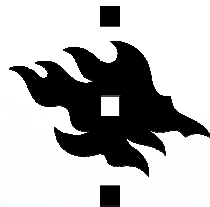


VAIKUTUS- PERUSTAINEN ANALYYSI

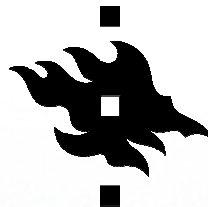
MARI DAHL
MUTKU-PÄIVÄT
30.03.2017



HELSINGIN YLIOPISTO

ESITYKSEN SISÄLTÖ

- Yhdisteiden vai vaikutusten monitorointi?
- Vaikutusperustaisen analyysin idea
- EDA-prosessin vaiheet
- CASE I: Vaneritehtaan tukkien hautomoaltaan liete
- CASE II: Valimohiekkajäte



HELSINGIN YLIOPISTO

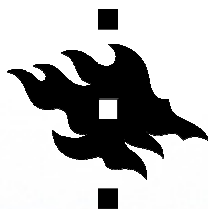
YHDISTEIDEN VAI VAIKUTUSTEN MONITOROINTI?

Kemiallinen analytiikka:

- + Olemassa olevat ohjeistukset perustuvat tiettyjen yhdisteiden pitoisuuksien määrittämiseen ja seuraamiseen
- + Paljon rutiinianalyysejä ja ammattitaitoista väkeä tekemään niitä
- Ei anna tietoa yhteisvaikutuksista tai biosaatavuudesta
- Mahdotonta määrittää kaikkia kemikaaleja
- Ei olemassa riittävästi toksisuusdataa riskinarviointien tueksi

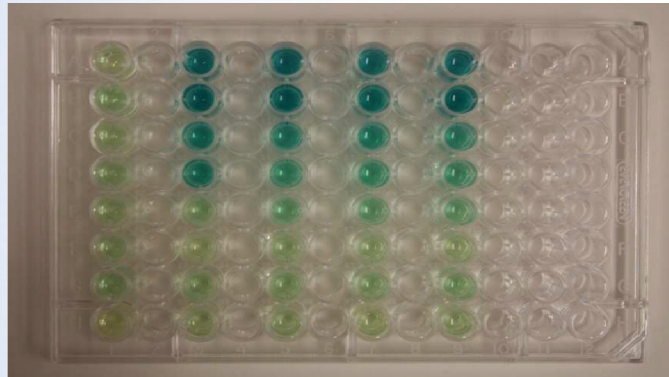
Biotestaus:

- + Huomioi kemikaalien yhteisvaikutukset
- + Huomioi tuntemattomat/odottamattomat kemikaalit
- + Huomioi biosaatavuuden
- + Huomioi muuntumistuotteet
- Elävien organismien kanssa työskentely joskus haastavaa
- Tuloksien tulkinta haastavaa
- Ei olemassa valmiita raja-arvoja



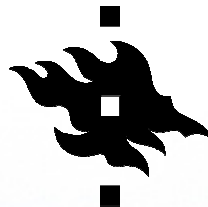
HELSINGIN YLIOPISTO

YHDISTEIDEN VAI VAIKUTUSTEN MONITOROINTI?



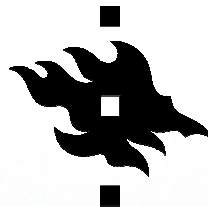
By Genotox - Own work, CC BY-SA 3.0,
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=18633703>

- Integroimalla biotestausta ja kemiallista analytiikkaa saadaan monipuolisempia menetelmiä haitallisuuden arvioimiseen ja voidaan havaita jopa aiemmin tunnistamattomia haitta-aineita
- Monitoroimalla myös vaikutuksia voidaan tehdä luotettavampia riskinarvioita, koska ei tarvitse "etsiä neulaa heinäsuovasta"



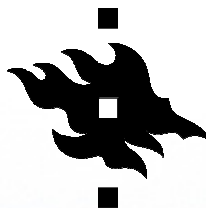
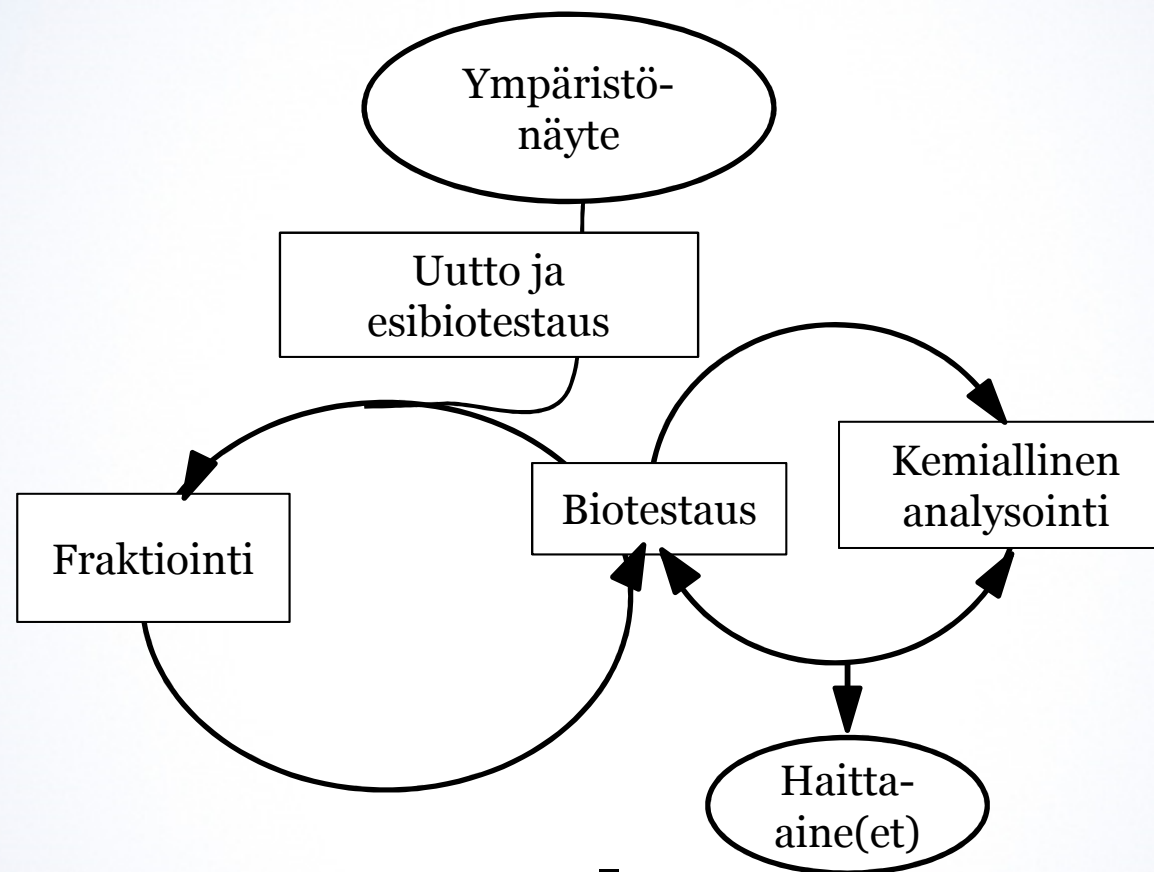
HELSINGIN YLIOPISTO

