

# Toksisuustestauksen soveltuvuus suomalaisten yhdyskuntajätevesien tarkkailuun ja haitallisten aineiden riskinarviointiin

**Eija Schultz, Pauli Kärkkäinen, Markus Sillanpää ja Pirjo Sainio**



# Toksisuustestauksen soveltuvuus suomalaisten yhdyskuntajätevesien tarkkailuun ja haitallisten aineiden riskinarviointiin

**Eija Schultz, Pauli Kärkkäinen, Markus Sillanpää, Pirjo Sainio**



S Y K E

SUOMEN YMPÄRISTÖKESKUKSEN RAPORTTEJA 7 | 2014  
Suomen ympäristökeskus  
Laboratoriokeskus

Taitto: Ritva Väisänen

Julkaisu on saatavana ainoastaan internetistä: [www.syke.fi/julkaisut](http://www.syke.fi/julkaisut) | [helda.helsinki.fi/syke](http://helda.helsinki.fi/syke)

ISBN 978-952-11-4278-9 (PDF)  
ISSN 1796-1726 (verkkokj.)

## ALKUSANAT

Yhdyskuntien ja teollisuuslaitosten jätevedet sisältävät monenlaisia vaarallisia kemikaaleja, joiden riskinarviointi ja tarkkailu yksittäin ei ole mahdollista. Tämän seoksen haitallisuuden mittaamista varten kehitettyä jätevesien myrkyllisyyden tarkkailumenetelmää (Whole Effluent Assessment, WEA) on jo käytetty yksittäisissä selvityksissä Suomessa, mutta menetelmä on ollut paljon yleisemmässä käytössä esim. Saksassa ja Yhdysvalloissa. WEA-menettelyssä pyritään luonnehtimaan jätevesien vaikutusta vesieliöihin ja siten arvioimaan vaaraa tai haittaa, joka jätevedestä ympäristöön kohdistuu. Koe-eliöt joutuvat kosketuksiin kaikkien jätevedessä olevien aineiden kanssa samanaikaisesti, mikä on sama tilanne, johon vastaanottavan vesistön eliöt joutuvat. Tällöin saadaan selville eri yhdisteiden yhteisvaikutukset, mikä ei pitoisuusmääritysten pohjalta ole toistaiseksi mahdollista. Siten tämä raportti tukee kemiallisten yhdisteiden yhteisvaikutusten osalta hallitusohjelmassa mainittua tavoitetta ”Arvioidaan uusien esille nousseiden aiheiden, kuten nanomateriaalien, hormonitoimintaa häiritsevien aineiden ja kemikaalien yhteisvaikutusten edellyttämien lisätoimien tarve.”

”Esiselvitys jätevesien toksisuuden arviointimenetelmän soveltuvuudesta haitallisten aineiden yhteisvaikutusten riskinarviointiin ja tarkkailuun” on Suomen ympäristökeskuksen (SYKE) toteuttama hanke, jonka rahoittivat Ympäristöministeriö ja SYKE. Hanke toteutettiin käytännössä vuonna 2013. Kirjallisuuskatsauksen tavoitteena oli 1) selvittää jätevesien myrkyllisyyden tarkkailumenetelmän (WEA) soveltuvuutta yhdyskuntajäteveden puhdistamoille, 2) selvittää muiden maiden käytäntöjen perusteella raja-arvojen asettamisen perusteita ja laatia ehdotus raja-arvoiksi ja 3) tarkastella millaisiin teollisuuslaitoksiin tai -sektoreihin menettelyä on mahdollista laajentaa. Näitä asioita on käsitelty raportin kahdeksassa kappaleessa. Viimeisessä yhdeksännessä kappaleessa esitetään toimenpidesuosituksia.

Kirjallisuusselvityksen tekemisessä on pyritty huomioimaan kaikki keskeisimmät kansalliset raportit, tieteelliset julkaisut ja alalla toimivien järjestöjen suositukset sekä eri maiden säädöksiä soveltuvin osin. Osa kansallisista säädöksistä ja raporteista on saatavana vain alkuperäiskielellä, mikä rajoitti asiakirjojen käyttämistä.

Tämän hankkeen valvojina ympäristöministeriössä toimivat: neuvotteleva virkamies Eliisa Irpola, erityisasiantuntija Magnus Nyström ja neuvotteleva virkamies Ulla-Riitta Soveri. Heidän lisäksi raporttia on kommentoinut YM:ssä ylitarkastaja Kati Suomalainen. Haluamme kiittää heitä asiantuntevista ja rakentavista kommentteista sekä osoittamastaan kiinnostuksesta työtä kohtaan. Lisäksi haluamme kiittää SYKEN BAT-asiantuntijaa Kimmo Silvoa saamistamme tiedoista.

Helsingissä 27.2.2014

Tekijät

## SISÄLLYS

1 Johdanto.....	5
1.1 Säädökset.....	5
1.2 Käsittelytekniikat .....	5
1.3 Teollisuusjätevedet.....	7
1.4 Yhdyskuntajätevedet .....	7
2 Toksisuustestauksen periaate ja tavoitteet.....	8
2.1 Taustaa.....	8
2.2 Testauksen tavoitteet ja suunnittelu .....	10
2.3 Näytteenotto, säilytys ja esikäsittely .....	12
3 Käytäntöjä eri maissa .....	13
3.1 Toksisuustestien käyttö .....	13
3.2 Toksisuuden raja-arvojen perusteet.....	14
4 Testimenetelmät.....	16
4.1 Lyhytaikainen toksisuus .....	16
4.2 Pitkäaikainen toksisuus .....	16
4.3 Genotoksisuus .....	17
4.4 Hormonitoiminnan häiriöt .....	17
4.5 Pysyvyys.....	19
4.6 Kertyvyyspotentiali .....	19
5 Menetelmien laadunvalvonta.....	19
6 Tulosten tulkinta .....	20
6.1 Tulosten ilmoittaminen.....	20
6.2 Tulosten tulkinta ja käyttö .....	21
7 Toksisuustestien tuoma lisäarvo .....	22
8 Toksisuustestien rajoitukset.....	22
9 Suosituksia jatkotoimenpiteiksi .....	23
9.1 Jätevesikartoitus .....	23
9.2 Kartoitustulosten hyödyntäminen .....	24
Liite 1. Toksisuustestien kustannukset.....	29

# 1 Johdanto

## 1.1 Säädökset

Euroopan yhteisöjen neuvoston direktiivi 91/271/ETY sisältää vaatimuksia jätevesien viemäröinnistä, käsittelystä, tarkkailusta ja näiden toimeenpanon seurannasta. Jätevesien käsittelylle on direktiivissä määritelty erilaisia vaatimustasoja, jotka perustuvat puhdistamojen kokoon ja purkuvesistön olosuhteisiin. Ennen vesistöön johtamista jätevedet on käsiteltävä biologisesti (tai vastaavalla tavalla) ja niistä on poistettava ravinteita. Samalla vedestä poistuu taudinaiheuttajia (mm. bakteereita). Puhdistamojen tulee täyttää tietyt ympäristöluvassa määritellyt laatuvaatimukset käsitellyn jäteveden biologisen ja kemiallisen hapenkulutuksen, kiintoainepitoisuuksien, kokonaisfosforin ja kokonaistypen pitoisuuksien ja poistotehon suhteen. Lisäksi direktiivissä on vaatimuksia puhdistamoiden toimivuudesta ja kuormituksen tarkkailun tiheydestä (91/271/ETY; Santala & Etelämäki 2009).

Yhdyskuntajätevesien käsittelyä Suomessa ohjaa valtioneuvoston asetus yhdyskuntajätevesistä (888/2006), joka pohjautuu edellä mainittuun direktiiviin. Jätevesillä on ympäristölle haitallisia ominaisuuksia, ja direktiivin tarkoituksena on suojella ympäristöä jätevesien aiheuttamilta haitoilta. Jätevesiasetuksen mukaan toiminnanharjoittajan tulee olla selvillä toiminnan aiheuttamista riskeistä ja tarkkailumenetelmät luetellaan kemiallisten analyysien osalta, mutta biologisia menetelmiä ei velvoiteta käyttämään biologista hapenkulutuksen (BHK) määrittystä lukuun ottamatta.

Päästöjen seurantaan eli ns. velvoitetarkkailuun on sisällytettävä soveltuvin osin ympäristönsuojeluasetuksen (889/2006) liitteen 1 sekä vesiympäristölle vaarallisista ja haitallisista aineista annetun valtioneuvoston asetuksen (1022/2006) ja EY:n päästöjä ja siirtoja koskevan asetuksen (E-PRTR) (166/2006) mukaisten aineiden seurantaan. IPPC-direktiiviin (IPPC 2008/1/EY) liittyvässä seurantaan koskevassa vertailuasiakirjassa (IPTS, 2003a) mainitaan akuutit toksisuustestit ja jäteveden toksisuustestaus kemiallisten mittausten täydentäjinä. Toksisuustestaus tuodaan esille myös kemianteollisuuden jätevesiä koskevassa parasta käyttökelpoista tekniikkaa (BAT) käsittelevässä asiakirjassa (IPTS 2003b).

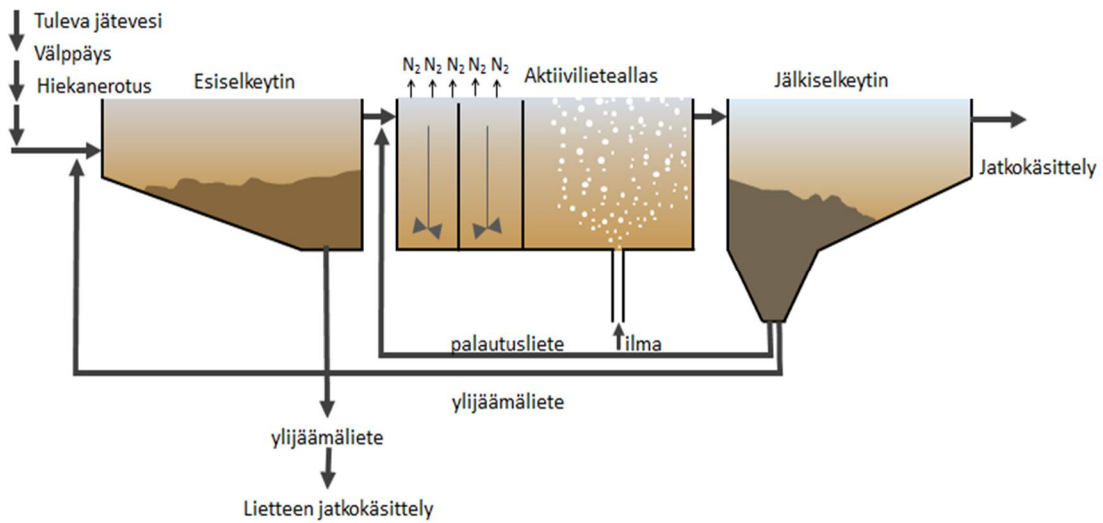
Ohjeita ja suosituksia päästöjen seurantaan ja tarkkailuohjelmien laatimiseen Suomessa on käsitelty tarkemmin ympäristöhallinnon julkaisuissa, esim. Vuoristo ym. (2010) ja Karvonen ym. (2012). Vuoriston ym. (2010) raportissa on esitetty suositukset vesiympäristölle haitallisten ja vaarallisten aineiden huomioon ottamiseksi ympäristöluvan tai vesilain mukaisen luvanvaraisten toimintojen velvoitetarkkailuissa. Tässä raportissa ei oteta selkeästi kantaa siihen, milloin toksisuustestausta tulisi tehdä vaan painotetaan kemiallista analytiikkaa ja kuvataan joitakin esimerkkitapauksia. Karvosen ym. (2012) raportissa käsitellään muun muassa haitallisia aineita koskevia lupamenettelyjä, vesien ja merenhoidon suunnittelua, kuormituksen seuranta- ja tarkkailusuunnitelmia, mutta siinä ei käsitellä ekotoksisuustestejä tai niiden käyttöä tarkkailun työkaluna.

Ympäristönsuojelulaisissa (86/2000) määrätään, että ympäristön pilaantumisen vaaraa aiheuttavaan toimintaan, kuten jätevesien johtamiseen vesistöihin, tarvitaan ympäristöluva. Lupahdoissa määritellään mm. purkuveden laatuvaatimuksista, valvonnasta ja raportoinnista. Luvassa on pilaantumisen ehkäisemiseksi annettava määräykset toimista, joilla ehkäistään, vähennetään tai selvitetään pilaantumista, sen vaaraa tai pilaantumisesta aiheutuvia haittoja. Lupamääräys voi olla ympäristönsuojelulain tai jätelain (646/2011) nojalla annettuun valtioneuvoston asetukseen sisältyvää yksilöityä ympäristönsuojelun vähimmäisvaatimusta ankarampi vesien suojelemiseksi.

## 1.2 Käsittelytekniikat

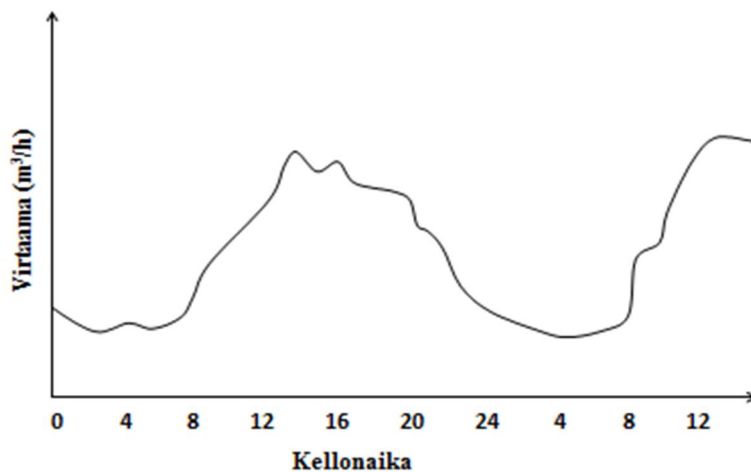
Jätevedenpuhdistamolla jäteveden käsittely sisältää useita erilaisia puhdistusvaiheita (kuva 1). Laitoskohtaisia prosessikaavioita on toimijoiden kotisivuilla ja mm. Viikinmäen ja Suomenojan puhdistamoiden osalta Helsingin seudun ympäristöpalvelujen julkaisussa (HSY 2012). Tavallisesti käsittely koostuu mekaanisesta, kemiallisesta ja biologisesta käsittelystä. Tarkoituksena on poistaa jäteveden epäpuhtaudet tai muutoin muuttaa jäteveden ominaisuuksia. Mekaanisessa puhdistuksessa haitta-aineet eivät muutu tai hajoa, vaan siinä erotetaan karkea kiintoaine vedestä tai muuten tasataan jäteveden laatua tai mää-

rää. Mekaanisia puhdistusvaiheita ovat esimerkiksi veden sekoitus, selkeytys, suodatus sekä kuormituksen ja virtaaman tasaus (Karttunen 2004). Esimerkkejä saapuvan jäteveden virtaamavaihteluista on esitetty kuvassa 2.



Kuva 1. Puhdistamon prosessikaavio pääpiirteittäin esitettynä (kuva O. Schultz)..

Kemiallisilla menetelmillä jätevesistä poistetaan tai vedenlaatua muutetaan kemikaaleja käyttämällä esimerkiksi saostamalla ja säätämällä pH:ta. Biologisilla prosesseilla pyritään poistamaan veteen liuenneet tai kolloidisina esiintyvät orgaaniset ja epäorgaaniset aineet biologisten reaktioiden avulla. Menetelmiä käytetään esimerkiksi jäteveden orgaanisen aineen ja ravinteiden poistoon (Tchobanoglous ym. 2003).



Kuva 2. Tyypillinen tulevan jäteveden virtaaman vaihtelu eri vuorokauden aikoina (muokattu julkaisusta Karttunen 2004).



