

Pro Gradu –tutkielma

**Kloorifenoleilla pilaantuneen maan kompostointi
– Biotestien käyttö kompostoinnin onnistumisen
seurannassa**

Kati Laitinen

Jyväskylän yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Ekologia ja ympäristöhoito

25.5.2008

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Ekologia ja ympäristöhoito

LAITINEN KATI: Kloorifenoleilla pilaantuneen maan kompostointi – Biotestien käyttö kompostoinnin onnistumisen seurannassa

Pro Gradu –tutkielma: 32 s., 2 liitettä (4 s.)

Työn ohjaajat: FT Esko Martikainen, FT Jari Haimi

Tarkastajat: FT Jari Haimi, FT Katja Tynkkynen

Toukokuu 2008

Hakusanat: bioindikaattorit, biokunnostus, kloorifenolikontaminaatio, kompostointi

TIIVISTELMÄ

Suomessa monet vanhat saha-alueet ovat pilaantuneet puunsuoja-aineista (Ky-5), jotka sisälsivät pääosin tri-, tetra- ja pentakloorifenoleja (2,3,4,6-TeCP, 2,4,6-TCP, PCP). Sahoilta on löydetty merkittäviä määriä kloorifenoleja myrkyllisempiäkin yhdisteitä (PCDD, PCDF). Vanhat saha-alueet tulisi puhdistaa lähiaikoina. Pelkillä kemiallisilla analyyseilla ei saada todenmukaista kuvaa pilaantuneiden maa-alueiden mahdollisesta ekologisista riskeistä, sillä ne eivät kerro eri kemikaalien yhteisvaikutuksista, puhumattakaan niiden biosaatavuudesta eliöille. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli tutkia kompostoinnin käyttökelpoisuutta kloorifenoleilla pilaantuneen maan puhdistamisessa ja arvioida kunnostamisen onnistumista biotestejä apuna käyttäen. Standardoituja kemikaalien toksisuustestejä voidaan kehittää niin, että niillä voidaan arvioida kompostimaiden mahdollisia haittavaikutuksia yksittäisille eliöille. Tässä tutkimuksessa bioindikaattorilajeina käytettiin hyppyhäntäisiä (*Folsomia candida*), änkyrimatoja (*Echytraeus* sp.) ja kasvitestissä salaattia (*Lactuca sativa*). Vaikka kaikkien kolmen kloorifenolin pitoisuudet alenivat kompostoinnin aikana, koemaiden toksisuus pysyi korkeana. Tämä johtui luultavasti siitä, että mikrobit metyloivat kloorifenoleista kloorianisoleja (biometylaatio). Osa kloorifenoleista ja -anisoleista luultavasti sitoutui maahiukkasiin, mikä alensi mitattavia pitoisuuksia. Kasvi-indikaattorilaji, salaatti, osoittautui soveltuvaksi kompostimaiden toksisuuden tarkkailuun riittävän sensitiivisyytensä vuoksi. Joka tapauksessa katalyytti- ja ravinnekäsittelyn maat olivat liian toksisia salaatile ja siementen itäminen estyi. Tämä saattoi johtua siitä, että maa oli liian suolaista salaatile ravinteista ja katalyytista johtuen. Itäminen parani turvekäsittelyssä kompostoinnin loppua kohden. Kompostimaat olivat liian toksisia myös hyppyhäntäisille ja änkyrimadoille. Änkyrimatojen koemaista löytyi sukkulamatoja. Erilaisia biotestejä tarvitaan ekotoksisten vaikutusten arvioinnissa. Kolme kuukautta oli liian lyhyt aika kloorifenolien täydelliselle kompostoitumiselle. Kloorifenolien kompostointikokeisiin varattava aika tulisi olla vähintään puoli vuotta.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ

Faculty of Mathematics and Science

Department of Biological and Environmental Science

Ecology and Environment Management

LAITINEN KATI: Composting of chlorophenol contaminated soil. - Evaluation of composting success by single species biotests

Master of Science Thesis: 32 p., 2 appendices (4p.)

Supervisors: FT Esko Martikainen, FT Jari Haimi

Inspectors: FT Jari Haimi, FT Katja Tynkkynen

May 2008

Key Words: bioassays, bioremediation, chlorophenol contamination, composting

ABSTRACT

In Finland, many old sawmill sites are contaminated by the wood preserving chemicals, (Ky5) which consisted mainly of tri-, tetra-, and pentachlorophenols (2,3,4,6-TeCP, 2,4,6-TCP, PCP). Considerable amounts of even more toxic impurities (PCCD, PCDF) have also been found in contaminated soils of sawmills. There is a urgent need to remediate these sites. Chemical analyses are usually insufficient to provide sufficient information on the potential ecological risks of polluted soils since they do not allow for the integration of the compined effects of the mixture of all chemicals present at a polluted site, including their bioavailability. The objectives of this study were to examine the usefulness of composting as a treatment method for chlorophenols and to study remediation success in the composting process by using a battery of toxicity tests. Standard biotests developed for chemicals screening can be modified for testing and evaluation of possible harmful effects of composts. In this study acute toxicity of bioassays applied springtails (*Folsomia candida*), enchytraeids (*Enchytraeus* sp.) and a plant, lettuce (*Lactuca sativa*). Although all of the three chlorophenols decreased during the composting, toxicity of the substrates remained at the relatively high level. This is was probably due to their transformation to chlorianisoles by bacteria (biomethylation). Some part of chlorophenols and -anisoles probably were bound to the soil particles, capable decreasing the measurable concentrations. Plant indicator, lettuce, showed somewhat applicability for monitoring compost toxicity, because of their sensitivity for successful composting process. The compostmaterials were too toxic for springtails and enchytraeids. Nematodes were founded in the enchytraeid worm test. A set of biotests is required for the assessment of ecotoxic effects. Three months was too short time period to complete the composting process. At least six months is needed when composting the chlorophenols.

Sisältö

<u>1. JOHDANTO</u>	5
<u>2. TUTKIMUKSEN TAVOITTEET</u>	7
<u>3. KLOORIFENOLIEN, DIOKSIINIEN JA FURAANIEN HAJOTUS</u>	7
<u>3.1. KLOORIFENOLIEN HAJOAMISEN EDELLYTYKSET</u>	7
<u>3.2. KLOORIFENOLEJA HAJOTTAVAT MIKROBIT</u>	8
<u>3.3. DIOKSIINIT JA FURAANIT</u>	8
<u>4. AINEISTO JA MENETELMÄT</u>	9
<u>4.1. KOEMAAT</u>	9
<u>4.2. KOMPOSTORIT, YLLÄPITO JA NÄYTTEIDEN OTTO</u>	10
<u>4.3. FYSIKAALISET JA KEMIAALLISET ANALYYSIT</u>	11
<u>4.4. BIOTESTIT</u>	11
<u>4.4.1. Hyppyhäntäistesti ja änkyrimatotesti</u>	12
<u>4.4.2. Eläintestien purku</u>	13
<u>4.4.3. Salaattikoe</u>	13
<u>5. TULOKSET</u>	14
<u>5.1. KOMPOSTIEN LÄMPÖTILA</u>	14
<u>5.2. PH JA JOHTOKYKY</u>	15
<u>5.3. KLOORIFENOLIPITOISUUDET KOMPOSTEISSA</u>	16
<u>5.4. KLOORIANISOLIPITOISUUDET KOMPOSTEISSA</u>	18
<u>5.5. DIOKSIINIEN JA FURAANIEN PITOISUUDET KOMPOSTEISSA</u>	20
<u>5.6. BIOTESTIEN TULOKSET</u>	21
<u>6. TULOSTEN TARKASTELU</u>	23
<u>6.1. KOMPOSTIEN LÄMPÖTILA</u>	23
<u>6.2. KLOORIFENOLIEN SITOUTUMINEN ORGAANISEEN AINEESEEN</u>	24
<u>6.3. MIKROBIEN OPTIMI-PH</u>	24
<u>6.4. KLOORIANISOLIEN MUODOSTUMINEN KOMPOSTIMAAHAN (BIOTRANSFORMAATIO)</u>	25
<u>6.5. DIOKSIINIEN JA FURAANIEN PYSYVYYS KOMPOSTEISSA</u>	26
<u>6.6. KLOORIFENOLIEN VAIKUTUKSET MAAPERÄN ELIÖIHIN</u>	26
<u>6.7. KLOORIFENOLIEN VAIKUTUKSET MAAPERÄELÄIMIIN</u>	27
<u>6.8. KLOORIFENOLIEN VAIKUTUKSET SALAATTIIN</u>	28
<u>7. MITEN KOETTA VOITAIHIN KEHITTÄÄ?</u>	28
<u>KIITOKSET</u>	29
<u>KIRJALLISUUS</u>	29
<u>LIITEET</u>	1

1. JOHDANTO

Saastuneiden maa-alueiden selvitys- ja kunnostusprojektissa (SAMASE) inventointiin vuonna 1989 Suomessa 10400 mahdollisesti pilaantunutta maa-aluetta. Kokonaismäärän arvioitiin olevan kaksinkertainen, jos mukaan lasketaan myös vähemmän merkitykselliset kohteet. Käsiteltäviä vahvasti pilaantuneita maamassoja on arvioitu olevan noin 0,7 miljoonaa m³ ja lievästi pilaantuneita 9,5 miljoonaa m³. Todettuja kloorifenoleilla pilaantuneita puuteollisuuden toimipaikkoja oli vuonna 1992 yhteensä 154, joista 32 sijaitsi pohjavesialueilla. Pilaantuneista maa-aloista sahoja oli kolmasosa. Todennäköisesti pilaantuneina puuteollisuuden toimipaikkoina pidettiin 326 kohdetta (Puolanne ym. 1994).

Näitä niin sanottuja SAMASE-arvoja on käytetty pilaantuneiden maa-alueiden pilaantuneisuuden ja puhdistustarpeen arvioinnissa ja puhdistustavoitteiden asettamisessa. Suomessa on puhdistettu vuoteen 2007 mennessä lähes 3000 pilaantunutta maa-aluetta, vuosittain 250–400 kohdetta (Pajukallio 2007). Alueiden kunnostaminen nykyisten raja-arvovaatimusten mukaisiksi aiheuttaa suuria kustannuksia. Vuosittain Suomessa käytetään pilaantuneiden maiden kunnostamiseen 60–70 miljoonaa Euroa (Pajukallio 2007). Kunnostamisessa tarvitaan yhä tehokkaampia ja edullisempia käsittelymenetelmiä sekä luotettavia menetelmiä kunnostuksen seurantaan.

Valtioneuvoston vuonna 2007 julkaisemassa asetuksessa on säädetty 52 yleisimmälle maaperän pilaantumista aiheuttavalle alkuaineelle tai aineryhmälle kynnys- ja ohjearvot. Kynnysarvolla tarkoitetaan haitallisen aineen arvioitua, riskien kannalta merkityksetöntä, pitoisuutta maaperässä. Alempi ohjearvo tarkoittaa haitallisen aineen pitoisuutta maaperässä, joka ei tehdyn arvion mukaan aiheuta merkittävää vaaraa maaperän toiminnolle tai haittaa terveydelle tavanomaisessa maankäytössä. Ylempi ohjearvo tarkoittaa pitoisuutta, jossa maaperän arvioidaan säilyvän vielä ekologisesti toimintakykyisenä ja joka ei aiheuta vaaraa terveydelle epäherkässä maankäytössä (teollisuus- varasto- tai liikennealue). Kloorifenolien ja polykloorattujen dibetso-p-dioksiinien ja furaanien kynnys- ja ohjearvot ovat taulukossa 1.

Taulukko 1. Kloorifenolien ja polykloorattujen dibetso-p-dioksiinien ja furaanien kynnys- ja ohjearvot. Jos pohjaveden pilaantumisriski on tavanomaista suurempi alempaa ohjearvoa alhaisemmissa pitoisuuksissa, aineet on merkitty p-kirjaimella. Ohjearvot on määritelty joko ekologisten riskien (e) tai terveysriskien (t) perusteella (Valtioneuvoston asetus 2007).

	Kynnysarvo mg/kg	Alempi ohjearvo mg/kg	Ylempi ohjearvo mg/kg
Monokloorifenolit (p)	0,5	5 (e,t)	10 (e)
Dikloorifenolit (p)	0,5	5 (t)	40 (e)
Trikloorifenolit (p)	0,5	10 (e,t)	40 (e)
Tetrakloorifenolit (p)	0,5	10 (e,t)	40 (e)
Pentakloorifenolit (p)	0,5	10 (e,t)	20 (e)
PCDD/F	0,00001	0,0001 (t)	0,0015 (e)

Pilaantuneen maan kunnostusmenetelmät perustuvat joko maaperän biologiseen puhdistukseen hajottajamikrobien avulla tai fysikaalisiin ja kemiallisiin puhdistusmenetelmiin. Biologiset menetelmät ovat osoittautuneet kloorifenoleilla saastuneessa maassa käyttökelpoisiksi, tosin suhteellisen hitaiksi menetelmiksi. Kompostointi on yleinen menetelmä kloorifenolimaiden puhdistamisessa. Voimakkaasti kloorautuneet fenolit sekä dioksiinit (PCDD:t) ja furaanit (PCDF:t) ovat biologisin

menetelmin erittäin huonosti hajoavia, ja niitä jää kompostimassaan kompostoinnin päätyttyä (Jätehuoltoyhdistys ry. 1996).

Kemialliset analyysit ovat vaativia ja kalliita, joten niiden avulla ei voida määrittää kaikkia maaperässä olevia haitallisia yhdisteitä ja kemikaaleja. Pelkät kemialliset analyysit eivät kerro kemikaalien toksisista vaikutuksista maaperän eliöstöön (Braud-Grasset ym. 1993). Korkeat haitta-ainepitoisuudet eivät välttämättä ole letaalisti toksisia kaikille maaperäeliöille. Lajeilla on omien altistumisreittiensä lisäksi erilaisia keinoja pilkkoa ja poistaa haitallisia aineita elimistöstä (Van Straalen & van Gestel 1993).

Tutkittavien lähtöaineiden häviäminen maaperästä ei vielä takaa maan olevan haitatonta eliöstölle. Maaperän laadulla on oleellinen vaikutus maan kykyyn sitoa haitta-aineita ja siten niiden haitallisuuteen (van Gestel 1997). Määrittämättömien yhdisteiden ja kunnostamisen aikana mahdollisesti syntyvien toksisten hajoamistuotteiden vaikutuksia voidaan tutkia käyttämällä indikaattorieliöitä. Näin voidaan arvioida haitta-aineiden todellisia vaikutuksia maaperässä (van Gestel 1997, Meier ym. 1997, Sorvari & Assmuth 1999, Juvonen ym. 2000). Biologiset indikaattorilajit soveltuvat hyvin myös kunnostuksen onnistumisen seurantaan (van Gestel ym. 2001).

Biologisten riskien arvioinnissa on keskitytty aikaisemmin lähinnä vesien saastuneisuuden arviointiin. Toksisuusmääritykset on tehty vesieliöillä (mm. vesikirpulla *Daphnia magna*) ja vaikutuksia on tarkasteltu lähinnä vain akuuttitoksisuutena (Sorvari & Assmuth 1999). Maaperäeliöillä tehtäviä standardoituja testejä on kehitetty mm. kasveille (OECD 1984, ISO 2000), lieroille (ISO 1993, 1997), hyppyhäntäisille (ISO 1999a) sekä änkyrimadoille (OECD 1999, ISO1999b). Mitattavia muuttujia letaalitesteissä ovat mm. kuolleisuus ja siementen itävyys ja subletaalitesteissä mm. käyttäytymismuutokset, kasvunopeus, lisääntyminen ja haitta-aineiden kertyminen eliöön. Testit ovat kehitetty pääasiassa kemikaalien ennakkotestausta varten. Useimpia näistä testeistä voidaan soveltaa myös pilaantuneen maaperän ja sen puhdistuksen arviointiin standardeissa annettujen yleisluontoisia ohjeita noudattaen.

On tehty paljon tutkimuksia käyttäen mm. kasveja, maaperäeläimiä ja mikrobeja pilaantuneen maan toksisuuden arviointiin (esim. Callahan ym. 1991, Gibbs ym. 1995, Gunderson ym. 1997, Crouau ym.1999). Tutkimustietoa biologisten indikaattoreiden käytöstä maan pilaantuneisuuden ja kunnostuksen onnistumisen arvioinnista on julkaistu vähän. Maaperäeläinten, kasvien ja mikrobiston käyttöä pilaantuneen maan kompostoinnin onnistumisen mittarina ovat tutkineet mm. Braud-Grasset ym. 1993, Chang ym. 1997, Gunderson ym. 1997, Jarvis ym. 1997, Meier ym. 1997 ja van Gestel ym. 2001). Juvonen ym. (2000) tutkivat biologisten indikaattorilajien (mm. *F. candida*, *E. albidus*, *Enchytraeus* sp., *Trifolium pratense*) avulla toksisuuden vähenemistä öljyllä saastuneen maan kompostoinnissa.

Standardien mukaan tehtyjen kemikaalitoksisuustestien tuloksia ei kuitenkaan voida suoraan käyttää pilaantuneen maan tai kunnostuksen riskiarvioinnissa. Yleensä pilaantuminen on tapahtunut vuosia aiemmin, ja kontaminoituneen maan ikääntyessä toksisuus eliöille vähenee haitta-aineiden sitoutuessa maahan (Smith & van Gestel 1998). Standarditesteissä maanäyte kontaminoidaan juuri ennen testiä, jolloin toksiset vaikutukset ovat suurimmillaan (Jensen & Folker-Hansen 1995). Laboratorio-olot ovat yleensä optimaaliset, eikä eliöihin kohdistu luontaista ympäristöstressiä kuten kuivuutta, kylmyyttä tai ravinnon puutetta (van Gestel 1997). Luonnonympäristössä maaperäeläimet pääsevät

liikkumaan maaperässä vapaammin ja niille on tarjolla pilaantumattomia maalaikkuja, refuugioita (Haimi ym. 1992).

