

Jarmo Mäki-Jaakkola

Öljyllä pilaantuneiden maanäytteiden
esikäsittely mekaanisella uuttomenetelmällä
GC-analysointia varten

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Jarmo Mäki-Jaakkola Öljyllä pilaantuneiden maanäytteiden esikäsittely mekaanisella uuttomenetelmällä GC-analysointia varten 46 sivua + 6 liitettä 05.12.2012
Tutkinto	Insinööri (AMK)
Koulutusohjelma	Kemiantekniikan koulutusohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	Ympäristötekniikka
Ohjaaja Ohjaava opettaja	Insinööri (AMK) Marja-Leena Åkerman TkL Carola Fortelius
<p>Maaperän pilaantuneisuus on aiheutunut pääsääntöisesti öljytuotteiden joutumisesta maaperään. Tällä hetkellä öljyhiilivetyjen määrittämiseen kiinteistä näytteistä käytetään standardimenetelmää ISO 16703:2004, jolla saadaan määritettyä kvantitatiivisesti ja kvalitatiivisesti n-alkaanit (C₁₀H₂₀ - C₄₀H₈₂), isoalkaanit, sykloalkaanit alkyylibentseenit ja alkyylinaftaleeni. Tuloksena saadaan ns. summaparametri. Summaparametri ei anna yksittäisten yhdisteiden konsentraatiota, joten tämä menetelmä ei ole kyllin hyvä arvioitaessa likaantumisen ympäristölle aiheuttamia riskejä.</p> <p>Tässä insinööriyössä tutkittiin öljyhiilivetyjen hajoamista maaperästä fyto-remediaation avulla. Työ on osa Helsingin yliopiston fyto-remediaatiotutkimusta. Öljyn hajoamista tutkittiin ottamalla maaperästä aikanäytteitä, jotka analysoitiin kaasukromatografilla. Esikäsittelymenetelmänä käytettiin mekaanista uuttoa. Fyto-remediaatiokasveina käytettiin haapaa ja haavan eri klooneja.</p> <p>Saaduista tuloksista havaittiin öljypitoisuuksien pienenemistä maaperässä. Pitoisuuksien pieneneminen ei ollut lineaarista. Rinnakkaisnäytteiden öljypitoisuuksissa oli suurta hajontaa. Rinnakkaisnäytteitä olisi pitänyt olla enemmän ja näytemäärien suurempia, jotta tuloksia voitaisiin pitää luotettavina.</p> <p>Työssä tutkittiin myös säilytyksen vaikutusta näytteisiin ottamalla uudet näytteet maaperästä ja analysoimalla ne ilman pitkäaikaista säilytystä.</p> <p>Tuloksista havaittiin, että maanäytteitä voidaan säilyttää pakastamalla tarpeeksi kylmässä, mutta kevyimmät hiilivety-yhdisteet hajoavat niistä.</p>	
Avainsanat	öljyanalytiikka, mekaaninen uutto, saastunut maaperä

Author(s) Title Number of Pages Date	Jarmo Mäki-Jaakkola Prehandling of oil contaminated soil samples by mechanical mixing extraction for GC-analysing 46 pages + 6 appendices 05 Des 2012
Degree	Bachelor of Engineering
Degree Programme	Chemical Engineering
Specialisation option	Environment Technology
Instructor Supervisor	Marja-Leena Åkerman, Project Engineer Carola Fortelius, Principal Lecturer
<p>Soil pollutions are usually caused by petroleum product spills. At this moment total petroleum hydrocarbons are measured from the soil by using standard method ISO 1673:2004. N-alkanes (C₁₀H₂₀-C₄₀H₈₂), isoalkanes, cycloalkanes, alkyl benzenes and alkylnaphthales can be detected quantitatively and qualitatively with this method. The sum parameter is derived as a result. The sum parameter does not give concentrations of the individual compounds and thus risk assessing may be difficult.</p> <p>This thesis project is about oil hydrocarbon degrading in soil by fytoremediation. The thsesis is part of the research of fytoremediation in Helsinki University. The degradation of oil was researched by taking soil samples which were analyzed by gas chromatograph. The preparation method of the samples was mechanical mixing extraction. The fytoremediation plants were aspen and its different clones.</p> <p>The results show that oil concentration decreases in the soil. Decreasing was not linear. In side-by-side samples oil concentration spread a lot. There should have been more samples and the amount should have been larger so that the results would be more reliable.</p> <p>Also the preservation of the samples was studied by taking new samples from the soil and analyzing them without a long preservation time.</p> <p>In results can be seen that the soil samples could be degrade from freezing in cold enough temperature but the lightest hydrocarbons degrade from them.</p>	
Keywords	oil analytics, mechanical mixing extraction, polluted soil

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Öljyhiilivedyt	2
2.1	Öljyhiilivetyjen rakenne ja ominaisuudet	2
2.2	Öljyhiilivetyjen käyttäytyminen maaperässä	4
2.3	Öljyhiilivetyjen biologinen hajoaminen	6
3	Polysykliset aromaattiset hiilivedyt	9
3.1	PAH-yhdisteiden rakenne ja ominaisuudet	9
3.2	PAH-yhdisteiden muodostuminen ja esiintyminen	9
3.3	PAH-yhdisteiden terveysvaikutukset	10
3.4	PAH-yhdisteiden biologinen hajoaminen	10
3.5	PAH-yhdisteiden prosessitekniisiä käsittelymenetelmiä	11
4	Pilaantuneen maaperän puhdistus puiden avulla	12
4.1	Pilaantunut maaperä	12
4.2	Fytoremediaatio	13
4.2.1	Soveltuvuus ja rajoitukset	15
4.2.2	Öljyllä saastuneiden maiden fytoremediaatio	17
4.2.3	Kenttäkokeet	17
4.2.4	Haapapuun käyttö fytoremediaatiossa	18
5	Näytteen käsittely ja analysointi öljyanalytiikassa	19
5.1	Näytteenotto maaperästä	19
5.2	Maanäytteen säilytys ja esikäsittely öljyanalytiikassa	20
6	Uuttomenetelmät ja liuosten kuivaus	21
6.1	Kiintoaine-nesteuutto	21
6.2	Liuottimien ja liuosten kuivaus	23
7	Materiaalit ja menetelmät	24
7.1	Työn tavoite	24
7.2	Näytteenotto	24
7.3	Maanäytteiden käsittely ja analysointi	26
7.3.1	Maanäytteiden säilytys	27
7.3.2	Standardiliuosten valmistaminen	27

7.3.3	Maanäytteiden pH:n määrittäminen	35
8	Tulokset ja niiden arviointi	36
9	Virhearviointi	40
9.1	Näytteenotossa tapahtuneet virheet	40
9.2	Näytteen säilytyksessä tapahtuneet virheet	41
9.3	Analysoinnissa tapahtuneet virheet	41
10	Johtopäätökset	43
	Lähteet	44
	Liitteet	
	Liite 1. Kaasukromatografia	
	Liite 2. Öljyhiilivetyjen fytoimediaatiota koskevia tutkimuksia	
	Liite 3. Havainnekuva puiden kasvatusalueesta ja kesällä 2012 otettujen näytteiden näytteenottopaikoista	
	Liite 4. Öljyanalyysia varten kerätyt näytteet 2010 - 2011	
	Liite 5. Kaasukromatografian piirtämä kromatogrammi näytteestä G2	
	Liite 6. Havainnekuva näytteenotosta	

1 Johdanto

Suomessa on kartoitettu pilaantuneita maa-alueita 1980-luvun lopulta lähtien. Niiden määrää selvitettiin ensimmäisen kerran 1990-luvun vaihteessa Saastuneiden maiden selvitys- ja kunnostusprojektissa (SAMASE). Suomessa arvioidaan vuonna 2012 olevan noin 23 000 mahdollisesti pilaantunutta maa-aluetta. Niistä kolmasosan ovat pilanneet öljytuotteet polttoaineiden jakelun yhteydessä. Näiden tiedossa olevien alueiden kunnostamiseen arvioidaan käytettävän noin 50 – 70 miljoonaa euroa vuodessa. [43; 44; 45]

Pilaantuneiden maa-alueiden kunnostustavat voidaan luokitella kolmeen luokkaan: fysikaaliseen, kemialliseen ja biologiseen kunnostamiseen. Suomen ympäristökeskuksen luontaista biohajoamista selvittäneessä tutkimuksessa havaittiin, että öljyllä pilantuneet maa- ja pohjavesialueet voivat jossain määrin puhdistua jopa itsestään Suomen oloissa. [44]

Fytoremediaatio on lievästi pilaantuneen maaperän biologinen kunnostustoimenpide, jossa käytetään biologisia organismeja, kuten kasveja ja bakteereita haitta-aineiden poistamiseen. Fytoremediaation etuja on, että se pystytään toteuttamaan paikan päällä, sekä se, että se vaatii vähän ylläpitoa ja aktiivisia toimenpiteitä. Menetelmän haittoja ovat käsittelyn pitkäkestoisuus sekä riippuvaisuus vuodenajoista ja ilmastosta. Se ei myöskään sovellu kaikille haitta-aineille ja sen vaikutus toimii vain pintamaiden ja suhteellisten alhaisten pitoisuuksien käsittelyyn. Fytoremediaatiosta on vielä hyvin vähän käyttökokemuksia, ja sen soveltuvuus, toimivuus ja kustannustehokkuus saastuneen maan ja pohjaveden puhdistuksessa vaativat lisää tutkimustiedon ja käytännön kokemusten tuomaa varmistusta, ennen kuin menetelmä saavuttaa laajemmalti sekä yleisen että viranomaisten hyväksynnän. Tulevaisuudessa fytoremediaatiota pyritään yhdistämään muihin paikan päällä tehtäviin puhdistusmenetelmiin sekä tutkimalla, kuinka olemassa olevien kasvien kasvua voidaan tehostaa ja geenimanipulaation avulla kehittää uusia kestävämpiä ja tehokkaampia klooneja hajottamaan haitta-aineita maaperästä. [14, s. 91]

Somerharjulla tapahtui kesäkuussa 2009 liikenneonnettomuus, jossa Lappeenrannan suuntaan kulkenut täysperävaunulastissa ollut säiliöauto kaatui ojaan ja maaperään pääsi valumaan arviolta 13 000 tonnia dieselöljyä ja kevyttäpolttoöljyä. Yhteensä noin 460 tonnia saastunutta maa-ainesta kuljetettiin Ekokemille käsiteltäväksi. Osa tästä saastuneesta maasta kuljetettiin Haapastensyrjässä sijaitsevalle Metsäntutkimuslaitoksen (MetLa) tutkimuskeskukseen, jossa Helsingin yliopisto aloitti fytoimediaatiota koskevan tutkimusprojektin. Projektin tavoitteena oli tutkia fytoimediaatiota haavan avulla ja kehittää mahdollisimman kestävä ja tehokas kloonin öljyhiilivetyjen hajottamiseen. [52; 53; 55]

Tässä insinööriyössä tutkittiin öljyhiilivetyjen pitoisuuksia Haapastensyrjästä kerätyistä näytteistä vuosilta 2010 - 2011. Työ on osa Helsingin yliopiston fytoimediaatiotutkimusta. Lisäksi alueelta kerättiin kesällä 2012 uudet näytteet, joilla selvitettiin näytteenoton sekä säilytyksen tuomaa virhettä ja sen vaikutusta. Työssä oli myös tarkoitus tutkia öljyllä pilaantuneen maaperän PAH-yhdisteitä, mutta analyysiä ei pystytty suorittamaan, koska GC-MS-laitteelle ei ollut tarvittavaa kantajakaasua.

2 Öljyhiilivedyt

2.1 Öljyhiilivetyjen rakenne ja ominaisuudet

Raakaöljy on kemialliselta koostumukseltaan pääasiassa erilaisten hiilivetyjen muodostama kompleksinen seos. Hiilivetyjen lisäksi raakaöljy sisältää myös sivukomponentteina jonkin verran muita yhdisteitä kuten orgaanisia rikki-, happi- ja typpiyhdisteitä, epäorgaanisia suoloja sekä jonkin verran metalleja. Vaikka näiden epäpuhtauksiksi katsottavien aineiden pitoisuus raakaöljyssä on vähäinen, niillä saattaa olla ratkaiseva merkitys raakaöljyn laatua arvosteltaessa. Öljyhiilivedyissä on suorita, haaroittuneita, syklisiä, alisyklisiä, polysyklisiä, aromaattisia sekä polyaromaattisia yhdisteitä, joiden osuus seoksessa vaihtelee öljyalaadittain. Hiilivetyjen monimuotoisuutta lisäävät hiiliatomien väliset erilaiset sidokset, jotka voivat olla joko tyydyttyneitä tai tyydyttymättömiä. Raakaöljyssä on rikkiä 0,1 - 7 %, typpeä 0,01 - 0,9 % ja happea 0,06 - 0,4 %. Metalleista ainoastaan vanadiinia ja nikkeliä esiintyy raakaöljyssä merkittävästi yli 1 mg/kg. Raakaöljyn viskositeetti ja väri vaihtelevat suuresti öljyesiintymän mukaan (kuva 1). [1, s. 55; 3, s. 7; 41]



Kuva 1. Öljyalaadut vasemmalta oikealle: kevyttä Pohjanmeren Ekofisk-raakaöljyä, jonka rikkipitoisuus on pieni, vain 0,2 % ja tiheys 38 °API, keskiraskas Pohjanmeren Brent (0,4 % / 37 °API), venäläinen Soviet Esport Blend (1,2 % / 34 °API), saudiarabialainen Arabian Light (1,9 % / 33 °API), Arabian Medium (2,8 % / 29 °API), venezuelalaiset Bachaquero (2,6 % / 12 °API) ja Tia Juana Pesado (2,7 % / 11 °API). [41, s. 21]

Maailmassa oli käytössä vuonna 1996 yli 1500 taloudellisesti kannattavaa öljyesiintymää. Esiintymien raakaöljyn kemiallinen koostumus vaihtelee ja jokaisella öljyesiintymällä on omat tunnuspiirteensä. Raakaöljy jalostetaan öljynjalostamoissa erilaisiksi öljytuotteiksi. Tätä kemian alaa kutsutaan petrokemiaksi. Suomessa on kaksi öljynjalostamoita, joista toinen sijaitsee Porvoossa ja toinen Naantalissa. Vuonna 2010 Suomessa kulutettiin yhteensä 11 miljoonaa tonnia öljyä. Tästä määrästä n. 94 % tuotiin Venäjältä ja 5 % Norjasta. Loput tuotiin Tanskasta, Kazakstanista ja Isosta-Britanniasta. [2; 7, s. 3]

Raakaöljystä saadaan tislaamalla laadusta riippuen vaihtelevat määrät kaasuja, bensiinejä, keskitiskeitä ja pohjatuotteita. Öljynjalostuksessa hiilivedyt jaetaan koostumukseltaan eri fraktioihin, joiden kemialliset ominaisuudet, käyttäytyminen maaperässä sekä ekotoksiset ominaisuudet poikkeavat huomattavasti toisistaan. Alimmissa lämpötiloissa tislautuvat kevyet jakeet kuten moottoribensiini. Näiden hiililuvut vaihtelevat välillä $C_3 - C_{12}$. Ne koostuvat enimmäkseen alkaaneista, mutta myös alkeeneista, sykloalkaaneista ja aromaattisista yhdisteistä. Aikaisemmin moottoribensiinin lisäaineena käytettiin tetraetyylilyijyä, jolla on bensiinin oktaanilukua

nostava vaikutus. Tämä erittäin myrkyllinen lisäaine kiellettiin Suomessa 1990-luvulla ja muualla EU:n alueella vuonna 2004. Nykyisin lyijy-yhdisteet on korvattu korkeaktaanisilla metyyli-tertääributyylieetterillä (MTBE) tai tertääriamiyylimetyylieetterillä (TAME). Näiden osuus moottoribensiineissä on 11-15 tilavuus-%. Näillä yhdisteillä on erittäin korkea happipitoisuus, ja siksi ne parantavat palamisreaktiota moottorissa, mikä pienentää pakokaasujen hiilimonoksidi- ja hiilivety päästöjä. [3, s. 7; 4; 6, s. 100; 7, s. 6; 41]

Keskittleiden hiililuku vaihtelee välillä $C_9 - C_{27}$. Tähän fraktioon kuuluvat dieselöljyt ja kevyet polttoöljyt. Nämä yhdisteet sisältävät suoraketjuisia ja rengasrakenteisia alkaaneja n. 70 – 80 % sekä näiden lisäksi erilaisia aromaattisia yhdisteitä. Teknisiltä ominaisuuksiltaan dieselöljyä vastaavaa, mutta lievemmin verotettua kevyttä polttoöljyä käytetään tieliikenteen ulkopuolella traktoreissa ja työkoneissa sekä vesiliikenteessä. Kevytpolttoöljyyn lisätään sen käytön valvonnan mahdollistamiseksi lisäaineena furfuraalia, punaista väriainetta, jolla on sille tunnusomainen haju. [3, s. 7, 41]

Raskaimpiin jakeisiin lukeutuvat mm. raskas polttoöljy ja voiteluöljy sekä bitumi. Ne koostuvat maaöljyn raskaista tisleistä tai alitteista, joita on voitu hajottaa krakkaamalla. Niiden sisältämät yhdisteet koostuvat pääasiassa hiilivedyistä, joiden molekyyeissä on ainakin 20 hiiliatomia, mutta ne voivat olla jopa 100 hiiliatomia sisältäviä alifaattisia syklistä ja aromaattisia molekyyeitä. [3, s. 7; 5]

Öljy-yhdisteissä tyypillisesti esiintyviä tyydyttyneinä hiilivetyjä ovat suoraketjuiset alkaanit heksaanista dekaaniin. Suoraketjuisten alkaanien osuus pienenee niiden moolimassan kasvaessa. Kevyet jalostetut öljytuotteet ja kevyet raakaöljyt sisältävät korkeina pitoisuuksina sykloheksaania, metyyli sykloheksaania, 2-metyyli butaania, metyyli pentaania, trimetyyli pentaania, dimetyyli butaania ja metyyli syklopentaania. [7, s. 3]

2.2 Öljyhiilivetyjen käyttäytyminen maaperässä

Suomessa tapahtuu vuosittain noin 2 000 öljyvahinkoa, joista suurin osa maa-alueilla. Yleensä ympäristöön pääsee vain pieniä määriä öljyä. Suomen ympäristökeskus saa vuosittain noin 100 ilmoitusta vakavammasta öljyvahingosta. [8]

Öljyllä pilaantunutta maa-ainesta voi esiintyä kiinteistöillä, joissa on harjoitettu mm. huoltamo-, korjaamo- tai romuttamatoimintaa, sekä alueilla, joilla on vuotavia öljysäiliöitä tai joita on käytetty jätteen loppusijoittamiseen. Maaperän pilaavat öljy-yhdisteet ovat usein nestemäisessä muodossa, mutta myös aika-ajoin laskeumana öljyn palamislopputuotteiden muodossa. Öljy-yhdisteiden käyttäytymiseen maaperässä vaikuttavat öljyn fysikaalisten ja kemiallisten ominaisuuksien lisäksi maaperän koostumus ja olosuhteet sekä pohjaveden liikkeet. Öljy-yhdisteet voivat haihtua maasta ilmaan, imeytyä ympäröivään maahan tai kulkeutua pohjavesien mukana. Kaikki öljy-yhdisteet sisältävät erilaisia hiilivetyjä. Tästä johtuen seoksen eri komponentit reagoivat maaperässä eri tavoin ja eri nopeuksilla. [3, s. 8; 11, s. 70; 7, s.7]

Kevyet öljytuotteet, kuten kevyt polttoöljy, petroli ja bensiini, ovat pohjavedelle haitallisimpia öljy-yhdisteitä. Raskaat öljytuotteet, kuten raskas polttoöljy, ovat ongelmallisia vesistövahingoissa, mutta ympäristön lämpötiloissa ne eivät juuri imeydy maaperään, ja näin ollen ne harvoin pilaavat maaperää laajoilta alueilta. [9; 11, s. 70]

