

3D-siepparien hyödyntäminen lääkeaineiden poistamisessa jätevedestä

Pro gradu -tutkielma

Jyväskylän yliopisto

Kemian laitos

22.04.2020

Aino-Tuulia Autio

Tiivistelmä

Tämän Pro gradu -tutkielman kirjallisessa osassa tarkoituksena oli perehtyä muutamiin yleisesti käytettyihin lääkeaineisiin ja hormoneihin. Työssä selvitettiin valittujen lääkeaineiden metaboliaa ja erittymistä ihmisestä jäteveten sekä lääkeaineiden ja hormonien kulkeutumista jäteveden mukana jätevedenpuhdistamoille. Lisäksi selvitettiin Suomessa käytettävien jätevedenpuhdistusmenetelmien tehokkuutta lääkeaineiden ja hormonien poistoon jätevedestä sekä lääkeaineiden ympäristövaikutuksia. Kirjallisessa osassa tutustuttiin myös Suomen jätevedenpuhdistusjärjestelmään, haitta-aineille kehitettyihin vaihtoehtoihin poistomenetelmiin jätevedestä sekä lääkeaineiden käyttömääriin Suomessa. Tämän lisäksi selvitettiin 3D-tulostusmenetelmiä ja niiden käyttökohteita lääketieteen sovelluksiin ja kemiallisesti funktionaalisten kappaleiden valmistukseen.

Tutkielman kokeelliseen osaan valittiin 17β -estradioli mallihormoniksi, jotta voitiin tutkia 3D-sieppareiden hormonien talteenottoa. Kokeellisessa osassa siis tutkittiin 17β -estradiolin talteenottoa synteettisistä vesinäytteistä SLS:llä tulostetuilla PA-12 3D-sieppareilla. Kokeellisessa osassa tutkittiin myös hormonien eluointia sieppareista ja sieppareiden uudelleenkäyttöä. Tarkoituksena oli kehittää tehokas ja helppo menetelmä hormonien sekä lääkeaineiden poistoon jätevesistä ympäristöystävällisesti. Siepparit voisivat toimia paikallisesti esimerkiksi sairaaloiden jätevedenpuhdistuksessa tai yleisissä ja kotitalouksien wc-tiloissa.

Esipuhe

Tämä Pro gradu -tutkielma tehtiin Jyväskylän yliopistolla lukuvuoden 2019 – 2020 aikana epäorgaanisen kemian osastolla. Työn ohjaajina toimivat yliopiston opettaja Elina Laurila, tutkijatohtori Elmeri Lahtinen ja tohtorikoulutettava Janne Frimodig. Haluan kiittää heitä kaikkia äärimmäisen hyvästä ohjauksesta ja tuesta koko projektin aikana. Kiitos kuuluu myös koko meidän tutkimusryhmällemme hyvästä ilmapiiristä ja tekemisen ilosta. Haluan kiittää myös perhettäni ja ystäviäni jaksamisesta kanssani koko yliopisto-opintojeni aikana.

Laukaassa 22. huhtikuuta 2020

Aino-Tuulia Autio

Sisällysluettelo

Tiivistelmä.....	i
Esipuhe	ii
Käytetyt lyhenteet ja vierasperäiset sanat	vi
Kirjallinen osa	1
1. Johdanto	1
2. Lääkeaineet – elimistössä ja ympäristössä	2
2.1. Sukupuolihormonit	4
2.1.1. Estrogeenit.....	4
2.1.2. Progestiinit	7
2.2. Tulehduskipuläkkeet.....	8
2.3. Verenpaineläkkeet	10
2.4. Antibiootit.....	11
2.5. Muut lääkkeet	13
2.6. Lääkejäte.....	15
2.7. Arvioita lääkeaineiden käytöstä ja päätyemisestä jätevesiin Suomessa.....	15
3. Jäteveden puhdistus – lääkeaineet.....	22
3.1. Yleiset jäteveden puhdistusmenetelmät Suomessa.....	24
3.2. Lainsäädäntöä vesistöissä havaittaville haitallisille aineille ja niiden poistomenetelmiä jätevedestä	28
3.2.1. Yleisten jäteveden puhdistusmenetelmien vaikutukset lääkeaineisiin ja hormoneihin	29
3.2.2. TOXCHEM-mallinnus apuna havainnollistamaan lääkeaineiden hajoamista biologisen jätevedenpuhdistus prosessin aikana	38
3.2.3. Antibiootit jätevedessä	40
3.2.4. Membraaniavusteinen prosessi (MAP)	42
3.2.5. Bakteerien hyödyntäminen hormonien hajottamisessa	44

3.2.6.	Koronapurkaus (PCD).....	45
3.2.7.	Haasteet	49
4.	3D-tulostus	52
4.1.	Eri 3D-tulostus tekniikat.....	52
4.1.1.	Fused Deposit Modeling (FDM)	53
4.1.2.	Stereolitografia (SLA).....	55
4.1.3.	Selektiivinen lasersintraus (SLS)	56
4.2.	3D-tulosteiden käyttökohteita.....	58
4.2.1.	Metallien sieppaus.....	58
4.2.2.	Hormoninäytteiden esikäsittely ja vesinäyteapplikaatiot.....	62
4.2.3.	3D-tulosteet lääketieteellisissä projekteissa	63
	Kokeellinen osa	66
5.	3D-tulostus	67
5.1.	Laite ja materiaalit	67
5.2.	Siepparit.....	67
6.	GC-analytiikka	68
6.1.	Apuliukset.....	69
6.2.	Sisäiset standardit	70
6.3.	Silylointi	72
6.4.	Lämpötilaohjelmat.....	77
7.	3D-siepparikokeet	83
7.1.	Näyteliukset	83
7.2.	Näytekäsittely	84
7.3.	Talteenotto	86
7.4.	Eluointi	87
7.5.	Kapasiteetti	89
7.6.	Siepparin uudelleenkäyttö	92
8.	Yhteenveto	94

9. Kirjallisuusluettelo	95
Liitteet	101

Käytetyt lyhenteet ja vierasperäiset sanat

ABS	Akryylinitriilibutadieenistyreeni
ACE	Asebutololi
AM	3D tulostus (Additive manufacturing)
ASP	Aktiivinen lieteprosessi (biologinen) (Activated sludge processes)
ASTM	American Society for Testing and Materials
ATE	Atenololi
BHK	Biologinen hapenkulutus
BOD	Biologinen hapenkulutus (Biochemical oxygen demand)
BZF	Betsafibraatti
CAD	Tietokoneohjelma 3D-kappaleiden suunnitteluun (Computer-Aided Desing)
CB	Hiilimusta (Carbon Black)
CBZ	Karbamatsepiini
CIP	Siprofloksasiini
COD	Kemiallinen hapenkulutus (Chemical oxygen demand)
COX	Syklo-oksigenaasi eli prostaglandiinisyntaasientsyymi
DCF	Diklofenaakki
E1	Estroni
E2	Estradioli
E3	Estrioli
EDC	Hormonaaliset haitta-aineet (Endocrinedisrupting compounds)
EE2	Etinyyliestradioli
EQS	Ympäristölaatumormi (Enviromental Quality standard)
FDM	Fused Deposition Modelling
FSH	Follikkelia stimuloiva hormoni
GnHR	Gonadotropiinia vapauttava hormoni

IBF	Ibuprofeeni
ICP-MS	Induktiivisesti kytketty plasma massaspektrometri (Inductively coupled plasma mass spectrometry)
ISO	Kansainvälinen standardisointijärjestö (International Organization for Standardization)
IUPAC	International union of pure and applied chemistry
KET	Ketoprofeeni
KHK	Kemiallinen hapenkulutus
LC-MS	Nestekromatografi massaspektrometrillä (Liquid chromatography coupled to mass spectrometry)
LH	Lutenisoiva hormoni
MAP	Membraani-avusteinen prosessi (Membrane-assisted processes)
MeCN	Asetonitriili
MeOH	Metanoli
MET	Metoprololi
NOR	Norfloksasiini
NPX	Naprokseeni
OFL	Ofloksasiini
OMP	Orgaaniset mikrosaasteet (Organic micropollutants)
PA6	Polyamidi-6
PA12	Polyamidi-12, nylon
PCD	Koronapurkaus (Pulsed Corona Discharge)
PCL	Polykarbolaktioni
PLA	Polylaktidi
PNEC	Arvioitu haitaton pitoisuus (Predicted no-effect concentration)
PVA	Polyvinyylialkoholi
SLA	Stereolitografia

SLS Selektiivinen lasersintraus (Selective Laser Sintering)

SOT Sotaloli

SPE Kiinteä faasiuutto (Solid phase extraction)

SXT Sulfametoksatsoli

Kirjallinen osa

1. Johdanto

Nykyään käytetään paljon erilaisia lääkkeitä, pesuaineita ja henkilökohtaisen hygienian käyttöön tarkoitettuja tuotteita. Kotitalouksien käytöstä näiden tuotteiden jäämät kulkeutuvat jätevesien mukana jätevedenpuhdistuslaitoksille. Nykyiset jätevedenpuhdistusmenetelmät puhdistavat jätevedet lääkaineista pääosin riittävällä tasolla. Tutkimukset kuitenkin osoittavat, että nykyisiä menetelmiä ei ole tarkoitettu kaikkien haitta-aineiden poistoon jätevedestä. Tämän vuoksi ne eivät pysty täysin puhdistamaan jätevettä kaikista haitta-aineista.¹ Vasta viime vuosikymmenellä on herätty miettimään näiden erilaisten haitta-aineiden vaikutuksia ja kertymistä ympäristöön. Haitta-aineet kulkeutuvat hyvin pieninä pitoisuuksina jäteveeseen, joka vaikeuttaa osaltaan myös niiden tutkimista ja analysointia. Kuitenkin haitta-aineet, etenkin hormonit, voivat aiheuttaa muutoksia ympäristöön jo hyvin pienissä pitoisuuksissa.²

Lääkeaineiden ympäristövaikutuksista ei vielä tiedetä tarpeeksi. EU on määrännyt useita haitta-aineita tarkkailulistalle, joiden mukana on esimerkiksi hormonit E1 (estroni), E2 (estradioli) ja EE2 (etinyyliestradioli). Tarkkailulistan tarkoituksena on kerätä näistä yhdisteistä tietoa ja korostaa niiden potentiaalista ympäristöriskiä. EQS-arvoja (ympäristölaatumormi) on myös ehdotettu joillekin lääkaineille ja hormoneille niiden pitoisuuksien seuraamiseksi pintavesistä. Esimerkiksi estradiolille EQS-arvoksi on ehdotettu $0,0004 \mu\text{g l}^{-1}$.³ Lääkeaineet ja hormonit vaikuttavat vesistöissä negatiivisesti kalojen kehitykseen ja saattavat myöhemmin päätyä myös saastuttamaan ihmisten juomavesiä.⁴

Tämän Pro gradu -tutkielman kirjallisessa osassa perehdyttiin lääkaineiden ja hormonien metaboliaan, kulkeutumiseen jätevedenpuhdistamoille sekä uusiin menetelmiin niiden poissaamiseksi jätevesistä. Kokeellisen osan tarkoituksena oli löytää tehokas ratkaisu lääkaineiden ja hormonien talteenottoon jätevesistä käyttäen 3D-tulostusta apuna. Talteenoton lisäksi haluttiin tehdä menetelmästä ympäristöystävällinen, joten kokeellisessa osassa tutkittiin myös hormonien eluointia sieppareista ja sieppareiden uudelleenkäytön mahdollisuutta.

2. Lääkeaineet – elimistössä ja ympäristössä

Nykyajan teknologian ja tieteen mukana myös lääketiede kehittyi huimasti. Kehitellään tehokkaampia ja käyttäjäystävällisempiä lääkkeitä sairauksiin sekä tarpeisiin, joihin on jo olemassa lääkkeitä. Teknologian ja lääketieteen kehityksen edetessä on myös mahdollista löytää ja kehittää uusia lääkkeitä sellaisiin sairauksiin, joita ennen ei ole voitu pysäyttää tai parantaa. Se herättää ihmisissä toiveita pidemmästä elämästä sekä osaltaan myös kivuttomammasta elämästä.

Lääketeollisuuden kehittyessä myös lääkkeiden käyttö voi lisääntyä. Toisaalta taas suurten ikäluokkien vanhetessa, ikääntymiseen liittyvien sairauksien hoitoon käytettävien lääkkeiden kulutus kasvaa. Tämä näkyy esimerkiksi siinä, että vuonna 2013 noin 40 % käytetyistä lääkkeistä menee ikäihmisten käyttöön, vaikka ikäihmisiä on väestöstä noin 16 %.⁵ Nykyään myös lääkkeellistä hoitoa tarjotaan enemmissä määrin myös psyykkisiin sairauksiin, kuten masennukseen. Masennukseen sairastuvien määrä ei välttämättä ole vuosien saatossa kasvanut, mutta sen diagnosointi on.⁶ Yksi hoitomuoto masennukseen on lääkehoito. Lääkehoidolle on saatu vastetta potilailta, joten lääkkeitä määrätään sairastuneille heidän tarpeen mukaan. Masennuslääkkeiden käyttömäärää lisää myös se, että niitä voidaan käyttää myös kroonisiin kiputiloihin.⁷ Masennuslääkkeitä syökin nykyään lähes puoli miljoonaa suomalaista.^{6,8}

Lääkkeiden käyttö on lisääntynyt viime vuosien aikana ja kasvaa edelleen.⁵ Syitä tähän kehittyneeseen lääketeollisuuden lisäksi voi esimerkiksi olla, että ihmiset ottavat herkemmin kiputiloihin kipulääkkeitä kuin ennen. Tätä taas lisää lääkkeiden helppo saatavuus ja niiden käyttöön liittyvät suhteellisen vähäiset riskit ja sivuoireet. Lisääntynyt lääkkeiden käyttö on saanut ihmiset Suomessa, kuten muuallakin maailmassa, heräämään lääkkeiden käytön ympäristövaikutuksiin. Osa lääkejäämistä saadaan jo nykyisellä jätevedenpuhdistuksella pois melkein kokonaan. Huolta kuitenkin aiheuttavat eritoten hormonit sekä antibiootit.⁹ Tästä näkökulmasta on aloitettu tutkimaan eri lääkeaineiden käyttäytymistä elimistöissä, kulkeutumista jätevesissä ja käyttäytymistä nykyisissä jätevedenpuhdistamoissa. Lääkeaineita koskevan tutkimuksen tarkoituksena on tietää lääkeaineiden metabolia ja vaikutukset ihmiseen. Tällöin voidaan ennustaa lääkeaineen käyttäytymistä jätevedenpuhdistusprosesseissa ja sen ympäristövaikutuksia.¹⁰ Tavoitteena on myös kehittää nykyisiä lääkkeitä

ympäristöystävällisemmiksi sekä antaa tietoa käyttäjille tarjolla olevien lääkkeiden ympäristövaikutuksista.^{10,11}

Lääkeaineella tarkoitetaan joko synteettisesti valmistettua tai luonnollista kemiallista yhdistettä. Tämä yhdiste on lääkkeessä oleva elimistöön vaikuttava aine.⁵ Lääke taas on yhdestä tai useammasta lääkeaineesta koostuva valmiste. Esimerkiksi Burana 400 mg, Burana 20 mg l¹ oraalisuspensio ja IBUXIN 400 mg annospussi ovat kaikki lääkkeitä, jotka sisältävät lääkeainetta nimeltä ibuprofeeni (2-[4-(2-metyylipropyyli)fenyyli]propanihappo, IUPAC).⁵

Läkelaki määrittelee lääkkeen seuraavasti: ”Lääkkeellä tarkoitetaan valmistetta tai ainetta, jonka tarkoituksena on sisäisesti tai ulkoisesti käytettynä parantaa, lievittää tai ehkäistä sairautta tai sen oireita ihmisessä tai eläimessä. Lääkkeeksi katsotaan myös sisäisesti tai ulkoisesti käytettävä aine tai aineiden yhdistelmä, jota voidaan käyttää ihmisen tai eläimen elintoimintojen palauttamiseksi, korjaamiseksi tai muuttamiseksi farmakologisen, immunologisen tai metabolisen vaikutuksen avulla taikka terveydentilan tai sairauden syyn selvittämiseksi”.¹²

Läkkeitä saadaan resepti- ja itsehoitoläkkeinä. Reseptiläkkeet ovat yleensä tehokkaampia ja aina lääkärin valvonnan alla olevia. Itsehoitoläkkeet ovat saatavilla myös apteekkeissa, kuten reseptiläkkeet, mutta niitä voidaan ostaa vapaasti ilman lääkärin määräystä. Itsehoitoläkkeet ovat sellaisia lääkkeitä, joiden vaikutukset tiedetään pitkältä aikaväliltä ja niillä ei ole merkittäviä haittavaikutuksia.⁵

Seuraavissa kappaleissa käsitellään yleisimpiä lääkeaineryhmiä ja niistä nostettuna esiin yksi tai useampi ryhmään kuuluva lääkeaine, sen käyttö sekä metabolia. Läpi käydyt lääkeaineryhmät ovat vain esimerkkejä siitä, minkä tyyppisiä lääkeaineita Suomessa käytetään. Näiden valinta esimerkeiksi on perusteltu sillä, kuinka yleistä niiden käyttö on Suomessa sekä niistä on löydetty jäämiä puhdistetussa jätevedessä muun muassa Äystön, Mehtosen ja Kalevin tutkimuksessa *Kartoitus lääkeaineista yhdyskuntajätevedessä ja pintavedessä*¹³. Hormoneja on valittu esiteltäväksi useampi, koska tämän tutkielman kokeellinen osa keskittyy hormonin (estradiolin) talteenottoon jätevedestä.

2.1. Sukupuolihormonit

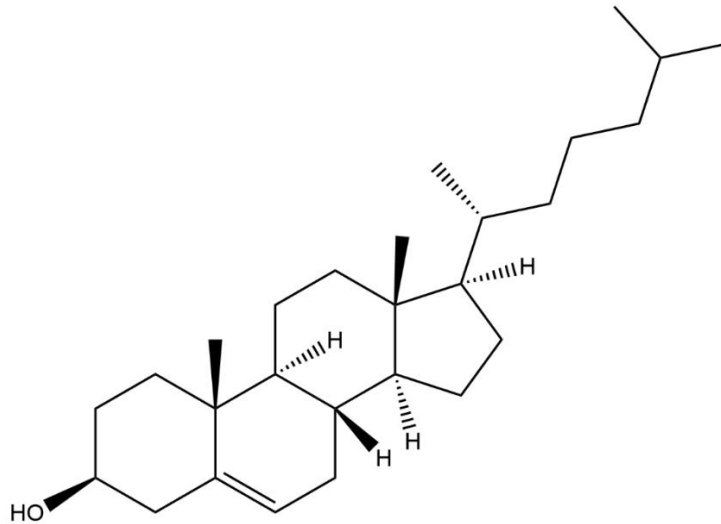
Arkikielessä puhuttaessa hormoneista tarkoitetaan melko usein sukupuolihormoneja tai gonadotropiineja (kts. alemmaa). Hormoneja on paljon muitakin, kuten esimerkiksi kilpirauhasen ja aivolisäkkeen tuottamat hormonit. Tässä kappaleessa perehdytään enimmäkseen vain sukupuolihormoneihin.

Sukupuolihormonit ja gonadotropiinit (glykoproteiineja) ovat yksi osa kehon hormonijärjestelmää. Hormonit vaikuttavat hyvin moneen tapahtumaan kehossa, kuten esimerkiksi kasvuun ja luuston vahvuuteen. Usealla hormonilla on yksistään monta erilaista tehtävää, esimerkiksi estrogeenit vaikuttavat kohdun kehittymiseen, mutta myös luuston muotoutumiseen. Ihmisen kehossa hypotalamus säätelee GnHR:n (gonadotropiinia vapauttava hormoni) muodostumista, joka vastaavasti hallitsee gonadotropiinien FSH:n (follikkeliä stimuloiva hormoni) ja LH:n (lutenisoiva hormoni) eritystä. FSH ja LH syntetisoituvat aivolisäkkeen etulohkossa. Gonadotropit FSH ja LH säätelevät muiden sukupuolihormonien tuotantoa kohde-elimissä, kuten LH vaikuttaa estrogeenien tuotantoon.⁵

Seuraavissa kappaleissa käsitellään erilaisia steroideja. Käsittely kohdistuu enemmän niin sanottuihin naishormoneihin, estrogeeneihin ja progesteroneihin, koska niiden käyttö väestössä lääkeaineena on huomattavasti suurempaa kuin testosteronin ja anabolisten sterooidien käyttö.

2.1.1. Estrogeenit

Vaikka estrogeeneista puhutaan naishormoneina, niitä on myös miehillä. Miehillä estrogeenien tuotantoa on kiveksissä ja naisilla pääasiassa munasarjoissa. Yhteinen synteesipaikka estrogeeneille naisilla ja miehillä on lisämunaisten kuorikerroksessa. Estrogeenit ovat osa steroidihormoneja, ja kuten kaikki steroidihormonit, myös estrogeenit ovat kolesterolista syntetisoituneita yhdisteitä.⁵ Kuvassa 1 on esitetty kolesterolin ((3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimetyyli-17-[(2R)-6-metyyliheptan-2-yyli]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodekahydro-1H-syklopenta[a]fenantreeni-3-oli; IUPAC) rakenne.

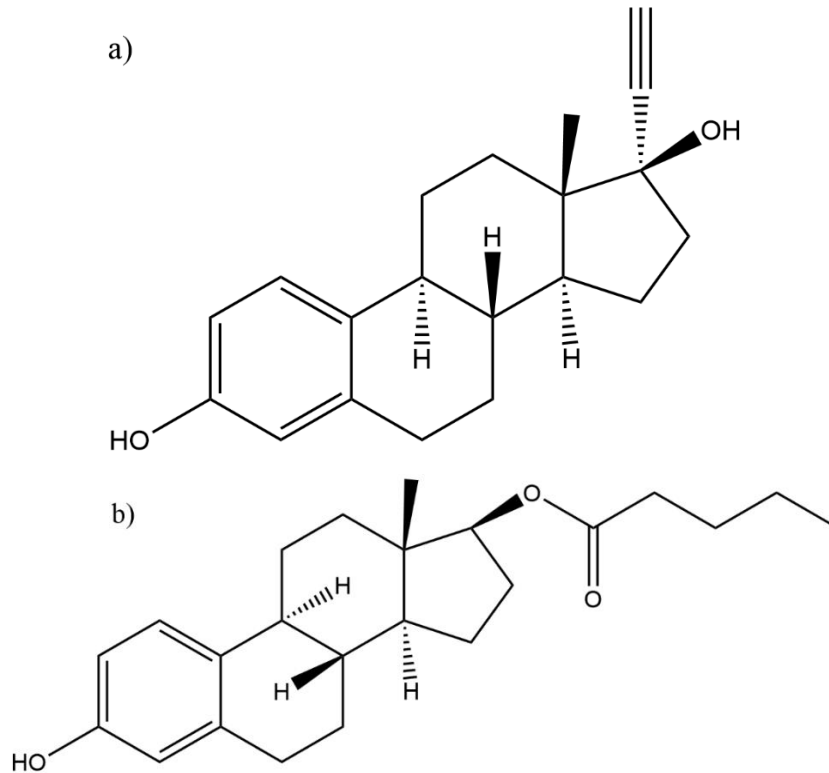


Kuva 1: Kolesterolin rakenne.

Ihmiselle kolme luontaisesti tärkeintä estrogeeniä ovat estroni (E1; (8R,9S,13S,14S)-3-hydroksi-13-metyyli-7,8,9,11,12,14,15,16-oktahydro-6H-syklopenta[a]fenantreeni-17-oni; IUPAC), estradioli (E2; (8R,9S,13S,14S,17S)-13-metyyli-6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dekahydrocyklopenta[a]fenantreeni-3,17-dioli; IUPAC) ja estrioli (E3; (8R,9S,13S,14S,16R,17R)-13-metyyli-6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dekahydrocyklopenta[a]fenantreeni-3,16,17-trioli; IUPAC). Estrogeenit ovat rasvaliukoisia, ja kehossa on ainakin kahta erilaista estrogeenireseptoria, joiden suhteet ovat erilaisia eri puolilla kehoa. Näin estrogeenit vaikuttavat eri tavalla eri osiin kehossa. Lääkeaineina estrogeenejä on luonnollisia, puolisynteettisiä ja synteettisiä. Luonnollisista estrogeeneista biologisesti aktiivisin on estradioli (17β-estradioli) ja puolisynteettisistä etinyyliestradioli (EE2; (8R,9S,13S,14S,17R)-17-etynyyli-13-metyyli-7,8,9,11,12,14,15,16-oktahydro-6H-syklopenta[a]fenantreeni-3,17-dioli; IUPAC). Suurin käyttöaihe estrogeeneilla yhdessä progestiinin (kts. alla) kanssa on hormonihoidoissa ja raskauden ehkäisyssä.⁵

Raskauden ehkäisyssä enimmäkseen käytetään etinyyliestradiolia sen pitkän puoliintumisajan ja voimakkaan biologisen aktiivisuuden takia. Etinyyliestradiolia käytetään yhdistelmäehkäisytablettien toisena vaikuttavana aineena jonkun progestiinin kanssa. Etinyyliestradiolin vaihtoehto yhdistelmäehkäisytabletteissa, esimerkiksi yli 40-vuotiaille tai niille, joille etinyyliestradioli ei sovi, on estradiolivaleraatti ([(8R,9S,13S,14S,17S)-3-hydroksi-

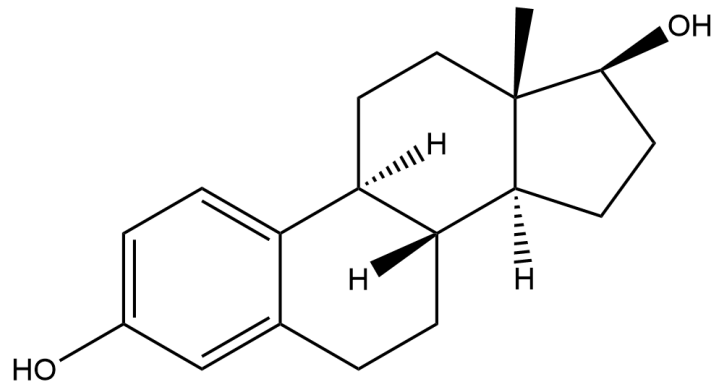
13-metyyli-6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dekahydro syklopenta[a]fenantreeni-17-yyli] pentanoaatti; IUPAC). Kuvassa 2 on esitetty etinyyliestradiolin ja estradiolivaleraatin rakenne.⁵



Kuva 2: a) Etinyyliestradiolin ja b) estradiolivaleraatin rakenteet.

Luonnollista estradiolia käytetään enimmäkseen hormonikorvaushoitoihin ja vaihdevuosisien oireiden hoitoon. Lisäksi sitä erittyy virtsaan ja ulosteeseen luonnollisesti niin naisista kuin miehistäkin.¹ Kuvassa 3 on esitetty estradiolin rakenne.

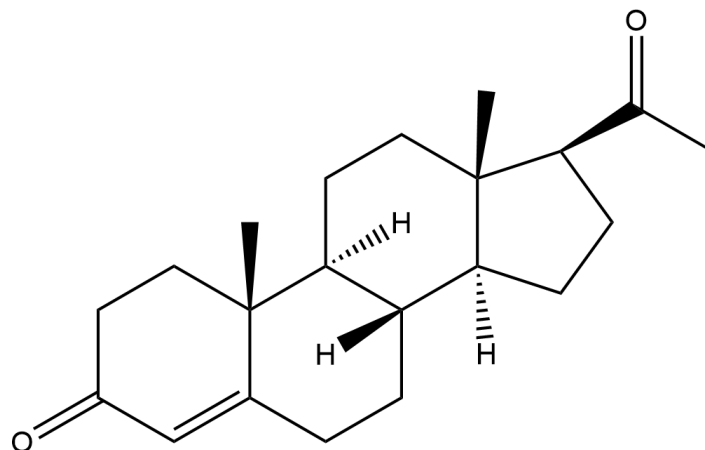
Estrogeenit metaboloituvat vesiliukoisemmiksi yhdisteiksi maksassa, josta ne kulkeutuvat munuaisten kautta virtsaan sulfaatti- tai glukuronidikonjukaatteina. Luonnollisten estrogeenien antotapa on yleensä joku muu kuin suun kautta, koska sen alkureitin metabolia on niin runsasta ennen hormonin imeytymistä. Tämä on myös yksi syy siihen, miksi ehkäisytableteissa käytetään enemmän etinyyliestradiolia. Sen hyötyosuus suun kautta annettuna on noin 50 %, kun taas estradiolin hyötyosuus on noin 15 %.⁵



Kuva 3: Estradiolin rakenne.

2.1.2. Progestiinit

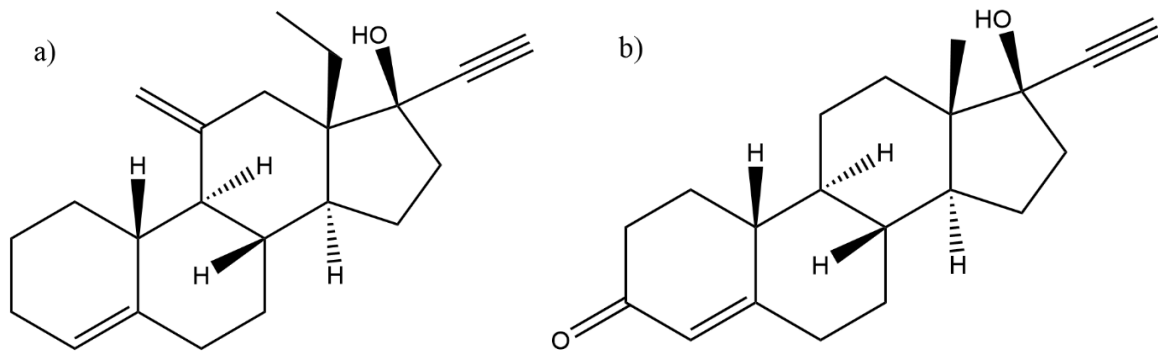
Progesteroni ((8S,9S,10R,13S,14S,17S)-17-asetyyli-10,13-dimetyyli-1,2,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodekahydrocyklopenta[a]fenantreeni-3-oni; IUPAC) on niin sanottu keltarauhashormoni, jota erittyy keltarauhasesta ja raskauden aikana istukasta. Progesteroni kuuluu estrogeenien tapaan stereoideihin.⁵ Kuvassa 4 on esitetty progesteronin rakenne.



Kuva 4: Progesteronin rakenne.

Progesteronia ei juurikaan käytetä sellaisenaan lääkinnällisessä tarkoituksessa, koska sillä on suun kautta annettuna suuri alkureitin metabolia. Tämän takia progesteronista on tehty synteettisiä johdannaisia. Näitä käytetään esimerkiksi raskauden ehkäisyssä estrogeenien

kanssa yhdistelmäehkäisyvalmisteissa ja yksinään niin sanotuissa minipillereissä. Kuvassa 5 on esitetty esimerkkinä kahden progestiinin desogestreelin ((8S,9S,10R,13S,14S,17R)-13-etyyli-17-etynyyli-11-metyylidene-1,2,3,6,7,8,9,10,12,14,15,16-dodekahydrosyklopenta[a]-fenantreeni-17-oli; IUPAC) ja noretisteronin ((8R,9S,10R,13S,14S,17R)-17-etynyyli-17-hydroksyyli-13-metyyli-1,2,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16-dodekahydrosyklopenta[a]fenantreeni-3-noni; IUPAC) rakenne.⁵



Kuva 5: a) Desogestreelin ja b) noretisteronin rakenne.

Progesteronin päämetaboliitti on pregnandioli, joka muodostuu maksassa. Se erittyy glukuronidina munuaisten kautta virtsaan. Myös muut progestiinit hajoavat maksassa ja erittyvät munuaisten kautta virtsaan.⁵

2.2. Tulehduskipulääkkeet

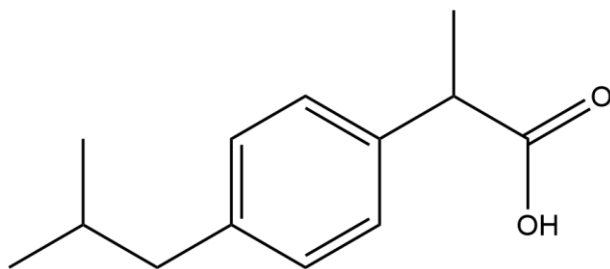
Tulehduskipulääkkeet ovat yksi yleisimmistä käytetyistä lääkkeistä. Tulehduskipulääkkeet nimensä mukaisesti lievittävät tulehdusta (anti-inflammatorinen) ja kipua (analgeettinen) sekä alentavat kuumetta (antipyreettinen). Tulehduskipulääkkeet myös muun muassa alentavat verenpainetta ja laajentavat verisuonia. Tulehduskipulääkkeiden teho perustuu suurimmaksi osaksi prostanoidisynteesin estoon.⁵

Prostanoidit ovat elimistön solujen tuottamia välittäjäaineita, joilla on monia tehtäviä elimistössä. Näitä tehtäviä ovat esimerkiksi herkistää kehon kipuhermopäätteitä muiden välittäjäaineiden tuottamalle kivulle, aiheuttaa kuumeen nouseminen sekä aiheuttaa

tulehduksen oireita, kuten turvotusta ja kipua. Prostanoidit harvoin itse aiheuttavat oireen vaan välittävät viestejä kehossa, joihin keho antaa vasteen ja oireet syntyvät vasteena prostanoidille. Tulehduskipulääkkeillä hoidetaan prostanoidien aiheuttamia oireita estämällä niiden syntymistä kehossa. Tulehduskipulääkkeet tehoavat kahteen eri prostanoidin synteisiin vaikuttaviin prostaglandiinisyntaasientsyymiin (COX-1 ja COX-2). COX-2 on tyypillisempi tulehduksen, kivun ja kuumeen aiheuttaja kuin COX-1. COX-1:n tehtävänä on muun muassa suojata ruuansulatuskanavan limakalvoa. Tulehduskipulääkkeitä käyttäessä, varsinkin pitkäaikaisessa käytössä, ilmenee monesti lääkkeen haittavaikutuksia vatsaongelmina, kuten limakalvovauriona tai haavaumina. Tällöin on mahdollista valita COX-2 selektiivisempi tulehduskipulääke, joka ei vaikuta niin paljon myös COX-1:sen tuotantoon, joka suojaa elimistöä juuri näiltä haitoilta. Niin sanotut normaalit tulehduskipulääkkeet estävät molempien COX-1:sen ja COX-2:sen tuotannon.⁵

Tulehduskipulääkkeitä käytetään suurimmaksi osaksi kipu- ja kuumetilojen hoitoon niin tilapäisiin tapauksiin, kuten flunssaan, mutta myös esimerkiksi leikkauksen jälkeiseen kivun hoitoon, kuukautiskipuihin sekä reuman tai nivelrikon hoitoon. Tyypillisin haittavaikutus on ruuansulatuskanavan limakalvovaurio.⁵

Ibuprofeeni (2-[4-(2-metyylipropyyli)fenyyli]propanihappo; IUPAC) on yksi käytetyimmistä tulehduskipulääkkeistä, joka luokitellaan propionihappojohdoksiin. Ibuprofeenia on lääkeaineena esimerkiksi Buranassa ja Ibumaxissa. Ibuprofeeni on epäselektiivinen COX-estäjä eli se estää molempien COX-1 ja COX-2 synteisiä. Pieninä annoksina on todettu, että ibuprofeenilla on pienemmät haittavaikutukset ruuansulatuskanavan limakalvoihin kuin muilla tulehduskipulääkkeillä. Suurina annoksina haittavaikutukset ovat samaa tasoa muiden tulehduskipulääkkeiden kanssa.⁵ Kuvassa 6 on esitetty ibuprofeenin rakenne. Ibuprofeeni annetaan pääsääntöisesti R- ja S-enantiomeerien raseemisena seoksena. Näistä S-enantiomeeri pääsääntöisesti vastaa lääkkeen farmakologisista vaikutuksista. R-enantiomeerista 50 – 65 % on arvioitu muuttuvan elimistössä S-enantiomeeriksi. Yleensä tämä muuntuminen tapahtuu maksassa, mutta sitä voi tapahtua myös suolistossa. Ibuprofeeni metaboloituu melkein kokonaan elimistössä ja vain pieni osa ibuprofeenista erittyy muuttumattomana virtsaan. Pääsääntöinen metaboliareitti ibuprofeenille on hapettua kahdeksi päämetaboliitiksi ja niitä vastaaviksi glukuronidikonjukaateiksi. Päämetaboliitit ovat karboksi-ibuprofeeni noin 37 %:tia ja 2-hydroksi-ibuprofeeni noin 25 %:tia annetusta lääkeaineesta. Metabolaatit poistuvat elimistöstä erittymällä virtsaan.¹⁴



Kuva 6: Ibuprofeenin rakenne.

2.3. Verenpainelääkkeet

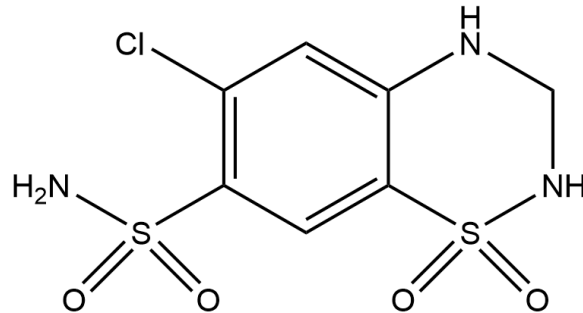
Korkea verenpaine on hyvin yleinen haaste ihmisten terveydelle maailmalla, kuten myös Suomessa. Vuosittain sen aiheuttamiin ongelmiin kuolee paljon ihmisiä. Korkealla verenpaineella on merkittäviä seurauksia pitkässä juoksussa. Se esimerkiksi lisää riskiä sairastua myös muihin sydän- ja verisuonisairauksiin.