Kloorifenoleja muodostuu, kun orgaaniset fenoliyhdisteet reagoivat klooriyhdisteiden kanssa. Klooriatomien määrä ja niiden paikka fenolirenkaassa määräävät kloorifenolin vesiliukoisuuden ja biosaatavuuden maaperässä. Mitä enemmän kloorautunut fenoli on, sitä voimakkaammin se sitoutuu maahiukkasiin ja sitä vaikeammin se on hajotettavissa. Yhdisteen rasvaliukoisuus lisää sen toksisuutta eliöille (Baker & Mayfield 1980, Jensen & Folker-Hansen 1995).

2. TUTKIMUKSEN TAVOITTEET

Pilaantuneen maaperän puhdistaminen on nyt ajankohtaista Suomessa. 1940-luvulta lähtien sahoilla käytettiin vastasahatun puutavaran sinistymisen ja lahon suojaukseen kloorifenolipohjaisia Ky-5 -valmisteita. AineIDen valmistus ja käyttö Suomessa kiellettiin vuonna 1984. Ky-5 -valmiste sisälsi pääosin 2,3,4,6-tetrakloorifenolia (TeCP), 2,4,6-trikloorifenolia ja pentakloorifenolia (PCP). Kloorifenolikoostumus saattoi vaihdella eri valmistuserien kesken. Valmiste sisälsi epäpuhtautena myös dioksiineja (PCDD) ja furaaneja (PCDF) (Valo & Salkinoja –Salonen 1986). Suomalaisten sahojen maaperästä on mitattu jopa 21 000 mg/kg kloorifenolipitoisuuksia (Kitunen ym. 1987). Suomen kylmällä ilmastolla sekä alueiden maaperän vähäisellä orgaanisen aineen määrällä on merkittävä vaikutus kloorifenolien pysyvyyteen ja haitallisuuteen sahojen maaperässä (Valo ym.1985a).

Tutkimukseni tavoitteena oli selvittää, voidaanko standardoituja kemikaalien toksisuustestaukseen kehitettyjä kasvi- ja maaperäeläintestejä soveltaa kloorifenoleilla pilaantuneen maan haitallisuuden arviointiin. Lisäksi tutkin kompostoinnissa tapahtuvia haitta-ainepitoisuuksien ja biosaatavuuden muutoksia ja niiden vaikutuksia maaperäeläimiin ja kasveihin. Kompostoinnissa käytettiin lisäaineina Pekka Pohjolan, alun perin kotitalouksien biojätteiden kompostointia varten kehittämää, katalyyttia sekä synteettistä ravinneseosta.

3. KLOORIFENOLIEN, DIOKSIINIEN JA FURAANIEN HAJOTUS

3.1. Kloorifenolien hajoamisen edellytykset

Yhdisteen biohajoamisessa tai muuntumisessa on tärkeää yhdisteen biohajoavuus, -saatavuus ja biohajoamisen nopeus. Yhdisteen biologiseen hajotusprosessiin vaikuttavat myös maaperän abioottiset ja bioottiset tekijät, kuten happipitoisuus, kosteus, ravinteet, orgaanisen aineen määrä, maalaji ja mikrobiyhteisö (Boettcher & Nyer 2001). Vääränlaisissa oloissa tai mikrobien sopimattomien entsyymaattisten ominaisuuksien vuoksi hajotus voi johtaa lähtöaineita haitallisempien väli- tai hajoamistuotteiden syntymiseen (Jeltsch 1990). Mikrobit voivat yhdistää aineita molekyylikooltaan alkuperäistä kemikaalia suuremmiksi ja myrkyllisemmiksi yhdisteiksi (polymerisointi tai metylointi) (Ympäristöministeriö 1994, Boettcher & Nyer 2001). Täydellistä mikrobiologista hajotusta epäorgaanisiksi yhdisteiksi kutsutaan mineralisoitumiseksi (Jeltsch 1990, Ympäristöministeriö 1994).

Mikrobitoiminnan ja orgaaniseen aineeseen sitoutumisen lisäksi kloorifenolit hajoavat maaperässä hapettumalla, haihtumalla ja valokemiallisesti hajoamalla. (Boyd ym. 1989, Jensen & Folker-Hansen 1995). Kloorifenoleja poistuu maaperästä myös kasvillisuuden kautta (Jensen & Folker-Hansen 1995). Kloorifenolien hajoaminen haihtumalla tai valokemiallisesti, etenkin Suomen ilmastossa, on hyvin vähäistä (Valo 1990). Kloorifenolien hajotus tapahtuu pääosin hapellisissa oloissa, sillä pääosin kloorifenoleja hajottavat mikrobit toimivat aerobisesti (Baker & Mayfield 1980, Valo ym. 1985a, Valo & Salkinoja-Salonen 1986, Boyd ym. 1989, Jensen & Folker-Hansen 1995). Alhainen pH hidastaa kloorifenolien hajotusta (Jensen & Folker-Hansen 1995).

3.2. Kloorifenoleja hajottavat mikrobit

Vanhojen sahojen maa-aines sisältää aina kloorifenoleja hajottavia mikrobeja. Paikallisille mikrobeille on vuosien myötä kehittynyt vastustuskyky kloorifenoleita vastaan (Laine ym. 1997a, 1997b). Valo ja Salkinoja-Salonen (1986) havaitsivat, että kloorifenolipitoisessa maaperässä (150 mg/kg) 4 % mikrobeista oli kloorifenoleja hajottamaan pystyviä, kun puhtaassa peltomaassa tällaisia mikrobeja oli vain 0.001 %. Luonnossa olosuhteet ovat usein mikrobitoiminnalle epäsuotuisat. Lämpötila ja pH ovat liian alhaisia ja ravinteita ei ole tarjolla riittävästi tai oikeassa suhteessa (Valo ym. 1985a).

Mikrobien hajotustoiminta tarvitsee myös oikeat kosteusolot. Liian kuivassa energiaa kuluu turhaan veteen, ja liian märässä maaperässä myös hapen, hankintaan. Mikrobit viihtyvät 30–90 % kosteuspitoisuudessa (Boettcher & Nyer 2001). Alle 10 % kosteudessa mikrobien toiminta lakkaa (Golueke & Diaz 1990).

Mikrobien toiminta perustuu joko kloorifenolien täydelliseen mineralisointiin, tai kometabolointiin. Mikrobit voivat tarvita avuksi substraattia, jotta yhdiste on käytettävissä hiilen ja energian lähteenä (kometabolointi). Kloorifenolien täydelliseen hajottamiseen tarvitaan aina monilajinen mikrobikanta (nk. synergismi). Varsinaiset kloorifenoleja hajottavat mikrobit pilkkovat yhdisteen sellaiseen muotoon, että se on toisten mikrobien mineralisoitavissa (Laine ym. 1997b). Kloorifenoleja hajottamaan pystyviä mikrobeja ovat mm. *Rhodococcus* sp. (Apajalahti & Salkinoja-Salonen 1987), *Pseudomonas* sp. (Trevors 1982), *Flavobacterium* sp. (Hu ym. 1994) ja monet *Mycobacterium* suvun bakteerit (Suzuki 1983).

Bakteerisolut ovat 80–90 prosenttisesti vettä. Solun kiinteä osuus koostuu hiilestä (50%), hapestä (20 %), typestä (14 %), vedystä (8 %), fosforista (3 %) ja erilaisista hivenaineista. Kun mikrobeilla on käytettävissään orgaanista hiiltä energialähteenään ja ravinteita rakennusaineinaan mikrobien kasvu ja hajottaminen on mahdollista. Hiilen hapettuessa hiilidioksidiksi, kompostista poistuu massaa ja lämpötila nousee (Boettcher & Nyer 2001).

3.3. Dioksiinit ja furaanit

Synteettisissä kloorifenoliyhdisteissä (kuten Ky-5) esiintyy usein epäpuhtauksina dioksiineja ja furaaneja (Valo 1990). Dioksiineja syntyy myös, kun kloorifenoleja palaa liian matalassa lämpötilassa. Dioksiineja ja furaaneja voi muodostua myös kloorifenoleista biokemiallisissa transformaatioreaktioissa. Muun muassa valkolahottajasienet saattaavat muodostaa dioksiineja ja furaaneja peroksidaasiensyymien avulla (Öberg & Rabbe 1992).

Dioksiineja on kaksi ryhmää, polyklooratut dibenzofuraanit (PCDF) ja dibenzo-p-dioksiinit (PCDD), jotka ovat keskenään hyvin samankaltaisia trisyklisiä aromaattisia yhdisteitä. Erityisesti neljä klooriatomia (tetra-) tai sitä enemmän klooria sisältävät dioksiinit ovat erittäin toksisia (Barkovskii & Adrianes 1996). PCDD/F pidetäänkin myrkyllisimpinä ihmisen valmistamista yhdisteistä. Dioksiinit ovat osoittautuneet laboratorioskokeissa monille nisäkkäille karsinogeenisiksi, mutta niiden haitallisuudesta ihmisille ei ole tarkkaa tietoa (Niimi 1994). Ihminen altistuu dioksiineille lähinnä pölyävän maan kautta (Laine 1997c).

Näiden ns. supermyrkyjen biologista tai muuta hajoamista ei ole havaittu luonnossa (Valo 1990), mutta ne on saatu hajoamaan koeoloissa (Laine ym.1997c). Hajoitusta vaikeuttaa erittäin rasvaliukoisten PCDD/F-yhdisteiden voimakas sitoutuminen orgaaniseen aineeseen, jolloin ne ovat mikrobien ulottumattomissa (Valo 1990). Suurimmat dioksiini- ja furaanipitoisuudet on todettu maaperän pintaosissa (Kitunen ym. 1987).

4. AINEISTO JA MENETELMÄT

Tutkimuksessa kloorifenolipitoista maata kompostoitii pienissä, koetta varten tehdyissä, pienkompostoreissa. Kloorifenolilla pilaantunut maa oli peräisin erään vanhan saha-alueen katoksesta, jossa lautatavaraa oli käsitelty Ky-5 -sinistymisenestoaineella ja jossa liuosta oli valunut puurakenteisesta kastelualtaasta maahan vuosien ajan. Aineen käyttö lopetettiin sahalla 1980-luvun alkupuolella ja saha-alue odottaa edelleen kunnostusta.

Kompostointikokeet aloitettiin 15.3.2001 Kuhmoisissa sijaitsevassa Kosken Kasvuvoima Oy:n vuokraamassa koehallissa. Koeseokset tehtiin varsinaisen hallin puolella ja kompostorit sijoitettiin erilliseen koehuoneeseen. Huoneen lämpötila pidettiin talviaikaan 5-10 asteessa, mutta kesäaikaan lämpötila nousi ajoittain yli 20 asteen.

4.1. Koemaat

Kokeita varten tehtiin kolme eri käsittelyä, joita verrattiin toisiinsa. Lähtömateriaaliin eli savella laimennettuun kloorifenolimaahan (M) lisättiin joko pelkkää turvetta (MT), turvetta ja ravinneseosta (MTR) tai turvetta, ravinneseosta ja katalyyttiseosta (MTRK). Kaikki maaseoskombinaatiot sekoitettiin vuorotellen betonimyllyssä, jolloin eri ainekset sekoittuivat hyvin keskenään.

Seosaineena käytetty turve seulottiin 20 mm seulan läpi, jotta saatiin homogeenista, hienojakoista ainesta. Orgaanisena seosaineena turpeen tehtävänä oli parantaa kompostimassan ilmavuutta ja ylläpitää kompostin lämpötilaa. Turve myös sitoo osaltaan haitta-aineita ja toimii mikrobien kasvualustana.

Kokeissa käytetty ravinneseos sisälsi mm. helposti hyödynnettävänä hiilen lähteenä glukoosia ja tärkkelystä, typen lähteenä ammoniumsulfaattia ja peptonia sekä fosforilisänä kaliumfosfaattia. Ravinneseoksen avulla varmistettiin hajottajamikrobiston lisääntymisen ja monipuolisuuden kannalta mahdollisimman tehokas ravinteiden saanti, jotta myös haitta-aineiden hajotus käynnistyisi. Hiilihydraattilisäyksellä varmistettiin, että hajotustoiminta olisi riittävän kiivasta lämpötilan kohottamiseksi termofiiliselle (yli +45°C) alueelle.

Haitta-aineiden hajotuksessa kokeiltu katalyyttiseos on modifioitu orgaanisen jätteen kompostoitumista tehostavasta Biodeg - kompostikiihdytinseoksesta. Hienojakoiset, pintakatalyyttisiä reaktioita aktivoivat savihiukkaset yhdessä hapetusastetta vaihtelevien elektrolyyttien kanssa tehostavat mikrobitoimintaa ja edistävät hajottamista.

Kloorifenolipitoinen maa oli käytännössä sahanpurun ja hienon hiekan seosta, jossa oli mukana jonkin verran puunkappaleita. Kloorifenolipitoinen maa seulottiin 4 mm:n seulalla hienojakoisen ja homogeenisen maa-aineksen saamiseksi. Kloorifenolipitoisuudet olivat alustavan analyysin perusteella erittäin korkeita noin 13 000 mg / kg (Taulukko 2), joten maata laimennettiin kuivalla savijauheella ennen varsinaisten koeseosten tekoa. Pilaantunutta maata (11,45 kg) kasteltiin vedellä pölyämisen estämiseksi (2,55 kg) ja maahan sekoitettiin savijauhoa (11,59 kg; 1:1). Vasta tämän jälkeen ryhdyttiin tekemään varsinaisia seoksia kompostointikokeisiin. Kompostoitavan maan kloorifenolipitoisuuden arvioitiin tämän jälkeen olevan 6000–7000 mg/kg.

Taulukko 2. Sahalta otetun maanäytteen kloorifenolipitoisuus (KY-5:n komponentit).

Yhdiste	mg / kg
2,4,6.trikloorifenoli	500
2,3,4,6-tetrakloorifenoli	8900
pentakloorifenoli	3700
SUMMA	13000

Turvekäsittelyä (MT), kompostorit nro 1-3, varten sekoitettiin 12 kg turvetta ja 2 kg maa-saviseosta tuorepainoina sekä 1,6 kg vettä. Ravinnekäsittelyssä (MTR), kompostorit nro 4-6, noin 4 kg ravinteita sekoitettiin aluksi turpeeseen ja turveravinneeseen (yhteensä 16 kg) sekoitettiin savimaahan (2 kg). Katalyyttikäsittely (MTRK), kompostorit nro 7-9, tehtiin samoin kuin MTR, mutta maahan lisättiin vielä katalyytiksi 3,4 % jauhemaista ja 8,5 % nestemäistä komponenttia. Kutakin seosta punnittiin koekompostoreihin 6-8 kg. Jokaista käsittelyä tehtiin kolme replikaattia.

4.2. Kompostorit, ylläpito ja näytteiden otto

Kompostoreina käytettiin styroksisia kylmälaukkuja (25 l), joiden sisällä oli muovipinnoitetusta lasikuituverkosta ympäröity puukehikko (12 l). Kylmälaukun kannen ja pohjan kulmiin porattiin reiät. Kannen reikiin asetettiin neljä aktiivihiihiisuodatinta suodattamaan hajuja. Aktiivihiihipussit toimivat tehokkaasti poistokaasujen suodattajina eikä huonetilaan tullut juuri hajuja kompostoitavasta massasta. Laatikoiden pohjiin porattiin myös reiät, joiden kautta kompostista irtoava vesi valui alla olevalle tarjottimelle. Kylmälaukun reiät edesauttoivat myös ilmastusta.

Jokaisesta kompostiseoksesta otettiin lähtötilänäytteet lasipurkkeihin. Kansien alle laitettiin folio estämään yhdisteiden haihtumista. Lähtönäytteet otettiin kairaamalla ontolla putkella kaksitoista reikää massan läpi. Jatkossa näytteet otettiin kokoomänäytteenä lisäkostutuksen ja sekoituksen yhteydessä.

Kompostoreista otettiin seurantanäytteet 14, 28, 64 vuorokauden kuluttua kokeen alkamisesta sekä kokeen purkamisen yhteydessä 95 vuorokauden kuluttua. Maa kaadettiin kehikosta yksitellen tyhjään laakeaan astiaan ja massasta otettiin näytettä 300-400 g

kannellisiin lasipurkkeihin. Kompostimassoja kasteltiin kolme kertaa kokeen aikana (14, 28 ja 64 vuorokauden kuluttua kokeen alkamispäivästä). Kompostimassat punnittiin ja komposteista haihtunut ja valunut vesi korvattiin lisäämällä vastaava määrä vettä. Kompostoreihin nro 4-9 lisättiin myös ravinnetta tai ravinne-katalyyttia 28 ja 64 vuorokauden kuluttua kokeen alkamisesta. Kompostimassa kaadettiin takaisin kompostoreihin. Näytepurkit pakastettiin samana päivänä.

Kompostoreiden lämpötilaa seurattiin kokeen aikana. Aluksi kompostoreista mitattiin lämpötiloja 1-2 vrk:n välein mutta jatkossa keskimäärin noin pari kertaa viikossa. Lämpötila mitattiin kompostimassan keskiosasta digitaalisella mittarilla 0.1°C:een tarkkuudella. Mittausten yhteydessä tarkkailtiin myös kompostimassan ulkonäköä, mm. mikrobikasvustoa ja mahdollista hajua.

