistymiseen stigmastanoliksi anaerobisissa olosuhteissa (Chan ym. 1998).

Betulinolipitoisuudet kertovat lähinnä puun uitosta ja säilytyksestä vesialueella, sillä betulinolia irtoaa koivun kuoresta (Sjöström 1993), mutta toisaalta betulinoli indikoi käytetyn koivun määrää tehtaalla, sillä sitä voi päätyä myös puhdistamolta vesistöön suhteellisen suuria määriä yhdisteen pysyvyyden vuoksi. Esimerkiksi Lappeenrannan tehtaan puhdistamolla tehty prosessimuutos 1990-luvun alkupuolella ei vaikuttanut betulinolin pitoisuuksiin jätevesissä (Oikari & Holmbom 1996). Vatianjärvessä betulinolipitoisuudet olivat kiinnostavia, sillä ne olivat lähes aina runsaampia kuin yhdenkään yksittäisen puusterolin pitoisuus ja korkeimmillaan (1318 µg/g) – jopa yli kaksinkertaisia suurimpaan Vatianjärven kokonaispuusterolipitoisuuteen verrattuna. Mielenkiintoista oli, että betulinolin korkein pitoisuus 12 km:n etäisyydellä tehtaasta oli samaa tasoa kuin suurin Etelä-Saimaan pitoisuus (1390 µg/g) kolmen kilometrin etäisyydellä päästölähteestä (Lahdelma & Oikari 2006).

Vatianjärvessä oli Kuhnamon tavoin hartsihapoilla ja reteenillä sekä puusteroleilla ja betulinolilla positiiviset korrelaatiot. Myös kaikilla uuteaineilla ja LOI:n pitoisuuksilla oli positiiviset riippuvuudet. Kuitenkin ainoastaan reteenillä korrelaatio oli LOI:n pitoisuuden kanssa erittäin merkitsevä ($r=0,72$; $p<0,01$; $n=20$). Vatianjärven näytealojen kesken havaittiin korrelaatioissa melko paljon vaihtelua (ks. Liite 5 s. 143). Esimerkiksi 15 km:n etäisyydellä altaan itäpuolella sedimentti mukailee koko järven tilannetta, sillä kaikki riippuvuudet olivat positiivisia. Altaan länsipuolella tilanne on huomattavan erilainen, sillä reteenillä, hartsihapoilla ja betulinolilla oli kaikilla negatiivinen tilastollisesti merkityksetön riippuvuus LOI:n pitoisuuksien kanssa. Suuri vaihteluihin vaikuttava tekijä on voinut olla orgaanisen aineen osuus, sillä LOI:n pitoisuudet sedimentissä olivat melko tasaiset kaikilla muilla näytealueilla paitsi (15 km:n etäisyydellä) altaan itäpuolen sedimentissä, jossa sen pitoisuus laski syvemmälle sedimenttiin kuten uuteaineidenkin pitoisuudet. Syyt korkeisiin LOI:n pitoisuuksiin kerroksissa, joissa uuteaineita ei ole korkeita pitoisuuksia, voivat olla sellu- ja paperiteollisuudesta riippumattomia. Eroihin korrelaatioissa eri etäisyyksillä Äänekoskesta voi vaikuttaa myös erilaiset olosuhteet sedimentissä eri näytealojen kesken, mm. happipitoisuus (Tavendale ym. 1997), mikrobikanta (Håkanson & Jansson 1983; Leppänen & Oikari 199b) ja partikkelien kokoerot (Batley ym. 2005), jotka vaikuttavat uuteaineiden biologiseen muuntumiseen, jakaantumiseen ja sitoutumiseen sedimentissä.

Leppävesi

Leppäveden hartsihappopitoisuudet olivat sedimentin pinnasta 10 cm syvyyteen ylävirran vertailupitoisuuksien tasolla vaihdellen välillä 13–27 $\mu\text{g/g}$ (Taulukko 9). Leppäveden sedimentin pitoisuudet kaksinkertaistuivat 10–15 cm:n syvyydessä ja 15–20 cm:n syvyydessä ne yllättäen kohosivat Vatianjärven huippupitoisuuksien tasolle (133 $\mu\text{g/g}$). Mielenkiintoista Leppäveden sedimentissä oli vastaava käyttäytyminen myös reteenipitoisuuksissa, jotka kasvoivat syvimässä kerroksessa jopa kaksinkertaiseksi (4,3 $\mu\text{g/g}$) Vatianjärven pitoisuuksiin verrattuna.

Puusterolipitoisuudet olivat hyvin tasaiset ja lähes kaikissa syvyyksissä Naarajärven vertailupitoisuuksien tasolla (Taulukko 9). Kuitenkin sedimentin kerroksessa 2-5 cm kokonaispitoisuus (411 $\mu\text{g/g}$) oli noin nelinkertainen muiden kerrosten pitoisuuksiin verrattuna. Yllättävää puusterolipitoisuuksissa oli, että suurin pitoisuus oli samaa suuruusluokkaa kuin Vatianjärven korkeimmat pitoisuudet (12 ja 15 km:n etäisyydellä

tehtaista). Betulinolipitoisuudet puolestaan olivat Leppävedessä vertailupitoisuuksiin nähden korkeita kaikissa sedimentin kerroksissa (Taulukko 9). Sen pitoisuus oli (54 µg/g) pintakerroksessa alhaisimmillaan kasvaen syvemmälle sedimenttiin, jossa se oli 15–20 cm:n syvyydessä noin kahdeksankertainen verrattuna pintakerrokseen.

Leppäveden sedimentissä hartsihappo- ja reteenipitoisuuksien välillä oli merkitsevä positiivinen korrelaatio ($r=0,95$; $p<0,05$; $n=5$). Leppävedessä puun uuteaineiden ja LOI:n pitoisuuksilla oli vahvat positiiviset riippuvuudet, sillä myös hartsihapoilla ($r=0,99$; $p<0,01$; $n=5$) sekä reteenillä ($r=0,97$; $p<0,01$; $n=5$) havaittiin positiivinen erittäin merkitsevä korrelaatio LOI:n pitoisuuksiin samoin kuin Kuhnamossa. Poikkeavaa Leppäveden tuloksissa Kuhnamoon ja Vatianjärveen verrattuna oli, että puusterolien ja betulinolin välillä ei ollut riippuvuutta ja puusteroleilla oli lievä negatiivinen korrelaatio LOI:n kanssa. Sen sijaan betulinolilla oli vahva positiivinen korrelaatio LOI:n kanssa mutta ei tilastollisesti merkitsevä. Leppäveden pitoisuusprofileissa oli puusteroleja lukuun ottamatta pitoisuudet pinnassa melko alhaisia ja kasvoivat syvemmälle sedimenttiin mentäessä. Tämä havainto on mitä ilmeisimmin seuraus vuonna 1985 alkaneesta jätevedenpuhdistuksen muutoksesta (Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2006a) ja oli vahvimmin näkyvillä nimenomaan Leppäveden kerrostuneisuusprofileissa. Yhteenvetona voidaankin todeta, että Äänekosken reitillä orgaaninen aine ja sellu- ja paperiteollisuuden uuteaineet esiintyvät sedimentissä toisistaan riippuvaisina.

Se, miten sellu- ja paperiteollisuuden jätevesien vaikutus näkyy sedimentissä yli 30 km Äänekoskelta alavirtaan, on todennäköisesti seuraus vesistöalueen hydrologisista tekijöistä kuten veden voimakkaasta virtaamasta (jopa yli 100 m³/s) ja lyhyestä viipymästä (Palomäki ym. 2004, 2006). Nämä ominaisuudet vahvistavat entisestään mm. keväällä sulamisvesien vaikutuksesta tapahtuvaa veden virtausnopeuden voimistumista lisäten etenkin hienojakoisten partikkelien resuspensiota, jolloin niihin sitoutuneet hydrofobiset orgaaniset yhdisteet voivat kulkeutua pitkiäkin matkoja (Lick 1987; 1997). Toisaalta päinvastainen ilmiö on havaittu mm. Lievestuoreenjärven, jossa esimerkiksi hartsihappojen kokonaispitoisuus oli noin 12,5 km:n etäisyydellä päästölähteestä vain 4,5 % verrattuna 1,5 km:n päästä mitattuun korkeimpaan kokonaispitoisuuteen (1100µg/g k.a.). Tämä nopea pitoisuuden lasku etäisyyden suhteen johtui ilmeisesti Lievestuoreenjärven hitaasta veden virtauksesta (viipymän arvioitu olevan noin neljä vuotta; Leppänen & Oikari 2001), jolloin myös sedimenttipartikkelit laskeutuvat lähemmäs

päästölähdettä (Chapman ym. 2005a).

Pintasedimentin haitta-ainepitoisuuden alueellinen tarkastelu

Tässä työssä tehtiin spatiaalinen interpolointi mitattujen hartsihappojen ja puusterolien pitoisuuksien avulla Kuhnamon ja Vatianjärven pintasedimenteille (0–2 ja 2–5 cm). Ennuste tehtiin vain pintasedimenteille, koska ne ovat oleelliset kerrokset sedimenttien resuspension kannalta ja voivat siten vaikuttaa haitta-aineiden siirtymiseen sedimentistä veteen. Mitattujen pitoisuuksien avulla tehtiin matemaattinen mallinnus hartsihappojen ja puusterolien pitoisuuksien vaihteluista sedimentissä etäisyyden suhteen. Hartsihappojen jakaantuminen sedimentissä kahden ylimmän kerroksen välillä (0–2 ja 2–5 cm) poikkeaa toisistaan. Mallinnuksessa pintakerroksen pitoisuudet olivat suurimmillaan noin neljän kilometrin sektorilla tehtailta alavirtaan, jonka jälkeen ne laskivat huomattavasti. Alemmassa kerroksessa pitoisuuksien muutos oli vähäisempää etäisyyden suhteen ja Vatianjärvessä ennuste antoi vielä selkeästi vertailupitoisuuksia korkeammat pitoisuudet.

Puusterolien tilanne oli samankaltainen kuin hartsihapoilla ja niidenkin pitoisuudet olivat pintakerroksessa keskimäärin alhaisemmat kuin alemmassa kerroksessa. Pintakerroksessa Vatianjärven pitoisuudet olivat jo laskeneet noin neljäsosaan Kuhnamon pitoisuuksista. Alemmassa kerroksessa pitoisuuksien lasku oli ennusteen mukaan voimakkaampi ja Vatianjärvessä pitoisuudet olivat noin kymmenesosa Kuhnamon pohjoisosan korkeimmasta pitoisuustasosta. Kuhnamon sedimentissä oli alemmassa kerroksessa pintakerrosta korkeampi pitoisuustaso, mutta laskennassa käytetty näytealue 4,5 km:n päässä tehtaista aiheutti interpolointiin poikkeavan alueen keskelle Kuhnamoaa. Se ilmaisee likimain alueen, jossa järvireitissä on kova pohja eli haitta-ainepitoisen aineksen sedimentoitumista ei ollut tapahtunut.

Sedimenttien kuormitushistoria

Sedimenttien kerrostuneisuusprofiilin historiaan sijoittaminen osoittautui vaikeaksi tehtäväksi. Sedimentoituminen näyttäisi olevan Äänekosken reitillä hyvin erilaista alueen sijainnista riippuen. Voimakkaan virtauksen vuoksi (esimerkiksi Kuhnamon vuoden keskivirtaama n. 80 m³/s) orgaanisia haitta-aineita sisältävän aineksen sedimentoitumista ei tapahdu Kuhnamossa koko järven alueella. Tämä todettiin näytteenotossa 4,5 km:n etäisyydellä tehtaista, kun järven pohja oli kovaa mineraalimaata, eikä sieltä saatu kuin yksi noin 10 cm pitkä näyte, joka sekin oli suurelta osin hiekan ja saven seosta (kuiva-

ainepitoisuus oli korkeimmillaan 59 %). Samasta syystä voidaan olettaa, että varsinaisille sedimentoitumisalueille kertyy keskimääräistä enemmän sedimenttiä. Tällainen alue lienee esimerkiksi Vatianjärven syvin kohta (näytteenottosyvyys 24 m).

Tässä tutkimuksessa arvioitiin Vatianjärven sedimenttien kerrostuneisuutta 15 km:n etäisyydellä Äänekosken tehtaista. Vatianjärven sedimentistä on määritetty hartsihappopitoisuuksia vuosina 1997 ja 2003 järven syvimmältä alueelta läheltä nyt tutkittua aluetta. Vuonna 1997 analysoitu hartsihappojen kokonaispitoisuus oli kuiva-aineessa noin 84 µg/g ja vuonna 2003 se oli noin 45 µg/g (Palomäki ym. 2004). Nämä pitoisuudet ovat samalla tasolla kuin tässä työssä näytealalta 15 km^a (syvyys 24 m) ensimmäisen 10 cm:n syvyyteen mitatut pitoisuudet (35–78 µg/g). Toisaalta Vatianjärvestä oli eri näytealojen välillä vaihteluja hartsihappopitoisuuksissa eri syvyyksissä 15 km:n päässä tehtailta. Esimerkiksi 15–20 cm:n syvyydessä sedimentissä oli järven syvimmällä kohdalla (15 km^a) kokonaispitoisuus kaksinkertainen verrattuna pitoisuuteen näytealueella 15 km^b (syvyys 7,5 m) ja kolminkertainen näytealueen 15 km^c (syvyys 4 m) pitoisuuteen verrattuna. Kun tarkastellaan lähemmin näytealaa 15 km^a, voidaan aiempien hartsihappomääritysten avulla arvioida noin 10 cm syvyyteen ulottuvan viimeiset 15 vuotta, jolloin sedimentoituminen olisi noin 7,5 mm vuodessa. Vastaava sedimentin vuosikertyminen (6,9–11,1 mm) ensimmäiseen 10 cm syvyyteen on arvioitu vuosikerrostuneisuuden perusteella myös sellu- ja paperiteollisuuden kuormittamasta Päijänteen Lehtiselän sedimentistä (Meriläinen ym. 2001). Tasaisella sedimentoitumisella sedimentti olisi 20 cm:n syvyydessä peräisin 1970-luvun loppupuolelta. Tätä arviota vahvistaa sekä hartsihappo- että puusteroliprofiilien tarkastelu, joissa pitoisuudet kasvavat syvemmillä sedimenttiin ja viittaavat siten pahimman saastumisen aikaan ennen 1980-luvun jätevedenpuhdistuksen uudistusta (ks. taulukko 2 s. 12).

Kun tarkastellaan pitoisuusprofiileja näytealalla 15 km^c, voidaan arvella sedimentin ensimmäisen 10 cm:n edustavan suurta osaa tehtaiden historiasta, ehkä 1960-lukuakin. Oletus perustuu havaintoon, että ensimmäisen 10 cm syvyyteen mitattiin korkeimmat hartsihappojen (137 µg/g), puusterolien (n. 430 µg/g) ja betulinolin (1038 µg/g) pitoisuudet. Lisäksi liitteessä 1 oleva kuva (Kuva 51 e) näytealueelta tukee tätä arviota, sillä siinä on selkeä tumma raita (n. 4 cm paksu), joka voisi sijoittua aikaan ennen sulfiittisellunvalmistuksesta luopumista ja jäteveden puhdistuksen tehostumista eli 1970-lukua (Taulukko 2 s. 12). Tässä tapauksessa sedimentti 20 cm:n syvyydellä edustaisi

tasaisella sedimentoitumisella aikaa, jolloin selluloosaa ei vielä alueella valmistettu eli 1930-luvun alkupuolta (Auer 1971).

Vatianjärven altaan keskeltä (15 km^b) määritettyihin pitoisuuksiin sedimentissä on voinut vaikuttaa sitä lähellä sijaitseva laivaväylä, sillä täyttä varmuutta 1990-luvun alun väylän ruoppauksen (läjitetty muualle) vaikuttamattomuudesta sedimentin kerrostuneisuuteen ei ole. Pitoisuudet saattaisivat olla alhaisempia tai korkeampia kuin mitä ne todellisuudessa historiallisesti olisivat. Mielenkiintoinen havainto tässä näytealueessa oli puusterolipitoisuuksien tasaisuus kaikissa syvyyksissä (n. 100 µg/g) ja toisaalta hartsihappopitoisuuksien vaihtelu joka toisessa kerroksessa pitoisuuksien ollessa joko noin 50 µg/g tai 130 µg/g, minkä vuoksi niiden avulla ei pystytty historiallista kerrostuneisuutta arvioimaan.

Sedimentin kerrostuneisuuden dynamiikan arviointia näytealueella 15 km^b auttaa mitatut betulinolipitoisuudet, kun niitä verrataan kahteen muuhun Vatianjärven 15 km näytealueeseen ja käytetyn koivun määrään tehtailta. Sedimentoitumisen oletetaan olevan 15 km^b:n näytealueella jotakin kahden muun 15 km näytealueen välillä. Oletus perustuu tietoon pintakerrosten betulinolipitoisuuksista, joista 15 km^c näytealalla pintakerroksen betulinolin pitoisuus oli 325 µg/g, keskellä järveä (15 km^b) olevan alueen noin 100 µg/g ja syvimmän kohdan (15 km^a) oli 61 µg/g. Tarkasteltaessa näytealuetta 15 km^b, betulinolipitoisuudet kasvavat tasaisesti pintakerroksen 110 µg/g:sta 15–20 cm syvyyden 625 µg/g:aan. Näytealueella 15 km^c betulinolin korkein pitoisuus sedimentin syvyydellä 5–10 cm oli noin 40 % suurempi kuin järvialtaan keskellä olevan näytealueen (15 km^b) alimman sedimentikerroksen (15–20 cm) pitoisuus. Koska näytealueen 15 km^c sedimentin arvioitiin olevan 10 cm:n syvyydessä noin 30–35 vuotta sitten kerrostunutta, on hyvin mahdollista, että näytealueella 15 km^b on sedimentti 20 cm:n syvyydessä noin 35 vuotta sitten kerrostunutta. Toisaalta altaan syvimällä alueella (15 km^a) betulinolin pitoisuus oli korkeimmillaan 10–15 cm:n syvyydessä, jolloin on perusteltua olettaa sedimentin 20 cm:n syvyydessä olevan hieman aikaisemmin kerrostunutta kuin 15 km^a näytealueen. Tämän vuoksi arvoisinkin 20 cm:n syvyydessä sedimentin olevan 1960–70-luvun vaihteesta. Oletusta tukee myös tieto, että koivun käyttö tehtailta lisääntyi 1950-luvun puolivälin jälkeen, kun uusi höyrykattila-voimalaitos otettiin käyttöön (Auer 1971). Koivua käytettiin runsaimmillaan (noin 45 0000 t/a) ilmeisesti 1970-luvulla, jolloin siitä valmistettiin noin 90 % kaikesta sulfiittisellusta. Koivun käyttö väheni sulfiittisellunvalmistuksessa 1980-

luvulla noin 40 %:iin (Kovanen 2007).