Öljy-yhdisteiden jouduttua maahan alkavat niistä haihtua ne hiilivedyt, joiden kiehumispiste on alle 250 °C. Hiilivetyjen haihtuminen on suoraan verrannollinen niiden höyrynpaineeseen. Yhdisteet, joilla on korkea höyrynpaine, haihtuvat helpommin maaperästä. Haihtuminen johtaa välittömästi öljyn koostumuksen huomattavaan muuttumiseen. Alle kymmenen hiiliatomia sisältävät alkaanit ja yhden tai kaksi bentseenirengasta sisältävät aromaattiset yhdisteet liukenevat veteen ja voivat kulkeutua pohjaveden mukana. 2-4-renkaiset aromaattiset yhdisteet voivat hajota auringon valon vaikutuksesta, mikäli ne sijaitsevat maan pintakerroksissa. Monirenkaiset polyaromaattiset rakenteet ja pitkäketjuiset asfalteenit adsorboituvat maaperään ja ovat käytännössä liikkumattomia. [3, s. 8; 12, s. 188]

Öljy imeytyy tunneissa, joskus jopa minuuteissa, vettä hyvin läpäisevään maaperään kuten hiekkaan, soramaahan, hiesuun, moreeniin tai kallioon. Tällaisessa maaperässä öljy painuu alaspäin, kunnes se kohtaa läpäisemättömän maaperän tai pohjaveden. Öljy leviää pohjaveden pinnan tai läpäisemättömän kerroksen suuntaisesti muodostaen pyöreähkön öljyllä kyllästyneen alueen. Tämän alueen koko riippuu pääasiassa

maaperään joutuneen öljyn määrästä, öljyn viskositeetistä sekä maaperän läpäisevyydestä. Kevyet mineraaliöljyt ovat vettä kevyempiä, joten ne kerääntyvät pohjaveteen joutuessaan sen pinnalle. [9]

Vuodon päätyttyä öljyyntyminen saavuttaa muutamassa vuorokaudessa lähes lopullisen laajuutensa maaperässä. Jos öljyvuoto on tapahtunut äkillisesti ja onnettomuudesta on kulunut vähemmän kuin kaksi vuorokautta, on öljy todennäköisesti vielä liikkeessä, ja nopeilla toimenpiteillä sen liikettä pystytään rajoittamaan ja näin pienentämään saastuneen alueen laajuutta. Mikäli öljyvuoto on ollut pitkäaikaista tai se on tapahtunut jo kauan aikaa sitten, on vuotanut öljymäärä ehtinyt muodostaa maaperään vähitellen lopullisen öljyyntymän, josta liukenee edelleen vapautuvia hiilivetyjä maassa liikkuviin vesiin. Maaperään joutuneet öljymäärät ovat aina pieniä verrattuna pohjavesiesiintymien kokoon, mutta pienikin määrä öljyä voi pilata suuren määrän vettä. Öljyyntymästä pohjaveteen liukenevat hiilivedyt aiheuttavat haju- ja makuhaittoja jo pieninäkin pitoisuuksina. Öljy hajoaa erittäin hitaasti suomalaisessa viileässä maaperässä ja voi siten pilata pohjavettä pitkään. [9; 10]

Öljy ei kulkeudu öljynä tai öljykalvona kovin pitkiä matkoja pohjavedessä, vaan se pidättäytyy maaperään vahinkopaikan välittömään läheisyyteen, josta siitä liukenee erilaisia hiilivetyjä pohjaveteen. Öljynesteiden kulkeutumisteinä maaperässä voivat sen sijaan toimia salaojat, viemärit ja kaapeliojat. [9]

2.3 Öljyhiilivetyjen biologinen hajoaminen

Maaperään joutuessaan öljyhiilivedyt altistuvat fysikaalisille, kemiallisille ja biologisille prosesseille. Nämä kaikki voivat alentaa kokonaisöljyn määrää maaperässä. Monet hiilivedyistä toimivat mikro-organismeille hiilen ja energian lähteenä. Hiilivetyseoksen hajoamiseen luonnossa vaikuttavat hiilivetyjen laadun ja määrän lisäksi paikallinen mikrobikanta sekä vallitsevat ympäristöolosuhteet. Biologisen hajoamisen edellytyksenä ovat riittävä mikro-organismien määrä sekä tarpeeksi alhaiset öljypitoisuudet, jotka eivät ole myrkyllisiä hajottajaeliöstölle. Tämän lisäksi tarvitaan oikeanlainen mikrobiyhteisö ja oikeanlaiset olosuhteet, joissa mikrobit voivat kasvaa ja hajottaa öljy-yhdisteitä. Hajoamisen tehokkuuteen vaikuttavat muun muassa ravinne-, happi- ja vesipitoisuus, lämpötila, pH sekä maalaji. Raskasmetallien on havaittu vaikuttavan haitallisesti mikrobien toimintaan. [3, s. 9; 7, s. 10]

Saksalaiset tutkijat Riis Volker, Babel Wolfgang ja Pucci Oscar Héctor (2002) ovat tutkineet dieselpolttoaineen biohajoamista mikrobien avulla raskasmetalleilla saastuneessa maassa. Tutkitut metallit olivat kupari, nikkeli, sinkki, lyijy, kadmium, elohopea sekä kromi kromaattimuodossa. Hajoamista tutkittiin lietteessä sekä nesteessä. Hajoaminen väheni nestemäisessä viljelmässä sitä enemmän mitä suuremmat metallipitoisuudet olivat. Hajotuksen kulkua mitattiin hapenkulutuksen perusteella. Metallien toksisuusjärjestykseksi tutkimuksessa saatiin suurimmasta pienempään: elohopea, kromi, kupari, kadmium nikkeli, lyijy ja sinkki. [47]

Puolalaiset tutkijat Stobrawa ja Lorenc-Plucińska (2007) ovat tutkineet raskasmetallien kerrostumista maaperään kuparisulatossa. Tutkimuksessa tutkittiin entsyymiaktiivisuutta kahden eri poppelilajin juuristossa (*Populus nigra L* ja *Populus deltoides Bartr*). Tutkittavina puina käytettiin täysikasvuisia puita, jotka kasvoivat niille tavanomaisessa ympäristössä. Molemmilla analysoiduilla lajeilla raskasmetallit stimuloivat vapaiden radikaalien ylituotantoa juuristossa. Tämän havaittiin olevan suoraan verrannollista puiden lisääntyneeseen ikääntymiseen. Nuorissa juuristoissa raskasmetallien havaittiin aiheuttavan lisääntyntä guajakolifosfaattiperoksidaasiaktiivisuutta ja oletettavasti lisääntyntä häiriötä lignifikaatiossa. Katalaasin todettiin olevan hyvin herkkä raskasmetallien läsnäollessa maaperässä. Askorbaattiperoksidaasiin ja glutationin reduktaasiin raskasmetallien ei havaittu vaikuttavan. [59, s. 57-68]

Yleisin hiilivetyjen hajoamistapa on aerobinen hapettuminen. Täydellisessä hajoamisessa orgaaniset yhdisteet hajoavat hiilidioksidiksi, vedeksi ja epäorgaanisiksi suoloiksi. Osittaisessa hajoamisessa puuttuu mikrobeille hajoamiseen tarvittava entsyymi ja näin maaperään jää hapettumisessa syntyviä välituotteita. [13, s. 9]

Alkaanien hajoaminen käynnistyy oksygenaasientsyymien vaikutuksesta. Monooksygenaasi aiheuttaa happimolekyylin toisen atomin liittymisen alkaaniin, jolloin muodostuu primaarinen alkoholi. Dioksygenaasi puolestaan liittää alkaaniin molemmat happiatomit. Seurauksena on epävakaata hydroperoksidaasi, joka pelkistyy alkoholiksi ja vedeksi. Alkoholit muuntuvat aldehydin kautta rasvahapoksi, joka puolestaan hajoaa

edelleen. Syntyneet yhdisteet siirtyvät trikarboksyylihapposykliin, ja lopulta syntyy vettä, hiilidioksidia sekä ATP-energiaa. [13, s. 9]

Mikrobeista suurin osa sijaitsee maan muokkauskerroksessa, joka käsittää pinnasta 30 cm alaspäin koostuvan osan. Mikrobit kykenevät yleensä hajottamaan biologista alkuperää olevia aineita, koska evoluutio on miljoonien vuosien kuluessa kehittänyt niille siihen tarvittavat geenit. Teollisesti tuotettujen kemikaalien hajottamiseen vaadittavia entsyymejä ei mikrobeilla välttämättä ole. Öljytuotteiden pääkomponentit ovat biologista alkuperää ja siten yleensä suotuisissa olosuhteissa mikrobiologisesti hajoavia. Öljyonnettomuuden seurauksena alueelle kehittyy yleensä nopeasti näitä hiilivetyjä hajottavia mikrobiyhteisöjä. [7, s. 10-11]

Öljyn hiilivetyjä hajottavia mikrobeja on tunnistettu yli 200. Useat sienet ja bakteerit pystyvät hajottamaan alkaaneja, ja niiden on todettu hajoavan täydellisesti. Helpoimmin hajoavat keskipituiset hiiliketjut C_{10} – C_{24} , mutta jopa 44 hiiliatomia sisältävien avoketjujen on todettu hajoavan mikrobiologisesti. Mikrobit eivät pysty käyttämään hiilen lähteenä yhdisteitä, joiden molekyylipaino on yli 500 g/mol. Kevyet yhdisteet ovat kaikkein toksisimpia kasveille ja maaperäeliöille, sillä ne toimivat liuottimina ja vaurioittavat niiden solukalvoa. [3, s. 9; 7, s. 11]

Haaroittuneet hiilivedyt voivat myös hajota täydellisesti, mutta paljon hitaammin mitä suoraketjuiset yhdisteet. Myös kaksoissidokselliset alkeenit ovat mikrobiologisesti vaikeasti hajoavampia kuin alkaanit. Alkeenit voivat hajota aerobisesti sekä myös anaerobisesti.

Rengasrakenteiset sykloalkaanit ovat vaikeasti hajotettavissa mikrobiologisesti. Monosykliset yhdisteet ovat myrkyllisiä monille hiilivetyjä hajottaville mikrobeille, koska ne liuottavat lipidirakenteisia kalvoja. Aromaattisista yhdisteistä ainakin tolueni, bentseeni ja ksyleeni voivat hajota maaperässä biologisesti. Ne hajoavat aerobisesti muodostaen välituotteena katekolia ja lopputuotteena orgaanisen hapon. [3, s.10]

Esimerkiksi bentseeni voi hajota mukonihapoksi, joka voi hajota edelleen butaanidihapoksi ja asetyyli Co-A:ksi (ortohajoamisreitti). Vaihtoehtoisessa meta-

hajoamisreitissä rengas aukeaa hydroksyyliyhdyntien vierestä ja lopputuotteiksi saadaan 2-oksopropaanihappoa ja asetaldehydiä. [3, s. 10]

Otenio Henrique Marcelo ja muut (2005) ovat tutkineet tolueenin, bentseenin ja ksyleenin biologista hajoamista maaperässä. Tutkimuksessa tutkittiin *Pseudomonas putida* hajotusaktiivisuutta kasvatusliuoksessa, joka sisälsi bentseeniä, tolueeniä, ksyleeniä tai niiden seoksia. Kokeet tehtiin erikseen puhtailla liuottimilla ja niiden seoksilla: bentseeni & tolueeni, bentseeni & ksyleeni, tolueeni & ksyleeni (50 + 50 mg/l) sekä seoksella, jossa oli kaikkia kolmea liuotinta 33,3 mg/l lisättynä 500 ml viljelyainetta. Liuottimen katoaminen määritettiin 24 - 25 tunnin kuluttua kaasukromatografilla. Tutkimustulosten mukaan *Pseudomonas putida* kykeni hajottamaan tolueeniä ja ksyleeniä, mutta ei bentseeniä. [48]

3 Polysykliset aromaattiset hiilivedyt

3.1 PAH-yhdisteiden rakenne ja ominaisuudet

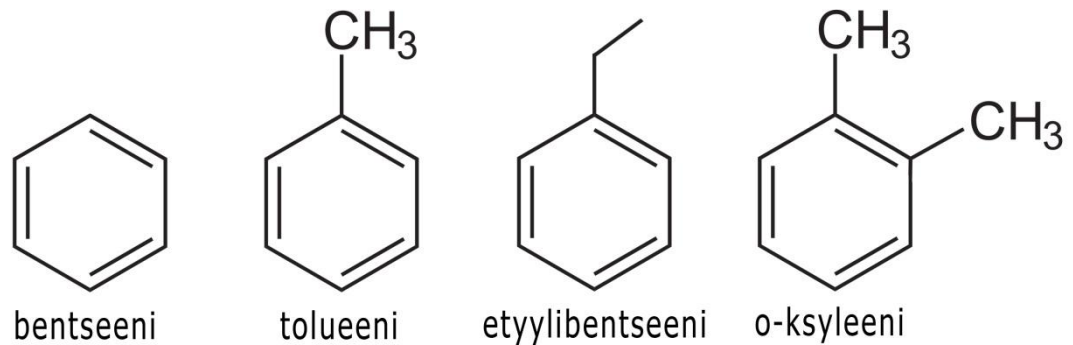
PAH-yhdisteet ovat kahdesta tai useammasta bentseenirenkaan yhteenliittymästä muodostuvia yhdisteitä. Ne voivat sisältää myös erilaisia substituutteja, ja bentseenirenkaan hiili on voinut korvautua esimerkiksi hapella, rikillä tai tyrellä. Ne ovat kemiallisesti verraten melko stabiileita. Ilmakehässä PAH-yhdisteet hajoavat auringon UV-valon vaikutuksesta. Ne voivat reagoida myös muiden ilmansaasteiden kanssa. [14, s. 80; 13, s. 98]

Useimmat PAH-yhdisteet ovat suhteellisen heikosti haihtuvia yhdisteitä ja ovat huoneenlämpötilassa kiinteitä, lukuun ottamatta naftaleenia. Molekyylin höyrynpaine määrittää pääasiassa PAH-yhdisteiden jakautumisen hiukkasmaisen ja kaasumaisen olomuodon välillä. PAH-yhdisteet ovat rasvaliukoisia eivätkä juurikaan liukene veteen ja sen vuoksi eivät ole ravintoketjuissa kertyviä. [14, s. 80]

3.2 PAH-yhdisteiden muodostuminen ja esiintyminen

PAH-yhdisteet ovat yleisiä öljyn, kivihiilen ja kreosoottiöljyn aineosia. Niitä syntyy myös orgaanisen aineen epätäydellisessä palamisessa ja niitä esiintyy ympäristössämme; ilmassa, maaperässä, vesistössä. [14, s. 80]

PAH-yhdisteitä joutuu ympäristöön eniten fossiilisten polttoaineiden epätäydellisen palamisen seurauksena sekä öljytuotteiden kuljetuksen, käytön ja hävittämisen yhteydessä tapahtuvien vuotojen ja onnettomuuksien seurauksina. [14, s. 80]



Kuva 2. Yleisimpiä öljy-yhdisteissä sisältävien PAH-yhdisteiden rakennekaavat.

Yleisimpiä aromaattisia hiilivetyjä öljy-yhdisteissä ovat bentseeni, tolueeni, etyylibentseeni sekä dimetyylibentseeni eli ksyleeni (kuva 2). Näiden lisäksi öljy-yhdisteissä esiintyviä PAH-yhdisteitä ovat trimetyylibentseenit, tetraliinit/indaanit, tetrametyylibentseenit, naftaleenit, metyyliinaftaleenit, dimetyyliinaftaleenit, metyyliifenantreenit ja dimetyyliifenantreenit. [7, s. 3]

3.3 PAH-yhdisteiden terveysvaikutukset

Useiden PAH-yhdisteiden on todettu olevan syöpää ja perimämuutoksia aiheuttavia aineita. Ilman ja PAH-yhdisteiden välisissä reaktioissa muodostuvat aineet voivat olla terveydelle vieläkin vaarallisempia kuin reaktioiden lähtöaineet. Esimerkiksi PAH-yhdisteiden ja typen oksidien reagoidessa keskenään syntyy nitro-PAH-yhdisteitä, jotka ovat erittäin karsinogeenisia. [16, s. 14]

PAH-yhdisteitä voi päätyä elimistöön hengityksen, ihokosketuksen tai ruoansulatuksen kautta. PAH-yhdisteet muuttuvat aktiiviseen muotoon elimistön aineenvaihdunnan jälkeen ja vaurioittavat solujen toimintaa ja makromolekyylejä. [16, s. 16]

3.4 PAH-yhdisteiden biologinen hajoaminen

PAH-yhdisteet ovat yleensä erittäin pysyviä, mutta monet bakteerit ja sienet pystyvät sopivissa olosuhteissa hajottamaan ainakin pienimolekyylisiä PAH-yhdisteitä. Huono

vesiliukoisuus ja niiden taipumus absorboitua maahan vaikeuttaa niiden biosaatavuutta ja siten niiden hajoamista. [14, s. 80]

Maassa PAH-yhdisteet adsorboituvat saveen ja eloperäiseen ainekseen. Niiden on todettu hajoavan maassa melko hitaasti. Pienimolekyyliset yhdisteet hajoavat suurimolekyylisiä nopeammin. Hajoamisen on todettu olevan nopeampaa aerobisessa ympäristössä. Vanhimmissa kunnostuskohteissa ei yleensä löydetä enää pienimolekyylisiä PAH-yhdisteitä, sillä myös UV-valo edesauttaa niiden hajoamista maaperässä. [13, s. 98; 51, s. 15]

Maan humuspitoisuuden on todettu edistävän PAH-yhdisteiden kulkeutumista kasveihin. Nämä yhdisteet ovat usein pienikokoisia, sillä suurikokoiset PAH-yhdisteet kertyvät kasveihin vain vähän. Kasvien maan pinnan yläpuolisissa osissa PAH-yhdisteiden pitoisuudet ovat yleensä pieniä. Niiden pitoisuus ei riipu maaperän pitoisuudesta. Suurimpia pitoisuuksia on löydetty juureksista, etenkin perunoista ja porkkanoista. Ne kertyvät yleensä juuresten kuoriosaan. [13, s. 98]

Kuopion yliopistossa on tutkittu PAH-yhdisteiden hajoamista fytoimediaation avulla. Tutkimuksessa oli kaksi eri koivukloonina (*Betula pendula* ja *Betula pubescens*), jotka laitettiin metalleilla saastuneesta maasta kolmeksi kuukaudeksi hiekka-turvemaahan ja lisättiin PAH-yhdisteitä (antraseeni, fluoranteeni, fenantreeni ja pyreeni). PAH-yhdisteiden hajoaminen vaihteli eri kloonin ja maa-aineksen mukaan. Tilastollisesti merkittävin poistuma 88 % kokonais-PAH-yhdisteistä havaittiin hiekkaisemmassa maassa *Betula pubescens* -kloonilla fenantreenille. Tutkimuksessa havaittiin, että vaikka hajoamisprosessi on melko monimutkainen, pystyvät puut ja ritsosfääriin mikrobit yhdessä tarjoamaan mahdollisuuksia bioremediaation hyödyntämisessä PAH-saastuneissa maa-alueissa. [60, s. 341-346]

3.5 PAH-yhdisteiden prosessitekniisiä käsittelymenetelmiä

Stabilointi on yleisesti käytössä oleva PAH-yhdisteillä pilaantuneen maan käsittelymenetelmä. Siinä haitta-aineiden liikkuvuus rajataan sabiloimalla ne kiinteään ainekseen kemiallisesti ja tiivistämällä massa fysikaalisesti vettä läpäisemättömäksi rakenteeksi. Stabiloidut maamassat pystytään hyödyntämään erilaisissa kenttärakenteissa ja kantavissa rakenteissa. [49]

Jari Ruuhonen (2001) tutki diplomityössään PAH-yhdisteiden käsittelyä maanpesulla, kemiallisella hapetuksella ja biologisella käsittelyllä. Tutkimuksessa havaittiin, että maanpesussa parhaimmillaan 10 % maan PAH-yhdisteistä siirtyi vesifaasiin. Otsonointikokeissa hajoamista ei havaittu. Hapetukseen perustuva Fenton-käsittely hajotti 24 tunnin aikana PAH-yhdisteistä yli 90 %. Biologisella käsittelyllä PAH-yhdisteistä hajosi 10 – 40 %. Tutkimuksessa tutkittiin myös mahdollisuutta yhdistää kaksi tehokkaimmin toimivinta puhdistusmenetelmää, Fenton-käsittely ja biologinen käsittely. Yhdistäminen ei onnistunut liian alhaisten pH-arvojen vuoksi, sillä biologista hajoamista ei tapahtunut. [50]

4 Pilaantuneen maaperän puhdistus puiden avulla

4.1 Pilaantunut maaperä

Ihmisen toiminnan tuloksena eri tavoin pilaantuneita vesistöjä ja maa-alueita on runsaasti. Suomessa arvioitiin 1980-luvulla olevan yli 10 000 pilaantunutta tai mahdollisesti pilaantunutta maa-aluetta. 2012 määrän arvioidaan olevan noin 23 000. [13, s. 99; 21; 43]

Maaperä luokitellaan pilaantuneeksi silloin, kun maa-aluetta ei voida käyttää sen alkuperäiseen käyttötarkoitukseen tai muuhun suunniteltuun käyttöön, haitallisten aineiden pitoisuudet maaperässä ylittävät huomattavasti alueen luontaiset pitoisuudet tai pilaantuminen aiheuttaa merkittävää välitöntä vaaraa terveydelle tai ympäristölle. Saastuneiksi ei kuitenkaan lueta maa-alueita, joiden haitallisten aineiden pitoisuudet ovat luontaisesti korkeita. [17; 22; 23; s. 14]

Suomessa yleisimpiä maaperän saastumisen aiheuttajia ovat sahat, puunkyllästämöt, kaatopaikat sekä polttoaineen varastointi- ja jakelualueet, joista on maaperään voinut joutua muun muassa kloorifenoleita, dioksiineja, furaaneja, metalliyhdisteitä ja raskasmetalleja sekä öljyperäisiä hiilivetyjä. [19]

Maaperän pilaantuminen voi olla seurausta yksityisen kansalaisen tai toiminnanharjoittajan toiminnassa tapahtuneesta onnettomuudesta tai pitkäaikaisesta päästöstä. Maaperä voi pilaantua paikallisesti esim. onnettomuuden tai vahinkotapauksen tai vähitellen normaalin toiminnan ympäristöpäästöjen seurauksena.