Vanhimmat, biotesteihin käytetyt, kompostimassat olivat 95 vuorokauden ikäisiä. Kompostorit kuitenkin jätettiin vielä laboratorioon. Kompostoreista otettiin maanäytteet kloorifenoli- ja kloorianisoliipitoisuuksien määrittämistä varten 224 ja 490 vuorokauden kuluttua kokeen alkamisesta.

4.3. Fysikaaliset ja kemialliset analyysit

Jyväskylän Ympäristötutkimuskeskuksen laborantit tekivät näytteille fysikaaliset ja kemialliset analyysit. Maa-aines saatiin analyysieihin samalla, kun koemaat sulatettiin biotestien tekoa varten. Kompostorien perustamispäivänä jokaisesta käsittelystä (lähtönäytteistä) otettiin kaksi rinnakkaisnäytettä, joista tehtiin kemialliset ja fysikaaliset analyysit. Seurantanäytteiden osalta jokaisesta kompostorista tehtiin fysikaaliset ja kemialliset analyysit jokaista näytteenottokertaa kohden.

Kloorifenolianalyysissä maanäytettä uutettiin sisäisten standardien (2,3,6-TCP, 2,4,6-TBP) lisäyksen jälkeen asetonin ja heksaanin seoksella (1:1) sekä natriumhydroksidilla. Ennen kvantitointia kloorifenolit asetyloitiin etikkahappoanhydridillä. Kvantitointi tehtiin kaasukromatografisesti (kaksoiskolonnilaitteisto) EC-detektoreita käyttäen.

Kloorianisolimäärityksessä maanäytettä uutettiin asetonin ja heksaanin seoksella liuotinuuttolaitteella. Uuton jälkeen näyte puhdistettiin alumiinioksidipylväällä. Kvantitatiivinen määrittäminen tehtiin kaasukromatografisesti (kaksoiskolonnilaitteisto) EC-detektoreita käyttäen. Menetelmä kehitettiin projektin aikana kloorianisoliin analysoimiseksi maanäytteistä.

PCDD/PCDF -määrityksessä kuivattua maanäytettä uutettiin orgaanisella liuottimella liuotinuuttolaitteella. Uuton jälkeen näytteeseen lisättiin sisäisiksi standardeiksi tunnetut määrät hiili13-merkittyä 2,3,7,8-TCDD:a, 2,3,7,8-TCDF:a, 1,2,3,6,7,8-HeCDD:a, 1,2,3,4,6,7,8-HeCDF:a sekä OCDD:a. Näyte puhdistettiin väkevällä rikkihapolla sekä alumiinioksidi- ja aktiivihiilipylväällä. Kvantitointi tehtiin massaspektrometrisesti SIM-tekniikkaa käyttäen.

4.4. Biotestit

Pakastetuista näytteistä otettiin tarvittava määrä maata (ks. alla) biotestejä varten. Näytteiden kosteusprosentti vaihteli melko paljon ja osa näytteistä oli varsin kuivia, joten näytteitä kasteltiin ennen biotestejä. Maahan lisättiin 5-10 ml:n erissä tislattua vettä, kunnes kosteus vaikutti testeihin silmämääräisesti sopivalta. Maa ei saa olla liian märkää, jotta ilmava rakenne säilyy koeastioissa. Eri maaperäeläintestien standardien mukaan

kosteuden tulee olla 40–60% maan vedenpidätyskyvystä. Kasvitestissä kosteus saa olla vielä suurempi, niinpä kasvitestinäytteisiin lisättiin vielä erikseen tislattua vettä. Jokaisesta lasipurkista otettiin näytemaata myös pH:n ja johtokyvyn määrittystä varten.

Näytteitä oli 14, 28, 64 ja 95 vuorokauden vanhoista kompostimassoista. Jokaisesta yhdeksästä kompostilaatikosta otettiin kaksi näytettä biotesteihin. Kolmen eri seosainekombinaation (MT, MTR, MTRK), kahden rinnakkaisnäytteen ja neljän näytteenottokerran (14, 28, 64 ja 95 vrk) seurauksena koeastioita oli 72 kappaletta hyppyhäntäistesteihin, 72 kappaletta änkyrimatotesteihin sekä 72 kappaletta kasvitesteihin, yhteensä 216 koeastiaa. Tämän lisäksi kompostien perustamispäivänä (0 vrk) otetuista lähtönäytteistä (MT, MTR, MTRK) tehtiin jokaisesta neljä replikaattia eli yhteensä 12 koeastiaa kumpaakin maaperäeläin- ja kasvitestiä kohti.

Biotesteissä käytettiin myös kontrollimaata, koska haluttiin varmistua siitä, ettei mikään kokeen ulkopuolinen tekijä vaikuta kokeen tuloksiin. Kontrollimaa tehtiin keinomaasta, joka oli valmistettu ISO 1998 -standardin mukaisesti. Keinomaa sisältää 10 % seulottua (\varnothing 1 mm) ja kuivattua (65°C/1 vuorokausi) turvetta, 20 % kaoliininsavea, 70 % kvartsihiekkää sekä noin 1 % kalsiumkarbonaattia (CaCO₃) oikean pH:n (6,0 ± 0,5) aikaansaamiseksi. Kontrolleja oli jokaista eläin- ja kasvikäsittelyä kohti neljä kappaletta, yhteensä 12 kappaletta. Kaiken kaikkiaan koeastioita oli biotesteissä 240 kappaletta.

Eri-ikäisten kompostimaiden toksisuutta testattiin kahdella maaperäeläinlajilla, hyppyhäntäisellä (*Folsomia candida*) ja änkyrimadolla (*Enchytraeus* sp.) sekä yhdellä kasvilajilla, salaatilla (*Lactuca sativa*). Mitattavia vastemuuttujia olivat hyppyhäntäisten ja änkyrimatojen kuolevuus ja lisääntyminen sekä salaatin siementen itävyys. Kokeeseen valittiin kolme testilajia erilaisista eliöryhmistä, joilla jokaisella on erilainen altistumistapa haitta-aineille.

4.4.1. Hyppyhäntäistesti ja änkyrimatotesti

Hyppyhäntäiskoetta varten maata punnittiin 10–20 g (tuorepainona) lasisiin 50 ml:n dekanterilaseihin. Koe tehtiin ISO-standardin (ISO 1999a) mukaisesti *Folsomia candida*-hyppyhäntäislajin yksilöillä. Alkuperäiset hyppyhäntäiset olivat peräisin tanskalaiselta Ympäristöntutkimuslaitokselta. Kokeessa käytettiin 10–12 vuorokauden ikäisiä yksilöitä, koska juveniilit ovat aikuisia herkempiä testieläimiä. Aikuisia yksilöitä siirrettiin uusille kasvatusalustoille ja munineet aikuiset poistettiin parin vuorokauden kuluttua. Koe voitiin aloittaa kahdentoista vuorokauden kuluttua ensimmäisten jälkeläisten kuoriuduttua. Hyppyhäntäiset siirrettiin koepurkkeihin silikoniletkulla, joka oli liitetty tyhjiöpumppuun. Letkun toisessa päässä oli muovinen pipetin kärki, johon saatiin muodostettua heikko imu. Imua apuna käyttäen kymmenen hyppyhäntäisyksilöä poimittiin ensin dekanterilasiin, jonka pohjalle oli valettu tumma kipsin ja hiilen seos helpottamaan hyppyhäntäisten erottamista. Dekanterilasista hyppyhäntäiset siirrettiin varsinaiseen koeastiaan. Koeastioihin lisättiin kuivahiiva ruuaksi.

Vaikka *E. albidus* on varsinainen OECD (1999) standardin suositteluun testilaji, on testissä luvallista käyttää myös muita *Enchytraeus* -sukuun kuuluvia änkyrimatolajeja. Kokeessa käytettiin pienempää, elintavoiltaan *E. albiduksen* kaltaista ja tälle lähisukuista änkyrimatolajia, *Enchytraeus* sp. Änkyrimatoa ei tunnustettu lajilleen, mutta sitä on käytetty aiemminkin testeissä erilaisilla mailla hyvin tuloksin (Juvonen ym. 2000, Schultz ym. 2002). Pienempänä lajina sillä on *E. albidusta* lyhyempi elinkierto, jolloin kokeen

kestokin on vain 4 viikkoa (*E. albiduksella* 6 viikkoa). Se viihtyy hyvin laboratorio-oloissa lisääntyen nopeasti, ja lisäksi sitä on helppo käsitellä.

Änkyrimatoja varten maata punnittiin 20–30 g lasisiin 50 ml:n dekantterilaseihin. Änkyrimadot nosteltiin kasvatusalustalta petrimaljalle veteen, josta kymmenen matoa siirrettiin ohuen neulan avulla edelleen koeastioihin. Kokeeseen pyrittiin valitsemaan samankokoisia, riittävän suuria yksilöitä, joilla kaikilla oli kehittynyt klitellum. Ruuaksi lisättiin hienonnettua kaurahiutalejauhoa. Hyppyhäntäisiä ja änkyrimatoja oli kasvatettu valmiiksi Jyväskylän Ympäristöntutkimuskeskuksen laboratoriossa.

Hyppyhäntäisten ja änkyrimatojen koepurkit peitettiin foliolla ja siirrettiin inkuboitumaan 20 °C:een ($\pm 2^\circ\text{C}$) kasvatuskaappiin, 16h:8h:n valorytmiin noin neljäksi viikoksi (33 vuorokautta). Koepurkkien painot tasattiin lisäämällä haihtuneen veden tilalle tarvittava määrä tislattua vettä viikon, kahden ja kolmen viikon kuluttua biotestin aloittamisesta. Samalla lisättiin tarvittaessa ruokaa. Kastelujen yhteydessä vaihdeltiin purkkien paikkoja kasvatuskaapissa.

4.4.2. Eläintestien purku

ISO (1999) standardin mukaan hyppyhäntäisten biotestin kesto on 28 vuorokautta. Tässä ajassa lisätyt hyppyhäntäiset ovat ehtineet munia ja juveliinit syntyä. Croaun ym. (1999) mukaan 28 vuorokautta on liian lyhyt hyppyhäntäistestisiin, sillä *F. candidalla* on vielä 33–34 vuorokauden kuluttua voimakas jälkeläisten kuoriutumispiikki. Purimme kokeen näin ollen vasta 33 vuorokauden kuluttua kokeen aloittamisesta.

Hyppyhäntäiset eroteltiin näytteistä High gradient – kuivasuppilomenetelmällä. Näytteet tyhjennettiin toisesta päästä tiheällä harsolla peitettyihin muovirenkaisiin ja asetettiin 2 dl astioiden päälle. Laite lämmittää näytteitä yläpuolelta, jolloin hyppyhäntäiset putoavat lämpöä paetessaan astioihin. Astioiden pohjalle oli valettu ohut hiilen ja kipsin seos, mikä helpotti eläinten erottamista ja laskemista tummaa alustaa vasten. Astiat pakastettiin myöhemmää yksilöiden laskua varten.

Änkyrimadot eroteltiin näytteistä märkäsuppilomenetelmällä. Näytteet tyhjennettiin toisesta päästä harsolla peitettyihin renkaisiin ja asetettiin vedellä täytettyihin muovisuppiloihin. Näytteitä lämmitettiin yläpuolelta 40 W hehkulampuilla ja lämpötilaa nostettiin asteittain erottelun kolmena ensimmäisenä tuntina. Eläimet pakenivat lämpöä suppiloiden alapäihin kiinnitettyihin koeputkiin. Koe purettiin kahden vuorokauden aikana neljässä osassa, ajaen 32 näytettä kerrallaan. Yksi ajo kesti kaiken kaikkiaan neljä tuntia. Näytteet säilöttiin 70 % alkoholiin ja koeputkiin lisättiin pari tippaa Bengalinpunaa helpottamaan änkyrimatojen ja näytteistä löydettyjen sukkulamatojen laskemista. Näytteet laskettiin satunnaisessa järjestyksessä. Vaikka änkyrimatojen märkäsuppiloajo ei ole sellaisenaan optimaalinen sukkulamadoille, laskettiin myös ne näytteistä.

4.4.3. Salaattikoe

Maata punnittiin maan laadusta riippuen 20–40 g muovisille petrimaljoille (\varnothing 10 cm) kasvitestiä varten. Jokaiseen petrimaljaan kylvettiin kaksikymmentä salaatin siementä. Siementen päälle lisättiin 10g keinomaata ja 5-10 ml tislattua vettä koemaan kosteudesta riippuen. Kannettomat petrimaljat laitettiin suljettaviin minigrip-pusseihin ja niiden annettiin inkuboitua pimeässä kaksi vuorokautta 20°C lämpötilassa. Pussien suita auottiin ilmanvaihdon aikaansaamiseksi ja mahdolliset itäneet taimet laskettiin. Petrimaljat

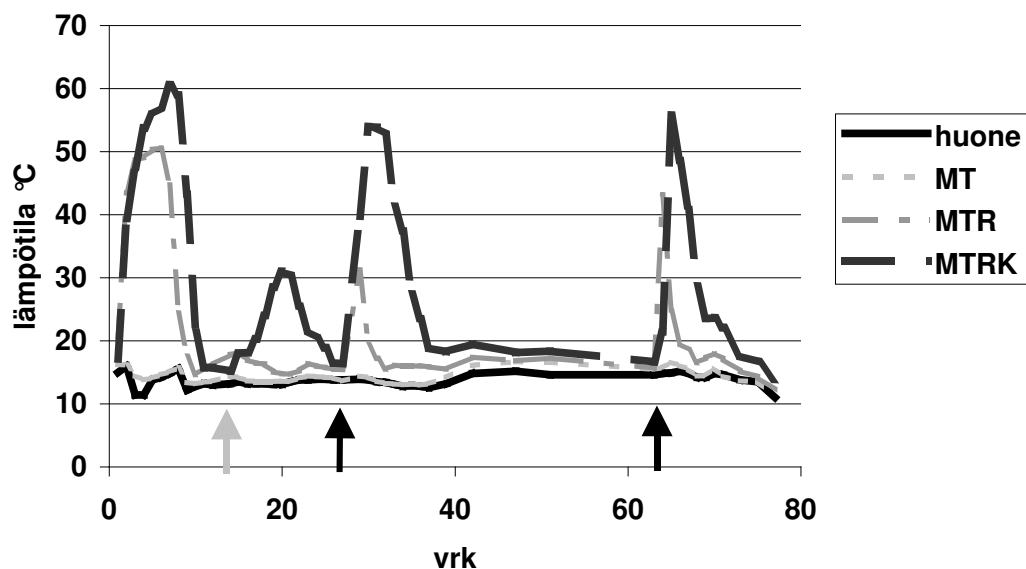
siirrettiin kasvatuskaappiin ($+20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, valo n. 500 lux 16h pimeä 8h). Itäneet taimet laskettiin viiden ja kymmenen vuorokauden kuluttua kylvöstä.

Saatujen tulosten tarkastamiseen ei käytetty tilastollisia menetelmiä, vaan niitä tarkasteltiin graafisten kuvaajien ja taulukoiden avulla. Eläin- ja salaattitesteissä tilastolliset testit olivat mahdottomia, sillä maaperäeläimet eikä salaatti selvinneet liian toksisessa kompostimaassa. Kloorifenolipitoisuuksien erojen tarkastelussa todettiin kuvaajat riittäviksi havainnollistamistavaksi.

5. TULOKSET

5.1. Kompostien lämpötila

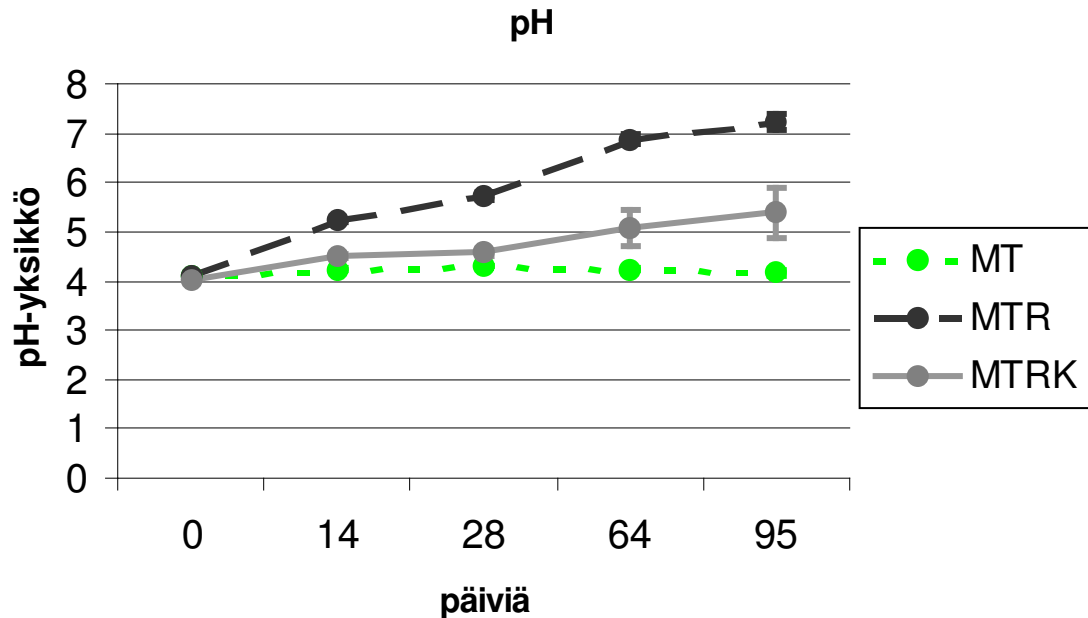
Turvekäsittelyssä lämpötila ei juuri noussut ympäristön lämpötilaa korkeammaksi. Ravinne ja katalyyttikäsittelyissä lämpötilat nousivat kokeen alussa nopeasti termofiiliselle alueelle. Katalyyttikäsittelyjen lämpötilat nousivat jokaisen ravinne-katalyyttilisäyksen jälkeen ravinnekäsittelyä korkeammalle (termofiiliselle alueelle) ja pysyivät korkeampana pitempään. Korkein lämpötila, $60,5\text{ °C}$, mitattiin katalyyttikäsittelyssä seitsemän vuorokautta kompostin perustamisesta. Ravinnekäsittelyssä lämpötila saavutti maksimilämpötilan 50 °C kokeen alussa, mutta laski sen jälkeen nopeasti. Myös pelkkä kastelu kahden viikon kuluttua kokeen aloituksesta aiheutti pienen lämpötilapiikin katalyyttikäsittelyssä (Kuva 1).