Yleisesti ottaen en suosittele betulinolin käyttöä sedimenttien kerrostuneisuuden arvioinnissa, koska sitä ei ole havuissa (Sjöström 1993; Vikström ym. 2005). Tässä työssä näytealan 15 km^b arvioinnissa, kun muita uuteainepitoisuuksia ei voinut käyttää, oli betulinolin käyttö kerrostuneisuuden arvioinnissa perusteltua, etenkin kun 15 km:n päässä tehtailta oli useampia näytealueita, jolloin pitoisuuksien vertailu oli mahdollista. Hartsihappoja on käytetty aiemmin sedimenttien teollisuushistorian kerrostuneisuuden arvioinnissa (mm. Leppänen & Oikari 1999a), mutta toisaalta puusterolit saattaisivat olla parempia kerrostuneisuuden määrittämisessä, sillä nekin ovat anaerobisissa sedimenteissä melko pysyviä (Sun & Wakeham 1998) ja niitä on koivussa, jossa taas hartsihappoja ei ole (Vikström ym. 2005).

Vatianjärven 15 km osa-alueiden pitoisuusprofiileissa oli aika paljon vaihtelua. Eroihin 15 km osa-alueiden kesken olettaisin vaikuttavan lähinnä näytteenottosyvyyden, sillä syvimmän alueen (24 m) kerrostumisen todettiin olevan nopeinta, kun taas matalimman alueen hitainta (4 m). Näin ollen erot selittyvät virtauksen muutoksilla eri veden syvyyksissä, sillä matalassa vedessä virtaus on voimakkaampi ja sedimentoituminen vähäisempää kuin syvässä vedessä (Håkanson & Jansson 1983).

Leppäveden sedimentin kerrostuneisuutta arvioitiin, koska siinä näkyy hyvin tehtaiden kuormitushistoria. Sen hartsihappopitoisuudet pintakerroksessa (0–2 cm) vuosina 1997 ja 2003 (Palomäki ym. 2004) olivat samaa tasoa kuin tämän tutkimuksen pitoisuus (noin 13 µg/g) pintakerroksessa. Tässä tutkimuksessa Leppäveden hartsihappojen, reteenin ja betulinolin pitoisuudet kasvoivat syvemmissä sedimentin kerroksissa saavuttaen korkeimmat pitoisuutensa 20 cm:n syvyydessä. Itse asiassa sen pitoisuusprofiilit ovat hyvin samankaltaisia kuin Vatianjärven näytealueen 15 km^a profiilit. Tähän tietoon perustuen arvioisinkin sedimentin 20 cm:n syvyydessä olevan näytealan 15 km^a tavoin 1970-luvun loppupuolelta.

4.4 Sedimenttien toksisuuden arviointi

Sedimentin vesiutteen ominaisuudet

Luonnonsedimenttien pintakerroksesta (0-10 cm) valmistetuista elutriaateista määritettiin tutkittavat yhdisteet ja niiden pitoisuudet. Bioluminesenssin estokoetta varten valmistettiin

kaksi erilaista sarjaa elutriaatteja, joissa olosuhteet vaihtelivat lämpötilan ja sekoitusnopeuden suhteen. Siian alkiopoikaskokeeseen valmistettujen elutriaattien sekoitusaika (46 h) ja lämpötila (10 °C) olivat samat kuin toisessa biololuminesenssikokeen elutriaattisarjassa, mutta sekoitustapa oli erilainen: alkiopoikaskokeen elutriaatit valmistettiin typpiatmosfäärissä pyörösekoittajassa ja valobakteerikokeen elutriaatit ilman läsnä ollessa vaakasekoittajassa. Biololuminesenssikokeen elutriaateissa Naarajärven puusterolipitoisuudet pidemmällä (46 h) sekoitusajalla olivat noin kolminkertaiset lyhyen sekoitusajan vesiuutteen pitoisuuksiin verrattuna. Kuhnamon näytteissä pidemmän sekoitusajan jälkeen hartsihappojen, betulinolin ja puusterolien pitoisuudet olivat noin kolminkertaiset lyhyen sekoitusajan pitoisuuksiin verrattuna. Myös Vatianjärven betulinolipitoisuudet olivat pidemmällä sekoitusajalla noin kaksinkertaiset verrattuna lyhyen sekoitusajan elutriaattiin. Muissa pitoisuuksissa oli vain pieniä vaihteluja sekoitusnopeuden suhteen. Oleellinen pitoisuuksien kehityksessä on todennäköisesti ollut ilman läsnäolo näytteissä. Pidemmällä sekoitusajalla hapelliset olosuhteet ovat mahdollisesti alkaneet nopeuttaa puuperäisten yhdisteiden hajoamista.

Siian alkiopoikaskokeen aikana seurattiin veden pH:ta, sähkönjohtokykyä ja hapen kylläisyysastetta. Sähkönjohtokyvyssä ja pH:ssa oli eroja eri altistuspitoisuuksien kesken. Puhtaan veden pH ja sähkönjohtavuus olivat korkeita, sillä sen pH:n keskiarvo oli 7,8 ja sähkönjohtokyvyn keskiarvo oli 268 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Vahvimmissa pitoisuuksissa (50 tilavuus-%:n elutriaateissa) pH:n keskiarvot kokeen aikana vaihtelivat 7,5–7,6 välillä. Kaikissa laimeimmissa (6,2 tilavuus-%) elutriaateissa keskiarvo oli 7,8. Sähkönjohtokyky mukaili pH:n muutoksia altistuspitoisuuksissa vaihdellen vahvimmissa pitoisuuksissa välillä 177–209 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Laimeimmissa (6,2 tilavuus-%) se taas oli korkein vaihdellen välillä 249–280 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Erot sähkönjohtavuudessa näyttäisivät selittyvän näyteastioihin lisätyn puhtaan vertailuveden määrällä elutriaattilaimennoksissa, sillä mitä enemmän elutriaattia laimennettiin puhtaalla vedellä, sitä korkeampi oli sähkönjohtavuus ja pH. Kokeen kuluessa pH:n vaihtelut olivat melko suuria ja korkeimmillaan se oli puhtaan veden kontrollissa lopetuspäivänä (9 vuorokautta) ollen 8,3. Vertailualueiden laimeimmissa (6,2 tilavuus-%) elutriaateissa pH oli myös korkeimmillaan lopetuksessa ollen 8,2 samoin kuin Vatianjärven laimeimmassa elutriaatissa, jossa pH oli korkeimmillaan 8,1. Kokeen aikainen pH:n vaihtelu on voinut vaikuttaa tuloksiin, mutta toisaalta kontrollinäytteessä ei ilmennyt kehityshäiriöitä eikä kuolleisuutta, vaikka siinä pH:n muutos oli suurin.

Sen sijaan hapen kylläisyysaste siian alkiopoikaskokeen elutriaateissa pysyi melko tasaisena keskiarvojen vaihdellessa välillä 79–95 %. Alhaisimmillaan se oli 60 % kokeen viidentenä päivänä Vatianjärven 50 tilavuus-% elutriaatissa. Vatianjärven vahvimmassa elutriaatissa hapen kylläisyyden lasku näkyikin voimakkaimmin vesien vaihdon yhteydessä. Tämä on ilmeisesti johtunut sen suuremmasta liuenneen orgaanisen aineen pitoisuudesta muihin altistuspitoisuuksiin verrattuna, mikä on hajotessaan kuluttanut siinä enemmän happea (Batley ym. 2005). Vertailualueiden vahvimmissa elutriaateissa ei ilmennyt hapen kylläisyyden vähenemistä vesien vaihdon yhteydessä.

Bioluminesenssin inhibitio

Tässä työssä tutkittiin sedimenttien vesiuutteiden toksisuutta bioluminesenssin inhibitiokokeella. Kaikki sedimenttien vesiuutteet osoittautuivat toksisiksi, eikä niissä ollut eroa Äänekosken alapuolisten sedimenttien vesiuutteiden ja ylävirran vertailuelutriaattien välillä. Vesiuutteiden toksisuudessakaan ei ollut pieniä vaihteluja lukuun ottamatta eroja pidemmän (46 h) ja lyhyemmän (1 h) sekoitusajan välillä, paitsi Kuhnamon näytteissä, joissa lyhyen sekoituksen elutriaatti inhiboi (31 tilavuus-%) *V. fischeri*:n valontuottoa lähes kaksi kertaa voimakkaammin kuin pidemmällä sekoitusajalla valmistettu (58 tilavuus-%). Pieniin vaihteluihin toksisuudessa lyhyellä ja pitkällä sekoitusajalla vaikutti todennäköisesti sekoitusolosuhteet, mutta Naarajärven ja Keiteleen vertailuelutriaattien toksisuuden ilmeneminen oli odottamatonta, eikä sen syytä tiedetä.

Sellu- ja paperiteollisuuden sedimenttien toksisuutta on aiemminkin tutkittu *V. fischeri* -bakteerilla sedimentin eri kerroksissa. Esimerkiksi Päijänteen Lehtiselän sedimentin vesiuutemittauksessa todettiin sedimentin olevan toksisinta 12–15 cm:n syvyydessä. Päijänteen sedimentin pintakerros (0–3 cm) ja esiteollinen sedimentti (40–44 cm) eivät inhiboineet bakteerien valontuottoa. Tutkimuksessa havaittiin tilastollinen merkitsevyys toksisuuden ja sedimentistä mitattujen hartsihappojen pitoisuuksien välillä (Lahdelma & Oikari 2005). Lahdelma ja Oikari (2005) tekivät vastaavan mittauksen myös Etelä-Saimaan sedimentin elutriaateilla, mutta ne eivät aiheuttaneet yhtä voimakasta bioluminesenssin inhibitiota kuin Päijänteen sedimentin vesiuutteet. Etelä-Saimaan elutriaatit eivät korreloineet hartsihappojen eivätkä reteenin pitoisuuksien kanssa, joten toksisuuden aiheuttaja jäi epäselväksi.

Hartsihappojen on todettu inhiboivan bakteereja (McCarthy ym. 1990; Rigol ym. 2004). *V.*

fischeri -bakteerilla on mitattu hartsihappojen toksisuutta paperi- ja kartonkitehtaan jätevesistä ja toksisin oli kartonkitehtaan puhdistamaton jätevesi, joka sisälsi korkeita hartsihappopitoisuuksia. Hartsihappojen kokonaispitoisuus ei kuitenkaan yltänyt 50 %:n toksisuusarvoon jätevedessä (hartsihapposeokselle mitattu EC₅₀-arvo oli 7,6 mg/l), sillä pitoisuus jätevesissä oli niin alhainen, että toksisuusvaikutuksen todettiin johtuvan yhdisteistä, joita ei analysoitu (Rigol ym. 2004).

Tässä tutkimuksessa Kuhnamon ja Vatianjärven elutriaatit sisälsivät suurimmat kokonaispitoisuudet hartsihappoja (korkein Kuhnamosssa 46 h:n sekoituksella noin 38 µg/l), mitkä olivat alle sadasosan Rigolin ym. (2004) hartsihapposeokselle mittaamasta EC₅₀-arvosta (7,6 mg/l). Rigolin ym. (2004) tuloksiin pohjautuen voidaan todeta, että tässä tutkimuksessa ilmenneet toksisuusvaikutukset *V. fischeri*:n valontuoton estossa eivät johtuneet elutriaattien hartsihapoista. Todennäköistä on, että vesiuutteeseen liuenneiden yhdisteiden erilaiset seokset elutriaateissa aiheuttivat *V. fischeri*:n valontuoton eston ja ilmenneet toksisuudet johtuivat vesiuutteiden ominaisuuksista, joita ei tässä tutkimuksessa tarkasteltu.

Vaikutukset siian alkiopoikasiin

Tässä työssä tehtiin siian alkiopoikasilla elutriaattikoe, jonka tulokset olivat jokseenkin ristiriitaiset, sillä kaikki altistuspitoisuudet osoittautuivat toksisiksi kuten bioluminesenssin inhibitiokokeessakin. Kokeessa tutkittavia muuttujia olivat kuolleisuus, epämuodostumat ja kalan pituus, joiden tilastollinen tarkastelu tehtiin puhtaan veden kontrolliin. Sedimenttien vesiuutteet eivät aiheuttaneet siian alkiopoikasilla puhtaan veden kontrollista poikkeavaa kuolleisuutta (vain yksi kuollut). Sen sijaan pituuskasvu ja epämuodostumien esiintyminen olivat kontrollista poikkeavaa lähes kaikissa elutriaattialtistuksissa.

Siian alkiopoikasilla ei ole aiemmin tehty kokeita sedimenttien vesiuutteilla, joten vertailukohtaa ei ole. Sellu- ja paperiteollisuuden jätevesillä on kokeita kuitenkin tehty (Sepulveda ym. 2003), mutta tämän tutkimuksen tulokset eivät ole suoraan verrattavissa niihin mm. vesiuutteiden kiintoainepitoisuuden vuoksi. Tässä työssä määritettyjen puhdasaineiden vaikutuksia alkioihin (hedelmöittyneeseen mätiin) ja alkiopoikasiin on myös tutkittu (Billiard ym. 1999; Lehtinen ym. 1999). Esimerkiksi Lehtinen ym. (1999) ovat havainneet taimenen emokalojen pitkäaikaisen puusterolialtistuksen (10 ja 20 µg/l) aiheuttavan alkioiden korkeampaa kuolleisuutta, mutta kuoriutumisen jälkeen

alkiopoikasten kuolleisuudessa ei ollut eroa kontrolliin verrattuna (Lehtinen ym. 1999). Sen sijaan reteenin on havaittu aiheuttavan korkeampaa kuolleisuutta vasta kuoriutumisen jälkeen (Billiard ym. 1999). Tässä tutkimuksessa reteenin merkitys voidaan kuitenkin olettaa pieneksi sen alhaisten pitoisuuksien vuoksi.

Tässä tutkimuksessa siian alkiopoikasilla ei havaittu verenvuotoja. Sen sijaan niillä oli runsaasti erilaisia selkärangan kehityshäiriöitä (Jeziarska ym. 2000), joista skolioosi ja lordoosi olivat yleisimmät. Alkiopoikasilla havaittiin myös kallon ja silmien epämuodostumia ja kehittymättömiä (lyhyitä tai muuten epämuodostuneita) leukoja. Puhdasvesikontrollin poikasista yhdellä oli lyhyt alaleuka, mutta muita epämuodostumia niillä ei havaittu.

Vertailuelutriaateissa (Naarajärvi ja Keitele) alkiopoikasilla oli paljon selkärangan kehityshäiriöitä, joista lordoosi oli yleisin (runsain Naarajärven 6,2 % vesiuutteessa 55 %:lla poikasista). Myös skolioosia oli runsaasti etenkin Keiteleen vesiuutealtistuksissa (molemmissa pitoisuuksissa noin 30 %:lla alkiopoikasista). Kallon ja silmien epämuodostumia havaittiin muutamilla Naarajärven ja Keiteleen elutriaateille altistetuilla yksilöillä. Lisäksi molempien vertailualueiden kaikissa koepitoisuuksissa useilla alkiopoikasilla havaittiin joko lyhyt tai muuten epämuodostunut alaleuka. Alkiopoikasten epämuodostumien määrä oli erittäin merkitsevästi suurempi kaikilla vertailuelutriaateilla puhtaan veden kontrolliin verrattuna (vertailu χ^2 -testillä). Odottamatonta tuloksissa oli, että eniten epämuodostumia (86 %:lla poikasista) esiintyi Keiteleen laimeimman elutriaatin (6,2 tilavuus-%) alkiopoikasilla ja toiseksi eniten Naarajärven laimeimmassa elutriaatissa (69 %:lla poikasista). Itse asiassa kaikissa Vatianjärven altistuksissa oli vähemmän epämuodostumia kuin vertailuelutriaattien poikasilla. Näin ollen tutkimuksessa ei ollut hyvää vertailukohdetta epämuodostumien kartoittamiseksi. Vertailualueiden aiheuttamien epämuodostumien selvittäminen edellyttääkin lisätutkimuksia, esimerkiksi muiden vertailujärvien sedimenttien elutriaateilla tai vaihtoehtoisesti toisella lajilla (esim. hauki). On mahdollista, että siika lajina ei soveltunut vesiuutteilla tehtävään tutkimukseen niiden kiintoainepitoisuuden takia. Vesiuutteet sentrifugoitiin (200 rpm/min), mutta on hyvin ilmeistä, että laskeuttamisnopeus ei ollut riittävä. Myös suodattamista olisi voitu käyttää kiintoaineen poistamiseksi, mitä en kuitenkaan suosittelen, kun tutkitaan orgaanisten hydrofobisten yhdisteiden toksisuutta (ASTM 1993). Tunnettujen puhtaiden sedimenttien vesiuutteilla tehtävä tutkimus siian alkiopoikasilla kertoisi nimenomaan siian

soveltuvuudesta tai soveltumattomuudesta elutriaattikokeisiin.

Vatianjärven elutriaattien alkiopoikasilla oli vähiten epämuodostumia puhtaan veden kontrolliin verrattuna. Silti epämuodostumia esiintyi erittäin merkitsevästi 12,5 ja 6,2 % elutriaateissa ja merkitsevästi 50 % vesiutuksessa puhtaan veden kontrolliin verrattuna. Eniten alkiopoikasilla esiintyi selkärangan kehityshäiriöitä, joista lordoosi oli yleisin (6,2 % elutriaatissa noin 42 %:lla poikasista). Kallon ja silmien epämuodostumia ei havaittu Vatianjärven alkiopoikasilla, mutta kaikissa koepitoisuuksissa oli yksilöitä, joilla oli lyhyt tai muuten epämuodostunut alaleuka (50 % vesiutuksessa 14 %:lla poikasista). Lehtisen ym. (1999) tekemässä puhdasainetutkimuksessa taimenen emokalojen puusterolialtistuksen (10 µg/l) havaittiin voivan aiheuttaa lievää epämuodostumien lisääntymistä (korkeimmillaan 5,8 %) alkiopoikasilla. Havaittuja epämuodostumia olivat esimerkiksi selkärangan pyrstöosan kaarevuus ja kehittymättömät silmät.

