

2,4,6-TRIKLOORIFENOLIN HAJOAMINEN HUMUS-, KIVENNÄIS- JA TURVEMAASSA

LAHDEN AMMATTIKORKEAKOULU
Ympäristötekniikka
Ympäristötekniikka
Opinnäytetyö
Syksy 2009
Kirsi Kalojärvi

Lahden ammattikorkeakoulu
Ympäristöteknologia

KALOJÄRVI, KIRSI: 2,4,6-trikloorifenolin hajoaminen humus-, kivennäis- ja turvemaassa

Ympäristötekniikan opinnäytetyö, 22 sivua, 4 liitesivua

Syksy 2009

TIIVISTELMÄ

Tutkimuksen tarkoituksena oli vertailla 2,4,6-trikloorifenolin (TCP) hajoamisnopeutta kolmessa eri maatyypissä. 2,4,6-TCP:n epäillään olevan ihmiselle karsinogeeninen ja se on myrkyllistä tai erittäin myrkyllistä vesieliöille sekä haitallinen nisäkkäille. Tarkasteltavina maatyyppeinä olivat humus-, kivennäis- ja turvemaat. Tutkitut maat olivat alun perin puhtaita maita, jotka eivät ole aiemmin pilaantuneet kloorifenoleilla, ja joihin laboratorio-olosuhteissa lisättiin 2,4,6-trikloori-fenolia.

Tutkitut maanäytteet olivat peräisin aiemmin perustetusta koejärjestelystä, joka oli osa ”Puunsuoja-aineilla pilaantuneen maan puhdistaminen maaperän bakteerien avulla”-nimistä tutkimushanketta. Näytteet oli otettu kokeen alusta sekä kokeen viikoilta neljä ja 12. Tässä tutkimuksessa näytteet uutettiin, käsiteltiin asetylointimenetelmää käyttäen sekä analysoitiin kaasukromatografi-massaspektrometrillä (GC-MS) Helsingin yliopiston ympäristöekologian laitoksella.

Tutkimuksen mukaan 2,4,6-trikloorifenoli hajosi nopeimmin humusmaassa, missä neljässä viikossa oli hajonnut noin 96 % ja 12 viikossa 99 % alkuperäisestä määrästä. Toiseksi nopeinta hajoaminen oli kivennäismaassa, missä neljässä viikossa oli hajonnut noin 70 % ja 12 viikossa 99 % alkuperäisestä määrästä. Turvemaassa hajoaminen oli selvästi hitainta, alkuperäisestä 2,4,6-trikloorifenolimäärästä hajosi kokeen aikana vain 34 %. Tutkimus antoi lisätietoa maatyypin vaikutuksesta tutkitavan yhdisteen hajoamiseen.

Avainsanat: 2,4,6-trikloorifenoli, hajoaminen, humusmaa, kivennäismaa, turve

Lahti University of Applied Sciences
Degree Programme in Environmental Technology

KALOJÄRVI KIRSI: The degradation of 2,4,6-trichlorophenol in peat, humus and mineral soils

Bachelor's Thesis in Environmental Engineering, 22 pages, 4 appendixes

Autumn 2009

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the degradation of 2,4,6-trichlorophenol (TCP) in three different soil types. 2,4,6-TCP is a possible human carcinogen and it is toxic or highly toxic to aquatic organisms as well as harmful to mammals. The investigated soils were humus and mineral soils and peat. The soils in this experiment were previously uncontaminated with chlorophenols, and 2,4,6-trichlorophenol was added in laboratory conditions.

The analyzed samples were from an earlier established experiment. Samples were taken in the beginning of the experiment, and then during the fourth and twelfth weeks. In this study, the samples were extracted, the chlorophenols were treated with the acetylation method and analyzed with a gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) at the University of Helsinki, the Department of Ecological and Environmental Sciences.

Based on the results of this study, the degradation of 2,4,6-TCP seems to be fastest in the humus soil. In a period of four weeks, 96 % of the TCP was degraded, and after twelve weeks the degradation level was 99 %. In the mineral soil, the degradation level was 70 % after four weeks and 99 % after twelve weeks. In the peat the degradation was clearly the slowest and only 34 % of the 2,4,6-TCP was degraded during the experiment. This study provided more information about the effects to the degradation of 2,4,6-trichlorophenol depending on soil type.

Key words: 2,4,6-trichlorophenol, degradation, humus soil, mineral soil, peat

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	1
2	TUTKITTAVAT YHDISTEET	3
2.1	Kloorifenolit maaperässä	4
2.2	Kloorifenolien hajoaminen	5
3	TUTKIMUKSEN TOTEUTUS	7
3.1	Koejärjestely ja näytteenotto	7
3.2	Näytteiden käsittely	8
3.3	Näytteiden analysointi	10
4	TULOKSET	13
4.1	Lähtötiedot	13
4.2	Analyysien tulokset	13
4.2.1	Humusmaa	16
4.2.2	Kivennäismaa	17
4.2.3	Turvemaa	18
4.3	Tulosten tarkastelu	19
5	YHTEENVETO	21
6	MAHDOLLISIA JATKOTUTKIMUKSIA	22
	LÄHTEET	23
	LIITTEET	25

1 JOHDANTO

Suomessa on satoja polyklooratuilla fenoleilla (PCP) pilaantuneita maa-alueita.

Alueet ovat pääasiassa vanhoja saha-alueita, joissa maahan on joutunut suuria määriä PCP-yhdisteitä KY-5-puunkäsittelyaineen käytön seurauksena. KY-5:ttä käytettiin yleisesti sahatavaran sinistymisen estoon 1930-1980-luvuilla, ja sen käyttö kiellettiin 1988.

Polykloorattuja fenoleita ja niiden hajoamista on tutkittu paljon 1980-luvulta lähtien. Kloorifenoleja tehokkaasti hajottavia mikrobilajeja on pystytty eristämään useita, muun muassa *Ralstonia*-, *Sphingomonas*- ja *Pseudomonas*-suvuista (Sánchez, Vásquez & González 2004) ja myös eräiden sienten ja jäkälien on todettu hajottavan PCP-yhdisteitä (Reddy, Gelpke & Gold 1998). 2,4,6-trikloorifenolia tehokkaasti hajottavien mikrobikantojen lisäämistä maahan hajotuskyvyn parantamiseksi on tutkittu, mutta sillä ei todettu olevan huomattavaa vaikutusta hajoamisnopeuteen puhtaassa, aiemmin kloorifenoleilla pilaantumattomassa metsämaassa (Sánchez ym. 2004). Kloorifenolien hajoamisnopeutta eri maatyypeissä ei ole tutkittu kovinkaan paljon.

Yleisimpänä menetelmänä pilaantuneiden maiden käsittelyssä on käytetty massanvaihtoa, eli pilaantunut maa-aines kuljetetaan loppusijoitettavaksi kaatopaikalle tai puhdistettavaksi pilaantuneiden maa-ainesten käsittelylaitokseen. Vahvasti saastuneita maamassoja myös stabiloidaan tai poltetaan. (Mroueh, Vahanne, Eskola, Pasanen, Wahlström, Mäkelä & Laaksonen 2004.)

Vanhoilla saha-alueilla puhdistettavaa maamassaa on yleensä paljon, joten kunnostuskustannukset voivat nousta hyvin korkeiksi. Yhä kustannustehokkaampia ja turvallisempia pilaantuneen maan puhdistusmenetelmiä pyritään kehittämään, ja tämän tutkimuksen tavoitteena oli osaltaan antaa lisätietoa menetelmien kehittämiseen.