Korkean verenpaineen hoitoon on lukuisia erilaisia lääkkeitä ja lääkeaineita sekä lääkeaineiden vaikutustapoja. Seuraavana on esitelty lyhyesti esimerkkinä yhtä ensisijaisena vaihtoehtona käytettyä lääkeainetta. Muita lääkeaineita, jotka on luokiteltu vaikutustapojen mukaan ovat angiotensiinia konvertoiva entsyymien estäjät, angiotensiinireseptorin salpaajat, β -salpaajat ja kalsiumkanavan salpaajat. Näitä ei käsitellä tässä työssä, koska ne eivät ole ensisijaisen tärkeässä roolissa tätä tutkimusta ajatellen.

Hydroklooritiatsidi (6-kloori-1,1-diokso-3,4-dihydro-2H-1 λ ⁶,2,4-bentsotiadiatsiini-7-sulfonamidi; IUPAC) kuuluu diureetteihin eli se on nesteenpoistolääkeaine. Sitä käytetään nykyään hyvin paljon sekä nesteenpoistajana että ensivaiheen verenpainelääkeaineena. Näiden lisäksi sitä käytetään myös tehostamaan muiden verenpainelääkkeiden vaikutuksia. Hydroklooritiatsidin vaikutus perustuu muiden tiatsidien tapaan natriumin takaisinimeytymisen estoon (5 – 10 %). Hydroklooritiatsidi erittyy virtsan kautta.⁵

Hydroklooritiatsidin haittavaikutuksista yleisin on hypokalemia, joka tarkoittaa elimistön liian vähäistä kaliumpitoisuutta. Hypokalemiasta voi seurata muun muassa sydämen rytmihäiriöitä,

väsymystä ja lihasoireita. Diureetit voivat aiheuttaa myös liiallista kehon kuivumista, mikä on yleistä esimerkiksi vanhuksilla. Kuvassa 7 on esitetty hydroklooritiatsidin rakenne.⁵



Kuva 7: Hydroklooritiatsidin rakenne.

2.4. Antibiootit

Antibiootteja on monenlaisia ja ne on yleensä jaoteltu sen mukaan, vaikuttavatko ne mihin bakteerien biokemiallisista reaktioista. Tärkeää antibioottien toiminnassa on, että ne selektiivisesti vaikuttavat vain bakteereihin eivätkä isäntäsoluihin (ihminen, eläin jne.). Koska bakteerit ovat prokaryoottisia (alkeistumallisia) ja nisäkkään solut ovat eukaryoottisia (tumallisia, aitotumallisia), niillä on eroja solujen reaktioissa ja jakaantumisen vaiheissa. Tällöin on helpompi vaikuttaa vain bakteerin soluihin, kun tiedetään bakteerisolun toiminnasta ja sen eroista isäntäsoluihin.⁵

Bakteerien solut tekevät solun osia tai rakennusmateriaaleja erilaisilla biokemiallisilla reaktioilla. Biokemialliset reaktiot voidaan jakaa kolmeen osaan. Ensimmäisessä vaiheessa solut tekevät synteesiasteita käyttäen glukoosia energiana. Toisessa vaiheessa solut muodostavat välttämättömiä aineita bakteereille, kuten aminohappoja tai nukleotideja. Kolmannessa vaiheessa solut syntetisoivat edellisten vaiheiden tuotteista isompia molekyylejä, kuten proteiineja tai nukleiinihappoja.⁵

Antibiootit vaikuttavat yleensä johonkin näistä edellä mainituista kolmesta vaiheesta. Yleensä ensimmäinen vaihe on hyvin samanlainen kaikilla soluilla riippumatta siitä, ovatko ne

prokaryoottisia vai eukaryoottisia. Tästä syystä ensimmäiseen vaiheeseen vaikuttavia lääkkeitä ei ole. Toisessa vaiheessa on mahdollista vaikuttaa eri tavoin soluille tärkeän foolihapon synteesiin. Synteesiin voidaan vaikuttaa joko kilpailemalla p-aminobentsoehaposta, joka on tärkeä yhdiste synteesissä bakteereille, tai estämällä foolihapon synteesissä dihydrofoolihapon pelkistyminen tetrahydrofoolihapoksi. Nämä menetelmät eivät vaikuta nisäkkäiden soluihin, koska nisäkkäät tarvitsevat foolihapon ravinnosta. Kuitenkin ne voivat aiheuttaa ongelmia nisäkkäille foolihapon hyödyntämisessä. Kolmanteen vaiheeseen vaikuttaminen lääkkeineilla on suotuisinta, koska siinä prokaryoottiset ja eukaryoottiset solut eroavat eniten toisistaan. Tässä vaiheessa on mahdollista vaikuttaa bakteerien seinämiin (bakterisidiset, estävät bakteerien soluseinämien syntyä), valkuaisainesynteesiin (bakteriostaattiset, estävät bakteerien lisääntymisen), RNA-synteesiin ja solukalvoihin.⁵

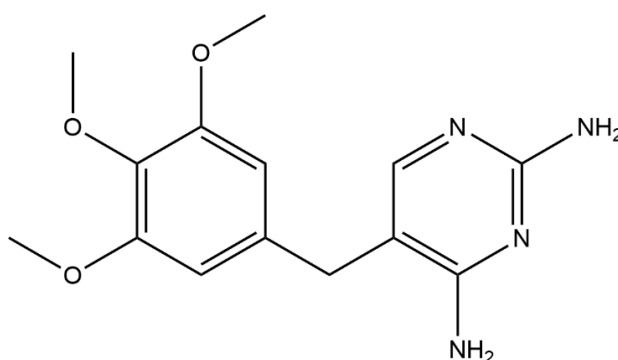
Antibiootit metaboloituvat yleensä maksassa tai munuaisissa. Tämän takia, jos potilaalla on munuaisten tai maksan vajaatoiminta, antibioottien annostusta tulee pienentää. Muutoin lääkeainetta voi kertyä kudoksiin liikaa ja aiheuttaa toksisuutta. Muita haittavaikutuksia antibiooteilla voi olla esimerkiksi lievät ja vakavammat iho-oireet.⁵

Trimetopriimi (5-(3,4,5-trimetoksibentsyyli) pyrimidiini-2,4-diamiini; IUPAC) on yksi laajasti käytetyistä antibiooteista. Yleisin käyttöaihe trimetopriimillä on akuutit virtsatiehdukset aikuisilla ja lapsilla. Sitä käytetään myös virtsatieinfektion estohoitoon aikuisilla. Vaikka trimetopriimiä käytetään paljon virtsatiehduksen hoitoon, se tehoaa melko laajasti erilaisiin bakteereihin kuten grampositiivisiin ja -negatiivisiin sekä plasmodioihin (malaria) ja toksoplasmoihin. Trimetopriimin haittavaikutuksia on hyvin yleisesti pahoinvointi ja oksentelu sekä foolihapon metabolian häiriintyminen sen vaikutusmekanismin takia. Trimetopriimin haittoja on myös se, että resistenssi trimetopriimille lisääntyy helposti ja osa (noin neljännes, vuonna 2013) *E. colista* on jo resistenssi sille.⁵

Trimetopriimin vaikutus antibioottina perustuu nimenomaan foolihapon synteesin estoon. Trimetopriimi on myös niistä harvoista antibiooteista, joita voidaan käyttää yhdistelmävalmisteena jonkun toisen antibiootin, esimerkiksi sulfonamidin, kanssa. Perussääntö antibiootteja määrätessä on se, että niitä ei yhdistetä keskenään, koska ne voivat heikentää toistensa vaikutuksia. Trimetopriimiä käytettäessä sulfonamidin kanssa lääkkeen

teho muuttuu bakterisidiseksi (sulfonamidit ovat bakteriostaattisia) sekä osa bakteereista, jotka ovat resistenssejä sulfonamidille, ovat herkkiä tälle yhdistelmälle.⁵

Trimetopriimista vain noin 8 – 15 % metaboloituu elimistössä. Se erittyy noin 90 %:sesti virtsaan ja mitä happamampaa virtsa on sitä tehokkaammin se erittyy sinne (trimetopriimin pKa 7,3; heikko emäs). Kuvassa 8 on esitetty trimetopriimin rakenne.⁵



Kuva 8: Trimetopriimin rakenne.

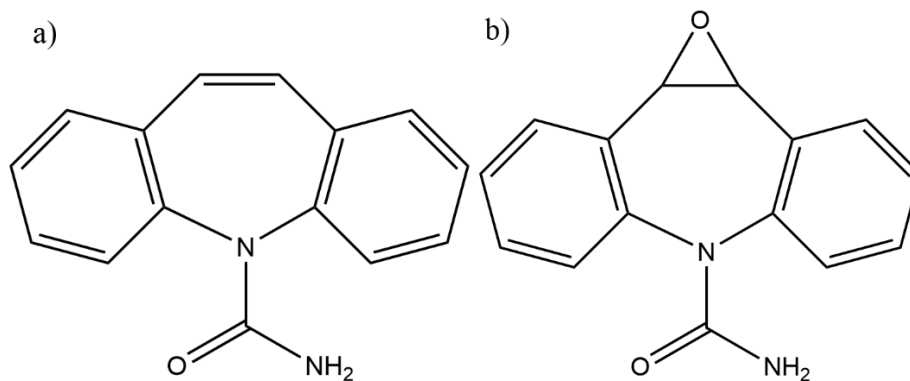
2.5. Muut lääkkeet

Muita lääkeaineryhmiä on todella suuri määrä. Tästä esitellään vain karbamatsepiini, joka on osoittautunut heikosti poistettavaksi jätevedestä yleisillä jätevedenpuhdistusmenetelmillä. Karbamatsepiini on yleisessä käytössä epilepsialäkkeenä, mutta sitä käytetään myös mielialahäiriöiden hoidossa.⁵ Karbamatsepiini pitoisuuksia esiintyy puhdistetussa jätevedessä muun muassa Äystön, Mehtosen ja Kalevin tutkimuksessa *Kartoitus lääkaineista yhdyskuntajätevedessä ja pintavedessä*¹³.

Karbamatsepiinia (bentso[b][1]bentsatsepiini-11-karboksamidi, IUPAC) käytetään enimmäkseen epilepsian hoitoon paikallisalkuisissa (kohtaus alkaa toisesta aivopuoliskosta) ja tooniskloonisissa (tajuttomuuskouristus) kohtauksissa. Poissaolokohtauksiin karbamatsepiini ei auta. Karbametsepiinia käytetään myös mielialahäiriöiden hoitoon lähinnä maniavaiheeseen.⁵ Maniavaiheella tarkoitetaan kaksisuuntaisen mielialahäiriön toista vaihetta, jossa henkilö on yleensä erittäin toimelias, rauhaton, vauhdikas ja energinen. Maniavaiheen

lisäksi kaksisuuntaiseen mielialahäiriöön kuuluu myös masennusvaihe.¹⁵ Karbamatsepiinia voidaan käyttää myös kipulääkkeenä kroonisissa resistenteissa kiputiloissa kolmoishermostörynn hoidossa.⁵ Kolmoishermostörynn (trigeminusneuralgia) tarkoittaa kasvojen tuntohermotuksesta vastaavan aivohermon kiputilaa.¹⁶

Karbamatsepiinin antiepileptinen vaikutusteho perustuu natriumkanavien salpaukseen ja analgeettisten (kipua lievittävä) impulssien kulun estoon. Sen vaikutusmekanismia ei tunneta tarkkaan manian hoitoon käytettynä. Karbamatsepiini hajoaa useiksi metaboliiteiksi, joista yksi, ja samalla antikonvulsioinen (estää kouristuksia), on karbamatsepiini-10-11-epoksidi.⁵ Kuvassa 9 on esitetty karbamatsepiinin ja sen metaboliitin, karbamatsepiini-10-11-epoksidin, rakenne.



Kuva 9: a) Karbamatsepiinin ja b) karbamatsepiini-10-11-epoksidin rakenne.

Karbamatsepiinin käytöllä on paljon haittavaikutuksia etenkin hoidon alussa, kuten pahoinvointia, näköhäiriöitä ja ataksiaa (koordinaatiohäiriöitä). Haittavaikutukset lisääntyvät herkästi, jos lääkkeen pitoisuudet heittelevät, esimerkiksi jos pitoisuutta on ajoittain liikaa kehossa. Toisaalta taas käytön edetessä osa haittavaikutuksista jää pois. Karbamatsepiini aiheuttaa kehossa vierasainemetabolialla, eli se kiihdyttää esimerkiksi itsensä ja muiden käytettyjen lääkkeiden hajoamista. Esimerkiksi matalahormonipitoisen ehkäisyn teho ei ole taattu karbamatsepiinin käytön aikana. Toisaalta taas jotkut lääkeaineet (esim. erytromysiini, antibiootti) voivat hidastaa karbamatsepiinin metabolialla ja näin aiheuttaa liian suuria karbamatsepiinipitoisuuksia kehossa.

2.6. Lääkejäte

Lääkejäte on syystä tai toisesta käytöstä poistettu, käyttökelvoton lääke tai lääkeaine.¹⁷ Lääkejätteeksi luokitellaan vanhentuneiden lääkkeiden lisäksi potilaalle jaetut käyttämättä jääneet, väärin säilytetyt ja kuljetetut (lämpötila), potilaiden/asiakkaiden omat käyttämättä jääneet sekä sairaala-apteekkiin palautetut lääkkeet. Näiden lisäksi lääkejätettä on myös käyttökieltoon asetetut, esimerkiksi tuotevirheelliset (valmistus tms. virhe), lääkkeet.¹⁸

Lääkeaineet, tässä tapauksessa myös lääkkeet, tulee hävittää asianmukaisesti. Yksityishenkilöt voivat viedä vanhentuneet tai käyttämättömät lääkkeet maksuttomasti apteekkeihin, joista ne toimitetaan hävitettäväksi asianmukaisesti.^{19,20} Suomessa apteekit toimittavat kierrätykseen tuodut lääkkeet Riihimäelle jätteenkäsittelykeskukseen, jossa ne poltetaan hyvin korkeassa lämpötilassa (yli 1300 °C) ja käsitellään vaarattomiksi.²⁰

Suomalaiset vievät hävitettäväksi joihinkin maihin verrattuna hyvin lääkkeitä, mutta silti Suomenkin hävitettävien lääkkeiden oikeinhävitysprosentti on vain 60 – 80 %.²⁰ Oikein hävitettyjä lääkkeitä on vuodessa noin 500 000 kiloa. Jos kaikki kulkeutuu luontoon, jäljelle jäävästä 20 – 40 %:sta tulee satojen tuhansien kilojen käsittelemätön lääkeainekuorma ympäristölle vuosittain. Kuitenkin suurin osa jätevesiin ja luontoon päätyneistä lääkeaineista tulevat suoraan lääkkeiden käytöstä, esimerkiksi ihmisten ja eläinten virtsan sekä ulosteen mukana.^{13,20}

2.7. Arvioita lääkeaineiden käytöstä ja päätyemisestä jätevesiin Suomessa

Jotta jätevedenpuhdistusta lääkeaineiden ja hormonien osalta voidaan parantaa, on tärkeä ymmärtää, miten kyseiset aineet metaboloituvat sekä, kuinka paljon ja mistä lähteestä niitä tulee jäteveteen. Seuraavissa kappaleissa käsitellään muutamien lääkeaineiden ja hormonien metaboliaa tarkemmin sekä niitä sisältävien lääkkeiden käyttömääriä Suomessa.

Suomessa, kuten myös muualla maailmassa, käytetään lääkkeiden käytön arviointiin apuna DDD-arvoja (defined daily dose, vaikuttavalle aineelle määritetty vuorokausiannos). DDD-arvon avulla pystytään vertailemaan kansakuntien välillä lääkeaineiden käyttöä. Suomi

osallistuu Pohjoismaiden kanssa muutaman vuoden välein tehtävään raporttiin lääkeaineiden kulutuksesta. Fimea ja Kela julkaisevat joka vuosi Suomesta *Suomen lääketilaston*. Tilastoon lasketut kulutusluvut²¹ perustuvat kolmen suurimman lääketukkukaupan apteekkeihin ja sairaaloihin kohdistuvaan myyntiin ihmislääkevalmisteiden osalta. DDD-arvoista saa hyvin verrattavia muihin maihin, kun ne suhteutetaan väestöön tuhatta asukasta ja vuorokautta kohti, DDD/1000 as/vrk. DDD/1000 as/vrk -arvo kertoo teoriassa promilleina kunkin maan väestön osan, joka on käyttänyt kyseisen lääkeaineen/lääkkeen päiväannoksen päivittäin, eli kuinka monta ihmistä tuhannesta on käyttänyt teoriassa vuorokausiannoksen päivittäin.^{5,22}

$$\text{DDD/1000 as/vrk} = \frac{\text{kulutus g/v}}{5529,156 \cdot 365 \cdot \text{DDD}} \quad (1)$$

Yllä olevassa yhtälössä (1) on havainnollistettu vielä, miten DDD/1000 as/vrk lasketaan Suomessa. Siinä kulutus g/v tarkoittaa arviota lääkkeen kulutuksesta grammoina vuotta kohti. Arvio perustuu kolmen suurimman lääketukkukaupan myyntiin. Luku 5529,156 kertoo Suomen väkiluvun jaettuna tuhannella, luku 365 päivien määrän vuodessa ja DDD arvion lääkkeen vuorokausiannostuksesta. Taulukossa 1 ja 2 on esitetty tässä tutkielmassa esiteltyjen lääkeaineiden ja hormonien DDD- ja DDD/1000 as/vrk –arvot vuosina 2016 – 2018.

Haitalliset aineet jätevedenpuhdistamoilla -hankkeen loppuraportissa¹ Vieno on esitelty laskelmia, kuinka paljon muun muassa EE2:n, E2:n, ibuprofeenin ja karbamatsepiinin DDD-arvoilla näitä lääkeaineita on kulkeutunut jäteveteen Suomessa vuonna 2012. Laskelmista ilmenee myös, mitkä ovat kyseisten aineiden arvioidut määrät influentissa (jäteveden puhdistamolle tuleva jätevesi) ja efluentissa (jätevedenpuhdistamolta lähtevä jätevesi, puhdistettu vesi).

Taulukko 1: Lääkeaineiden DDD- ja DDD/1000 as/vrk -arvot Suomessa vuosina 2016 – 2018²¹

Lääkeaineet	DDD	DDD/1000 as/vrk		
		2016	2017	2018
Tulehduskipulääkkeet				
Diklofenaakki	0,1 g	4,20	4,02	3,76
Ibuprofeeni	1,2 g	50,48	49,14	49,73
Ketoprofeeni	0,15 g	1,00	0,81	0,74
Naprokseeni	0,5 g	6,23	6,01	5,86
Parasetamoli	3 g	33,85	35,78	36,46
Antibiootit				
Doksisykliini	0,1 g	2,52	2,17	2,03
Metronidatsoli	1,5 g	0,06	0,05	0,06
Tetrasykliini	1 g	0,53	0,46	0,40
Trimetopriimi	0,4 g	0,84	0,77	0,74
Siprofloksasiini	*	0,56	0,51	0,48
Verenpainelääkkeet				
Atenololi	75 mg	2,32	2,10	2,05
Enalapriili	10 mg	23,72	22,76	22,96
Felodipiini	5 mg	7,21	7,22	7,46
Furosemiidi	40 mg	35,55	34,94	35,11
Hydroklooritiatsidi	25 mg	6,50	6,53	6,67
Metoprololi	0,15 g	11,49	11,01	10,33
Simvastatiini	30 mg	40,21	38,42	37,15
Asebutololi	0,4 g	0,2	0,16	0,15
Sotaloli	0,16 g	0,55	0,45	0,30
Muut				
Betsafibraatti	0,6 g	0,07	0,06	0,06
Karbamatsepiini	1 g	1,52	1,44	1,40
Paroksetiini	20 mg	2,37	2,33	2,32
Terbutaliini	2 mg	1,25	1,17	1,20
Varfariini	7,5 mg	16,04	14,80	12,64

* 1 g tabletit ja 0,5 g infuusioneste

Taulukko 2: Hormonien ja hormonivalmisteiden DDD/1000 as/vrk -arvot Suomessa vuosina 2015 – 2018²³

Lääkeaineet	DDD/1000 as/vrk			
	2019	2018	2017	2016
Hormonit				
Estrogeenit	20,19	18,99	19,95	19,27
Luonnolliset ja puolisynteettiset estrogeenit	19,55	18,28	19,21	18,44
Estradioli	13,70	12,77	13,38	12,44
Estrioli	5,84	5,52	5,83	5,99
Muut estrogeenit	0,65	0,71	0,75	0,83
Progestageenit	2,32	2,32	2,15	2,22
Systemaattisesti käytettävät hormonaaliset ehkäisyvalmisteet	45,63	44,22	42,21	42,16
Progestageenien ja estrogeenien yhdistelmävalmisteet	9,85	9,72	9,81	9,82
Testosteroni	2,33	2,00	1,85	1,76

Loppuraportissa tehtyjen mallinnusten, mittausten ja kirjallisuuskatsauksen perusteella Vieno on esitellyt vuoden 2012 DDD-arvoilla EE2:sta sisältävien lääkkeiden käyttömääräksi Suomessa 1,72 kg (33,55 DDD/1000 as/vrk). Tästä määrästä on arvioitu jätevedenpuhdistamoille vuosittain päätyväksi määräksi noin 0,55 kg virtsan ja ulosteen mukana. Vastaavasti E2:sen käyttömääräksi on arvioitu 31,7 kg/vuosi, kun oletetaan DDD-arvoksi suurin pillereissä käytettävä DDD-arvo sekä DDD/1000 as/vrk on 16,02. Tämän lisäksi, kun hän otti huomioon ihmisten luontaisen E2:sen erittymisen virtsan ja ulosteen mukana keskimääräisesti asukasta kohti (3,9 µg), jätevedenpuhdistamoille hän arvioi päätyvän vuodessa 15,3 kg. Tätä määrää voi vielä lisätä EE2:n hajoaminen aineenvaihdunnassa E2:ksi. Suurimmaksi lähteeksi hormonien jäteveteen päätymiseen todettiin olevan kotitaloudet, joista hormonit tulevat luonnollisen erittymisen sekä lääkekäytön kautta jäteveteen. E2-pitoisuuksiin ei todettu vaikuttavan pistemäisesti mikään teollisuus tms. yksittäinen lähde.¹

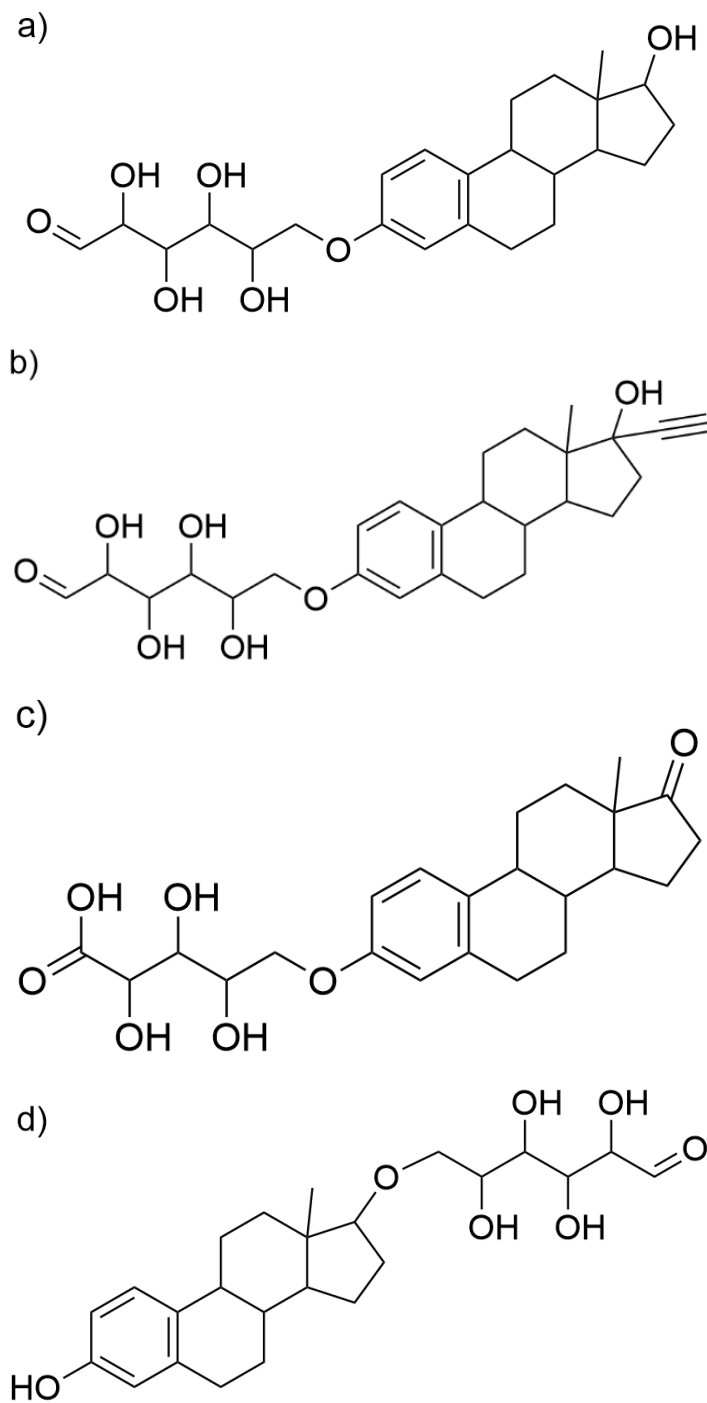
Ibuprofeenille käyttömääräksi Vieno on arvioinut 106 000 kg/v DDD-arvolla 1200 mg. Tämän perusteella jätevedenpuhdistamoille päätyväksi määräksi on arvioitu 4240 kg/v, kun suun kautta annostellusta ibuprofeenista noin 5 % erittyy virtsaan ja ulosteeseen. Vienon tutkimusten mukaan kuitenkin ibuprofeenin massataseeksi saatiin influenttiin 8000 kg vuodessa. Tästä on arvioitu lietteeseen tarttuvaksi 40 kg/v (0,5 %), biohajoavaksi 7830 kg/v (97,5 %) sekä efluenttiin päätyväksi 130 kg/v (2 %). Vastaavasti toiselle tulehduskipulääkkeelle

diklofenaakille puhdistamoiden kuormaksi on arvioitu 895 kg/v, josta poistuma on vain 5% eli 845 kg päätyisi ympäristöön vuosittain.¹

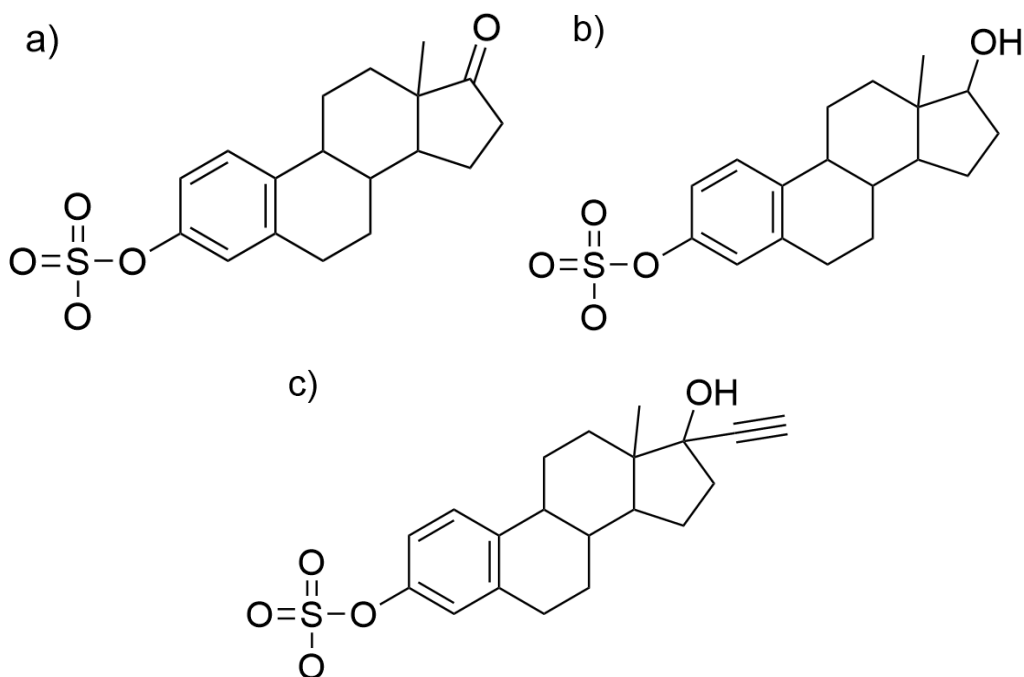
Karbamatsepiinin käyttömääräksi on arvioitu 3500 kg/v, DDD-arvon ollessa 1000 mg, josta 56 kg/v (2 %) erittyy virtsaan ja ulosteeseen päätyen jätevedenpuhdistamoille. Vienon tutkimusten mukaan karbamatsepiinin massataseeksi tuli 165 kg/v, josta 7 kg/v (4 %) tarttuu lietteeseen ja 3 kg/v (2%) biohajoaa. Tämän lisäksi karbamatsepiinikonjugaattien on arveltu hajoavan puhdistamoilla, jonka takia karbamatsepiinikonjugaateista palautuu karbamatsepiiniksi 35 kg/v (21%). Efluenttiin on todettu päätyvän vuosittain 190 kg (115 %) karbamatsepiiniä.¹

Seuraavissa kappaleissa kerrotaan tarkemmin estrogeenien metaboliasta ihmisen eri elämänvaiheissa. Tarkastellaan myös estrogeenien ja niiden metaboliatuotteiden kulkeutumista jätevedenpuhdistamoille. Kuten jo ylempänä mainittiin luonnolliset ja synteettiset estrogeenit metaboloituvat ihmiskehosta useimmiten epäaktiivisina glukuronidi-, sulfaatti- tai sulfoglukuronidikonjugaatteina (kuva 10 ja 11). Estrogeenien poistamiseksi jätevedestä on hyvä ymmärtää, kuinka paljon erilaiset väestöryhmät luontaisesti erittävät eri estrogeeneja, kuinka paljon estrogeeneja käytetään lääkekäytössä, virtsaan ja ulosteeseen erittyvien estrogeenien ja niiden konjugaattien määrät sekä niiden mahdollinen muuntuminen viemärissä.²⁴

Johnsonin ja Williamsin tutkimusten²⁴ mukaan ulosteeseen erittyvä konjugoitunut estrogeeni dekonjugoituu suolistossa, jolloin he olettivat, että ulosteen mukana tullut estrogeeni on dekonjugoituneessa muodossa.²⁴ EE2:sen metaboliasta on esitetty, että ensisijaisesti EE2:sta osa (noin 43%) metaboloituu jo elimistössä. Tämä tapahtuu esimerkiksi 2-hydroksi-17 α etinyyliestradioliksi ja 2-metoksi-17 α etinyyliestradioliksi. Tällöin osa EE2:sta hajoaisi kokonaan elimistössä. Tästä jäljelle jääneestä 57 %:sta 30 % erittyy ulosteeseen ja 27 % virtsaan, josta 63 % olisi glukuronidina ja 11 % muina konjugaatteina. EE2:sta erittyvä määrä riippuu paljon siitä, paljonko sitä käytetään lääkekäytössä. EE2 ei esiinny elimistössä itsestään, sillä se on puolisynteettinen estrogeeni.²⁴



Kuva 10: Estrogeenien glukuronidikonjugaatit. a) 17β -estradioli-3-glukuronidi, b) 17α -etinyyliestradioli-3-glukuronidi, c) estroni-3-glukuronidi ja d) estradioli-17-glukuronidi.



Kuva 11: Estrogeenien sulfaattikonjugaatit. a) estroni-3-sulfaatti, b) 17β-estradioli-3-sulfaatti ja c) 17α-etinyylestradioli-3-sulfaatti.