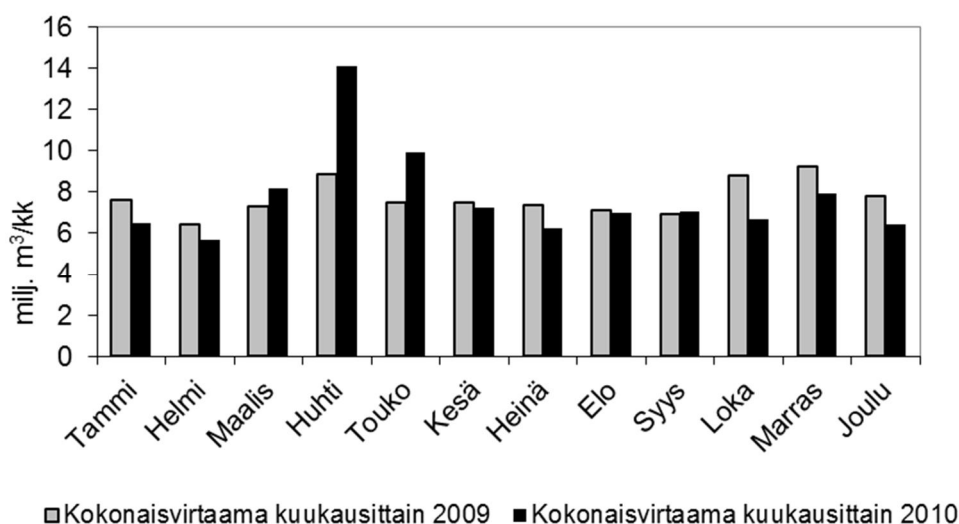
### 1.3 Teollisuusjätevedet

Pienteollisuus ja muut pienet tai keskiuuret toiminnanharjoittajat johtavat yleensä jätevetensä kunnallisiin viemäreihin, kun taas suuremmat yritykset käsittelevät jätevetensä omilla puhdistamoillaan. Jätevesien johtamisesta viemäriin tehdään vesihuoltolaitoksen kanssa liittymis- ja teollisuusjätevesisopimus, mikäli johdettava jätevesi on määrältään tai laadultaan sellaista, että sillä voi olla vaikutuksia puhdistusprosessiin tai vastaanottavaan vesistöön. Valtioneuvoston asetuksen 889/2006 liitteessä 1 on lueteltu aineet, joiden päästöt vesiin tai vesienhuoltolaitoksen viemäriin ovat ympäristölupavaraisia ja jotka on sisällytettävä tarkkailuun. Ympäristölupaehtojen toteutumista seurataan luvissa määriteltyjen tarkkailuohjelmien mukaisesti (VVY 2011).

Tarkkailuohjelma sisältää niin laitoksen sisäisen toiminnan käyttö- ja kuormitustarkkailun kuin toiminnasta vesistöön päätyvien jätevesien tarkkailun. Käyttötarkkailun tarkoituksena on seurata prosessien häiriötöntä toimintaa. Sitä voidaan hyödyntää erityisesti sellaisessa prosessiteollisuudessa, jossa päästöt määräytyvät prosessivaiheen mukaan tai häiriöpäästöt muodostavat merkittävän osan kokonaispäästöistä. Esimerkiksi kaivos- ja turveteollisuuden ympäristölupapäätöksissä edellytetään toiminnanharjoittajan tarkkailevan vesistölle aiheutuvaa kuormitusta erikseen laaditun tarkkailuohjelman mukaan. Mikäli vesistöalueen tilaan vaikuttaa useampi toiminnanharjoittaja, voidaan näille laatia yhteinen päästöjen tarkkailuohjelma kohdevesistön kokonaisvaltaisempaa seurantaa ajatellen (Karvonen ym. 2012). Päästöjä tarkkailemalla voidaan seurata lupaehtojen toteutumista ja pohjustaa vaikutusten arviointia. Jätevesikuormituksen aiheuttamat vesistövaikutukset, vaikutusalueiden laajuus ja vaikutusten vähentämiseksi tehtyjen toimenpiteiden tehokkuus on myös selvitettävä (Vuoristo ym. 2010).

### 1.4 Yhdyskuntajätevedet

Yhdyskuntajätevedenpuhdistamolle saapuva vesi on hyvin sekalaista ja harvoin pelkkää asumajätevettä. Pelkästään kotitalouksien käyttämistä tuotteista (esim. astian- ja pyykinpesuaineet, kosmetiikkatuotteet, lääkkeet ja siivouskemikaalit) viemäriin päätyy päivittäin tuhansia erilaisia yhdisteitä. Kun mukaan lasketaan näiden lisäksi viemäriverkkoon liittyneiden yritys- ja teollisuuskiinteistöjen päästöt (esim. liuottimet, rasvat ja polttoaineet) ja usein viemäriverkkoon teiltä tai puistoalueilta johdettavat hulevedet (esim. kiintoaine, laskeuma ja ravinteet), on selvää, että puhdistamolle saapuva jätevesi sisältää lukemattoman määrän erilaisia aineita.



Kuva 3. Viikinmäen jätevedenpuhdistamon kokonaisvirtaama kuukausittain vuosina 2009 ja 2010 (Räsänen ym. 2011, aineisto HSY).

Sen lisäksi, että puhdistettava jätevesi voi koostumukseltaan olla hyvinkin vaihtelevaa, voivat eri lähteistä saapuvien jäteveden määrät vaihdella vuorokaudenajan tai viikonajan mukaan. Jäteveden sisältämät kemikaalit ja ominaisuudet kuten pH, johtokyky tai happipitoisuus, vaihtelevat muun muassa viemäriverkostoon liittyneen teollisuuslaitoksen prosessien, yritysten aukioloaikojen tai yksittäisten ihmisten päivittäisten toimien mukaan. Helsingin Viikinmäen jätevedenpuhdistamolle saapuneen jäteveden määrän vaihteluja on havainnollistettu kuvassa 3 (Räsänen ym. 2011). Päivittäinen vaihtelu on huomattavasti suurempaa kuin kuvassa 3 esitetty kuukausittainen virtaaman vaihtelu, joka kuvaa kuivien ja märkien vuodenaikojen eroja (ks. kuvat 2).

Jäteveden koostumuksen vaihtelusta johtuen puhdistusprosessien tehokkuus saattaa kärsiä, jos esimerkiksi valtaosa jonkin tietyn haitallisen yhdisteen vuotuisesta kuormituksesta rajoittuu lyhyelle ajanjaksolle. Kuvassa 4 on havainnollistettu Viikinmäen jätevedenpuhdistamolle saapuneen jäteveden kuormitusvaihteluita virtaaman, biologisen hapenkulutuksen, typpi- ja fosforikuorman perusteella.

## 2 Toksisuustestauksen periaate ja tavoitteet

### 2.1 Taustaa

Yleensä jätevesistä on tutkittu fysikaalis-kemiallisten ominaisuuksia kuten kemiallista hapenkulutusta (KHK), biologista hapenkulutusta (BHK), kiintoaineen määrää, happamuutta (pH), johtokykyä sekä tiettyjen haitallisten aineiden pitoisuuksia (Säylä & Vilpas 2012). Eräiden haitallisiksi tai vaarallisiksi luokiteltujen aineiden pitoisuuksille on asetettu raja-arvoja (VNA 868/2010), mutta näiden aineiden lisäksi jätevesiin joutuu joukko erilaisia teollisuudessa ja kotitalouksissa käytettyjä kemikaaleja, joiden haitallisuudesta on vain vähän tietoa. Puhdistusmenetelmiä kehitettäessä on erityisesti ravinteiden poistoon kiinnitetty paljon huomiota ja tältä osin vedenlaatu monissa vesistöissä on parantunut. Jäteveden tarkan kemiallisen koostumuksen selvittäminen on erittäin haastava tehtävä eikä pelkkien pitoisuustietojen perusteella voida arvioida jäteveden aiheuttamia biologisia haittavaikutuksia.

Biologisia menetelmiä jätevesien tarkkailussa ja ympäristöluvuissa on käytetty varsin vaihtelevasti eri maissa. Suomessa käyttö on ollut vähäistä, mutta jo vuoden 2003 jätevesien käsittelyn parhaan käytössä olevan tekniikan (BAT) asiakirjassa on kemian teollisuudelle suositeltu biotestien käyttöä mainiten erityisesti WEA-menettely (IPTS 2003). Tähän asti BAT-asiakirjat eivät ole olleet tiukasti sitovia, mutta uudet, valmisteilla olevat BAT-vertailuasiakirjat (BREF) tulevat olemaan periaatteessa sitovia.

Menettelyä, jossa tutkitaan erilaisin myrkyllisyystestein jätevettä sellaisenaan, kutsutaan WEA-menettelyksi (WEA, Whole Effluent Assessment) tai joskus DTA:ksi (DTA, Direct Toxicity Assessment). Kysymyksessä on siis jäteveden toksisuuden arviointi siten, että koe-eliöt altistetaan tutkittavalle jätevedelle ilman voimakasta käsittelyä tai mahdollisimman vähien käsittelyjen jälkeen.

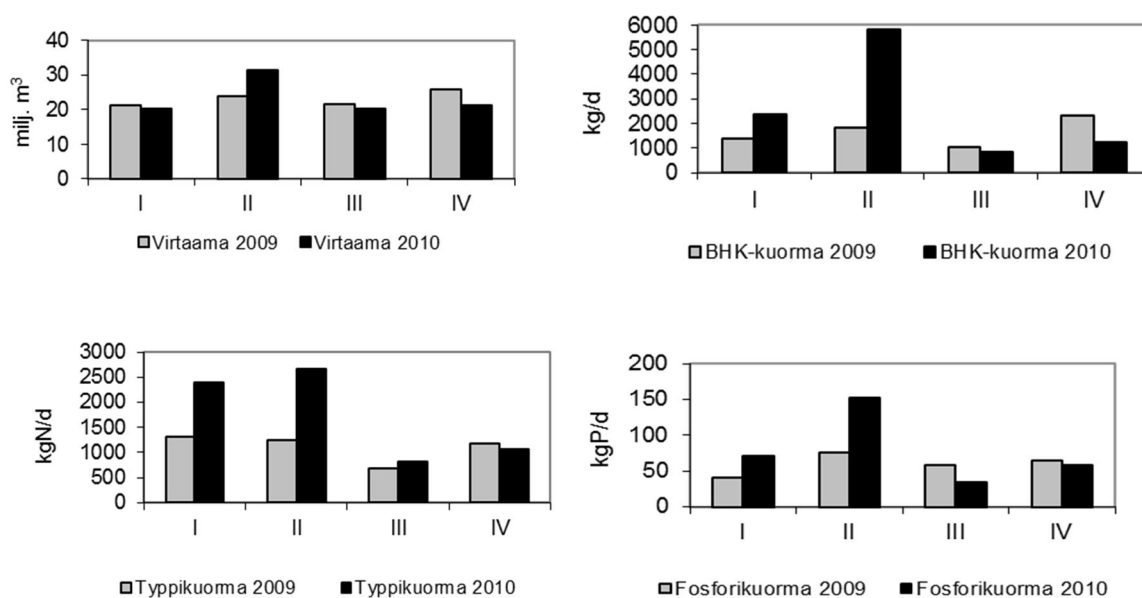
WEA-menettelyssä pyritään luonnehtimaan jätevesien vaikutusta vesieliöihin ja siten arvioimaan vaaraa tai haittaa, joka jätevedestä ympäristöön kohdistuu. Koe-eliöt joutuvat kosketuksiin kaikkien jätevedessä olevien aineiden kanssa samanaikaisesti, mikä on sama tilanne, johon vastaanottavan vesistön eliöt joutuvat. Jäteveden tarkkaa kemiallista koostumusta ei selvitetä, sen sijaan tutkitaan jäteveden aiheuttamia yhteisvaikutuksia. Vaikka jätevedenpuhdistamot tarkkailevat jätevedestä monipuolisesti fysikaalis-kemiallisia muuttujia ja niille asetetut vaatimukset täytyisivät, voi toksisuustesteillä löytyä haittavaikutuksia näistäkin vesistä (Vasquez & Fatta-Kassinos 2013). Jäteveden toksisuustestausta pidetään kemian analytiikkaa täydentävänä menettelynä, joka tukee vesipolitiikan puitedirektiivin tavoitteita (ECETOC 2004).

Jätevesien toksisuustestausta voidaan hyödyntää eri tavoin tilanteesta riippuen joko puhdistetun jäteveden laadun tarkkailuun, ekologisen riskien arviointiin, puhdistusprosessien toimivuuden seurantaan ja kehittämiseen, haitta-aineiden lähteiden selvittämiseen sekä haitta-aineiden identifioinnin apuna yhdistämällä ne fraktiointi- ja tunnistusanalyysiin (TIE, toxicity identification evaluation tai EDA effect directed analysis). Mikäli jätevesinäytteet tietyistä paikasta osoittautuvat toistuvasti haitallisiksi, tulisi

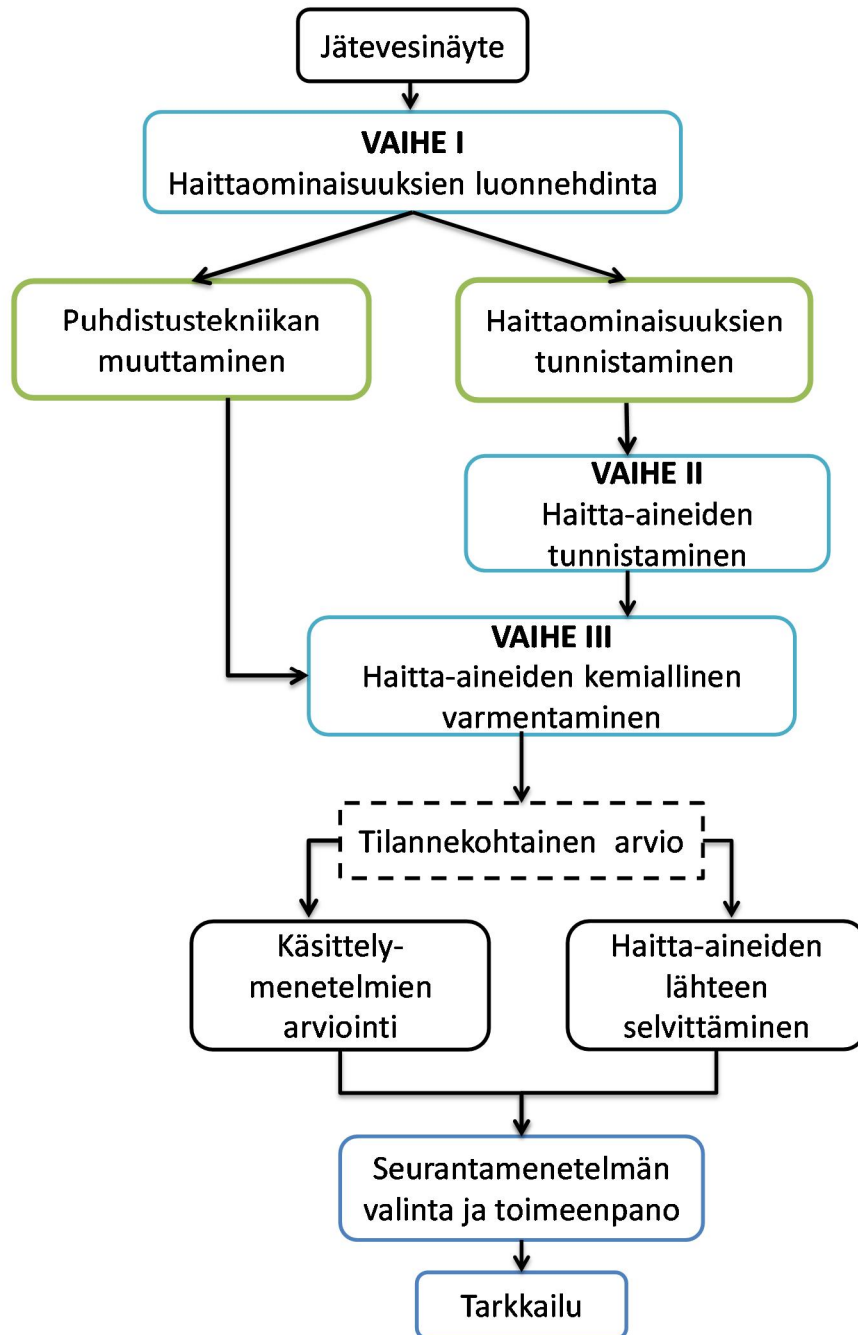
TIE/EDA -menettelyn avulla selvittää haitalliset aineet ja niiden päästöjen vähentämismahdollisuudet. TIE-menettelyn käyttöä on havainnollistettu kuvassa 5. EDA on menettely, jolla on sama päämäärä kuin TIE-menettelyllä eli haitta-aineen tunnistaminen, mutta siinä näyte konsentroidaan ja fraktioidaan tehokkaasti ja fraktioita testataan pääasiassa *in vitro* -testeillä ja kehittyneillä kemian analyysiteknikoilla (esim. Burgess ym. 2013). Tällainen vuoroittainen fraktiointi ja testaus soveltuu menettelynä sekä tunnettujen että tuntemattomien haitta-aineiden tunnistukseen.