Kuva 1. Kompostien lämpötilan kehittyminen kokeen aikana. Tummat nuolet kuvaavat kompostimassojen kastelua ja katalyytin ja/tai ravinteiden lisäämisajankohtia, vaalea nuoli kastelua. $n=3$. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet, MTRK = MTR + katalyytti.

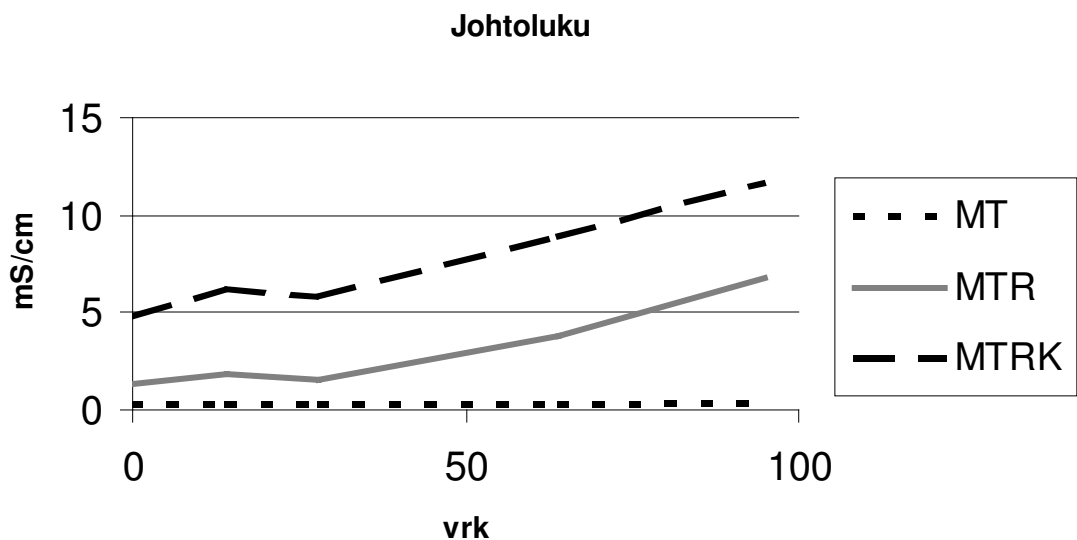
5.2. pH ja johtokyky

Lähtötilanteessa kompostimassojen pH oli 4. Turvekäsittelyssä pH pysytteli koko kokeen ajan alhaisena eli pH 4:ssä. Ravinne- ja katalyyttikäsittelyissä pH kohosi kokeen aikana. Ravinnekäsittelyssä pH nousi selvästi nopeimmin, ollen lähes neutraali (6,9) 63 vuorokauden kuluttua kokeen aloittamisesta. Kokeen loppuessa katalyyttikäsittelyn pH oli noin 5 (Kuva 2).



Kuva 2. Kompostien pH kokeen aikana. n=3. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet, MTRK = MTR + katalyytti.

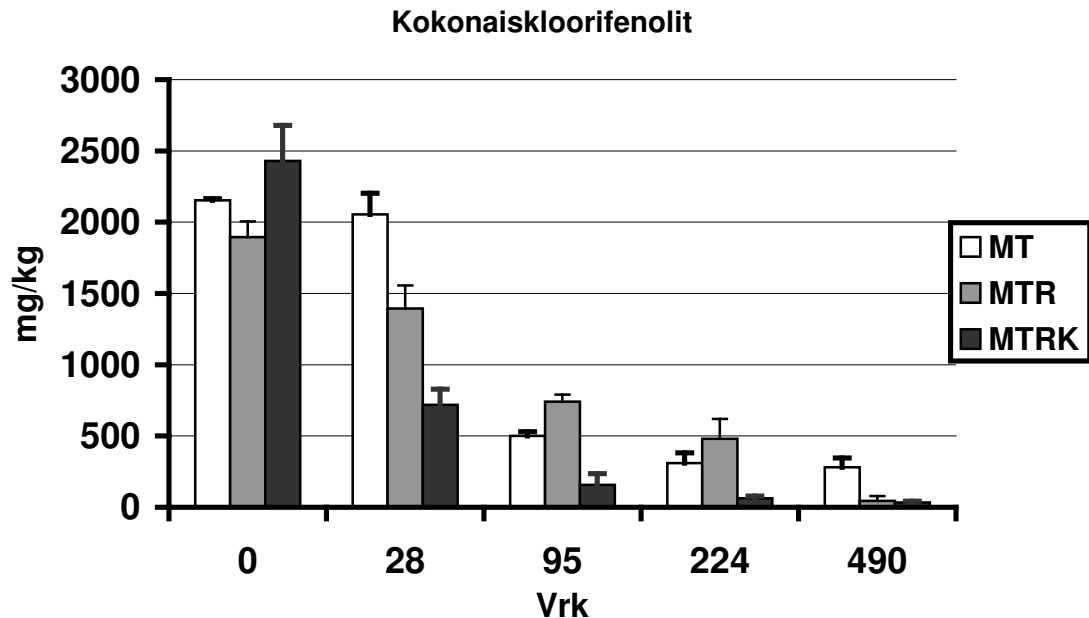
Kompostien johtokyky nousi selvästi ravinne- ja katalyyttikäsittelyissä ko. aineiden lisäyksen jälkeen, mutta pysyi alhaisena koko kokeen ajan turvekäsittelyssä



Kuva 3. Kompostien johtokyky kokeen aikana. n=3. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet, MTRK = MTR + katalyytti.

5.3. Kloorifenolipitoisuudet komposteissa

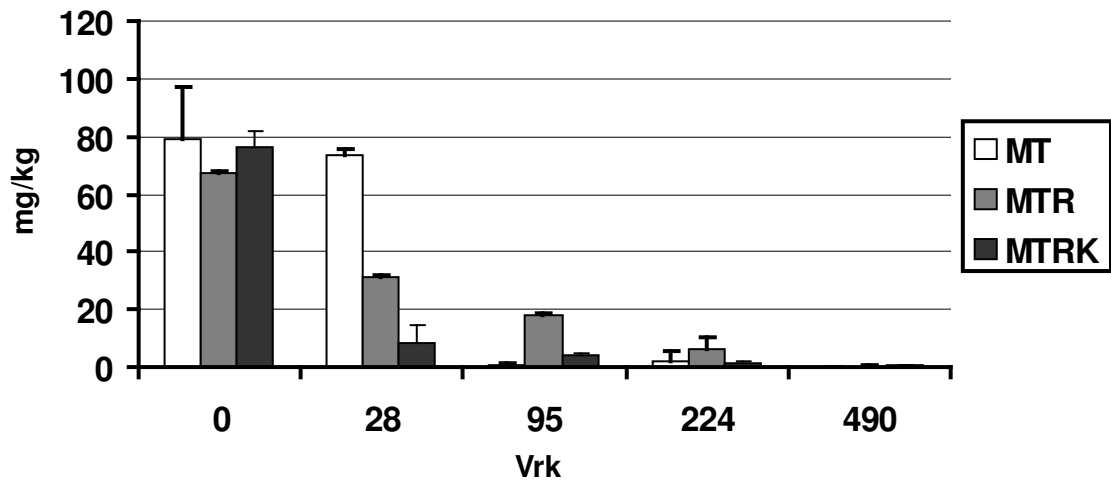
Kokonaiskloorifenolien pitoisuudet laskivat kompostoitumisen aikana. Nopeimmin kloorifenolien kokonaispitoisuudet laskivat katalyyttikäsittelyssä, hitaimmin turvekäsittelyssä. Kloorifenolien lähtöpitoisuudet olivat noin 2000 mg/kg ja laskivat kokeen loppuun mennessä (490 vrk) katalyyttikäsittelyissä muutamisiin kymmeneen ja ravinne- ja turvekäsittelyissä muutamisiin satoihin milligrammisiin kilossa maata (Kuva 4.).



Kuva 4. Kokonaiskloorifenolipitoisuudet komposteissa kokeen aikana (mg/kg \pm keskivirheet). Lähtönäytteet n=2, seurantanäytteet n=3. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet, MTRK = MTR + katalyytti

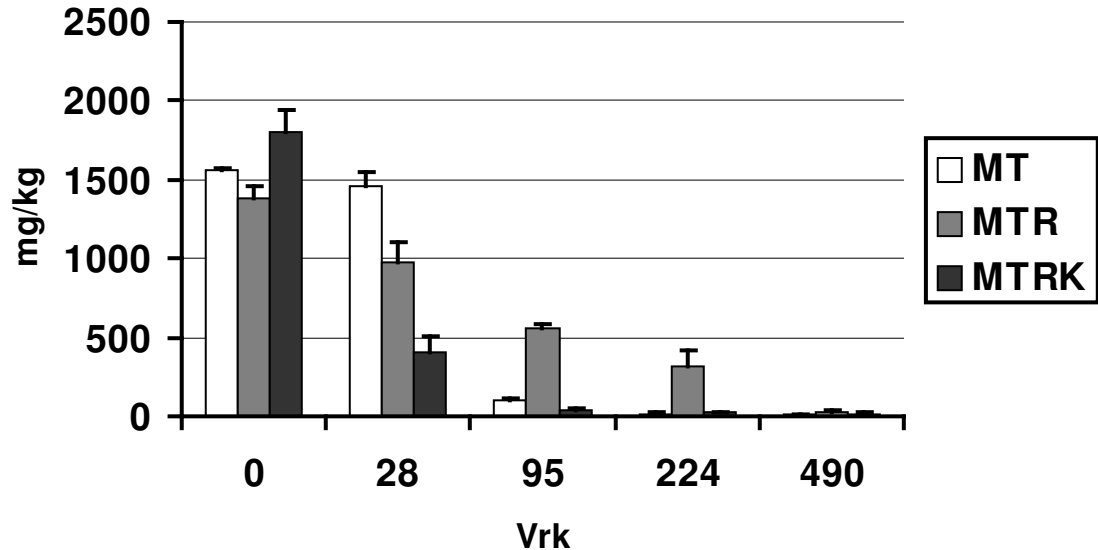
2,4,6-trikloorifenolipitoisuudet laskivat lähes nollaan kaikissa käsittelyissä (Kuva 5, Liite 1.). Myös 2,3,4,6-tetrakloorifenolin pitoisuudet vähenivät kaikissa käsittelyissä, mutta selvimmin turve- ja katalyyttikäsittelyissä. Katalyyttikäsittelyssä pitoisuus oli kokeen alussa noin 40 mg/kg, kun lähtöpitoisuus oli 1700–1900 mg/kg (Kuva 6, Liite 1.).

2,4,6-Trikloorifenoli (TCP)



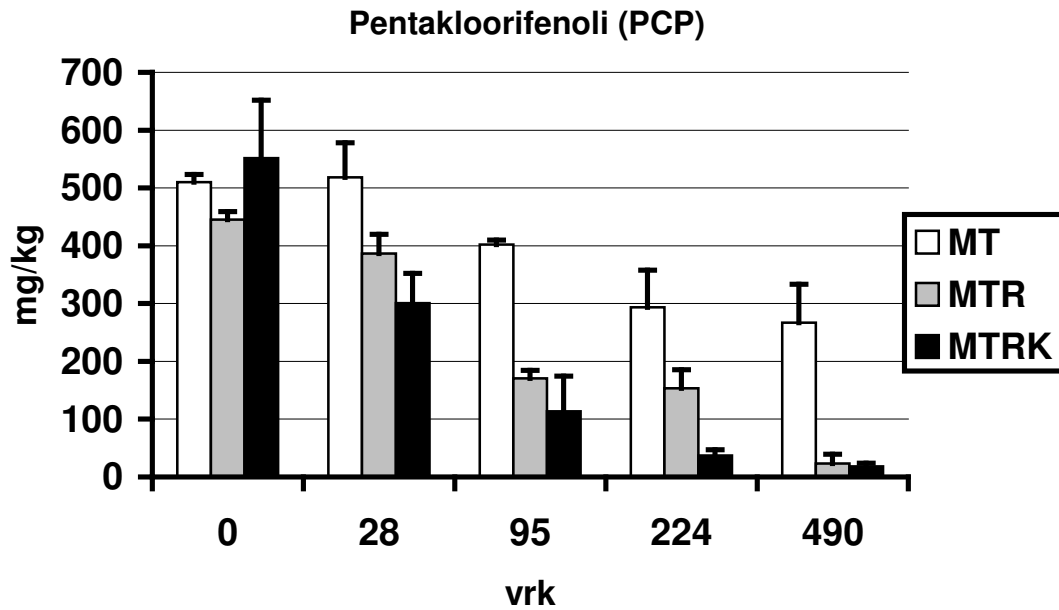
Kuva 5. 2,4,6-trikloorifenolin pitoisuus komposteista kokeen aikana (mg/kg \pm keskivirheet)
Lähtönäytteet n=2, seurantanäytteet n=3. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet,
MTRK = MTR + katalyytti.

2,3,4,6-tetrakloorifenoli (TeCP)



Kuva 6. 2,3,4,6-tetrakloorifenolin pitoisuus komposteista kokeen aikana (mg/kg \pm keskivirheet)
Lähtönäytteet n=2, seurantanäytteet n=3. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet,
MTRK = MTR + katalyytti.

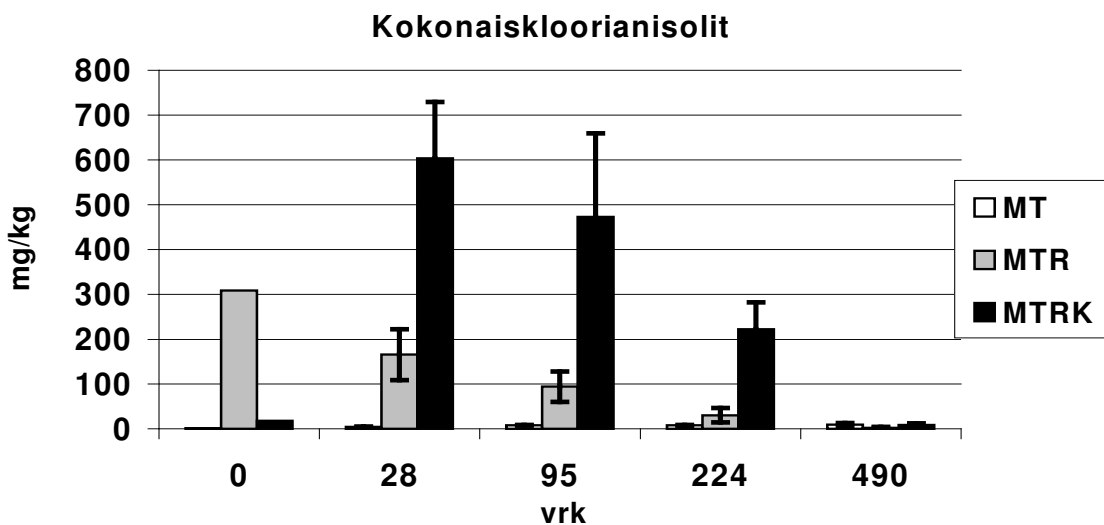
Pentakloorifenolin pitoisuudet alenivat selkeimmin ravinne- ja katalyyttikäsittelyssä, mutta pysyivät korkeina turvekäsittelyssä (Kuva 7, Liite 1.).



Kuva 7. Pentakloorifenolin pitoisuus komposteista kokeen aikana (mg/kg \pm keskivirheet) Latnanaytteet n=2, seurantanäytteet n=3. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet, MTRK = MTR + katalyytti.

5.4. Kloorianisolipitoisuudet komposteissa

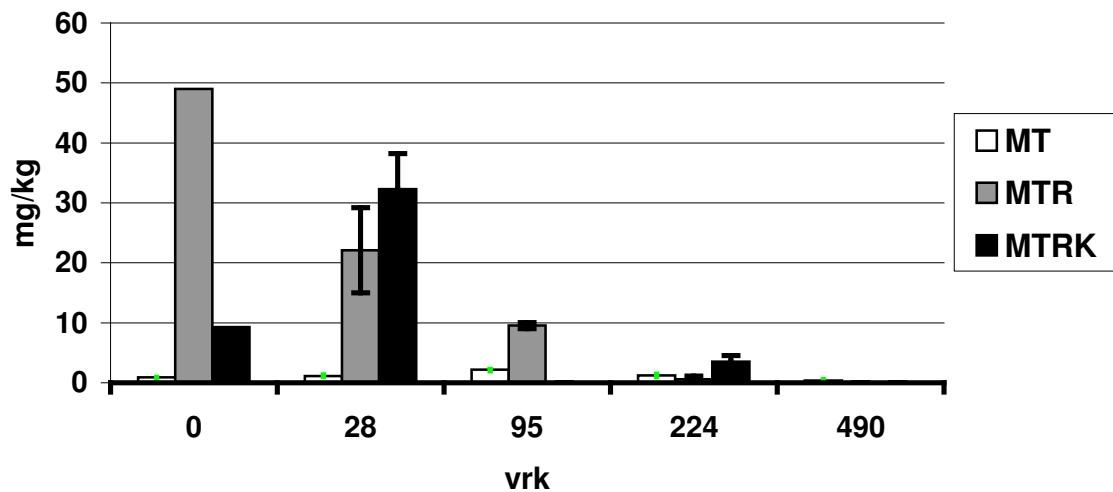
Kloorianisoliin osalta tulokset poikkesivat selvästi eri käsittelyjen vällä. Turvekäsittelyssä anisoliipitoisuudet olivat erittäin alhaiset koko kokeen ajan, joskin PeCA:n pitoisuus näytti jonkin verran nousevan loppua kohden (Kuva 11., Liite 2.). Ravinnekäsittelyssä kokonaispitoisuudet olivat korkeimmillaan (noin 300 mg/kg) heti kokeen alussa laskien tasaisesti kokeen loppua kohden. Katalyyttikäsittelyssä ei alussa vielä anisoleja löytynyt, mutta jo kuukauden kuluttua pitoisuudet olivat erittäin korkeita (kokonaiskloorianisolit n. 600 mg/kg), (Kuva 8.)