Tämä tutkimus oli osa ”Tehostettu luonnonvalinta ja mikrobit”-hankekokonaisuutta, joka koostuu Suomen luonnonvarainsäätiön rahoittamasta projektista ”Ympäristömyrkyjä hajottavien eliöiden jalostaminen tehostetun luonnonvalinnan avulla” sekä Marjatta ja Eino Kollin säätiön tukemasta ”Puunsuoja-aineilla pilaantuneen maan puhdistaminen maaperän bakteerien avulla”-nimisestä hankkeesta. Molempien hankkeiden vastuullisena johtajana toimii tutkijatohtori Aki Sinkkonen. Ensimmäisessä hankkeessa tutkitaan dieseliä ja neljää yksittäistä, kemialliselta rakenteeltaan erilaista ympäristömyrkyä. Jälkimmäisen hankkeen päämääränä on tutkittavien puunsuoja-aineiden, eli kreosootin ja KY-5:n ainesosien, riittäväen hajottamiseen kykenevien mikrobikantojen löytäminen tai jalostaminen. Lisäksi hankkeen tavoitteena on selvittää, voidaanko pilaantuneen maan puhdistustulosta parantaa sekoittamalla siihen maata, jossa on samaa haitta-ainetta hyvin hajottava mikrobikanta.

Tähän tutkimukseen valittiin tarkasteltavaksi 2,4,6-trikloorifenoli, koska se on yksi KY-5:n ainesosista ja näistä hajoamisnopeudeltaan sopivin tutkittavaksi. 2,4,6-trikloorifenolin epäillään olevan ihmiselle syöpää aiheuttava, jonka lisäksi se on myrkyllistä tai erittäin myrkyllistä vesieliöille sekä haitallista nisäkkäille. Yhdiste hajoaa luonnossa melko hitaasti. Tutkimuksen tavoitteena oli tarkastella 2,4,6-trikloorifenolin hajoamisnopeutta kolmessa eri maatyypissä. Tutkittavina maatyypeinä olivat humus-, kivennäis- ja turvemaat. Oletuksena oli, että 2,4,6-TCP hajoaa nopeammin humuspitoisessa maassa. Tutkitut maanäytteet olivat peräisin aiemmin perustetusta koejärjestelystä, jossa käytetyt maat olivat alun perin puhtaita maita, joihin oli laboratorio-olosuhteissa lisätty 2,4,6-trikloorifenolia. Näytteet otettiin kokeen alusta sekä kokeen viikoilta neljä ja 12. Näytteet käsiteltiin uuttamalla ja asetyloimalla, ja ne analysoitiin kaasukromatografi-massa-spektrometrillä (GC-MS) Helsingin yliopiston ympäristöekologian laitoksella. Tähän tutkimukseen sisältyi maanäytteiden esikäsittely ja analysointi.

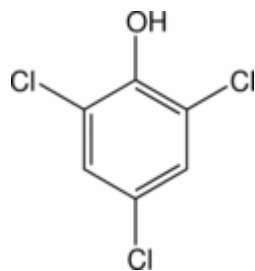
Tutkimustulokset julkaistaan Lahden ammattikorkeakoulun opinnäytetyönä.

2 TUTKITTAVAT YHDISTEET

Näytteistä tutkittiin 2,4,6-trikloorifenolin lisäksi 4-monokloorifenoli, 2,4- ja 2,6-dikloorifenolit, 2,4,5-trikloorifenoli, 2,3,4,6-tetrakloorifenoli ja pentakloorifenoli. 4-monokloorifenoli ja dikloorifenolit ovat 2,4,6-TCP:n (kuvio 1) mahdollisia hajoamistuotteita hapettomissa olosuhteissa.

Trikloorifenolit ovat heikkoja orgaanisia happoja. Maaperän happamuus vaikuttaa trikloorifenolien ionisoitumiseen: maaperässä, jonka pH on noin 6, suurin osa trikloorifenoleista on neutraalissa muodossa, mutta jo neutraalissa maaperässä keskimäärin yli puolet trikloorifenoleista ionisoituu. Neutraalitkin trikloorifenolit ovat kohtalaisen vesiliukoisia ja jonkin verran kulkeutuvia, joten ne voivat päätyä pohjaveteen myös happamassa maaperässä. Trikloorifenolit hajoavat suhteellisen hitaasti maaperässä ja pohjavedessä. 2,4,5- ja 2,4,6-trikloorifenolit on luokiteltu ympäristö- ja terveysvaaran perusteella. 2,4,6-TCP:n epäillään olevan ihmiselle syöpää aiheuttava. Trikloorifenolit voivat olla vesiliöille erittäin myrkyllisiä ja nisäkkäille haitallisia. Ne ovat myös hieman kertyviä. (Reinikainen 2007, 126-127.)

Trikloorifenolien PIMA-asetuksen mukainen kynnyisarvo on 0,5 mg/ kg. Alempi ohjearvo (terveysperustein) on 10 mg/ kg ja ylempi ohjearvo (ekologisin perustein) 40 mg/ kg. (Reinikainen 2007, 126- 127.)



KUVIO 1. 2,4,6-trikloorifenolin kemiallinen rakenne.

2.1 Kloorifenolit maaperässä

Suomessa maaperästä löytyy kloorifenoleita pääasiassa vanhoilta saha-alueilta laajamittaisen KY-5-kloorifenolivalmisteen käytön seurauksena. Valmisteen sisältämien yhdisteiden haitallisuutta ei tiedetty, ja sen käsittely saattoi olla varomatonta ja huolimatonta, eikä tarvittaviin suojaustoimenpiteisiin ryhdytty. Valmistetta pääsi ympäristöön muun muassa lautatavaran kastelun ja välivarastoon kuljetuksen yhteydessä sekä välivarastoinnin aikana. Lisäksi käytetty kasteluliuos saatettiin jopa kaataa suoraan maahan.

KY-5- valmistetta käytettiin puun käsittelyssä sinistymisenestoaineena 1930-luvulta lähtien. KY-5:ttä valmistettiin Suomessa vuosina 1940-1984 ja sen käyttö kiellettiin vuonna 1988. Valmiste sisälsi 70-80 % 2,3,4,6-tetrakloorifenolia, 5-15 % 2,4,6-trikloorifenolia ja 5-15 % pentakloorifenolia, sekä epäpuhtautena polykloorattuja dibentso-p-dioksiineja ja -furaaneja sekä difenyyliettereitä. (Reinikainen 2007, 126-127.)

Klooriatomien määrä ja niiden paikka fenolirenkaassa määräävät kloorifenolin vesiliukoisuuden ja biosaatavuuden maaperässä. Mitä enemmän kloorautunut fenoli on, sitä voimakkaammin se sitoutuu maahiukkasiin, ja sitä vaikeammin se on hajotettavissa. Kloorifenolien myrkyllisyys eliöille kasvaa klooriatomien määrän kasvaessa. (Baker & Mayfield 1980.)

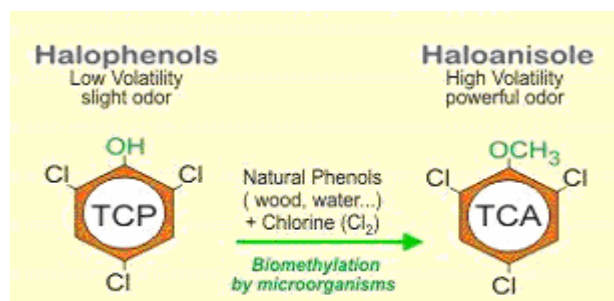
Kloorifenoleja esiintyy maaperässä myös luontaisesti. Muun muassa hyönteiset, sienet ja jäkälät voivat tuottaa PCP-yhdisteitä, ja niitä voi syntyä myös esimerkiksi metsäpalojen yhteydessä. PCP-yhdisteitä on todettu muodostuvan turpeessa ja metsämaassa. (Gribble 1994, 2003.)

