



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

Sisäilmassa esiintyvien teollisten mineraalikuitujen kerääminen ja biomonitorointi syklonisen ilmankeräimen ja siirtogeenisten sukkulamatojen avulla

Emilia Turves

Biologia, fysiologia ja genetiikka

Pro gradu -tutkielma

Laajuus: 30 op

19.5.2026

Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu

Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Pro gradu -tutkielma

Pääaine: Biologia, Fysiologia ja genetiikka

Tekijä: Emilia Turves

Otsikko: Sisäilmassa esiintyvien teollisten mineraalikuitujen kerääminen ja biomonitorointi syklonisen ilmankeräimen ja siirtogeenisten sukkulamatojen avulla

Ohjaajat: Päivi Koskinen, Vesa Koskinen

Sivumäärä: 65 sivua + liitteet 3 sivua

Päivämäärä: 19.5.2026

Tässä pro gradu -tutkielmassa arvioitiin uuden, sykloniseen ilmankeräimeen perustuvan näytteenottomenetelmän soveltuvuutta teollisten mineraalikuitujen talteenottoon rakennusten sisäilmasta. Samalla tutkittiin *Caenorhabditis elegans* -sukkulamatojen soveltuvuutta sisäilman mineraalikuitujen biomonitorointiin, sillä niiden oli aiemmin osoitettu reagoivan sisäilman biologisiin ja kemiallisiin epäpuhtauksiin. Uuden näytteenottomenetelmän arveltiin mahdollistavan kuitujen keräämisen kontrolloidusti tilojen normaalin käytön aikana, toisin kuin Terveysturvallisuuslaki 763/1994 asumisterveysasetuksen 545/2015 mukaisessa nykykäytännössä, jossa kuituja analysoidaan pinnoille laskeutuneesta pölystä neljäntoista vuorokauden ajalta ilman kontrolloitua näytteenottoa.

Tutkielman näytteet kerättiin ilmasta korkean virtausnopeuden syklonisella ilmankeräimellä. Keräin imee 300 litraa ilmaa minuutissa, jolloin 10 minuutin keräys vastaa aikuisen ihmisen hengittämän ilman määrää kahdeksan tunnin aikana. Korkea virtausnopeus mahdollistaa myös raskaiden kuitujen keräämisen ilmasta. Näytteistä analysoitiin mineraalikuitujen määrää ja rakennetta optisella mikroskoopilla sekä pyyhkäisyelektronimikroskoopilla. Näytteiden sisältämiä epäpuhtauksia arvioitiin käyttämällä siirtogeenisiä *C. elegans* -sukkulamatokantoja, jotka stressaantuessaan tuottavat fluoresoivaa valoa stressiherkän reportterigeenin aktivoituessa. Haitallisten aineiden aiheuttama stressi voi myös vaikuttaa niiden liikkuvuuteen. Sukkulamatoja altistettiin lisäksi mineraalikuitu-, kuitutuote-, ja mikrobinäytteille, sekä haihtuvien orgaanisten yhdisteiden näytteille.

Sykloninäytteistä havaittiin etenkin suurikokoisia teollisia mineraalikuituja. Eräissä vertailussa kuituja havaittiin suurempi kappalemäärä 10 minuutin näytteessä kuin kahden viikon geeliteippinäytteessä. Sukkulamadot eivät kuitenkaan reagoineet sisäilmasta kerättyihin mineraalikuitunäytteisiin tai kuitutuotteisiin. Sen sijaan sukkulamatojen stressivasteita havaittiin haihtuvien orgaanisten yhdisteiden sekä mikrobin ilmanäytteistä, kuten aiemmissa tutkimuksissa on raportoitu. Tulosten perusteella sykloninen ilmankeräin on lupaava menetelmä teollisten mineraalikuitujen tutkimiseen sisäilmassa. Menetelmällä olisi nykyisiin käytäntöihin verrattuna useita etuja, kuten paremmin kontrolloidut olosuhteet ja nopeampi toteutus. Tulokset myös vahvistivat *C. elegans* -sukkulamatojen käyttökelpoisuuden biologisena työkaluna, etenkin sisäilman VOC- tai mikrobiongelmien havaitsemiseksi.

Avainsanat: teolliset mineraalikuidut, sykloninen ilmankeräin, pyyhkäisyelektronimikroskooppi, biomonitorointi, *Caenorhabditis elegans*, sukkulamato

Sisällys

1	JOHDANTO	1
1.1	Sisäilman epäpuhtaudet	1
1.2	Teolliset mineraalikuidut	2
1.2.1	Teolliset mineraalikuidut altisteina sisäilmassa	3
1.2.2	Teollisten mineraalikuitujen terveysvaikutukset	5
1.2.3	Sisäilman teollisten mineraalikuitujen tutkiminen ja siihen liittyvät haasteet	6
1.3	<i>Caenorhabditis elegans</i> -sukkulamadot ja niiden hyödyntäminen biomonitoroinnissa	8
1.4	Tutkielman tavoite	12
2	AINEISTO JA MENETELMÄT	14
2.1	Näytteiden kerääminen	14
2.2	Teollisten mineraalikuitujen ja mikrobien tutkiminen näytteistä	18
2.2.1	Kuituanalyysi automaattimikroskoopilla	19
2.2.2	Kuituanalyysi SEM:lla	20
2.3	Tutkielmassa käytetyt <i>C. elegans</i> -GFP-reportterikannat	21
2.4	<i>C. elegans</i> -sukkulamatojen ylläpito	22
2.5	Näytteiden esikäsittely ennen biomonitorointikokeita	22
2.6	Biomonitorointikokeet <i>C. elegans</i> -sukkulamadoilla	23
2.7	Tilastolliset analyysit	25
2.8	Tekoälyn käyttö tutkielmassa	26
3	TULOKSET	27
3.1	Teolliset mineraalikuidut näytteissä	27
3.2	Muut epäpuhtaudet näytteissä	31
3.3	Biomonitorointikokeiden tulokset	33
3.3.1	<i>C. elegans</i> -sukkulamatojen vasteet eriste villalle sekä eriste villan inkubointiliuokselle	33

