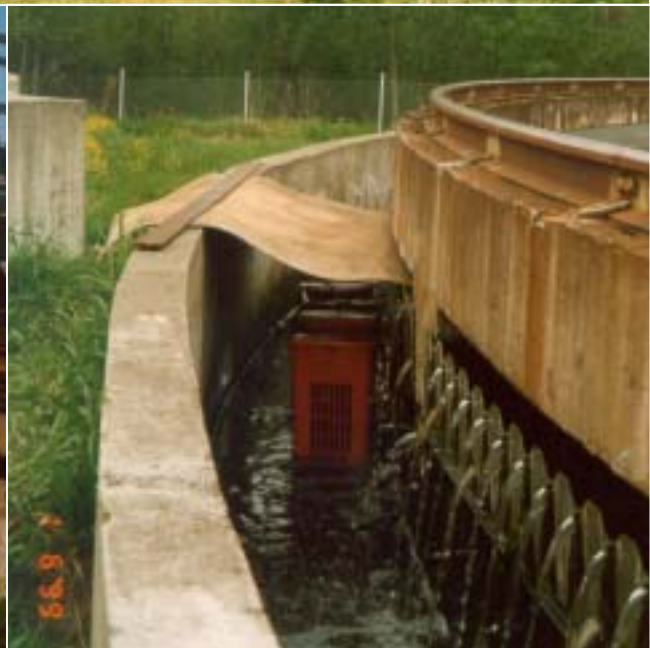




**LUONTO JA
LUONNONVARAT**

Tarja Nakari

Kunnallisten jätevesien hormonaalinen aktiivisuus



Tarja Nakari

Kunnallisten jätevesien hormonaalinen aktiivisuus

HELSINKI 2003

*Julkaisua on saatavana myös Internetistä
<http://www.ymparisto.fi/julkaisut>*

ISBN 952-1409-6 (nid.)
ISBN 952-11-1410-X
ISSN 1238-7312

Kannen kuvat: Kaisa Heinonen
Edita Prima Oy, Helsinki 2003

Sisällys

1 Johdanto	5
2 Aineisto ja menetelmät	6
3 Tulokset	8
4 Tulosten tarkastelu	13
5 Yhteenveto	14
6 Kiitokset	15
Kirjallisuus	16
Kuvailulehdet.....	18

Johdanto



Vesieläinten lisääntymishäiriöitä aiheuttavien yhdisteiden esiintymistä erilaisissa puhdistetuissa jätevesissä on tutkittu sekä Suomessa että ulkomailla. Tutkimukset osoittavat, että myös kunnalliset jätevedet saattavat olla hormonaalisesti aktiivisia. Ne sisältävät aineita, jotka vaikuttavat sukuhormonien tavoin ja häiritsevät eläinten lisääntymistoimintoja (Purdom ym. 1994, Folmar ym. 1996 ja 2001, Nichols ym. 1999, Ternes ym. 1999, Fawell ym. 2001, Körner ym. 2001).

Tämä tutkimus oli osa kansainvälistä EU-hanketta Comprehend (Community Programme of Research on Environmental Hormones and Endocrine Disrupters), jonka yhdessä osiossa pyrittiin kartoittamaan eräiden Euroopan maiden (Englanti, Hollanti, Norja, Ranska, Ruotsi, Suomi ja Sveitsi) puhdistettujen kunnallisten ja teollisuuslaitosten jätevesien hormonaalista aktiivisuutta. Tutkimuksessa keskityttiin lähinnä estrogeeni- (naarassukupuolihormonit) vaikutuksiin. Tavoitteena oli myös koota tietoa eri maiden jätevesipuhdistamoiden puhdistusmenetelmistä ja laitosten puhdistustehoista. Projektin yhteiset kunnallisia jätevesiä koskevat kansainväliset tutkimustulokset tullaan julkaisemaan sarjassa Water Research (Johnson ym., käsikirjoitus). Tähän raporttiin on koottu Suomen ympäristökeskuksen tulokset.

2

Aineisto ja menetelmät

Tutkimus alkoi keväällä 1999 ja päättyi syksyllä 2002. Jokaisessa osallistujamaassa tutkimuksiin valittiin kaksi kunnallista jätevedenpuhdistamoa, meillä Helsingin ja Lohjan jätevedenpuhdistamot. Nummelan jätevedenpuhdistamo tuli mukaan hieman myöhemmin. Vuoden 2001 aikana muutettiin Nummelan jätevedenpuhdistamon puhdistusprosessia lisäämällä siihen typenpoistoprosessi. Tämä antoi mahdollisuuden tutkia samassa laitoksessa kahdella eri menetelmällä puhdistettujen jätevesien biologisia vaikutuksia.

Helsingin ja Lohjan jätevedenpuhdistamoilla kokeet tehtiin kesäkuun 1999 alussa ja Nummelassa syyskuun 2000 ja 2002 alussa. Vuoden 2002 kokeiden aikana uusi typenpoistoprosessi oli normaalitoinnassa. Vuoden 2002 kokeiden aikana Nummelan jätevedenpuhdistamolla testattiin lähtevään jäteveeten jääneen fosforin poistoa DynaSand-suodattimen avulla. Tutkimme myös tämän jäteveden biologiset vaikutukset.

Jätevesien hormonaalisia vaikutuksia tutkittiin altistamalla viljeltyjä kirjolohenpoikasia lähtevälle jätevedelle. Ennen kirjolohialtistuksia jätevesien myrkyllisyys testattiin vesikirpputestin (ISO 6341: 1996) avulla.

Kalat laitettiin kolmeksi viikoksi puhdistettuun jäteveeten (100 %). Helsingin ja Nummelan (2002) jätevedenpuhdistamoilla altistukset tehtiin läpivirtauksella. Veden happipitoisuuden riittävyys kaloille varmistettiin ilmastamalla jätevettä. Ilmastettua jätevettä pumpattiin (6 l/min) muovisaaveihin (75 l), joissa kussakin oli 20 kalaa. DynaSand-testissä virtaus oli jonkin verran suurempi. Happipitoisuus kokeen aikana oli n. 7 ppm. Lohjalla ja Nummelassa (2000) kalat laitettiin muovisissa pyykkikoreissa (20 kpl/kori) puhdistetun jäteveden poistouomaan. Nummelassa uomassa olevaa jätevettä jouduttiin ilmastamaan. Lohjalla ilmastusta ei tarvittu. Jäteveden happipitoisuus oli Nummelassa keskimäärin 7 ppm ja Lohjalla 9 ppm. Kontrolliryhmän kalat pidettiin Suomen ympäristökeskuksen laboratoriossa käsittelemättömässä Päijänne-tunnelin vedessä koeolosuhteita vastaavissa ympäristöolosuhteissa. Testin aikana kaloja ei ruokittu.

Yleisimpien vedenlaatumuuttujien lisäksi Helsingin ja Lohjan puhdistetuista jätevesistä sekä kontrollivedestä määritettiin Hollannissa (RIZA) luonnollisten (17α -estradioli, 17β -estradioli, estroni) ja synteettisten (17α -ethinylestradioli) steroidihormonien sekä bisphenol-A:n, pitoisuudet. Sveitsissä (EAWAG) määritettiin yleisimmin käytettyjen nonylifenolietoksyylaattien (NP1EO, NP2EO ja NPnEO) ja niiden hajoamistuotteiden nonylifenolin (NP) pitoisuudet.