Haitallisia aineita on voinut joutua maaperään kaikesta sellaisesta toiminnasta, jossa on käsitelty haitallisia aineita. Maaperä voi olla pilaantunut, jos alueella on ollut esimerkiksi teollista toimintaa, kemikaalien varastointia ja kuljetusta, kaivostoimintaa tai ampumarata. [18]

Pilaantumisen vakavuuteen vaikuttavat maaperässä olevien aineiden määrät ja ominaisuudet sekä pilaantuneen alueen ja sen lähiympäristön käyttötarkoitus ja luonnon olosuhteet. Maaperän puhdistamista koskevia hallintopäätöksien mukaan maaperä on yleisimmin pilaantunut öljyhiilivedyillä ja raskasmetalleilla tai molemmilla yhdessä. [18]

Pilaantuneelta maa-alueelta haitta-aineet voivat levitä maaperässä laajemmalle alueelle tai kulkeutua ilmaan, pohjavesiin, vesistöihin tai joskus myös vesistöjen pohjasedimentteihin. [18]

Pilaantuminen voi tulla esille eri tavoin: pilaaja tai muu onnettomuuden tai pilaantumisen havaittaja ilmoittaa asiasta viranomaiselle tai viranomaisen havaitsee pilaantumisen seuranta- ja tarkastustehtäviä hoitaessaan. [17]

Pilaantuneiden kohteiden puhdistaminen on yksi ajankohtaisista ympäristökysymyksistä. Suomessa on viimeisen viidentoista vuoden aikana kunnostettu noin 2 600 pilaantunutta aluetta. Perinteisten menetelmien rinnalle on noussut vaihtoehtoisia menetelmiä, joiden etuina on edullisuus sekä ympäristöystävällisyys. [20]

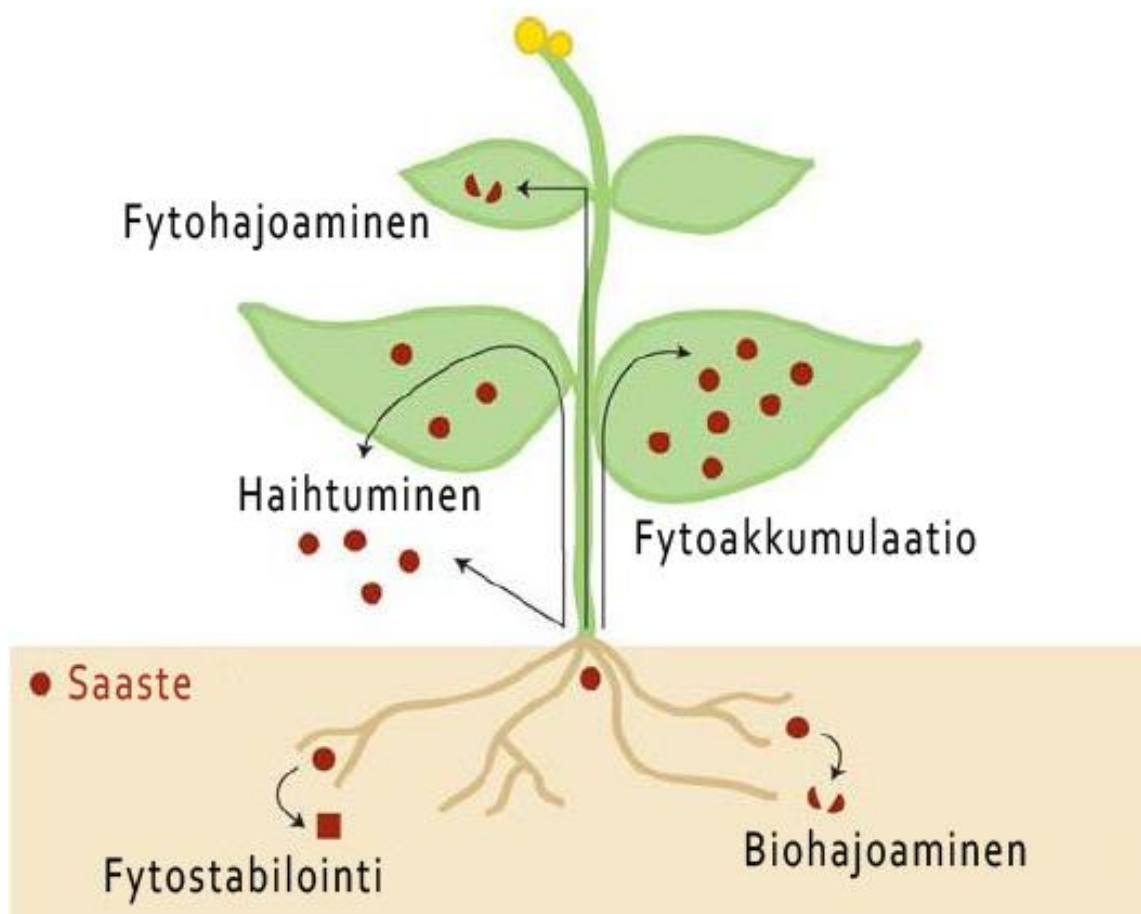
Pilaantuneen maaperän puhdistamisen tavoitteena on saada pilaantunut alue osittain tai kokonaan sellaiseen kuntoon, ettei siitä enää aiheudu terveyshaittaa tai vaaraa ympäristölle. Puhdistusmenetelmiä on useita. Sopiva puhdistusmenetelmä valitaan puhdistettavan kohteen ja saastuneen aineen erityispiirteiden perusteella. [17]

Erilaiset kasvien avulla tapahtuvat pilaantuneiden alueiden kunnostus- ja puhdistusmenetelmät ovat viime aikoina kehittyneet voimakkaasti ja ne antavat uusia mahdollisuuksia ympäristön puhdistamiseen. [13, s. 99]

4.2 Fytoremediaatio

Fytoremediaatio (myös bioremediaatio) on pilaantuneiden maiden, veden ja ilman puhdistamista tai haitta-aineen inaktivointia vihreiden kasvien avulla. Kasveja, jotka keräävät haitta-aineita maaperästä itseensä, kutsutaan hyperakkumulaattoreiksi. [24]

Fytoremediaatiossa käytetään hyväksi kasvien kykyä ottaa maasta sekä orgaanisia että epäorgaanisia yhdisteitä, kerätä ja hajottaa sekä myös stabiloida niitä. Fytoremediaatiossa voidaan erottaa tehostettu kasvien juuristossa tapahtuva biohajoaminen, fytoakkumulaatio, fytohajoaminen ja fytostabilointi (kuva 3). [14, s. 46-47]



Kuva 3. Fytoremediaatio voidaan jakaa maanpinnan alla tapahtuvaan haitta-aineen stabilointiin ja biohajoamiseen sekä maan pinnalla tapahtuvaan fytoakkumulaatioon ja fytohajoamiseen [56].

Haitta-aineet kulkeutuvat maaperästä kasviin sen juuren kautta. Juuristot tuottavat niissä eläville hajottajamikrobeille ravinteita ja auttavat niitä myös leviämään maassa laajemmalle alueelle. Fytoakkumulaatiossa kasvi ottaa maasta haitta-aineita, joka kerääntyy kasvin lehtiin ja muihin osiin. Ihanteellinen kasvi tuottaa runsaasti biomassaa

myös saastuneilla alueilla keräten runsaasti raskasmetalleja ja metalleja maanpäällisiin kasvinosiin. Luonnossa esiintyvät raskasmetalleja tehokkaasti keräävät hyperakkumulaattorikasvit ovat usein hidaskasvuisia ja pieniä tuottaen alhaisen biomassan. [2, s. 47; 3]

Fytohajoamisella tarkoitetaan kasvisolukossa tapahtuvaa haitta-aineiden metaboliaa eli hajoamista. Kasvin tuottamat entsyymit, kuten dehalogenaasit ja oksygenaasit, katalysoivat hajoamista. Fytostabiloinnissa haitta-aineet pyritään lukitsemaan kasvin juuriin ja juurien alueelle. Näin voidaan estää haitta-aineiden leviäminen tuulen tai veden mukana. Tämä tapahtuu juurikerroksen mikrobiologian ja kemian sekä maaperässä ja haitta-aineessa tapahtuvien kemiallisten muutosten kautta. Kasvillisuuden avulla maaperän kemialliset biologiset ja fysiologiset ominaisuudet muuttuvat niin, että haitta-aineet pidättyvät maaperään. Haitta-aineista päästään eroon yleensä korjaamalla ja hävittämällä kasvi. Mikäli haitta-ainepitoisuudet ovat pieniä, kasvit voidaan hävittää kompostoimalla tai mahdollisesti myös polttamalla. Kasvien polttamisesta syntyvä energia voidaan edelleen ottaa talteen. [24; 14, s. 47; 25]

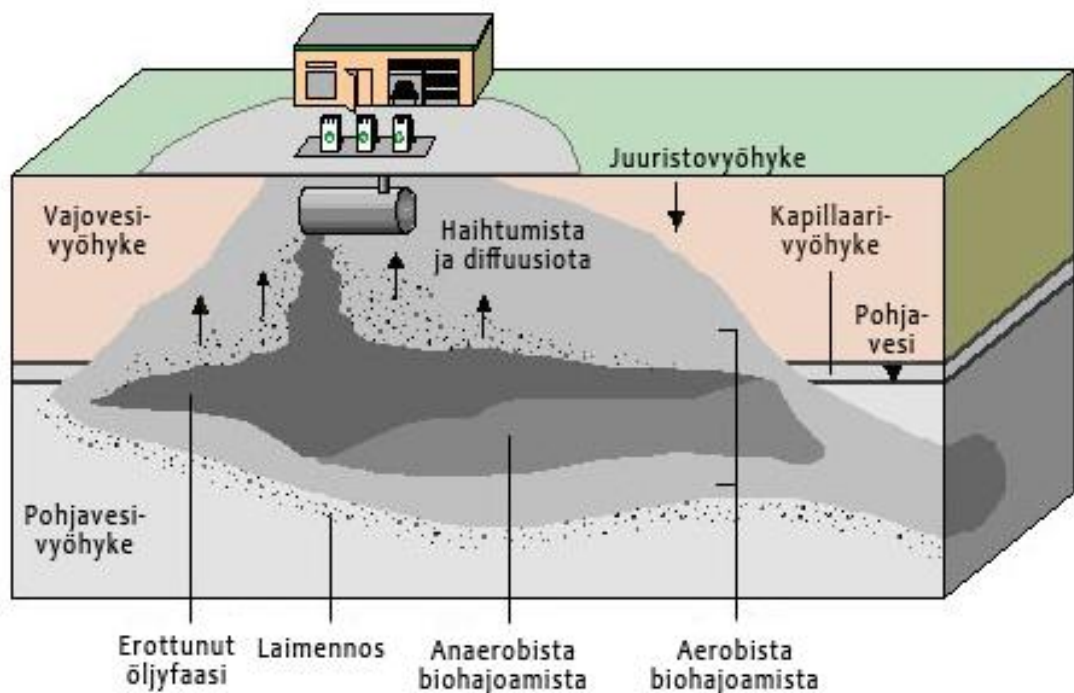
4.2.1 Soveltuvuus ja rajoitukset

Fytoremediaatio on vielä pitkälti kehitysvaiheessa oleva puhdistusmenetelmä, joka soveltuu lievästi pilaantuneen maan kunnostukseen tietyin edellytyksin. Sitä voidaan soveltaa metallien, torjunta-aineiden, liuottimien, räjähdysaineiden, raakaöljyn, PAH-yhdisteiden ja kaatopaikan suotovesien käsittelyyn. Jotkut haitta-aineet voivat olla korkeina pitoisuuksina kasveilla myrkyllisiä. Menetelmä ei sovellu vahvasti adsorboituneille yhdisteille, kuten PCB-yhdisteille. Käsittely saattaa siirtää haitta-aineita väliaineesta toiseen, esim. maasta ilmaan. Tuotteet voivat myös joutua pohjaveteen tai kerääntyä eläimiin. Maa-aineksen käsittelysyvyys määräytyy käytettävien kasvien mukaan, yleensä käsittelyn vaikutus rajoittuu maan pintakerrokseen. Suomen oloissa käsittely keskittyisi kesäkauteen. [25, s. 47]

Tänä päivänä bioremediaatio muodostaa vain murto-osan laajoista haitallisten jätteiden käsittelyn markkinoista, mutta on silti yksi nopeimmin kasvavista aloista pilaantuneen ympäristön puhdistamisessa. Bioremediaatio on vielä rajoitettua, mutta varsinkin USA:ssa kehitystä tapahtuu kohti kaupallistumista nopeammin kuin muissa maissa.

Pääsyyt tähän tilanteeseen johtuvat siitä, että suurin osa bioremediaatiotutkimuksesta ja kehityksestä on tehty USA:ssa. USA:n ympäristölainsäädännön laajuus ja toimeenpano ylittää muiden maiden vastaavat ja bioremediaation julkinen hyväksyntä USA:ssa on korkea johtuen tiedotuksesta, joka on syntynyt bioremediaation käytöstä laajojen öljyonnettomuuksien yhteydessä. [54, s. 180]

Bioremediaation maailmanmarkkinoista on useita arvioita, joiden mukaan merkittävin sektori on öljyllä saastuneet maa-alueet ja pohjavedet, joiden aiheuttajina ovat maanalaiset vuotavat öljysäiliöt. Euroopassa arvioidaan seuraavien 10 vuoden maaperän puhdistuskustannusten ylittävän 30 miljardia dollaria. Mikäli 5 % saastuneesta maasta puhdistettaisiin biokäsittelyllä, niin 1,5 miljardia dollaria käytetään bioremediaatiomenetelmiin. USA:ssa on 750 000 säiliölaitosta joista yli 50 %:ssa säilytetään biohajoavia öljyhiilivetyjä. Varovaisten arvioiden mukaan joka kolmas näistä tankeista vuotaa (kuva 4). Jos 10 % näistä maista puhdistettaisiin biologisesti, kokonaistuotto olisi 4 miljardia dollaria. [54, s. 180]



Kuva 4. Havainnekuva bensa-aseman maanalaisen säiliön öljyvuodosta ja sen vaikutuksesta ympäristöön [57].

Muita tulevaisuuden markkinoita biologisille käsittelyille ovat prosessijätteen esikäsittely, teollisuuden jätevedet, kaatopaikkojen suotovedet ja yleiset

kemikaalivuodot. Bioremediaation potentiaaliset maailmanmarkkinat seuraavana vuosikymmenenä ovat 11,5 miljardia dollaria. [54, s. 180]

4.2.2 Öljyllä saastuneiden maiden fytoimediaatio

Öljihiilivetyjen fytoimediaatiossa keskeisin biohajoaminen tapahtuu aktivoituneiden mikrobipopulaatioiden vaikutuksesta. Kasvit edesauttavat mikrobien toimintaa erittämällä maaperään yhteyttämisen lopputuotteita kuten sokereita, alkoholeja, valkuaisaineita ja orgaanisia happoja. Näitä pieneliöt käyttävät ravinnokseen ja energianlähteenä. Lisäksi kasvien juuristoissa elää yleensä kymmenen tai jopa tuhat kertaa runsaammin mikrobipopulaatioita kuin ympäröivässä maassa. Öljyn hajotukseen osallistuvat mikrobeista lähinnä bakteerit, sienet ja levät, mutta myös alkueläimet käyttävät öljy-yhdisteitä hiilen ja energian lähteenä. [3, s. 10, 26, s. 48]

Yli kaksi rengasrakennetta sisältävät PAH-yhdisteet sitoutuvat kasvien juuriston pinnalle hydrofobisen olemuksensa sekä alhaisen höyrynpaineensa vaikutuksesta. Näin biosaatavuus paranee ja niiden hajoaminen on nopeampaa kuin kasvien juurista vapaassa maaperässä.

Öljy-yhdisteet ovat enimmäkseen hyvin rasvaliukoisia eivätkä ne sen vuoksi suuressa määrin siirry kasvien sisäosiin. Tästä johtuen fytoakkumulaatiolla on harvoin merkitystä öljy-yhdisteiden hajoamisprosessissa. Osa hydrofobisista orgaanisista yhdisteistä imeytyy kuitenkin myös kasvin sisälle. Siellä ne voivat hajota kokonaan tai osittain, muuntua vähemmän vaarallisiksi yhdisteiksi ja sitoutua epäreaktiivisena muodossa solukoihin tai vapautua kaasujenvaihdon yhteydessä ilmaan. Moottoribensiinissä käytettävän lisäaineen MTBE:n on havaittu siirtyvän kasvivälitteisesti ilmaan, jossa sen puoliintumisaika laskee noin 300 vuorokaudesta muutamaan vuorokauteen. [3, s. 11]

4.2.3 Kenttäkokeet

Öljihiilivetyjen fytoimediaatiota on tutkittu kenttäolosuhteissa sekä myös astiataimilla monia erityyppisiä kasvilajeja käyttäen. Yleisesti tutkimuksissa on käytetty puita, erilaisia heiniä ja hernekasveja. Puilla on suuri biomassa ja syvälle tunkeutuva juuristo sekä ne ovat monivuotisia, mikä puoltaa niiden käyttöä fytoimediaatiossa.