VAIKUTUSPERUSTAINEN ANALYYSI



HELSINGIN YLIOPISTO

EDA-PROSESSI

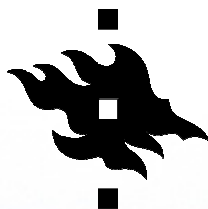
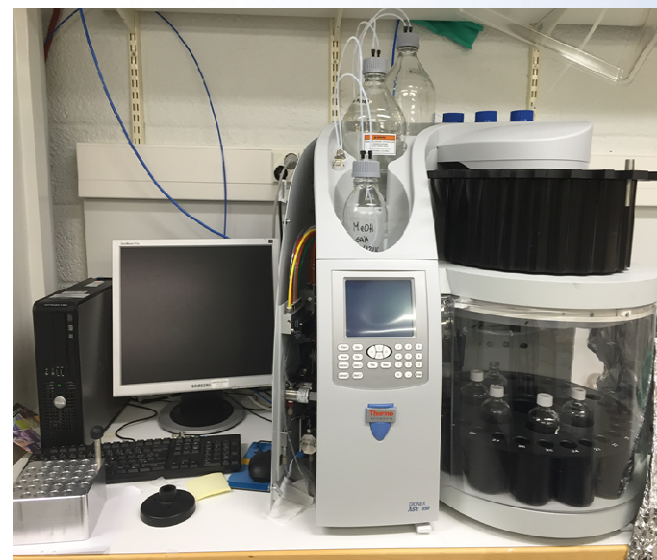


HELSINGIN YLIOPISTO

LÄHDE: Brack, W. 2003: Effect-directed analysis: a promising tool for the identification of organic toxicants in complex mixtures?. – *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 377 (2003): 397-407

ESIKÄSITTELY- JA UUTTOMENETELMÄT

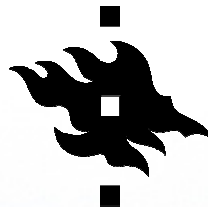
- EDA:n ensimmäisessä vaiheessa sekapilaantuneet ympäristönäytteet uutetaan tyypillisesti orgaanisella liuottimella
- Dikloorimetaani on käytetyin liuotin EDA – prosessissa johtuen sen tehokkuudesta laajalle joukolle yhdisteitä
- Osa näytteen sisältämistä kemikaaleista jää kuitenkin uutossa väistämättä pois jatkovaiheista (yleensä EDA:ssa keskitytään orgaanisiin yhdisteisiin ja raskasmetallit sekä epäorgaaniset anionit jätetään tarkastelun ulkopuolelle)



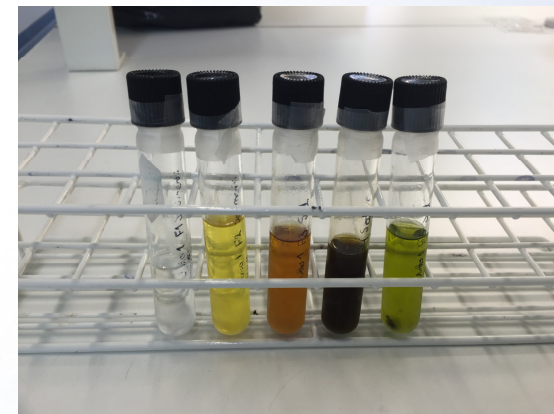
HELSINGIN YLIOPISTO

FRAKTIOINTI

- Fraktioinnin avulla erotetaan ei-toksiset aineryhmät toksisista sitä varten, että haitta-aineiden tunnistaminen helpottuisi
- Fraktiointi perustuu analyyttien fysikaaliskemiallisiin ominaisuuksiin kuten esimerkiksi polaarisuuteen, hydrofobisuuteen, molekyylikokoon tai tiettyjen toiminnallisten ryhmien olemassaoloon
- Fraktiointi itsessään tarjoaa tietoa fraktioitujen yhdisteiden ominaisuuksista
- Fraktioinnin avulla puhdistetaan näytteistä myös luonnonaineita
- Fraktiointi voidaan suorittaa esim. HPLC:n avulla



HELSINGIN YLIOPISTO

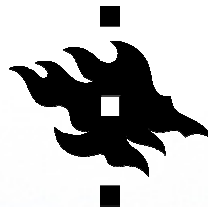


BIOTESTAUS



Photo credit: [NTNU, Faculty of Natural Sciences](#)
via [Foter.com](#) / [CC BY](#)

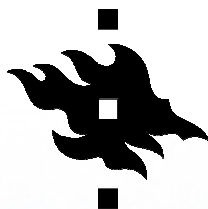
- Fraktioista etsitään toksisuutta biotestien avulla
- Käytetyt biotestit lopulta määräävät sen, mitkä yhdisteet koko menettelyssä identifioidaan
- Käytettävien testien tulisi olla nopeita toteuttaa, herkkiä ja toistettavia sekä niiden tulisi tehokkaasti pystyä erottamaan toksiset ja ei-toksiset fraktiot toisistaan
- Vaikutusperustaisessa analyysissä käytetään pääasiassa *in vitro* –solutestejä, mutta esitestinä myös *in vivo* –toksisuustestejä kuten viherlevä- tai vesikirpputestejä
- *In vitro* -testeillä mitattavia vasteita ovat esimerkiksi genotoksisuus, dioksiinin kaltaiset vaikutukset ja hormonitoiminnan häiriöt



HELSINGIN YLIOPISTO

KEMIALLISET ANALYYSIT

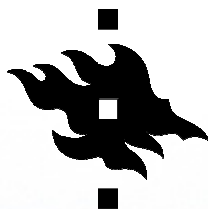
- Kemikaalien tunnistus suoritetaan kemiallisilla analyyseillä
- Tyypillisesti nontarget –analytiikkaa eli ilman kemikaalien etukäteisvalintaa tehtäviä
- Yleisimmin EDA -menettelyssä käytetään kaasukromatografia yhdistettynä massaspektrometriin (GC-MS)
- GC-MS on soveltuva ja tehokas laite, mikäli analyytit ovat haihtuvia
- Nestekromatografi-massaspektrometri (LC-MS) on vaihtoehtoinen analyysilaitte, jolla voidaan tunnistaa polaarisemmat ja vähemmän haihtuvammat yhdisteet
- Ongelmana LC-MS:n käytettävyydessä on puute helppokäyttöisistä spektrikirjastoista, joita löytyy GC-MS:lle