Kuva 8. Kokonaiskloorianisolin pitoisuudet kokeen aikana (mg/kg \pm keskivirheet) Latnanaytteet n=2, seurantanäytteet n=3. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet, MTRK = MTR + katalyytti.

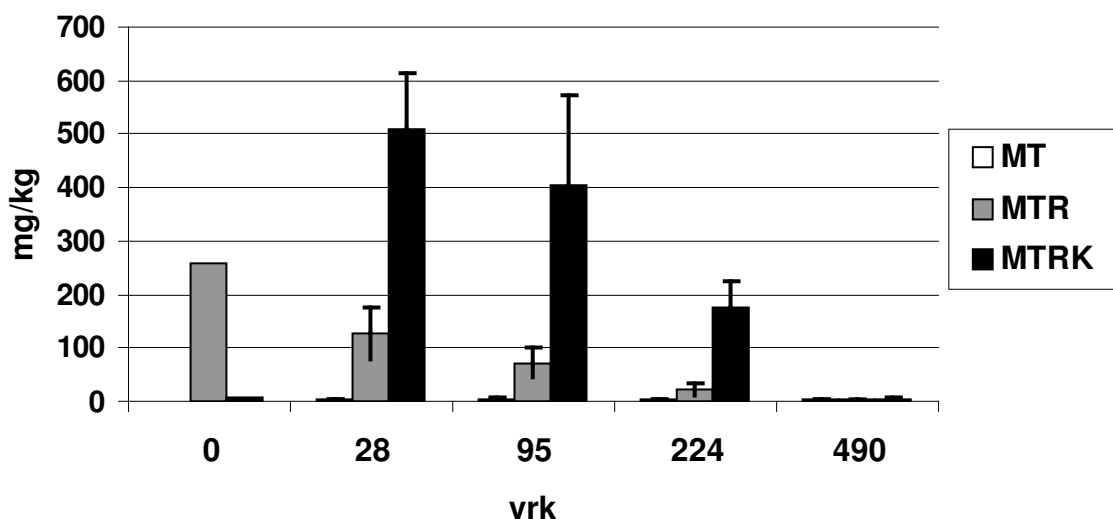
Lähtönäytteiden ravinnepöytäkirjasta löytyi 2,4,6-trikloorianisoleja ja 2,3,4,6-tetrakloorianisoleja, mutta pentakloorianisoleja ei vielä ravinnepöytäkirjasta löytynyt (Kuvat 9–11). TCA:n (Kuva 9) sekä TeCA:n (Kuva 10) pitoisuudet katalyyttikäsittelyissä olivat suurimmillaan 28 vuorokauden kuluttua kokeen aloittamisesta, pentakloorianisolin puolestaan 95 vuorokauden kuluttua (Kuva 11). Pitoisuudet pienenevät tasaisesti ollen kokeen lopussa jo varsin alhaisia (Liite 2.).

2,4,6-trikloorianisoli (TCA)

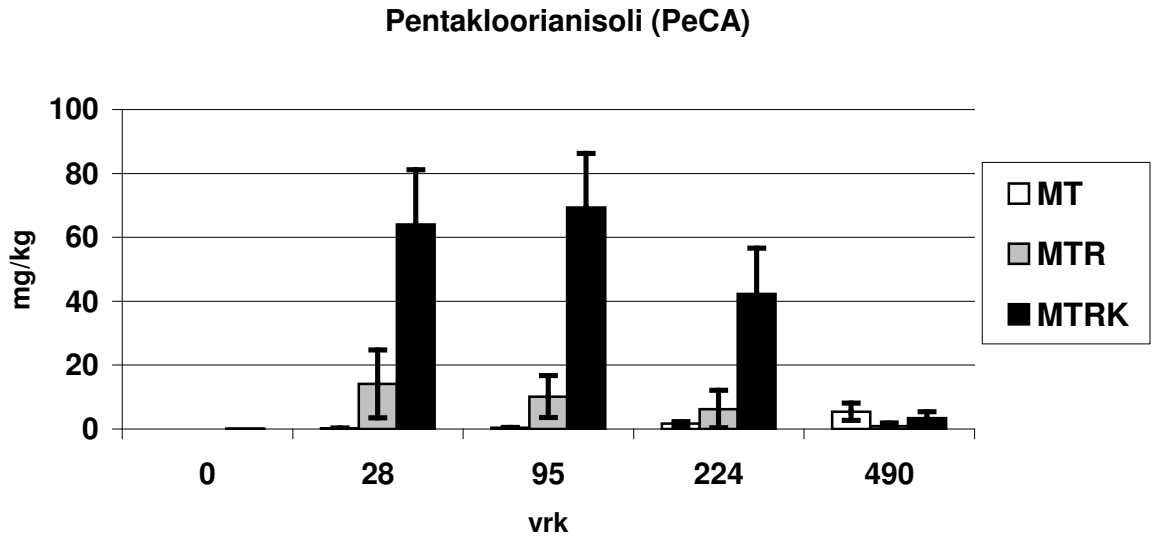


Kuva 9. 2,4,6-trikloorianisolipitoisuudet komposteissa kokeen aikana (mg/kg \pm keskiarvot)
Lähtönäytteet n=2, seuranta-äytteet n=3. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet,
MTRK = MTR + katalyytti.

2,3,4,6-tetrakloorianisoli (TeCA)



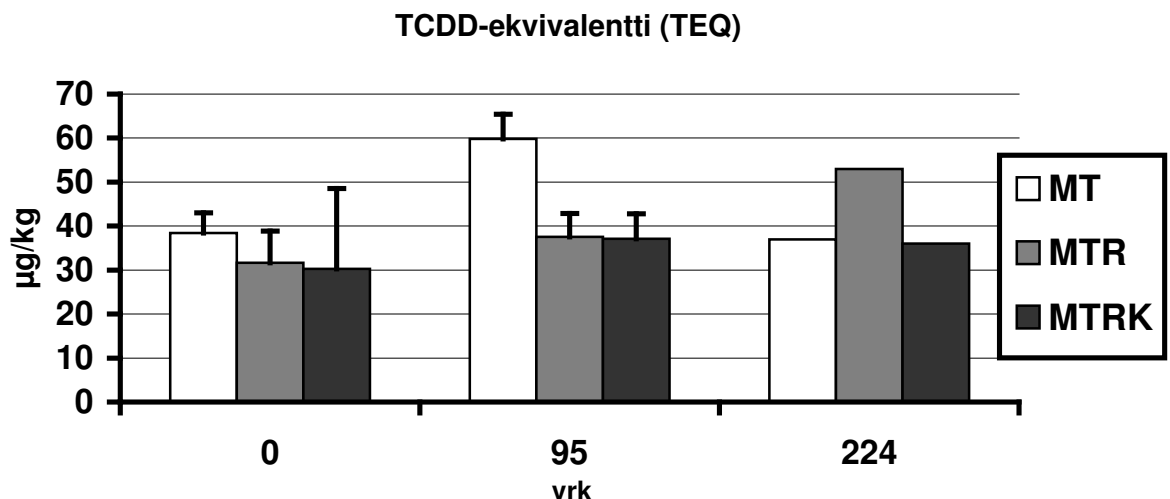
Kuva 10. 2,3,4,6-tetrakloorianisolipitoisuudet komposteissa kokeen aikana (mg/kg \pm keskiarvot)
Lähtönäytteet n=2, seuranta-äytteet n=3. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet,
MTRK = MTR + katalyytti.



Kuva 11. Pentakloorianisolipitoisuudet komposteissa kokeen aikana (mg/kg \pm keskivirheet) Lähönäytteet n=2, seurantanäytteet n=3. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet, MTRK = MTR + katalyytti.

5.5. Dioksiinien ja furaanien pitoisuudet komposteissa

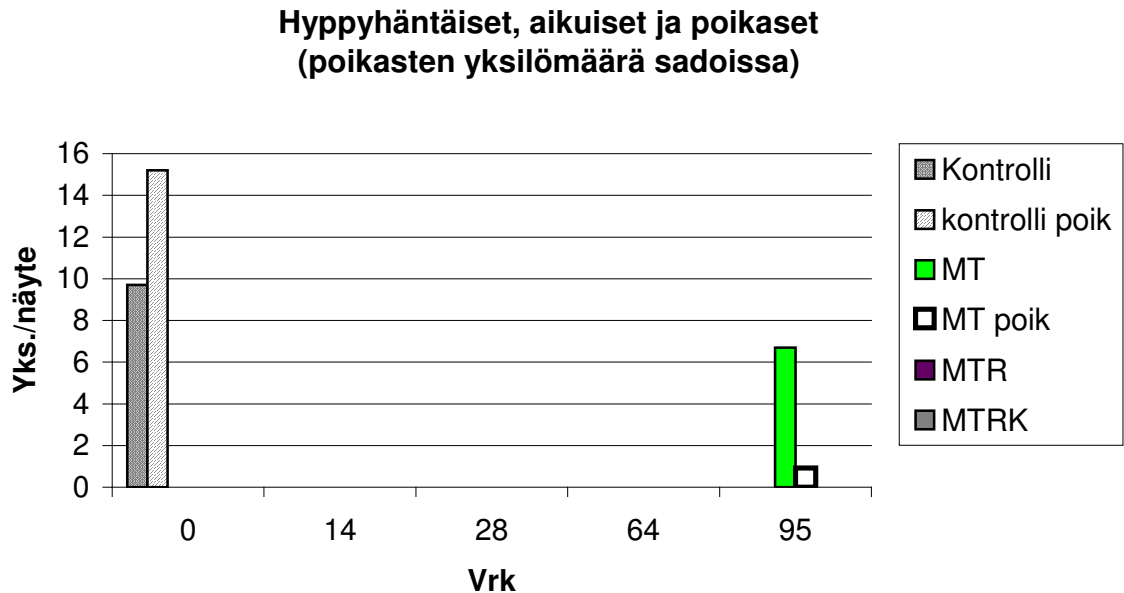
Dioksiinien ja furaanien pitoisuudet analysoitiin turve-, ravinne- ja katalyyttikäsittelyistä kaikista kolmesta replikaatista lähtötilanteessa ja 95 vuorokauden kuluttua sekä yhdestä replikaatista kutakin käsittelyä kohden 224 vuorokauden kuluttua kokeen alusta. Dioksiineja ja furaaneja löytyi lähtötilanteen näytteissä ja pitoisuudet olivat kasvaneet hieman kompostoinnin aikana. Dioksiinien ja furaanien pitoisuudet olivat korkeammat pelkässä turvekäsittelyssä kuin ravinne- ja katalyyttikäsittelyssä 95 vuorokauden jälkeen. TCDD-ekvivalentteina (TEQ) ilmaistuna pitoisuudet vaihtelivat 30 μ g/kg ja 60 μ g/kg välillä, eli pitoisuuksissa ei juurikaan ilmennyt muutoksia.



Kuva 12. Dioksiinien ja furaanien pitoisuudet komposteissa lähtötilanteessa, 95 sekä 224 vuorokauden kuluttua kokeen aloittamisesta TCDD-ekvivalentteina (TEQ) ilmaistuna (mg/kg \pm keskivirheet). n=3. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet, MTRK = MTR + katalyytti.

5.6. Biotestien tulokset

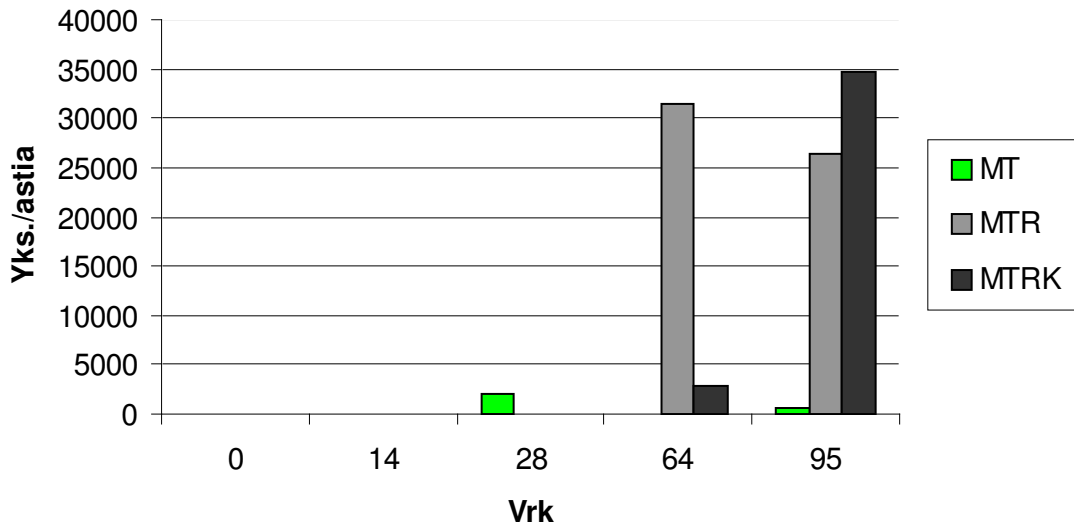
Hyppyhäntäistestissä, jossa käytettiin vanhimmillaan 95 vuorokauden ikäistä kompostimaata, hyppyhäntäisiä löytyi kontrollimaan lisäksi elossa vain loppunäytteiden turvekäsittelystä. Yksilöt olivat pääosin aikuisia yksilöitä, mutta turvekäsittelyssä hyppyhäntäiset olivat pystyneet lisääntymäänkin. Turvekäsittelystä poikasia löytyi noin sata yksilöä. Kontrollimaassa hyppyhäntäiset olivat lisääntyneet odotetusti. Ravinne ja katalyyttikäsittelystä ei löytynyt hyppyhäntäisiä (Kuva 13).



Kuva 13. Hyppyhäntäisten (*Folsomia candida*) yksilömäärät koeastioissa neljän viikon inkuboinnin jälkeen kloorifenolikokeen eri käsittelyistä otetuista näytteistä Kokeen alussa kymmenen 9-13 vrk ikäistä yksilöä / koeastia, n = 3. MT = kloorifenolimaa + turve, Poi = poikaset.

Yhtään änkyrimatoa ei selvinnyt hengissä koemaissa kontrollimaata lukuun ottamatta. Kontrollimaista löytyi keskimäärin 460 yksilöä/astia. Sen sijaan änkyrimatojen koeastioista löytyi runsaasti sukkulamatoja. Eniten sukkulamatoja oli ravinne- ja katalyyttikäsittelyissä. Sukkulamatojen yksilömäärä oli suurimmillaan ravinne- ja katalyyttikäsittelyssä 28 ja 64 vuorokauden ja katalyyttikäsittelyssä 95 vuorokauden näytteissä. Turvekäsittelystä sukkulamatoja löytyi vain muutamia (Kuva 14).

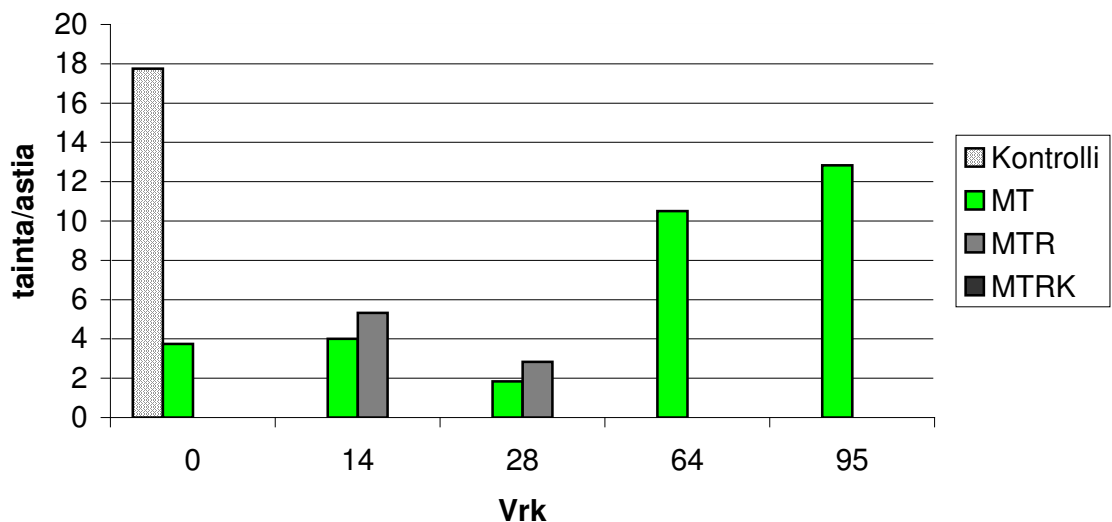
Sukkulamatojen yksilömäärä



Kuva 14. Sukkulamatojen yksilömäärä ankyrimatojen koeastioissa neljän viikon inkuboinnin jälkeen kloorifenolikokeen eri käsittelyistä otetuista näytteistä. Kokeen alussa 10 aikuista yksilö / koeastia, n= 3. yksilömäärät on ilmoitettu tuhatkertaisena. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet, MTRK = MTR + katalyytti.