3.3.2	<i>C. elegans</i> -sukkulamatojen vasteet sykloninäytteille	33
4	TULOSTEN TARKASTELU	42
4.1	Teolliset mineraalikuidut näytteissä	42
4.2	Teollisten mineraalikuitujen tutkimisesta	44
4.3	Muut epäpuhtaudet näytteissä	45
4.4	Biomonitorointikokeiden tulokset	46
4.4.1	<i>C. elegans</i> -sukkulamatojen vasteet eristevillalle ja eristevillan inkubointiliuokselle	46
4.4.2	<i>C. elegans</i> -sukkulamatojen vasteet sykloninäytteille	47
4.5	Tulosten luotettavuuden arviointi	48
4.6	Yhteenveto	49
	KIITOKSET	51
	LÄHTEET	52
	LIITTEET	
	Liite 1, NGM-maljojen valmistus	
	Liite 2, OP-50 bakteerisuspension valmistus ja NGM-maljalle lisääminen	
	Liite 3, Sykloninäytteiden biomonitorointi <i>C. elegans</i> -GFP-reportterikannoilla opetuksessa: fluoresenssin muutos näytteissä ennen näytteenottotilan homesiivousta ja sen jälkeen	

1 Johdanto

Ihmiset viettävät suurimman osan ajastaan sisätiloissa, kuten kodeissa, työpaikoilla ja oppilaitoksissa, joten sisäilman laatu on olennainen osa toimivaa elinympäristöä. Hyvää sisäilmaa ei aisti, kun taas huono sisäilma voi häiritä ja aiheuttaa erilaisia oireita, jotka pahimmillaan heikentävät työ- ja toimintakykyä. Suomessa sisäilmaongelmat muodostavat merkittävän kansanterveydellisen ja yhteiskunnallisen haasteen. Sisäilma koostuu monista tekijöistä, jotka voidaan jakaa biologisiin, kemiallisiin ja fysikaalisiin tekijöihin. Näiden tekijöiden luotettava tunnistaminen olisi tärkeää altistusten vähentämiseksi ennen kuin ne ehtivät aiheuttaa terveysongelmia. Tähän tarkoitukseen puolestaan tarvittaisiin aiempaa tehokkaampia näytteenotto- ja analysointimenetelmiä.

1.1 Sisäilman epäpuhtaudet

Sisäilman biologiset tekijät ovat mikrobeja, kuten homeita, jotka voivat lisääntyä kosteissa rakenteissa ja vapauttaa sisäilmaan itiöitä ja aineenvaihduntatuotteita. Mikrobin tuottamat aineenvaihduntatuotteet voivat haista ja lisäksi aiheuttaa oireilua erityisesti pitkäaikaisessa altistuksessa. Tavallisimpia huonon sisäilman oireita ovat silmien, nenän ja kurkun ärsytys, yskä, päänsärky ja väsymys. Pitkittyneessä altistuksessa oireet voivat muuttua pitkäaikaisiksi ja johtaa esimerkiksi toistuviin hengitystieinfektioihin tai astmaan (WHO, 2009; Terveystieteiden tutkimuskeskus ja hyvinvoinnin laitos, 2023).

Hajuja aiheuttavat myös sisäilman kemialliset tekijät, kuten haihtuvat orgaaniset yhdisteet (VOC, engl. volatile organic compounds). Ne ovat kaasumaisia aineita, joita vapautuu esimerkiksi rakennusmateriaaleista, liikenteestä, huonekaluista ja puhdistusaineista. Niitä ovat esimerkiksi bentseeni, ksyleenit, tolueni ja pineenit. Hajuhaittojen kokemisen lisäksi VOC:it voivat korkeina pitoisuuksina esiintyessään ärsyttää hengitysteitä, silmiä tai ihoa, sekä aiheuttaa päänsärkyä ja väsymystä. Voimakkaampaa oireilua aiheuttavat pitoisuudet ovat harvinaisempia toimistotyyppisissä tiloissa. Asunnoissakin VOC-pitoisuudet ovat pääosin matalia. (Wallenius ym., 2021; Juntunen ym., 2022.) Sisäilman laatuun vaikuttavat fysikaaliset tekijät, kuten lämpötila, kosteus ja ilmapirrat voivat osaltaan säädellä biologisten ja kemiallisten altisteiden vapautumista.

