

LIHALUUJAUHOKÄSITTELYN VAIKUTUS
RASKASMETALLIEN LIUKOISUUTEEN

VILI SAARTAMA

HELSINGIN YLIOPISTO
YMPÄRISTÖTIETEIDEN LAITOS
YMPÄRISTÖEKOLOGIA
PRO GRADU -TUTKIELMA
25.9.2019



Tiedekunta – Fakultet – Faculty Bio- ja ympäristötieteellinen tiedekunta		Laitos – Institution – Department Ekosysteemit ja ympäristö -tutkimusohjelma	
Tekijä – Författare – Author Vili Saartama			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Lihaluujauhokäsittelyn vaikutus raskasmetallien liukoisuuteen			
Oppiaine – Läroämne – Subject Ympäristöekologia			
Työn laji – Arbetets art – Level Pro gradu -tutkielma		Aika – Datum – Month and year 25.09.2019	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 54
Tiivistelmä – Referat – Abstract			
<p>Maaperän saastuminen ihmisen toiminnan seurauksena on vakava ympäristöongelma. Pilaantuneista kohteista moni on sekasaastunut. Tämänkaltaisissa kohteissa orgaanisten haitta-aineiden lisäksi maassa saattaa olla myös raskasmetalleja. Tavanomaiset saastuneen maaperän kunnostusmenetelmät, kuten massanvaihto, ovat usein kalliita ja ekologisesti kestäättömiä. Monet biologiset kunnostusmenetelmät ovat taloudellisempia ja aiheuttavat kohteiden ekosysteemille vähemmän vahinkoa. Näiden menetelmien käyttö Suomessa on kuitenkin suhteellisen vähäistä niihin liittyvien epävarmuustekijöiden takia.</p> <p>Yksi biologinen maaperän kunnostusmenetelmä on biostimulaatio, jossa maan luontaisen mikrobipopulaation hajotustoimintaa pyritään nopeuttamaan. Menetelmässä maaperän oloja muokataan haitta-aineiden mineralisaatiolle sopivammaksi. Tämä voidaan toteuttaa lisäämällä maaperään muun muassa ravinteita, yleisimmin typpeä ja fosforia. Lisäksi maaperän redox-potentiaalia voidaan pyrkiä muokkaamaan. Biostimulaatio toimii parhaiten orgaanisiin haitta-aineisiin, joita mikrobit kykenevät hajottamaan, esimerkiksi öljyhiiivetyihin. Menetelmän avulla ei kyetä hajottamaan raskasmetalleja. Biostimulaatio kuitenkin muuttaa maaperän olosuhteita suuresti. Muutokset redox-potentiaalissa ja pH:ssa voivat vaikuttaa suuresti maaperän raskasmetallien liukoisuuteen ja liikkuvuuteen. Jos biostimulaation avulla pyritään kunnostamaan raskasmetalleilla ja orgaanisilla haitta-aineilla saastunutta kohdetta, olisi hyvä selvittää, miten biostimulaatio voi muuttaa raskasmetallien liukoisuutta.</p> <p>Tässä pro gradu -tutkielmassa testattiin lihaluujauholla suoritettua biostimulaation vaikutusta raskasmetallien liukoisuuteen. Tutkielmassa suoritettiin mikrokosmoskoe ja suuremman mittakaavan koe lysimetreillä Soilia-maaperäntutkimusasemalla. Kokeissa selvitettiin, miten lihaluujauhon sekoittaminen raskasmetalleilla saastuneeseen maahan vaikuttaa näiden metallien liukoisuuteen veteen. Lisäksi selvitettiin, liukeneeko lihaluujauhosta merkittäviä määriä fosforia. Kokeessa tutkittiin metalleja Fe, Mn, Ni, Zn, Pb ja P. Kokeissa käytettiin aidosta kohteesta peräisin olevaa saastunutta maata. Kokeessa käytetty lihaluujauho oli peräisin Honkajoki Oy:ltä. Mikrokosmoskokeissa käytettiin saastuneella maalla täytettyjä pönttöjä, joiden läpi perkoloituneesta vedestä analysoitiin liuenneiden metallien ja fosforin pitoisuudet. Lysimetrikokeissa saastuneella maalla täytettyjä lysimetrejä kasteltiin puhtaalla vedellä ja lysimetrien läpi perkoloituneesta vedestä analysoitiin niihin liuenneiden metallien ja fosforin pitoisuudet.</p> <p>Kokeissa selvisi, että lihaluujauholla on suuri vaikutus joidenkin metallien liukoisuuteen. Metalleista erityisesti rautaa ja mangaania liukeni suuria pitoisuuksia sekä mikrokosmoskokeissa, että lysimetrikokeissa. Korkeimmillaan mangaanin pitoisuudet olivat jopa yli 1000 mg/l. Myös nikkeliä havaittiin korkeita pitoisuuksia, yli 60 mg/l. Sinkin ja lyijyn pitoisuudet taas olivat varsin matalia, eikä lihaluujauhokäsittelyllä ollut merkittävää vaikutusta niiden pitoisuuksiin. Fosforia uutui enemmän lihaluujauholla käsitellystä maasta, mutta määrä ei ollut ympäristön kannalta merkittävä. Mangaanin ja raudan liukoisuuden kasvu johtuivat todennäköisesti hapettomien olojen muodostumisesta maaperään lihaluujauhon lisäyksen tehostaman mikrobitoiminnan vaikutuksesta. Metallien liukoisuuden runsas kasvu voi aiheuttaa riskejä pohjavedelle. Toisaalta lisääntynyt metallien liukoisuus voi olla myös hyödyksi, jos näitä metalleja pyritään biostimulaation yhteydessä poistamaan muilla kunnostusmenetelmillä. Fytoakkumulaatio tai elektrokineettinen kunnostus voisivat soveltua biostimulaatiota tukeviksi kunnostusmenetelmiksi kohteessa, joka on saastunut sekä hiilivedyillä, että raskasmetalleilla.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords Biostimulaatio raskasmetallit lihaluujauho			
Ohjaaja tai ohjaajat – Handledare – Supervisor or supervisors Martin Romantschuk			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Ekosysteemit ja ympäristö -tutkimusohjelma			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

1. Johdanto	2
1.1. Hiilivedyillä ja raskasmetalleilla saastuneen maaperän biologinen kunnostaminen.....	3
1.2. Mikrobiologiset perusteet.....	3
1.2.1. Lihaluujauho	7
1.2.2. Biostimulaatio.....	8
1.3. Tutkittavat yhdisteet	9
1.3.1. Raskasmetallit.....	9
1.3.2. Metallien liukoisuus ja kulkeutuminen maaperässä	10
1.3.3. Mangaani	12
1.3.4. Rauta	12
1.3.5. Nikkeli	13
1.3.6. Lyijy.....	13
1.3.7. Sinkki.....	14
1.4. Tutkielman tavoitteet.....	14
2. Aineisto ja menetelmät.....	15
2.1. Mikrokosmoskoe	15
2.2. Lysimetrikoe.....	16
2.3. Vesinäytteiden analysointi.....	17
2.4. Tilastolliset analyysit.....	17
3. Tulokset.....	18
3.1. Mikrokosmoskokeet	18
3.2. Lysimetrikokeet.....	27
4. Tulosten tarkastelu	35
4.1.1. Metallien liukoisuuteen kokeen aika vaikuttaneet tekijät.....	35
4.1.2. Mahdollisia virhelähteitä analyysissa	38
4.1.3. Metallien liukoisuuden muutosten aiheuttamat riskit.....	39
4.1.4. Metallien liukoisuuden muutoksien hyödyt.....	41
5. Johtopäätökset.....	42
6. Kiitokset	43
7. Kirjallisuus	45

1. Johdanto

Maaperän pilaantuminen ihmisen toiminnan seurauksena on vakava globaali ongelma. Suomessa noin 28500 alueen maaperä on pilaantunut ihmisen toiminnan vaikutuksesta. Maaperän pilaantuminen voi aiheutua muun muassa teollisesta toiminnasta, haitta-aineiden varastoinnista, onnettomuuksien seurauksena syntyvistä päästöistä tai kaivostoiminnasta. Pilaantunut maa-alue tulee kunnostaa ennen kuin se voidaan ottaa uuteen käyttöön. Pilaantuneet maamassat tulee myös käsitellä ennen kuin niitä voidaan käyttää esim. rakennusmateriaaleina. Saastuneiden alueiden kunnostus on myös tärkeää pohjavesien suojelun kannalta. (Pyy ym. 2013)

Monien pilaantuneiden kohteiden kunnostus on kallista ja tuottaa suuria häiriöitä kohteiden paikalliselle ekosysteemille, jos sovelletaan perinteisiä kunnostusmenetelmiä. Tavanomainen maaperän kunnostusmenetelmä on massanvaihto, jossa saastunut maa korvataan puhtaalla maalla ja kuljetetaan pois käsiteltäväksi. Maanmuokkauksesta ja maan kuljetuksesta syntyy runsaasti kustannuksia ja hiilipäästöjä. Silti Suomessa merkittävä osa kunnostettavista kohteista kunnostetaan massanvaihdolla. (Sorvari ym. 2009) Maaperän luontainen mikrobipopulaatio kykenee hajottamaan useita orgaanisia haitta-aineita. Tämä luontainen hajoaminen on kuitenkin usein hyvin hidasta. Biostimulaatiossa maaperässä olevat haitta-aineet pyritään mineralisoimaan tehostamalla maaperässä olevien luontaisten mikrobien hajotustoimintaa. Biostimulaation on havaittu olevan tehokas metodi öljyhiilivedyillä pilaantuneen maaperän kunnostuksessa (Simpanen 2016). Menetelmä ei vaadi yhtä intensiivistä maanmuokkausta tai maamassojen kuljettamista verrattuna massanvaihtoon.

Merkittävä osa Suomen pilaantuneen maan kohteista on saastunut öljyhiilivedyillä, jotka sopivat hyvin biostimulaation avulla suoritettavaan puhdistamiseen. Tyypillisiä kohteita ovat vanhat huoltoasemat ja autokorjaamot. Osa näistä kohteista on saastunut hiilivetyjen lisäksi myös raskasmetalleilla. (Pyy ym. 2013) Täten tulee myös selvittää,

miten näissä kohteissa toteutettu biostimulaatio vaikuttaa metallien kulkeutumiseen ja liukoisuuteen maaperässä.

Tässä pro gradu -tutkielmassa biostimulaatiomenetelmäksi valittiin lihaluujauhon lisääminen maahan typen ja fosforin määrän kasvattamiseksi maassa. Tutkielman tarkoituksena on tutkia lihaluujauholla suoritettun biostimulaatiokäsittelyn vaikutusta raskasmetalleilla saastuneen maan sisältämien metallien liukoisuuteen. Tavoitteena on selvittää, miten raskasmetallien liikkuvuus muuttuu maaperässä ja mitä mahdollisia hyötyjä tai riskejä muutoksista voi seurata. Työn kokeellinen osuus suoritettiin kesällä 2017.

Tutkielma toteutettiin osana REMSOIL-hanketta. REMSOIL-hanke pyrkii kehittämään lihaluujauhon avulla suoritettavasta biostimulaatiosta edullisen kaupallisen menetelmän. Tekesin (nykyinen Business Finland) TUTLI-rahoituksen avulla REMSOIL-hankkeesta synnyttiin spin-off-yritys REMSOIL, joka on toiminut vuodesta 2017.

1.1. Hiilivedyillä ja raskasmetalleilla saastuneen maaperän biologinen kunnostaminen

Tässä työssä tutkittiin etupäässä biostimulaation vaikutusta metallien liukoisuuteen. Lihaluujauholla tehty biostimulaatio soveltuu kuitenkin parhaiten orgaanisten haitta-aineiden, kuten hiilivetyjen, mineralisointiin. Ohessa selvitetään, mitkä ovat biostimulaation tyypilliset toimintamekanismit ja miten maan saastuminen myös metalleilla vaikuttaa biostimulaation tehoon.

1.2. Mikrobiologiset perusteet

Biostimulaatiossa maaperän luontaisella mikrobiyhteisöllä on suuri rooli haitta-aineen mineralisaatiossa. Jotta bioremediaatio voisi onnistua, täytyy maaperässä olla haitta-

ainetta hajottamaan kykenevä mikrobipopulaatio (Adams ym. 2015). Suomessa maaperän tilan tietojärjestelmässä (MATTI) mukana olevista pilaantuneen maan kohteista kahdessa kolmasosassa maata pilaava toiminta oli jo päättynyt (Pyy ym. 2013). Näissä kohteissa alkuperäisestä päästöstä on kulunut usein pitkä aika, joten alueiden maaperän mikrobiyhteisöillä on ollut aikaa sopeutua hajottamaan maaperään päätyneitä haitta-aineita.

Vaikka sopiva mikrobiyhteisö on läsnä maaperässä, haitta-aine ei hajoa tehokkaasti, elleivät monet muut tekijät ole aineen hajoamiselle sopivia. Kaikki mikrobit tarvitsevat selviytyäkseen energiaa, vettä, elektronin vastaanottajan, ravinteita ja hiilen lähteen. Esimerkiksi hiilivedyt tarjoavat mikrobeille hiilen lähteen sekä energiaa kasvua varten, mutta ne eivät sisällä juuri lainkaan typpeä tai fosforia. Jos näiden ravinteiden biosaatavat muodot hupenevat maasta, hiilivetyjen hajoaminen hidastuu merkittävästi. (Sylvia ym. 2005)

Mikrobit pystyvät käyttämään monia eri molekyyilejä elektronin vastaanottajana, mutta happi (O₂) on tehokkain näistä molekyyleistä (Sylvia ym. 2005 luku 3). Hiilivetyjen hajoamisen on havaittu olevan nopeampaa hapellisissa kuin hapettomissa oloissa. Hiilivetyjen hajoaminen hapettomissa oloissa on mahdollista, mutta yleensä hidasta. (Widdel ym. 2001) Jos happea ei ole läsnä, hiilivetyjä hajottavat mikrobit voivat käyttää elektronin vastaanottajana nitraattia, ferrirautaa tai sulfaattia (Widdel ym. 2001). Nämä elektronin vastaanottajat eivät ole energeettisesti yhtä tehokkaita kuin happi. Lisäksi hapellisissa oloissa hiilivetyjen hajottamisessa tärkeät mono- ja dioksygenaasientsyymit eivät toimi hapettomissa oloissa (Sylvia ym. 2005 luku 3). Näiden biokemiallisten syiden takia hiilivedyillä saastuneen maaperän tulisi pysyä hapellisena biostimulaation ajan.

Maaperän kosteuden tulee olla sopiva mikrobien toiminnalle. Ilman riittävää kosteutta mikrobien kasvu estyy veden puutteen takia. Liian suuri kosteus taas estää maaperän

kaasujen vaihtoa ja voi johtaa hapettomiin oloihin maaperässä. Optimaalinen kosteus maaperän mikrobeille vaihtelee välillä 12-25 % (Mukherjee ym. 2005).

Tärkeä tekijä on myös haitta-aineen pitoisuus maaperässä. Hyvin suuret pitoisuudet haitta-ainetta voivat olla toksisia mikrobeille ehkäisten niiden kasvua ja täten estäen bioremediaation käynnistymisen. Liian pienet pitoisuudet haitta-ainetta taas eivät saa mikrobeita erittämään haitta-ainetta hajottavia entsyymejä. (Widdel ym. 2001)

Jotta mikrobit voisivat hajottaa haitta-ainetta, sen täytyy olla mikrobeille biosaatavassa muodossa. Hiilivedyt, etenkin pitkäketjuiset, ovat heikosti vesiliukoisia ja usein huonosti biosaatavia (Sylvia ym. 2005 luku 20). Hiilivedyt voivat sitoutua maaperän orgaaniseen materiaan ja olla täten heikosti biosaatavia maaperän mikrobeille ja täten mikrobit eivät kykene hajottamaan niitä (Weissenfels 1991).

Maaperän lämpötilan täytyy olla myös sopiva mikrobien toiminnalle. Lämpötila vaikuttaa suoraan mikrobien metabolian nopeuteen ja tehokkuuteen. Bioremediaation teho kasvaa lämpötilan kasvaessa (Widdel ym. 2001). Liian kuumat lämpötilat (yli 40°C) voivat heikentää bioremediaation tehoa, mutta näin suuria lämpötiloja harvoin saavutetaan Suomen maaperässä.