Altistusten jälkeen kaloista otettiin kudokset ja verinäytteet hormoni- ja vierasaineineenvaihdunnan sekä ioni- ja vesitasapainon säätelyn muutosten selvittämiseksi. Näytteenotossa kukin kala, yksi kerrallaan, tapettiin iskulla päähän. Kala mitattiin ja punnittiin. Pituuden ja painon avulla määritettiin kalan kuntokerroin. Verinäyte otettiin pyrstölaskimosta heparinoituun (ammoniumheparinaatti, Sigma) ruiskuun. Plasma erotettiin sentrifugoimalla (3 min 12000 rpm). Eroteltu plasma pakastettiin välittömästi nestetyypessä, jossa näytteet säilytettiin analysointiin asti. Kala avattiin, sappirakko poistettiin ja maksa irrotettiin, punnittiin kokoin-

deksin (MSI = kudoksen prosenttinen osuus kalan painosta) määrittämistä varten ja pakastettiin nestetyypessä. Myös maksanäytteet säilytettiin analysointiin asti nestetyypessä.

Jätevesien vaikutuksia kalojen lisääntymisaineenvaihduntaan tutkittiin määrittämällä plasman vitellogeninin, testosteronin, estradiolin ja kokonaiskolesterolin pitoisuudet. Tällä hetkellä yleisin tapa tutkia estrogeenien ja niiden kaltaisten aineiden esiintymistä on osoittaa juveniilien tai koiraskalojen vitellogeninigeenin aktivoituminen (Wallace ja Jared 1968, Sumpter ja Jobling 1995). Runsasruskuaisia munia tuottavilla eläimillä kuten kaloilla naaraiden maksa tuottaa normaalista mädin ruskuaisen esiastetta vitellogeninia (Wallace ja Jared 1968, Wallace ja Bergink 1974). Tämä vitellogeninin tuotto on estrogeenien säätelemää.

Koirailta ja juveniileilla kaloillakin on vitellogenini-geeni, mutta normaalisti näillä kaloilla veren estrogeenipitoisuus on niin matala, että geenivaikutus ei ilmene. Käsittelemällä koiraita tai nuoria kaloja estrogeeneilla tai niiden tavoin vaikuttavilla aineilla alkaa näiden kalojen maksa tuottaa tätä ruskuaisproteiinin esiastetta, joka siirtyy maksasta verenkiertoon, josta se pystytään määrittämään.

Haitta-aineiden aiheuttamat kalojen hormoniaineenvaihdunnan muutokset näkyvät kalojen plasman hormonipitoisuuksien muutosten lisäksi myös kalojen maksan vierasaine-aineenvaihdunnassa. Maksassa muokataan elimistölle vieraat samoin kuin omat rasvaliukoiset aineet vesiliukoisiksi ja helposti eritettäväksi (Dutton 1966). Tällä hetkellä yleinen tapa kuvata haitta-aineiden vaikutuksia kalan vierasaineaineenvaihduntaan on mitata kalan maksan etoksiresorufiini-O-de-etylaasin (EROD) aktiivisuutta (Goksøyr ja Förlin 1992, Goksøyr ym. 1996, Whyte ym. 2000).

Vierasaine-altistukset stressaavat kalaa ja saattavat muuttaa myös niiden vesija ionitasapainon säätelyä (Eddy 1981). Plasman proteiinipitoisuus ja ionipitoisuuksista varsinkin kalsiumin pitoisuus korreloivat positiivisesti myös plasman vitellogeninipitoisuuden kanssa. (Wallace 1970).

Plasman vitellogeninipitoisuus määritettiin ELISA:lla Biosense laboratorion ohjeen mukaisesti (Nielsen ym. 1998). Vasta-aineena käytettiin anti-salmon vitellogeninia, BN-5, ja standardina kirjolohen puhdistettua vitellogeninia (Biosense Laboratories, Norja). Plasman kalsiumin ja kokonaiskolesterolin pitoisuudet määritettiin Sigman testi-kittien avulla ja plasman proteiinipitoisuus Biuret-menetelmällä (Layne, 1957). Proteiinistandardina käytettiin naudan seerumin albumiinia. Plasman osmolarisuus mitattiin osmometrillä (The Advanced Micro-Osmometer, 3 MO). Kalojen plasma testosteroni- ja estradioli-17 β -pitoisuudet määritettiin RIA:lla (Scott ym. 1982). Tritium leimatut hormonit olivat Amershamilta (The Radiochemical centre Amersham) ja vasta-aineet Sigmalta (T-4276 and E-2885). Kalojen maksan EROD aktiivisuus määritettiin SYKEN sisäisellä menetelmällä (Burke ja Mayer 1974, Pohl ja Fouts 1980, Klotz ym. 1984, Hodson ym. 1991 ja van den Heuvel ym. 1995). 7-ethoxyresorufinin lopullinen pitoisuus Tris-puskurissa oli 2.5 μ M, ja NADPH:n 250 μ M. Maksan proteiinipitoisuus määritettiin Lowryn ym. menetelmällä (1951). Standardina käytettiin naudan seerumin albumiinia.

Kaikki määrytykset tehtiin kahtena rinnakkaisena. Tulosten tilastollinen tarkastelu tehtiin kontrollikaloihin verraten ANOVAn post-hoc testin ja kahden riippumattoman otoksen keskiarvotestin avulla.

3

Tulokset

Yksikään testattu jätevesi ei ollut akuutisti myrkyllinen vesikirpuille, eikä myöskään koekaloille. Kontrolli- ja altistettujen kalojen kuolleisuudessa ei testin aikana havaittu eroja.

Taulukkoon 1 on koottu puhdistetuista jätevesistä mitattujen yleisimpien vedenlaatumuuttujien pitoisuudet. Kokonaistyyppipitoisuutta lukuun ottamatta Lohjan ja Nummelan jätevedet näyttivät olleen parempilaatuisia kuin Helsingin. Nummelassa uuden puhdistusprosessin jälkeen lähtevän jäteveden tyyppipitoisuus oli laskenut yli 50 % vuoden 2000 pitoisuudesta.

Jätevesien laatuerot näkyivät myös niistä määritettyjen luonnollisten ja keinotekoisten hormonien sekä bisphenol-A:n (Taulukko 2) ja nonylifenoliyhdisteiden (Taulukko 3) pitoisuuksissa. Kaikkien edellä mainittujen aineiden pitoisuudet olivat Helsingin lähtevässä jätevedessä korkeammat kuin Lohjan vastaavassa.

