

TERVEYDELLE HAITALLISTEN SISÄILMAN KEMIKAALIEN BIOMONITOROINTI SUKKULAMATOJEN AVULLA

Sari Paavanen-Huhtala¹, Maria A. Andersson² ja Päivi J. Koskinen¹

¹ Biologian laitos, Turun yliopisto, Turku

² Rakennustekniikan laitos, Aalto-yliopisto, Espoo

TIIVISTELMÄ

Tässä tutkimuksessa olemme selvittäneet siivousaineiden sisältämien hajusteiden reaktiotuotteiden mahdollisesti haitallisia vaikutuksia siirtogeenisten sukkulamatojen avulla. Nestekasvatuskokeissa havaitsimme, että mm. glyoksaali ja metyylyglyoksaali ovat sukkulamadoille erittäin myrkyllisiä. Metyylyglyoksaali lamauttaa niiden liikkeitä jopa alle 0.1% laimennoksena ja tappaa ne 1% liuoksessa. Jatkotutkimuksissa sukkulamatoja olisi tarpeen altistaa erityyppisille kemikaaleille ja niiden reaktiotuotteille ja selvittää, mitkä niistä ovat haitallisia ja millaisilla pitoisuuksilla.

JOHDANTO

Rakennusten sisäilman laadun monitorointi on tärkeää niin työntekijöiden terveyden kuin työkyvyn kannalta. Sisäilman laatua voivat heikentää monet eri tekijät, kuten huono ilmanvaihto, mikrobit sekä kemikaalit, joita voi vapautua ilmaan mm. siivousaineista tai rakennusmateriaaleista. Näin ollen työntekijöiden oireet voivat olla monien altistavien tekijöiden yhteisvaikutusta.

Työpaikkojen ammattisiivouksessa käytettävät tehokkaat puhdistusaineet voivat pesevien ainesosien lisäksi sisältää mikrobeja tuhoavia tehoaineita eli biosidejä (esim. isotiatsinoli), pesuaineen levittämistä helpottavia kostutinkemikaaleja (esim. Genapol X 080) sekä hajusteita (esim. limoneeni). Monet näistä ovat terveydelle haitallisia. Esim. terpenoidityyppiset hajusteet, kuten limoneeni, voivat reagoida ilmassa olevan otsonin tai hapettavien desinfiointiaineiden kanssa, jolloin voi muodostua hengitykselle myrkyllisiä karbonyyleja, kuten glyoksaalia ja metyylyglyoksaalia /1/2/3/. Nämä voivat levitä sekundäärisenä orgaanisena aerosolina ja päätyä hengitysteihin. Työpaikoilla näille kemikaaleille voivat altistua paitsi siivoajat, myös huonetilojen käyttäjät, sillä siivouksen nopeuttamiseksi käytettyjä kemikaaleja ei nykyään huuhdota pinnoilta pois, vaan ne voivat höyrystyä huoneilmaan.

Monien sisäilmaa heikentävien yhdisteiden pitoisuudet pystytään mittaamaan ja niille on määritetty asumisterveysasetuksessa viitearvot. Yksittäisten kemiallisten yhdisteiden pitoisuuksien määrittämisen sijasta tai lisäksi tarvittaisiin sisäilman kokonaistoksisuutta kustannustehokkaasti ja luotettavasti mittaavia menetelmiä, joiden antaman tiedon pohjalta huonon sisäilman aiheuttamia terveydellisiä riskejä pystyttäisiin minimoimaan. Aiempien mikrobitoksiinitutkimustemme lupaavien tulosten perusteella *Caenorhabditis elegans* -suvun sukkulamatoja voivat tarjota käyttökelpoisen ratkaisun myös sisäilmassa esiintyvien haitallisten kemikaalien biomonitorointiin /4/5/.

TUTKIMUKSEN TAVOITTEET

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli testata siivousaineiden sisältämien hajusteiden reaktiotuotteiden vaikutuksia *Caenorhabditis elegans* -suvun sukkulamatojen stressivasteeseen sekä liikkuvuuteen, ja siten arvioida sukkulamatojen soveltuvuutta haitallisten kemikaalien biomonitorointiin.

