



**TURUN AMMATTIKORKEAKOULU  
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES**

**Opinnäytetyö**

**Vapaan formaldehydin määrittäminen erilaisista  
matriiseista DNPH-johdannaisena  
diffuusiokeräysmenetelmällä**

**Oskari Talvitie**

**Laboratorioala**

**2010**

Koulutusohjelma: Laboratorioala	
Tekijä: Oskari Talvitie	
Työn nimi: Vapaan formaldehydin määrittäminen erilaisista matriiseista DNPH-johdannaisena diffuusiokeräysmenetelmällä	
Ohjaajat: Jouko Vihanto Maj-Len Henriks-Eckerman	
Opinnäytetyön valmistumisajankohta: 8.6.2010	Sivumäärä: 32
<p>Työssä pyrittiin luomaan yksinkertainen menetelmä vapaan formaldehydin määrittämiseksi erilaisista matriiseista. Työterveyslaitokselle tehdyssä työssä matriisit valittiin siten, että ne edustavat työpaikoilla tavallisia altistumislähteitä formaldehydille, sisältäen joko formaldehydiä sellaisenaan tai formaldehydiä hajotessaan vapauttavaa säilöntäainetta eli biosidia.</p> <p>Menetelmässä analysoitava matriisi asetettiin suljetun astian pohjalle. Samaan astiaan sijoitettiin ilmastavasti 2,4-dinitrofenyylihydratsiinia sisältävä lasikuitusuodatin. Tuotteesta vapautuva formaldehydi haihtui ja kulkeutui diffuusion avulla suodattimelle, jossa tapahtui formaldehydin sitoutuminen 2,4-dinitrofenyylihydratsiinijohdannaiseksi.</p> <p>Työssä tutkittiin muuttuuko formaldehydin tasapaino lineaarisesti 2,4-dinitrofenyylihydratsiinisuodattimen ja muun suljetun systeemin välillä pitoisuuden muuttuessa. Tästä syystä keräysaika sekä -lämpötila pidetään vakiona koko keräyksen ajan, sillä myös biosidin hajoaminen tuotteessa on hidaskin tasapainoreaktio. Tasapainoreaktion muuttumista eri formaldehydipitoisuuksilla tutkittiin lisäämällä tarkasti punnittuihin näytteisiin formaldehydiä metanoliliuoksessa.</p> <p>Formaldehydin keräyksessä muodostunut johdannainen, formaldehydi-2,4-dinitrofenyylihydratsoni, desorboidaan tarkasti mitattuun määrään juuri puhdistettua vettä. Kvantitatiivinen analyysi suoritetaan korkean erotuskyvyn neste-kromatografialla sekä UV-detektorilla. Tulosten oikeellisuuden varmistamiseksi käytettiin lisäksi diodirividetektoria yhtäaikaaisesti ultraviolettidetektorin kanssa.</p>	
Hakusanat: formaldehydi, biosidi, 2,4-dinitrofenyylihydratsiini, formaldehydi-2,4-dinitrofenyylihydratsoni, DNPH, DNFH	
Säilytyspaikka: Turun ammattikorkeakoulun kirjasto, Lemminkäisenkatu	

Degraa Programme: Laboratory Technology	
Author: Oskari Talvitie	
Title: Quantification of Free Formaldehyde in Various Matrixes Using 2,4-Dinitrophenylhydrazine-Coated Glass Fiber Filters by Diffusion Sampling	
Instructors: Jouko Vihanto, Principal Lecturer Maj-Len Henriks-Eckerman, Senior Specialist	
Date: 8.6.2010	Total number of pages: 32
<p>This study set out to try to develop a simple method for determination of free formaldehyde in several matrices. Because the study was commissioned by Finnish Institute of Occupational Health, the chosen matrices contain formaldehyde or biocides releasing it as a decomposition product. These matrices cause daily exposure. Formaldehyde releasers are widely used in different industries as a preserving agent.</p> <p>First, an accurate amount of matrix was added to a closed container. A 2,4-dinitrophenylhydrazine-coated glass fiber filter was placed airily in the same container without a physical contact with the matrix. Formaldehyde released by the matrix evaporated and migrated by diffusion. 2,4-dinitrophenylhydrazine residing in the filter formed a non-volatile derivate with the formaldehyde called formaldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone.</p> <p>Formaldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone was desorbed into a determined volume of newly purified water. The analysis was carried out by high performance liquid chromatography and an ultra violet detector. The results were collated by comparing them with the results of the same analysis detected by the diode array detector.</p> <p>The main objective of this study was to understand if the equilibrium of formaldehyde content between the filter and the rest of the closed system changed linearly while the total amount of formaldehyde was changing. Inside the closed system equilibrium prevailed between the biocide and the concentration of formaldehyde in the airspace. That is why variables affecting the equilibrium, such as time and temperature, were kept constant. The variation of equilibrium was studied by adding exact concentrations of formaldehyde in methanol solution to the matrix and comparing the resulting variation with the yield.</p>	
Keywords: formaldehyde, 2,4-dinitrophenylhydrazine, formaldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone, biocide, DNPH	
Deposit at: Library of Turku University of Applied Sciences	

# SISÄLTÖ

<b>1</b>	<b>JOHDANTO</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>FORMALDEHYDI</b>	<b>8</b>
2.1	Käyttökohteet ja altistuminen	8
2.2	Ominaisuudet ja valmistus	9
2.3	Terveysvaikutukset ja altistumisen raja-arvot	10
<b>3</b>	<b>MÄÄRITYSMENETELMISTÄ</b>	<b>12</b>
3.1	Kaasujen diffuusio	12
3.2	Standardinlisäysmenetelmä	12
3.3	Bradyn koe	13
3.4	DNPH:n suolan ja suodattimien valmistus	14
3.5	Vapaan formaldehydin määrittäminen CCD-menetelmällä	14
3.6	Kokonaisformaldehydin määrittäminen	16
3.7	Kromatografinen analyysi	16
3.8	Saantokertoimen laskeminen	18
<b>4</b>	<b>TUTKIMUKSEN TOTEUTUS</b>	<b>19</b>
4.1	Tutkitut matriisit	19
4.2	Käytetyt kemikaalit ja reagenssit	19
4.3	Näytteenlisäysstandardien valmistus ja lineaarisuustesti	19
4.4	Kokonaisformaldehydipitoisuudet näytematriiseissa	20
4.5	Näytteenlisäysformaldehydin pitoisuustesti ja standardien säilyvyyskoe	20
4.6	Diffuusiomenetelmän testaus	20

<b>5</b>	<b>TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU</b>	<b>22</b>
5.1	Kromatografisen menetelmän lineaarisuudesta näytteenlisäysstandardeilla	22
5.2	Kokonaisformaldehydipitoisuudet näytematriiseissa	23
5.3	Formaldehydireagenssin pitoisuudesta ja näytteenlisäysstandardien säilyvyyskoe	25
5.4	Diffuusiomenetelmän testaus	26
5.5	Vapaan formaldehydin pitoisuudet tutkituissa matriiseissa ja tulosten vertailu kokonaisformaldehydipitoisuuteen	28
5.6	Menetelmän arviointia	28
<b>6</b>	<b>YHTEENVETO</b>	<b>30</b>
<b>7</b>	<b>LÄHTEET</b>	<b>31</b>

## **LIITTEET**

- Liite 1. Näytteenlisäysstandardien lineaarisuustestin tulokset
- Liite 2. Kokonaisformaldehydipitoisuudet näytematriiseissa
- Liite 3. Formaldehydireagenssin pitoisuustestin ja näytteenlisäysstandardien säilyvyyskokeen tulokset
- Liite 4. Diffuusiomenetelmän testauksen tulokset
- Liite 5. Formaldehydin osatekijöiden summan vaikutus näytteen analyysitulokseen

## **KUVAT**

- Kuva 1. Grotan OX:n eli N,N-metyleeni-bis-5-metyylioksatsolidiinin rakennekaava* 9
- Kuva 2. Formaldehydin valmistus metanolista hapettamalla* 10
- Kuva 3. Standardinlisäysmenetelmän esimerkkikuvaaja* 13
- Kuva 4. Bradyn koe formaldehydillä* 13
- Kuva 5. Työssä käytetyn CCD-astian rakenne* 15
- Kuva 6. CCD-astia keräyksessä* 15
- Kuva 7. Työssä käytetty HPLC –laitteisto* 17

## **TAULUKOT**

- Taulukko 1. Formaldehydin fysikaalisia ominaisuuksia* 10
- Taulukko 2. Kromatografisen menetelmän parametrit* 17

## 1 JOHDANTO

Formaldehydi on reaktiivinen ja terveydelle haitallinen, mutta teollisuuden varsin laajalti käyttämä yhdiste. Allergisoivan vaikutuksensa vuoksi on tärkeää kyetä analysoimaan myös pieniä pitoisuuksia tarkasti. Haittavaikutustensa vuoksi formaldehydista on pyritty monilla aloilla pääsemään eroon etsimällä sille korvaavia aineita tai vaihtoehtoisia työstömenetelmiä, joissa formaldehydiä sisältäviä kemikaaleja ei tarvitse käyttää. Formaldehydiä ei kuitenkaan ole kokonaan pystytty korvaamaan, joten pitoisuuksien määrittämiseen tarvitaan toimivia ja taloudellisia menetelmiä eri olosuhteisiin.

Nykyinen EU:n virallinen menetelmä tuotteista vapautuvan formaldehydin määrittämiseksi on varsin työläs ja monimutkainen.<sup>1</sup> Tässä selvityksessä pyrittiin tyydyttämään tarvetta yksinkertaisemmalle ja nopeammalle menetelmälle vapaan formaldehydin määrittämiseksi soveltamalla ruotsalaista vuonna 1998 julkaistua tutkimusta A Method for Quantification of Formaldehyde in the Presence of Formaldehyde Donors in Skin-Care Products (Karlberg *et al.*)<sup>2</sup>, jossa menetelmä on toiminut kosmeettisilla emulsiomatriiseilla, sekä kiinteällä hienojakoisella matriisilla että vesiliuosmatriisilla. Selvitykseen valittiin kaksi vaneripölynäytettä A ja B sekä hienontamaton vaneri B, jotka sisältävät formaldehydipitoisia liimahartseja, sekä metallintyöstössä käytettävät leikkuunesteet A ja B, jotka sisältävät formaldehydiä vapauttavia biosideja.

## 2 FORMALDEHYDI

Formaldehydi on triviaalinimi, mutta huomattavasti käytetympi ja tunnetumpi kuin IUPAC:n (International Union of Pure and Applied Chemistry) nimeämiskäytännön mukainen metanaali<sup>3</sup>. Muita käytettyjä nimityksiä ovat metyleenioksidi, oksometyleeni, formoli ja metyylialdehydi. Formaldehydi on aldehydimuodossa ainoastaan kaasuna, vesiliuoksena se on hydraattimuodossa, jolloin liuosta kutsutaan formaliiniksi.<sup>4</sup>

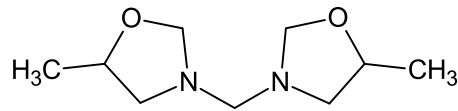
### 2.1 Käyttökohteet ja altistuminen

Formaldehydiä käytetään laajalti erilaisissa vaneri- ja lastulevyteollisuuden käyttämien liimahartsien valmistukseen, kuten fenoliformaldehydihartsien, ureaformaldehydihartsien ja melamiini-formaldehydihartsien valmistukseen. Tekstiiliteollisuuden tuotteissa käytetään formaldehydipohjaisia hartseja siliävyyden parantamiseen.<sup>4</sup>

Formaldehydiä käytetään myös desinfiointi- sekä säilöntäaineena sen toksisuuden vuoksi. Erityisesti desinfiointi- ja sterilointikohteina ovat kuumuutta kestävämmät lääketieteelliset instrumentit. Tavallisimmin käyttöliuoksen formaldehydipitoisuus on 2-8 %.<sup>5</sup>

Formaldehydille altistumista tapahtuu myös huomattavan paljon sellaisten biosideiksi kutsuttujen säilytysaineiden kautta, joiden teho perustuu yhdisteen spontaaniin hajoamiseen mm. formaldehydiksi. Tällaisia biosideja käytetään etenkin metallityöstössä tarvittavien leikkuunesteiden ja maali- ja teknokemian tuotteiden säilöntään.<sup>6</sup> Kuvassa 1 on esitelty esimerkki eräästä formaldehydiä vapauttavasta biosidista.





*Kuva 1. Grotan OX:n eli N,N-metyleeni-bis-5-metyylioksatsolidiinin rakennekaava. Grotan OX on eräs leikkuunesteissä käytettävä formaldehydiä vapauttava biosidi*

Työterveyslaitoksen (TTL) vuoden 2005 arvion mukaan formaldehydille työssään altistuvia on Suomessa n. 14 000, joihin kuuluu mm. teollisuusompelijoita, huonekalupuuseppiä, maalareita ja metallintyöstäjiä. Lukemaan ei ole otettu huomioon toimistotyössä altistuvia.<sup>4</sup>

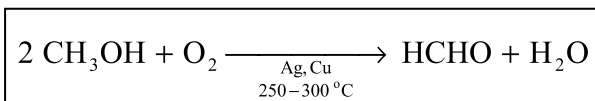
## 2.2 Ominaisuudet ja valmistus

Formaldehydi on yksinkertaisin aldehydi, joka sisältää ainoastaan yhden hiiliatomin, karbonyylihiilen. Muiden aldehydien tapaan se hapettuu herkästi.<sup>3</sup> Formaldehydi on väritön kaasu, jolla on sille ominainen, pistävä haju. Sen fysikaalisia ominaisuuksia on esitetty taulukossa 1<sup>7</sup>.

Formaldehydiä valmistetaan metanolista hapettamalla käyttäen katalysaattorina tavallisimmin kuparia<sup>8</sup>. Reaktioyhtälö on kuvattu kuvassa 2. Formaldehydin kokonaistuotanto on vuositasolla yhteensä n. 16 miljoonaa tonnia 33 % formaliiniksi muutettuna<sup>9</sup>.

Taulukko 1. Formaldehydin fysikaalisia ominaisuuksia.<sup>7</sup>

Molekyylimassa	30,03	g/mol
Sulamispiste	-92	°C
Kiehumispiste	-19,1	°C
Liukoisuus veteen	erittäin hyvä	
Höyrynpaine 0 °C:ssa	220	kPa
Kaasun tiheys	1,30	kg/m <sup>3</sup>
Nesteen tiheys -20 °C:ssa	0,815	g/ml

Kuva 2. Formaldehydin valmistus metanolista hapettamalla katalyyttiä ja korkeaa lämpötilaa hyväksi käyttäen<sup>8</sup>.