E1:sen ja E2:sen erittymisen määrittäminen ei ole ollut niin yksinkertaista kuin EE2:n. E1:sen ja E2:sen tapauksessa on tullut ottaa huomioon eri elämänvaiheessa olevat ihmiset ja lisäksi myös miesten ja naisten välillä on eroja. Johnson ja Williams ovat olettaut, että ennen murrosiän alkamista sekä tytöillä että pojilla hormonituotanto on niin pientä, ettei se vaikuta merkittävästi hormonien päätymiseen jätevesiin. Heidän mukaansa suurimman ns. luontaisen hormonipäästön aiheuttavat raskaana olevat naiset. Raskaana olevien naisten E1:sen päivittäinen erittymismäärän keskiarvo on noin 550 µg d⁻¹ ja E2:sen 393 µg d⁻¹. Johnson ja Williams ovat esittäneet, että se osa joka E1:stä erittyy virtsaan olisi 47 % glukuronidi- ja 53 % sulfaattikonjugaattina. E2:sta vastaavasti 71 % olisi glukuronidi- ja 29 % sulfaattikonjugaattina.²⁴

Naisilla E1:sen ja E2:sen erittymisen määrä vaihtelee sen mukaan, missä vaiheessa kuukautiskiertoa nainen on. Keskiarvallisesti virtsan ja ulosteen yhteinen erittyminen on 11,7 µg d⁻¹ (E1) ja 3,2 µg d⁻¹ (E2). Tutkimuksessa on huomattu E1:sen virtsan osuudesta 71 % olevan glukuronidikonjugaattina. Vastaava määrä E2:lla on 65 %. Vaihdevuosien aikaan E1:sen ja E2:sen erittyminen on erilaista kuin menstruaalisilla naisilla. Vaihdevuosien aikaan naisilla

E1:sen keskiarvollinen erittyminen on noin $1,8 \mu\text{g d}^{-1}$ (vaihteluväli on suuri eri tutkimusten välillä) ja E2:sen $1 - 4,5 \mu\text{g d}^{-1}$. Erittyvästä E1:stä glukuronidikonjugaatin osuus virtsassa on noin 71 %, vastaava luku E2:lle on 72 %. Näissä lukemissa ei ole otettu huomioon hormonihoitoja, joita käytetään vaihdevuosien oireiden hoitoon.²⁴

Myös miehillä on oma osuutensa jätevedenpuhdistamoille päätyvään hormonikuormaan. E1:sen erittyminen miehillä on noin $2,8 - 3,9 \mu\text{g d}^{-1}$ virtsaan, josta 71 % on glukuronidikonjugaattina. Vastaavat luvut E2:lle ovat $1,5 - 2,1 \mu\text{g d}^{-1}$ ja 78 %.²⁴

3. Jäteveden puhdistus – lääkeaineet

Suomessa on aloitettu yleinen yhdyskuntien jätevedenpuhdistus 1960- ja 1970-luvuilla. Ihminen tuottaa vuosittain jätevetteen noin kilon fosforia ja viisi kiloa typpeä. Fosfori ja typpi ovat suurimpia syitä vesistöjen rehevöitymiselle.²⁵ Ravinteiden ja taudinaiheuttajien pääsy vesistöihin ovat aiheuttaneet rantavesien rehevöitymisen ja pilaantumisen. Tutkijoiden huolestuminen vesistöjen tilasta ja lukuisat asukkaiden valitukset saivat aikaan sen, että jätevesiä on aloitettu puhdistamaan noin vuonna 1910. Jätevedenpuhdistamoiden laajempaan käyttöönottoon meni useampi vuosikymmen. Kasviravinteiden poistoa jätevedestä on aloitettu suunnittelemaan, kun ympäristön tila huononi jätevedenpuhdistamoista huolimatta. Fosforin poistoa jätevesistä on aloitettu kokeilemaan noin 1970-luvun puolivälissä ja typen poistoa vasta 1990-luvulla.²⁶ Fosforin poissaantia on tehostettu koko ajan ja 2000-luvun puolella on saavutettu noin 95 % poistuma. Vastaavasti typpeä poistetaan noin kolmannes. Ympäristön tilaa tarkkaillaan koko ajan ja tarpeen mukaan tehostetaan typen poistoa.²⁵

Pääsääntöisesti jätevedenpuhdistuksesta tulee aina jonkin verran ympäristövaikutuksia vesistöihin. Jätevedenpuhdistus ei ole 100 prosenttista kaikista haitta-aineista, ja esimerkiksi biologisesta käsittelystä osa lietteestä voi kulkeutua ympäristöön. Jonkun verran vaikutuksia, vesistöjen lisäksi, tulee myös maaperään lieteen loppusijoituksen kautta. Ympäristövaikutusten määrä riippuu hyvin pitkälti puhdistamon puhdistustehosta ja kapasiteetista, mutta myös puhdistamon sijainnista ja puhdistetun jäteveden vastaanottavan vesistön tyypistä. Suomen

järvet ovat herkkiä jäteveden tuomille muutoksille niiden mataluuden ja pienen vesitilavuuden takia.²

Päätekijät vesistöihin vaikuttamisessa ovat ravinnekuormitus ja rehevöityminen, kiintoaine, hapenkulutus sekä haitalliset aineet. Näiden lisäksi jätevedenpuhdistamot voivat vaikuttaa vesistöjen hygieeniseen tilaan. Liian suuren ravinnekuormituksen takia vesistöt rehevöityvät helposti. Rehevöityminen lisää muun muassa levämassan kasvua ja veden samentumista. Levämassan kasvun seurauksena voi vesistön virkistyskäyttö kärsiä, mutta osa levämassasta voi olla myös myrkyllistä. Toisaalta taas levämassan kasvun lisääntyminen lisää myös levämassan hajoamista, joka kuluttaa vedestä happea. Veden hapettomuus voi johtaa kalakuolemiin, mutta se myös lisää veden sisäistä kuormitusta. Veden sisäinen kuormitus lisää sedimentoituneiden ravinteiden liukenemista pohjasedimentistä takaisin kiertoon. Tällöin se ruokkii levämassan kasvamista edelleen. Jäteveden mukana kulkeutuu, puhdistuksesta huolimatta, jonkun verran myös kiintoainesta vesistöihin. Kiintoaines lisää vesistöjen samentumista, mutta myös rantojen ja pohjasedimentin liettymistä. Kiintoaineeseen sitoutuneena vesistöihin pääsee fosforia ja orgaanista ainesta, joka ympäristössä voi muuttua liukoiseen muotoon. Tällöin niillä on rehevöittämistä edistävä vaikutus vesistöihin.²

Rehevöitymisen aiheuttaman suurentuneen hapenkulutuksen lisäksi jäteveden mukana vesistöihin kulkeutuu happea suoraan kuluttavia aineita. Orgaaninen aines ja ammoniumtyppi ovat näistä aineista merkittävimmät. Näiden happea kuluttava vaikutus on sama, mitä käytetään biologisessa jätevedenpuhdistamisessa hyödyksi. Jätevedenpuhdistuksessa prosessiin pystytään lisäämään happea toiminnan jatkumiseksi, mutta luonnossa prosessi edistää pahimmassa tapauksessa vesistöt happikatoon. Vesistöjen mikrobit käyttävät orgaanisen aineksen ravintonaan ja käyttävät toimintaansa veden happea. Tätä hapenkulutusta seurataan biologisella hapenkulutuksella (BHK, englanniksi BOD). Biologista hapenkulutusta voidaan seurata myös esimerkiksi BHK₇-arvolla, jonka alaindeksi kuvaa sitä ajanjaksoa, jossa biologinen hapenkulutus on määritelty. Tässä se on seitsemän vuorokautta. Ammoniumtyppi vastaavasti käyttää veden happea muuttuessaan nitraatiksi (nitrifikaatio). Happea kuluttavat reaktiot ja prosessit toimivat parhaiten Suomessa kesällä, jolloin vedet ovat lämpimimmillään. Hitainta se on talvikuukausina veden ollessa kylmempää. Sama pätee myös jätevedenpuhdistukseen. Kesällä myös korostuu hapen katoaminen, kun vesistöihin muodostuu lämpötilakerrostuminen. Tällöin vesi ei pääse kiertämään vesistössä samalla tavalla kuin keväisin ja syksyisin, jolloin lämpötilakerrostumista ei tapahdu juurikaan veden lämmön ollessa

tasaista. Hapenkulutusta voidaan seurata biologisen hapenkulutuksen lisäksi kemiallisella hapenkulutuksella (KHK, englanniksi COD).²

Näiden lisäksi jätevedenpuhdistuksesta tulee haitallisia aineita vesistöihin. Haitalliset aineet voivat olla tietoisesti jossain tuotettuja kemikaaleja, tahattomasti syntyneitä yhdisteitä tai ympäristössä ja vesistöissä jo olemassa olevia aineita. Tahattomasti syntyneitä tuotteita voivat olla esimerkiksi PAH-yhdisteet (polysykliset aromaattiset hiilivedyt) ja ympäristössä valmiina olevia aineita voivat olla esimerkiksi raskasmetallit.² PAH-yhdisteitä on havaittu esiintyvän ihmistoiminnan johdosta jätevesissä ja suurin osa niistä sitoutuu jäteveden puhdistuksessa aktiivilietteeseen. Tätä kautta ne päätyvät maaperään.²⁷ Haitalliset aineet kulkeutuvat pääsääntöisesti jätevedeen kotitalouksista, mutta myös tuotannosta tai palvelutoiminnasta. Kotitalouksista haitallisia aineita pääsee jätevedeen esimerkiksi lääkkeiden, kosmetiikan ja kemikaalien käytön kautta. Haitallisten aineiden vaikutuksia jätevedessä, ja sitä kautta ympäristössä ei tiedetä tarkkaan.²

Jätevedenpuhdistamot poistavat tehokkaasti myös taudinaiheuttajia vedestä. Kuitenkin taudinaiheuttajia pääsee läpi jätevedenpuhdistuksesta ja päätyy sitä kautta luontoon. Useimmat niistä eivät selviä luonnonvesissä epäedullisten kasvuolosuhteiden takia, mutta esimerkiksi norovirus voi selvitä luonnonvesissäkin ja näin aiheuttaa vesiepidemian. Tämä on yksi syy siihen, miksi jätevedenpuhdistamon paikka pitää miettiä tarkoin, koska jäteveden purkupaikan tulee olla sellainen, missä jätevedestä koituva kuormitus ei rasita liikaa ympäristöä tai sitä käyttäviä ihmisiä. Purkupaikalla olisi hyvä olla tarpeeksi hyvä veden virtaama sekä vaihtuvuus. Näiden lisäksi veden alajuoksulla ei välttämättä kannata olla vedenottamoita tai uimarantaa. Jos näin on tulee jäteveden terveysvaikutukset ja hygienia arvioida tapauskohtaisesti riittäväksi.²

3.1. Yleiset jäteveden puhdistusmenetelmät Suomessa

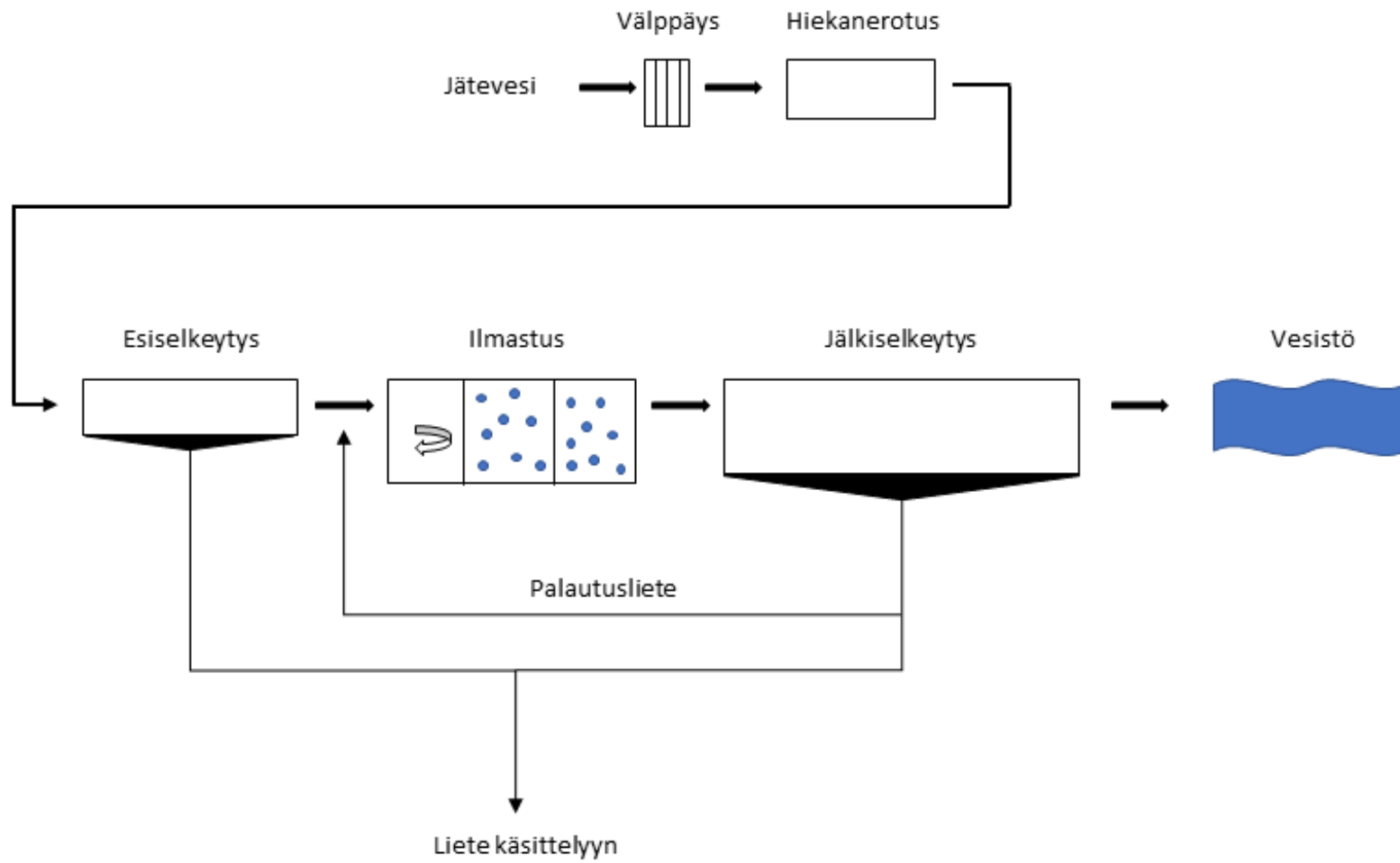
Vuonna 2014 yhdyskuntien jätevedenpuhdistuslaitoksia oli Suomessa noin 500. Jätevedenpuhdistamoiden toimintaa ohjaa ympäristölupa, joka määrittää, vesistön tarpeen mukaan, puhdistusvaatimuksen jätevedenpuhdistamolle. Yleisesti puhdistamot pyrkivät mahdollisimman hyvään lopputulokseen, jolloin puhdistustehot ovat parempia kuin sille asetetut vaatimukset. Jätevedenpuhdistus tehdään vaiheittain. Suomessa yleisin jätevedenpuhdistusprosessi on mekaanis-biologis-kemiallinen. Mekaanisessa vaiheessa

jätevedestä poistetaan kiinteä aines, kemiallisessa vaiheessa fosfori ja biologisessa vaiheessa typpi sekä orgaaninen aines.²⁵ Kuvassa 12 on esitetty pelkistetty kaavio siitä, mitkä välivaiheet jätevesi käy läpi jätevedenpuhdistuksessa Suomessa.

Jätevedenpuhdistuksen ensimmäisessä vaiheessa jäteveden seasta välpätään suurin kiintoaines pois. Välppäys suoritetaan yleensä kahdessa osassa. Laitoksista riippuen välppäykset voidaan suorittaa peräkkäin tai tehdä hiekanerotus välppäyksien välissä. Välppäyksessä johdetaan jätevesi ristikon läpi. Ristikoiden ristikkokoko vaihtelee laitoksittain. Karkeavälppäyksessä ristikkokoko voi olla esimerkiksi 10 mm ja hienovälppäyksessä 3 mm. Välppäyksessä kiinni jäänyt materiaali kerätään talteen ja toimitetaan yleensä kaatopaikalle.²⁸

Seuraavassa vaiheessa tehdään hiekanerotus. Monille jätevedenpuhdistamoille tulee jäteveden mukana myös sade- sekä hulevesiä. Näiden mukana kulkeutuu puhdistamolle hiekkaa, joka poistetaan hiekanerotuksessa. Hiekanerotuksessa poistuu myös muu raskas kiintoaines, joka on tullut välppäyksen läpi. Hiekanerotuksessa saadaan myös jätevetteen kertynyt rasva pois. Ennen hiekanerotusta voidaan jäteveden sekaan lisätä saostuskemikaalia, kuten ferrosulfaattia, joka tehostaa kiintoaineksen poissaantia. Saostuskemikaali voidaan lisätä myös vasta ennen ilmastusta. Tässä vaiheessa voidaan jätevesi myös esi-ilmastaa, joka auttaa rasvan ja kevyen kiintoaineksen poissaantia jäteveden pinnalta.^{25,28,29}

Hiekanerotuksen jälkeen jätevedelle tehdään esiselkeytys. Aikaisemmin lisätty ferrosulfaatti saostaa liukoisen fosforin, joka saadaan myös esiselkeytyksessä pois jätevedestä muun kiintoaineksen mukana. Kiintoaines kaavitaan lietetaskuihin odottamaan jatkokäsittelyä. Esiselkeytyksen jälkeen systeemiin voidaan syöttää kalsiumkarbonaattia, jonka lisäyksellä haetaan parempia olosuhteita biologiselle puhdistukselle. Kalsiumkarbonaatti nostaa veden puskurikykyä ja pH:ta. Tällöin se estää liiallisen pH:n tippumisen nitrifikaatiossa. Kalsiumkarbonaatti auttaa myös jäljelle jääneen fosforin saostuksessa.^{28,29}



Kuva 12: Pelkistetty kuva Suomessa käytössä olevasta yleisestä jätevedenpuhdistusprosessista.

Esiselkeytyksen jälkeen alkaa varsinaiseksi puhdistusmenetelmäksi mielletty biologinen puhdistus eli aktiivilieteprosessi. Biologisessa puhdistuksessa jäteveden sekaan syötetään aktiivilietettä, joka koostuu jokaiselle laitokselle ominaisesta mikrobikannasta ja muusta biomassasta. Biologisen puhdistusmenetelmän pääperiaate on, että pieneliöt käyttävät jätevedessä olevia orgaanisia yhdisteitä ja ravinteita ravintonaan. Tällöin vesistölle haitalliset aineet siirtyvät pieneliöiden sisään ja kun ne poistetaan jätevedestä, niiden mukana poistuvat myös haitalliset aineet. Haitalliset aineet eivät tässä tapauksessa ole välttämättä ihmiselle tai ympäristölle haitallisia, mutta liiallisina kertyminä ne aiheuttavat ongelmia luonnossa. Esimerkiksi orgaaniset yhdisteet kuluttavat vesistöstä paljon happea, jolloin niiden pääsystä luontoon voi järvissä ilmetä happikatoa. Useissa jätevedenpuhdistamoissa biologinen puhdistus tapahtuu kahdessa osassa, hapettomissa ja hapellisissa olosuhteissa. Hapettomat olosuhteet luodaan aktiivisella veden sekoittamisella sekä nitraattipitoisen lietteen kierrättämällä hapellisen altaan loppupäästä takaisin hapettomaan alkupäähän. Tällöin prosessiin ei tarvita ulkoista hiililähdettä mikrobien toimintaan, vaan se voidaan ottaa kierrätetystä jätevedestä. Muita hiililähteitä voi olla esimerkiksi esiselkeytyksen ohittanut jätevesi tai metanoli. Hapettomissa olosuhteissa mikrobikanta käyttää soluhengitykseen hapen sijasta nitraattia, jolla voimistetaan typen poissaantia jätevedestä. Mikrobit muuttavat nitraatin typpikaasuksi. Tätä prosessia kutsutaan denitrifikaatioksi. Vastaavasti hapellisissa olosuhteissa tapahtuu nitrifikaatio, jossa jätevesialtaita ilmastetaan. Ilmastus tapahtuu yleensä altaiden pohjalta puhaltamalla sinne kompressoreilla ilmaa. Nitrifikaatiossa mikrobit muuttavat ammoniumionin nitraateiksi. Ilmastuksessa tapahtuu myös ylijäämälietteen poisto. Ylijäämäliete johdetaan takaisin esiselkeytykseen, josta se poistuu muun lietteen ja kiintoaineksen kanssa.^{28,29}

Biologisen puhdistusprosessin jälkeen puhdistettu vesi johdetaan jälkiselkeytykseen, jossa liete erotetaan puhdistetusta vedestä laskeuttamalla se altaan pohjalle, kuten esiselkeytyksessäkin. Erona esiselkeytykseen on, että jälkiselkeytyksestä liete johdetaan takaisin ilmastuksen alkuun. Jälkiselkeytyksen tilalla voi olla myös biologinen suodatin. Jälkiselkeyttimen jälkeen puhdistettu vesi voidaan joko johtaa vesistöön altaan yläosasta tai viimeistellä esimerkiksi hiekkasuodatuksella. Hiekkasuodatuksessa vesi kulkee hiekkapatjan läpi ylhäältä alaspäin. Hiekkapatja koostuu metrin kerroksesta kivihiiltä ja puolen metrin kerroksesta kvartsihiekkää. Hiekkapatja puhdistetaan ilmalla ja vedellä, jotka pumpataan patjan läpi alhaalta ylöspäin peräkkäin. Hiekkaan jäänyt kiintoainekertyy hiekkakerroksen pintaan, josta se poistetaan. Hiekkapatjan pesuun käytetty vesi ohjataan jätevedenpuhdistusprosessin alkuun uutta puhdistusta varten.^{25,28,29}

Esikäsitellyssä pois kerätty ylijäämäliete ja muu kiintoaines johdetaan lietteen käsittelyyn. Liete kuivataan ja kuljetetaan jatkokäsittelypaikkaan, esimerkiksi Gasumille. Liete mädätetään ja kompostoidaan. Mädätyksen aikana lietteestä muodostuu biokaasua, mitä voidaan hyödyntää kaukolämmössä, sähkön tuotannossa tai autojen tankkauksessa. Käsitelty liete voidaan käyttää esimerkiksi lannoitteena tai maanparannusaineena.²⁸

3.2. Lainsäädäntöä vesistöissä havaittaville haitallisille aineille ja niiden poistomenetelmiä jätevedestä

Kaikkialla Euroopassa on tavoitteena tuottaa kansalaisille hyvää ja korkea laatuista juomavettä. Puhtaan juomaveden takaamiseksi täytyy pitää huolta vesistöistä, joista vesi otetaan juomavesiin. Jätevedenpuhdistamot ovat yksi vesistöihin aiheuttavan ylimääräisen kuorman tuoja. Tästä syystä EU on ottanut direktiivissä 2013/39/EU³⁰ huomioon vesialueiden laadun arvioinnin, saastuttaja maksaa -periaatteen, tarpeen innovatiiviselle ja edulliselle jätevedenpuhdistukselle sekä pilaantumisen syiden tunnistuksen ja niiden seurannan. Keski-Euroopassa varsinkin korostuu yhteisten jäteveden puhdistuksen ja vesistöjen valvonnan rooli, koska vesistöt joista juomavesi otetaan kulkevat joissain tapauksissa useamman valtion läpi.³¹ Vuonna 2015 EU määräsi päätöksellä 2015/495³² muun muassa etinyyliestradiolin, estradiolin, estronin ja diklofenaakin tarkkailulistalle. Tarkkailulistan tarkoituksena on kerätä tarpeeksi seurantatietoja kyseisistä aineista. Seurantatietojen perusteella on voitu tehdä asianmukaiset toimenpiteet näiden aineiden aiheuttaman riskin käsittelemiseksi.³² Myöhemmin vuonna 2018 listaa uusittiin päätöksellä 2018/840³³, jossa diklofenaakki on poistettu tarkkailulistalta vedoten siitä saatuihin korkealaatuisiin seurantatietoihin. Tuon päätöksen nojalla listalle on nostettu siprofloksasiini. Listalle ei ole haluttu nostaa sellaisia aineita, joiden toksisuudesta on epäilyksiä tai niiden seurantamenetelmät ovat puutteellisia. Puutteellisuudella tässä tarkoituksessa tarkoitetaan riittävää herkkyyttä, luotettavuutta tai vertailukelpoisuutta. Listan seurantatietoja on hyödynnetty aineiden luokittelussa direktiivin 2000/60/EY 16 artiklan 2³⁴ mukaiseen tärkeysjärjestykseen. Tarkkailulistalle nostettujen aineiden valinta on tehty niiden aineiden joukosta, jotka voivat aiheuttaa vesiympäristölle tai vesiympäristön välityksellä merkittävän riskin unionin alueella. Näiden aineiden seurantatiedot ovat olleet ennen listalle nostoa kuitenkin riittämättömät todellisen riskin vahvistukseen.³³

EU on asettanut raja-arvoja erilaisille haitallisille aineilla, kuten lääkeaineille tai raskasmetalleille. Näitä raja-arvoja ovat muun muassa arvioitu haitaton pitoisuus PNEC (predicted no-effect concentrations) ja EQS (environmental quality standard). EQS on ympäristölaatumnormi, joka on asetettu vesistöille kuvaamaan haitta-aineen raja-arvoa. Kun vesistö saavuttaa EQS-arvot alittavat arvot haitta-aineiden osalta, vesistö voidaan luokitella kemialliselta puhtaustasoltaan hyväksi. Nämä arvot on asetettu nimenomaan (luonnon)vesistöille. Puhdistetulle jätevedelle ei ole annettu EQS-arvoja muille haitta-aineille kuin elohopealle ja kadmiumille.¹ Ympäristön kannalta on erittäin hyvä, että vesistöjen haitta-ainepitoisuuksia seurataan. Samalla voitaisiin seurata tarkasti myös vesistöihin päästettäviä puhdistettuja jätevesiä ennen vesistöihin laskua. Tällöin tiedettäisiin reaaliaikaisesti koko ajan puhdistamoilta ympäristöön kulkeutuvat haitta-ainepitoisuudet. Tällöin voitaisiin reagoida mahdollisiin korjaustoimenpiteisiin jo aikaisemmin ja spesifisemmin. Näin olisi myös helpompi kehittää uusia hyviä, toimivia ja taloudellisia menetelmiä haitta-aineiden, tai jonkun tietyn haitta-aineen, poistoon, jos sitä ilmenee enemmän toisella alueella kuin toisella.

Alla olevissa kappaleissa on käsitelty yleisten jäteveden puhdistusmenetelmien vaikutuksia jäteveden lääkeaine- ja hormonipitoisuuksiin. Ne kertovat paljon jätevesilaitoksen nykyisestä toimintakapasiteetista haitta-aineiden suhteen. Kappaleissa on myös käsitelty muita menetelmiä, joita on kehitetty lääkeaineiden ja hormonien poistoon jätevedestä.

3.2.1. Yleisten jäteveden puhdistusmenetelmien vaikutukset lääkeaineisiin ja hormoneihin

Suomessa on hyvin usein käytössä jätevedenpuhdistuslaitoksilla biologinen jätevedenpuhdistusprosessi, joka tuottaa paljon kaatopaikalle menevää käytettyä aktiivilietettä. Aktiiviliete toimii haitta-aineiden sitojana, jolloin haitta-aineet, tässä tapauksessa lääkeaineet ja hormonit, poistuvat jätevedestä lietteeseen puhdistuksen aikana. Sitoutuminen lietteeseen voi tapahtua joko lääkeaineiden ja hormonien funktionaalisten tai niiden positiivisesti varautuneiden ryhmien avulla. Lääkeaineiden ja hormonien funktionaaliset ryhmät vuorovaikuttavat lietteessä olevien mikro-organismien soluseinämien ja rasvamolekyylien kanssa. Tätä kutsutaan absorptioksi. Vastaavasti lääkeaineiden ja hormonien positiivisesti varautuneiden ryhmien vuorovaikutusta mikrobien negatiivisesti varautuneen pinnan kanssa kutsutaan adsorptioksi. Lietteeseen adsorptoitunut aine voi myös irrota, jolloin tapahtuu desorptio. Adsorptioon

vaikuttaa merkittävästi lietteen laatu ja sen pH. pH:lla on suuri merkitys myös adsorptiossa. Raakalietteen (esiselkeyttimiltä) pH on yleensä alhaisempi kuin ylijäämälietteessä (aktiiviliete). Raakalietteessä öljyjen ja rasvojen määrä on suurempi kuin aktiivilietteessä.¹ pH vaikuttaa erittäin paljon aineiden adsorptioon, koska kun veden pH on yli aineen pK_a -arvon aine on deprotonoitunut ja vastaavasti kun pH on alle pK_a -arvon aine on protonoitunut. Toisin sanoen mitä happamampaan mennään sitä vähemmän aine on ionisoituneessa muodossa, jolloin sillä on positiivisempi varaus kuin ionisoituneella, joten sitä enemmän ainetta adsorboituu lietteeseen.^{1,35}

Lääkeaineiden ja hormonien sitoutumiseen lietteeseen vaikuttaa lietteen lisäksi myös aineen ominaisuudet, eritoten aineen lipofiilisyys (rasvaliukoisuus) ja happamuus. Mitä korkeampi rasvaliukoisuus sitä suurempi biokertyvyys ja sitä helpommin aine tarttuu myös lietteeseen. Yleensä biokertyvyyden rajana pidetään $\log K_{ow} \geq 4$. Aineiden rasvaliukoisuutta kuvataan $\log K_{ow}$ -arvolla, joka kuvaa aineen liukoisuutta oktanoli-vesifaasien välillä. Mitä suurempi $\log K_{ow}$ -arvo sitä rasvaliukoisempi aine on. Vastaavasti aineiden happamuutta kuvataan pK_a -arvolla, jota kutsutaan happovakioksi. Mitä pienempi happovakion arvo on sen vahvempi happo on kyseessä. Taulukkoon 3 on esitetty lääkeaineiden $\log K_{ow}$ -, pK_a -arvoja, vesiliukoisuutta, Henryn lain vakioita ja adsorptiovakiota sekä biologisia hajoamisvakioita. Henryn lain vakiot kuvaavat aineen haihtumista liuksesta (vesiliuos tms. heikkoliuos). Tässä tapauksessa kyse on esimerkiksi aineen haihtumisesta aktiivilietteestä ilmastuksen aikana. Taulukossa 4 on ilmoitettu vakioiden merkitys haihtuvuudelle.¹

Adsorptiovakion $\log K_d$ avulla voidaan arvioida aineen tarttumista adsorptiolla tai absorptiolla johonkin tiettyyn lietteeseen. Aineen voidaan olettaa sitoutuvan merkittävästi lietteeseen sen $\log K_d$ -arvon ollessa yli 2,7. Vastaavasti biologisen hajoamisvakion k_{biol} avulla voidaan arvioida aineiden biologista hajoavuutta prosessissa. Jokaiseen lääkeaineeseen vaikuttaa yksilöllisesti esimerkiksi, onko jätevedenpuhdistusprosessissa hapettomat vai hapelliset olosuhteet. Taulukossa 5 on esitetty arvoja biologisen hajoamisvakion merkitykselle. Esimerkiksi hormonit E2 ja EE2 sekä ibuprofeeni ovat erittäin biohajoavia yhdisteitä niiden k_{biol} -arvojen ollessa reilusti yli 5. Biologiseen hajoamiseen vaikuttaa myös veden vaikutusaika lietteen kanssa sekä reaktorin liete-pitoisuus.¹

Taulukko 3: Lääkeaineiden ja hormonien log K_{ow} -, pK_a -arvoja, vesiliukoisuuksia, Henryn lain vakioita ja adsorptiovakioita sekä biologisia hajoamisvakioita^{1,35}

Aine	Henryn vakio ($\text{atm} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	Vesiliukoisuus (mg l^{-1})	pK_a	log K_{ow}	log K_d	k_{biol} ($\text{L} \cdot \text{gSS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)
E2	$3,6 \cdot 10^{-11}$	1,7 - 3,6	-	4,01	2,73	800
EE2	$7,9 \cdot 10^{-12}$	4,7 - 19	-	3,67 - 4,2	2,5	9
DCF	$4,7 \cdot 10^{-12}$	2,37 - 50	4,15	4 - 4,51	1,2 - 2,1	< 0,1 – 1,2
IBF	$1,5 \cdot 10^{-7}$	21	4,91	3,97	< 1,3	35
CBZ	$1,1 \cdot 10^{-10}$	17,7	13,9	2,45	< 1,3	0,048
CIP	$5,1 \cdot 10^{-19}$	30 000	3,01; 6,27; 8,87; 10,58	0,28	4,3	-
NOR	$8,7 \cdot 10^{-19}$	178 000	3,11; 6,26; 8,85; 10,56	-0,13	4,2	-
OFL	$5,0 \cdot 10^{-20}$	28 300	5,97; 7,65	-0,39	-	-
SXT	$6,4 \cdot 10^{-13}$	610	1,85; 5,6	0,89	2,05 – 2,60	-
KET	$2,1 \cdot 10^{-11}$	51	4,45	3,12	-	-
NPX	$3,4 \cdot 10^{-10}$	15,9	4,15	3,18	2,34	-
ACE	$1,3 \cdot 10^{-20}$	259	9,2	1,71	-	-
ATE	$1,4 \cdot 10^{-18}$	13 300	9,6	0,16	1,6	-
MET	$1,4 \cdot 10^{-13}$	4 780	9,7	1,69	0,5	-
SOT	$2,7 \cdot 10^{-14}$	137 000	9,55	0,24	1,6	-
BZF	$2,1 \cdot 10^{-15}$	0,355	3,61	4,25	-	-

Taulukko 4: Henryn lain vakioiden merkitys haihtuvuuteen¹

Henryn vakio ($\text{atm} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)	Merkitys
$> 2 \cdot 10^{-4}$	Erittäin haihtuva
$2 \cdot 10^{-4} - 2 \cdot 10^{-5}$	Haihtuva
$2 \cdot 10^{-5} - 2 \cdot 10^{-6}$	Hieman haihtuva
$< 2 \cdot 10^{-6}$	Haihtumaton

Taulukko 5: Biologisen hajoamisvakion merkitys¹

k_{biol} ($\text{L} \cdot \text{gSS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	Merkitys
$k_{biol} > 5$	Erittäin biohajoava
$1 < k_{biol} < 5$	biohajoava
$0,5 < k_{biol} < 1$	jonkin verran biohajoava
$k_{biol} < 0,5$	Biohajoamaton

Yhdisteen hyvä biologinen hajoaminen ei aina tarkoita aineen pitoisuuden pienenemistä jätevedenpuhdistusprosessin aikana. Jotkin yhdisteistä voivat hajota toisiksi yhtä haitallisiksi tai haitallisemmiksi yhdisteiksi prosessin aikana. Esimerkiksi diklofenaakki ei juurikaan ole biohajoava, mutta sitä voi muodostua prosessissa ”lisää” toisen tulehduskipulääkkeen aseklrofenaakin biohajoamistuotteena. Biologinen hajoaminen tapahtuu mikrobien avustuksella joko niin että mikrobi hajottaa aineen ja ottaa sen hajoamisessa muodostuneen energian itselleen tai käyttää jonkun muun samanaikaisesti hajonneen aineen energiaa muiden aineiden hajottamiseen. Jälkimmäisen oletetaan olevan yleisempää, koska orgaanista materiaalia on satoja mg l^{-1} kun taas lääkeaineita ja hormoneja yms. haitta-aineita on noin $\text{ng-}\mu\text{g l}^{-1}$.¹

Yhdisteiden suora kemiallinen muuttuminen on hyvin vähäistä jätevedenpuhdistusprosessissa ilman voimakkaasti hapettavia olosuhteita. Kuitenkin sitä tapahtuu jonkun verran biologisen toiminnan takia. Esimerkiksi nitrifikaatiossa muodostuva nitriitti voi reagoida diklofenaakin, sulfametoksatsolin, ja EE2:sen kanssa muodostaen nitroyhdisteitä. Nämä eivät kuitenkaan ole pysyviä yhdisteitä vaan hajoavat takaisin alkuperäiseen muotoon nitriitti-pitoisuuden laskiessa, jolloin lääkeaineet ja hormonit eivät poistu jätevedestä vaan muuttavat vain hetkellisesti muotoaan.¹

Myös vuodenaikojen on havaittu vaikuttavan lääkeaineiden poistumiseen biologisessa prosessissa. Talvikuukausina kerätyissä näytteissä poistumisprosentti on noin 61 %, kun keskiarvallisesti se on muutoin yli 80 %. Tähän suurin syy on jäteveden lämpötila puhdistusprosessin aikana, joka on talvisin matalampi kuin muina vuodenaikoina. Myös joidenkin lääkeaineiden osalta on huomattu eroja sateisten ja sateettomien päivien välillä. Esimerkiksi ibuprofeeni ei juurikaan ole hajonnut rankalla vesisateella. Tähän syyksi on epäilty sitä, että rankka sade muuttaa reaktorin vesimäärää, jossa lääkeaineet saavat olla vuorovaikutuksessa aktiivilietteen kanssa. Sateisina päivinä reaktoriin tulee lisää vettä, jolloin puhdistettavan veden reaktorissa oloaika lyhenee, koska reaktorin tilavuus on rajallinen.³⁵

Tutkimukset ovat osoittaneet, että jätevedenpuhdistamot vaikuttavat merkittävästi vesistöjen mikrosaaiteiden aiheuttamaan pilaantumiseen. Tämä johtuu osittain siitä, että jäteveden puhdistamoita ei ole suunniteltu puhdistamaan henkilökohtaisen hygienianhoitotuotteiden ja lääkkeiden tuomaa kuormaa jätevesistä. Artikkelissa³¹ tutkijat ovat keränneet pitoisuuksia

hormoneille E2 ja EE2 pintavesistä, efluentista ja influentista pääsääntöisesti eri Euroopan maissa. Nämä arvot näkyvät Taulukossa 6.

Taulukko 6: E2- ja EE2-pitoisuuksia pintavesistä, influentista ja efluentista Euroopan maissa³¹

Yhdiste	Vesityyppi	Pitoisuus (ng l ⁻¹)	Valtio
Estradioli	Influentti	≤ 97	Portugali
	Influentti	64	Belgia
	Efluentti	15 - 27	Saksa
	Efluentti	17	USA
	Efluentti	< 10	Ruotsi
	Pintavesi	9,5	Italia
	Pintavesi	9	Italia
	Pintavesi	1	Italia (Rooma)
	Pintavesi	< 1	Alankomaat
Etinyyliestradioli	Influentti	≤ 39	Portugali
	Influentti	106	Belgia
	Efluentti	< 1	Espanja
	Efluentti	0,04	Ruotsi
	Pintavesi	11	Italia
	Pintavesi	0,04	Italia (Rooma)
	Pintavesi	< 500	Alankomaat

Näinä päivinä on tutkittu jo jonkun verran, miten niin sanotut normaalit jätevedenpuhdistusmenetelmät poistavat kiertoon palaavasta vedestä eri lääkeaineita ja hormoneja. Koko ajan kehitetään myös uusia, tehokkaampia ja taloudellisempia menetelmiä niiden poistamiseen, vanhojen menetelmien rinnalle. Menetelmien tavoitteena on myös saada haitta-aineista helposti hävitettäviä. Esimerkiksi lääkeaine tai hormoni poistuu jätevedestä aktiivilietteeseen biologisessa prosessissa.¹ Tällöin ongelma poistuu vedestä, mutta päätyy luontoon lietteen kautta. Tästä syystä liete ei ole paras lääkeaineiden ja hormonien poistomenetelmä, koska se vain siirtää ongelmaa toisaalle. Myöskään biologinen puhdistusprosessi ei poista kaikkia haitta-aineita 100 prosenttisesti (kts. alla). Tästä syystä halutaan kehittää tehokkaita menetelmiä, jotka joko hajottavat lääkeaineet ja hormonit haitattomaan muotoon tai ne voitaisiin kerätä talteen ja hyödyntää edelleen.

Vastaavasti Suomessa on tehty muutama kattava tutkimus Suomen jätevesien lääkeaineiden ja hormonien pitoisuuksista. Kaksi näistä ovat Äystön ym. loppuraportti *Kartoitus lääkeaineista yhdyskuntajätevedessä ja pintavedessä*¹³ ja Vienon väitöskirja *Occurrence of pharmaceuticals in Finnish sewage treatment plants, surface waters and their elimination in drinking water*

treatment processes.³⁵ Näistä tutkimuksista on koottu tuloksia Taulukkoon 7. Taulukossa 7 on esitetty havaittuja pitoisuuksia eri lääkeaineista ja hormoneista sekä jätevesilaitokselle tulevassa (influentti) että sieltä pois lähtevästä niin sanotusta puhdistetusta jätevedestä (effluentti). Taulukossa 7 on myös esitetty löydettyjä PNEC ja EQS arvoja kyseisille lääkeaineille ja hormoneille. Kaikille ei välttämättä ole ollenkaan kyseisiä arvoja, ja joillekin vain ehdotettuja arvoja. Ehdotetut arvot ovat merkitty sulkuihin.