Taulukko 1. Puhdistetuista jätevesistä mitattujen vedenlaatumuuttujien pitoisuudet (mg/l, jos muuta ei ole mainittu)

Muuttuja	Kontrolli	Lohja	Helsinki	Nummela 2000	Nummela 2002	DynaSand 2002
BOD ₇		<3,0 * 98 %	6,2 * 97 %	<3,0 * >99 %		
COD	5,1	<30 * 92 %	50,8	<30 * >96 %		
KmnO ₄	20		50,7			
Kiintoaine	0,3	8,4	7,3 * 98 %	3	4,1	<1
Kok.-P	0,007	0,3 * 98 %	0,47 * 92 %	0,086 * 99 %	0,094	0,019
PO ₄ -P		0,12	0,27	0,057	0,067	0,018
Kok.-N	0,41	26 * 33 %	16 * 60 %	54 * 43 %	24 * 70 %	
NH ₄ -N	<0,01	0,034	1,0 * 97 %	<0,01	0,104	
Alkalinit. (mmol/l)	0,3	0,62	1,6	1,8	0,96	
pH	7,1	7,3	6,7	7,6	6,2	
Sähkönjohtavuus (mS/m)	7,6	60	69	110		
Fe	0,03	0,68	0,6	0,16		
t °C	10	14	15	16	16,7	16,7
Happol. Al						0,087

* = poistumaprosentti

Taulukko 2. 17 α -estradiolin, 17 β -estradiolin, estronin, 17 α -ethinylestradiolin ja bisphenol-A:n pitoisuudet (ng/l)

	17 α -estradioli	17 β -estradioli	estroni	17 α -ethinyl-estradioli	bisphenol-A
Kontrolli	<0,4	<0,6	<0,2	<0,4	<11
Helsinki	<0,3	<0,8	2,8	1,1	610
Lohja	<0,3	<0,8	<0,3	<0,3	<12

Taulukko 3. Nonylifenolien (NP) ja nonylifenolietoksyylaattien (NP1EO, NP2EO, NPnEO) pitoisuudet ($\mu\text{g/l}$).

	NP	NP1EO	NP2EO	NPnEO
Kontrolli	0,08	n.d.	n.d.	2,3
Helsinki	0,54	0,71	0,69	3,0
Lohja	0,13	n.d.	0,15	3,8

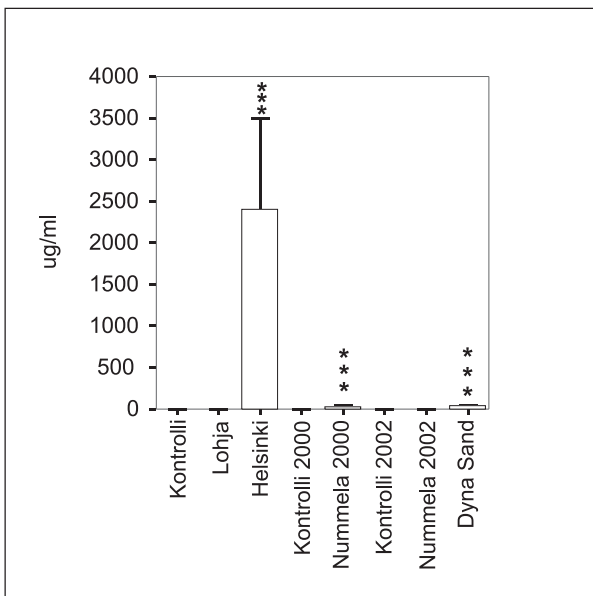
n.d. ei havaittu

Plasman vitellogenini pitoisuuden kohoaminen Helsingin, Nummelan (2000) ja DynaSand kokeen jätevesissä altistetuissa kaloissa (Kuva 1) osoitti näiden jätevesien sisältävän estrogeenien tavoin vaikuttavia aineita. Nummelan ja DynaSand kokeen kaloissa plasman vitellogenini-pitoisuudet olivat kuitenkin paljon alhaisemmat kuin Helsingissä altistetuissa kaloissa. Jätevedet aiheuttivat myös kalojen plasman kolesterolipitoisuuksien nousun, merkitsevästi kuitenkin vain Nummelassa ja Helsingissä altistetuissa kaloissa (Kuva 2).

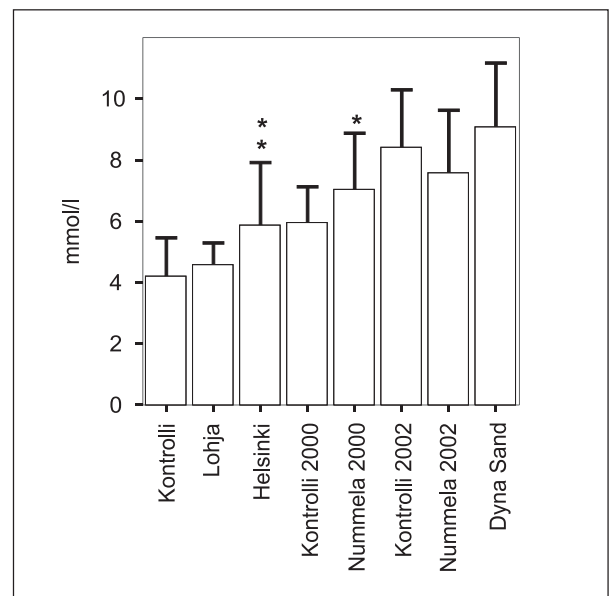
Helsingin jäteveden estrogeeniaktiivisuuteen viittasi myös kalojen plasman estradiolipitoisuuden kohoaminen (Kuva 3). Muiden ryhmien kaloissa tätä muutosta ei havaittu. Kalojen plasman testosteronipitoisuuteen (Kuva 4) näytti ainoastaan Lohjan jätevesi vaikuttaneen. Pitoisuus oli laskenut merkitsevästi.

Kaikki jätevedet kohottivat altistettujen kalojen maksan EROD-aktiivisuutta (Kuva 5). Maksan proteiinipitoisuus oli kohonnut vain Nummelassa altistetuilla kaloilla (Kuva 6), mikä on yhdenmukaista näiden kalojen erittäin merkitsevän vierasaineainenvaihdunnan lisääntymisen ja kalojen maksan painon (Kuva 7) sekä maksan somaattisen indeksin (Kuva 8) laskun kanssa.

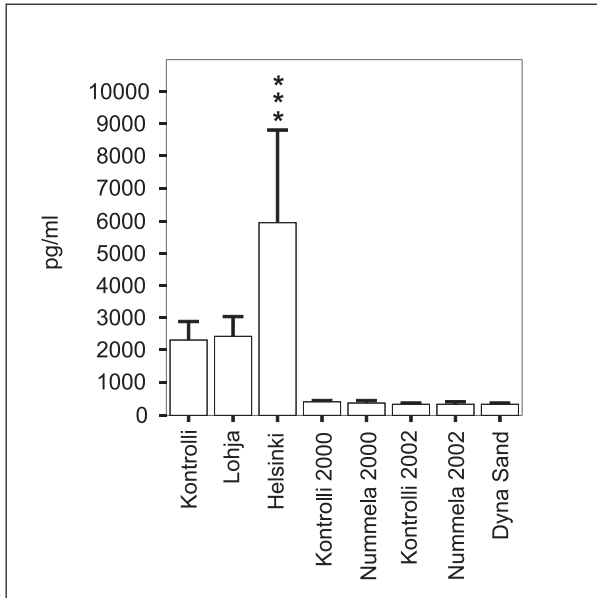
Tutkimustulosten perusteella voidaan sanoa, että Lohjalla, Helsingissä ja Nummelassa (2000) altistetut kalat kuluttivat altistuksen aikana huomattavasti enemmän energiaa kuin kontrolliryhmän kalat. Kalat laihtuivat kokeen aikana, mikä näkyi kalojen painoissa (Kuva 9), mutta varsinkin niiden kuntokertoimissa (Kuva 10). Vuoden 2002 testeissä käytetyt kalat olivat pienempiä kuin muissa kokeissa käytetyt, mikä näkyy kuvassa 9.