Myös teolliset mineraalikulidut ovat sisäilman haitallisia altisteita. Mineraalikulit kulkeutuu sisäilmaan muun muassa sisäpintojen akustoinneista ja koneellisen ilmanvaihdon äänenvaimentimista (Kovanen ym., 2006; Laamanen ym., 2016). Teollisten mineraalikulitujen

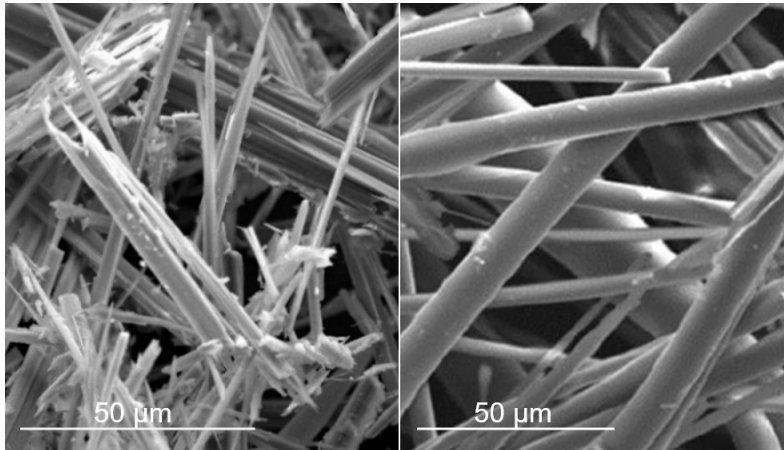
tiedetään voivan aiheuttaa ainakin ihon, silmien ja ylähengitysteiden ärsytysoireita (IARC, 2002).

Merkittävien sisäilmaongelmien yleisyys Suomen kuntien kiinteistöissä on noin 5–10 prosenttia rakennusten kokonaispinta-alasta (Suomen Kuntaliitto ry, 2023). Terveys- ja hyvinvoinnin laitoksen sekä Suomen Kuntaliitto ry:n viimeisimmän, vuosia 2019–2023 tarkastelevan selvityksen mukaan tunkkaisuus, painesuhteet, lämpötila, ilman kuivuus tai kosteus sekä vetoisuus olivat keskeisiä sisäilman laatua heikentäviä tekijöitä. Seuraavaksi keskeisimpiä tekijöitä olivat vuonna 2023 mineraalikuituihin liittyvät ongelmat, jotka olivat keskiarvoisesti kosteus- ja homevauriota yleisempiä. (Salmela ym., 2024.) Aiemmin vuonna 2018 teolliset mineraalikuidut todettiin hometta yleisemmäksi ongelmaksi myös valtion kiinteistöissä (Mölsä, 2018).

Sisäilmaongelmia esiintyy kuntien ja valtion kiinteistöjen lisäksi laajasti myös asuinrakennuksissa, koska kosteusvauriot ja niihin liittyvät riskirakenteet ovat suomalaisessa rakennuskannassa yleisiä. Vuosina 2016–2020 asuntokaupan yhteydessä tehdyissä kuntotarkastuksissa todettiin varma kosteusvaurio noin 15 prosentissa pientaloista, ja lisäksi noin 40 prosentissa rakennuksista havaittiin riskirakenteita, joissa vaurion mahdollisuutta epäiltiin (Salmela, 2022). Suomalaisten asuntojen sisäilmaongelmien kokonaislaajuutta ei kuitenkaan ole toistaiseksi selvitetty.

1.2 Teolliset mineraalikuidut

Teolliset mineraalikuidut (MMVF, engl. man-made vitreous fibers, myös MMMF, man-made mineral fibers) ovat epäorgaanisia kuituja, jotka koostuvat muun muassa alumiini- ja kalsiumsilikaateista, oksideista ja metalleista. Tunnetuimpia tällaisia kuituja sisältäviä tuotteita ovat eristevillat kuten kivivilla, kuonavilla ja lasivilla. Eristevillaa käytetään laajasti lämmöneristeenä, äänenvaimennuksessa, palonsuojauksessa sekä kodinkoneiden eristämisessä. (IARC, 2002) Ihmisen luomat teolliset mineraalikuidut ovat rakenteeltaan amorfisia, eli lasimaisia, toisin kuin luonnolliset mineraalikuidut kuten asbestit, jotka ovat kideisiä (kuva 1).



Kuva 1. Asbestikuitujen ja teollisten mineraalikuitujen rakenne. Vasemmalla antofylliittiasbestikuituja, jotka ovat kideisiä teräviä. Kuva: United States Geological Survey (2005). Oikealla teollisia mineraalikuituja, jotka taas ovat amorfisia ja tylppiä. Kuva: Nagy ym. (2020).

Teollisten mineraalikuitujen valmistus alkoi teollisessa mittakaavassa 1800-luvun lopulla ja laajeni merkittävästi 1900-luvun aikana (Bozsaky, 2010.) Suomessa lasivillan valmistus alkoi 1940-luvulla, kivivillan 1950-luvulla ja kuonavillan 1940–1960-luvuilla, minkä jälkeen teolliset mineraalikuidut ovat olleet yleisin rakennusten eristemateriaali Suomessa (Ympäristöhallinnon verkkopalvelu, n.d.). Hiljattain markkinoille on tullut myös teollisia mineraalikuituja korvaavia eristevaihtoehtoja, kuten biopohjaisia tai kierrätettyjä materiaaleja, mutta toistaiseksi niiden osuus eristemateriaaleista on vielä vähäinen (Westermarck ja Iittiläinen, 2023).

Teollisia mineraalikuituja tuotetaan puhallusmenetelmillä tai sentrifugikoneistossa. Kivivillan raaka-aineita ovat basaltti, masuunikuona, kalkkikivi sekä koksi. Lasivillaa valmistetaan pääasiassa piioksidista, kuonavillaa taas masuunikuonasta sekä epäorgaanisista lisäaineista. Kuidut muodostuvat, kun sula massavirta puhalletaan ilmavirran halki kuiduiksi tai massa sinkoutuu sentrifugin pyöriessä. Kuiduista muodostuvalle villamatolle lisätään sidosaineina vesipohjaisia fenoli-formaldehydihartseja, joita kutsutaan myös basalttiliimoiksi. Liimojen avulla parannetaan lopputuotteen ominaisuuksia. Liimoihin lisätään usein ureaa, ammoniakkaa, aminosilaneja tai ligniiniä. (EIPPCB, 2013; EPRA, n.d.)