2.2 Kloorifenolien hajoaminen

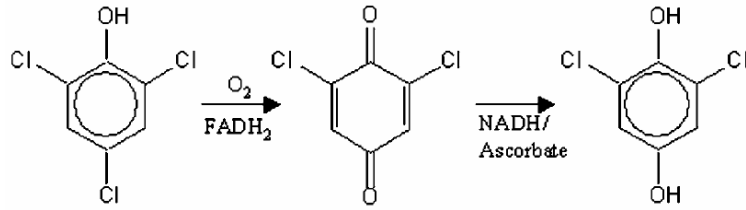
Kloorifenolien hajoaminen luonnonympäristössä on yleensä erittäin hidasta. Biohajoamiseen vaikuttavat monet tekijät, kuten happipitoisuus, lämpötila, pH, kosteus ja ravinteet sekä mikro-organismien laji, määrä ja hajotuskyky. Ympäristön kannalta on parasta, jos PCP-yhdisteet hajoavat haitattomiksi lopputuotteiksi, eli vedeksi, kloridiksi ja hiilidioksidiksi. Kloorifenolien hajoamisnopeus riippuu aromaattiseen renkaaseen kiinnittyneiden klooriatomien määrästä, eli mitä enemmän kloorautunut fenoli on, sitä hitaammin se hajoaa. (Järvinen 2001, 8.)

Aerobisissa olosuhteissa mikrobit aloittavat kloorifenolien hajottamisen lisäämällä aromaattiseen renkaaseen yhden hydroksyyliyhdyntä, joka helpottaa jatkoreaktioita. Useiden pelkistävien deklorinaatioiden jälkeen aromaattinen rengas aukeaa, ja jäljelle jäänyt yhdiste mineralisoidaan. Anaerobisissa olosuhteissa klooriatomit korvataan yksi kerrallaan vedyllä, ja jäljelle jäävä fenoli muutetaan bentsoaatin kautta hiilidioksidiksi, metaaniksi ja vedeksi. Aerobinen hajoaminen voi tapahtua yhden mikrobilajin toimesta, kun taas anaerobi hajotus vaatii yleensä useita eri mikrobilajeja, joista kukin hoitaa tietyn osavaiheen hajotuksesta. (Puhakka & Melin 1996, Järvisen 2001, 8 mukaan.)

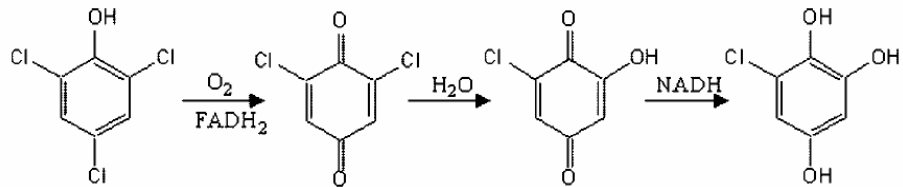
Eräitä 2,4,6-TCP:n todennäköisiä metaboliatuotteita hapellisissa olosuhteissa ovat 2,4,6-trikloorianisoli, 2,6-dikloorikinoli ja 6-klorohydroksikinoli (kuviot 2, 3 ja 4).



KUVIO 2. 2,4,6-TCP:n metyloituminen 2,4,6-trikloorianisoliksi. (ETS Laboratories 2009.)



KUVIO 3. 2,4,6-TCP:n muuntuminen 2,6-dikloorikinonin kautta 2,6-dikloorikinoliksi. (Xun & Webster 2004.)



KUVIO 4. 2,4,6-TCP:n muuntuminen 2,6-dikloorikinonin ja 6-kloori-hydroksikinonin kautta 6-kloorihydroksikinoliksi. (Xun & Webster 2004.)

3 TUTKIMUKSEN TOTEUTUS

Tutkimustyö tehtiin Helsingin yliopiston ympäristöekologian laitoksella syksyllä 2008. Käytännön työhön kuului näytteiden esikäsittely ja analysointi kaasukromatografi-massaspektrometrillä.

3.1 Koejärjestely ja näytteenotto

Jokaisesta maatyypistä (humus-, kivennäis- ja turvemaa) tehtiin kuusi koetta: kolmeen rinnakkaiseen lisättiin 2,4,6- trikloorifenolia ja kolme rinnakkaista toimi kontrollikokeina. Kontrollikokeiden tarkoituksena oli selvittää, tapahtuiko kontaminaatiota ilmaitse koejärjestelyn aikana. Koe perustettiin kymmenen litran kannellisiin muoviämpäreihin. Lisättävä 2,4,6-TCP liuotettiin 10 ml metanolia ja seos sekoitettiin hiekkaan. Hiekka-metanoliseos sekoitettiin ämpärilliseen maata. Näin pyrittiin varmistamaan yhdisteen tasainen jakautuminen tutkittavassa maassa. Kontrollimaihin lisättiin hiekka-metanoliseosta, jossa ei ollut 2,4,6-TCP:ia. Ämpäreitä pidettiin kokeen ajan 10–15 °C:een lämpötilassa.

Näytteet otettiin muovilusikalla noin yhden, seitsemän ja 15 cm syvyydeltä satunnaisista kohdista eri puolilta ämpäriä. Tällä tavoin pyrittiin saamaan mahdollisimman edustava näyte. Näytteenotossa pyrittiin välttämään suurehkojen kivien ja juurien joutumista näytteisiin. Maata punnittiin noin 30 grammaa muovipussiin, ja näytteet pakastettiin. Näytteenotto suoritettiin kokeen aloitus- ja lopetuspäivinä, sekä kokeen viikoilla 4, 6 ja 12. Alustavien analyysien perusteella tähän tutkimukseen valittiin analysoitavaksi näytteet koejärjestelyn viikoilta 0, 4 ja 12. Alustavien analyysien tulokset on esitetty liitteessä 1.

3.2 Näytteiden käsittely

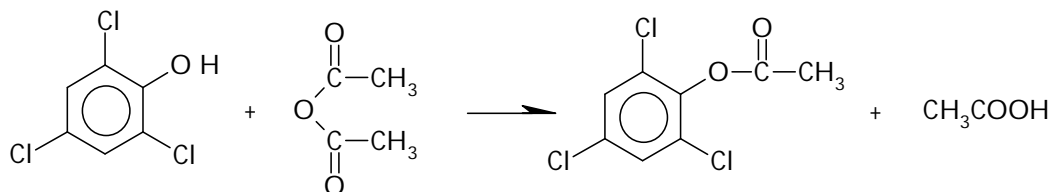
Pakastettua, kuivaamatonta maanäytettä punnittiin Pyrex-putkeen noin kaksi grammaa, aloittaen puhtaimmista ja siirtyen likaisempiin näytteisiin. Näytteitä punnittaessa pyrittiin välttämään kivien ja kookkaiden juurien joutumista analysoitaviin näytteisiin. Näytteisiin lisättiin sisäisiksi standardeiksi 3,4,5-trikloorifenoli (6000 ng) ja 2,4,6-tribromifenoli (6000 ng) polyklooratuille fenoleille sekä 2,4,6-tribromianisoli (300 ng) polyklooratuille anisoleille. Näytteisiin lisättiin uuttoliuotteiksi 20 ml heksaania. Näytteitä sonikoitiin ultraäänihauteessa (Everest ultrasonic) 15 minuuttia (20 °C), minkä jälkeen näytteitä ravisteltiin huoneenlämmössä yksi tunti tasoravistelijassa (Yellow line OS10 basic) nopeudella 350 rpm. Näytteet laitettiin sentrifugiin (Kendro Heraeus Multifuge 1S-R) kahdeksi minuutiksi (2000 rpm, 20 °C), jotta maa-aines saatiin tiivistymään koeputken pohjalle. Heksaanifaasit pipetoitiin 100 ml hioskorkillisiin Erlenmeyer-kolveihin. Uutto toistettiin lisäämällä Pyrex-putkiin 20 ml uutta heksaania, pitämällä näytteitä 15 minuuttia ultraäänihauteessa ja 30 minuuttia tasoravistelijassa. Liuotinfasiat pipetoitiin edellisten kanssa samoihin kolveihin ja ne haihdutettiin Heidolphin pyöröhaihduttimella (Laborota 4000-efficient) noin kolmeksi millilitraksi. Pyöröhaihduttimen vesihautteen lämpötila oli 35 °C.