### 2.3 Terveysvaikutukset ja altistumisen raja-arvot

Työterveyslaitoksen laatimissa ”onnettomuuden vaaraa aiheuttavat aineet” -turvalisuusohjeistossa formaldehydin haitalliseksi tunnettu pitoisuus työpaikan ilmassa kahdeksan tunnin altistumisena on 0,3 ppm, ja yli 1 ppm pitoisuutta ei tulisi missään vaiheessa ylittää. Välitöntä ärsytystä silmille ja ylähengitysteiden limakalvoille aiheuttaa 2 - 4 ppm:n pitoisuuksissa. Polttavaa tunnetta silmissä, kyynelvuotoa, yskää ja hengitysvaikeuksia aiheuttaa 5 - 20 ppm:n pitoisuus.<sup>10</sup> Herkät ihmiset voivat kuitenkin saada oireita jo huomattavasti alhaisemmissa pitoisuuksissa.<sup>4</sup>

Välittömästi vaarallisia pitoisuuksia ovat yli 40 ppm, jolloin on riskinä kurkunpään turvotus, keuhkoputkien supistuminen, keuhkotulehdus ja keuhkopöhö sekä maksa- ja munuaisvauriot<sup>10</sup>. Formaldehydin aiheuttamia myrkytysoireita ovat mm. huimaus, väsymys, voimakas limakalvojen ärsytys, humaltumisen kaltainen päihtymys sekä metabolinen asidoosi eli elimistön nesteiden liian korkea happamuus. Muiden aldehydien tavoin formaldehydikin muodostaa proteiinien ja peptidien aminoryhmien kanssa veteen liukenemattomia atsometiinejä.<sup>5</sup>

IARC (International Agency for Research on Cancer) luokittelee formaldehydin syöpää aiheuttavaksi kemikaaliksi. Altistumiset lisäävät riskiä sairastua nenän- ja nielun alueen syöpiin sekä ilmeisesti myös leukemiaan. Rotilla on todettu tapahtuvan pysyviä muutoksia nenän limakalvoilla pitkäaikaisessa altistumisessa 2 ppm hengitysilmapitoisuudessa. Tavanomaisimmin formaldehydi aiheuttaa pitkäaikaisille altistujille allergista nuhaa ja kosketusihottumaa, kroonista silmien ja nenän limakalvojen ärsytystä sekä joissain tapauksissa astmaa.<sup>4,10</sup>

Formaliiniroiskeet silmissä aiheuttavat polttavaa tunnetta ja iholle joutuessaan kihelmöintiä, kuivumista ja punoitusta. Formaliini voi myös aiheuttaa sarveiskalvon samentumisen ja johtaa näön menetykseen.<sup>10</sup>

### 3 MÄÄRITYSMENETELMISTÄ

#### 3.1 Kaasujen diffuusio

Kaasudiffuusiolla tarkoitetaan kaasumolekyylien jatkuvasta, sattumanvaraisesta liikkeestä johtuvaa sekoittumista<sup>11</sup>, mistä syystä pitoisuuserot tasoittuvat systeemin sisällä. Fickin lain mukaan diffuusionopeus on riippuvainen diffuusiokertoimesta, pitoisuuserosta kahden pisteen välillä sekä kahden pisteen välimatkasta. Kaava kirjoitetaan tavallisesti muotoon

$$J = -D \frac{dc}{dx}$$

jossa

D = Diffuusiokerroin

dc = Pitoisuusero kahden pisteen välillä

dx = Kahden pisteen välinen etäisyys

Diffuusiokerroin D:n suuruus vaihtelee riippuen lämpötilasta, diffundoituvasta aineesta sekä liuottimesta. Diffuusiokerroin D on kaavassa negatiivinen, sillä molekyylivuo kulkee korkeammasta pitoisuudesta kohti matalampaa pitoisuutta.<sup>12</sup>

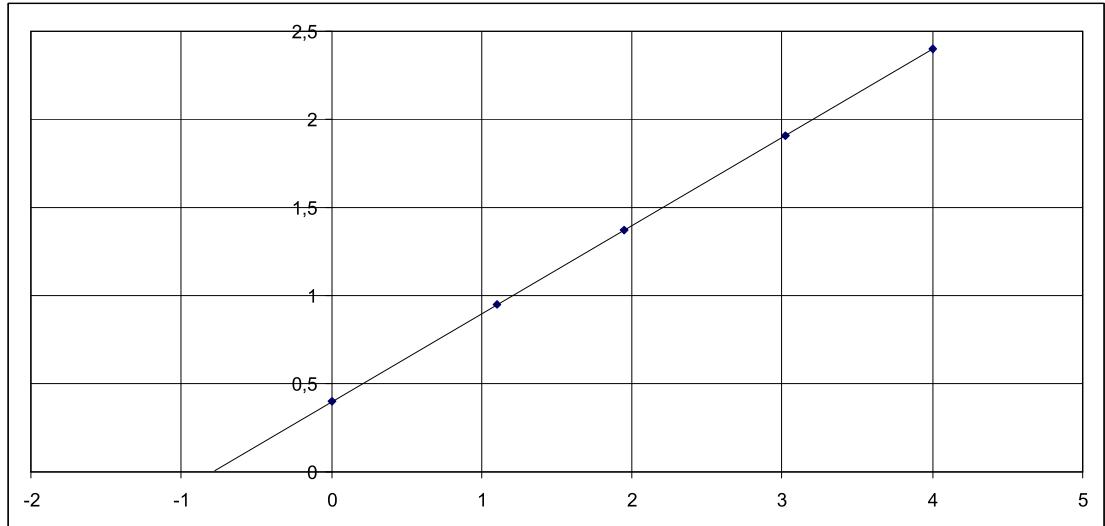
Kaasuseoksissa molekyylien liike-energia on keskimäärin sama, mistä johtuen moolimassaltaan kevyemmät molekyylit liikkuvat keskimäärin nopeammin kuin raskaammat. Tästä syystä raskaammat molekyylit kulkeutuvat ja diffundoituvat hitaammin kuin kevyemmät<sup>11</sup>.

#### 3.2 Standardinlisäysmenetelmä

Standardinlisäysmenetelmässä rinnakkaisiin näytteisiin lisätään tunnetut ja erisuuruiset pitoisuudet mitattavaa ainetta. Kun mitatut vasteet esitetään standardilisäysten kasvun funktiona, saadaan kuvaaja, joka leikkaa y-akselin nollanäytettä vastaavassa kohdassa

ja x-akselin näyttöön todellisen pitoisuuden itseisarvoa vastaavassa kohdassa.

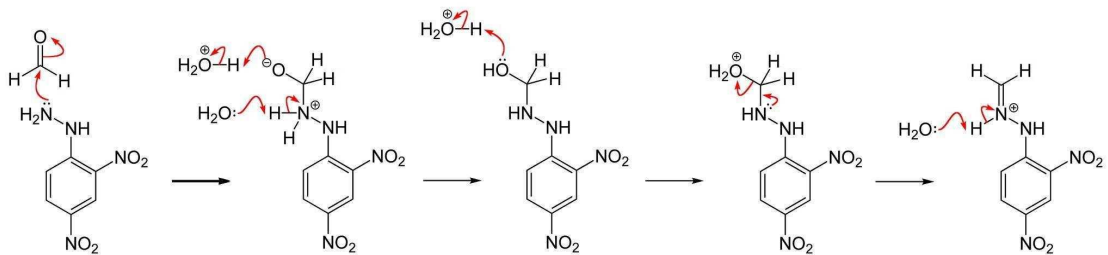
Kuvitteellinen esimerkki standardinlisäysmenetelmällä saadusta graafisesta kuvaajasta on esitetty kuviassa 3.<sup>12</sup>



Kuva 3. X-akselilla on standardinlisäyksen suuruus ja y-akselilla mitattu vaste.

### 3.3 Bradyn koe

Niin ketonit kuin aldehyditkin reagoivat 2,4-dinitrofenyylihydraattiin (DNPH) kanssa happamissa olosuhteissa. Tämä niin kutsutun Bradyn kokeen reaktio formaldehydillä on esitetty kuvassa 4. Formaldehydin DNPH-johdannaisista kutsutaan formaldehydi-2,4-dinitrofenyylihydraatsoniksi. Formaldehydi-2,4-dinitrofenyylihydraatsoni on analysoitavissa HPLC:lla.<sup>13</sup>



Kuva 4. Bradyn koe formaldehydillä. Formaldehydi muodostaa 2,4-dinitrofenyylihydraattiin kanssa happamissa olosuhteissa formaldehydi-2,4-dinitrofenyylihydraatsonin<sup>e</sup>

Opinnäytetyössä valmistettiin erityinen formaldehydin keräin lasikuitusuodattimesta, jossa on oikeat olosuhteet Bradyn kokeelle ja siten formaldehydin sitoutumiseksi formaldehydi-2,4-dinitrofenyylihydratsoniksi. Näytteestä vapautuva formaldehydi höyrystyy ja diffundoituu suljetun astian ilmatilassa suodattimelle. Tätä kutsutaan closed container diffusion (CCD) –menetelmäksi. Formaldehydi-2,4-dinitrofenyylihydratsoni voidaan desorboida suodattimelta asetonitriiliin.

### 3.4 DNPH:n suolan ja suodattimien valmistus

Punnitaan 4 g DNPH:a ja uudelleenkiteytetään kaksi kertaa 100 ml:sta 4 M HCl:a. Syntyneet keltaiset kiteet kuivataan vesi-imussa. Uudelleenkiteytetty DNPH säilyy pakastimessa (-18 °C) 2 kk. Huoneenlämmössä vaarana on sekä reagointi ilman aldehydien kanssa että hajoaminen. 300 mg DNPH:n suolaa liuotetaan 0,5 ml:aan 85 % fosforihappoa, 1,5 ml:aan 20 % glyserolin etanoliliuosta ja 9 ml:aan asetonitriiliä. Whatman GF/B halk. 25 mm lasisuodattimet kastetaan DNPH-liuokseen muutamaksi sekunniksi ja siirretään kuivumaan valolta suojattuna. Massanlisäyksen tulee olla vähintään 2 mg. Suodattimet säilytetään pakastimessa (-18 °C).<sup>14</sup>

### 3.5 Vapaan formaldehydin määrittäminen CCD-menetelmällä

Analyseja varten näytettä punnitaan 0,49 – 0,50 g suoraan CCD-astian pohjalle. Työssä käytetty CCD-astia on esitelty kuvassa 5 tyhjänä. Korkkiin kiinnitettyyn PVC-päällysteiseen rautalankaan asetetaan DNPH-suodatin. Kuvassa 6 näkyy suodattimen asettelu keräyksen aikana. Keräysaika pidetään vakiona: 20 h tai 40 h ja lämpötila vakiona +35 °C.



*Kuva 5. Työssä käytetyn Closed container diffusion eli CCD-astian rakenne.*



*Kuva 6. Closed container diffusion eli CCD-astia keräyksessä. DNPH-suodatin roikkuu PVC:llä päällystetyn rautalankatelineen varassa. Astiaan kirjoitettu teksti on häivytetty jälkikäteen kuvanmuokkausohjelmalla.*

Keräyksen päätyttyä suodatinkeräin siirretään koeputkeen ja lisätään desorbointiliuokseksi 3 ml asetonitriiliä. Putkea ravistellaan kevyesti ja pidetään tämän jälkeen ultraäänihauteessa 15 min. Koeputkia seisotetaan 15-30 min, jotta ultraäänikäsittelyssä mahdollisesti irronnut lasikuitu laskeutuu putken pohjalle, minkä jälkeen näyte on valmis kromatografista analyysia varten.<sup>14</sup>

### 3.6 Kokonaisformaldehydinin määrittäminen

Reagenssiliuos valmistetaan punnitsemalla 50 mg puhdistettua DNPH:ta 25 ml:n mittapulloon. Lisätään 6 ml konsentroitua (37 %) suolahappoa, 12,5 ml asetonitriiliä ja täytetään vedellä merkkiin.<sup>13</sup> Reagenssilioksen homogeenisuus varmistetaan käsittelemällä se ultraäänihauhteessa 15 min.

Tuotetta punnitaan tarkasti kierrekorkilliseen koeputkeen (esim. Kimax) kahta pitoisuustasoa varten. Formaldehydi uutetaan tarkasti tunnettuun tilavuuteen vettä. Punnitusmäärä ja desorbointitilavuudet vaihtelevat tuotteen formaldehydipitoisuuden mukaan, tavallisimmin käytetyt määrät ovat 50 mg ja 100 mg / 5 ml. Uutto suoritetaan tavallisimmin ultraäänihauhteessa 15 min käsittelyllä. Liukenemattomien hiukkasten annetaan laskeutua koeputken pohjalle ja tarvittaessa voidaan apuna käyttää sentrifugia, max. 2 500 rpm. Mikäli näytteessä on rasvaliukoisia ainesosia, ne voidaan poistaa uuttamalla 5 ml:lla dikloorimetaania.<sup>13,15</sup>

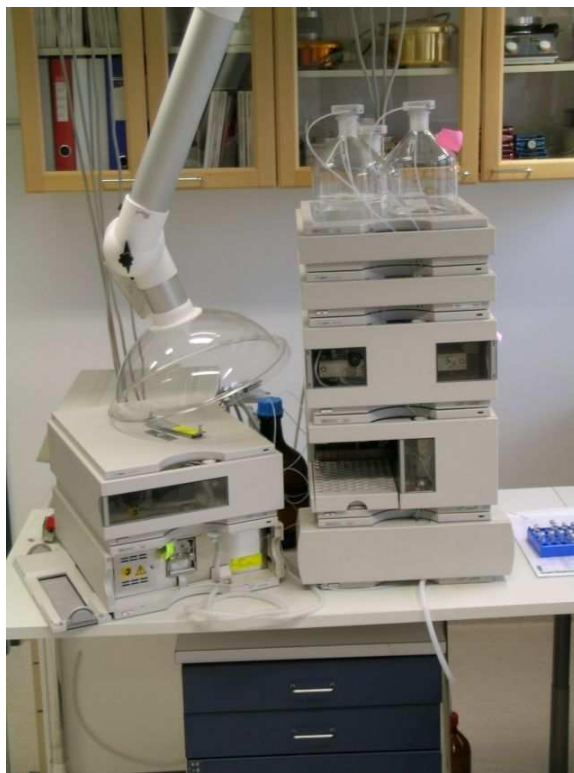
### 3.7 Kromatografinen analyysi

Analyysit suoritettiin Hewlett Packard 1100 -series HPLC (High Performance Liquid Chromatograph) laitteistoa käyttäen. Käytössä oli samanaikaisesti sekä ultravioletti- (UV) että diodirividetektorit (DAD). Laitteeseen kuului myös 100 näytteen näyteteline sekä automaattinen näytteesyöttäjä. Kromatografisen menetelmän parametrit on esitelty taulukossa 2 ja laitteisto kuvassa 7. Kromatografisen menetelmän kvantitointistandardit valmistettiin punnitsemalla suoraan formaldehydi-2,4-dinitrofenyylihydratsonia, jolloin formaliiniliuoksen pitoisuuden epätarkkuus ei lisää virhettä.