Taulukkoon 8 on koottu prosentuaalisesti puhdistusprosessin aikana nestefaasista poistuneet lääkeaineet Vienon väitöskirjan³⁵ tulosten mukaan. Suurimman osan lääkeaineiden poistuma on ollut kohtuullisen hyvä. Kyseisessä tutkimuksessa karbamatsepiini oli lääkeaineista ainut, jonka määrä kasvoi puhdistusprosessin aikana. Siihen Vieno pohti todennäköisimmäksi selitykseksi karbamatsepiinin glukuronidikongujaatin hajoamista biologisen puhdistusprosessin aikana takaisin aktiiviseksi karbamatsepiiniksi.³⁵

Taulukko 7.1: Äystön ym. loppuraportin¹³ ja Vienon väitöskirjan³⁵ tuloksia lääkaineista ja hormoneista Suomen jätevesissä

Mitattu lääkeaine/hormoni	Influentti	Effluentti		PNEC		EQS	
		Äystö ¹³ ($\mu\text{g l}^{-1}$)	(ng l^{-1})	Vieno ³⁵ ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Äystö ¹³ ($\mu\text{g l}^{-1}$)		Vieno ^{1,35} (ng l^{-1})
Kirjallisuusviite	Vieno³⁵ ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Äystö¹³ ($\mu\text{g l}^{-1}$)	(ng l^{-1})	Vieno³⁵ ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Äystö¹³ ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Vieno^{1,35} (ng l^{-1})	Äystö¹³
Hormonit							
17 α -etinyyliestradioli	-	0	-	0,00002	-	(0,035/0,007 ng l^{-1})	
17 β -estradioli	-	0	-	0,02	-	(0,4/0,08 ng l^{-1})	
Estrioli	-	0	-	0,00075	-	-	
Estroni	-	10 – 20	-	-	-	-	
Progesteroni	-	0	-	-	-	-	
Testosteroni	-	0	-	-	-	-	
Tulehduskipulääkkeet							
Diklofenaakki	0,42	10 – 90	0,35	0,1	116 000	(0,1 /0,01 $\mu\text{g l}^{-1}$)	
Ibuprofeeni	16,1	20 – 80	0,65	7,1	5 000	(0,01 $\mu\text{g l}^{-1}$)	
Ketoprofeeni	2,06	< LOQ (10)	0,37	15,6	306 000	-	
Naprokseeni	5,72	110-180	0,69	21,2	560	-	
Parasetamoli	-	0	-	9,2	-	-	
Antibiootit							
Doksisykliini	-	0	-	15,2	-	-	
Metronidatsoli	-	0	-	-	-	-	
Ofloksasiini	0,10	< 10 – 10	0,02	-	530	-	
Sulfametoksatsoli	-	10	-	-	-	-	
Tetrasykliini	-	20	-	0,31	-	-	
Trimetopriimi	-	100 – 460	-	16	-	-	
Tylosiini	-	0	-	-	-	-	
Siprofloksasiini	0,60	-	0,06	-	3000	-	
Norfloksasiini	0,12	-	< LOQ	-	-	-	

Taulukko 7.2: Äystön ym. loppuraportin¹³ ja Vienon väitöskirjan³⁵ tuloksia lääkaineista ja hormoneista Suomen jätevesissä

Mitattu lääkeaine/hormoni	Influentti	Effluentti		PNEC		EQS
		Vieno ³⁵ (µg l ⁻¹)	Äystö ¹³ (ng l ⁻¹)	Vieno ³⁵ (µg l ⁻¹)	Äystö ¹³ (µg l ⁻¹)	
Kirjallisuusviite						
Verenpainelääkkeet						
Atenololi	0,80	< LOQ (5)	0,33	77,7	310 000	-
Enalapriili	-	0	-	-	-	-
Felodipiini	-	0	-	-	-	-
Furosemidi	-	380 – 1400	-	45,14	-	-
Hydroklooritiatsidi	-	1800 – 6700	-	-	-	-
Metoprololi	1,06	1400 – 2200	0,76	8,8	7 900	-
Simvastatiini	-	0	-	9,6	-	-
Asebutololi	0,34	-	0,14	-	-	-
Sotaloli	0,83	-	0,28	-	300 000	-
Muut						
Albuteroli	-	< LOQ (10)	-	-	-	-
Betsafibraatti	0,97	0	0,24	-	200 000	-
Syklofamididi	-	0	-	-	-	-
Ifosfamidi	-	0	-	-	-	-
Karbamatsepiini	-	30 – 330	-	4,92	420	-
Paroksetiini	-	0	-	1,6	-	-
Terbutaliini	-	0	-	-	-	-
Varfariini	-	0	-	-	-	-

Taulukko 8: Lääkeaineiden poistumia prosentuaalisesti (keskiarvo) jäteveden puhdistusprosessissa³⁵

Lääkeaine	Poistuma (%)
Siprofloksasiini	84
Norfloksasiini	81
Ofloksasiini	92
Karbamatsepiini	-121
Diklofenaakki	17
Ibuprofeeni	95
Ketoprofeeni	82
Naprokseeni	85
Asebutololi	47
Atenololi	51
Metoprololi	17
Sotaloli	65
Betsafibraatti	58

Myös Suomen vesilaitosyhdistys ry on koonnut Suomen tutkimustiedoista arvoja haitta-aineille. Näitä arvoja on täydennetty EU:sta ja USA:sta saatavilla tiedoilla, jos Suomesta ei ole löytynyt tutkimustuloksia kyseiselle haitta-aineelle. Vastaavasti EQS-arvot ovat ehdotettuja arvoja tai vahvistettuja Sveitsissä.³ Tämän työn osalta oleelliset arvot on koottu Taulukkoon 9.

Taulukko 9: Haitta-aineiden arvoja vedenpuhdistamoilla ja niille annettuja PNEC- ja EQS-arvoja³

Mitattu lääkeaine/hormoni	Influentti ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Effluentti ($\mu\text{g l}^{-1}$)	PNEC ($\mu\text{g l}^{-1}$)	EQS ($\mu\text{g l}^{-1}$)
Ibuprofeeni	15	0,12	0,001	0,3
EE2		0,0005	0,000004	0,000035
E2	0,039	0,0005	0,000042	0,0004
Sulfametoksiatsoli		0,1	0,013	0,6
Diklofenaakki	0,52	0,66	0,5	0,1
Karbamatsepiini	0,29	0,33	0,09	0,5

Johnsonin ja Williamsin tutkimuksessa²⁴ on esitelty vielä tarkemmin estrogeenien erittymistä sekä otettu myös huomioon hormonihoidojen aiheuttama kuorma. Heidän tutkimuksessaan myös esitetään malleja konjugaattien muokkautumisesta kulkeutuessaan jätevedenpuhdistamolle. He arvioivat, että glukuronidikonjugaatit dekonjugoituivat kokonaan ennen jätevedenpuhdistamolle tuloa. Vastaavasti sulfaattikonjugaatit säilyisivät ja näin

vähentäisivät osaltaan estrogeenikuormaa jätevedenpuhdistuksessa. He huomasivat myös, että todennäköisesti osa E2:sta muuttuu viemärissä E1:ksi. Ilman lisätutkimuksia tarkempaa tietoa he eivät osanneet antaa, kuinka paljon hapettumista tapahtuu ennen jätevedenpuhdistuslaitokselle pääsyä. Kuitenkin on todettu, että arvio 50 %:n muuntumisesta olisi realistinen.

McAdam, E. J. *et al*³⁶ käsitteli tarkemmin estrogeenien poistumista erilaisissa aktiivisissa lieteprosesseissa (ASP). Tutkimuksessa selvitettiin estrogeenien E1, E2, EE2 ja E3 poistumista liete-prosessin aikana. Erilaisina ASP:nä käytettiin prosessia, jossa oli vain aktiivihiihtä käytössä (ASP_{carb}), aktiivihiihtä ja nitrifikaatio sekä aktiivihiihtä, nitrifikaatio (ASP_{nit.}) ja denitrifikaatio (ASP_{nit./denit.}). Tutkimuksessa käytettiin oikeaa jätevettä, joka tuli joko täysimittaisesta jäteveden puhdistamolta ASP_{carb} ja ASP_{nit./denit.} tai keskikokoiselta puhdistamolta ASP_{nit.} Yhdistyneestä kuningaskunnasta. Jätevesi on ollut näytteitä otettaessa levännyttä, eli sakka on painunut altaan pohjaan.³⁶

Tuloksina he saivat estrogeenien biohajoamiseksi puhdistamoilla 80 % ASP_{nit./denit.}:lla ja 91 % ASP_{nit.}:lla. Vastaavasti ASP_{carb}:lle tulos oli 51 %. Tuloksesta he päättelivät aktiivihiihtä-prosessin olevan merkittävä osa estrogeenien biohajoamista puhdistamoilla. Kuitenkin he totesivat nitrifikaatioprosessin tehostavan sitä huomattavasti.³⁶ Tutkimuksen²⁴ mukaan on myös todettu E2:sen hajoavan E1:seksi aerobisissa olosuhteissa laimennetun aktiivilietteen (10 %) kanssa. Esimerkiksi 24 tunnissa (37 °C) E2:sta hajosi jopa 64 % E1:seksi kun läsnä oli ulostemateriaalia yli 10 %. Tämän perusteella on voitu arvioida E2:sen olevan helposti hajoava, joten E2:n todennäköisesti hajoaa myös jonkun verran viemärissä E1:seksi.²⁴

3.2.2. TOXCHEM-mallinnus apuna havainnollistamaan lääkeaineiden hajoamista biologisen jätevedenpuhdistus prosessin aikana

Haitalliset aineet jätevedenpuhdistamoilla -hankkeen loppuraportin¹ tutkimuksissa käytettiin apuna TOXCHEM-ohjelmaa, jolla pyrittiin mallintamaan tyypillisiä suomalaisia jäteveden puhdistusprosesseja – aktiivilieteprosessia ja tehostettua biologista typenpoisto nitrifikaatidenitrifikaatiomenetelmää.¹

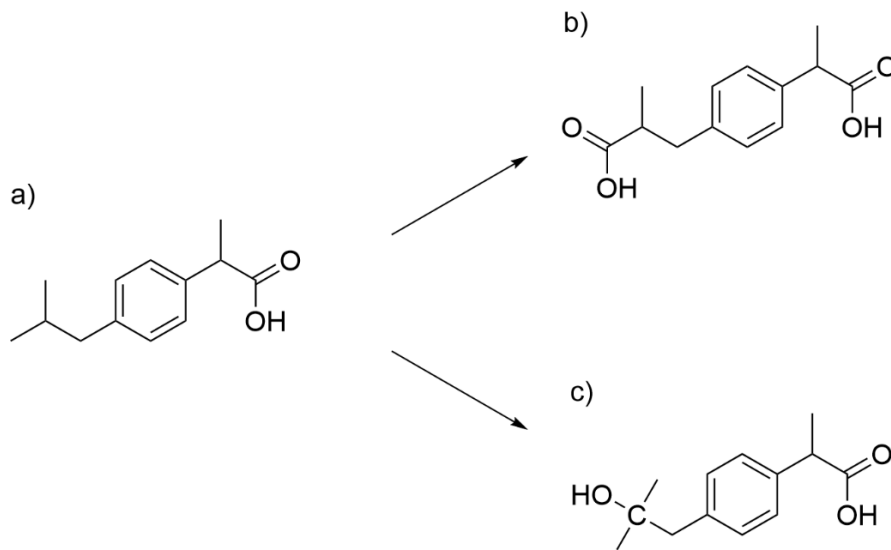
Tutkijat tekivät selvityksen hormoneista E2 ja EE2. E2:sta havaittiin 83 % influenttinäytteistä yli määritysrajan, joka oli 0,01 – 0,001 $\mu\text{g l}^{-1}$ ja sen keskimääräiseksi pitoisuudeksi saatiin 0,064 $\mu\text{g l}^{-1}$. Määritysraja kertoo analyysimenetelmän mittausrajoista. Efluenttinäytteistä vastaava pitoisuus oli 0,0013 $\mu\text{g l}^{-1}$. EE2:n osalta näytteiden pitoisuus oli kaikissa alle määritysrajan. Näytetulosten tuleminen molemmin puolin määritysrajaa kertoo näytematriisin analyysihaasteista, esimerkiksi pienistä ja isolla vaihteluvälillä olevista pitoisuuksista. Tutkimuksessa mukana olleista jätevedenpuhdistuslaitoksilta pystyttiin havainnoimaan keskimäärin noin 97 % poistuma E2:lle. Kokonaisuudessaan puhdistamoiden E2-kuormasta on arvioitu TOXCHEM-mallinnuksen avulla 54 % sitoutuvan lietteeseen ja 44 – 46 % biohajoavan. E2:sen on arvioitu olevan hyvin biohajoava olosuhteiden happitilasta riippumatta. EE2 vastaavasti on ollut biohajoava erityisesti hapellisissa olosuhteissa.¹

Tutkijoiden arvion mukaan E2-kuormasta alle 1 % päätyisi puhdistettuun jäteveeseen. Kuitenkin heidän mukaansa todellisuudessa lietteeseen sitoutuneen E2:sen määrä voi vaihdella suurestikin puhdistamoiden erilaisten olosuhteiden ja lietteen ominaisuuksien takia. Sitoutumisen määrään vielä vaikuttaa estrogeenien taipumus irrota (desorptio) lietteestä. Mallinnuksen mukaan 20 – 44 % EE2:sta päätyy efluenttiin. Määrä riippuu biologisesta puhdistusmenetelmästä sekä veden viipymästä prosessissa. Heidän arvionsa mukaan riippumatta olosuhteista EE2:sen lietteeseen sitoutuminen olisi noin 35 %. Sen mukaan efluentissa EE2-pitoisuus olisi 0,2 – 0,4 ng l^{-1} , mikä on yli sille ehdotettujen EQS-arvojen.¹

TOXCHEM-ohjelmalla on mallinnettu myös lääkkeitä, diklofenaakkia, karbamatsepiinia ja ibuprofeenia. Näiden lääkkeiden pitoisuuksia on mitattu vain sellaisilta jäteveden puhdistamoilta, joissa on käytössä aktiiviliete tai biologinen typenpoisto. Niiden keskimääräinen pitoisuus efluentissa on biologisissa typenpoistolaitoksissa 1,5 $\mu\text{g l}^{-1}$ (DCF), 0,75 $\mu\text{g l}^{-1}$ (CBZ) ja 0,2 $\mu\text{g l}^{-1}$ (IBF). Vastaavat pitoisuudet aktiivilietelaitoksissa ovat olleet 0,7 $\mu\text{g l}^{-1}$, 0,25 $\mu\text{g l}^{-1}$ ja 0,1 – 0,2 $\mu\text{g l}^{-1}$. Karbamatsepiinin pitoisuuksiin on alentavasti vaikuttanut selkeästi jälkikäsittely, kun taas ibuprofeenille sillä ei ole ollut vaikutusta.¹

Ibuprofeenilla on korkeat poistumat jätevedestä riippumatta juurikaan puhdistusmenetelmästä tai puhdistamon koosta, kaikissa yli 90 % ja keskimääräisesti 98 %. Mallinnuksen mukaan ibuprofeenin tärkein poistumareitti on biohajoaminen (kuva 13). Tästä huolimatta efluenttiin ibuprofeenista päätyy 8 – 36 %. Vastaavasti taas karbamatsepiinin keskimääräinen poistuma on

- 5 %. Toisin sanoen karbamatsepiinin pitoisuus kasvaa puhdistusprosessin aikana. Eniten kasvua on havaittu niillä puhdistuslaitoksilla, jotka ovat käyttäneet jälkikäsittelymenetelmänä hiekka- tai biologista suodatusta. Poistuma biologisella typenpoistomenetelmällä on – 30 % ja aktiivilieteprosessissa 10 %. Mallinnuksen mukaan 90 – 94 % karbamatsepiinista päätyy puhdistettuun jäteveteen, sen biohajoaminen (2 – 10 %) ja lietteeseen tarttuminen (4 %) on hyvin vähäistä. Viipymän pidentäminen mallin mukaan parantaa sen biohajoamista, mutta ei enempää kuin 10 %.¹



Kuva 13: Esimerkkejä ibuprofeenin biohajoamistuotteista. a) ibuprofeeni, b) karboxy-ibuprofeeni ja c) 2-hydroksi-ibuprofeeni.³⁵

3.2.3. Antibiootit jätevedessä

Tällä hetkellä antibiootit ovat yksi kysymysmerkki lisää lääkaineiden joukossa, miten ne vaikuttavat ympäristöön. Ei tiedetä vaikuttaako antibioottien pääsy ja oleminen vesistöissä antibioottiresistenssiin. Suurin osa antibiooteista ei imeydy kehoon hyvin ja usein ne myös metabolisoituvat heikosti. Joistakin yhdisteistä voi metaboloitua jopa 90 % käytön jälkeen, kun taas osalla metaboloituminen voi olla alle 10 prosenttia. Tästä syystä antibiooteilla on suuri mahdollisuus päästä jäteveteen ja sitä kautta jätevedenpuhdistamoille muuttumattomina tai metaboliitteina. Antibioottien ominaisuus on olla tehokkaita pienissäkin pitoisuuksissa, jolloin on sanomattakin selvää, minkä riskin ne aiheuttavat päästessään vesistöihin tai lietteen mukana

maaperään. Maaperästä niillä on myös pääsy sadevesien mukana pohjavesiin, mutta myös mahdollisuus ajautua kasveihin. Niiden kautta ne voivat kerääntyä edelleen kasveja käyttäviin organismeihin, kuten eläimiin tai ihmisiin.³⁷

Jätevedenpuhdistamoilta on mitattu päivittäin lähtevän vesistöihin sadasta tuhanteen mikro-organismipesäkettä, joilla on mahdollisuus lisääntyä. Suuressa osassa näistä on arvioitu olevan jonkin asteista antibioottiresistenssiä. Lietteistä vastaavasti mitataan haitallisten aineiden tasoja ennen niiden käyttöä lannoitteina tai levittämistä maaperään, mutta monesti lietteiden jäännöksistä tehdään erilaisia sekoituksia, joiden kokonaismyrkyllisyydestä ympäristölle ei ole tietoa. Ne yhdisteet, jotka ovat hyvin pysyviä eivätkä biohajoa helposti siirtyvät näin maaperään. Tällöin esimerkiksi pitkään lannoittamalla maaperän kuormitus voi olla hyvinkin korkea. Siprofloksasiini on yksi niistä lääkeaineista, jotka ovat pysyviä läpi jätevedenpuhdistuksen. Tästä syystä jätevedenpuhdistuksesta tulevan lietteen levitys maahan on joko rajoitettua tai kiellettyä vedoten ihmisten tai karjan terveysriskeihin. EU on säätänyt tähän direktiivin, jonka perusteella voidaan lietteen käyttö lannoitustarkoituksessa kieltää, jos sen pitoisuudet ylittävät sallitut rajat. Rajat ovat kuitenkin määrätty enimmäkseen raskasmetalleille, ja lääkkeille ei ole määritetty raja-arvoja. Suomessa lietteen käyttö lannoitteena on sallittua niin kauan kun se ei aiheuta haittaa ihmisille, eläimille tai kasveille sekä sillä on positiivinen vaikutus kasvien kasvuun.³⁷

Jätevedenpuhdistamoilla käytetään erilaisia bakteerikantoja sekä vettä tulee puhdistamolle eri paikoista, joissa on erilainen bakteerikanta. Vesien mukana tulee myös sekoitus erilaisia desinfiointiaineita, lääkeaineita, antibiootteja jne. Tämä luo siellä oleville bakteereille luonnollisen paineen selviytyä niistä oloista, ja luonnonvalinta suosii sieltä selvinneitä. Tästä syystä jätevedenpuhdistamoiden on voitu olettaa toimivan antibioottiresistenssin syntyipaikkana, mutta myös luovuttajana ympäristöön. Antibioottiresistentin luomisen lisäksi bakteerit voivat muodostaa antibioottiresistenttejä genejä. Bakteerit voivat levittää näitä genejä sitten muihin bakteereihin.³⁷

Numminen on tutkinut Pro gradu -tutkielmassaan³⁷ Jyväskylän jätevedenpuhdistamoilta saatuja jätevesinäytteitä. Hän on tutkinut kolmen antibiootin pitoisuuksia näistä näytteistä, joita ovat siprofloksasiini, trimetopriimi ja sulfametoksatsoli. Influentissa yhdisteiden pitoisuudet ovat olleet $< 10 - 2260 \text{ ng l}^{-1}$ välillä. Vastaavasti efluentissa pitoisuudet ovat olleet $10 - 450 \text{ ng l}^{-1}$.

Siprofloksasiini on poistunut jätevedenpuhdistuksessa noin 84 prosenttisesti, kun taas trimetopriimi on päässyt koko puhdistuksen läpi. Sulfametoksatsolin poistuma on vaihdellut pienen poistuman ja käsittelyn aikana kasvaneen pitoisuuden välillä. Siprofloksasiinin on oletettu sitoutuvan lietteeseen, koska sitä on löydetty lietteen puristusvesistä.³⁷

3.2.4. Membraaniavusteinen prosessi (MAP)

Membraaniavusteisen prosessin (MAP, membrane-assisted processes) soveltuvuutta on tutkittu saamaan jätevesistä talteen orgaanisia mikrosaasteita (OMP, organic micropollutants), joiden terveysriskejä ei ole vielä perusteellisesti selvitetty. OMP:t sisältävät laajan valikoiman kemikaaleja, joita käytetään lääkkeinä ja henkilökohtaisen hygienian hoitoon. Siihen kuuluvat myös hormonaaliset haitta-aineet (endocrinedisrupting compounds, EDC), jotka ovat alkaneet nousta huolestuttavaksi ympäristöongelmaksi niiden muodostaman riskin vesi- ja ihmiselämälle. Niiden pitoisuudet ympäristössä eivät välttämättä ole merkittävästi lisääntyneet viime vuosina, mutta niiden tutkimiseen käytettävät menetelmät ovat kehittyneet. Tällöin on havaittu OMP:n lisääntyneitä pitoisuuksia, koska menetelmien määrittämisrajat riittävät niiden analysointiin. Erityisesti ollaan huolissaan siitä, miten OMP:t lisäävät puhtaan juomaveden saastumista omalta osaltaan. Näiden pitkäaikaisvaikutuksesta jätevetteen ei tiedetä, mutta on epäilty niiden aiheuttavan samankaltaisia tai jopa suurempia ongelmia kuin patogeeninen pilaantuminen. OMP:n havaitsemiseen ympäristössä vaaditaan huomattavaa kuormitusta jätevedenpuhdistamoilta. Toisaalta taas jätevedenpuhdistamoilla havaitaan vain pieniä pitoisuuksia kyseisiä aineita. Tämän takia on mietitty sitä, onko jatkuvalla OMP-kuormituksella pysyviä vaikutuksia vesistöihin. Tällä hetkellä OMP:tä on havaittu pieninä pitoisuuksina makean veden lähteistä, vedenkäsittelyvesistä ja maaperän sedimenteistä. Niiden poistamista vesistä vaikeuttavat niin bioaktiivisuus ja taipumus olla hajoamatta ennen hoitavaa vaikutusta.⁴

MAP:n etuja tavallisiin suodattimiin on sen mahdollinen selektiivisyys, suodattavuus ja kemikaalittomuus. Jäteveden puhdistuksessa käytetään enimmäkseen keraamisia ja polymeerikalvoja. Teollisuudessa käytetyissä kalvoissa on yleensä ohut pintakerros, joka tarjoaa halutun suodatuksen tai selektiivisyyden. Sen alla on paksumpi huokoisempi tukirakenne, jonka ansiosta MAP:lla on mekaaninen vakaus ja lujuus. Jäteveden käsittelyssä käytetään yleensä painevetoisia kalvojärjestelmiä, mitkä voidaan jakaa matalapaineisiin ja korkeapaineisiin. Matalapaineisia prosesseja ovat esimerkiksi ultrasuodatus ja mikrosuodatus.

Vastaavasti korkeapaineisia prosesseja ovat nanosuodatus ja käänteisosmoosi. Matalapaineisia prosesseja voidaan käyttää esimerkiksi viruksien ja bakteerien suodatuksen ja korkeapaineisia prosesseja liuenneiden epäorgaanisten ja orgaanisten kontaminanttien suodatukseen.⁴

OMP:n poissaantiin MAP:lla vaikuttaa monet tekijät. Yleensä kalvot on suunniteltu toimimaan puoliläpäisevinä kalvoina, jolloin sen huokoskokoa suuremmat aineet jäävät kalvoon. Toisaalta poistoon vaikuttaa myös kalvon ominaisuudet, OMP:n ominaisuudet, käyttöolosuhteet ja kalvon likaantuminen. Pääsääntöisesti kalvot toimivat fysikaalisena esteenä OMP:n etenemiselle, mutta kalvoissa on havaittu tapahtuvan muitakin ilmiöitä. Näitä ovat adsorptio, hydrofobinen vuorovaikutus ja sähköstaattinen hylkiminen. Adsorptiossa kalvo vuorovaikuttaa OMP:n kanssa esimerkiksi vetysidoksilla. Hydrofobisessa vuorovaikutuksessa on odotettu niiden aineiden, joiden \log_{KOW} -arvo on yli 2,5 sitoutuvan mieluummin kalvoon kuin pysyvän liukoisena vedessä. Tämä lisää myös adsorptiota. Sähköstaattisessa hylkimisessä kalvon pintavaraukset voivat hylkiä OMP:tä. Eri kalvoilla ja niiden yhdistelmillä on saatu hyviä tuloksia eri OMP:n poistossa. Esimerkiksi sulfametoksatsolille, karbamatsepiinille ja diklofenaakille on saatu 60 – 95 % poisto. Vastaavasti hormoneille on saatu biologista membraania apuna käyttäen 80 – 99 % poisto.⁴ Taulukossa 10 on esitetty artikkeliin³¹ kerättyjä tietoja MAP:ien puhdistustehosta diklofenaakille, E2:lle ja EE2:lle.

Taulukko 10: Diklofenaakin, E2:sen ja EE2:sen poistumisarvoja (%) MAP-tekniikoilla³¹

Yhdiste	MAP	Poistuma (%)
Diklofenaakki	Nanosuodatus	100
	Käänteisosmoosi	100
	Nanosuodatus	60
	Nanosuodatus	65
	Biologinen membraani/ Käänteisosmoosi	95
Estradioli	Käänteisosmoosi	83
	Nanosuodatus/ Käänteisosmoosi	90
	Nanosuodatus	> 99
	Nanosuodatus	> 95
	Käänteisosmoosi/ Nanosuodatus	Korkea
	Nanosuodatus	77
	Nanosuodatus	100
	Nanosuodatus	100
Etinyliestradioli	Nanosuodatus	> 99
	Nanosuodatus/ Käänteisosmoosi	90
	Nanosuodatus	60
	Nanosuodatus/ Käänteisosmoosi	99

3.2.5. Bakterien hyödyntäminen hormonien hajottamisessa

Luonnolliset estrogeenit estroni, 17 β -estradioli ja estrioli sekä synteettinen 17 α -etinyliestradioli luokitellaan myös EDC-yhdisteiksi. Nykyisillä menetelmillä jätevedenpuhdistamoilla hormonien poisto ei ole riittävää.¹ Jätevedenpuhdistamot ovat yksi päävälittäjistä, jota kautta hormoneja pääsee ympäristöön.

Tutkimuksen³⁸ mukaan biologisessa puhdistusprosessissa käytetyistä bakteereista on mahdollista jalostaa sellaisia bakteereja, jotka eritoten biohajottavat hormoneja. Bakteerit on jalostettu hajottamaan hormoneita hapellisissa olosuhteissa altistamalla ne kyseisille hormoniliuksille. Kyseisessä tapauksessa bakteereille ainut tarjottu hiililähde ovat hormonit. Tutkimuksen aikana tutkijat huomasivat adsorption tapahtuvan saman aikaisesti biohajoamisen kanssa. He myös huomasivat luonnollisen E1:sen ja E2:sen hajoavan paremmin, kun taas synteettinen EE2 tuntui kertyvän tutkimuksen aikana reaktoriin. Tästä on tulkittu, että tässä tutkimuksessa käytetyt bakteerit ovat pääsääntöisesti käyttäneet luonnollisia hormoneja hiililähteenään. Luonnolliset E1 ja E2 ovat helpommin rinnastettavissa kuin synteettinen EE2.

Myös bakteerien oma hajoaminen on voinut vapauttaa lisää hiililähteitä tukemaan bakteerien toimintaa ja kasvua. Bakteerit ovat valinneet edullisemman reitin ylläpitää ja lisääntyttää kantaansa. Synteettinen EE2 on vaikeammin hajotettavissa kuin E2 ja E1, sekä EE2:n puoliintumisaika on kaksinkertainen verrattuna E2:seen. EE2:sen biohajoaminen bakteerien avustuksella on siis paljon hitaampaa silloin, kun muuta hiililähdettä on saatavilla. Sen jälkeen, kun tutkimuksessa E1:sen ja E2:sen syöttäminen on lopetettu, bakteerit alkoivat hajottaa myös EE2:sta. E1:sen ja E2:sen biohajoaminen on yli 98 prosenttia ja vastaavasti EE2:sen hajoaminen on 84,5 % 34 päivän jälkeen, kun E1:stä ja E2:sta ei ollut enää saatavilla.³⁸

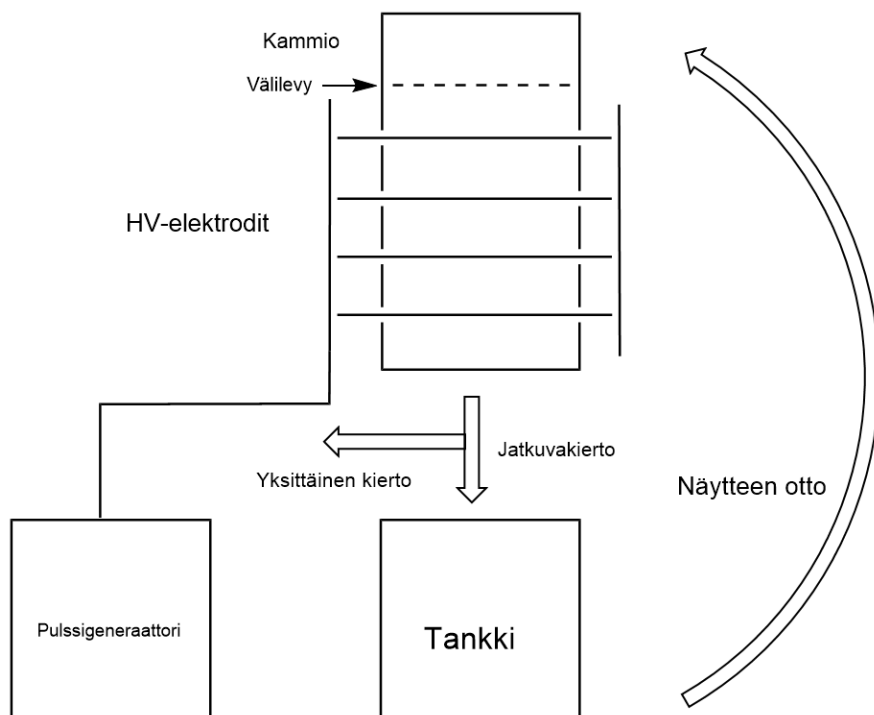
3.2.6. Koronapurkaus (PCD)

PCD (koronapurkaus, pulsed corona discharge) on menetelmä, jonka pääperiaatteena on hapettaa orgaaninen yhdiste, esimerkiksi lääkeaine, niin pitkälle, että ne muodostuvat hiilidioksidiksi.³⁹ Tämä olisi huomattavasti ympäristö- ja ihmisystävällisempi kuin lääkeaineiden kertyminen jossain muodossa luontoon. Tästä mahdollisesti lisääntyvät hiilidioksidipäästöt ympäristöön alittanevat lääkeaineiden kertymisestä aiheutuvat ongelmat.

PCD:ssä syötetään korkeaa jännitettä veteen erinäisen laitteiston (kuva 14) avulla, jonka tuloksena neste-kaasu-rajapintaan vedessä muodostuu hydroksyyli- ja happimolekyyleistä kaasufaasissa muodostuu otsonia. Nämä yhdessä hapettavat orgaanisen yhdisteen hiilidioksidiksi. PCD:n hyväksi puoleksi on nimetty, lääkeaineen hapettamisen haitattomaan muotoon lisäksi, sen energia tehokkuus ja alhaiset huoltovaatimukset, lisättyjen kemikaalien tarpeettomuus sekä sen onnistuminen normaaleissa olosuhteissa. Tällä hetkellä PCD:tä on testattu jätevesipitoisuuksia eritoten suuremmissa lääkeainepitoisuuksissa (nanogrammoista⁴⁰ kymmeniin ja muutamiin satoihin milligrammisiin, kun jätevesien lääkeainepitoisuudet ovat nanogrammoissa).³⁹

PCD:n laitteisto koostuu pulssigeneraattorista, plasmareaktorista ja vedenkierrätysjärjestelmästä (kuva 14). Pulssigeneraattori tuottaa korkeajännitteen (HV) taajuuksilla 50 – 833 pulssia per sekunti. Tällöin generaattorin teho vaihtelee noin 6 – 100 W välillä ja se tuottaa jännitepulsseja 22 kV amplitudilla, joiden kesto on 120 ns. Pulssit johdetaan kammioon kahden elektrodin kautta, jonne puhdistettava vesi johdetaan. Kammiossa on kaksi levyelektrodia, joihin on laitettu HV-lankaelektrodeja samansuuntaisesti. Vesi johdetaan

kammion yläosaan, josta se tippuu rei'itetyn välilevyn läpi noin metrin kammion pohjalle. Tällä matkalla se tulee kosketuksiin plasman kanssa. Kammion pohjalta vesi kerätään jatkuvassa kierrossa tankkiin, josta se palautuu takaisin kammion yläosaan. Laitteistossa pystytään siis kierrättämään vettä halutun aikaa tehostamaan pulssien hapettavaa vaikutusta. Yksittäisessä kierrossa pystytään myös ottamaan vesi ns. yhden kierron jälkeen pois, jolloin on voitu nähdä jo yhden kierron vaikutukset lääkeainepoistumaan. Jatkuvassa kierrossa on myös mahdollista vain kierrättää vettä plasman ollessa pois päältä, jolloin kierrossa oleva vesimassa tasoittuu ja on saatu otettua luotettavampi koko kierron kattava vesinäyte pitoisuuden tarkkailua varten.³⁹



Kuva 14: PCD-laitteisto.

PCD:lle on raportoituja tuloksia karbamatsepiinille ainakin kahdessa Ajon *et al*^{39,40} julkaisussa erilaisista jätevesistä. Käytössä on ollut Lappeenrannasta jäteveden puhdistuslaitokselta lähtevää jätevettä³⁹ ja lähtevää jätevettä Espoosta yksityisestä jätevedenpuhdistamolalta, joka toimii hoitolaitoksen yhteydessä sekä raakajätevettä suoraan Etelä-Karjalan julkisen sairaalan poistovirrasta.⁴⁰

Karbamatsepiinia on haluttu tutkia enenemissä määrin, koska se tyypillisesti kertyy luontoon. Sitä myös on tavattu aika paljon, sen suhteellisen korkean annostuksen takia, jätevesissä. Nykyinen jätevedenpuhdistusjärjestelmä perustuu kemiallisiin ja biologisiin prosesseihin. Tässä on toinen osasy syy karbamatsepiinin tutkimiselle, koska se ei hajoa kuin vähän kemiallisissa tai biologisissa prosesseissa. Karbamatsepiinista on myös havaittu muodostuvan jopa yli 30 erilaista metaboliittia eri vaiheissa prosessia, jolloin sen poissaaminen jätevedestä ei ole kovin yksinkertaista.³⁹

PCD:n on todettu poistavan hyvin karbamatsepiinia sekä synteettisistä, että niin sanotusta oikeasta jätevedestä. Sen energiatehokkuus on todettu paremmaksi hapetusmenetelmäksi kuin otsonointi³⁹, joka myös on hyvin kallis menetelmä.⁴⁰ PCD myös on hajottanut hyvin tehokkaasti karbamatsepiinin hajoamisessa muodostuvat välituotteet, mitkä on huomattu otsonoinnissa haastavimmiksi hajottaa. Tämä on selitettävissä PCD:n ominaisuudella muodostaa suuri OH-radikaalien hyökkäys neste-kaasu-faasin rajassa.³⁹

Ajon *et al*³⁹ PCD-tutkimuksessa on käytetty myös jäteveteen lisättyä karbamatsepiinia $5 \mu\text{g l}^{-1}$ tuntemattoman määrän lisäksi sen pitoisuuden lisäämiseksi ja karbamatsepiinin läsnäolon varmistamiseksi. Toisessa Ajon *et al*⁴⁰ tutkimuksessa taas on kokeiltu ultrasuodatuksen (UF, membraanisuodatus) vaikutusta PCD:llä saatuihin tuloksiin ennen PCD käsittelyä. Molemmissa on kokeiltu ns. jatkuvaa kiertoa ja toisessa³⁹ myös yksittäistä kiertoa.