1.2.1 Teolliset mineraalikuidut altisteina sisäilmassa

Asunnoissa tai toimistotiloissa sisäilman teolliset mineraalikuidut ovat yleensä peräisin akustiikkalevyistä, lämpö- ja äänieristyksistä, ilmansuodattimista sekä ilmanvaihtokoneiden, ilmanvaihtokanavien ja pääte-elinten äänenvaimentimista. Kuituja irtoaa materiaalien ikääntyessä, mekaanisesta rasituksesta, tärinästä tai ilmavirtauksesta. (Kovanen ym., 2006;

Laamanen ym., 2016; Mölsä ja Tompuri, 2017.) Akustiikkalevyt ja mineraalivillaiset kattolevyt voivat lisätä sisäilman kuitupitoisuuksia etenkin, kun levyt ovat vaurioituneita, vanhoja tai huonosti asennettuja (Thriene ym., 1996; Kilpikari ym., 2021). Kuitujen irtoamista edesauttavat myös kosteus ja lämpö, jotka nopeuttavat sidosaineiden kemiallista hajoamista (Okhrimenko ym., 2018; Ivanič ym., 2020).

Teollisilla mineraalikuiduilla katsotaan olevan kahta erilaista vaikutusta riippuen niiden koosta. Halkaisijaltaan alle 3 µm kuitujen katsotaan voivan kulkeutua keuhkojen alveolialueelle (Lippmann, 1990; Yhdysvaltain terveysministeriö, 2004). Sen sijaan halkaisijaltaan vähintään 3–5 µm kokoisten kuitujen katsotaan olevan niin kutsuttua alveolijaetta suurempia, jolloin kuidut jäävät ylempiin hengitysteihin ja aiheuttavat ärsytysoireita mekaanisen hankauksen seurauksena (Petersen ja Sabroe, 1991).

Teollisten mineraalikuitujen aiheuttama sisäilmaongelma todetaan Suomessa tavallisesti laskeumanäytteistä geeliteippimenetelmän avulla, jolloin huoneen pinnoille laskeutuneet kuidut kerätään geeliteipille ja kuitujen määrä lasketaan mikroskoopilla.

Geeliteippimenetelmä on esitetty Valviran julkaisemassa asumisterveysasetuksen soveltamisohjeessa (Valvira, 2016). Ohje määrittelee oireilua aiheuttavien kuitujen kokoluokaksi halkaisijaltaan vähintään 3 µm kokoiset kuidut, joiden pituuden suhde halkaisijaan on vähintään 3:1. Tätä pienemmät kuidut rajataan laskennasta pois. Suomessa tarkastelu painottuu erityisesti suurempiin kuituihin, jotka jäävät herkemmin ylähengitysteihin ja limakalvoille, koska niiden on todettu olevan merkittäviä ärsytysoireiden aiheuttajia sisäympäristössä. Sen sijaan alveolijakeen kokoluokkaa olevia kuituja on tutkittu laajasti niiden asbestikuituja muistuttavien ominaisuuksien vuoksi, mutta tutkimuksissa ei ole todettu asbestia vastaavia vakavia terveyshaittoja. (Tuomi ym., 2020.) Terveysturvallisuuslain (764/1994) nojalla säädetyn Asumisterveysasetuksen (545/2015) mukainen toimenpideraja kahden viikon aikana pinnoille laskeutuneessa pölyssä on 0,2 kuitua/cm². Rajaa sovelletaan asunnon ja muun oleskelutilan terveydellisten olosuhteiden valvontaan. Toimenpiderajan ylittyessä sen, kenen vastuulla haitta on, tulee ryhtyä terveydensuojelulain mukaisiin toimenpiteisiin haitan selvittämiseksi ja tarvittaessa sen poistamiseksi tai rajoittamiseksi.

Asunnoissa ja toimistotiloissa tutkitaan pinnoille laskeutuneita mineraalikuituja, sillä ilman kuitupitoisuudet ovat tyypillisesti olleet matalia, kun näytteitä on kerätty pienitehoisilla ilmankeräimillä (Tuomi ym. 2020). Sitä vastoin työympäristöissä joissa kuituja esiintyy ilmassa runsaasti, kuten mineraalivillatehtailla tai villan asennuksessa, teollisten

mineraalikuitujen pitoisuuksia mitataan useimmiten ilmanäytteiden avulla gravimetrisesti (mg/m^3) ja valomikroskooppisella kuitulaskennalla (kuitua/ cm^3 tai kuitua/ m^3). Esimerkiksi Yhdysvaltain kansallisen työterveys- ja työturvallisuuslaitoksen (National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH) käyttämässä 7400-menetelmässä (engl. Method 7400) ilma pumpataan suodattimen läpi ja hiukkaset lasketaan suodattimelta mikroskooppisella analyysillä. Pumpun ilmavirta on suhteellisen alhainen, yhdestä neljään litraa minuutissa, ja näytteenoton kesto riippuu ilman kuitupitoisuudesta sekä tarvittavasta ilmamäärästä. Esimerkiksi 8 tunnin näytteenotto tuottaa 480–1920 litraa ilmaa, mikä soveltuu työympäristössä määritysrajan $\sim 0,1$ kuitua/ cm^3 pitoisuuksien mittaukseen. (Centers for Disease Control and Prevention, 1994.) NIOSH:in alveolijakeisten kuitujen toimenpideraja on 3 kuitua/ cm^3 , mutta alveolijae määritellään NIOSH:in mukaan halkaisijaltaan $\leq 3,5$ μm mittaiseksi ja ≥ 10 μm pitkäksi (NIOSH, 2007).