*Taulukko2 . Kromatografisen menetelmän parametrit.*

Kolonne	Chromspher 5 C18, no. 303841, cat. no. 27667, 100 x 3 mm, 5 µm
Ajoliuos	48 % ACN / 52 % vesi
Virtausnopeus	0,5 ml/min
Paine	48 bar
Injektioittilavuus ja -nopeus	5 µl, 100 µl/min
Ajoaika	10 min
Detektointiaallonpituudet	VWD 365 nm DAD 365,10 nm DAD 260,10 nm
Lämpötila	30°C



*Kuva 7. Työssä käytetty Hewlett Packard 1100-series HPLC-laitteisto.*

Yksittäisen näytteen analyysituloksen laskemiseen käytettiin ainoastaan UV-detektorin 365 nm:llä saatua vastetta. DAD 365,10 nm ja 260,10 nm signaalit toimivat ohessa tarkkailtavana referenssinä, laadunvalvontaa edistävänä tekijänä, eikä niiden

ero saanut ylittää virherajoja. Poikkeuksellisilta vaikuttavat tulokset tutkitaan tilastomatematisesti.

### 3.8 Saantokertoimen laskeminen

Kromatografisten analyysien tulosten laskemiseen käytettiin TTL:n normaalisti käytettäviä kvantitointistandardeja, jotka valmistettiin punnitsemalla suoraan formaldehydi-2,4-dinitrofenyylihydratsonia.

Saantokertoimen määrittämiseen käytettiin mallia, jossa formaldehydin kokonaismäärä on 1. CCD-astiassa olevan formaldehydin oletettiin koostuvan näyttemateriaalin vapauttamasta ja lisätystä formaldehydistä. DNPH-suodattimen pidätyskyky kokonaisformaldehydistä on X, joten muun materiaalin, eli näytteen ja ilmatilan, sitomiskyky on 1-X. Koska sitoutumisreaktio on tasapainoreaktio, tulee DNPH:ta olla reilusti ylimäärin. DNPH:n riittävyttä voidaan arvioida jälkikäteen kromatogrammeista. Oletuksena on, että materiaalin formaldehydin pidätyskyky korreloi suoraan ja lineaarisesti pitoisuuden kanssa Fickin lain mukaan. Näytteet oletetaan niin homogeenisiksi, ettei pidätyskyvyissä ole merkitseviä eroja.

Saantokertoimen laskemiseen käytetty kaava saadaan johtamalla kaava alla olevaan muotoon, kun punnitut massat eivät eroa toisistaan merkittävästi.

$$X = \frac{A - \bar{x}n}{S}$$

jossa

X = Saantokerroin

A = Analyysitulokset [ $\mu\text{g}$ ]

S = Formaldehydispikauksen määrä [ $\mu\text{g}$ ]

$\bar{x}n$  = Näytteiden analyysitulosten keskiarvo [ $\mu\text{g}$ ]

## 4 TUTKIMUKSEN TOTEUTUS

### 4.1 Tutkitut matriisit

Vaneripöly A saatiin kotimaisesta vaneritehtaasta. Kyseinen pöly tulee osastolta, jossa käsitellään fenolihartsifilmillä päällystettyjä vanereita. Vaneri B on kiinalaisvalmisteista vaneria. Koepalat sahattiin viiluihin nähden kohtisuoraan ohuina, alle 0,5 mm paksuisina siivuina. Vaneripöly B valmistettiin sahaamalla vanerilevyä hienohampaisella sahalla.

Leikkuuneste A on kasviöljypohjainen leikkuuneste, jossa on käytetty biosidina nopeasti formaldehydiä vapauttavaa *N,N*-metyleeni-bis-5-metyylioksatsolidiinia. Käyttöliuos on ohjeen mukaan 4-7 %. Opinnäytetyöhön valmistettiin 5 % vesiliuos. Leikkuuneste B on perinteinen mineraaliöljypohjainen leikkuuneste, jonka biosidi puolestaan on hitaasti formaldehydiä vapauttava metyleenibismorfoliini. Ohjeen mukainen käyttöliuos on 5-10 %, ja tutkittavaksi valmistettiin 5 % vesiliuos.

### 4.2 Käytetyt kemikaalit ja reagenssit

Tutkimuksessa käytettiin seuraavia kemikaaleja ja reagensseja:

2,4-dinitrofenyylihydratsiini, Aldrich, 97 %

Metanoli, Merck, LiChrosolv, min 99,9 %

Formaldehydi, Merck, p. a., 37-38 %

Asetonitriili, Rathburn, HPLC grade S, min. 99,7 %

### 4.3 Näytteenlisäysstandardien valmistus ja lineaarisuustesti

Menetelmää varten valmistettiin formaldehydin näytteenlisäysstandardiliuokset sekä veteen että metanoliin. Standardien pitoisuudet valittiin siten, että ne kattavat Karlbergin *et al.* tutkimuksen lineaarisen alueen. Valitut standardipitoisuudet olivat

40, 120, 200 ja 280  $\mu\text{g/lisäys}$ , kun metanolipohjaisen standardiliuoksen lisäystilavuus on 100  $\mu\text{l}$  ja vesipohjaisten 500  $\mu\text{l}$ . Menetelmän toimivuus ja standardien lineaarisuus testattiin molemmilla standardisarjoilla lisäämällä pelkkä standardilisäys CCD-astian pohjalle ja keräämällä suodatinkeräykset. Kunkin standardilisäyksen suodatinkeräykset suoritettiin kahdella suodattimella siten, että ensimmäinen suodatinkeräin oli CCD-astiassa 20 h, jonka jälkeen vaihdettiin toiset suodatinkeräimet. Toisten suodatinkeräinten keräysaika oli 19,5 h, jolloin suodattimien keräysaika oli yhteensä 39,5 h. Nollanäytteenä käytettiin kummankin standardisarjan liuotinta samassa tilavuudessa kuin standardilisäys. Keräysten tulokset on esitetty liitteessä 1.

#### 4.4 Kokonaisformaldehydipitoisuudet näytematriiseissa

Kokonaisformaldehydin määrittämisen tuloksia tarvittiin DNPH-suodatinkeräysanalyysien tulosten luotettavuuden sekä menetelmän käyttökelpoisuuden arviointiin sekä taustatiedoksi auttamaan näytematriisien massojen valintaa. Kustakin tuotenäytteestä otettiin kaksi eri massaa analyysia varten. Punnitut massat sekä desorbointitilavuudet on esitetty analyysituloksineen liitteessä 2.

#### 4.5 Näytteenlisäysformaldehydin pitoisuustesti ja standardien säilyvyyskoe

Käytetyn formaldehydilaadun tarkan konsentraation määrittämiseksi suoritettiin kromatografinen analyysi näytteenlisäysstandardeille. Suodatinkeräinmäärittämissä käytettäväksi valmistettiin uudet näytteenlisäysstandardit vanhojen mahdollisen ikääntymisen vuoksi. Molempia näytteenlisäysstandardisarjoja injektointiin menetelmän mukainen tilavuus (100  $\mu\text{l}$ ) DNPH-suodattimille. Suodattimet preparoitiin ennen analyysia kuten kohdassa 3.5. Tulokset on esitetty liitteessä 3.

#### 4.6 Diffuusiomenetelmän testaus

Menetelmän testaukseen päätettiin olla ottamatta mukaan suurinta näytteenlisäysstandardia. 20 tunnin keräykseen otettiin kaikista näytematriiseista kaksi rinnakkaista näytettä ilman näytteenlisäysstandardia sekä kolmella pienimmällä

näytteenlisäysstandardilla käsitellyt näytteet matriiseista vaneripöly A, leikkuuneste A sekä vaneri B. Lisäksi 20 h:n keräykseen otettiin nollanäytteiksi mukaan kaksi vesinäytettä, joihin lisättiin 100 µl metanolia. 39,5 h:n keräykseen yhdellä suodattimella otettiin kaksi rinnakkaista näytettä ilman näytteenlisäysstandardia sekä kaksi rinnakkaista näytettä 115,8 µg:lla standardilisäyksellä matriiseista vaneripöly A ja leikkuuneste A.

## 5 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELO

### 5.1 Kromatografisen menetelmän lineaarisuustesti näytteenlisäysstandardeilla

Lineaarisuustestin tulokset on esitetty tarkemmin liitteessä 1. Kuten liitteen sivujen 2 ja 3 tulosteista nähdään, kromatografinen menetelmä toimi sekä vesipohjaisilla että metanolipohjaisilla näytteenlisäysstandardeilla riittävällä tasolla.

Nollanäytteillä jopa juuri puhdistetusta vedestä havaittiin pieniä pitoisuuksia formaldehydiä. Nämä selittynevät samassa vetokaapissa käsitellyillä näytteenlisäysstandardeilla, joista haihtunutta formaldehydiä ja metanolia vesi tai näytteenkeräyssuodatin lienee absorboinut. Metanolin selkeästi korkeammat ja liki samalla tasolla keräyksien välillä pysyneet formaldehydipitoisuudet selittyvät pitkälti metanolin hapettumisella formaldehydiksi sekä absorptiosta kuten vesipohjaisten nollanäytteidenkin formaldehydi.

Liitteen 1 sivun 2 kuvaajassa yhden näytteenkeräyssuodattimen menetelmällä suurimman vesipohjaisen näytteenlisäysstandardin (268,9 µg) kohdalla lienee jo havaittavissa sama formaldehydin pidätyskyvyn tasapainon siirtyminen vesifaasin puolelle formaldehydipitoisuuden kasvaessa suureksi, kuin minkä Karlberg *et al.* on havainnut.

Kahden suodattimen menetelmällä vesipohjaisilla tai metanolipohjaisilla näytteenlisäysstandardeilla ei ollut havaittavissa vastaaavanlaista käyrän tasoittumista, kuten voidaan havaita liitteen 1 sivun 3 kuvaajasta. Metanolipohjaisilla näytteenlisäysstandardeilla ei ole myöskään merkittävää eroa lineaarisuuksissa yhden ( $R = 0,9997$ ) ja kahden suodattimen ( $R = 1,0000$ ) menetelmien välillä.

Metanolipohjaisilla standardeilla kahden suodattimen menetelmällä nollanäytteen tulos (0,5138 µg) nousee liki kaksinkertaiseksi, ilmeisesti metanolin hapettuessa formaldehydiksi tasapainon asettuessa uudelleen DNPH-suodattimen vaihdon jälkeen.

Mielenkiintoinen korrelaatio havaittiin vertailtaessa metanolipohjaisten näytteenlisäysstandardien ensimmäisen ja jälkimmäisen DNPH-suodatinkeräysten analyysituloksien pitoisuuksia. Kuten liitteen 1 sivun 4 kuvaajasta havaitaan, on selvä negatiivinen korrelaatio ( $R = 0,9993$ ) formaldehydistandardin pitoisuuden ja toisen suodatinkeräyksen analyysituloksen välillä. Vaikka aluksi vaikuttaisi, että suurimman metanolipohjaisen näytteenlisäysstandardin ( $279,7 \mu\text{g}$ ) toisen suodattimen jopa nollanäytteen suodattimien tuloksia alhaisempi pitoisuus ei voi olla oikein, puoltaa korrelaatiokerroin tulosten oikeellisuutta.

Vesipohjaisten standardien kohdalla johtopäätösten tekeminen on mutkikkaampaa. Kolmen suurimman standardin datapisteen välillä näyttäisi olevan selvä positiivinen korrelaatio ( $R = 0,9993$ ). Se, että pienin standardi ei osu tälle katkoviivalla piirretylle suoralle saattaa olla satunnainen virhe, tai sitten yhtäjaksoisella viivalla piirretty käyrä on oikeellisempi. Tästä ei datapisteiden vähyyden vuoksi voida sanoa mitään varmaa.

Metanolipohjaisten näytteenlisäysstandardien ainoaksi huonoksi puoleksi näytti siis jäävän metanolin hapettumisesta johtuva taustan kasvu. Vesipohjaisiin standardeihin verrattuna parempien korrelaatiokertoimien lisäksi etuna oli pienemmän standardilisäytilavuuden suorittaminen injektioruiskulla, joka koettiin vaivattommaksi, tarkemmaksi sekä nopeammaksi, kuin vesipohjaisten standardien pipetointi, ja tulokset puhuvat sen puolesta. Pyrittäessä luomaan uutta menetelmää, tuo vähäisempi työmäärä taloudellisesti säästöjä niin materiaali- kuin työaikakuluissa. Kahden suodattimen käytölle ei löytynyt perusteita. Standardisarjoilla ilmenneiden eroavaisuuksien perusteella päädyttiin käyttämään metanolipohjaisia näytteenlisäysstandardeja sekä yhden DNPH-suodattimen keräystä.

## 5.2 Kokonaisformaldehydipitoisuudet näyttematriiseissa

Kokonaisformaldehydimäärityksen tulokset on esitetty tarkemmin liitteessä 2. Vaneripölynäyte A:n tuloksissa oli 37,3 % ero ja vaneripöly B:n tuloksissa 13,7 % ero kahdessa rinnakkaisessa pitoisuusanalyysissä.

Ongelmana on vaneripölynäytteiden kohdalla myös näytematriisien heterogeisuus. Vanereissa formaldehydi sijaitsee pääosin viilujen välisessä liimahartsissa, joten näytteen formaldehydipitoisuus riippuu viime kädessä liimahartsin osuudesta näytteessä. Näytteen massan kasvattaminen ja partikkelikoon pienentäminen mahdollisesti vähentäisivät analyysitulosten suhteellista hajontaa.