Karbamatsepiinille on saatu suhteellisen hyvä hajoamisprosentti oikeastaan kaikilla kokeiluilla. Menetelmää optimoimalla on saatu jopa 100 % hajoamisprosentteja. Toisessa tutkimuksessa on saatu 97 % hajoamisprosentti $0,3 \text{ kWh m}^{-3}$ energialla $5,8 \mu\text{g l}^{-1}$ konsentraatiosta.³⁹ Toisessa tutkimuksessa raakajätevedestä on saatu 100 % hajoamisprosentti 30 W teholla sekä $0,5 \text{ kWh m}^{-3}$ että $1,0 \text{ kWh m}^{-3}$. Vastaavasti jo biologisesti puhdistetulle jätevedelle on saatu 100 % hajoamisprosentti 30 W teholla jo $0,1 \text{ kWh m}^{-3}$ energialla (100 % myös $0,5 \text{ kWh m}^{-3}$). Näihin ei ole vaikuttanut onko membraanisuodatusta tehty vai ei.⁴⁰

Yllä mainitussa Ajon *et al*⁴⁰ tutkimuksessa on tutkittu myös muiden lääkeaineiden kuin karbamatsepiinin hajoamista PCD menetelmällä. Kyseisessä tutkimuksessa on kierrätetty vettä 15 l min^{-1} jatkuvalla kierrolla ja ennen jokaista näytteenottoa vettä on annettu kierrättää

järjestelmässä plasman ollessa pois päältä 5 min ajan, jolla on varmistettu näytteen tasalaatuisuus. Tutkimuksessa käytetty vesi on ollut joko biologisesti puhdistettua lähtevää jätevettä tai keskussairaalaan tullutta puhdistamatonta raakajätevettä. Tutkimuksessa on testattu myös membraanisuodatuksen (UF, ultrafiltration) vaikutusta PDC:n puhdistusvaikutukseen.⁴⁰

Normaalit jätevedenpuhdistusmenetelmät eivät vaikuta antibiootteihin kovinkaan voimakkaasti. Antibiootteja poistuu kohtuullisesti vedestä, mutta puhdistuksen myötä ne kertyvät aktiivilietteeseen.³⁷ Antibioottien jääminen lietteeseen ja veteen lisää bakteeriresistentin kasvua. PCD:llä on saatu hyviä tuloksia niidenkin hapettumisesta. Raakavedestä antibiootteja (doksisykliini, metronidatsoli, ofloksasiini, siprofloksasiini, sulfametoksatsoli, tetrasykliini ja trimetopriimi) on havaittu pitoisuuksina 1,2 – 13 µg l⁻¹. Parhaimmat tulokset antibioottien hapettumisesta ja sitä kautta hajoamisesta on saatu yhdistämällä UF ja PCD 30 W teholla 1,0 kWh m⁻³, missä kaikki muut antibiootit ovat hapettuneet kokonaan paitsi metronidatsoli. Metronidatsoli on hapettunut näillä asetuksilla 36 %:sti.⁴⁰

Tutkimuksen tulokset osoittavat, että lääkeaineiden hapettuminen hiilidioksidiksi on suurimmaksi osaksi hyvin onnistunutta (100 %). Kuitenkin osa lääkeaineista kuten hydroklooritiatsidi, estrioli ja ibuprofeeni ovat osoittaneet konsentraation kasvua PCD-käsittelyn aikana ennemminkin kuin konsentraation vähentymistä. Lääkeaineen hapettuminen on kytköksissä selvästi PCD-menetelmässä käytettyihin asetuksiin. Tutkimuksessa on kokeiltu 30 W teholla 0,1; 0,5 ja 1,0 kWh m⁻³ energioita sekä 250 W teholla 0,5 ja 1,0 kWh m⁻³ energioita. Parhaimmat tulokset on saatu selkeästi 30 W teholla ja 1,0 kWh m⁻³ energiolla. Huonoimmat tulokset (pienet poistumisprosentit ja jopa konsentraatioiden kasvut) on saatu 30 W ja 0,1 kWh m⁻³. Tehon 250 W:n nostaminen ei paranna tuloksia. Se oikeastaan vain huonontaa tuloksia. Kun alhaisemmilla tehoilla (30 W) saadaan hyviä tuloksia, ei ole järkevää käyttää menetelmää niin korkeilla tehoilla. Parhaimman asetusten tulokset ovat koottuna Taulukossa 11. Taulukossa ei ole huomioitu UF:llä saatuja parannuksia. Kokonaisuudessaan tulokset voi katsoa Ajon *et al.* artikkelista *Hospital wastewater treatment with pilot-scale pulsed corona discharge for removal of pharmaceutical residues*.⁴⁰

Taulukko 11: Lääkeaineiden prosentuaalinen hajoaminen (hapettuminen) PCD-menetelmällä (30 W; 1,0 kWh m⁻³) Etelä-Karjalan julkisen sairaalan raaka-astejätevedestä

Lääkeaine	(%)	Lääkeaine	(%)
Bisoprololi	100	Hydrokortisooni	22
Kofeiini	19	Ibuprofeeni	50
Karbamatsepiini	100	Metoprololi	100
Siprofloksasiini	93	Metronidatsoli	18
Diklofenaakki	100	Naprokseeni	100
Doksisykliini	100	Ofloksasiini	100
Enalapriili	39	Parasetamoli	89
Entakaponi	100	Propranololi	100
Estrioli	100	Sulfametoksatsoli	100
Estroni	100	Tetrasykliini	91
Furosemidi	100	Trimetopriimi	100
Hydroklooritiatsidi	48	Sitalopraami	100

Tutkimuksessa on huomattu myös progesteronin ja metyyliprednisolonin kohdalla merkittävä ilmiö PCD-menetelmän kannalta. Metyyliprednisoloni on glukokortikoideihin kuuluva lääkeaine, jota käytetään useisiin eri tarkoituksiin. Sitä voidaan käyttää esimerkiksi alentamaan tulehdusta (esim. reuman hoito) ja lievittämään allergisia oireita. Progesteronilla ja metyyliprednisolonilla on samankaltainen rakenne, molemmat ovat steroidisia hormoneja. Kumpaakaan näistä ei ole löytynyt mittauksissa ennen PCD-käsittelyä. Kuitenkin käsittelyn aikana niiden pitoisuudet ovat kasvaneet koko käsittelyn ajan. Tutkijat arvelevat ilmiön syyksi metaboliittien hapettumisen takaisin lähtöaineiksi.⁴⁰

3.2.7. Haasteet

Nykypäivänä lääkeaineiden ja hormonien jätevedestä poiston suurin haaste lienee kaikesta huolimatta rahoitus ja lainsäädäntö. Vaikka tiede pystyy kehittämään erittäin hyviä menetelmiä lääkeaineiden ja hormonien poistoon jätevedestä, siitä ei ole mitään hyötyä, jos valtioilla ja yrityksillä ei ole intressiä niiden käyttöönottoon. Aatteellisesti intressejä varmasti on, mutta myös jätevedenpuhdistuksessa toimii voittoja tuottavia yrityksiä. Näistä harva tekee sitä pelkästään aatteiden perusteella omalla rahoituksella ilman varmuutta rahallisen hyödyn saamisesta.

Lainsäädäntö on aina hidasta, oli kyse mistä tahansa. On melkein sääntö eikä poikkeus, että jotain pahaa pitää tapahtua ennen kuin lainsäädäntöä herätään tekemään nopealla aikataululla.

Toinen vaihtoehto on, että tarpeeksi moni ihminen herää vaatimaan lakimuutosta. Lakia on hidasta muuttaa, ja sen muutosten toteuttamiseen käytännössä annetaan paljon aikaa. Yleensä ympäristöä koskevat muutokset ovat hinnakkaita yrityksille, koska voi olla, että esimerkiksi kokonainen tehdas joutuu muuttamaan kokonaan toimintatapansa tai prosessimenetelmän. Tästä syystä on ymmärrettävää antaa aikaa muutokseen. Yritykset, joiden koko yrityksen idea perustuu tekniikkaan, joka ei sovellu enää uuteen lainsäädäntöön, ovat yleensä suurimpia vastustajia ympäristölakien muuttamiseen, ja ihan ymmärrettävästi. On heille halvempaa tukea uuden lainsäädännön vastustamista kuin muuttaa koko prosessitekniikka. Kuitenkin joskus on väistämätöntä muuttaa lainsäädäntöä, että saadaan muutoksia aikaiseksi. Ympäristöongelmat kertyvät yleensä moninkertaisesti ihmiseen takaisin, halusimme sitä tai emme.

Jätevedenpuhdistuksessa lääkeaineiden ja hormonien osalta lainsäädäntö on vahvasti ongelmien takana, koska sitä ei juurikaan ole. On määrättyjä lääkeaineita ja hormoneja, joita kyllä seurataan mutta vain pintavesistöistä. Mitään maksimipitoisuuksia ei ole, kuinka paljon jäteveden puhdistuslaitokset saavat päästää lääkkeitä ja hormoneja prosessin läpi. Se on suuri ongelma. Vaikutukset vesistöihin voivat olla radikaalit. Mitä tapahtuu, jos hormonit kertyvät esimerkiksi kaloihin ja ihmiset syövät niitä? Puhumattakaan siitä miten ne vaikuttavat kaloihin. Mites antibioottiresistenssi? Jos antibioottijäämiä tulee paljon vesistöihin ja bakteerit kehittävät antibioottiresistenssin, onko kohta enää yhtään antibioottia jolle bakteerit eivät ole resistenssejä? Lääketeollisuuden suurin intressi ei enää juurikaan ole kiinnostus etsiä uusia antibiootteja ja bakteerikannat lisääntyvät jatkuvasti, jotka ovat resistenssejä nykyisille antibiooteille. Uusien antibioottien kehittäminen maksaa todella paljon, ja mitään takeita sen toimimisesta tai pitkäkestoisuudesta ei ole. Nykyään pyritään säästämään jo olemassa olevia antibiootteja ja vähentämään niiden tarpeetonta käyttöä, jotta resistenssien muodostumista ehkäistäisiin. Tällä hetkellä toivotaan, että tulevaisuudessa on myös antibiootteja, jotka tehoaisivat bakteereihin. Toivotaan, ettei tule tilannetta, jolloin pieneen pintahaavaan voi kuolla antibioottiresistenssin takia. Näiden lisäksi suurin osa suomalaisista saa juomavetensä pintavesistä. Kuinka moni suomalainen haluaa juoda tulevaisuudessa naapurin lääkejäämät?

Tärkeintä tässä tilanteessa olisi määrätä jätevedenpuhdistamoille haitallisista sekä paljon käytetyistä lääkeaineista ja hormoneista listaus, kuinka paljon tietyssä ajassa/määrässä saa kutakin yhdistettä olla puhdistetussa jätevedessä. Tällöin luodaan pakottava tilanne yrityksille ja valtiolle tehdä asioiden eteen töitä ympäristön, ja sitä kautta ihmisten tulevaisuuden puolesta. Tämä varmistaisi tulevaisuudessa uusien tieteen kehittämien tekniikoiden edelleenkehittämistä

edullisemmiksi sekä varmistaisi niiden käyttöönoton. Silloin tilanne ei olisi enää pelkästään tutkimusrahoitusten ja yksittäisten ihmisten kiinnostuksen varassa saada ihmisille puhtaampaa juomavettä ja ympäristöä.

Lainsäädännön ohella tutkimuksissa on huomattu yksi huolenaiheista erityisesti hormonien osalta. Hormonien konjugaattien on huomattu hajoavan biologisessa jätevedenpuhdistusprosessissa.¹ Osa estrogeeneista, mahdollisesti myös muita lääkkeitä, erittyy ihmiskehosta muun muassa glukuronidina.^{1,5,24} Biologisesti aktiivisessa lietteessä, jota käytetään jäteveden puhdistamiseen biologisena menetelmänä, *E.Coli*-bakteeri erittää β -glukuronidaasi entsyymiä, joka pystyy pilkkomaan ihmiskehossa muodostuneen metaboliitin takaisin aktiiviseksi hormoniksi. Tästä syystä on mahdollista, että puhdistusprosessin aikana hormoni määrä vain kasvaa.¹ Esimerkiksi on mahdollista saada influentista estrogeeneille jopa nollatulokset, mutta efluentissa estrogeeneja ilmeneekin.⁴⁰ Huolta aiheuttaa myös se, kun ajatellaan tilanne, jossa konjugoitunut hormoni pääsee luontoon, niin hajottaako luonnon omat bakteerikannat tai luontoon päässeet antibiootit ja hormonit takaisin aktiiviseen muotoon. Kuinka paljon tällainen tilanne vaikuttaa esimerkiksi vedenläviin hormonien ollessa hyvinkin vaikuttavia jo todella pienissä pitoisuuksissa (ehdotettu EQS 17β -estradiolille $0,08 \text{ ng l}^{-1}$)?

Hormonien konjugaattien hajoamisen ohella ollaan myös huolissaan siitä, minkälaisia sekoituksia lääketeet selvittessään jätevedenpuhdistuksen läpi sekä hajotessaan luonnonvesissä muodostavat.³⁵ Jonkun verran tiedetään yksittäisistä lääkkeistä ja niiden hajoamisesta, mutta tiedetäänkö tarpeeksi niiden yhteisvaikutuksista ja pitkäaikaisvaikutteista.

Yksi idea olisi tehostaa lääkeainejäämien poistamista, siirtää tehokkaat menetelmät jo sinne lääkeainejäämälähteelle, esimerkiksi sairaaloiden ja hoitolaitosten jätevedenpoistojärjestelmään. Tällä tavoin saataisiin poistettua lääketeet suuremmista pitoisuuksista, ennen kuin ne laimentuvat kunnalliseen laimeampaan jäteveteen.⁴⁰ Tähän tarjotaan ratkaisua myös tämän tutkielman kokeellisessa osassa.

4. 3D-tulostus

3D-tulostus (3D printing, AM additive manufacturing⁴¹) on nostanut suosiotaan kuluvaan vuosituhannen aikana.⁴² Suosion kasvua on nostanut ehdottomasti muun muassa 3D-tulostimien helppokäyttöisyys, kustannustehokkuus ja räätälöitävissä olevat muodot sekä korkea tarkkuus. 3D-tulostuksella on paljon kysyntää esimerkiksi biolääketieteen, elektroniikan ja ilmailutekniikan aloilla.⁴³ 3D-tulostukseen voidaan käyttää materiaaleja niin polymeereistä⁴⁴ biomateriaaleihin⁴¹ kuin metalleista⁴⁵ keraamisiin⁴¹ materiaaleihin.

3D-tulostusprosessi voidaan jakaa 4 osioon, joita ovat suunnittelu, viipalointi, 3D-tulostimen ohjelmointi ja tulostus sekä tulostetun kappaleen jälkikäsittely. Ensimmäisessä vaiheessa suunnitellaan tulostettava kappale tietokoneella (CAD, Computer-Aided Design) – muun muassa muoto, koko, yksityiskohdat. Vaihtoehtona omalle suunnittelulle on käyttää valmiita muiden suunnittelema malleja, joita löytää internetistä myös ilmaiseksi. Niitä voi käyttää sellaisenaan tai tehdä niihin omia muutoksia. Seuraavassa vaiheessa suunniteltu tuote pitää niin sanotusti viipaloida, eli muuttaa kappale sellaiseen muotoon, että 3D-tulostin ymmärtää sen. Toisin sanoen malli muutetaan G-koodiksi. Sitä tarkastelemalla pystytään näkemään tietokoneella, miten 3D-tulostin hahmottaa tulostettavan kappaleen ja kuinka se kerros kerrokselta tulostetaan. Kolmannessa vaiheessa tiedosto siirretään 3D-tulostimelle esimerkiksi muistikortin/tikun avulla ja asetetaan 3D-tulostimelle mahdolliset tarvittavat parametrit (esim. laserin teho). Näiden lisäksi kolmannessa vaiheessa tapahtuu itse kappaleen tulostus. Neljännessä vaiheessa kappale on tulostunut, ja riippuen laitteesta se on joko valmis tai vaatii jatkokäsittelyn, esimerkiksi pesun. Jälkikäsittely riippuu tulostusmateriaalin ja –tekniikan käytöstä. Esimerkiksi FDM:llä tulostetulle kappaleelle ei tarvitse välttämättä tehdä mitään tulostuksen jälkeen, kun taas SLA:lla tulostettu kappale tulee käsitellä erikseen (kts. SLA).⁴²

4.1. Eri 3D-tulostus tekniikat

3D-tekniikat luokitellaan ISO (International Organization of Standardization) ASTM:n (American Society for Testing and Materials) standardiin 52900:2015 mukaan. Luokittelu tapahtuu tekniikan ja sen pintakerrosten muodostumisen mukaan. 3D-tulostuksessa on monia parametreja, joita seuraamalla pystytään arvioimaan tulostuksen onnistumista ja laadukkuutta. Tärkeimpiä parametreja ovat muun muassa valmistumisnopeus ja resoluutio.⁴¹

Seuraavissa kappaleissa käsitellään lyhyesti muutamia 3D-tulostusmenetelmiä yleisen kuvan antamiseksi 3D-tulostamisen mahdollisuuksista. Viimeisenä käsitellään SLS-tekniikka, jota käytettiin myös tämän tutkielman kokeellisessa osassa. Taulukossa 12 on esitetty vielä kokoavasti näiden tulostustekniikoiden hyviä ja huonoja puolia.

Taulukko 12: FDM:n, SLA:n ja SLS:n hyviä ja huonoja puolia⁴². Taulukon muotoilu viitteestä⁴²

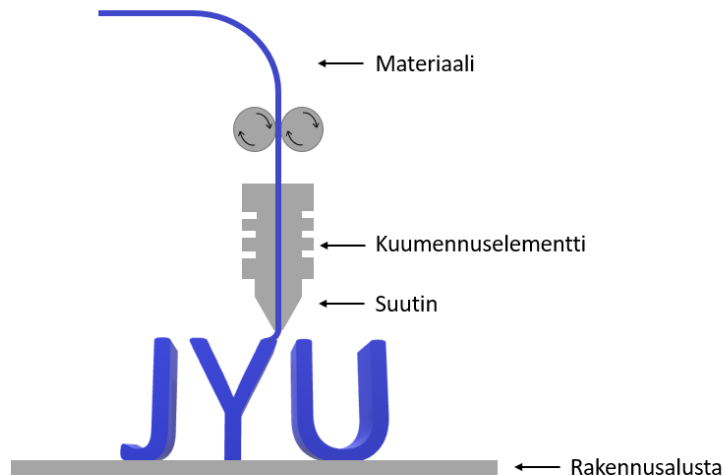
Tekniikka	Periaate	Edut	Haitat
FDM	Materiaalin pursotus	<ul style="list-style-type: none"> · Yksinkertaisuus · Edullinen laitteisto · Laaja materiaalivalikoima 	<ul style="list-style-type: none"> · Hankala muokata tulostettavia materiaaleja · Resoluutio · Kappaleet yleensä kiinteitä (ei huokoisuutta)
SLA	Polymerisaatioreaktio laserin avulla	<ul style="list-style-type: none"> · Korkea resoluutio · Kappaleet voivat olla läpinäkyviä · Helppo lisätä lisäaineita · Edullinen laitteisto 	<ul style="list-style-type: none"> · Materiaalin käsittely · Edellytykset materiaalin fotopolymerisaatiolle · Kappaleet yleensä kiinteitä (ei huokoisuutta)
SLS	Selektiivinen lasersintraus	<ul style="list-style-type: none"> · Tulostettavan materiaalin muokattavuus · Säädettävä rakenne ja huokoisuus · Laaja materiaalivalikoima 	<ul style="list-style-type: none"> · Materiaalin käsittely · Kallis laitteisto

4.1.1. Fused Deposit Modeling (FDM)

FDM (Fused Deposit Modeling) kuuluu yleisimpiin 3D-tulostustekniikoihin tällä hetkellä. Ne ovat laajalti helppokäyttöisiä laitteita ja siihen on saatavilla hyviä ohjeita.⁴² FDM-tulostimet ovat edistyneen tulostustekniikan ja pienikokoisuutensa takia myös kustannustehokkaita kuluttajalle. Pienikokoisuus ja tulostusmateriaali takaavat tulostimen helpon sijoittelun, sitä voi käyttää pienemmissäkin tiloissa eikä se vaadi erikoisjärjestelyjä esimerkiksi ilmaston

suhteen. Tekniikka ei myöskään vaadi tulostetulle kappaleelle jälkikäsittelyjä, vaan kappale on valmis käytettäväksi heti tulostuksen jälkeen.⁴²

FDM:ssä käytetty materiaali tulee nauhamaisessa muodossa suuttimeen, jossa on ensin kuumennuselementti, joka kuumentaa materiaalin yli sen sulamispisteen. Tällöin se pystytään puristamaan ohuen suuttimen läpi (kuva 15). Laitteesta riippuen kappaleen muodostuminen tapahtuu kerros kerrokselta rakennusalustan päälle joko suutinta ja/tai rakennusalustaa liikuttamalla.⁴²



Kuva⁴² 15: FDM-laitteiston toimintaperiaate.

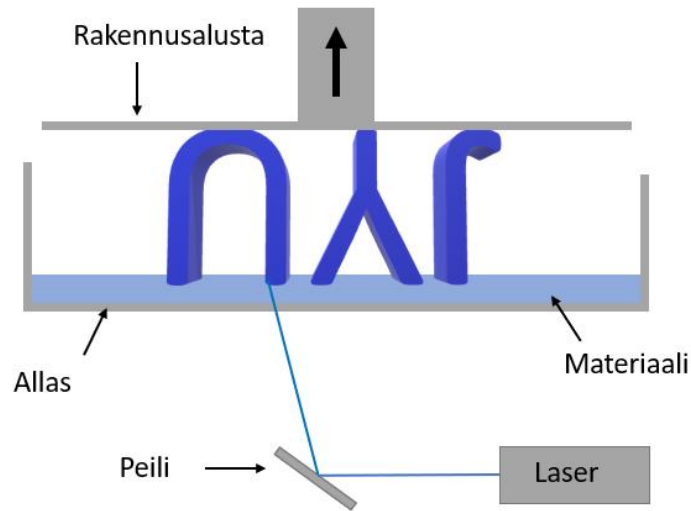
FDM:ssä käytetään nykyään jo monia eri materiaaleja, mutta perinteisiä ovat muun muassa akrylinitriilibutadieenistyreeni (ABS, acrylonitrile butadiene styrene) ja polylaktidi (PLA, polylactic acid).⁴⁴ Näistä PLA on edelleen hyvin suosittu sen edullisuuden ja helpon käytettävyyden takia.⁴² Näiden lisäksi on kehitelty paljon lisäaineita perusmateriaalien kanssa yhdessä käytettäväksi. Näiden lisäaineiden lisäyksillä saataisiin tulosteisiin lisää haluttuja ominaisuuksia. Esimerkiksi Leigh *et al.* tutkimuksessaan lisäsivät polykarbolaktionin (PCL) joukkoon hiilimustaa (Carbon Black, CB), jotta he saivat aikaan johtavan materiaalin.⁴⁶

FDM:llä on helppo tuottaa sellaisia kappaleita, joiden tuottaminen muilla keinoilla voisi olla haastavaa. Sen haasteita ovat esimerkiksi materiaalien (filamenttien) vaikeampi yksilöinti ja resoluutio.⁴² Vaikeampi yksilöinti kuvaa sitä, että materiaaliin ei pysty nopeasti ja helposti lisäämään lisäaineita tai sekoittamaan kahta materiaalia toisiinsa. Resoluutio FDM:ssä määräytyy esimerkiksi suuttimen koon mukaan, jolloin pienien yksityiskohtien tulostaminen voi olla haastavaa. FDM:llä on myös hankala saada huokoisia rakenteita aikaiseksi, mitä esimerkiksi SLS:llä voidaan tuottaa.

4.1.2. Stereolitografia (SLA)

SLA (Stereolitografia) on ensimmäisiä 3D-tulostusmenetelmiä ja edelleen yksi käytetyimmistä menetelmistä. SLA:ssa käytetään nestemäisiä materiaaleja kuten hartsia. Laitteessa on allas, johon materiaali laitetaan ennen tulostamista huomioiden kappaleen materiaalinkulutus. Rakennusalusta, johon tulostettu kappale kiinnittyy, lasketaan materiaaliin kiinni. Tulostuksessa käytetään hyödyksi materiaalin valopolymerointireaktiota, eli materiaali kovettuu, kun siihen osoitetaan UV-alueella olevan laserin säteitä peilin avulla. Toisin sanoen kappaleen tulostus tapahtuu rakennusalustaa vasten laserin avulla kovettamalla materiaalia kerros kerrokselta samalla nostaen rakennusalustaa. Kappale tulostuu yleensä ylösalaisin alustalle (kuva 16).⁴²

SLA:n etuna on, verrattuna esimerkiksi FDM:ään, sen suuri resoluutio. Toisin sanoen sillä tulostetut kappaleet ovat paljon tarkempia kuin FDM:llä tulostetut.⁴² SLA:n rajoituksena ovat materiaalit, joita on rajallisesti. Uusia materiaaleja kehitetään koko ajan, jotka voisivat toimia SLA:lla. Jokainen materiaali antaa hieman eri ominaisuuksia tulostettuun kappaleeseen. SLA:lla valmistettuja kappaleita voidaan käyttää esimerkiksi apuna lääketieteellisissä operaatioissa kuten leikkauksissa ja niiden suunnittelussa. Tulosteita käytetään paljon myös esimerkiksi kuulolaitteiden valmistuksessa. Tietokoneohjelmien kehittyessä voidaan tulostaa potilaan tiedoilla suoraan sopivia lääketieteellisiä apuvälineitä.⁴⁷



Kuva⁴² 16: SLA-laitteiston toimintaperiaate.

SLA eroaa muista 3D-tulostustekniikoista eniten jälkikäsittelyn osalta. Kuten FDM:ssä SLA:lla tuotettu kappale ei ole valmis käytettäväksi heti tulostuksen jälkeen, vaan on edelleen nestemäisen materiaalin peitossa. Ylimääräisen materiaalin saamiseksi kappaleen pinnalta pois kappale pestään huolellisesti, yleensä vuorotellen etanolissa (tai isopropanoli) ja vedessä useamman kerran. Tämän jälkeen kappale vielä kovetetaan kestävämmäksi kammiassa, johon johdetaan UV-valoa. SLA:ta tulisi käyttää erillisissä sille tarkoitettussa tilassa, kuten vetokaapissa. Hartsin ja liuottimien kanssa se on työturvallisuuden kannalta suotavaa.⁴²

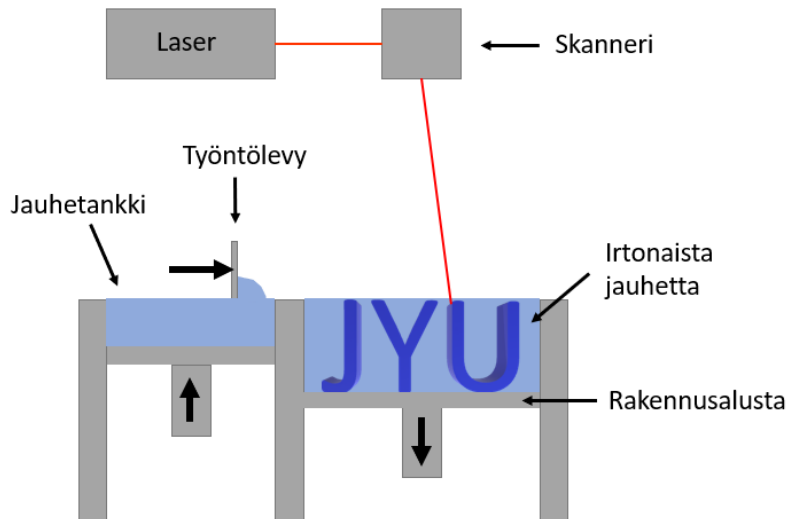
4.1.3. Selektiivinen lasersintraus (SLS)

SLS:n (Selective Laser Sintering) etuja on materiaalina käytetyn jauheen antama tuki kappaleelle. FDM:ssä ja SLA:ssa joidenkin kappaleiden (esimerkiksi pitkät raot tai jyrkät kulmat) tulostamisessa voi tarvita tukirakenteita tulostumisen onnistumiseksi. SLS:ssä niitä ei tarvita, koska tulostuva kappale on koko ajan irtonaisen jauheen ympäröimänä. SLS-laitteessa on rakennusalusta, jolle kappale tulostuu. Sitä liikutetaan tulostuksen edetessä alemmas. Rakennusalustan vieressä on yksi tai kaksi jauhetankkia, josta laite työntölevyllä siirtää irtonaista jauhetta rakennusalustan päälle. Jauhetankkeja nostetaan sen verran ylöspäin

tulosteen edetessä, että saadaan rakennus-alustan päälle halutun paksuinen tasainen kerros uutta jauhetta. Rakennus-alustaa taas lasketaan aina yhden kerroksen välissä sen verran alaspäin, ettei työntölevy osu tulosteisiin vaan siihen saadaan levitettyä tasainen kerros. Rakennus-alusta ja jauhetankit on sijoitettu laitteen sisällä olevaan kammioon, jonka lämpötilaa säädellään käytetyn materiaalin mukaan. Lämpötila säädetään lähelle materiaalin sulamispistettä. Rakennuslevyn yläpuolelle on sijoitettu laseri, joka aiheuttaa lämpötilan nousun jauheessa siihen kohtaan mihin se osuu (kuva 17). Tämän seurauksena käytetty materiaali sulaa ja muodostuu tulostettava kappale. SLS:ssä pystytään määrittämään kuinka paljon laseri sulattaa materiaalia. Tällöin pystytään vaikuttamaan kappaleen fysikaalisiin ominaisuuksiin, kuten sen huokoisuuteen. Esimerkiksi SLS:llä voidaan tulostaa kappaleita, jotka on sivureunoilta sulatettu kokonaan ja keskeltä jätetty huokoiseksi. Tällöin voidaan kappaleen läpi johtaa esimerkiksi vettä, mutta vesi ei pääse kappaleen reunoilta ulos.

Jauhemaisella materiaalilla on myös huonot puolet. Yksi niistä on se, että materiaalia tarvitaan paljon kappaleen kokoon nähden, koska koko rakennus-alusta tulee täyttää jauheella. Onneksi sulamatonta jauhetta voidaan kuitenkin joissain määrin käyttää uudestaan. Yleisin materiaali SLS:llä on Polyamidi-12 (PA12, nylon). Sen hyviä puolia on edullisuus ja helppo tulostettavuus. Muita materiaaleja ovat esimerkiksi polypropeeni, polyuretaani ja polystyreeni. SLS:ssä myös lisäaineiden käyttö on hyvin helppoa. Kunhan lisäainemateriaali saadaan tarpeeksi pieneen partikkelikokoon (noin 50 µm) ja se ei häiritse merkittävästi materiaalin sulamisprosessia, lisäaine voidaan yksinkertaisesti vain sekoittaa materiaalin joukkoon halutulla suhteella.⁴²

SLS-laitteelle on myös hyvin suositeltavaa erilliset sen käyttöön tarkoitetut tilat, koska materiaalina käytetty jauhe on hyvin pölymäistä ja helposti leviävää. Myös valmiit kappaleet ovat jauheen keskellä ympäröitynä irtonaisella jauheella, ja ne on puhdistettava jauheesta ennen käyttöä. SLS-laitteet ovat myöskin kalliimpia verrattuna muihin (SLA, FDM) 3D-tulostimiin, mikä rajaa niiden käyttöä.⁴²



Kuva⁴² 17: SLS-laitteiston toimintaperiaate.

4.2. 3D-tulosteiden käyttökohteita

3D-tulosteita on nykypäivänä käytetty jo hyvin monenlaisiin tarkoituksiin niin lääketieteessä kuin luonnontieteiden tutkimuksessa. Seuraavissa kappaleissa esitellään muutamia käyttökohteita, joihin 3D-tulosteita on käytetty.

4.2.1. Metallien sieppaus

3D-tulosteita on käytetty jonkun verran eri metallien poistoon ja talteenottoon. Tutkimuksessa⁴⁸ tutkijat analysoivat merivesinäytteistä hivenaineita (Mn, Ni, Cu, Zn, Cd ja Pb). 3D-tulosteiden rooli analyysissä on ollut olla näytteen esikäsittelyssä selektiivisesti erottamassa hivenaineita sekä vastaavasti poistamassa ei-toivottuja suolamatriiseja. Analysointi on tehty ICP-MS -laitteella. Yleensä merivesianalyseissa on käytetty esikäsittelynä kiinteää faasiuuttoa (SPE). SPE:ssä on käytetty ioninvaihtohartseilla täytettyjä kolonneja tai patruunoita. Tämän huonoja puolia on kuitenkin taipumus matriisivaikutuksiin, rajallisesti saatavilla olevan kolonnin mitat, erityiset ajo-olosuhteet menetelmälle ja kalliit kustannukset.⁴⁸

Esikonsentraattori on tulostettu stereolitografisella 3D-tulostimella. Materiaalina he käyttivät hartseja, jotka sisältävät erilaisia akrylaatteja. Malliltaan esikonsentraattori on puikulainen uuttokanava, johon on tulostettu pieniä kuutioita (0,4 mm x 0,4 mm x 0,2 mm). Yhteen uuttokanavaan mahtuu 526 kuutiota. Näytekäsittelyssä happamuuden säätöön on käytetty fosfaattipuskuriliuosta, jota on sumutettu näytteen joukkoon (online). Sen jälkeen näyte on ajettu esikonsentraattoriin, josta erotetut hivenaineet on eluoitu 0,5 % typpihapolla suoraan ICPMS-laitteelle.⁴⁸

Esikonsentraattoriin käytetyt materiaalit ovat sisältäneet elektroneita luovuttavia ryhmiä (donor), jotka vuorovaikuttavat metalli-ionien kanssa sitoen niitä liuksesta. Erottuminen metalleille on ollut parhainta neutraaleissa tai lievästi emäksisissä olosuhteissa (pH 8). Tutkimuksessa tulostukseen käytettyjen materiaalien lisäksi ei ole tarvittu muita funktionaalisia aineita hivenaineiden erottumisen onnistumiseen. Myöskään laitteisto ei vaadi ajolaitteistolta niin paljon kuin SPE-laitteisto. Tutkijoiden mukaan esikonsentraattorit sopivat myös korkean suolapitoisuuden omaavien näytteiden analysointiin. Esikonsentraattoreiden herkkyyttä ja toimivuutta on testattu erilaisista näytteistä referenssiaineilla sekä merivesinäytteillä. Niiden havaitsemisrajat ovat olleet myös samansuuruisia kuin yleisimmillä samaan tarkoitukseen käytettävillä laitteilla.⁴⁸

Tämän tutkielman kokeellisessa osassa hyödynnettiin vastaavanlaisia sieppareita hormonien talteenottoon kuin seuraavassa tutkimuksessa⁴⁹. Siinä tutkijat ovat selvittäneet mahdollisuuksia kullan talteenottoon elektroniikkaromusta. 3D-tulostettu sieppari on voitu yksinkertaisesti vain upottaa puhdistettavaan liukseen tai syöttää liuos siitä läpi. Talteenotetut metalli-ionit on voitu eluoida siepparista pois, jonka jälkeen sieppari on voitu käyttää uudelleen.⁴⁹

Tutkijat ovat käyttäneet sieppareiden materiaalina nailonjauhetta (PA12). Heidän mukaansa kulta sitoutuu sieppariin selektiivisesti. Liuksissa kulta on muodossa $[\text{AuCl}_4]^-$. Sitoutumisen on arveltu tapahtuvan kultakompleksin kloorin ja nailonin amidiryhmän vedyn välillä. Selektiivisyyden on arveltu johtuvan kultakompleksin varauksesta ja sen muodosta (tasoneliö). Tutkijat ovat testanneet kullan talteenottoa ensin jauhamisella PA12:ta sekä synteettisellä että elektroniikkaromusta (piirilevyistä) uutetulla näytteellä. Molemmat liukset ovat sisältäneet paljon muitakin metalleja kuten nikkeliä, sinkkiä, rautaa ja kuparia. PA12:sta tarttui synteettisestä liuksesta 96,4 % kullasta ja 4,6 % platinasta, muita metalleja ei juurikaan ole

havaittu. Vastaavasti elektroniikkaromusta uutetussa liuoksesta kultaa on talteenotettu 77,8 % ja tinaa 1,6 %. Varsinaiset siepparit on tulostettu SLS:llä. Siepparit ovat olleet 35 mm korkeita ja halkaisijaltaan 27 mm olevia lieriöitä, joiden sisällä on ristikko. Näyteliuos on syötetty sen läpi yhden kerran, jolloin 10 ml:n näyte on kosketuksissa siepparin kanssa noin 3-5 sekuntia. Tällöin kullan sieppausprosentti on 27,2 %. Tällaisia sieppareita on laitettu päällekkäin, jolloin sieppausprosentti on muuttunut kolmelle siepparille 47,8 %:n ja kymmenelle siepparille 82,7 %:n. Kymmenen siepparin testissä näytteen kosketusaika sieppariin on ollut noin 30 sekuntia. Tulokset ovat osoittaneet 3D-siepparin toimivan erinomaisesti suhteellisen pienellä näytekäsittelyllä ja kullalle selektiivisesti.⁴⁹

Vastaavasti tutkimuksessa⁵⁰ tutkijat ovat hyödyntäneet tietoa kullan talteenotosta 3D-sieppareilla (yllä esitelty artikkeli) ja ovat selvittäneet 3D-sieppareiden käyttöä katalyyttinä reaktioissa kullan talteenoton jälkeen. Yllä esitellyssä artikkelissa kultaa on saatu siepattua selektiivisesti 3D-sieppareihin suhteellisen helposti ja edullisesti. Kyseisessä tutkimuksessa tutkijat ovat pelkistäneet kullan siepparissa, jolloin saadaan polymeerin tarttuneita kultananopartikkeleita. Tällaiset 3D-tulostetut kappaleet voisivat siis toimia katalyyttinä reaktiossa, joihin tarvitaan kultaa katalyytiksi. 3D-tulostusta käyttämällä on pystytty myös helposti päättämään millaisessa muodossa katalyytti on laitettu reaktioseokseen, mikä ei välttämättä muilla menetelmillä ole mahdollista.⁵⁰ Kyseisten tutkimusten tulokset osoittavat 3D-sieppareiden jatkokäytön mahdollisuudet. Tämä on tärkeää pohjatietoa tässä tutkielmassa käytettävien vastaavanlaisten 3D-sieppareiden jatkokäsittelykestoja ajatellen (uudelleenkäyttö).

Kyseisessä tutkimuksessa tutkijat ovat tulostaneet erilaisia 3D-kappaleita SLS:llä PA12:ta, jotka on altistettu $[\text{AuCl}_4]^-$ -anionille joko synteettisellä liuoksella tai elektroniijätteestä saadulla vastaavalla kultakompleksilla. Näille on kokeiltu erilaisia pelkistysmenetelmiä ja on seurattu niiden vaikutusta kultapartikkelien kokoon. Pelkistysä on tehty altistamalla 3D-tulosteet NaBH_4 -liuokselle (0,5 M), askorbiinihapolle (0,5 M), 30 % vetyperoksidille, UV-valolle (405 nm) ja kuumentamalla 110 °C. Altistuksille on testattu erilaisia altistusaikoja, jotka vaihtelivat altistuksesta riippuen 1 – 60 min. Altistusten aikana 3D-tulosteiden väri on muuttunut, joka on kuitenkin linjassa synteettisen tai elektroniikkajätteestä peräisin olevan kullan kanssa. Tämä on osoittanut sen, että elektroniikkajäte on yhtä käyttökelpoinen kullan lähteeksi kuin synteettinen liuos. 3D-katalyyttien toimintaa on testattu 4-nitrofenolin pelkistysreaktiolla 4-aminofenoliksi. Katalyytin läsnä ollessa reaktiot ovat olleet täydelliset noin 2 tunnin kuluessa. Vastaavasti ilman

katalyyttiä reaktio ei ollut alkanut. Lämmityksellä pelkistetty katalyytti on vaatinut kauemmin aikaa kuin muut pelkistystavat, mutta sekin on toiminut pidemmällä reaktioajalla.⁵⁰

Vastaavasti tutkimuksessa⁵¹ tutkijat ovat selvittäneet SLS:llä tulostettujen 3D-sieppareiden mahdollisuuksia myös muille arvometalleille kuin kullalle, esimerkiksi palladiumille ja platinalle. Kyseisessä tutkimuksessa sieppareiden materiaalina on käytetty PA12:sta sijasta polypropeenia ja 10 massaprosenttia tyypin 1 -anioninvaihtohartsia (Dowex 21K). Polypropeeni on toiminut tässä tapauksessa tukimateriaalina varsinaiselle kemiallisesti aktiiviselle anioninvaihtohartsille. Tarkoituksena on ollut saada elektroniikkajätteen suotovesistä kustannustehokkaasti ja selektiivisesti siepattua palladium ja platina. Sieppareiden toimintaa on testattu myös synteettisellä näytteellä, jonka metallipitoisuudet on skaalattu vastaamaan keskimääräistä elektroniikkajätteistä tullutta näytettä.⁵¹ Kyseinen tutkimus osoittaa sen, että vaihtamalla 3D-sieppareiden materiaalia ja lisäämällä siihen lisäaineita, voidaan saada siepattua erilaisia aineita ja yhdisteitä sieppariin. Tutkimus myös osoittaa sieppareiden olevan uudelleenkäytettäviä.