Suomen sosiaali- ja terveysministeriön (STM) mukaan mineraalivillan haitalliseksi tunnettu pitoisuus eli HTP-arvo on 1 kuitu/ cm^3 (STM, 2020). STM:n HTP-arvojen kuidut on määriteltä vähintään 3 μm kokoisiksi kuiduiksi, joiden pituuden suhde halkaisijaan on vähintään 3:1. HTP-arvot kuvaavat kahdeksan tunnin aikapainotettua keskiarvopitoisuutta. Euroopassa työympäristöjen vastaavien kuitujen HTP-arvot ovat pääasiassa 1–2 kuitua/ cm^3 , kuitujen koolla ollessa joitakin määrityseroja. (Arbetsmiljöverket 2018; SCOEL, 2012).

1.2.2 Teollisten mineraalikuitujen terveysvaikutukset

1990–2000-lukujen laajoissa terveysriskikatsauksissa on keskitytty erityisesti asbestiin verrattaviin pienimpiin mineraalikuituihin ja niiden mahdolliseen syöpävaarallisuuteen. Kohortti- tai pienemmissä tutkimuksissa teollisten mineraalikuitujen kanssa työskentelevillä ei ole kuitenkaan havaittu kohonnutta riskiä sairastua keuhkosityöpään, keuhkopussin syöpään tai vatsaontelon syöpään (IARC, 2002; Marsh ym., 2011). Vuonna 2001 IARC luokitteli lasivillan luokkaan 3, ei luokiteltavissa syöpävaarallisuuden suhteen ihmiselle, koska näyttö sen karsinogeenisuudesta on ihmisillä riittämätöntä ja eläinkokeissa rajallista (IARC, 2002).

Kuitumateriaalien laajan ja pitkäaikaisen käytön vuoksi teollisille mineraalikuiduille altistutaan kuitenkin myös tuotantoympäristöjen ulkopuolella asunnoissa ja toimistotiloissa. Altistuneiden oireisiin vaikuttavat altistumisannos, -kesto ja kehon altistumiskohta, mutta oireiden voimakkuutta määrittävät myös ikä, sukupuoli, ruokavalio, geenit, elämäntapa, samanaikainen altistuminen muille kemikaaleille sekä yleinen terveydentila (Yhdysvaltain terveysministeriö, 2004). Alveolijaetta suurempien kuitujen aiheuttamina ärsytysoireina iho

voi kutista ilman näkyviä muutoksia, mutta iho-oireisiin kuuluvat myös punotus, ihottuma ja nokkosihottuma (Jolanki ym., 2005). Silmäoireina esiintyy tavallisesti kuivuutta, kutinaa, vetistystä tai punoitusta (Työterveyslaitos, 2005). Kuidut päätyvät iholle ja silmiin tavallisesti pinnoilta käsien välityksellä (Schneider, 2001). Kuidut nousevat ilmaan ja laskeutuvat tilassa uusille pinnoille ilmavirtausten mukana. Laskeutuneiden kuitujen uudelleen ilmaan joutuminen lisää paikallisesti kuitupitoisuuksia, jolloin niitä saatetaan hengittää suurissa määrin (Schneider ja Lundqvist, 1986).

Kuitujen aiheuttamaa hengitysteiden ärsytystä kuvataan yleensä tilapäiseksi oireeksi, joka helpottaa, kun kuitualtistus loppuu (Yhdysvaltain ympäristösuojeluvirasto, 2016). Teollisista mineraalikuiduista ei ole havaittua kohonnutta riskiä hyvänlaatuisiin hengityselinsairauksiin (Suder Egnot ym., 2023, McElvenny ym., 2025), sillä alveoleillekin saakka kulkeutuneet kuidut poistuvat makrofagien eli syöjäsolujen avulla. Vierasaineita täynnä olevat makrofagit kulkeutuvat keuhkoista ylempiin hengitysteihin värekarvojen avulla ja tulevat niellyiksi tai limana pois yskityiksi. Nieltujen makrofagien vierasaineet erittyvät ulosteen mukana muutamissa päivissä. (Yhdysvaltain terveysministeriö, 2004.)

Eräissä tapauksissa myös eristevillojen sidosaineet ovat aiheuttaneet allergista kosketusihottumaa (Jolanki ym., 2005; Tsunoda ym., 2014). Vaikka sidosaineiden kemiallinen ärsyttävyyys on osoitettu laboratorio-olosuhteissa erillään kuiduista, sidosaineiden terveysvaikutuksia sisäilmassa esiintyvänä kuituihin sitoutuneina yhdisteinä ei ole juuri tutkittu. Solvang ym. (2023) ovat havainneet, että sidosaineita esiintyy hengitettävien mineraalivillakuitujen pinnalla pisaroina. He päättelivät myös, että aiemmissa IARC (2002) epidemiologisissa tutkimuksissa tarkastellut hengitettävät kuidut ovat saattaneet sisältää sidosaineita.

1.2.3 Sisäilman teollisten mineraalikuitujen tutkiminen ja siihen liittyvät haasteet

Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisen kuitunäytteenoton haasteena on erityisesti näytteen pitkä, neljäntoista vuorokauden mittainen kontrolloimaton keräysaika, jonka aikana teollisia mineraalikuituja voi laskeutua ilmasta näytteenottopinnalle. Näytteenottopinnan tulee olla sileä, jotta kuidut laskeutuvat siihen tasaisesti. Pintaan ei saa kohdistua voimakkaita ilmavirtauksia. Näytteitä ei saa ottaa paikoista, joihin kuituja kertyy poikkeuksellisen runsaasti, kuten matoilta tai yläpinnoilta (Schneider, 2008) tai poikkeuksellisen vähän, kuten esteen takaa. Kuituköyhistä tai -rikkaista pinnoista on kuitenkin vähän tutkimustietoa.