Vaneri B:n rinnakkaiset analyysit antoivat 36,1 % eron formaldehydipitoisuudessa. Kuten vaneripölynäytteissäkin, myös vanerinäytteissä suurin virheen tuoja lienee liimahartsin suhteellisen osuuden vaihtelu näytepaloissa, joskin vaneripaloissa heterogeisuus vielä korostuu Tätä virhettä pyrittiin vähentämään leikkaamalla näytekappaleet pystysuoraan viiluihin nähden, mutta ilmeisesti myös työstövaiheessa puuviilun ja hartsikerroksen erilaiset murtuvuus- ja kovuusominaisuudet vaikeuttavat huomattavasti vertailukelpoisten näytteitten ottamista.

Mielenkiintoinen havainto on, että kaikkien vanerimatriisien kohdalla pienimmällä massalla suoritettu analyysi antoi suurimman tuloksen kokonaisformaldehydipitoisuudeksi. Ennakolta olisi ollut odotettavissa, että adsorbointiveden ollessa massaltaan (n. 5 g) niin paljon suurempi kuin desorboitavien näytteitten massat (48,9 - 400,5 mg), liukenisi formaldehydi aina lähes täydellisesti desorbenttiin. Liitteen 2 sivun 2 kuvaajaan on asetettu vaneripöly B:n ja vaneri B:n analyysitulokset. Asetelma havainnollistaa riippuvuussuhdetta, vaikkakin saattaa erheellisesti saada olettamaan vanerijauheen ja -palat toisiaan keskenään vastaaviksi näytteiksi. Huolimatta siitä, että vaneri B:n toinen datapiste osuu vaneripöly B:n kuvaajalle, ei näytesarjoja voi pitää toisiaan vastaavina ja olettaa yhden ainoan käyrän tasoittuvan, sillä datapisteiden vähyyden (2) vuoksi kyseessä on todennäköisesti silkka sattuma. Tämän teoreettisen pohdinnan tuloksena on kuitenkin perusteltua käyttää kaikkien vanerinäytteiden kohdalla laskuissa pienemmällä massalla saatua analyysitulosta. Vastaisuudessa suurempien desorbointitilavuuksien käyttö on suositeltavaa, eikä analysoitavan matriisin massan alentamista voida suosittella, jottei punnitusepävarmuus kasva.

Leikkuunesteiden pitoisuudet kahdella rinnakkaisella ovat hyvin lähelle samaa luokkaa (erot 0,7 ja 2,1 %). Tämä kertonee näytematriisin suhteellisen suuresta



homogeenisuudesta verrattuna vaneri- sekä vaneripölynäytteisiin. On kuitenkin myös huomioitava, että leikkuunesteet sekoittuvat lähes täydellisesti veteen, jolloin desorbointi tapahtuu nopeasti. Vanerien formaldehydin siirtyminen kiinteistä, suhteellisen poolittomista hartsiartikkeleista on todennäköisesti hitaampi prosessi. Tästä syystä myös desorbointiaikoja saattaa olla tarve vastaisuudessa kasvattaa. Leikkuunesteiden näytteenottoon liittyvät hankaluudet ovat verrattain vähäisiä. Näyteliuokset ovat helposti pipetoitavia pasteur-pipetillä punnittaessa, tuotteen käyttäytessä hyvin paljolti veden kaltaisesti.

### 5.3 Formaldehydireagenssin pitoisuudesta ja näytteenlisäysstandardien säilyvyyskoe

Säilyvyyskokeen tulokset on esitetty yksityiskohtaisesti liitteessä 3 sivulla 1. Näytteenlisäysstandardien vertaamiseksi tehtiin sarjojen tuloksille kaksisuuntainen Studentin t-testi.

Vapausaste  $v$

$$v = n_1 + n_2 - 2$$

$$v = 4 + 4 - 2 = 6$$

Yhdistetty estimaatti:  $S_E$

$$s_E^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

$$s_E^2 = \sqrt{\frac{(4-1)0,278^2 + (4-1)0,130^2}{4+4-2}} \approx 0,2170$$

Keskiarvojen erotuksen keskivirhe

$$SE(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) = s_E \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}$$

$$SE(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) = 0,2170 \sqrt{\frac{1}{4} + \frac{1}{4}} \approx 0,1534$$

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2 - \delta}{SE(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}$$

$$t = \frac{|35,532 - 36,318 - 0|}{0,1534} \approx 5,124$$

Taulukkoarvo t:lle, kun  $v = 695$  % luottamustasolla on 2,447, joten näytteenlisäysstandardisarjojen välillä on merkitsevä ero. Johtopäätöksenä todettiin standardisarjojen vanhentuneen 17 vrk:n säilytyksen aikana jääkaapissa + 4 °C:ssa.

Formaliinin pitoisuudeksi saatiin uuden näytteenlisäysstandardisarjan keskiarvona 36,3 % [w/v]. Diffuusiomenetelmän testaukseen valittiin uudempi näytteenlisäysstandardisarja. Suhteellisen keskihajonnan perusteella (RSD = 0,36 %) standardisarjaa voidaan pitää tarkkuudeltaan onnistuneena.

#### 5.4 Diffuusiomenetelmän testaus

Diffuusiomenetelmän testauksen tulokset on esitetty liitteessä 4. 20 tunnin keräyksissä vaneripöly A:n sekä leikkuuneste A:n käsittelemättömien tuotenäytteitten saantokertoimen laskemiseen käytettiin pienimmän näytteenlisäysstandardin (38,9 µg) saantokerrointa. Saantokertoimen oikeellisuudesta ei voida olla varmoja, mutta käytetyistä näytteenlisäystasoista se on lähimpänä käsittelemättömä tuotenäytettä, ja suunnilleen samaa pitoisuustasoa.

Vaneripöly B:n sekä leikkuuneste B:n käsittelemättömien tuotenäytteiden vapaiden formaldehydipitoisuuksien laskemiseen käytettiin vastaavien matriisien 38,9 µg:n formaldehydillä näytelisytyjen näytteiden saantokertoimia. Vaneripöly B:n suuren analyysituloksen vuoksi käytettyä kerrointa (0,9053) ei voida pitää kovinkaan oikeellisena, vaan suuntaa antavana. Leikkuuneste B:n vapauttaa formaldehydiä huomattavasti leikkuuneste A:ta nopeammin, ja sen rinnakkaiset analyysitulokset ovat leikkuuneste A:n pienimmällä näytteenlisäysstandardilla (38,9 µg) käsitellyn kanssa hyvin lähellä samaa tasoa, joten saman saantokertoimen käyttö on perusteltua.

Vaneripöly B:n toiseksi massaksi valittu, n. puolet kevyemmän näytteen (0,2473 g) analyysitulokset (258,0 µg/g) verrattuna menetelmän ohjeen mukaisesti punnitun

näytteeseen (0,5007 g) analyysitulokseen (165,9 µg/g) on 55,5 % suurempi. Pienempi ainemäärä diffundoituu nopeammin kuin iso, vaikka vuo onkin pienempi. Verrattaessa vaneripöly A:n 20 h ja 39,5 h kestäneiden tuotenäytteiden keräysten tuloksia, voidaan todeta, ettei tasapaino suljetussa systeemissä ole vielä 20 h:ssa asettunut. Vaneripöly siis pidättää sisältämänsä formaldehydiä tehokkaasti.

Leikkuunesteet ovat melko homogeenisiä, mutta niilläkin havaittiin vaneripölyjen tavoin samanlainen suodattimen sitoman formaldehydin määrän yllättävä kasvu isolla, n. 200 µg:n standardinlisäyksellä. Tämä johtunee näytematriisin pidätyskapasiteetin loppumisesta kesken eli liian suuresta näytteenlisäysstandardista näytteen massaan nähden. Kuvaajina tämä on esitetty liitteen 4 sivuilla 4-6.

Verrattaessa leikkuuneste A:n 116,8 µg:n näytteenlisäyksillä 20 ja 39,5 h:n keräyksiä, havaitaan tulosten olevan samaa tasoa. Tasapaino on saavutettu siis jo ennen 20 h:n keräyksen päättymistä. Analyysitulosten keskiarvo käsittelemättömillä tuotenäytteillä eri keräysaikojen välillä kasvaa 20 h:n 9,0 µg:sta 39,5 h:n 16,6 µg:n. Muutos johtuu biosidin hajoamisesta, kun hajoamistuotetta eli formaldehydiä ei ole lisätty tasapainoa siirtämään. 39,5 h:n käsittelemättömien tuotenäytteiden keräysten vapaan formaldehydin tulosten laskemiseen päätettiin käyttää vastaavaa kerrointa kuin 20 h:n, sillä tieto nopeasta tasapainottumisesta antoi olettaa arvon olevan käytettävissä olevista luvuista oikeellisin.

Vaneripalojen käytössä osoittautui, että saantokerroin pieneni, mitä enemmän formaldehydiä lisättiin. Itse näytepaloista siis vapautui formaldehydiä enemmän kuin mitä näytteisiin oli lisätty näytteenlisäysstandardeilla. Jo kokonaisformaldehydi-analyysi antoi viitettä siitä, että edustavan näytepalan otto vanerista on erittäin haastavaa. Tulokset viittaavat vahvasti näytepalojen vaihteleviin hartsiosuuksiin, mikä puoltaa ennemmin hienojakoisen vaneripölyn käyttöä analyysissä. Näiden tulosten valossa ei ole mielekäästä laskea tuotenäytteille saantokerrointa tai arvioida vapaan formaldehydin pitoisuutta näytteistä.

### 5.5 Vapaan formaldehydin pitoisuudet tutkituissa matriiseissa ja tulosten vertailu kokonaisformaldehydipitoisuuteen

Kuten liitteen 5 sivujen 2 ja 3 kuvaajista voidaan todeta, näytteiden formaldehydin osatekijöiden summa ja analyysitulokset korreloivat selvästi, joskaan eivät kovin lineaarisesti, keskenään, kun kyseessä on hienojakoinen tai nestemäinen tuotenäyte. Vanerilla B, jonka kuvaaja löytyy liitteen 5 sivulta 4, hajonta näyttää kuitenkin olevan täysin riippumaton lisäystä formaldehydistä, lähinnä kappaleessa 5.4 esitetyistä syistä johtuen. Vaneri B:n massoissa on varsin suurta vaihtelua, sillä näytepaloja koostettaessa keskityttiin mittaamaan pinta-aloja. Kuitenkin kappaleiden massat ovat ainoa tapa arvioida niiden sisältämää kokonaisformaldehydiä. Kuten kappaleessa 5.4 korostettiin, odotettavissa olevat vaihtelut vaneripalojen kokonaisformaldehydissä olivat suuria.

### 5.6 Menetelmän arviointia

Työssä käytetty astiatyyppi poikkeaa rakenteeltaan Karlbergin *et al.* käyttämistä, mutta tällä ei pitäisi olla käytännön vaikutusta tuloksiin. Suodatinkeräin asettuu astiassa lähelle analysoitavaa näytettä eikä paperiliittimen mallinen pidike peitä keräyssuodattimen pinta-alaa juurikaan.

Suodatinkeräinten formaldehydin pidätyskyky on saattanut alentua erittäin suurilla pitoisuuksilla, mutta formaldehydin lineaarisuustestissä suoritetuissa analyyseissä jopa kaikkein suurimman käytetyn metanolipohjaisen näytteenlisäysstandardin (279,7 µg) analyysin kromatogrammissa on havaittavissa vielä huomattavan paljon sitoutumatonta DNPH:a. Vaikutuksia tasapainon asettumiseen jo kuitenkin mitä luultavimmin löytyy.

Näytteenlisäysstandardien kokoluokat arvioitiin väärin, ja käytetyt pitoisuudet olivat liian suuria suhteessa näytteiden formaldehydipitoisuuksiin ja massoihin. Suuret formaldehydipitoisuudet myös hidastavat systeemin tasapainottumista Fickin lain mukaan. Tulevissa tutkimuksissa tulisikin keskittyä käyttämään näille matriiseille

useampia näytteenlisäysstandardipitoisuuksia matalammilla pitoisuuksilla sekä alhaisemmalla vaihteluvälillä, kuin mitä tässä tutkimuksessa käytettiin. Niin kasvaisi myös tulosten luotettavuus.

Vaneripölynäytteiden keräysten lämpötilan muutos voisi parantaa tuloksia. Lämpötilan nosto kasvattaisi formaldehydin höyrynpainetta sekä nopeuttaisi tasapainon asettumista suuremmasta kaasumolekyylien nopeudesta johtuvasta diffuusiokertoimen kasvusta.

Vanerin analysoiminen CCD-menetelmällä voisi onnistua paremmin muuttamalla näytteenottoa. Ongelmattomampi tapa voisi olla leikatun näytepalan kasvattaminen sekä mittaaminen punnitukseen sijaan pelkästään pinta-alan mukaan. Tällöin tulisi huolehtia näytepalojen viilujen vastaisesti leikattujen pintojen peittämisestä, jotta variaatiot näytepalojen paksuuksissa, mikä vaikuttaa suoraan ilmatilan kanssa kosketuksissa olevan liimahartsin suhteelliseen määrään, eivät vaikuttaisi tuloksiin. Työssä saatujen empiiristen kokemusten mukaan metanolipohjaiset formaldehydistandardit imeytyvät kuivaan vaneriin tehokkaasti. Edellä kuvatulla menetelmällä on kuitenkin odotettavissa, että keräysaika joudutaan kasvattamaan ja formaldehydin lisäykset on pidettävä hyvin maltillisina.

## 6 YHTEENVETO

Selvityksessä ei onnistuttu luomaan uutta menetelmää vapaan formaldehydin määrittämiseksi uusista matriiseista DNPH-suodatin menetelmällä annetuissa aikarajoissa. Verrattuna Karlbergin *et al.* menetelmään, käytetyt vanerimatriisit ovat varsin heterogeenisiä näyttemateriaaleja, mikä vaikeuttaa edustavan näytteenottoa. Ongelmia tuottivat myös väärin arvioidut näytteenlisäysstandardien pitoisuudet. Kaiken kaikkiaan kerätyn datan määrä, josta olisi tehtävä pitkälle meneviä päätöksiä, on liian pieni, mutta annetut aikarajat niin kromatografilaitteiston käytölle kuin työn suorittamiselle eivät valitettavasti antaneet mahdollisuuksia työn laajentamiseen. Menetelmän onnistumisesta oltiin myös tutkimuksen alussa liian varmoja, mikä johti osaltaan siihen, ettei datan laajuuteen osattu kiinnittää riittävästi huomiota.