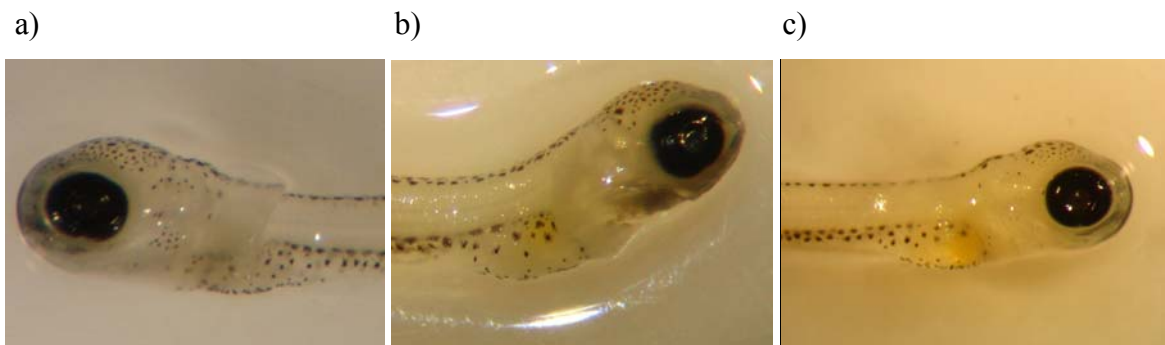
Sepúlveda ym. (2003) mukaan sellu- ja paperiteollisuuden valkaisuainemilla jättevesillä (UKME) voi olla vaikutuksia kalojen (*Micropterus salmoides*) alkiopoikasten kehitykseen. Se voi aiheuttaa painon laskua ja lisätä kehityshäiriöiden esiintymistä, sillä 10 %:lla poikasista oli epämuodostumia 40 prosenttiosassa puhdistetussa jättevedessä ja 17 %:lla poikasista 80 prosenttiosassa jättevedessä. He arvelivat epämuodostumien johtuvan joko huonommasta mädin laadusta, jolloin häiriö olisi sidoksissa vanhempien altistukseen, tai mätiin emokaloista akkumuloituneiden yhdisteiden vuoksi (Sepúlveda ym. 2003). Tässä tutkimuksessa altistus siian alkiopoikasille tehtiin sedimenttien vesiututeilla ja aloitettiin vasta kuoriutumisen jälkeen, joten altistus veteen liuenneille uuteaineille on tapahtunut suoraan, eikä se ole sidoksissa mädin tai vanhempien altistuksen kanssa.

Tutkittaessa Äänekosken alapuolisen vesistön sedimenttien vesiututeiden vaikutusta siian alkiopoikasten pituuskasvuun, havaittiin siinä vaihtelua eri altistuspitoisuuksien kesken ja keskimäärin pisimmät yksilöt olivat kontrollissa. Alkiopoikaset olivat lähes kaikissa elutriaattialtistuksissa merkitsevästi lyhyempiä kuin puhtaan veden kontrollissa (Mann-Whitneyn U-testi). Ainoastaan Naarajärven laimeimmassa pitoisuudessa (6,2 %:n elutriaatti) ja Vatianjärven 12,5 % altistuksissa pituudet eivät poikenneet kontrollista. Lyhimmät poikaset (noin 5,9 % lyhyempiä kuin kontrollissa) olivat Naarajärven 50 % elutriaatissa. Pituuskasvun tulokset ovat kuitenkin hieman epävarmoja, koska poikaset ovat voineet olla jo alkutilanteessa huomattavan eripituisia, sillä ne ovat kuoriutuessaan 10–13 mm pitkiä (Lehtonen 2003), jolloin pituuskasvu ilmeisesti oli koeaikana (9 vrk) vähäistä.

Epävarmuutta lisää myös karkea mittaustarkkuus ($\pm 0,5$ mm). Mittaustarkkuutta heikensi lähinnä poikasten selkärangan kehityshäiriöt, jolloin siis selkärangan kaarevuus vaikeutti pituuden mittaamista. Luotettavampien tuloksien saamiseksi suosittelisin suurempaa aineistoa ja pidempää koeaikaa. Lisäksi painon tutkiminen tukisi pituuskasvussa mahdollisesti ilmeneviä muutoksia.

Ruskuaisen kulumisessa havaittiin eroja Vatianjärven ja Keiteleen sedimenttien vesiuutteiden alkiopoikasissa kontrolliin ja Naarajärven vesiuutteiden poikasiin verrattuna. Erot ovat silmämääräisesti arvioituja, eikä ruskuaispussien kokoja mitattu. Kaikissa altistuspitoisuuksissa ja puhtaan veden kontrollissa suurella osalla poikasista ruskuainen oli kulunut yhdeksän vuorokautta kestäneen kokeen aikana (Kuva 49 a). Koeaika oli niin pitkä (9 vrk), että ruskuaisen kuluminen oli normaalia ja pikemminkin sen kulumattomuus epänormaalia. Vatianjärven laimeimmassa (6,2 %:n elutriaatti) ja Keiteleen vahvemmassa pitoisuudessa (50 %:n elutriaatti) poikasilla esiintyi jonkin verran muista altistuspitoisuuksista ja kontrollista poikkeavaa ruskuaisen pilkkoutumista, mihin liittyi keltainen väri ruskuaisessa ja sen silmävaraisesti arvioitu suurempi koko muihin poikasiin verrattuna. Keltaisen värin ja suuremman koon ohella ruskuaisessa saattoi olla rakkulamaisuutta (näkyvä mm. kuvassa 61 f, mutta ei selkeästi). Puhtaan laimennusveden poikasista kahdella oli keltaisuutta (9 %:lla poikasista), joista ensimmäisellä oli keltaisuuden lisäksi lyhyt leuka ja toisella rakkulamaisuutta. Myös Keiteleen 50 % elutriaatissa 26 %:lla poikasista (7/27) oli ruskuaisen pilkkoutumisessa muutoksia, joista yhdellä oli lisäksi huomattava turpoama sydänpuksissa (Kuva 54; Brzuzan ym. 2007). Vatianjärven poikasista laimeimmassa pitoisuudessa ilmeni ruskuaisen muutos noin 21 %:lla poikasista (6/29) ja muissa altistuspitoisuuksissa noin 10 %:lla (3/28 ja 3/30). Kaikista muista poiketen Naarajärven elutriaattien poikasten ruskuaisessa ei havaittu keltaisuutta lainkaan. Ruskuaispussin ödema on syytä epäillä ilmenneen osalla näistä poikasista, sillä myös ruskuaispussitautin (BSD) positiiviselle kontrollille eli reteenille (100 $\mu\text{g/l}$) altistetuilla siian alkiopoikasilla ilmeni vastaavanlaista ruskuaisen pilkkoutumista (Kuva 49 c) Reteenin onkin todettu aiheuttavan ödeema kirjolohella pitoisuudessa 100 $\mu\text{g/l}$ (mm. Brinkworth ym. 2003). Toisaalta reteenille altistetut poikaset olivat selkeästi terveemmän näköisiä eikä niillä ollut puhtaan veden kontrollista poikkeavaa määrää epämuodostumia. Mielenkiintoista oli, että lähes kaikilla poikasilla, joilla esiintyi ruskuaisen pilkkoutumisen muutoksia, oli epämuodostumia. Tämä voi viitata, että elutriaatit aiheuttivat häiriöitä alkiopoikasten aineenvaihduntaan, minkä seurauksena

myös epämuodostumat lisääntyivät, mutta tämän toteaminen vaatii jatkotutkimuksia.

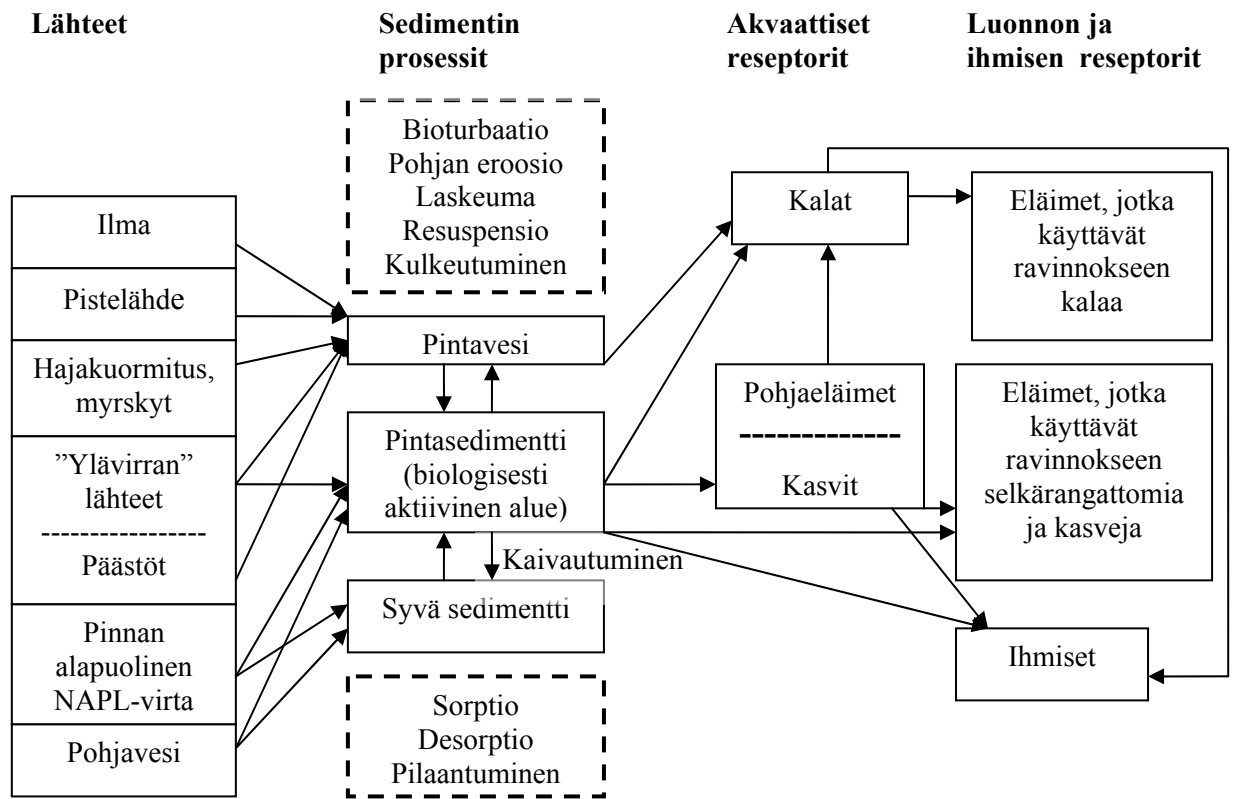


Kuva 49. Siian alkiopoikaskokeen poikasia, jotka kestävöitiin yhdeksän vuorokautta kuoriutumisen jälkeen. a) Terve poikanen, jolla kulunut ruskuainen. b) Keiteleen 50 % elutriaatin alkiopoikanen, jolla oli lordoosi, turpoama sydänpussissa, kiintoainetta nielussa, lyhyt leuka ja muutoksia ruskuaisen pilkkoutumisessa. c) Positiivisena kontrollina käytetyn reteenialtistuksen (100 µg/l) alkiopoikanen, jolla oli muutoksia ruskuaisen pilkkoutumisessa ja lyhyt leuka.

Betulinolin vaikutuksia alkiopoikasiin ei tiettävästi ole tutkittu, minkä vuoksi sen osuutta kehityshäiriöiden esiintymiseen tai pituuskasvuun ei pystytä arvioimaan. Sen on kuitenkin havaittu vaikuttavan hormonitoimintaan seeprakalalla pitoisuudessa 5 µg/l (Christianson-Heiska ym. 2004; 2007a), mikä on Vatianjärven elutriaatin (50 tilavuus-%) pitoisuudesta noin kymmenesosa (valobakteerikokeen pidemmän sekoitusajan elutriaatista mitattu).

4.6 Aiheuttavatko Äänekosken reitin sedimentit ekotoksikologisen riskin?

Sedimenttien riskinarviointiin on kehitetty yleismalleja, jotka tarjoavat lähtökohdan tunnistaa päästölähteitä, sedimenttien prosesseja ja altistuvia kohteita (Kuva 50). Malli on hyödyllinen ongelman muodostamisen kannalta, sillä se kuvaa, miten sedimenttiin joutuneet vierasaineet voivat muuntua ja kulkeutua eteenpäin aiheuttaen vasteen herkässä kohteessa, esimerkiksi kaloissa. Yleismalli sisältää sedimentin historialliset ja jatkuvat saastumisen reitit ja sitä voidaan käyttää tilanteessa, jossa sedimentti on päästölähde. Sedimentissä tapahtuvat prosessit ovat oleellisia vierasaineiden biosaatavuuden kannalta. Malli kiinnittää huomiota myös siihen, että syvälle hautautunut sedimentti voi tulla uudelleen kierto. Kuvasta 50 voidaan nähdä sedimentin eri kerroksien reagointi keskenään ja mitä reittejä kalat, pohjaeläimet, kasvit ja ihmiset voivat altistua vierasaineille ja mitkä sedimentin prosessit vaikuttavat vierasaineiden liikkuvuuteen sedimentissä ja vedessä (Bridges ym. 2005).



Kuva 50. Käsitteellinen perusmalli kemiallisesti saastuneiden sedimenttien ympäristöriskinarviointiin (NAPL = nonaqueous-phase liquids, Bridges ym. 2005).

Tässä tutkimuksessa ekotoksikologista riskiä arvioitiin olosuhteissa, joissa sedimentin sekoittuminen veteen voi olla voimakasta. Äänekosken reitti muistuttaa hydrologisilta ominaisuuksiltaan hitaasti virtaavaa jokea, jossa myrskyt ja tulvat vaikuttavat sedimentin liikkeisiin hitaasti virtaavia järviä enemmän (Chapman ym. 2005a). Riskin luonnehdinta tehtiin sedimenttien kolmitarkastelun (SQT = sediment quality triad) mukaisesti, kokoamalla yhteen tiedot kemiallisen tiedosta ja toksisuudesta, mutta vaikutuksia yhteisöön ei tutkittu (Chapman 1996). Pää tavoite oli selvittää sellu- ja paperiteollisuuden aiheuttamien hartsihappojen, reteenin, puusterolien ja betulinolin esiintyminen ja pitoisuudet Äänekosken reitin sedimenteissä. Kemiallisten analyysien tulokset vahvistavat haitta-aineiden esiintymisen ja vertailualueisiin nähden korkeammat pitoisuudet tutkimusalueella. Vaikka hartsihappojen ja reteenin pitoisuudet olivat useiden muiden vastaavien sedimenttitutkimusten tasoa alhaisempia (Leppänen & Oikari 1999a, 2001; Meriläinen ym. 2001; Lahdelma & Oikari 2005), olivat puusterolipitoisuudet aikaisempien havaintojen tasolla, osittain jopa korkeampiakin (Lahdelma & Oikari 2006). Lisäksi tutkimus vahvistaa, että tehtaiden historiallinen vaikutus ulottuu yli 30 km:n päähän.

Tutkimuksen tavoitteiden kannalta oli myös tärkeää selvittää sellun- ja paperintuotannon historia Äänekoskella mahdollisimman tarkasti sekä tutustua vesistöalueen ominaispiirteisiin.

Tässä tutkimuksessa arvioitiin sedimenttien vesiuutteiden toksisuuden yhteisvaikutusta bioluminesenssin inhibitioon ja siian alkiopoikasten kehitykseen. Vaikutuksia aiheutti usean vierasaineen seos, minkä vuoksi vaikutuksien arvioiminen oli yksittäisille aineille hankalaa, koska aineiden yhteisvaikutuksista ei ole tietoa. Seoksia tutkittaessa kausaalisuuden toteaminen voi olla mahdotonta todistaa (Chapman ym. 2005a). Merkittävimmät fysikaaliset ja kemialliset epävarmuustekijät ja muuttuvat olosuhteet sedimenttien laadun arvioinnissa Äänekosken reitillä ovat vuodenajan ja sateiden mukaan vaihteleva virtausnopeus, talvella veden kylmyyden ja jään aiheuttama jätevesien virtaaminen pohjan läheisyydessä ja happipitoisuuden muutokset alusvedessä vuodenaikojen mukaan (Palomäki ym. 2006). Happipitoisuuden vaihtelut taas aiheuttavat pH:n ja hapetus-pelkistysolosuhteiden muutoksia ja vaikuttavat siten sedimenttien kykyyn sitoa ja vapauttaa orgaanisia yhdisteitä (Chapman ym. 2005a). Muita sedimenttiä stabilisoivia ja destabilisoivia tekijöitä Äänekosken reitin sedimenteissä ovat tehtailta ja yhdyskuntajäteveden puhdistamolta tulevien jätevesien sisältämä orgaaninen hiili. Niiden stabiilisuuteen vaikuttaa myös kemiallisissa analyyseissa tehtaan lähialueen sedimenteissä havaittu rikki (pitoisuuksia ei mitattu), josta voi muodostua rikkivetyä. Lajeille tyypilliset erot fysiologiassa, biokemiassa, käyttäytymisessä ja sietokyvyssä vaikuttavat vierasaineiden ja muiden stressitekijöiden kokonaisvasteisiin (Chapman ym. 2005a). Siian alkiopoikaskokeessa havaittu korkea epämuodostumien esiintyvyys kaikissa vesiuutealtistuksissa on saattanut johtua nimenomaan siian biologisista lajiominaisuuksista, eikä niinkään sedimenttien toksisuudesta. Sellu- ja paperiteollisuuden jätevedet sisältävät suuren joukon muitakin yhdisteitä (Owens 1991), jotka ovat voineet vaikuttaa tutkittujen haitta-aineiden lisäksi sedimenttien toksisuuteen, vaikka hartsi- ja rasvahappojen on todettu olevan itse jäteveden osalta suurelta osin vastuussa toksisista vaikutuksista (Owens 1991; Batley ym. 2005).