Metallit voivat toimia inhibiittorina mikrobien kasvulle suurina pitoisuuksina. Metallit voivat haitata proteiinien ja entsyymien normaalia toimintaa sitoutumalla niihin (Jaishankar ym. 2014). Monet raskasmetallit (muun muassa lyijy ja kadmium) sitoutuvat entsyymien SH -ryhmiin estäen niiden toiminnan. Maanesteeseen liuenneet kahdenarvoisena kationina esiintyvät raskasmetallit voivat haitata solun normaalia ioninvaihtoa inhiboiden ravinnekationien ottoa maanesteestä. Raskasmetallit voivat myös sitoutua soluissa antioksidanttina toimivaan glutationiin häiriten sen toimintaa ja täten kasvattaen vapaiden happiradikaalien määrää solussa. (D. H. Nies 1999)

Suurien metallipitoisuuksien on havaittu vaikuttavan yleisesti negatiivisesti maaperän mikrobiyhteisöihin. Raskasmetalleilla saastuneessa maassa karikkeen on havaittu hajoavan hitaammin kuin puhtailla alueilla, mikä viittaa hidastuneeseen mikrobien metaboliaan. Voimakkaasti raskasmetalleilla saastuneessa maassa hiilidioksidin tuotanto on alhaisempi kuin puhtaassa maaperässä. (Bååth ym. 1989) Esimerkiksi korkean lyijypitoisuuden on havaittu vähentävän maaperän mikrobibiomassaa ja hiilidioksidin tuotantoa maaperässä (Al Gaidi 2010). Metallien toksisuuteen vaikuttaa kuitenkin myös niiden biologinen saatavuus. Maaperän metallien kokonaispitoisuudesta ei voida suoraan päätellä niiden toksisuutta maan mikrobiyhteisölle (Bååth ym. 1989). Esimerkiksi lyijy on usein biologisesti heikosti saatavissa, joten vaikka maaperän lyijyn kokonaispitoisuus olisi suuri, niin sen toksinen vaikutus mikrobeille voi olla pienempi kuin lyijyn kokonaispitoisuudesta voisi päätellä. (D. H. Nies 1999)

Eri mikrobilajit ja -kannat reagoivat eri tavoin maaperän metallipitoisuuksiin. Mikrobit pystyvät vähentämään metallien toksista vaikutusta monin tavoin. Ne voivat sitoa metalleja proteiineihin ja soluseinämiin, eristää metallit solun sisällä, muodostaa metalleista liukenemattomia sulfideja, vähentää metallien ottoa ja tehostaa niiden erittämistä solun ulkopuolelle (Giller ym. 1998). Metallien runsas määrä saastuneessa maaperässä muodostaa mikrobiyhteisölle valintapaineen, joka suosii metallien korkeampia pitoisuuksia sietäviä mikrobeita. Raskasmetalleilla saastuneiden kaivosalueiden maaperän mikrobiyhteisöissä on havaittu olevan sitä enemmän metallien toksisuudelle resistenttejä mikrobeja, mitä suurempi maan metallipitoisuus on. (Olson & Thornton 1982)

Jos alueelle on kertynyt metalleja pitkän ajan kuluessa, alueen mikrobiyhteisö on todennäköisesti sopeutunut niiden läsnäoloon. PAH-yhdisteillä ja raskasmetalleilla saastuneen maaperän mikrobiyhteisön on havaittu poikkeavan selvästi puhtaan ympäristön mikrobiyhteisöstä. (Campbell ym. 1995) Campbell ym. havaitsivat myös, että saastuneessa maaperässä oli huomattavasti enemmän raskasmetalleille

resistenttejä mikrobeja puhtaaseen maahan verrattuna. Lisäksi mikrobeilla oli kyky hajottaa maaperän PAH-yhdisteitä. Täten voidaan päätellä, että biostimulaatiota voidaan käyttää hiilivetyjen hajottamiseen myös voimakkaasti metalleilla saastuneessa maassa.

1.2.1. Lihaluujauho

Lihaluujauho on lihateollisuuden sivutuote, jonka raaka-aineena ovat syötäväksi kelpaamattomat eläinten ruhojen osat. Lihaluujauho valmistetaan jauhamalla ruhon osat, sterilisoimalla ne ja erottelemalla rasva. Lopputuotteena syntynyt aine on vaaleankellertävää kuivaa jauhetta. (Tammeorg 2010) Lihaluujauho koostuu pääosin proteiineista (50 %), tuhkasta (28 %), rasvasta (14 %), vedestä (8 %) ja karkeista kuiduista (2 %). Koostumukseen vaikuttaa mistä eläimestä lihaluujauho on tehty (Honkajoki oy).

Lihaluujauhoa käytetään sen sisältämien ravinteiden takia yleisesti luomulannoitteena. Lannoitekäyttö väheni radikaalisti teurasjätteen rehukäytön yhteydessä levinneen hullunlehmäntaudin aiheuttamien epidemioiden takia. Epidemiat johtivat lihaluujauhon käytön kieltoon rehuna 1994 ja käyttörajoitukseen lannoitteena 2002. Lihaluujauhon käyttö lannoitteena sallittiin kuitenkin uudelleen jo 2006. (Tammeorg 2010) Monet yritykset myyvät nykyään lihaluujauhoa ja siihen pohjautuvia lannoitteita (Honkajoki oy.).

Lihaluujauho sisältää runsaasti typpeä (8 %) ja fosforia (6 %). Ravinteiden määrät vaihtelevat valmistuksessa käytetyn raaka-aineen erojen takia. (Tammeorg 2010) Suuren ravinnepitoisuutensa takia lihaluujauho on kuitenkin hyvä ravinteiden lähde mikrobeille.

Lihaluujauhon on havaittu parantavan joidenkin raskasmetallien sitoutumista maaperään ja vähentävän niiden liukoisuutta. Esimerkiksi kokeissa, joissa maaperään

on lisätty lihaluujauhoa, on sinkin, kadmiumin ja lyijyn liukoisuus selvästi vähentynyt. (Sneddon ym. 2006)

1.2.2. Biostimulaatio

Biostimulaatiossa saastunutta maa-aluetta pyritään kunnostamaan lisäämällä maahan ravinteita tai hapettavia aineita. Biostimulaatio voidaan suorittaa *in situ* ja yleensä näin suoritettulla biostimulaatiolla on pieni vaikutus ympäristöön.

Ravinteiden lisääminen tehostaa maaperän luonnollisten mikrobien toimintaa ja samalla haitta-aineen hajoamista. Hiilivedyt sisältävät runsaasti energiaa ja voivat toimia hiilen lähteenä maaperän luontaisille mikrobeille. Tämänkaltaisessa tilanteessa mikrobien kasvua rajoittavaksi tekijäksi voi muodostua typen ja fosforin puute. Tämänkaltaisessa tilanteessa ravinteiden lisäyksellä voi olla hiilivetyjen hajoamista nopeuttava vaikutus. (Romantschuk et al. 2000)

Tavanomainen ja yleisesti käytetty tapa kunnostaa saastuneita maa-alueita on kaivaa saastunut maa ylös ja viedä se muualle käsiteltäväksi. Suomessa vain n. 10 % pilaantuneista kohteista kunnostetaan *in situ* –menetelmillä. (van Liedekerke ym. 2014) Maaperän kaivaminen ylös poistaa haitta-aineet kohteesta tehokkaasti. Menetelmä on myös nopea. Saastunutta maata kuljetetaan käsittelyä varten kuitenkin pitkiä matkoja, joka tuottaa hiilidioksidipäästöjä. Lisäksi saastunut maa korvataan usein puhtaalla maalla. Nämä käytännöt häiritsevät paikallista ekosysteemiä suuresti ja ovat usein kalliita. (Sorvari ym. 2009)

Jos maamassojen kaivamisen ja kuljetuksen sijasta turvaututtaisiin *in situ* -bioremediaatioon, syntyisi säästöä kustannuksissa. Biostimulaation ongelmana on menetelmän hitaus verrattuna saastuneen maan kaivamiseen ylös ja kuljettamiseen käsittelyyn ongelmajätteenä *ex situ*. Lisäksi *in situ* -kunnostusmenetelmien ongelmana

ovat epäilykset niiden tehokkuudesta pohjoisissa olosuhteissa ja huolet mahdollisista ekologisista riskitekijöistä. (Sorvari ym. 2009)

In situ –bioremediaatio on kuitenkin useissa tapauksissa ekologisesti kestävämpi vaihtoehto. Maamassojen pitkät kuljetusmatkat ja niistä aiheutuneet päästöt vähenevät menetelmää käytettäessä. Samoin saastuneen kohteen maaperän ekosysteemi ei kärsi yhtä suuresta häiriöstä biostimulaatiossa verrattuna saastuneen maan poistamiseen verrattuna. Täten *in situ* –biostimulaatio on usein ekologisesti kestävämpi vaihtoehto verrattuna perinteisempiin menetelmiin. (Sorvari ym. 2009)

1.3. Tutkittavat yhdisteet

1.3.1. Raskasmetallit

Raskasmetallit ovat löyhästi määritelty ryhmä ympäristössä esiintyviä metalleja ja puolimetalleja, joilla on terveydellisiä ja ympäristöllisiä vaikutuksia. Ryhmällä ei ole yhteistä kemiallista määritelmää, mutta sitä käytetään yleisesti ympäristöalan julkaisuissa ja kirjallisuudessa. (vanLoon & Duffy 2011 luku 13)

Raskasmetalleja esiintyy luontaisesti maaperässä ja vedessä, mutta ihmisen toiminta on lisännyt niiden määrää ympäristössä. Raskasmetalleja päätyy ympäristöön muun muassa kaivostoiminnan, energiantuotannon, lyijypitoisen bensiinin polton, teollisen toiminnan, jätteenkäsittelyn ja nahanvalmistuksen vaikutuksesta (Das ym. 2008). Monet raskasmetallit ovat elämälle välttämättömiä hivenaineita pieninä pitoisuuksina, mutta haitallisia suurempina pitoisuuksina. Elohopean, lyijyn ja kadmiumin taas ei tiedetä osallistuvan mihinkään hyödylliseen metaboliseen kiertoon. (vanLoon & Duffy. 2011 luku 13)

Raskasmetallit eivät voi mineralisoitua mikrobitoiminnan tai kemiallisten reaktioiden vaikutuksesta. Näin ollen maaperän raskasmetallit ovat pysyviä. Niiden olomuoto ja liukoisuus voivat kuitenkin muuttua merkittävästi, mikäli maaperän olosuhteet muuttuvat. (vanLoon & Duffy. 2011 luku 13)

Työssä tutkittiin raskasmetalleja Zn, Pb, Ni, Fe, ja Mn. Otetuista näytteistä analysoitiin myös muita metalleja, mutta näiden havaitut määrät olivat hyvin pieniä. Työssä käsitellyt metallit valittiin, koska kokeen aikana otetuissa vesinäytteissä niitä esiintyi suurina pitoisuuksina.

1.3.2. Metallien liukoisuus ja kulkeutuminen maaperässä

Maaperässä metallit liikkuvat suurimmaksi osaksi veden mukana (Heikkinen 2000). Vesiliukoiset aineet kulkeutuvat maaperässä helposti, joten eri metallien muodostamat vesiliukoiset yhdisteet aiheuttavat suurimman riskin kulkeutumiselle hulevesien mukana ja mahdollisen riskin pohjavesille. Metallit muodostavat hyvin vähän kaasumaisia yhdisteitä, eivätkä ne alkuaineina hajoa biologisen tai kemiallisen toiminnan seurauksena.

Metallien liukoisuuteen vaikuttavat monet maaperän fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet. Metallit pidättyvät maaperään adsorboitumalla, absorboitumalla, muodostamalla komplekseja ja saostumalla. Adsorptiossa metalli-ioni sitoutuu maahiukkasen pintaan elektrostaattisilla voimilla, van der Waalsin vetovoimalla tai kovalenttisilla sidoksilla. (Pan ym. 1992) Absorboitumisessa ja saostumisessa metalli-ioni sitoutuu suoraan maan rakenteeseen. Nämä sitoutumistavat ovatkin pysyvämpiä adsorptioon verrattuna. (Backman ym. 2012) Kaikkien näiden sidosten ja vuorovaikutusten pysyvyyteen vaikuttavat maaperän kemialliset ja fysikaaliset olosuhteet. Biostimulaatiossa pyritään usein muokkaamaan näitä olosuhteita, tai stimulaation vuoksi muuttunut mikrobipopulaatio voi muuttaa niitä. Tärkeitä,

mahdollisesti biostimulaation vaikutuksesta muuttuvia tekijöitä ovat pH, redox-potentiaali ja maaperän orgaanisen aineen määrä.

Monet metallit ovat liukoisempia pelkistävässä oloissa. Pelkistävät olot laskevat suoraan mangaanin ja raudan hapetusastetta ja kasvattavat niiden liukoisuutta. Pelkistävässä oloissa mangaanin, raudan ja alumiinin hydroksidisaostumat liukenevat, mikä voi vapauttaa metalleja. (Chuan 1996) Lisäksi hapettomassa maaperässä mikrobit voivat käyttää mangaanin ja raudan hapettuneempia muotoja elektronin vastaanottajana pelkistäen samalla rautaa ja mangaania liukoisempaan muotoon (Xenophon 1988).

Useimpien metallien (muun muassa sinkki, lyijy ja nikkeli) liukoisuus maaperässä kasvaa, jos maaveden pH laskee (Backman ym. 2012). Kun pH laskee, maaperässä olevien raudan, mangaanin ja alumiinin oksidien negatiivinen pintavarustus muuttuu neutraaliksi. Samoin savimineraalien reunapintojen ja orgaanisen aineen pH:sta riippuvat negatiiviset varaukset neutraloituvat. Tällöin postitiivisesti varautuneet metalli-ionit eivät enää pidäty maahan elektrostaattisten voimien vaikutuksella, vaan vapautuvat maanesteeseen. (Alloway ym. 1995)

Maaperän orgaaninen aines voi sitoa raskasmetalleilta itseensä. Lihaluujauhon lisääminen maahan kasvattaa suoraan maaperän orgaanisen aineksen määrää. Orgaanisella aineksella on suuri ominaispinta-ala ja negatiivisia varauksia sisältäviä funktionaalisia ryhmiä (vanLoon & Duffy. 2011 s.303). Toisaalta orgaanisen aineksen hajoaminen kuluttaa maaperän happea ja täten laskee veden redox-potentiaalia (Backman ym. 2012). Orgaanisen aineksen hajotessa syntyy myös orgaanisia happoja, jotka voivat laskea maaveden pH:ta ja täten edistää metallien liukoisuutta.

Maaperän orgaaninen aines sisältää useita funktionaalisia ryhmiä. Tärkeimpiä metalli-ioneja sitovia funktionaalisia ryhmiä ovat hydroksyyli-ryhmät (-OH) ja karboksyyli-ryhmät (-COOH). Lisäksi metalleja sitoutuu metoksi-ryhmiin (-OCH₃),

aminoryhmiin (-NH₂), amiiniryhmiin (=N), rikkihydroxyyliryhmiin (-SH) ja ketoryhmiin (-C=O). (Backman ym. 2012) Monet raskasmetallit voivat sitoutua näihin ryhmiin ja näin ollen niiden liukoisuus heikkenee. Orgaanisen aineksen metallien sitominen on sitä tehokkaampaa, mitä enemmän orgaanisessa aineksessa on funktionaalisia ryhmiä. Humuksen fulvohapot ovat erityisen tehokkaita sitomaan itseensä eri metalleja (Schulin ym. 1995). Orgaaniseen ainekseen sitoutuneet metallit voivat kuitenkin maaperän olojen muuttuessa vapautua uudelleen maanesteeseen. Orgaanisten kompleksien pysyvyyteen maaperässä vaikuttavat metalli-ionien pitoisuus maanesteessä, hapetus- ja pelkistysreaktiot maaperässä, maan pH, mikrobien toiminta maaperässä ja metallin ja orgaanisen aineen muodostaman kemiallisen sidoksen luonne ja sidoksen lukumäärä. (Schulin ym. 1995) Kelaatit ovat organometallikomplekseista pysyvimpiä. Esimerkiksi lyijy pystyy muodostamaan humusmateriaalin karboksyylihapo- (-COOH) ja hydroksyyli- (-OH) ryhmien kanssa kovalenttisen sidoksen avulla hyvin stabiileja rengasmaisia komplekseja, joissa lyijyioni on kiinnittynyt kahteen funktionaaliseen ryhmään (vanLoon & Duffy. 2011 luku 13).

1.3.3. Mangaani

Mangaani on yleinen alkuaine, jota tavataan lähes kaikkialta maankuoresta. Mangaani esiintyy usein maaperässä oksideina. Mangaanilla on 11 eri hapetustasoa, mutta ympäristön kannalta merkittävimpiä ovat Mn²⁺ Mn⁴⁺ ja Mn⁷⁺. (Greenwood & Earnshaw 1997) Mangaani on välttämätön hivenaine ihmisille. Suurina pitoisuuksina se on kuitenkin neurotoksista ihmisille. (Reaney ym 2002) Suomessa mangaanin maksimipitoisuudeksi kaivovedessä on määritetty enintään 100 µg/l (ST 401/2001).

