



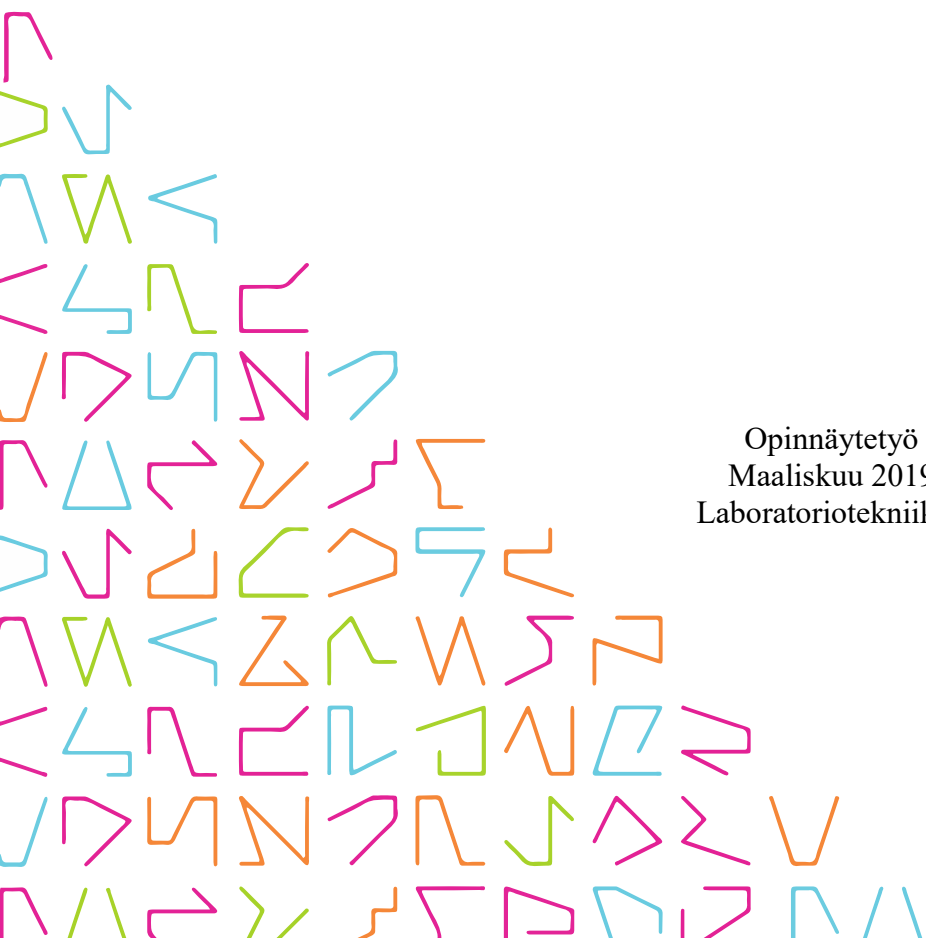
TAMPEREEN
AMMATTIKORKEAKOULU

SIIVOUSKEMIKAALIJÄÄMIEN ANALYSOINTI PINNOILTA

Menetelmän kehitys

Olli Norolahti

Opinnäytetyö
Maaliskuu 2019
Laboratoriotekniikka



TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Laboratoriotekniikka

NOROLAHTI, OLLI:
Siivouskemikaalijäämien analysointi pinnoilta
Menetelmän kehitys

Opinnäytetyö 38 sivua, joista liitteitä 2 sivua
Maaliskuu 2019

Opinnäytetyön toimeksiantaja on Tampereen ammattikorkeakoulu (TAMK). Tätä opinnäytetyötä tullaan käyttämään osittain TAMK:n, Aalto-yliopiston sekä Työn ja hyvinvoinninlaitoksen (THL) yhteisprojektissa ”Siivouskemikaalien ja biosidien vaikutukset mitattuun ja koettuun sisäilman laatuun”.

Opinnäytetyön tavoite oli kehittää kemikaalijäämien analysointiin soveltuva näytteenotto- ja mittausmenetelmä pinnoilta. Tarkoituksena oli kehittää menetelmä pyyhkäisy-näytteiden analysointiin. Lisäksi oli tarkoitus testata, mikä olisi paras tapa saada siivouskemikaalijäämänäyte pinnasta pyyhkäisemällä sekä saada tämä pyyhkäisytekniikalla otettu näyte analysoitavaan muotoon.

Analyysin esikokeet suoritettiin sekä korkean erotuskyvyn nestekromatografilla (HPLC) että kaasukromatografi-massaspektrometrillä (GC-MS). Varsinaiseen analyysimenetelmän kehitykseen käytettiin vain HPLC:a. Näytteenotto tapahtui ottamalla näyte kostutetulla pumpulipuikolla pinnalta pyyhkäisemällä.

Opinnäytetyön tavoitteeseen ei päästy. Tulosten perusteella voidaan sanoa, että näillä menetelmillä ei voida määrittää siivouskemikaalijäämiä pöydän pinnasta tällä kertaa. Ei voida todeta varmaksi, onko pesuainejäämät koskaan päätyneet pumpulipuikkoon asti. On myös mahdollista, että kaikki jäämät ovat imeytyneet puikkoon, mutta eivät ole päätyneet koeputken ionivaihdettuun veteen. Lisäksi pesuaineesta pystyttiin analysoimaan vain yhtä partikkelia.

Työn perusteella voidaan tehdä johtopäätös, että käytetty näytteenottotapa, joka pohjasi asumisterveysohjeen mikrobiologisiin tutkimuksiin, ei ollut toimiva tällä tavalla toteutettuna. Tarvitaan selvitys, millä tavalla kyetään ottamaan kemikaalijäämänäyte pöydän pinnasta.

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Laboratory Engineering

NOROLAHTI, OLLI:
Analysis of Cleaning Chemicals from the Surface
Development of the Method

Bachelor's thesis 38 pages, appendices 2 pages
March 2018

The thesis was commissioned by Tampere University of Applied Sciences (TAMK), and it will be used partly in a joint project of TAMK, Aalto University and The National Institute for Health and Welfare (THL).

The aim was to find out and test a suitable sampling and measurement method for analyzing chemical residues. The purpose was to test what is the best method for sweeping the cleaning chemical residue sample and obtain a sample that is suitable for analysis

Preliminary analyses were performed with both high performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatographic mass spectrometry (GC-MS). Only HPLC was used for the actual development of the analytical method. Sampling was performed by swiping the sample from the surface with a cotton swab.

The goal of the thesis was not reached. Based on the results it can be said that these methods cannot determine the residues of cleaning chemicals from a table surface. It cannot be established with certainty whether the detergent residues have ever reached the cotton swab.

Based on the work it can be concluded that the sampling method used was clearly not functional in this way. An explanation is needed on how to take a chemical residue sample from the table surface.

Key words: cleaning chemical, chromatography, SIBI, sampling

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	5
2	SIIVOUSKEMIKAALIT	6
	2.1 Siivouskemikaalien komponentit.....	6
	2.2 Tensidit	9
	2.3 Kelatoivat aineet	10
	2.4 Vaikutus ympäristöön ja eliöihin.....	11
3	KORKEAN EROTUSKYVYN NESTEKROMATOGRAFIA.....	13
	3.1 Yleistä	13
	3.2 Eluentti ja injektorit	14
	3.3 Kolonni	15
	3.4 Detektori	15
4	MITTAUS- JA MÄÄRITYSMENETELMÄT	17
	4.1 Puhdistusaineen kemikaalit.....	17
	4.2 Näytteenotto.....	18
	4.3 Näytteenkäsittely ja laitteisto.....	20
5	TYÖN SUORITUS	21
	5.1 Esikokeet.....	21
	5.2 Analyysimenetelmän kehitys.....	21
	5.2.1 MGDA ja sitruunahappo	21
	5.2.2 Etoksyloitu isotridekanoli	22
	5.3 Näytteenottomenetelmän kehitys.....	23
6	TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELO	25
	6.1 MGDA ja sitruunahappo.....	25
	6.2 Etoksyloitu isotridekanoli	26
	6.3 Näytteenottomenetelmän kehityksen tulokset	29
7	JOHTOPÄÄTÖKSET JA POHDINTA	32
	LÄHTEET.....	34
	LIITTEET	37
	Liite 1. MGDA:n ja sitruunahapon kromatogrammit.....	37
	Liite 2. Menetelmän kehityksen kromatogrammit	38

1 JOHDANTO

Opinnäytetyön toimeksiantaja on Tampereen ammattikorkeakoulu (TAMK). Tätä opinnäytetyötä tullaan käyttämään osittain TAMK:n, Aalto-yliopiston sekä Työn ja hyvinvoinninlaitoksen (THL) yhteisprojektissa ”Siivouskemikaalien ja biosidien vaikutukset mitattuun ja koettuun sisäilman laatuun”. Opinnäytetyön tavoite oli selvittää ja testata kemikaalijäämien analysointiin soveltuva näytteenotto- ja mittausten menetelmä pinnalta. Tarkoituksena oli kehittää menetelmä pyyhkäisyntytteiden analysointiin. Lisäksi oli tarkoitus testata, mikä olisi paras tapa saada siivouskemikaalijäämänäyte pinnasta pyyhkäisemällä sekä saada tämä pyyhkäisytekniikalla otettu näyte analysoitavaan muotoon. Analyysin esikokeet on tarkoitus suorittaa sekä korkean erotuskyvyn nestekromatografi (HPLC) että kaasukromatografi-massaspektrometrillä (GC-MS). Näistä kahdesta valitaan esikokeiden perusteella parempi vaihtoehto varsinaisen analyysin kehittämiseen. Pesuaine, jota analysoitiin opinnäytetyössä, valmistettiin KiiltoCleanilla tätä työtä varten. Pesuaine on riisuttu versio, jossa oli vain kolme eri komponenttia, jotta olisi vähemmän häiriötekijöitä.

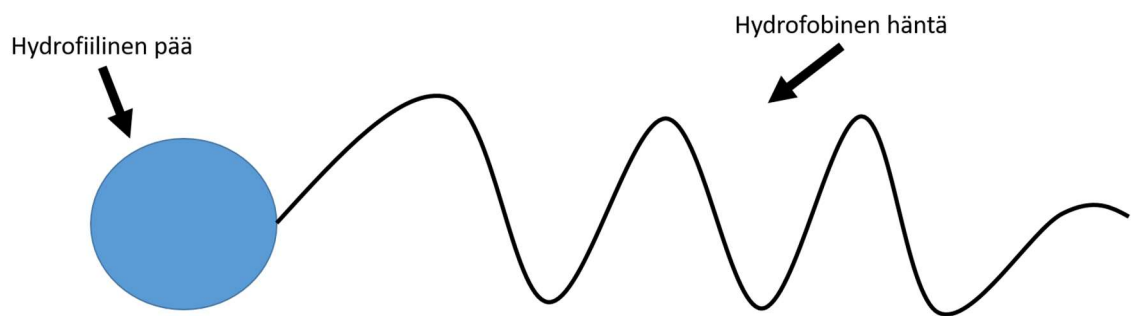
Pesuaineella tarkoitetaan saippuota ja muita pinta-aktiivisia aineita sisältäviä tuotteita, jotka on tarkoitettu pesu- ja puhdistusprosessiin. Pesuaineet voivat olla nesteitä, jauheita, tahnoja, levyjä, puristeita, tabletteja tai kapseleita, joita käytetään kotitalouksissa, laitoksissa sekä teollisuudessa. Aalto-yliopiston mikrobiologian professori Mirja Salkinoja-Salonen (2017) toteaa, että monet pesu- ja puhdistusaineet, sekä kuluttaja- että ammattikäyttöön tarkoitettut, sisältävät ainesosia, jotka muodostavat veden kanssa aerosolin, joka kulkeutuu hengityselimiin. Nämä aerosolit puolestaan aiheuttavat sisäilmaongelmia ja ovat toksisia ihmiselle. (Asetus 648/2004/EY, 8.; Salkinoja-Salonen 2017)

Opinnäytetyön teoriassa käsitellään siivousaineiden komponentteja ja nestekromatografiaa sekä näytteenottoa ja -käsittelyä. Tulosten ja teorian perusteella tullaan lopuksi tarkastelemaan kehitetyn menetelmän toimivuutta sekä toimenpiteitä, joita tämän työn jälkeen voi tehdä.