Tieto kohonneista haitta-ainepitoisuuksista ei yksin riitä riskin toteamiseen. Biovastekokeissa käytetyt elutriaatit sisälsivät vertailunäytteitä korkeampia pitoisuuksia tutkittavia haitta-aineita. Tämä osoittaa, että tutkimusalueelta mitatut vierasaineet voivat siirtyä sedimentistä veteen riippuen mm. niiden pitoisuudesta sedimentissä, sedimentin

kyvystä pidättää yhdisteitä ja sedimenttiin kohdistuvien liikkeiden voimakkuudesta (Chapman ym. 2005b). Siten ne saattavat olla myös biologisesti eliöiden saatavassa muodossa. Aikaisemminkin on havaittu, että hartsihapot, puusterolit ja reteeni voivat siirtyä sedimentistä veteen (Meriläinen ym. 2006). Kuten Meriläinen ym. (2006) ovat todenneet, ei haitta-aineiden kokeellinen siirtyminen veteen kuitenkaan vastaa täysin luonnonoloissa tapahtuvaa siirtymistä, sillä siihen vaikuttavat useat tekijät, kuten mm. lämpötila. Äänekosken reitin jokimaisuus ja ajoittain erittäin voimakas virtaama, joka voi olla jopa yli 100 m³/s (Palomäki ym. 2006), saattavat aiheuttaa keskimääräistä useammin sedimenttien sekoittumista veteen, jolloin todennäköisyys haitta-aineiden siirtymiseen sedimentistä veteen kasvaa.

Tässä työssä ei tutkittu biologista saatavuutta, mutta hartsihappojen tiedetään olevan biologisesti saatavilla vedestä (mm. Oikari & Kunnamo-Ojala 1987; Soimasuo ym. 1995). Hartsihappojen pitoisuus oli korkeimmillaan Kuhnamon bakteerikokeeseen pidemmällä sekoitusajalla valmistetussa elutriaatissa, jossa se oli lähes 140 µg/l, jolloin se saattaa pitkäaikaisessa altistuksessa aiheuttaa toksisuusvaikutuksia (Peng & Roberts 2000; Meriläinen ym. 2007). Myös siian alkioaikakokeen Vatianjärven sedimentistä valmistetussa 50 % elutriaatissa hartsihappojen pitoisuus (n. 22 µg/l) oli tasolla, jolla sillä voi olla vaikutuksia vesieläimiin (Oikari ym. 1983; Meriläinen ym. 2007). Viitteitä on, että sedimentit voisivat olla jopa ensisijainen altistusreitti särjelle (*Rutilus rutilus*) (Meriläinen & Oikari 2008b). Särki viihtyy vesistöjen pohjan läheisyydessä ja sen pääasiallista ravintoa ovat pohjaeläimet ja eläinplankton (Lehtonen 2003). Hartsihappojen pitoisuuksia on mitattu sapen metaboliittien avulla, koska se on herkkä altistumisen indikaattori (Meriläinen ym. 2007). Kahden elintavoiltaan erilaisen lajin, ahvenen (*Perca fluviatilis*) ja särjen (Lehtonen 2003), välillä on luonnossa havaittu vaihtelua sapen hartsihappopitoisuuksissa. Esimerkiksi sellu- ja peritehtaan alapuolisessa vesistöissä särjellä on havaittu korkeampia pitoisuuksia hartsihappoja sapessa verrattuna ahveneen (Karels & Oikari 2000; Meriläinen & Oikari 2008b). Laboratoriokokeessa, jossa molemmat olivat vain vesialtistuksessa, ei eroa lajien välillä kuitenkaan ollut. Tämän vuoksi onkin arveltu, että osa särjen altistumisesta on sedimenttilähtöistä (Meriläinen & Oikari 2008b). Lisäksi Etelä-Saimaalla on havaittu keväällä sapessa korkeampia hartsihappopitoisuuksia kevätkierron aikaan, mikä voi johtua hartsihappojen vapautumisesta sedimentistä (Karels & Oikari 2000; Meriläinen & Oikari 2008b).

Reteeninkin on havaittu olevan biologisesti saatavilla sellu- ja paperiteollisuuden sedimenteistä (Leppänen & Oikari 1999a; Nikkilä ym. 2001; Oikari ym. 2002). Reteenin pitoisuudet kaikissa valmistetuissa elutriaateissa olivat kuitenkin niin alhaiset (alle 1 µg/l), että ne yksinään eivät aiheuttane riskiä alueella. Reteenin pitoisuudet olivat myös Vatianjärven ja Leppäveden sedimentissä (suurin pitoisuus sedimentissä oli 4,3 µg/g) niin alhaisia, että ne tuskin aiheuttavat riskiä. Kuhnamossa tutkituilla alueilla reteenin pitoisuudet olivat noin 12-kertaiset (suurin pitoisuus 51 µg/g) Leppäveden sedimentistä mitattuun suurimpaan pitoisuuteen verrattuna, mutta toisaalta Kuhnamossa oli korkeammat hehkutushäviönä määritetyt OM:n pitoisuudet kuin Leppävedessä ja näin mahdollisesti sedimentillä suurempi kyky sitoa reteeniä (Park & Erstfeld 1999; Batley ym. 2005).

Tutkimuksessa todettiin myös betulinolin siirtyvän sedimentistä veteen. Betulinolin siirtyminen oli tehokasta, esimerkiksi Kuhnamon sedimentistä (bioluminesenssin inhibitiokokeen) vesiuutteeseen yhden tunnin sekoituksella siirtyi pitoisuus 40 µg/l, kun pitoisuus sedimentin pintakerroksessa (0-10 cm) vaihteli välillä 266–573 µg/g. Betulinolin siirtyminen oli samaa suuruusluokkaa kuin puusterolien, sillä puusteroleja siirtyi Kuhnamon sedimentistä veteen noin kaksinkertainen pitoisuus (70 µg/l) betulinoliin verrattuna, kun sen pitoisuus oli sedimentissäkin noin kaksinkertainen (504–1003 µg/g). Sekä puusterolien että betulinolin voidaankin arvella olevan riski vesieläimille Äänekosken reitillä (Lehtinen ym. 1999; Tremblay & Van Der Kraak 1999; Christianson-Heiska 2004, 2007a), etenkin kun niiden pitoisuudet olivat korkeimmillaan lähes kaikkien näytealojen pinta-sedimenteissä (0-10 cm) Äänekoskelta alavirtaan.

Normaaliolosuhteissa haitta-aineiden pitoisuuksiin sedimentin sisäisessä välivedessä ja yläpuolisessa vedessä vaikuttaa bioturbaatio, joka voi lisätä veden haitta-ainepitoisuutta (Moore ym. 2005). Bioturbaation merkitys on kuitenkin merkityksetön alueilla, joilla haitta-ainepitoisuudet ovat niin korkeita, että pohjaeläimistöä ei ole. Kuhnamon lähin näytteenottoalue (1 km) oli mitä ilmeisimmin tällainen alue, sillä siellä nostetuissa Kajaknäytteissä keväällä 2007 ei ollut merkkejä suurista pohjaeläimistä (Ekman-näytettä ei alueelta otettu). Kaikissa muissa Äänekosken reitin sedimentinäytteissä pohjaeläimiä kuitenkin havaittiin. Toisaalta pohjaeläimettömän alueen sedimenttien liikkeisiin voi vaikuttaa metanogeneesi, joka saa aikaan turbulenssia (Håkansonin & Janssonin 1983). Kuhnamon näytealueella (1 km) havaittiinkin metanogeenisestä aiheutuva turbulenssi, joka sai aikaan sedimentin liikettä.

Suoraa sedimentin haitta-aineille altistumista ei tutkittu. Sen vuoksi tämän tutkimuksen perusteella ei voida tehdä päätelmiä vaikutuksista pohjaeläimistöön eikä sedimentissä ruokaileviin lajeihin. Sen sijaan näytteenotossa tehtyihin havaintoihin perustuen voidaan todeta, että Kuhnamossa ainakaan kilometrin säteellä jätevesien purkupaikasta olosuhteet eivät olleet pohjaeläimistölle suotuisat. Äänekosken reitin pohjaeläimistöstä tiedetään, että vuonna 2005 Kuhnamossa valtalaji oli (noin 28 m:n syvyydessä) *Chaoborus favicans* -sulkasääski. Siellä tavattiin lisäksi likaantumista suosivia harvasukamatoja (*Limnodrilus hoffmeisteri*) ja surviaissääsken (*Chironomus plumosus*) toukkia. Vatianjärven syvimmällä alueella (27 m) tavatuista lajeista vuonna 2005 oli Kuhnamon tavoin sulkasääski yleisin ja runsaasti siellä oli myös *Tubifex tubifex* -harvasukamatoja. Molempien järvien lajikoostumus oli hyvin yksipuolinen ja ilmensi likaantumista ja rehevöitymistä. Vuonna 2005 Leppäveden syvänteestä (41 m) havaittu pohjaeläinlajisto oli Kuhnamon ja Vatianjärven lajikoostumusta monipuolisempaa. Tosin sielläkin oli rehevöitymistä ilmentäviä surviaissääskilajeja (*Sergentia coracina* ja *Chironomus thummi*), mutta myös surviaissääskiä (*Micropsectra* sp.), jotka ovat karun sedimentin indikaattoreita (Palomäki ym. 2006). Näihin tietoihin perustuen sellu- ja paperiteollisuudella voi olla vaikutuksia pohjaeläimistön lajikoostumukseen, vaikka aluetta kuormittaa lisäksi mm. yhdyskuntajätevedenpuhdistamo.

Meriläisen ja Oikarin (2008) kentällä ja laboratoriossa tekemien tutkimusten mukaan pohjaeläimiin voi kertyä korkeita pitoisuuksia hartsihappoja ja puusteroleja suorassa sedimenttialtistuksessa. Haitta-ainekuorman suuruuteen voi vaikuttaa lajikohtaiset erot kuten elimistön lipidipitoisuus ja ravinnonottotapa (Batley ym. 2005; Chapman ym. 2005a; Moore ym. 2005; Meriläinen & Oikari 2008a) sekä sedimentin ominaisuuksista erityisesti TOC (Word ym. 2005). Kuhnamon pintasedimentissä (0-10 cm syvyyteen), kilometri tehtailta alavirtaan, hartsihappojen pitoisuudet olivat tutkimusalueen korkeimmat (125–200 µg/g) mutta kuitenkin niin alhaiset, että niiden kertyminen pohjaeläimistöön ei välttämättä saavuta tasoa, jolla ne voisivat olla haitallisia. Puusterolien pitoisuudet sen sijaan olivat vielä Vatianjärven sedimenteissä ensimmäisen 10 cm syvyyteen tasoilla, joilla niiden kertyminen voi aiheuttaa riskin pohjaeläimistölle (Meriläinen ja Oikari 2008a). Myös reteenin biologinen saatavuus sellu- ja paperiteollisuuden sedimenteistä on havaittu pohjaeläimillä (Nikkilä ym. 2001), mutta Äänekosken reitillä se ei liene todennäköinen toksisuuden aiheuttaja, koska sen pitoisuudet olivat sedimentissä alhaisia. Vaikka tässä tutkimuksessa ei haitta-aineiden biosaatavuutta tutkittu, voidaan kuitenkin aikaisempien

tutkimusten perusteella olettaa niiden olevan biologisesti saatavilla sedimentistä Äänekosken reitillä.

Toksisuuskokeissa käytettyjen vertailualueiden edustavuus kyseenalaistui, sillä molemmat osoittautuivat toksiseksi ja niiden elutriaatit aiheuttivat alkiopoikasissa Vatianjärveä enemmän kehityshäiriöitä. Vastaava tulos saatiin bioluminesenssin inhibitiokokeessa, jossa vertailualueiden vesiuutteet olivat myös toksisia. Vertailualueiden toksisuus siis aiheuttaa tuloksien kannalta epävarmuutta, koska vertailua ei näin voitu tehdä vaikuttamattomaan järvisedimenttiin. Siian alkiopoikaskokeessa poikaset olivat kuitenkin alun perin terveitä, koska kehityshäiriöiden ilmeneminen ei ollut puhtaassa kontrollivedessä vertailualueiden kaltaista. *V. fisheriä* on käytetty paljon elutriaattikokeissa ja sen pitäisi olla melko luotettava suunnan antaja sedimentin toksisuuden tutkimisessa (Lahdelma & Oikari 2005 & Oikari; van den Brink & Kater 2006).

Tämän tutkimuksen perusteella kolmitarkastelusta riskin kartoittamiseksi voitiin käyttää vain kahta osa-aluetta eli kemiallisia pitoisuuksia ja toksisuutta (Taulukko 10). Kemiaaliset analyysit varmistivat Kuhnamon ja Vatianjärven sedimentin sisältävän sellu- ja paperiteollisuudesta peräisin olevia uuteaineita – hartsihappoja, puusteroleja ja betulinolia – korkeampia pitoisuuksia ylävirran vertailualueisiin nähden ja myös muihin tutkimuksiin verrattuna (Taulukko 9). Leppäveden pintasedimentin (0-10 cm) voidaan todeta olevan hartsihappojen ja reteenin osalta melko hyvässä tilassa, sillä niiden pitoisuudet ovat vertailupitoisuuksien tasolla. Toisaalta Leppäveden pintasedimentin puusterolipitoisuudet ovat tasolla, joka saattaa aiheuttaa edelleen lievän riskin alueella. Kuhnamosta mitattiin hieman vertailupitoisuuksia korkeammat pitoisuudet reteeniä, mutta muissa järvissä reteenipitoisuudet olivat niin alhaisia, että eivät liene riski vesieläimistölle. Sedimenttien vesiuutteissa mitattiin lisäksi toksisilla tasoilla olevia pitoisuuksia mm. betulinolia (Christianson-Heiska ym. 2004), puusteroleja (Lehtinen ym. 1999) ja hartsihappoja (mm. Peng & Roberts 2000). Kokonaisuutena Äänekosken reitillä kemiallinen altistuminen sellu- ja paperiteollisuuden uuteaineille arvioitiin melko vahvaksi.

Toksisuuskokeissa Vatianjärven vesiuute oli toksinen siian alkiopoikasille ja se inhiboi myös *V. fisherin* valontuottoa, mutta kummassakaan kokeessa sen aiheuttama toksisuusvaste ei poikennut vertailunäytteistä. Kuhnamon ja Leppäveden elutriaateilla tehtiin vain bioluminesenssin estokoe, minkä vuoksi sedimenttien toksisuudesta ei voida tehdä vakuuttavia päätelmiä näiden järvien osalta. Äänekosken reitin sedimenttien

toksisuus arvioitiin kuitenkin melko vahvaksi (Taulukko 10), vaikka sen syytä ei tiedetä, eivätkä toksisuudet siian poikasilla ja *V. fischeri*:llä poikenneet vertailualueista.

Taulukko 10. Yhteenvedo Äänekosken reitin sedimenttien kemiasta, toksisuudesta ja vaikutuksista pohjaeläinyhteisöön (Chapman 1996).

	Kemiallinen altistuminen	Toksisuus	Pohjaeläinyhteisö
Kuhnamo	+	(+)	+ (1)
Vatianjärvi	+	+	+ (1)
Leppävesi	-/+	(+)	-/+ (1)
Äänekosken reitti yht.	++	++	+

+ = Positiivinen vaikutus.

++ = Melko vahva positiivinen vaikutus.

1 = Vaikutukset arvioitu näytteenotossa tehtyihin havaintoihin, tietoon alueen pohjaeläincoostumuksesta (Palomäki ym. 2006) ja aikaisempiin pohjaeläintutkimuksiin perustuen (Meriläinen & Oikari 2008a).

-/+ = Vain osa uuteaineista normaaleja taustapitoisuuksia korkeampia ja ne voivat olla haitallisen korkeita.

(+) = Tehty vain bioluminesenssin estokoe, jossa toksisuus havaittu.

Tässä tutkimuksessa vaikutuksia pohjaeläinyhteisöön ei tutkittu, mutta niihin kohdistuvia vaikutuksia arvioitiin perustuen tietoon pohjaeläinten runsaudesta ja lajikoostumuksesta alueella (Palomäki ym. 2006) sekä aikaisempien Etelä-Saimaan sedimenteillä tehtyjen tutkimusten perusteella (Meriläinen & Oikari 2008a). Näiden tietojen yhteensovittamisen ja tämän työn sedimenttien näytteenotossa tehtyjen havaintojen perusteella arvelen Äänekosken reitin sedimenteillä olevan historiallisista ja nykyisistä jätevesipäästöistä johtuvia ominaisuuksia, jotka voivat vaikuttaa pohjaeläinyhteisöön (Taulukko 10).

Kaikkiaan todellisen riskin voimakkuuden arvioiminen Äänekosken reitillä edellyttää jatkotutkimuksia, etenkin pohjaeläimillä. Kalojen altistumisen tutkiminen esimerkiksi sumputuskokeilla olisi myös suositeltavaa. Tässä tutkimuksessa tehtyjen havaintojen ja aikaisempien pohjaeläimillä (Nikkilä ym. 2001; Meriläinen & Oikari 2008a) sekä kaloilla tehtyjen kokeiden (Oikari ym. 1983; Billiard ym. 1999; Tremblay & Van Der Kraak 1999; Christianson-Heiska ym. 2004, 2007a; Meriläinen & Oikari 2008b) perusteella voidaan todeta alueella olevan toksisia yhdisteitä, jotka voivat olla biologisesti eliöiden saatavissa ja joiden vaikutuksista ei ole tietoa ekosysteemissä Äänekosken reitillä, mutta niiden voidaan arvioida vaikuttavan myös yhteisötasolla (Chapman 1996).