Tarkkailun lisäksi voidaan WEA-menettelyä hyödyntää tutkimalla puhdistamoille tulevien jätevesijätköiden myrkyllisyyttä päästölähteiden selvittämiseksi. Tämä voidaan toteuttaa esimerkiksi ottamalla näytteitä viemäriverkoston eri haaroista.

Yleisimmin käytetyt testimenetelmät perustuvat bakteerien, levien, kasvien, selkärangattomien eläinten ja kalojen käyttöön. Tavanomaisten, yleistä toksisuutta (esimerkiksi vaikutukset elinkykyyn, liikuntakykyyn, kasvuun tai lisääntymiseen) kuvaavien menetelmien lisäksi voidaan näytteistä tutkia haitallisten aineiden tai haittavaikutusten pysyvyyttä, kertyvyyttä (bioakkumulaatiota), genotoksisuutta ja vaikutusta hormonitoimintoihin. Menetelmiä on tarkastelu lähemmin luvussa 4.



Kuva 4. Viikinmäen jätevedenpuhdistamon keskimääräiset BHK<sub>7(ATU)</sub>-, typpi ja fosforikuormitukset vuosineljänneksittäin vuosina 2009 ja 2010 (Räsänen ym. 2011, aineisto HSY)



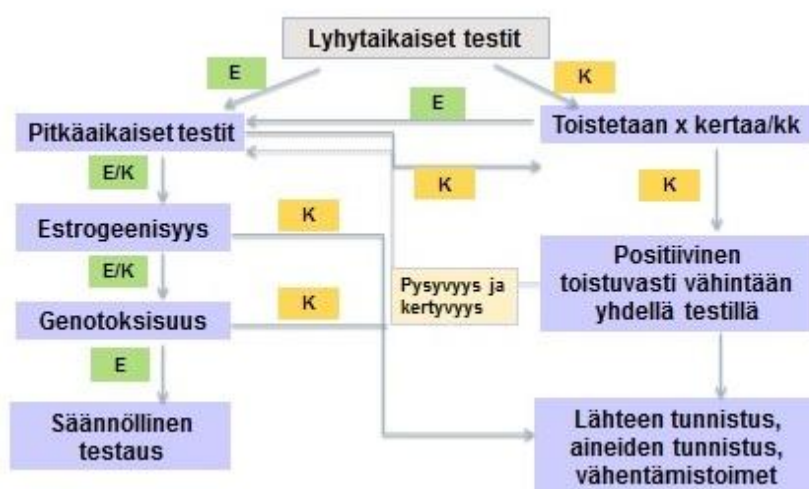
Kuva 5. Kaaviokuva toimenpiteistä jäteveden sisältämän myrkyllisyyden vähentämiseksi (US EPA 1991a, mukailtu).

## 2.2 Testauksen tavoitteet ja suunnittelu

Toksisuustestien käyttö on perusteltua, kun tarvitaan tietoa puhdistetun eli lähtevän jäteveden laadusta, puhdistamolle tulevien jakeiden haittavaikutuksista, tai kun tehdään toksisten aineiden tunnistamiseen tähtäävä tutkimusta tai ekologista riskin arviointia vastaanottavassa vesistössä. Tarvittava testivalikoima, testien lukumäärä, ja näytteenoton ajoitus määräytyvät tapauskohtaisesti tutkimuksen tarkoituksen ja päämäärän mukaan. Testien suunnitteluvaiheessa kerätään olemassa olevat tiedot vesimääristä, niiden vaihteluista, häiriötilanteista, fysikaalis-kemialliset analyysitulokset ja tiedot haitta-aineiden pitoisuuksista, mikäli niitä on saatavilla. Tämän jälkeen tulisi tehdä alkukartoitus toksisuustestejä käyttäen. Pitoisuuksien lisäksi on selvitettävä, minkä tyyppisiä aineita puhdistamolle tulee. Puhdistamoiden ja toimin-

nanharjoittajien välisissä sopimuksissa on ehtoja, minkä laatuista vettä ja kuinka paljon puhdistamo ottaa vastaan (VVY 2011). Toksisuustestejä voi käyttää hyödyksi myös näistä ehdoista sovittaessa ja tarkkailtaessa vastaanotettavaa jätevettä, sekä puhdistusprosessien kehittämisen apuna (Kienle ym. 2011; Abegglen & Siegrist 2012). Puhdistamon toimivuuden kannalta on tärkeää tietää, ettei oteta vastaan sellaisia jätevesiä, jotka estävät puhdistamon mikrobin toiminnan (nitrifikaation inhibiitio).

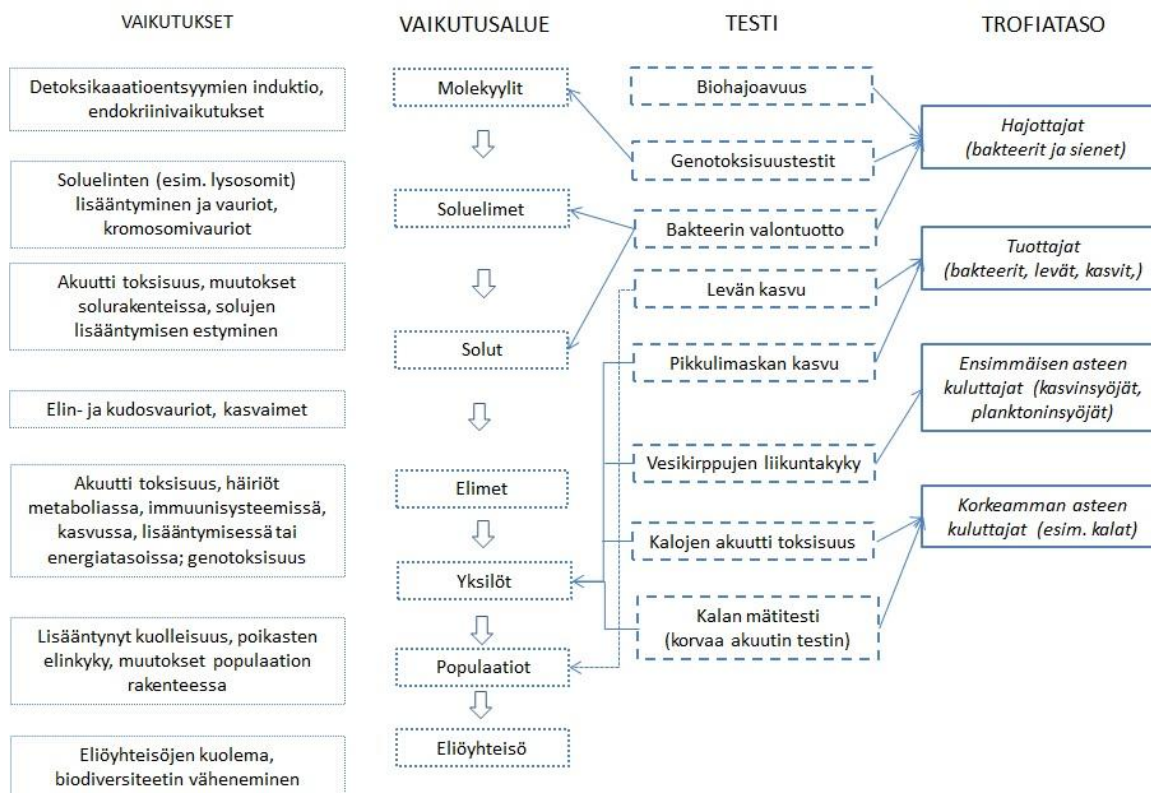
Suunnitelman laatimisessa voi noudattaa kuvan 6 mukaista prosessimallia, jossa ensin tutkitaan lyhytaikaisten testien avulla mm. akuuttia toksisuutta suhteellisen usein. Jos vaikutuksia todetaan, toistetaan samat testit ja mikäli edelleen on vaikutuksia, aloitetaan vaikutusten aiheuttajan selvittäminen vähentämistoimenpiteiden laatimiseksi ja tehdään pitkäaikaiset testit. Mikäli lyhytaikaisissa testeissä ei havaita vaikutuksia, siirrytään pitkäaikaisten testien ja mahdollisesti pysyvyyden ja kertyvyyspotentiaalnin tutkimiseen. Tuloksista riippuen ryhdytään toimenpiteisiin haitallisten päästöjen vähentämiseksi tai jatketaan säännöllistä seuranta.



Kuva 6. Kaavio jäteveden toksisuustestauksen suunnitteluun ja toimeenpanoon. E=ei vaikutuksia, K=havaittu vaikutuksia. (COHIBA 2010b, muokattu).

Näytteenottotiheyden suhteen eri maissa on päädytty hyvin erilaisiin ratkaisuihin. Skotlannissa akuutteja toksisuustestejä suositellaan tehtävän vähintään neljä kertaa vuodessa (SEPA 2003). Kanadassa akuutteja toksisuustestejä voidaan edellyttää tehtävän vesikirpuilla jopa viikoittain (Vuoristo ym. 2010), mutta voimassa olevan kaivosjätevesiä koskevan lainsäädännön mukaan neljännesvuosittain tehtävät akuutit toksisuustestit riittävät, mikäli edellisen 12 kuukauden aikana toksisia vasteita ei ole havaittu (MMER 2012). Ehdotus WEA:n käytöstä laadittiin myös Itämeren ympärysvaltioiden projektissa Control of hazardous substances in the Baltic Sea region (COHIBA 2010b). COHIBA-projektissa tutkittiin Itämereen johdettavien puhdistettujen jätevesien toksisuutta ja WEA -ehdotuksessa ensimmäisen tarkkailuvuoden aikana akuutteja toksisuustestejä tulisi tehdä kuukauden välein ja pitkäaikaisvaikutuksia tulisi selvittää kaksi kertaa vuodessa, kesällä ja talvella (COHIBA 2010b). Myöhemmin testitiheyttä voitaisiin vähentää vuosineljänneksiin, mikäli voidaan osoittaa, ettei toksisuuden vaihtelu ole merkittävää.

Toksisuustestauksen hyödyntäminen aivan kaikkien jätevesien tarkkailussa ei ole mielekasta. On esitetty, että toksisuustesteistä ei olisi lisähyötyä laitoksille, jotka tuottavat pieniä määriä jätevettä (esim. alle 100 m<sup>3</sup> vuorokaudessa). Sama koskisi laitoksia, jotka tuottavat yksinkertaista ja laadultaan hyvin tunnettua jätevettä, jota ei johdeta suoraan vesistöön (Leverett 2006). On selvää, että kunkin maan tulee määrittellä käytännöt ympäristöolojensa mukaan.



Kuva 7. Trofiatasojen, vaikutustasojen ja toksisuustestien suhtautuminen toisiinsa (Pluta ja Rosenberg 2005, mukailtu)

Jätevesien haitallisuuden arvioimiseen soveltuvia kokeita on monia erilaisia. Tavallisimpia ovat yleistä toksisuutta mittaavat testit, mutta myös pysyvyyttä, bioakkumulaatiota, genotoksisuutta sekä vaikutusta hormonitoimintoihin voidaan tutkia (ks. kappale 4). Yleensä pyritään siihen, että koe-eliöt edustaisivat eri trofiatasoja (tuottajat, kuluttajat, hajottajat), ja muutenkin mahdollisimman laajasti ympäristöä. Yleiskuva trofiatasojen, vaikutustasojen ja toksisuustestien keskinäisestä suhteesta on esitetty kaaviona kuvassa 7. Käytännössä joudutaan tyytymään korkeintaan muutaman laboratorioon sopeutuneen lajin käyttöön, joiden avulla tehdään johtopäätökset. Testaustulokset mallintavat vaikutuksia ympäristössä. Samoin kuin kemikaalien turvallisuutta tutkittaessa on jätevesiä koskevien tulosten tulkinnassa ja riskin arvioinnissa otettava huomioon mm. se, että vain rajoitettu määrä lajeja voidaan tutkia ja tulokset yleistetään koskemaan laajempaa ympäristöä ja mahdollisesti herkempiä lajeja. Altistuksia voidaan tehdä myös viemällä eliöt, esimerkiksi kalat tai simpukat, purkuputken lähistölle tietyksi ajaksi ja sen jälkeen tutkitaan biokemiallisia (esim. EROD), fysiologisia, histologisia tai morfologisia muutoksia.

### 2.3 Näytteenotto, säilytys ja esikäsitely

Näytteenottoon tulisi jo suunnittelussa kiinnittää riittävää huomiota, sillä siinä tehtyjä virheitä ei voida korjata enää myöhemmin (OSPAR 2007). Virheitä voi syntyä systemaattisesti ja satunnaisesti. Näytteenottoon liittyvät systemaattiset virheet pitää pyrkiä minimoimaan valitsemalla sopivat näytteenottovälineet ja -tavat. Näytteenottoastioiden ja näytteenottovälineiden laatuun ja puhtauteen on kiinnitettävä huomiota, etteivät näytteet saastu ja aiheuta satunnaisvirhettä. Virheet voidaan minimoida käyttämällä esimerkiksi lasi- tai polyeteenistöitä, jotka ovat kemiallisesti inertejä, helppoja puhdistaa ja kestävät sekä lämmitystä että pakastamista (OSPAR 2007). Sopiva näytteenottotapa riippuu tutkimuksen tarkoituksesta, mutta yhdyskuntajätevesiasetuksen (VNA 888/2006) mukaan puhdistamolta lähtevästä jätevedestä kerätyt 24 tunnin kokoomanäytteet (virtaamaan suhteutettu) soveltuvat analyysiin parhaiten.

Kun halutaan selvittää jäteveden laadun vaihtelua lyhyemmällä aikavälillä, on syytä sopeuttaa näytteenotto sen mukaan ja joskus on perusteltua ottaa kerta-näytteitä.

Näytteiden säilytyksen aikana voi tapahtua haitta-aineiden muuntumista kemiallisten reaktioiden tai mikrobien toiminnan vaikutuksesta. Kun näytteet jäädytetään noin 0 – 5 °C asteisiksi ja suojataan valolta heti näytteenoton jälkeen, säilyvät ne yleensä koostumukseltaan riittävän hyvin ainakin seuraavan 24 tunnin ajan. Näytteiden analysointi tulisikin aloittaa mahdollisimman pian, viimeistään 48 tunnin sisällä näytteenotosta (OSPAR 2007). Näytteen pakastaminen voi muuttaa sen ominaisuuksia, mutta esimerkiksi pitkäaikaisia testejä varten se on testijärjestelyistä johtuen välttämätöntä. Pakastettuina näytteitä ei tulisi säilyttää yli kahta kuukautta. Menetelmästandardeissa on ohjeita sekä näytteiden säilytyksen että esikäsittelyn varalle. Lyhytaikaisia testejä varten pyritään ajoittamaan näytteenotto niin, että testit voidaan aloittaa tuoreella näytteellä.

Näytteet pyritään käyttämään sellaisinaan toksisuustesteissä, mutta toisinaan niitä joudutaan esikäsittelemään ennen testin aloitusta. Mikäli näytteet on pakastettu, tulee ne sulattaa ja homogenisoida vasta juuri ennen testiä. Joissain tapauksissa näytteissä oleva kiintoainehäiritsee määrittämiä, jolloin se voidaan poistaa esimerkiksi sentrifugoimalla tai suodattamalla. Suodattamista pitäisi toisaalta välttää, sillä haitta-aineet voivat tarttua suodattimeen. Testituloksia tulkittaessa tulee näytteille tehdyt muutokset huomioida.