Näytetilasta tulisi ottaa vähintään kolme näytettä eri kohdista, jotta kuitupitoisuuksien vaihtelu voitaisiin tunnistaa ja kuitujen lähde voitaisiin varmistaa. Näytteen tulee kuitenkin edustaa tilan käyttäjien oleskeluvyöhykettä. Tilojen käyttäminen näytteenoton aikana on oleellista, sillä esimerkiksi ihmisten liikkumisesta aiheutuvat ilmavirtaukset ovat keskeisiä siinä, että nopeasti laskeutuvat pöly ja kuidut nousevat pinnoilta uudelleen ilmaan ja siirtyvät näytteenottopinnalle. Pölyn uudelleen ilmaan nouseminen lisääntyy aktiivisuustason kasvaessa (Thatcher ja Layton, 1995). Näytteenottopaikkojen valinnassa voi kuitenkin ilmetä käytännön haasteita, sillä tilassa ei välttämättä ole riittävästi pintoja, jotka täyttävät kaikki edustavan näytepaikan vaatimukset. Näytteen edustavuutta ei geeliteippimenetelmässä myöskään aina voida varmistaa, sillä tilan käyttäjät saattavat vahingossa häiritä näytteenottopintaa esimerkiksi siivoamalla tai peittämällä pinnan, ilman että näytteenottaja saa tietää tapahtumista.

Myös geeliteipin analysoiminen muodostaa osaltaan haasteen mineraalikuitujen tutkimisessa, koska nyky menetelmän mukainen näytteen manuaalinen tarkastelu läpivalaisumikroskoopilla vaatii analyysoijalta ammattitaitoa, aikaa ja tarkkuutta kuitujen havaitsemiseksi.

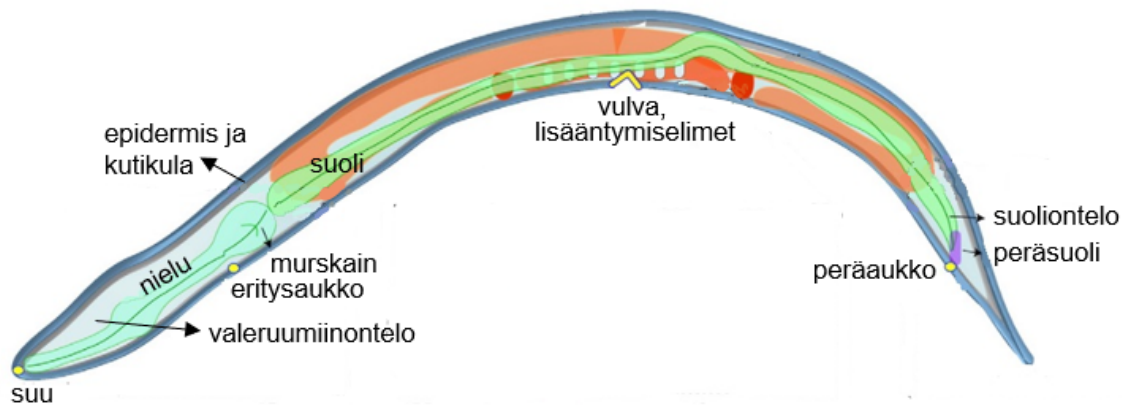
Pyyhkäisyelektronimikroskoopilla (engl. scanning electron microscopy, SEM) suoritettavassa analyysissä puolestaan tarkastellaan yleensä vain hyvin pientä osaa näytteestä, sillä kuvakenttä on rajallinen ja analyysi aikaa vievä. SEM voi myös osoittautua ongelmalliseksi kuitujen tarkastelussa, koska kuituja voi olla näytteessä vähän ja niiden jakautuminen voi olla epätasaista, jolloin yksittäinen analysoitu alue ei välttämättä edusta koko näytettä.

Seuraava haaste kuitujen tutkimiseksi sisäilmasta liittyy kansainväliseen ISO 10312:2019-standardiin. Standardi määrittelee näytteenottomenetelmän ilmankeräimellä, joka kerää asbestia ja muita pienimpiä kuituja, jotka eivät ole asumisterveysasetukseen laskettavia teollisia mineraalikuituja. Asbestikuitujen paksuus on 0,03–3 µm ja myös asbestikuitujen halkaisijaksi on määritetty vähintään 3:1 (Ympäristöministeriö, 2023). ISO-standardin mukainen ilmankeräin pumppaa noin 2 litraa ilmaa minuutissa. Näytteenotto kestää tyypillisesti kaksi tuntia, jolloin näytteen tilavuudeksi kertyy noin 240 litraa. Standardin menetelmällä ilmasta on yritetty kerätä asumisterveysasetukseen laskettavia, suurempia teollisia mineraalikuituja, mutta pumpun ilmavirtaus ei ole riittävä suurikokoisten kuitujen tehokkaaseen talteenottoon. Tehokkaammalla ilmankeräimellä voitaisiin parantaa kuitunäytteiden edustavuutta, mikäli ilman virtausnopeus olisi riittävä kuljettamaan myös raskaampia kuituja, jotka muuten saattaisivat jäädä keräämättä. Teolliset mineraalikuidut

päätyvät hengityselimistöön ilman kautta ja aiheuttavat ärsytysoireita, joten ilmajäljistä kuitualtistusta olisi perusteltua mitata.