HELSINGIN YLIOPISTO

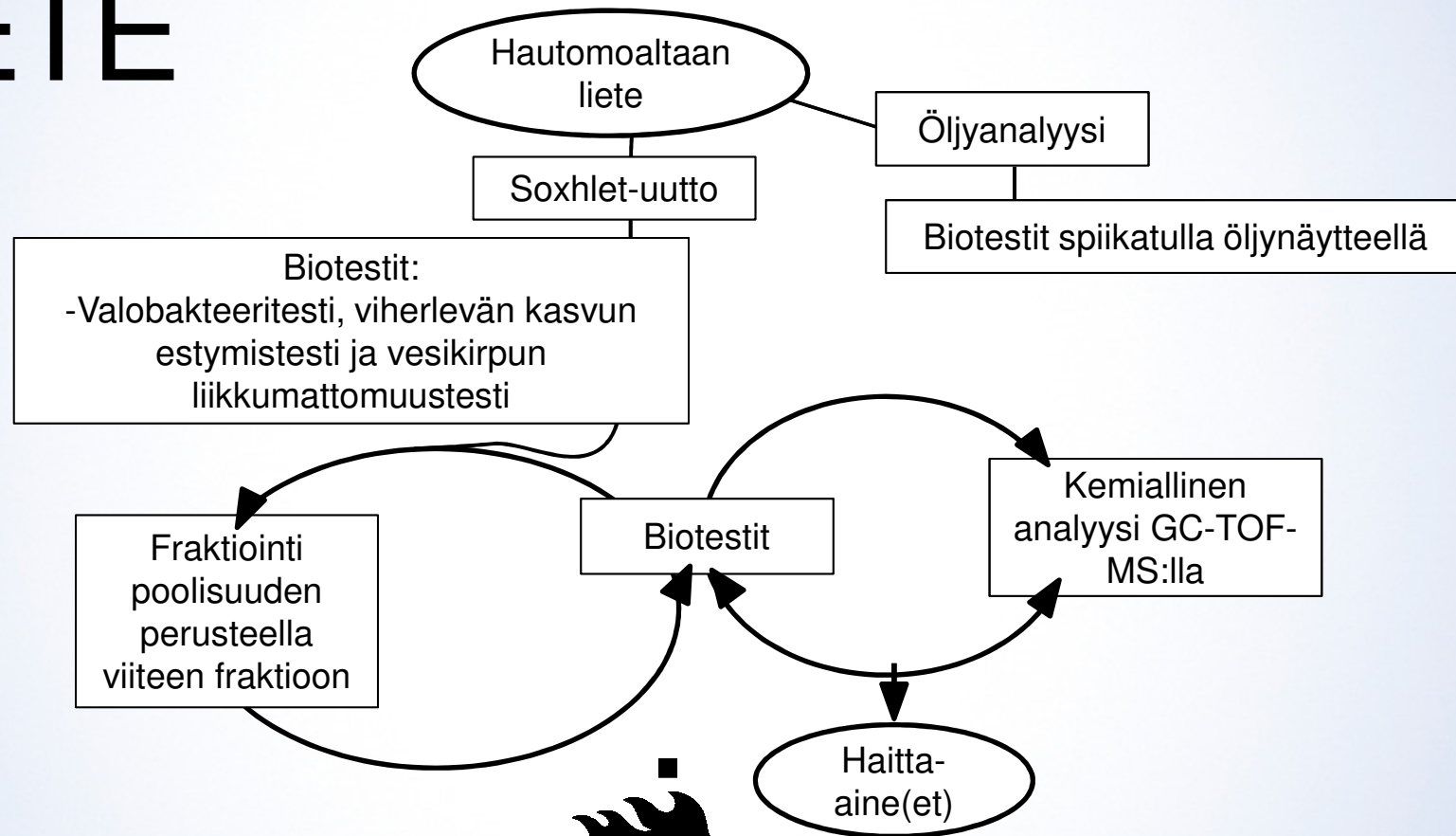
CASE I: VANERITEHTAAN TUKKIEN HAUTOMOALTAAN LIETE

- Aiemmissa tutkimuksissa on havaittu, että Etelä-Suomessa sijaitsevan vaneritehtaan tukkien hautomoaltaan pohjalietteessä on runsaasti öljyhiilivetyjä (C_{10-21} 400–2200 mg/kg ka ja C_{22-40} 2700–14700 mg/kg ka)
- Näytteiden kromatogrammien profiilit muistuttivat hydraulikkaöljyn profiilia, mutta eivät täysin vastanneet minkään standardikirjastossa olevan öljystandardin profiilia
- Muita tutkittuja haitta-aineita lietteestä ei havaittu tai niiden pitoisuudet vastasivat taustatasoa
- Suvi Survon gradun tavoitteena on ollut selvittää näytteen sisältämien luonnonaineiden osuus kokonaisöljyhiilivedyistä ja arvioida yhdisteiden alkuperää niiden koostumuksen perusteella
- Näytteille sovellettiin myös EDA-menettelyä