## 3 Käytäntöjä eri maissa

### 3.1 Toksisuustestien käyttö

Jätevesien tarkkailu on perinteisesti perustunut yksittäisiin suureisiin ja haitallisten aineiden pitoisuuksiin. Ympäristövaikutuksia tarkkaillaan monissa maissa myös toksisuustestien avulla (esimerkkejä taulukossa 1). Viralliset ohjeet jätevesien myrkyllisyyden tutkimiseksi julkaistiin ensimmäisenä Yhdysvalloissa vuonna 1988 (US EPA 1988). Siellä ympäristöluvassa määritetään sekä yhdyskunta- että teollisuusjätevesille haitallisten aineiden sallitut pitoisuudet ja sallitut toksisuusvaikutukset määrättyillä testeillä. Osavaltiot soveltavat liittovaltiotasolla annettuja ympäristönsuojeluviraston ohjeita (US EPA 2010; Copeland 2010). Myös Kanadassa käytetään toksisuustestejä jätevesien haittavaikutusten tarkkailuun (WSER 2012). Viimeisin uudistus koko maan kattavaan lainsäädäntöön koskien suurimpia yhdyskuntajätevesiä käsitteleviä laitoksia tehtiin vuonna 2012.

Euroopan maista Saksalla on ollut pisimpään käytössä jäteveden toksisuuden arviointimenetelmät. Liittovaltio on määrittänyt yhteiset lakisäätteiset raja-arvot osalle teollisuuden aloista, minkä lisäksi voimassa on osavaltiokohtaisia tiukempia rajoituksia. Raja-arvot on määritetty teollisuudenalakohtaisesti parhaaseen käyttökelpoiseen tekniikkaan (BAT) perustuen. Näytteet testataan määrättyjen standardien mukaan, ja niitä voivat viranomaisten lisäksi suorittaa myös laitosten oma henkilökunta (Federal Ministry for the Environment, Nature Conservation and Nuclear Safety, Germany 2004).

Isossa-Britanniassa harjoitetaan teollisuusjätevesien toksisuuden tarkkailua. Irlanti on määrittänyt jätevesien toksisuudelle raja-arvot, ja laitosten tulee käyttää parasta käytettävissä olevaa tekniikkaa, josta ei aiheudu kohtuuttomia kustannuksia (BATNEEC, Best Available Technique Not Entailing Excessive Costs) (Environmental Protection Agency 2010).

Baltian maista Virossa ja Latviassa jätevesien toksisuustestaus ei toistaiseksi ole lakisäätelistä. Ehdotuksia toksisuustestauksen ottamisesta mukaan kansallisiin ympäristöntilan seurantaohjelmiin on kuitenkin tehty (Poikäne 2011; Roots 2012). Ruotsissa haitallisia aineita tarkkaillaan teollisuusjätevesistä, ja biologinen tarkkailu suunnitellaan laitostenkohtaisesti luvan hakuprosessin aikana (Naturvårdsverket 2010). Tanskassa jätevesien kokonaistoksisuuden testaaminen ei ole lakisäätelistä (Power & Boumphrey 2004), mutta ympäristölupaa varten kokeiden tekemiseen voidaan velvoittaa (Pedersen ym. 1994).

OSPAR on suositellut teollisuuden jätevesien testausta toksisuustestein (OSPAR 2007). Myös HELCOM on antanut kemian teollisuuden jätevesipäästöille eräitä raja-arvosuosituksia koskien akuuttia myrkyllisyyttä (HELCOM Recommendations 23/11, 2002).

Suomessa jätevesien haitallisia vaikutuksia ei ole systemaattisesti tutkittu toksisuustestien avulla, mutta joissakin teollisuuden ympäristöluvuissa edellytetään akuuttien toksisuustestien käyttöä (esim. Kaakkois-Suomen ympäristökeskus, Ympäristölupapäätös A1014, 2008).

Taulukko 1. Biotestien käyttöä eri maissa jätevesien tutkimuksessa (Wharfe 2005; Leverett 2011, mukailtu)

Maa	Käyttö
Yhdysvallat	Vakiintunut WEA:n käyttö puhdistamojen lupamenettelyssä. Osavaltiot määrittelevät raja-arvot liittovaltion tason ohjeiden mukaan. Akuutit ja krooniset testit levillä, selkärangattomilla ja kaloilla.
Kanada	Teollisuusjätevedet ensisijainen kohde, voidaan sisällyttää myös ympäristön seurantavelvoitteisiin. Eri trofiatasojen akuutteja ja kroonisia testejä.
Saksa	Vakiintunut käyttö teollisuuden jätevesille, raja-arvot asetettu. Eri trofiatason akuutteja ja kroonisia testejä sekä genotoksisuustestejä.
Iso-Britannia	Testausta pääasiassa tutkimustarkoituksiin. Englannissa ja Walesissa käytössä suurimmilla teollisuuden puhdistamoilla, menettely perustuu toksisuuden seulontaan ja riskinarviointiin käyttäen vähintään lyhytaikaista levä- ja vesikirpputestiä tai levä ja osteri- tai hankajalkaistestiä.
Australia	Kansallinen ohjeistus, jota valtiot ja territoriot toteuttavat. Testilajit valitaan paikallisten olosuhteiden mukaan. Akuutteja ja kroonisia testejä eri trofiatasoilla.
Tanska	Toksisuustestit apukeinona jätevesien vaikutusten arvioinnissa ja seurannassa, mutta ei velvoittavia vaatimuksia.
Ruotsi	Käytetään rajoitetusti suurteollisuuden päästöjen arviointiin ja luonnehdintaan sekä seurantaan. Useita trofiatasoja, akuutteja, kroonisia ja genotoksisuustestejä. Eräillä puhdistamoilla tutkitaan hormonaaliset vaikutukset säännöllisesti.

### 3.2 Toksisuuden raja-arvojen perusteet

Raja-arvojen asettamisen perusteet eri maissa vaihtelevat, eikä oikeastaan ole yksiselitteistä tieteellistä menettelyä, jolla ne voitaisiin määrittää. Tästä johtuen eri maissa on päädytty erilaisiin perusteisiin. Useimmissa maissa käytetyt toksisuuden raja-arvot koskevat vain teollisuuden jätevesiä. Yhdyskuntajätevesienkin tarkkailu toksisuustestein on perusteltua, koska vain harvoin puhdistamolle tulee pelkkää talousjätevettä ja toisaalta kotitalouskemikaaleja käytetään yhä suurempia määriä ja yhä useampia kemikaaleja.

Toksisuudelle asetettujen raja-arvojen välillä on maakohtaisia eroja (testit, testitiheys, tulkinta). Lisäksi joissakin maissa otetaan huomioon sekoittumisalueet. Esimerkiksi Saksassa ja joissain Yhdysvaltojen osavaltioissa sekoittumisvyöhykkeet eivät ole käytössä. Suuressa osassa Yhdysvaltoja ja esimerkiksi tanskalaisten ja ruotsalaisten teollisuusjätevesiä koskevien suositusten mukaan laimeneminen otetaan huomioon (Naturvårdsverket 1989; US EPA 1991b; Pedersen ym. 1994).

Tämän lisäksi maakohtaisia eroavaisuuksia on myös siinä, mihin toksisuusarvot suhteutetaan: toisinaan ne ovat maksimiarvoja ja toisinaan keskimääräisiä arvoja. Esimerkiksi Yhdysvalloissa (US EPA 1991b) suositellaan asetettavan päiväkohtaiset maksimirajat ja kuukausikohtaiset keskiarvot. Tanskassa (Pedersen ym. 1994) käytettäväksi suositellaan akuutin toksisuuden osalta maksimiarvoja, joita ei tulisi ylittää koskaan, ja pitkäaikaisvaikutusten osalta keskiarvoa, jota ei tulisi ylittää. Irlannissa ensimmäiset toksisuustutkimukset tulee tehdä vähintään neljälle eri koe-eliölajille. Myöhemmin seuranta jatketaan kahta herkimmäksi osoittautunutta lajia käyttäen (Hernan & O'Rourke 2012).

Yhdysvalloissa akuutin toksisuuden raja-arvoksi suositellaan 0,3 toksisuusyksikköä  $TU_A$  ( $TU$ , toxicity unit) tai tätä pienempää. Kroonisen toksisuuden raja-arvoksi suositellaan 1,0  $TU_C$ :ta tai matalampaa (US EPA 1991b).  $TU$ -arvo akuuteille testeille eli  $TU_A$  saadaan jakamalla 100 LC50- tai EC50-arvolla ja



kroonisille testeille vastaavasti  $TU_C$  saadaan jakamalla 100 NOEC- tai EC25-arvolla (tulosten tulkintaa on käsitelty tarkemmin luvussa 6). Irlannissa raja-arvoksi teollisuuden jätevesille on asetettu useimmiten 10  $TU_A$ :ta (Hernan & O'Rourke 2012). Saksassa raja-arvot (LID) vaihtelevat teollisuudenalan ja käytettävien biotestien mukaan (Federal Ministry for the Environment, Nature Conservation and Nuclear Safety, Germany 2004). HELCOM on suositellut torjunta-aineteollisuuden jätevesien testauksessa käytettäväksi vesikirppu-, viherlevä- ja bakteeritoksisuustestejä (HELCOM 2002a). Myös kemian- ja tekstiiliteollisuuden jätevesille suositellaan käytettäväksi samoja testejä ja raja-arvoja (HELCOM 2002b; HELCOM 2002c), minkä lisäksi kaloille tehtäville akuuteille testeille suositellaan raja-arvoksi 2  $TU_A$  (HELCOM 2002c). Taulukossa 2 esitetään Saksassa käytössä olevia tai suositeltuja raja-arvoja.

Kokemuksista toksisuustestien raja-arvojen käyttöönottamisen vaikutuksista esimerkiksi purkuvesistöjen ekologiseen tilaan ei ole juuri raportoitu. Irlannissa teollisuuden jätevesien laadun on raportoitu parantuneen toksisuustestein arvioituna 1990-luvulta lähtien. Vuonna 2011 raja-arvojen ylityksiä tapahtui kemianteollisuuden (13 %), elintarviketeollisuuden (20 %) ja pintakäsittelyteollisuuden (33 %) lähteistä jätevesistä (Hernan & O'Rourke 2011). Vuonna 2012 testatuista näytteistä vain 12 % ylitti toksisuusraja-arvon (Hernan & O'Rourke 2012). Irlannin EPA on vuodesta 1992 lähtien myöntänyt ympäristöluvut ja siitä lähtien koko maassa on yhtenäinen käytäntö ja vaatimukset toksisuustestauksille (Hernan & O'Rourke 2012). Ennen tätä luvat myönnettiin paikallishallinnosta, ja toksisuustestausta edellytettiin vaihtelevasti. Nykyisen käytännön mukaan raja-arvona pidetään 10  $TU$ :ta useimmille jätevesityypeille. Raja-arvojen asettamista puoltaa se, että toksisuustesteillä on osoitettu lähtevän jäteveden olevan eliöille haitallista, vaikka se muutoin ympäristövaatimukset täyttäisikin (Teodorović ym. 2008; Vasquez & Fatta-Kassinos 2013).

Taulukko 2. Testikohtaisia toksisuusraja-arvoja Saksan liittovaltion jätevesiasetuksesta vuodelta 2004 koskien kemian teollisuuden jätevesiä (Federal Ministry for the Environment, Nature Conservation and Nuclear Safety, 2004). Kalanmätitesti korvaa akuutin 96 h testin kaloilla

Testi	Raja-arvo	Selitys
Kalan mätitesti	2	Kuolemaan johtavia oireita eli saostumista, alkeisjokkeiden puuttumista, pyrstön pysymistä kiinni ruskuaisessa tai sydämenlyöntien puuttumista, ei saa esiintyä yli 10 %:ssa hedelmöityneitä mätimunia, kun näyte on laimennettu 1:2
Vesikirpputesti	8	Liikkumattomia eläimiä < 20 % 48 h jälkeen, kun näyte on laimennettu 1:8
Levän kasvutesti	16	Levän kasvun estyminen 72 h aikana on alle 10 %, kun näyte on laimennettu 1:16
Valobakteeritesti	32	Valontuotto vähentynyt < 10 % 30 min testissä, kun näyte on laimennettu 1:32
Genotoksisuustesti (umu-testi)	1,5	Induktiokerroin ei saa ylittää arvoa 1,5 korkeimmassa mahdollisessa testipitoisuudessa (laimennus 1:1,5)

Kuten edellä todettiin, raja-arvojen asettamisen perusteina otetaan eräissä maissa huomioon jätevesien laimeneminen purkualueella. Tämän ajattelutavan mukaan toksisuus jätevedessä tulee muuntaa arvioksi vaikutuksesta ympäristössä (ekologinen lähestymistapa). Voidaan myös ajatella, että puhdistetun jäteveden tulee täyttää tietyt laatuvaatimukset, joihin sisältyy kemikaalien ja ravinteiden tms. raja-arvojen lisäksi myös korkein sallittu myrkyllisyys määrättyillä testeillä arvioituna (hallinnollinen lähestymistapa).

## 4 Testimenetelmät

### 4.1 Lyhytaikainen toksisuus

Akuutit toksisuustestit tehdään useampien eri trofiatasojen lajeilla (trofiataso, ravintoketjun taso). Tavallisesti testeissä käytetään selkärangattomia, leviä tai bakteereita, aikaisemmin käytettiin myös kalatestejä, jotka nykyisin pyritään mahdollisuuksien mukaan korvaamaan muilla menetelmillä. Eliöt ovat valikoituneet testikäyttöön monestakin syystä. Niiden elintavat tunnetaan hyvin, ne ovat helppoja kasvattaa ja lisätä laboratoriossa, ja ne reagoivat suhteellisen herkästi haitallisiin aineisiin. Niillä saadaan nopeasti kuva jäteveden haitallisuudesta. Testit kestävät tavallisesti korkeintaan muutaman päivän, ja tavallisia päätepisteitä (end-point) ovat kasvu, kuolleisuus tai liikuntakyvyttömyys. Valobakteeri-, viherlevä- ja vesikirpputestit ovat käytössä laajalti esimerkiksi Isossa-Britanniassa, Irlannissa, Kanadassa ja Saksassa (OSPAR 2007). Tavallisimpia lyhytaikaisia toksisuustestejä on esitetty taulukossa 3.

Taulukko 3. Jäteveden toksisuuden tutkimisessa käytettyjä akuutteja biotestejä.

Testi	Testiaika	Standardi*	Kuvaus
<i>Daphnia magna</i> liikuntakyvyttömyys	48 h	ISO 6341	Mittaa haitta-aineille altistettujen liikuntakyvyttömien vesikirppujen prosentuaalista osuutta.
Hankajalkaistesti	48 h	ISO 14669	Mittaa jäteveden aiheuttamaa akuuttia toksisuutta hankajalkaisille.
Valobakteeritesti	30 min	ISO 11348	Mittaa <i>Vibrio fischeri</i> bakteerien valontuoton vähenemistä 30 minuuttia altistuksen alkamisesta.
Valobakteeritesti sameille näytteille	30 min	ISO 21338	Mittaa <i>Vibrio fischeri</i> bakteerien luminesenssin inhibitiota 30 minuuttia altistuksen alkamisesta sameissa näytteissä.
Viherlevän kasvun estyminen	72 h	ISO 8692	Mittaa yksisoluisen makean veden viherlevän <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> tai <i>Desmodesmus subspicatus</i> kasvun inhibitiota.
Bakteerikasvun inhibitio	16 h	ISO 10712	Mittaa <i>Psuedomonas putida</i> bakteerien kasvua. Ei sovellu sameille vesille.
Kalojen akuutti toksisuustesti	4 vrk	ISO 7346 OECD 203	Mittaa kalojen (esim. seeprakala, <i>Danio rerio</i> ; kirjolohi <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) kuolleisuutta.
Kalan mätitesti	4 vrk	ISO 15088	Mittaa jäteveden akuuttia myrkyllisyyttä seeprakalan mädille mm. saostuminen, sydämen lyönnit, epämuodostumat jne.