1.3.4. Rauta

Rauta on hyvin yleinen alkuaine, jota esiintyy lähes kaikkialla maaperässä. Rauta esiintyy maaperässä usein erilaisina oksideina. Raudalla esiintyy 10 eri hapetustasoa (-

2 – 7). (Greenwood & Earnshaw 1997) Rauta on välttämätön hivenaine ihmisille ja se on keskeinen monen entsyymin toiminnan kannalta. (Fraga 2005) Rauta voi aiheuttaa veteen maku- ja ulkonäköhaittoja, mutta se ei ole haitallista ihmisille edes suurina pitoisuuksina. Raudan pitoisuudelle vedessä ei ole määrätty terveysperusteista laatuvaatimusta. Laatusuosituksen mukaan yksityiskaivon vedessä tulisi olla korkeintaan 200 µg/l rautaa (ST 401/2001).

1.3.5. Nikkeli

Nikkeli on raskasmetalli, jota tavataan yleisesti rautamalmin yhteydessä. Nikkeli esiintyy luontaisesti usein rauta-, rikki- ja arsenikkiyhdisteinä. Nikkelillä on 7 hapetustasoa (-2 – 4). Hapetustaso +2 on tyypillisin nikkeliyhdisteille. (Greenwood & Earnshaw 1997) Nikkeli ei ole ihmiselle välttämätön hivenaine. Sillä on kuitenkin biologinen rooli joidenkin bakteerien ja kasvien entsyymien toiminnassa. (Mulrooney 2003, Fabiano ym. 2015) Pääasiassa nikkeli on ihmiselle haitallinen raskasmetalli. Altistuminen korkeille nikkelpitoisuuksille voi aiheuttaa allergisia reaktioita, immuunijärjestelmän heikentymistä, vaurioittaa munuaisia ja verenkiertoelimistöä sekä vaikeuttaa rautaa sisältävien proteiinien laskostumista. (Zambelli & Ciurli 2013) Nikkelin pitoisuudelle on määrätty talousvedessä laatuvaatimukseksi alle 20 µg/l (ST 401/2001).

1.3.6. Lyijy

Lyijy on raskasmetalli, joka esiintyy maankuoressa usein rikkiyhdisteinä (Heikkinen 2000). Lyijyä tavataan yleisesti maaperässä ja Suomessa sen keskimääräinen pitoisuus maaperässä on noin 17 mg/kg. Luonnossa lyijyn tyypillisimmät hapetustasot ovat 0, +2 ja +4. (Naumanen ym. 2002) Lyijyllä ei ole tunnettua hyödyllistä biokemiallista roolia ja se on myrkyllistä ihmisille. Altistuminen lyijylle voi vahingoittaa aivoja, munuaisia ja maksaa. Lyijymyrkytys voi johtaa myös hedelmättömyyteen, henkiseen

jälkeenjääneisyyteen ja anemiaan. (Tchounwou ym. 2012) Lyijylle on määrätty talousveden laatuvaatimuksissa 10 µg/l enimmäispitoisuudeksi (ST 401/2001).

1.3.7. Sinkki

Sinkkiä esiintyy luontaisesti pieniä määriä maaperässä. Sinkki muodostaa yhdisteitä rikin ja hapen kanssa ja sitä tavataan usein yhdessä kuparin ja lyijyn kanssa. Sinkiltä tunnetaan vain kaksi hapetusastetta: +1 ja +2. Yleisimpien sinkkiyhdisteiden hapetusaste on +2. (Brady ym. 1982) Sinkki on tärkeä hivenaine ihmiselle. Useat entsyymit tarvitsevat sinkkiä rakenteessaan. Liika sinkin saanti voi heikentää kuparin ja raudan imeytymistä ja johtaa puutostiloihin. (Stefanidou ym. 2006) Sinkin määrälle kaivovedessä ei ole annettu laatuvaatimusta tai -suositusta (ST 401/2001).

1.4. Tutkielman tavoitteet

Tämän pro gradu -tutkielman päätavoitteena oli selvittää, miten lihaluujauhoa ravinteiden lähteenä käyttävä biostimulaatio vaikuttaa raskasmetallien liukoisuuteen. Lihaluujauholla suoritettu biostimulaatio voi muuttaa maan redox-potentiaalia, orgaanisen aineen määrää, happamuutta ja mikrobiyhteisön koostumusta ja täten metallien liukoisuutta. Täten oletuksena oli, että lihaluujauhokäsittely vaikuttaa metallien liukoisuuteen maaperässä. Lisäksi tutkielmassa pyrittiin selvittämään eroja eri metallien käyttäytymisessä ja miten eri metallit reagoivat lihaluujauhokäsittelyyn. Lisäksi pyrittiin selvittämään, liukeneeko lihaluujauhokäsittelyn seurauksena veteen rehevöitymistä aiheuttavaa fosforia.

Tutkielma koostui laboratoriomittakaavan mikrokosmoskokeista ja maaperän tutkimuskeskus Soiliassa suoritetuista suuremman mittakaavan lysimetrikokeista. Molemmissa kokeissa pyrittiin selvittämään, kuinka suuria metallipitoisuuksia lihaluujauholla käsitellystä raskasmetalleilla saastuneesta maasta liukenee maan läpi

perkoloituneeseen veteen. Kokeiden tavoitteena oli saada tietoa lihaluujauhokäsittelyn aiheuttamista raskasmetallien mobilisaatioon liittyvistä mahdollisista riskeistä ja hyödyistä.

Tutkielman tarkoituksena oli täten:

- 1) Selvittää, mitä vaikutuksia lihaluujauhokäsittelyllä on raskasmetallien liukoisuuteen?
- 2) Selvittää, aiheuttako raskasmetallien tai fosforin liukeneminen käsittelyn seurauksena riskejä?
- 3) Selvittää, voidaanko raskasmetallien liukoisuuden muutoksia hyödyntää saastuneen maaperän kunnostuksessa?

2. Aineisto ja menetelmät

Tässä tutkielmassa tehtiin kaksi koetta, laboratorio- ja kenttäkoe pienessä mittakaavassa ja suuremman mittakaavan kenttäkoe. Kokeissa käytettiin dieselillä sekä raskasmetalleilla sekasaastunutta maata sekä pelkästään raskasmetalleilla saastunutta maata. Käytetty maa oli peräisin kahdesta eri kohteesta. Kaikki laboratorioanalyysit suoritettiin Lahdessa Niemen yliopistokampuksella.

2.1. Mikrokosmoskoe

Kokeessa käytettiin kahtatoista akryylikumista valmistettua pönttöä. Pönttöjen tilavuus oli 20 litraa. Pöntöt pestiin vedellä ennen käyttöä. Pöntöissä oli viisi venttiiliä vesinäytteiden ottoa varten, joista neljä tukittiin kokonaan ja alimpaan, 5 cm pöntön pohjasta olevaan, venttiiliin kiinnitettiin hana vesinäytteiden ottoa varten. Venttiilien saumojen tukkimiseen käytettiin Pattex PL-300 -saumamassaa. Jokaisen pöntön pohjalle laitettiin 2,5 cm sorakerros, joka peitettiin puutarhaharsolla.

Kuuteen pönttöön lisättiin jokaiseen 32 kg raskasmetalleilla saastunutta maata. Maa seulottiin ensin käsin. Maasta poistettiin kaikki suurikokoiset (yli 3 cm pituiset) kivet ja oksankappaleet, lasinsirut ja styroksinpalat. Lisäksi kolmeen näistä pöntöistä sekoitettiin 2 paino-% lihaluujauhoa. Kuuteen pönttöön lisättiin 30 kg hiilivedyillä sekä raskasmetalleilla saastunutta maata. Lisäksi kolmeen näistä pöntöistä sekoitettiin 2 % lihaluujauhoa. Jokaiseen pönttöön lisättiin vettä 2 l.

Pönttöjä kasteltiin tämän jälkeen 2 kk lisäämällä puoli litraa vettä joka viikko. Pönttöjen kansia pidettiin suljettuina kokeen ajan kasteluaikoja lukuun ottamatta. Pönttöjen lämpötila oli koko kokeen ajan 20 °C. Kastelun jälkeen odotettiin 24 h, jonka jälkeen alimmaisesta hanasta otettiin vesinäyte. Vettä kerättiin hanasta näytepulloon niin kauan, kun vettä tuli. Vesinäytteistä mitattiin välittömästi pH pH-mittarilla, jonka jälkeen vesinäytteet pakastettiin. Vesinäytteitä otettiin kuuden viikon ajan. Näytteenotto aloitettiin kaksi viikkoa kokeen perustamisesta.

2.2. Lysimetrikoe

Lysimetrikoe suoritettiin Soilia-maaperätutkimuskeskuksella. Kokeessa käytettiin neljää lysimetriä. Lysimetrien korkeus oli 194 cm pohjasta mitattuna ja niiden tilavuus oli 1,7 m³. Lysimetrien pohjalle laitettiin 20 cm kerros soraa ja kiviä, joka peitettiin puutarhaharsolla. Lysimetrien pohjalla olevia venttiileitä käytettiin vesinäytteiden otossa.

Jokaiseen lysimetriin lisättiin noin 1300 litraa raskasmetalleilla saastunutta maata. Maata ei seulottu eikä siitä poistettu sen sisältämiä lasinsiruja, styroksinkappaleita tai muita roskia. Samaa maata käytettiin mikrokosmoskokeessa. Kahteen lysimetriin sekoitettiin 2 % lihaluujauhoa. Sekoittaminen tehtiin lapioilla ja kottikärryillä. Lysimetreihin lisättiin puutarhaletkulla noin 40 litraa vettä.

Lysimetreihin lisättiin viikon välein 10 l vettä. Kastelun jälkeen odotettiin viikko, jonka jälkeen otettiin vesinäytteet. Vettä kerättiin hanasta näyteämpäriin niin kauan kuin vettä tuli. Kastelu kesti kaksi kuukautta. Lysimetrien kannet pidettiin suljettuina kasteluaikojen lukuun ottamatta koko kokeen ajan. Lysimetrien lämpötila vaihteli sään mukaisesti. Vesinäytteistä mitattiin välittömästi pH pH-mittarilla, jonka jälkeen näytteet pakastettiin. Vesinäytteitä otettiin aina viikon välein yhdeksän viikon ajan.

2.3. Vesinäytteiden analysointi

Pakastetut vesinäytteet sulatettiin ja valmistettiin analyysia varten. Jokaisesta näytepullosta otettiin 10 ml ruiskuun. Näyte puristettiin 0,2 μm suodattimen läpi 15 ml pp-putkeen. Kaikkia näytteitä laimennettiin 1/100 ionivaihdettuun veteen. Laimennettua näytettä otettiin 5 ml tyhjiin pp-putkiin, joihin lisättiin 100 μl 65 % HNO_3 . Jokaiseen näyteputkeen lisättiin myös 50 μl sisäistä Indium-standardia. Näytteet sekoitettiin pyörresekoittajalla. Lisäksi valmistettiin jokaista näytesarjaa kohden yksinollanäyte ionivaihdetusta vedestä. Näytteet analysoitiin Elan 6000 ICP-MS-massaspektrometrilla.

2.4. Tilastolliset analyysit

Tilastolliset analyysit tehtiin käyttäen IBM SPSS Statistics 25 -tietojenkäsittelyohjelmaa. Lysimetrikokeissa käytössä oli ainoastaan kaksi lysimetriä kontrollia ja kaksi lihaluujauhokäsittelyä kohden. Tätä suurempaa määrää lysimetrejä ei ollut käytettävissä Soilia -maaperäntutkimusasemalla. Tämä vähäinen toistojen määrä vaikeutti tilastollista analyysia. Myös mikrokosmoskokeissa pystyttiin välineiden ja tilan vähäisyyden takia käyttämään ainoastaan kolmea mikrokosmosta käsittelyä kohden. Näiden ongelmien takia lysimetrikokeissa koko kokeen aikana kerätyistä vesinäytteistä laskettiin metallien keskipitoisuus. Näin saatiin tarpeeksi suuri otoskoko, jotta dataa voitiin analysoida tilastollisesti. Kontrollinäytteiden ja

lihaluujauholla käsiteltyjen lysimetrien läpi perkoloituneiden näytteiden keskipitoisuuksia verrattiin toisiinsa ja etsittiin eroja käsittelyjen välillä. Mikrokosmoskokeissa meneteltiin samalla tavalla.

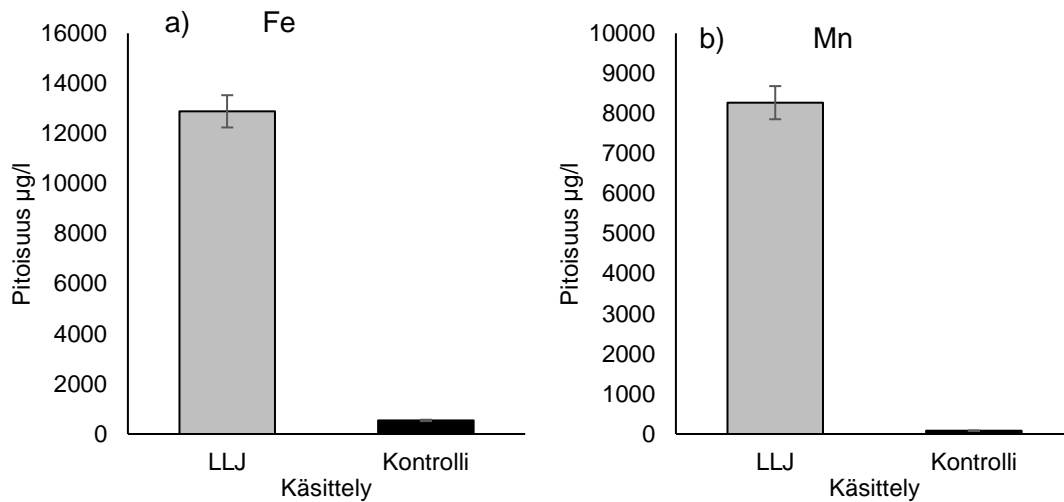
Toistojen vähäisen määrän takia ajan vaikutusta metallipitoisuuksien kehitykseen oli haastava seurata. Koska jokaisella viikolla lysimetreistä saatiin vain kaksi- ja mikrokosmosista kolme näytettä käsittelyjä kohden, ei näitä voinut tilastollisesti luotettavasti verrata toisiinsa. Täten tuloksissa esitellyt pitoisuuksien muutoksia kokeen aikana kuvaavat aikajanat ovat suuntaa antavia.

Kontrollin ja lihaluujauhokäsittelyn välisten pitoisuuserojen tilastollista merkitsevyyttä testattiin t-testillä. Testillä verrattiin koko mikrokosmos- ja lysimetrikokeiden aikana otettujen näytteiden keskipitoisuuksia. T-testien tulokset ovat liitteissä. (Liite 3, Liite 4)

3. Tulokset

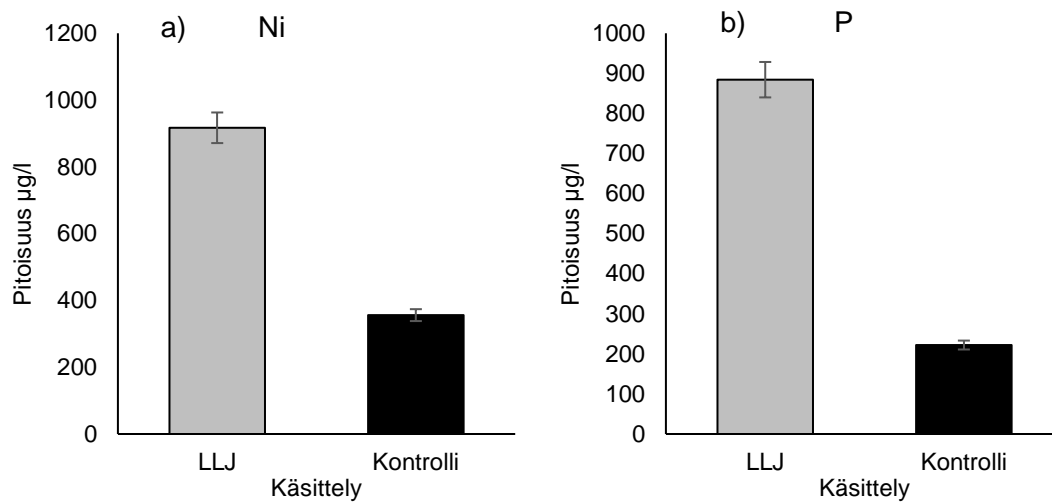
3.1. Mikrokosmoskokeet

Lihaluujauhon lisääminen maahan kasvatti raudan, mangaanin, nikkelin ja fosforin liukoisuutta. Biostimulaatiolla oli erityisen voimakas vaikutus mangaanin ja raudan liukoisuuteen. Lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä mangaanin keskipitoisuus kokeen aikana oli 8268 µg/l ja raudan keskipitoisuus oli 12883 µg/l (kuva 1a-b). Mangaanin kokonaispitoisuudet maan läpi perkoloituneessa vedessä kokeen aikana olivat yli 300-kertaiset kontrolliin verrattuna. Rautaa uutui maasta yli 25 kertaa enemmän lihaluujauholla käsitellystä maasta verrattuna kontrolliin (kuva 1). Raudan ja mangaanin suhteen ero kontrollinäytteiden pitoisuuden ja käsittelyn välillä oli tilastollisesti merkitsevä ($p < 0,05$).