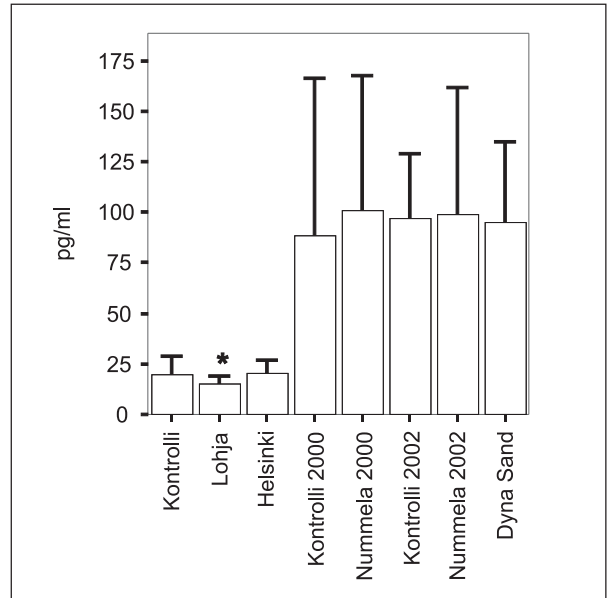
Kuva 1. Kalojen plasman vitellogeninipitoisuus (keskiarvo \pm SD). *** = $p < 0.001$



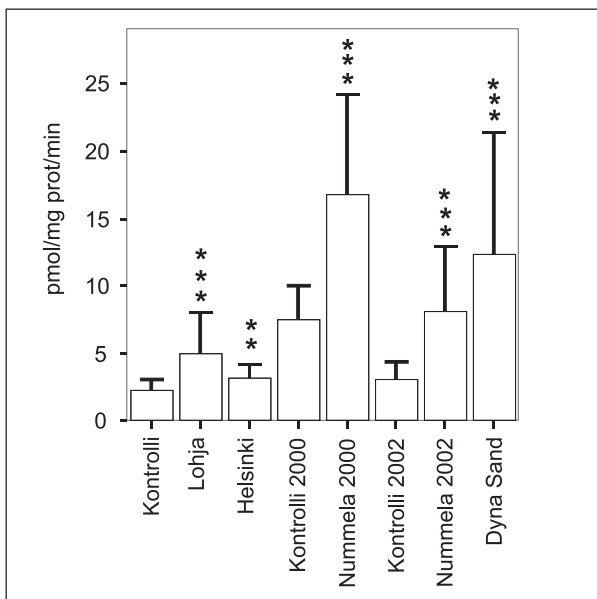
Kuva 2. Kalojen plasman kolesterolipitoisuus (keskiarvo \pm SD). ** = $p < 0.01$, * = $p < 0.05$



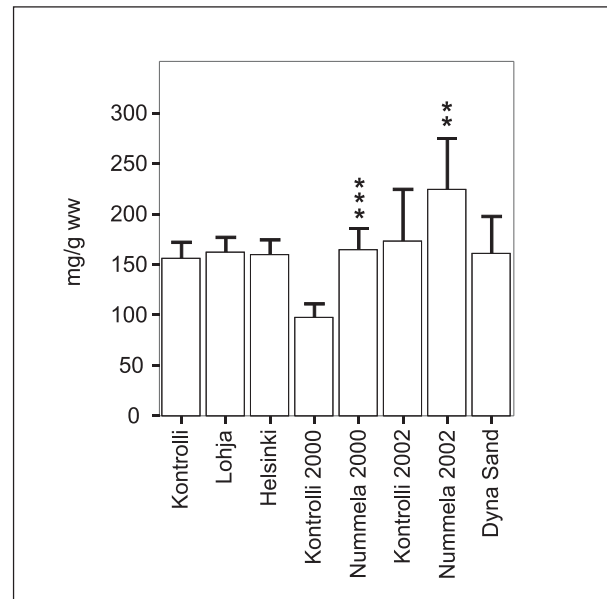
Kuva 3. Kalojen plasman estradioli-17 β -pitoisuus (keskiarvo \pm SD). *** = $p < 0.001$



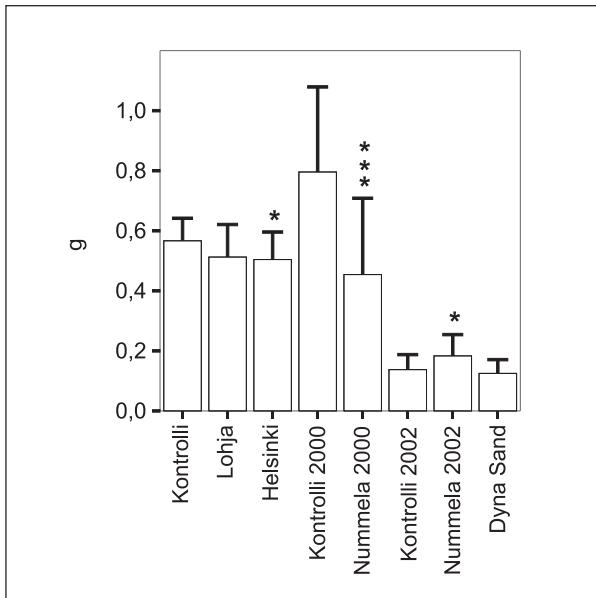
Kuva 4. Kalojen plasman testosteronipitoisuus (keskiarvo \pm SD). * = $p < 0.05$



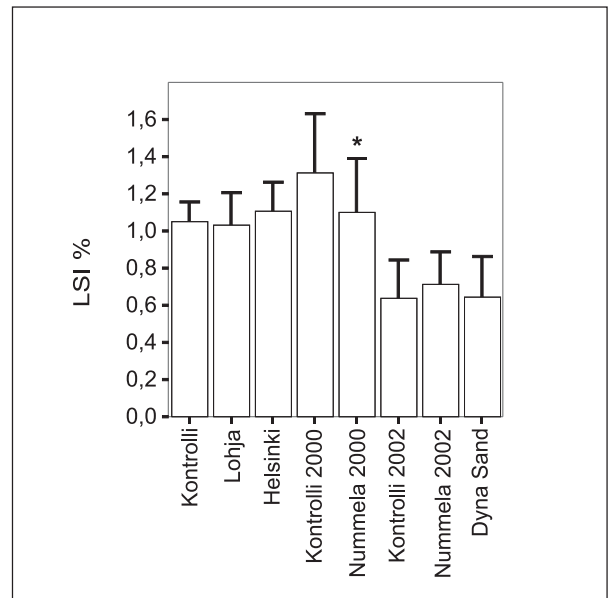
Kuva 5. Kalojen maksan EROD-aktiivisuus (keskiarvo \pm SD). *** = $p < 0.001$, ** $p < 0.01$.



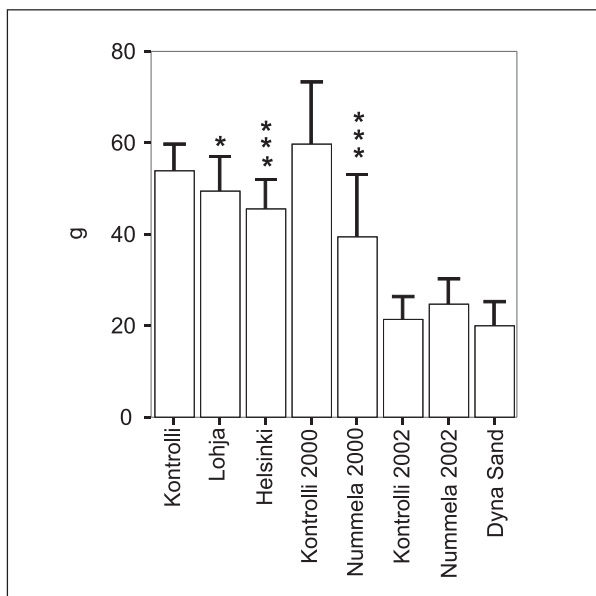
Kuva 6. Kalojen maksan proteiinipitoisuus (keskiarvo \pm SD). *** = $p < 0.001$, ** $p < 0.01$.