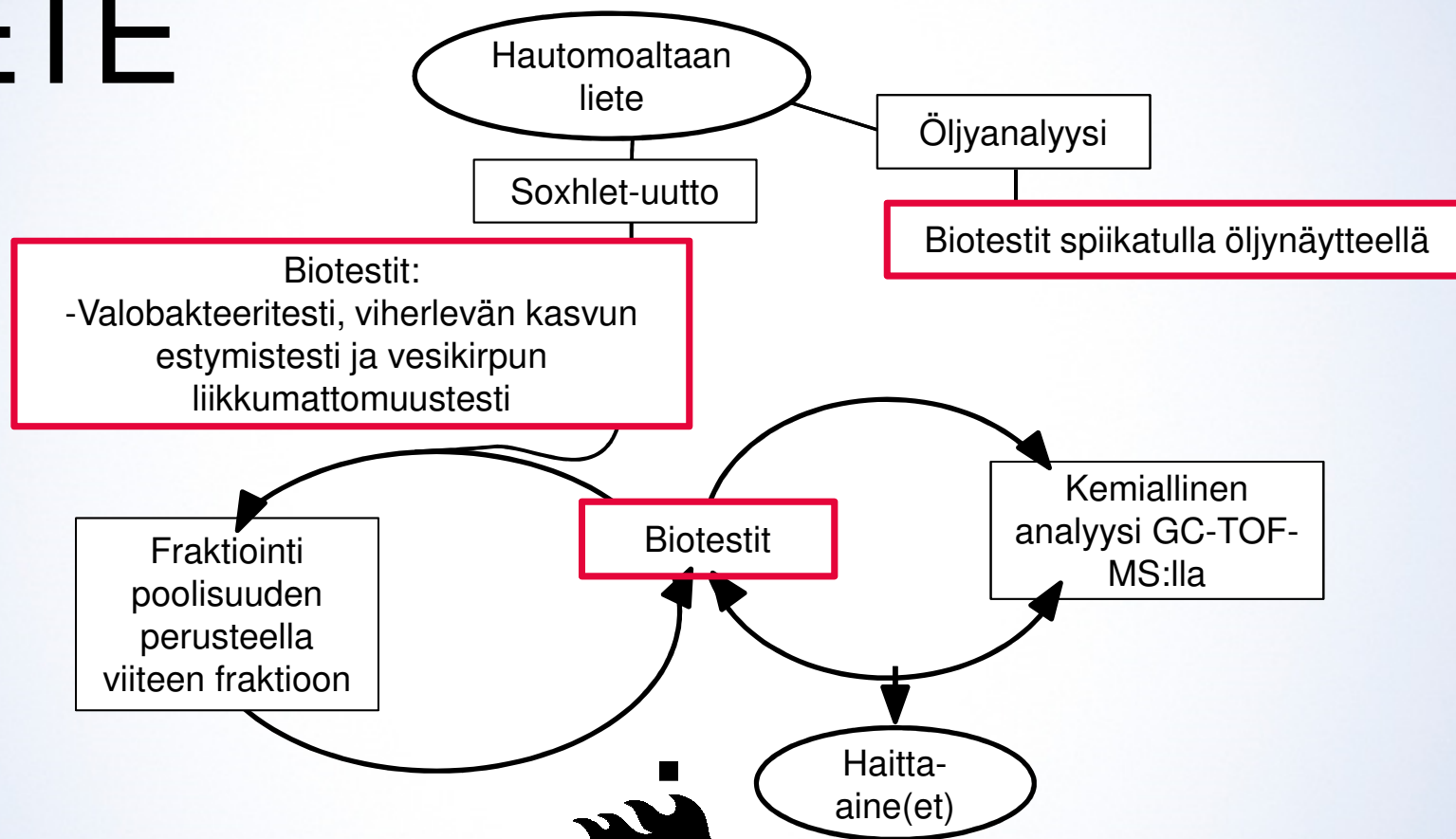


HELSINGIN YLIOPISTO

CASE I: VANERITEHTAAN TUKKIEN HAUTOMOALTaan LIETE

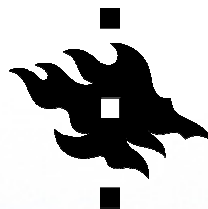
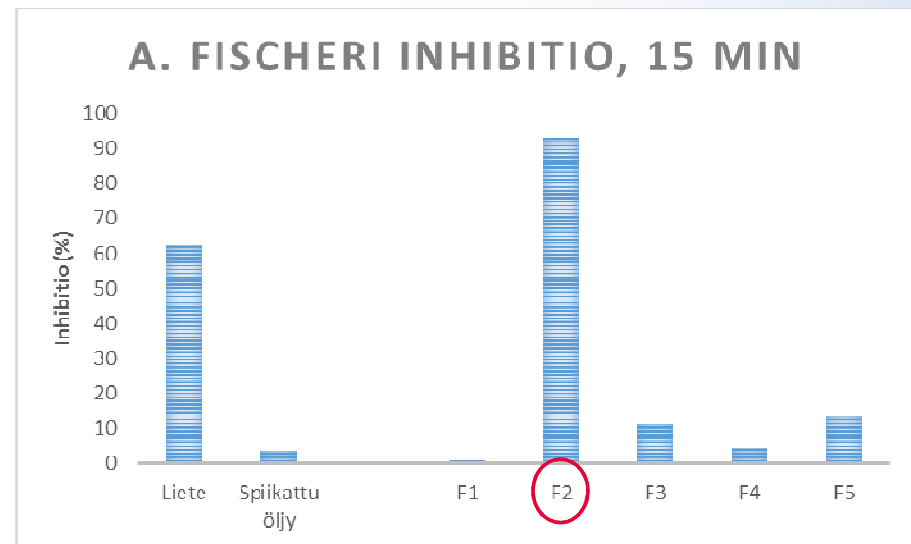


CASE I: VANERITEHTAAN TUKKIEN HAUTOMOALTaan LIETE



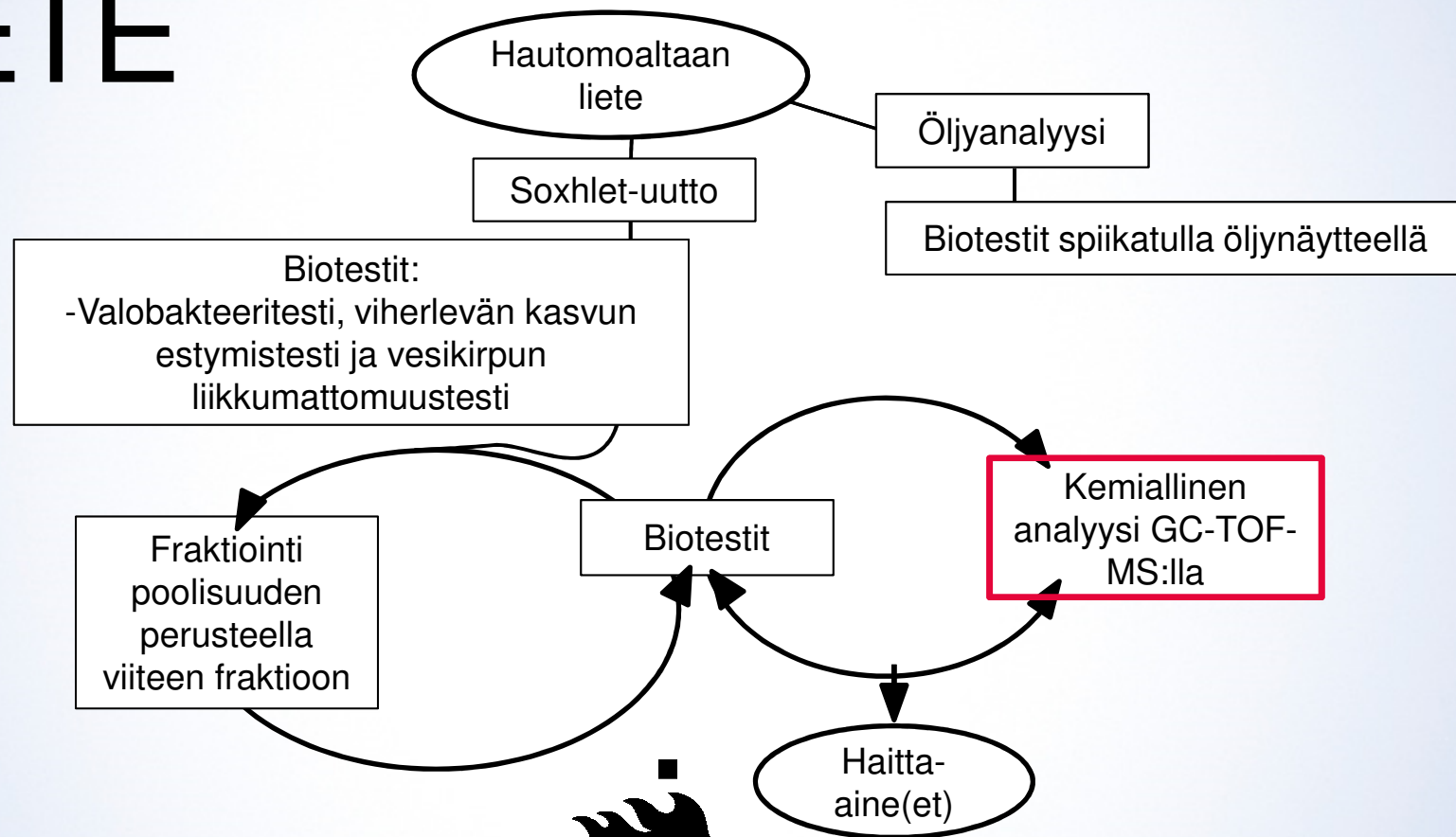
CASE I: VANERITEHTAAN TUKKIEN HAUTOMOALTaan LIETE

- Kaikkien kolmen biotestin tulokset samankaltaisia
- Lieke huomattavasti toksisempaa kuin samaan öljypitoisuuteen spikattu näyte
- F2 erottui lietteen fraktioista toksisimmaksi