2 SIIVOUSKEMIKAALIT

2.1 Siivouskemikaalien komponentit

Tensidit ovat pinta-aktiivisia aineita (kuvio 1). Ne adsorboituvat rajapinnoille ja aiheuttavat pintajännityksen alentumista (vähentävät rajapintojen vapaata energiaa) kokoamalla itsensä yhteen rajapintoihin ja muodostamalla tiiviitä pakattuja rakenteita. Niillä on vesihakuinen (hydrofiilinen) ja vesipakoinen (hydrofobinen) osa. Hydrofiilinen osa on poolinen ja hydrofobinen on pooliton. Tensidit muuttavat osmoottista painetta, sähkönjohtokykyä, sameutta ja pintajännitystä. Vaikka useimmat vesiliukoiset orgaaniset yhdisteet alentavat pintajännitystä, niiden teho on yleensä paljon huonompi kuin tensideillä. (Aulanko 2010 14, 57; Kronberg, Holmberg, Lindman 2014, 1 – 2.)



KUVIO 1. Esimerkki tensidin rakenteesta. (Kronberg, Holmberg, Lindman 2014, 2, muokattu)

Alkalit ovat aineita, jotka tuottavat hydroksidi-ioneja. Tätä ominaisuutta käytetään pesuaineen pH:n säätämiseen. Lisäksi alkaleilla neutraloidaan hapanta likaa. Ne saippuoivat rasvalikaa sekä hajottavat valkuaista. Alkaleita kutsutaan myös pesutehostajiksi. Ne vähentävät veden kovuutta kolmella eri tavalla: muodostamalla liukenevan tai liukenemattoman kompleksin tehostajan ja kovuutta aiheuttavien ionien välillä, sekä ioninvaihdolla, jossa kalsium- ja magnesiumionit korvataan liukenevalla natriumionilla. (Aulanko 2010, 71.)

Vahto kertoo saippuoiden ja niiden perustalta tehtyjen pesuaineiden kohdalla siitä, että niillä on liuoksessa pesutehoa. Kuitenkin synteettisten pesuaineiden kohdalla vahto on käytännössä menettänyt merkityksensä, koneellisessa puhdistuksessa vahto on jopa haitallista. Vaahdonsäätelyssä pinta-aktiiviset molekyylit pakotetaan pois rajapinnoilta tai

vaihtoehtoisesti vaahton säätelijät voivat tunkeutua rajapinnoille, jolloin vaahtolamellien mekaaninen lujuus laskee ja vaahto romahtaa. (Alanko 2010, 81.)

Partikkelilian poistaminen on sitä hankalampaa, mitä hienojakoisempaa se on. Tämän takia pesuaineissa käytetään suojakolloideja. Näillä estetään hyvin hienojakoisten partikkelien ja veteen liukenevien väriaineiden laskeutumista, joita tensidit, emäksiset komponentit kompleksinluojat eivät kykene kantamaan. Kuidun suoja-aineet puolestaan ovat stabilisaattoreita, joiden tarkoituksena on sitoa raskasmetalleja, kuten nikkeli ja kupari, vesiliukoiseen muotoon. Lisäksi ne stabiloivat valkaisu prosessia estämällä valkaisuaineiden liian nopean hajoamisen. (Aulanko 2010, 81 – 82.)

Valkaisu tapahtuu joko fysikaalisin tai kemiallisin keinoin, tällöin tuotteen tai kiinnittyneen lian väri muutetaan tai poistetaan. Pestessä nämä prosessit tapahtuvat rinnakkain. Valkaisu tapa on riippuvainen lian luonteesta. Fysikaalinen valkaisu on tehokasta pigmentti- ja rasvalian tapauksissa, kun taas kemiallista valkaisua käytetään poistamaan, jota muuten on hankala poistaa. Valkaisu tapahtuu tällöin hapettamalla tai pelkistämällä. Hapettaessa lisätään substraatin eli värillisen lian happimäärää eli vähennetään sen vety määrää. Pelkistettäessä puolestaan tehdään päinvastoin, eli lisätään substraatin vety määrää tai vähennetään happimäärää. (Aulanko 2010, 82 – 83.)

Optiset kirkasteet ovat väriaineita, joita tekstiilikuidut absorboivat pesuliuoksesta. Kirkasteiden tarkoitus kuitenkin ei ole värjätä tuotteita, vaan lisätä valkoisuutta ja kirkkautta. Nämä eivät huuhtoudu pesussa kokonaan, joten ne pystyvät muuttamaan ultraviolettivalon näkyväksi valoksi spektrin sinisellä alueella. Täten tekstiili näyttää kirkkaammalta, sillä se heijastaa enemmän näkyvää valoa. (Aulanko 2010, 88.)

Entsyymien käytöllä on saatu alennettua pesulämpötiloja ja pesuaineannostusta, säästettyä energiaa ja vettä, pystytty huomioimaan paremmin ympäristönäkökohdat sekä lisättyä kirjopesua. Entsyymejä kutsutaan biokatalysaattoreiksi. Ne aloittavat ja nopeuttavat reaktioita, jotka muuten tapahtuisivat hitaasti. Entsyymit ovat spesifisiä, sillä ne reagoivat vain tiettyjen yhdisteiden kanssa. Ne muodostavat tällöin entsyymi-substraatti-kompleksin. On suotavaa, että entsyymien substraattispesifisyys on mahdollisimman laaja, jotta se tehoaa monenlaiseen likaan. Lisäksi on eduksi, jos entsyymi pystyy toimimaan laajalla pH-alueella (8 – 11) sekä lämpötila-alueella (20 – 60 °C). (Aulanko 2010, 89 – 90.)

Hapoilla poistetaan kalkkipitoisia kerrostumia. Näissä kerrostumissa voi olla kalsiumia, proteiineja ja hartseja. Elintarviketeollisuudessa poistetaan mm. olut- ja maitokiveä ja saneettitiloissa kalsium voi olla ihorasvan kanssa kerrostuneena. Hapvoja ei käytetä kalkkipitoisen kiven puhdistamiseen, eikä myöskään esimerkiksi PVC-pinnoilla. Hapot voivat myös pilata tekstiilimateriaaleja. Sakeuttamisaineet taas tekevät puhdistusaineesta jähmeämpää, helpottaa sen levittämistä ja estävät sen valumista. Karboksimeetyyliselluloosan natriumsuola (CMC) on yleisesti käytetty sakeuttamisaine, jota käytetään myös suojakolloidina. (Aulanko 2010, 81, 91 – 92.; Teknokemian Yhdistys 2018)

Öljyjä voidaan valmistaa luontaisista lähteistä, kuten mänty- ja appelsiiniöljy. Mäntyöljyä käytetään tensidiraaka-aineena, jonka lisäksi sitä käytetään sideaineena, korroosioestoon sekä vaahdon säätelemiseen. Appelsiiniöljystä sen sijaan voidaan tehdä erilaisina laimennoksina puhdistusaineita, jotka sopivat rasvan, graffitin, noen, öljytuotteiden, painomusteen, vahan, silikonin sekä pihkan poistoon. (Aulanko 2010, 93.)

Orgaanisia liuottimia käytetään puhdistusaineiden komponentteina sekä tahranpoistamisessa. Puhdistusaineissa nämä lisäävät rasvanliuotuskykyä, joten ne liuottavat rasvaa myös ihosta. Monet liuottimet haihtuvat jo huoneenlämmössä, jolloin niitä joutuu hengityselimiin. Liuottimet voivat aiheuttaa huonovointisuutta, ihoärsytystä sekä vakavia terveyshaittoja. (Aulanko 2010, 93.)

Desinfektioaineiden avulla pyritään poistamaan tai tappamaan taudinaiheuttajamikrobit tai vähintäänkin hävittämään niiden taudinaiheuttamiskyky. Joillakin desinfiointiaineilla on muitakin tehtäviä, kuten esimerkiksi klooriyhdisteet ja vetyperoksidi valkaisevat. Näiden aineiden käyttö on selkeästi vähentynyt, koska kunnollisella mekaanisella puhdistuksella pääsee lähes samaan tulokseen, joten desinfioinnin tarve arvioidaan tilannekohtaisesti. (Aulanko 2010, 95.)

Muita puhdistusaineiden komponentteja ovat muun muassa liukenemattomat epäorgaaniset täyteaineet, säilöntäaineet, hajusteet sekä väriaineet. Liukenemattomat epäorgaaniset täyteaineet ovat hankaavia aineita, joita käytetään hankausjauheissa sekä hankaavissa saippuoissa ja tahnoissa. Näiden teho perustuu täysin fyysiseen hankaukseen. Säilöntäaineiden tarkoituksena on estää mikrobien kasvua. Niiden määrä on yleensä alle 0,5 % ja käyttöliuoksessa niillä ei ole enää tehoa. Lisäksi tiivisteiden käytön yleistymisen on vähentänyt tarvetta säilöntäaineille. Hajusteita on pesuaineissa vähän (alle 0,5 %) ja niiden

tarkoituksena on peittää joidenkin puhdistusaineiden raaka-aineiden ominaistuuksua. Haju- ja väriaineiden käytöllä on myös psykologista merkitystä, pesuaineen tuoksu voi luoda tietynlaisen mielikuvan sen tehosta. Väriaineiden tarkoituksena on muokata tuotteen ulkonäköä ja peittää raaka-aineiden ominaisväriä. Tietyissä tapauksissa väriainetta lisätään turvallisuuden takia, jotta se olisi helpompi tunnistaa. Näiden aineiden määrä on puhdistusaineissa hyvin pieni eli 0,001 %. (Aulanko 2010, 100 – 102.)

2.2 Tensidit

Kaikki tensidit eivät ole samanlaisia, vaan on olemassa kationisia, anionisia, ionittomia sekä amfoteerisia tensideitä. Nimitys riippuu siitä, mikä molekyylin ryhmä on aktiivinen. Anionisissa tensideissä anioni on aktiivinen ryhmä, kationisilla kationi ja ionittomilla ei ole aktiivista ionia. Amfoteeriset tensidit taas ovat tilanteen mukaan sekä anionisia että kationisia. (Aulanko 2010, 59.)

Anioniset tensidit dissosioituvat vesiliuoksessa anioniksi ja kationiksi. Anioniossa on liian irrottaja, tällöin tensidi on anioniaktiivinen. Anionisten tensidien ryhmä on erittäin suuri, ne kattavat käytetyistä tensideistä noin 70 %. Parhaita anionisia tensideitä ovat ne, joissa on 12 – 16 hiiliatomin alkyyliryhmä hydrofobisena häntänä. Lineaarisen hiiliketjun omaavat anioniset tensidit ovat käytetympiä kuin haaroittuneet, sillä niiden teho on parempi ja ne hajoavat helpommin. (Aulanko 2010, 60.; Tadros 2014, 5.)

Vanhin anioninen tensidi on saippua, mutta nykyisellään suurin osa anionisista tensideistä on karboksylaatteja, sulfaatteja, sulfonaatteja ja fosfaatteja. Yleisimmin käytetyt vastaionit ovat natrium-, kalium-, ammonium- ja kalsiumionit sekä erilaiset protonoidut alkyliamiinit. Natrium ja kalium lisää vesiliukoisuutta, kun taas kalsium ja magnesium lisää öljyliukoisuutta. Amiinit sekä alkanoliamiinit lisäävät sekä öljy- että vesiliukoisuutta. (Aulanko 2010, 62 – 63.; Kronberg, Holmberg, Lindman 2014, 11.)

Kationisten tensidien käyttö on rajoitettua ja niiden pesuteho verrattuna anionisiin ja ionittomiin tensideihin on heikko. Kationiset tensidit muuttavat pinnan ominaisuuksia ja aiheuttavat sen, että hydrofiiliset pinnat käyttäytyvät kuin hydrofobiset ja päinvastoin. Toisin kuin anionisia ja ionittomia tensidejä, kationisia käytetään desinfiointiin sekä tekstiilien pehmentäjinä ja antistaattisina aineina. Anionisia ja kationisia tensideitä ei tule se-

koittaa keskenään, sillä ne saostavat toisensa. Ionittomat tensidit sietävät paremmin kationisia tensideitä, mutta tällöin kationisten tensidien niiden adsorptio heikkenee. Yleisimpiä kationisia tensidejä ovat aminoyhdisteet, ja tehokkaimpia ovat kvaternaariset ammoniumsuolat. (Aulanko 2010, 68.)