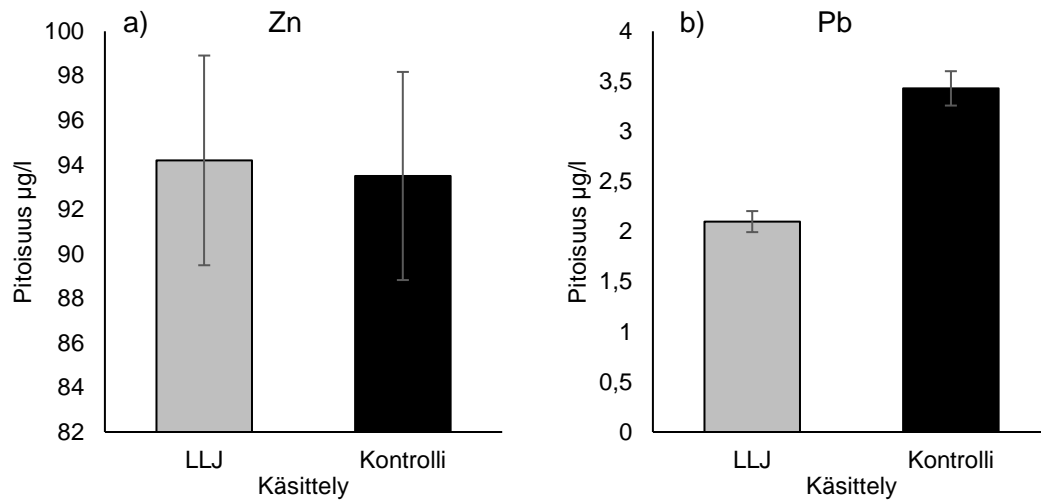
Kuva 1 a ja b. Raudan ja mangaanin keskipitoisuus ($\mu\text{g/l}$) koeastioiden läpi perkoloituneessa vedessä kokeen aikana (*keskiarvo \pm 95 % luottamusväli, $n = 18$*).

Lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä nikkelin keskipitoisuus kokeen aikana oli $917 \mu\text{g/l}$. Nikkelin kokonaispitoisuudet kokeen aikana olivat noin kaksinkertaiset käsittelyssä kontrolliin verrattuna (kuva 2a). Ero kontrollinäytteiden pitoisuuden ja käsittelyn välillä oli tilastollisesti merkitsevä ($p < 0,05$). Nikkelin pitoisuudet olivat pieniä verrattuna mangaanin ja raudan pitoisuuksiin (kuva 1a-b, kuva 2a). Lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä fosforin keskipitoisuus kokeen aikana oli $884 \mu\text{g/l}$. Fosforia uuttui lihaluujauholla käsitellystä maasta noin nelinkertainen määrä kontrolliin verrattuna (kuva 2b). Ero kontrollinäytteiden pitoisuuden ja käsittelyn välillä oli tilastollisesti merkitsevä ($p < 0,05$).



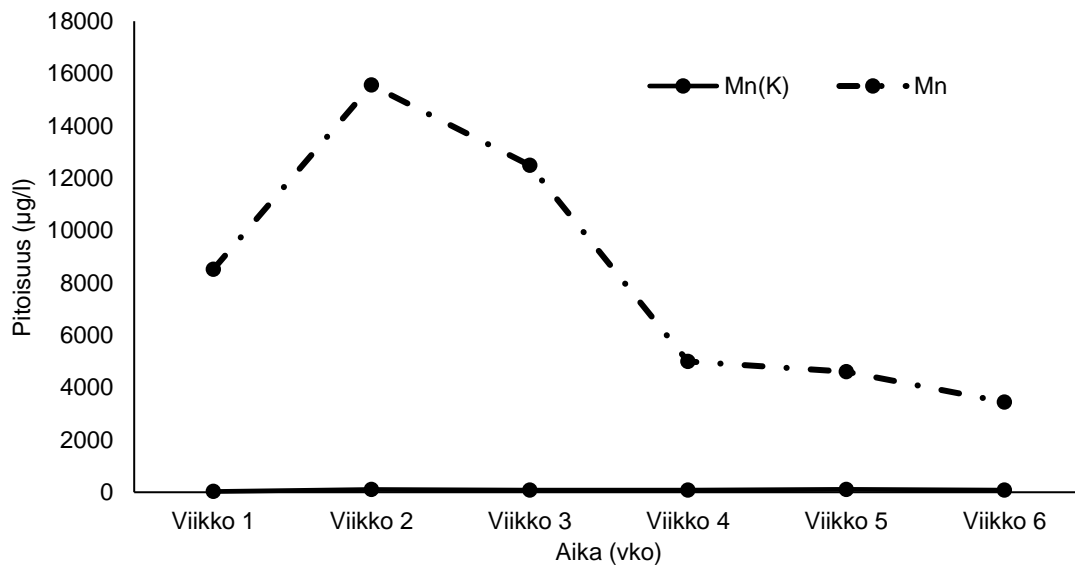
Kuva 2 a ja b. Nikkelin ja fosforin keskipitoisuus ($\mu\text{g/l}$) koeastioiden läpi perkoloituneessa vedessä kokeen aikana (*keskiarvo \pm 95 % luottamusväli $n = 18$*).

Sinkin pitoisuudet olivat hyvin samankaltaisia sekä lihaluujauholla käsitellyn ja kontrollimaan läpi perkoloituneessa vedessä. Kontrollissa sinkin keskipitoisuus oli $93 \mu\text{g/l}$ ja käsittelyssä $94 \mu\text{g/l}$. Käsittelyjen välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa ($p = 0,976$). Pitoisuudet olivat suhteellisen matalia verrattuna edellä mainittuihin metalleihin (kuva 3a). Lyijyä uutui maasta kaikkein vähiten tutkituista aineista. Lyijyn keskipitoisuus lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä oli $2,1 \mu\text{g/l}$. Lyijyn keskipitoisuus oli $3,4 \mu\text{g/l}$ kontrollimaan läpi perkoloituneessa vedessä (kuva 3b). Käsittelyjen välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa ($p = 0,153$).



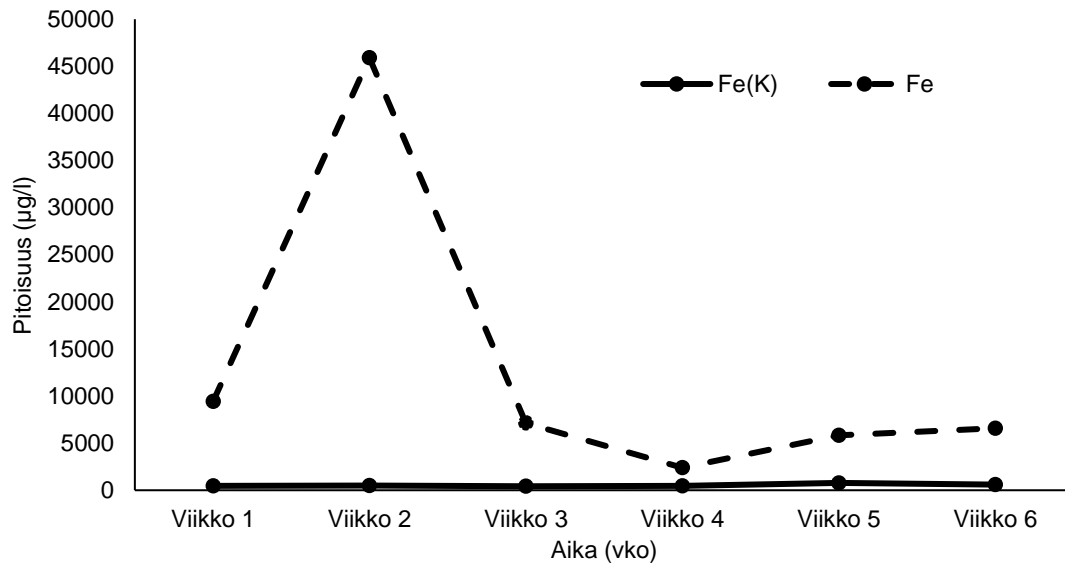
Kuva 3 a ja b. Sinkin ja lyijyn keskipitoisuus ($\mu\text{g/l}$) koeastioiden läpi perkoloituneessa vedessä kokeen aikana (*keskiarvo \pm 95 % luottamusväli, $n = 18$*).

Lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä mangaanin pitoisuudet olivat kolmen ensimmäisen viikon aikana suurimmillaan vaihdellen 8000 ja 16000 $\mu\text{g/l}$ välillä, jonka jälkeen ne kääntyivät laskuun ja asettuivat 5000 $\mu\text{g/l}$ tasolle. Kontrollikäsitellyssä mangaanin pitoisuudet pysyivät alle 200 $\mu\text{g/l}$ koko kokeen ajan (kuva 4).



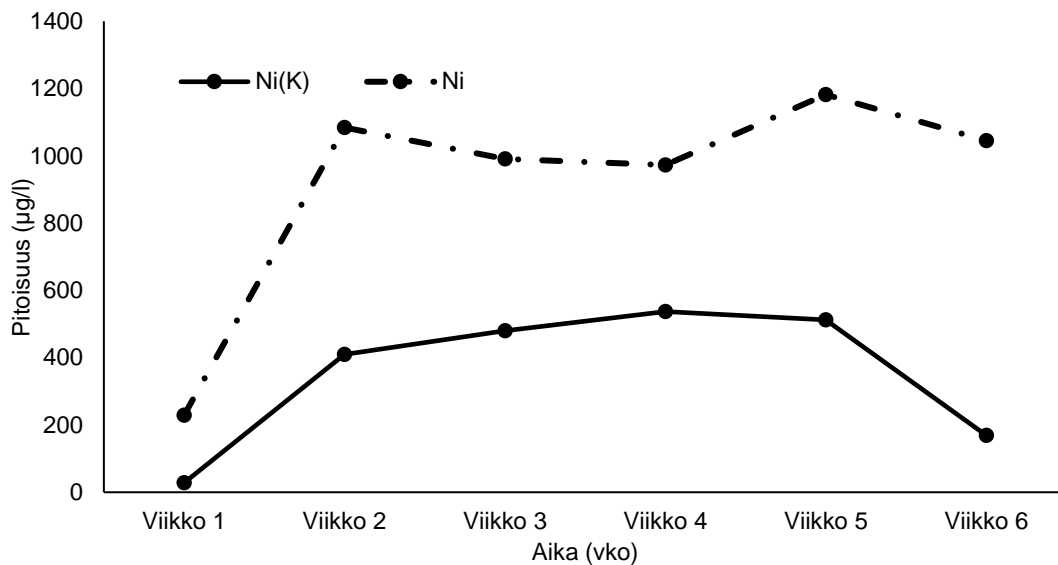
Kuva 4. Mangaanin pitoisuudet ($\mu\text{g/l}$) koeastioiden läpi perkoloituneesta vedestä otetuissa näytteissä.

Raudan pitoisuus oli suurimmillaan ($45900 \mu\text{g/l}$) lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä heti kaksi viikkoa kokeen aloittamisen jälkeen. Tämän jälkeen pitoisuus laski nopeasti ja pysytteli $7000\text{--}2000 \mu\text{g/l}$ tasolla kokeen loppuun saakka. Kontrollikäsitelyssä raudan pitoisuudet vedessä pysyivät tasaisina eivätkä ylittäneet pitoisuutta $800 \mu\text{g/l}$ (kuva 5).



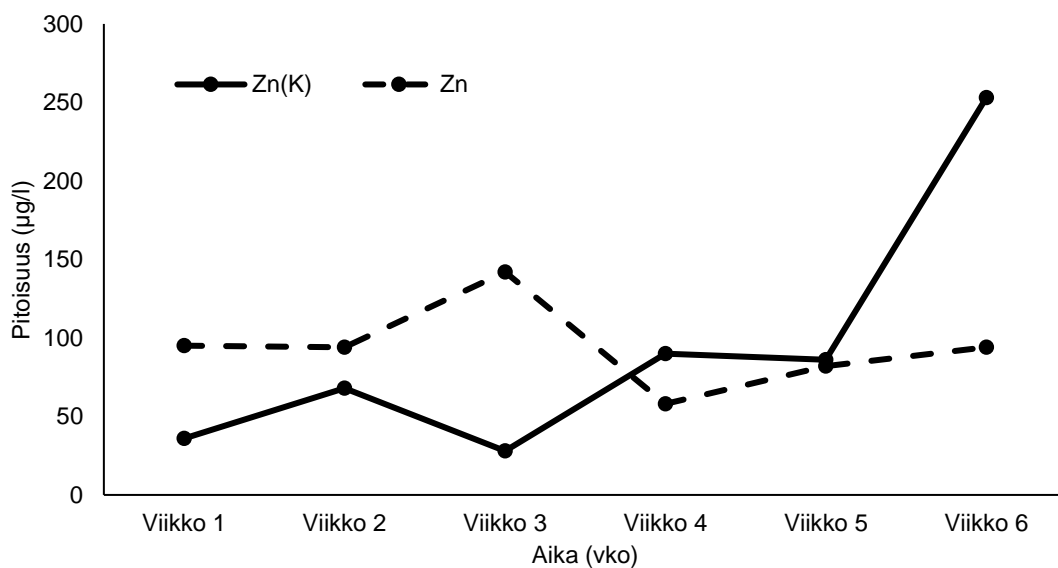
Kuva 5. Raudan pitoisuudet ($\mu\text{g/l}$) koeastioiden läpi perkoloituneesta vedestä otetuissa näytteissä.

Nikkelin pitoisuus vedessä oli matala ($229 \mu\text{g/l}$ käsittelyssä, $28 \mu\text{g/l}$ kontrollissa) ensimmäisen viikon aikana, mutta ensimmäisen viikon jälkeen nikkelin pitoisuus lähti nousuun sekä lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä että kontrollikäsittelyssä. Nikkelin pitoisuus pysyi koko kokeen ajan lähellä $1000 \mu\text{g/l}$ lihaluujauhokäsittelyssä. Kontrollikäsittelyssä pitoisuus pysyi lähellä $500 \mu\text{g/l}$, mutta laski kokeen viimeisellä viikolla pitoisuuteen $169 \mu\text{g/l}$ (kuva 6).



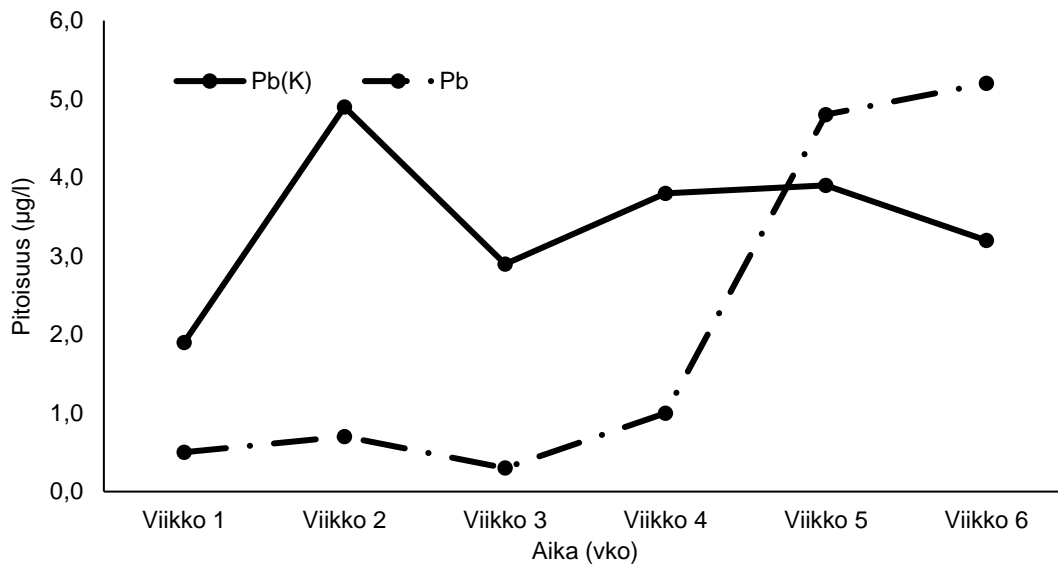
Kuva 6. Nikkelin pitoisuudet ($\mu\text{g/l}$) koeastioiden läpi perkoloituneesta vedestä otetuissa näytteissä.