\*Lisätietoja standardeista <http://www.syke.fi/menetelmastandardisointi> ja <http://www.sfs.fi> sekä OECD:n testiohjeista osoitteesta <http://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforhetestingofchemicals.htm>

### 4.2 Pitkäaikainen toksisuus

Jätevesien haittavaikutuksia on syytä selvittää pitkäaikaisten testien avulla riippumatta siitä esiintyykö akuuttia toksisuutta vai ei. Pitkäaikaisten toksisuustestien kesto vaihtelee testieliön mukaan ja tavallisesti niiden kesto on olennainen osa (yli 10 %) koe-eliön elinajasta. Esimerkiksi vesikirpun lisääntymistesti kestää kolme viikkoa. (Levän kasvun estymistesti voitaisiin luokitella myös pitkäaikaistestiksi, vaikka testiaika on vain 72 tuntia, koska testiajan kuluessa seurataan useita sukupolvia.)

Pidemmästä altistusajasta johtuen tulokset antavat suuntaa myös jätevesipäästöjen ympäristövaikutusten arvioimiselle. Krooniset toksisuustestit paljastavat pienienkin pitoisuuksien vaikutuksia esimerkiksi koe-eläinten hengissä selviämiseen, lisääntymiskykyyn tai kasvuun. Vaikutukset voivat olla seurausta kerääntyvistä aineista, jotka vasta saavutettuaan tietyn kudospitoisuuden ovat haitallisia. Tavallisin pit-

käaikainen testi on *Daphnia magna* –vesikirpun lisääntymistesti, mutta etenkin Yhdysvalloissa käytetään paljon *Ceriodaphnia dubia* –vesikirpputestiä, joka on kestoltaan lyhyempi. Pitkäaikaisvaikutuksia tutkivista testeistä hyödynnetään Euroopassa useimmiten levä- ja vesikirpputestejä, mutta myös kalatestejä tehdään (OSPAR 2007). Pitkäaikaisia toksisuustestien standardimenetelmiä on esitetty taulukossa 4.

Taulukko 4. Jäteveden toksisuuden tutkimisessa käytettyjä kroonisia biotestejä.

Testi	Testiaika	Standardi	Kuvaus
Pikkulimaskan kasvun estyminen	7 vrk	ISO 20079	Mittaa <i>Lemna minor</i> vesikasvin kasvun inhibitiota pitkäaikaisessa altistuksessa. Vertailuparametrina voidaan käyttää pinta-alaa, lehtien lukumäärää, kuivapainoa tai klorofyllipitoisuutta.
<i>Daphnia magna</i> lisääntymistesti	21 vrk	ISO 10706	Mittaa vesikirppujen lisääntymis- ja selviytymiskykyä pitkäaikaisessa altistuksessa.
Kalan mäti-poikastesti	14 vrk	ISO 12890 SFS 5501	Mittaa kalan (yleensä seeprakalan) poikasten kuoriutumista ja niiden selviytymistä noin kahden viikon ajan. Testissä tarkkailaan mm. poikasten verenkiertoa ja kehityshäiriöitä.
Rataseläin <i>Brachionus calyciflorus</i> kasvun estyminen	48 h	ISO 20666	Mittaa <i>Brachionus calyciflorus</i> rataseläimen kasvun inhibitiota pitkäaikaisessa altistuksessa.
Vesikirppu <i>Ceriodaphnia dubia</i> lisääntymistesti	7 vrk	ISO 20665	Mittaa vesikirppujen lisääntymis- ja selviytymiskykyä pitkäaikaisessa altistuksessa.

### 4.3 Genotoksisuus

Jätevesissä olevien yhdisteiden geneettiselle materiaalille aiheuttamien muutosten toteamiseen on sovellettu erilaisia *Salmonella*-bakteerikantojen käyttöön perustuvia menetelmiä, joista tunnetuin on Amesin genotoksisuustesti. Perinteisen maljaviljelymenetelmän lisäksi testi voidaan tehdä kuoppalevyillä ns. fluktuaatiotestinä. Molempiin versioihin on olemassa oma standardinsa (ISO 16240 ja ISO 11350). *Salmonellan* käyttöön perustuu myös umu-testi, jossa bakteeri on geenimuunneltu niin, että genotoksiset vasteet voidaan mitata entsyymiaktiivisuutena. Kun genotoksinen näyte umu-testissä aiheuttaa vaurion bakteerin perimässä, aktivoituu niin sanottu SOS- järjestelmä korjaamaan vaurioita. Samalla aktivoituu  $\beta$ -galaktosidaasi-entsyymien synteesi ja tämä entsyymiaktiivisuus kuvaa tutkittavan näytteen genotoksisuutta.

Bakteerien lisäksi tutkitaan genotoksisuutta myös eukaryoottisoluilla. DNA-vaurioita voidaan tutkia Comet-testillä, joka soveltuu tehtäväksi *in vivo* altistettujen eläinten kudoksista, altistetuista viljellyistä soluista tai sitä voidaan käyttää biomarkkerina ympäristövaikutusten seurantaan. Altistetut solut kiinnitetään agarosille ja elektroforeettisesti erotetaan DNA. Vaurioitunut DNA kulkee elektroforeesissa hitaammin ja muodostaa ”komeetan” pyrstön, joka nähdään fluoresenssimikroskooppilla (Collins 2004).

Edellä mainittujen menetelmien lisäksi voidaan tutkia esimerkiksi mikrotumien muodostumista, DNA addukteja, kromosomiberraatiota yms.

### 4.4 Hormonitoiminnan häiriöt

Hormonitoimintoihin vaikuttavia (kehitys- ja lisääntymishäiriöitä aiheuttavia) aineita on tutkittu jo pitkään, ja niin sanottujen ”hormonihäiritsijöiden” havaitsemiseen on menetelmiä. Erityisesti on tutkittu estrogeenihormoneja ja niiden kaltaisesti toimivia aineita teollisuus- ja yhdyskuntajätevesissä (Eggen ym. 2003; Kaj ym. 2011).

Tunnetuin hormonitoiminnan häiriöitä mittaava menetelmä lienee vitellogeniinin määrittäminen kalan plasmaplastista tai maksasoluista. Vitellogeniini on kalan mätimunien ruskuaisen kehityksessä syntyvän esiaste,

joka indusoituu estrogeenin vaikutuksesta. Normaalisti vitellogeniinia on vain erittäin pieniä määriä koiraskalojen plasmassa. Estrogeeni indusoi maksan tuottamaan vitellogeniinia ja tätä ominaisuutta käytetään biomarkkerina osoittamaan altistumista ympäristöestrogeeneille. Vitellogeniinin osoittamiseksi on useita tapoja, joista immunomääritys (immunoassay) on tavallisin (Verslycke 2002). Vitellogeniinin määrittämistä voidaan soveltaa jätevesien tutkimiseen altistamalla joko kalat tai eristetyt kalan maksasolut (myös eräät solulinjat soveltuvat) jätevedelle ja määrittämällä solujen tuottama vitellogeniini. Vitellogeniinin määrittämiseen on olemassa ISO standardi (ISO 23893-3) ja kaupallisia sovelluksia.

Taulukossa 5 on esitetty joitakin hormonitoiminnan häiriöiden tutkimiseen käytettyjä menetelmiä. Useimmat perustuvat yhdisteiden sitoutumiseen ihmisperäisiin hormonireseptoreihin (estrogeeni-, androgeeni- tai progesteronireseptoreihin) (Streck 2009). Tällaisia ovat esimerkiksi YES (yeast estrogen screen) ja YAS (yeast androgen screen) ja kaupallisen CALUX -testimenetelmän eri versiot (ER-, AR- ja PR-CALUX, BioDetection Systems, Hollanti). Myös humaanisolujen uudiskasvuun (E-Screen ja A-Screen) perustuvia menetelmiä on sovellettu jätevesien tutkimiseen. Menetelmien kehitys on molekyylibiologisten menetelmien myötä ollut voimakasta ja useimmista mainituista menetelmistä on olemassa nopeampia tai herkempiä versioita, esimerkiksi YES-testistä on kehitetty LYES, jossa käytetään lytigaa- si-entsyymiä hiivasolujen hajottamiseen (Schultis & Metzger 2004; Campbell ym. 2006). Näitä menetelmiä on käytetty erityisesti jätevesifraktioiden tai konsentroitujen jätevesien tutkimiseen.

Taulukko 5. Jätevesien tutkimisessa käytettyjä genotoksisuustestejä, hormonitoiminnan häiriöitä mittaavia ja vierasainevaihdunnan testejä.

Testi	Altistusaika	Standardi	Kuvaus
Umu-testi	2 h	ISO 13829	Menetelmä genotoksisuuden määrittämiseen <i>Salmonella enterica</i> bakteerien umuC-geeniin perustuvan DNA-vaurion avulla.
Amesin testi	48 h	ISO 16240	Perustuu <i>Salmonella enterica</i> bakteerien kykyyn muodostaa pesäkkeitä. Pesäkkeiden muodostuminen kuuas toisistaan viittaa mutageeniin.
EROD-testi	72 h	ISO/TS 23893-2	Mittaa maksasoluissa syntyvää entsyymiä (etoksiresorufiini-O-de-etylaasi), jonka kohonnut aktiivisuus osoittaa altistumista vierasaineille.
Vitellogeniinitesti	72 h	ISO 23893-3	Mittaa maksasoluissa syntyvää proteiinia, jonka esiintyminen koiraskaloilla merkitsee häiriötä hormonitoiminnassa.
DR-, ER- ja AR-CALUX®	24 h	--	Rotan maksasolujen Ah-, estrogeeni-, tai androgeenireseptorien aktivoituminen dioksiinien, estrogeenien tai androgeenien vaikutuksesta soluviljelmässä.
E-Screen	5 d	--	Ihmisen rintasyöpäsolujen uudiskasvu soluviljelmässä estrogeenien vaikutuksesta
YES-testi	3-5 d	--	Hiiwasoluilla tehtävä testi, jolla mitataan ihmiseltä siirretyn estrogeenireseptorin aktivoitumista jäteveden sisältämien estrogeenisten yhdisteiden vaikutuksesta.
YAS-testi	3-5 d	--	Hiiwasoluilla tehtävä testi, jolla mitataan ihmiseltä siirretyn androgeenireseptorin aktivoitumista jäteveden sisältämien androgeenisten yhdisteiden vaikutuksesta.

## 4.5 Pysyvyys

Kemikaalien pysyvyyttä ympäristössä pyritään arvioimaan erilaisten hajoavuustestien avulla. Tähän tarkoitukseen on olemassa useita vakioituja menetelmiä. Jätevesissä olevien yhdisteiden pysyvyyden/hajoavuuden arviointiin on pyritty kehittämään samantapaisia menetelmiä, mutta koska kysymyksessä on useiden aineiden seos, tutkitaan itse asiassa toksisuuden pysyvyyttä ja menetelmät tulisi valita sen mukaan. Jäteveden haitallisten aineiden pysyvyyden/biohajoavuuden arviointi on tärkeää, sillä nopeasti hajoavat aineet eivät välttämättä ehdi vaikuttaa lainkaan, kun taas pysyvät aineet altistavat eliöitä kauan, ne voivat kertyä eliöihin (tai sedimenttiin) ja levitä laajoillekin alueille. Toisaalta luonnossa myös nopeasti hajoavat aineet voivat osoittautua haitallisiksi, mikäli altistuminen on jatkuvaa.

Menetelmiä kehitetään eri tahoilla, ja esimerkiksi OSPAR-komissio on havainnut kaksi käyttökelpoista testimenetelmää: Zahn-Wellensin biohajoavuustesti ja liuenteen orgaanisen hiilen (DOC) vähenemistesti. Zahn-Wellensin biohajoavuustestin (ISO 9888; OECD 302 B) avulla voidaan tutkia vesiliukoisten ja haihtumattomien orgaanisten yhdisteiden biohajoavuutta jäteveden puhdistamon kaltaisissa, hajoamiselle otollisissa olosuhteissa. Testissä arvioidaan potentiaalisesti biohajoavien yhdisteiden määrää mittaamalla näytteen kemiallisen hapenkulutuksen tai liuenteen orgaanisen hiilen muutosta. DOC-vähennemistesti (ISO 7827; OECD301E) jäljittelee biohajoavuutta luonnollisessa ympäristössä, ja siksi sen avulla voidaan arvioida herkästi biohajoavien yhdisteiden määrä.

## 4.6 Kertyvyyspotentiaali

Yleensä biokertyvyydellä tarkoitetaan yksittäisen aineen kertymistä eliöön ajan kuluessa. Käytännössä kertyvyys määritetään tavallisesti kalatestillä, jossa kaloja altistetaan alhaisille pitoisuuksille, ja altistuksen jälkeen määritetään tutkittavan aineen pitoisuus kalan kudoksissa. Altistuspitoisuuksien tulee olla niin pieniä, ettei niillä ole haitallisia vaikutuksia aineenvaihduntaan. Kertyvyyttä voidaan myös arvioida laskennallisesti rasvaliukoisuutta kuvaavan vesi-oktanoli-kertoimen ( $K_{ow}$ ) avulla. Jätevesiä tutkittaessa ei voida samalla tavalla puhua jonkin aineen kertyvyydestä vaan tällöin käsitellään kertyvyyspotentiaalia.

Kertyvyyspotentiaalia jätevesistä on tutkittu lähinnä kahdella menetelmällä, kiinteäfaasiuutolla (solid phase microextraction, SPME) ja liuotinuutolla. SPME:lla uutetut aineet analysoidaan kaasukromatografisesti ja lasketaan tietyntyyppisten aineiden suhteellinen kertyvyys vertailuaineeseen (2,3-dimetyyli-naftaleeni) nähden (OSPAR 2007; Gartiser ym., 2010). Liuotinuutossa jätevesi uutetaan ensin heksaanin ja t-butyylieetterin seoksella ja fraktioidaan sen jälkeen nestekromatografilla kolmeen osaan siten, että fraktion vesi-oktanolikerroin on alle 3, 3–5 tai yli 5 (Hynning, 1996). Molemmat menetelmät perustuvat vesi-oktanoli-kertoimen käyttöön ja siihen että  $K_{ow}$  noin 4 tai enemmän merkitsee aineen rasvaliukoisuutta ja kertyvyyttä.

## 5 Menetelmien laadunvalvonta

Kun Yhdysvaltain ympäristönsuojeluvirasto (EPA) pyrki ratifioimaan toksisuustestauksessa käytettäviä testejä, tehtiin laajamittainen kartoitus, jossa vertailtiin useita eri akuuttia ja kroonista toksisuutta ilmentäviä testejä. Tutkimuksessa vertailtiin testien onnistumisprosentteja, todennäköisyyksiä antaa väärä positiivinen testitulokset ja määritettyjen raja-arvojen vaihtelua. Tutkimuksen mukaan valtaosa testeistä onnistui hyvin eikä vääriä positiivisia testituloksia juuri saatu. Testien vaihtelua mitattiin tilastollisin menetelmin määrittämällä rinnakkaisten testien tuloksista saaduille raja-arvoille variaatiokerroin, jota käyttämällä voidaan myös verrata eri mittayksiköissä mitattujen muuttujien suhteellista hajontaa toisiinsa nähden. Laboratorioiden sisäinen vaihtelu osoittautui pienemmäksi kuin laboratorioiden välinen vaihtelu. Samoin vaihtelu kroonisen altistuksen testeillä osoittautui pienemmäksi kuin akuutin altistuksen testeillä (US EPA 2001). Myös Warren-Hicks ym. (2000) havaitsivat laboratorioiden välisen vaihtelun lisäksi myös näytteiden analyysiajankohdan kasvattavan testitulosten vaihtelua. COHIBA -projektiin liittyneen tutkimuksen (COHIBA 2010a) mukaan laboratorioiden välisten vesikirppukokeiden, leväkasvun inhibitiotestien ja valobakteerikokeiden testitulosten vaihtelu oli vähäistä vaikka testejä ei täysin

yhtenevin ohjeistuksin suoritettukaan. Samalla kuitenkin korostettiin, että testikriteerien tulee täytyä ja vertailuaineet ottaa kokeisiin mukaan, jotta voidaan varmistaa testien onnistuminen standardien mukaisesti. Testit tulee myös toistaa, mikäli niiden laatuvaatimukset eivät täyty. Standardeissa on useimmiten annettu kriteerit testin hyväksyttävyydelle.