Ionittomilla tensideillä on hyvät perusominaisuudet, jotka aiheutuvat siitä, että muun muassa niiden kriittinen misellikonsentraatio on alhainen. Tämä merkitsee, että niillä on hyvä pesukyky myös alhaisissa konsentraatioissa. Suurin osa ionittomista tensideistä on etyleenioksidin kondensaatiotuotteita. Hydrofobisen osan paino on suuri ja siinä on aktiivinen vetyatomi. Hydrofiilisen osan perusta on etyleenioksidioligomeerit., etyleenioksidisykloolien määrä on usein 7 – 11. Ionittomien tensidien käyttöalue on laaja ja niitä käytetään etenkin valmisteissa, joiden vaahtoamista ei toivota. Etyleenioksidipohjaiset ionittomat tensidit voidaan jakaa muutamiiin luokkiin: alkoholietoksyalaatit, alkyylifenolietoksyalaatit, rasvahappoetoksyalaatit, monoalkanoamidietoksyalaatit, sorbitaaniestrietoksyalaatit, rasva-amiinietoksyalaatit ja polymeeritensidit. Toinen tärkeä luokka ovat multihydroksituotteet, kuten esimerkiksi glykoliesterit ja glyseroliesterit. (Aulanko 2010, 65.; Tadros 2014, 14.)

Tensidien vaikutukset ihmiseen jaetaan ihon ja kehon vaikutuksiin. Tensidien pitkäaikainen käyttö aiheuttaa ihon ärsytystä ja aiheuttaa jonkin verran vaurioita. Kun tensidit päätyvät ihmiskehoon, ne vahingoittavat entsyymiaktiivisuutta ja häiritsevät siten kehon normaalia fysiologista toimintaa. Tensideillä on jonkin verran myrkyllisyyttä ja ne voivat kertyä ihmiskehoon ja niiden on hankala hajota. Ionittomat tensidit eivät ole sähköisesti latautuneita eikä yhdisty proteiiniin. Niillä on vähäinen ärsytys iholle. Kationiset tensidit ovat myrkyllisimpiä, anionisten tensidien myrkyllisyys on ionittomien ja kationisten välillä. (Yuan, Xu, Fan, Liu, Xie ja Zhu 2014.)

2.3 Kelatoivat aineet

Orgaaniset typpiyhdisteet sitovat molekyyleihinsä ioneja ja tekevät ne tehottomiksi. Ne sitovat metalleja vedestä, jotka häiritsevät puhdistusprosessia ja tensidien toimintaa. Nämä kelatoivat aineet myös pehmentävät samalla vettä. Kelatoivan aineen toiminta perustuu siihen, että se muuttaa metalli-ionin varauksen positiivisesta negatiiviseksi ja täten estää niiden saostumisen tensidien kanssa. Parhaiten kompleksiyhdisteet muodostuvat emäksisellä alueella. Orgaanisilla typpiyhdisteillä on myös muita tehtäviä. Fosfaatit eivät

sido kovin tehokkaasti kolmiarvoisia ioneja. Kelatoivia yhdisteitä lisätään, koska halutaan estää raudan aiheuttama pyykin tahriintuminen. Pyrkimyksenä on myös sitoa metalli-ioneja, jotka muuten katalysoisivat natriumperboraatin (valkaiseva yhdiste) hajoamista tai häiritseisivät optisten kirkasteiden toimintaa. Silloin kun pesuaineen tulee olla kuumaa pitkän aikaa, natriumtripolyfosfaatti hajoaa ja menettää tehonsa, tällöin tarvitaan myös kelatoivia aineita. (Aulanko 2010, 78 – 79, 84.; Essential Industries 2018.)

Kelatoijan ja kelatoituvan ionin välillä tapahtuu reaktio molekyyli-molekyyli-periaatteella ja siten periaatteessa yhdiste, jolla on alhainen massa, sitoo suhteessa eniten metalli-ioneja. Massasuhteen lisäksi olennainen tekijä on kompleksin stabiilisuus. Jos sitoutuminen tapahtuu sekä karboksyyli- että aminoryhmiin niin molekyyli, jossa näitä ryhmiä on eniten, tuottaa stabiileimman kelaatin. (Aulanko 2010, 79.)

2.4 Vaikutus ympäristöön ja eliöihin

Puhdistusaineiden komponentit täytyy hajota tietyssä ajassa. Ympäristön kannalta on tärkeää, kuinka täydellistä hajoaminen on, mitä hajoamistuotteita syntyy, mitkä yhdisteet eivät hajoa ja mitkä näistä päätyvät vesistöön. Riskien minimointi on mahdollista silloin, kun pesuaineissa käytetään sellaisia komponentteja, jotka ovat yleisiä luonnossa. Nämä eivät saa kerääntyä eliöihin ja niiden pitää hajota nopeasti. (Aulanko 2010, 120.)

Pesuaineiden komponentit on monesti valmistettu uusiutumattomista luonnonvaroista ja täten niiden käyttö ja käytöstä poistaminen aiheuttavat veteen, ilmaan ja maaperään päästöjä. Osa puhdistuskemikaalien sisältämistä tehoaineista on myrkyllisiä ja ne voivat kertyä eliöihin. Puhdistusaineilla ja muilla kemikaaleilla on myös terveysvaikutuksia, sillä ihminen altistuu suun ja ihon kautta, sekä hengitysteiden kautta ympäristön kemikaaleille. Puhdistusaineille on suuren ympäristökuormituksen vuoksi laadittu ensimmäisten joukossa ympäristökriteerejä. (Ympäristöosaava 2018.)

Siivouskemikaalien ympäristön kannalta merkittäviä ominaisuuksia ovat muun muassa biologinen hajoaminen, niiden myrkyllisyys eliöille, hormonitoiminnan häiritseminen sekä siivouskemikaalien yhteisvaikutukset. Biologisella hajoamisella tarkoitetaan sitä, miten nopeasti siivousaineiden ainesosat muuttuvat haitattomiksi yhdisteiksi. Aineiden akuuttia myrkyllisyyttä sekä vaikutuksia lisääntymiseen tutkitaan erilaisilla lyhyt- ja pitkäkestoisilla testeillä, esimerkiksi kalakokeilla. Joillakin kemikaaleilla tai yhdisteillä on

ominaisuus häiritä hormonien, elimistön puolustusjärjestelmän toimintaa tai lisääntymistä. Näiden vaikutusta on kuitenkin erittäin vaikea tutkia, sillä altistuminen hormonaalisesti vaikuttaville aineille erittäin pieninäkin määrinä pitkän ajanjakson aikana vaikuttaa ihmiseen. Yleisesti ottaen yksittäisten komponenttien myrkyllisyyttä on tutkittu, mutta yhteysvaikutuksia ei juurikaan. Teollisesti valmistettuja komponentteja on kymmeniä tuhansia ja vain pienen osan ympäristö- ja terveysvaikutuksista tiedetään. (Ympäristöosaava 2018.)

Ammattisiivouksessa käytetyt pesuaineet ovat kehittyneet ympäristölle vähemmän haitallisiksi vuosikymmenten aikana. Samaan aikaan on pyritty vähentämään pakkausten ja kuljetusten ympäristövaikutuksia tekemällä aineista tiivisteitä. Nämä muutokset ovat saattaneet jopa pahentaa tilannetta, kun koostumukseltaan muuttuneita pesuaineita on annosteltu vanhojen käyttötottumusten mukaisesti. Taulukosta 1 löytyy pesuaineiden komponentteja ja niiden ympäristövaikutuksia. (Ympäristöosaava 2018.)

TAULUKKO 1. Pesuaineiden komponenttien ympäristövaikutukset. (Ympäristöosaava 2018, muokattu)

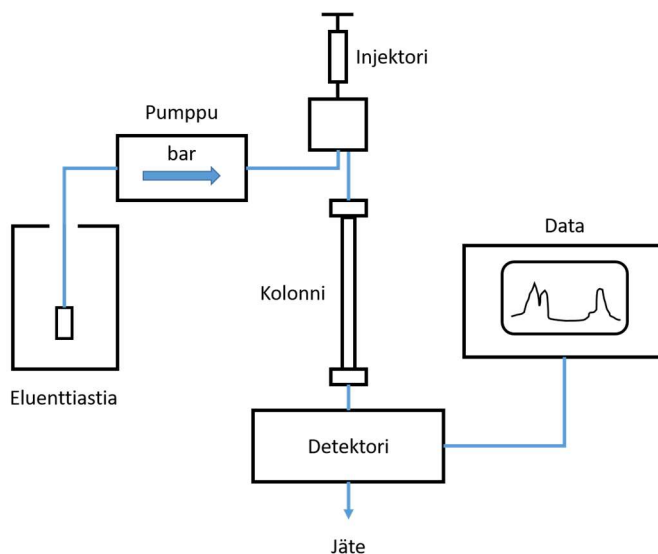
Aine	Ympäristövaikutukset
Saippua ja suopa	Ympäristön kuormitus vähäistä.
Entsyymit	Eivät aiheuta ympäristöriskiä.
Tensidit	Osa tensideistä myrkyllisiä. Joidenkin tensidien raaka-aineet hajoavia, mutta uusiutumattomia ja siksi vältettäviä.
Hajusteet	Aiheuttavat tarpeetonta ympäristönkuormitusta.
Klooriin perustuvat valkaisuaineet ja desinfiointiaineet	Myrkyllisiä ympäristölle.
Perhapot ja kvatit	Myrkyllisiä ympäristölle.
Aromaattiset hiilivedyt ja liuotimet	Myrkyllisiä ympäristölle.
Alkoholit	Suuret määrät voivat saastuttaa pohjaveden ja maaperää.

3 KORKEAN EROTUSKYVYN NESTEKROMATOGRAFIA

3.1 Yleistä

Kromatografia on erotustapa, jossa näytteen komponentit jakautuvat kahden faasin välillä. Toinen faaseista on stationäärinen ja toinen liikkuva. Stationäärifaasi voi olla kiinteä, geeliä tai nestettä, yleensä se on kiinteä. Liikkuva faasi on neste, kaasu tai ylikriittinen neste, joka läpäisee stationäärisen kerroksen tai menee sitä pitkin halutussa suunnassa. Kolonnikromatografiassa stationäärifaasi on putken sisällä. Kiinteän stationäärifaasin partikkelit voivat täyttää koko putken tilavuuden, tällöin putki on pakattu kolonni. Toisaalta partikkelit voidaan konsentroida putken sisäseinämiin jättäen tilaa keskelle, tällöin kyseessä on kapillaarikolonni. (IUPAC 1993, 823 – 825., Meyer 2010, 17.)

Nestekromatografiassa liikkuvana faasina toimii neste. HPLC-laitteiston (High-Performance Liquid Chromatography) kokoonpanoon kuuluvat eluenttiasia, pumppu, injektori, kolonni, detektori, jätettä sekä tietokone (kuvio 5). Eluenttia pumpataan kolonnin kautta detektorille. Näyte injektoidaan eluenttiin, josta se päätyy kolonniin, jossa tapahtuu näytteen komponenttien erottuminen. Kun komponentti on läpäissyt kolonnin, se päätyy detektorille. Tämä puolestaan muuntaa signaalin luettavaan muotoon eli kromatogrammiksi tietokoneelle. Nestekromatografia on usein käänteisfaasikromatografiaa, joka tarkoittaa sitä, että stationäärifaasi on pooliton ja liikkuva faasi poolinen. (Meyer 2010, 9, 17, 173.)



KUVIO 2. HPLC-laitteiston osat. (Meyer 2010, 10, muokattu)

3.2 Eluentti ja injektori

Eluentin valinta perustuu näytteen liukoisuuteen sekä siihen, että onko pysyvä faasi poolinen vai pooliton. Jos pysyvä faasi on pooliton, eluentin pitää olla poolinen. Myös viskositeetti vaikuttaa, jos kovin viskoosia ainetta pyrkii käyttämään eluenttina, voi tulla ongelmia. Taulukossa 2 on listattu eluenteja poolittomimmasta poolisimpaan. Eluenteina käytetään monesti kahden eri aineen sekoituksia, kuten esimerkiksi metanoli-vesiseosta. Näitä sekoituksia suunniteltaessa pitää ottaa huomioon myös aineen poolisuus, jotta nämä kaksi ainetta sekoittuvat keskenään. (Meyer 2010 81 – 83.)

TAULUKKO 2. Eluenteja poolisuusjärjestyksessä. (Meyer 2010, 82, muokattu)

Eluentti	Poolisuus
Asetoni	0,43
Etyyliasettaatti	0,48
Asetonitriili	0,50
Metanoli	0,73
Vesi	korkea

Eluenteissa käytetään säännöllisesti puskuriliuoksia. Näillä liuoksilla pyritään säätämään eluentin pH tietylle alueelle. Yleensä puskuriliuosten konsentraatio on 25 mM. Tästä pienemmällä ei välttämättä enää ole tehoa, ja jos esimerkiksi lisää liikaa puskuria, voi tulla ongelmia liukoisuuden kanssa. Paljon käytettyjä puskureita ovat muun muassa asetaatti, ammonium, sitraatti ja fosfaatti.