Sinkin pitoisuus ei vaihdellut merkittävästi suuresti kokeen edetessä. Kontrollin ja lihaluujauhokäsittelyn välillä ei ollut suurta eroa sinkin liukoisuuteen. Kokeen viimeisellä viikolla kontrollinäytteissä näkyi selvä piikki sinkin määrässä ja pitoisuus kohosi arvoon $253 \mu\text{g/l}$ (kuva 7).



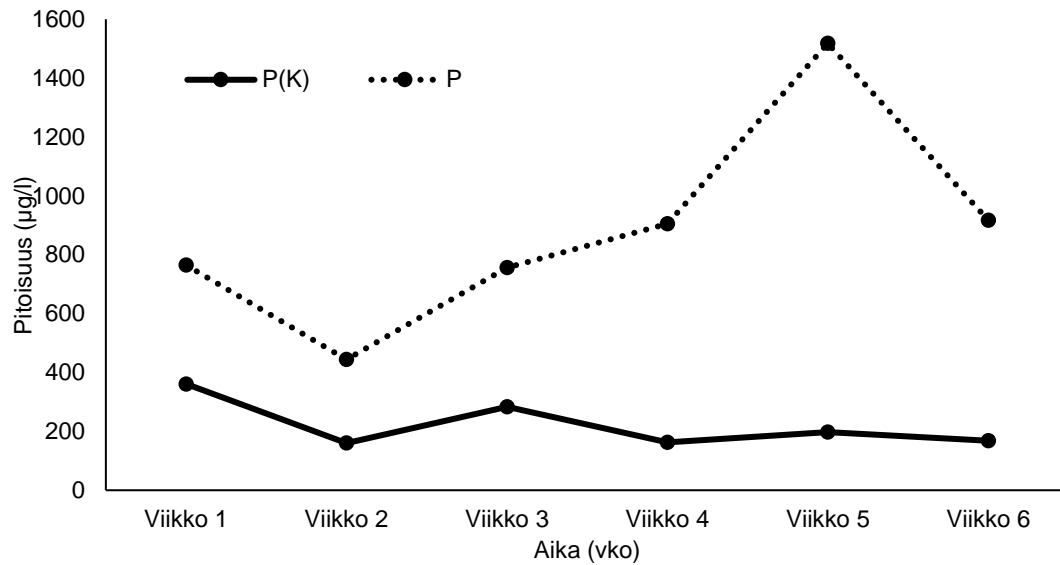
Kuva 7. Sinkin pitoisuudet ($\mu\text{g/l}$) koeastioiden läpi perkoloituneesta vedestä otetuissa näytteissä.

Lyijyn pitoisuus oli lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä alle 1 µg/l kokeen ensimmäisten viikkojen ajan. Kuukausi kokeen alun jälkeen pitoisuus nousi 4,8 µg/l ja pysyi korkeana kokeen lopun ajan. Kontrollikäsitellyssä pitoisuus nousi toisena viikkona pitoisuuteen 4,9 µg/l, jonka jälkeen pitoisuus vaihteli välillä 2,9-3,9 µg/l. (kuva 8)



Kuva 8. Lyijyn pitoisuudet (µg/l) koeastioiden läpi perkoloituneesta vedestä otetuissa näytteissä.

Lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneen veden fosforipitoisuus oli kokeen ensimmäisellä viikolla 765 µg/l. Pitoisuus kasvoi kokeen edetessä aina viidennelle viikolle asti, jolloin pitoisuus oli 1518 µg/l, jonka jälkeen pitoisuus laski arvoon 917 µg/l. Kontrollikäsitellyssä fosforin pitoisuus pysyi tasaisena koko kokeen ajan (kuva 9).



Kuva 9. Fosforin pitoisuudet (µg/l) koeastioiden läpi perkoloituneesta vedestä otetuissa näytteissä

Vesinäytteiden pH oli lähellä neutraalia kokeen aikana. Kokeen kahden ensimmäisen viikon aikana lihaluujauhokäsittelyn veden pH oli hieman alle yhden pH-yksikön verran matalampi kontrolliin verrattuna. Ero tasaantui nopeasti kokeen edetessä. Kokeen loppuvaiheessa lihaluujauhokäsittely nosti veden pH:ta hieman kontrolliin verrattuna (taulukko 1). Kontrollinäytteiden pH:n keskiarvo oli 7,3 ja käsittelyn 7,2. Ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä ($p = 0,171$).

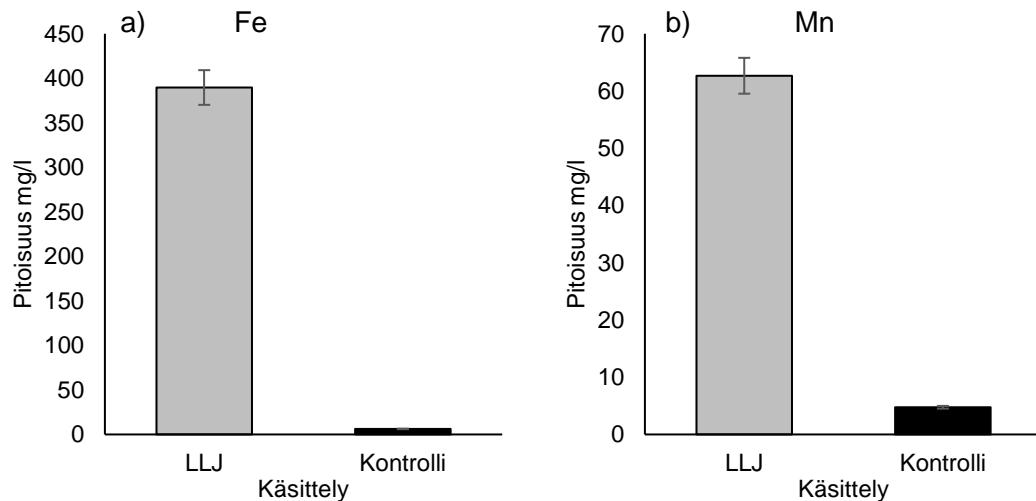
Taulukko 1. Pöntöistä otettujen vesinäytteiden pH kokeen aikana.

pH	Kontrolli	Käsittely
Viikko1	7,43	6,48
Viikko2	7,33	6,77
Viikko3	7,30	7,35
Viikko4	7,35	7,53
Viikko5	7,11	7,50
Viikko6	7,24	7,64

Kontrollipöntöistä otetut vesinäytteet olivat väriltään suhteellisen kirkkaita. Näytteissä ei ollut selvästi erottuvaa tuoksua. Näytteissä oli pieniä määriä kiinteää liukenematonta ainesta. Lihaluujauhokäsitellyistä pöntöistä otetuissa vesinäytteissä oli selvästi erottuva lihaluujauhon ja mädän haju. Vesi oli samean kellertävää. Vedessä oli runsaasti kiinteää orgaanista ainesta.

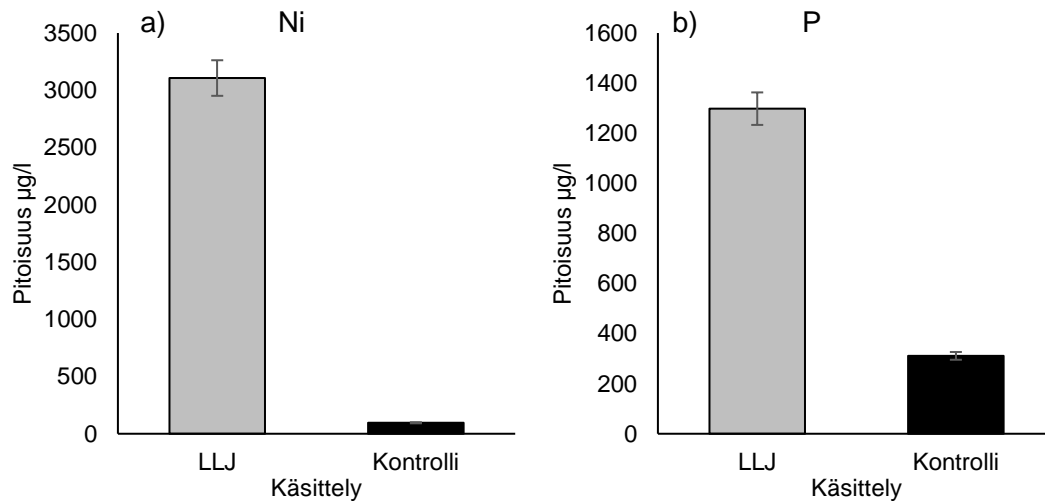
3.2. Lysimetrikokeet

Lysimetreistä, joihin oli lisätty lihaluujauhoa, uuttui enemmän metalleja kuin kontrollilysimetreistä. Voimakkaimmin biostimulaation vaikutus näkyi mangaanin ja raudan uuttumisessa. Mangaanin keskipitoisuus lihaluujauhokäsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä oli 63 mg/l. Kontrollilysimetrien läpi perkoloituneessa vedessä mangaanin pitoisuus oli 4,75 mg/l (kuva 10 b). Raudan keskipitoisuus lihaluujauhokäsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä oli 390 mg/l (kuva 10 a). Raudan ja mangaanin tapauksessa ero kontrollinäytteiden pitoisuuden ja käsittelyn välillä oli tilastollisesti merkitsevä ($p < 0,05$).



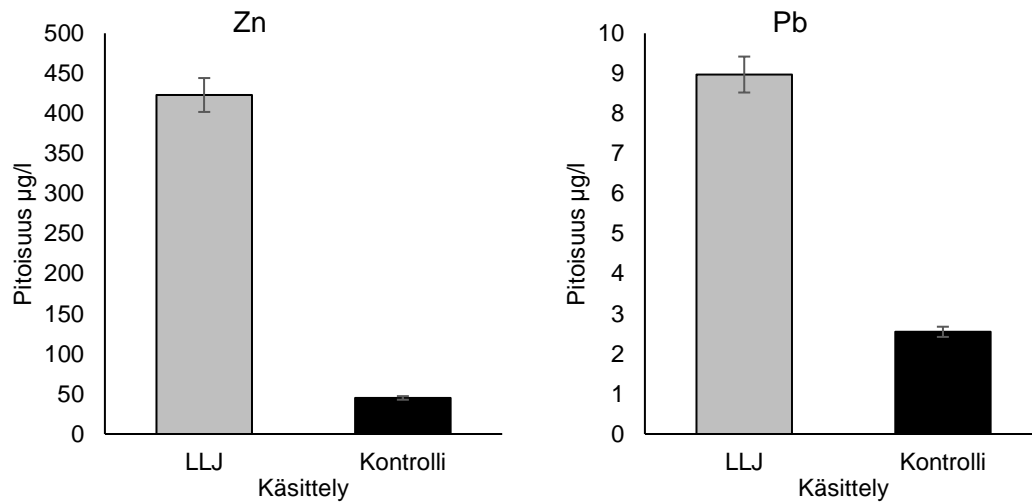
Kuva 10 a ja b. Raudan ja mangaanin keskipitoisuus (mg/l) lysimetrien läpi perkoloituneessa vedessä kokeen aikana (*keskiarvo* \pm 95 % *luottamusväli* $n = 18$).

Nikkelin keskipitoisuus oli 3107 $\mu\text{g/l}$ ja fosforin keskipitoisuus oli 1298 $\mu\text{g/l}$ lihaluujauhokäsiteltyjen lysimetrien läpi perkoloituneessa vedessä. Nikkelin pitoisuus oli kontrolliin verrattuna monikymmenkertainen. Fosforin pitoisuus oli kontrolliin verrattuna nelinkertainen (kuva 11 a-b). Nikkelin ja fosforin tapauksessa ero kontrollinäytteiden pitoisuuden ja käsittelyn välillä oli tilastollisesti merkitsevä ($p < 0,05$).



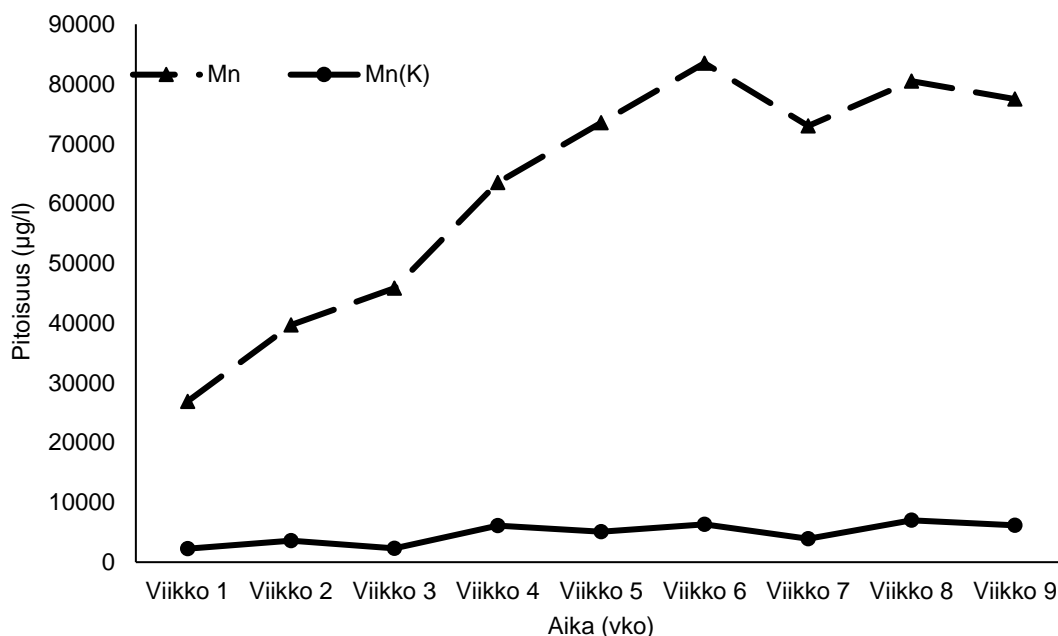
Kuva 11 a ja b. Nikkelin ja fosforin keskipitoisuus ($\mu\text{g/l}$) lysimetrien läpi perkoloituneessa vedessä kokeen aikana (*keskiarvo* \pm 95 % *luottamusväli* $n = 18$).

Sinkin ja lyijyn pitoisuudet vedessä olivat pienempiä kuin edellä mainittujen metallien (kuva 12 a-b). Sinkin pitoisuus oli 423 $\mu\text{g/l}$ lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä, kontrollissa se oli 45 $\mu\text{g/l}$ (kuva 12 a). Ero pitoisuuksissa oli tilastollisesti merkittävä ($p < 0,05$). Lyijyn pitoisuus oli 9 $\mu\text{g/l}$ lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä, kontrollissa se oli 3 $\mu\text{g/l}$ (kuva 12 b). Ero ei ollut tilastollisesti merkittävä ($p = 0,090$).



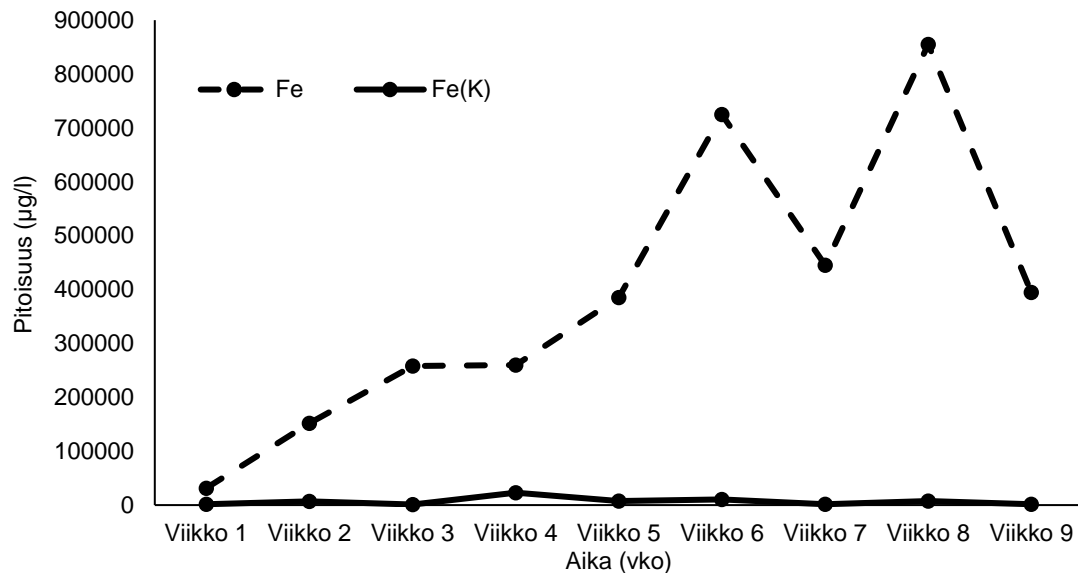
Kuva 12 a ja b. Sinkin ja lyijyn keskipitoisuus ($\mu\text{g/l}$) lysimetrien läpi perkoloituneessa vedessä kokeen aikana (*keskiarvo \pm 95 % luottamusväli $n = 18$*).