Menetelmä voitaisiin saada toimivaksi, kun etukäteen suoritettujen kokonaisformaldehydianalyysien pohjalta suunniteltaisiin kullekin näytteelle sopiva massa ja käytettävät näytteenlisäysstandardit. Tämä kuitenkin vie pohjaa tutkimuksen alkuperäiseltä tarkoitukselta, luoda mahdollisimman nopea ja vaivaton menetelmä formaldehydin määrittämiseksi eri matriiseille. Tarve uudelle menetelmälle on kuitenkin yhä olemassa, eikä poistu ennen kuin parempi menetelmä kehitetään tai kunnes formaldehydin käyttö pystytään korvaamaan teollisuudessa mahdollisimman pitkälle. Nykyisen kaltaisena tämän menetelmän mahdollinen jatkokehittäminen kannattaa keskittää leikkuunesteille, jotka osoittautuivat kokeissa ongelmattomimmiksi ja yllätyksettömimmiksi.

## 7 LÄHTEET

<sup>1</sup>Comission Directive of 4<sup>th</sup> April 1990 (90/207 EEC) Identification and Determination of Free Formaldehyde. Official Journal of European Communities L108, 92-101

<sup>2</sup>Karlberg, A. (*et. al*) (1998) A Method for Quantification of Formaldehyde in the Presence on Formaldehyde Donors in Skin-Care Products, Contact Dermatidis, 38, 20-28

<sup>3</sup>Bruice, P. Y. (2006) Essential Organic Chemistry, ss. 320-321, Pearson Education, inc.

<sup>4</sup>Rosenberg, C. & Priha, E. (2005) Formaldehydi. Kirjassa: Pietikäinen R. (toim.) Kemikaalit ja työ – selvitys työympäristön kemikaaliriskeistä. ss. 147-149., Työterveyslaitos, Vammalan kirjapaino oy, Vammala.

<sup>5</sup>Koulu M. ja Tuomisto J., (2001) Farmakologia ja Toksikologia, 6. painos ss. 917-918, 1107, Gummerus, Jyväskylä

<sup>6</sup>Pennanen, S. (2005) Biosidit. Kirjassa: Pietikäinen R. (toim.) Kemikaalit ja työ – selvitys työympäristön kemikaaliriskeistä. ss. 232-235., Työterveyslaitos, Vammalan kirjapaino oy, Vammala.

<sup>7</sup>Office of Environmental Health Hazard Assesment, State of California:  
Formaldehyde, Chronic Toxity Summary  
Saatavilla www-muodossa: [http://www.oehha.ca.gov/air/chronic\\_rels/pdf/50000.pdf](http://www.oehha.ca.gov/air/chronic_rels/pdf/50000.pdf)  
[Online, viitattu 14.5.2009]

<sup>8</sup>Haavisto A., Nikkola J., Viljanmaa L. (2000) Kemia 2 – Elämän kemia, ss. 53-55, 104, 110, kustannusosakeyhtiö Tammi, Rauma

<sup>9</sup> IUPAC: Important petrochemical products: methanal (formaldehyde).

Saatavilla www-muodossa:

<http://old.iupac.org/didac/Didac%20Eng/Didac02/Content/P16.htm>

[Online, viitattu 27.3.2009]

<sup>10</sup> Työterveyslaitos, onnettomuuden vaaraa aiheuttavat aineet -turvallisuusohjeet

Saatavilla www-muodossa: <http://www.ttl.fi/ova/formalde.html>

[Online, viitattu 21.1.2010]

<sup>11</sup> Mortimer, C. E., (2001) Kemia, 3. painos, s. 114, Gummerus, Jyväskylä

<sup>12</sup> Harris, Daniel C., (2003) Quantitative Chemical Analysis, 6. painos ss. 88-90, 562

W. H. Freeman & Company

<sup>13</sup> Sisäinen työohje TuTYÖ-003-3 Kokonaisformaldehydin määrittäminen teknisistä

tuotteista DNPH-menetelmällä

<sup>14</sup> Työterveyslaitoksen sisäinen työohje TuTYÖ-008-2 Formaldehydin ja

glutaraldehydin määrittäminen ilmasta suodatintuotteen menetelmällä

<sup>15</sup> Henriks-Eckerman, M., (et. al) (2008) Analysis of Allergens in Metalworking

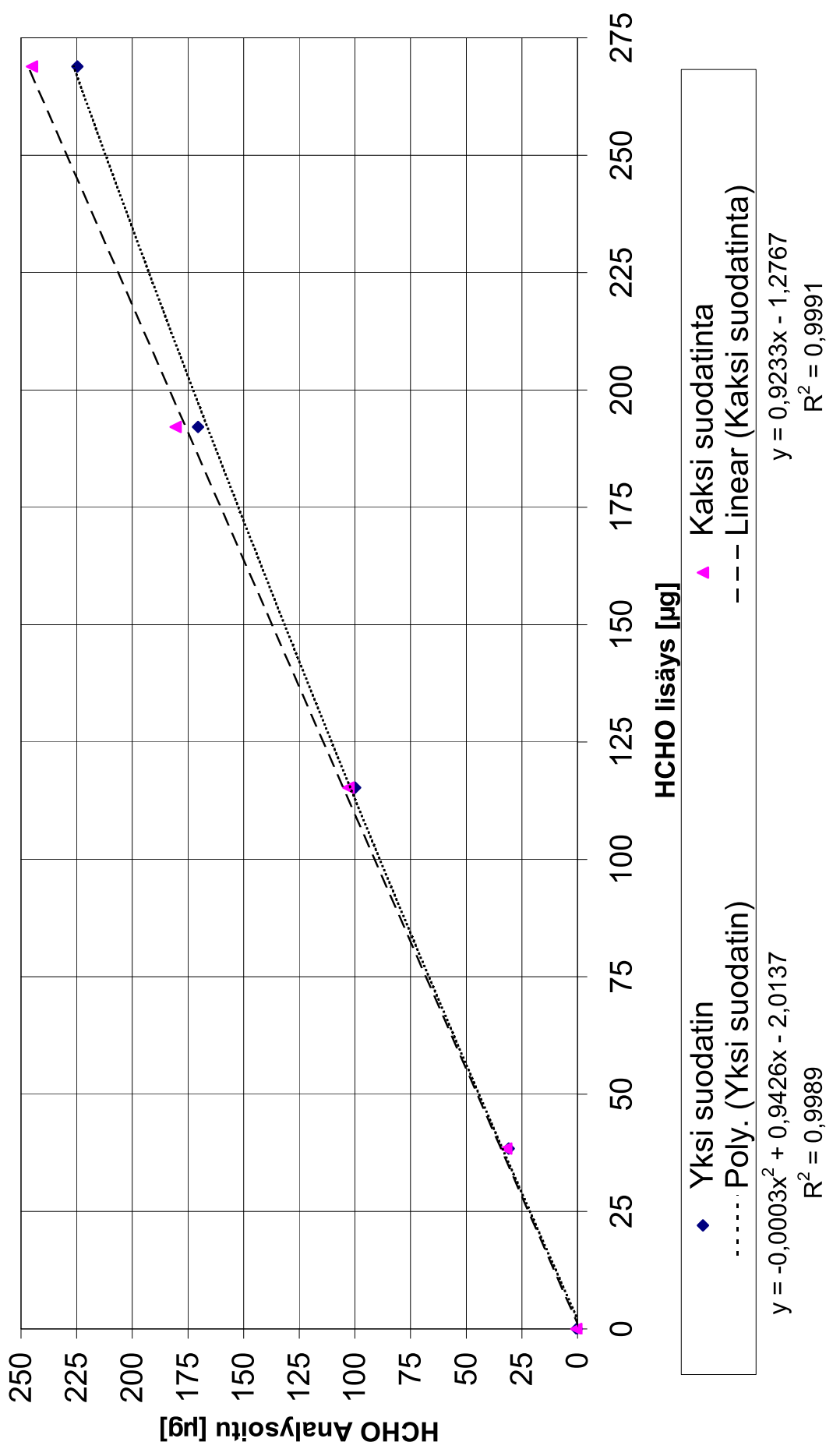
Fluids, Contact Dermatitis, 59, 261-267



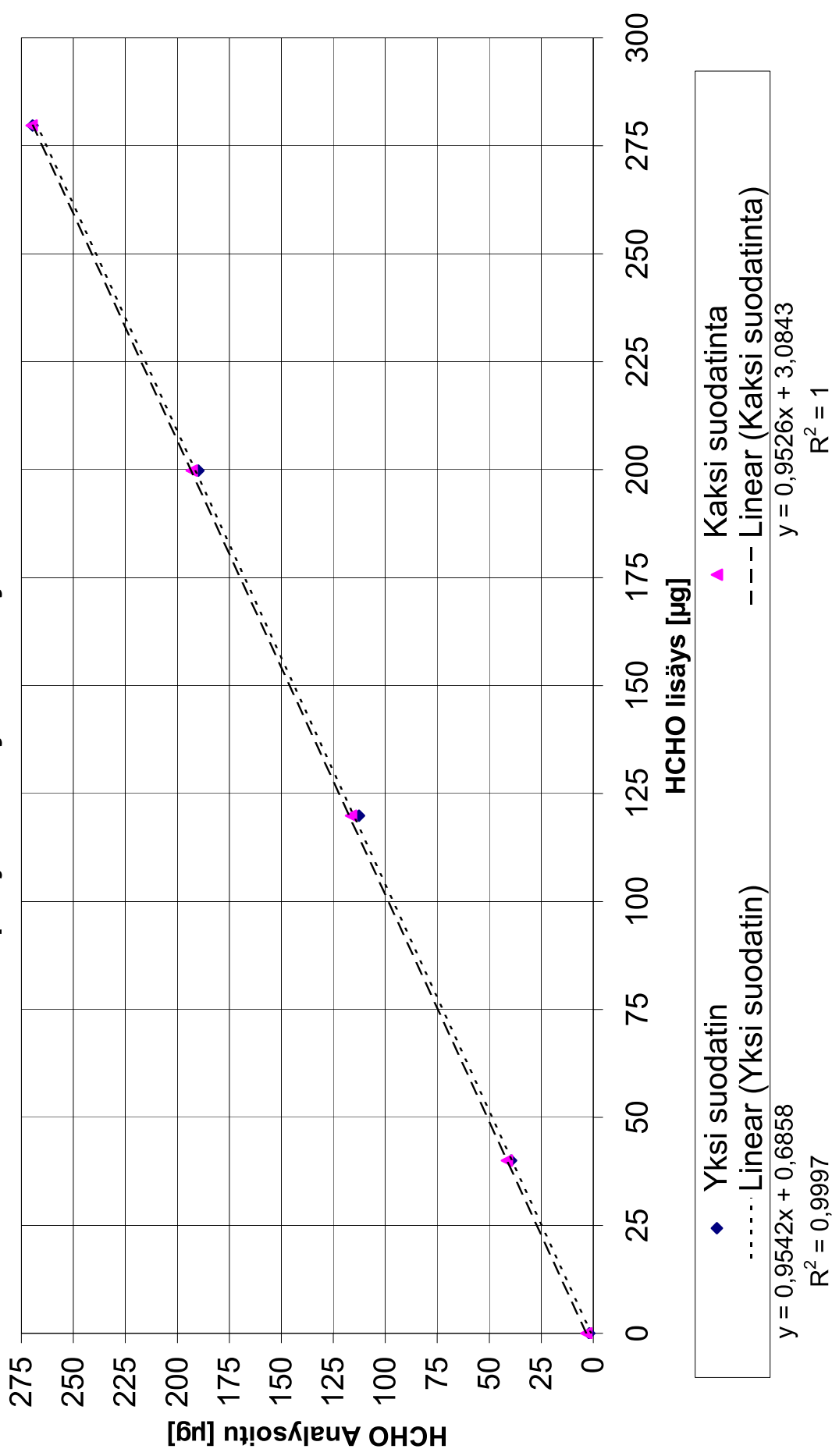
Näytteenlisäysstandardien lineaarisuustestin tulokset

Näytteenlisäysstandardien liuotin	Standardin nimellinen pitoisuus [µg HCHO]	Suodatin	Analyyisin tulos [µg]	Suodattimien pitoisuudet yhteensä [µg]	Havaittu HCHO lisäystä [%]	Jälkimmäisen suodattimen HCHO-pitoisuus suhteessa ensimmäiseen suodattimen pitoisuuteen [%]
Vesi	Nollanäyte	I	0,3744			47,2
		II	0,1768	0,5513		
	38,4	I	30,8988		80,5	3,7
		II	1,1378	32,0366	83,4	
	115,3	I	99,9289		86,7	3,0
		II	3,0332	102,9621	89,3	
	192,1	I	170,4873		88,7	5,9
		II	10,0854	180,5727	94,0	
	268,9	I	224,6751		83,6	9,1
		II	20,3956	245,0707	91,1	
Metanoli	Nollanäyte	I	1,8886			77,5
		II	1,4630	3,3516		
	40,0	I	39,5594		98,9	5,0
		II	1,9925	41,5519	103,9	
	119,9	I	112,6585		94,0	3,4
		II	3,7929	116,4514	97,1	
	199,8	I	189,9040		95,0	1,7
		II	3,2058	193,1098	96,7	
	279,7	I	269,5622		96,4	0,2
		II	0,5138	270,0759	96,56	