Näytteet siirrettiin kvantitatiivisesti (eli huuhtelemalla Erlenmeyer-kolvi kolme kertaa heksaanilla) 100 ml erotussuppiloihin, joissa oli 50 ml 0,1 M kaliumkarbonaattiliuosta (K_2CO_3). Erotussuppiloita ravisteltiin varovasti viisi minuuttia, minkä jälkeen nestefaasien annettiin erottua noin tunnin ajan. Tässä vaiheessa näytteiden sisältämät fenolit olivat siirtyneet heksaanifaasista K_2CO_3 -faasiin. Heksaanifaasit, joissa näytteiden sisältämät anisolit olivat, siirrettiin kvantitatiivisesti Kimax-putkiin ja pakastettiin mahdollista myöhempää analysointia varten. Kuviossa 5 näkyy keltainen anisolifaasi erottumassa K_2CO_3 -faasista.



KUVIO 5. Nestefaasit erottumassa erotussuppilossa.

Fenolit asetyloitiin lisäämällä erotussuppiloihin 1 ml etikkahappoanhydridiä ($C_4H_6O_3$) ja ravistelemalla erotussuppiloita varovasti, kunnes painetta ei enää muodostunut. Suppiloihin lisättiin 5 ml heksaania, ja niitä ravisteltiin noin viisi minuuttia, jolloin asetyloituneet fenolit siirtyivät heksaanifaasiin. Faasien erotuttua heksaanifaasit pipetoitiin Kimax-putkiin. Ravistelu toistettiin lisäämällä 5 ml heksaania ja ravistelemalla noin kolme minuuttia. Faasien erotuttua heksaanifaasit pipetoitiin edellisten kanssa samoihin putkiin, näytteet haihdutettiin typpivirran avulla noin 0,3 millilitran tilavuuteen ja siirrettiin heksaanin avulla kaasukromatografian autosampleripulloihin. Näytteisiin lisättiin saantostandardiksi 600 ng 2,4,6-tribromianisolia. Näytteet analysoitiin noin 0,5 ml tilavuudesta GC-MS-laitteistolla. Kuviossa 6 on esitetty 2,4,6-trikloorifenolin asetyloitumisreaktio.



2,4,6-trikloorifenoli etikkahappoanhydridi 2,4,6-trikloorifenyyliasetaatti etikkahappo

KUVIO 6. 2,4,6-trikloorifenolin asetyloitumisreaktio.

Tutkimuksessa analysoitiin 29 näytettä, joista 27 oli otettu maakokeista, joihin oli lisätty 2,4,6- trikloorifenolia sekä kaksi näytettä kontrollimaista. Näytteet analysoitiin kymmenen näytteen sarjoissa, joissa yksi oli nollanäyte aina yhdeksää maanäytettä kohti. Nollanäytteisiin laitettiin samat reagenssit, ja ne käsiteltiin samalla tavalla kuin varsinaiset näytteet, mutta ne eivät sisältäneet maanäytettä. Nollanäytteen avulla selvitetään tapahtuuko analyysin aikana kontaminaatiota. Näytteet säilytettiin analyysin aikana pakastimessa (-17 °C). Analyysissä käytettiin etanolilla huuhdeltuja astioita. Tarkemmat tiedot analyysissä käytetyistä reagensseista ja standardeista on esitetty liitteessä 2.

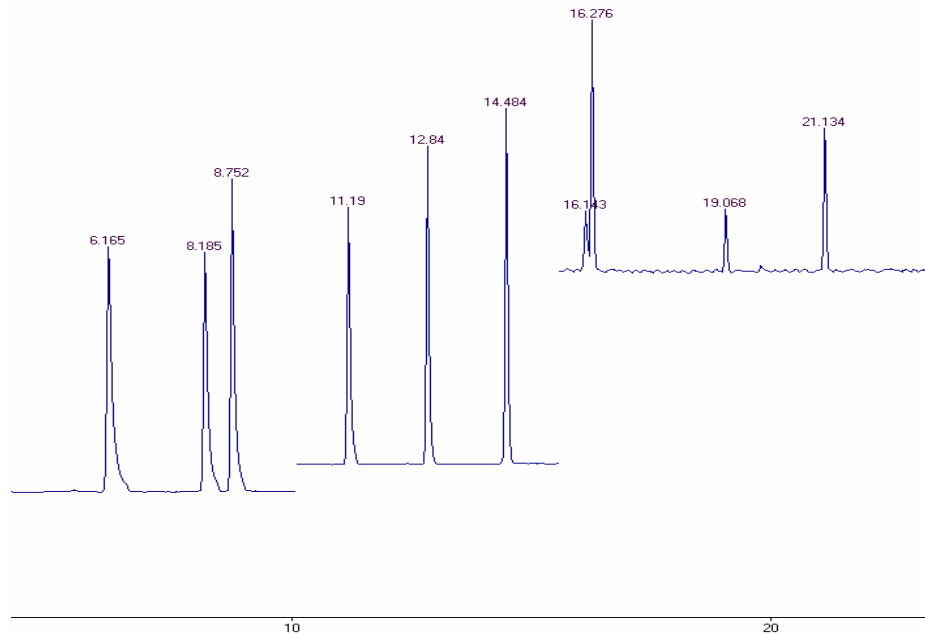
3.3 Näytteiden analysointi

Kloorifenolinäytteet analysoitiin kaasukromatografilla (Shimadzu GC-17A), jossa detektorina oli massaspektrometri (Shimadzu GCMS-QP5000) ja näytteensyöttäjänä Shimadzu AOC-20i (kuvio 7). Kaasukromatografan kolonnina oli Zebron ZB-5MS (Phenomenex), jonka pituus oli 30 metriä, sisähalkaisija 0,25 millimetriä ja filmin paksuus 0,25 mikrometriä. Kantajakaasuna käytettiin heliumia. Kokonaisvirtaus oli 23,0 ml minuutissa ja kolonniin menevä virtaus 1,0 ml minuutissa. Analyysissä käytettiin Splitless-injektiota, jossa injektioaika oli yksi minuutti ja injektorin lämpötila 280 °C. Kolonniuunin lämpötilaa nostettiin aluksi 4 °C/min 100 °C:sta 220 °C:een ja 8 °C/min 270 °C:een. Injektiotilavuus oli 1,0 µl.



KUVIO 7. GC-MS-laitteisto.

Kaasukromatografi-massaspektrometrin antamien piikkien pinta-alat määritettiin integroimalla. Tutkittavien aineiden pitoisuudet määritettiin vertaamalla näytteen piikkien pinta-aloja standardin piikkien pinta-aloihin (kuvio 8.) sekä sisäisten standardien pitoisuuksiin. Laskukaavat on esitetty liitteessä 3.



KUVIO 8. GC-MS-laitteella analysoidun asetyloidun PCP-standardin piikit.

Kaasukromatografi-massaspektrometrillä analysoitujen yhdisteiden nimet, piikkien retentioajat sekä valitut ionien massat on esitetty taulukossa 1.