Synteettisestä näytteestä tutkijat ovat saaneet siepattua 96 % palladiumista ja 98 % platinasta. Muista metalleista sieppari ei ollut siepannut kuin noin 50 % tinasta ja 10 – 22 % lyijystä ja sinkistä. Nämä kuitenkin on saatu vesipesulla tarvittaessa siepparista pois, jättäen jäljelle vain palladiumin, platinan ja mahdollisesti pienen epäpuhtauden tinaa. Vastaavasti elektroniikkajätenäytteestä kullan poiston jälkeen on talteenotettu yli 79 % palladiumia ja 89 % platinaa. Myös nämä siepparit ovat uudelleenkäytettäviä. Platina ja palladium on saatu siepparista pois tiourealiuoksella. Palladium ja platina on ollut mahdollista saada erilleen toisistaan käyttämällä eri vahvuista tiourealiuosta (0,1 M Pd ja 0,3 M Pt). Epäpuhtautena sieppariin jäänyt tina on pystytty saamaan erilleen platinasta ja palladiumista eluoimalla se 4,5 M typpihapolla pois siepparista. Eluoinnin jälkeen siepparit on pitänyt käsitellä 0,1 M suolahapolla ennen uudelleenkäyttöä. Siepparien kapasiteetiksi on saatu noin 11 massaprosenttia anioninvaihtohartsin massa verrattuna. Tutkimuksen perusteella on voitu sanoa 3D-sieppareiden toimivan selektiivisesti myös platinan ja palladiumin talteenotossa, sekä ne on pystytty erottamaan siepparista toisistaan. Sieppareita on pystytty käyttämään myös muunlaisiin liuoksiin/lähteisiin kuin elektroniikkajätteeseen.⁵¹

4.2.2. Hormoninäytteiden esikäsittely ja vesinäyteapplikaatiot

Tutkimuksessa⁵² tutkijat ovat kehittäneet 3D-tulostamalla hormonien mittaukseen esikäsittelymenetelmän biologisista näytteistä. 3D-tulostuksella on haettu esikäsittelyyn edullista ja ympäristö- sekä ihmisystävällistä esikäsittelymenetelmää LC-MS -analyysiin (nestemäinen kromatografi + massaspektrometri).⁵²

Tutkijat ovat tulostaneet menetelmään 3D-tulostimella (FDM) LayFOMM 60®-materiaalista sorbentteja. Materiaali tulostuu kovaksi, mutta altistaessa sitä vedelle ja ultraäänihauteelle se muuttuu joustavaksi, elastiseksi ja huokoiseksi. Tällaisen käsittelyn jälkeen materiaalista on tehty 5 mm korkea ja 0,2 mm paksu rengas asetetaan mikrosentrifuugiputkeen ja sinne on lisätty haluttu näyte. Näyte voi sisältää useita hormoneja kuten kyseisessä tutkimuksessa se on sisältänyt kortisolia, testosteronia, aldesteronia, dihydrotestosteronia ja estradiolia. Putkea mikrosentrifuugattiin, jotta näytteestä mitattavat yhdisteet (hormonit) ovat siirtyneet 3D-tulostettuun sorbenttiin. Tämän jälkeen ylimääräinen näyte on poistettu putkesta, tai vaihtoehtoisesti sorbentti on siirretty puhtaaseen putkeen. Sen jälkeen putkeen on lisätty liuotinta, johon hormonit ovat siirtyneet sorbentista. Näin saatu liuos sisältää näytteen mitattavat hormonit ja se on siirretty mahdollisesta biologisesta näytteestä analysointikelpoiseen liuottimeen. Talteenotot 3D-sorbenttiin ovat olleet kortisolille 24,8 %, testosteronille 77,1 %, aldesteronille 19,3 %, dihydrotestosteronille 84,9 % ja estradiolille 81,3 %.⁵²

Vastaavasti artikkelissa⁵³ tutkijat ovat tutkineet samanlaisilla sorbenteilla glimepiridin (diabeteslääke) tarttumista sorbenttiin vesinäytteestä. Tälle kiinnittymismekanismiksi on esitetty glimepiridin lipofiilisyyttä ja sen jakautumista sorbentin ja näytefaasin välille. Tutkimuksessa on saatu glimepiridille talteenotto prosentiksi 82,24 % hyvällä toistettavuudella.⁵³ Nämä kaksi tutkimusta osoittavat hormonien pystyvän siirtymään 3D-tulostettuun kappaleeseen, mitä haetaan tämän tutkielman kokeellisessa osassa.

Tutkimuksessa⁵⁴ tutkijat ovat selvittäneet EDC-aineiden E1, E2 ja EE2 poistamista erilaisista vesinäytteistä. Tutkijat ovat selvittäneet näiden hormonien sitoutumista polyamidi 6:seen (PA6), mikä on myös tyypillinen 3D-tulostusmateriaali. Sitoutumismekanismiksi tutkijat ovat selvittäneet EDC-aineiden adsorptiolle PA6:seen vetysitoutumisen. Hormonit ovat sitoutuneet

hydroksyyliiryhmästäan vetysidoksella PA6:sen amidiryhmään. Adsorptioon on vaikuttanut myös näytteen pH. Hormonien pKa-arvot ovat olleet noin 10,5. Kun pH nousee yli yhdisteen pKa:n deprotonaatio lisääntyy. Tämä lisää yhdisteiden vesiliukoisuutta. Alle yhdisteen pKa-arvon ne pysyvät ionisoitumattomassa muodossa, missä vastaavasti adsorptio PA6:seen lisääntyy. Hormonien selektiiviseen adsorptioon ei ollut vaikuttanut merkittävästi erilaiset vesimatriisit, esimerkiksi jätevedet.⁵⁴ Kyseinen tutkimus osoittaa hormonien kykenevän sitoutumaan polyamidi6:n (PA6). Tämän tutkimuksen kokeellisessa osassa käytetään PA12:sta, joka on samankaltainen polyamidi kuin PA6. Tutkimus lisää ymmärrystä siitä, millä tavalla hormonit mahdollisesti sitoutuvat siepparimateriaaliin.

4.2.3. 3D-tulosteet lääketieteellisissä projekteissa

Viime vuosina on aloitettu hyödyntämään 3D-tulostuksen tuomia mahdollisuuksia myös erilaisissa lääketieteellisissä projekteissa.^{47,55} Tässä kappaleessa esitellään lyhyesti muutamia erilaisia projekteja, missä 3D tulostusta on hyödynnetty lääkkeiden ominaisuuksien parantamiseen. Näiden tutkimusten tarkoituksena on laajentaa ymmärrystä, millaisiin kohteisiin 3D-tulostusta voidaan käyttää lääkeaineiden osalta.

Nykyään on huomattu yksilöiden välillä suuria eroja lääketieteellisessä hoidossa. Potilaiden erilaiset taustat, fysiologiset (pituus, paino) ja aineenvaihdunnalliset (metabolia, sairauksien ja lääkkeiden yhteisvaikutukset), aiheuttavat ongelmia lääkkeellisen hoidon onnistumiseen. Esimerkiksi sivuvaikutusten määrä voi kasvaa kohtuuttoman suureksi vasteeseen nähden. Tästä syystä on aloitettu kokeilemaan 3D-tulostettuja lääkkeitä, joissa pystytään huomioimaan yksilöllisesti tai väestöryhmittäin kunkin potilaan tiedot.⁵⁵

FDM tarjoaa 3D-tulostetuille lääkkeille hyvän mekaanisen lujuuden sekä sillä on mahdollista saada erilaisia lääkeaineen vapautumisprofiileja muuttamalla tabletin täyttöprosenttia, 3D-mallin suunnittelua tai tabletin pinta-alaa. Haasteita FDM:ssä on tässäkin rajalliset materiaalivaihtoehdot. Lääkkeiden tekemiseen on tarvittu hyvät sulan materiaalin viskositeettiominaisuudet pursottamista varten sekä materiaalilla ei saa olla liian korkea sulamispiste. Materiaalin tulee olla myös biohajoava, kuten esimerkiksi PLA. FDM on yleisin tutkimuksen kohde lääkkeitä tulostaessa sen pystyessä tuottamaan monimutkaisia geometrisia

rakenteita lääkkeisiin. Toisaalta FDM:ssä pitää parantaa laatua ja nopeutta, jotta sitä voitaisiin käyttää onnistuneesti kliinisessä käytössä.⁵⁵

SLA:n etuna lääkkeiden tulostuksessa on sen korkea resoluutio sekä matalat prosessilämpötilat. Kun käytetään matalia lämpötiloja tulostuksessa, on ollut mahdollista tulostaa myös sellaisia lääkkeitä, joiden termostabiilisuus ei ole kovin korkea. SLA:lla on voitu helposti sekoittaa lääkeaine fotopolymeerin kanssa keskenään tulostettavaksi materiaaliksi. Huonoja puolia on fotopolymeerien rajallisuus ja näitä ei ole pidetty turvallisina käyttää ihmisellä. Myös niihin saatava lääkeaineen täyttöprosentti on alhainen. Tällä hetkellä lääkkeiden valmistuskäyttöön on kehitetty muun muassa poly(etyleeniglykoli)diakrylaatti (Poly(ethylene glycol) diacrylate, PEGDA), ja SLA on yksi käytetyimmistä tekniikoista lääketieteellisessä biotekniikassa.⁵⁵

3D-tulostettuihin lääkkeisiin on voitu käyttää muutamia materiaaleja. Näitä ovat muun muassa PVA (Polyvinyylialkoholi), PLA ja PCL. PVA on vesiliukoinen synteettinen polymeeri, jota on onnistuneesti käytetty muun muassa FDM-tekniikalla lääkkeiden valmistamiseen. Tällöin lääkeaine on voitu ladata materiaaliin pitämällä sitä lääkeaineella kyllästetyssä liuoksessa. Sen jälkeen materiaali on kuivattu ja tulostettu normaalisti. Tällöin materiaalin lääkeainekuormitus voi olla jopa 10%. Raportoituja tuloksia on noin 0,24 % ylöspäin. Matalampipitoisten materiaalien lääkkeen vapautumista säädetään hitaammaksi. PLA on todettu soveltuvan erilaisiin lääketieteellisiin 3D-tulosteisiin, kuten lääkkeisiin, kudostekniikkaan ja haavojen hallintaan. Sen hyviä puolia on esimerkiksi se, ettei se metaboloitu elimistössä myrkyllisiksi aineiksi, eikä tuota myrkyllisiä tai karsinogeenisiä vaikutuksia ihmiselle. PLA:n lääkeainekuormitus on noin 1 % luokkaa. PCL taas sopii yhteen monien muiden materiaalien kanssa, ja sillä on alhainen sulamispiste. Sitä käytettäessä tulostettavaan lääkkeeseen on voitu lisätä nanokapseleita, minkä avulla lääkeainekuormitus on voitu saada jopa 50 %:n. Lääkkeiden, joissa on käytetty nanokapseleita, lääkeaineen vapautus on kuitenkin nopeampaa kuin pelkällä PCL tehdyillä lääkkeillä.⁵⁵

3D-tulostuksella on voitu tuoda vaihtoehto suussa hajoaville kalvoille, joita käytetään lääkeaineiden annostelemiseen nielemisvaikeuksisille potilaille. Kalvot hajoavat tai liukenevat nopeasti suussa, jolloin lääkeaine vapautuu elimistöön. Yleensä näitä kalvoja on tehty valamalla. Tutkimuksessa⁵⁶ on käytetty lääkeaineena psykoosilääkkeisiin luokiteltua aripipratsolia. FDM-tekniikalla PVA:sta 3D-tulostettuja kalvoja on verrattu perinteisesti

valamalla tehtyihin kalvoihin. Tuloksena on saatu, että 3D-tulostetut kalvot vapauttivat 15 minuutissa yli 95 % lääkeaineesta, kun taas vastaavasti valetut kalvot vapauttivat 75 %:a tutkitusta lääkeaineesta. Tunnin kuluessa molemmista kalvoista on liennut kaikki tutkittava lääkeaine. Tutkijat ovat voineet todeta tutkimuksen perusteella, että 3D-tulostetut kalvot antavat hyvän vaihtoehdon perinteisille valetuille kalvoille.⁵⁶

SLS-menetelmällä on myös tulostettu suun kautta otettavia tabletteja, jotka hajoavat suussa. Tutkimuksessa tablettien materiaalina on käytetty 5 % parasetamolia ja 3 % Candurin Gold Sheen -apuainetta parantamaan tulostettavuutta sekä laserin toimintaa. Pohjamateriaalina on käytetty sekä hydroksipropyylimetyyliselluloosaa että vinyylipyrrolidoni-vinyyliaasetattikopolymeeriä (92 %). Tutkijat ovat saaneet tulokseksi, että tabletit hajosivat pieneen määrään vettä neljässä sekunnissa.⁵⁷ Vastaavasti toisessa samankaltaisessa tutkimuksessa⁵⁸ on tutkittu eri materiaaleilla (75 % polyvinyylialkoholia ja 25 % polyetyleeniglykolia, metakryylihapon ja etyyli akrylaatin 1:1 seosta) eri parasetamolin pitoisuuksia tableteissa. Molemmilla materiaaleilla on testattu 5 %, 20 % ja 35 % parasetamolipitoisuuksia. Kaikki tabletit ovat sisältäneet tässäkin sen 3 % Candurin Gold Sheen -apuainetta. Kyseisessä tutkimuksessa lääkeaineen vapautumista tabletista on tutkittu in vitro -olosuhteissa vastaten vatsa- ja suolisto-olosuhteita. Ensimmäisen materiaalin (75 % polyvinyylialkoholia ja 25 % polyetyleeniglykolia) kohdalla 5 % parasetamolitabletti on vapauttanut yhden tunnin kohdalla 95 % ja kahden tunnin kohdalla 100 %. Vastaavasti 20 % ja 35 % parasetamolitabletit yhden tunnin kohdalla on vapauttanut 60 % ja 45 % parasetamolista. Kahden tunnin kohdalla vastaavat lukemat ovat 85 % ja 60 %. Nämä tabletit ovat päässeet noin 95 % vapautukseen 20 % tabletti noin 5,5 tunnin kohdalla ja 30 % noin 8 tunnin kohdalla. Toiselle materiaalille kaikkien tablettien tulokset ovat suhteellisen samankaltaiset, ja ne ovat vapauttaneet aika tasaisesti koko ajan parasetamolia päästen viiden tunnin kohdalla noin 50 % ja 90 % noin 8 tunnin jälkeen. Tutkimuksen mukaan tämä voisi olla vaihtoehtoinen menetelmä nykyisille lääkkeille.⁵⁸

Kokeellinen osa

Tämän tutkimuksen kokeellisen osan tarkoitus oli valmistaa SLS:llä tulostettuja 3D-sieppareita, joita pystyisi tulevaisuudessa käyttämään 17β -estradiolin talteenotossa jätevedestä. Tarkoituksena oli talteenoton lisäksi pystyä irrottamaan talteenotettu 17β -estradioli siepparista, jolloin olisi mahdollista käyttää siepparia uudestaan, mutta myös mahdollisesti jatkokäyttämään talteenotettu 17β -estradioli. Näiden lisäksi tarkoitus oli selvittää 3D-sieppareiden kapasiteetti sekä kehittää näytteille hyvä näytteenkäsittely ja analysointimenetelmä.

5. 3D-tulostus

5.1. Laite ja materiaalit

Tutkimuksessa käytetyt 3D siepparit tulostettiin SHAREBOT SnowWhite -laitteella. Siepparit tulostettiin ADVANCE3D Materials ADSINT PA12 L -materiaalista. Sieppareiden piirtämiseen käytettiin piirto-ohjelmaa FreeCAD 0.16 ja viipalointiin viipalointiohjelmaa Slic3r versio 1.2.9. Viipalointi on sitä, miten laite näkee kappaleen eli, miten se tulostaa sen kerros kerrokselta.

5.2. Siepparit

Sieppareita tulostettiin eri asetuksilla. Tällöin saatiin eri huokoisuuksia sieppareille, mikä esiintyi siepparin pehmeytinä tai kovuutena (Taulukko 13). Siepparin rakenteeseen vaikuttavat muun muassa laserin teho ja nopeus. Talteenotto- ja eluointikokeissa käytettiin isompaa 10 ml ruiskuun mahtuvaa siepparia, joka oli 16 mm halkaisijaltaan ja korkeudeltaan 5 mm. Kapasiteettikokeisiin tehtiin pienempiä sieppareita, jotta kapasiteetin toteutukseksi ei tarvinnut käyttää niin suuria tilavuuksia näyteliuosta. Pitoisuutta ei voitu kasvattaa vesiliuoksissa hormonien niukkaliukoisuuden takia. Nämä siepparit olivat 2 ml ruiskuun 9 mm halkaisijaltaan ja korkeudeltaan 5 mm. Siepparit lajiteltiin niiden rakenteen mukaan eri kovuusryhmiin.

Taulukko 13: 3D-tulostettujen sieppareiden nimikkeet ja rakenteet

Siepparin koodi	Rakenne
PA12-154	Keskitaso
PA12-155	Keskitaso
PA12-156	Pehmeä
PA12-157	Pehmeä
PA12-158	Pehmeä
PA12-159	Kova
PA12-160	Kova
PA12-161	Keskitaso
PA12-162	Kova
PA12-163	Kova
PA12-164	Kova
PA12-173	-

Kaikkia tulostettuja sieppareita ei ole käytetty kokeissa. Jokaisen kokeen osalta on kerrottu, mitä siepparia kokeessa on käytetty. Siepparin rakennetta voidaan muokata eri asetuksilla, joista kaksi ovat laserin teho ja laserin nopeus. Laserin tehon säätäminen vaikuttaa siihen, kuinka tehokkaasti laser sulattaa jauhetta. Laserin nopeus taas vaikuttaa siihen, kuinka pitkän aikaa laser sulattaa jotain tiettyä kohtaa. Molemmat osaltaan vaikuttavat siepparin kiinteyteen ja huokoisuuteen. Halutessaan näitä asetuksia voisi myös muuttaa yhden kappaleen sisällä, jolloin esimerkiksi siepparin reunat olisivat kiinteitä eivätkä läpäisisi vettä, mutta keskeltä siepparia vesi pääsisi läpi.⁴²

Sieppareiden tulostuksen jälkeen ne pestiin talousvedellä ylimääräisestä jauheesta. Muuta jatkokäsittelyä niille ei tarvittu. Tässä tutkimuksessa ei testattu erikseen sitä, miten erilaiset siepparin huokoisuudet vaikuttavat E2:sen talteenottoon. Vaikka tässä tutkimuksessa on käytetty eri huokoisuuksia talteenotto- ja eluointikokeissa, huokoisuuden vaikutusta talteenottoon ei tämän tutkimuksen puitteissa ehditty tutkimaan.

6. GC-analytiikka

Tämän tutkimuksen näytteiden analysointiin käytettiin Agilent Technologies 6890 Series GC system -GC-laitetta, jonka yhteydessä oli detektorina Agilent Technologies 5973 Network Mass Selective Detector -massadetektori. Laite käyttää kantokaasuna heliumia. Mittausten aikana

käytössä oli Zebronin kapillaari GC kolonni ZB-5MSi (Taulukko 14). Mittausten välissä kolonnia pestiin kahdella erilaisella pesuohjelmilla tarpeen mukaan keskimäärin noin kolmen mittauksen välein. Pesuliuottimena käytettiin asetonitriiliä, joka oli myös näytteiden pohjaliuotin. Pesuohjelmissa GC:n uunia pidettiin 10 minuutin ajan halutussa lämpötilassa. Tässä tutkimuksessa käytettyjen pesuohjelmien lämpötilat ovat 270 °C ja 320 °C, joista ensimmäistä on käytetty enemmän. Pesuohjelman tarkoituksena on puhdistaa kolonnia, ja poistaa sinne ajon aikana mahdollisesti jääneet yhdisteet pois. Massadetektorin käytetty havainnointialue oli 40 – 600 m/z. Taulukossa 15 on esitetty kaikki tässä tutkimuksessa käytetyt reagenssit.

Taulukko 14: Mittauksissa käytetyn GC:n kolonnin tiedot

Kolonni	Zebron ZB-5MSi Capillary GC Column (7HG-G018-11)
Pituus	30 m
ID (ulkohalkaisija)	0,25 mm
Film thickness (sisäpinnoitteen paksuus)	0,25 µm
Lämpötilaraja min	60 °C
Lämpötilaraja max	360 / 370 °C
Materiaali	5 % fenyyli 95 % dimetyylipolysiloksaani

Taulukko 15: Projektissa käytetyt reagenssit

Nimi	Molekyylikaava	Puhtausaste %	CAS	Valmistaja
Kolesteroli	C ₂₇ H ₄₆ O	95	57-88-5	
Estrioli	C ₁₈ H ₂₄ O ₃	98	50-27-1	Sigma
β-Estradioli	C ₁₉ H ₂₄ O ₂	98	50-28-2	Sigma-Aldrich
BSTFA-TMCS (99:1)¹	C ₆ H ₁₈ F ₃ NOSi ₂	-	25561-30-2	Tokyo Chemical Industry

6.1. Apuliuokset

Vesipohjaisten näyteliuosten (kts. näyteliuokset) valmistuksen suurimmaksi haasteeksi muodostui hormonien niukkaliukoisuus. Tästä syystä oli mietittävä tapoja näytteiden mahdolliseen konsentroitintaan sekä analysoinnin suorittamiseksi. Tutkimuksessa käytössä olevat

¹ BSTFA-TMCS (99:1) bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide:silane, chloromethyl

analyysilaitteiden kolonnit eivät kestä veden tai muiden hyvin poolisten liuosten mittaamista. Tästä syystä näytteitä ei pystytty mittaamaan suoraan vesiliuoksesta. Vesipohjaisten näytteiden käsittely vedettömiksi on hidasta ja työlästä. Tästä syystä oli helpompaa käyttää apuliuoksia nopeiden analytiikkaan liittyvien testien tekemiseen. Apuliuoksiin saatiin myös helposti korkeampia hormonipitoisuuksia kuin näyteliuoksiin.

Apuliuokset siis olivat hormoniliuoksia, joissa liuottimena toimii metanoli. Metanoli on helpommin haihtuva ja paremmin estradiolia liuottava kuin vesi. Alla olevassa Taulukossa 16 on kerrottu apuliuokset ja niiden pitoisuudet. Apuliuoksia varsinkin E2 MeOH:ta käytettiin paljon esimerkiksi E2-piikin löytämiseen GC-spektrissä sekä silyloinnin (kts. silylointi) testaamiseen.

Taulukko 16: Apuliuokset ja niiden pitoisuudet sekä tehdyn liuoksen kokonaistilavuus (mittapullon tilavuus)

Apuliuos	Lyhenne	Liuotin	Pitoisuus (g l ⁻¹)	Tilavuus (ml)
Estradioli	E2 MeOH	MeOH	0,198	100
Kolesteroliliuos	K MeOH	MeOH	0,195	20

6.2. Sisäiset standardit

Sisäisen standardin käyttö GC-analyyseissä on tärkeää. Sen merkitys korostuu varsinkin näytteenkäsittelyssä. Sisäinen standardi on yhdiste (tai yhdisteitä), jota lisätään jokaiseen tutkittavaan näytteeseen näytekäsittelyn alkaessa. Sen tarkoituksena on ilmentää, kuinka näytteeseen vaikutetaan näytteenkäsittelyn aikana. Esimerkiksi tapahtuuko hävikkiä näytekäsittelyn eri vaiheissa, kuten kolvista injektiopulloon siirroissa. Toinen sen tärkeä tehtävä on olla tunnettu pitoisuus yhdistettä GC:n spektrissä, jonka piikin pinta-alaan tuntemattoman piikin pinta-alaa verrataan. GC-spektristä saadaan laskettua tuntemattoman aineen piikin avulla sen pitoisuus, kun piikin pinta-alaa verrataan tunnetun pitoisuuden omaavaan sisäisen standardin piikin pinta-alaan.

Sisäinen standardi on yhdiste, joka valitaan aina tutkittavan yhdisteen mukaan. Sisäisen standardin valinnassa pyritään valitsemaan sellainen yhdiste, joka olisi hyvin lähellä tutkittavaa ainetta. Esimerkiksi sokereita tutkittaessa jokin toinen sokeri, kuitenkin huomioiden sen, ettei

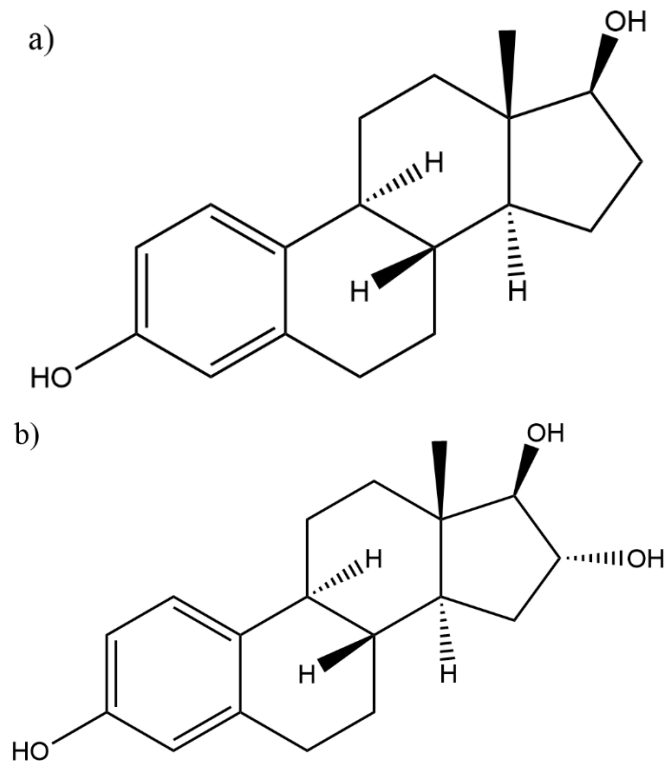
sitä ainetta ole itse näytteessä. Sisäisenä standardina voidaan käyttää myös tutkittavan aineen deuteroitua muotoa. Tässä tutkimuksessa kokeiltiin kahta eri hormonia sisäisenä standardina. Taulukossa 17 on tiivistettynä projektissa käytetyt sisäiset standardit ja niiden pitoisuudet.

Taulukko 17: Tutkimuksessa käytetyt sisäiset standardit ja niiden kantaliuosten pitoisuudet

Nimike	Sisäinen standardi	Liutin	Pitoisuus (g l ⁻¹)	Tilavuus (ml)
Sis. stand 1	Estrioli (E3)	MeOH	0,435	20
Sis. stand 2	Estrioli (E3)	MeOH	0,200	100
Sis. stand 3	Kolesteroli	MeOH	0,195	20
Sis. stand 4	Kolesteroli (kuivattu)	MeOH	0,200	100

Ensimmäisenä kokeiltiin estriolia (E3). Ensimmäiset estriolin kokeilut eivät onnistuneet, koska tutkimuksen alkuvaiheessa ei vielä ollut kehitetty silylointia ja lämpötilaohjelmaa tarpeeksi. E3- ja E2-näytteitä mitattaessa yhdessä tulokseksi saatiin yksi iso ja leveä sekä vasemmalle puolelle häntivä piikki. Tällöin ei voitu sanoa mitään E2:sen ja E3:sen näytteiden pitoisuuksista. Näin alkuvaiheessa tutkimusta myös näytteen käsittelyssä on voinut tapahtua jotain, minkä ei ole ymmärretty vaikuttavan tulokseen. E2:sen ja E3:sen piikit tulivat suhteellisen lähekkäin GC:llä, koska niiden rakenteissa on vain pieniä poikkeuksia (yhden OH-ryhmän ero, kuva 18). Lämpötilaohjelmia kehittämällä hormonien piikit saatiin riittävän erilleen toisistaan. Kuitenkin spektrissä oli molempien hormonien osalta useampi piikki ja E3:sen piikit olivat intensiteetiltään hyvin pieniä verrattuna E2:sen piikkeihin. Tässä vaiheessa tutkimusta päätettiin mahdollisuuksien salliessa kokeilla myös toista sisäistä standardia E3:sen tilalla. Myöhemmin huomattiin useiden piikkien yhdelle hormonille johtuvan muun muassa silyloinnin vajaavaisuudesta (kts. silylointi).

Toisena sisäisenä standardina kokeiltiin kolesterolia. Kolesteroli vaikutti hyvin lupaavalta sisäiseltä standardilta, koska monet hormonit ovat kolesterolin johdannaisia. Näin ollen niiden rakenteiden runko on samanlainen. E2:sen toisen OH-ryhmän paikalla on pitkäkö haarautunut hiilivetyketju, mutta rakenteesta löytyi tarpeeksi eroja niiden hyvään erottumiseen toisistaan. Kolesterolin kanssa tulleet ongelmat on kuvailtu lämpötilaohjelmakappaleessa.

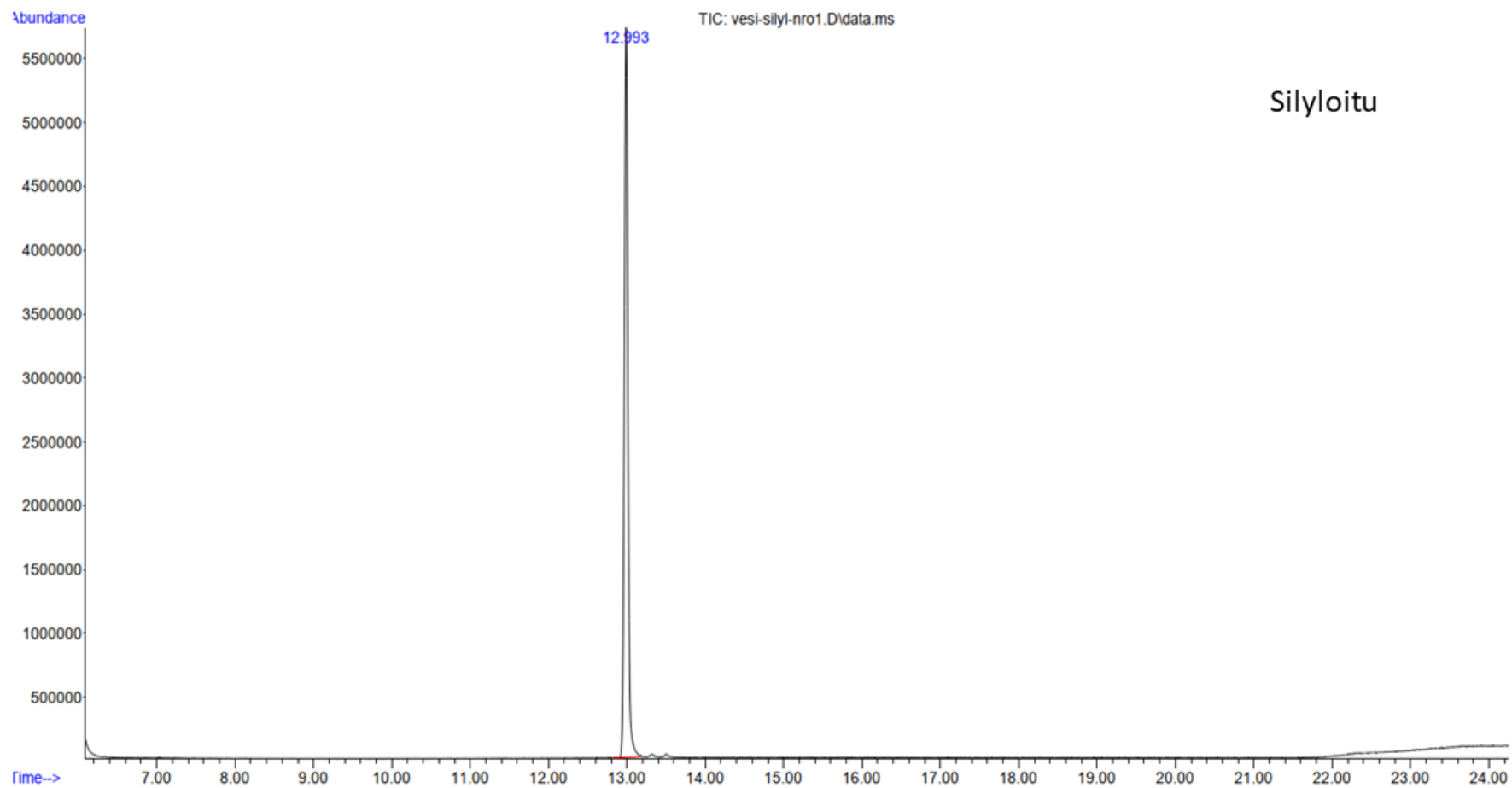


Kuva 18: a) Estradiolin (E2) ja b) estriolin (E3) rakenteet.

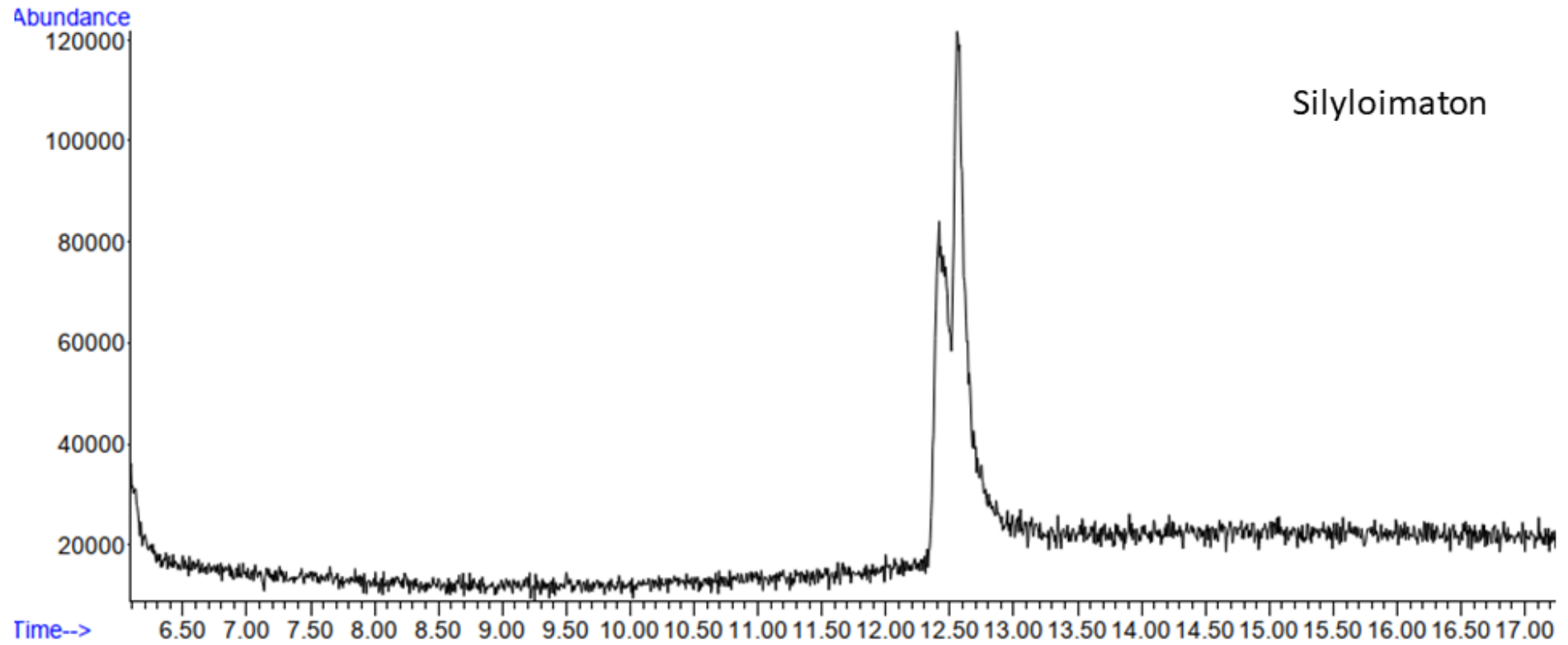
6.3. Silylointi

Silylointi on tärkeä osa GC-analyysien onnistumista. Silyloinnilla haetaan alhaisempaa kiehumispistettä näytteelle, jonka vuoksi näytteen yhdisteet erottuvat GC:llä paremmin. Parantunut erottuvuus näkyy korkeampina ja terävimpinä piikkeinä silyloituneelle yhdisteelle. Kuvissa 19 ja 20 on GC:n spektrit havainnollistamassa silyloinnin vaikutusta.