Näytteen injektointi on yksi kriittisimmistä vaiheista koko analyysissä. Jos on häiriötä injektoinnissa, se todennäköisesti pilaa koko analyysin. Injektointi voidaan suorittaa manuaalisesti taikka automaattisesti. Yleisiä injektoreita ovat Rheydonen mallit 6125 ja 7725. Näissä injektoreissa on kuusi silmukkaa roottorilla, näytesilmukka ja neulan portti. Manuaalisessa injektoinnissa ruiskulla syötetään tarkka määrä näytettä näytesilmukkaan. Näyte siirtyy kolonniin näytesilmukasta, kun injektorin siirtyy latausasennosta injektointiasentoon. Kvantitatiivisessa määrittämisessä näyte-erän tilavuus voi olla enintään puolet näytesilmukan tilavuudesta. Automaatti-injektointi on huomattavasti käytännöllisempää. Siinä liikkuva näytteesyöttöneula ottaa näytettä astioista ja syöttää sen eluenttivirtaan ja näytesilmukkainjektoriin. Tämä mahdollistaa monen näytteen syöttämisen peräkkäin. (Dong 2006, 84 – 85; Jaarinen, Niiranen 2005, 165)

3.3 Kolonni

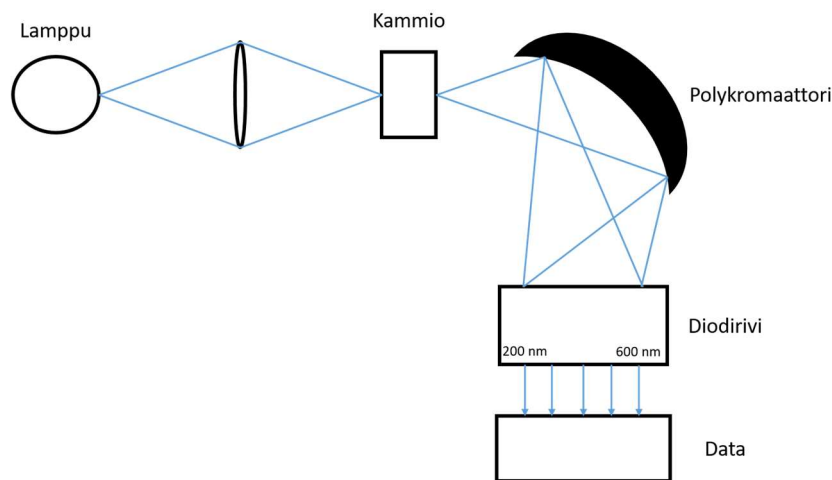
Kolonnit ovat tyypillisesti ruostumattomasta teräksestä valmistettuja putkia. Kolonnin sisäpuolella ei saa olla karkeita pintoja, uria tai mikrohuokoisia rakenteita. Analyyttiseen tarkoitukseen käytetty kolonni on yleensä 5 – 25 cm pitkä ja sen sisähalkaisija 2 – 5 mm. Kolonnin sisällä on stationäärifaasi, joita on monentyyppisiä, kuten huokoisia ja ei-huokoisia partikkeleita. Erittäin käytetty materiaali on silika. Se koostuu piiatomeista, jotka muodostavat kolmiulotteisesti siltoja happiatomien kanssa. Silikan pinnalla on silanoli-ryhmiä, joita voidaan kemiallisesti sitoa. Esimerkkejä funktionaalisista ryhmistä, joita käytetään kemialliseen sitomiseen ovat oktadekyyli-, oktyyli-, heksyyli-, fenyyli- sekä aminoryhmät. C18:sta silanoli-ryhmään on liitettyä oktadekyyli-ryhmä. Tämä on erittäin käytetty stationäärifaasi ja se on erittäin poolinen. (Meyer 2010, 117 – 129.)

Kolonnin lämpötilaa voidaan säädellä. Lämpötilan vaikutukselle HPLC:n erottelukyvissä ei ole yleisesti päteviä sääntöjä. Korkeammassa lämpötilassa pylvään tehokkuus lisääntyy usein liikkuvan faasin viskositeetin laskun takia, tämä parantaa massansiirtoa. Kuitenkin on mahdollista, että suorituskyky laskee. Yleensä jos näyte tai eluentti ovat viskoosia, tarvitaan korkeampi lämpötila. Yleinen riski lämpötilan nostamisessa on näytteen hajoaminen. Muita syitä ovat eluentin höyrynpaineen nousu, mikä lisää kuplien muodostumista detektoriin ja silikaliukoisuus kasvaa suuresti kaikissa liikkuvissa faaseissa lämpötilan noustessa. (Meyer 2010, 49 – 51.)

3.4 Detektori

Detektori havaitsee kromatografian erottelemat komponentit. Detektoreja on useita erilaisia, eri detektorit toimivat paremmin tietynlaiseen analytiikkaan. Detektorin valintaan vaikuttaa myös se, että halutaanko tehdä kvalitatiivista vai kvantitatiivista määrittystä. Eniten käytetty detektori on UV-detektori. Tämä detektori mittaa, kuinka paljon analyytti absorboi säteilyä. Kun pidetään olosuhteet vakiona, niin absorbanssi on tällöin suoraan verrannollinen analyytin pitoisuuteen. Fluoresenssidetektorilla voidaan analysoida komponentteja ja niiden johdannaisia, jotka fluoresoivat. Tämän detektorin herkkyys voi olla jopa 1000 kertaa parempi kuin UV-detektorilla. Massaspektrometri detektorina puolestaan perustuu atomin isotooppeihin sekä yhdisteen massaan. Jokaisella yhdisteellä on tietynlainen massaspektri, joka mahdollistaa yhdisteiden tunnistamisen. (Downard 2004, 4, 6. Meyer 2010, 91, 96 – 97, 101.)

Toisin kuin perinteinen UV-detektori, diodirividetektorissa (kuvio 3) on käänteinen optiikka. Kaikki lampun säteily menee läpi detektointikammion polykromaattorille, joka hajottaa spektrin. Polykromaattorilta jakautuneet spektrit päätyvät diodiriville, jossa on 100 – 1000 valoherkkää diodia. Yksi diodi havaitsee ainoastaan tietyn aallonpituuden, tämä informaatio on sitten tulkittavana kromatogrammista. Diodirividetektorin hyöty on se, että voidaan määrittää useammalla kuin yhdellä aallonpituudella samaan aikaan. (Meyer 2010, 109 – 110.)



KUVIO 3. Diodirividetektorin toimintaperiaate (Meyer 2010, 110, muokattu)

UV-detektointi noudattaa Lambert-Beerin lakia eli vakio-olosuhteissa absorbanssi on suoraan verrannollinen näytteen konsentraation (yhtälö 1).

$$A = \epsilon bc \quad (1)$$

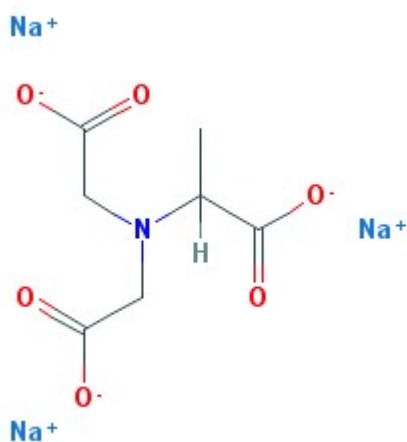
A kuvaa näytteen absorbanssia, ϵ on molaarinen absorptiokerroin, b kuvaa säteilyn näytteessä kulkemaa matkaa ja c näytteen konsentraatiota. Molaarisen absorptiokertoimen yksikkö on $M^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, näytteen kulkema matka cm, konsentraation M. Absorbanssilla ei ole yksikköä. (Jaarinen, Niiranen 2005, 52.)

Detektorihäiriöt jaetaan kahteen luokkaan, mekaanisiin tai optisiin ja sähköisiin. Mekaanisia ja optisia häiriöitä aiheuttavat vuodot, ilmakuplat sekä näytekammion kontaminaatiot. Nämä aiheuttavat yleensä kromatogrammiin ylimääräisiä piikkejä sekä epätasaisuutta pohjaviivaan. (Sigma-Aldrich 2009, 4.)

4 MITTAUS- JA MÄÄRITYSMENETELMÄT

4.1 Puhdistusaineen kemikaalit

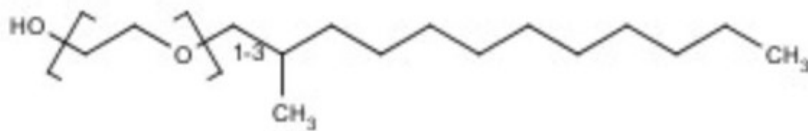
KiiltoCleanin tähän työhön tekemässä yksinkertaistetussa puhdistusaineessa on kolme komponenttia. Ne ovat metyylylglysiinidietikkahapon natriumsuola (MGDA), etoksyloitu isotridekanoli sekä sitruunahappo. MGDA (kuvio 4) on aminopolykarboksyylihappo. Se on vesiliukoinen, kemiallisesti hyvin stabiili ja se muodostaa vesiliukoisia komplekseja kalsiumin, magnesiumin, lyijyn, kuparin, sinkin, kadmiumin, elohopean, mangaanin, raudan, alumiinin ja muiden moniarvoisten metalli-ionien kanssa. Se muodostaa kelaatteja pääosin 1:1 moolisuhteessa. MGDA stabiloi myös natriumperboraattia, jotta valkaisu tapahtuisi kontrolloidusti ja on hyvä pesutehostaja fosfaatittomissa koneastianpesuaineissa. Aminopolykarboksyylihappojen analysointiin käytetään kaasu-, neste- sekä ionikromatografiaa. (Aulanko 2010, 79 – 80.; Schmidt 2004; Nette, Seubert 2015; Laine, Matilainen 2005)



KUVIO 4. MGDA (PubChem 2018b)

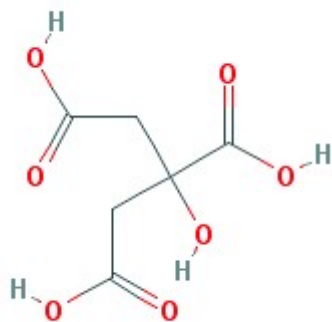
Kun isotridekanoliin liitetään etoksiryhmä, saadaan etoksyloitua isotridekanolia, joka on veteen sekoittuva ioniton tensidi (kuvio 5). Etoksyloinnissa etyleenioksidi reagoi toisen kemikaalin kanssa, jotta se pehmenee. Etoksyloidut alkoholit eivät absorboi säteilyä yli 220 nm:ssa, mikä aiheuttaa rajoitteita analysoinnissa. Näistä tehdään monesti jokin johdannainen, joka voidaan detektoida näkyvän valon alueella käyttämällä esimerkiksi fenyyli-isosyanattia. Tämän takia etoksyloitujen alkoholien määrittämiseen on käytetty muun

muassa kaasukromatografia (GC), kaasukromatografi-massaspektrometriä (GC-MS), nestekromatografi-massaspektrometriä (LC-MS) sekä infrapunaspektroskopiaa (IR). Etoksyloiduille alkoholeille on valmistettu erityisiä kolonneja, kuten ”Acclaim Mixed Mode HILIC-1 LC” ja ”Acclaim Surfactant LC” kolonnit. (Safe Cosmetics 2018, Yuan, Yu, Liu, Fan, Xie, Zhu, 2014; Liu, Tracy, Pohl 2018)



KUVIO 5. Etoksyloitu isotridekanoli (ECHA 2018)

Kidevedetön sitruunahappo (kuvio 6) on veteen liukeneva orgaaninen happo, joka luonnossa esiintyy erityisesti sitrushedelmissä. Sitruunahappo on helposti hajoava, joten sen käyttö hyväksytään muun muassa pohjoismaisen ympäristömerkin edellytykset täyttävissä saniteettipuhdistusaineissa. Orgaanisten happojen analysointiin käytetään yleisesti HPLC:ta. (SiivousInfo 2018; Aulanko 2010, 92; Buyuktuncel, Kalkan, Shin 2018)