TAULUKKO 1. GC-MS-analysoitujen yhdisteiden nimet ja lyhenteet, GC-retentioajat ja valitut massat.

Yhdiste	Lyhenne	Retentioaika	Ionien massat (M/Z)
4-monokloorifenoli	4-MCP	6,2	128 130
2,6-dikloorifenoli	2,6-DCP	8,2	162 164
2,4-dikloorifenoli	2,4-DCP	8,8	162 164
2,4,6-trikloorifenoli	2,4,6-TCP	11,2	196 198
2,4,5-trikloorifenoli	2,4,5-TCP	12,8	196 198
2,3,4,6-tetraloorifenoli	2,3,4,6-TeCP	16,3	232 230
Pentakloorifenoli	PeCP	21,1	266 264
3,4,5-trikloorifenoli (sisäinen standardi)	3,4,5-TCP	14,5	196 198
2,4,6-trikloorianisoli (saantostandardi)	2,4,6-TBrA	16,1	344 342
2,4,6-tribromifenoli (sisäinen standardi)	2,4,6-TBrP	19,1	330 328

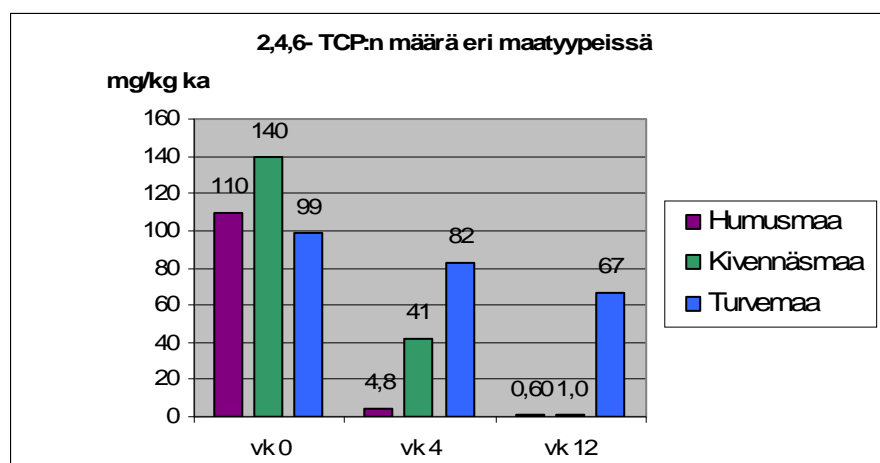
4 TULOKSET

4.1 Lähtötiedot

Tutkitut näytteet olivat kokeen viikoilta 0, 4 ja 12. Näytteet analysoitiin 10 näytteen sarjoissa, joissa aina yhdeksää maanäytettä kohti oli yksi nollanäyte. Näytteet käsiteltiin ja analysoitiin 5.9.2008-7.1.2009 välisenä aikana.

4.2 Analyysien tulokset

Analysoitujen näytteiden 2,4,6-TCP-pitoisuudet vaihtelivat aloituspäivän noin 130 mg/kg kuiva-ainesta (ka) viikon 12 alle yhteen mg/kg ka (kuvio 9). Saatujen tulosten mukaan 2,4,6-trikloorifenoli hajosi nopeimmin humusmaassa, toiseksi nopeimmin kivennäismaassa ja hitaimmin turvemaassa. Tulos oli osittain oletetun mukainen: humuspitoisessa metsämaassa tutkittu yhdiste hajosi nopeimmin, mutta hajoaminen oli todella hidasta turvemaassa, joka on myös hyvin humuspitoista. Kivennäismaassa pitoisuudet laskivat tasaisesti ja olivat viikolla 12 samaa luokkaa humusmaan pitoisuuksien kanssa.



KUVIO 9. 2,4,6-trikloorifenolin keskimääräiset pitoisuudet eri maatyypeissä.

Taulukossa 2 on esitetty saadut 2,4,6-trikloorifenolipitoisuudet näytettä kohti sekä rinnakkaisten näytteiden keskiarvot kokeen viikoilta 0, 4 ja 12. Saantostandardin avulla lasketut saantoprosentit olivat pääasiassa välillä 60-105 % verrattuna 2,4,6-tribromifenoli-pitoisuuksiin. 3,4,5-trikloorifenoliin verratut saantoprosentit vaihtelivat vielä enemmän ja osa niistä oli liian alhaisia, joten tulokset on esitetty 2,4,6-tribromifenolin pitoisuuksien perusteella laskettuina. Tuloksia tarkasteltaessa käytettiin määrittäysrajaa 0,01 mg/kg ka.

TAULUKKO 2. 2,4,6- trikloorifenolin pitoisuudet näytteissä.

Näytteet	vk 0 mg/kg ka	vk 4 mg/kg ka	vk 12 mg/kg ka
Humusmaa 1	110	7,8	0,62
Humusmaa 2	120	1,4	0,34
Humusmaa 3	93	5,2	0,84
Keskiarvo	110	4,8	0,60
Kivennäismaa 1	100	23	0,65
Kivennäismaa 2	170	36	1,2
Kivennäismaa 3	140	64	1,2
Keskiarvo	140	41	1,0
Turve 1	80	74	55
Turve 2	130	120	84
Turve 3	87	53	61
Keskiarvo	99	82	67

Taulukossa 3 on esitetty, kuinka monta prosenttia alkuperäisestä 2,4,6-TCP-määrästä oli hajonnut 4 ja 12 viikon kuluttua kokeen aloittamisesta. Humusmaassa oli neljän viikon aikana hajonnut keskimäärin 95 % alkuperäisestä 2,4,6-TCP-määrästä, ja 12 viikon kuluttua jäljellä oli enää noin 0,6 %. Kivennäismaassa pitoisuudet olivat viikolla 12 samaa luokaa, eli noin 0,7 %. Hajoaminen oli kuitenkin siihen asti ollut hitaampaa, sillä viikolla neljä oli hajonnut noin 70 % alkuperäisestä määrästä. Turvemaassa hajoaminen oli selvästi muita hitaampaa. Neljässä viikossa 2,4,6- trikloorifenolista oli hajonnut vain 20 %, ja 12 viikon kuluttua jäljellä oli vielä yli 60 % alkuperäisestä määrästä.

TAULUKKO 3. Jäljellä olevan 2,4,6-trikloorifenolin määrä 4 ja 12 viikkoa kokeen aloittamisesta.

	vk 4 (%)	vk 12 (%)
Humusmaa	4,5	0,6
Kivennäismaa	30	0,7
Turvemaa	81	66

Rinnakkaisten näytteiden pitoisuuksien välillä oli melko suuria eroja, suhteellinen keskihajonta vaihteli välillä 13-67 %. Suuret keskihajonnat johtuivat todennäköisesti näytteiden heterogeenisyydestä, analysoitavan näytemäärän pienuudesta sekä lisätyn 2,4,6-TCP:n osittain epätasaisesta sekoittumisesta. Eroista huolimatta rinnakkaisten näytteiden pitoisuudet ovat suuruusluokaltaan niin samanlaisia, että hajoamisnopeutta eri maatyypin välillä voidaan vertailla luotettavasti.

Kaikissa aloituspäivän näytteissä oli 2,4,6-trikloorifenolin lisäksi pieniä pitoisuuksia 2,4- ja 2,6-dikloorifenolia, jotka ovat todennäköisesti olleet lisätyn 2,4,6-TCP:n epäpuhtauksina. Yhdisteitä löytyi pieniä pitoisuuksia myös suurimmasta osasta viikon 4 näytteistä, mutta ei enää viikon 12 näytteistä. Näytteiden 2,4- ja 2,6-DCP-pitoisuudet on esitetty jäljempänä kunkin maatyypin tulosten yhteydessä.