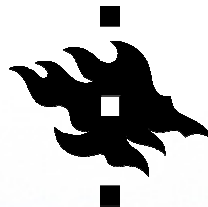
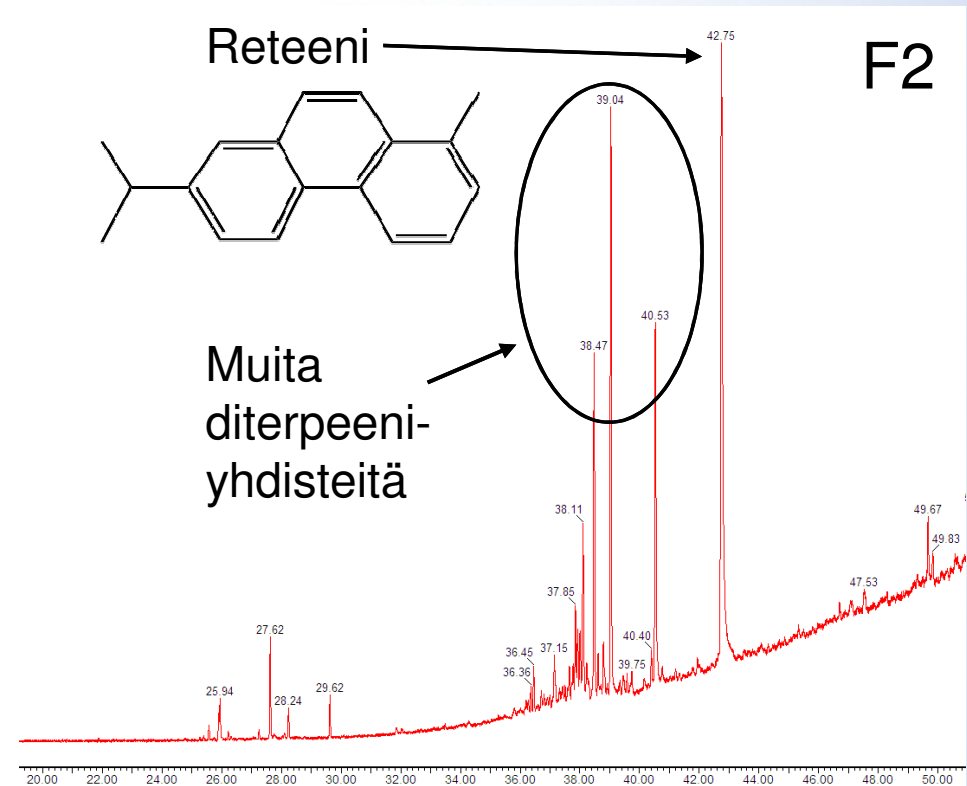
HELSINGIN YLIOPISTO

CASE I: VANERITEHTAAN TUKKIEN HAUTOMOALTaan LIETE



CASE I: VANERITEHTAAN TUKKIEN HAUTOMOALTaan LIETE

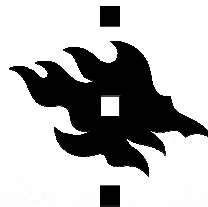
- Diterpeeniyhdisteet voivat häiritä öljyanalyysiä
- Reteeni muodostuu puun pihkan hartsihapoista anaerobisissa oloissa
- Reteeni on vesieliöille toksista jo pitoisuudessa 10 µg/l
- Aiheuttaa dioksiinin kaltaisia vaikutuksia



HELSINGIN YLIOPISTO

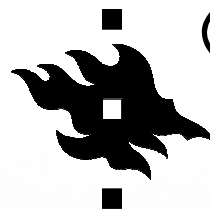
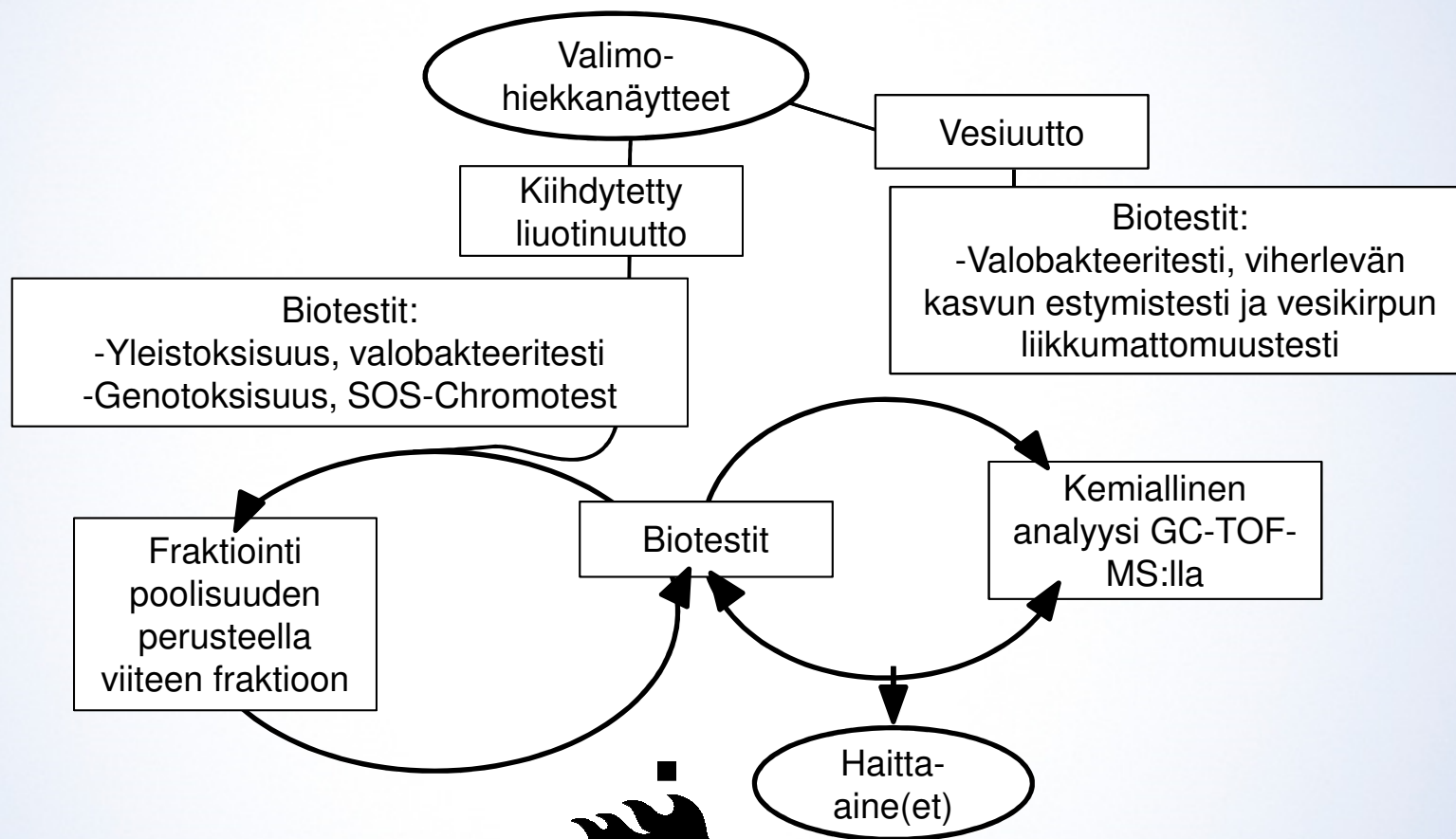
CASE II: VALIMOHIEKKAJÄTE

- Valimot käyttävät hiekkoja metallien valumuottien valmistuksessa
- Hiekkajätettä muodostuu kyseisessä toiminnassa noin tonni jokaista valettua metallitonni kohden
- Valimohiekat sisältävät erilaisia haitta-aineita (mm. reaktio- ja palamistuotteita, valmistuksessa käytettyjä sideaineita sekä metalleja)
- Ajankohtainen tutkimusaihe Suomessa, koska valimohiekat ovat sisällytetty valmisteilla olevaan asetukseen eräiden jätteiden hyödyntämisestä maarakentamisessa
- EU:n LIFE –rahoitteisessa Re-use of surplus foundry sand by composting (lyhyemmin Foundry Sand) –projektissa tutkitaan uusia menetelmiä haitta-ainepitoisuuksien vähentämiseksi ja valimohiekan käytettävyyden lisäämiseksi sekä tehdään ekotoksikologista arviointia
- Tutkimuksessa on mukana suomalaisilta rautavalimoilta kolmea erilaista valimohiekkaa (tuore-, fenoli- ja furaanihiekkaa), jotka eroavat toisistaan käytettyjen sideaineiden ja valmistustavan perusteella