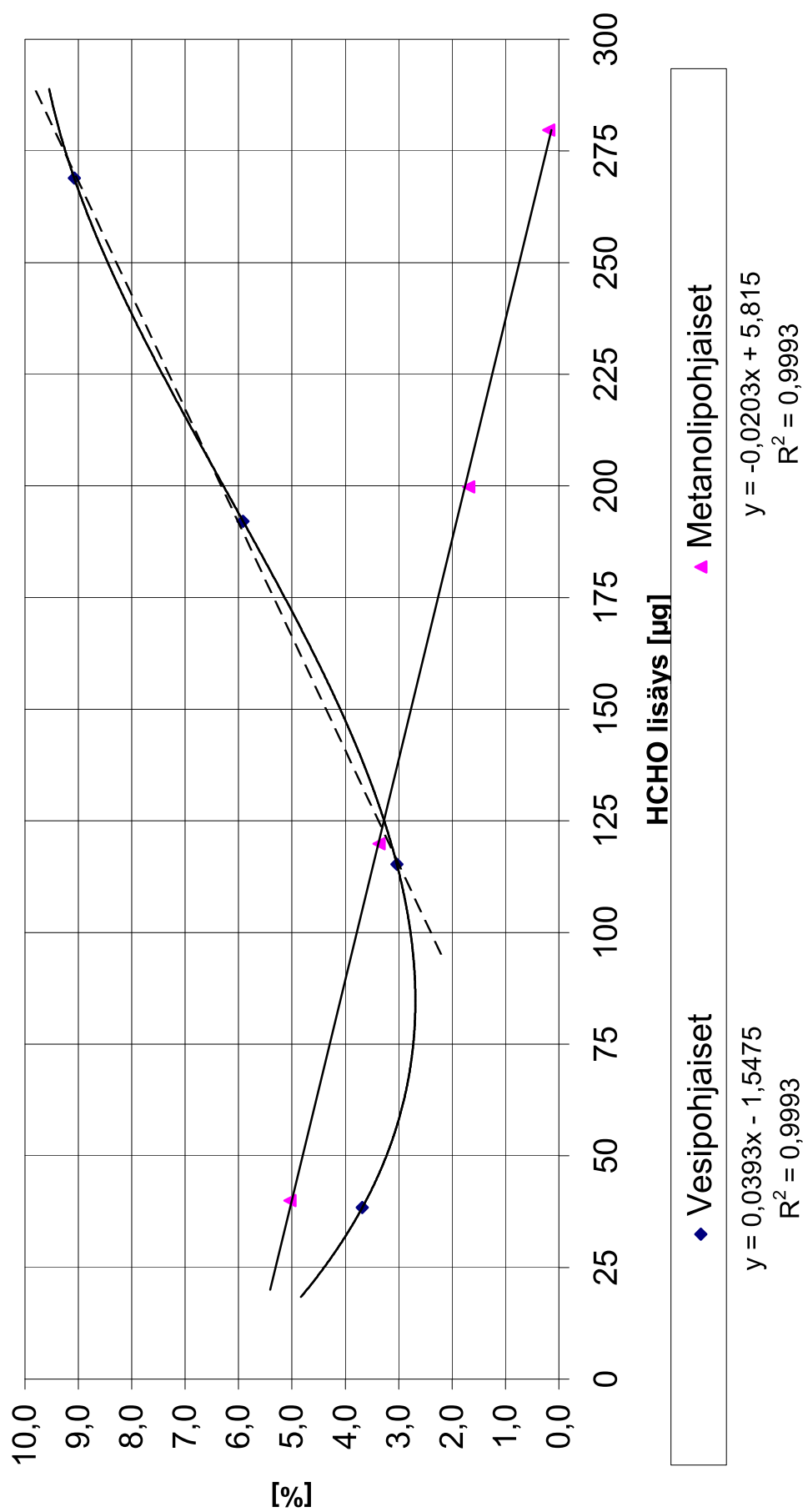
### Vesipohjaiset näytteenlisäysstandardit



### Metanolipohjaiset näytteenlisäysstandardit



### Jälkimmäisen suodattimen (II) HCHO-pitoisuus ensimmäiseen suodattimeen (I) verrattuna

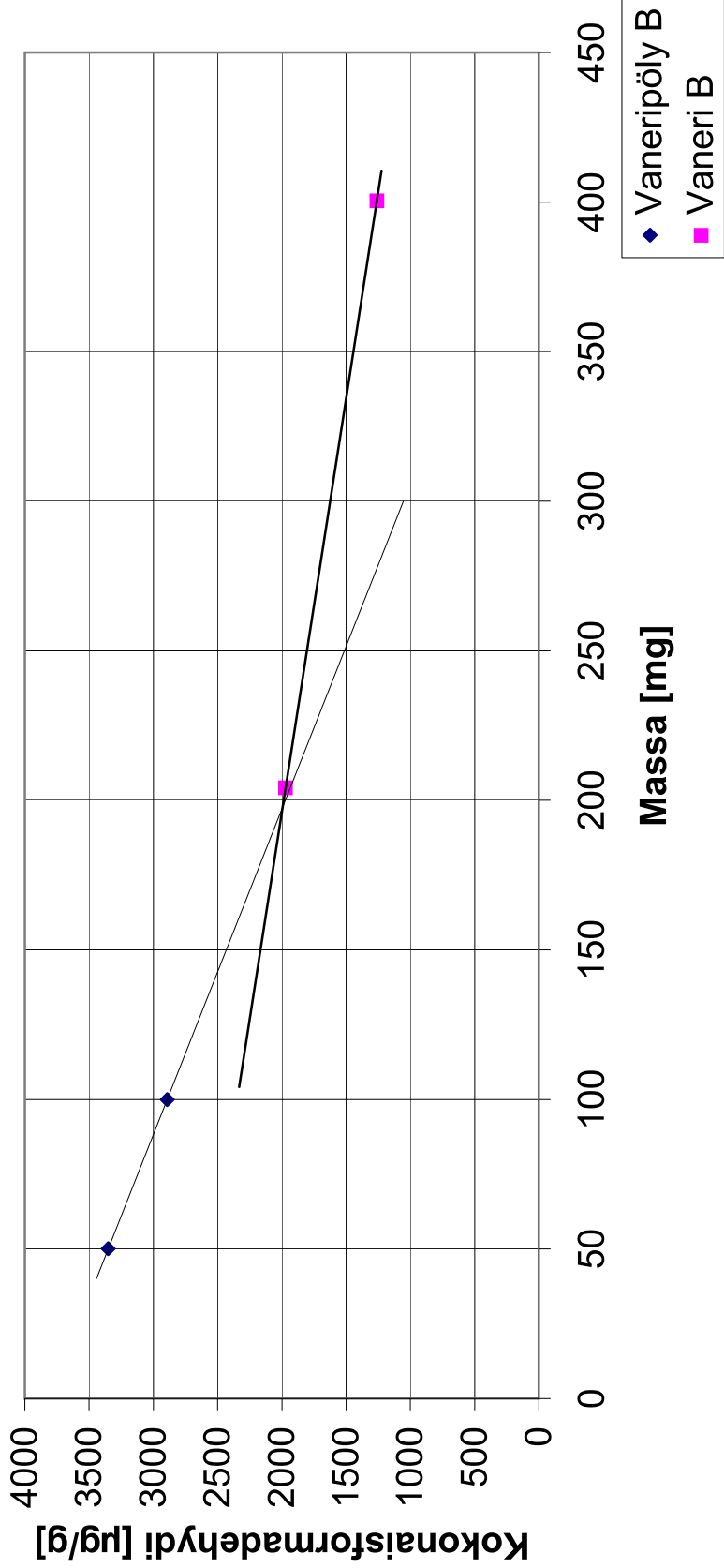


**Kokonaisformaldehydipitoisuudet näytematriiseissa**

Näyte	Massa [mg]	Desorbointi-tilavuus [ml]	Analyysitulokset [µg/3ml]	Pitoisuus/näyte [µg]	Formaldehydiä [µg/g]	Ero %
Vaneripöly A	48,9	5	1,1074	1,8457	75,5	37,3
	102,4	5	1,4544	2,4240	47,3	
Vaneripöly B	50,1	5	50,3699	83,9498	3351,3	13,7
	100,0	5	86,7781	144,6302	2892,6	
Vaneri B	204,2	5	120,6927	201,1545	1970,2	36,1
	400,5	5	151,3682	252,2803	1259,8	
Leikkuuneste A	101,4	5	3,1316	5,2193	102,9	2,1
	198,0	5	5,9858	9,9764	100,8	
Leikkuuneste B	102,0	5	3,2121	5,3535	105,0	0,7
	195,0	5	6,1811	10,3019	105,7	

Käytetty laimennoskerroin: 2  
Kvantitointistandardien pitoisuudet laskettu per 3 ml

### Vaneripöly B:n ja vaneri B:n kokonaisformaldehydipitoisuuksien analyysitulokset massan funktiona



**Formaldehydireagenssin pitoisuustestin ja  
näytteenlisäysstandardien säilyvyyskokeen tulokset**

**Vanhat näytteenlisäysstandardit**

Analyysitulos [µg/3ml]	Laimennoskerroin korjattu tulos [µg/3ml]	Laskennallinen pitoisuus µg/0,5ml	Kantaliuoksen pitoisuus [µg/ml]	Formaliinia punnittu [mg]	Formaliinin pitoisuus- %
11,75725	235,14500	39,19083	78,38	218,79	35,825
29,23730	584,74600	97,45767	77,97	218,79	35,635
58,26078	1165,21560	194,20260	77,68	218,79	35,505
80,78359	1615,67180	269,27863	76,94	218,79	35,165
		x=	77,74	x=	35,532
				s=	0,278
				s <sup>2</sup> =	0,0774
				RSD %=	0,78

**Uudet näytteenlisäysstandardit**

Analyysitulos [µg/3ml]	Laimennoskerroin korjattu tulos [µg/3ml]	Laskennallinen pitoisuus µg/0,5ml	Kantaliuoksen pitoisuus [µg/ml]	Punnittu [mg]	Pitoisuus- %
11,58947	231,78940	38,63157	77,26	213,45	36,197
34,99137	699,82740	116,63790	77,76	213,45	36,429
58,32358	1166,47160	194,41193	77,76	213,45	36,432
81,16355	1623,27100	270,54517	77,30	213,45	36,214
		x=	77,52	x=	36,318
				s=	0,130
				s <sup>2</sup> =	0,0170
				RSD %=	0,36

Käytetty laimennoskerroin: 20,00

### Diffuusiomenetelmän testauksen tulokset

20 h keräykset, hienojakoiset vaneripölyt sekä leikkuunesteet

Näyte	Punnittu massa [g]	Näytteen lisäys [µg HCHO]	Analyytitulos [µg HCHO/suodatin]	Korjattu analyysitulos [µg HCHO/suodatin]	Saanto-kerroin	Vapaa HCHO tuotteessa [µg]	Vapaa HCHO pitoisuus näytteessä [µg/g]
Vaneripöly A	Tuotenäyte I	0,4965	4,1160	4,5466	0,9053		9,1572
	Tuotenäyte II	0,4998	3,7131	4,1015	0,9053		8,2063
	Tuotenäytteiden keskiarvo	0,4982	3,9146	4,3240	0,9053		8,6802
	Näytteenlisäys I	0,5065	38,9	39,1309	0,9053	4,3240	8,5371
	Näytteenlisäys II	0,5065	116,8	80,4407	0,6552	5,9747	11,7961
	Näytteenlisäys III	0,5010	194,6	154,0859	0,7717	5,0727	10,1252
Vaneripöly B	Tuotenäyte I	0,5007	75,7880	83,0736	0,9123		165,9148
	Tuotenäyte II	0,2473	58,2097	63,8054	0,9123		258,0081
	Tuotenäytteiden keskiarvo	0,3740	66,9988	73,4395	0,9123		196,3622
Leikkuuneste A	Tuotenäyte I	0,4917	10,0250	12,1802	0,8231		24,7716
	Tuotenäyte II	0,4994	7,9773	9,6922	0,8231		19,4078
	Tuotenäytteiden keskiarvo	0,4956	9,0011	10,9362	0,8231		22,0688
	Näytteenlisäys I	0,5074	38,9	41,0181	0,8231	10,9362	21,5534
	Näytteenlisäys II	0,5098	116,8	57,0301	0,4112	21,8896	42,9376
	Näytteenlisäys III	0,5081	194,6	108,8981	0,5133	17,5343	34,5095
Leikkuuneste B	Tuotenäyte I	0,5082	20,1743	24,5113	0,8231		48,2316
	Tuotenäyte II	0,4921	22,8377	27,7473	0,8231		56,3855
	Tuotenäytteiden keskiarvo	0,5002	21,5060	26,1293	0,8231		52,2430



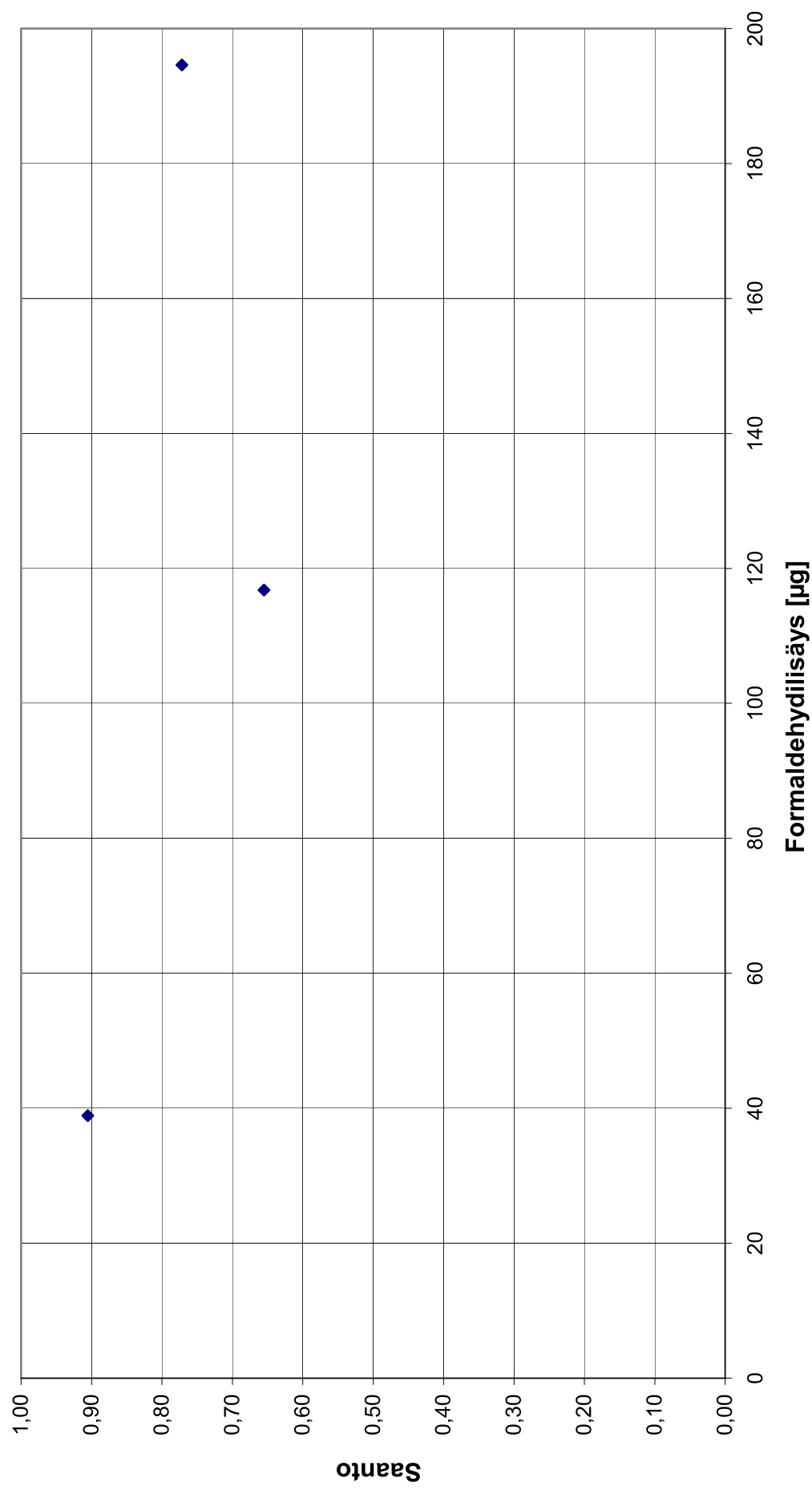
39,5 h keräykset, hienojakoiset vaneripölyt sekä leikkuunesteet