Mangaanin pitoisuus lihaluujauholla käsiteltyjen lysimetrien läpi perkoloituneessa vedessä kasvoi kokeen ensimmäisten kuuden viikon aikana pitoisuudesta 26905 $\mu\text{g/l}$ pitoisuuteen 83500 $\mu\text{g/l}$ ja pysyi lähellä 80000 $\mu\text{g/l}$ tasoa kokeen lopun ajan. Kontrollikäsittelyssä mangaanin pitoisuus vaihteli välillä 2000-7000 $\mu\text{g/l}$ kokeen keston ajan (kuva 13).



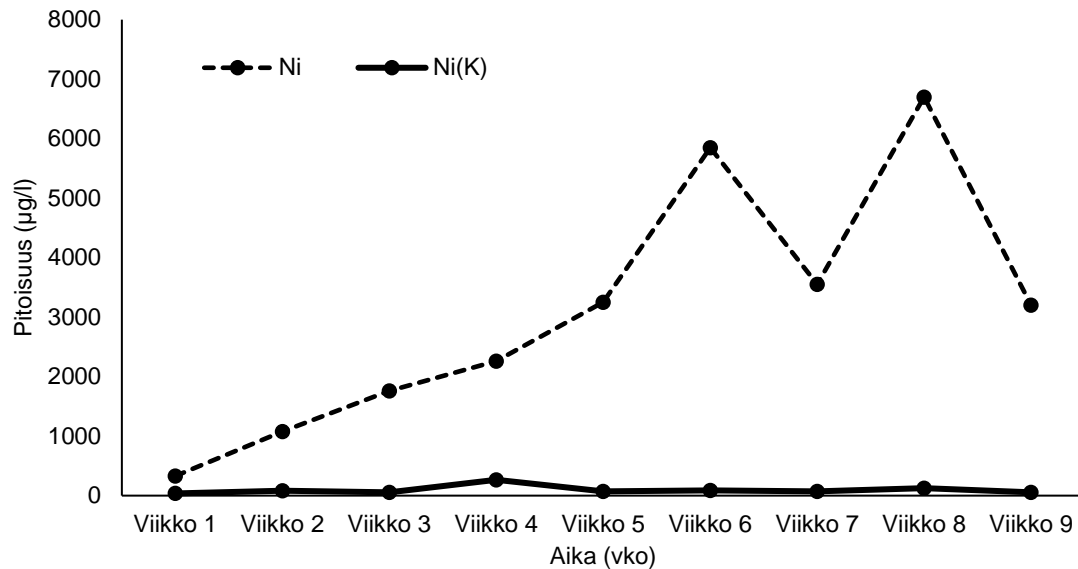
Kuva 13. Mangaanin pitoisuudet ($\mu\text{g/l}$) lysimetrien läpi perkoloituneesta vedestä otetuissa näytteissä.

Raudan pitoisuus kasvoi kokeen alun aikana lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä ensimmäisen viikon pitoisuudesta 31550 $\mu\text{g/l}$ aina pitoisuuteen 725000 $\mu\text{g/l}$ asti. Kokeen viimeisen kuukauden aikana raudan pitoisuudessa esiintyi voimakasta vaihtelua, mutta pitoisuus pysyi yhä korkeana. Kontrollikäsitelyssä esiintyi 23000 $\mu\text{g/l}$ piikki raudan pitoisuudessa neljän viikon kuluttua kokeen aloittamisesta, mutta muuten raudan pitoisuudet pysyivät suhteellisen tasaisena kokeen ajan (kuva 14).



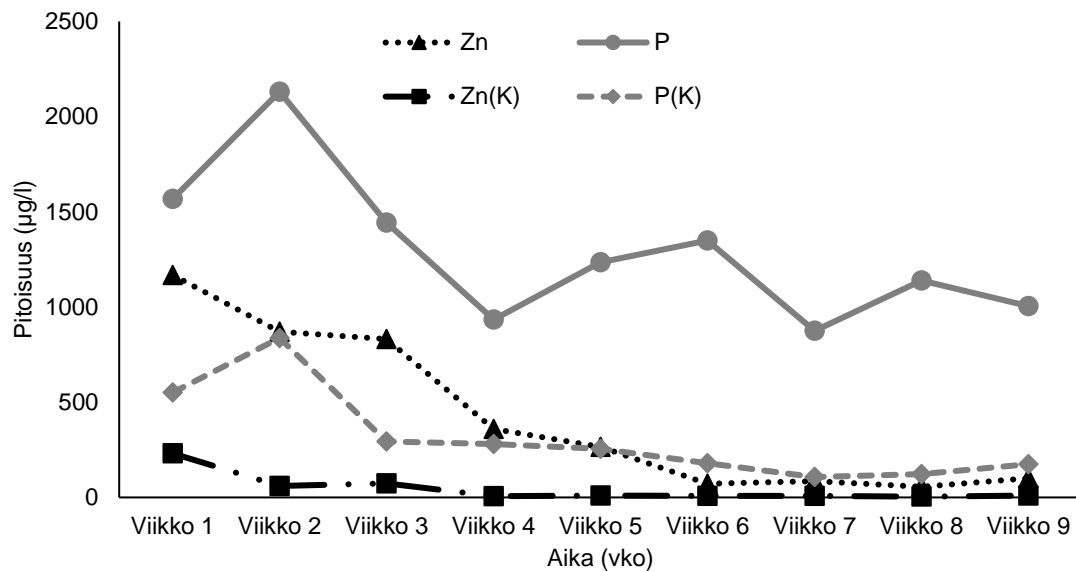
Kuva 14. Raudan pitoisuudet ($\mu\text{g/l}$) lysimetrien läpi perkoloituneesta vedestä otetuissa näytteissä kokeen aikana.

Nikkelin pitoisuus lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä seurasi raudan pitoisuuksien vaihtelua kokeen aikana. Nikkelin pitoisuus kohosi kuuden viikon aikana kokeen alusta tasolta $330 \mu\text{g/l}$ tasolle $5850 \mu\text{g/l}$. Tämän jälkeen pitoisuus vaihteli välillä $3200\text{-}6700 \mu\text{g/l}$. Kontrollikäsittelyssä näkyi $266 \mu\text{g/l}$ piikki nikkelin pitoisuudessa neljännen viikon kohdalla kokeen aloittamisesta. Pitoisuudet olivat kuitenkin pieniä verrattuna käsittelyyn (kuva 15).



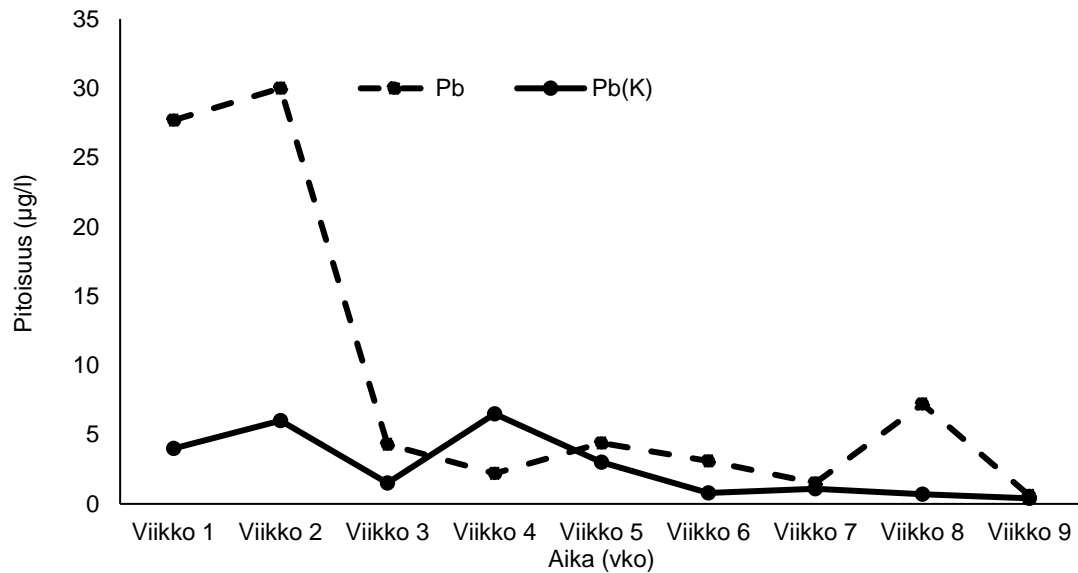
Kuva 15. Nikkelin pitoisuudet ($\mu\text{g/l}$) lysimetrien läpi perkoloituneesta vedestä otetuissa näytteissä kokeen aikana.

Lihaluujauholla käsiteltyjen lysimetrien läpi perkoloituneen veden sinkki- ja fosforipitoisuudet olivat korkeimmillaan kokeen kahden ensimmäisen viikon aikana. Fosforin pitoisuus lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneessa vedessä oli korkeimmillaan $2131 \mu\text{g/l}$ kaksi viikkoa kokeen alun jälkeen. Tämän jälkeen fosforin pitoisuus laski ja vaihteli välillä $875\text{-}1443 \mu\text{g/l}$. Sinkin pitoisuudet laskivat tasaisesti kokeen loppua kohden mentäessä. Fosforin pitoisuudet laskivat ensimmäisten viikkojen korkeiden pitoisuuksien jälkeen $1000\text{-}1500 \mu\text{g/l}$ tasolle ja pysyivät tällä tasolla kokeen loppuun asti. Myös kontrollikäsitelyissä näkyi samankaltainen pitoisuuksien lasku korkeammista alkupitoisuuksista kokeen loppua kohden (kuva 16).



Kuva 16. Sinkin ja fosforin pitoisuudet ($\mu\text{g/l}$) lysimetrien läpi perkoloituneesta vedestä otetuissa näytteissä kokeen aikana.

Lyijyn pitoisuus oli kokeen kahden ensimmäisen viikon ajan korkea lihaluujauholla käsiteltyjen lysimetrien läpi perkoloituneissa vesinäytteissä. Pitoisuus laski tasolta $30 \mu\text{g/l}$ tasolle $4,3 \mu\text{g/l}$ kolmannella viikolla ja pysyi alhaisella tasolla koko loppukokeen ajan. Kontrollikäsitellyssä lyijyn pitoisuus vaihteli välillä $6,5\text{-}0,4 \mu\text{g/l}$ (kuva 17).



Kuva 17. Lyijyn pitoisuudet (µg/l) lysimetrien läpi perkoloituneesta vedestä otetuissa näytteissä kokeen aikana

Koko kokeen ajan kontrollilysimetrien läpi perkoloituneen veden pH oli korkeampi kuin lihaluujauholla käsitellyn veden. Lihaluujauhokäsittelyssä vesinäytteiden pH vaihteli välillä 6,05-6,35. Kontrollinäytteissä vesinäytteiden pH vaihteli välillä 6,72-8,03. Kontrollinäytteiden pH pysytteli tavallisesti lähellä neutraalia, poikkeava lukema 8,03 esiintyi viikolla 3 kokeen aloittamisen jälkeen (taulukko 2). Kontrollinäytteiden pH:n keskiarvo oli 7,0 ja käsittelyn 6,2. Ero oli tilastollisesti merkitsevä ($p < 0,05$).

Taulukko 2. Lysimetreistä otettujen vesinäytteiden pH kokeen aikana

pH	Kontrolli	Käsittely
Viikko1	6,76	6,13
Viikko2	6,90	6,05
Viikko3	8,03	6,29
Viikko4	6,79	6,26
Viikko5	7,13	6,30
Viikko6	6,72	6,25
Viikko7	6,92	6,22
Viikko8	6,98	6,12
Viikko9	6,88	6,35

Kontrollilysimetreistä otetut vesinäytteet olivat väriltään vaaleankeltaisia, mutta läpinäkyviä. Näytteissä ei ollut selvästi erottuvaa tuoksua. Näytteissä oli pieniä määriä kiinteää liukenematonta ainesta. Lihaluujauhokäsitellyistä lysimetreistä otetuissa vesinäytteissä oli selvästi erottuva lihaluujauhon ja mädän haju. Vesi oli samean kellertävää. Vedessä oli runsaasti kiinteää orgaanista ainesta. Kaikki tulokset on koottu yhteen taulukoiksi liitteissä. (Liite 1, Liite 2)

4. Tulosten tarkastelu

4.1.1. Metallien liukoisuuteen kokeen aikana vaikuttaneet tekijät

Mikrokosmoskokeissa runsas lihaluujauhon lisäyksen aiheuttama orgaanisen aineksen määrän kasvu maaperässä johti nopeasti maaperän hapen määrän vähenemiseen. Mikrokosmoskokeissa maan pinnalle nopeasti kasvanut mikrobimassa indikoi biostimulaation lisänneen mikrobien kasvua maaperässä. Lihaluujauholla käsitellyistä pöntöistä erottui selvä rikkivedyn haju. Maa muuttui väritykseltään punaruskeasta harmaaksi kokeen edetessä. Nämä tekijät viittaavat hapen kuluneen loppuun pönttöjen maaperässä. Vastaavia muutoksia ei havaittu kontrollipöntöissä. Myös lysimetrikokeissa maan pinnalle muodostui mikrobikasvustoa lihaluujauhon lisäyksen jälkeen. Maan väri muuttui samalla tavalla kuin mikrokosmoskokeessa, mikä viittaa hapen määrän vähenemiseen. Lysimetrikokeessa maan pintakerros (noin 5 cm) jäi väriltään rusehtavaksi, mikä viittasi sen olleen yhä hapellinen.

Erot vesinäytteiden pH:ssa suuren ja pienen mittakaavan kokeissa selittyvät luultavasti veden hitaammalla perkolaatiolla maan läpi suuremman mittakaavan kokeessa. Mikrokosmoskokeessa vesi perkoloitui maan läpi vuorokaudessa, kun taas

lysimetrikokeessa veden kulkeminen maapatsaan läpi kesti noin viikon perkoloituessaan lysimetreissä maan läpi.

Saatujen tulosten perusteella lihaluujauhokäsittely kasvattaa joidenkin metallien liukoisuutta. Raudan ja mangaanin suuret pitoisuudet vedessä johtuvat luultavasti biostimulaation vaikutuksesta hapen määrään maaperässä. Lihaluujauhon lisääminen maaperään kasvattaa orgaanisen aineen määrää maaperässä. Orgaanisen aineen hajoaminen kuluttaa maan happivarantoa ja jos kaasujen vaihto maassa on heikkoa, maahan voi muodostua hapettomat olot. Hapettomissa oloissa mikrobit käyttävät mangaanin ja raudan hapettuneita muotoja, kuten ferrirautaa Fe^{3+} ja mangaanioksidia MnO_2 , elektronin vastaanottajana ja pelkistävät mangaanin ja raudan vesiliukoisemmiksi kahdenarvoisiksi kationeiksi. (Nealson 1992) Nämä kahdenarvoiset kationit huuhtoutuvat helposti maasta veden mukana.

Maaperän hapen määrään on mahdollisesti vaikuttanut myös kastelu. Tässä tutkielmassa lysimetrejä sekä mikrokosmoksia kasteltiin runsaasti, jotta saataisiin tarpeeksi vettä näytteenottoa varten. Tavoitteena oli, ettei maa kyllästyisi täysin vedellä, mutta kokeen aikana vettä käytettiin enemmän kuin aidossa kunnostuskohteessa mahdollisesti käytettäisiin. Esimerkiksi Pan ym. (2014) havaitsivat, että maaperän kyllästäminen vedellä kasvattaa voimakkaasti raudan ja mangaanin liukoisuutta. Kokeessa kastellun maan redox-potentiaali laski hapen määrän vähetessä ja raudan ja mangaanin liukoisuus kasvoi. Raudan ja mangaanin vapautuminen väheni hapellisissa oloissa ja kasvoi hapettomissa oloissa kokeen aikana. On mahdollista, että tässä pro gradu -tutkielmassa havaittu mangaanin ja raudan liukoisuuden kasvu oli osaltaan runsaan kastelun aiheuttamaa. Toisaalta kontrolliin verrattuna ero raudan ja mangaanin pitoisuuksissa oli selvä, joten kastelun vaikutus ei ole ollut merkittävin näiden metallien liukoisuuteen vaikuttanut tekijä. Maan runsas vesipitoisuus on kuitenkin voinut haitata maan kaasujenvaihtoa ilmakehän kanssa ja siten kasvattanut lihaluujauhon hajoamisesta aiheutunutta happikatoa maassa.