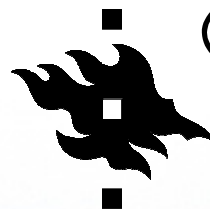
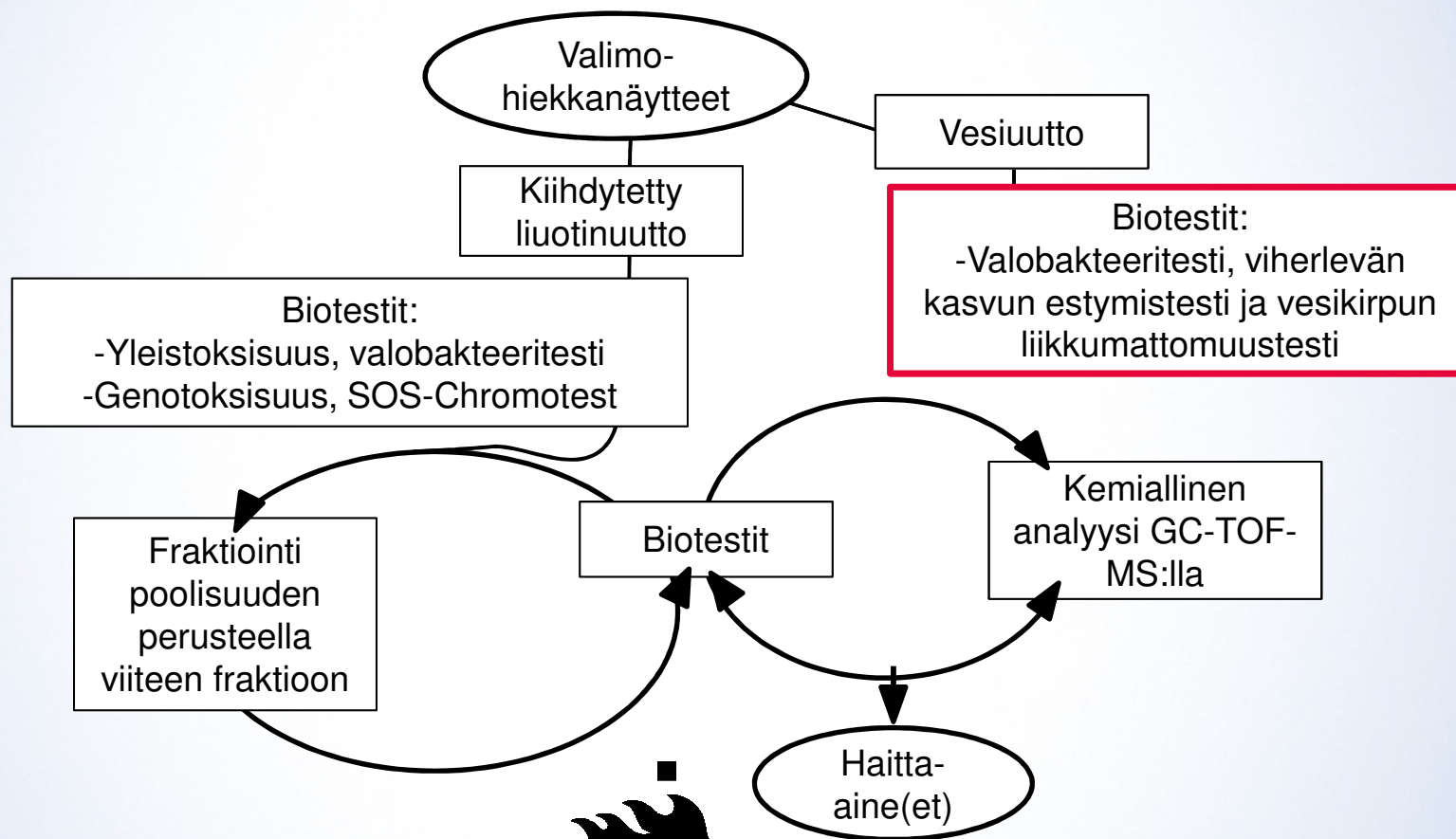
HELSINGIN YLIOPISTO

CASE II: VALIMOHIEKKAJÄTE



HELSINGIN YLIOPISTO

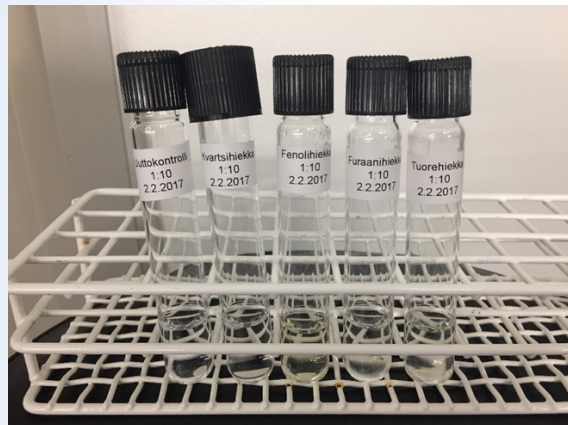
CASE II: VALIMOHIIEKKAJÄTE



HELSINGIN YLIOPISTO

CASE II: VALIMOHIIEKKAJÄTE

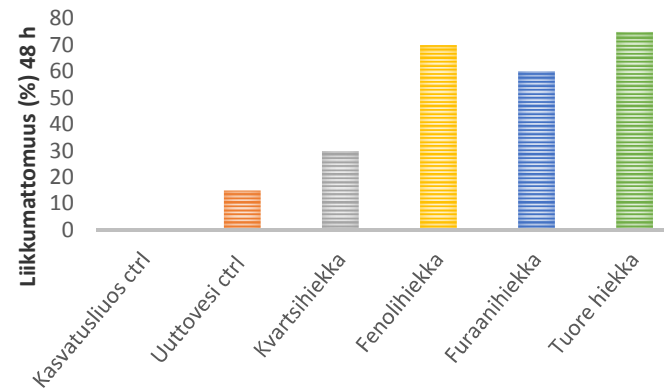
Vesiuutteen 1:10



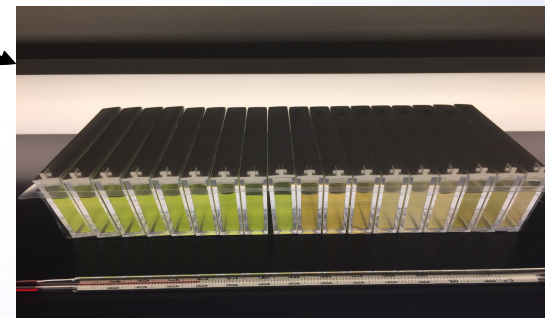
Valobakteerilla ei
havaittavissa
valontuoton inhibitiota