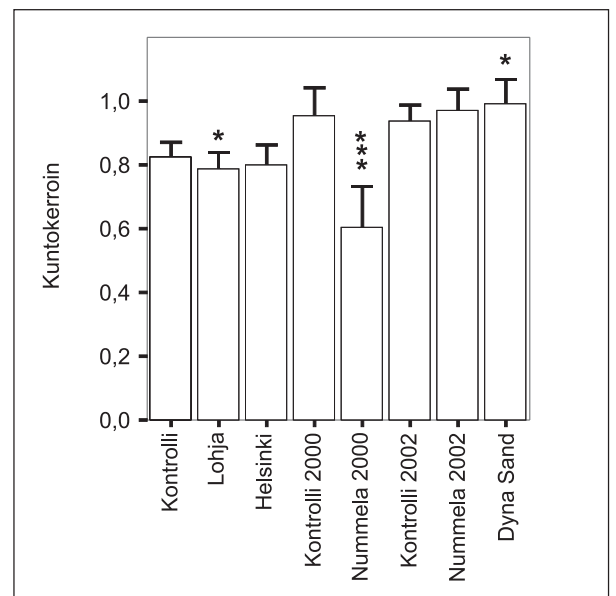
Kuva 7. Kalojen maksan paino (keskiarvo \pm SD). *** = $p < 0.001$, * $p < 0.05$.



Kuva 8. Kalojen maksan LSI (keskiarvo \pm SD). * $p < 0,05$

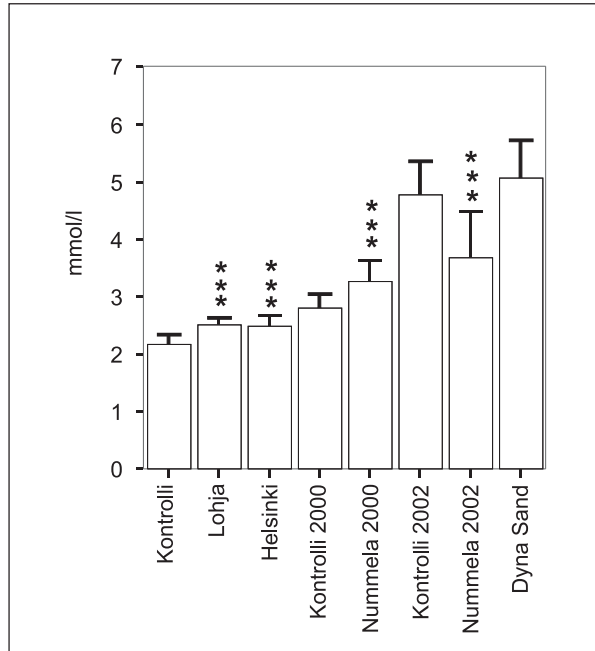


Kuva 9. Kalojen paino (keskiarvo \pm SD). *** $p < 0.001$, * $p < 0,05$

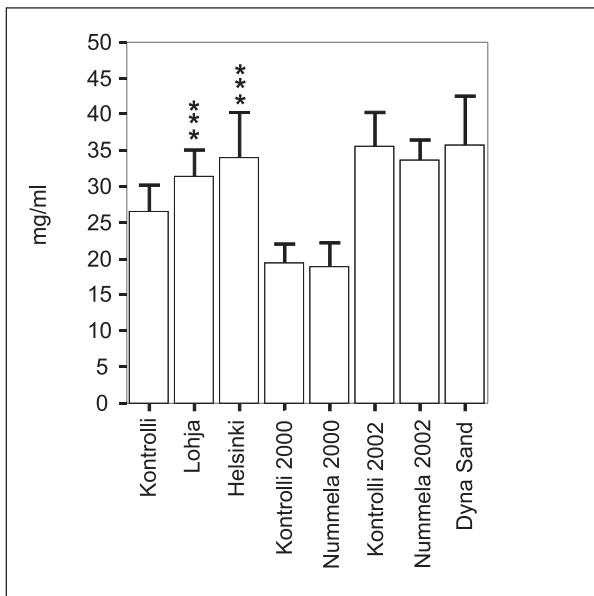


Kuva 10. Kalojen kuntokerroimet (keskiarvo \pm SD). *** $p < 0.001$, * $p < 0,05$

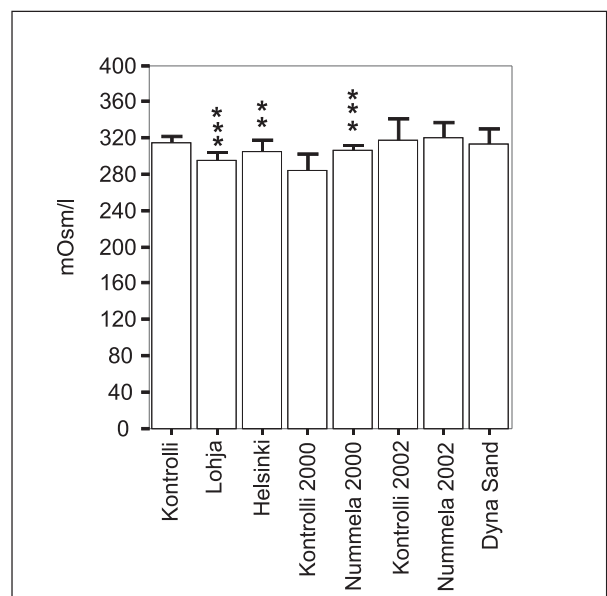
Kalojen ionitasapainon muutoksiin Lohjalla, Helsingissä ja Nummelassa (2000) viittaa näiden kalojen plasman osmolaarisuuden kohoamisen (Kuva 13) lisäksi plasman kalsium ja proteiinipitoisuuksien muutokset. Plasman kalsiumpitoisuus (Kuva 11) oli kohonnut kaikissa muissa testikaloissa paitsi Nummelassa 2002 altistetuissa, joissa se oli laskenut. Plasman proteiinipitoisuus oli kohonnut Lohjan ja Helsingin jätevesissä altistetuissa kaloissa (Kuva 12).



Kuva 11. Kalojen plasman kalsiumpitoisuus (keskiarvo \pm SD). *** $p < 0.001$.



Kuva 12. Kalojen plasman proteiinipitoisuus (keskiarvo \pm SD). *** $p < 0.001$.



Kuva 13. Kalojen plasman osmolaarisuus (keskiarvo \pm SD). *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$.

Tulosten tarkastelu

Estrogeenien ja niiden tavoin vaikuttavien aineiden on osoitettu aiheuttavan juveniileille ja koiraskaloille hormoniaineenvaihdunnallisia muutoksia kuten plasman estradioli- ja vitellogeninipitoisuuden nousua ja plasman testosteronipitoisuuden laskua (Wallace ja Jared 1968, Sumpter ja Jobling 1995, Folmar ym. 1996, 2001). Tähän viitaten voidaan Helsingin, Nummelan (2000) sekä DynaSand-kokeen jätevesissä altistetuissa kaloissa havaittujen hormoniaineenvaihdunnallisten muutosten olettaa aiheutuneen jätevesien estrogeeniaktiivisuudesta.