Nikkelin määrä suuren mittakaavan lysimetrikokeissa oli huomattavasti suurempi kuin mikrokosmoskokeissa. Tämä voi mahdollisesti johtua lysimetrikokeiden veden matalammasta pH:sta. Nikkeli voi saostua rautayhdisteiden kanssa, kun maaperän pH on yli 6,5 (Heikkinen 2000). Kokeessa käytetty maa sisälsi runsaasti rautaa, joten mikrokosmoskokeessa nikkeli saattoi saostua raudan kanssa. Lysimetrikokeessa maan läpi suodattuneen nesteen pH oli alle 6,5 koko kokeen ajan, mikä ehkäisi nikkelin saostumista raudan kanssa.

Lyijyn matala liukoisuus käsittelyn aikana voi johtua monista tekijöistä. Lyijy voi sitoutua fosfaattiin muodostaen heikosti liukenevaa lyijyfosfaattia ($Pb_3(PO_4)_2$). Lihaluujauhon sisältämä fosfori kykenee täten mahdollisesti stabiloimaan maaperän sisältämää lyijyä, mikä voisi selittää mikrokosmoskokeen ensimmäisten viikkojen aikana havaitun eron veden lyijypitoisuudessa käsittelyjen välillä. (Sauvé ym. 1998) Käsittelyn vaikutus liuenneen lyijyn määrään oli kuitenkin vähäinen. Lysimetri- ja pönttökokeissa maan läpi perkoloituneen veden pH oli koko kokeen ajan lähellä neutraalia. Tavallisimmat lyijy-yhdisteet ovat heikosti liukenevia neutraalilla pH-alueella (Martínez & Motto 1999). Happamammassa maaperässä lihaluujauhon sisältämän fosfaatin mahdollinen lyijyä stabiloiva vaikutus olisi saattanut olla suurempi.

Toisaalta myös nikkeli voi muodostaa heikosti liukenevia yhdisteitä fosfaatin kanssa (Sneddon ym. 2006). Silti nikkelin pitoisuudet olivat korkeita lysimetrikokeen vesinäytteissä. Tämä ero voi selittyä sillä, että hapettomissa, pelkistävässä oloissa lyijy sitoutuu voimakkaasti rikkiin. Näissä oloissa muodostuu lyijysulfideja, jotka ovat erittäin huonosti liukenevia. (Heikkinen 2000) Lihaluujauhon lisääminen maaperään yhdistettynä kasteluun vaikutti luultavasti maan redox-potentiaaliin siten, että maan sisältämä lyijy muodosti lyijysulfideja.

Sneddon ym. 2006 havaitsivat, että lihaluujauholla on liukoisuutta vähentävä vaikutus lyijyyn maaperässä. Samanlainen stabiloiva vaikutus havaittiin myös sinkin ja kadmiumin kohdalla (Sneddon ym. 2006). Tutkimuksen koeasetelma oli

samankaltainen kuin tässä työssä, tosin pienemmässä mittakaavassa. Tutkimuksessa pääteltiin, että metallien liukoisuuden laskun takana oli metallifosfaattien muodostuminen. Tutkimuksessa kasteluun käytettyjen vesiliuosten pH oli tutkimuksessa hyvin matala verrattuna tässä työssä käytettyyn neutraaliin veteen. Matalasta pH:sta huolimatta lyijyn liukoisuus pysyi matalana koko kokeen ajan.

4.1.2. Mahdollisia virhelähteitä analyysissa

Vesinäytteitä analysoitaessa näytteistä suodatettiin pois kiinteä orgaaninen aines. Metallit muodostavat orgaanisen aineksen kanssa komplekseja ja kelaatteja (vanLoon & Duffy 2011). Kiinteän orgaanisen aineksen sisältämiä metalleja ei ole otettu huomioon tuloksissa. Kiinteää orgaanista ainetta oli huomattavasti enemmän vedessä, joka perkoloitui lihaluujauhokäsittelyn maan läpi. Näin ollen käytetty analyysimenetelmä saattaa vääristää tuloksia siten, että lihaluujauholla käsitellyn veden sisältämä metallien määrä näyttää todellista pienemmältä kontrolliin verrattuna.

Lysimetrikokeissa käytettyä maata ei seulottu, minkä seurauksena maahan jäi useita suurikokoisia kiviä, oksan kappaleita ja styroxin kappaleita. Nämä suurikokoiset esineet ovat voineet muodostaa lysimetrien maahan kanavia, joita pitkin lysimetrien pinnalle lisätty vesi on päässyt virtaamaan. Täten osa vedestä on mahdollisesti virrannut maaperän läpi hyvin nopeasti olematta kosketuksissa maaperän kanssa, mikä on mahdollisesti näkynyt todellista pienempinä metallipitoisuuksina näytteissä.

Lihaluujauholla käsitellyn maan läpi perkoloituneesta vedestä otetuissa näytteissä oli hyvin suuria pitoisuuksia lihaluujauhosta peräisin olevaa kalsiumia, joka häiritsi analyysia huomattavasti. Näytteitä täytyi laimentaa runsaasti, jotta analyysi Elan 6000 ICP-MS-massaspektrometrilla pystyttiin ylipäättään suorittamaan. Pienemmillä metallipitoisuuksilla analyysin mahdolliset virheet aiheuttavat suurempia epävarmuuksia analysoituihin pitoisuuksiin. Tässä työssä käsiteltyjen metallien

pitoisuudet olivat kuitenkin niin korkeita laimennusten jälkeenkin, että ne pystyttiin analysoimaan luotettavasti.

4.1.3. Metallien liukoisuuden muutosten aiheuttamat riskit

Lihaluujauholla käsiteltyjen lysimetrien ja pönttöjen läpi perkoloituneiden vesinäytteiden metallien keskipitoisuudet ylittivät talousvedelle asetetut laatusuosituksen ja -rajoitukset. Lyijy oli metalleista ainoa, jonka koko kokeen aikainen keskipitoisuus ei ylittänyt talousveden laatuvaatimusta. Toisaalta lyijynkin tapauksessa lysimetrikokeen kahden ensimmäisen viikon aikana lyijyn laatuvaatimus ylittyi kolminkertaisesti. Sinkille ei ole määritelty laatusuositusta tai -vaatimusta (ST 401/2001). Mangaanin ja raudan tapauksessa laatusuositus ylittyi tuhatkertaisesti. Nikkelin tapauksessa laatuvaatimus ylittyi yli 150-kertaisesti.

Näiden tuloksien perusteella voidaan päätellä, että raskasmetalleilla ja hiilivedyillä sekasaastuneen maan kunnostus lihaluujauhoa käyttäen voi muodostaa riskin pohjavesille, jos hulevesien hallintaan ei kiinnitetä huomiota. Raudan pitoisuudet olivat kaikkein suurimpia, mutta rauta ei ole toksista ihmiselle kuin hyvin suurina annoksina. Lisäksi liukoinen ferriittirauta hapettuu helposti liukenemattomiin muotoihin päästessään kosketuksiin ilmakehän kanssa. Hapettomaan pohjaveteen päätyessään rauta voisi kulkeutua yksityisiin porakaivoihin ja aiheuttaa mahdollisia maku- ja värihaittoja, mutta raudan aiheuttamat riskit terveydelle olisivat minimaalisia.

Suuremman riskin veden laadulle ja terveydelle aiheuttavat mangaanin ja nikkelin pitoisuuksien kasvu. Mangaanin pitoisuudet olivat näytteissä hyvin korkeita ja mangaani aiheuttaa ihmiselle neurologisia ongelmia ja voi vaikuttaa vahingollisesti sikiön kehitykseen (Xenophon 1988). Lisäksi suuremman mittakaavan lysimetrikokeessa mangaanin pitoisuus lysimetrin läpi perkoloituneessa vedessä nousi kokeen alussa jatkuvasti ja pysyi koko kokeen ajan korkeana. Näin ollen käsitelty maa

pystyi vapauttamaan mangaania kuukausien ajan ilman merkkiä pitoisuuksien kääntymisestä laskuun.

Nikkelin korkeat pitoisuudet muodostavat myös uhan pohjaveden laadulle. Nikkeliyhdisteet ovat terveydelle haitallisia ja voivat kaivoveteen päätyessään muodostaa riskin terveydelle. Myös nikkelin vapautuminen maaperästä kiihtyi kokeen loppua kohden lysimetrikokeessa, vaikka pitoisuuksissa esiintyikin suurta heilahtelua viimeisen kuukauden aikana.

Fosforin kasvanut pitoisuus vesinäytteissä lihaluujauhokäsittelyn vaikutuksesta oli odotettavissa oleva tulos. Lihaluujauhossa on runsaasti fosforia, joten sen päätyminen veteen maaperästä ei ole yllättävää. Lysimetrikokeessa koko kokeen aikana uuttunut fosforimäärä oli hyvin pieni. Koko kokeen aikana lysimetreistä veden mukana uuttuneen fosforin määrä oli alle 1 gramma. Määrä ei ole vesiensuojelun kannalta suuri ottaen huomioon kokeessa käytetyn maaperän määrän. Fosforin aiheuttama vesistöjen rehevöityminen lihaluujauhon avulla toteutetun biostimulaation vaikutuksesta vaikuttaa näiden tulosten pohjalta epätodennäköiseltä.

Lyijyn liukenemattomuus tarkoittaa, ettei se päädy helposti hulevesien mukana ympäristöön biostimulaatiokäsittelyn yhteydessä. Tässä pro gradu -tutkielmassa ei havaittu suurta eroa lyijyn liukoisuudessa kokeen aikana kontrollin ja käsittelyn välillä, mutta kirjallisuus (Aldmendras ym. 2009, Sneddon ym. 2006, Munksgaard & Lottermoser 2011) tukee päätelmää, että lihaluujauhon lisääminen maahan voi vähentää lyijyn liukenemistä. Liukenemattomuus tarkoittaa tosin myös sitä, että lyijy pysyy kunnostetussa maaperässä lihaluujauhokäsittelyn jälkeenkin. Täten on tarvetta uudelle puhdistusmetodille maaperään jäävien metallien poistamiseksi.

4.1.4. Metallien liukoisuuden muutoksien hyödyt

Kokeissa havaittua joidenkin metallien lisääntyntä liukoisuutta voitaisiin hyödyntää saastuneen maaperän kunnostamisessa. Metallien kasvanut vesiliukoisuus voisi helpottaa metallien poistamista maaperästä, jos maanesteeseen päätyneet metalli-ionit pyrittäisiin keräämään talteen. Raskasmetalleilla ja hiilivedyillä sekasaastuneessa kohteessa lihaluujauholla suoritettavan biostimulaation voisi yhdistää toisiin kunnostusmenetelmiin, jotka keräisivät biostimulaation liukoiseksi muuntamat metallit.

Kasveja hyödyntävän fytoakkumulaation voisi yhdistää biostimulaatioon. Fytoakkumulaatiossa saastuneella alueella kasvatetaan kasveja, jotka kykenevät juurillaan ottamaan maaperästä haitta-aineita ja varastoimaan ne kasvin maanpäälisiin osiin. Parhaat tulokset metallien poistossa maaperästä saavutetaan kasveilla, jotka ovat nopeakasvuisia, runsaasti metalleja maanpäälisiin osiin kerryttäviä ja korkeita metallipitoisuuksia sietäviä. (Wuana ym. 2011) Fytoakkumulaation tehoa rajoittaa osin metallien biosaatavuus kasville. Menetelmän onnistuminen vaatii korkeahkoa liukoisten metallien pitoisuutta kasvin juuriston läheisyydessä, jotta kasvi voi kerryttää metalleja tehokkaasti. (Nascimento ym. 2006) Lihaluujauhon lisäyksen kasvattama metallien liukoisuus voisi täten parantaa fytoakkumulaation tehoa. Hiilivedyillä ja raskasmetalleilla saastuneessa kohteessa voisi käyttää yhdistelmänä maahan sekoitettua lihaluujauhoa ja metallien poistoon soveltuvien kasvien kasvatusta. Lihaluujauho tehostaisi hiilivetyjen hajoamista ja kasvattaisi metallien liukoisuutta, joka taas kasvattaisi kasvien juurillaan maasta ottamien metallien määrää. Lisäksi lihaluujauho toimisi lannoitteena kasveille.

Biostimulaation voisi yhdistää myös elektrokineettiseen käsittelyyn. Menetelmässä maaperään asennetaan positiivinen anodi sekä negatiivinen katodi, joihin johdettu sähkövirta vaikuttaa maanesteen liikkeisiin ja varautuneiden hiukkasten ja ionien kulkeutumiseen maaperässä (Gill ym. 2014). Elektronineettinen käsittely voi

edesauttaa biostimulaatiota tehostamalla ravinteiden kulkeutumista maaperässä ja mobilisoimalla maahan sitoutuneita haitta-aineita ja nostamalla maaperän lämpötilaa (Suni ym. 2007). Hiilivedyillä ja raskasmetalleilla saastuneessa kohteessa hiilivetyjen hajoamista voitaisiin tehostaa elektrokineettisellä käsittelyllä. Esimerkiksi PAH-yhdisteillä saastuneessa kohteessa on saatu aikaan 50-80 % lasku alkuperäisistä PAH-pitoisuuksista elektrokineettisen käsittelyn ja biostimulaation yhdistelmällä. (Suni ym. 2007) Elektrokineettisen menetelmän käyttö voisi täten tehostaa lihaluujauholla suoritetun biostimulaation kykyä hajottaa hiilivetyjä maaperässä. Lihaluujauhon lisäyksen takia kasvanut raskasmetallien liukoisuus voisi mahdollistaa metallien poiston maaperästä elektrokineettisen menetelmän avulla. Positiivisesti varautuneet maanesteen metalli-ionit kulkeutuvat maassa kohti negatiivisesti varautunutta katodia. (Acar 1995) Katodin kohdalta voitaisiin pumpata ylös pohjavettä ja sen mukana lihaluujauhon mobilisoimia metalleja poistaen ne maaperästä. Näin tehostuneen hiilivetyjen hajotuksen lisäksi pystyttäisiin saastunut kohde kunnostamaan myös metallien osalta.

5. Johtopäätökset

Saastuneen maa-alueen kunnostamisessa lihaluujauholla on otettava huomioon monta tekijää. Tämän työn tuloksien perusteella kunnostettavan maan hapen määrä ja redox-potentiaali ovat tärkeimmät metallien liukoisuutta säätelevät tekijät. Mangaanin, nikkelin ja raudan liukoisuuden kasvun estämiseksi maan tulisi olla hapellinen koko kunnostuksen ajan. Hapelliset olot myös tehostavat huomattavasti hiilivetyjen hajoamista ja nopeuttavat puhdistustoimia.

Tässä työssä käytettiin hyvin korkeaa lihaluujauhopenitoisuutta ja maata kasteltiin runsaasti vedellä. Runsaas kastelu heikensi maan kaasujen vaihtoa ja suuri lihaluujauhopenitoisuus johti nopeaan hajotustoimintaan ja hapen kulutuksen kasvuun maassa johtaen nopeaan hapen ehtymiseen. Oikeissa kenttäkohteissa lihaluujauhoa ei tulisi käyttää yhtä runsaasti kuin tässä tutkielmassa. Vettä tulisi lisätä ainoastaan

saastuneen maan kosteusprosentin pitämiseksi mikrobeille optimaalisella alueella 12-25 %. Vähäisempi kastelun määrä myös vähentäisi riskiä haitta-aineiden kulkeutumisesta pohjaveteen.

Jos lihaluujauhoa käytetään aumoissa, voidaan lihaluujauhon yhteydessä maahan sekoittaa hapettavia aineita, kuten kalsiumperoksidia maan happipitoisuuden pitämiseksi korkeana. Jos kunnostus suoritetaan *in situ*, täytyy kunnostettavalle alueelle kaivaa pohjavesiputkia näytteenottoa varten. Näitä putkia voidaan käyttää ilman injektointimiseen maahan hapen määrän lisäämiseksi.

Huomattavaa oli myös eri metallien hyvin erilainen käyttäytyminen, lisätutkimusta tarvitaan esimerkiksi eri lihaluujauhopitoisuuksilla ja eri metalleilla. Helposti liukenevien metallien, kuten raudan ja mangaanin tapauksessa metallien erottelu biostimulaation tuottamasta jätevedestä voisi olla mahdollista, jos pitoisuudet ja tuotetun jäteveden määrä olisi suuri. Nämä metallit ovat kuitenkin hyvin yleisiä ja arvoltaan vähäisiä, joten erottelu ei olisi taloudellisesti kannattavaa.

Tulevien tutkimusten tulisi keskittyä jäämämetsallien poistoon lihaluujauholla käsitellystä maasta. Mahdollisesti tarkoitukseen soveltuva menetelmä olisi fytoimediaatio tai yhdistelmä elektrokineettistä menetelmää ja biostimulaatiota. Lisäksi olisi hyvä selvittää, miten eri pitoisuudet lihaluujauhoa vaikuttavat metallien liukoisuuteen. Eri metallien käyttäytymisen selvittäminen auttaisi arvioimaan paremmin menetelmän aiheuttamia mahdollisia riskejä ja suunnittelemaan hulevesien hallintaa.