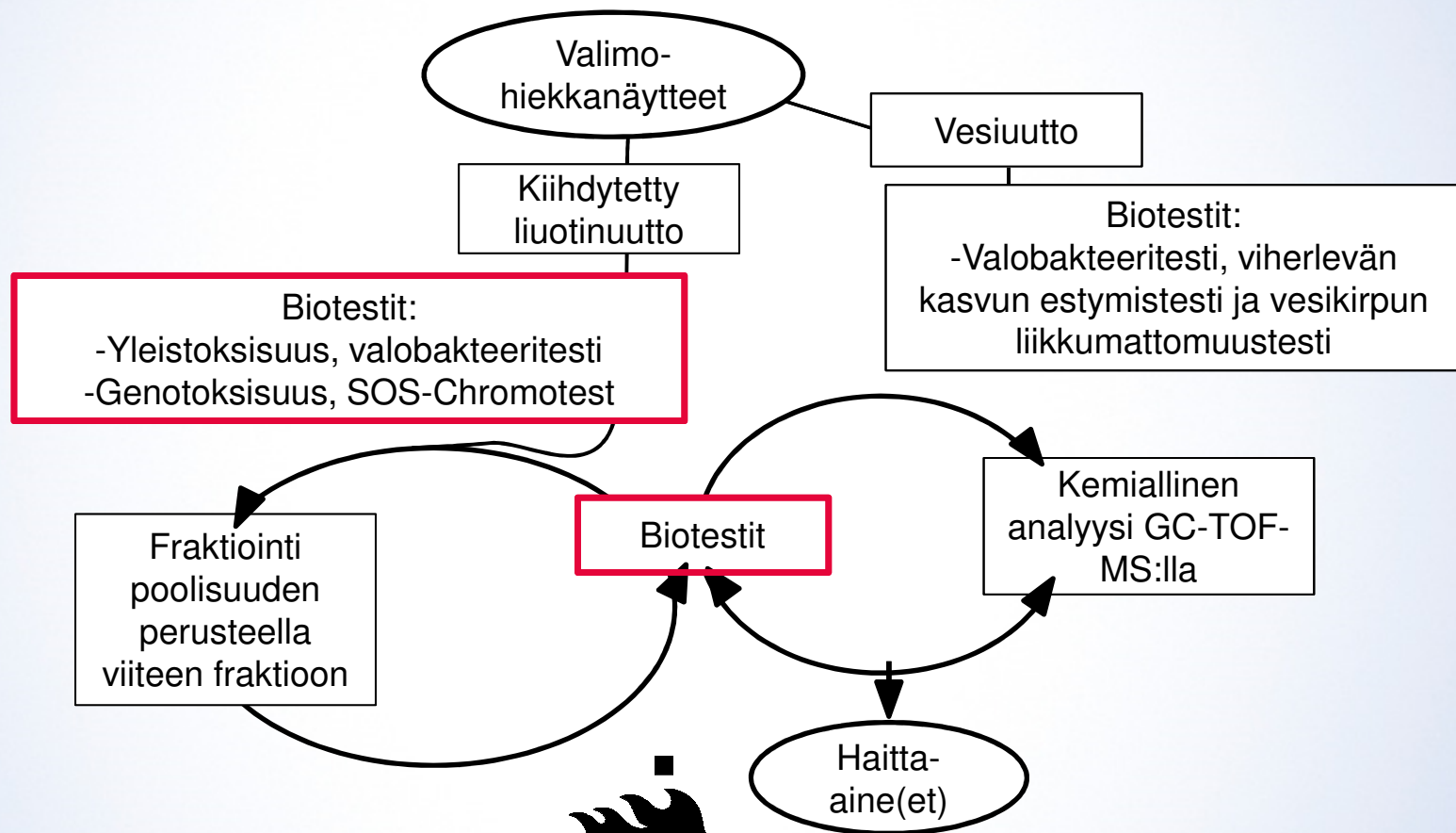
DAPHNIA MAGNA -TESTIN
TULOKSET



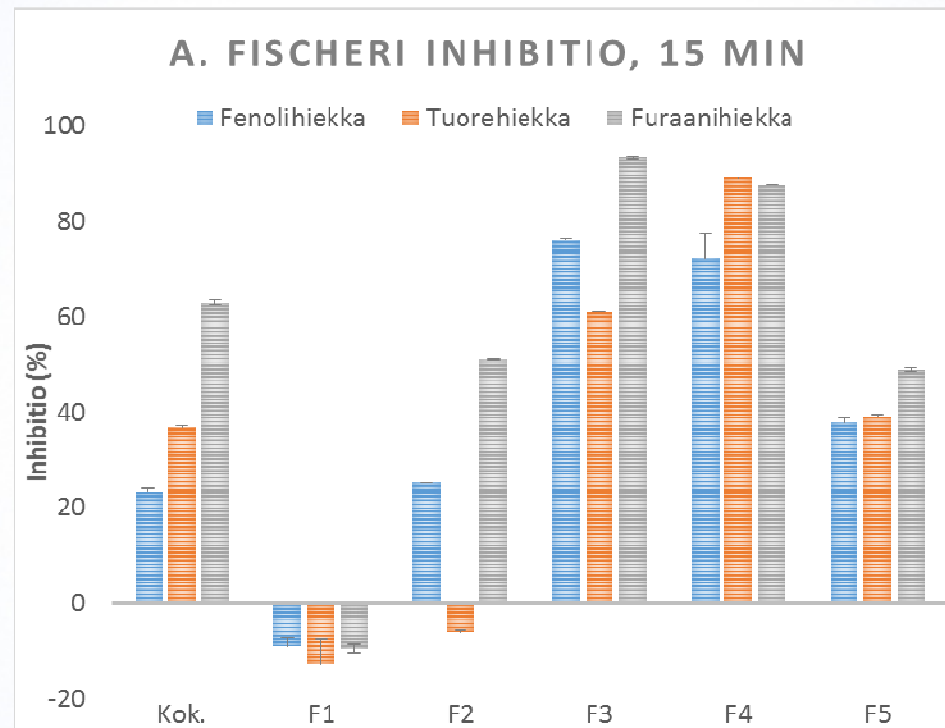
Viherlevätesti



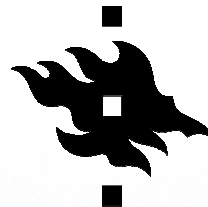
CASE II: VALIMOHIIEKKAJÄTE



CASE II: VALIMOHIIEKKAJÄTE

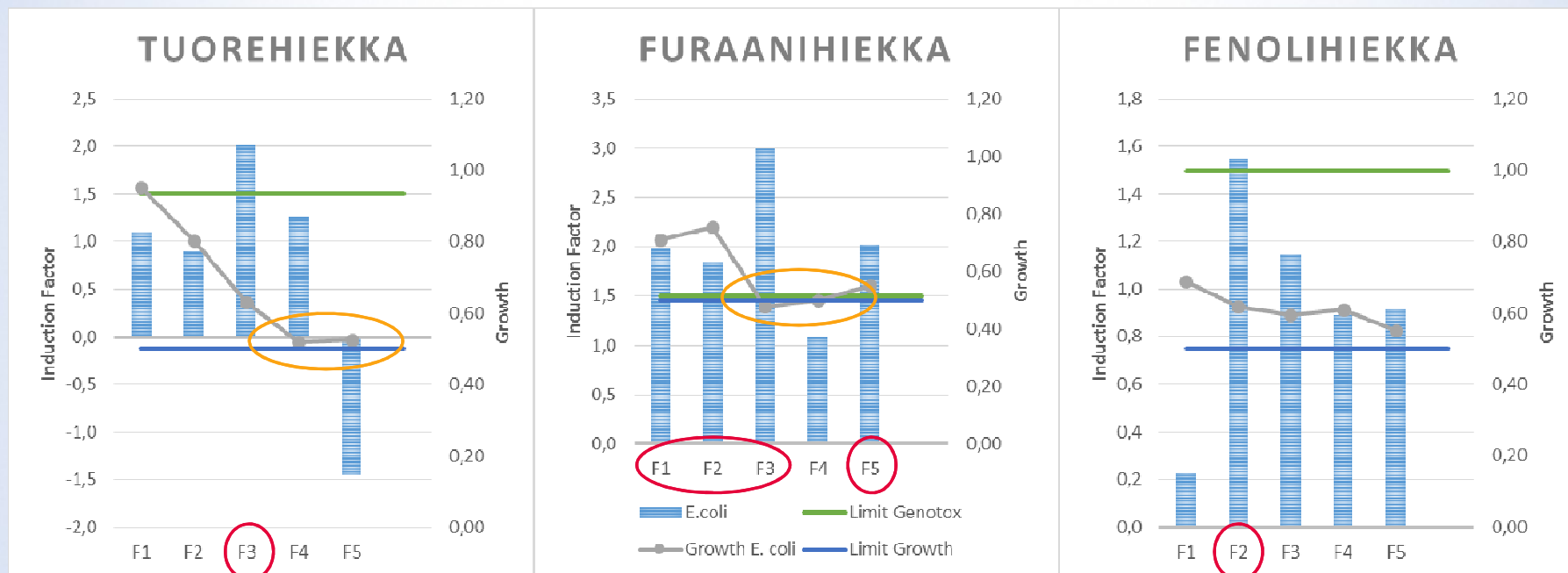


Näytteiden vahvuus testissä 0,008 g valimohiekkää/ml altistusliuosta

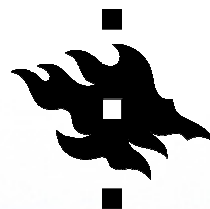


HELSINGIN YLIOPISTO

CASE II: VALIMOHIEKKAJÄTE

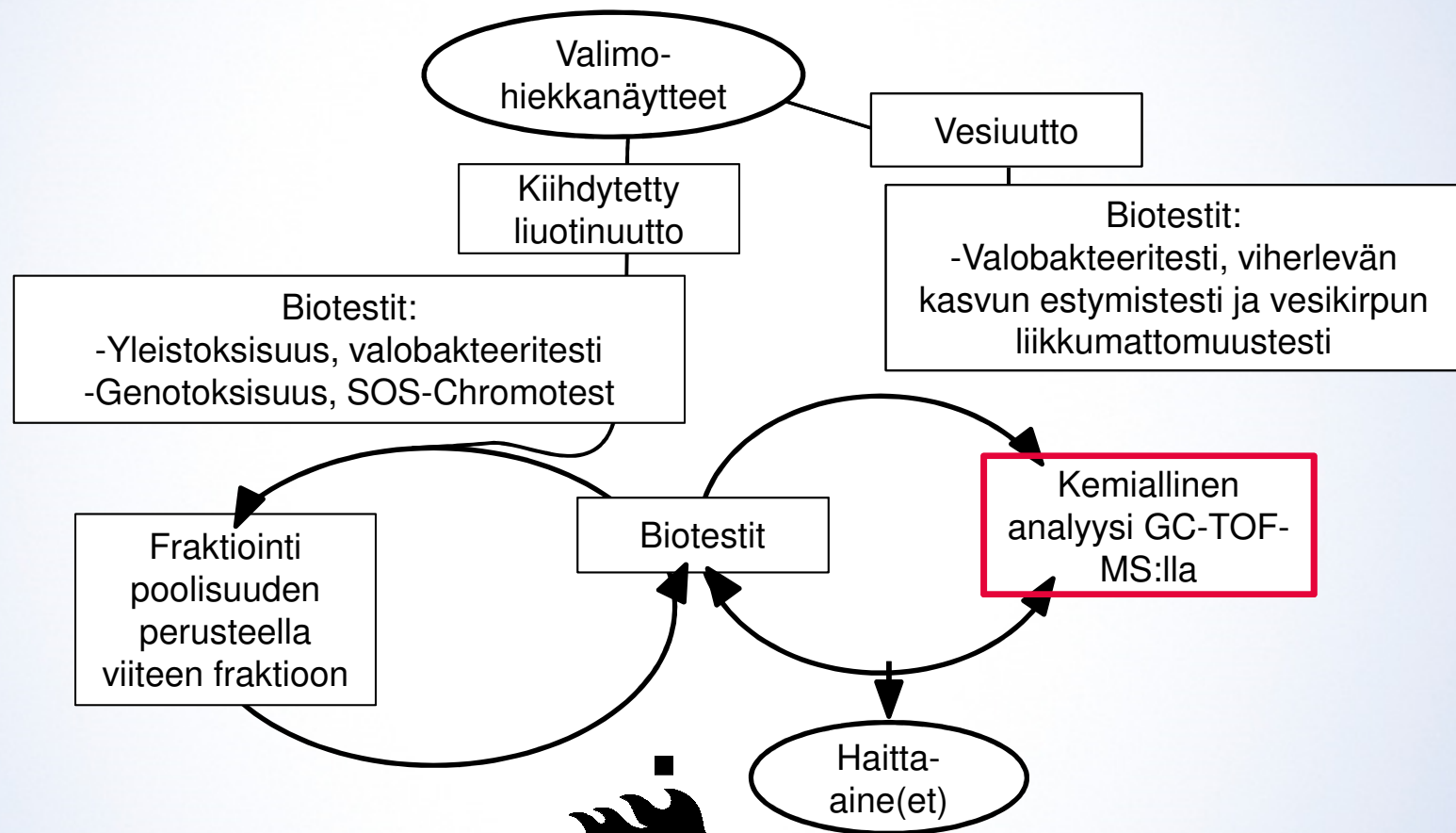


Näytteiden vahvuus testissä 0,011 g valimohiekkää/ml altistusliuosta



HELSINGIN YLIOPISTO

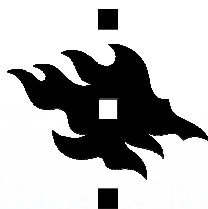
CASE II: VALIMOHIEKKAJÄTE



CASE II: VALIMOHIIEKKAJÄTE

- Genotoksisin furaanihiiekka sisälsi nontarget analyysin mukaan mm. alkyylifuraaneja, bentsaldehydiä, asetofenoneita, dibentsofuraaneja, alkyylifenoleita, alkyylibentseenejä...
- Tuorehiekan tulokset fraktioittain:

Fraktio	Tuorehiiekka
F1	Pitkäketjuisia alkaaneja
F2	Alkyylibentseenejä, PAH-yhdisteitä
F3	PAH-yhdisteiden muuntumistuotteita, alkyylibentseenejä, alkyyliketoneita
F4	Alkyylifenoleja, syklisiä ketoneja, alkyylibentseenejä
F5	Syklisiä ketoneja, bentsoehapon johdannaisia, rasvahappoja, alkyylibentseenejä, bentsyyliamiineja



HELSINGIN YLIOPISTO

KIITOS!

MARI.DAHL@HELSINKI.FI



HELSINGIN YLIOPISTO