Tärkeimpänä näistä ovat olleet lehtipuut, joista suosituimpia pajut ja erityisesti poppelin sukuiset lajit. Liitteessä 2 on listattu öljyhiilivetyjen fytoimediaatiota koskevia tutkimuksia ja niissä käytettyjä puulajeja. [3, s. 11]

Erilaisten epäpuhtauksien biologinen käsittely on helpoimmin hallittavissa maanpinnalle rakennetuissa reaktoreissa, joissa saastunutta maa-ainesta tai pohjavettä voidaan käsitellä kontrolloidusti. [13, s. 100]

Hiilivetyjen hajoamiseen vaikuttavat ratkaisevasti ympäristötekijät. Suomessa alhainen lämpötila rajoittaa hiilivetyjen hajoamista luonnossa, vaikka muut ympäristötekijät olisivatkin biologisen hajoamisen kannalta suotuisat. Maan jäätyminen ja kylmät olosuhteet asettavat fytoimediaatiolle merkittäviä rajoitteita. Tyypillisesti öljy-yhdisteiden hajoaminen hidastuu lämpötilan laskiessa, kun mikro-organismien entsyymaattinen aktiivisuus vähenee. Lämpötilan laskiessa myös öljyn fysikaaliset ominaisuudet muuttuvat. Sen viskositeetti kasvaa ja lyhytketjuisten yhdisteiden haihtuvuus vähenee. Pitkäketjuisten öljy-yhdisteiden hajoavuutta heikentää niiden kiinteä olomuoto ja siten heikentynyt biosaatavuus jo alle 10 °C lämpötilassa. Öljyhiilivetyjen hajoaminen kylmässä ilmastossa tapahtuu kotiperäisten mikro-organismien avulla, jotka ovat sopeutuneet kylmempään ilmastoon. [3, s. 15; 26, s. 14]

4.2.4 Haapapuun käyttö fytoimediaatiossa

Haapa on lehtipuu, joka kuuluu haapa- ja poppelipuiden sukuun. Se on kookas ja nopeakasvuinen puu, jonka lehdet värisevät pienessäkin tuulissa. Sukuun kuuluu noin 35 lajia, jotka esiintyvät pohjoisen pallonpuoliskon lauhkeissa ja viileissä vyöhykkeissä. Metsähaapa on suvun ainoa alkuperäinen kasvi Suomessa ja sitä kasvaakin koko maassa. Viljelylajina tavataan lisäksi metsähaapojen ja pohjoisamerikkalaisen haapojen risteytyksenä syntyneitä hybridihaapaa. [28, s. 145-146; 29, s. 48]

Haapa leviää tehokkaasti juurivesojen avulla ja muodostaa laajoja yhden yksilön kasvustoja. Isokokoisella haavalla on laskettu olevan jopa 250 kilometriä juuristoa. Haavat, kuten myös muut lehtipuut, sitovat itseensä maaperästä vapautuvan typen, joka muuten haihtuisi ilmaan ja vesistöihin. Ne hillitsevät liiallista heinittymistä ja parantavat maaperää ja sen vesitaloutta. [27, s. 13; 28, s. 146]

Poppelisuvun puita on tutkittu ja käytetty melko runsaasti fytoimediaatiohankkeissa. Tähän on syynä suvun puiden laaja-alainen levinneisyys, hyvä kasvupotentiaali erilaisilla kasvupaikoilla ja nopea kasvu, hiilentuotto ja puun hyvä tukirakenne. [30; 31]

Amerikanhaavan on havaittu leviävän öljyllä pilaantuneille alueille luontaisesti, ja sitä pidetään yhtenä ehdokkaana fytoimediaation in situ -sovelluksissa. Haavan etu fytoimediaatiossa on sen aktiivinen sekä laajalle ja syvälle tunkeutuva juuriverkosto, mikä mahdollistaa syvemmälle saastuneiden alueiden kunnostamisen. Haapa sopeutuu kasvamaan myös huonoilla kasvupaikoilla, ja sen rungon emäksisyys parantaa maan pH:ta. Haavalla on myös kyky kerätä metalleja maaperästä sekä käsitellä öljy-yhdisteiden hiilivetyjä. Haapojen ja poppelien tiedetään keräävän mm. kadmiumia ja sinkkiä lehtiinsä, mutta toisaalta ne ovat myös herkkiä tietyille raskasmetalleille. [31; 3, s. 26]

5 Näytteen käsittely ja analysointi öljyanalytiikassa

5.1 Näytteenotto maaperästä

Maaperä on heterogeeninen ympäristö, jossa vieraat aineet leviävät epätasaisesti sekä maan pinnan tasossa että syvyysuunnassa. Lisäksi tutkittavaa maamassaa on yleensä paljon, jopa useita satoja tonneja, joten luotettavien pitoisuustietojen saaminen edellyttää tavallisesti erittäin suurta näytemäärää. [19, s. 35]

Näytteiden tulee edustaa mahdollisimman hyvin sitä osaa ympäristöstä, jota halutaan tutkia. Näytteenotto on analyysin tärkein osa, sillä hyvin tehdyillä mittauksilla ei ole arvoa, mikäli otettu näyte ei kuvaa alkuperäistä tilannetta. Näytteenotossa tehtyjä virheitä ei pysty jälkepäin enää korjaamaan. Usein virheet ovat lisäksi näkymättömiä, ts. analyysin suorittaja ei osaa epäillä niiden olemassaoloa. Näin ollen väärin otettujen näytteiden pohjalta tehdään vääriä johtopäätöksiä. Näytteiden laadunvarmistuksessa on otettava erilaisia rinnakkaisnäytteitä, toistettuja näytteenottoja sekä nollanäyte. Edustava näyte on sellainen, joka sisältää samat yhdisteet kuin alkuperäinen matriisi ja samoissa suhteellisissa osuuksissa. [40, 42]

Näytteenottoa kohdennetaan taustaselvitysten perusteella. Erityisesti tarvitaan tietoa kemikaalien käsittely- tai onnettomuusalueesta sekä saastuneen alueen leviämisestä. Mikäli taustaselvitysten avulla ei pystytä päättämään haitta-aineiden sijaintia ja laajuutta, on näytteenotto kohdennettava käyttäen pistemäisiä otoksia saastuneen alueen lähistöltä, systemaattista näytteenottoa alueen ympäriltä, satunnaistettua näytteenottoa koko määritettävältä alueelta tai näiden yhdistelmiä. Näytteenoton pistetiheys, näytteenottosyvyys ja tutkittavien kokoomanäytteiden määrä riippuvat tutkittavan alueen koosta sekä siitä, onko kyseessä alustava vai perusteellinen tutkimus. Kokoomanäyte on yhdistelmä yksittäisnäytteitä esimerkiksi eri pisteitä. Sen tarkoitus on lisätä näytteen edustavuutta ja optimoida voimavarojen käyttöä. [36, s. 18-21]

Saastuneen alueen laajuuden selvittämiseksi näytteenottoa suoritetaan saastuneelta alueelta ylävirtaan kohti saastumatonta maa-aluetta. Tämä saattaa edellyttää useita näytteitä ja pitkävaiheista näytteenottoa. Yksinkertaisin tapa ottaa näyte karkearakeisista maalajeista on kaivaa koekuoppa. Sen avulla voidaan helposti arvioida maaperän homogeenisuutta sekä parantaa näytteen edustavuutta. [36, s. 24]

5.2 Maanäytteen säilytys ja esikäsittely öljyanalytiikassa

Tutkittava näyte tulisi analysoida mahdollisimman nopeasti näytteenotosta, koska säilytyksessä analyytit saattavat hajota tai reagoida muiksi tuotteiksi. Mikäli tämä ei ole mahdollista, on näytteet säilöttävä jollakin tavoin näytteen pitämiseksi muuttumattomana esikäsittelyyn asti. [42]

Mitä kauemmin näytettä säilytetään, sitä todennäköisempiä ovat erilaiset häiritsevät reaktiot. Reaktiot tarvitsevat tapahtuakseen energiaa, joten näytteen säilymistä voidaan parantaa minimoimalla energia säilyttämällä näytettä kylmässä ja valolta suojattuna. Viileässä tai kylmässä vältytään lämmön katalysoimien reaktioiden ja lämpöhajoamisen ohella liuottimen haihtumiselta, joka konsentroidisi näytettä hallitsemattomasti. Pakastettuna näytteitä voidaan säilyttää jopa vuosikausia. Pakastaminen kuitenkin muuttaa näytteen fysikaalista rakennetta sekä aiheuttaa liuenneiden aineiden erottumista. Varsinkin näytteiden uudelleen pakastamista sulatuksen jälkeen on syytä välttää. Normaali pakastinlämpötila ei myöskään täysin

estä tutkittavien aineiden biologista ja kemiallista hajoamista. Näytteen säilyvyys riippuu näytteen yleislaadusta ja tutkittavasta aineesta. [36; 42]

Fysikaalisia tekijöitä, jotka vaikuttavat haitallisesti näytteeseen, ovat esimerkiksi haihtuminen, diffuusio ja adsorptio. Haihtumisen minimoimiseksi helposti höyrystyvät näytteet on kerättävä astioihin, joiden ilmatila on mahdollisimman pieni, ja ne on säilytettävä matalassa lämpötilassa. Epäorgaaniset aineet tulisi säilyttää muoviastioissa, koska metallit adsorboituvat lasille ja orgaaniset aineet lasiastioissa, koska ne reagoivat muovien polymeeriryhmien kanssa. Lisäksi muovista liukeneva ftalaatti voi aiheuttaa ongelmia analyyseissä. [42]

Analyysitulosten tuottaminen perinteisillä laboratoriomenetelmillä on usein melko hidasta ja tulosten saaminen kestää parhaimmillaankin useita päiviä. Maanäytteitä on usein mahdotonta analysoida suoraan sellaisena kuin ne on otettu. Käsittelemättömänä näyte saattaa rikkoa analysointiin käytettävän laitteiston tai näyte voi sisältää ainesosia, jotka häiritsevät kiinnostavien yhdisteiden määrittelyä tai vaikeuttavat tulosten tulkintaa. Näytteen esikäsittely tulisi tehdä mahdollisimman vähillä käsittelyvaiheilla, sillä jokaisessa käsittelyssä tapahtuu näytehävikkiä ja mittauksen kokonaisuvarmuus kasvaa. Esikäsittelytekniikkaa valittaessa on otettava huomioon monia asioita. Näitä ovat esimerkiksi analyysilaitteiston vaatimukset, käytetyn tekniikan tarkkuus, toistettavuus, selektiivisyys, näytteen kestävyys, analyysin nopeus ja resurssit. [19, 42]

Näytteenkäsittelyssä tärkeintä on näytteen homogenisoiminen. Tällöin osanäytteet ovat tasalaatuisia ja edustavat alkuperäistä näytettä, joka edustaa alkuperäistä systeemiä mikäli näytteenotossa ei ole tapahtunut virheitä. [42]

6 Uttomenetelmät ja liuosten kuivaus

6.1 Kiintoaine-nesteuutto

Erilaiset uutot on paljon käytettyjä esikäsittelymenetelmiä. Perinteisesti se tehdään käyttämällä yhtä tai useaa liuotinta, mutta se on mahdollista tehdä myös ilman

liuottimia (kiinteäfaasimikrouutto). Uuton kestot vaihtelevat hyvin paljon aina minuuteista tunteihin ja jopa vuorokausiin. [42]

Kiintoaine-nesteuutossa kiintoaineesta uutetaan jokin arvokas tai haluttu komponentti nesteeseen. Uuton edellytyksenä on suuri kiinteä-nesterajapinta, joka toimii aineensiirtopinta-alana. Kiintoaine on uuttoa varten hienonnettava sopivaan raekokoon, joka ei kuitenkaan saa olla liian pieni, jotta jäljelle jäävä aine saadaan helposti erottumaan uuttonesteestä. Uuttoliuottimen on oltava tehokas ja selektiivinen ja liuottimen on oltava halpa ja mahdollisimman turvallinen sekä sen on luonnollisesti oltava yhteensopiva myöhempien esikäsittelyvaiheiden tai analyysimenetelmän kanssa. [42; 46, s. 110]

6.2 Liuottimien ja liuosten kuivaus

Vesi vaikuttaa useissa orgaanisissa reaktioissa häiritsevästi. Se pienentää saantoa ja voi estää reaktion tapahtumista. Vesi voi myös aiheuttaa räiskymistä liuottimia haihdutettaessa ja sen poistaminen haihduttamalla on aina hankalampaa ja hitaampaa kuin tyypillisten orgaanisten liuottimien haihduttaminen. Tästä syystä kaikki orgaaniset liuokset ja liuottimet tulee aina kuivata ennen tislausta sekä haihduttamista. [32, s. 83; 33]

Liuottimien kuivaamiseen käytetään kolmen tyyppisiä kuivausaineita. Ensimmäiset niistä yhdistyvät veden kanssa ja muodostavat hydraatteja. Toiset reagoivat veden kanssa muodostaen uusia vedettömiä yhdisteitä. Loput kuivausaineet toimivat fysikaalisesti, esimerkiksi silikageeli. [32, s. 83]

Kuivausaineen valinnassa on otettava huomioon seuraavat seikat: kuivausaine ei saa reagoida kuivattavien aineiden, liuottimien eikä liuenneiden aineiden kanssa, kuivausaineen tulee olla nopea ja tehokas eikä se saa liueta huomattavasti kuivattavaan nesteeseen. Kuivausainetta ei kannata käyttää kovin suurta määrää, sillä se imee aina myös kuivattavaa ainetta. Hydraatteja muodostavat kuivausaineet tulee aina suodattaa pois ennen näytteen tislausta. [32, s. 83]

7 Materiaalit ja menetelmät

7.1 Työn tavoite

Työn tavoitteena oli analysoida kaasukromatografilla yliopiston ottamat maanäytteet (liite 4) ja selvittää niiden avulla, olivatko öljypitoisuudet muuttuneet maaperässä ajan kuluessa. Työssä tutkittiin myös säilyttämisen vaikutuksia öljyhiilivetyjen hajoamiseen.

7.2 Näytteenotto

Toukokuussa 2012 haettiin uudet näytteet R - Y, joilla selvitettiin säilyttämiseen liittyviä tekijöitä ja öljyn nykyisiä pitoisuuksia maaperässä. Näytteet A - Q, joilla selvitettiin öljyn biohajoavuutta, oli otettu Helsingin yliopiston toimesta vuosina 2010 – 2011. Näytteet käytiin keräämässä Haapastensyrjässä sijaitsevasta Metlan tutkimuskeskuksesta. Pistolapiolla kaivettiin 20 – 30 cm:n syvyisiä näytteenottokuoppia. Jokaisesta kasvatusaltaasta otettiin 18 (3 x 6) osanäytettä, jotka yhdistettiin kokoomanäytteeksi. Näytteet otettiin muovisella elintarvikekauhalla suureen lasiseen pyrex-pulloon, joilla ne kuljetettiin laboratorioon analysointia varten (kuva 5). Liitteessä 3 on havainnollistettu näytteenottoaluetta. Kuvissa 6 ja 7 on kuvattuna näytteenottoaikat.



Kuva 5. Näytteenottokuoppa kaivettiin pistolapiolla n. 20 cm:n syvyyteen. Näytteet otettiin elintarvikekauhalla lasisiin pyrex-pulloihin.



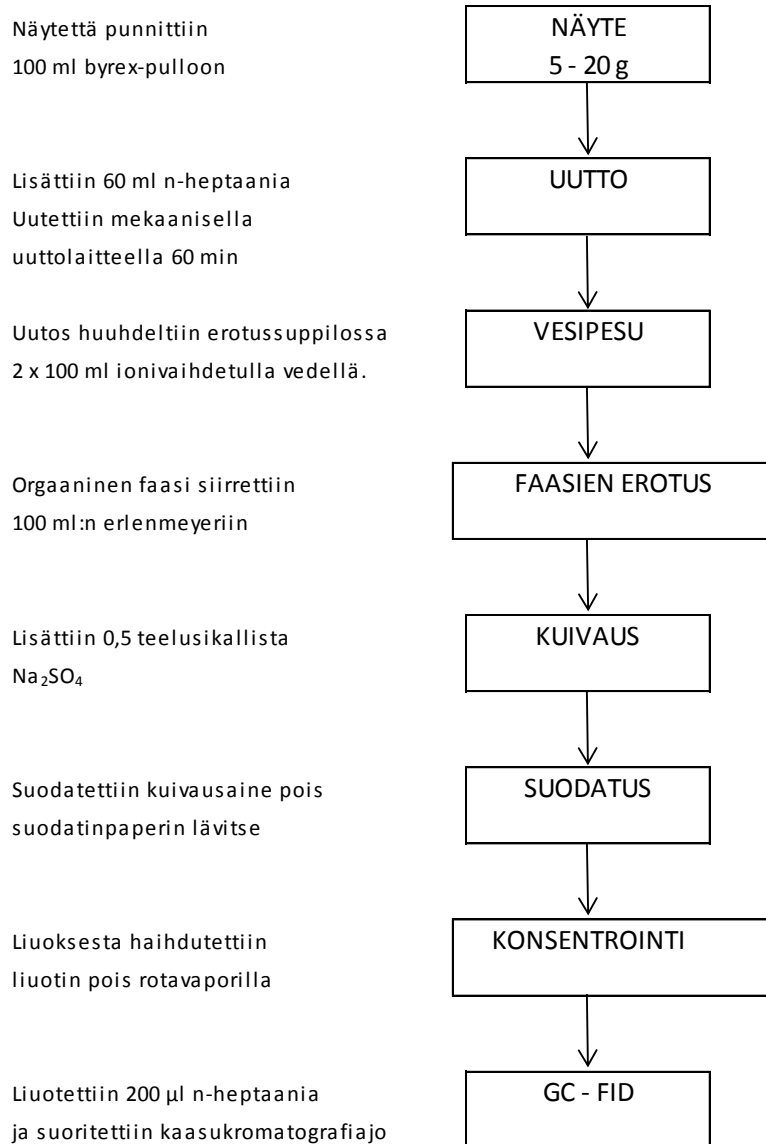
Kuva 6. MetLan tutkimuskeskuksen kasvihuone, jossa kasvatetaan eri haapaklooneja Somerharjun öljyonnettomuudessa saastuneessa maa-aineksessa.



Kuva 7. MetLan tutkimuskeskuksen ulkokasvatuskenttä, jossa kasvatetaan eri haapaklooneja Somerharjun öljyonnettomuudessa saastuneessa maa-aineksessa.

7.3 Maanäytteiden käsittely ja analysointi

Näytteen käsittelyssä ja analysoinnissa mukailtiin ISO 16 703 standardia (kuva 8).



Kuva 8. Havainnekuva öljynmääritysanalyysin työnkulusta.

7.3.1 Maanäytteiden säilytys

Helsingin yliopisto toimitti analysoitavat näytteet minigrip -pusseissa. Näytteitä oli säilytetty pakastimessa 1 – 2 vuotta. Näytteet oli homogenisoitu yliopiston toimesta ennen näytteen säilömistä.

Haapastensyrjältä haetut kokoomanäytteet homogenisoitiin pyörittämällä pyrex-pulloja telapyörittämällä n. 20 minuutin ajan 30 rpm. Näytteet uutettiin, kuivattiin ja konsentroidtiin pyöröhaihduttimella kaikki saman päivän aikana, jolloin säilytysaika jäi mahdollisimman lyhyeksi. Näytteet, joista oli haihdutettu kaikki liuotin pois, säilytettiin hioskorkilla suljetussa lasisissa pyöröhaihdutuskolveissa. Kolveja säilytettiin jääkaapissa +7 °C:n lämpötilassa 1 - 2 päivän ajan, kunnes ne saatiin analysoitua kaasukromatografilla.

7.3.2 Standardiliuosten valmistaminen

Standardiliuoksia varten valmistettiin kantaliuos sekoittamalla diesel ja voiteluöljyä massasuhteessa 1:1 punnitsemalla mittapulloon molempia 5 g, minkä jälkeen seos laimennettiin n-heptaanilla 100 ml:ksi. Kantaliuoksesta laimennettiin standardiliuokset taulukon 1 mukaisesti. Maa-aineksena käytettiin Maxitin puhallushiekkaa raekooltaan 0,5 – 1,2 mm. Standardit uutettiin ja käsiteltiin tämän jälkeen kuten muutkin näytteet ja analysoitiin HP 5890A -kaasukromatografilla.

Taulukko 1. Öljyanalyysjä varten valmistetut standardiseokset, joissa oli diesel ja voiteluöljyä laimennettuna n-heptaaniin.