6. Kiitokset

Haluan kiittää INSURE-hanketta ja Tekesiä rahoituksen tarjoamisesta. Lisäksi haluan kiittää kaikkia REMSOIL-projektiin osallistuneita ja erityisesti Ville Selosta, sekä

ohjaajaani Martin Romantschukia. Haluan myös kiittää Niina Lallukkaa rakkaudesta ja tuesta tämän työn tekemisen aikana.

7. Kirjallisuus

- Weissenfels, W. 1992. Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by soil particles: Influence on biodegradability and biotoxicity. -*Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 36, pp. 689-696
- Naumanen, Petri, Sorvali, Jaana, Pyy, Outi, Rajala, Päivi, Penttinen, Riina, Tiainen, Jari & Lindroos, Sirpa 2002. *Ampumarata-alueiden pilaantunut maaperä. Tutkimuksia ja riskienhallinta.* -Pohjois-Karjalan ympäristökeskus. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.
- Widdel Friedrich, Rabus Ralf 2001: Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons. -*Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 12, pp. 259-276.
- Adams, Godleads Omokhagbor, Prekeyi Tawari Fufeyin, Samson Eruke Okoro, Igelenyah Ehinomen 2015: Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review. -*International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, Vol. 3, pp. 28-39.
- Das N, Vimala R, Karthika P 2008: Biosorption of heavy metals - An overview. *Indian Journal of Biotechnology*, vol. 7, pp. 159-169.
- Simpanen S, Dahl M, Gerlach M, Mikkonen A, Malk V, Mikola J, Romantschuk M 2016: Biostimulation proved to be the most efficient method in the comparison of in situ soil remediation treatments after a simulated oil spill accident. - *Environmental science and pollution research international*, Vol. 23 pp. 25024–25038.
- Greenwood Norman N, Earnshaw Alan 1997: *Chemistry of the Elements.* -Butterworth-Heinemann. (2. painos) Lontoo 1600 s.
- Mukherjee Ashis K, Das Kishore 2005: Correlation between diverse cyclic lipopeptides production and regulation of growth and substrate utilization by *Bacillus subtilis* strains in a particular habitat. -*FEMS Microbiology Ecology*, Vol. 54, pp. 479-489.
- Sorvari J, Antikainen R, Kosola M-L, Hokkanen P, Haavisto T 2009: Eco-efficiency in contaminated land management in Finland – Barriers and development needs. - *Journal of Environmental Management*, Vol. 90, pp. 1715-1727.
- Algaidi, A. Abdousalam 2010: Effect of heavy metals on soil microbial processes and population. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, G. Microbiology*, Vol. 2, pp. 9-14

- Bååth, E. 1989: Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review). -*Water, Air, and Soil Pollution, Vol. 47*, pp. 335-379.
- Suni Sonja, Malinen Essi, Kosonen Jarmo, Silvennoinen Hannu, Romantschuk Martin 2007: Electrokinetically enhanced bioremediation of creosote-contaminated soil: Laboratory and field studies. -*Journal of Environmental Science and Health, Part A, Vol. 42*, pp. 277-287.
- Gill R. T, Harbottle M. J, Smith J. W. N, Thornton S. F 2014: Electrokinetic-enhanced bioremediation of organic contaminants: A review of processes and environmental applications. -*Chemosphere, Vol. 107*, pp. 31-42.
- Acar Y, Gale R, Alshwabkeh An, Marks R, Puppala S, Bricka M, Parker R 1995: Electrokinetic remediation: Basics and technology status. -*Journal of Hazardous Materials, Vol. 40*, pp. 117-137
- Gary W vanLoon & Stephen J Duffy 2011: *Environmental chemistry a global perspective*. 3. painos. – Oxford university press, Oxford. 541s.
- Fabiano Caio, Tezotto Tiago, Favarin Jose Laercio, Polacco Joseph Carmine, Mazzafera Paulo 2015: Essentiality of nickel in plants: A role in plant stresses. -*Frontiers in Plant Science, Vol. 6*.
- Niels C. Munksgaard, Bernd G. Lottermoser 2011: Fertilizer Amendment of Mining-Impacted Soils from Broken Hill, Australia: Fixation or Release of Contaminants? -*Water, Air, & Soil Pollution Vol. 215*, pp 373–397
- Brady James E, Humiston Gerard E, Heikkinen Henry 1982: *General chemistry: principles and structure*, -Wiley & sons, (3. Painos) New York, 831 s.
- Heikkinen Päivi 2000: Haitta-aineiden sitoutuminen ja kulkeutuminen maaperässä. -*Geologian tutkimuskeskus Tutkimusraportti 150*
- Almendras, M. 2009. Heavy Metals Immobilization in Contaminated Smelter Soils Using Microbial Sulphate Reduction. *Advanced Materials Research, 71-73*, pp. 577-580.
- Wuana Raymond, Okieimen Felix 2011: Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. -*ISRN Ecology, 2011*
- Schulin R, Geiger G, Furrer G 1995: Heavy metal retention by soil organic matter under changing environmental conditions. -*Biogeochemistry of Pollutants in Soils and Sediments: Risk Assessment of Delayed and Non-Linear Responses*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 53-85.

- Tchounwou P. B, Yedjou C. G, Patlolla A. K., Sutton D. J 2012: Heavy metal toxicity and the environment. -*Experientia supplementum* (2012), Vol. 12, pp. 133.
- Pan Yunyu, Koopmans Gerwin, Bonten Luc, Song Jing, Luo Yongming, Temminghoff Erwin, Comans Rob 2014: Influence of pH on the redox chemistry of metal (hydr)oxides and organic matter in paddy soils. -*Journal of Soils and Sediments*, Vol. 14, pp. 1713-1726.
- Sébastien Sauvé, Murray McBride, William Hendershot 1998: Lead Phosphate Solubility in Water and Soil Suspensions. -*Environmental Science & Technology* Vol. 32, pp.388-393
- Reaney Stephen H, Kwik-Urbe Catherine L, Smith Donald R 2002: Manganese oxidation state and its implications for toxicity. -*Chemical research in toxicology*, Vol. 15, p. 1119.
- Romantschuk M, Sarand I, Petänen T, Peltola R, Jonsson-Vihanne M, Koivula T, Yrjälä K, Haahtela K 2000: Means to improve the effect of in situ bioremediation of contaminated soil: An overview of novel approaches. -*Environmental Pollution*, Vol. 107, pp. 179-185.
- Tammeorg P. 2010. Meat and bone meal as a nitrogen and phosphorus fertilizer for ryegrass. Maisterintutkielma. Saatavilla: Viikin tiedekirjasto, Helsinki. pp. 68
- Birgitta Backman, Pekka Hänninen, Auli-Kuusela Lahtinen, Kaisa Niskala, Jussi Reinikainen, Timo Tarvainen 2012: Metalleilla pilaantuneiden maa-ainesten liukoisuusselvitykset. -*Teknologian tutkimuskeskus VTT. Raportti VTT-R-06935-12*
- Nealson K.H, Myers C. L. 1992: Microbial reduction of manganese and iron: new approaches to carbon cycling. - *Applied Environ Microbiology*. Vol. 58(2) pp.439–443.
- Nies D. H 1999: Microbial heavy-metal resistance. -*National Library of Medicine. Applied microbiology and biotechnology* Vol. 51(6) pp. 730-750.
- Zambelli B., Ciurli S. 2013: Nickel and Human Health. -*Metal Ions in Life Sciences*, Vol. 13, pp. 321-357.
- Strid Sigel, Helmut Sigel, Roland K. O. Sigel 2008: *Nickel and Its Surprising Impact in Nature*. -Wiley-Blackwell (2. Painos) 728 s.
- Mulrooney, S. B. 2003: Nickel uptake and utilization by microorganisms. -*FEMS Microbiology Reviews*, Vol. 27, pp. 239-261.

- Nascimento C. W. A. D, Xing Baoshan 2006: Phytoextraction: A review on enhanced metal availability and plant accumulation. -*Scientia Agricola*, Vol. 63, pp. 299-311.
- Outi Pyy, Teija Haavisto, Kaisa Niskala and Matti Silvola 2013: Pilaantuneet maa-alueet Suomessa -*Suomen ympäristökeskuksen raportteja 27/2013*
- Xenophon G. Kondakis M.D., Nicolas Makris M.D., Michael Leotsinidis B.S., Mary Prinou B.S. & Theodore Papapetropoulos M.D 1988: Possible Health Effects of High Manganese Concentration in Drinking Water -*Archives of Environmental Health: An International Journal* Vol. 44
- David M. Sylvia, Peter G. Hartel, Jeffrey J. Fuhrman, David A. Zuberer 2005: *Principles and applications of soil microbiology*. 2. painos. – Pearson prentice hall, New Jersey. 640s.
- Van Liedekerke M, Prokop G, Rabl-Berger S, Kibblewhite M, Louwagie G 2014: Progress in the management of contaminated sites in Europe. -Reference Report by the Joint Research Centre of the European Commission
- Fraga C. G 2005: Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. -*Molecular Aspects of Medicine*, Vol. 26, pp. 235-244.
- Colombo Claudio, Palumbo Giuseppe, He Ji-Zheng, Pinton Roberto, Cesco Stefano 2014: Review on iron availability in soil: Interaction of Fe minerals, plants, and microbes. -*Journal of Soils and Sediments*, Vol. 14, pp. 538-548.
- Alloway B. J. 1995: Soil processes and the behaviour of metals. Julkaisussa: *Alloway B. J: Heavy Metals in Soils*. 2 painos. -Blackie Academic and Professional, Lontoo pp. 11- 37.
- Chuan M, Shu G, Liu J 1996: Solubility of heavy metals in a contaminated soil: Effects of redox potential and pH. -*Water, Air, and Soil Pollution*, Vol. 90, pp. 543-556.
- Martínez C, Motto K. H. 2000: Solubility of lead, zinc and copper added to mineral soils. -*Environmental Pollution*. Vol. 107, pp. 153-158.
- Sosiaali- ja terveystieteiden ministeriön asetus pienten yksiköiden talousveden laatuvaatimuksista ja valvontatutkimuksista ST 401/2001
- Campbell Joan I. A, Jacobsen C. S, Sørensen J 1995: Species Variation and Plasmid Incidence Among Fluorescent Pseudomonas Strains Isolated From Agricultural and Industrial Soils. -*FEMS Microbiology Ecology* Vol. 18, pp. 51-62.
- SYKE tiedote .19.11.2013

- Olson, B. H, Thornton I 1982: The Resistance Patterns to Metals of Bacterial Populations in Contaminated Land. -*Journal of Soil Science* Vol. 33, pp.271-277.
- Jaishankar Monisha, Tseten Tenzin, Anbalagan Naresh, Mathew Blessy B, Beeregowda Krishnamurthy N 2014: Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. -*Interdisciplinary Toxicology*. Vol. 7, pp. 60-72.
- K. E. Giller, E. Witter, S. P. McGrath 1998: Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: A review. -*Soil Biology and Biochemistry* vol. 30, pp. 1389-1414.
- Sneddon, I. R, Orueetxebarria M, Hodson M. E, Schofield P. F, Valsami-Jones E 2006: Use of bone meal amendments to immobilise Pb, Zn and Cd in soil: A leaching column study. -*Environmental Pollution*, Vol. 144, pp. 816-825.
- Stefanidou M, Maravelias C, Dona A, Spiliopoulou, C 2006: Zinc: A multipurpose trace element. -*Archives of Toxicology*, Vol. 80 pp. 1-9.

Liitteet

Liite 1. Lysimetreistä analysoitujen metallien pitoisuudet kokeen aikana.

Ylimmäisenä lihaluujauholla käsiteltyjen lysimetrien läpi perkoloituneesta vedestä mitatut pitoisuudet. Alla kontrollilysimetrien läpi perkoloituneesta vedestä mitatut pitoisuudet.

Käsittely	Mn	Ni	Fe	Zn	P	Pb	pH
Viikko 1	26905	330	31550	1168	1568	27,7	6,13
Viikko 2	39660	1076	151750	870	2131	30	6,05
Viikko 3	45826	1760	258250	832	1443	4,3	6,29
Viikko 4	63500	2259	260000	360	935	2,2	6,26
Viikko 5	73500	3250	385000	265	1235	4,4	6,3
Viikko 6	83500	5850	725000	72	1350	3,1	6,25
Viikko 7	73000	3550	445000	86	875	1,5	6,22
Viikko 8	80500	6700	855000	56	1140	7,2	6,12
Viikko 9	77500	3200	395000	101	1005	0,6	6,35
Kontrolli	Mn(K)	Ni(K)	Fe(K)	Zn(K)	P(K)	Pb(K)	pH(K)
Viikko 1	2256	37	1550	231	551	4	6,76
Viikko 2	3586	84	7150	60	837	6	6,9
Viikko 3	2306	54	1100	73	294	1,5	8,03
Viikko 4	6100	266	23000	7	280	6,5	6,79
Viikko 5	5100	74	7250	10	255	3	7,13
Viikko 6	6350	90	10700	8	180	0,8	6,72
Viikko 7	3900	73	1300	9	107	1,1	6,92
Viikko 8	7000	128	7800	4	123	0,7	6,98
Viikko 9	6150	57	1750	10	175	0,4	6,88

Liite 2. Mikrokosmoksista analysoitujen metallien pitoisuudet kokeen aikana. Ylimmäisenä lihaluujauholla käsiteltyjen mikrokosmosten läpi perkoloituneesta vedestä mitatut pitoisuudet. Alla kontrollina toimineiden mikrokosmosten läpi perkoloituneesta vedestä mitatut pitoisuudet.

Käsittely	Mn	Ni	Fe	Zn	P	Pb	pH
Viikko 1	8521	229	9445	95	765	0,5	6,48
Viikko 2	15557	1084	45909	94	444	0,7	6,77
Viikko 3	12489	991	7130	142	756	0,3	7,35
Viikko 4	4993	973	2392	58	905	1	7,53
Viikko 5	4604	1182	5840	82	1518	4,8	7,5
Viikko 6	3444	1045	6585	94	917	5,2	7,64
Kontrolli	Mn(K)	Ni(K)	Fe(K)	Zn(K)	P(K)	Pb(K)	pH
Viikko 1	28	28	464	36	361	1,9	7,43
Viikko 2	103	410	514	68	160	4,9	7,33
Viikko 3	84	480	424	28	283	2,9	7,3
Viikko 4	77	537	472	90	163	3,8	7,35
Viikko 5	111	512	776	86	197	3,9	7,11
Viikko 6	87	169	602	253	168	3,2	7,24

Liite 3. Lysimetrien läpi perkoloituneen veden koko kokeen aikaisten metallipitoisuuksien ja pH:n keskiarvojen vertailu lihaluujauhokäsittelyn ja kontrollin välillä t-testillä. Testeissä verrattiin kontrollivesinäytteiden kokeen aikaista keskipitoisuutta lihaluujauholla käsiteltyjen lysimetrien läpi perkoloituneen veden keskipitoisuuteen. T-testien tulokset metallien pitoisuuksien ja pH:n eroille kontrollin ja käsittelyn välillä.

t-test for Equality of Means							
	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
						Lower	Upper
pH	-3,87	18	0.006	-0,785	0.202	-1,21	-0.360
Mn	12,28	17,4	0.000	5790	471,4	4797	6748
Ni	6,098	17.2	0.000	289,5	48,95	195,3	401,7
Fe	6,202	17.0	0.000	38340	6181	25299	51381
Zn	3,517	17,9	0.002	37,78	10,74	15,2	60,36
P	6,610	26.4	0.000	98,68	14,92	68,0	129,4
Pb	1.784	34	0.83	0.642	0.360	-0.08	1.373

Liite 4. Mikrokosmosten läpi perkoloituneen veden koko kokeen aikaisten metallipitoisuuksien ja pH:n keskiarvojen vertailu lihaluujauhokäsittelyn ja kontrollin välillä t-testillä. Testeissä verrattiin kontrollivesinäytteiden kokeen aikaista keskipitoisuutta lihaluujauholla käsiteltyjen mikrokosmosten läpi perkoloituneen veden keskipitoisuuteen. T-testien tulokset metallien pitoisuuksien ja pH:n eroille kontrollin ja käsittelyn välillä.

t-test for Equality of Means							
	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
						Lower	Upper
pH	1.42	19.6	0.171	0.179	0.126	-0.0842	0.443
Mn	7.341	17.0	0.000	-819	112	-1054	-583
Ni	-3.74	31.9	0.001	-56.1	15.0	-86.6	-25.5
Fe	-2.91	17.0	0.010	-1234	424	-2129	-339
Zn	0.03	24.3	0.976	0.083	2.70	-5.49	5.66
P	-5.69	26.4	0.000	-66.4	11.7	-90.4	-42.4
Pb	1.46	33.9	0.153	0.129	0.0880	-0.0503	0.308