Toksisuustestitulosten selkeä raportointi on osa laadukasta työtä. Tulosten yhteydessä tulee ilmoittaa näytteiden tulosten ohella näytteenottoon liittyvät seikat, näytteiden säilytysolosuhteet ja -aika, vertailuaineilla saadut tulokset (taulukko 6) ja muut testin hyväksyttävyyteen vaikuttaneet seikat.

Parhainkaan laboratoriokäytäntö ja laadunvarmistusmenettely eivät korvaa hyvin hoidettua näytteenottoa. Tämä koskee tietysti niin fysikaalis-kemiallisia analyysejä kuin biologisia testejäkin. Jätevesiaseetuksen (VNA 888/2006) pykälässä 6 velvoitetaan rakentamaan puhdistamot sellaisiksi, että sinne tulevasta, käsittelyssä olevasta ja lähtevästä jätevedestä voidaan ottaa edustava näyte. Edustava näyte kuvaa mahdollisimman hyvin puhdistamon toimintaa ja kulloistakin tilannetta. Sanomattakin on selvää, ettei näytettä saa manipuloida esimerkiksi laimentamalla tai muulla epäasiallisella käsittelyllä ennen laboratorion toimittamista.

Taulukko 6. ISO -standardeissa käytettyjen vertailuaineiden, 3,5-dikloorifenolin ja kaliumdikromaatin, vertailuarvoja.

Testi	Pitoisuus (mg/l)	
	3,5-dikloorifenoli	kaliumdikromaatti
Vesikirppujen liikuntakyvyttömyystesti (EC50,24 h)	--	0,6–1,7
Bakteerien valontuoton estymistesti välillä 20–80% (30 min testiaika)	3,4	--
Leväkasvun estymistesti (EC50)	3,38 ± 1,30	1,19 ± 0,27

## 6 Tulosten tulkinta

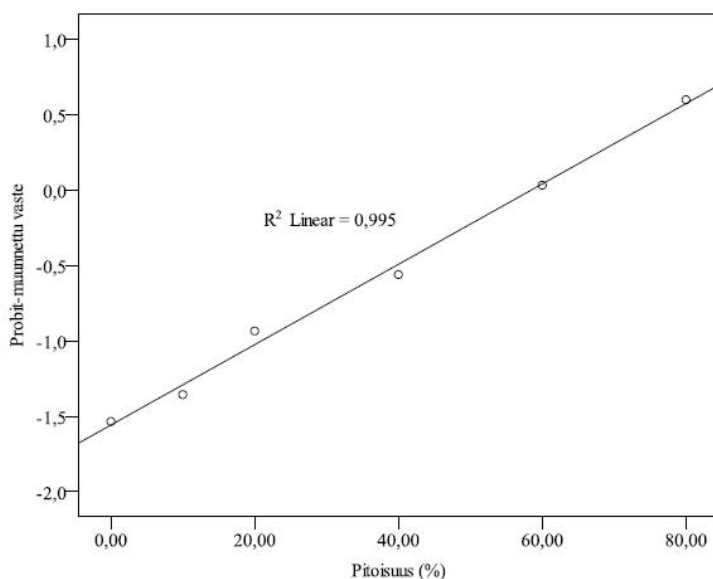
### 6.1 Tulosten ilmoittaminen

Toksisuustestien tulosten avulla voidaan selvittää, minkälaisina pitoisuuksina jätevesi alkaa olla haitallista. Useimmissa tapauksissa nämä pitoisuudet lasketaan vertaamalla altistettujen eliöiden ja kontrollien tuloksia. Laskentaan käytetään tavallisesti regressioanalyysiä tai tilastollisia menetelmiä riippuen kokeissa tarkkailtavasta pääte pisteestä. Kuvassa 9 on esimerkki mittaustulosten visualisoinnista ja analyysissä käytettävästä muunnoksesta.

Tavallisimmin määritettävä pitoisuus-vaikutussuhteita kuvaava luku on EC50-arvo (EC, effective concentration), joka on pitoisuus, jossa määrätty vaikutus on havaittu puolella koe-eliöistä. Varsinkin pitkäaikaistesteissä käytetään myös muita EC-lukuja esimerkiksi EC10. EC-arvojen ohella käytetään LC50-arvoja, jolloin on vastaavasti mitattu kuolleisuutta (LC, lethal concentration) sekä IC50-arvoja, jolloin on havainnointi jonkun tekijän inhibitiota (IC, inhibition concentration). Kroonista toksisuutta arvioitaessa käytetään usein NOEC-arvoja (NOEC, no-effect concentration). NOEC-arvojen käyttöä on herättänyt kritiikkiä, sillä niillä arvioidaan vaikutuksia, joita ei voida nähdä eikä NOEC-arvolla näin ollen ole tarkkaa määritelmää. NOEC-arvot eivät myöskään ole vertailukelpoisia eri tutkimusten välillä, sillä ne

riippuvat laimennussarjojen tiheydestä eikä niiden virheitä voida arvioida. Joskus havainnoista määritetään myös LOEC-arvo (lowest observable effective concentration).

Näiden arvojen lisäksi toksisuutta kuvataan LID ja TU yksiköillä. LID (lowest ineffective dilution) on käytössä pääasiassa Saksassa ja se ilmaisee suurimman pitoisuuden, jossa havaittu vaikutus ei ylitä testikohtaista vaihtelua. Lukuarvo ilmaistaan tuon laimennuksen laimennuskertoimen käänteislukuna. Lähes samanlainen tapa on ilmaista raja-arvot G-arvoina. G-arvo on näytteen laimennuskertoimen käänteisluku siitä pitoisuudesta, jossa sovittu kynnyсарvo ei ylity. Käytännössä LID- ja G-arvo ovat usein samat. Jos kynnyсарvoksi asetetaan esimerkiksi valobakteeritestissä 20 %:n inhibitio ja jos vaatimukseksi on jäteveden G-arvo < 32, täytyy 1:32 laimennetun näytteen inhibition olla alle 20 %. Valobakteerin testikohtainen vaihtelu on myös noin 20 %.



Kuva 8. Suotovesipitoisuuden ja Probit-muunnetun vasteen välinen riippuvuus. Probit-muunnettu vaste on itämätömien viherkrassin siemenien lukumäärä (Kärkkäinen 2011).

TU -toksisuusyksikköjä (toxicity unit) käytetään erityisesti Yhdysvalloissa ja Kanadassa. TU-arvo akuuteille testeille (TUa) lasketaan jakamalla 100 LC50-arvolla tai EC50-arvolla ja kroonisille testeille (TUc) lasketaan jakamalla 100 NOEC-arvolla tai EC25-arvolla. TU-arvojen tulkitsemista on pidetty yksinkertaisena, sillä niiden lukuarvot kasvavat myrkyllisyyden mukaan. EC -arvoja käytettäessä taas pienempi arvo kuvaa myrkyllisempää ainetta. Lukuarvoja vertailtaessa on kuitenkin syytä varmistaa, että laskutapa on sama.

## 6.2 Tulosten tulkinta ja käyttö

Jotta biotestien tuloksista voitaisiin tehdä hyödyllisiä johtopäätöksiä, pitäisi testien olla luotettavia ja antaa todenmukainen kuva näytteiden haitallisuudesta. Useista käytössä olevista biotesteistä on saatavilla tarkka ohjeistus, jossa käydään läpi kaikki testin suorituksen vaiheet liuosten valmistuksesta koejärjestelyiden kautta tulosten tulkitsemiseen saakka. Tarkasta ohjeistuksesta huolimatta testituloksissa on vaihtelua niin eri laboratorioiden kuin myös koe-eläinlajien sisällä ja välillä. Vaihtelu voi johtua esimerkiksi eroista laboratoriohenkilökunnan työtavoissa, käytettyjen koe-eläinten terveydestä, ravinnosta, iästä, kunnosta tai herkkyydestä, näytteen säilytysajasta tai laimennoksissa käytetyn veden koostumuksesta (US EPA 2002). Mittausepävarmuutta voidaan kuitenkin yrittää pienentää testien laadunvalvonalla ja käyttämällä standardisoituja ja valideja testimenetelmiä (COHIBA 2007). Tulosten vertailua ja tulkintaa helpottaa, mikäli niiden yhteydessä ilmoitetaan testien mittausepävarmuus tai muu luotettavuustieto sekä tiedot vertailuaineiden tuloksista.

Toksisuustulosten vaihtelu eri näytteenottokerroilla samasta lähteestä tulkitaan helposti testien antamaksi ”vääräksi” tulokseksi tai testien epäluotettavuudeksi. Todennäköisempi syy tähän on jäteveden laadun

vaihtelu. Hätiköityjä johtopäätöksiä ei pitäisi myöskään tehdä haittavaikutusten ja tunnettujen haitallisten kemikaalien pitoisuuksien tai virtaamien välisistä yhteyksistä. Kanadassa tehdyssä teollisuusjätevesien tutkimuksessa osoitettiin havainnollisesti, että toksisuuden vaihtelusta vain osa selittyy tunnettujen aineiden pitoisuuksilla (Sarakinos ym, 2000). Jos taas näyte on toistuvasti tietyllä testillä toksinen, ei tämän tuloksen perusteella ilman jatkotutkimuksia (TIE, EDA) voida olla varmoja että aiheuttaja olisi sama aine. Näytteessä voi olla eri aineita, joilla on sama vaikutusmekanismi. Tulosten tulkinnassa on myös syytä muistaa, että kemikaaliseosten ollessa kyseessä on aina mahdollisuus kemikaalien yhteisvaikutuksiin, jotka voivat olla laadultaan toisiaan vahvistavia (synergistisiä), vaimentavia (antagonistisia) tai yhteenlaskettavia (additiivisia).

## 7 Toksisuustestien tuoma lisäarvo

Jätevesien toksisuustestauksen perusajatus poikkeaa kemiallisesta analytiikasta siinä, että yksittäisten kemikaalien pitoisuuksien määrittämisen sijasta tutkitaan kaikkien näytteessä olevien aineiden aiheuttamia biologisia vaikutuksia. Tällöin saadaan selville eri yhdisteiden yhteisvaikutukset, mikä ei pitoisuusmäärittysten pohjalta ole toistaiseksi mahdollista. Näyte tutkitaan mahdollisuuksien mukaan ilman esikäsitteilyä ja se edustaa jätevettä sellaisena kuin se joutuu vesistöön. Toksisuustestaus täydentää kemian analytiikkaa tarjoamalla toisen lähestymistavan. Erityisen hyvin ne sopivat käytettäviksi monia eri yhdisteitä tai tuntemattomia yhdisteitä sisältävien jätevesien tutkimiseen, sillä laajamittainen kemiallinen testaus kattaa vain osan vesistöön kulkeutuvista yhdisteistä. Maailmanlaajuisesti markkinoilla on arvioitu olevan noin 14 miljoonaa kemikaalia ja tunnettuja kemikaaleja noin 50 miljoonaa (Brack ym. 2011). Päivittäisessä käytössä lienee noin 100 000 kemikaalia.

Toksisuustestien käyttö yhdistettynä kehittyneeseen kemialliseen analytiikkaan tekee mahdolliseksi haitta-aineiden tunnistamisen, mikä puolestaan on tärkeää jäteveden puhdistusmenetelmien toimivuuden tarkkailun ja kehittämisen kannalta. Samalla tavalla voidaan selvittää myös eri lähteistä puhdistamolle tulevien jätevesien ominaisuuksia. Kun halutaan selvittää haittavaikutusten aiheuttaja tai se jäteveden osa, jossa haittavaikutuksia esiintyy, on näytettä fraktioitava kemiallisesti ja tutkittava eri fraktioiden vaikutukset. Tätä menetelyä toistamalla riittävän monta kertaa käyttäen herkkiä toksisuustestejä ja kehittyneitä kemian analyysimenetelmiä on mahdollista selvittää vaikutusten aiheuttaja ja suunnata toimenpiteet sen mukaisesti.

Jätevesien sisältämien monien kemikaalien ja niiden muuntumistuotteiden vaikutuksista pitkän ajan kuluessa tiedetään suhteellisen vähän. WEA -menetelyllä voidaan arvioida kaikki jäteveden sisältämien komponenttien, myös metaboliittien ja sivutuotteiden, vaikutukset. Komponenttien tunnistaminen ei ole välttämätöntä.

Ekologisten vaikutusten havainnointi on kallista ja tulosten tulkinta vaikeaa, mikäli halutaan selvittää mistä muutokset johtuvat. Ympäristön kemiallisen ja biologisen tilan parantamiseksi ainoaksi keinoksi jää päästöjen vähentäminen. Jätevesien toksisuustestauksen hyödyntäminen tarjoaa tähän ennakoivan keinon. Toiminnanharjoittajan on mahdollista arvioida ympäristölle aiheutuva riski ja samalla toteuttaa ympäristösuojelulain yleistä varovaisuusperiaatetta ja selvilläolovelvoitetta.

## 8 Toksisuustestien rajoitukset

Toksisuustesteihin kuten kaikkiin tutkimustekniikoihin liittyy eräitä rajoituksia. Testiorganismit tarvitsevat tietynlaisen ympäristön, jossa esimerkiksi kiintoaineen määrä, happipitoisuus ja pH eivät ole niiden elintoiminnoille vahingollisella tasolla. Ellei näin ole, joudutaan näytettä esikäsittelemään, mikä voi muuttaa myös näytteessä olevien haitta-aineiden ominaisuuksia. Testitulosten tulkinnassa onkin aina otettava esikäsitteilyn mahdollinen vaikutus huomioon.

Eliöiden herkkyys haitta-aineiden vaikutuksille vaihtelee, eikä ole olemassa yhtä testiä, jolla voitaisiin saada kokonaiskuva jäteveden laadusta. Joudutaan siis tekemään useampia testejä käyttäen eri eliöitä. Biologinen vaihtelu ilmenee myös saman lajin eri yksilöiden välisenä vaihteluna. Biologisten testien



tarkkuus on yleensä selvästi huonompi kuin mihin on totuttu kemian analytiikassa. Lisäksi jätevesien sisältämät kemikaalit voivat aiheuttaa stimulaatiota esiintyessään pieninä pitoisuuksina, vaikka ne suurina pitoisuuksina olisivatkin haitallisia. Tätä ilmiötä kutsutaan hormoneiksi. Samaan tapaan myös ravinteet saattavat aiheuttaa testitulosten vääristymistä esimerkiksi levän tai kasvien kasvuun perustuvissa testeissä. Sameiden, paljon kiintoainetta tai suoloja sisältävien näytteiden tutkiminen vaatii näytteiden esikäsittelyä ja aina ei esikäsittelylläkään saada näytteestä testiin sopivaa. Tällaisten tilanteiden kohdalla virhetulkintojen mahdollisuus on otettava huomioon.

Biologisia menetelmiä arvostellaan niiden hitaudesta, mikä pitkäaikaistestien kohdalla onkin väistämätön tosiasia. Toisaalta on huomattava, että jätevesiä tutkimalla saataisiin tietoa mahdollisista vaaroista ennen kuin vaikutukset näkyvät ympäristössä eikä vasta jälkikäteen havainnoimalla.

Testitulosten tulkinta vaatii hyvää asiantuntemusta ja riittävää kokemusta. Toimiva laaduntarkkailu on myös oleellista ja auttaa usein ongelmatilanteiden ratkaisuisissa. Laaduntarkkailu tarkoittaa näytteiden tutkimisen ohella jatkuvaa menetelmien toimivuuden ja eliöiden terveyden ja kunnan tarkkailua, mikä luonnollisesti lisää kustannuksia.

Toksisten päästöjen lyhytaikaisuudesta ja ajoittaisesta luonteesta johtuen voi olla vaikea saada luotettavaa kokonaiskuva jäteveden laadusta. Sama ongelma koskee tietysti myös kemian analytiikkaa. Riittävän tiheä ja oikein ajoitettu näytteenotto on siis erittäin tärkeitä.

Vaikka nykyisin on jo käytettävissä varsin monipuolinen valikoima erilaisiin biologisiin vaikutuksiin perustuvia menetelmiä, on vielä paljon kehittämistarpeita. Esimerkiksi jäteveden sisältämien aineiden biokertyvyyden ja pysyvyyden tutkimiseksi tarvittaisiin yleisesti hyväksytyjä menetelmiä. Tulosten tulkintaa helpottaisi jos voitaisiin käyttää myös paikallisia lajeja yleisimmin käytettyjen lyhytaikaisten testien (levänkasvu- ja valobakteeritesti sekä vesikiripun akuutti toksisuus) ohella, sillä laboratorioon sopeutuneet koe-eliöiden kannat voivat olla paljon kestävämpiä erilaisille stressitekijöille kuin luonnonkannat.