Salaatin itävyydestissä itävyys oli aluksi heikkoa kaikissa käsittelyissä, mutta kokeen loppua kohden se parani turvekäsittelyssä. Sen sijaan ravinnekäsittelyssä itävyys näytti aluksi paranevan, mutta loppua kohden se putosi nolnaan. Katalyyttikäsittelyssä ei yksikään siemen itänyt koko kokeen aikana. Kontrollimaassa siemenet itivät hyvin (Kuva 15).

Salaatin itävyys



Kuva 15. Salaatin itävyys koeastioissa neljän viikon inkuboinnin jälkeen kloorifenolikokeen eri käsittelyistä otetuissa näytteissä. Kokeen alussa 20 siementä/koeastia, n=3. MT = kloorifenolimaa + turve, MTR = MT + ravinteet.

6. TULOSTEN TARKASTELU

6.1. Kompostien lämpötila

Lämpötila vaikuttaa merkittävästi kloorifenolien hajoamisnopeuksiin. Lämpötilan kohotessa mikrobisolujen kemialliset ja entsyymaattiset reaktiot nopeutuvat (Boettcher & Nyer 2001). Useimpien kloorifenolien hajoamisen on havaittu hidastuneen kun lämpötila on pudonnut alle 4°C. Kloorifenolien haihtuminen ja mikrobien aktiivisuus vähenevät näin alhaisessa lämpötilassa (Trevors 1982a).

Kompostien hajottajamikrobiston optimilämpötilasta on eriäviä havaintoja. Boettcherin ja Nyerin (2001) mukaan tärkeiden hajottajamikrobien toiminnan yläraja kompostissa on 55 °C ja hajotus on parhaimmillaan mesofiilisellä alueella noin 45° C lämpötilassa. Termofiiliset mikrobit toimivat 55 °C yläpuolella ja eräät bakteerit viihtyvät hyvin 0°C :ssa. Valon ym. (1985a) tutkimusten mukaan mikrobisto mineralisoi kloorifenoleja parhaiten lämpötilan ollessa mesofiilisellä alueella (28 °C ja 37 °C). Laineen & Jørgensenin (1996) kokeessa pentakloorifenoli hajosi parhaiten mesofiilisessä ja hieman termofiilistä alemmassa lämpötilassa (45 °C) pH:n ollessa 7-8.

Maaperän mikrobisto (pääosin mesofiilinen mikrobisto) on sopeutunut kasvamaan 20–45 °C:n lämpötilassa. Maaperän lämpötila on näin ollen yleensä mikrobiston optimilämpötilaa alhaisempi (Boettcher & Nyer 2001). Suomen kylmä ilmasto hidastaa mikrobitoimintaa erityisesti talvella, mikä lisää kloorifenolien pysyvyyttä saha-alueiden maaperässä (Valo ym. 1985a).

Mikrobiston kasvunedellytyksiä pyrittiin parantamaan tarjoamalla mikrobeille riittävästi ja oikeassa suhteessa helppoliukoisia ravinteita (hiiltä, typpeä ja fosforia) sekä kastelemalla kompostimassoja kokeen aikana. Turve edesauttoi ilman kulkeutumista ja lämmön ylläpitoa komposteissa. Kompostien lämpötilat nousivat välittömästi ravinne- ja katalyyttikäsittelyissä termofiiliselle alueelle, huolimatta kompostimassan pienestä määrästä ja laboratorion lämpötilasta (noin +15°C). Katalyyttikäsittely antoi mikrobitoiminnalle lisäenergiaa, koska lämpötila nousi ravinnekäsittelyä enemmän katalyyttiä sisältävissä komposteissa.

Termofiilisten mikrobien toiminnan kannalta olisi ollut suotavaa, että kompostorien lämpötila olisi pysynyt kauemmin yli 40 °C:een yläpuolella. Parhaat edellytykset termofiilisellä mikrobitoiminnalla on ollut heti ravinne-katalyyttilisäyksen jälkeen. Viikon kuluttua lisäyksestä kompostimassojen lämpötila kuitenkin laski lähelle ympäristön lämpötilaa, kun suurin osa ravinteista oli kulutettu. Katalyyttikomposteissa, joissa oli termofiilinen lämpötila, kloorifenolien pitoisuudet laskivat nopeammin kuin muissa käsittelyissä.

Vaikka ravinnekäsittelyissä lämpötila oli lähempänä Valon ym. (1985a) suosittamaa mesofiilistä aluetta, pitoisuudet putosivat katalyyttikäsittelyssä nopeammin. Pelkässä turvekäsittelyssä, ympäristön lämpötilassa, kloorifenolipitoisuudet todennäköisesti alenivat pikemminkin yhdisteiden adsorption kuin mikrobitoiminnan seurauksena.

Kompostorit saattoivat olla liian pienikokoisia ylläpitämään riittävän korkeita lämpötiloja. Hännisen ym. (1987) kompostointikokeissa turve ei soveltunut edes pieninä

määrinä kompostoitavaksi lietteen kanssa. Turvekompostien lämpötilat eivät kohonneet riittävän korkealle, jotta kompostoituminen olisi käynnistynyt. Turvekomposteissa myös vesipitoisuus putosi lähtötilanteesta puoleen. Turve ei kuivu helposti mutta kuivuttuaan riittävästi se ei ime helposti vettä.

6.2. Kloorifenolien sitoutuminen orgaaniseen aineeseen

Kloorifenolien sitoutuminen (adsorptio) maaperän orgaaniseen aineeseen riippuu ympäristön pH:sta, fenolin kloorautuneisuusasteesta sekä klooriatomien sijainnista fenolirenkaassa. Kloorifenolien liukoisuus ja liikkuvuus maaperässä vähenee yksinkertaisemmista kloorifenoleista aina pentakloorifenoliin. Suurimmat kloorifenolipitoisuudet, ja voimakkaimmin kloorautuneet fenolit tavataan maaperän pintakerroksista, jossa on suurin humuspitoisuus (Kitunen ym. 1987).

Kloorifenolit voivat sitoutua humukseen kovalenttisin sidoksin, maaperän sienten, bakteerien ja kasvien tuottaessa entsyymejä katalysoimaan näitä hapetusreaktioita (Jensen & Folker-Hansen 1995). Kovalenttisessa sitoutumisessa kloorifenoleihin liittyy lisää molekyyliä (polymeraatio). Syntynyt yhdiste on erittäin tiukasti kiinni maaperässä, jolloin se on myös mikrobiston ulottumattomissa (Boyd ym. 1989, Schönborn & Dumpert 1989) aiheuttaen ongelmia biologiselle kunnostamiselle. Vanhojen sahojen maaperässä jo vuosikymmeniä olleilla kloorifenoleilla, kuten tutkimuksessakin käytetyn maan kloorifenoleilla, on ollut aikaa adsorpoitua orgaaniseen aineeseen.

Jos ympäristön pH on kloorifenolin happovakiota eli pKa-arvoa alempi, yhdiste on rasvaliukoisemmassa fenolimuodossa ja adsorptio orgaaniseen aineeseen on voimakkaampaa (van Gestel & van Dis 1988, Valo 1990, Jensen & Folker-Hansen 1995). Rasvaliukoinen yhdiste kertyy (bioakkumuloituu) helposti maaperäeliöihin. Toisaalta rasvaliukoisen yhdisteen tehokas sitoutuminen orgaaniseen aineeseen tekee siitä eliöille vaarattomamman (Jensen & Folker-Hansen 1995). Kloorifenolien hajoaminen on siten hitaampaa alhaisessa pH:ssa orgaanisen aineen määrän ollessa suuri (van Gestel & Ma 1988, Jensen & Folker-Hansen 1995, Crouau ym. 1999).

Pentakloorifenolin, 2,3,4,6-tetrakloorifenolin sekä 2,4,6-trikloorifenolin pKa -arvot ovat 5.25, 5.4 ja 6.15 (Schellenberg ym. 1984). Kompostimassojen pH (noin 4) oli lähtötilanteessa em. yhdisteiden pKa-arvoa alempi. Turvemassan pH pysytteli kokeen aikana 4:ssä Ravinnekäsittelyssä pH nousi tasaisesti, ollen lopulta neutraali. Katalyyttikäsittelyssä pH oli kokeen loppuessa 5,4. Fenolimuodossa olevia kloorifenoleja on voinut sitoutua humukseen koko kokeen ajan.

6.3. Mikrobien optimi-pH

Mikro-organismien optimi-pH on 6.6–7.5 (Boettcher & Nyer 2001) mikä on lähellä mikrobien solunsisäistä pH:ta. Mikro-organismien toiminta heikkenee pH:n laskiessa alle 6:een ja lisääntyy, kun pH on yli 7 (Hänninen ym. 1987). Valon (1990) mukaan pH 4.7 on liian alhainen kloorifenoleja hajottamaan pystyville mikrobeille.

Kompostimassojen pH oli katalyyttikäsittelystä korkeimmillaan 5.4, mikä jäi mikrobien optimin alapuolelle. Ravinnekäsittelyissä, kokeen loppupuolella, pH oli mikrobien toiminnan kannalta optimialueella. Kompostimassojen olisi pitänyt olla lähempänä mikrobien optimi pH:ta, jolloin maa-aineksen liallinen happamuus ei olisi rajoittanut mikrobien hajotustoimintaa. Alhaisen pH:n ja suuren orgaanisen aineen määrän

vuoksi suurin osa turvekäsittelyn kloorifenoleista on saattanut sitoutua maahiukkasiin, eikä mikrobit siksi pystyneet niitä hajottamaan.

6.4. Kloorianisoliin muodostuminen kompostimaahan (Biotransformaatio)

Biologisessa puhdistamisessa pyritään kloorifenolien täydelliseen mineralisoitumiseen, niin ettei haitallisia sivutuotteita pääse syntymään. Tavoitteena on saada kloorifenolit hajoamaan hiilidioksidiksi, vedeksi ja vetykloridiksi (HCl) (Laine & Jørgensen 1996). Biotransformaatioissa yhdisteiden hajoaminen on epätäydellistä, jolloin voi syntyä alkuperäistä yhdistettä haitallisempia aineita. Biotransformaatioon johtava syy voi olla esim. maaperän epäedulliset fysikaalis-kemialliset olosuhteet, kuten happipitoisuus (Jeltsch 1990)

Useat bakteerit O-metyloivat kloorifenoleja anisoleiksi korvaamalla vetyhydroksyylin metyyliiryhmällä (Suzuki 1983, Valo 1990). Metyloitumista tapahtuu, kun maaperän tai kompostin hajotusolot muuttuvat kloorifenolihajottajille epäsuotuisiksi. Tällöin muiden kuin kloorifenoleja varsinaisesti hajottavien mikrobien kasvu ja toiminta tehostuu. Koska puunsuoja-aine Ky-5:ssä ei ole kloorianisoleja, ovat ne muodostuneet kokeen aikana mikrobien transformaatioreaktioissa tai sahan maaperässä paikallisten mikrobien toimesta (Laine & Jørgensen 1996). Palm ym. (1991) huomasivat vanhan, puhdistamattoman, sahan maaperän sisältävän enemmän PeCA:ia kuin 2,3,4,6-TECA:ia, vaikka Ky5 sisälsi huomattavasti enemmän 2,3,4,6-tetrakloorifenolia. Tämä voi johtua siitä, että maaperäeliöiden on vaikeampi hajottaa pentakloorianisolia kuin tetrakloorianisolia.

Kloorianisolipitoisuus on yleensä suurimmillaan kompostoinnin alkuvaiheessa alentuen kompostoinnin jatkuessa. Kompostoinnin käynnistymisen jälkeen mikrobien toimintaolosuhteet usein muuttuvat. Normaalin kloorifenolihajotuksen lisäksi tapahtuu kloorianisoliin demetylaatiota eli muuntamista takaisin kloorifenoleiksi (Murthy ym. 1979). Mikäli anisoliin määrä nousee hyvin suureksi suhteessa kloorifenolien määrään, on kompostoitumisolosuhteet epäsuotuisat. Muodostuneet kloorianisolit ovat rasvaliukoisempia, haihtuvampia (Valo & Salkinoja-Salonen 1986) ja ne kerääntyvät eliöihin kloorifenoleja herkemmin (Lamar ym. 1990, Laine & Jørgensen 1996). Kloorianisolit ovat lähtöaineita vaikeammin poistettavissa maaperästä (Neilson ym. 1983). Testieläimet saattoivat siten kuolla myös korkeaan kloorianisolipitoisuuteen.

Mycobacterium-suvun bakteerit. on todettu metyloivan pentakloorifenolia pentakloorianisoliksi paljon orgaanista aineista ja ravinteita sisältävässä maassa (Suzuki 1983). Myös *Rhodococcus*-, *Acinetobacter*- ja *Pseudomonas*- sukujen mikrobit metyloivat kloorifenoleja anisoleiksi (Valo 1990). Suzukin (1983) tutkimuksessa *Mycobacterium* -bakteeri metyloi pentakloorifenolia pentakloorianisoliksi, kun runsaasti orgaanista ainesta sisältävään maahan lisättiin ravinteita.

Kloorifenolipitoisuuksien väheneminen näytti lupaavalta erityisesti ravinne- ja katalyyttikäsittelyissä. Kloorifenolit olivat kuitenkin metyloituneet anisoleiksi, mikä ei ollut missään nimessä tavoitteena. Katalyyttikäsittelyn suuret kloorianisolipitoisuudet viittaavat siihen, etteivät kompostimassojen olosuhteet olleet suotuisat mineralisaatiolle. Jo kuukauden kuluttua kompostoinnin aloittamisesta kokonaiskloorianisoliin pitoisuudet olivat katalyyttikomposteissa noin 600 mg/kg. Samaan aikaan näihin kompostoreihin

lisättiin katalyyttia ja ravinteita, mikä ei varmaankaan parantanut hajottajamikrobien olosuhteita.

2,4,6-TCP:in ja 2,3,4,6-TeCP:in pitoisuudet vähenivät lähes kokonaan turvekäsittelyssä, eikä kloorianisoleja juurikaan muodostunut. Pentakloorifenolin loppupitoisuus oli kuitenkin turvekäsittelyssä korkea (noin 300 mg / kg), vaikka voimakkaasti kloorautuneen PCP:n pitäisi sitoutua maahiukkasiin herkemmin kuin vähemmän kloorautuneiden fenolien. Turvekäsittelyssä muodostui hyvin vähän pentakloorikloorianisoleja. Kompostien erilaiset humuspitoisuudet aiheuttivat ilmeisesti osaltaan eroja eri käsittelyjen kloorifenolipitoisuuksille. Orgaanisen aineeseen (savimaa ja turve) sitoutuminen heikensi kloorifenolien biosaatavuutta komposteissa, mikä ei näkynyt kemiallisissa analyyseissa.

Noin kolmen kuukauden ikäisissä komposteissa olosuhteet ilmeisesti parantuivat ja tapahtui kloorianisoliin demetylaatiota tai hajoamista, sillä kloorianisoliin määrä lähti laskuun. Kloorianisoleista saattoi muodostua myös uusia yhdisteitä, joita kokeessa ei analysoitu tai joita ei saatu uutettua maa-aineksesta orgaaniseen ainekseen sitoutumisen takia.

6.5. Dioksiinien ja furaanien pysyvyys komposteissa

Dioksiinit ja furaanit ovat osoittautuneet mikrobiologisesti hyvin pysyviksi yhdisteiksi ja ne voivat estää kloorifenolien hajoamista (Jeltsch 1990). Laboratorio-oloissa ne on kuitenkin saatu mikrobiologisesti hajoamaan (Valo & Salkinoja-Salonen 1988).

Kokeessa käytetyssä sahanpuruisessa maassa oli paljon dioksiineja ja furaaneja. TEQ-ilmaistuna arvot vaihtelivat 30 µg/kg ja 60 µg/kg välillä. Maa-aines sisälsi Ky-5 käsiteltyä puuainesta, johon yhdisteet ovat voineet ajan mittaan adsorboitua. Komposteissa dioksiinit ja furaanit eivät hajonneet kompostoinnin aikana, vaan pitoisuudet pysyivät komposteissa lähes samana.

6.6. Kloorifenolien vaikutukset maaperän eliöihin

Ksenobioottien vaikutus eliöön riippuu haitta-aineen ominaisuuksista ja annoksen suuruudesta, maaperän ominaisuuksista (Pedersen ym. 1996), altistuksen kestosta ja -tavasta, organismien kehitystasosta ja haitta-aineen vaikutuksista muihin ympärillä oleviin eliöihin (Schönborn & Dumbert 1990). Erityisesti maan huokosveteen liuenneet, sitoutumaton osa yhdisteestä, vaikuttaa maaperäeliöstöön, sillä organismit altistuvat haitta-aineille pääasiassa liuenneiden aineiden kautta (Schönborn & Dumpert 1989, Pedersen ym. 1996). Siten myös maaperän kosteudella on vaikutusta yhdisteen haitallisuuteen eliöille. Erittäin kosteassa maaperässä yhdisteet saattavat kulkeutua eliöön diffuusion kautta (Haque & Ebing 1988).