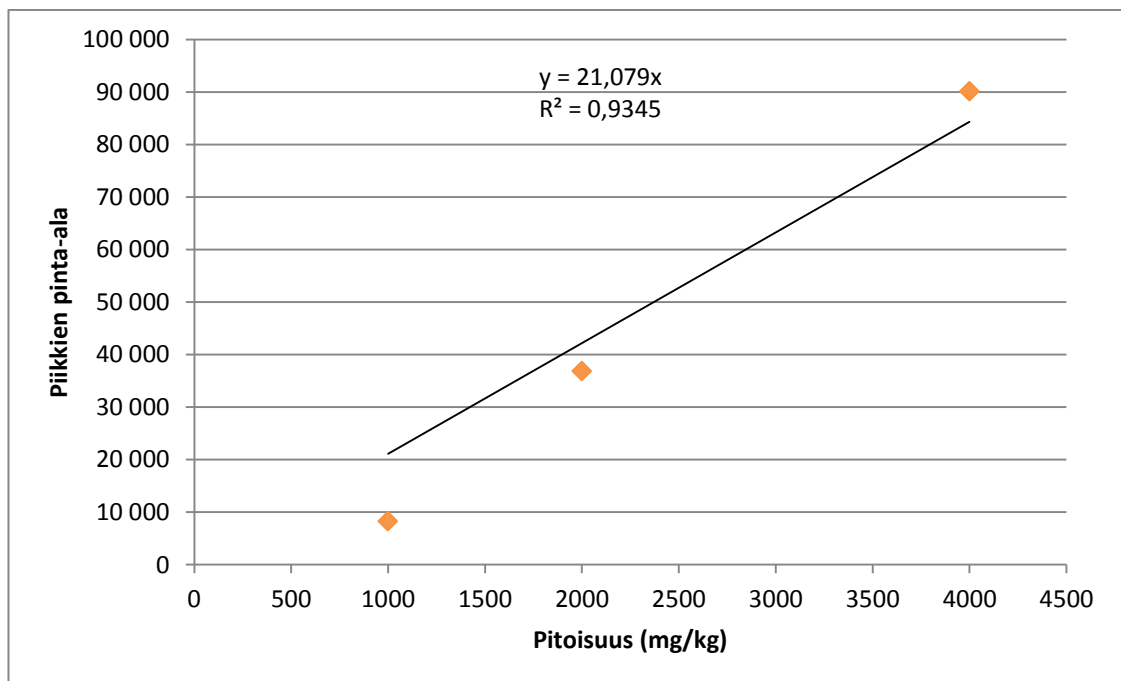
nro	standardin pitoisuus (mg/kg)	maa-ainesta (g)	kantaliuosta (ml)	n- heptaanina (ml)
1	1000	20	0,2	60
2	2000	20	0,4	60
3	3000	20	0,6	60
4	4000	20	0,8	60

Standardiseosten kromatogrammeista valittiin samat viisi yleisimmin esiintyvää piikkiä, jotka valittiin myös määritetyistä öljynäytteistä. Valitut yhdisteet ja niiden ominaisuudet on lueteltu taulukossa 4.

Taulukko 2. Öljystandardien pitoisuudet ja kromatografilla määritettyjen valittujen piikkien pinta-alat sekä niiden yhteenlasketut summat.

		Valittujen piikkien pinta-alat					
nro	mg/kg	C ₁₄ H ₃₀	C ₁₅ H ₃₂	C ₁₈ H ₃₈	C ₂₄ H ₅₀	C ₂₇ H ₅₆	Summa
1	1000	141	168	1496	6015	441	8 261
2	2000	24197	5047	5654	1472	519	36 889
3	3000	14729	1044	11483	2543	1283	31 082
4	4000	44942	26530	12357	4691	1634	90 154

Saaduista tuloksista (taulukko 2) piirrettiin standardisuora (kuva 9) jonka avulla määritettiin näytteiden öljypitoisuudet. Standardisuorasta jätettiin standardi 3000 mg/kg kokonaan pois. Sen käsittelyssä ja analysoinnissa on mitä todennäköisimmin tapahtunut jokin virhe, sillä se ei asettunut muiden standardien kanssa standardisuoralle (taulukko 2).



Kuva 9. Analysoiduista standardeista piirretty standardisuora ja sen kulmakerroin sekä selitysaste.



Kuva 10. Näytteen esikäsittely ennen uuttoa.

Näytteiden maa-aines oli raekooltaan sopiva uuttamiseen, eikä sitä ollut tarpeen hienontaa ennen uuttoa.

Näytteistä punnittiin heptaanilla huuhdeltuihin 100 ml:n pyrex-pulloihin 5, 10 tai 20 g:n maanäytettä, riippuen siitä kuinka paljon säilöttyä näytettä oli jäljellä. Näytepulloihin lisättiin 60 ml n-heptania (kuva 10).

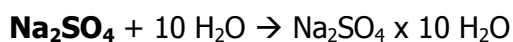


Kuva 11. Mekaanisessa uutossa käytetty laboratoriosekoitin. Laitteella uutettiin aina 7 näytettä kerrallaan ja ne pyrittiin sijoittamaan siten, että paino jakautuisi mahdollisimman tasaisesti.

Mekaaninen uutto toteutettiin Janke & Kunkel:in valmistamalla IKA-Labortechnik KS500 laboratoriosekoittajalla (kuva 11). Laite tuottaa pyörivää sekoitusliikettä. Sekoitusnopeutena käytettiin 270 1/min, 60 minuutin ajan.

Uuton jälkeen näytteestä erotettiin dekantoimalla kiinteä maa-aines ja liuotin toisistaan. Ylempi liuotintaasi otettiin talteen ja se siirrettiin 250 ml:n erotussuppiloon. Näytteestä poistettiin pienet pooliset epäpuhtaudet pesemällä sitä 100 ml ionivaihdetulla vedellä ja ravistelemalla seosta erotussuppilossa. Pesussa pooliset yhdisteet siirtyivät öljyfaasista vesifaasiin liukenevaisuuserojen perusteella. Ennen kerrosten erottamista annettiin tasapainon asettua noin minuutin seisotuksen ajan. Vesipesu tehtiin kahteen kertaan, sillä pesuteho on parempi käytettäessä useita pieniä vesimääriä kuin yhdellä kerralla suurta vesimäärää. Liuoksen orgaaninen osa siirrettiin 100 ml:n erlenmeyerpulloon, ja epäorgaaninen osa hävitettiin viemäriin.

Liuoksen kuivaukseen käytettiin n. ½ teelusikallista kidevedetöntä natriumsulfaattia, joka muodostaa veden kanssa hydraatteja:



Natriumsulfaatin kuivauskyky on suuri, mutta kuivausnopeus melko hidas. Se soveltuu tavallisimmille liuottimille ja orgaanisille yhdisteille [32]. Liuosta sekoitettiin ravistelemalla sitä erlenmeyerpullossa ja annettiin tämän jälkeen seisoa muutamia minuutteja vetokaapissa, jotta natriumsulfaatti ehtisi reagoida liuoksessa olevan veden kanssa.

Ennen näytteen tislausta natriumsulfaatti oli suodatettava ensin liuoksesta pois. Suodattamiseen käytettiin lasisuppiloa, jolle oli taiteltu Whatman-1 suodatinpaperi. Suodos valui suppilosta suoraan tislaukolviin, jossa se oli helppo haihduttaa rotavaporilla.



Kuva 12. Työssä käytettiin orgaanisen liuoksen haihduttamiseen Büchi RE111/461 pyöröhaihdutinta.

Liuosta oli konsentroitava, jotta se voitiin analysoida kaasukromatografilla. Tästä syystä seoksen nestemäinen osa haihdutettiin kokonaan pois rotavaporilla. Pyöröhaihduttimen lämpölevy asetettiin 40 – 50 °C:een. Haihdutus kesti noin 10 – 15 minuuttia. Pyöröhaihduttimena käytettiin Büchi RE111/461 (kuva 12).



Kuva 13. Haihdutetut keittopullot jäähtymässä vetokaapissa ennen kaasukromatografista ajoa.

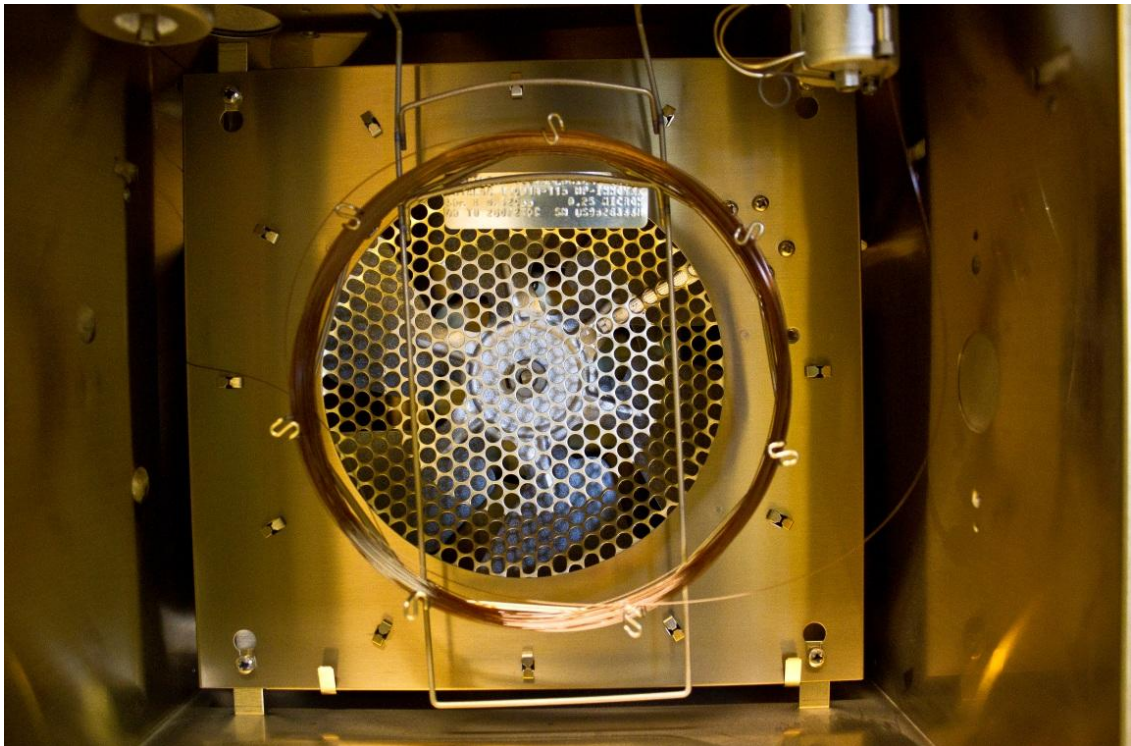
Kuivattu ja haihdutettu näyte (kuva 13) liuotettiin 200 µl:n n-heptaania.

Ympäristönäytteiden sisältämät orgaaniset yhdisteet ovat hyvin monimutkaisia seoksia ja niiden pitoisuudet ovat yleensä matalia. Siksi on käytettävä kolonnia, joilla on suuri erotuskyky, ja herkkiä detektoreita. Tästä syystä kaasukromatografissa käytettiin kapillaarikolonnia ja liekki-ionisaatiodektoria (GD-FID) (kuva 14), joka on yleisdetektori tämän tyyppisiin analysointeihin [36, s. 54]. Taulukossa 3 on esitelty kaasukromatografian tiedot ja ajo-olosuhteet.

Taulukko 3. Kaasukromatografian ajoparametrit.

Kaasukromatografian ajoparametrit			
Kaasukromatografi	HP 5890A	Injektioilavuus	1 µl
Detektori	liekki-ionisaatiodektori	Injektorin lämpötila	200 °C
Kantajakaasu	Typpi	Detektorin lämpötila	300 °C
Kolonne	HP Innowax	Uunin	4 min 40 °C
Kolonnin pituus	30 m	lämpötilaohjelma	+ 4 °C/min → 200 °C
Kolonnin halkaisija	0,320 mm		10 min 200 °C
Kolonnin pinnoite	0,25 µm	Ajoaika	30 min

Kaasukromatografina käytettiin HP 5890A (liite 1). Injektorin lämpötilaksi asetettiin 200 °C, detektorin lämpötilaksi 300 °C, ja uunin lähtölämpötilaksi asetettiin 40 °C, jota pidetään yllä 4 minuutin ajan, jonka jälkeen lämpötilaa nostetaan 4 °C minuutissa, kunnes lämpötila saavuttaa 200 °C, jossa sitä pidetään 10 minuutin ajan. Uunin lämpötila vaikuttaa siihen, kuinka nopeasti yhdisteet hajoavat niitä kuumennettaessa. Kantajakaasuna käytettiin typpeä.



Kuva 14. Kapillaarikolonne kuvattuna käyttämässämme kaasukromatografian uunissa. Oikealla ylhäällä liekki-ionisaatiodetektori.

Saaduista kromatogrammeista (liite 5) valittiin viisi piikkiä, jotka löytyivät mahdollisimman monesta analysoidusta näytteestä. Valitut yhdisteet ovat kaikki suoraketjuisia tyydyttyneitä hiilivetyjä (taulukko 4).

Taulukko 4. Kaasukromatografian kromatogrammista valitut yhdisteet.

nro	nimi	molekyylikaava	retentioaika (min)	moolimassa (g/mol)	kiehumispiste (°C)
1	tetradekaani	C ₁₄ H ₃₀	4,7	198,388	253
2	pentadekaani	C ₁₅ H ₃₂	5,4	212,415	271
3	oktadekaani	C ₁₈ H ₃₈	7,3	254,494	317
4	tetrakosaani	C ₂₄ H ₅₀	10,9	338,654	250
5	heptakosaani	C ₂₇ H ₅₆	13,5	380,733	270

Valittujen piikkien pinta-alat laskettiin yhteen, suhteutettiin massaan ja jaettiin standardisuoran kulmakertoimella, jolloin tulokseksi saadaan näytteen öljypitoisuus yksikkönä mg/kg. Piikkien tunnistamiseksi kaasukromatografilla ajettiin kaupalliset standardit Fluka Alkane standard solution C₈ - C₂₀ (tuotekoodi: 04070) ja C₂₁ - C₄₀ (tuotekoodi: 04071), joiden avulla määritettiin kyseisten yhdisteiden retentioajat.

Alla on laskettu laskuesimerkki näytteen A1 öljypitoisuuden laskemiseksi:

$$\frac{\sum A \cdot \frac{m_{stand}}{m}}{kk} = \left[\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right]$$

A = piikin pinta-ala

m = näytteen massa

m_{stand} = standardien massa

kk = standardisuoran kulmakerroin (kuva 6)

Laskuesimerkki näytteelle A1:

$$\frac{26\,238 \cdot \frac{20\text{ g}}{5,021\text{ g}}}{21,079 \frac{1}{\frac{\text{mg}}{\text{kg}}}} = 4958,16 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$$

Näytteiden, joista ei löydetty kaikkia määritettyjä piikkejä, kokonaispinta-ala skaalattiin seuraavasti:

$$\sum A \cdot \left(\frac{x}{y}\right) = A_{skaalattu}$$

A = valittujen piikkien pinta-alat

x = määritettyjen piikkien lukumäärä

y = kromatogrammista löydettyjen piikkien lukumäärä

$A_{skaalattu}$ = viidelle piikille skaalattu pinta-ala

Skaalaus suoritettiin, koska työssä ei määritetty yksittäisten hiilivety-yhdisteiden hajoamista vaan kokonaisöljypitoisuutta. Ilman tulosten skaalausta lopputulos olisi vääristynyt suhteettoman paljon niiden näytteiden kohdalla, joista yksittäinen määritetty hiilivety puuttui kokonaan.

7.3.3 Maanäytteiden pH:n määrittäminen

Tuoreimmista näytteistä (R - Y) mitattiin myös pH. Määrittystä varten maa-ainesta punnittiin dekantterilasiin 10 g, jonka jälkeen siihen lisättiin 25 ml ionivaihdettua vettä. Näytettä sekoitettiin n. 1 minuutin ajan lasisauvalla. Näytteitä seisotettiin yhden tunnin ajan, jonka jälkeen niille tehtiin nopea sekoitus. Mittaus suoritettiin SevenGo Duopro Mettler Toledo pH-mittarilla (kuva 15). Mittaus suoritettiin 4 kertaa ja saaduista tuloksista laskettiin keskiarvot (taulukko 7, s.40).

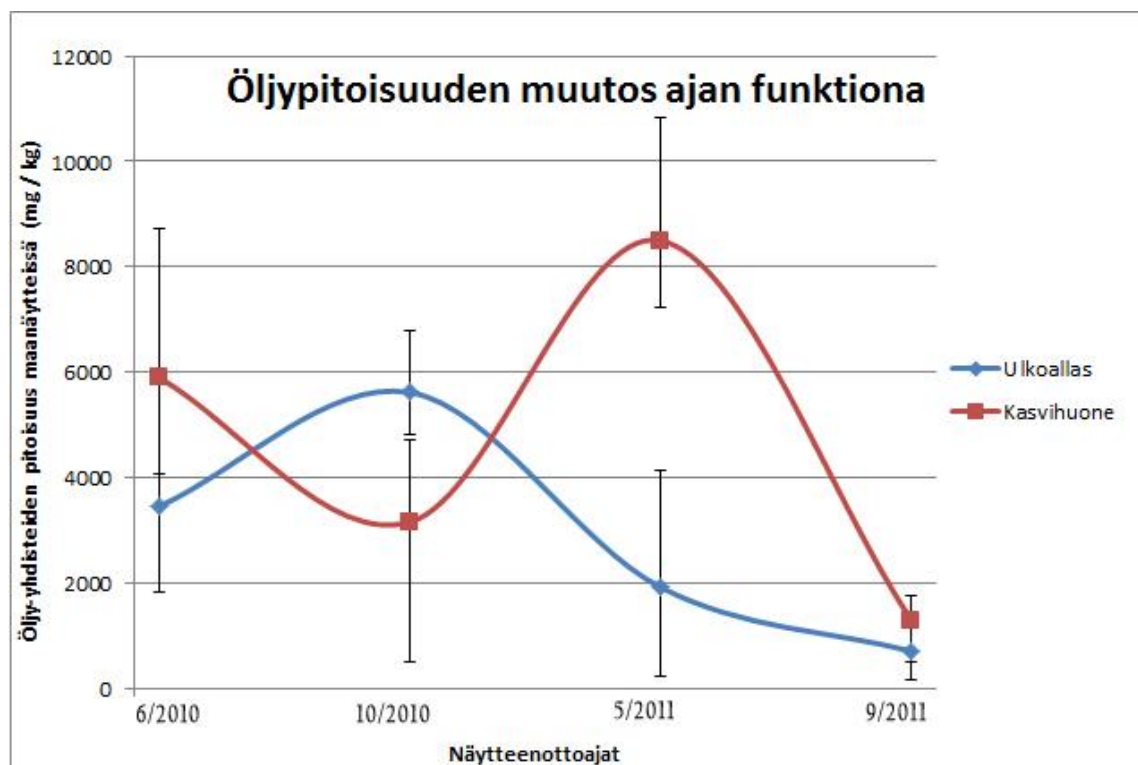


Kuva 15. Maanäytteiden pH mitattiin SevenGo Duopro Mettler Toledo pH-mittarilla [58].

8 Tulokset ja niiden arviointi

Tuloksia analysoitiin puhtaasti kemialliselta pohjalta. Tulosten mikrobiologista tarkastelua suoritetaan Helsingin yliopistolla.

Kuvassa 16 on piirretty öljy-yhdisteiden hajoamista kuvaavat käyrät, joista havaitaan että molemmissa tapauksissa öljyhiilivetyjen määrä maaperänäytteissä väheni. Ulkokentältä otetuissa näytteissä öljy-yhdisteiden hajoaminen oli tasaisesti laskevaa. Kasvihuoneesta otetuissa näytteissä havaittiin öljy-yhdisteiden pitoisuuksien aluksi laskevan, minkä jälkeen pitoisuudet palaavat takaisin melkein lähtötason arvoihin. Tulokset on laskettu rinnakkaisnäytteiden keskiarvoista.



Kuva 16. Öljy-yhdisteiden muutos ajan funktiona kasvihuoneesta ja ulkoa otetuissa näytteissä. Kuvaajaan on myös merkitty mittausten välinen hajonta.

Taulukoissa 5 ja 6 on esitetty yksittäisten näytteiden valittujen piikkien pinta-alat sekä niistä lasketut öljyhiilivetyjen pitoisuudet. Liitteissä 3 ja 4 on selitetty näytekoodien lyhenteet. Näytteissä R - Y, joiden säilytys minimoitiin esikäsittelemällä näytteet samana päivänä näytteenoton kanssa, havaitaan korkeampia öljypitoisuuksia kuin pakastettuna säilytyissä näytteissä A - Q. Yksittäisten ja selkeästi erottuvien piikkien

puuttuminen oli myös tyypillistä pitkään säilytetyille maanäytteiden kromatogrammeille. Tästä voidaan päätellä, että maaperänäytteiden pitkäaikainen säilytys pakastettuna hajottaa osan kevyistä öljyhiilivedyistä.