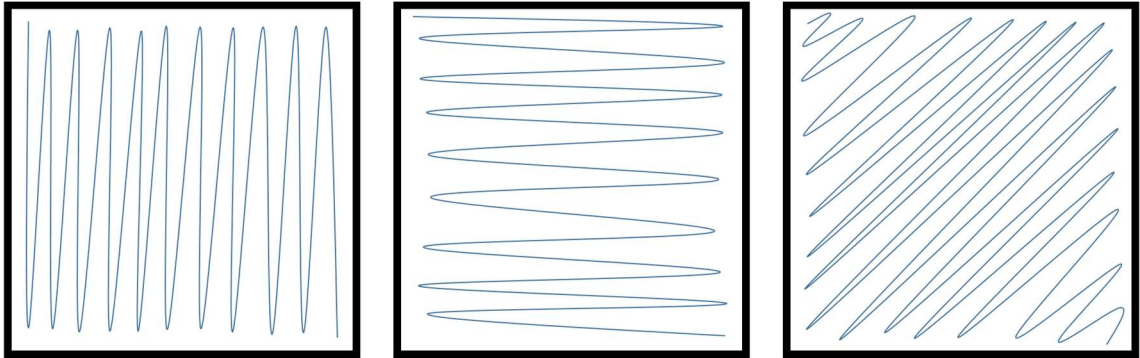


KUVIO 6. Sitruunahappo (PubChem 2018a)

4.2 Näytteenotto

Opinnäytetyössä on tarkoituksena ottaa pyyhkäisemällä kemikaalijäämänäyte pinnalta. Pintanäytteitä otetaan muun muassa lääketeollisuudessa sekä tilojen mikrobiologisissa tutkimuksissa. Lääketeollisuudessa pintanäytteitä tutkitaan, sillä samoja välineitä ja laitteistoja käytetään eri lääkevalmisteiden tekemiseen. Näiden näytteiden analysointi on kriittistä, sillä samaa laitteistoa saatetaan käyttää moneen eri lääkevalmisteseen. Tällöin

on tärkeää minimoida kontaminaatoriskit. Asumisterveysohjeen mukainen mikrobiologinen pintanäyte otetaan steriilillä pumpulipuikolla, joka kastettu steriiliin veteen 100 cm² alueelta. Alue käydään läpi kolme kertaa kuvion 7 mukaisella tavalla. (Sosiaali- ja terveysministeriö 2003, 73)



KUVIO 7. Näytteenottotekniikka

Pumpulipuikolle on olemassa myös vaihtoehtoja kuten näytteenotto puikot, joiden päät ovat valmistettu polyesterikudoksesta. Näillä puikoilla on alhaisin irtoavan hiukkasen taso sekä parempi näytteen talteenotto kyky. Näytteenotossa tulee huomioida, että puikon pää ei ole liian märkä. Tämä aiheuttaa sen, että haluttu kemikaalijäämä vain leviää pinnalla. (Cole-Parmer 2018.)

Lääketeollisuudessa käytetään puhdistusvalidointeja. Tämä on menetelmä, jolla varmistetaan, että puhdistusprosessi poistaa laitteessa valmistetun tuotteen vaikuttavat farmaseuttiset ainesosat, puhdistusaineet, joita käytetään puhdistusprosessissa, ja mikrobit. Kaikki jäämät poistetaan, jotta seuraavan valmistetun tuotteen laatu ei vaarannu edellisen tuotteen jäämistä. Puhdistuksen validoinnin tavoitteena on todistaa, että laitteet puhdistetaan jatkuvasti pesuaineiden ja mikrobien jäämien määrä hyväksyttävälle tasolle mahdollisen saastumisen sekä ristikontaminaation estämiseksi. Pyyhkäisyyn käytetään inerttiä vanumateriaalia. Tekniikka on vastaavanlainen kuin kuviossa 7. Mikrobiologisiin näytteisiin käytetään steriilejä välineitä. Näytettä voidaan analysoida muun muassa HPLC:lla, GC:lla, HPTLC:lla, TOC:lla UV-spektrometrillä ja ELISA:lla. (Raj 2011.)

4.3 Näytteenkäsittely ja laitteisto

Näyte voidaan siirtää suoraan eluenttiin ilman käsittelyä taikka esimerkiksi ensin derivatisoimalla näyte, jonka jälkeen siirretään eluenttiin. Derivatisointi eli johdoksenmuodostus tarkoittaa yhdisteen muuntamista toiseksi samankaltaiseksi yhdisteeksi muuttamalla yhtä tai useampaa sen funktionaalista ryhmää. Derivatisointia tehdään yleensä sen takia, että saadaan muutettua sen reaktiivisuutta tai rakennetta. (Royal Society of Chemistry 2018.)

Kemikaalijäämien siirtämiseen pumpulipuikosta eluenttiin voidaan käyttää ravistelijaa tai ultraäänihaudetta. Käsittelyn jälkeen koeputkessa olevaa nestettä analysoidaan HPLC:lla. Ennen analysointia, näytteet suodatetaan Acrodisc PF Syringe Filter –suodattimilla. Näiden suodattimien koko on 0,2 µm ja ne ovat materiaaliltaan hydrofiilista polyeetterisulfonia. Suodatus on erittäin tärkeää, sillä näytteessä olevat partikkelit saattavat tukkia systeemin. (PALL 2018)

Analyysiin käytetään Agilentin 1260 Infinity Quaternary LC –nestekromatografia, jossa on diodirividetektor. Näytteen syöttötapa on automaattinen. Kromatografissa käytettiin Zorbax SB-C18 –kolonnia, jonka halkaisija on 4,6 mm ja pituus 250 mm. Kolonnin stationäärifaasin vahvuus on 5 µm.

5 TYÖN SUORITUS

5.1 Esikokeet

Esikokeiden alussa käytettiin kahta eri laitetta, HPLC:ta sekä GC-MS:a analysointiin. GC-MS:lla tehdyissä esikokeissa lähdettiin testaamaan pesuainetta laimentamalla sitä ionivaihdettuun veteen sekä metanoliin. Molemmissa näytetyypeissä havaittiin sama ongelma, eli GC-MS:n kolonni sotki analysointia tekemällä niistä silikaattijohdannaisia.

HPLC:lla tehdyissä esikokeissa lähdettiin testaamaan puolestaan erillisiä komponentteja, joista saatiin huomattavasti toiveikkaampia tuloksia suhteessa GC-MS:aan. Koska esikokeissa GC-MS:lla saatiin heikkoja tuloksia, siirryttiin käyttämään pelkkää HPLC:ta analyysimenetelmää kehitettäessä.

5.2 Analyysimenetelmän kehitys

Työn alussa analysoitiin erikseen jokaista pesuaineen puhdasta komponenttia: MGDA:ta, etoksyloitua isotridekanolia sekä sitruunahappoa. Näiden analyysien jälkeen siirryttiin varsinaisen määrittämissuunnitelman kehitykseen, jolloin tuotiin mukaan varsinainen pesuaineen analysointi. Pesuaineen komponenttien pitoisuudet löytyvät taulukosta 3.

TAULUKKO 3. Kiillon valmistaman puhdistusaineen komponenttien pitoisuudet massaprosentteina

Nimi	<i>c</i> (m-%)
MGDA	2
Etoksyloitu isotridekanoli	6
Sitruunahappo	0,13

5.2.1 MGDA ja sitruunahappo

Puhtaasta MGDA:sta valmistettiin 2 tilavuus-% käyttöliuos. Tämä valmistettiin laimentamalla 2 ml MGDA:ta 100 ml:aan ionivaihdetulla vedellä. MGDA:n määrittämisen esikokeisiin käytettiin liuottimena sekä vettä että metanolia. Eluentina toimi metanoli-vesiseos (suhde 70:30). Restek (2018) on käyttänyt pesuaineiden komponenttien analysointiin eri suhteilla sekoitettua metanoli-vesiseosta, tämän takia tätä käytetään MGDA:n

analysointiin. 2 til-% käyttöliuoksesta tehtiin vielä 1:10 laimennoksia. Näitä laimennoksia ja käyttöliuosta analysoitiin MGDA:n tunnistamiseksi. MGDA:ta määritettäessä optimoitiin mittausaallonpituutta testaamalla ensin laitteen vakioituja aallonpituuksia. Tämän jälkeen siirryttiin aallonpituusalueelle, jossa vasteen suuruus ja häiriöt olivat parhaassa tasapainossa. Näytteet suodatettiin näyteastioihin ennen HPLC:lla analysoimista Acrodisc PF Syringe Filter –suodattimilla. (Restek 2018)

Sitruunahaposta valmistettiin 0,13 m/V-% käyttöliuos. Tämä valmistettiin punnitsemalla 0,13 g kiinteää sitruunahappoa, joka liuotettiin veteen ja laimennettiin 100 ml:aan. Sitruunahapon määritykseen käytettiin liuottimena sekä vettä että metanolia. Eluentina toimi metanoli-vesi-seos (suhde 70:30). Restek (2018) on käyttänyt pesuaineiden komponenttien analysointiin eri suhteilla sekoitettua metanoli-vesi-seosta, tämän takia tätä käytetään sitruunahapon analysointiin. 0,13 m-% käyttöliuoksesta tehtiin vielä 1:10 laimennos. Tätä laimennosta ja käyttöliuosta analysoitiin sitruunahapon tunnistamiseksi. Kolonnin lämpötila pidettiin 30 °C:ssa, injektioilavuus 10 µl:ssa ja virtausnopeus 0,5 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$:ssa. Sitruunahappoa määritettäessä käytettiin laitteen vakioituja mittausaallonpituuksia. Näytteet suodatettiin näyteastioihin ennen HPLC:lla analysoimista. (Restek 2018)

5.2.2 Etoksyloitu isotridekanoli

Puhtaasta etoksyloidusta isotridekanolista valmistettiin 6 tilavuus-% käyttöliuos (osa testeistä tehtiin myös vahvemmilla liuoksilla). Tämä valmistettiin laimentamalla 6 ml etoksyloitua isotridekanolia 100 ml:aan ionivaihdetulla vedellä. Taulukossa 4 on listattu etoksyloidun isotridekanolin määritykseen esikokeissa käytetyt eluentit ja näyteliuottimet. Näiden eluenttien testaus perustuu ennestään olemassa oleviin pesuaineanalyysiin. Näytteet suodatettiin näyteastioihin ennen HPLC:lla analysoimista. Acrodisc PF Syringe Filter –suodattimilla. (Restek 2018; Liu, Tracy, Pohl 2018; Lava 2018)

TAULUKKO 4. Käytetyt eluentit ja näyteliuottimet

Eluentti	Näytteen liuotin
Metanoli-vesi (70:30)	Vesi Metanoli
Asetoni-metanoli-etyyliasettaatti (2:2:1)	Vesi Metanoli Asetoni Etyyliasettaatti
Asetonitriili-ammoniumasettaatti (70:30)	Vesi Eluentti

Esikokeissa pyrittiin saamaan etoksyloitu isotridekanoli näkyviin myös säätämällä eluentin virtausnopeutta, injektioilavuutta ja näytteen konsentraatiota. Virtausnopeutta säädeltiin $0,5 - 2 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$, injektioilavuutta $1 - 10 \mu\text{l}$ ja näytteen konsentraatiota $0,0005 - 30 \%$ välillä. Isotridekanolia määrittämiseen käytettävät aallonpituudet valittiin spektrofotometriskannauksen perusteella. Skannaus suoritettiin $190 - 230 \text{ nm}$ alueella.

5.3 Näytteenottomenetelmän kehitys

Esikokeiden perusteella lähdettiin kehittämään määrittystä, jolla tunnistetaan ainoastaan MGDA pesuaineesta. Kiillon puhdistusaineesta tehtiin 2-% käyttöliuos laimentamalla 2 ml pesuainetta 1000 ml ionivaihdettua vettä. Tästä liuksesta tehtiin 1:10 laimennoksia aina $0,00002 \%$ asti. Tämän jälkeen siirryttiin testaamaan näytteenottoa ja erilaisia näytteenkäsittelytapoja.

Näytteenottoa varten vetokaapin pinta puhdistettiin 70-% etanolilla. Tämän jälkeen pinta puhdistettiin Kiillon puhdistusaineella, josta tehtiin 5:1000 laimennos eli 5 ml puhdistusainetta laimennettiin 1000 ml:aan ionivaihdetulla vedellä. Puhdistuksen jälkeen pinnasta otettiin kuusi näytettä $10 \times 10 \text{ cm}$ alueelta eri puolilta pintaa pumpulipuikolla. Jokainen alue käytiin ionivaihdetulla vedellä kostutetulla pumpulipuikolla kolmesti läpi. Pumpulipuikkojen päät katkaistiin koeputkiin, joissa oli valmiina 10 ml ionivaihdettua vettä. Taulukossa 5 on listattuna näytteenkäsittelytavat, joita testattiin. Jokaista näytteenkäsittelytapaa testattiin siten, että oli pumpulipuikon pää, jolla oli pyyhitty pintaa sekä pumpulipuikon pää, jolla ei ollut pyyhitty. Näytteet suodatettiin näyteastioihin ennen HPLC:lla analysoimista.