Tulosten mukaan ensimmäisen analysoidun näytesarjan kahdesta näytteestä löytyi 2,3,4,6-tetrakloorifenolia, pitoisuudet olivat 0,02 ja 0,18 mg/kg ka, sekä yhdestä näytteestä löytyi pentakloorifenolia 0,01 mg/kg ka. Myös näytesarjan nollanäytteessä oli pieniä pitoisuuksia 2,3,4,6-tetrakloorifenolia (0,01 mg /näyte) ja pentakloorifenolia (0,02 mg/näyte). Pitoisuudet johtuivat todennäköisesti laboratorionkontaminaatiosta, sillä näitä yhdisteitä ei löytynyt muista tutkituista näytteistä. Liitteessä 2 on esitetty ensimmäisen analyysin tulokset, joiden perusteella tarkasteltavat aikapisteet valittiin.

4.2.1 Humusmaa

Tulosten mukaan 2,4,6-trikloorifenolin määrä humusmaassa oli kokeen alkaessa keskimäärin 110 mg/kg ka, josta neljän viikon kuluttua jäljellä oli enää 4,8 mg/kg ka. Viikon 12 näytteiden 2,4,6-TCP-pitoisuudet olivat keskimäärin 0,60 mg/kg ka, eli 99 % yhdisteestä oli hajonnut.

Kokeen aloituspäivän humusmaanäytteissä oli keskimäärin 0,03 mg/kg ka 2,4-dikloorifenolia ja 0,06 mg/kg ka 2,6-dikloorifenolia. Viikkojen 4 ja 12 näytteistä näitä yhdisteitä ei enää löytynyt.

Humusmaanäytteiden tulosten suhteellinen poikkeama oli viikkojen 0, 4 ja 12 näytteissä 13 %, 67 % ja 42 %. Orgaanisen aineen määrä humusmaassa oli noin 54 %. Taulukossa 4 on esitetty humusmaanäytteistä löytyneiden polykloorattujen fenolien pitoisuudet sekä saantoprosentit.

TAULUKKO 4. Humusmaanäytteiden PCP-pitoisuudet ja saantoprosentit. Yksikkö on mg/kg ka.

Näyte Yhdiste	vk 0			vk 4			vk 12		
	H 1	H 2	H 3	H 1	H 2	H 3	H 1	H 2	H 3
4-MCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,6-DCP	0,05	0,08	0,06	-	-	-	-	-	-
2,4-DCP	0,01	0,04	0,02	-	-	-	-	-	-
2,4,6-TCP	110	120	93	7,8	1,4	5,3	0,62	0,34	0,84
2,4,5-TCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,3,4,6-TeCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PeCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saanto- %	84	103	105	79	88	56	75	77	96

(- = detektorajan alapuolelle jäävä pitoisuus)

4.2.2 Kivennäismaa

Tulosten mukaan 2,4,6-trikloorifenolipitoisuus kivennäismaassa oli kokeen alkaessa keskimäärin 137 mg/kg ka. Kokeen viikolla neljä pitoisuus oli 41 mg/kg ka. Viikon 12 näytteiden 2,4,6-TCP-pitoisuudet olivat keskimäärin 1,0 mg/kg ka, eli noin 99 % tutkittavasta yhdisteestä oli hajonnut (taulukko 5).

Kivennäismaassa oli kokeen alkaessa keskimäärin 0,04 mg/kg ka 2,4-dikloorifenolia ja 0,13 mg/kg ka 2,6-dikloorifenolia. Viikon 4 näytteistä löytyi keskimäärin 0,02 mg/kg ka 2,4-DCP:tä, mutta ei 2,6-DCP:tä. Viikon 12 näytteistä kumpaakaan yhdistettä ei löytynyt.

Kivennäismaanäytteiden tulosten suhteellinen keskihajonta oli viikkojen 0, 4 ja 12 näytteissä 26 %, 51 % ja 32 %. Orgaanisen aineen osuus kivennäismaasta oli noin 6 %. Taulukossa 5 on esitetty kivennäismaanäytteiden PCP-pitoisuudet sekä näytteiden saantoprosentit.

TAULUKKO 5. Kivennäismaanäytteiden PCP-pitoisuudet ja saantoprosentit. Yksikkö on mg/kg ka.

Näyte Yhdiste	vk 0				vk 4			vk 12		
	K 1	K 2	K 3	K 4	K 1	K 2	K 3	K 1	K 2	K 3
4-MCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,6-DCP	0,22	0,09	0,09	-	-	-	-	-	-	-
2,4-DCP	0,05	0,04	0,04	-	0,01	0,01	0,02	-	-	-
2,4,6-TCP	100	170	140	0,03	23	36	64	0,65	1,2	1,2
2,4,5-TCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,3,4,6-TeCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PeCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saanto- %	64	76	76	80	95	97	61	113	120	69

(- = detektiorajan alapuolelle jäävä pitoisuus)

K4 on kontrollimaanäyte, jossa tulosten mukaan oli 0,03 mg/kg ka 2,4,6-trikloorifenolia. Pitoisuus voi johtua kontaminaatiosta koejärjestelyä perustettaessa tai laboratorionkontaminaatiosta.

4.2.3 Turvema

Kokeen alkaessa turvemaan 2,4,6-trikloorifenolipitoisuus oli tulosten mukaan keskimäärin 99 mg/kg ka. Kokeen viikolla neljä pitoisuus oli noin 82 mg/kg ka, eli 81 % alkuperäisestä määrästä. Viikon 12 pitoisuus oli keskimäärin 67 mg/kg ka, eli noin 66 % 2,4,6-trikloorifenolista oli jäljellä.

Kokeen alkaessa turvemaassa oli keskimäärin 0,02 mg/kg ka 2,4-dikloorifenolia ja 0,06 mg/kg ka 2,6-dikloorifenolia. Viikon 4 näytteistä löytyi keskimäärin 0,04 mg/kg ka 2,6-DCP:tä, mutta ei 2,4-DCP:tä. Viikon 12 näytteistä kumpaakaan yhdistettä ei enää löytynyt.

Turvemaanäytteiden tulosten suhteellinen keskihajonta oli viikkojen 0, 4 ja 12 näytteissä 27 %, 42 % ja 23 %. Orgaanisen aineen osuus turvemaasta oli noin 97 %.

Taulukossa 6 on esitetty turvemaanäytteiden PCP-pitoisuudet sekä näytteiden saantoprosentit.

TAULUKKO 6. Turvemaanäytteiden PCP-pitoisuudet ja saantoprosentit. Yksikkö on mg/kg ka.

Näyte Yhdiste	vk 0				vk 4			vk 12		
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 1	T 2	T 3	T 1	T 2	T 3
4-MCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,6-DCP	0,06	0,08	0,08	-	0,04	0,06	0,03	-	-	-
2,4-DCP	0,02	0,03	0,03	-	-	-	-	-	-	-
2,4,6-TCP	80	130	87	0,32	74	120	53	55	84	61
2,4,5-TCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,3,4,6- TeCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PeCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saanto- %	107	58	97	61	88	86	114	99	86	94

(- = detektiorajan alapuolelle jäävä pitoisuus)

T4 on kontrollimaanäyte, jossa oli tulosten mukaan 0,32 mg/kg ka 2,4,6-TCP:tä. Tämä pitoisuus voi johtua kontaminaatiosta koejärjestelyä perustettaessa tai analyysin aikana.