Taulukko 5. Yksittäisten näytteiden valittujen piikkien pinta-alat sekä niistä lasketut öljyhiilivetyjen pitoisuudet näytteissä A - Q.

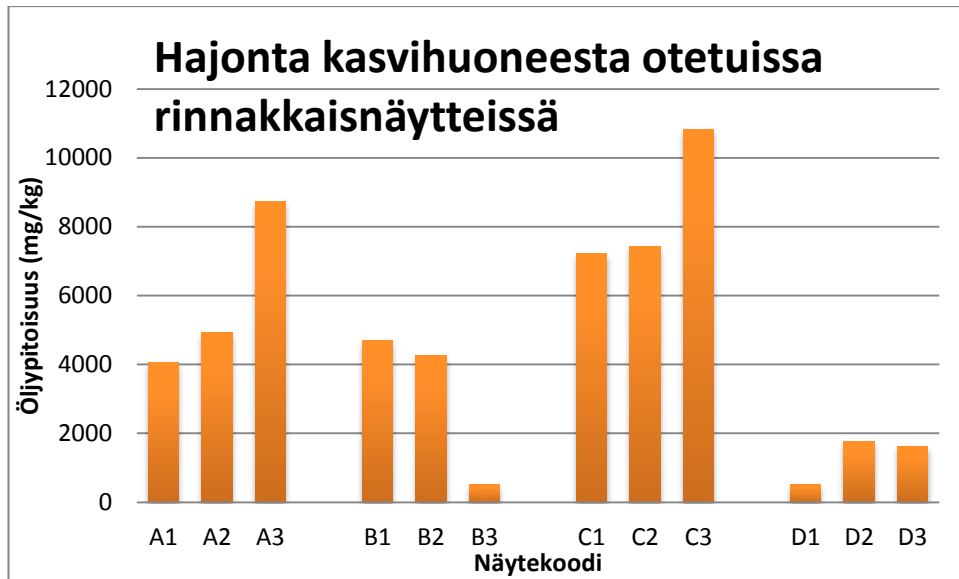
#	Näyte	Piikkien pinta-alat retentioajan mukaan						Öljypitoisuus mg/kg	Näytemäärä g
		4,7	5,4	7,3	10,9	13,5	Σ		
1	A1	3414	3836	14271	923	6517	28960	5473	5
2	A2	3998	4426	15038	3998	1491	28951	4927	5
3	A3	1643	2870	43481	14117	1267	63378	8720	5
4	B1	2532	2933	16540	7668	4545	34218	4703	5
5	B2	3427	3738	21848	547	1293	30853	4254	5
6	B3	3427	231	3918	206	822	6471	515	10
7	C1	4186	11339	130705	51368	9235	206832	7231	20
8	C2	4310	7103	59596	36681	1552	109241	7435	10
9	C3	18859	30673	165736	96928	1124	313320	10835	20
10	D1	903	1316	2584	1103	7382		519	10
11	D2	2571	4277	5897	181	12497	25422	1766	10
12	D3	1257	1956	17286	2109	814	23422	1615	10
13	E1	1092	1362	8542	962	1098	13056	1835	5
14	E2	2719	2944	8059	617	5390	19728	2743	5
15	E3	2437	2707	11973	17853	940	35911	5782	5
16	F1	4112	4764	32167	2767	6307	50116	6787	5
17	F2	7391	7602	7743	201	13019	35956	4814	5
18	F3	4003	4422	32770	16631	6473	64300	5254	10
19	G1	3326	9204	73099	27425	8477	121531	4140	20
20	G2	1318	1647	2494	266	602	6327	222	20
21	G3	4126	5223	22693	218	8061	40321	1410	20
22	H1	1139	1303	1038	244	620	4345	152	20
23	H2	1635	3424	2106	7865	18788		1260	11
24	H3	3049	3677	2308	186	6369	15589	723	15
25	I	3003	3533	17006	2649	1117	27307	1917	10
26	J	1632	3774	59045	8118	14259	86828	6455	10
27	K	6244	12092	123809	66039	7649	215832	10069	15
28	L	1784	3626	21223	163	5692	32488	1100	20
29	M	2068	4767	52542	25714	3805	88896	4131	15
30	N	<i>Ei analysoitu</i>							
31	O	2187	2271	11766	354	4240	20817	712	20
32	P	1755	2078	1177	5100	12637		872	10
33	Q1	1907	3308	1483	323	7708	14730	517	20
34	Q2	548	782	311	1230	3590		126	20

Taulukko 6. Yksittäisten näytteiden valittujen piikkien pinta-alat sekä niistä lasketut öljyhiilivetyjen pitoisuudet näytteissä R - Y.

#	Näyte	Piikkien pinta-alat retentioajan mukaan						Öljypitoisuus mg/kg	Näytemäärä g
		4,7	5,4	7,3	10,9	13,5	Σ		
35	R	88071	116545	14513	38106	12811	270047	9474	20
36	S	88646	107614	22903	16159	2387	237708	8338	20
37	T	16463	62852	242521	64341	343	386520	13500	20
38	U	23473	128032	236444	40709	8861	437519	15362	20
39	V	5272	8379	3188	711	1045	18595	653	20
40	W	3794	4583	2267	209	7700	18553	652	20
41	X	63839	66253	149534	36368	1390	317384	11076	20
42	Y	81439	80125	42355	25572	2347	231838	8115	20

Kontrollinäytteissä V ja W, jotka eivät olleet pilaantuneet öljyllä toisin kuin muut näytteet, oli odotetustikin tuoreiden näytteiden pienimmät öljypitoisuudet. Niissäkin havaittiin hyvin pieniä pitoisuuksia samoja öljyhiilivetyjä kuin öljyllä pilaantuneissa maanäytteissä. Nämä ovat saattaneet joutua näytteisiin likaantuneista näytteenotto- ja analysointivälineistä tai kaasukromatografian kapillaarikoloniin on saattanut jäädä edellisen näytteen jäämiä. Analysoitavissa kromatogrammeissa voi myös näkyä maaperään kuuluvia orgaanisia yhdisteitä jotka eivät ole peräisin öljystä. Kaasukromatografiassa yhdisteet tunnistetaan retentioaikojen perusteella. Mikäli näytteessä on tutkittavan aineen lisäksi muita samaan aikaan eluoituvia yhdisteitä, tulkitaan nämäkin virheellisesti määritettäväksi aineeksi. Tästä johtuen saatuja tuloksia on tarkasteltava suhteessa analysoitavien näytteiden laatuun.

Hajonta (kuvissa 17 ja 18) eri rinnakkaisnäytteiden välillä osoittautui varsin suureksi. Tämä vaikeuttaa tulosten analysointia ja siten kasvattaa öljyanalyysin kokonaisvirhettä. Tulosten suuri hajonta on yleisesti tyypillistä tämäntyyppisille maanäyteanalyysille.



Kuva 17. Kasvihuoneesta otettujen näytteiden hajontaa kuvaava diagrammi. Rinnakkaisnäytteet ovat samasta alueesta ja samaan aikaan otettuja, mutta eri haapakloonin ympäriltä otettuja näytteitä. Lyhtenteiden selitykset liitteessä 4.



Kuva 18. Ulkokentältä otettujen näytteiden hajontaa kuvaava diagrammi. Rinnakkaisnäytteet ovat samasta alueesta ja samaan aikaan otettuja, mutta eri haapakloonin ympäriltä otettuja näytteitä. Lyhtenteiden selitykset liitteessä 4.

Taulukossa 7 on esitetty pH-mittauksen tulokset.

Taulukko 7. pH:n mittaustulokset ja niistä laskettu keskiarvo.

näyte	1. mittaus	2. mittaus	3. mittaus	4. mittaus	keskiarvo
R	6,9	7,6	7,6	7,4	7,4
S	6,8	7,7	7,7	7,5	7,4
T	6,8	7,9	7,6	7,4	7,5
U	7,1	7,5	7,7	7,3	7,4
V	6,0	7,0	7,3	7,0	6,8
W	7,1	7,2	8,3	7,5	7,5
X	7,2	8,3	7,8	8,0	7,8
Y	7,3	8,0	7,7	7,7	7,7

9 Virhearviointi

Mittausmenetelmiin vaikuttaa aina useita virhelähteitä, jotka ovat luonteeltaan satunnaisia tai systemaattisia. Virhelähteitä on koko mittausjärjestelmässä, johon kuuluvat mm. laitteet, reagenssit, menetelmä ja käyttäjä. Mittaustuloksia kuvaavat laatuominaisuudet eivät ole vain laitteen ominaisuuksia, vaan niihin vaikuttavat merkittävästi näytteenkäsittely, mittaustapa jne. Laiteominaisuudet asettavat kuitenkin ne rajat, joiden sisällä tulokset voivat olla. [19]

9.1 Näytteenotossa tapahtuneet virheet

Systemaattiset virheet näytteenotossa syntyvät mm. tarkoitukseen sopimattomien välineiden käytöstä ja näytteen ottoon sopimattomista materiaaleista. Näytteenotossa käytettiin teräväkärkistä pistolapiota, jolla maa-alueelle kaivettiin näytteenottokuopat n. 20 cm syvyyteen. Näytteet otettiin lasiseen näyteastiaan muovisella elintarvikekauhalla. On pieni mahdollisuus, että muovisesta kauhasta on liuennut jotain orgaanista ainetta näytteeseen. Suurempi todennäköisyys on, että kauhasta ja pistolapiosta on siirtynyt näytteestä toiseen öljyistä maa-ainesta, sillä välineitä ei puhdistettu mitenkään eri näytteiden välillä. Tämä on saattanut aiheuttaa näytteisiin ristikkäiskontaminaatiota. Kontrollinäytteet otettiin näytteenotossa viimeisenä, jolloin kontaminoituneista välineistä on voinut siirtyä öljyä puhtaaseen maahan.

Öljy oli jakaantunut hyvin epätasaisesti maa-alueelle. Joistakin näytekuopista havaitsi selvästi öljyn hajun, ja maassa oli havaittavissa tummaa nestemäistä ainetta. Näytteen

otossa pyrittiin muodostamaan koko kasvatusalueen kattava kokoomanäyte, jotta näyte olisi mahdollisimman edustava. Kokoomanäyte muodostettiin n. 1 metrin välein otetuista osanäytteistä (liite 6).

9.2 Näytteen säilytyksessä tapahtuneet virheet

Helsingin yliopiston ottamat maanäytteet A-Q oli säilötty muovisiin minigrip -pusseihin. Orgaaniset näytteet tulisi säilöä lasisiin näyteastioihin, sillä muovista voi liueta näytteeseen analysointiin vaikuttavia yhdisteitä. Näytteet säilytettiin normaalissa elintarvikepakastimessa valolta suojattuna. Näytteet olisi pitänyt säilöä kylmempään pakastimeen, sillä normaali pakastinlämpötila ei täysin estä tutkittavien aineiden biologista ja kemiallista hajoamista. Näytteet kuljetettiin Viikistä Myyrmäkeen muovipussissa, jossa näytteet olivat suorassa kontaktissa vallitsevan ympäristön lämpötilaan. Tämä on saattanut vaikuttaa öljyhiilivetyjen säilymiseen, mikäli näytteet ovat kuljetuksen aikana sulaneet.

Näytteitä R - Y, jotka otettiin kesällä 2012, säilöttiin jääkaapissa ilmatiiviissä lasisissa näytepurkeissa näytteenkäsittelyn ajan. Säilöntäaika oli lyhyt, mutta se on saattanut vaikuttaa hiilivetyjen säilymiseen. Käytetyn standardin mukaan näytteisiin olisi pitänyt lisätä heti heptaania niiden paremman säilyvyyden vuoksi.

9.3 Analysoinnissa tapahtuneet virheet

Näytteet otettiin pakastimesta ja niiden annettiin seistä hetki huoneenlämmössä ennen näytemäärän punnitsemista. Lämpötilan vaihtelut voivat vaikuttaa haitallisesti mittaustuloksiin. Tästä syystä näytteitä olisi pitänyt säilyttää pari päivää jääkaapissa pakkasesta oton jälkeen, jotta öljy ehtii sulaa kunnolla. Säilytyt näytemäärät olivat kovin pieniä ja hyvin erikokoisia. Tämä johti siihen, että punnitut näytemäärät vaihtelivat 5 - 20 g:n väliltä, liuotinmäärän silti pysyessä vakiona. Massa huomioitiin analysointituloksia laskettaessa, mutta on mahdollista, että näytteen massan ja liuottimen suhde vaikuttaa uutun tehokkuuteen.

Analysoinnissa pyrittiin minimoimaan analyysivirhettä käsittelemällä ja analysoimalla näytteet satunnaisessa järjestyksessä. Inhimilliset erehdykset ovat yleensä virheiden suurin syy kaikissa mittauksissa. Tästä syystä näytteenkäsittelyssä pyrittiin siihen, että sama henkilö toistaa samat työmenetelmät. Näin mahdollisesti osa satunnaisista

virheistä poistuu tai muuttuu systemaattisiksi, jollaiset eivät ole niin merkittäviä tutkimuksessa, jossa määritetään näytteiden välistä eroa.

Virhettä syntyy myös mittausvälineiden epätarkoituksenmukaisesta ja väärästä käsittelystä ja lukemavirheestä. Itse analyysilaitteistosta johtuvat virheet ovat usein varsin pieniä.

Astioihin ja välineisiin voi adsorboitua aineita ja epäpuhtauksia, jotka saattavat häiritä ja vääristää analyysituloksia. Osa näytteestä jäi pesussa erotussuppiloon, jolloin pieni osa siitä saattoi siirtyä seuraavaan näytteeseen. Tätä pyrittiin välttämään huuhtelemalla erotussuppilo jokaisen käytön jälkeen pienellä määrällä n-heptaania. On myös mahdollista, että erotussuppilon hioksesta, korkista ja hanassa käytetystä hiosrasvasta on voinut irrota epäpuhtauksia näytteeseen. Osa lasitavarasta oli myös jonkin verran naarmuuntunut, mikä edesauttaa epäpuhtauksien adsorboitumista astian pinnalle. Absorptiota pyrittiin vähentämään pesemällä lasitavara aina ennen käyttöä ionivaihdetulla vedellä. Tähänkin toimenpiteeseen olisi ollut suositeltavampaa käyttää n-heptaania, sillä se on paremmin haihtuvaa ja vesi saattaa häiritä määrittystä myöhemmässä vaiheessa.

Näytteiden kuivaus epäonnistui muutaman näytteen kohdalla, ja näin ollen haihdutuksen jälkeen niihin jäi pieni määrä vettä, joka saattoi haitata kaasukromatografianalyysiä. Mikäli näyte sisältää paljon kiehumispisteeltään korkeita hiilivetyjä, saattaa niistä osa jäädä kaasukromatografian kolonniin, mikä vaikuttaa seuraavaan näytteeseen. Tästä syystä kaasukromatografilla suoritettiin yksi ajo pelkällä liuottimella ennen kontrollinäytteen syöttämistä laitteeseen. Myös päivän ensimmäiset ajot suoritettiin pelkällä liuottimella, sillä kylmällä kromatografilla suoritettava ajo ei ole luotettava. Kaasukromatografian luotettavuutta olisi pystynyt seuraamaan, mikäli jokaiseen näytteeseen olisi lisätty sisäinen standardi.

Standardisuorien teossa käytettiin dieselöljyn ja voiteluöljyn sekoitusta. On mahdollista, että kalibrointisuoran teossa käytetty standardinäytteiden maa ja siihen lisätty öljyseos poikkeaa jonkin verran aidosta näytteestä, sillä öljyonnettomuudessa saastunut maa-alue oli saastunut vain dieselillä ja kevytpolttoöljyllä, joka käytännössä on furfuraalilla värjättyä dieseliä.

10 Johtopäätökset

Tässä insinööriyössä tutkittiin öljyhiilivetyjen hajoamista maaperästä fytoimediaation avulla. Öljyn hajoamista tutkittiin ottamalla maaperästä aikanäytteitä, jotka analysoitiin kaasukromatografilla. Fytoimediaatiokasveina käytettiin haapaa ja haapapuun eri klooneja.

Tuloksissa havaittiin öljypitoisuuksien vähenemistä maaperässä. Hajonta eri rinnakkaisnäytteiden välillä osoittautui varsin suureksi. Tämä vaikeutti tulosten analysointia.

Maaperänäytteille on tavallista suuri hajonta, minkä vuoksi näytteitä tulee ottaa monta ja tarpeeksi suuria määriä, jotta saadaan riittävän luotettavia tuloksia. Analysoidut näytemäärät olivat aivan liian pieniä, jotta niiden perusteella voitaisiin saada luotettavia tuloksia öljyn hajoamisesta maaperässä.

Näytteiden säilytys tulisi olla mahdollisimman lyhytaikaista. Mikäli näytteitä on jostain syystä säilytettävä, tulisi niitä säilyttää pakastettuna. Mikäli tarkoitus on seurata öljyn hajoamista maaperässä, tulisi näytteet analysoida saman ajan kuluttua, sillä näytteet eivät ole vertailukelpoisia, mikäli aikaisemmin otettuja näytteitä on säilytetty jopa vuosia pitempään kuin toisia.

Kaasukromatografisessa ajossa tulisi aina käyttää sisäistä standardia, jolloin pystytään seuraamaan saatujen tulosten oikeellisuutta. Ilman standardia ei voida päätellä, kuinka luotettavia saadut tulokset ovat.

Fytoimediaatio on varteenotettava vaihtoehto öljy-yhdisteiden hajottamisessa maaperästä. Suurempaa toimintaa varten sitä tulisi kehittää tehokkaammaksi ja mahdollisesti yhdistää muiden puhdistusmenetelmien kanssa.

Lähteet

- 1 Jokela, Reija & Niinistö, Lauri. 1997. Orgaanisen kemian perusteet ja sovellutukset. Helsinki: Otatieto Oy.
- 2 Öljy Suomessa. Verkkodokumentti. Öljyalan keskusliitto. <<http://www.oil.fi/index.php?m=4&id=203>>. Luettu 21.05.2012.
- 3 Sillanpää, Pekka. 2007. Öljyhiilivedyillä saastuneen maan puhdistaminen puiden avulla. Tampere: Kirjapaino Oy.
- 4 Tetraetyylilyijy. Verkkodokumentti. Wikipedia. <<http://fi.wikipedia.org/wiki/Tetraetyylilyijy> >. Luettu 21.05.2012.
- 5 Polttoöljy. Verkkodokumentti. Wikipedia. <<http://fi.wikipedia.org/wiki/Polttoöljy> >. Luettu 21.05.2012.
- 6 Sorvali, Jaana & Assmuth, Timo. 1998. Saastuneiden alueiden riskinarviointi - mitä, miksi, miten. Helsinki: Oy Edita Ab.
- 7 Forsbacka, Anna. 1996. Öljy-yhdisteiden biologinen hajoaminen ja saastuneen maan biosaneeraus. Helsinki: Helsingin kaupungin ympäristökeskus.
- 8 Öljy- ja kemikaalivahinkojen torjunta. Verkkodokumentti. Suomen ympäristökeskus. < www.ymparisto.fi/oil>. Luettu 21.05.2012.
- 9 Öljyn käyttäytyminen maaperässä. Verkkodokumentti. Suomen ympäristökeskus. <<http://www.ymparisto.fi/default.asp?node=3033&lan=fi>>. Luettu 21.05.2012.
- 10 Ympäristömyrky. Verkkodokumentti. Wikipedia. <<http://fi.wikipedia.org/wiki/Ympäristömyrky> >. Luettu 21.05.2012.
- 11 Dahlbo, Helena. 2002. Jätteen luokittelu ongelmajätteeksi -arvioinnin perusteet ja menetelmät. Helsinki: Vammalan kirjapaino Oy.
- 12 Pley, Harald. 1991. Ympäristötekniikka. Jyväskylä: Tammertekniikka.
- 13 Seppänen, Harri. 1994. Ympäristösuojelutekniikan perusteet. Helsinki: Otatieto Oy.
- 14 Aho, Jaana, Korkealaakso, Juhani & Relander, Anja. 1999. Saastuneen maaperän ja pohjaveden in situ -puhdistusmenetelmät. Espoo: Teknologian kehittämiskeskus.
- 15 Karvinen Kirsi. 2012. PAH-yhdisteet rakenteissa: esiintyminen ja korjaus. Kuopio: Savonia.
- 16 Hakala, Erkki & Pyy, Lauri. 1991. Polysykliset aromaattiset hiilivedyt (PAH). Helsinki: Työterveyslaitos.