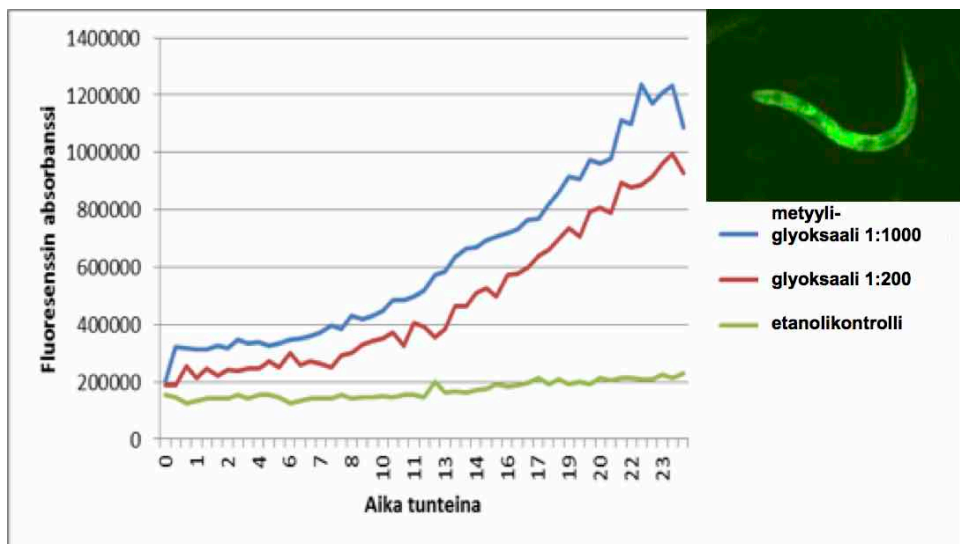
AINEISTO JA MENETELMÄT

Tutkimuksessa käytettiin *Caenorhabditis Genetics Center*-instituutista peräisin olevia siirtogeenisia sukkulamatomakantoja, jotka ilmentävät stressitekijöille herkkien säätelyalueiden ohjaamina vihreää fluoresoivaa proteiinia (GFP). Sukkulamatoja kasvatettiin niille optimaalisissa olosuhteissa OP-50-kannan kolibakteereilla päälylystetyillä agarmaljoilla. Kokeita varten sukkulamato synkronoitiin kloorivalkaisukäsittelyllä, minkä jälkeen nuoria aikuisia sisältäneitä populaatioita altistettiin nestekasvatuksessa vuorokauden ajan kemiallisille altisteille, kuten glyksaalille ja metyylyglyksaalille. 96-kuoppalevyillä altistettujen sukkulamatojen tuottaman GFP- fluoresenssin absorbanssit mitattiin spektrometrisesti kuoppalevylukijalla altistuksen alussa ja lopussa tai eri aikapisteissä altistuksen aikana. Sukkulamadoista otettiin myös objektilaseille näytteitä, joita tarkasteltiin fluoresenssimikroskoopilla. Fluoresenssin intensiteetti mitattiin mikroskooppiin liitetyllä digitaaliskameralla otetuista kuvista ImageJ-kuvantamisohjelmalla.

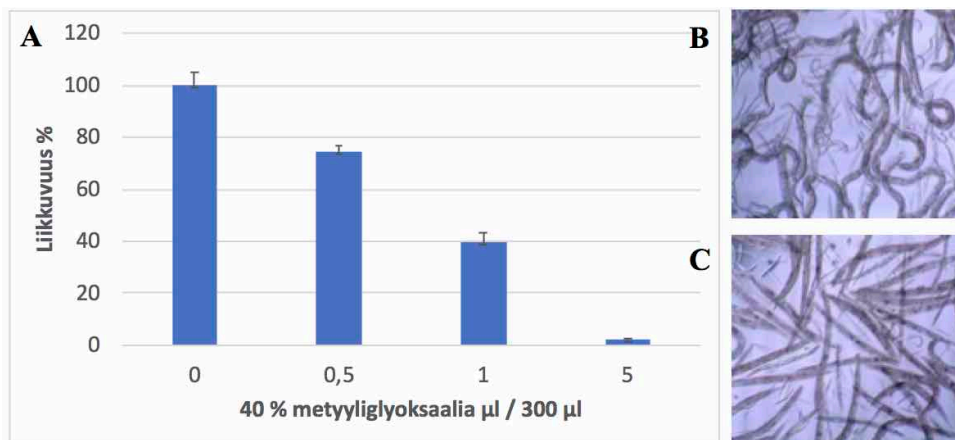
Jotta voitaisiin määrittää altisteiden vaikutuksia sukkulamatojen liikkuvuuteen ja lamautumiseen, altistettujen populaatioiden liikkeistä kuvattiin mikroskooppisesti lyhyitä videoita, joista liikkuvuusprosentit määritettiin äskettäin kehitetyn MATLAB[®]-pohjaisen algoritmin avulla, jolla on onnistuneesti mitattu mm. siittiöiden liikkuvuutta /6/. Negatiivisina kontrolleina käytettiin altistamattomia populaatioita (liikkuvuus 100%) ja positiivisina kontrolleina täysin liikkumattomiksi lamaannutettuja populaatioita (liikkuvuus 0%).

TULOKSET

Nestekasvatuskokeissa sekä glyksaali että metyylyglyksaali osoittautuivat sukkulamadoille hyvin myrkyllisiksi, liikkuvuutta lamaannuttaviksi ja jopa tappaviksi. Metyylyglyksaali oli glyksaalia noin viisi kertaa myrkyllisempi (Kuva 1), lamautti sukkulamatoja jo alle 0,1% laimennoksena ja tappoi ne noin 1% liuoksessa (Kuva 2). Altistettujen sukkulamatojen liikkeistä otettujen eri video-otosten välillä oli vain vähän vaihtelua, osoittaen videointiin perustuvan menetelmän tuottavan liikkuvuudesta luotettavia tuloksia.