4.3 Tulosten tarkastelu

Tulosten mukaan humusmaassa oli neljässä viikossa hajonnut keskimäärin 95 % alkuperäisestä 2,4,6-TCP-määrästä, joka oli noin 100 mg/kg ka. Tässä tutkimuksessa hajoaminen oli hieman nopeampaa kuin Sánchezin ym. (2004) tutkimuksessa, jossa 30 päivän aikana pitoisuudesta 50 mg/kg hajosi noin 93 %. Suuremmista pitoisuuksista (500, 2000 tai 5000 mg/kg) hajosi samassa ajassa noin puolet. Tutkimuksessa käytetty maa oli aiemmin pilaantumaton chileläistä metsämaata. (Sánchez ym. 2004). Luontaisesti esiintyvien kloorifenolien myötä on mahdollista, että maaperässä on kloorifenolien hajotukseen erikoistuneita mikrobeja (Gribble 1994, 2003, Sánchez ym. 2004). Humusmaassa on siis mahdollisesti ollut jo kokeen alkaessa 2,4,6-trikloorifenolia tehokkaasti hajottava mikrobikanta, joka vahvistui saadessaan lisäravintoa 2,4,6-TCP:n lisäyksestä.

Todennäköisesti myös olosuhteet, kuten ravinnepitoisuus, pH ja maan rakenne, ovat humusmaassa olleet mikrobitoiminnalle suotuisampia kuin muissa maatyypeissä. On silti merkillepantavaa, että yhdiste ei hävinnyt maasta kokonaan kokeen aikana. Jäljelle jäänyt pitoisuus on kuitenkin hyvin pieni, vain 0,60 mg/kg ka. Humusmaasta noin puolet oli orgaanista ainesta, ja maassa oli sitä ravinnokseen käytävä mikrobikanta. On mahdollista, että lisättäessä maahan suuri määrä 2,4,6-trikloorifenolia, sen hajottamiseen erikoistuneet mikrobit saivat kilpailuedun, ja TCP saattoi myös olla myrkyllinen joillekin mikrobeille. Tällöin pelkkää orgaanista ainesta hajottavat mikrobit vähenivät. Kun valtaosa kloorifenolista oli hajotettu, orgaanista ainesta hajottava mikrobikanta vahvistui ja syrjäytti yhdisteen hajottamiseen erikoistuneet mikrobit. Todennäköisesti 2,4,6-trikloorifenolia hajottaneet mikrobit käyttivät ravinnokseen myös orgaanista ainesta, ja yhdisteen hajottua lähes täydellisesti mikrobit alkoivat käyttää pääasiallisena ravintonaan helpommin saatavilla olevaa orgaanista ainetta, jolloin pieni määrä 2,4,6-TCP:sta jäi hajottamatta. Voimakas mikrobitoiminta kuluttaa runsaasti ravinteita, joten myös ravinteiden väheneminen on voinut hidastaa mikrobien hajotustoimintaa.

Tulosten mukaan 2,4,6-trikloorifenolin määrä kivennäismaassa laski melko tasaisesti ja viikolla 12 pitoisuus oli samaa luokkaa humusmaan pitoisuuksien kanssa.

Humusmaahan verrattavaa eksponentiaalista hajoamista ei kuitenkaan tapahtunut. Tasainen hajotusnopeus johtui todennäköisesti orgaanisen aineen vähyydestä, jolloin mikrobien välinen kilpailu oli kaiken aikaa kovaa.

Turvemaassa 2,4,6-trikloorifenolin määrästä hajosi noin 34 % kokeen aikana. Eräässä tutkimuksessa, jossa tutkittiin hapetuksen vaikutusta haitta-aineiden hajoamiseen, tuli ilmi myös maatyypin vaikutus hapetuksen tehoon. Vertailtavina maatyypeinä olivat hiekka ja turve, ja hiekkamaassa hapetuksen teho oli huomattavasti suurempi kuin turvemaassa, joka sitoi haitta-ainetta itseensä (Goi, Trapido & Kulik 2009). On siis mahdollista, että 2,4,6-TCP sitoutui turvemaahan niin, että se oli huonosti mikrobien saatavilla, mutta näytteiden käsittely kuitenkin irrotti yhdisteen analysoitavaksi. Orgaanisen aineen määrä turpeessa oli hyvin suuri ja se oli kloorifenolia helpommin mikrobien saatavilla. On todennäköistä, että mikrobit käyttivät orgaanista ainesta ensisijaisena ravinnonlähteenään ja näin ollen 2,4,6-TCP:n hajoaminen oli hidasta.

On myös mahdollista, että hajoamisen sijasta 2,4,6-trikloorifenoli on sitoutunut maa-ainekseen. Toisaalta yhdisteen hajoamista tukee se, että haitta-aineita parhaiten sitovassa turpeessa 2,4,6-TCP-pitoisuus oli kaikkein suurin.

5 YHTEENVETO

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli tarkastella maatyypin vaikutusta 2,4,6- trikloorifenolin hajoamisnopeuteen. Vertailtavina oli kolme eri maatyypin: humus-, kivennäis- ja turvema. Tutkimuksessa käytettiin maa-ainesta, joka oli aiemmin kloorifenoleilla pilaantumaton, ja johon lisättiin 2,4,6-trikloorifenolia laboratorioolosuhteissa.

Tutkimusta voidaan pitää onnistuneena, sillä 2,4,6-trikloorifenolin hajoamisnopeudessa on selkeät erot eri maatyypin välillä. Tutkimuksen mukaan 2,4,6-trikloorifenoli hajosi nopeimmin humusmaassa. Toiseksi nopeinta hajoaminen oli kivennäismaassa. Turvemaassa hajoaminen oli selvästi hitainta.

2,4,6-trikloorifenolin hajoamisnopeuteen maassa vaikuttavat muun muassa mikrobien lajit ja määrät sekä vallitsevat olosuhteet ja maan rakenne, erityisesti orgaanisen aineen määrä. On todennäköistä, että maaperässä on luontaisesti kloorifenolien hajottamiseen sopeutuneita mikrobilajeja.

Humusmaan hyvä kyky hajottaa 2,4,6-trikloorifenolia nopeasti johtuu mahdollisesti kloorifenolien hajottamiseen erikoistuneista mikrobeista sekä näille mikrobeille suotuisista olosuhteista. Kivennäismaassa 2,4,6-TCP:n hitaampi hajoaminen johtuu todennäköisesti mikrobien kovemasta kilpailusta verrattuna humusmaahan. Yhdisteen hyvin hidas hajoaminen turpeessa johtuu todennäköisesti suuresta orgaanisen aineen määrästä sekä turpeen kyvystä sitoa haitta-aineita itseensä, jolloin mikrobit käyttävät pääasiallisena ravinnonlähteenään orgaanista ainetta, eikä vaikeammin saatavilla olevaa kloorifenolia.

6 MAHDOLLISIA JATKOTUTKIMUKSIA

Tässä tutkimuksessa analysoitujen näytteiden sisältämien anisoliin määritys toisi lisätietoa 2,4,6-trikloorifenolin hajoamisreiteistä sekä siitä, tapahtuiko maassa hajoamisen lisäksi sitoutumista.

Tehokkaaksi hajottajaksi osoittautuneen humusmaan sekoittamista voimakkaasti kloorifenoleilla pilaantuneeseen maahan hajotustuloksen parantamiseksi on jo testattu, mutta hyvin pienen mittakaavan koejärjestelyssä. Tutkimusta voisi jatkaa tämän tutkimuksen koejärjestelyä vastaavalla kokeella, jolloin saataisiin tarkempaa tietoa siitä, onko tehokkaasti kloorifenolia hajottava mikrobikanta siirrettävissä maan lisäyksen avulla.

Olisi mielenkiintoista tutkia, kuinka nopeasti 2,3,4,6-tetrakloorifenoli ja pentakloorifenoli hajoaisivat tässä tutkimuksessa käytetyssä humusmaassa. Nämä yhdisteet ovat paljon pysyvämpiä ja haitallisempia kuin trikloorifenoli, joten niiden hajotusta tukevien menetelmien kehittäminen on erityisen tärkeää.