Näyte	Punnittu massa [g]	Näytteen lisäys [µg HCHO]	Analyytitulos [µg HCHO/suodatin]	Korjattu analyytitulos [µg HCHO/suodatin]	Saanto-kerroin	Vapaa HCHO tuotteessa [µg]	Vapaa HCHO pitoisuus näytteessä [µg/g]
Vaneripöly A							
	Tuotenäyte I	0,5025	6,1798				
	Tuotenäyte II	0,4945	6,5379				
	Tuotenäytteiden keskiarvo	0,4985	6,3588				
	Näytteenlisäys I	0,4991	97,4815		0,7802	8,1507	16,3308
	Näytteenlisäys II	0,5022	95,9230		0,7668	8,2925	16,5124
	Näytteenlisäysten keskiarvo	0,5007	96,7023		0,7735	8,2210	16,4206
Leikkuuneste A							
	Tuotenäyte I	0,5080	18,2497	22,1730	0,8231		43,6477
	Tuotenäyte II	0,5078	14,8871	18,0876	0,8231		35,6195
	Tuotenäytteiden keskiarvo	0,5079	16,5684	20,1303	0,8231		39,6344
	Näytteenlisäys I	0,5053	103,6524		0,7456	22,2221	43,9781
	Näytteenlisäys II	0,4991	115,4032		0,8462	19,5801	39,2308
	Näytteenlisäysten keskiarvo	0,5022	109,5278		0,7959	20,8176	41,4528

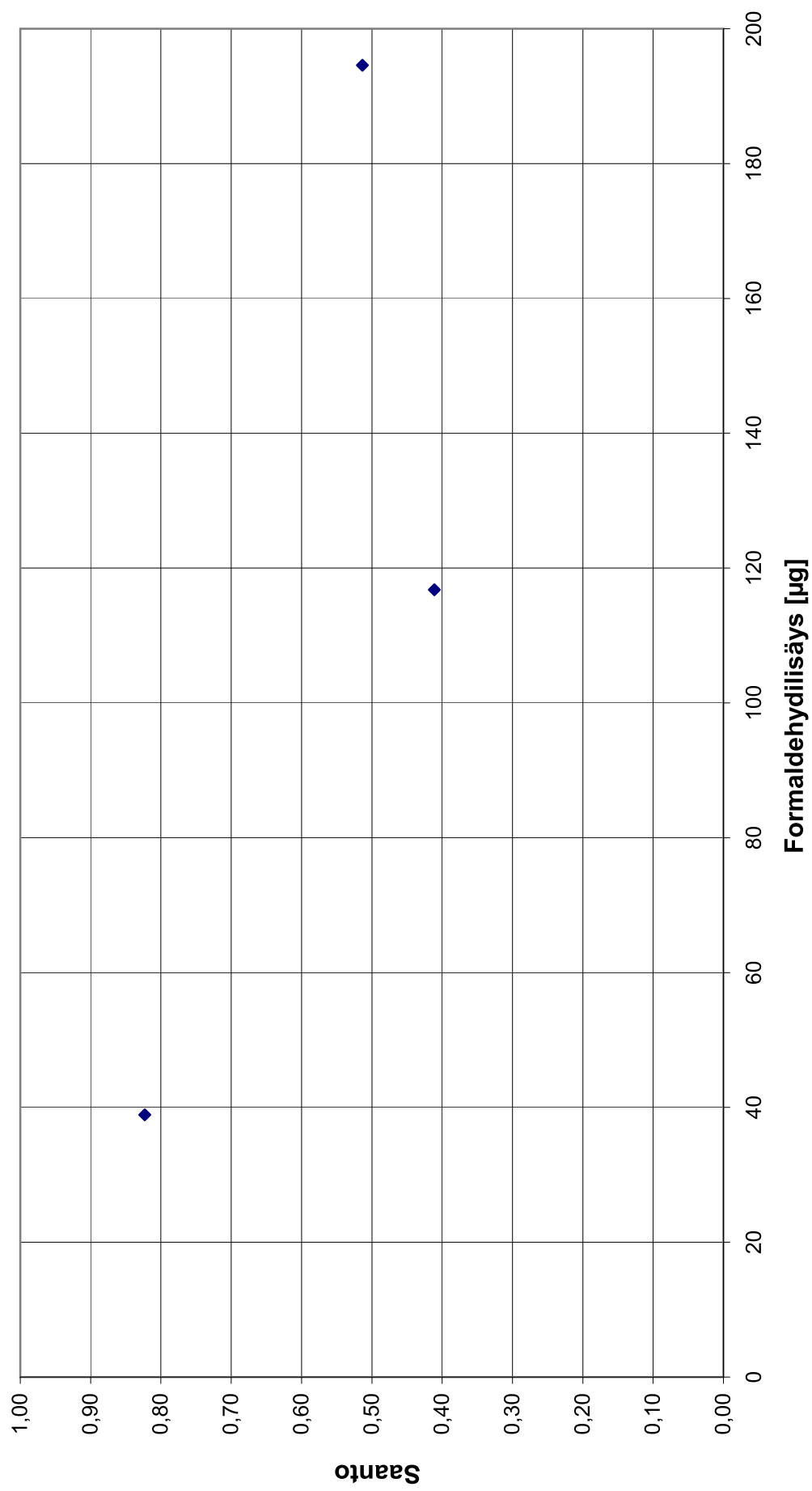
20 h keräykset, vanerinpalat

Näyte	Punnittu massa [g]	Pinta-ala [mm <sup>2</sup> ]	Näytteen lisäys [µg HCHO]	Analyysitulokset [µg HCHO/suodatin]	Saantokerroin	Vapaa HCHO näytteessä [µg]	Vapaa HCHO pitoisuus näytteessä [µg/mm <sup>2</sup> ]
Vaneri B Tuotenäyte I	0,7125	1232		71,4973			
Tuotenäyte II	0,7116	1292		121,3217			
Tuotenäytteiden keskiarvo	0,7121	1262		96,4095			
Näytteenlisäys I	0,6418	1218	38,9	218,6092	3,1414	30,6902	0,0252
Näytteenlisäys II	0,6524	1300	116,8	295,044	1,7006	56,6902	0,0436
Näytteenlisäys III	0,6556	1120	194,6	319,3998	1,1459	84,1350	0,0751

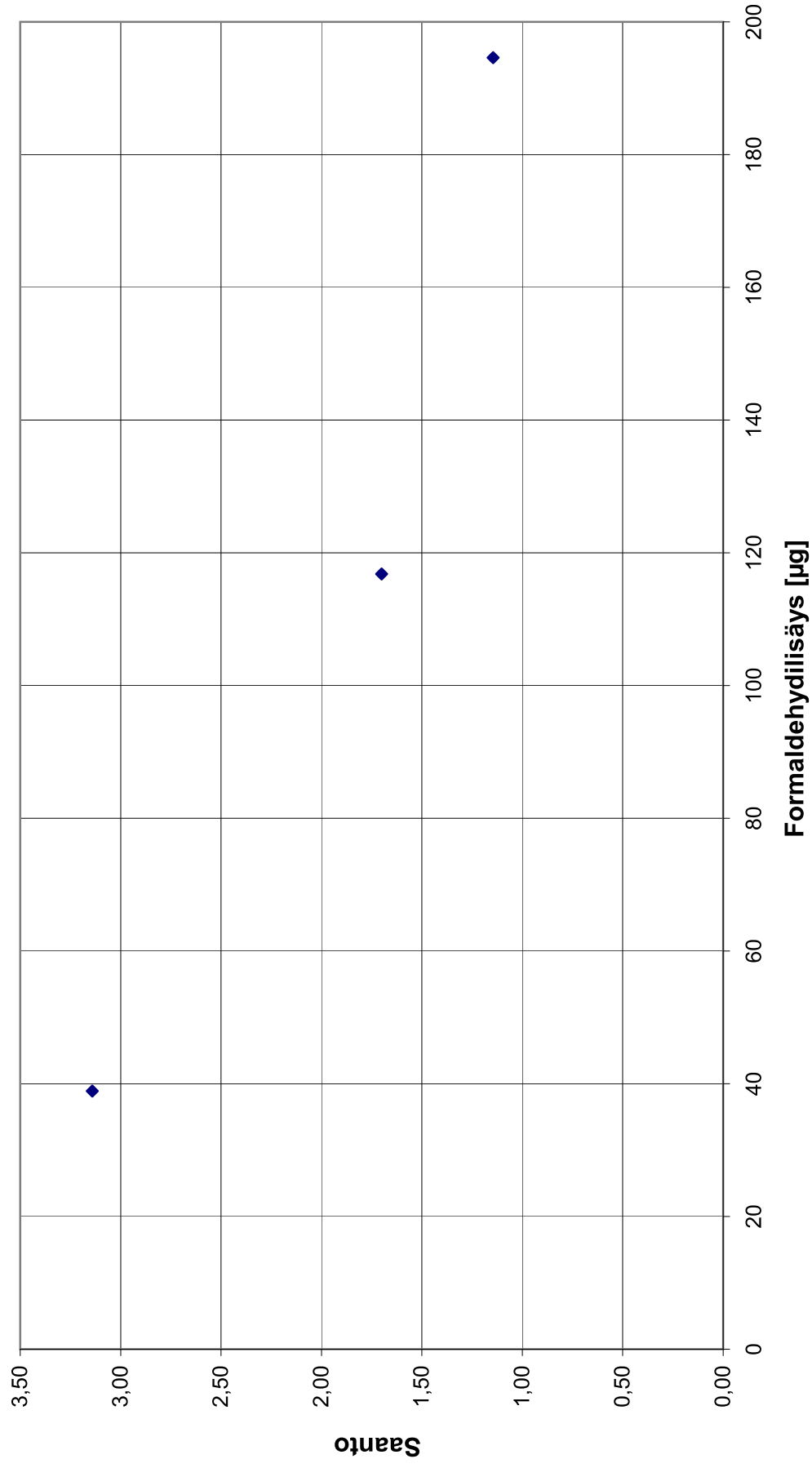
## Saannon muutos näytteenlisäyksen funktiona, vaneripöly A, 20 h keräys