Rasvaliukoisten yhdisteiden maaperäeliöihin kohdistuvat toksiset vaikutukset liittyvät lähinnä solun ATP-tuotannon häiriintymiseen. Mitokondrioiden tai klorofyllien kalvoille akkumuloitunut kloorifenoli-ioni muuttaa vetyionien normaalia kulkua solussa. Tämän seurauksena solussa ei synnykään ATP:tä vaan lämpöä (Jensen & Folker-Hansen 1995). Liika lämmöntuotanto aiheuttaa eliöstölle subletaaleja vaikutuksia (Drong & Lamprecht 1993). Kloorifenolit estävät suoraan myös entsyymien toimintaa (in vitro) lähinnä korkeissa pitoisuuksissa (Wedding ym. 1967).

Kloorifenoleja on käytetty biosideinä sienten ja bakteerien torjunnassa, joten ne vaikuttavat maaperässä mikrobiston aktiivisuuteen ja koostumukseen. Kloorifenolien toksisia vaikutuksia maaperään mikrobistoon on tutkittu lähinnä pentakloorifenolilla (Jensen & Folker-Hansen 1995). PCP voi olla hyvin haitallista mikrobeille jo hyvin pieninäkin annoksina vähän orgaanista ainesta sisältävässä maaperässä (Tam & Trevors 1981). Mikrobistoon negatiivisesti vaikuttavat PCP-pitoisuudet, vaihtelivat eri tutkimuksissa 0,1 mg/kg aina 10 000 mg/kg. Tutkimukset on yleensä tehty laboratoriossa (Jensen & Folker-Hansen 1995).

6.7. Kloorifenolien vaikutukset maaperäeläimiin

Kloorifenoleja kerääntyy useisiin maaperäeläimiin kuten lieroihin (Haimi ym. 1992), hyppyhäntäisiin (Gruttke ym. 1988) ja petopunkkeihin (Salminen & Haimi 1997).

Pentakloorifenoli on haitallinen mm. änkyrimadoille, hyppyhäntäisille sekä sieniä syöville sukkulamadoille (Salminen ym. 1995, Salminen & Haimi 1996). Bakteereja ravintonaan käyttävien sukkulamatojen on todettu selviävän sieniä syöviä paremmin PCP:llä kontaminoidussa maassa. PCP toimii tehokkaana fungisidina, joten fungivori-sukkulamadot kuolevat kontaminoidussa maassa pääasiassa nälkään (Salminen ym. 1995, Salminen & Haimi 1996). Myös sieniä ravintonaan käyttävät hyppyhäntäiset ovat herkkiä pentakloorifenoleille (Salminen & Haimi 1996).

Monet petopunkkilajit saavat kloorifenoleja ravinnon kautta esim. hyppyhäntäisiä ja sukkulamatoja syömällä tai ihokosketuksessa etsiessään aktiivisesti saalista kontaminoidussa maassa (Salminen & Haimi 1997). Pehmeäkudoksiset maaperäeläimet kuten änkyrimadot ja lierot altistuvat yhdisteille maaperän veden välityksellä (van Straalen & van Gestel 1993).

Weigmanin ym. (1985) kokeissa hyppyhäntäisten (*Folsomia candida*) LD₅₀-pitoisuus (letaali 50 %:lle yksilöistä) hiekkamaassa oli 32 mg/kg ja paljon orgaanista ainesta sisältävässä maassa 184 mg/kg. Römbke ym. (1994) havaitsivat hyppyhäntäisen (*Folsomia candida*) lisääntymismenetyksen puoliintuvan 2,4-dikloorifenolipitoisuuden ollessa 7,1 mg/kg. Zietzin ym. (1987) kokeessa änkyrimatojen (*Enchytraeidae*) määrä metsämaassa putosi radikaalisti, kun 2,4,5-TCP -pitoisuus oli 5mg/kg. Tässä tutkimuksessa seosmateriaalin kokonaiskloorifenolipitoisuus lähtötilanteessa oli lähes 2000 mg/kg ja vielä 95 vuorokauden kuluttua kompostoinnin aloittamisesta 500-600 mg/kg.

Pienestä ruumiinkoosta ja nopeasta elinkierrosta on hyötyä kontaminoidussa maaperässä (Salminen & Haimi 1996). Mitä pienempi ruumiinkoko sitä nopeampi aineenvaihdunta ja haitallisten yhdisteiden poistuminen kudoksista. Änkyrimato- ja hyppyhäntäislajit, jotka elävät maaperän pintaosissa ovat yleensä syvemmillä eläviä tehokkaampia lisääntymään, niiden aineenvaihdunta on nopeampaa ja ne kestävät paremmin kuivuutta. Maaperän pintaosissa olosuhteet ovat äärevämmät kuin syvemmillä maaperässä (van Gestel & van Straalen 1994) ja voimakkaasti kloorautuneet fenolit, kuten PCP, jumittuvat maaperän pintaosiin (Kitunen ym. 1987).

Huolimatta fenolimuoitoisten kloorifenoleiden mahdollisesta sitoutumisesta kompostimassan orgaaniseen ainekseen, eivät änkyrimadot tai hyppyhäntäiset selvinneet kompostimaassa. Änkyrimatojen koemaahan ilmaantuneita sukkulamatoja ei tunnustettu lajilleen, mutta ne eivät todennäköisesti olleet sieniä syövää lajia vaan bakteereja ravintonaan käyttäviä. Sukkulamadot pääsivät komposteihin joko turpeen mukana tai niitä

on kulkeutunut kompostiastioihin kompostoinnin tai kokeiden perustamisen aikana. Sukkulamadot selvisivät pakastuksesta hengissä.

Laboratorioiokokeissa maa-aines on kauttaaltaan kontaminoitunutta, eikä sisällä puhtaampia pakopaikkoja, refuugioita, maaperäeliöille. Sahan maaperässä eläville, useita sukupolvia kloorifenoleille altistuneille, maaperäeliöille on voinut kehittyä nopeampia tapoja erittää haitallisia yhdisteitä kudoksistaan. Gruttken ym. (1988) tutkimuksessa pentakloorifenolilla pilaantuneessa maassa eläneet hyppyhäntäiset pystyivät erittämään kudoksistaan tehokkaasti PCP:tä, kun ne oli siirretty puhtaaseen maahan.

Haimin ym (1992) tutkimuksessa kloorifenolien kerääntyminen lierojen rasvakudokseen oli suurempaa vähän orgaanista ainesta sisältävässä maa-aineksessa kuin runsashumuksisessa maassa. Lierojen kudosten lähes neutraali pH voi edesauttaa kloorifenolien metylaatiota anisoleiksi. Toisaalta vain korkeiden kloorianisolipitoisuuksien (500µg/g keinomaata) on todettu olevat akuutisti toksisia lieroille (Salminen & Haimi 1991). Peltolierot (*Aporrectodea* sp.) olivat keränneet Knuutisen ym. (1990) tutkimuksessa kudoksiinsa enemmän 2,3,4,6-TeCP:ia ja PCP:ia kuin onki- ja kasteliero (*Lumbricus* sp.) Tämä saattaa johtua eri lajien ravintobiologiasta ja elintavoista maaperässä. Peltolierot syövät jatkuvasti tietään kontaminoituneen maan läpi, eli ne ovat jatkuvasti kosketuksissa haitallisiin yhdisteisiin myös ihonsa kautta. Onki- ja kasteliero pysyttelevät enemmän paikoillaan syöden kariketta maan pintaosista.

6.8. Kloorifenolien vaikutukset salaattiin

Hulzebosin ym. (1993) kokeessa salaatin (*Lactuca sativa*) siementen itäminen heikkeni puoleen pentakloorifenolipitoisuuden ollessa 3,2 mg/kg. Kloorifenolien toksisuus salaatille kasvoi yksinkertaisista kloorifenoleista trikloorifenoleihin. Alhaisin 3-CP:n EC₅₀-pitoisuus oli 7 mg/kg. (EC₅₀ = pitoisuus, jossa on todettu epäsuotuisia vaikutuksia puolelle kohdeorganismeista). Tässä tutkimuksessa kokonaiskloorifenolien pitoisuudet olivat alimmillaankin sadoissa milligrammoissa kiloa kohti. Koemaa oli siis aivan liian toksista myös salaatille. Salaatin siementen itämistä saattoi myös vaikeuttaa koemaan suolaisuus ravinne- ja katalyyttisäyksen takia.

7. MITEN KOETTA VOITAISIN KEHITTÄÄ?

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää kloorifenolien mahdollista hajoamista kompostoitumisen aikana ja kompostimassan toksisuutta yksittäisille maaperäeliöille. Luonnossa eri lajit ovat kuitenkin kiinteässä vuorovaikutussuhteessa toisiinsa ja ravintoverkoista voidaan erottaa tiettyjä avainlajeja, joiden vaikutus on merkittävä koko maaperäeliöyhteisöön. Esim. Salmisen & Haimin (1996) mikrokosmoskokeissa PCP vaikutti eri tavoin maaperäeläinlajeihin. Muun muassa mikrobisto ja hyppyhäntäiset olivat punkkeja herkempiä pentakloorifenolille. Jotkut maaperän eliöistä voivat altistua haitallisille yhdisteille epäsuorasti esim. saalislajien kautta, mitä ei yksinkertaistetuissa biotesteissä oteta huomioon. Ehkä biotestejä voitaisiin jatkossa soveltaa niin, että yksittäisten lajien sijaan tutkittaisiin muutaman lajin eliöyhteisöjä.

Myös kloorifenolipitoisuuksien tulee olla huomattavasti pienempiä, mikä tulee huolellisemmin varmistaa kokeen alussa. Myös kompostiastioiden ja -massojen olisi hyvä olla kooltaan suurempia, mikä parantaisi oikeiden olosuhteiden, kuten optimilämpötilan ja kosteuden, ylläpitoa. Kolme kuukautta on aivan liian lyhyt aika kompostoinnille. Noin

puoli vuotta olisi sopivampi ajanjakso kloorifenolien kompostointikokeille. Turve ei ole ehkä toimivin aines käytettäväksi kompostimassoissa. Apajalahti & Salkinoja-Salonen (1984), Valo & Salkinoja - Salonen (1986) ja Laine ym. (1997b) ovat kokeneet puun kuorirouheen toimiviksi kloorifenolien kompostoinnissa. Puun kuori toimii hiilen lähteenä ja auttaa ylläpitämään kompostin lämpötilaa. Puun kuori näyttää suojaavan mikrobistoa kloorifenolien toksisuudelta (adsorptio) ja parantaa kompostin ilmanvaihtoa.

Toimivilla biotesteillä säästettäisiin paljon aikaa ja rahaa, kun turhia kemiallisia testejä voitaisiin vähentää. Vaikka jotain kemiallista yhdistettä löytyisikin maaperästä runsaasti, ei se välttämättä ole toksista (kaikille) maaperän eliöille. Eri maaperäeläimiä bioindikaattoreina käyttäen saadaan totuudenmukaisempi kuva pilaantuneen maaperän toksisuudesta ja haitallisuudesta ekosysteemille. Biotestejä tulisi edelleen kehittää pilaantuneen maan toksisuuden ja kunnostuksen onnistumisen seurannassa.

KIITOKSET

Kiitokset Pro graduni ensimmäiselle ohjaajalle, FT Esko Martikaiselle sekä FT Pekka ”katalyyttimies” Pohjolalle. Kosken Kasvuvoima Oy vuokrasi tilat, missä kompostointikoe saatiin perustettua ja missä kompostorit saivat muhia puolisen vuotta. Kiitokset Jyväskylän Ympäristötutkimuskeskuksen laboranteille, jotka analysoivat kompostimaiden fysikaaliset ja kemialliset pitoisuudet. Jukka Penttinen auttoi Pro gradun ulkoasun hiomisessa. Kiitokset myös vanhemmilleni. He ovat jaksaneet odottaa kaikki nämä vuodet valmista Pro graduni. Lämpimät kiitokset myös Börjelle, joka urhoollisesti jaksoi lämmittää jalkojani tietokoneella istuessani. Lopuksi, erityisen lämpimät kiitokset Pro graduni toiselle ohjaajalle FT Jari Haimille. Hänestä tuli kaikkien näiden vuosien jälkeen uusi pääohjaajani. Jarin ansiosta Pro graduni on nyt tehty ja kansissa.

KIRJALLISUUS

- Apajalahti, J.H. A. & Salkinoja-Salonen, M.S. 1987: Complete dechlorination of tetrahydroquinone by cell extracts of pentachlorophenol-induced *Rhodococcus chlorophenolicus*. *J. Bacteriol.* 169: 5125-5130.
- Baker, M. D. & Mayfield C. I. 1980: Microbial and non-biological decomposition of chlorophenols and phenol in soil. –*Water, Air, Soil, Poll.* 13: 411-424.
- Barkovskii, A.L. & Adriaens, P. 1996: Microbial dechlorination of historically present and freshly spiked chlorinated dioxins and diversity of dioxin-dechlorinating populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 4556-4562.
- Boettcher, G. & Nyer, E. 2001: *In Situ Bioremediation*. –Teoksessa: Nyer, E. (toim.), *In Situ Treatment Technology*. Second Edition. Environmental Science and Engineering Series. s. 259-326.
- Boyd, S.A., Mikesell, M.D. & Jiunn-Fwu, L. 1989: Chlorophenols in soils. – Teoksessa *Reactions and movements of organic chemicals in soils*. SSSA special publication no. 22. s. 209- 228.
- Braud-Grasset, F., Braud-Grasset, S. & Safferman, S. 1993: Evaluation of the bioremediation of a contaminated soil with phytotoxicity tests. - *Chemosphere* 7: 1365-1374.
- Callahan, C., Menzie, C., Burmaster, D., Wilborn, D. & Ernst, T. 1991: On-site methods for assessing chemical impact on the soil environment using earthworms. A case study the Baird & McGuire superfund site, Holbrook, Massachusetts. -*Environ. Toxicol. Chem.* 10: 817-826.
- Chang, L. Meier, J. & Smith, M. 1997: Application of plant and earthworm bioassays to evaluate remediation of leadcontaminated soil. *Arch. Environ. Con. Tox.* 32: 166-171.

- Crouau, Y., Chenon, P. & Gisclard, C. 1999: The use of *Folsomia candida* (Collembola, Isotomidae) for the bioassay of xenobiotic substances and soil pollutants. –Appl. Soil Ecol. 12: 103-111.
- Drong, K. & Lamprecht, I. 1993: Toxicological studies of energy flows in ecological systems. Pure. Appl. Chem. 65: 1967-1972. (Ref. Jensen & Folker-Hansen 1995).
- van Gestel, C.A.M. 1997: Scientific basis for extrapolating results from soil ecotoxicology tests to field conditions and the use of bioassays. –Teoksessa van Straalen, N.M & Løkke, H. 1997: Ecotoxicology series 5: Ecological Risk Assessment of Contaminants in Soil. Chapman and Hall, London. s 3-21.
- van Gestel, C.A.M. & van Dis W.A. 1988: The influence of soil characteristics on the toxicity of four chemicals to the earthworm *Eisenia eisenia andrei* (Oligochaete). Biol. Fert. Soil. 6 : 262-265. (Ref. Jensen & Folker-Hansen 1995)
- van Gestel, C.A.M. & Ma, W. 1988: Toxicity and bioaccumulation of chlorophenols in earthworms, in relation to bioavailability. (Ref. Jensen & Folker-Hansen 1995)
- van Gestel, C.A.M. & van Straalen, N. 1994: Ecotoxicological test systems for terrestrial invertebrates. – Teoksessa Donker, M.H., Eijsackers, H. & Heimbach, F. (toim.) Ecotoxicology of soil organisms. A special publication of SETAC. s.205-228.
- van Gestel, C., Waarde, J., Derksen, J., Hoek, E., Veul, M., Bouwens, S., Ruch, B., Kronenburg, R. & Stokman, G. 2001: The use of acute and chronic bioassays to determine the ecological risk and bioremediation efficiency of oil-polluted soils. – Environ. Toxicol. Chem.7: 1438-1449.
- Gibbs, M. H., Wicker, L. F. & Stewart, A. J. 1995: A method for assessing sublethal effects of contaminants in soils to the earthworm, *Eisenia Foetida*. -Environ. Toxicol. Chem. 15: 360-368.
- Golueke, C.G. & Diaz, L.F. 1990: Fundamental principles. Understanding the basics of composting. Biocycle. April.
- Gunderson, C., Gibbs, J., Napolitano, G., Wicker, L., Richmond, J. & Stewart, A. 1997: Multispecies toxicity assessment of compost produced in bioremediation of an explosives-contaminated sediment. -Environ. Toxicol. Chem. 16: 2529-2537.
- Gruttke, H., Kratz, W., Weigmann, G. & Haque, A. 1988: Terrestrial model food chain 14C pentachlorophenolate between springtails and carabids. (Ref. Jensen & Folker-Hansen 1995)
- Haimi, J., Salminen, J., Huhta, V., Knuutinen, J. & Palm, H. 1992: Bioaccumulation of organochlorine compounds in earthworms. – Soil. Biol. Biocem. 12: 1699-1703.
- Haque, A. & Ebing, W. 1988: Uptake and accumulation of pentachlorophenol and sodium pentachlorophenolate by earthworms from water and soil. The Science of the Total Environment. 68: 113-125.
- Hu Z.C., Korus, R.A., Levinson, W.E. & Crawford, R. L. 1994: Adsorption and biodegradation of pentachlorophenol by polyurethane-immobilized *Flavobacterium*, Environ. Sci. Technol. 28: 491-496. (Ref. Laine ym. 1997b)
- Hulzebos, E.M., Adema, D.M.M., Dirven-van Breemen, E.M., Henzen, L., van Dis, W.A., Herbold, H.A., Hoekstra, J.A., Baerselman, R. & van Gestel, C.A.M. 1993: Phytotoxicity studies with *actuca sativa* in soil and nutrient solution. Environ. Toxicol. Chem. 12: 1079-1094. (Ref. Jensen & Folken- Hansen 1995).
- Hänninen, K., Harju, K., Paajanen, K., Pietikäinen, S., Lahtinen, P., Jyränkö, P. & Mälkönen, P. 1987: Kompostien humustutkimus 1. Kompostointiparametrit. Joensuun yliopiston raporttisarja 22.113s.
- ISO 1993: Soil quality: effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) -Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate. International standard, ISO 11268-1:1993(E).
- ISO 1997 : Soil quality: effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) – Part 2: Determination of effects on reproduction. International standard, Final Draft, ISO 11268-2:1997(E).
- ISO 1999a: Soil quality- Inhibition of Collembola (*Folsomia candida*) by soil pollutants. - ISO/FDIS 11267, final draft.
- ISO 1999b: Soil quality- Effects of pollutants on enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.) –Determination of effects on reproduction. ISO/TC 190/SC 4/WG 2 N 88.