5 YHTEENVETO

1. Äänekosken reitillä havaittiin sedimentissä olevan taustapitoisuuksiin verrattuna suurempia pitoisuuksia sellu- ja paperiteollisuuden vierasaineita. Hartsihappojen, puusterolien ja betulinolin pitoisuudet olivat huomattavasti korkeammat ylävirran vertailualueisiin nähden. Sen sijaan reteenin pitoisuudet eivät olleet merkittävästi korkeampia.
2. Toksisuuskokeisiin valmistettiin elutriaatteja sedimentin pintakerroksesta ja niiden pitoisuudet määritettiin. Pitoisuusmääryksissä todettiin haitta-aineiden siirtyminen sedimentistä veteen pitoisuustasoilla, jotka voivat aiheuttaa toksisia vaikutuksia vesieläimissä.
3. Äänekosken reitin sedimenteille tehty spatiaalinen interpolointi havainnollisti Kuhnamon ja Vatianjärven hartsihappojen ja puusterolien jakaantumista pintakerroksessa (0-2 cm ja 2-5 cm). Pintakerroksen pitoisuudet ovat oleellimmat sedimenttien uudelleen liikkeellelähdön toksisten vaikutusten kannalta.
4. Vesiuutteiden toksisuutta tutkittiin bioluminesenssin inhibitiokokeella. Molemmissa koesarjoissa kaikki vertailualueiden ja Äänekosken reitin vesiuutteet inhiboivat bakteerien valontuottoa. Bioluminesenssin inhibitio oli voimakkain Keiteleen, Kuhnamon ja Leppäveden elutriaateissa. Erityisesti Keiteleen sedimentin vesiuutteen aiheuttama voimakas vaste edellyttää jatkotutkimuksia.
5. Vatianjärven elutriaattien toksisuutta tutkittiin vastakuoriutuneilla siian alkioipoikasilla, jossa tutkittavia vasteita olivat kuolleisuus, epämuodostumien esiintyminen ja pituuskasvu. Missään altistuspitoisuudessa kuolleisuus ei ollut kontrollia merkitsevästi korkeampi. Kehityshäiriöitä kuitenkin esiintyi tilastollisesti merkitsevästi kaikissa elutriaattialtistuksissa, mukaan lukien vertailualueiden elutriaateissa. Tämä havainto viittaa sedimenteillä olevan ominaisuuksia, joita olisi syytä tarkastella lähemmin. Toisaalta voimakkaat vasteet voivat johtua siian soveltumattomuudesta elutriaattikokeisiin. Elutriaattialtistuksilla oli merkitseviä vaikutuksia myös pituuskasvuun.
6. Riskinarvioinnin perustana käytettiin sedimenttien ja vesiuutteiden kemiallista tietoa sekä toksisuuskokeissa tehtyjä havaintoja. Lisäksi arvioinnissa käytettiin apuna

aikaisempia tutkimuksia sellu- ja paperiteollisuuden sedimenttien vaikutuksista pohjaeläimistöön ja kaloihin, koska tässä tutkimuksessa ei tutkittu biosaatavuutta eikä tehty kokeita pohjaeläimillä. Kuhnamon ja Vatianjärven sedimenteillä voidaan arvioida olevan mahdollisesti vaikutuksia alkiopoikasten kehitykseen, mutta sen merkityksestä ei tulosten perusteella voida ilman lisätutkimuksia tehdä luotettavia johtopäätöksiä. Vatianjärven vesiuutteen aiheuttamien vasteiden aiheuttajaa ei voida varmuudella todeta, mutta on syytä epäillä niiden olleen hartsihappojen ja puusterolien aiheuttamia. Myös betulinolilla voi olla vaikutusta toksisuuteen, koska sen pitoisuudet olivat korkeat elutriaateissa. Toisaalta sen vaikutuksista siian alkiopoikasiin ei ole tietoa. Koska tämän tutkimuksen tulokset vahvistavat vierasaineiden selvän esiintymisen ja mahdollisesti toksikologisen vaikuttavuuden alueella, voidaan alustavasti arvioida Äänekosken reitin sedimenttien paikoitellen aiheuttavan ekotoksikologisen riskin.

7. Sedimenteistä suosittelisin tekemään vielä orgaanisen kokonaishiilimäärityksen. Riskinarvioinnin vahvistamiseksi suosittelisin ensisijaisesti tutkimuksia pohjaeläimillä. Etenkin Kuhnamon ja Vatianjärven osalta saataisiin hyödyllistä lisätietoa, esimerkiksi keräämällä pohjaeläimiä ja määrittämällä niistä kudosten haitta-ainepitoisuudet. Myös kalojen sumputuskokeet tai luonnonkalojen haitta-ainekuorman määrittäminen kertoisi enemmän todellisesta vesistön tilasta alueella sedimenttipitoisuuksien ohella. Ehdottaisin lisäksi perusteellista selvitystä siian alkiopoikasten soveltuvuudesta elutriaattikokeisiin.

KIITOKSET

Haluan kiittää ohjaajaani professori Aimo Oikaria opastuksesta ja neuvoista. Kiitokset Heli Lassilalle avusta alkiopoikaskokeessa ja näytteenotossa ja Anssi Lensulle interpolointien teosta ja muusta tilastotieteellisestä viisaudesta. Avusta laboratoriossa ja ennen kaikkea hyvästä seurasta haluan kiittää Mervi Koistista, Leena Siitosta ja Heli Kivisaarta. Haluan kiittää hyvistä neuvoista Eeva-Riikka Vehniäistä ja kaikkia muita, joita olen asian tiimoilta vaivannut. Lisäksi kiitän avusta tiedonhankinnasta ja ystävällisestä palvelusta Äänekosken kaupungin työntekijöitä ympäristöpäällikkö Pirkko Sihvosta ja LVI-tekniikko Reijo Valkeista. Lopuksi kiitän vielä Jussia ymmärryksestä ja tuesta opintojeni aikana.

KIRJALLISUUS

- Adams W. J. 1987: Bioavailability of neutral lipophilic organic chemicals contained on sediments: A review. Teoksessa: Dickson K. L., Maki A. W. & Brungs W. A. (toim.): Fate and effects of sediment-bound chemicals in aquatic systems. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), A. Wheaton & Co. Ltd., Exeter, Iso-Britannia. ss. 219–266.
- Adams W. J., Green A. S., Ahlf W., Brown S. S., Burton G. A., Chadwick B., Crane M., Gouguet R., Ho K. T., Hogstrand C., Reynoldson T. B., Ringwood A. H., Savitz J. D. & Sibley P. K. 2005: Using sediment assessment tools and a weight-of-evidence approach. Teoksessa: Wenning, R. J., Batley G. E., Ingersoll G. E. & Moore C. G. (toim.): Use of sediment quality guidelines and related tools for the assessment of contaminated sediments. Pensacola (FL): SETAC Press, ss. 163–225.
- ASTM 1993: Standard guide for collection, storage, characterization, and manipulation of sediments for toxicological testing. American Society Testing Materials, E 1391–90: 321–330.
- Auer J. 1971: Äänekosken tehtaat 75 vuotta. Simonpaino Oy, Tapiola. s. 208.
- Basu N., Billiard S., Fragoso N., Omoike A., Tabash S., Brown S. & Hodson P. 2001: Ethoxyresorufin-o-deethylase induction in trout exposed to mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 1244–1251.
- Batley G. E., Stahl R. G., Babut M. P., Bott, T. L., Clark J. R., Field L. J., Ho K. T., Mount D. R., Swartz R. C. & Tessier A. 2005: Scientific underprintings of sediment quality guidelines. Teoksessa: Wenning, R. J., Batley G. E., Ingersoll G. E. & Moore C. G. (toim.): Use of sediment quality guidelines and related tools for the assessment of contaminated sediments. Pensacola (FL): SETAC Press, ss. 39–119.
- Bauder M. B., Palace V. P. & Hodson P. V. 2005: Is oxidative stress the mechanism of blue sac disease in retene-exposed trout larvae? *Environ. Toxicol. Chem.* 24: 694–702.
- Billiard S. M., Querbach K. & Hodson P. 1999: Toxicity of retene to early life stages of two freshwater fish species. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 2070–2077.
- Billiard S. M., Bols N. C. & Hodson P. V. 2004: In vitro and in vivo comparisons of fish-specific CYP1A induction relative potency factors for selected polycyclic aromatic hydrocarbons. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 59: 292–299.
- Blais J. M. & Muir D. C. G. 2004: Paleolimnological methods and applications for persistent organic pollutants. Teoksessa: Last W. M. & Smol J. P. (toim.): Tracking environmental change using lake sediments. Volume 2: Physical and geochemical methods. 2. painos.

Alankomaat: Kluwer Academic Publishers, ss. 271–297.

Bridges T. S., Berry W. J., Della Sala S., Dorn P. B., Ells S. J., Gries T. H., Ireland D. S., Maher E. M., Menzie C. A., Porebski L. M. & Stronkhorst J. 2005: A framework for assessing and managing risks from contaminated sediments. Teoksessa: Wenning, R. J., Batley G. E., Ingersoll G. E. & Moore C. G. (toim.): Use of sediment quality guidelines and related tools for the assessment of contaminated sediments. SETAC Press, ss. 227–266.

Brinkworth L. C., Hodson P. V., Tabash S. & Lee P. 2003: CYP1A induction and blue sac disease in early developmental stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to retene. J. Toxicol. Environ. Health. 66 A: 627–646.

Brzuzan P., Woźny M., Doboshz S., Kuźmiński H., Luczyński M. K. & Gora M. 2007: Blue sac disease in larval whitefish, *Coregonus lavaretus* (L.): pathological changes in mRNA levels of CYP1A, ER α , and p53. J. fish Dis. 30: 169–173.

Chan K.-H., Lam. M. H. W., Poon K.-F., Yeung H.-Y. & Chiu T. K. T. 1998: Application of sedimentary fecal stanols and sterols in tracing sewage pollution in coastal waters. Wat. Res. 32: 225–235.

Chapman P. M. 1996: Presentation and interpretation of sediment quality triad data. Ecotoxicology 5: 327–339.

Chapman P. M., Anderson B., Carr S., Engles V., Green R., Hameed J., Harmon M., Haverland P., Hyland J., Ingersoll C., Long E., Rodgers J., JR., Salazar M., Sibley P. K., Smith P. J., Swartz R. C., Thompson B. & Window H. 1997 a: General guidelines for using the sediment quality triad. Mar. Pollut. Bull. 34: 368–372.

Chapman P. M., Cano M., Fritz A. T., Gaudet C., Menzie C. A., Sprenger M. & Stubblefield W. A. 1997 b: Workgroup summary report on contaminated site cleanup decisions. Teoksessa: Ingersoll C. G., Dillon D. & Biddinger G. R. (toim): Ecological risk assessment of contaminated sediments Pellston Workshop on Sediment Ecological Risk Assessment, 1995, Pacific Grove CA. SETAC Press. ss. 83–114.

Chapman P. M., Birge W. J., Burgess M. R., Clements W. H., Douglas W. S., Harrass M. C., Hogstrand C., Reible D., D. & Ringwood A. H. 2005a: Role of sediment quality guidelines and other tools in different aquatic habitats. Teoksessa: Wenning, R. J., Batley G. E., Ingersoll G. E. & Moore C. G. (toim.): Use of sediment quality guidelines and related tools for the assessment of contaminated sediments. Pensacola (FL): Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC). ss. 267–309.

Chapman P. M., Birge W. J., Burgess M. R., Clements W. H., Douglas W. S., Harrass M. C., Hogstrand C., Reible D., D. & Ringwood A. H. 2005b: Uncertainties in assessments of

- complex sediment systems. Teoksessa: Wenning, R. J., Batley G. E., Ingersoll G. E. & Moore C. G. (toim.): Use of sediment quality guidelines and related tools for the assessment of contaminated sediments. Pensacola (FL): Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC). ss. 687–744.
- Christianson-Heiska I, Wahteristo P., Kastilan E.-L., Bergelin E., Bylund G. & Isomaa B. 2004: Effects of the wood extractive betulinol and 17 β -oestradiol on reproduction in zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton) – complications due to a bacterial infection. J. Fish. Dis. 27: 267–276.
- Christianson-Heiska I-L, Haavisto T., Paranko J., Bergelin E. & Isomaa B. 2007 a: Effects of the wood extractives dehydroabietic acid and betulinol on reproductive physiology in zebrafish (*Danio rerio*) – a two-generation study. Teoksessa: Christianson-Heiska I.: Endocrine disrupting activities of wood extractives in piscine model systems. Department of Biology Åbo Akademi University. Tutku, Finland. 15 s.
- Christianson-Heiska I., Smeds P., Granholm N., Bergelin E. & Isomaa B. 2007 b: Endocrine modulating actions of a phytosterol mixture and its oxidation products in zebrafish (*Danio rerio*). Comp.Biochem. Physiol. 145 C: 518–527.
- Forbes V. E. & Forbes T. L. 1994: Ecotoxicology in Theory and Practice. T J Press, Padstow. 247 s.
- Forbes T. L. & Kure L. V. 1997: Linking structure and function in marine sedimentary and terrestrial soil ecosystems: Implications for extrapolation from the laboratory to the field. Teoksessa: van Straalen N. M. & Løkke H. (toim.): Ecological risk assessment of contaminated soil. Chapman & Hall, Lontoo. ss. 127–156.
- Fragoso N. M., Parrott J. L., Hahn M. E. & Hodson P. V. 1998: Chronic retene exposure causes sustained induction of CYP1A activity and protein in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Environ. Toxicol. Chem. 17: 2347–2353.
- Fragoso N. M., Hodson P. V., Kozin I. S., Brown R. S. & Parrott J. L. 1999. Kinetics of mixed function oxygenase induction and retene excretion in retene-exposed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Environ. Toxicol. Chem. 18: 2268–2274.
- Granberg K., Hynynen J., Meriläinen J., Mäkelä H., Palomäki A. & Bibiceanu S. 1987: Äänekoski – Vaajakoski-vesireitin velvoitetarkkailu vuonna 1986. Jyväskylän yliopiston ympäristöntutkimuskeskus. Jyväskylä. ss. 8–9.
- Haag I., Kern U. & Westrich B. 2001: Erosion investigation and sediment quality measurements for a comprehensive risk assessment of contaminated aquatic sediments. Sci. Tot. Environ. 266: 249–257.

- Hawkins S. A., Billiard S. M., Tabash S. P., Brown R. S. & Hodson P. V. 2002: Altering cytochrome P4501A activity affects polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism and toxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Environ. Toxicol. Chem. 21: 1845–1853.
- Herve S. & Heinonen P. 1991: The effect of biological waste treatment on chlorophenolics in pulp and paper recipient waters estimated by mussel incubation method. Teoksessa: Södergren A. (toim.): Environmental fate and effects of bleached pulp mill effluents. Proceedings of a SEPA conference held at Grand Hotel Sattsjöbaden, Tukholma, Ruotsi 19–21 lokakuuta 1991.
- Hodson P. V., Qureshi K., Noble C. A. J., Akhtar P. & Brown R. S. 2007: Inhibition of CYP1A enzymes by α -naphthoflavone causes both synergism and antagonism of retene toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquat. Toxicol. 81: 275–285.
- Håkanson L. 1982: Bottom dynamics in lakes. Hydrobiologia 91: 9–22.
- Håkanson L. & Jansson M. 1983: Principles of lake sedimentology. Springer-Verlag, Berliini. 316 s.
- Hyötyläinen T. & Oikari A 1999: The toxicity and concentration of PAHs in creosote-contaminated lake sediment. Chemosphere 38: 1135–1144.
- ISO 2006: water quality – Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment and other solids and colour containing samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Kinetic luminescent bacteria test). ISO 21338:2006. 15 s.
- Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2006 a: Äänekosken metsäteollisuusintegraatin jätevedenpuhdistamon ympäristölupa, Äänekoski. ISY-2004-Y-258.
- Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2006 b: M-Real Oyj:n Äänekosken kartonkitehtaan ympäristölupa, Äänekoski. ISY-2004-Y-259.
- Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2006 c: Eräiden uittajohteiden pitämistä koskeva uittosäännön muutos välillä Äänekoski – Haapakoski, Äänekoski, Suolahti, Laukaa ja Jyväskylän maalaiskunta. ISY-2006-Y-190.
- Itä-Suomen ympäristölupavirasto 2007: Teräväniemen jätevedenpuhdistamon ja kompostoinnin toimintaa koskevan ympäristölupapäätöksen nro 21/04/1 lupamääräysten tarkistaminen, Äänekoski. ISY-2006-Y-249.
- Jeziarska B., Lugowska K., Witeska M. & Sarnowski P. 2000: Malformations of newly hatched common carp larvae. Electron. J. Pol. Agric. Univ. 3.
<<http://www.ejpau.media.pl/volume3/issue2/fisheries/art-01.html>>
- Karels A. & Oikari A. 2000: Effects of pulp and paper mill effluents on the reproductive and

- physiological status of perch (*Perca fluviatilis* L.) and roach (*Rutilus rutilus* L.) during the spawning period. *Ann. Zool. Fennici*. 37: 65–77.
- Karickhoff S. W. & Morris K. R. 1987: Pollutant sorption: Relationship to bioavailability. Teoksessa: Dickson K. L., Maki A. W. & Brungs W. A. (toim.): Fate and effects of sediment-bound chemicals in aquatic systems: Proceedings of the Sixth Pellston Workshop, Colorado, 12–17 August 1984. SETAC, A. Wheaton & Co. Ltd., Exeter, Iso-Britannia. ss. 75–81.
- Keski-Suomen ympäristökeskus 2006: Finnforest Oyj:n Ympäristölupa KSU-2004-Y-370/111.
- Kostamo A., & Kukkonen J. V. K. 2003: Removal of resin acids and sterols from pulp mill effluents by activated sludge treatment. *Wat. Res.* 37: 2813–2820.
- Kovanen U.-M. 2007. Suullinen tiedonanto. M-Real Oyj:n laatu- ja ympäristöpäällikkö. 17.4.2007.
- Lahdelma I. & Oikari A. 2005: Resin acids and retene in sediments adjacent to pulp and paper industries. *J Soils & Sediments* 5: 74–81.
- Lahdelma I. & Oikari A. 2006: Stratigraphy of wood-derived sterols in sediments historically contaminated by pulp and paper mill effluents. *J. Paleolimnol.* 35: 323–334.
- Lehtinen K.-J., Mattsson K., Tana J., Engström C., Lerche O. & Hemming J. 1999: Effects of wood-related sterols on the reproduction, egg survival, and offspring of brown trout (*Salmo trutta lacustris* L.). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 42: 40–49.
- Lehtonen H. 2003: Iso kalakirja – ahvenesta vimpaan. WSOY, Porvoo. ss. 91–95, 118–122, 222–226.
- Leppänen H. & Oikari A. O. J. 1999a: Occurrence of retene and resin acids in sediments and fish bile from a lake receiving pulp and paper mill effluents. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 1498–1505.
- Leppänen H. & Oikari A. 1999b: The biotransformation of dehydroabietic acid under anaerobic and aerobic conditions at different temperatures by a sedimental microbial consortium Teoksessa: Leppänen H. 1999: The fate of resin acids and resin-derived compounds in aquatic environment contaminated by chemical wood industry. *Jyväskylä studies in biological and environmental science* 80. Jyväskylä, Finland, 149 s.
- Leppänen H., Kukkonen J. V. K. & Oikari A. O. J. 2000: Concentration of retene and resin acids in sedimenting particles collected from a bleached kraft mill effluent receiving lake. *Wat. Res.* 34: 1604–1610.
- Leppänen H. & Oikari A. 2001: Retene and resin acid concentrations in sediment profiles of a lake recovering from exposure to pulp mill effluents. *J. Paleolimnol.* 25: 367–374.