Kuvissa esitetyt spektrit mitattiin kahdesta samanlaisesta näytteestä, joiden välillä on eroa vain silyloinnissa. Toinen näyte oli silyloitu ja toinen ei. Erot piikkien muodossa ja intensiteetissä ovat valtavat. Tutkimuksen kannalta oli olennaista analyysin onnistuminen, joten päätettiin jatkaa näytteiden silylointia sen tuomien hyötyjen takia, vaikka sen tekeminen vei aikaa.

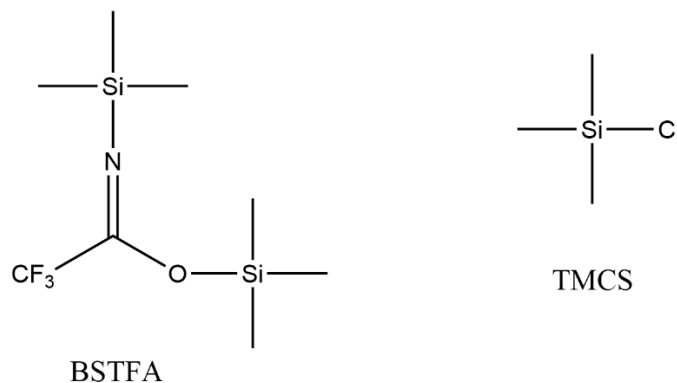


Kuva 19: Silyloidun näytteen spektri.



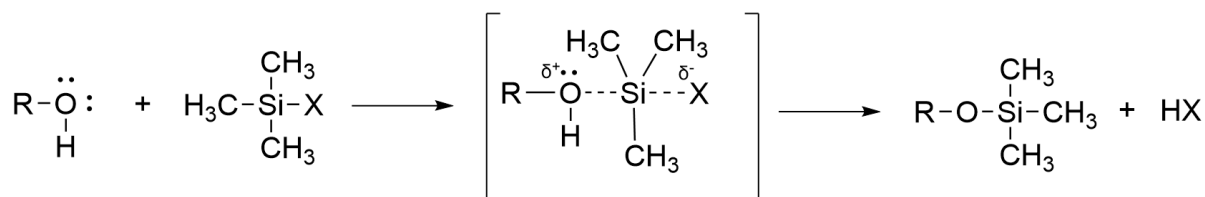
Kuva 20: Silyloimattoman näytteen spektri.

Silylointi aineena käytettiin BSTFA-TMCS -reagenssia (99:1). Kuvassa 21 on esitetty BSTFA-TMCS -reagenssin (trimethylsilyl 2,2,2-trifluoro-N-trimethylsilylethanimidate: trichloromethylsilane) rakennekuva.

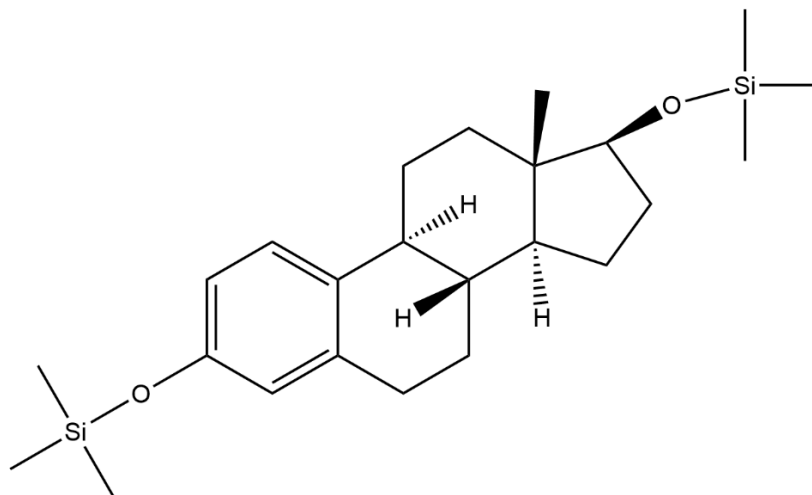


Kuva 21: BSTFA-TMCS -silylointireagenssi suhteella 99:1.

Pääpiirteittäin silylointireagenssi reagoi substituutioreaktiolla. Reaktiomekanismi on esitetty kuvassa 22. Siinä näytteen happi sitoutuu vapaalla elektroniparilla BSTFA:n piihin. Tällöin syntyy hapelle positiivinen osittaisvaraus ja X:lle negatiivinen osittaisvaraus. X tässä tapauksessa on joko BSTFA:n loppurunko (kuva 21) tai TMCS:n kloori ja R on näytteen loppurunko. TMCS, joka toimii tässä silylointireagenssissa BSTFA:n toimintaa tehostavana, reagoi samalla tavalla näytteen kanssa kuin BSTFA. Reaktion välivaiheessa X irtoaa silylointiaineesta hapen sitoutuessa siihen, jolloin se sitoutuu vedyn kanssa. Vety voi tässä tapauksessa tulla esimerkiksi näytteen hydroksyyliiryhmästä, jonka happi sitoutuu piin kanssa.⁵⁹ Kuvassa 23 on esitetty esimerkkinä estradiolin rakenne, kun se on silyloitu BSTFA:lla.



Kuva 22: Silylointireagenssin reaktiomekanismi näytteeseen sitoutuessa.



Kuva 23: Estradioli BSTFA-TMCS -silylointireagenssilla silyloituna.

Tutkimuksen alkuvaiheessa silylointiaikana käytettiin 30 minuuttia 60 °C:ssa lämpökaapissa. Tällöin käytettiin vielä sisäisenä standardina kolesterolia, jolle aika tuntui riittävän. Kun sisäinen standardi vaihdettiin kolesterolista E3:seen, huomattiin ettei 30 min riitä E3:sen silylointiin. Tämä näkyy GC:n spektreissä, kun E3 esiintyi kahtena matalana piikkinä yhden korkeamman piikin sijasta. Massaspektrin perusteella voitiin sanoa aikaisemman piikin olevan epätäydellisesti silyloitunutta E3:sta. E3:ssa on kolme OH-ryhmää, joista vedyt voivat korvautua trimetyylisilyylillä. Aikaisemmassa piikissä vain kaksi vetyä oli korvautunut trimetyylisilyylillä kolmen sijasta (jälkimmäinen piikki). Pidempää silylointiaikaa testattiin, jolloin E3 silyloitui kokonaan ja GC-spektrissä nähtiin vain yksi E3:sen piikki. Tämän jälkeen tehtiin tarkempi koe silylointiajan kartoittamiseksi. Taulukossa 18 on esitetty silylointikokeen tulokset.

Taulukko 18: Silylointikokeen tulokset

Näyte	Mitattu E2-pitoisuus (g l ⁻¹)	Mittauksen rsd %	E2-pitoisuus (g l ⁻¹)
A	0,17 ± 0,04	19,4	0,198
B	0,199 ± 0,003	1,2	0,198
C	0,21 ± 0,02	7,8	0,198

Kaikki näytteet ovat täysin samanlaisia, ja samalla tavalla käsiteltyjä lukuun ottamatta silylointiaikaa. Silylointi tapahtuu lämpökaapissa, joka on asetettu noin 60 °C:seen. Jokaiselle silylointiajalle oli kolme rinnakkaista näytettä ja jokaisesta näytteestä otettiin kolme mittausta. Eli esimerkiksi A-näytteestä tuli yhdeksän mittausdataa. A-näytteet olivat lämpökaapissa 30 minuuttia, B-näytteet yhden tunnin ja C-näytteet kaksi tuntia. Tulokset analysoitiin laskemalla näytteessä olevan E2-pitoisuus ($0,198 \text{ g l}^{-1}$). Pitoisuus tiedettiin itse tarkasti valmistetusta liuoksesta. Kaikista näytteistä saatiin laskemalla E2-pitoisuudeksi lähelle tiedettyä pitoisuutta, mutta A-näytteissä oli suurta hajontaa ja se oli myös kauimpana tiedetystä pitoisuudesta. Se johtui epätäydellisestä silyloitumisesta, joka näkyi kahtena E3:sen piikkinä. Niiden suhteet muuttuivat koko ajan A:n mittauksen edetessä. Toisin sanoen jälkimmäiset A:n näytteet seisoivat näytteensyöttäjässä mittauksen ajan (1-2 tuntia), jonka aikana silyloituminen eteni. Tästä voitiin päätellä, ettei 30 minuutin silylointiaika riitä luotettavaan ja toistettavaan mittausten suorittamiseen. Vastaavasti B-näytteillä hajonta oli suhteellisen pientä, ja C-näytteillä hajonta alkoi kasvaa. Tämän testin perusteella päätettiin kokeilla yhden tunnin silylointiaikaa näytteille sen vaikuttaessa parhaimmalta. Kuitenkin jatkossa muiden kokeiden kohdalla saatiin huomata, ettei tuntikaan kaikissa tapauksissa riitä, jolloin päätettiin varmuuden vuoksi silyloida näytteitä aina kaksi tuntia, jotta silylointi olisi varmasti tapahtunut loppuun asti ennen mittausta.

Tämä koe oli tälle tutkimuksella riittävä. Silylointia voitaisiin optimoida vielä lisää huomattavalla määrällä kokeita, joissa tutkitaan erilaisia silylointiin vaikuttavia muuttujia. Kokeita pitäisi tehdä monilla rinnakkaisilla näytteillä, erittäin täsmällisillä silylointiajoilla ja huomioida silyloinnin pysähtyminen heti lämpökaapista oton jälkeen (näytteet jääkaappiin mahdollisesti) sekä minimoida kaikki mahdolliset muut muuttujat. Kuitenkin tämän tutkimuksen ajallisissa puitteissa ei koettu olevan tarpeellista panostaa niin suuren mittakaavan kokeisiin. Jatkettaessa tutkimuksia pidempään tämä olisi voinut tulla suurempaan rooliin tutkimusta.

6.4. Lämpötilaohjelmat

GC-analytiikassa lämpötilaohjelmien muokkauksilla saadaan suurimmat muutokset näytteiden mittaukseen liittyen. Käytännössä lämpötilaohjelmien muutoksella vaikutetaan muun muassa piikkien intensiteettiin, pinta-alaan ja erottuvuuteen, kolonnin läpi kuljettavaan aikaan sekä sitä

kautta spektrien tarkkuuteen. Tässä tutkimuksessa lämpötilaohjelmia testattiin kahdessa vaiheessa. Ensin, kun kolesterolia käytettiin sisäisenä standardina, ja toisen kerran, kun mittaukset oli saatu toimimaan estriolin ollessa sisäisenä standardina. Tarkoituksena oli saada hyvä erottuminen näytteiden piikeille, kolonnia säästävät lämpötilat ja optimaalinen aika mittauksen kestolle. Ennen näitä lämpötilaohjelmien testauksia tutkimuksen alussa kokeiltiin kolmea eri lämpötilaohjelmaa (A, B ja C), joista kolmannella (C) päädyttiin mittaamaan tutkimuksen kaikki näytteet. Lämpötilaohjelmien parannuksella saatiin aikaiseksi mahdollisesti parempi lämpötilaohjelma estradiolin mittaamiseen. Kuitenkin päätettiin mitata kaikki tutkimuksen näytteet samalla lämpötilaohjelmalla. Näin näytteet olisivat mahdollisimman hyvin verrattavissa toisiinsa. Vaihdoille ei myöskään ollut välttämätöntä tarvetta, koska lämpötilaohjelma C toimii mitatuille yhdisteille. Taulukoissa 19 – 21 on esitetty A – C - lämpötilaohjelmien arvot ja liitteessä 1 on C-lämpötilaohjelman lämpötilakuvaaja.

Taulukko 19: A-lämpötilaohjelman arvot

	Lämpötilan nostonopeus (°C min ⁻¹)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
1	-	150	1,50	1,50
2	50	260	5	8,7
3	10	270	4	13,7

Taulukko 20: B-lämpötilaohjelman arvot

	Lämpötilan nostonopeus (°C min ⁻¹)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
1	-	150	1,50	1,50
2	50	260	5	8,7
3	5	270	4	14,7

Taulukko 21: C-lämpötilaohjelman arvot

	Lämpötilan nostonopeus (°C min ⁻¹)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
1	-	150	1,50	1,50
2	50	250	5	8,5
3	4	270	8	21,5
4	40	300	2	24,25

Lämpötilaohjelman arvo -taulukoissa numerointi kertoo lämpötilaohjelman vaiheen. Ensimmäisessä vaiheessa tapahtuu näytteen injektointi. Tästä eteenpäin on kolonnin eri

lämmitysvaiheita, jolloin näytteen yhdisteet kulkeutuivat kolonnin läpi. Viimeisellä rivillä vielä korotettiin uunin lämpötilaa, jotta kolonni puhdistuisi. Näin erillisiä puhdistusohjelmia ei tarvinnut ajaa jokaisen näytteen välissä. Puhdistusohjelmien rooli kasvaa, jos käytetään esimerkiksi jätevesistä otettuja näytteitä. Sillä voidaan seurata myös kolonnin puhtautta. Lämpötilan nostonopeus kertoo, kuinka monta astetta minuutissa laite nostaa kolonnia lämmittävän uunin lämpötilaa. Lämpötila kertoo kyseisen uunin lämpötilan sillä hetkellä ja pitoaika kertoo, kuinka kauan uunin kyseistä lämpötilaa pidetään tasaisena. Kokonaisaika kertoo kunkin vaiheen loputtua kuluneen ajan.

Tutkimuksen alussa kokeiltiin näytteille mahdollisesti onnistuvia lämpötilaohjelmia (A – B). Hormoneja yhdistäessä samaan näytteeseen huomattiin, että niiden piikit tulevat hyvin lähekkäin tai päällekkäin. Siksi haluttiin vielä testata erikseen erilaisia lämpötilaohjelmia, jotta nähtiin, miten ne vaikuttavat hormonien piikkien erottumiseen ja tarkkuuteen. Lämpötilaohjelmia lähdettiin kokeilemaan apuliuoksilla, joilla varmistettiin näytteen tarpeeksi suuri hormonipitoisuus. Toisin sanoen varmistettiin piikkien intensiteettien tason olevan hyvä, jolloin piikkien oli mahdollista erottua hyvin ja terävinä. Kolesterolilla ja E2:lla lämpötilaohjelmia kokeiltiin seuraavalla näytteellä. Sisäisestä standardista 4 pipetoitiin injektiopulloon 250 µl ja vastaavasti E2 MeOH-liuosta pipetoitiin samaan injektiopulloon 250 µl. Injektiopullosta haihdutettiin liuotin pois Schlenkin linjalla ja kuivattuun injektiopulloon lisättiin 1 ml MeCN ja 100 µl BSTFA-silylointireagenssia. Tällöin injektiopullossa on 50 mg l⁻¹ kolesterolia ja 49,5 mg l⁻¹ E2:sta. Tämä näyte mitattiin useamman päivän aikana erilaisilla lämpötilaohjelmilla (1 – 5) ja C-lämpötilaohjelmalla, mitkä on esitetty Taulukoissa 21 – 26. Liitteissä 2 – 4 on esitetty lämpötilakäyrät ohjelmista. Liitteissä 5, 6 – 10 on esitetty mittauksista saadut GC:n spektrit.

Taulukko 22: Lämpötilaohjelmien 1 arvot

Lämpötilaohjelma 1			
Lämpötilan nostonopeus (°C min ⁻¹)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
-	150	1,50	1,50
30	250	8	12,83
30	270	8	21,49
40	300	2	24,24

Taulukko 23: Lämpötilaohjelmien 2 arvot

Lämpötilaohjelma 2			
Lämpötilan nostonopeus (°C min ⁻¹)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
-	150	1,50	1,50
50	230	8	11,1
20	270	8	21,1
40	300	2	23,85

Taulukko 24: Lämpötilaohjelmien 3 arvot

Lämpötilaohjelma 3			
Lämpötilan nostonopeus (°C min ⁻¹)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
-	150	1,50	1,50
20	230	8	13,5
20	270	8	23,5
40	300	2	26,25

Taulukko 25: Lämpötilaohjelmien 4 arvot

Lämpötilaohjelma 4			
Lämpötilan nostonopeus (°C min ⁻¹)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
-	150	1,50	1,50
50	200	4	6,5
10	240	8	18,5
10	270	2	23,5
40	300	2	26,25

Taulukko 26: Lämpötilaohjelmien 5 arvot

Lämpötilaohjelma 5			
Lämpötilan nostonopeus (°C min ⁻¹)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
-	150	1,50	1,50
50	230	4	7,1
10	260	8	18,1
10	270	2	21,1
40	300	2	23,85

Ohjelmien 1 – 5 testauksissa huomattiin heti, että ohjelma neljä on liian lyhyt. Kolesteroli ei ehdi tulla mittausaikana kolonnista ulos, jolloin sen piikkiä ei näy ohjelma 4:sen spektrissä. Tästä syystä viidennessä ohjelmassa näkyy kolme piikkiä, kun ensimmäinen piikki on neljännen mittauksen kolesteroli. Ohjelmien 1 – 5 piikit näkyvät hyvällä intensiteetillä ja eivät

”hänni” eli piikin alaosa ei leviä jompaankumpaan suuntaan, eivätkä piikkien kärjet ole pyöreitä vaan teräviä kuten kuuluukin. Myöskään piikit eivät tule millään ohjelmalla päällekkäin tai liian lähekkäin, että ne sekoittuisivat toisiinsa tai niitä olisi vaikea tunnistaa. Ohjelmien välillä ei juurikaan ole piikkien pinta-alojen suhteella eroja, minkä perusteella tässä tutkimuksessa hormonien määrät laskettiin piikeistä. Ohjelmien 1 – 3, 5 ja C pinta-alojen suhteiden keskiarvo ja hajonta on $1,59 \pm 0,05$. Vastaavasti ohjelmien 1 – 3 ja 5 välillä keskiarvo ja hajonta on $1,565 \pm 0,007$. Tällä perusteella kaikki ohjelmat olisivat käyttökelpoisia. Kuitenkin kun kolesterolin avulla haluttiin analysoida talteenottokokeiden mittauksia, kaikki lasketut E2-pitoisuudet olivat liian suuria noin $0,3 \text{ g l}^{-1}$. Niiden pitäisi olla noin $0,2 \text{ g l}^{-1}$. GC-mittauksissa pinta-alojen suhde pitäisi olla noin 1, kun mitataan kahta yhdistettä, joilla on suunnilleen sama pitoisuus. Toisin sanoen piikkien pitäisi olla pinta-aloiltaan samankokoisia. Kolesteroli antoi systemaattisesti liian pieniä piikkejä, jolloin sitä ei voitu käyttää tässä tapauksessa sisäisenä standardina. Syytä kolesterolin piikin pienuuteen ei tiedetty.

Lämpötilaohjelmia testattiin lisää estriolin ollessa sisäisenä standardina. Tällöin tehtiin samanlainen näyte kuin edellisissä lämpötilaohjelmien testauksessa, mutta sis. stand. 4:sen tilalla oli sis. stand. 2 ja molempia liuoksia pipetoitiin $125 \mu\text{l}$ injektiopulloon. Tällä näytteellä kokeiltiin lämpötilaohjelmat 6 – 11 (Taulukot 27 – 32) ja vertailuksi mitattiin näyte myös C-lämpötilaohjelmalla. Liitteissä 1, 4 ja 11 – 12 on esitetty lämpötilakäyrät ohjelmista. Liitteissä 13 – 19 on esitetty mittauksista saadut GC:n spektrit.

Taulukko 27: Lämpötilaohjelmien 6 arvot

Lämpötilaohjelma 6			
Lämpötilan nostonopeus ($^{\circ}\text{C min}^{-1}$)	Lämpötila ($^{\circ}\text{C}$)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
-	150	1,50	1,50
50	270	18	21,9
40	300	2	24,65

Taulukko 28: Lämpötilaohjelmien 7 arvot

Lämpötilaohjelma 7			
Lämpötilan nostonopeus ($^{\circ}\text{C min}^{-1}$)	Lämpötila ($^{\circ}\text{C}$)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
-	150	1,50	1,50
40	270	17,4	21,9
40	300	2	24,65

Taulukko 29: Lämpötilaohjelmien 8 arvot

Lämpötilaohjelma 8			
Lämpötilan nostonopeus (°C min ⁻¹)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
-	150	1,50	1,50
30	270	16,4	21,9
40	300	2	24,65

Taulukko 30: Lämpötilaohjelmien 9 arvot

Lämpötilaohjelma 9			
Lämpötilan nostonopeus (°C min ⁻¹)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
-	150	1,50	1,50
50	270	12	15,9
40	300	2	18,65

Taulukko 31: Lämpötilaohjelmien 10 arvot

Lämpötilaohjelma 10			
Lämpötilan nostonopeus (°C min ⁻¹)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
-	150	1,50	1,50
50	270	10	13,9
40	300	2	16,65

Taulukko 32: Lämpötilaohjelmien 11 arvot

Lämpötilaohjelma 11			
Lämpötilan nostonopeus (°C min ⁻¹)	Lämpötila (°C)	Pitoaika (min)	Kokonaisaika (min)
-	150	1,50	1,50
50	270	8	11,9
40	300	2	14,65

Jälkimmäisessä testissä näytteessä näkyy spektreissä ennen E2:sta ja E3:sta tuntematon silyloitunut yhdiste, mutta koska se ei häiritse hormonien piikkien erottumista, näytettä ei tehty uudestaan. Ohjelmissa C ja 6 – 10 ei myöskään ollut suurta eroa toistensa välillä. Ohjelma 11 ei toiminut ollenkaan. Se näyttää liian matalaa pitoisuutta E2:lle ja kääntää muihin verrattuna E2:sen ja E3:sen piikkien intensiteetin toisinpäin. Todennäköisesti se johtuu siitä, että E3:n tulee kolonnista juuri sillä hetkellä, kun uunia aloitettiin rajusti lämmittämään loppupuhdistusta varten. Tällöin yhdiste ei tullut tasaisesti detektorille vaan juuri ennen kolonnista tuloa sen nopeus kiihtyi. Ohjelmien 6 – 10 ja C välillä piikkien pinta-alojen suhteen keskiarvo on 0,950

$\pm 0,006$ eli lähellä yhtä pienellä hajonnalla niin kuin kuuluukin. Ohjelmissa ei näy piikkien häntimistä ja piikit ovat teräviä sekä ne erottuvat toisistaan hyvin melko tasaisella välillä (noin 3,4 – 3,9 min piikkien välillä). Ohjelmissa 9 – 11 ei ole muuta eroa toisiinsa kuin se että siinä on lyhennetty 270 °C:een pitoaikaa, jotta E3:sen piikin jälkeinen ylimääräinen aika saadaan pois. Kaikki muut, paitsi ohjelma 11, ovat näistä käyttökelpoisia.

Lämpötilaohjelmia voisi vielä kehittää niin, että kokeilisi jatkuvaa alhaista lämpötilan nostoa koko ohjelman ajan ja katsoa, vastaako se vielä paremmin todellisia pitoisuuksia näytteille. Tällöin ohjelman kokonaisaika kasvaisi. Monesti pidetään parempana sellaisia lämpötilaohjelmia, joissa nostetaan lämpötiloja hitaasti ylöspäin. Se on tasapainottelua asetusten välillä, kuka kokee paremmaksi hitaasti nostettavat lämpötilat ja kuka nopean mittausajan. Esimerkiksi tarkkojen pitoisuuksien saamiseksi hitaat lämpötilan nostot voisivat olla eduksi, kun taas teollisuudessa rutiinimittauksena toimiva ohjelma suotaisiin olevan varmasti nopeampi.

7. 3D-siepparikokeet

7.1. Näyteliuokset

Uuden tutkimuksen alkaessa aloitetaan kokeet mahdollisimman kontrolloiduista olosuhteista näyteliuosten suhteen, jotta tutkimusmenetelmät saadaan toimimaan ilman ylimääräisiä muuttujia. Tämän jälkeen siirrytään mahdolliseen oikeaan tilanteeseen, mikä tämän tutkimuksen kannalta olisi käsittelemättömän jäteveden käyttö näyteliuoksena.

Yksi haasteista, mikä tässä tutkimuksessa esiintyy, on hormonien niukkaliukoisuus veteen. Tämä luo haasteita näyteliuosten tekoon, sekä osaltaan myös näytekäsittelyyn. Tutkimuksen alkuvaiheessa on helpompi työskennellä suurempien pitoisuuksien kanssa. Tällöin saadaan analyysit ja muut sellaiset tekniset haasteet haltuun sekä optimoitua näytteenkäsittely sekä analysointi. Tämä on haastavaa niukkaliukoisuuden takia, ja siksi tutkimuksen apuna on käytetty apuliukoja (kts. apuliuokset). Tässä vaiheessa voidaan miettiä ovatko hormonit

ongelma jätevesissä niiden niukkaliukoisuuden takia. Kuitenkin kun tarkastellaan hormoneille annettuja/ehdotettuja EQS-arvoja, huomataan niiden vaikutuksen alkavan jo nanogrammoissa eli hyvin pienissä pitoisuuksissa.

Näyteliuksilla tässä tutkimuksessa tarkoitetaan niitä liuoksia, joita käytettiin hormonien sieppauksen tutkimiseen. Näyteliuoksia käytettiin myös sellaisenaan nollaliuoksina. Tässä tutkimuksessa nollaliuosten tehtävä oli mallintaa näytekäsittelyn ja mittauksen tuomia virheitä. Eli näyteliuksilla tehtäviä kokeita verrattiin aina sen näyteliuksen vastaavaan nollaliuokseen. Nollaliuos kävi läpi kaikki samat näytekäsittelyn vaiheet kuin näyteliuoskin lukuunottamatta hormonin sieppausta. Tässä tutkimuksessa nollaliuos siis kertoo sen määrän, kuinka paljon hormonia näyteliuksessa on kyseisen mittaukseen valmistavan näytekäsittelyn jälkeen.

Ensimmäisenä tutkimuksissa käytettiin ultrapuhtaaseen veteen tehtyä E2-liuosta (estradioli), jonka pitoisuus oli $1,6 \text{ mg l}^{-1}$. Siihen punnittiin β -estradiolia $1,6 \text{ mg}$ ja se liuotettiin noin 10 ml:aan metanolia. Tämän jälkeen se laimennettiin yhden litran tilavuuteen ultrapuhtaalla vedellä. Samanlaisella menettelyllä tehtiin kaikki muutkin näyteliukset, jotka on esitetty Taulukossa 33. Jokaisessa kokeessa on erikseen mainittu, mitä näyteliuosta on kyseisessä kokeessa käytetty.

Taulukko 33: Näyteliukset ja niiden pitoisuudet

Näyteliuos	Tehty pitoisuus (mg l^{-1})	Mitattu pitoisuus (mg l^{-1})
1	1,6	$1,44 \pm 0,03$
2	1,4	$1,00 \pm 0,07$
3	1,3	$1,00 \pm 0,06$
4	1,6	$0,99 \pm 0,08$
5	1,3	-

7.2. Näytekäsittely

Näytekäsittely on tärkeä osa kokeiden suorittamista, koska se vaikuttaa todella merkittävästi analyysiin ja sitä kautta saataviin pitoisuuksiin. Jos näytekäsittely on huonoa tai epätarkkaa, todennäköisyys saada vääristyneitä tuloksia on suuri. Tässä kappaleessa on käsitelty erilaisia näytekäsittelymenetelmiä, joita tässä tutkimuksessa käytettiin näyte- ja nollaliuoksille.

Näytekäsittelyssä 1 yksinkertaisuudessaan laitettiin näyte 50 ml kolviin ja haihdutettiin kuiviin Schlenkin linjassa. Sen jälkeen kolviin laitettiin 1 ml asetonitriiliä (MeCN) ja liuotettiin kuivanut näyte siihen. Näyte pipetoitiin injektiopulloon mittausta varten.

Näytekäsittelyssä 2 näyte laitettiin 50 ml kolviin ja kolviin lisättiin tunnettu pitoisuus sisäistä standardia näytteen joukkoon. Liuos haihdutettiin kuiviin Schlenkin linjassa. Haihdutuksen jälkeen kolviin lisättiin 3 ml:aa metanolia (MeOH) ja näyte liuotettiin siihen huolellisesti. Metanolia haihdutettiin Schlenkin linjassa noin 0,5 ml tilavuuteen, jotta liuos menee 1,5 ml:n injektiopulloon hyvin. Tämän jälkeen liuos pipetoitiin huolellisesti injektiopulloon, ja kolvia pestiin kaksi (2) kertaa noin 200 µl tilavuudella metanolia. Myös pesussa käytetyt metanolit siirrettiin injektiopulloon. Tämän jälkeen injektiopullo asetettiin 5 ml:n päärynäkolviin, jossa se haihdutettiin kuiviin Schlenkin linjassa. Vastaavasti haihdutus voitiin tehdä yön yli vetokaapin imussa suoraan injektiopullosta. Tämän jälkeen injektiopulloon lisättiin haluttu määrä (esim. 1 ml) MeCN ja mahdollisesti myös silylointiaine.

Näytekäsittely 3 oli tarkoitettu osalle eluointinäytteistä (kts. eluointi). Niissä näytteiden liuottimena oli valmiiksi metanoli, joten näyte laitettiin 50 ml kolviin sisäisen standardin kanssa ja haihdutettiin noin 0,5 ml tilavuuteen. Näyte siirrettiin pipetillä injektiopulloon (pesu 2 x 250 µl MeOH), jossa se haihdutettiin kuiviin. Injektiopulloon lisättiin 1 ml MeCN ja mahdollinen silylointiaine.

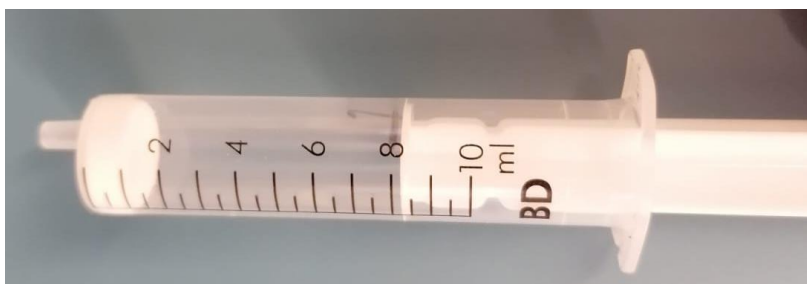
Näytekäsittely 3 ei toiminut käytännössä, koska eluoinnissa käytettiin talteenotossa estradiolilla kyllästettyä siepparia, jossa liuotin on vesi. Jos sieppari ei ollut kuivunut kunnolla (vesi haihtunut pois), vesi tuli eluointinäytteen mukana siepparista. Kun tätä liuosta haihdutettiin, metanoli haihtui paremmin näytteestä kuin vesi. Tällöin se pieni tilavuus, joka jätettiin kolviin, on ainakin osaksi vettä. Vesi aiheutti ongelmia haihdutuksessa, koska se kupli hyvin voimakkaasti. Injektiopullossa sillä oli hyvin kapea ala kiehua, jolloin se hyvin nopeasti ryöpsähti injektiopullosta ulos ja näyte oli menetetty. Tähän ryöpsähtämiseen riitti pisarakin vettä näytteen mukana. Tästä syystä vettä ei voitu haihduttaa injektiopullosta.

Pääsääntöisesti, jos ei muuta todeta, niin tässä tutkimuksessa on käytetty näytekäsittely 2:sta, jossa injektiopulloon oli lopuksi laitettu 950 µl MeCN ja 50 µl silylointireagenssi

BSTFA:TMCS:ta. Käytännössä näytekäsittely oli yksi tämän tutkimuksen haasteista. Vaikka näytekäsittely tehtiin aina samalla tavalla varsinaisissa kokeissa ja huolellisesti, siinä tapahtuivat suurimmat virheet tuloksia ajatellen. Jo pelkästään näytteen saattamisessa siepparin jälkeen injektiopulloon mittausta varten on hyvin monta välivaihetta ja virheen mahdollisuutta. Senkin ulkopuolella virheen mahdollisuuksia oli muun muassa liuosten valmistamisesta lähtien.

7.3. Talteenotto

Tutkimuksen aikana tehtiin yksinkertaisia kokeita, joilla selvitettiin teoriassa kaavailtujen ideoiden toimivuutta. Tablettien muotoon tulostetut siepparit asetettiin kuvan 24 mukaisesti lääkeruiskun pohjalle niin tiiviisti, että ruiskuun laitettava neste ei päässyt sen ohi vaan oli tunkeuduttava siepparin huokosten läpi. Tällä tekniikalla pystyttiin havainnollistamaan siepparin kykyä sitoa hormoneja itseensä, mutta toisaalta myös liuottimen siepparin puhdistavaa vaikutusta, mitä eluointikokeissa haluttiin testata.



Kuva 24: Lääkeruiskuun asetettu 3D-sieppari.

Talteenottokokeissa (yllä kuvailtu koeasetelma) ruiskun läpi puristettiin näyteliuos 1:stä 10 ml:aa. Läpi puristettu näyte otettiin suljettaviin muovisiin koeputkiin talteen näytekäsittelyä varten. Taulukossa 34 on esitetty talteenottokokeiden tulokset ja käytetyt siepparit.

Taulukko 34: Talteenottokokeiden tulokset. Nollaliuoksen pitoisuus ($1,44 \pm 0,03$) mg l⁻¹

Näyte	Siepparin koodi	Rinnakkaisten näytteiden määrä	Jäljelle jäänyt E2 (mg l ⁻¹)	Talteenotto (%)
1	PA12-163	3	$0,41 \pm 0,03$	71
2	PA12-161	2	$0,45 \pm 0,12$	69
3	PA12-157	3	$0,39 \pm 0,03$	73
4	PA12-157&158	3	0	100
5	PA12-156	8	$0,28 \pm 0,04$	80

Talteenottokokeista saatiin noin 70 – 80 % talteenottotuloksia sieppareille. Näyte 4:n saatu 100 % talteenotto saatiin laittamalla kaksi siepparia päällekkäin ruiskuun. Tässä käytettiin kahden eri erän sieppareita, mutta ne olivat tulostettu samoilla asetuksilla. Rinnakkaisten näytteiden määrä kertoo, kuinka monella siepparilla (sieppari + ruisku -yhdistelmällä) samaa näyteliuosta on testattu. Esimerkiksi näytteelle 1 näyteliuosta 1 oli puristettu kolmen eri ruiskun läpi, joissa kaikissa oli PA12-163 erässä tulostettu sieppari. Näille kaikille oli tehty näytekäsittely 2 sekä analysointi erikseen. Niiden tuloksista laskettiin keskiarvo ja hajonta, jotka on esitetty Taulukossa 22. Taulukossa 22 on esitetty myös talteenotto prosentti verrattuna nollaliuoksen tulokseen.

Talteenottokokeista saatiin lupaavia tuloksia siepparin käyttöä ajatellen. Tutkimuksen jatkuessa talteenotto prosenttia voitaisiin optimoida ja selvittää kapasiteetin avulla optimaalinen talteenottomenetelmä. Toisin sanoen voitaisiin selvittää, minkä kokoinen sieppari pystyy sieppaamaan kaiken estradiolin liuksesta ja riittääkö siihen yksittäinen liuoksen läpimeno vai tarvitaanko liuoksen kierrätystä.

7.4. Eluointi

Eluointikokeissa käytettiin hyödyksi jo talteenottokokeissa käytettyjä sieppareita. Teoriassa kaikki talteenottokokeessa siepparin läpi mennyt hormoni olisi nyt siepparissa. Käytännössä eluointituloksia verrattiin aina vastaavaan talteenottokokeen tuloksiin. Eluoinnin tarkoituksena oli selvittää, voidaanko siepparia käyttää uudelleen, mutta myös mahdollisesti voitaisiinko eluointua hormonia uusiokäyttää. Eluointikokeiden tarkoituksena oli löytää hyvä liuotin, jonka mukaan hormonit lähtisivät siepparista, sekä sen määrä. Mitä ympäristöystävällisempi, haitattomampi ja edullinen liuotin on, sen parempi. Optimaalisinta olisi myös, että liuotinta

tarvittaisiin mahdollisimman vähän, ja se eluoisi kaiken sieppariin jääneen estradiolin sieltä pois. Tässä tutkimuksessa kokeiltiin Taulukossa 35 näkyviä liuottimia.