Eri jätevedenpuhdistamoilla altistettujen kalojen erilaiset aineenvaihdunta-muutokset osoittivat jätevesien olleen laadullisesti erilaisia. Tämä näkyi selvästi myös jätevesistä tehdyissä vesianalyysituloksissa. Typpipitoisuutta lukuun ottamatta normaalit vesianalyysitulokset osoittivat Helsingin jäteveden olleen huonompilaatuista kuin kahden muun testatun laitoksen. Estrogeenisten steroidien ja nonylifenolilyhdisteiden, joita oli eniten Helsingin jätevedessä tiedetään kaikkien aiheuttavan kaloille lisääntymishäiriöitä (Sumpter ja Jobling 1995, Jobling ym. 1996, Arukwe ym. 1997 a, Christiansen ym. 1998, Lindholst ym. 2000, Yokota ym. 2000, Metcalfe ym. 2001, Tanaka ja Grizzle 2002). Lohjalla ja Nummelassa (2000) typpipitoisuutta lukuun ottamatta jätevedet olivat melko samanlaatuiset, joten voidaan olettaa, että jotkut tyyppiä sisältävät yhdisteet ovat olleet syy Nummelan jäteveden silloiseen estrogeeni-aktiivisuuteen. Tätä tukevat vuoden 2002 testitulokset. Jäteveden typpipitoisuuden pudottua yli puoleen vuoden 2000 pitoisuudesta, siitä ei löytynyt enää mitattavaa estrogeeniaktiivisuutta.

Kalojen maksan vierasaineaineenvaihdunnan erot olivat myös osoitus jätevesien laatueroista. Lohjalla ja Nummelassa kalojen maksan EROD-aktiivisuudet olivat korkeammalla tasolla kuin Helsingissä altistettujen kalojen. Tämä on saattanut olla syy näiden kalojen alhaisempaan plasman vitellogeninipitoisuuteen ja Lohjalla kalojen plasman alentuneeseen testosteronipitoisuuteen. Tätä tukevia tuloksia, ovat saaneet sekä Arukwe ym. (1997 b), Gagne ja Blaise (1999) sekä Folmar ym. (2001).

Se miten DynaSand-suodatin vaikutti jäteveteen muuttaen sen hormonaalisesti aktiiviseksi ei tässä tutkimuksessa selvinnyt. DynaSand-suodattimen läpi menneessä jätevedessä oli melko runsaasti alumiinia. Alumiinin kirjolohelle aiheuttama akuutti myrkyllisyys (28 päivän LC50-arvo) on 0,56 mg/l (Birge ym. 1980). Joitakin tutkimuksia on tehty raskasmetallien aiheuttamista lisääntymishäiriöistä (Brown ym. 1994, Ellenberger ym. 1994), mutta aiheuttaako alumiini niitä suoraan tai välillisesti ei tällä hetkellä tiedetä. Tulostemme perusteella tämä näyttäisi vaativan lisätutkimuksia.

5

Yhteenveto

Tulokset osoittivat, että erilaiset jätevedenpuhdistamot tuottivat erilaisia jätevesiä, jotka muuttivat eri lailla kalojen normaalia aineenvaihduntaa ja elintoimintoja. Yksikään jätevesi ei kuitenkaan ollut akuutisti myrkyllinen kaloille.

Jätevedet sisälsivät aineita, jotka olivat hormonaalisesti aktiivisia ja muuttivat kalojen lisääntymisaineenvaihdunnan lisäksi myös muuta aineenvaihduntaa. Aineenvaihdunnan aktivoituminen näkyi lisääntyneenä energiankulutuksena ja kalojen laihtumisena. Jäteveden laatu vaikutti suuresti kalojen aineenvaihduntaan, mikä näkyi Comprehend-projektin kaikissa tuloksissa. Mitä huonompilaa-tuista puhdistettu jätevesi oli, sitä todennäköisempää oli, että se oli myös hormonaalisesti aktiivista.

Jätevedenpuhdistamoilla kokeet tehtiin laimentamattomalla lähtevällä jätevedellä. Tutkittavaksi jää, miten vaikutukset muuttuvat jätevettä vastaanottavissa vesistöissä jätevesien laimentuessa. Laboratoriossa tehdyissä *in vitro* testeissä Helsingin ja Nummelan (2000) jätevedet osoittautuivat kuitenkin laimennettuinkin hormonaalisesti aktiivisiksi. Lisäksi seeprakalan monisukupolvi-testeissä vielä 20 % Helsingin lähtevä jätevesi muutti poikasten sukupuolijakauman naarasvoittoiseksi. (Comprehend, 3. vuosiraportti, 2002).

6

Kiitokset

Kiitän miellyttävästä yhteistyöstä kaikkia niitä henkilöitä, jotka ovat myötävaikuttaneet tutkimuksen onnistumiseen, ketään erikseen mainitsematta, mutta ketään myöskään unohtamatta.

Työ rahoitettiin osaksi EU-varoin (projekti COMPREHEND).