- 17 Luntinen, Marita. 2002. Kunta ja pilaantunut maaperä. Helsinki: Suomen kuntaliitto.
- 18 Maaperän pilaantumisen syyt ja esiintyminen Suomessa. Verkkodokumentti. Suomen ympäristökeskus. <<http://www.environment.fi/default.asp?contentid=307132&lan=fi>>. Luettu 20.05.2012.
- 19 Laakso, Kaarina. 1999. Saastuneiden maiden tutkimiseen soveltuvia kenttämittareita. Helsinki: Suomen ympäristökeskus.
- 20 Pilaantuneen maaperän ja pohjaveden riskinhallintaratkaisujen ekotehokkuus. 2009. Verkkodokumentti. <<http://www.ymparisto.fi/default.asp?contentid=342780&lan=FI>>. Luettu 20.05.2012.
- 21 Hautala, Joonas. 2007. PAH-saastuneen maan haapa- ja koivufytoremediaation tutkiminen GC-MS:llä. Vantaa.
- 22 Savelainen, Kaija. 2006. Pilaantuneet maa-alueet. Verkkodokumentti. <<http://www.ymparisto.fi/download.asp?contentid=48160>>. Luettu 20.05.2012.
- 23 Tuomainen, Jouko & Tuomala, Jari. 1997. Hallintopäätös saastuneen maa-alueen kunnostamisesta erityisesti jätehuoltolainsäädännön kannalta. Helsinki: Suomen ympäristökeskus.
- 24 Jackie Brooknerin bioveistoksissa ympäristötaide ja fyto-remediaatio yhdistyvät. 2011. Verkkodokumentti. <http://www.turku2011.fi/blogit/117/jackie-brooknerin-bioveistoksissa-ymparistotaide-ja-fyto-remediaatio-yhdistyvat_fi>. Luettu 25.04.2012.
- 25 Manninen-Egilmez. 2012. Pilaantuneiden maa-alueiden puhdistus bioenergiakasvien avulla. Verkkodokumentti. <http://www.smts.fi/Kasvintuotanto_jalostuu/Manninen-Egilmez_Pilaantuneiden%20maa-alueiden.pdf>. Luettu 25.04.2012.
- 26 Salonen, Veikko. 2006. Kasviekologia. WSOY Oppimateriaalit Oy.
- 27 Koivisto, Aura & Sauso, Risto. 1997. Haapa elämänpuu. Sulkava: Suomen Luonnonsuojelun tuki Oy.
- 28 Kiuru, Heikki & Väre, Henry. 2006. Suomen puut ja pensaas. Hämeenlinna: Metsäkustannus Oy.
- 29 Relve, Hendrik. 2002. Puiden juurilla -puut ja pensaas luonnossa ja kansanperinteessä. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.
- 30 Hassinen, Viivi, Vallinkoski, Veli-Matti & Servomaa, Kristina. 2007. Hybridahaapa metalleilla pilaantuneen alueen kasvikkunnostuksessa. Verkkodokumentti. <<http://www.ymparisto.fi/download.asp?contentid=67452>>. Luettu 20.05.2012.

- 31 Haapa saastuneen maan puhdistajana. 2011. Verkkodokumentti.
<<http://www.metla.fi/metinfo/fytorem/>>. Luettu 20.05.2012.
- 32 Simonen, Tapio. 1996. Orgaanisen kemian synteettiset työmenetelmät. Helsinki: Opetushallitus.
- 33 Orgaanisen kemian laboratorio-opas – Kuivaus. 2005. Verkkodokumentti.
<<http://virtuaali.tkk.fi/fi/orgaaninenkemia/labraopas/menetelmat/erottelu/kuivaus/kuivaus.htm>>. Luettu 19.05.2012.
- 34 Kaasukromatografia. Verkkodokumentti.
<http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmat_2-5_kaasukromatografia.html>. Luettu 17.05.2012.
- 35 Hiltunen, Raimo & Laakso, Into. 1983. Kaasukromatografia. Helsinki: Farmasian opettajien ja tieteenharjoittajien seura.
- 36 Assmuth, Timo, Strandberg, Tapio, Joutti, Anneli & Kalevi, Kirsti. 1992. Kemiallisesti saastuneen maaperän tutkimusmenetelmät. Helsinki: Vesi- ja ympäristöhallitus.
- 37 Lehtonen, Pekka & Sihvonen Marja-Liisa. 2004. Laboratorioalan analyttinen kemia. Helsinki: Opetushallitus.
- 38 Kolonni. Verkkodokumentti. Wikipedia. <<http://fi.wikipedia.org/wiki/Kolonni>>. Luettu 17.05.2012.
- 39 Mortimer, Charles E. Orgaaninen kemia – Vastaukset. Verkkodokumentti.
<<http://yliyveska.cop.fi/karip/Laskut/vast211.html>>. Luettu 17.05.2012.
- 40 Björklöf, Katarina. 2009. Laadunvarmistuskeinoja maaperän näytteenotossa. Verkkodokumentti.
<http://www.mikes.fi/documents/upload/katariina_bjorklof_finaspaiwa_2009.pdf>. Luettu 21.05.2012.
- 41 Komi, Raili & Kytökivi, Aili. 1992. Neste: öljystä muoveihin. Espoo: Frenckellin Kirjapaino Oy.
- 42 Suomi, Johanna. 2009. Kemiallisen näytteen esikäsittely. Keuruu: Otavan Kirjapaino Oy.
- 43 Pilaantuneiden maa-alueiden kunnostus. Verkkodokumentti.
<<http://www.ymparisto.fi/default.asp?contentid=225401&lan=FI>>. Luettu 17.08.2012.
- 44 Öljyllä pilaantunut maa voi puhdistua itsestään – puhdistuminen vaatii pitkän ajan. Verkkodokumentti.
<<http://www.ymparisto.fi/default.asp?contentid=49165&lan=fi>>. Luettu 17.08.2012.
- 45 Kautto, Perttu. 2007. Pilaantuneiden maiden kunnostuskustannukset. Verkkodokumentti.

- <<http://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/12070/2007-10-26-07.pdf?sequence=1>>. Luettu 17.08.2012.
- 46 Huttu, Marja-Terttu. 2010. Aineensiirtoprosessit. Metropolia Ammattikorkeakoulu: Kurssimateriaali.
- 47 Babel, Wolfgang, Pucci, Oscar, Héctor & Riis Volker. 2002. Pergamon: Influence on heavy metals on the microbial degradation of diesel fuel. <<http://144.206.159.178/ft/166/72869/1246237.pdf>>. Luettu 19.08.2012.
- 48 Otenio, Henrique, Marcelo, da Silva, Maria, Teresa, Lopes, Marques, Maria, Luiza, Oliveira, Roseiro, José, Carlos & Bidoia, Ederio, Dino. 2005. Brazilian Journal of Microbiology: Benzene, toluene and xylene biodegradations by pseudomonas putida ccmi 852. < <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v36n3/arq10.pdf>>. Luettu 19.08.2012.
- 49 Teollisuusjätteiden käsittelykeskukset. Verkkodokumentti. <<http://www.ekokem.fi/fi/tietopankki/kasittelyprosessit/ymparistorakentamisen-prosessit#stabilointi>>. Luettu 19.08.2012.
- 50 Ruohonen, Jari. 2001. PAH-yhdisteillä pilaantuneen maan käsittely maanpesulla, kemiallisella hapetuksella ja biologisella käsittelyllä. Verkkodokumentti. <dspace.cc.tut.fi/dpub/handle/123456789/2401>. Luettu 19.08.2012.
- 51 Fraktman, Leea. 2001. Maaperän pilaantumisriskit kauppapuutarhasoissa. Verkkodokumentti. <http://www.hel.fi/wps/wcm/connect/296e67004a172084b560fd3d8d1d4668/moniste06_01.pdf?MOD=AJPERES&lmod=-802649533&CACHEID=296e67004a172084b560fd3d8d1d4668>. Luettu 19.08.2012.
- 52 Leskinen, Ilpo. 2009. Hyvä onni lievitti Somerharjun rekkakolarin öljyvahinkoja. Verkkodokumentti. <http://www.esaimaa.fi/keskustelu/Keskustelua+uutisaiheista/Hyv%C3%A4+onni+lievitti+Somerharjun+rekkakolarin+%C3%B6ljyvahinkoja/5674/>. Luettu 21.08.2012.
- 53 Säiliöautosta maahan valuneen öljyn puhdistus alkaa Kuutostiellä. 2009. Verkkodokumentti. http://www.kouvolansanomat.fi/page.php?page_id=4&news_id=200957274497. Luettu 21.08.2012.
- 54 Olguin, Eugenia, Sanchez, Gloria & Elizabeth Hernandez. 2001. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. Lontoo: Taylor & Francis
- 55 Suortti, Anna-Mari. Jätteen kaatopaikkakelpoisuuden perusmäärittely 143/09/KTö. 2009. Ekokem.
- 56 Phytoremediation process with hemp. 2012. Verkkodokumentti. <http://www.hemp.com/2012/06/soil-contamination-phytoremediation-with-hemp/hemp_phytoremediation_process/> Luettu 11.09.2012.

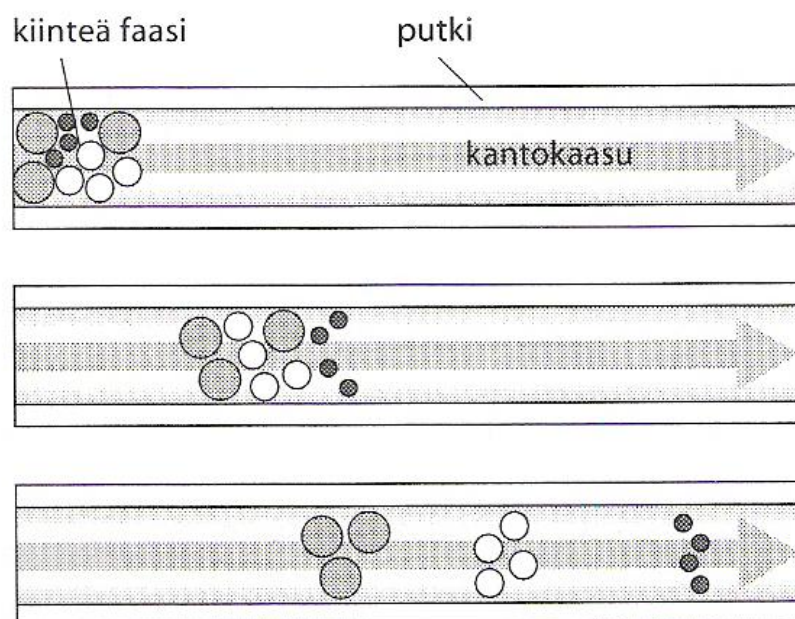
- 57 Underground Storage Tank (UST) Program. 2012. Verkkodokumentti.
<<http://www.waterboards.ca.gov/sanfranciscobay/undergrd.shtml>> Luettu 11.09.2012.
- 58 Mettler Toledo, Process Analytics AG. 2012. Verkkodokumentti.
<<http://www.archiexpo.com/prod/mettler-toledo-process-analytics-ag/multi-parameter-water-analyzers-79829-692006.html>>. Luettu 11.09.2012.
- 59 Stobrawa, Lorenc-Plucińska. Changes in antioxidant enzyme activity in the fine roots of black poplar (*Populus nigra* L.) and cottonwood (*Populus deltoides* Bartr. ex Marsch) in a heavy-metal-polluted environment. 2007. Plant and Soil. Kórnik, Poland.
- 60 Tervahauta, Arja I. et al. Effect of birch (*Betula* spp.) and associated rhizoidal bacteria on the degradation of soil polyaromatic hydrocarbons, PAH-induced changes in birch proteome and bacterial community. 2009. Environmental Pollution.

Liite 1. Kaasukromatografia

Kaasukromatografian toimintaperiaate

Kromatografia on erotusmenetelmä, jota käytetään myös kvalitatiiviseen ja kvantitatiiviseen analysointiin. Kromatografit luokitellaan eri tyypeihin muun muassa sen perusteella, mitkä ovat paikallaan pysyvän ja liikkuvan faasin olomuodot. Kaasukromatografi on tavallisimpia orgaanisten yhdisteiden analysointiin käytettävä laboratoriolaite. Se on haihtuvien yhdisteiden erotteluun, tunnistamiseen ja kvantitatiiviseen määrittämiseen soveltuva analyysimenetelmä. Kaasukromatografissa liikkuvana faasina on kolonnin läpi virtaava inertti kaasu ja paikallaan pysyvä faasi on kolonnin pinnassa oleva nestemäinen aine. [37, s. 152]

Tutkittavat komponentit kulkeutuvat kolonnin läpi liikkuvan ja inertin kaasun eli ns. kantajakaasun mukana. Paikallaan pysyvää faasia nimitetään stationäärifaasiksi. Yhdisteet erottuvat jakaantumalla liikkuvan faasin ja paikallaan pysyvän stationäärifaasin välillä, koska eri molekyylien taipumus jakaantua faasien välillä vaihtelee (kuva 19). Kolonnin läpi kulkeneista aineista saadaan signaalit detektorilla. [19; 37; 35]



Kuva 19. Yhdisteet erottuvat jakaantumalla liikkuvan faasin ja paikallaan pysyvän stationäärifaasin välillä [37].

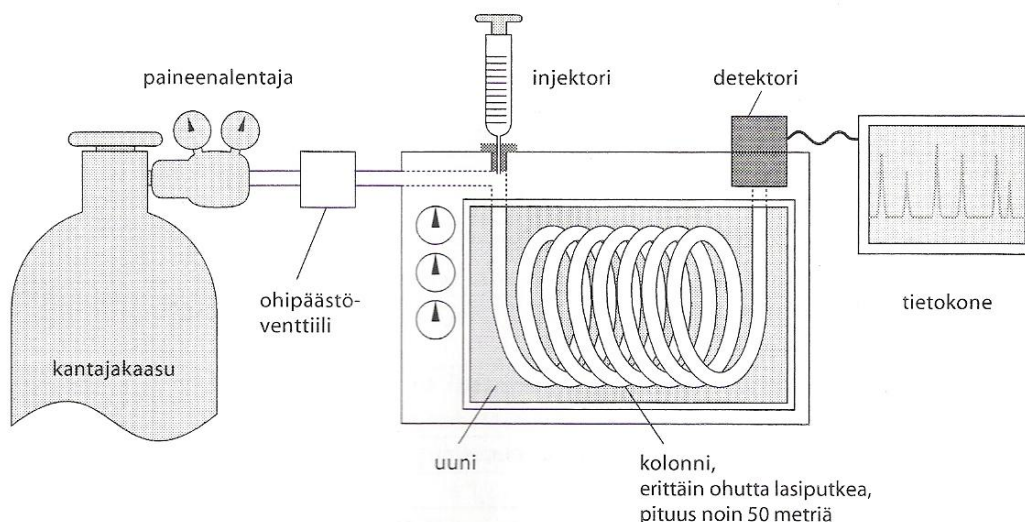
Kun kromatografian olosuhteet pidetään samoina, niin kullakin aineella on vakiona pysyvä aika, mikä siltä kuluu injektioammista kolonnista detektorille saapumiseen. Tätä vakiona pysyvää aikaa nimitetään retentioajaksi. Yhdisteet tunnistetaan niiden retentioajan perusteella; mitä voimakkaammin yhdiste sitoutuu stationääriin, sitä hitaammin se kulkee kantajakaasun mukana detektorille. Kaasukromatografilla on mahdollista määrittää seoksia jotka sisältävät useita kymmeniä komponentteja nopeasti ja tarkasti.[36; 37, s. 146]

Jotta tutkittava yhdiste voidaan analysoida kaasukromatografilla, tulee sen olla haihtuva ja sen tulee kestää hajoamatta alle 400 °C:n lämpötiloissa. [37, s. 143]

Kaasukromatografian rakenne

Kaasukromatografian pääosat ovat kantajakaasu, injektioportti, uuni, erotuskolonne, detektori sekä mittaussignaaleja käsittelevä yksikkö, joka nykypäivänä on usein tietokone (kuva 18). [19]

Kantajakaasu on käyttöolosuhteissa reagoimaton inertti kaasu, kuten helium, argon tai typpi.



Kuva 20. Kaasukromatografian pääosat [37].

Kolonnit

Kolonne on laite, jota käytetään aineiden erottamiseen toisistaan. Se on putki jossa tapahtuu kahden fluidin vastavirtaus. Kaasukromatografian nestefaasina voi olla

vaikeasti haihtuva parafiini, silikoniöljy, dialkyyli-sulfaatti tai polyetyleeniglykoli. Kaasufaasina on kaasukromatografian kantajakaasu. Erotuskyvyiltään tehokkaimpia kolonneja ovat lasikapillaarikolonnit. Kolonnin lämpötila pidetään vakiona tai sitä nostetaan tietyn lämpötilaohjelman mukaisesti. Lämpötila voidaan tavallisimmin nostaa noin 400 celsiusasteeseen. [37, s. 145; 38]

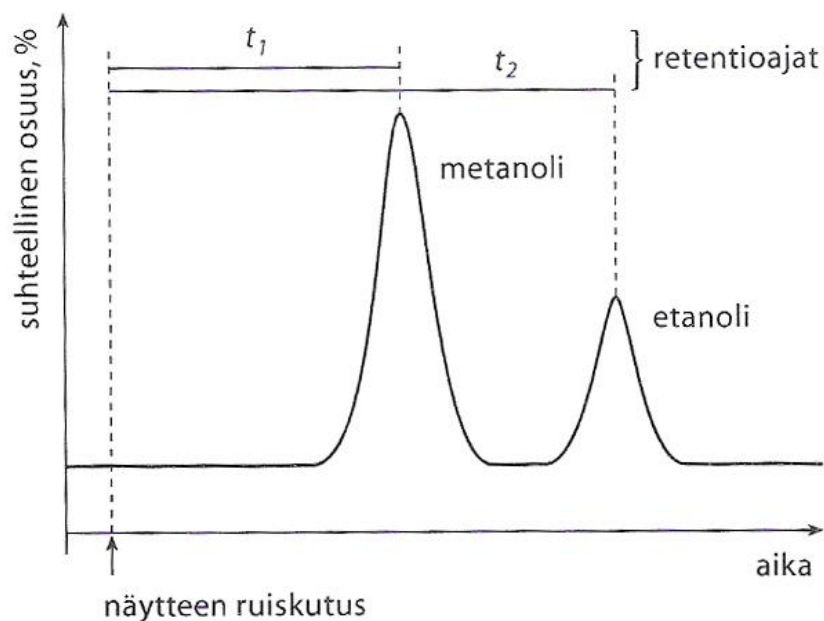
Erotuskolonnit ovat joko pakattuja kolonneja tai kapillaarikolonneja. Pakatut kolonnit ovat 1-5 m pitkiä, halkaisijaltaan n. 5 mm putkia, jotka on täytetty stationäärifaasilla tai sillä päällystetyllä materiaalilla. Kapillaarikolonnit ovat 10-100 m pitkiä, halkaisijaltaan 0,25 mm olevia kvartsilasiputkia, joiden sisäseinämät ovat päällystetty stationäärifaasilla. Kapillaarikolonniin etuna on hyvä erotuskyky. Koska yhdisteet erottuvat kaasufaasissa, on useimmiten tarpeen lämmittää kolonneja lämpötilaltaan ohjelmoitavalla uunilla. [19]

Detektorit

Detektori on herkkä ilmaisim, joka havaitsee kolonnissa erottuneet komponentit. Lämmönjohtokykydetektorilla pystytään havaitsemaan 5-10 ng:n ainemäärän. Liekki-ionisaatiodetektorilla pystytään havaitsemaan 10-100 pg:n ainemäärä. Aineen vaikutusta kaasun ionisoitumiseen mitataan polttamalla ainetta vetyliekissä. Poltossa syntyvien ionien määrä on verrannollinen havaittavan molekyylin hiililukuun homologisessa sarjassa. Homologisella sarjalla tarkoitetaan yhdistesarjaa, jonka yhdisteet on johdettu ensimmäisestä yhdisteestä lisäämällä siihen peräjälkeen aina sama atomiryhmitys. Elektronin kaappausdetektori on vielä herkempi kuin liekki-ionisaatiodetektori. Kolonnin läpi kulkeva kaasuvirta on myös mahdollista jakaa kahteen osaan ja johtaa kahteen erilaiseen detektoriin. Tällöin näytteestä saadaan enemmän tietoa. [37, s. 145; 39]

Kaasukromatografinen ajo

Tavallisimmin analysoitava näyte ruiskutetaan injektioruiskulla tiiviin kumikalvon eli septumin läpi injektio-kammioon. Injektio-kammion lämpötila pidetään sellaisena, että määritettävät yhdisteet saadaan höyrystymään. Tästä syystä kammioon ruiskutettu näyte höyrystyy nopeasti ja kulkeutuu kolonnin alkupäähän, josta se jatkaa matkaansa kolonnin kautta detektorille. [19; 37, s. 146]



Kuva 21. Metanolin ja etanolin seoksesta mitattu kromatogrammi, josta ilmenee, että metanolin retentioaika on etanolia pienempi ja piikin pinta-ala suurempi [37].