### Saannon muutos näytteenlisäyksen funktiona, leikkuneste A, 20 h keräys



### Saannon muutos näytteenlisäyksen funktiona, vaneri B, 20 h keräys

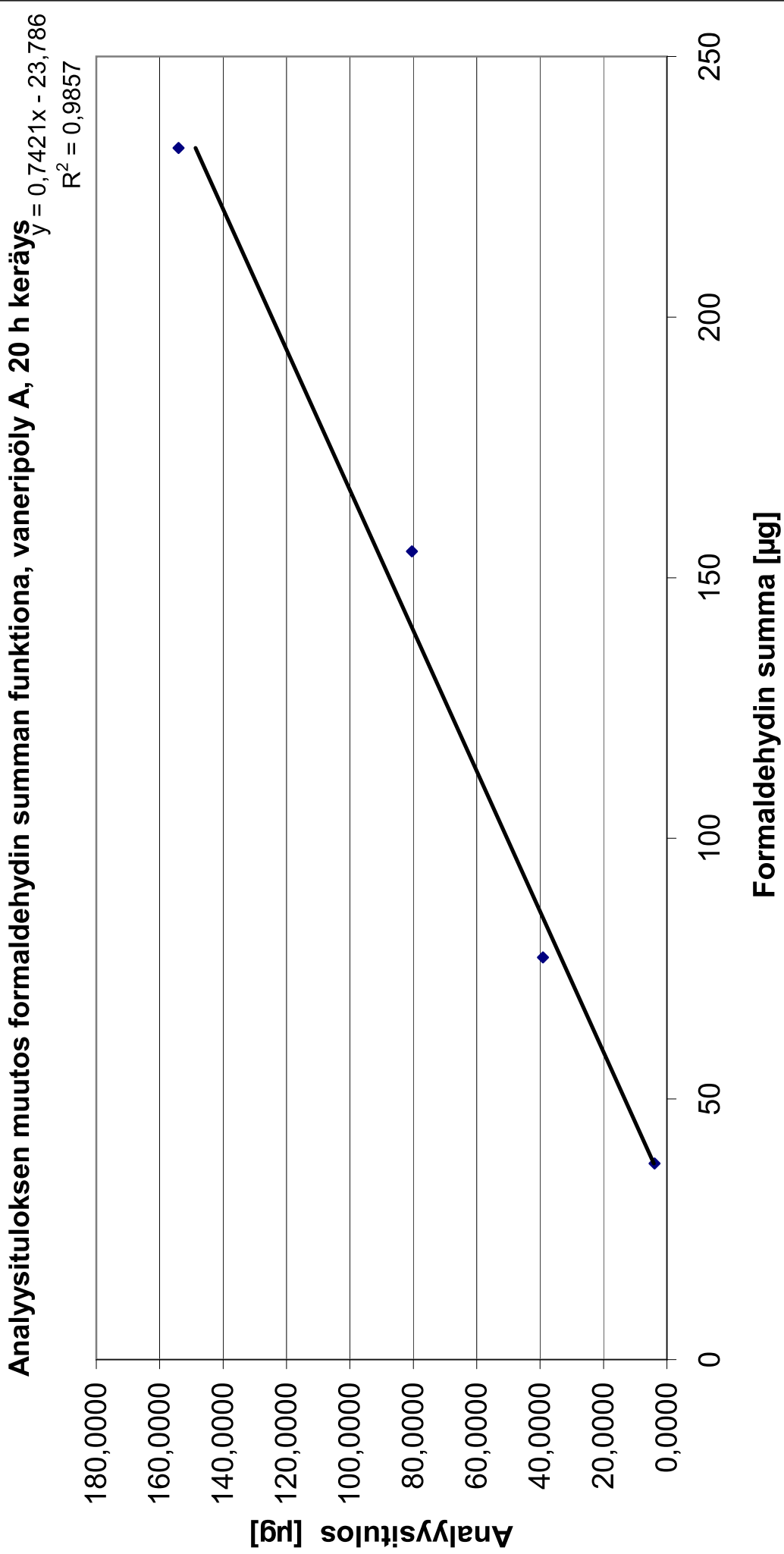


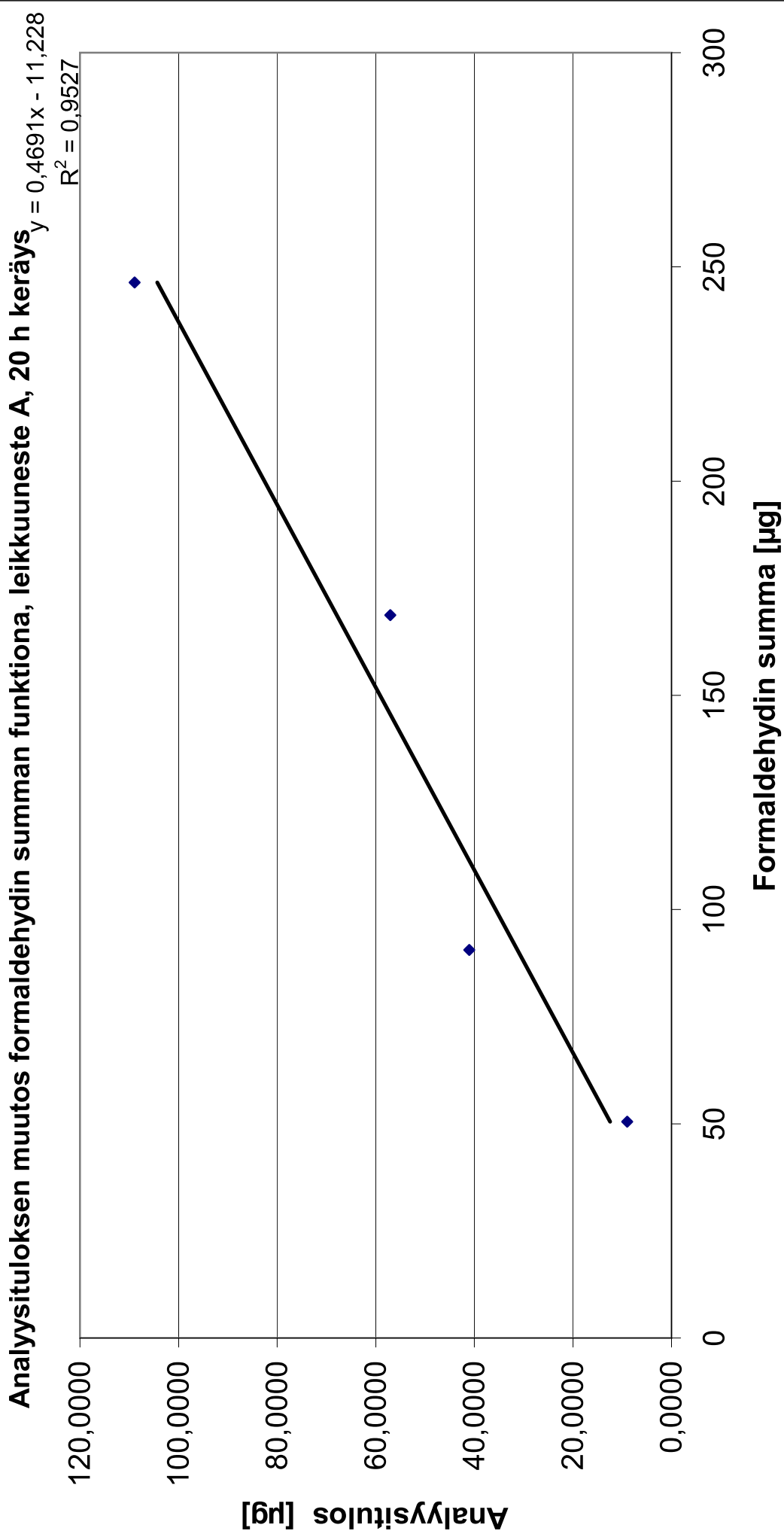
Formaldehydin osatekijöiden summan vaikutus näytteen analyysitulokseen

20 h keräykset

Näyte	Massa [g]	Tuotenäytteen HCHO pitoisuus analyysin mukaan [µg]	Formaldehydin lisäys [µg]	Näytteen kokonais-HCHO	Analyysitulokset [µg HCHO/suodatin]	Vapaa HCHO näytteessä [µg]
<b>Vaneripöly A</b>						
Tuotenäytteiden keskiarvo	0,4982	37,6141	0	37,6141	3,9146	8,6136
Näytteenlisäys I	0,5065	38,24075	38,9	77,14075	39,1309	8,5371
Näytteenlisäys II	0,5065	38,24075	116,8	155,04075	80,4407	11,7961
Näytteenlisäys III	0,5010	37,8255	194,6	232,4255	154,0859	10,1252
<b>Leikkuuneste A</b>						
Tuotenäytteiden keskiarvo	0,4956	50,47686	0	50,47686	9,0011	21,8975
Näytteenlisäys I	0,5074	51,67869	38,9	90,57869	41,0181	21,5534
Näytteenlisäys II	0,5098	51,92313	116,8	168,72313	57,0301	42,9376
Näytteenlisäys III	0,5081	51,749985	194,6	246,349985	108,8981	34,5095

Näyte	Massa [g]	Tuotenäytteen HCHO pitoisuus analyysin mukaan [µg]	Formaldehydin lisäys [µg]	Näytteen kokonais-HCHO	Analyysitulokset [µg HCHO/suodatin]	Vapaa HCHO näytteessä [µg]
<b>Vaneri B</b>						
Tuotenäytteiden keskiarvo	1262	1150,0415	0	1150,0415	96,4095	
Näytteenlisäys I	1218	1036,5070	38,9	1075,407	218,6092	30,6902
Näytteenlisäys II	1300	1053,6260	116,8	1170,426	295,044	56,6902
Näytteenlisäys III	1120	1058,7940	194,6	1253,394	319,3998	84,1350

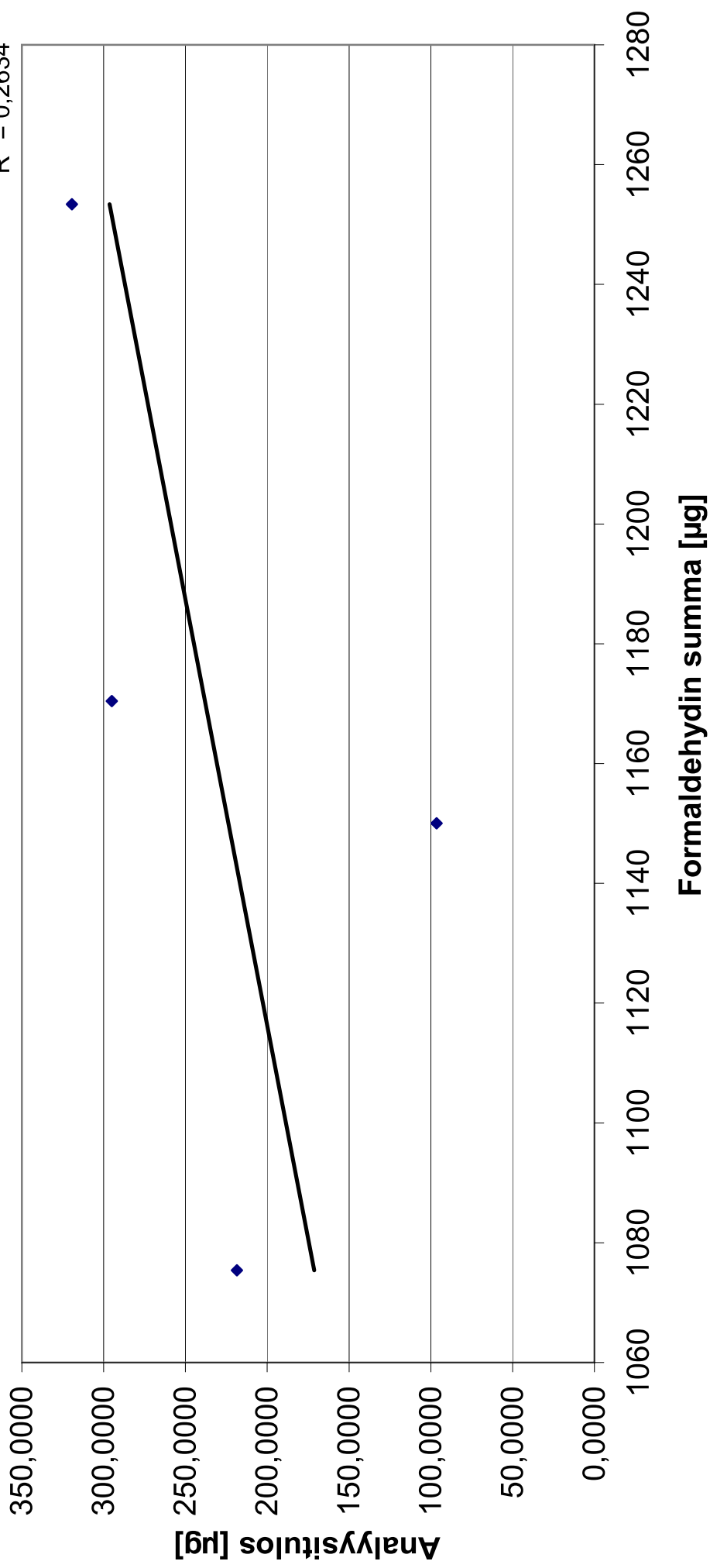






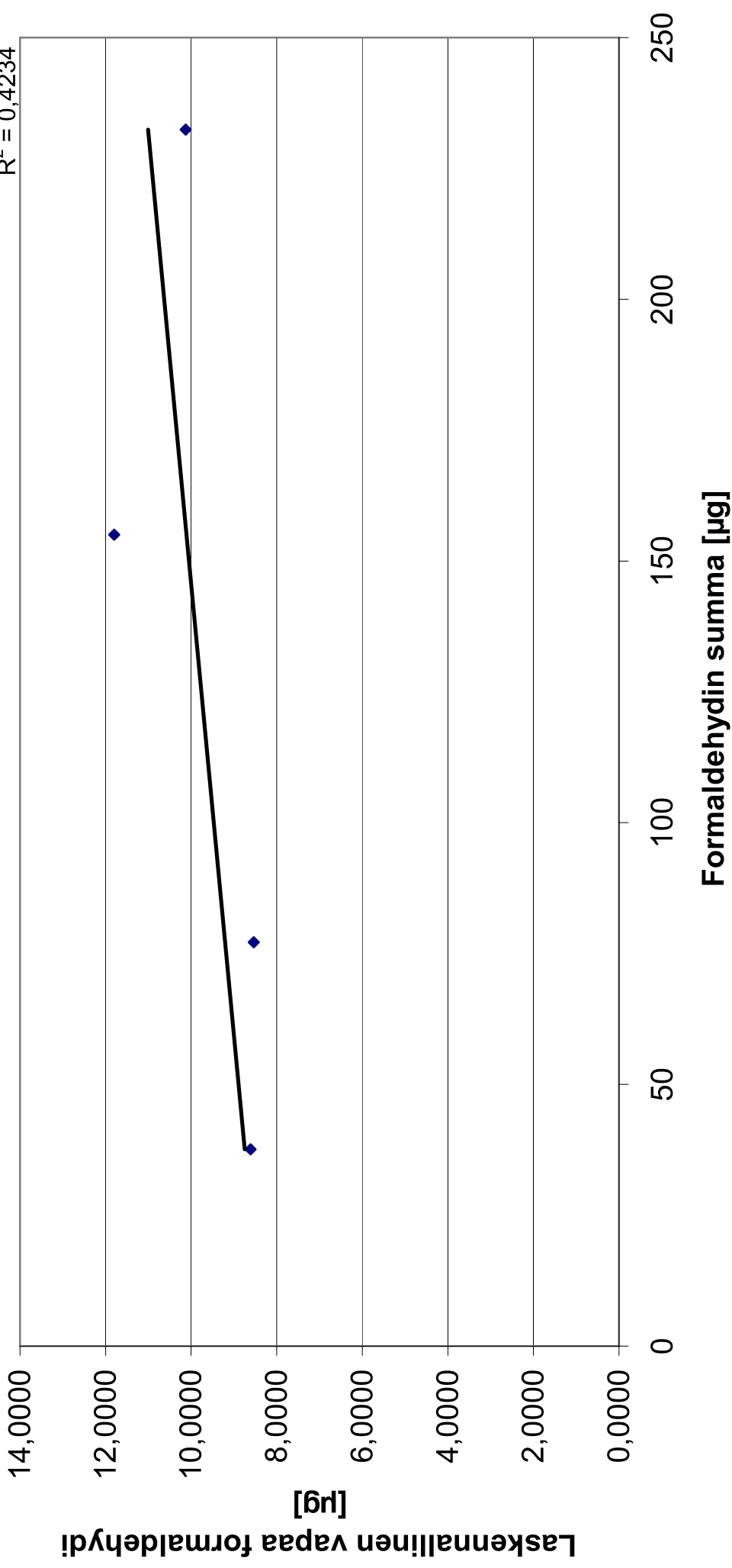
### Analysituloksen muutos formaldehydin summan funktiona, vaneri B, 20 h keräys

$$y = 0,7034x - 585,18$$
$$R^2 = 0,2634$$



Vapaan formaldehydin muutos formaldehydin summan funktiona, vaneripöly A, 20 h keräys

$$y = 0,0116x + 8,3137$$
$$R^2 = 0,4234$$



### Vapaan formaldehydin muutos formaldehydin summan funktiona, leikkuuneste A, 20 h keräys

$$y = 0,0883x + 17,946$$
$$R^2 = 0,5429$$