- Leppänen M. T. & Kukkonen J. V. K. 1998: Relative importance of ingested sediment and pore water as bioaccumulation routes for pyrene to oligochaete (*Lumbriculus variegatus*, Müller). *Environ. Sci. Technol.* 32: 1503–1508.
- Leusch F. D. L. & MacLatchy D. L. 2003: In vivo implants of β -sitosterol cause reductions of reactive cholesterol pools in mitochondria isolated from gonads of male goldfish (*Carassius auratus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 134: 255–263.
- Lick W. 1982: Entrainment, deposition, and transport of fine-grained sediments in lakes. *Hydrobiologia* 91: 31–34.
- Lick W. 1987: The transport of sediment in aquatic systems. Teoksessa: Dickson K. L., Maki A. W. & Brungs W. A. (toim.): Fate and effects of sediment-bound chemicals in aquatic systems: Proceedings of the Sixth Pellston Workshop, Colorado, 12–17 August 1984. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), A. Wheaton & Co. Ltd., Exeter, Iso-Britannia. ss. 61–74.
- Lick W. 1997: Modeling transport and fate of hydrophobic contaminants. Teoksessa: Ingersoll C. G., Dillon D. & Biddinger G. R. (toim.): Ecological risk assessment of contaminated sediments Pellston Workshop on Sediment Ecological Risk Assessment, 1995, Pacific Grove CA. Pensacola FL: SETAC Pr. ss. 239–253.
- Lindesjö E., Adolfsson-Erici M., Ericson G. & Förlin L. 2002: Biomarker responses and resin acids in fish chronically exposed to effluents from total chlorine-free pulp mill during regular production. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 53: 238–247.
- Marsheck W. J., Kraychy S. & Muir R. 1972: Microbial degradation of sterols. *Appl. Microbiol.* 23: 72–77.
- McCarthy P. J., Kennedy K. J. & Droste R. L. 1990: Role of resin acids in the anaerobic toxicity of chemithermomechanical pulp wastewater. *Wat. Res.* 24: 1401–1405.
- McMaster M. E., Van Der Kraak G. J., Portt C. B., Munkittrick K. R., Sibley P. K., Smith I. R. & Dixon D. G. 1991: Changes in hepatic mixed-function oxygenase (MFO) activity, plasma steroid levels and age at maturity of white sucker (*Catostomus commersoni*) population exposed to bleached kraft pulp mill effluent. *Aquat. Toxicol.* 21: 199–218.
- McMaster M. E., Munkittrick K. R., Van Der Kraak G. J., Flett P. A. & Servos M. R. 1996: Detection of steroid hormone disruptions associated with pulp mill effluent using artificial exposures of goldfish. Teoksessa: Servos M. R., Munkittrich K. R., Carey J. H. & Van Der Kraak G. J. (toim.) 1996: Environmental fate and effects of pulp and paper mill effluents. St. Lucie Press, Delray Beach, Florida, USA. ss. 425–436.
- Mellanen P., Petänen T., Lehtimäki J., Mäkelä S., Bylund G., Holmbom B., Mannila E., Oikari A.

- & Santti R. 1996: Wood-derived estrogens: Studies *in vitro* with breast cancer cell lines and *in vivo* in trout. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 136: 381–388.
- Mellanen P, Soimasuo M, Holmbom B., Oikari A. & Santti R. 1999: Expression of the vitallogenin gene in the liver of juvenile whitefish (*Coregonus lavaretus* L. *s.l.*) exposed to effluents from pulp and paper mills. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 43: 133–137.
- Meriläinen J. J., Hynynen J., Palomäki A., Veijola H., Witick A., Mäntykoski K., Granberg K. & Lehtinen K. 2001: Pulp and paper mill pollution and subsequent ecosystem recovery of a large boreal lake in Finland: a palaeolimnological analysis. *J. Paleolimnol.* 26: 11–35.
- Meriläinen P., Lahdelma I., Oikari L. Hyötyläinen T. & Oikari A. 2006: Dissolution of resin acids, retene and wood sterols from contaminated lake sediments. *Chemosphere* 65: 840–846.
- Meriläinen P. S., Krasnov A. & Oikari A. 2007: Time- and concentration-dependent metabolic and genomic responses to exposure to resin acids in brown trout (*Salmo trutta m. lacustris*). *Environ. Toxicol. Chem.* 26: 1827–1835.
- Meriläinen P. & Oikari A. 2008a: Exposure assessment of fishes to modern pulp and paper mill effluents after a black liquor spill. *Environ. Monit. Assess.* 144: 419–435.
- Meriläinen P. & Oikari A. 2008b: Uptake of organic xenobiotics by benthic invertebrates from sediment contaminated by pulp and paper industry. *Wat. Res.* 42: 1715–1725.
- Metsä-Botnia 1998: Environmental report of Metsä-Botnia group in 1998. 35 s.
- Metsä-Botnia 1999: Environmental report of Metsä-Botnia group in 1999. ss. 24, 36–37.
- Metsä-Botnia 2000: Environmental report 2000. ss. 20 & 34.
- Metsä-Botnia 2001: Environmental report 2001. ss. 14 & 17.
- Metsä-Botnia 2002: Environmental balance sheet 2002. s. 3.
- Metsä-Botnia 2003: Environmental balance sheet 2003. s. 4.
- Metsä-Botnia 2004: Environmental balance sheet 2004. s. 4.
- Metsä-Botnia 2005: Environmental balance sheet 2005. s. 44.
- Metsä-Botnia 2006: Environmental balance sheet 2006. s. 44.
- Metsäteollisuus 2006: Avain Suomen Metsäteollisuuteen. Libris Oy, Helsinki. 126 s.
- Moore D. W, Baudo R., Conder J. M., Landrum P. F., McFarland V. A., Meador J. P., Millward R. N., Shine J. O. & Word J. Q. 2005: Bioaccumulation in the assessment of sediment quality: Uncertainty and potential application. Teoksessa: Wenning, R. J., Batley G. E., Ingersoll G. E. & Moore C. G. (toim.): Use of sediment quality guidelines and related tools

- for the assessment of contaminated sediments. SETAC Press, ss. 429–495.
- M-Real 2001: Ypäristöraportti 2001. s. 30.
- M-Real 2002: Ypäristöraportti 2002.s. 38.
- M-Real 2003: Ypäristöraportti 2002. s. 32.
- M-Real 2004: M-Real vuosi 2004 – Yhteiskuntavastuuraportti. s. 48.
- M-Real 2005: M-Real vuosi 2005 – Yhteiskuntavastuuraportti. s. 48.
- M-Real Äänekoski paper 2004: EMAS statement 2003–2005. 26 s.
- M-Real Äänekoski paper 2007: EMAS statement 2006–2008. 28 s.
- Nelson D. L. & Cox M. M. 2005: Lehninger Principles of Biochemistry. 4. Painos. W. H. Freeman and Company, NY, USA. s. 503.
- Nikkilä A. K., Kukkonen J. V. K. & Oikari A. 2001: Bioavailability of sediment-associated retene to an oligochaete worm, *Lumbriculus variegatus*, Müller: effects of sediment organic carbon and retene concentration. J. Soils Sediments. 1: 137–145.
- Oikari A., Lönn B.-E., Castrén M., Nakari T., Snickars-Nikinmaa B., Bister H. & Virtanen E. 1983: Toxicological effects of dehydroabietic acid (DHAA) on the trout, *Salmo gairdneri* Richardson, in fresh water. Wat. Res. 17: 81–89.
- Oikari A. & Kunnamo-Ojala T. 1987: Tracing of xenobiotic contamination in water with the aid of fish bile metabolites: a field study with caged rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquat. Toxicol. 9: 327–341.
- Oikari A. & Holmbom B. 1996: Ecotoxicological effects of process changes implemented in a pulp and paper mill: a Nordic case study. Teoksessa: Servos M. R., Munkittrich K. R., Carey J. H. & Van Der Kraak G. J. (toim.) 1996: Environmental fate and effects of pulp and paper mill effluents. St. Lucie Press, Delray Beach, Florida, USA. ss. 613–625.
- Oikari A., Fragoso N., Leppänen H., Chan T. & Hodson P. V. 2002: Bioavailability to juvenile rainbow trout (*oncorynchus mykiss*) of retene and other mixed-function oxygenase-active compounds from sediments. Environ. Toxicol. Chem. 21: 121–128.
- Owens J. W. 1991: The hazard assessment of pulp and paper effluents in the aquatic environment: a review. Environ. Toxicol. Chem. 10: 1511–1540.
- Palomäki A. & Bibiceanu S. 1987: Vatian, Leppäveden ja Kuusveden eläinplankton vuonna 1986. Teoksessa: Granberg K., Hynynen J., Meriläinen J., Mäkelä H., Palomäki A & Bibiceanu S.: Äänekoski-Vaajakoski-vesireitin velvoitetarkkailu vuonna 1986. Jyväskylän yliopiston ympäristöntutkimuskeskus. Jyväskylä 1987. ss.35–36.

- Palomäki A., Hynynen J. & Bibiceanu S. 2004: Äänekoski-Vaajakoski-vesireitin yhteistarkkailu vuonna 2005. Jyväskylän yliopiston ympäristöntutkimuskeskus 106. Jyväskylä. 33 s.
- Palomäki A., Hynynen J. & Salo H. 2006: Äänekoski-Vaajakoski-vesireitin yhteistarkkailu vuonna 2005. Jyväskylän yliopiston ympäristöntutkimuskeskus 99. Jyväskylä. 29 s.
- Park S. S. & Erstfeld K. M. 1999: The effect of sediment organic carbon content on bioavailability of hydrophobic compounds in aquatic ecosystems. *Environ. Pollut.* 105: 9–15.
- Peng G. & Roberts J. C. 2000: Solubility and toxicity of resin acids. *Wat. Res.* 34: 2779–2785.
- Raitaniemi J. 1998: Siika. Teoksessa: Raitaniemi J., Lokki J., Nieminen P. & Opas H. (toim.): Suomen luonto – kalat, sammakkoeläimet ja matelijat. WSOY, Porvoo. ss. 92–97.
- Reunala A, Tikkanen I. & Åsvik E. 1998. Vihreä valtakunta – Suomen metsäklusteri. Otava, Keuruu. ss. 90–94.
- Rigol A., Latorre A., Lacorte S. & Barcelo D. 2004: Bioluminescence inhibition assays for toxicity screening of wood extractives and biocides in paper mill process waters. *Environ. Toxicol. Chem.* 23: 339–347.
- Ristola T., Pellinen J., Leppänen M. & Kukkonen J. 1996: Characterization of lake Ladoga sediments. 1. Toxicity to *Chironomus riparius* and *Daphnia magna*. *Chemosphere* 32: 1165–1178.
- Rothman K. J. 1986: Modern epidemiology. 2. painos. Little, Brown and Company, Boston, Yhdysvallat. ss. 16–20.
- Rust B. R. 1982: Sedimentation in fluvial and lacustrine environments. *Hydrobiology* 91: 59–70.
- Råbergh C.M. I., Lilius H., Eriksson J. E. & Isomaa B. 1999: The resin acids dehydroabietic acid and isopimaric acid release calcium from intracellular stores in rainbow trout hepatocytes. *Aquat. Toxicol.* 46: 55–65.
- SFS 3008: Veden, lietteen ja sedimentin kuiva-aineen ja hehkutusjäännöksen määrittäminen. Suomen Standardisoimisliitto 1990. 3 s.
- SFS 3040: Veteen liuenneen hapen määrittäminen, titrimetrinen menetelmä. Suomen Standardisoimisliitto 1990. 8 s.
- Sihvonen P. 2007: Suullinen tiedonanto. Äänekosken kaupungin ympäristöpäällikkö. 11.1.2007.
- Sepúlveda S. M., Quinn B. P., Denslow N. D., Holm S. E. & Gross T. S. 2003: Effects of pulp and paper mill effluents on reproductive success of largemouth bass. *Environ. Toxicol. Chem.* 22: 205–213.
- Shepard D. 1968: A two-dimensional interpolation function for irregularly-spaced data.

- Proceedings ACM National Conference. 517–523.
- Sjöström E. 1993: Wood Chemistry – Fundamentals and Applications, 2. painos. Acad. Press Ltd., San Diego. 292 s.
- Soimasuo R. Aaltonen T., Nikinmaa M., Pellinen J., Ristola T. & Oikari A. 1995: Physiological toxicity of low-chlorine bleached pulp and paper mill effluent on whitefish (*Coregonus lavaretus* L. s.l.): a laboratory exposure simulating lake pollution. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 31: 228–237.
- Strömberg L., Mörck R., de Sousa F. & Dahlman O. 1996: Effects of internal process changes and external treatment on effluent chemistry. Teoksessa: Servos M. R., Munkittrich K. R., Carey J. H. & Van Der Kraak G. J. (toim.) 1996: Environmental fate and effects of pulp and paper mill effluents. St. Lucie Press, Delray Beach, Florida, USA. ss. 3–19.
- Sun M.-Y. & Wakeham S. G. 1998: A study of oxic/anoxic effects on degradation of sterols at the simulated sediment-water interface of coastal sediments. *Org. Geochem.* 28: 773–784.
- Swartz & Di Toro 1997: Sediments as Complex Mixtures: an Overview of Methods to assess Ecotoxicological Significance. Teoksessa: Ingersoll C. G., Dillon D. & Biddinger G. R. (toim): Ecological risk assessment of contaminated sediments. Pellston Workshop on Sediment Ecological Risk Assessment, 1995, Pacific Grove CA. Pensacola FL: SETAC Pr. ss. 255–296.
- Tavendale M. H., Wilkins A. L., Langdon A. G., Mackie K. L., Stuthridge T. R. & McFarlane P. N. 1995: Analytical methodology for the Determination of freely available bleached kraft mill effluent-derived organic constituents in recipient sediments. *Environ. Sci. Technol.* 29: 1407–1414.
- Tavendale M. H., McFarlane P. N., Mackie K. L., Wilkins A. L. & Langdon A. G. 1997: The fate of resin acids-1. The biotransformation and degradation of deuterium labelled dehydroabietic acid in anaerobic sediments. *Chemosphere* 35: 2137–2151.
- Tremblay L. & Van Der Kraak G. 1999: Comparison between the effects of the phytosterol β -sitosterol and pulp and paper mill effluents on sexually immature rainbow trout. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 329–336.
- Tupitsa S. 2008: Suullinen tiedonanto. Oy Metsä-Botnia Ab:n ympäristöpäällikkö. 24.4.2008.
- USEPA 1992: Framework for ecological risk assessment. EPA/630/R-92/001.U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC, USA. 41 s.
- Van den Brink P. J. & Kater B. 2006: Chemical and biological evaluation of sediments from the Wadden sea,, the Netherlands. *Ecotoxicology* 15: 451–460.

- Van den Heuvel M. R., Leusch F. D. L., Shannon N. & McKague A. B. 2006: Assessment of the reproductive-endocrine disrupting potential of chlorine dioxide oxidation products of plant sterols. *Environ. Sci. Technol.* 40: 2594–2600.
- Vehniäinen E.-R., Häkkinen J. & Oikari A. 2003: Photoinduced lethal and sublethal toxicity of retene, a polycyclic aromatic hydrocarbon derived from resin acid, to coregonid larvae. *Environ. Toxicol. Chem.* 22: 2995–3000.
- Vikström F., Holmbom B. & Hamunen A. 2005: Sterols and triterpenyl alcohols in common pulpwoods and black liquor soaps. *Holz als Roh- und Werkstoff* 63: 303–308.
- Vuorinen P. J. & Vuorinen M. 1985: Sulfaattisellutehtaan jäteveden vaikutuksista muikkuun (*Coregonus albula* L.) laboratorikokeissa. Teoksessa: Viljanen M. (toim.): Saimaaseminaari 1985: Saimaan nykytila. Joensuun yliopiston ja Karjalan tutkimuslaitoksen julkaisu nro 71. ss. 82–89.
- Westrich B. & Förstner U. 2005: Sediment dynamics and pollutant mobility in rivers (SEDYMO). *J. Soils & Sediments* 5: 197–200.
- Word J. Q., Albrecht B. B., Anghera M. L., Baudo R., Bay S. M., Di Toro D. M., Hyland J. L., Ingersoll C. G., Landrum P. F., Long E. R., Meador J. P., Moore D. W., O'Connor T. O. & Shine J. P. 2005: Predictive ability of sediment quality guidelines. Teoksessa: Wenning, R. J., Batley G. E., Ingersoll G. E. & Moore C. G. (toim.): Use of sediment quality guidelines and related tools for the assessment of contaminated sediments. SETAC Press, USA. ss. 121–161.