TAULUKKO 5. Näytteenkäsittelytavat

	Näytteenkäsittelytyypit
1	Ei ollenkaan
2	30 min ultraäänihaude
3	30 min ravistelija
4	30 min ultraäänihaude + 30 min ravistelija
5	60 min ultraäänihaude
6	60 min ravistelija

6 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELO

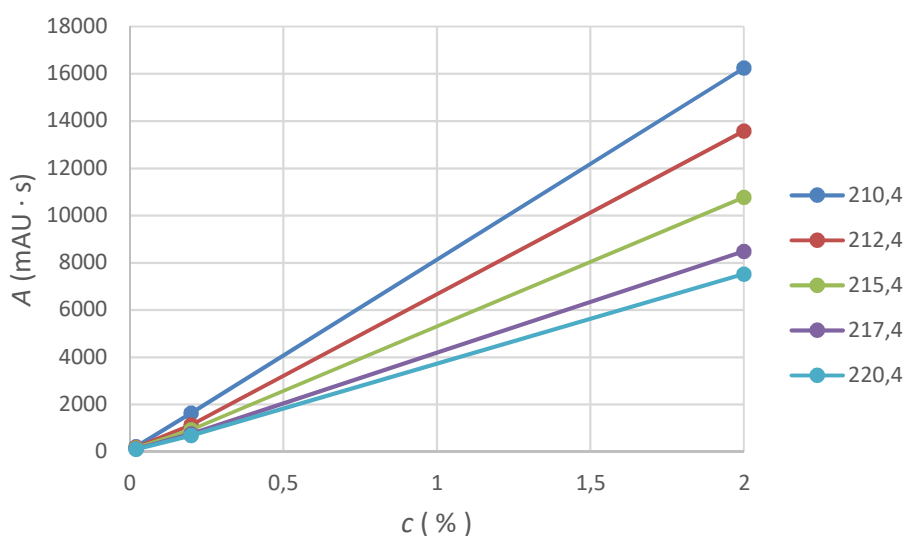
6.1 MGDA ja sitruunahappo

Taulukosta 6 löytyvät esikokeiden tulokset MGDA:lle, kun muutettiin konsentraatiota. Virtausnopeus, injektioilavuus sekä lämpötila pidettiin vakiona. Virtausnopeus oli $1,0 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$, injektioilavuus $10 \mu\text{l}$ ja lämpötila $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

TAULUKKO 6. MGDA:n pitoisuuden muutoksen vaikutus vasteeseen

$c (\%)$	$A_{210,4} (\text{mAU} \cdot \text{s})$	$A_{212,4} (\text{mAU} \cdot \text{s})$	$A_{215,4} (\text{mAU} \cdot \text{s})$	$A_{217,4} (\text{mAU} \cdot \text{s})$	$A_{220,4} (\text{mAU} \cdot \text{s})$
0,02	212,71454	190,37363	160,80675	126,76824	108,77002
0,2	1636,3938	1140,11963	937,18341	762,06451	684,5379
2	16244	13577,3	10773,9	8489,45215	7527,86572

Taulukon 6 arvoista tehtiin kuvaaja, jota voi tarkastella kuviosta 8.



KUVIO 8. MGDA:n pitoisuuden vaikutus vasteeseen graafisesti

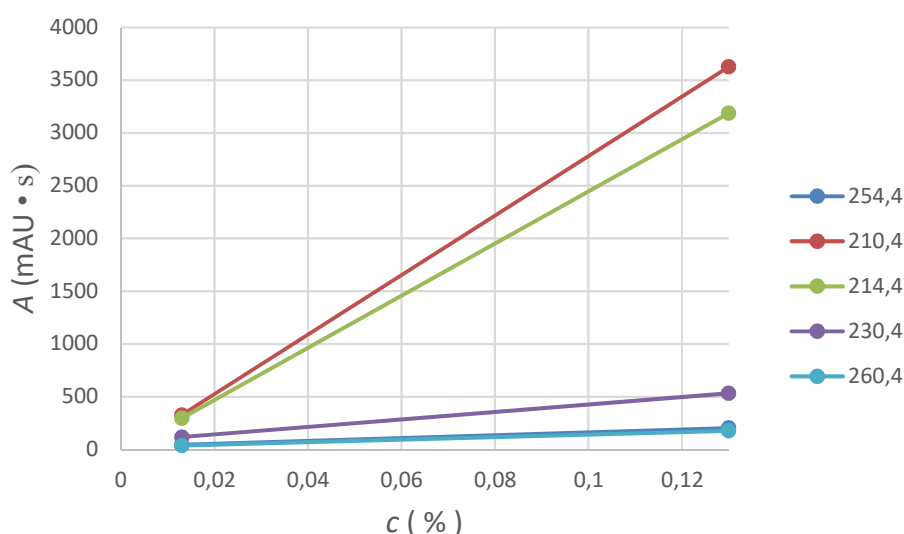
Taulukon 6 ja kuvion 8 perusteella voidaan sanoa, että analyysi noudattaa Lambert-Beerin lakia. Huolimatta pienestä konsentraatiosta, MGDA voidaan silti tunnistaa, joten sitä voidaan lähteä analysoimaan pöydän pinnalta.

Taulukosta 7 löytyvät esikokeiden tulokset sitruunahapolle, kun sen pitoisuutta muutettiin. Virtausnopeus, injektio-tilavuus sekä lämpötila pidettiin vakiona. Virtausnopeus oli $1,0 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$, injektio-tilavuus $10 \mu\text{l}$ ja lämpötila $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

TAULUKKO 7. Sitruunahapon pitoisuuden muutoksen vaikutus vasteeseen

c (%)	$A_{254,4}$ (mAU · s)	$A_{210,4}$ (mAU · s)	$A_{214,4}$ (mAU · s)	$A_{230,4}$ (mAU · s)	$A_{260,4}$ (mAU · s)
0,013	44,00765	326,83914	295,37146	117,49624	37,66023
0,13	203,10629	3627,18286	3186,70288	532,17188	175,78885

Taulukon 7 arvoista tehtiin kuvaaja, jota voi tarkastella kuviosta 9.

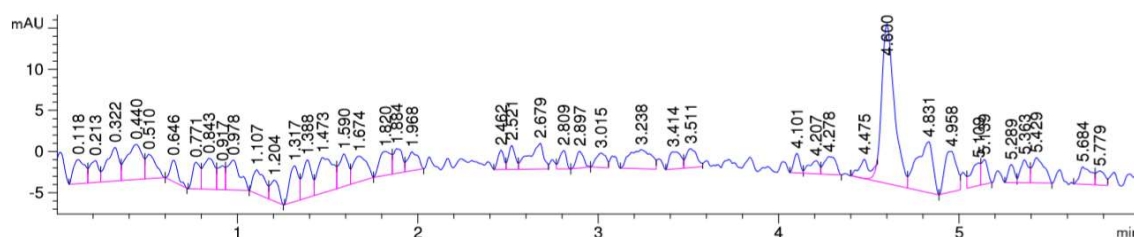


KUVIO 9. Sitruunahapon pitoisuuden vaikutus vasteeseen graafisesti

Sitruunahappo ja MGDA ovat eluoituvat samaan aikaan (liite 1), joten niitä ei voida erottaa toisistaan rakenteen samankaltaisuuden takia. Sitruunahappoa ei oteta huomioon menetelmänkehityksessä, koska sen osuus pesuaineessa on selkeästi pienempi kuin MGDA:n.

6.2 Etoksyloitu isotridekanoli

Kuviossa 10 nähdään esimerkkikromatogrammi, josta havaitaan etoksyloitu isotridekanoli. Pohjaviivan epätasaisuudesta huolimatta havaitaan, että etoksyloitu isotridekanoli erottuu noin 4,5 min jälkeen, kun aallonpituus oli $193,9 \text{ nm}$, konsentraatio oli 5% , injektio-tilavuus oli $1 \mu\text{l}$, virtausnopeus $0,5 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ ja lämpötila $30 \text{ }^\circ\text{C}$.



KUVIO 10. Etoksyloidun isotridekanolin kromatogrammi

Taulukosta 8 löytyvät esikokeiden tulokset etoksyloidulle isotridekanolille, kun muutettiin virtausnopeutta. Konsentraatio, injektioilavuus sekä lämpötila pidettiin vakiona. Konsentraatio oli 1,5 %, injektioilavuus 10 μl ja lämpötila 30 °C.

TAULUKKO 8. Virtausnopeuden vaikutus retentioaikaan, piikin korkeuteen sekä pinta-alaan.

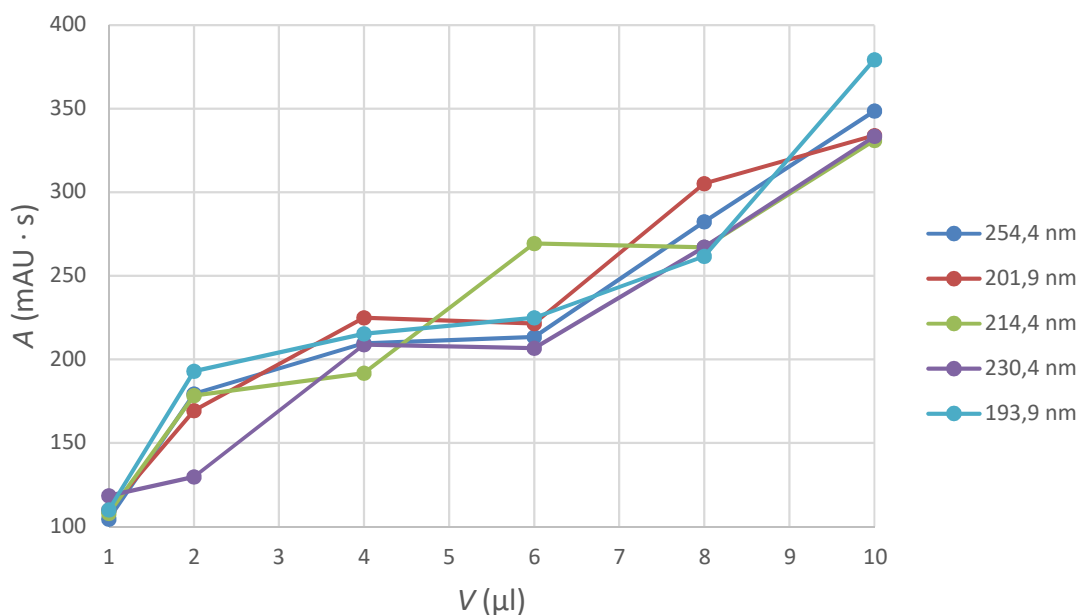
v (ml/min)	t (min)	h	A
2,0	1,171	26,33	132,62
1,0	2,314	37,18	196,92
0,5	4,954	34,617	361,97

Taulukon 8 perusteella voidaan sanoa, että etoksyloitu isotridekanoli on helpointa tunnistaa pienimmällä virtausnopeudella. Taulukosta 9 löytyvät esikokeiden tulokset etoksyloidulle isotridekanolille, kun injektioilavuutta muutettiin. Konsentraatio, virtausnopeus sekä lämpötila pidettiin vakiona. Pitoisuus 0,005 %, virtausnopeus 0,5 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$ ja lämpötila 30 °C.

TAULUKKO 9. Injektioilavuuden vaikutus vasteeseen.

V (μl)	$A_{254,4}$ (mAU \cdot s)	$A_{201,9}$ (mAU \cdot s)	$A_{214,4}$ (mAU \cdot s)	$A_{230,4}$ (mAU \cdot s)	$A_{193,9}$ (mAU \cdot s)
1	104,38995	109,77735	107,8979	118,4501	110,08412
2	179,40776	169,34781	178,3996	129,70264	193,02893
4	209,65376	225,04234	191,7816	208,77789	215,46487
6	213,39915	221,58885	269,41611	206,85144	224,96312
8	282,39688	305,30679	267,13983	267,28577	261,66037
10	348,67429	334,00009	331,0574	333,46722	379,35571

Taulukon 8 arvoista tehtiin myös kuvaaja, jota voi tarkastella kuviosta 11.