1.3 *Caenorhabditis elegans* -sukkulamadot ja niiden hyödyntäminen biomonitoroinnissa

Caenorhabditis elegans on maaperässä ja komposteissa esiintyvä kosmopoliitti sukkulamatolaji. Sen ravintoa ovat mikrobit, kuten laboratorio-olosuhteissa tähän tarkoitukseen käytetty bakteeri *Escherichia coli*. *C. elegans* on yksinkertainen monisolainen eliö noin tuhannella somaattisella solulla, joista kolmasosa on hermosoluja (Riddle ym., 1997). Sukkulamato on täysikasvuinen noin millimetrin pituinen, jaokkeeton sekä muodoltaan sylinterimäinen ja päistään kapeneva (kuva 2).



Kuva 2. *C. elegans* -sukkulamadon anatomia. Ruuansulatusjärjestelmä on merkitty vihreällä, kutikula ja epidermis sinisellä, lisääntymiselimet oranssilla, valeruumiinontelo vaaleansinisellä sekä suu- ja eriteaukot keltaisella. Sukkulamadoilla ei ole silmiä, keuhkoja tai sydäntä, eikä näin ollen myöskään verenkiertoa. Kuva: Gonzalez-Moragas ym. (2015), tekstejä muokattu.

Sukkulamadon elinkiertoon kuuluu neljä toukkavaihetta (L1–L4), ja sen kehitys munasta aikuiseksi kestää optimaalisissa olosuhteissa noin kolme ja puoli päivää. Sen jälkeen yksilö elää kahdesta kolmeen viikkoa. Epäsuotuisissa olosuhteissa yksilöt voivat kuitenkin siirtyä vaihtoehtoiseen dauer-horrostilaan, jossa ne voivat selviytyä jopa useita kuukausia. Dauer-tilaan siirtymiseen L1-toukkavaiheessa vaikuttavat esimerkiksi populaatiotiheys, ravinnon saatavuus ja ympäristön lämpötila. (Cassada ja Russell, 1975.) Mikäli tutkimuksissa halutaan käyttää samaa sukkulamatokantaa myöhemmin, dauer-tilan ansioista sukkulamatoja voidaan tarvittaessa pakastaa pitkäaikaista säilytystä varten tai myös postittaa.

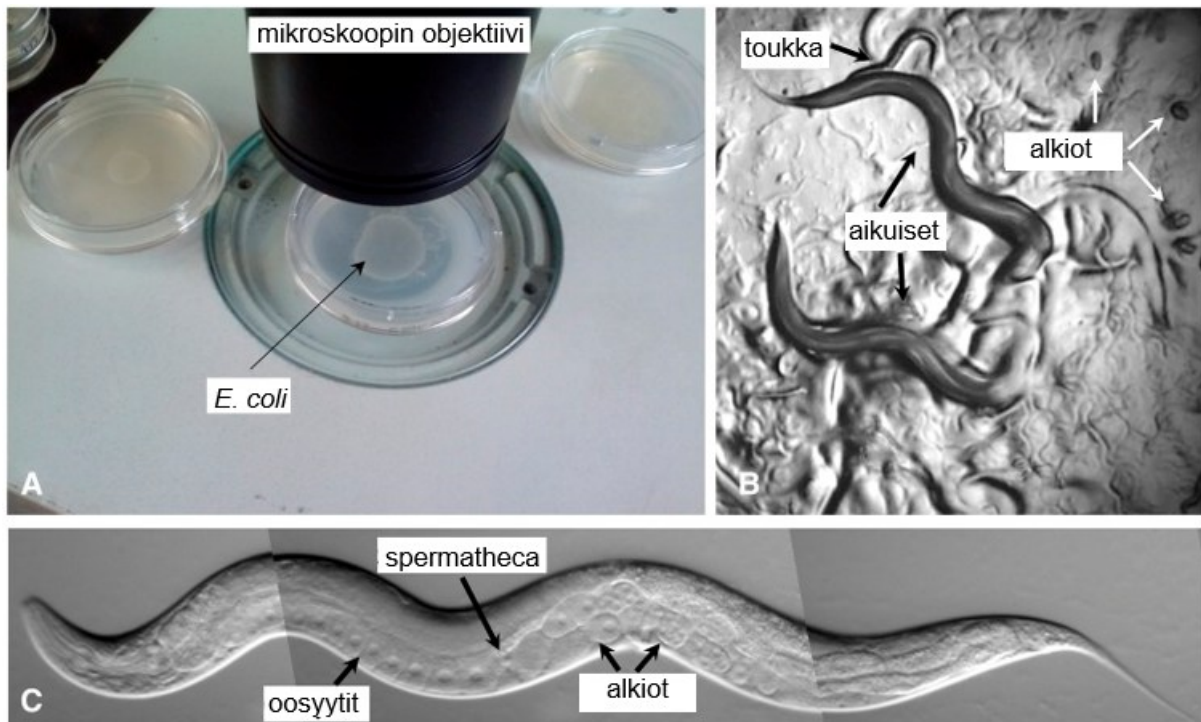
Sukkulamatojen populaation ylläpitäminen ja laajentaminen on helppoa. Ne elävät laboratoriossa bakteeriviljelyillä agarmaljoilla. Sukkulamadoilla on kaksi sukupuolta,

kaksineuvoinen, kromosomeiltaan XX ja koiras, XO. Kaksineuvoisen yksilön itsesiitos tuottaa noin 250 geneettisesti identtistä jälkeläistä, mutta koiraan kohdatessaan kaksineuvoinen yksilö tuottaa jopa 1000 jälkeläistä (Hodgkin ja Barnes, 1991; Riddle ym., 1997). Koiraita on populaatiossa kuitenkin vain noin yksi sadasta yksilöstä.