LIITELUETTELO

LIITE 1. Sedimenttinäytteet – kuvasarja.....	131
LIITE 2. Sedimenttien analysointi - kuvasarja.....	134
LIITE 3. Sedimenttinäytteiden hartsihappo-, reteeni-, betulinoli- ja puusterolipitoisuudet.....	135
LIITE 4. Sedimenttien kuiva-ainepitoisuus ja orgaaninen materiaali (OM).....	140
LIITE 5. Sedimenttien korrelaatioiden testaus.....	142
LIITE 6. Valomikrobikokeen EC-arvot.	143
LIITE 7. Kuvasarja alkiopoikaskokeesta.....	144
LIITE 8. pH:n, sähkönjohtokyvyn ja happipitoisuuden seurannan tulokset siian (<i>C. lavaretus</i>) alkiopoikaskokeen aikana.....	145
LIITE 9. Siian (<i>C. lavaretus</i>) alkiopoikaskokeen kuolleisuus ja kehityshäiriöt: kuolleiden ja kehityshäiriöiden esiintyvyys ja niiden merkitsevyys eri altistuspitoisuuksissa.	146
LIITE 10. Kuvasarja siian (<i>C. lavaretus</i>) alkiopoikaskokeen epämuodostumista eri altistuspitoisuuksissa yhdeksän vuorokauden kuluttua kuoriutumisesta..	148

LIITE 1. Sedimenttinäytteet – kuvasarja.

a)



b)



c)



d)



e)



f)



g)



h)



i)



j)



k)

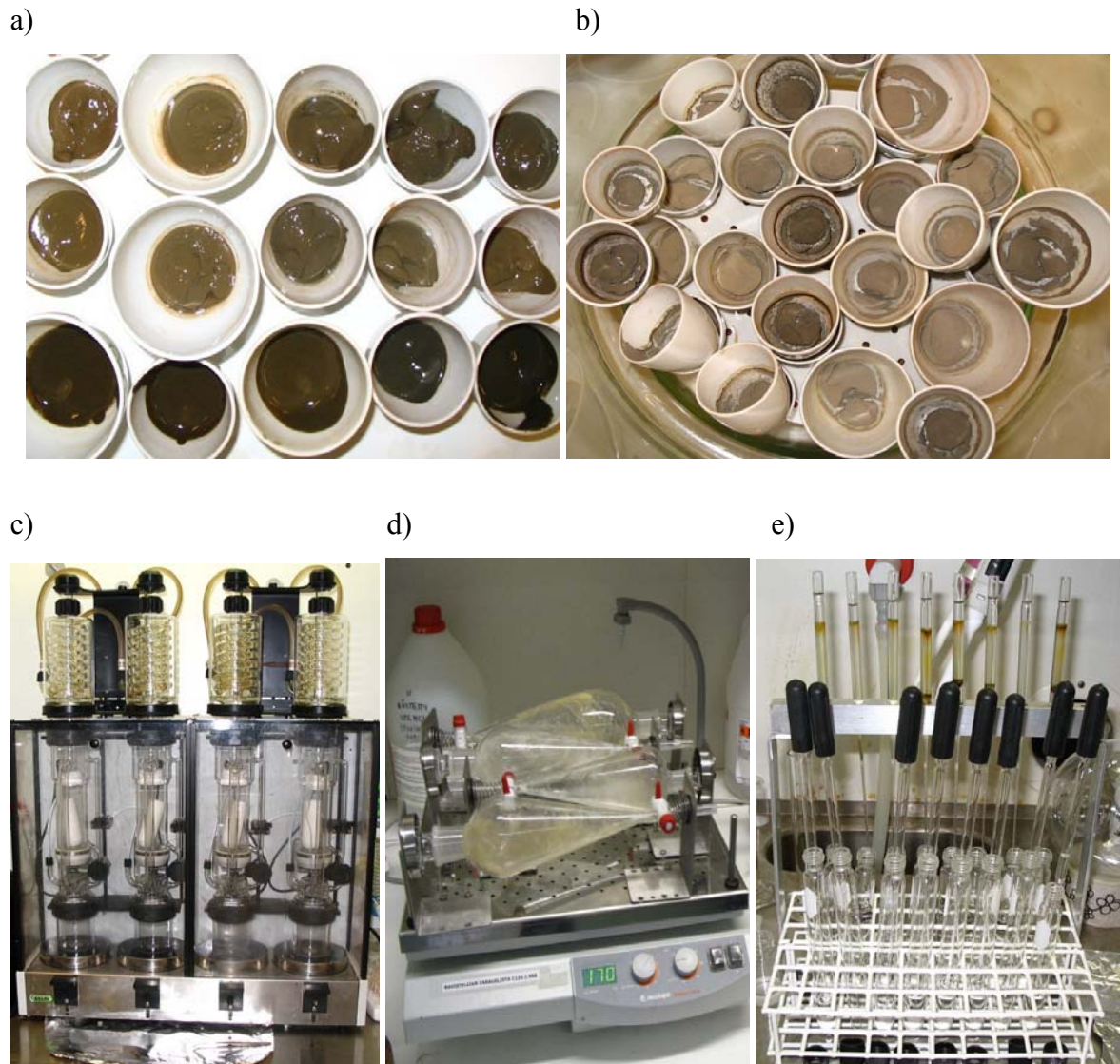


l)



Kuva 51. Kuvasarja näytteenotosta ja – käsittelystä. a) Keitele (–5 km), b) Leppävesi 33 km, c) Vätternjärvi 15 km^a, d) Vätternjärvi 15 km^b, e) Vätternjärvi 15 km^c, f) Kuhnamo 1 km, g) Kuhnamo 3,5 km, h) sedimenttien viipalointi, i) Vätternjärven Ekman-näyte j) Keiteleen Ekman-näyte, k) uittopöijä Kuhnamossa, l) Vätternjärven kesäinen maisema (ei näytteenotossa).

LIITE 2. Sedimenttien analysointi - kuvasarja.



Kuva 52. Sedimenttien analyysit. a) Kuiva-aineen määrittäminen (ylhäältä alas: Vatianjärvi 15 km^a, Vatianjärvi 15 km^b ja Keitele), b) kuivattuja sedimenttinäytteitä (tummanruskeat Kuhnasta 1 km, keskiruskeat Naarajärvestä ja vaaleanruskeat Leppävedestä), c) sedimenttien uuttoon käytetty Soxhlet-laite, d) sedimenttien uutteen erottaminen erotussupissa, e) retteenin ja puusterolien pylväspuhdistus.

LIITE 3. Sedimenttinäytteiden hartsihappo-, reteeni-, betulinoli- ja puusterolipitoisuudet.

Taulukko 11. Sedimenttinäytteiden hartsihappopitoisuudet ($\mu\text{g/g}$ k.a.; toteamisraja $\text{LOD} \leq 0,4 \mu\text{g/g}$) 1–15 km:n etäisyydellä. Kuhnamon näytteet: 1 km (19 m), 3,5 km (22 m) ja 4,5 km (16 m). Vatianjärven näytteet: 12 km (12 m) ja 15 km^a (24 m). Näytteenottoalueiden sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38).

Näyte	Syvyys (cm)	pimaarih. ($\mu\text{g/g}$)	sandarako- pimaarih. ($\mu\text{g/g}$)	iso- pimaarih. ($\mu\text{g/g}$)	palust- riinih. ($\mu\text{g/g}$)	dehydro- abietiinih. ($\mu\text{g/g}$)	abietiinih. ($\mu\text{g/g}$)	neo- abietiinih. ($\mu\text{g/g}$)	Yht. ($\mu\text{g/g}$)
1 km	0–2	15,05	2,51	13,79	2,81	74,82	11,67	LOD	120,6
	2–5	23,49	4,94	25,42	6,63	119,73	20,14	LOD	200,4
	5–10	18,49	3,73	21,65	5,55	118,96	15,42	LOD	183,8
	10–15	18,50	4,25	21,22	5,39	125,28	15,11	0,44	190,2
	15–20	25,10	5,80	30,75	6,62	160,99	16,59	0,22	246,1
3,5 km	0–2	15,42	3,60	17,95	4,37	109,73	17,27	0,00	168,3
	2–5	6,98	1,90	9,26	2,39	59,26	8,02	0,00	87,8
	5–10	11,69	3,40	17,05	4,09	100,32	12,41	0,00	149,0
	10–15	12,92	3,64	16,49	4,52	103,83	15,09	0,00	156,5
	15–20	9,64	3,31	17,16	5,80	121,28	16,42	0,00	173,6
4,5 km	0–2	1,53	0,61	2,72	0,14	20,56	2,50	0,00	28,1
	2–5	0,15	0,07	0,32	0,00	4,71	0,26	0,00	5,5
	5–10	0,28	0,09	0,25	0,00	1,85	0,21	0,00	2,7
12 km	0–2	6,96	1,93	8,75	1,78	58,23	7,82	0,00	85,5
	2–5	3,97	0,97	5,27	0,61	33,13	5,28	0,00	49,2
	5–10	10,15	3,14	10,02	0,04	71,22	23,55	0,00	118,1
	10–15	18,55	5,61	18,66	2,01	77,39	30,19	0,00	152,4
	15–20	7,44	6,56	26,61	0,81	74,45	15,29	0,00	131,2
15 km ^a	0–2	2,35	0,78	3,25	0,54	24,24	3,39	0,00	34,5
	2–5	4,70	1,00	5,45	0,94	40,44	5,63	0,00	58,2
	5–10	7,31	2,27	7,39	2,76	50,27	8,43	0,00	78,4
	10–15	8,91	2,88	11,53	3,12	84,37	13,07	0,00	123,9
	15–20	8,43	2,55	10,67	3,15	80,58	12,85	0,00	118,2

Taulukko 12. Hartsihappojen pitoisuudet ($\mu\text{g/g}$ k.a.; toteamisraja $\text{LOD} \leq 0,4 \mu\text{g/g}$) sedimenteissä 15–33 km:n etäisyydellä tehtaista. Vatianjärven näytteet: 15 km^b (7,5 m) ja 15 km^c (4 m). Leppäveden näyte 33 km:n etäisyydellä (28 m). Ylävirran vertailualueet: Keitele –5 km (29 m) ja Naarajärvi –8,5 km (25 m). Näytteenottoalueiden sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38).

Näyte	Syvyys (cm)	pimaarih. ($\mu\text{g/g}$)	sandarako- pimaarih. ($\mu\text{g/g}$)	iso- pimaarih. ($\mu\text{g/g}$)	palust- riinih. ($\mu\text{g/g}$)	dehydro- abietiinih. ($\mu\text{g/g}$)	abietiinih. ($\mu\text{g/g}$)	neo- abietiinih. ($\mu\text{g/g}$)	Yht. ($\mu\text{g/g}$)
15 km ^b	0–2	4,02	0,97	5,34	0,42	31,06	5,61	0,00	47,4
	2–5	11,47	2,95	14,24	0,58	91,32	12,02	0,00	132,6
	5–10	5,09	1,49	5,99	1,05	36,41	6,80	0,00	56,8
	10–15	15,43	4,44	16,90	2,21	69,14	20,64	0,00	128,8
	15–20	6,49	1,99	8,45	1,74	33,55	11,96	0,00	64,2
15 km ^c	0–2	6,11	2,06	8,12	0,99	56,44	7,92	0,00	81,6
	2–5	4,43	1,21	4,62	1,40	37,18	6,98	0,00	55,8
	5–10	15,25	5,10	14,70	1,39	76,08	25,01	0,00	137,5
	10–15	2,07	0,60	2,42	0,42	19,14	3,13	0,00	27,8
	15–20	4,76	1,89	4,93	LOD	18,85	7,77	0,00	38,2
33 km	0–2	1,42	0,26	1,73	0,00	7,87	1,77	0,00	13,1
	2–5	2,79	0,61	2,47	LOD	16,31	2,82	0,00	25,0
	5–10	3,30	0,82	3,21	0,74	14,42	4,14	0,00	26,6
	10–15	8,04	2,29	7,73	0,95	27,49	11,37	0,00	57,9
	15–20	19,85	5,07	19,80	2,25	58,65	27,52	0,00	133,1
– 5 km	0–2	0,53	0,00	0,31	0,00	2,65	0,19	0,00	3,7
	2–5	0,44	LOD	0,30	0,00	3,23	0,22	0,00	4,2
	5–10	1,76	0,36	1,03	LOD	8,72	1,02	0,00	12,9
	10–15	0,68	LOD	0,36	0,00	2,19	0,28	0,00	3,5
	15–20	0,94	0,00	0,23	0,00	3,10	0,32	0,00	4,6
– 8,5 km	0–2	0,00	0,00	0,18	0,00	0,64	0,10	0,00	0,9
	2–5	0,11	LOD	0,29	0,00	6,81	0,46	0,00	7,7
	5–10	LOD	0,00	0,24	0,00	1,26	0,06	0,00	1,6
	10–15	LOD	0,00	0,23	0,00	1,22	LOD	0,00	1,4
	15–20	LOD	0,00	0,11	0,00	4,57	LOD	0,00	4,7

Taulukko 13. Sedimenttinäytteiden reteenipitoisuudet ($\mu\text{g/g}$ k.a.; toteamisraja $\text{LOD} \leq 0,02$).
 Näytteenottoalueiden sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38).

	Näyte	Pitoisuus ($\mu\text{g/g}$ k.a.)				
		0–2 cm	2–5 cm	5–10 cm	10–15 cm	15–20 cm
Kuhnamo	1 km	42,35	50,43	49,97	50,75	41,89
	3,5 km	10,68	5,42	15,02	16,93	18,39
	4,5 km	2,02	0,25	0,00	–	–
	12 km	2,05	2,49	2,70	1,49	1,02
Vatianjärvi	15 km ^a	1,93	2,22	1,79	2,38	2,33
	15 km ^b	1,65	1,33	1,62	1,31	0,64
	15 km ^c	0,92	1,06	0,73	0,14	0,08
Leppävesi	33 km	0,26	0,14	0,22	0,32	4,33
Keitele	– 5 km	0,00	0,00	0,00	0,04	0,02
Naarajärvi	– 8,5 km	0,09	0,07	0,00	0,27	0,00

Taulukko 14. Betulinolipitoisuudet ($\mu\text{g/g}$ k.a.; toteamisraja $\text{LOD} \leq 0,04$ $\mu\text{g/g}$) sedimenteissä..
 Näytteenottoalueiden sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38).

	Näyte	Pitoisuus ($\mu\text{g/g}$ k.a.)				
		0–2 cm	2–5 cm	5–10 cm	10–15 cm	15–20 cm
Kuhnamo	1 km	609,4	1582,1	1665,9	390,5	212,6
	3,5 km	226,0	266,1	573,3	794,0	107,28
	4,5 km	180,2	1,2	18,4	–	–
Vatianjärvi	12 km	46,5	144,1	926,4	1318,2	135,2
	15 km ^a	61,2	409,9	421,0	593,3	535,2
	15 km ^b	110,7	166,9	229,8	527,7	625,8
	15 km ^c	325,8	168,0	1037,8	61,6	162,7
Leppävesi	33 km	53,8	272,1	89,8	297,0	465,3
Keitele	– 5 km	12,0	22,0	43,7	7,4	4,4
Naarajärvi	– 8,5 km	LOD	1,0	4,5	1,4	2,3

Taulukko 15. Puusterolien pitoisuudet ($\mu\text{g/g}$ k.a.; toteamisraja $\text{LOD} \leq 0,04 \mu\text{g/g}$) sedimenteissä 1–15 km:n etäisyydellä tehtaista. Kuhnamon näytteet: 1 km (19 m); 3,5 km (22 m) ja 4,5 km (16 m). Vatianjärven näytteet: 12 km (12 m) ja 15 km^a (24 m). Näytteenottoalueiden sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38).

Näyte	Syvyys (cm)	kole- steroli ($\mu\text{g/g}$)	kole- stanoli ($\mu\text{g/g}$)	kampe- steroli ($\mu\text{g/g}$)	kampe- stanoli ($\mu\text{g/g}$)	stigma- steroli ($\mu\text{g/g}$)	beeta- sitosteroli ($\mu\text{g/g}$)	stigma- stanoli ($\mu\text{g/g}$)	Yht. ($\mu\text{g/g}$)
1 km	0–2	68,88	39,79	102,32	24,17	44,78	490,42	366,64	1137,0
	2–5	185,17	100,19	292,72	68,01	126,21	1185,14	928,72	2886,2
	5–10	155,87	121,65	317,90	79,80	114,27	1005,87	983,58	2779,0
	10–15	37,89	35,74	87,44	20,79	28,35	284,86	286,81	781,9
	15–20	18,08	19,54	50,65	10,75	14,35	173,66	188,56	475,6
3,5 km	0–2	34,55	27,84	66,63	13,39	25,34	169,54	167,45	504,7
	2–5	40,26	29,92	72,26	14,47	33,30	188,11	173,78	552,1
	5–10	56,93	49,20	125,20	24,22	46,51	319,92	380,85	1002,8
	10–15	51,44	53,41	152,66	41,76	54,99	438,68	555,68	1348,6
	15–20	10,05	11,65	20,23	7,88	17,45	48,63	85,57	201,46
4,5 km	0–2	33,77	12,55	35,10	3,00	17,26	185,17	84,19	371,0
	2–5	0,25	0,11	0,44	0,10	0,43	2,64	0,84	4,8
	5–10	7,11	2,86	3,45	0,35	1,92	53,54	21,86	91,1
12 km	0–2	5,14	3,93	8,51	2,00	5,08	18,69	13,81	57,2
	2–5	9,92	13,77	27,39	8,31	11,30	57,58	59,22	187,5
	5–10	11,62	31,65	42,07	27,25	14,06	87,25	146,70	360,6
	10–15	2,57	3,83	20,31	10,48	8,97	57,51	92,13	195,8
	15–20	1,84	1,48	4,94	2,74	2,90	29,84	29,19	72,9
15 km ^a	0–2	16,37	8,14	14,50	3,30	9,84	33,45	19,58	105,2
	2–5	77,88	41,66	71,43	14,23	53,36	191,39	140,11	590,1
	5–10	9,54	13,90	75,15	17,85	44,74	168,28	132,04	461,5
	10–15	37,84	34,70	52,21	14,08	31,12	170,80	177,57	518,3
	15–20	18,76	19,90	34,32	9,98	17,68	110,63	138,90	350,2

Taulukko 16. Puusterolien pitoisuudet ($\mu\text{g/g}$ k.a.; toteamisraja $\text{LOD} \leq 0,4\mu\text{g/g}$) sedimenteissä 15–33 km:n etäisyydellä tehtaista. Vatianjärven näytteet: 15 km^b (7,5 m) ja 15 km^c (4 m). Leppäveden näyte 33 km:n etäisyydellä (28 m). Ylävirran vertailualueet: Keitele –5 km (29 m) ja Naarajärvi –8,5 km (25 m). Näytteenottoalueiden sijainnit on esitetty kuvassa 11 (s. 38).