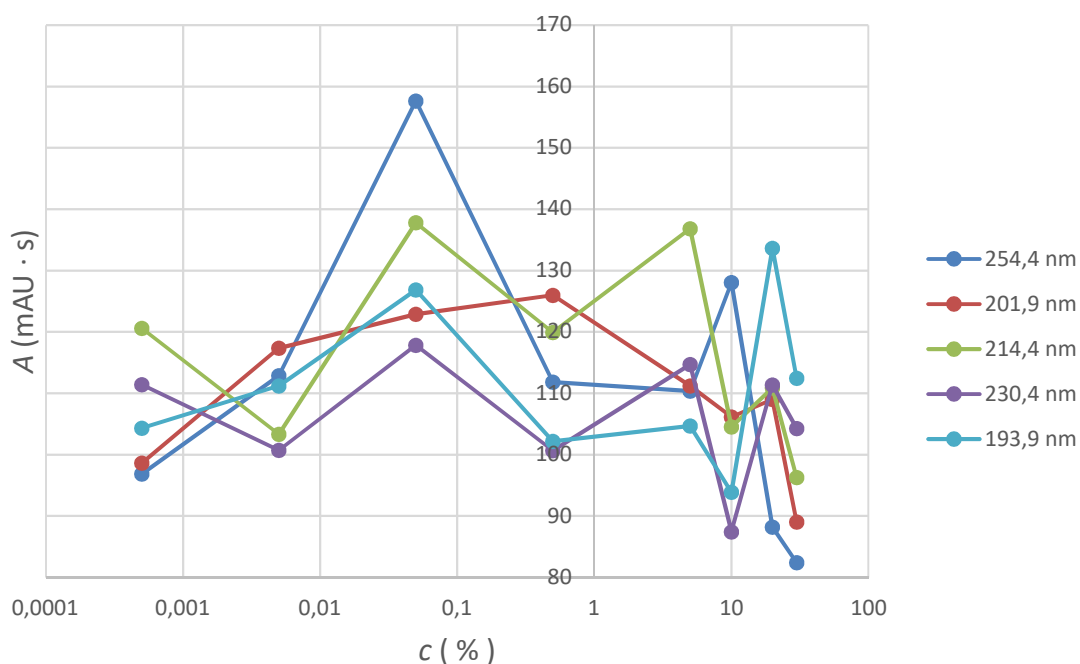
KUVIO 11. Injektioilavuuden vaikutus vasteeseen graafisesti

Taulukon 9 ja kuvion 11 perusteella voidaan sanoa, että injektioilavuutta kasvattaessa vaste kasvaa tasaisesti. 1 μl injektioilavuus on riittävä analysointia varten. Taulukosta 10 löytyvät esikokeiden tulokset etoksyloidulle isotridekanolille, kun konsentraatiota muutettiin. Injektioilavuus, virtausnopeus sekä lämpötila pidettiin vakiona. Injektioilavuus oli 1 μl, virtausnopeus $0,5 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$ ja lämpötila 30 °C.

TAULUKKO 10. Pitoisuuden vaikutus vasteeseen.

c (%)	$A_{254,4}$ (mAU · s)	$A_{201,9}$ (mAU · s)	$A_{214,4}$ (mAU · s)	$A_{230,4}$ (mAU · s)	$A_{193,9}$ (mAU · s)
0,0005	96,87742	98,64923	111,41582	111,41582	104,29989
0,005	112,86485	117,3429	100,70961	100,70961	111,22616
0,05	157,66003	122,89975	117,8517	117,8517	126,83782
0,5	111,8268	125,98986	100,66515	100,66515	102,16387
5	110,37371	111,21689	114,71728	114,71728	104,67532
10	128,07758	106,16518	87,44223	87,44223	93,86152
20	88,19228	109,03487	111,34005	111,34005	133,63377
30	82,42134	89,0346	104,25294	104,25294	112,43473

Taulukon 10 arvoista tehtiin myös logaritminen kuvaaja, jota voi tarkastella kuvioista 12.



KUVIO 12. Konsentraation vaikutus vasteeseen graafisesti

Taulukon 10 ja kuvion 12 perusteella voidaan sanoa, että etoksyloitu isotridekanoli ei noudata Lambert-Beerin lakia, joten sen konsentraatiota ei voi luotettavasti määrittää. Kaikkien tässä aluvussa käytyjen tulosten perusteella voidaan sanoa, että etoksyloitu isotridekanoli ei ole määritettävissä näillä menetelmillä ja laitteistolla.

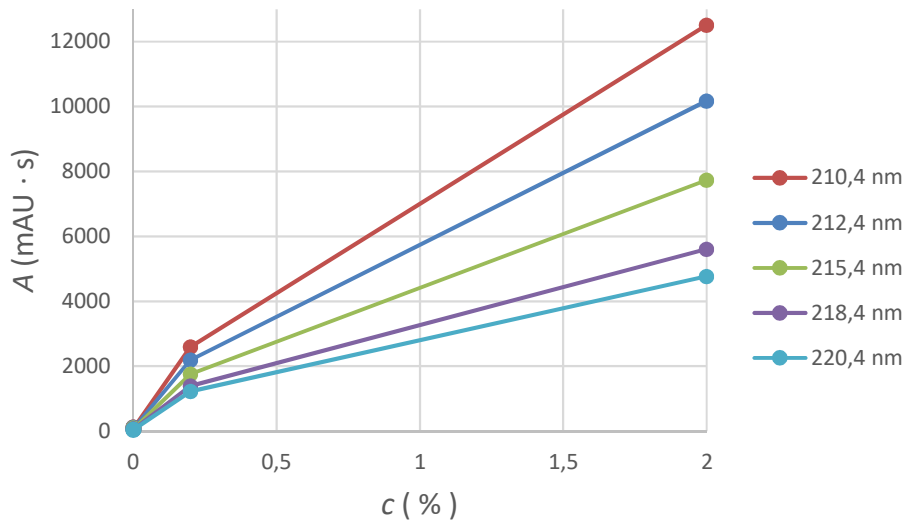
6.3 Näytteenottomenetelmän kehityksen tulokset

Taulukosta 11 löytyvät tulokset pesuaineen MGDA:lle, kun konsentraatiota muutettiin. Injektioilavuus, virtausnopeus sekä lämpötila pidettiin vakiona. Injektioilavuus oli 1 μl , virtausnopeus 0,5 $\frac{\text{ml}}{\text{min}}$ ja lämpötila 30 °C.

TAULUKKO 11. Pitoisuuden vaikutus vasteeseen

c (%)	$A_{210,4}$ (mAU · s)	$A_{212,4}$ (mAU · s)	$A_{215,4}$ (mAU · s)	$A_{218,4}$ (mAU · s)	$A_{220,4}$ (mAU · s)
0,00002	80,22704	71,41405	58,97884	45,78339	33,44719
0,0002	133,34132	118,61122	98,33025	68,69318	58,25777
0,002	102,5032	89,56956	72,69481	55,72006	47,41137
0,2	2599,64746	2189,96973	1756,1333	1386,92676	1223,76611
2	12508,3	10174,51831	7734,15723	5606,75195	4768,67298

Taulukon 11 tehtiin myös kuvaaja, jota voi tarkastella kuviossa 13.



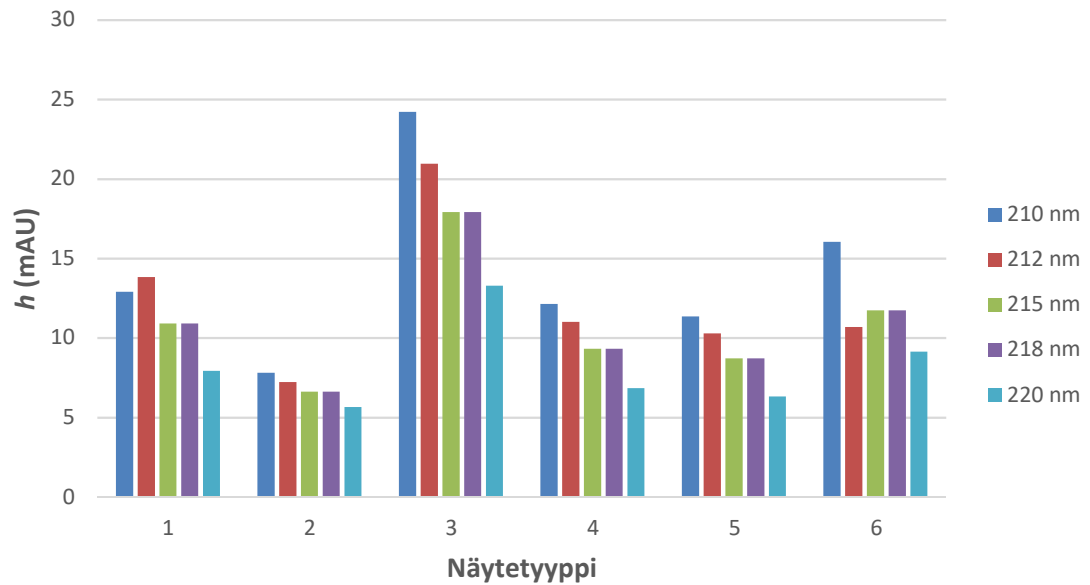
KUVIO 13. Pitoisuuden vaikutus vasteeseen graafisesti

Taulukon 11 ja kuvion 13 perusteella voidaan sanoa, että konsentraatio kasvaa melko lineaarisesti. Taulukosta 12 löytyvät tulokset pyyhkäisytekniikalla otettujen pesuaineen MGDA:lle. Näytteenkäsittelytyypit löytyvät taulukosta 5.

TAULUKKO 12. Näytteenottomenetelmän tulokset eri näytteenkäsittelytavoilla

	$h_{210,4}$ (mAU)	$h_{212,4}$ (mAU)	$h_{215,4}$ (mAU)	$h_{218,4}$ (mAU)	$h_{220,4}$ (mAU)
1	12,89755	11,89755	10,9163	10,9163	7,92965
2	7,80302	5,80302	6,629501	6,629501	5,66047
3	24,23026	21,23026	17,91108	17,91108	13,29023
4	12,14301	8,14301	9,32992	9,32992	6,83619
5	11,35083	6,35083	8,70953	8,70953	6,31599
6	16,03764	10,03764	11,73395	11,73395	9,13592

Taulukon 12 arvoista tehtiin diagrammi, jota voi tarkastella kuviosta 14.



KUVIO 14. Tulokset eri näytteenottotavoilla

Taulukkoa 12 vastaavia tuloksia ei muita saatu, nämä olivat ainoat onnistuneet. Muita tuloksia voi tarkastella liitteessä 2. Näiden yksien tuloksien perusteella kuitenkin lähdettiin testaamaan ainoastaan 30 min ultraäänikäsitelyä, mutta tätä ei pystytty toistamaan. Pöydän pinta käsiteltiin neljällä eri vahvuisella pesuaineella. Tulokset esitetään taulukossa 13.

TAULUKKO 13. Tulokset 30 min ultraäänihaudekäsittelyllä.

c (%)	$A_{210,4}$ (mAU)	$A_{212,4}$ (mAU)	$A_{215,4}$ (mAU)	$A_{218,4}$ (mAU)	$A_{220,4}$ (mAU)
0,5	0,3932	0,39356	0,38317	0,35391	0,3335
5	-1,60932	-1,43289	-1,20514	-0,98166	-0,87493
10	2,3022	2,10719	1,86537	1,62467	1,50636
100	-1,95214	-1,69877	-1,37524	-1,07173	-0,93116

7 JOHTOPÄÄTÖKSET JA POHDINTA

Opinnäytetyön tavoite oli kehittää kemikaalijäämien analysointiin soveltuva näytteenotto- ja mittausmenetelmä pinnalta. Tarkoituksena oli kehittää menetelmä pyyhkäisynäytteiden analysointiin. Lisäksi oli tarkoitus testata, mikä olisi paras tapa saada siivouskemikaalijäämänäyte pinnasta pyyhkäisemällä sekä saada tämä pyyhkäisytekniikalla otettu näyte analysoitavaan muotoon. Opinnäytetyön tavoite ei täyttnyt. Edellisessä luvussa esitettyjen tulosten perusteella voidaan sanoa, että näillä menetelmillä ei voida määrittää siivouskemikaalijäämiä pöydän pinnasta. Tulosten perusteella voidaan todeta, että etoksyloitua isotridekanolia on erittäin hankalaa analysoida. Voidaan myös todeta, että MGDA ja sitruunahappo ovat hyvin samankaltaisia yhdisteitä rakenteeltaan, minkä takia niitä on vaikea erottaa toisistaan. Tästä syystä pyrittiin analysoimaan ainoastaan MGDA:ta pesuaineesta, sillä sitruunahapon määrä oli niin pieni, että se jätettiin huomiotta.