Kirjallisuus

- Arukwe A., Knudsen F.R. & Goksøyr A. 1997a. Fish *zona radiata* (eggshell) protein: a sensitive biomarker for environmental estrogens. *Environ. Health. Perspect.* 105, 418-422.
- Arukwe A., Förlin L. & Goksøyr A. 1997b. Xenobiotic and steroid biotransformation enzymes in Atlantic salmon (*Salmo salar*) liver treated with an estrogenic compound, 4-nonylphenol. *Environ. Toxicol. Chem.* 16, 2576-2583.
- Birge W.J., Black J.A., Hudson J.E. & Bruser D.M. 1980. Aquatic toxicity tests in inorganic elements occurring in oil shale. EPA 600/9-80-022. NTIS, Dep. of Commerce, Springfield, Va.
- Brown V., Shurben D., Miller W. & Crane M. 1994. Cadmium toxicity to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walbaum and brown trout *Salmo trutta* L. over extended exposure period. *Ecotox. environ. Saf.* 29, 38-46.
- Burke M.D. & Mayer R.T. 1974. Ethoxyresorufin: Direct fluorometric assay of a microsomal O-dealkylation which is preferentially inducible by 3-methylcholanthrene. *Drug. Metab. Dispos.* 2 (6), 583-588.
- Christiansen T., Korsgaard B. & Jespersen A. 1998. Effects of nonylphenol and 17beta-estradiol on vitellogenin synthesis, testicular structure and cytology in male eelpout *Zoarces viviparus*. *J. Exp. Biol.* 201, 179-192.
- Comprehend. 2002. Year 3 Annual Report (January 2002). CEH, UK.
- Dutton G.J. (ed.) 1966. The biosynthesis of glucuronides. Glucuronic acid, free and combined. Academic Press New York.
- Eddy F.B. 1981. Effects of stress on osmotic and ionic regulation in fish. In Pickering A.D: (ed), *Stress and Fish*. Academic Press, London.
- Ellenberger S.A., Baumann P.C. & May T.W. 1994. Evaluation of effects caused by high copper concentrations in Torch lake, Michigan on reproduction of yellow perch. *J. Great Lakes Res.* 20 (3), 531-536.
- Fawell J.K., Sheahan D., James H.A., Hurst M. & Scott S. 2001. Oestrogens and oestrogenic activity in raw and treated water in Severn Trent Water. *Wat. Res.* 35, (5), 1240-1244.
- Folmar L.C., Denslow N.D., Kroll K., Orlando E.F., Enblom J., Marcino J., Metcalfe C. & Guillette L.J. Jr. 2001. Altered serum sex steroids and vitellogenin induction in walleye (*Stizostedion vitreum*) collected near a Metropolitan sewage treatment plant. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40, 392-398.
- Folmar L.C., Denslow N.D., Rao V., Chow M., Crain D.A., Enblom J., Marcino J. & Guillette L.J. Jr. 1996. Vitellogenin induction and reduced serum testosterone concentrations in feral male carp (*Cyprinus carpio*) captured near a major metropolitan sewage treatment plant. *Environ. Health Perspect.* 104, 1096-1101.
- Gagne' F. & Blaise C. 1999. Toxicological effects of municipal wastewaters to rainbow trout hepatocytes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 63, 503-510.
- Goksøyr A. & Förlin L. 1992. The cytochrome P-450 system in fish, aquatic toxicology and environmental monitoring. *Aquat. Toxicol.* 22, 287-312.
- Goksøyr A., Beyer J., Egaas E., Grøsvick B.E., Hylland K., Sandvik M. & Skaare J.U. 1996. Biomarker responses in flounder (*Platichthys flesus*) and their use in pollution monitoring. *Mar. Pollut. Bull.* 33, 36-45.
- van den Heuvel M.R. ja Munkittrick K.R., Stegeman J.J. & Dixon D.G. 1995. Second-round interlaboratory comparison of hepatic ethoxyresorufin-O-deethylase activity in white sucker (*Castostomus commersoni*) exposed to bleached kraft pulp mill effluent. *Environ. Toxicol. Chem.* 14, 1513-1520.
- Hodson P.V., Kloepper-Sams P.J., Munkittrick K.R., Lochart W.L., Metner D.A., Luxon P.L., Smith I.R., Gagnon M.M., Servos M. & Payne J.F. 1991. Protocols for measuring mixed function oxygenases of fish liver. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.* 1829.
- ISO 6341, 1996. Water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Staus (*Cladocera, Crustacea*).
- Jobling S., Sheahan D., Osborne J.A., Matthiessen P. & Sumpter J.P. 1996. Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 194-202.

- Johnson A.C., Aerni, H-R., Eggen R.I.L., Gerritsen A., Gibert M., Hylland K., Jürgens M., Nakari T., Pickering A., Rutishauser B., Suter M.-J. & Svenson A. 2001. Comparing steroid estrogen, and nonylphenol content across a range of European sewage plants with different treatment and management practices.
- Klotz A.V., Stegeman J.J. & Walsh C. 1984. An alternative 7-ethoxyresorufin-O-deethylase activity assay: A continuous visible spectrophotometric method for measurement of cytochrome P-450 monooxygenase activity. *Anal. Biochem.* 107, 150-155.
- Körner W., Spengler P., Bolz U., Schuller W., Hanf W. & Metzger J.W. 2001. Substances with estrogenic activity in effluents of sewage treatment plants in southwestern Germany. 2. Biological analysis. *Environ. Toxicol. Chem.* 20, (10), 2142-2151.
- Layne E. 1957. Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. In: Colowick S. and Kaplan N. (eds). *Methods of Enzymology*. 1 ed. 445-454.
- Lindholm C., Pedersen K.L. & Pedersen S.N. 2000. Estrogenic response of bisphenol A in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Toxicol.* 48, 87-94.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. & Randall R.J. 1951. Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
- Metcalfe C.D., Metcalfe T.L., Kiparissis Y., Koenig B.G., Khan C., Hughes R.J., Croley T.R., March R.E. & Potters T. 2001. Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by *in vivo* assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environ. Toxicol. Chem.* 20, 297-308.
- Nichols K.M., Miles-Richardson S.R., Snyder E.M. & Giesy J.P. 1999. Effects of exposure to municipal wastewater *in situ* on the reproductive physiology of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 2001-2012.
- Nielsen, B., Berg, K., Arukwe, A. & Goksøyr, A., 1998. Monoclonal and polyclonal antibodies against fish vitellogenin for the use in pollution monitoring. *Marine Environ. Res.* 46, 153-157.
- Pohl R.J. & Fouts J.R. 1980. A rapid method for assaying the metabolism of 7-ethoxyresorufin by microsomal subcellular fractions. *Anal. Biochem.* 140, 138-145.
- Purdum C.E., Hardiman P.A., Bye V.J., Eno N.C., Tyler C.R. & Sumpter J.P. 1994. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chem. Ecol.* 8, 275-285.
- Scott A.P., Sheldrick E.L. & Flint A.P.F. 1982. Measurement of 17 α ,20 α -dihydroxy-4-pregnen-3-one in plasma of trout (*Salmo gairdneri* R.); seasonal changes and response to salmon pituitary extract. *Gen. Comp. Endocrinol.* 46, 444-451.
- Sumpter J.P. & Jobling S., 1995. Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environ. Health Perspect.* 7, 173-178.
- Tanaka J.N. & Grizzle J.M. 2002. Effects of nonylphenol on the gonadal differentiation of the hermaphroditic fish, *Rivulus marmoratus*. *Aquat. Toxicol.* 57, 117-125.
- Ternes T.A., Stumpf M., Mueller J., Haberer K., Wilken R.-D. & Servos M. 1999. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada, Brazil. *The Science of the Total Environ.* 225, 81-90.
- Wallace R.A. 1970. Studies on amphibian yolk IX. *Xenopus* vitellogenin. *Biochim. Biophys. Acta* 215, 176-183.
- Wallace R.A. & Jared D.W. 1968. Studies on amphibian yolk. VII. Serum phosphoprotein synthesis by vitelloblastic females and estrogen-treated males *Xenopus laevis*. *Can. J. Biochem.* 46, 953-959.
- Wallace R.A. & Bergink E.W. 1974. Amphibian vitellogenin: Properties, hormonal regulation of hepatic synthesis and ovarian uptake, and conversion to yolk proteins. *Amer. Zool.* 14, 1159-1175.
- Whyte J.J., Jung R.E., Schmitt C.J. & Tillitt D.E. 2000. Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in fish as a biomarker of chemical exposure. *Crit. Rev. Toxicol.* 30, 347-570.
- Yokota H., Tsuruda Y., Maeda M., Oshima Y., Tadokoro H., Nakazono A., Honjo T. & Kobayashi K. 2000. Effect of bisphenol A on the early life stage in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 1925-1930.