Kuva 1. Metyyliglyoksaalin ja glyoksaalin vaikutukset sukkulamatojen fluoresoivaan vasteeseen ajan funktiona spektrometrisesti mitattuna. Altisteet oli laimennettu etanoliin 40 % kantaliuoksista. Oikeassa yläkulmassa on esimerkkikuva metyyliglyoksaalille altistetusta, voimakkaasti fluoresoivasta sukkulamadosta.



Kuva 2. Metyyliglyoksaalin vaikutukset sukkulamatojen liikkuvuuteen pitoisuuden funktiona (A). Aineen pitoisuuden kasvaessa sukkulamatojen liikkeitä heikkenivät (B) ja lopulta lamautuivat kokonaan (C).

POHDINTA

Sisäilman laatua heikentävät myös muut kemialliset yhdisteet kuin mikrobin tuottamat aineet. Metyylyglyoksaalilla ja glyoksaalilla saadut voimakkaat vasteet vahvasti laimennetuillakin näytteillä ovat mielenkiintoisia, koska näitä pienimolekyylisiä yhdisteitä voi otsonin läsnäollessa muodostua mm. siivouksessa käytettävien puhdistusaineiden sisältämistä hajusteista (esim. limoneeni), etenkin silloin kun käytetään ns. leave-on siivoustekniikkaa, jossa käytettyjä kemikaaleja ei huuhdota pois, vaan ne jäävät pinnoille. Otsonia voi työpaikoilla puolestaan muodostua mm. kopiokoneiden ja ilmanpuhdistimien toiminnan seurauksena. Jos glyoksaali ja etenkin metyylyglyoksaali ovat sukkulamadoille suorastaan tappavia, ovat ne hyvin todennäköisesti haitallisia ihmisillekin. Yhdisteiden lamauttava vaikutus tuli ilmi myös sukkulamatojen liikkeiden hidastumisena, jota oli mahdollista kvantitoida videokuvista. Vastaavanlaisia toksisia vaikutuksia voi olla muillakin rakennusten siivoamiseen tai korjaamiseen käytettävillä kemikaaleilla. Jatkotutkimuksissa sukkulamatoja olisikin tarpeen altistaa erityyppisille siivous- ym. kemikaaleille sekä niiden reaktiotuotteille ja selvittää, mitkä niistä ovat haitallisia ja millaisilla pitoisuuksilla.

KIITOKSET

Nämä tutkimukset suoritettiin Turun yliopistossa Työsuojelurahaston tuella (hanke 116101). Rahoittajan lisäksi tutkijat kiittävät Prof. em. Mirja Salkinoja-Salosta (Helsingin yliopisto) asiantuntija-avusta.

LÄHDELUETTELO

1. Salkinoja-Salonen M. Diagnostisia työkaluja rakennusten patologiaan. (2016) Mikrobiologian julkaisuja 50, Helsingin yliopisto, 134 s.
2. Carslaw N (2013) A mechanistic study of limonene oxidation products and pathways following cleaning activities. *Atmospheric Environment*, 80, s. 507-513.
3. Nørgaard AW, Kofoed-Sørensen V, Mandin C, Ventura G, Mabilia R, Perreca E, Cattaneo A, Spinazzè A, Mihucz VG, Szigeti T, de Kluizenaar Y, Cornelissen HJ, Trantallidi M, Carrer P, Sakellaris I, Bartzis J & Wolkoff P (2014). Ozone-initiated terpene reaction products in five European offices: replacement of a floor cleaning agent. *Environmental Science & Technology* 48, s. 13331-13339.
4. Paavanen-Huhtala S, Kalichamy K, Häkkinen S, Pessi AM, Saarto A & Koskinen PJ (2017). Sukkulamadot sisäilmaongelmien bioindikaattoreina. *Sisäilmastoseminaari, SIY raportti* 35, s. 251-255.
5. Paavanen-Huhtala S, Kalichamy K, Pessi AM, Häkkinen S, Saarto A, Mikkola R, Andersson MA & Koskinen PJ (2018). Mikrobin tuottamien toksiinien biomonitorointi sukkulamatojen avulla. *Sisäilmastoseminaari, SIY raportti* 36, s. 301-306.
6. Castagnoli E, Salo J, Toivonen MS, Marik T, Mikkola R, Kredics L, Vicente-Carrillo A, Nagy S, Andersson MT, Andersson MA, Kurnitski J & Salonen H. An evaluation of boar spermatozoa as a biosensor for the detection of sublethal and lethal toxicity. *Toxins* 10, s. E463, 2018.