Taulukko 35: Eluinnissa käytetyt liuottimet ja niiden tulos

Liuotin	Siepparin koodi	Eluointitulos (%)
Sykloheksaani	PA12-157	0 %
Heksaani	PA12-163	0 %
2-propanoli	PA12-161	42 %
Tolueeni	PA12-156	44 %
Asetoni	PA12-156	63 %

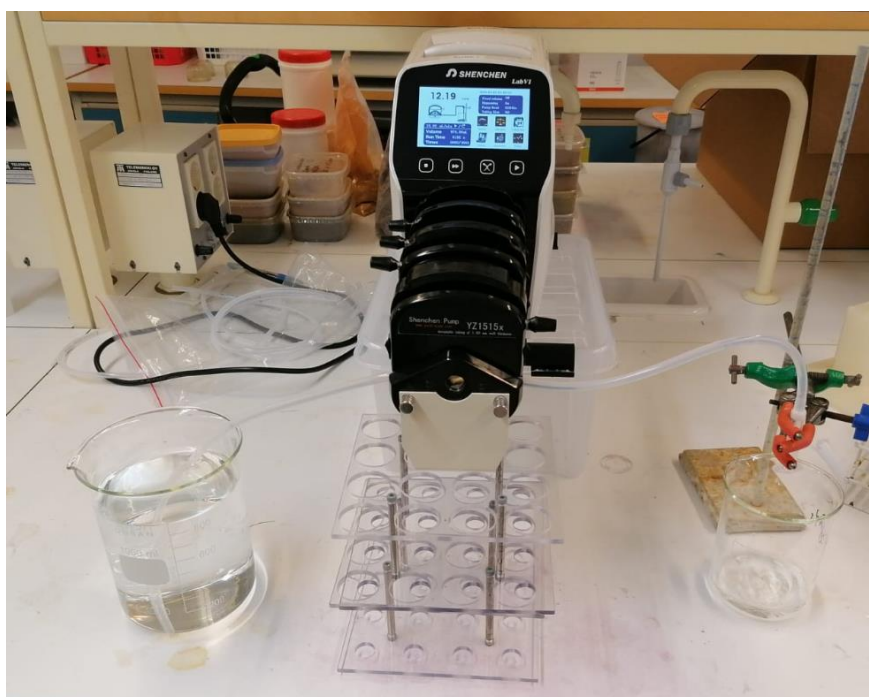
Liuottimiksi valittiin kaksi poolisempaa (2-propanoli, asetoni) ja kolme poolitonta liuotinta. Estradiolilla on hydroksyyliiryhmiä sen rakenteessa mikä tuo sille poolisuutta, mutta toisaalta sillä on myös suurehko pooliton hiilivetyrunko. Pooliton hiilivetyrunko tekee estradiolista suhteellisen hydrofobisen. Koejärjestely eluointitesteissä oli samanlainen kuin talteenottotesteissäkin. Sieppari jätettiin talteenottokokeista lääkeruiskuun ja annettiin kuivua huoneenlämmössä. Näin vältettiin veden aiheuttamat ongelmat näytekäsittelyssä. Liuotinta pipetoitiin 10 ml:n lääkeruiskuun ja puristettiin käsin hitaasti ruiskun läpi korkilliseen muoviputkeen. Tämän jälkeen jatkettiin näytekäsittely 2:sen mukaan. Kokeessa käytetyistä liuottimista lupaavimmat tulokset antoi asetoni (63 %). Eluentin mukana tullutta estradiolin määrää verrattiin saman siepparin talteenottokokeen tuloksiin. Eluointitulos Taulukossa 35 kertoo eluentin poistaman estradiolin määrän prosentuaalisesti siepparissa olevasta estradiolin määrästä.

Asetoni ei ole suuressa mittakaavassa, esimerkiksi jäteveden puhdistamoilla, kaikista järkevin vaihtoehto sen herkän haihtuvuuden, syttyvyyden ja räjähdysherkkyyden takia. Ympäristölle se on hyvin lievästi myrkyllistä, mutta sitä ei ole luokiteltu vaaralliseksi.⁶⁰ Näistä syistä, sekä siitä ettei se eluoi täysin estradiolia pois, sen käyttö eluenttina ei ehkä ole kaikista optimaalisin. Suuremman mittakaavan käyttöä ajatellen eluointi on hyvin tärkeä osa tutkimusta, koska siepparin käyttö ei kertakäyttöisenä ole järkevää jo kestäväää kehitystäkin ajatellen.

Metanolia ei tutkittu tässä tutkimuksessa eluenttina, mutta muut tutkimusryhmän jäsenet olivat todenneet myös sen toimivan. Myös joissain tutkimuksissa sitä on käytetty eluenttina.⁵⁴ Tästä syystä sitä on käytetty uudelleenkäyttökokeissa.

7.5. Kapasiteetti

Kapasiteettikokeissa oli tarkoitus saada selville, kuinka paljon yksi sieppari voi sitoa estradiolia itseensä. Kapasiteettikoe oli haaste tässä tutkimuksessa, koska estradiolin vesiliuosta ei voitu juurikaan konsentroida. Estradioli ei niukkaliukoisuutensa takia pysy korkeissa pitoisuuksissa liuenneena vedessä. Tästä syystä kapasiteettikoe oli tehtävä suurilla liuosmäärillä. Kapasiteettikokeessa käytettiin apuna peristalttista pumppua, jotta suuren liuosmäärän aikana siepparin läpi puristus tapahtuu samalla nopeudella sekä suuren tilavuuden takia puristus vie aikaa (tunteja). Käsintehyynä koejärjestelyn suorittaminen olisi työlästä ja tarpeettoman epätarkkaa. Kokeessa käytettiin Shencen Pump YZ1515x -pumppua. Kuvassa 25 on esitetty kokeessa käytetty pumppu sekä toisessa kapasiteettikokeessa käytetty koejärjestely.



Kuva 25: Toisen kapasiteettikokeen pumppausjärjestelmä.

Koejärjestelyssä dekanterilasiin laitettiin koko liuosmäärä, joka aiottiin pumpata siepparin läpi. Liuoksen pohjalta lähti silikoniletku, joka meni pumpun läpi. Letkun toinen pää oli kiinni ruiskun kärjessä, jossa sieppari oli sisällä. Tässä kokeessa liuos siis pumpattiin ruiskun läpi ns. väärinpäin. Ruisku oli kiinnitetty kouraan, joka oli toisen dekanterilasin päällä. Siepparin läpi

pumpattu liuos tippui tähän dekanterilasiiin. Kokeessa otetut näytteet otettiin suoraan ruiskun suulta ja loput liuoksesta hävitettiin kokeen loputtua dekanterilasista.

Ensimmäisessä kapasiteettikokeessa tehtiin litra $1,4 \text{ mg l}^{-1}$ E2-vesiliuos (näyteliuos 2) ja siitä otettiin neljä 10 ml nollanäytettä ja 900 ml:aan punnittiin 11 mg PA12:sta. Liuos ja PA12 laitettiin polystyreenipullossa ravistimeen vaakatasossa kahden työpäivän ajaksi. Tämän jälkeen pullo seiso i pystyasennossa pöydällä viikonlopun yli, jotta PA12 nousisi liuoksen pintaan. Tällöin siitä otettavat näytteet voitaisiin pipetoida pinnan alapuolelta ja välttää nylonin pääsy näytteisiin. Liuoksesta pipetoitiin kolme näytettä, jotka käsiteltiin näytekäsittely 2:sen mukaan. Kokeen nollaliuosten näytekäsittely onnistui ja niistä saatiin E2:sen pitoisuudeksi $1,0 \text{ mg l}^{-1}$. Kokeen muiden näytteiden näytekäsittely onnistui myös, mutta itse kapasiteettikoe ei onnistunut. Tulokset näyttivät kahdessa näytteessä jopa korkeampaa pitoisuutta kuin nollanäytteet.

Toinen kapasiteettikoe kokeiltiin niin, että valmistettiin litran E2-vesiliuos (näyteliuos 3; $1,3 \text{ mg l}^{-1}$). Liuoksesta otettiin kolme 10 ml:n nollanäytettä. 970 ml pumpattiin kuvassa 25 ja yllä kuvaillun koejärjestelyn mukaisesti lääkeruiskussa olevan näytteen läpi 10 ml min^{-1} nopeudella. Lääkeruisku oli tässä kokeessa tilavuudeltaan 2 ml. Siepparia oli muokattu siihen sopivaksi, jolloin se oli pienempi kuin talteenotokokeissa. Taulukossa 36 on esitetty näytteenottoiheyys pumppauksen aikana ja sieppariin sitoutuneen E2:sen määrä prosentuaalisesti nollanäytteeseen verrattuna.

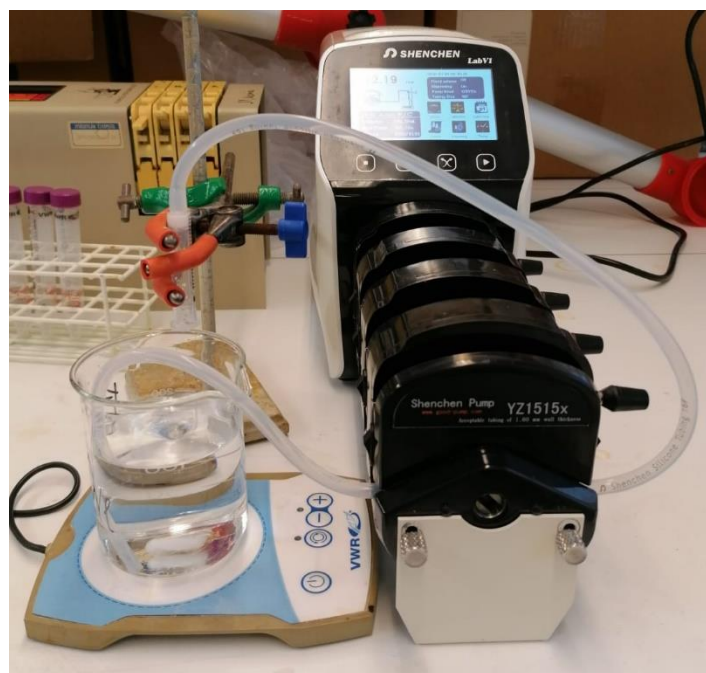
Taulukko 36: Toisen kapasiteettikokeen näytteenottoajat ja niistä saadut sieppaustulokset. Nollanäytteen pitoisuus ($1,00 \pm 0,06$) mg l^{-1}

Näytteenotto (min)	0	1	2	3	6	9	15	30	45	60	75	90
E2 siepattu määrä verrattuna nollanäytteeseen (%)	39	14	17	12	13	9	11	8	14	3	8	13

Jokainen näyte oli tilavuudeltaan 10 ml. Näytteet 0, 1, 2 ja 3 min otettiin heti peräkkäin pumppauksen alusta lähtien. Sen jälkeen seuraavat näytteet otettiin, kun sen verran oli kulunut aikaa pumppauksen aloituksesta, esimerkiksi 9 min näyte otettiin 9 minuuttia pumppauksen aloituksesta. Nollanäytteiden tulokseksi saatiin $1,00 \pm 0,06 \text{ mg l}^{-1}$. Kuitenkaan tämänkään kokeen perusteella ei voida päätellä siepparin kapasiteettia. Kokeen perusteella voidaan

varovasti todeta, että sieppari ei ole täynnä tästä määrästä E2:sta, koska tulosten perusteella sieppari sitoi loppuun asti osan estradiolista. Kuitenkin jo ensimmäisen näytteen sieppausteho on jopa puolet pienempi kuin talteenottokokeissa. Hyvänlainen kapasiteetti ilmeni ensimmäisen näytteen kohdalla 100 %:na talteenottona, josta se vähitellen tippuisi kohti nolaa. Tämän takia tämän kokeen perusteella ei voi sanoa siepparin sieppauskapasiteetista oikeastaan mitään.

Kolmas kapasiteettikoe tehtiin valmistamalla litra E2-vesiliuosta ($1,6 \text{ mg l}^{-1}$, näyteliuos 4). Siitä otettiin kolme nollanäytettä. Lopusta liuksesta laitettiin 200 ml dekanterilasiin, josta pumpattiin pumpulla siepparin läpi liuosta. Sieppari oli asetettu dekanterilasin päälle niin, että läpi tullut liuos palasi takaisin dekanterilasiin. Lisäksi liuosta sekoitettiin dekanterilasissa magneettisekoittajalla. Koejärjestely on esitetty kuvassa 25.



Kuva 25: Kapasiteettikokeen kolme koejärjestely.

Liuosta kierrätettiin pumpun avulla kuusi tuntia siepparin läpi, josta otettiin yksi 10 ml:n näyte kahden, neljän ja kuuden tunnin kohdalla. Näytteet käsiteltiin näytekäsittely 2 mukaisesti. Tulokset on esitetty Taulukossa 37.

Taulukko 37: Kolmannen kapasiteettikokeen tulokset. Nollanäytteen pitoisuus ($0,99 \pm 0,08$) mg l^{-1}

Näytteenotto (h)	2	4	6
E2 siepattu määrä verrattuna nollanäytteeseen (%)	20	-	18

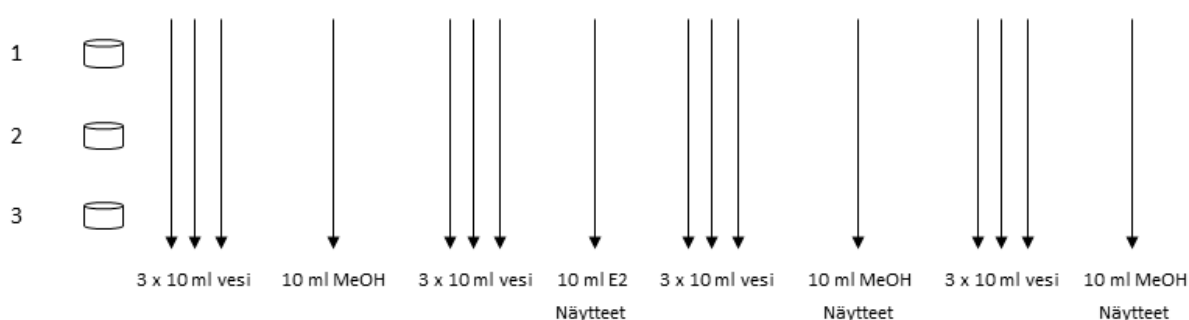
Neljän tunnin näytteen näytekäsittely epäonnistui inhimillisen virheen takia ja sitä ei voitu analysoida ollenkaan. Kahden ja kuuden tunnin näytteistä saatiin samantasoisia tuloksia. Näiden perusteella liuoksen kierrättämisestä ei olisi hyötyä. Toisaalta tämänkin kokeen tulokset ovat erikoisia siihen nähden, että talteenottokokeissa talteenotto on kuitenkin yli 70 %. Tästä syystä kapasiteetin mittaamiseksi nämä koejärjestelyt eivät toimineet. Ei tiedetä, johtuuko huonot talteenottoprosentit koejärjestelystä vai pienennetystä siepparista. Kapasiteettia voitaisiin testata talteenottokokeissa käytetyllä siepparilla, joskin silloin vastaan voisi tulla hormonin niukkaliukoisuudesta johtuvat ongelmat. Toisaalta voidaan myös miettiä, onko kapasiteetin mittaaminen täysin tarpeellista, koska hormonien pitoisuudet ovat niin pieniä jätevesissä. Todennäköisesti siepparilla saataisiin hormonit talteenotettua niillä pitoisuuksilla hyvinkin ilman tietoa todellisesta kapasiteetista.

7.6. Siepparin uudelleenkäyttö

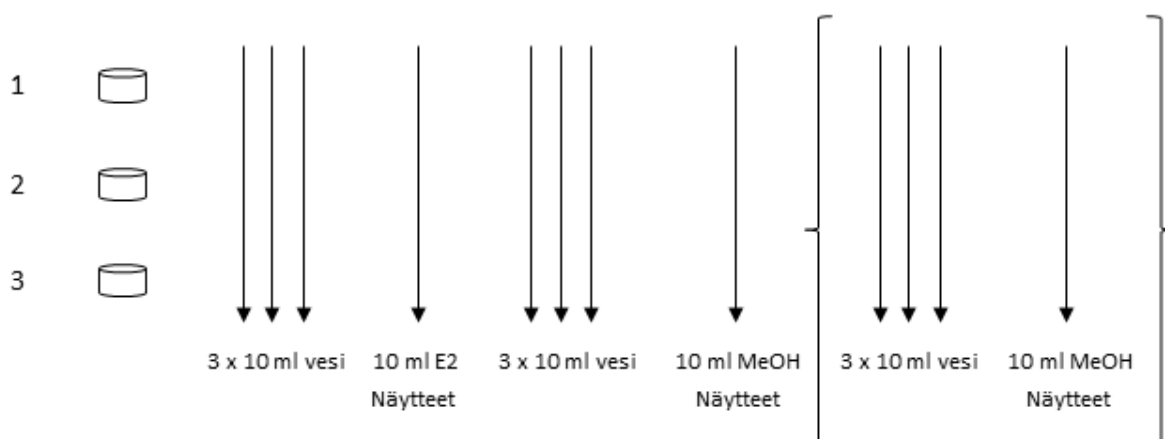
Siepparien käyttämisen kannalta yksi tärkeimmistä ominaisuuksista olisi siepparin uudelleenkäyttö. Tässä tutkimuksessa sitä testattiin alla olevien kuvien (26 – 27) mukaisesti.

Koetta varten tehtiin näyteliuos 5, josta otettiin kolme 10 ml:n nollanäytettä. Kokeessa käytettiin kolmea rinnakkaista näytettä eli kolmea eri ruiskua ja siepparia (PA12-161). Kokeen ensimmäisessä vaiheessa käytettiin koejärjestelyä 1. Siinä pestiin ensin siepparia kolme kertaa 10 ml:lla ultrapuhdasta vettä. Sen jälkeen sieppari pestiin 10 ml:lla metanolia. Sieppari pestiin metanolilla ennen näytteiden ottoa, jotta saataisiin ylimääräisiä pintakäsittelyaineita yms. lisäaineita pois siepparista. Tämän jälkeen sieppari pestiin uudestaan kolme kertaa 10 ml:lla vettä. Sen jälkeen siepparin läpi puristettiin näyteliuos 5:ta 10 ml:aa. Tämä otettiin talteen näytteeksi. Sen jälkeen siepparia pestiin vielä kolme kertaa vedellä ja sen jälkeen yhden kerran 10 ml:lla metanolia, joka otettiin myös talteen. Tämä pesu toistettiin vielä toisen kerran ja

metanolipesu otettiin talteen. Ensimmäisen vaiheen jälkeen voitiin selvittää, peseekö yksi kerta 10 ml:aa metanolia siepparin kokonaan vai tarvitaanko siihen kaksi pesua. Sen jälkeen voitiin jatkaa koejärjestely 2:seen. Se on täysin samanlainen, mutta siitä on poistettu uuden siepparin ensimmäinen vesi ja metanolipesu. Tätä voitiin toistaa haluttu määrä, esimerkiksi 3 – 10 kertaa. Kuvassa on sulkeissa toinen metanolipesu, koska sen tekeminen ei ole tarpeellista, jos sieppari peseytyy kokonaan ensimmäisellä kerralla. Uudelleenkäyttökokeiden näytteiden mittaus ja analysointi keskeytyi tutkijasta riippumattomista syistä. Tästä syystä tuloksia ei esitetä tässä tutkielmassa.



Kuva 26: Siepparin uudelleenkäytön koejärjestely 1.



Kuva 27: Siepparin uudelleenkäytön koejärjestely 2.

8. Yhteenveto

Lääkeaineet ja hormonit metaboloituvat kehossa hyvin usein erilaisiksi konjugaateiksi ja erittyvät virtsaan. Sieltä ne päätyvät jätevedenpuhdistamoille, joissa haasteina on muun muassa konjugaattien palautuminen takaisin lääkeaineen tai hormonin aktiiviseen muotoon. Erilaisia lääkeaineita ja hormoneja kulkeutuu vuosittain, satoja ja jopa tuhansia kiloja, jätevedenpuhdistamoille. Nykyisillä jätevedenpuhdistuslaitoksilla Suomessa on käytössä mekaanis-biologis-kemiallinen puhdistusprosessi. Tutkimusten mukaan nykyiset jätevedenpuhdistusprosessit eivät pysty tarjoamaan tarpeeksi hyvää poistoa lääkeaineille ja hormoneille. Lääkeaineiden ja hormonien mahdolliset ympäristövaikutukset alkavat kuitenkin selkeytyä tutkimusten edetessä ja on tärkeää kehittää niille toimivia poistomenetelmiä paikallisesti tai jätevedenpuhdistamoiden yhteyteen. Näitä menetelmiä kehitetään jatkuvasti ja tässä tutkimuksessa on yksi tulevaisuuden vaihtoehto hormonien talteenottoon.

Tämän tutkimuksen kokeellisessa osassa tulostettiin selektiivisellä lasersintraus (SLS) menetelmää käyttävällä 3D-tulostimella PA12:sta sieppareita. Synteettisestä vesinäytteestä tutkittiin niiden kykyä talteenottaa estradiolia. Tutkimuksessa tutkittiin myös erilaisten liuottimien eluointitehoa. Eluoinnilla haluttiin selvittää, pystytäänkö siepparista ottamaan siepattu hormoni talteen, mutta myös siepparin uusiokäyttöä. Näiden lisäksi talteenottotutkimuksen rinnalla kehitettiin estradiolille näytteenkäsittely ja analyysimenetelmä.

Näytteenkäsittely asetti monia haasteita työn aikana. Näistä suurimmat olivat estradiolin ja sisäisen standardin niukkaliukoisuus veteen sekä näyteliuosten vesimatriisi. Tutkimuksen edetessä pidemmälle haluttaisiin tutkia oikeita jätevesiä, jolloin näytteenkäsittelyn tulee olla vesipohjaiselle näytteelle. Tämä aiheutti haasteita, koska tutkimuksessa käytetyn GC-MS -analysointilaitteen kolonni ei kestä näytteiden mittaamista vesiliuoksesta. Näistä syistä näytteenkäsittelyssä piti ottaa huomioon näytteen konsentroidin ja vedettömyyden. Konsentroidin huomiointi oli osaltaan myös tärkeää analysoinnin kannalta. Tutkimuksen alkuvaiheessa analysoinnissa oli haasteita näytteissä olevien yhdisteiden piikkien riittämättömän erottuvuuden kanssa. Tästä syystä tutkimuksen aikana kehitettiin näytteenkäsittelyn lisäksi estradiolille ja sisäiselle standardille sopiva lämpötilaohjelma GC-MS:lle sekä parannettiin näytteen erottuvuutta silyloinnilla.

Erilaisista haasteista huolimatta tutkimuksesta saatiin hyviä ja erittäin lupaavia tuloksia tulevaisuutta ajatellen. Talteenottoprosentiksi yhdelle siepparille 10 ml:n 1,4 mg l⁻¹ estradiolipitoisesta näytteestä talteenotoksi saatiin 80 %. Vastaavasti kahdella siepparilla saatiin 100 % talteenotto. Siepparin eluointitulokseksi saatiin 63 % asetonilla. Siepparin uusiokäyttökokeet jäivät tutkimuksen aikana kesken tutkijasta riippumattomista syistä.

Tutkimusta kannattaisi jatkaa selvittämällä siepparin kapasiteetti, uudelleenkäytettävyys ja mahdollinen sieppauskyky myös muille hormoneille ja lääkeaineille. Vastaavasti sieppariin voitaisiin kokeilla erilaisia lisäaineita tehostamaan talteenottoa hormoneille ja lääkeaineille. Myös siepparia tulisi testata isommassa mittakaavassa. Tämä tutkimus herätti mielenkiintoa mikromuoveja kohtaan. Polyamideja käytetään paljon esimerkiksi vaatteissa. Näistä vapautuu luontoon polyamidia mikromuoveina ja tämän tutkimuksen perusteella ne sitovat itseensä hormoneja. Kertyykö luontoon silloin mikromuoveja, joihin on sitoutuneena vielä hormoneita?

9. Kirjallisuusluettelo

1. Vieno, N. ja Envieno ky, *Haitalliset aineet jätevedenpuhdistamoilla-hankkeen loppuraportti*, Vesilaitosyhdistys, Helsinki, 2014.
2. Laitinen, J.; Nieminen, J.; Saarinen, R. ja Toivikko, S., *Yhdyskuntien jätevedenpuhdistamot*, Ympäristöministeriö, Helsinki, 2014.
3. Suomen Vesilaitosyhdistys ry, *Teknis-taloudellinen tarkastelu jätevesien käsittelyn tehostamisesta Suomessa*, Vesilaitosyhdistys, Helsinki, 2016.
4. Ojajuni, O.; Saroj, D. ja Cavalli, G., Removal of organic micropollutants using membrane-assisted processes: a review of recent progress, *Environ. Technol. Rev.*, **2015**, *4*, 17–37.
5. Koulu, M. ja Mervaala, E., *Farmakologia ja toksikologia*. 9. painos, Kustannusosakeyhtiö Medicina, Kuopio, 2013, ss. 20–1104.
6. Mäkinen, N., Masennuksesta on tullut uusi kansantauti – mutta mikä on oikeasti muuttunut, suomalaisten mielenterveys vai diagnoosit? | Oppiminen | yle.fi,

- <https://yle.fi/aihe/artikkeli/2019/10/27/masennuksesta-on-tullut-uusi-kansantauti-mutta-mika-on-oikeasti-muuttunut> (12.11.2019).
7. Paakkari, P., Krooninen (pitkäaikainen) kipu - lääkehoito, https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00939#s3 (19.4.2020).
 8. Huttunen, M., Masennus, https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00389 (12.11.2019).
 9. LUT, Vedenpuhdistus ja kestävä lääkekehitys avainasemassa lääkeainejäämien ehkäisyssä, https://www.lut.fi/uutiset/-/asset_publisher/h33vOeufOQWn/content/vedenpuhdistus-ja-kestava-laakekehitys-avainasemassa-laakeainejaamien-ehkaisyssa (12.11.2019).
 10. Mikä Sudden? – SUDDEN, <https://sudden.fi/mika-sudden/> (12.11.2019).
 11. LUT, Lääkeainejäämät voidaan poistaa jätevedestä yli 95 prosenttisesti, https://www.lut.fi/uutiset/-/asset_publisher/h33vOeufOQWn/content/laakeainejaamat-voidaan-poistaa-jatevedesta-yli-95-prosenttisesti (12.11.2019).
 12. Lääkelaki 10.4.1987/395, 3§ 4.11.2005/853, <https://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1987/19870395#L1P3a> (8.4.2020).
 13. Äystö, L.; Mehtonen, J. ja Kalevi, K., *Kartoitus lääkeaineista yhdyskuntajätevedessä ja pintavedessä*, Suomen ympäristökeskus, Kulutuksen ja tuotannon keskus, 2014.
 14. Mazaleuskaya, L. L.; Theken, K. N.; Gong, L.; Thorn, C. F.; Fitzgerald, G. A.; Altman, R. B. ja Klein, T. E., PharmGKB summary: Ibuprofen pathways, *Pharmacogenet. Genomics*, **2015**, 25, 96–106.
 15. Tarnanen, K.; Suominen, K.; Lähteenmäki, S. ja Laukkala, T., Kaksisuuntainen mielialahäiriö - mielialojen vuoristorata, <https://www.kaypahoito.fi/khp00082> (3.12.2019).
 16. Atula, S., Kolmoishermostäry (trigemineusneuralgia), https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00684 (3.12.2019).
 17. Marttila, S.-S., *Lääkejätteiden käsittely apteekissa*, Vaasan ammattikorkeakoulu, Ympäristöteknologia, 2018.

18. Fimea, Sairaala-apteekin ja lääkekeskuksen toiminta, http://www.stm.fi/c/document_library/get_file?folderId=28707&name=DLFE- (8.4.2020).
19. Fimea, Lääkkeiden hävittäminen, https://www.fimea.fi/vaestolle/laakkeiden_oikea_kaytto/laakkeiden_havittaminen (12.11.2019).
20. Ekholm, V. ja Lucander, J., Lääkkeiden palautus apteekkiin, <https://www.apteekki.fi/terveydeksi/laaketietoa/laakkeiden-palautus-apteekkiin.html> (12.11.2019).
21. Fimea ja Kela, *SUOMEN LÄÄKETILASTO 2018*, Lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskus Fimea ja Kansaneläkelaitos, Helsinki, 2019.
22. Fimea, Lääkekulutus Pohjoismaissa, <https://www.fimea.fi/-/laakekulutus-pohjoismaissa> (14.3.2020).
23. Fimea, Lääkekulutus vuosina 2016-2019, <http://raportit.nam.fi/raportit/kulutus/laakekulutus.pdf> (9.4.2020).
24. Johnson, A. C. ja Williams, R. J., A Model To Estimate Influent and Effluent Concentrations of Estradiol, Estrone, and Ethinylestradiol at Sewage Treatment Works, *Environ. Sci. Technol.*, **2004**, *38*, 3649–3658.
25. Vesilaitosyhdistys, Puhtaan veden tekijät: Jätevesien puhdistaminen Suomessa, 2014.
26. HSY, Miten jätevesiä ennen puhdistettiin, <https://www.hsy.fi/fi/asiantuntijalle/vesihuolto/jatevedenpuhdistus/historia/Sivut/default.aspx> (28.2.2020).
27. Jantunen, M.; Vieno, N. ja Holmroos, J., PAH-yhdisteiden pitoisuudet kunnallisten jätevedenpuhdistamojen puhdistamolietteisissä -PAHPULI-hankkeen loppuraportti, 2016.
28. Turun seudun puhdistamo, <https://www.turunseudunpuhdistamo.fi/> (17.3.2020).
29. Kinnunen, J., *Jätevedenpuhdistus rinnakkaissaostuslaitoksella - esimerkkinä Kinnulan jätevedenpuhdistamo*, Oulun seudun ammattikorkeakoulu, Rakennustekniikan koulutusohjelma, 2013.
30. EUROOPAN PARLAMENTIN JA NEUVOSTON DIREKTIIVI 2013/39/EU, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/?uri=CELEX%3A32013L0039> (9.4.2020).

31. Schröder, P.; Helmreich, & B.; Škrbić, & B.; Carballa, & M.; Papa, & M.; Pastore, & C.; Emre, Z.; Oehmen, & A.; Langenhoff, & A.; Molinos, & M.; Dvarioniene, & J.; Huber, & C.; Tsagarakis, & K. P.; Martinez-Lopez, E.; Meric Pagano, & S.; Vogelsang, & C. ja Mascolo, & G., Status of hormones and painkillers in wastewater effluents across several European states-considerations for the EU watch list concerning estradiols and diclofenac, *Env. Sci Pollut Res*, **2016**, *23*, 12835–12866.
32. KOMISSION TÄYTÄNTÖÖNPANOPÄÄTÖS (EU) 2015/495, https://eur-lex.europa.eu/eli/dec_impl/2015/495/oj (23.3.2020).
33. KOMISSION TÄYTÄNTÖÖNPANOPÄÄTÖS (EU) 2018/840, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/fi/TXT/?uri=CELEX:32018D0840> (23.3.2020).
34. Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivi 2000/60/EY, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/?uri=CELEX%3A32000L0060> (23.3.2020).
35. Vieno, N., *Occurrence of Pharmaceuticals in Finnish Sewage Treatment Plants, Surface Waters, and Their Elimination in Drinking Water Treatment Processes*, Tampereen teknillinen yliopisto, 2007.
36. McAdam, E. J.; Bagnall, J. P.; Koh, Y. K. K.; Chiu, T. Y.; Pollard, S.; Scrimshaw, M. D.; Lester, J. N. ja Cartmell, E., Removal of steroid estrogens in carbonaceous and nitrifying activated sludge processes, *Chemosphere*, **2010**, *81*, 1–6.
37. Numminen, I., *The occurrence and problems of residual antibiotics during wastewater treatment*, Jyväskylän yliopisto, Biologian ja ympäristötieteiden laitos, 2019.
38. Bernardelli, J. K. B.; José Belli, T.; Emanuely Da Costa, R.; Angeles Lobo-Recio, M.; Damasceno Silveira, D.; Dutra De Armas, R. ja Rubens Lapolli, F., Bacterial Community Structure Applied to Hormone Degradation, *J. Environ. Eng. (United States)*, **2019**, *145*.
39. Ajo, P.; Krzemyk, E.; Preis, S.; Kornev, I.; Kronberg, L. ja Louhi-Kultanen, M., Pulsed corona discharge oxidation of aqueous carbamazepine micropollutant, *Environ. Technol.*, **2016**, *37*, 2077–2081.
40. Ajo, P.; Preis, S.; Vornamo, T.; Mänttari, M.; Kallioinen, M. ja Louhi-Kultanen, M., Hospital wastewater treatment with pilot-scale pulsed corona discharge for removal of pharmaceutical residues, *J. Environ. Chem. Eng.*, **2018**, *6*, 1569–1577.
41. Lee, J. Y.; An, J. ja Chua, C. K., Fundamentals and applications of 3D printing for novel materials, *Appl. Mater. Today*, **2017**, *7*, 120–133.
42. Lahtinen, E., *Chemically Functional 3D Printing: Selective Laser Sintering of*

Customizable Metal Scavengers, Jyväskylän yliopisto, Kemian laitos, 2019.

43. Wang, X.; Jiang, M.; Zhou, Z.; Gou, J. ja Hui, D., 3D printing of polymer matrix composites: A review and prospective, *Compos. Part B Eng.*, **2017**, 110, 442–458.
44. Zhou, X. ja Liu, C. J., Three-dimensional Printing for Catalytic Applications: Current Status and Perspectives, *Adv. Funct. Mater.*, **2017**, 27, 1–13.
45. Gross, B.; Lockwood, S. Y. ja Spence, D. M., Recent advances in analytical chemistry by 3D printing, *Anal. Chem.*, **2017**, 89, 57–70.
46. Leigh, S. J.; Bradley, R. J.; Pursell, C. P.; Billson, D. R. ja Hutchins, D. A., A Simple, Low-Cost Conductive Composite Material for 3D Printing of Electronic Sensors, *PLoS One*, **2012**, 7, 1–6.
47. Melchels, F. P. W.; Feijen, J. ja Grijpma, D. W., A review on stereolithography and its applications in biomedical engineering, *Biomaterials*, **2010**, 31, 6121–6130.
48. Su, C. K.; Peng, P. J. ja Sun, Y. C., Fully 3D-Printed Preconcentrator for Selective Extraction of Trace Elements in Seawater, *Anal. Chem.*, **2015**, 87, 6945–6950.
49. Lahtinen, E.; Kivijärvi, L.; Tatikonda, R.; Väisänen, A.; Rissanen, K. ja Haukka, M., Selective Recovery of Gold from Electronic Waste Using 3D-Printed Scavenger, *ACS Omega*, **2017**, 2, 7299–7304.
50. Lahtinen, E.; Kukkonen, E.; Kinnunen, V.; Lahtinen, M.; Kinnunen, K.; Suvanto, S.; Väisänen, A. ja Haukka, M., Gold Nanoparticles on 3D-Printed Filters: From Waste to Catalysts, *ACS Omega*, **2019**, 4, 16891–16898.
51. Lahtinen, E.; Hänninen, M. M.; Kinnunen, K.; Tuononen, H.; Väisänen, A.; Rissanen, K.; Haukka, M.; Lahtinen, E.; Kinnunen, M. M.; Rissanen, A. ja Haukka, K., Porous 3D Printed Scavenger Filters for Selective Recovery of Precious Metals from Electronic Waste, *Adv. Sustain. Syst.*, **2018**, 2, 1800048.
52. Konieczna, L.; Belka, M.; Okońska, M.; Pyszka, M. ja Bączek, T., New 3D-printed sorbent for extraction of steroids from human plasma preceding LC–MS analysis, *J. Chromatogr. A*, **2018**, 1545, 1–11.
53. Belka, M.; Ulenberg, S. ja Bączek, T., Fused Deposition Modeling Enables the Low-Cost Fabrication of Porous, Customized-Shape Sorbents for Small-Molecule Extraction, *Anal. Chem.*, **2017**, 89, 4373–4376.
54. Tizaoui, C.; Fredj, S. Ben ja Monser, L., Polyamide-6 for the removal and recovery of

- the estrogenic endocrine disruptors estrone, 17 β -estradiol, 17 α -ethinylestradiol and the oxidation product 2-hydroxyestradiol in water, *Chem. Eng. J.*, **2017**, 328, 98–105.
55. Konta, A.; García-Piña, M. ja Serrano, D., Personalised 3D Printed Medicines: Which Techniques and Polymers Are More Successful?, *Bioengineering*, **2017**, 4, 79.
56. Jamróz, W.; Kurek, M.; Łyszczarz, E.; Szafraniec, J.; Knapik-Kowalczyk, J.; Syrek, K.; Paluch, M. ja Jachowicz, R., 3D printed orodispersible films with Aripiprazole, *Int. J. Pharm.*, **2017**, 533, 413–420.
57. Fina, F.; Madla, C. M.; Goyanes, A.; Zhang, J.; Gaisford, S. ja Basit, A. W., Fabricating 3D printed orally disintegrating printlets using selective laser sintering, *Int. J. Pharm.*, **2018**, 541, 101–107.
58. Fina, F.; Goyanes, A.; Gaisford, S. ja Basit, A. W., Selective laser sintering (SLS) 3D printing of medicines, *Int. J. Pharm.*, **2017**, 529, 285–293.
59. Orata, F., Derivatization Reactions and Reagents for Gas Chromatography Analysis, *Advanced Gas Chromatography*. Teoksessa: *Advanced Gas Chromatography*, 2012, ss. 83–108.
60. Työterveyslaitos, Onnettomuuden vaaraa aiheuttavat aineet: Asetoni, <https://www.ttl.fi/ova/asetoni.html> (6.3.2020).

Liitteet

Liite 1: Lämpötilaohjelma 11 ja C

Liite 2: Lämpötilaohjelma 1 ja 2

Liite 3: Lämpötilaohjelma 3 ja 4

Liite 4: Lämpötilaohjelma 5 ja 6

Liite 5: Lämpötilakokeilu C-ohjelma, GC-spektri, sama näyte kuin lämpötilaohjelmissa 1-5

Liite 6: Lämpötilaohjelma 1, GC-spektri

Liite 7: Lämpötilaohjelma 2, GC-spektri

Liite 8: Lämpötilaohjelma 3, GC-spektri

Liite 9: Lämpötilaohjelma 4, GC-spektri

Liite 10: Lämpötilaohjelma 5, GC-spektri

Liite 11: Lämpötilaohjelma 7 ja 8

Liite 12: Lämpötilaohjelma 9 ja 10

Liite 13: Lämpötilakokeilu C-ohjelma, GC-spektri, sama näyte kuin lämpötilaohjelmissa 6-11

Liite 14: Lämpötilaohjelma 6, GC-spektri

Liite 15: Lämpötilaohjelma 7, GC-spektri

Liite 16: Lämpötilaohjelma 8, GC-spektri

Liite 17: Lämpötilaohjelma 9, GC-spektri

Liite 18: Lämpötilaohjelma 10, GC-spektri

Liite 19: Lämpötilaohjelma 11, GC-spektri