Kuvailulehti

Julkaisija	Suomen ympäristökeskus	Julkaisu-aika Kesäkuu 2003
Tekijä(t)	Tarja Nakari	
Julkaisun nimi	Kunnallisten jätevesien hormonaalinen aktiivisuus	
Julkaisun osat/ muut saman projektin tuottamat julkaisut	Julkaisu on saatavana myös internetistä. http://www.ymparisto.fi/julkaisut	
Tiivistelmä	<p>Tutkimuksessa selvitettiin puhdistettujen kunnallisten jätevesien mahdollista estrogeeni-aktiivisuutta. Tutkimukseen valittiin kolme kunnallista jätevedenpuhdistamoa, joiden 100 % lähtevässä jätevedessä altistettiin kirjolohen poikasia kolmen viikon ajan. Tutkimustulokset osoittivat, että erilaiset jätevedenpuhdistamot tuottivat erilaisia jätevesiä, jotka muuttivat eri lailla kalojen normaalia aineenvaihduntaa ja elintoimintoja. Yksikään jätevesi ei kuitenkaan ollut akuutisti myrkyllinen kaloille. Jätevedet sisälsivät hormonaalisesti aktiivisia aineita, jotka muuttivat kalojen lisääntymisaineenvaihdunnan lisäksi myös niiden muuta aineenvaihduntaa. Koska kokeet tehtiin laimentamattomalla lähtevällä jätevedellä tutkittavaksi jää, miten vaikutukset muuttuvat jätevesiä vastaanottavissa vesistöissä jätevesien laimentuessa.</p>	
Asiasanat	jätevedet, kunnat, hormonit, estrogeenit, kalat	
Julkaisusarjan nimi ja numero	Suomen ympäristö 626	
Julkaisun teema	Luonto- ja luonnonvarat	
Projektihankkeen nimi ja projektinumero	Kemikaalien aiheuttamat kalojen lisääntymishäiriöt	
Rahoittaja/ toimeksiantaja		
Projektiryhmään kuuluvat organisaatiot		
	ISSN 1238-7312	ISBN 952-11-1409-6 (nid.) 952-11-1410-X (PDF)
	Sivuja 20	Kieli Suomi
	Luottamuksellisuus Julkinen	Hinta 6e
Julkaisun myynti/ jakaja	Edita Publishing Oy, PL 800, 00043 EDITA, vaihde 020 450 00, Asiakaspalvelu: puh. 020 450 05, telefax 020 450 2380, sähköpostiosoite: asiakaspalvelu@edita.fi, www-palvelin: http://www.edita.fi/netmerket	
Julkaisun kustantaja	Suomen ympäristökeskus, PL 140, 00251 Helsinki	
Painopaikka ja -aika	Edita Prima Oy, Helsinki 2002	

Presentationsblad

Utgivare	Finlands miljöcentral	Datum Juni 2003	
Författare	Tarja Nakari		
Publikationens titel	Kunnallisten jätevesien hormonaalinen aktiivisuus (Den hormonella aktiviteteten i kommunalt avloppsvatten)		
Publikationens delar/ andra publikationer inom samma projekt	Publikationen finns även på internet. http://www.ymparisto.fi/julkaisut		
Sammandrag	I undersökningen utreddes den eventuella östrogenaktiviteten i renat kommunalt avloppsvatten. För undersökningen valdes tre kommunala vattenreningsverk, i vilkas 100% renade avloppsvatten regnbågsyngel utsattes i tre veckors tid. Resultaten visar, att olika reningsverk producerade olika avloppsvatten, som ändrade fiskarnas normala livsfunktioner och ämnesomsättning på olika sätt. Inget av avloppsvattnen var akut giftigt för fiskarna. Avloppsvattnen innehöll hormonalt aktiva ämnen som ändrade förutom fiskarnas förkningsämnesomsättning också den övriga ämnesomsättningen. Eftersom testerna gjordes med utspädd avgående avloppsvatten, återstår att undersöka, hur effekterna ändras i recipientvattendragen då avloppsvattnen späds ut.		
Nyckelord	avloppsvatten, kommuner, hormoner, östrogen, fisk		
Publikationsserie och nummer	Miljön i Finland 626		
Publikationens tema	Natur och naturtillgångar		
Projektets namn och nummer			
Finansiär/ uppdragsgivare			
Organisationer i projektgruppen			
	ISSN 1238-7312	ISBN 952-11-1409-6	952-11-1410-X (PDF)
	Sidantal 20		Språk Finska
	Offentlighet och andra villkor	Offentlig	Pris 6 EUR
Beställningar/ distribution	Edita Publishing Ab, PB 800, FIN-00043 EDITA, Finland Postförsäljningen: Telefon + 358 20 450 05, telefax + 358 20 450 2380 e-mail: asiakaspalvelu@edita.fi , www-server: http://www.edita.fi/netmarket		
Förläggare	Finlands miljöcentral, PL 140, 00251 Helsingfors		
Tryckeri/ tryckningsort och -år	Edita Prima Ab, Helsingfors 2002		

Documentation page

Publisher	Finnish Environment Institute	Date Juni 2003
Author(s)	Tarja Nakari	
Title of publication	Kunnallisten jätevesien hormonaalinen aktiivisuus (Estrogenicity of effluents of municipal sewage treatment plants)	
Parts of publication/ other project publications	The publication is also available in the internet. http://www.ymparisto.fi/julkaisut	
Abstract	The study examined the estrogenic activity of effluents from three municipal sewage treatment plants. Juvenile rainbow trout were exposed for three weeks to 100 % effluents. The metabolic differences observed in the exposed fish were due to the tested effluents, which originated from different processes and sources. None of the tested effluents was acutely toxic to the fish. Effluents contained substances that were estrogenic active and changed the reproduction metabolism of the fish. Tests were performed with undiluted effluents, so the effects remained to be studied in the receiving water systems after the dilution of the effluents.	
Keywords	municipal sewage treatment plant, estrogen activity, fish	
Publication series and number	The Finnish Environment 626	
Theme of publication	Nature and natural resources	
Project name and number, if any	Effects of endocrine disrupting substances on fish reproduction	
Financier/ commissioner		
Project organization		
	ISSN 1238-7312	ISBN 952-11-1409-6 952-11-1410-X (PDF)
	No. of pages 20	Language Finnish
	Restrictions Public	Price 6 EUR
For sale at/ distributor	Edita Publishing Ltd. P.O.Box 800, FIN-00043 EDITA, Finland Phone +358 20 450 00, telefax +358 20 450 2380, e-mail: asiakaspalvelu@edita.fi www-server: http://www.edita.fi/netmarket	
Financier of publication	Finnish Environment Institute, P.O.BOX 140, 00251 Helsinki, Finland	
Printing place and year	Edita Prima Ltd, Helsinki 2002	

**LUONTO JA
LUONNONVARAT****Kunnallisten jätevesien hormonaalinen aktiivisuus**

Raportissa esitetyssä tutkimuksessa selvitettiin kolmen kunnallisen jätevedenpuhdistamon puhdistettujen jätevesien hormonaalisia vaikutuksia kalanpoikasiin. Tutkimuksen tarkoituksena oli tuottaa tietoa puhdistettujen jätevesien mahdollisesta hormoniaktiivisuudesta. Vesistöihin johdettavissa jätevesissä saattaa olla aineita, jotka vaikuttavat estrogeenien eli naissukupuolihormonien tavoin. Tällaiset aineet voivat estää tai muuttaa kalan omaa luonnollista hormonitoimintaa ja vaikeuttaa näin niiden lisääntymistä, jopa vääristää sukupuolijakaumaa.

Julkaisua on saatavissa myös Internetissä:
<http://www.ymparisto.fi/julkaisut>

ISBN 952-11-1409-6
ISBN952-11-1410-X (PDF)
ISSN 1238-7312

Edita Publishing Oy
PL 800, 00043 EDITA, vaihde 020 450 00
Asiakaspalvelu:
puhelin 020 450 05, faksi 020 450 2380
Edita-kirjakauppa Helsingissä:
Annankatu 44, puhelin 020 450 2566