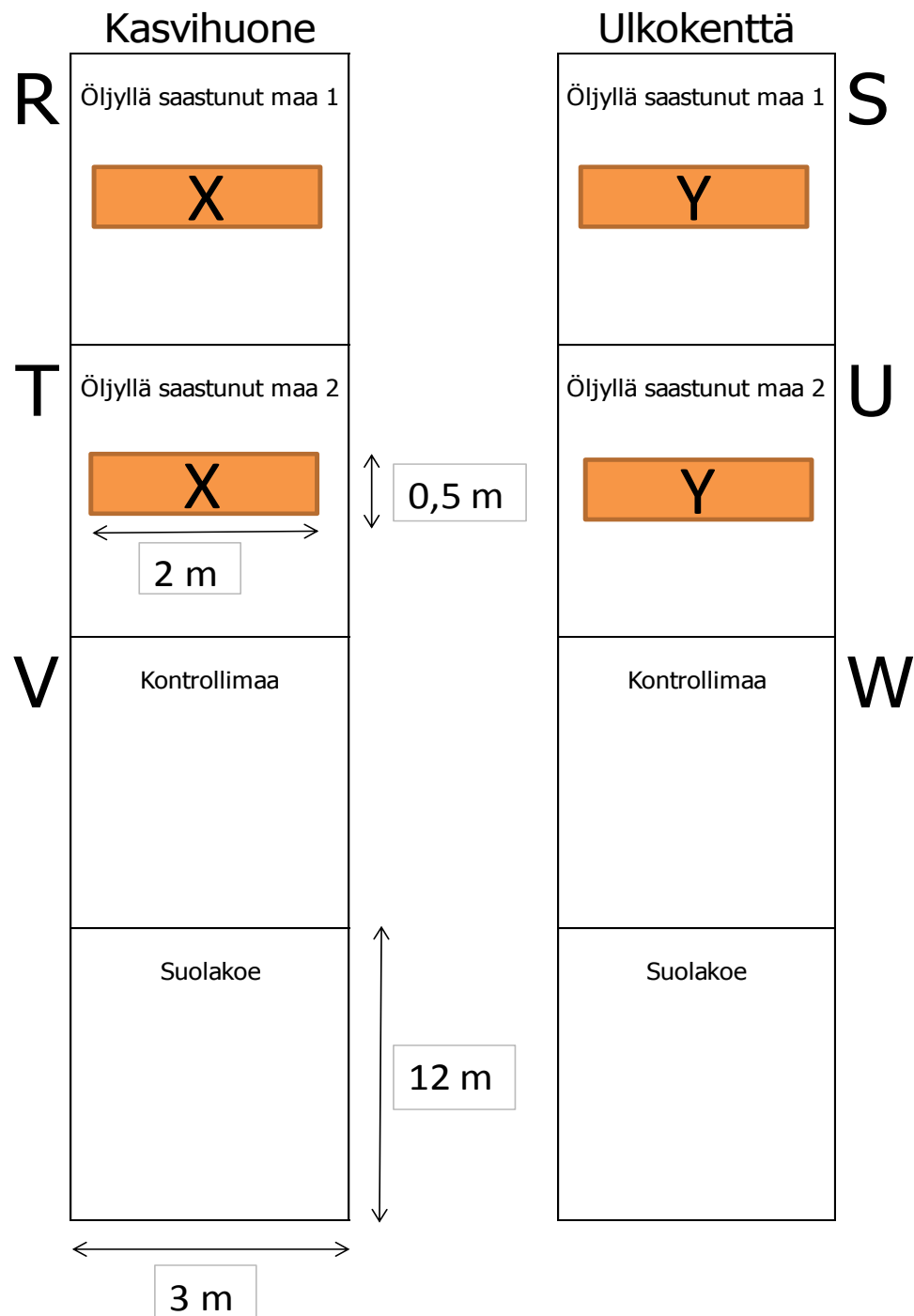
Kvantitatiivisessä analyysissä yhdisteistä mitataan niiden retentioajat ja ne tunnistetaan vertaamalla niitä tunnettujen yhdisteiden retentioaikoihin. Kvantitatiivisessä analyysissä kromatogrammin piikkien integraattorilla mitattua pinta-alaa verrataan tunnetusta näytteestä saatuihin arvoihin (kuva 19). [19; 37, s. 146]

Liite 2. Öljyhiilivetyjen fytoimediaatiota koskevia tutkimuksia.

Lähde: Sillanpää, Pekka. 2007. Öljyhiilivedyillä saastuneen maan puhdistaminen kasvien avulla. Tampere: Kirjapaino Oy.

Seuranta-aika (kk)	Tutkittu haitta-aine	Pitoisuus maaperässä (mg/kg)	Kasvilaji
4	dieselöljy	5 000 - 15 000	englanninraiheinä (<i>Lolium perenne</i>), rehuvirna (<i>Vicia sativa</i>)
6	dieselöljy	40 - 5 000	<i>Praire cascade</i>
12	PAH-yhdisteet, summa	2 700 - 3 300	rukonata (<i>Festuca arundinacea</i>), lännenhirssi (<i>Panicum virgatum</i>)
36	16 PAH-yhdistettä	2 500 - 4 500	nata-, raiheinä- ja apilalajit, koristekasvit (mm. ruusut, tulppaanit, krookukset) sekä puut (mm. tammi-, leppä-, paju-, ja vaahteralajit)
24 13	mineraaliöljy 6 PAH-yhdistettä	3 000 - 8 000 0,4 - 2	ruokonata, englanninraiheinä, valkoapila (<i>Trifolium repens</i>), <i>Cynodon dactylon</i>
6	PAH-yhdisteet, summa	100	sinimailanen (<i>Medicago sativa</i>), lännenhirssi, <i>Schizachyrium scoparium</i>
32	diesel- ja voiteluöljy PAH- yhdisteet, summa	> 6 000 > 150	leppä-, poppeli- ja pajulajit/hybridit
5	diesel- ja voiteluöljy	20 000 - 30 000	mänty (<i>Pinus sylvestris</i>), poppeli (<i>Populus deltoides x Wettsteinii</i>), punanata (<i>Festuca rubra</i>), niittynurmikka (<i>Poa pratensis</i>), englanninraiheinä, valkoapila
6	raakaöljy	5 000	<i>Calopogonium mucunoides</i> , <i>Centrosema brasilianum</i> , <i>Stylosanthes capitata</i> , <i>Brachiaria brizantha</i> , <i>Cyperus aggregatus</i> , <i>Eleusine indica</i>
24	bitumi, 16 PAH-yhdistettä	80 000 1 - 20	järviruoko (<i>Phragmites australis</i>), sinimailanen
21	raakaöljy	8 000 - 15 000	<i>Sorghum bicolor</i> , <i>Lolium annual</i> , <i>Stenotaphrum secundatum</i>
1 - 12 39	dieselöljy voiteluöljy/die- selöljy (ikäntynyt)	5 000 - 20 000 11 400	mänty, poppeliristeymä (<i>Populus deltoides x Wettsteinii</i>), punanata, niittynurmikka (<i>Poa pratensis</i>), englanninraiheinä, valkoapila, peltoherne (<i>Pisum sativum</i>)
5	dieselöljy	20 000	lampaannata (<i>Festuca ovina</i>), punanata, englanninraiheinä, valkoapila, peltoherne
36	6 PAH-yhdistettä	5 - 70	ruokonata
17	moottoribensiini ja dieselöljy	100 - 20 000	jättipoppeli (<i>Populus trichocarpa</i>), pajuristeymä (<i>Salix schwerini x viminalis</i>)
16	mineraaliöljy, 10 PAH-yhdistettä	200 - 400 6 - 12	koripaju (<i>Salix viminalis</i>)
3	dieselöljy	5 300	englanninraiheinä
21	mineraaliöljy, 7 PAH-yhdistettä	9 200 1 - 8	italianraiheinä (<i>Lolium multiflorum</i>), <i>L. Arundinaceum</i> , <i>Cynodon dactylon</i>

Liite 3. Havainnekuva puiden kasvatusalueesta ja kesällä 2012 otettujen näytteiden näytteenottoaikoista.



X = Puuton maa-aines kasvihuoneessa

Y = Puuton maa-aines ulkokentällä

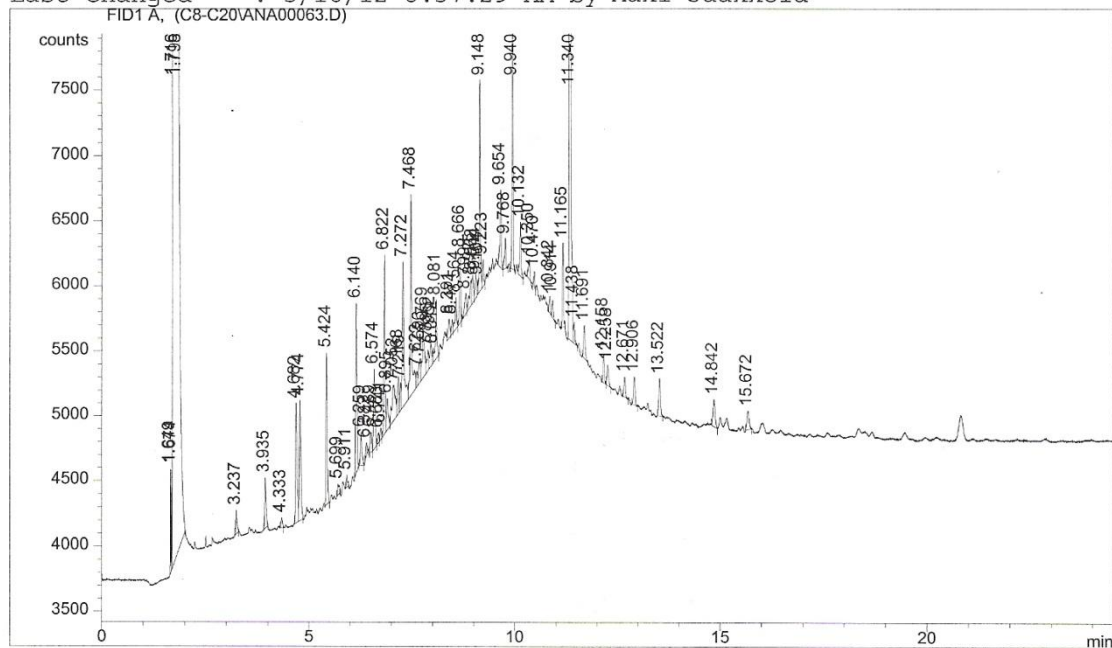
Liite 4. Öljyanalyysia varten kerätyt näytteet 2010 - 2011

Numero	Näytekoodi	Kuvaus
1	A1	Ritsosfääri kasvihuoneessa kesäkuussa 2010
2	A2	
3	A3	
4	B1	Ritsosfääri kasvihuoneessa lokakuussa 2010
5	B2	
6	B3	
7	C1	Ritsosfääri kasvihuoneessa toukokuussa 2011
8	C2	
9	C3	
10	D1	Ritsosfääri kasvihuoneessa syyskuussa 2011
11	D2	
12	D3	
13	E1	Ritsosfääri ulkona kesäkuussa 2010
14	E2	
15	E3	
16	F1	Ritsosfääri ulkona lokakuussa 2010
17	F2	
18	F3	
19	G1	Ritsosfääri ulkona toukokuussa 2011
20	G2	
21	G3	
22	H1	Ritsosfääri ulkona syyskuussa 2011
23	H2	
24	H3	
25	I	Bulkki kasvihuoneessa kesäkuussa 2010
26	J	Bulkki kasvihuoneessa lokakuussa 2010
27	K	Bulkki kasvihuoneessa toukokuussa 2011
28	L	Bulkki kasvihuoneessa syyskuussa 2011
29	M	Bulkki ulkona kesäkuussa 2010
30	N	Bulkki ulkona lokakuussa 2010
31	O	Bulkki ulkona toukokuussa 2011
32	P	Bulkki ulkona syyskuussa 2011
33	Q1	Kontrollinäyte marraskuussa 2011
34	Q2	Kontrollinäyte marraskuussa 2011

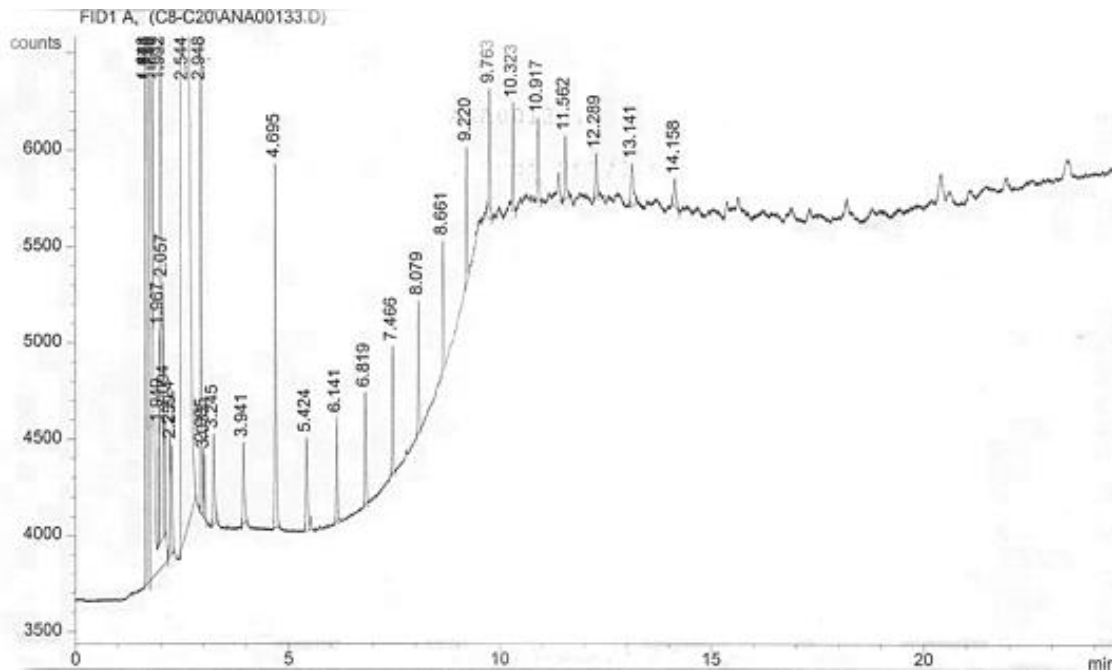
Liite 5. Kromatogrammi näytteestä G2

```

=====
Injection Date   : 5/18/12 2:38:13 AM
Sample Name     : G2H evapor.
Acq. Operator   : Maki-Jaakkola
Vial           :
Inj Volume      : Manually
Method          : C:\HPCHEM\1\METHODS\C21-C40.M
Last changed    : 5/16/12 8:37:29 AM by Maki-Jaakkola
  
```



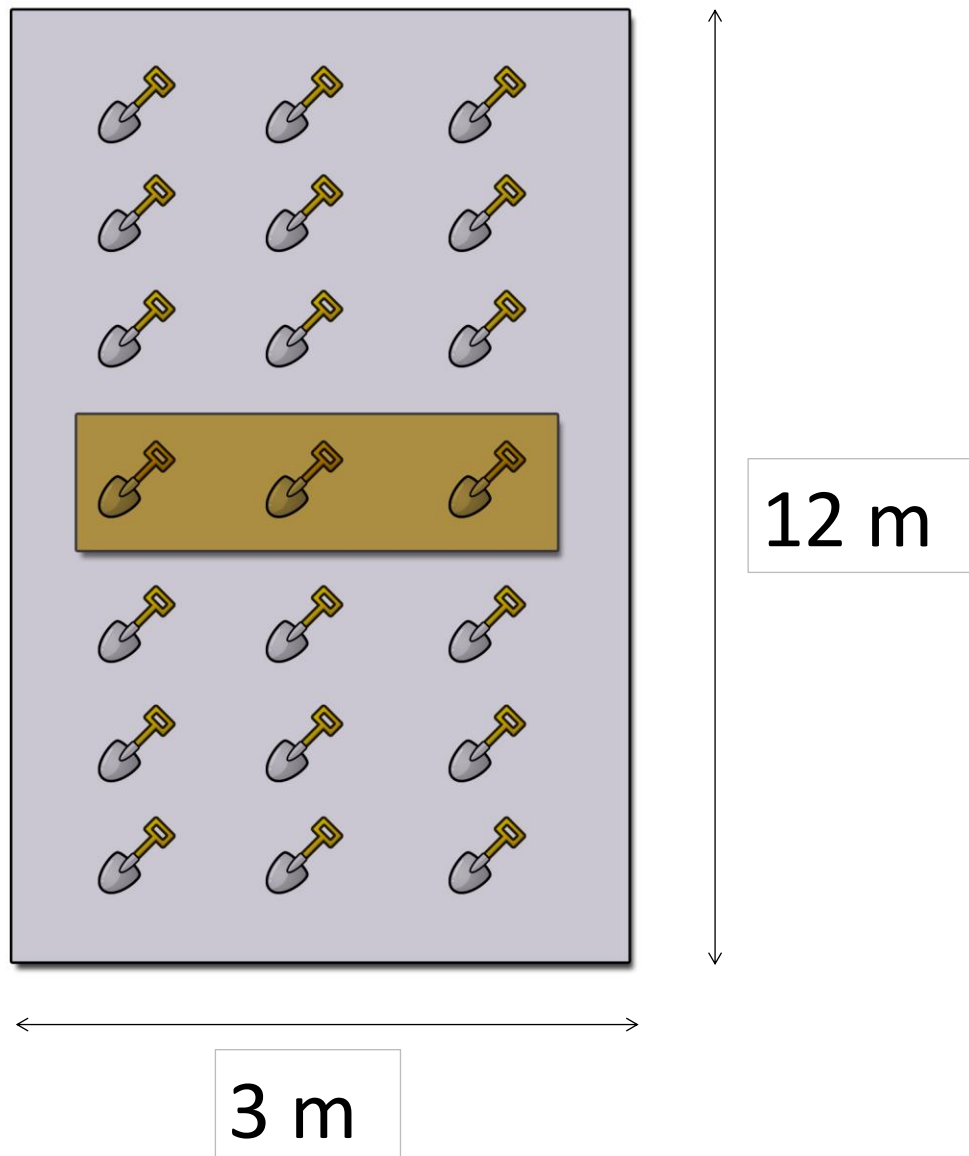
Kuva 22. Näyte G2H, joka on ulkokenältä toukokuussa 2011.



Kuva 23. Flukan kaupalliset standardit C8-C₂₀ ja C₂₁ - C₄₀ seoksena 1:1.

Liite 6. Havainnekuva näytteenotosta.

Kuvassa yksi näytteenottoaltaista.



 = näytteenottopiste