## 9 Suosituksia jatkotoimenpiteiksi

### 9.1 Jätevesikartoitus

Toksisuustestaus soveltuu hyvin koostumukseltaan monimutkaisten jätevesien haitallisuuden arviointiin. Edellä käsitellyt testimenetelmät (ks. kappale 4) soveltuvat sekä teollisuusjätevesien että yhdyskuntajätevesien toksisuuden testaukseen. Aluksi tulisi tehdä laaja kartoitus yhdyskuntajätevesien haittavaikutuksista seuraavasti:

- Tutkimuskohteiksi valitaan ensimmäisessä vaiheessa puhdistustekniikoiltaan erilaiset laitokset (8 - 10 kpl) ja toisessa vaiheessa tutkitaan esimerkiksi kaikki asukasvastineluvultaan yli 10 000 puhdistamot. Tämän jaottelun mukaan tarkastellaan yhteensä noin 90 puhdistamo, pois lukien kaikkein pienimmät puhdistamot, joiden valtakunnallinen merkitys on vähäinen.
- Testausmenetelmiksi valitaan standardisoidut valobakteeri-, levä- ja vesikirpputestit (akuutti toksisuus), kalanmätitesti (akuutti vaikutus kaloihin) ja umu-testi (genotoksisuus, myös 1:100 konsentroiduista näytteistä). Hormonaaliset vaikutukset tutkittaisiin ER- ja AR-CALUX tai YES- ja YAS-testeillä. Näillä testeillä pystytään laajasti arvioimaan erilaisiin mekanismeihin perustuvat ja vakavat vaikutukset.
- Toksisuuden vaihtelun selvittämiseksi näytteitä otettaisiin vuoden ajan 10 kertaa noin kerran kuussa, yhden kuukauden ajan tiheennetty näytteenotto (1 krt/vko) eli yhteensä 13 kertaa yllä mainituilla testeillä. Lisäksi akuuteilla testeillä yhden viikon aikana 7 kertaa. Tällainen näytteenottosuunnitelma kattaisi käytännössä koko vuoden toiminta-ajan, jatkuva seuranta johtaisi kohtuuttomiin kustannuksiin.

- Testien tuloksia verrattaisiin COHIBA-projektin tuloksena syntyneisiin raja-arvosuosituksiin (ks. luku 9.2). Tarkastelun perusteella saadaan kokonaiskuva jätevesien toksisuudesta sekä jätevedenpuhdistuksen toimivuudesta suhteessa haitallisiin aineisiin.

Kartoituksen perusteella arvioidaan jatkuvan seurannan tarve, tiheys ja siinä käytettävät menetelmät. Samassa yhteydessä tulisi sopia toimenpiteistä, joihin ryhdytään, jos toksisuutta havaitaan.

## 9.2 Kartoitustulosten hyödyntäminen

Myrkyllisyyden analysointi jätevesistä voitaisiin ottaa käytännöksi voimassa olevan ympäristönsuojelun pohjalta ja IPPC-direktiivin tarkoittamana parhaan käytettävissä olevana tekniikkana. Näin toteutuisi myös toiminnan harjoittajan velvollisuus olla selvillä toiminnan aiheuttamasta pilaantumisriskistä. Jotta vaatimukset olisivat tasapuolisia, tulisi asettaa yhtenäiset raja-arvot jäteveden toksisuudelle. Kartoituksesta saatujen tulosten perusteella harkittaisiin sellaiset käytännöt seurannan tiheyden ja raja-arvojen tasojen osalta. Näin voitaisiin varmistaa, että ympäristöön päästettävien vesien laatu ei aiheuta riskiä lyhyen eikä pitkän ajan kuluessa. Samalla tulee huolehtia siitä, ettei toiminnanharjoittajille aiheudu kohtuuttomia kustannuksia. Toiminnanharjoittajien ja lupaviranomaisten käsitys ohjeistuksen tarpeesta tulisi kartoittaa ja sen mukaisesti laatia opas testien soveltamisesta. Tavoitteena tulisi olla toksisuustestauksen laajempi käyttö vesistöön johdettavien jätevesien laadun valvonnassa.

Hyvänä periaatteena olisi, että

- lyhytaikaisilla testeillä todettavaa toksisuutta sisältävää jätevettä ei saa päästää ympäristöön testituloksiin liittyvä epävarmuus huomioon ottaen ja
- pitkäaikaisvaikutukset on selvitetty kohtuullisen hyvin.

Käytännössä tämä tarkoittaa sitä, että jätevesi tutkittaisiin määrävälein ainakin levä-, valobakteeri- ja vesikirpputestillä. Kalan alkiotestin käyttöä tulisi harkita. Kun tiedetään että mittausepävarmuus levä-, valobakteeri- ja vesikirpputestillä on noin 10–20%, eivät vaikutukset saisi olla tätä suurempia. Erikseen tulisi miettiä seuranta poikkeustilanteiden varalta. Jos oletetaan, ettei suuria yllätyksiä tapahtuisi, ei tällaisten vaatimusten täytyminen aiheuttaisi ylivoimaisia toimenpiteitä laitoksille, ovathan haitallisten aineiden pitoisuudet suomalaisten yhdyskuntajätevedenpuhdistamoiden purkuvesissä yleensä alhaisella tasolla (VVY 2008).

Pitkäaikaisvaikutuksia tulisi tutkia genotoksisuustestillä, hormonitoiminnan häiriöitä kuvaavilla testeillä ja vesikirpun lisääntymistestillä ja/tai kalan mäti-poikastestillä. Lisäksi tulisi kiinnittää huomiota haitta-aineiden pysyvyyteen ja kertyvyyteen. Menetelmien kehitystä tulisi seurata tiiviisti ja ottaa käyttöön sellaisia *in vitro* -testeitä, joiden vastaavuus *in vivo* -testeihin on riittävän hyvin osoitettu. Pitkäaikaista toksisuutta kuvaavista testeistä ehdotettiin COHIBA-projektissa (COHIBA, 2010b) seuraavia raja-arvoja, joita voitaisiin käyttää alustavina vertailuarvoina kartoitustulosten tulkinnassa:

- seeprakalan mäti-poikastestissä laimentamattomassa jätevedessä alle 40 % vaikutus,
- vitellogeniinin tilastollisesti merkittävää induktiota kalansoluilla ei saa esiintyä 5 % testipitoisuudessa,
- *D.magnan* lisääntymistestissä ei vaikutusta 25 % pitoisuudessa tai laimeammassa, ja
- genotoksisuutta umuC-testillä korkeimmalla mahdollisella pitoisuudella (induktiokerroin alle 1,5, kun näytepitoisuus on 67 %).

Pitkäaikaistestien avulla arvio ympäristövaikutuksista on luotettavampi kuin akuutteihin testeihin perustuva arvio.

Yhdyskuntajätevesistä otetaan näytteitä kemiallisiin määrittäyksiin säännöllisin väliajoin ja niiden vuotuinen vähimmäismäärä (2 – 24 näytettä) määräytyy puhdistamon koon mukaan. Analyysitulokset raportoidaan alueelliselle ELY-keskukselle ja kunnan ympäristönsuojeluviranomaisille, ja tallennetaan ympäristöhallinnon VAHTI-tietojärjestelmään. Samalla tavalla tulisi kerätä tiedot toksisuustesteistä yhteen ja

raportoida vuosittain. Kerättyjä tuloksia tulisi myös aktiivisesti hyödyntää kehittämistarpeiden arvioinnissa.

## KIRJALLISUUS

- Abegglen C. & Siegrist H. 2012: Mikroverunreinigungen aus kommunalem Abwasser. Verfahren zur weitergehenden Elimination auf Kläranlagen. Bundesamt für Umwelt, Bern, Umwelt-Wissen Nr.1214: 210 S.
- Brack, W., Ulrich, N. & Bataineh, M. 2011. Separation Techniques in Effect-directed Analysis, ss. 83- 118, kirjassa: The Handbook of Environmental Chemistry Volume 15: Effect-directed Analysis of Complex Environmental Contamination (toim. Brack, W), Springer 2011, Berlin Heidelberg.
- Burgess, R.M., Ho, K.T. Brack, W. & Lamoree, M. 2013: Effect-Directed Analysis (EDA) and Toxicity Identification Evaluation (TIE): Complementary but different approaches for diagnosing causes of environmental toxicity. *Env Toxicol Chem* 32 (9): 1935-1945.
- Campbell, C.G., Borglin, S.E., Green, F.B., Grayson, A., Wozei, E. & Stringfellow, W.T.: 2006. Biologically directed environmental monitoring, fate, and transport of estrogenic endocrine disrupting compounds in water: A review. *Chemosphere* 65: 1265-1280.
- COHIBA. 2010a: Ring-test Report of the COHIBA Project WP3: *Daphnia magna* acute toxicity test, algae growth inhibition test and luminescent bacterium test. –Suomen ympäristökeskus (SYKE). Helsinki.
- COHIBA. 2010b: Whole Effluent Assessment (WEA): Proposed Recommendations for the Use of Toxicity Limits. [http://www.cohiba-project.net/identification/recommendations/en\\_GB/recommendations/](http://www.cohiba-project.net/identification/recommendations/en_GB/recommendations/)
- Collins A.R. 2004: The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol Biotechnol* 26(3):249-61.
- Copeland C. 2010 Clean Water Act: A Summary of the Law. Congressional Research Services, CRS Report RL30030.
- Direktiivi 91/271/ETY: Euroopan yhteisöjen neuvoston direktiivi 91/271/ETY yhdyskuntajätevesien käsittelystä.
- ECETOC. 2004: Whole Effluent Assessment. European Centre of Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals. Technical Report No. 94. Brussels.
- Eggen, R., Bengtsson, B-E., Bowmer, C., Gerritsen, A., Gibert, M., Hylland, K., Johnson, A., Leonards, P., Nakari, T., Norrgren, L., Sumpter, J., Suter, M., Svenson, A. & Pickering, A. 2003: Search for the Evidence of Endocrine Disruption in the Aquatic Environment: Lessons to be Learned from Joint Biological and Chemical Monitoring in the European Project COMPREHEND. –*Pure and Applied Chemistry* 34: 2445 – 2450.
- Federal Ministry for the Environment, Nature Conservation and Nuclear Safety, Germany. 2004: Ordinance on Requirements for the Discharge of Waste Water into Waters (Waste water Ordinance – AbwV). –Federal Law Gazette I.
- Fleischer, M. 2007. Testing Costs and Testing Capacity According to the REACH Requirements – Results of a Survey of Independent and Corporate GLP Laboratories in the EU and Switzerland. –*Journal of Business Chemistry* 4: 96 – 114.
- Gartiser, S., Hafner, C., Hercher, C., Kronenberger-Schäfer, K. & Paschke, A. 2010. Whole effluent assessment of industrial wastewater for determination of BAT compliance. Part 2: metal surface treatment industry. *Environ Sci Pollut Res* 17(5), 1149-1157.
- HELCOM. 2002a: HELCOM Recommendations 23/10: Reduction of Discharges and Emissions from Production and Formulation of Pesticides. –Helsinki Commission.
- HELCOM. 2002b: HELCOM Recommendations 23/11: Requirements for Discharging of Waste Water from the Chemical Industry 1). –Helsinki Commission.
- HELCOM. 2002c: HELCOM Recommendations 23/12: Reduction of Discharges and Emissions from Production of Textiles 1). –Helsinki Commission.
- Hernan, R. & O'Rourke, K. 2012: Aquatic Toxicity in Ireland 2011. –Enterprise Ireland. Shannon.
- Hernan, R. & O'Rourke, K. 2012: Aquatic Toxicity in Ireland 2012. –Enterprise Ireland. Shannon.
- HSY. 2013: Jätevedenpuhdistus pääkaupunkiseudulla 2012 - Viikinmäen ja Suomenojan puhdistamot– Helsingin seudun ympäristöpalvelut - kuntayhtymä. Helsinki. [http://www.hsy.fi/tietoahsy/Documents/Julkaisut/4\\_2013\\_Jatevedenpuhdistus\\_paakaupunkiseudulla\\_2012.pdf](http://www.hsy.fi/tietoahsy/Documents/Julkaisut/4_2013_Jatevedenpuhdistus_paakaupunkiseudulla_2012.pdf)

- Hynning, P.-Å. 1996: Separation, identification and quantification of components of industrial effluents with bioconcentration potential. *Water Research* 30(5):1103-1108.
- IPPC-direktiivi 2008/1/EY: Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivi ympäristön pilaantumisen ehkäisemisen ja vähentämisen yhtenäistämiseksi.
- IPTS. 2003a. Reference Document on the General Principles of Monitoring .  
[http://eippcb.jrc.ec.europa.eu/reference/BREF/mon\\_bref\\_0703.pdf](http://eippcb.jrc.ec.europa.eu/reference/BREF/mon_bref_0703.pdf)
- IPTS. 2003b: Reference Document on Best Available Techniques in Common Waste Water and Waste Gas Treatment / Management Systems in the Chemical Sector. Institute for Prospective Technological Studies, Sevilla.  
[http://eippcb.jrc.ec.europa.eu/reference/BREF/cww\\_bref\\_0203.pdf](http://eippcb.jrc.ec.europa.eu/reference/BREF/cww_bref_0203.pdf)
- Kaj, L., Allard, A., Andersson, H., Hageström, U., Brorström-Lundén, E., Schultz, L., Munne, P., Nakari, T., Schultz, E., Fulara, I., Wypych, J., Kwosek, M., Manko, T. & Czaplicka, M. 2011: WP3 National Report Sweden. –Swedish Environmental Research Institute. Stockholm.
- Karvonen, A., Taina, T., Gustafson, J., Mannio, J., Mehtonen, J., Nystén, T., Ruoppa, M., Sainio, P., Siimes, K., Silvo, K., Tuominen, S., Verta, M., Vuori, K.-M. & Äystö, L. 2012: Vesiympäristölle vaarallisista ja haitallisista aineista annettujen säädösten soveltaminen: kuvaus hyvistä menettelytavoista. – Ympäristöministeriön raportteja 15. Ympäristöministeriö. Helsinki.
- Karttunen, E. 2004: RIL 124-2. Vesihuolto II. – Suomen rakennusinsinöörin liitto RIL. Helsinki.
- Kienle, C., Kase, R. & Werner, I. 2011. Evaluation of bioassays and wastewater quality: In vitro and in vivo bioassays for the performance review in the Project "Strategy MicroPoll". Swiss Centre for Applied Ecotoxicology, Eawag-EPFL, Duebendorf.
- Kärkkäinen, P. 2011: YMPS309: yhteenvetoraportti: fytotoksisuus: kasvien varhaiskasvun esto. –Jyväskylän yliopisto. Jyväskylä.
- Leverett, D. 2006: Integrated Pollution Prevention & Control (IPPC) - Guidance on the use of Direct Toxicity Assessment in PPC Impact Assessments. –Environment Agency. London.
- MMER. 2012: FISHERIES ACT: Metal Mining Effluent Regulations. –Minister of Justice. Canada Gazette Part II vol. 139.
- Naturvårdsverket. 1989: Biologisk – kemisk karakterisering av industri avloppsvatten. Tillämpning vid provning och tillsyn av miljöfarlig verksamhet. –Allmänna råd 89:5. Naturvårdsverket. Solna.
- Naturvårdsverket. 2010: Kemisk och biologisk karakterisering av punktsläpp till vatten. Handbok 2010:3 Utgåva 3. –Naturvårdsverket. Stockholm.
- OSPAR. 2000: OSPAR Background Document concerning the Elaboration of Programmes and Measures relating to Whole Effluent Assessment. Julkaisu numero 117/2000. Lontoo.
- OSPAR. 2005: Whole Effluent Assessment Report. Julkaisu numero 219/2005. Lontoo.
- OSPAR. 2007: Practical Guidance Document on Whole Effluent Assessment. Julkaisu numero 316/2007. Lontoo.
- Pedersen, F., Kristensen, P., Damborg, A. & Christensen, H.W. 1994: Ecotoxicological evaluation of industrial wastewater. –Miljöprojekt 254. Danish Environmental Protection Agency.
- Pluta, H.-J. & Rosenberg, M. 2005. German perspective kirjassa Environmental Toxicity Testing, toim. Thompson, K.C., Wadhia, K. & Loibner, A.P. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK. ss. 290-301.
- Poikâne, R., Kadike, S. & Aigards, J. 2011: Proposals for the State Monitoring Programme 2011. –Latvian Institute of Aquatic Ecology.
- Power, E.A. & Boumphrey, R.S. 2004: International Trends in Bioassay Use for Effluent Management. –*Ecotoxicology* 13: 377 – 398.
- Roots, O. & Leisk, Ü. 2012: Proposals for the Estonian State Monitoring Programme 2012. –Estonian Environmental Research Centre.
- Räsänen, M., Karvonen, V., Muurinen, J., Sopanen, S. & Pääkkönen, J-P. 2011: Helsingin ja Espoon merialueen tila vuonna 2010: Jätevesien vaikutusten velvoitetarkkailu. –Helsingin kaupungin ympäristökeskuksen julkaisuja 6/2011. Helsingin kaupungin ympäristökeskus. Helsinki.
- Santala, E. & Etelämäki, L. 2009: Yhdyskuntien jätevesien puhdistus 2007. –Suomen ympäristökeskuksen raportteja 29/2009. Suomen ympäristökeskus (SYKE). Helsinki.
- Sarakinos, H., Birmingham, N., White, P.A. & Rasmussen, J.B. 2000: Correspondence between whole effluent toxicity and the presence of priority substances in complex industrial effluents. *Environ Toxicol Chem* 19(1):63-71.