Näyte (km)	Syvyys (cm)	kole- steroli ($\mu\text{g/g}$)	kole- stanoli ($\mu\text{g/g}$)	kampes- teroli ($\mu\text{g/g}$)	kampe- stanoli ($\mu\text{g/g}$)	stigma- steroli ($\mu\text{g/g}$)	beeta- sitosteroli ($\mu\text{g/g}$)	stigma- stanoli ($\mu\text{g/g}$)	Yht. ($\mu\text{g/g}$)
15 km ^b	0–2	8,42	5,50	12,68	2,86	6,51	29,01	29,80	94,8
	2–5	9,72	8,07	16,08	3,79	9,42	41,02	33,79	121,9
	5–10	4,78	7,08	15,05	4,17	6,95	39,23	39,65	116,9
	10–15	2,30	3,54	14,28	4,72	5,57	35,93	36,10	102,4
	15–20	2,82	6,18	10,06	4,00	5,75	37,41	38,62	104,8
15 km ^c	0–2	40,28	21,35	48,69	8,45	29,37	165,76	117,70	431,6
	2–5	4,08	5,96	11,12	4,43	4,53	19,43	26,98	76,5
	5–10	4,13	7,27	17,61	5,88	5,93	39,18	68,29	148,3
	10–15	0,55	0,22	1,10	0,26	1,03	7,79	3,04	14,0
	15–20	1,46	LOD	1,81	0,28	1,61	24,39	18,62	48,2
33 km	0–2	21,64	14,44	14,37	3,84	14,59	40,40	19,54	128,8
	2–5	56,66	35,52	38,71	9,53	42,31	137,47	90,99	411,2
	5–10	6,30	7,39	7,87	2,96	6,87	24,80	15,82	72,0
	10–15	6,38	9,01	8,23	4,44	5,55	30,02	37,08	100,7
	15–20	3,94	4,63	7,47	4,96	4,29	33,10	46,97	105,4
– 5 km	0–2	38,17	13,88	5,95	1,90	25,81	85,74	35,56	207,0
	2–5	72,12	34,33	41,04	11,60	51,49	264,03	103,35	578,0
	5–10	20,62	14,18	13,15	7,40	15,70	72,63	49,44	193,1
	10–15	5,79	3,87	5,05	2,80	5,46	27,95	20,95	71,9
	15–20	4,32	2,79	4,31	2,77	6,30	31,68	23,81	76,0
– 8,5 km	0–2	19,96	8,60	10,64	2,76	9,32	28,66	9,96	89,9
	2–5	40,73	16,94	21,31	5,57	21,33	65,41	19,57	190,9
	5–10	26,78	13,95	16,21	4,51	15,19	48,91	21,41	147,0
	10–15	31,73	13,18	18,80	5,18	15,72	54,46	25,51	164,6
	15–20	26,06	9,08	18,90	5,97	17,98	56,95	22,83	157,8

LIITE 4. Sedimenttien kuiva-ainepitoisuus ja orgaaninen materiaali (OM).

Taulukko 17. Ylävirran vertailujärvien (Keitele ja Naarajärvi) kuiva-ainepitoisuus (mg/g) ja orgaanisen materiaalin (OM) pitoisuus kuiva-ainetta kohti (mg/g). OM on mitattu hehkutushäviönä LOI (loss-of-ignition). Näytteenottoalueiden sijainnit on ilmoitettu kuvassa 11 (s. 38).

Näyte	Syvyys (cm)	k.a. (mg/g)	LOI (mg/g)	Näyte	Syvyys (cm)	k.a. (mg/g)	LOI (mg/g)
	0–2	95,9	167,2		0–2	174,3	79,8
	2–5	108,4	158,3		2–5	215,4	90,1
–5 km	5–10	127,9	123,4	–8,5 km	5–10	238,3	88,2
	10–15	137,1	106,6		10–15	242,8	88,9
	15–20	115,5	146,1		15–20	254,5	83,8

Taulukko 18. Kuhnamon kuiva-ainepitoisuus (mg/g) ja orgaanisen materiaalin (OM) pitoisuus kuiva-ainetta kohti (mg/g). OM on mitattu hehkutushäviönä LOI (loss-of-ignition). Näytteenottoalueiden sijainnit on ilmoitettu kuvassa 11 (s. 38).

Näyte	Syvyys (cm)	k.a. (mg/g)	LOI (mg/g)	Näyte	Syvyys (cm)	k.a. (mg/g)	LOI (mg/g)
	0–2	78,6	300,4		0–2	141,0	169,7
	2–5	77,9	294,8		2–5	158,5	168,2
1 km	5–10	139,1	227,2	3,5 km	5–10	166,2	169,5
	10–15	95,5	268,3		10–15	169,9	165,6
	15–20	95,6	284,5		15–20	171,9	172,0
	0–2	586,0	19,5				
4,5 km	2–5	266,8	22,4				
	5–10	570,8	15,3				

Taulukko 19. Vatianjärven kuiva-ainepitoisuus (mg/g) ja orgaanisen materiaalin (OM) pitoisuus kuiva-ainetta kohti (mg/g). OM on mitattu hehkutushäviönä LOI (loss-of-ignition). Näytteenottoalueiden sijainnit on ilmoitettu kuvassa 11 (s. 38).

Näyte	Syvyys (cm)	k.a. (mg/g)	LOI (mg/g)	Näyte	Syvyys (cm)	k.a. (mg/g)	LOI (mg/g)
12 km	0–2	276,0	81,5	15 km ^a	0–2	209,2	85,7
	2–5	276,0	107,3		2–5	239,2	86,0
	5–10	312,5	93,2		5–10	261,0	86,3
	10–15	305,4	77,5		10–15	257,9	87,8
	15–20	251,8	95,6		15–20	232,6	80,7
15 km ^b	0–2	241,8	83,3	15 km ^c	0–2	275,9	66,0
	2–5	251,0	82,0		2–5	288,0	71,8
	5–10	271,1	88,8		5–10	298,0	81,1
	10–15	274,7	101,7		10–15	369,2	49,2
	15–20	289,4	73,8		15–20	336,5	40,4

Taulukko 20. Leppäveden kuiva-ainepitoisuus (mg/g) ja orgaanisen materiaalin (OM) pitoisuus kuiva-ainetta kohti (mg/g) 33 km:n etäisyydellä tehtaista. OM on mitattu hehkutushäviönä LOI (loss-of-ignition). Näytteenottoalueiden sijainnit on ilmoitettu kuvassa 11 (s. 38).

Näyte	Syvyys (cm)	k.a. (mg/g)	LOI (mg/g)
33 km	0–2	261,3	54,9
	2–5	311,7	54,7
	5–10	360,1	56,5
	10–15	376,8	62,9
	15–20	315,8	84,5

LIITE 5. Sedimenttien korrelaatioiden testaus.

Taulukko 21. Pearsonin korrelaatiokertoimet ja niiden merkitsevyys sedimenttien pitoisuusanalyysistä. $p \leq 0,05^*$ ja $p \leq 0,01^{**}$. Korrelaatiot on laskettu kaikille näytealoille erikseen ja jokaiselle järvelle Äänekoskelta alavirtaan käyttäen kaikkia järven näytealoja.

		Hartsihapot	Hartsihapot	Reteeni	Puusterolit	Puusterolit	Betulinoli
		vs.	vs.	vs.	vs.	vs.	vs.
	n	reteeni	OM	OM	betulinoli	OM	OM
1 km	5	0,067	-0,138	-0,498	0,997**	-0,357	-0,418
3,5 km	5	0,803	0,343	0,167	0,995**	-0,842	-0,811
4,5 km	3	1,000**	0,205	0,217	0,990	-0,122	0,018
Kuhnamo	13	0,765**	0,863**	0,889**	0,997**	0,573*	0,543
12 km	5	-0,597	-0,631	0,355	0,653	0,170	-0,487
15 km ^a	5	0,703	-0,244	-0,172	0,761	0,295	-0,111
15 km ^b	5	-0,126	0,454	0,467	-0,228	-0,096	0,048
15 km ^c	5	0,495	0,831	0,822	0,239	0,384	0,722
Vatianjärvi	20	0,187	0,381	0,717**	0,333	0,232	0,138
Leppävesi	5	0,947*	0,993**	0,971**	0,123	-0,343	0,833
33 km							

LIITE 6. Valomikrobikokeen EC-arvot.

Taulukko 22. Mikrobikokeen (*V. fischeri*) EC₅₀ ja EC₂₀-arvot lyhyellä (1 h) ja pitkällä (46 h) sekoitusajalla 30 min koeajan jälkeen. EC-arvo on ilmoitettu tilavuusprosentteina.

		1 h	46 h
Keitele	EC 50	36,1	42,1
	EC 20	16,4	19,1
Naarajärvi	EC 50	47,7	41,7
	EC 20	21,9	17,1
Kuhnamo	EC 50	31,0	57,5
	EC 20	14,5	23,8
Vatia	EC 50	41,0	43,2
	EC 20	19,3	19,8
Leppävesi	EC 50	28,5	42,1
	EC 20	12,0	18,8

LIITE 7. Kuvasarja alkiopoikaskokeesta.

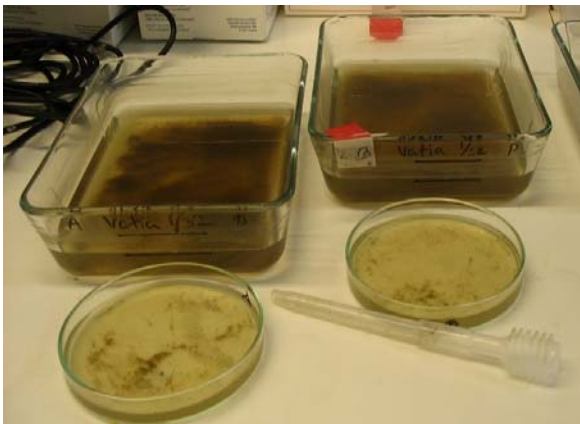
a)



b)



b)



c)



Kuva 53. Kuvasarja kalakokeesta. a) ja b) Kalakokeen elutriaatteja, c) kalakokeen lopetus, d) elutriaattien pitoisuusmäärityksiä.

LIITE 8. pH:n, sähkönjohtokyvyn ja happipitoisuuden seurannan tulokset siian (*C. lavaretus*) alkiopoikaskokeen aikana.

Taulukko 23. Siian alkiopoikaskokeen pH:n (n=5), sähkönjohtokyvyn ($\mu\text{S}/\text{cm}$; n=4) ja hapen kylläisyysasteen (%; n=4) keskiarvot ja keskihajonnat. Elutriaattien pitoisuudet on ilmoitettu tilavuusprosentteina. Kontrolli on puhdas laimennusvesi, K = Keitele, N = Naarajärvi ja V = Vatianjärvi.

	pH	pH std	Sähkönjohtokyky ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	sähkönjohtokyky std	Happi (%)	Happi std
Kontrolli	8,2	0,53	305,0	54,8	95,3	2,4
K 50 %	7,7	0,45	169,4	20,4	94,3	7,8
K 6,2 %	8,0	0,48	283,9	20,6	94,3	4,7
N 50 %	7,6	0,31	173,0	31,4	94,0	6,1
N 6,2 %	8,0	0,49	274,9	40,0	94,7	3,2
V 50 %	7,6	0,33	200,3	13,2	80,3	3,6
V 25 %	7,8	0,39	235,0	27,6	83,7	7,0
V 12,5 %	7,9	0,45	274,3	18,5	91,3	16,2
V 6,2 %	8,0	0,49	269,9	34,8	91,7	12,2

LIITE 9. Siian (*C. lavaretus*) alkiopoikaskokeen kuolleisuus ja kehityshäiriöt: kuolleiden ja kehityshäiriöiden esiintyvyys ja niiden merkitsevyys eri altistuspitoisuuksissa.

Taulukko 24. Siian alkiopoikaskokeen kuolleisuudet prosentteina eri altistuspitoisuuksissa. Kontrolli on puhdas laimennusvesi, K = Keitele, N = Naarajärvi ja V = Vatianjärvi. Elutriaattien pitoisuudet on ilmoitettu tilavuusprosentteina.

Näyte	n (kpl)	Kuolleet	
		n (kpl)	Kuolleet (%)
Kontrolli	45	1	2,2
K 50 %	45	3	6,7
K 6,2 %	44	0	0,0
N50 %	45	3	6,7
N 6,2 %	43	0	0,0
V 50 %	45	2	4,4
V 25 %	45	4	8,9
V 12,5 %	45	0	0,0
V 6,2 %	44	0	0,0

Taulukko 25. Siian alkiopoikaskokeen mikroskopoinnin havainnot. Alkiopoikasten pituudet (mm) on ilmoitettu keskiarvoina. Kaikki kehityshäiriöt on ilmoitettu prosentteina. Kehityshäiriöiden kokonaisesiintyvyys on ilmoitettu lihavoituna. Selkärangan kehityshäiriöt käsittävät lordoosin, skolioosin ja kyfoosin. Silmien ja pään epämuodostumat on laskettu yhteen. Erilaiset leuan epämuodostumat on koottu yhteen. K = Keitele, N = Naarajärvi, V = Vatianjärvi. Kontrolli on puhdas laimennusvesi.

	K 50 %	K 6,2 %	N 50 %	N 6,2 %	V 50 %	V 25 %	V 12,5 %	V 6,2 %	Kontrolli
n (kpl)	27	28	27	29	28	28	30	29	22
Pituus (mm)	11,1	11,1	11,0	11,6	11,0	11,4	11,5	11,1	11,7
Kehitysh. (%)	59	86	56	69	32	18	40	48	5
Selkäranka (%)	56	79	46	62	32	14	33	45	0
silmä/pää (%)	0	11	8	0	0	0	0	0	0
leuka (%)	11	7	15	3	14	7	10	3	5

Taulukko 26. Siian alkiopoikaskokeessa tarkasteltiin kuolleisuuden esiintyvyyden merkitsevyyttä Fisherin testillä ja kehityshäiriöiden χ^2 -riippumattomustestillä. Pituuden vaihtelun merkitsevyyttä tarkasteltiin Mann-Whitneyn U-testillä. Vertailut tehtiin kontrolliin (puhdas laimennusvesi), ($p \leq 0,05^*$; $p \leq 0,01^{**}$).

Pitoisuus (tilavuus-%)	n	Kuolleisuuden vertailu	Kehityshäiriöiden vertailu	Pituuden vertailu
		kontrolliin (Fisherin testi) p-arvo	kontrolliin (χ^2 -testi) p-arvo	kontrolliin (Mann-Whitneyn U-testi) p-arvo
V 50	28	1,000	0,015 * ($\chi^2=5,864$)	<0,001** (U=119,000)
V 25	28	0,361	0,150 ($\chi^2=2,067$)	0,033* (U=196,000)
V 12,5	30	1,000	0,004 ** ($\chi^2=8,509$)	0,108 (U=254,000)
V 6,2	29	1,000	0,001 ** ($\chi^2=11,523$)	<0,001** (U=144,000)
N 50	27	0,616	<0,001 ** ($\chi^2=12,772$)	<0,001** (U=86,000)
N 6,2	29	1,000	<0,001 ** ($\chi^2=21,433$)	0,257 (U=268,000)
K 50	27	0,616	<0,001 ** ($\chi^2=16,017$)	<0,001** (U=125,000)
K 6,2	28	1,000	<0,001 ** ($\chi^2=32,468$)	<0,001** (U=142,000)

LIITE 10. Kuvasarja siian (*C. lavaretus*) alkiopoikaskokeen epämuodostumista eri altistuspitoisuuksissa yhdeksän vuorokauden kuluttua kuoriutumisesta.

a)



b)



c)



d)

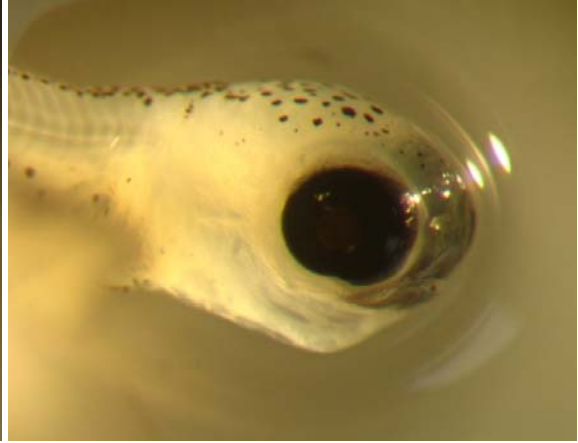


Kuva 54. Kuvasarja yhdeksän vuorokautta kuoriutumisen jälkeen kestävätyjen Naarajärven siian alkiopoikasten kehityshäiriöistä. Naarajärvi 50 tilavuus-%: a) lordoosi ja skolioosi, b) skolioosi. Naarajärvi 6,2 tilavuus-%: c) tyypillisiä alkiopoikasia, joilla useilla lordoosia, d) lordoosi.

a)



b)



c)



d)



Kuva 55. Kuvasarja yhdeksän vuorokautta kuoriutumisen jälkeen kestävöityjen Keiteleen siian alkioipoikasten kehityshäiriöistä. Keitele 50 tilavuus-%: a) lordoosi, b) lyhyt leuka. Keitele 6,2 tilavuus-%: c) kyfoosi, d) pään turpoama (ödeema).

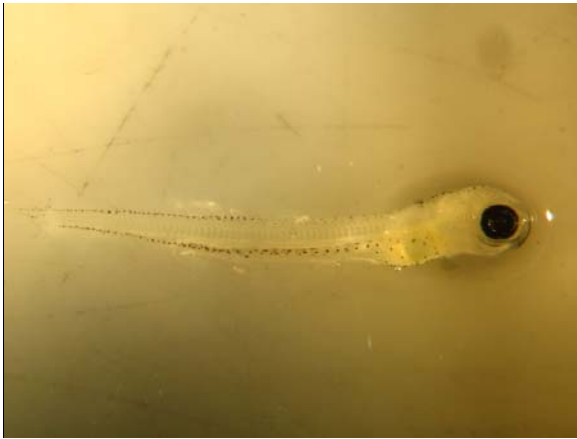
a)



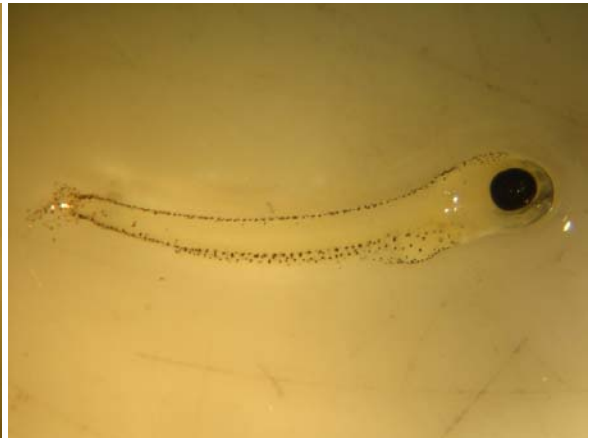
b)



c)



d)



e)



f)



g)



h)



Kuva 56. Kuvasarja yhdeksän vuorokautta kuoriutumisen jälkeen kestävöityjen Vatianjärven siian alkioipoikasten kehityshäiriöistä. Vatianjärvi 50 tilavuus-%: a) ylempi terve, alemmalla skolioosi, b) lordoosi ja lyhyt leuka. Vatianjärvi 25 tilavuus-%: c) lyhyt leuka ja ruskuaisen pilkkoutumisen häiriö, d) lievä lordoosi. Vatianjärvi 12,5 tilavuus-%: e) lordoosia ja skolioosia, f) ruskuaispussin pilkkoutumisen häiriö. Vatianjärvi 6,2 tilavuus-% g) lordoosi, h) lyhyt leuka.