Menetelmää ei voida pitää toistettavana eikä luotettavana. Taulukon 12 tulokset viittaavat siihen, että näytteenotto olisi onnistunut, mutta tämä oli ainoa kerta, kun se onnistui. On todennäköistä, että taulukon 12 tulokset johtuvat pöydän tai koeputken kontaminaatiosta, joka aiheuttaa vasteen kromatogrammiin, Muissa tapauksissa ei voida todeta, että pesuainejäämät olisi koskaan päätyneet pumpulipuikkoon asti. On myös mahdollista, että kaikki jäämät ovat imeytyneet puikkoon, mutta eivät ole päätyneet koeputken ionivaihdettuun veteen. Koska taulukosta 12 ja kuvioista 14 löytyviä tuloksia ei voi pitää luotettavina, ei voida myöskään perustella, minkä takia 30 minuutin ravistelijakäsittelyllä saatiin paras vaste.

Tämän työn perusteella voidaan tehdä johtopäätös, että tässä työssä käytetty näytteenottotapa, joka pohjasi asumisterveysohjeen mikrobiologisiin tutkimuksiin, ei ollut toimiva tällä tavalla toteutettuna tällä kertaa. Tarvitaan selvitys, millä tavalla kyetään ottamaan kemikaalijäämänäyte pöydän pinnasta. Näytteenottotapa voi löytyä mahdollisesti lääke-teollisuuden ratkaisuksista, sillä heille puhtaus on äärimmäisen tärkeää. Toinen johtopäätös on, että siivouskemikaalijäämien analysointi voidaan toteuttaa siten, että etsitään yhtä tiettyä yhdistettä kerrallaan.

Jatkossa tulee myös pohtia, millä laitteistolla pyritään analysoimaan näytteitä. Tässä työssä käytetyllä HPLC-DAD-kokoonpanolla on omat vahvuutensa, sillä voidaan analysoida MGDA:ta sekä sitruunahappoa. Pelkästään näiden kahden erottamiseen kuitenkin tarvittaisiin omanlaisensa metodi, kolonni tai mahdollisesti molemmat, sillä edellä mainitut molekyylit ovat hyvin samanlaisia (kuviot 4 ja 6). Puolestaan kun halutaan analysoida etoksyloitua isotridekanolia, pitää harkita eri kolonnia ja metodia, jopa kokonaan eri laitteistoa, kuten esimerkiksi GC-MS:a tai ionikromatografiaa. Jos halutaan käyttää vastaavaa laitteistoa ja metodia kuin MGDA:ta ja sitruunahappoa tässä työssä analysoidaessa, etoksyloidusta isotridekanolista pitäisi pyrkiä tekemään johdannainen. Tämä johtuu siitä, että MGDA ja sitruunahappo voidaan analysoida hyvin käyttämällä diodirividektoria, puolestaan etoksyloitu isotridekanoli absorboi heikosti yli 220 nm aallonpituuksilla. (Yuan, Yu, Liu, Fan, Xie ja Zhu 2014)

LÄHTEET

Asetus 648/2004/EY. Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus pesuaineista. Luettu 10.7.2018. <https://publications.europa.eu/fi/publication-detail/-/publication/ff884fe0-d5dc-4f85-9b19-7eb8196be401/language-fi>

Aulanko, M. 2010. Pesu- ja puhdistusaineet: Johdatus siivouskemiaan. 3. painos. Kopio Niini Oy.

Buyuktuncel, S. E., Kalkan, O., Sahin, E. 2018. Determination of Organic Acids in Natural and Commercial Orange Juices by HPLC/DAD

Cole-Palmer. 2018. Effective Swabbing Techniques for Cleaning Validation. Luettu 18.10.2018. <https://www.coleparmer.com/tech-article/effective-swabbing-techniques>

Dong, M. W. 2006. Modern HPLC for Practicing Scientists. Luettu 10.11.2018. 1. Painos. John Wiley & Sons, Inc.

Downard, K. 2004. Mass Spectrometry: A Foundation Course. 1. painos. The Royal Society of Chemistry: Cambridge.

ECHA. 2018. Isotridecanol, ethoxylated. Luettu 2.8.2018. <https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.105.729>

Essential Industries. 2018. The Chemistry of Cleaning. Luettu 8.8.2018. <https://www.es-sind.com/general-cleaners/the-chemistry-of-cleaning/>

IUPAC. 1993. Nomenclature for Chromatography. Luettu 3.8.2018. <https://www.iupac.org/publications/pac/1993/pdf/6504x0819.pdf>

Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5. painos Helsinki: Edita Prima Oy.

Kronberg, B., Holmberg, K. & Lindman, B. 2014. Surface Chemistry of Surfactants and Polymers. 1. painos. John Wiley and Sons, Ltd.

Laine, P., Matilinen, R. 2005. Simultaneous Determination of DTPA, EDTA and NTA by UV-visible Spectrometry and HPLC. Luettu 22.1.2019. https://www.researchgate.net/publication/7772473_Simultaneous_determination_of_DTPA_EDTA_and_NTA_by_UV-visible_spectrometry_and_HPLC

Lava, R. 2017. Analytical Methods for the Determination and Estimation of Synthetic Detergents. PDF-dokumentti. Luettu 13.11.2018. http://ec.europa.eu/enlargement/taieux/dyn/create_speech.jsp?speechID=40366&key=841285b55387fa20b6312eb86490f2f0

Liu, X., Tracy, M. ja Pohl, C. 2018. The Strategy of Surfactant Analysis by HPLC. PDF-dokumentti. Luettu 13.11.2018. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/posters/87422-PO-HPLC-Surfactant-Analysis-08July10-LPN2525-1.pdf>

Meyer, V. R. 2010. Practical High-Performance Liquid Chromatography. 5. painos. John Wiley and sons, Ltd.

Nette, D., Seubert, A. 2015. Determination of aminopolycarboxylic acids at ultra-trace levels by means of online coupling ion exchange chromatography and inductively coupled plasma-mass spectrometry with indirect detection via their Pd²⁺-complexes. Luettu 22.1.2019. https://docksci.com/determination-of-aminopolycarboxylic-acids-at-ultra-trace-levels-by-means-of-onl_5a410687d64ab20977684159.html

PALL. 2018. Acrodisc® Syringe Filters with Supor® Membrane. Luettu 7.8.2018. <https://shop.pall.com/us/en/laboratory/sterile-filtration-and-clarification/mycoplasma-reduction/acrodisc-syringe-filters-with-supor-membrane-zidgri78lj8>

PubChem. 2018a. Citric Acid. Luettu 2.8.2018. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/citric_acid#section=Top

PubChem. 2018b. Trisodium dicarboxymethyl alaninate. Luettu 2.8.2018. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11021984#section=Top>

Raj, A. 2011. Cleaning Validation in Pharmaceutical Industries. PDF-dokumentti. Luettu 18.1.2019. https://www.researchgate.net/publication/277442616_CLEANING_VALIDATION_IN_PHARMACEUTICAL_INDUSTRIES

Restek. 2018. Analyzing Cleaning and Personal Care Products by Gas and Liquid Chromatography. PDF-dokumentti. Luettu 12.11.2018. <https://chromspec.com/pdf/e/rk100.pdf>

Royal Society of Chemistry. 2018. Derivatisation. Luettu 14.10.2018. <http://www.rsc.org/publishing/journals/prospect/ontology.asp?id=CMO:0001485>

Safe Cosmetics. 2018. Ethoxylated Ingredients. Luettu 26.7.2018. <http://www.safecosmetics.org/get-the-facts/chemicals-of-concern/ethoxylated-ingredients/>

Salkinoja-Salonen, M. 2017. Bioreaktiiviset altisteet: solutoksisia reaktioita aiheuttavat toksiinit ja kemikaalit työtiloissa. Luettu 8.8.2018. <https://www.tsr.fi/documents/20181/464844/Tutkimus+tutuksi+Mirja+Salkinoja-Salonen/331a1871-c7ec-4b29-b78e-8c418456466b>

Schmidt, C. K. 2004. Occurrence of Aminopolycarboxylates in the Aquatic Environment of Germany. Luettu 22.1.2019. https://www.researchgate.net/publication/271996962_Occurrence_of_aminopolycarboxylates_in_the_aquatic_environment_of_Germany

Sigma-Aldrich. 2009. HPLC Troubleshooting Guide. Luettu 8.8.2018. <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Supelco/Bulletin/4497.pdf>

Sosiaali- ja terveystieteiden ministeriö. 2003. Asumisterveysohje. Luettu 3.8.2018. https://www.finlex.fi/data/normit/14951/asumisterveysohje_pdf.pdf

Tadros, T. F. 2014. An Introduction to Surfactants. Huber & Co., Göttingen.

Teknokemia Yhdistys. 2018. Kosmetiikkasanasto. Luettu 2.8.2018. <http://www.teknokemia.fi/fin/kosmetiikka/kosmetiikkasanasto/?ltr=19>

Ympäristöosaava. 2018. Kovien pintojen pesu- ja puhdistusaineiden ympäristövaikutukset. PDF-dokumentti. Luettu 16.9.2018. <https://www.ymparistoosaava.fi/puhdistuspalveluala/doc/YOA-Kovien-pintojen-pesu--ja-puhdistusaineiden-ymparistovaikutukset.pdf>

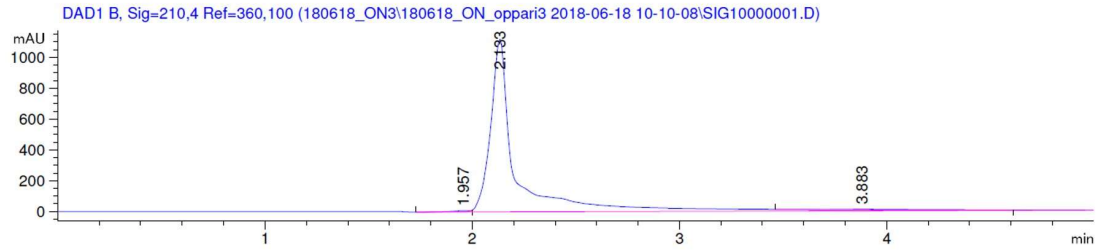
Ympäristöosaava. 2018. Siivousaineiden ympäristöhaitat. Luettu 16.9.2018. <https://www.ymparistoosaava.fi/puhdistuspalveluala/index.php?k=22509>

Yuan, C. L., Xu, Z., Fan, M. X., Liu, H. Y., Xie, Y. H. ja Zhu, T. 2014. Study on Characteristics and Harm of Surfactants. PDF-dokumentti. Luettu 10.11.2018. <http://www.jocpr.com/articles/study-on-characteristics-and-harm-of-surfactants.pdf>

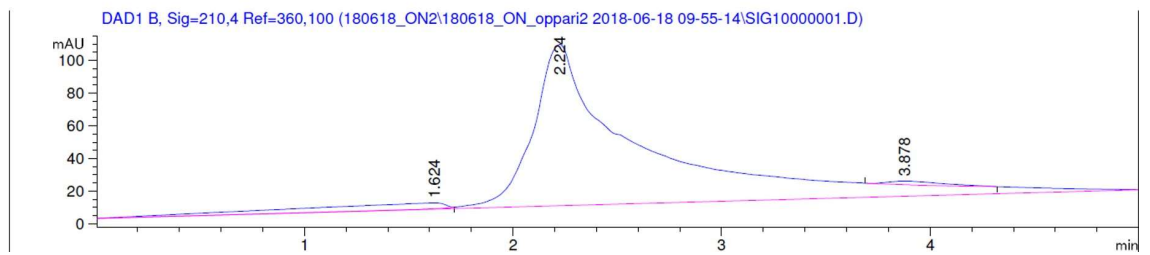
Yuan, C. L., Yu, H., Liu, H. Y., Fan, M. X., Xie, H. ja Zhu, T. 2014. The Determination Methods for Non-ionic Surfactants. PDF-dokumentti. Luettu 12.11.2018. <http://www.jocpr.com/articles/the-determination-methods-for-nonionic-surfactants.pdf>

LIITTEET**Liite 1. MGDA:n ja sitruunahapon kromatogrammit**

MGDA:n kromatogrammi



Sitruunahapon kromatogrammi



Liite 2. Menetelmän kehityksen kromatogrammit