- ISO 2000: Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora –Seedling emergence, screening test whit lettuce. –ISO/TC 190/SC 4/WG 3 N 56.
- Jarvis, S., McRarland, V. & Honeycutt, M. 1997: Assessment of the effectiveness of composting for the reduction of toxicity and mutagenicity of explosive-contaminated soil. –*Ecotox. Environ. Safe.* 39: 131-135.
- Jeltsch, U. 1990: Saastuneiden maa-alueiden kunnostus. Vesi- ja ympäristöhallitus. Helsinki.s. 178.
- Jensen, J. & Folker-Hansen, P. 1995: Soil quality criteria for selected organic compounds. Ministry of Environment and Energy, Denmark. Danish Environmental Protection Agency. 156 s.
- Juvonen, R., Martikainen, E., Schultz, E., Joutti, A., Ahtiainen, J. & Lehtokari, M. 2000: A battery of toxicity tests as indicators of decontamination in composting oily waste. *Exotoxicol. Environ. Safe.*47: 156-166.
- Jätehuoltoyhdistys ry., 1996: Saastuneiden maiden kunnostamisen laatuopas.-39 s. +liitteet., Espoo.
- Kitunen, V.H., Valo, R. & Salkinoja-Salonen, M.S. 1987: Contamination of soil around wood-preserving facilities by polychlorinated aromatic compounds. –*Environ. Sci. Technol.*21: 96-101.
- Knuutinen, J., Palm, H., Hakala, H., Haimi J., Huhta, V. & Salminen, J. 1990: Polychlorinated phenols and their metabolites in soil and earthworms of sawmill environments. – *Chemosphere* 20: 609-623.
- Laine, M.M. & Jørgensen, K.S. 1996: Straw compost and bioremediated soil as inocula for the bioremediation of chlorophenol-contaminated soil. *Appl. Environ.Micribiol.* 62: 1507-1513.
- Laine, M.M., Haario, H.& Jørgensen, K.S. 1997a: Microbial functional activity during composting of chlorophenol-contaminated sawmill soil. *J.Microbiol. Meth.* 30: 21-32.
- Laine, M.M. & Jørgensen, K.S. 1997b: Effective and safe composting of chlorophenol-contaminated soil in pilot scale. *Environ. Sci. technol.* 31: 371-378.
- Laine, M.M., Ahtiainen, J., Wågman, N., Öberg, L.G. & Jørgensen, K.S. 1997c: Fate and toxicity of chlorophenols, polychlorinated Dibenzo-p-dioxins, and Dibenzofurans during composting of contaminated sawmill soil. *Environ. Sci. technol.* 31: 3244-3250.
- Lamar R. T., Glaser, J. A. & Kirk, T. K. 1990: Fate of pentachlorophenol (PCP) in sterile soil inoculated with the whitw-rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*: Mineralization, volatilization and depletion of PCP. – *Soil Biol. Biochem.* 4: 433-440.
- Meier, J., Chang, L., Jacobs, S., Torsella, J., Meckes, M.& Smith, M. 1997: Use of plant and earthworm bioassays to evaluate remediation of soil from a site contaminated with polychlorinated biphenyls. – *Environ.Toxic.Chem.* 5: 928-938.
- Murthy, N.B.K., Kaufman, D.D. & Fries, G.F. 1979: Degradation of pentachlorophenol (PCP) in aerobic and anaerobic soil.-*J. Environ. Sci. Health. B* 14: 1-14. (Ref. Jensen. & Folker-Hansen1995).
- Neilson, A.H., Alard, A-S., Hynning, M., Remberger, A. & Landner, L. 1983: Bacterial methylation of chlorinated phenols and guaiacols: Formation of vetatroles from guaiacols and high-molecular-weight chlorinated lignin. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 774-783. – Teoksessa Haimi, J., Salminen, J., Huhta, V., Knuutinen, J. & Palm, H. 1993: Chloroanisoles in soils and earthworms. *Sci. Total. Environ. Supplement.* Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
- Niimi, A.J. 1994: PCBs, PCCDs and PCDFs. –Teoksessa Callow, P. (toim.) *Handbook of ecotoxicology.* Volume 2. Blackwell Scientific Publications. s. 204- 243.
- OECD 1984: Terrestrial plants, growth test. –OECD guideline for testing of chemicals 208, 6p.
- OECD 1999: OECD guideline for testing of chemicals – Proposal for a new guideline, *Enchytraeus* Reproduction Test. Draft document. 20 p.
- Pajukallio, A-M, 2007: Ehdotus Valtioneuvoston asetukseksi maaperän pilaantuneisuuden ja puhdistustarpeen arvioinnista. Ympäristöministeriö.
- Palm, H., Knuutinen, J., Haimi, J., Salminen, J. & Huhta, V. 1991: Methylation products of chlorophenols, catechols and hydroquinones in soil and earthworms of sawmill environments. *Chemosphere* 23: 263-267.
- Pedersen, M.P., Temminghoff, E.J.M., Marinussen, M.P.J.C., Elmegaard, N & van Gestel, C.A.M. 1996: Copper accumulation and fitness of *Folsomia candida* Willem in a copper contaminated sandy soil as affected by pH and soil moisture. –*Appl. Soil Ecol.* 6: 135-146.

- Puolanne, J., Pyy, O. & Jeltsch, U. (toim.). 1994: Saastuneet maa-alueet ja niiden käsittely Suomessa. Saastuneiden maa-alueiden selvitys- ja kunnostusprojekti, loppuraportti. Ympäristöministeriö, Ympäristönsuojeluosaston muistio 5 /1994. Painatuskeskus Oy, Helsinki. 218 s.
- Römbke, J., Bauer, C. & Marschner, A. 1994: Verthalen und Wirkungen von sechs Umweltchemikalien in terresreichen Labortests. ECOINFORMA. Umweltbundesamt, 5-9 september 1994. 3. Fachtagung und ausstellung für umweltinformation und umweltkommunikation. Band 6: Bodenkontamination, Bodensanierung, Bodeninformationssysteme. Eds: Alef, K., Blum, W., Schwarz, S., Riss, A., Fiedler, H. Hutzinger, O. (Hrsg.). 6: 269-281. (Ref. Jensen & Folken-Hansen 1995).
- Salminen, S. & Haimi, J. 1991: Standardized toxicity test with earthworms used in EEC countries. Biol. Res. Univ. Jyväskylä, 22: 46-49. – Teoksessa Haimi, J., Salminen, J., Huhta, V., Knuutinen, J. & Palm, H. Chloroanisoles in soils and earthworms. The Science of the Total Environment. Supplement 1993. Elsevier Science Publishers. B.V, Amsterdam.
- Salminen, S., Haimi, J., Sironen, A. & Ahtiainen, J. 1995: Effects of pentachlorophenol and biotoc interactions on soil fauna and decomposition in humus soil. Exotox. Environ. Safe. 31: 250-257.
- Salminen, S. & Haimi, J. 1996: Effects of pentachlorophenol in forest soil: a microcosm experiment for testing ecosystem responses to anthropogenic stress. Biol. Fertil. Soil. 23: 182-188.
- Salminen, S. & Haimi, J. 1997: Effects of pentachlorophenol on soil organisms and decomposition in forest soil. J. Appl. Ecol. 34: 101-110.
- Schellenberg, K., Leuenberger, C. & Schwarzenbach, R. 1984: Sorption of chlorinated phenols by natural sediments and aquired materials. – Teoksessa Reactions and movements of organic chemicals in soils. SSSA special publication no. 22. s.209-228.
- Schultz, E., Joutti, A., Räisänen, M-L., Lintunen, P., Martikainen, E. & Lehto, O. 2002: Extractability and toxicology of AS, Cu, Cr and Zn in contaminated soil. – Submitted. (Ref. Juvonen ym. 2000)
- Schönborn, W. & Dumpert, K. 1989: Effects of pentachlorophenol and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid on the microflora of the soil in a beech wood. Biol. Fertil. Soil. 9: 292-300.
- Smith, C. & van Gestel, C. 1998: Effects of soil type, perpercolation and ageing on bioaccumulation and toxicity of zinc for the springtails *Folsomia candida*. – Environ. Tox. Chem. 17: 1132-1141.
- Sorvari, J. & Assmuth, T. 1999: Saastuneiden maa-alueiden kohdekohtainen riskiarviointi –tilanne Suomessa. Suomen ympäristökeskuksen moniste 147. Suomen ympäristökeskus, Helsinki. 38 s.
- van Straalen, N. & van Gestel, C. 1993: Soil invertebrates and micro-organisms. –Teoksessa: Callow, P. (toim.) 1993: Handbook of ecotoxicology. Blackwell scientific publications, Oxford, 251-277.
- Suzuki, T. 1983: Methylation and hydroxylation of pentachlorophenol by *Mycobacterium* sp. isolated from soil. J. Pestic. Sci. 8: 419-428.
- Tam, T.-Y. & Trevors, J.T. 1981: Effects of pentachlorophenol on a symbiotic nitrogen fixation in soil. Water. Air. Soil. Poll. 4: 409-414.
- Trevors, J.T. 1982a: Effect of temperature on the degradation of pentachlorophenol by *Pseudomonas* species. Chemosphere 11: 471-475.
- Valo, R. 1990: Occurence and metabolism of chlorophenolic wood presevtive in the environment. Dept. of General Microbioloy, University of Helsinki, Finland. Academic disertation.
- Valo, R., Kitunen, V., Salkinoja-Salonen, M. & Räisänen, S. 1984: Chlorinated phenols as contaminants of soil and water in the vicinity of two finnish sawmills. Chemosphere. 13: 835-844.
- Valo, R., Apajalahti, J. & Salkinoja-Salonen, M. 1985a: Studies on the physiology of microbial degradation on pentachlorophenol. Appl. Microbiol. Biotechnol. 21: 313-319.
- Valo, R. & Salkinoja-Salonen, M. 1986: Bioreclamation of chlorophenol-contaminated soil by composting. Appl. Microbiol. Biotechnol. 25: 68-75.

- Valo, R. & Salkinoja-Salonen, M. 1988: Biotekniikan sovellukset ympäristöhuollossa. *Kemia-Kemi*, nro3. s.255-259 (Ref. Jeltsch 1990).
- Valtioneuvoston asetus 2007: Maaperän pilaantuneisuuden ja puhdistustarpeen arvioinnista.
- Wedding, R.T., Hansch, C. & Fukuto, T.R. 1967: Inhibition of malate dehydrogenase by phenols an the influence of ring substituents on their inhibitory effectiveness. (Ref. Jensen & Folker-Hansen 1995)
- Weigman, G., Papenhausen, U., Kratz, W. & Gruttke, H. 1985: Die wirkung chemischer Belastungen auf Tier- und Pflanzengesellschaften städtischer Brachyflächen. Bundesminister für Forschung und Technologie Zwischenbericht nr. 03 7288. Spezielle Beichte berlin Kern Forschung Anlage Jülich 296: 121-129.
- Zietz, E., Dumpert, K. & ömbke, J. 1987: Effects of pentachlorophenol and 2,4,5,-trichlorophenol on a soil ecosystem. I. Application and residue analysis. *Sci.Total. Environ.* 61: 153-165. (Ref. Jensen & Folken- Hansen 1995).
- Öberg, L. G.& Rabbe, C. 1992: Biochemical formation of PCDD/F from chlorophenols. *Chemosphere.* 2: 49-52.

LIITEET

Liite 1

Kompostimassojen kloorifenolipitoisuudet erikäsittelyissä eri-ikäisissä näytteissä mg/kg.

Taulukko 1. Lähtönäytteet 0 vrk

MT= Kloorifenolimaa+ turve, MTR= MT+ ravinteet, MTRK = MTR+ katalyytti

	2,4,6-TCP	2,3,4,6-TeCP	PCP	Summa
MT	66	1559	520	2145
MT	92	1569	500	2161
MTR	66,5	1329	422	1817,5
MTR	68	1439	468	1975
MTRK	72	1701	481	2254
MTRK	80	1903	622	2605

Taulukko 2. Seurantänäytteet 28 vrk

	2,4,6-TCP	2,3,4,6-TeCP	PCP	Summa
MT	75	1372	453	1900
MT	75	1466	532	2073
MT	71	1551	570	2192
MTR	32	1120	422	1574
MTR	31	938	381	1350
MTR	31	874	357	1262
MTRK	4	316	270	590
MTRK	5	412	360	777
MTRK	16	501	271	788

Taulukko 3. Seurantänäytteet 95 vrk

	2,4,6-TCP	2,3,4,6-TeCP	PCP	Summa
MT	1,16	119	411	531,16
MT	0,79	100	398	498,79
MT	0,88	77	398	475,88
MTR	19	593	186	798
MTR	18	542	157	717
MTR	18	523	168	709
MTRK	4	30	71	105
MTRK	3	29	86	118
MTRK	4	59	183	246

Taulukko 4. Seurantänäytteet 224 vrk

	2,4,6-TCP	2,3,4,6-TeCP	PCP	Summa
MT	6	20	320	346
MT	0,5	17	340	357,5
MT	0,6	7,5	220	228,1
MTR	11	440	190	641
MTR	3	250	140	393
MTR	5,6	270	130	405,6
MTRK	1	30	48	79
MTRK	2	22	28	52
MTRK	2	22	35	59

Taulukko 5. Seurantanäytteet 490 vrk.

	2,4,6-TCP	2,3,4,6-TeCP	PCP	Summa
MT	< 1	13	310	323
MT	< 1	12	300	312
MT	< 1	15	190	205
MTR	0	41	42	83
MTR	0,6	13	15	28,6
MTR	0	12	13	25
MTRK	0,5	18	23	41,5
MTRK	0,4	11	12	23,4
MTRK	0,5	18	19	37,5

Liite 2

Kompostimassojen kloorifenolianisolipitoisuudet eri käsittelyissä eri-ikäisissä näytteissä mg/kg

Taulukko 1. Lähtönäytteet 0 vrk

MT = Kloorifenolimaa+ turve, MTR = MT+ ravinteet, MTRK= MTR+ katalyytti

	2,4,6-TCA	2,3,4,6-TeCA	PeCa	Summa
MT	0,9	0,7	< 0,1	1,6
MT	0,9	0,7	< 0,1	1,6
MTR	49	259,8	< 0,1	308,8
MTR	49,1	562,4	7,9	619,4
MTRK	9,3	8,8	0,1	18,2
MTRK	26,7	71,7	0,5	98,9

Taulukko 2. Seurantanäytteet 28 vrk

	2,4,6-TCA	2,3,4,6-TeCA	PeCa	Summa
MT	1	3,9	0,3	5,2
MT	1,4	3,2	0,2	4,8
MT	1,1	2,6	0,2	3,9
MTR	29,6	83,4	6,7	119,7
MTR	15,6	123,1	9,4	148,1
MTR	21,1	179,4	26,3	226,8
MTRK	36,6	582,8	82,3	701,7
MTRK	34,7	551,7	62,3	648,7
MTRK	25,5	388,3	48,3	462,1

Taulukko 3. Seurantanäytteet 95 vrk

	2,4,6-TCA	2,3,4,6-TeCA	PeCa	Summa
MT	2,1	4,8	0,4	7,3
MT	2,2	5,6	0,3	8,1
MT	2,2	5,6	0,5	8,3
MTR	9	43	3,9	55,9
MTR	9,6	80	9,5	99,1
MTR	10	95	17	122
MTRK	<0,2	590	88	678
MTRK	<0,2	362	65	427
MTRK	<0,2	258	55	313

Taulukko 4. Seurantanäytteet 224 vrk

	2,4,6-TCA	2,3,4,6-TeCA	PeCa	Summa
MT	1,3	4,2	1,1	6,6
MT	1,4	5,7	2,3	9,4
MT	1	3,9	1,8	6,7
MTR	1,2	26	2,8	30
MTR	0,2	9,9	2,9	13
MTR	0,3	31	13	44,3
MTRK	3	230	58	291
MTRK	2,9	140	39	181,9
MTRK	4,7	160	30	194,7

Taulukko 5. Seurantanäytteet 490 vrk

	2,4,6-TCA	2,3,4,6-TeCA	PeCa	Summa
MT	0,4	3,1	2,3	5,8
MT	0,5	5,1	6,8	12,4
MT	0,2	3,6	7,2	11
MTR	< 0,2	1,3	0,3	1,6
MTR	< 0,2	1,5	0,5	2
MTR	< 0,2	2,9	2	4,9
MTRK	< 0,2	6,6	5,7	12,3
MTRK	< 0,2	2,7	2,7	5,4
MTRK	< 0,2	7	1,8	8,8