## LYHENTEET

**BAT** best available techniques, paras käyttökelpoinen tekniikka

**BATNEEC** (best available technique not entailing excessive costs) parasta käytettävissä olevaa tekniikkaa, josta ei aiheudu kohtuuttomia kustannuksia

**BHK** (BOD) biologinen hapenkulutus

**BREF** BAT reference document BAT-vertailuasiakirja

**COHIBA** -projekti, Control of hazardous substances in the Baltic Sea region

**DTA** direct toxicity assessment, jäteveden toksisuuden arviointi, synonyymi WEA:lle

**EC<sub>x</sub>** effective concentration, pitoisuus joka aiheuttaa x prosentille koe-eliöistä jonkin ennalta määrätyn vaikutuksen, esimerkiksi vesikirpputestin EC<sub>50</sub> = 40 % kertoo että koe-eliöistä puolet muuttuu testiajan kuluessa liikuntakyvyttömiksi, kun tutkittavan näytteen pitoisuus testissä on 40 %.

**EDA** effect directed analysis, vaikutusperustainen analyysi, biologisiin vaikutuksiin perustuva haitta-aineiden tunnistamiseen tähtäävä menettely

**HELCOM** Helsinki komissio, Itämeren merellisen ympäristön suojelukomissio

**IC<sub>x</sub>** inhibition concentration, pitoisuus joka aiheuttaa mitattavaan suureeseen x prosentin vähenemän

**IPPC** (integrated pollution prevention and control) Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivi ympäristön pilaantumisen ehkäisemisen ja vähentämisen yhtenäistämiseksi

**KHK** (COD) kemiallinen hapenkulutus

**K<sub>ow</sub>** vesi-oktanolikerroin, kuvaa kemiallisen yhdisteen vesi-/rasvaliukoisuutta

**LC<sub>50</sub>** lethal concentration, pitoisuus joka tappaa 50 prosenttia koe-eliöistä

**LID** lowest ineffective dilution näytteen laimein liuos, jolla ei vielä ole vaikutuksia

**LOEC** lowest observable effective concentration, pienin havaittavan vaikutuksen aiheuttava pitoisuutta

**NOEC** no observed effect concentration, suurin pitoisuus joka ei vielä aiheuta koe-eliöissä havaittavia vaikutuksia

**OSPAR** Oslo-Pariisi -komissio, Koillis-Atlantin merellisen ympäristön suojelukomissio

**TIE** toxicity identification evaluation, toksisuustesteihin perustuva haitta-aineiden tunnistamiseen tähtäävä menettely

**TRE** toxicity reduction evaluation, toksisuuden vähentymisen todentaminen

**TU** toxic unit, toksisuutta kuvaava yksikkö. Määritellään usein akuuttia toksisuutta mittaavista kokeista  $TU_A = 100/EC_{50}$ , ja kroonista toksisuutta mittaavista joko  $TU_C = 100/NOEC$  tai  $TU_C = 100/EC_{10}$ .

**WEA** whole effluent assessment, jäteveden toksisuuden arviointi, synonyymi DTA:lle

## Liite 1. Toksisuustestien kustannukset

Arviot toksisuustestauksen kustannuksista vaihtelevat huomattavasti (Fleischer 2007). IPPC:n BAT-vertailuasiakirjan (IPPC 2006) mukaan WEA:n kustannukset ovat verrannollisia yksittäisen kemiallisen yhdisteen laajamittaiseen kartoitukseen. Toisaalta kustannusten on myös raportoitu olevan suurin piirtein samaa luokkaa kattavan kemiallisen haitta-aineanalyysin kanssa, mutta hyötysuhteen suurempi, sillä kokonaistoksisuustestauksessa myös yhdisteiden yhteisvaikutusten ja mahdollisesti mukana olevien tuntemattomien yhdisteiden vaikutukset otetaan huomioon. On arvioitu että WEA:n yleistyessä kustannukset laskevat ja ovat paljonkin alhaisemmat kuin joidenkin tiettyjen yksittäisten kemiallisten yhdisteiden kattavien analyysien hinnat (OSPAR 2005).

Palvelujen tarjoajilta on avoimesti saatavilla erittäin niukasti toksisuustestien hintatietoja. Useimmiten laboriorit tarjoavat testejä yksittäisten toimeksiantojen perusteella. Tämä johtunee pääasiassa vähäisestä kysynnästä, minkä vuoksi jatkuvaa rutiininomaista testausta on hyvin vähän. Satunnaisten, harvoin kysytyjen palvelujen hinnat ovat luonnollisesti korkeammat kuin jatkuvasti kysytyjen palvelujen.

Tavanomaisen laborioritilojen ja varusteiden lisäksi toksisuustestejä varten tarvitaan erikoistiloja, joissa ylläpidetään eliöiden kantakasvatuksia ja tehdään varsinaiset testit. Kantakasvatukset ja testit tulisi tehdä erillisissä tiloissa kontaminaatoriskin takia. Lyhytaikaisten vesikirppu-, levänkasvu- ja valobakteeritestien vaatimien laitteiden hinnat ovat kuitenkin varsin kohtuullisia, tuhansissa tai kymmenissä tuhansissa euroissa laitetta kohti, verrattuna esimerkiksi orgaanisen kemian analyysilaitteiden hintoihin (kromatografit, detektorit usein yli 100 000 euroa). Laitteiden hinnat tietenkin vaihtelevat suuresti. Toksisuustesteissä tarvitaan ravinto- ja kasvatusliuosten valmistamiseen kemikaaleja, jotka ovat tavanomaisia suhteellisen halpoja aineita. Pitkäaikaiset testit ovat tietenkin työlämpiä, vaativat enemmän asiantuntemusta ja laborioriohenkilökuntaa, mutta niiden arvo riskien arvioinnissa on myös suurempi.

Jos laborioriossa on tietty perusvarustelu, on työvoimakustannus ehkä suurin testihintoihin vaikuttava tekijä. COHIBA-projektin aikana verrattiin 5 orgaanisia aineita sisältävän ryhmän (HELCOMin prioriteettiaineita) kemiananalytiikan ja kolmen akuutin toksisuustestin suorittamiseen kulunutta työaikaa.

<b>Toksisuustestit</b>	<b>Kemialliset analyysit</b>
28 näytettä	34 näytettä
38 työpäivää	156 työpäivää
3 testiä	5 aineryhmää
työaika/näyte = 1,3 d	työaika/näyte = 4,6 d

Valobakteeri ja vesikirpun akuutin toksisuustesti hinnat ovat arviolta 300 - 400 euroa ja levätestin hinta noin 400 - 500 euroa. Jos alkukartoituksessa tehtäisiin edellä ehdotettu määrä eli 10 kertaa vuodessa noin kerran kuussa, yhtenä kuukautena kerran viikossa ja yhtenä viikkona joka päivä akuutit testit, olisivat kustannukset tältä osin 19 000 – 25 000 euroa.

## KUVAILULEHTI

Julkaisija	Suomen ympäristökeskus	Julkaisu-aika 2014
Tekijä(t)	Eija Schultz, Pauli Kärkkäinen, Markus Sillanpää, Pirjo Sainio	
Julkaisun nimi	Toksisuustestauksen soveltuvuus suomalaisten yhdyskuntajätevesien tarkkailuun ja haitallisten aineiden riskinarviointiin	
Julkaisusarjan nimi ja numero	Suomen ympäristökeskuksen raportteja 7/2014	
Julkaisun teema		
Julkaisun osat/ muut saman projektin tuottamat julkaisut	Julkaisu on saatavana vain internetistä: <a href="http://www.syke.fi/julkaisut">www.syke.fi/julkaisut</a>   <a href="http://helda.helsinki.fi/syke">helda.helsinki.fi/syke</a>	
Tiivistelmä	<p>Yhdyskuntajätevedenpuhdistamolle tuleva jätevesi on laadultaan vaihtelevaa ja harvoin pelkästään kotitalouksien jätevetä. Viemäriin päätyy lukuisia kemiallisia yhdisteitä, joiden kemiallisia ja biologisia ominaisuuksia ei tunneta. Tässä raportissa käsitellään jätevesien haitallisuuden arviointia biologisia menetelmiä käyttäen, esitellään käytettävissä olevia menetelmiä sekä luodaan katsaus näiden menetelmien käyttöön eri maissa. Raportin lopussa ehdotetaan eräitä jatkotoimenpiteitä, joilla voitaisiin edistää jätevesien haittavaikutusten arviointia ja pyrkiä ennalta ehkäisemään ympäristön pilaantumista. Myrkyllisyydestien ja muiden biologisten menetelmien käyttöä suositellaan tarkkailumenetelmäksi kemiallisten analyysien ohella, puhdistusprosessien toimivuuden seurannan ja kehittämisen apuna, puhdistamoon tulevien vesien laadun tarkkailussa ja tuntemattomien haitta-aineiden jäljittämisessä. Raportissa pyritään tuomaan esiin biologisten menetelmien edut ja mahdollisuudet, kehittämistarpeet sekä rajoitukset, joita niihin liittyy.</p>	
Asiasanat	jätevesi, myrkyllisyys, ekotoksikologia, biotestit, haitalliset aineet, raja-arvot	
Rahoittaja/ toimeksiantaja	Ympäristöministeriö	
	ISSN (pdf) 1796-1726	ISBN (verkkoj.) 978-952-11-4278-9
	Sivuja 32	Kieli suomi
	Luottamuksellisuus julkinen	
Julkaisun jakelu	Suomen ympäristökeskus (SYKE), neuvonta PL 140, 00251, Helsinki Sähköposti: <a href="mailto:neuvonta.syke@ymparisto.fi">neuvonta.syke@ymparisto.fi</a>	
Julkaisun kustantaja	Suomen ympäristökeskus (SYKE), syke.fi PL 140, 00251, Helsinki Puh. 0295 251 000	
Painopaikka ja -aika	Helsinki 2014	



## PRESENTATIONSBLAD

Utgivare	Finlands miljöcentral	Datum 2014
Författare	Eija Schultz, Pauli Kärkkäinen, Markus Sillanpää, Pirjo Sainio	
Publikationens titel	Toxicitetstesters lämplighet för övervakning av finsk kommunalt avloppsvatten och riskbedömning av farliga ämnen	
Publikationsserie och nummer	Finlands miljöcentrals rapporter 7/2014	
Publikationens tema		
Publikationens delar/andra publikationer inom samma projekt	Publikationen finns tillgänglig på internet: <a href="http://www.syke.fi/publikationer">www.syke.fi/publikationer</a>   <a href="http://helda.helsinki.fi/syke">helda.helsinki.fi/syke</a>	
Sammandrag	<p>Kvaliteten av avloppsvattnet som kommer till samhällenas reningsverk är av varierande kvalitet, och består sällan enbart av hushållens avloppsvatten. I avloppet hamnar ett stort antal kemiska föreningar, vars kemiska och biologiska egenskaper är inte kända. Denna rapport behandlar bedömningen av avloppsvattens skadlighet genom biologiska metoder, presenterar de metoder som finns tillgängliga, och ger en översikt av användningen av dessa metoder i olika länder. I slutet av rapporten föreslås ett antal åtgärder, som skulle kunna främja bedömningen av avloppsvattens skadlighet och således bidra till att förhindra miljöförstöring. Användningen av toxicitetstester och andra biologiska metoder rekommenderas tillsammans med kemiska analyser, för övervakning och utveckling av reningsprocessernas effektivitet, för övervakningen av inflöde och för att spåra okända föroreningar. Rapporten lyfter fram fördelarna och möjligheterna med de biologiska metoderna samt utvecklingsbehoven och begränsningarna som de medför.</p>	
Nyckelord	avloppsvatten, giftighet, ekotoxikologi, biotester, skadliga ämnen, gränsvärden	
Finansiär/uppdragsgivare	Miljöministeriet	
	ISSN (pdf) 1796-1726	ISBN (online) 978-952-11-4278-9
	Sidantal 32	Språk Finska
	Offentlighet Offentlig	
Distribution	Finlands miljöcentral (SYKE), PB 140, 00251 Helsingfors Epost: <a href="mailto:neuvonta.syke@ymparisto.fi">neuvonta.syke@ymparisto.fi</a>	
Förläggare	Finlands miljöcentral (SYKE), PB 140, 00251 Helsingfors Tel. 0295 251 000 Epost: <a href="mailto:neuvonta.syke@ymparisto.fi">neuvonta.syke@ymparisto.fi</a>	
Tryckeri/tryckningsort-år	Helsingfors 2014	

## DOCUMENTATION PAGE

Publisher	Finnish Environment Institute	Date	2014
Author(s)	Eija Schultz, Pauli Kärkkäinen, Markus Sillanpää, Pirjo Sainio		
Title of publication	Feasibility of toxicity testing in the monitoring and risk assessment of Finnish municipal wastewaters		
Publication series and number	Reports of the Finnish Environment Institute 7/2014		
Theme of publication			
Parts of publication/ other project publications	The publication is available in the internet: <a href="http://www.syke.fi/publications">www.syke.fi/publications</a>   <a href="http://helda.helsinki.fi/syke">helda.helsinki.fi/syke</a>		
Abstract	<p>Municipal wastewater treatment plants receive sewage of varying quality. Domestic sewage contains a large number of chemical compounds. The chemical and biological properties of the chemicals are not well-known. This report is an overview on the biological assessment methods of wastewater effluents and on the application of these methods in various countries. Toxicity tests and other biological methods are recommended as complementary monitoring tools along with chemical analyses. In addition, toxicity tests are valuable in control and development of the wastewater purification processes, in control of influent quality, and in tracing of unknown contaminants. This report aims to highlight the advantages and possibilities of using biological methods, paying attention also to the need to development methods and to the inherent limitations of the methods. The report concludes with a number of recommendations and measures to be taken to improve protection of the environment in a precautionary fashion.</p>		
Keywords	wastewater, toxicity, ecotoxicology, biotests, hazardous substances, limit values		
Financier/ commissioner	Ministry of the Environment		
	ISSN (pdf)	ISBN (online)	
	1796-1726	978-952-11-4278-9	
	No. of pages	Language	
	32	Finnish	
	Restrictions	Price	
	public		
Distributor	Finnish Environment Institute (SYKE), neuvonta P.O. Box 140, FI-00251 Helsinki, Finland Email: <a href="mailto:neuvonta.syke@ymparisto.fi">neuvonta.syke@ymparisto.fi</a>		
Financier of publication	Finnish Environment Institute (SYKE), P.O. Box 140, FI-00251 Helsinki, Finland Phone +358 295 251 000		
Printing place and year	Helsinki 2014		