LÄHTEET

Baker & Mayfield. 1980. Microbial and non-biological decomposition of chlorophenols and phenol in soil. *Water, Air and Soil Pollution*, Vol.13, Iss. 4, p. 411-424 [viitattu 15.5.2009]. Saatavissa SpringerLink-tietokannassa: <http://www.springerlink.com/content/y65803g3u206u5p1>.

ETS Laboratories. 2009. Kotisivu [Viitattu 14.3.2009]. Saatavissa: <http://www.etslabs.com/images/Contentimages/chloro-chem-src.jpg>.

Goi, A., Trapido, M. & Kulik, N. 2009. Contaminated soil remediation with hydrogen peroxide oxidation. *World Academy of Science, Engineering and Technology*. Vol. 40, ISSN: 2070-3740 [viitattu 15.5.2009]. Saatavissa: <http://www.waset.org/pwaset/v40/v40-30.pdf>.

Gribble, G. 1994. The natural production of chlorinated compounds. *Environmental Science & Technology*. Vol. 28, Iss. 7, p. 310A-319A [viitattu 18.5.2009]. ACS Publications. Saatavissa: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es00056a001>.

Gribble, G. 2003. The diversity of naturally produced organohalogenes. *Chemosphere* Vol. 52 Iss. 2, 289-297 [viitattu 15.5.2009]. Saatavissa ScienceDirect-tietokannassa: <http://www.springerlink.com/content/ekbl3nh2y5r9arv0>.

Järvinen, K. 2001. Bioreaktoriprosessi kloorifenoleilla pilaantuneen pohjaveden puhdistuksessa – Kärkölä. Helsinki: Edita Oyj.

Mroueh, U., Vahanne, P., Eskola, P., Pasanen, Wahlström, M., Mäkelä, E. & Laaksonen, R. 2004. Pilaantuneiden maiden kunnostushankkeiden hallinta. VTT:n tiedote 2245 [viitattu 15.5.2009] saatavissa: <http://www.vtt.fi/inf/pdf/tiedotteet/2004/T2245.pdf>.

Reddy, G., Gelpke, M. & Gold, M. 1998. Degradation of 2,4,6-trichlorophenol by *Phanerochaete chrysosporium*: involvement of reductive dechlorination. *Journal of Bacteriology*. Vol. 180, Iss 19, p. 5159-5164 [viitattu 15.5.2009]. Saatavissa: <http://jb.asm.org/cgi/reprint/180/19/5159>.

Reinikainen, J. 2007. Maaperän kynnys- ja ohjearvojen määrittämisperusteet. Suomen ympäristö 23/2007. Helsinki: Edita Prima Oy.

Sánchez, M., Vásquez, M. & González, B. 2004. A previously unexposed forest soil microbial community degrades high levels of the pollutant 2,4,6-trichlorophenol. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 70, Iss. 12, p. 7567-7570 [viitattu 24.2.2009]. Saatavissa: <http://aem.asm.org/cgi/reprint/70/12/7567>.

Xun, L. & Webster, C. 2004. A monooxygenase catalyzes a hydrolytic reaction. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 279, Iss. 8, p. 6696–6700.

LIITTEET

LIITE 1. Alustavien analyysien tulokset

LIITE 2. Analyysissä käytetyt reagenssit ja standardit

LIITE 2. Laskukaavat

LIITE 1.

TAULUKKO 7. Alustavan analyysin tulokset ja saantoprosentit näytteelle K 3.

Yhdiste	vk 0 mg/kg ka	vk 4 mg/kg ka	vk 6 mg/kg ka	vk 12 mg/kg ka	vk 15 mg/kg ka
4-MCP	-	-	-	-	-
2,6-DCP	0,09	-	-	-	-
2,4-DCP	0,04	0,02	-	-	-
2,4,6-TCP	139	64	8,2	1,2	1,3
2,4,5-TCP	-	-	-	-	-
2,3,4,6-TeCP	0,18	-	0,02	-	-
PeCP	-	-	0,01	-	-
Saanto- %	76	61	108	69	67

(- = detektorajan alapuolelle jäävä pitoisuus)

LIITE 2.

TAULUKKO 8. Analyysissä käytetyt reagenssit, niiden valmistajat ja puhtaus.

Analyysissä käytetyt reagenssit		
Reagenssi	Valmistaja	Laatu/ puhtaus (%)
Heksaani	J.T. Baker	HPLC/ 95 %
Etikkahappoanhydridi	J.T. Baker	97 %
Kaliumkarbonaatti	Merkc	pro analysi

TAULUKKO 9. Analyysissä käytetyt standardit, niiden valmistajat, puhtaus ja käytetty liuotin.

Analyysissä käytetyt standardit				
Yhdiste	Käyttö	Valmistaja	Laatu/ puhtaus (%)	Liuotin:
3,4,5- trikloorifenoli	sisäinen standardi	Accu Standard	GC/MS/ 100 %	Asetoni
2,4,6- tribromifenoli	sisäinen standardi	Accu Standard	GC/FID/ 100 %	MeOH
2,4,6- trikloorianisoli	sisäinen- ja saantostandardi	Dr. Ehrenstorfer	HPLC/DAD/ 99 %	Asetonitriili
PCP- seos	ajostandardi	Accu Standard	GC/MS/ 98.9-100%	MeOH

LIITE 3.

Ajostandardiajosta lasketaan jokaiselle tutkittavalle yhdisteelle GC-MS-laitteen vaste R. Vaste lasketaan myös saantostandardille.

$$R = \frac{m(x) \cdot \text{int}(\text{std})}{m(\text{std}) \cdot \text{int}(x)} \quad (1)$$

missä R = tutkittavan aineen vaste (sis. std verrattuna)
 m(x) = tutkittavan aineen pitoisuus ajostandardissa
 int(std) = sisäisen standardin pinta-ala ajostandardiajossa
 m(std) = sisäisen standardin pitoisuus ajostandardissa
 int(x) = tutkittavan aineen pinta-ala ajostandardiajossa

Edellä oleva kaava käännetään toisin päin ja ratkaistaan m(x) näytteessä R:n, sisäisen standardin määrän ja näyteajon pinta-alojen avulla. Myös saantostandardin määrä lasketaan tällä kaavalla.

$$m(x) = R \cdot \frac{m(\text{std}) \cdot \text{int}(x)}{\text{int}(\text{std})} \quad (2)$$

missä m(x) = tutkittavan aineen massa näytteessä
 R = tutkittavan aineen vaste (laskettu edellä)
 int(std) = sisäisen standardin pinta-ala näytteen ajossa
 m(std) = sisäisen standardin massa näytteessä
 int(x) = tutkittavan aineen pinta-ala näytteen ajossa

Saantoprosentti (prosenttiosuus, joka alussa lisätystä sisäisestä standardista on saatu perille lopulliseen analyysiin) lasketaan lisätyn ja analysoidun saantostandardin (sstd) määristä:

$$\text{Saanto- \%} = 100 \% * (\text{sstd}_{\text{lisätty}} / \text{sstd}_{\text{analysoitu}}) \quad (3)$$

Keskihajonta laskettiin kaavalla

$$S = \sqrt{[\Sigma (x_i - \bar{x})^2 / (n - 1)]} \quad (4)$$

missä x_i = havaintoarvo
 \bar{x} = keskiarvo
 n = havaintojen lukumäärä

Suhteellinen keskihajonta laskettiin kaavalla

$$RSD = S/\bar{x} * 100 \% \quad (5)$$

missä S = keskihajonta
 \bar{x} = keskiarvo