C. elegans syö imemällä vettä ja mikrobeja suunsa kautta nieluun, josta vesi poistuu erityisaukosta ja josta mikrobit siirtyvät peristalttisilla supistuksilla nielusta eteenpäin. Mikrobit murskautuvat nielun murskainrakenteessa ennen siirtymistä suoleen. Sukkulamadon kutikula eli uloin pintakerros suojaa sukkulamatoa ympäristöltä ja toimii sen ulkoisena tukirankana. Aikuisen sukkulamadon kutikula on noin 0,5 µm paksu ja koostuu viidestä kerroksesta, jotka rakentuvat pääasiassa kollageenistä, lipideistä ja glykoproteiineista. Kutikula rajoittaa ympäristön molekyylien pääsyä elimistöön, vaikka se läpäisee tiettyjä aineita. (Riddle ym., 1997.) Sukkulamadon pintakerros on rakenteeltaan ja toiminnaltaan kuin ihmisen ihon varhainen esiaste, joten sitä voidaan myös hyödyntää ihon yksinkertaistettuna mallina (Chisholm ja Hsiao, 2012).

Sukkulamatoja on hyödynnetty tutkimuksessa jo 1960-luvulta lähtien, mutta Sydney Brenner käynnisti niiden systemaattisen käytön malliorganismina 1970-luvulla (Brenner, 1974). Brennerin tavoitteena oli kehittää yksinkertainen ja geneettisesti helposti muokattava malli kehitysbiologian ja neurobiologian tutkimukseen. Yksinkertaisuudestaan huolimatta sukkulamato on riittävän monimutkainen organismi, jotta sen avulla voidaan mallintaa monisoluisille eliöille tyypillisiä solujen, elinten ja elimistön vuorovaikutuksia.

C. elegans -sukkulamadot reagoivat erilaisiin aistiärsykkeisiin, kuten hajuihin, makuihin, kosketukseen, osmoottisiin muutoksiin ja lämpötilan muutoksiin. Niiden monimutkaisimpia käyttäytymismalleja ovat parittelu, muisti, oppimiseen liittyvät prosessit, sekä sosiaalinen käyttäytyminen kuten yhteen kasautuminen. (Rankin, 2002; de Bono, 2003). Sukkulamatoja, niiden toukkia ja alkioita voidaan tarkastella mikroskoopilla (kuva 3A-3C).



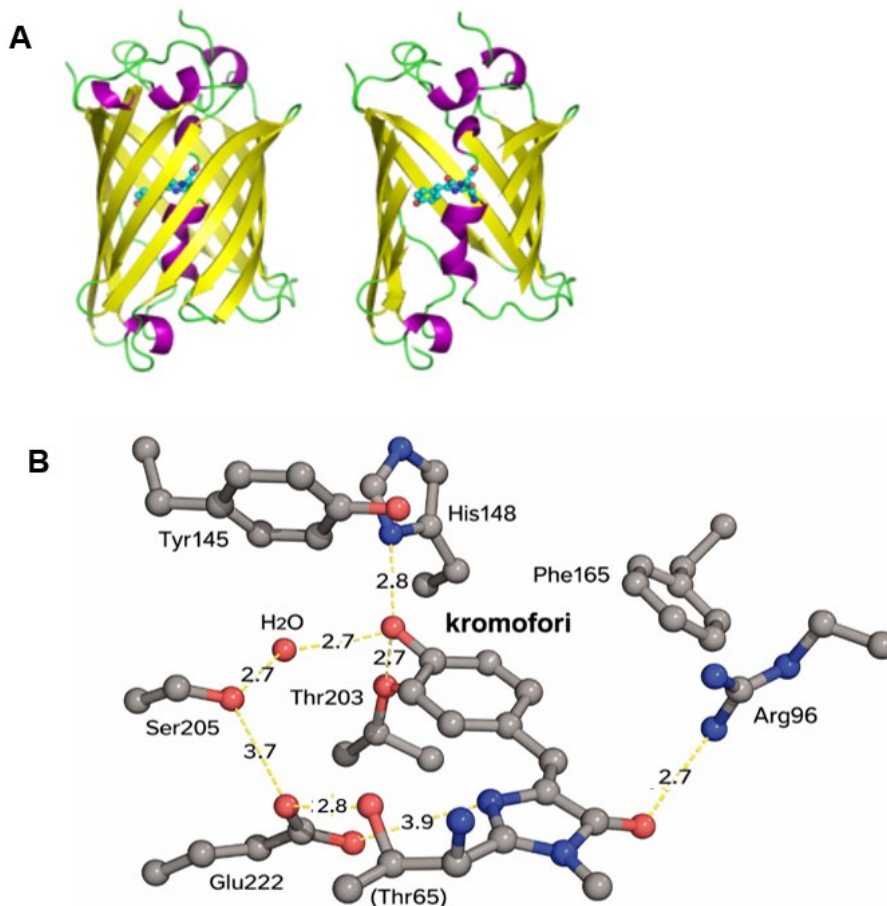
Kuva 3. A: Sukkulamatojen mikroskooppitarkastelu. Kasvualustalle kasvatettu *E. coli* -bakteerimatto toimii sukkulamatojen ravintona. B: Mikroskoopilla voidaan nähdä aikuiset sukkulamadot, toukkavaiheen yksilöt sekä munat. Kuvat A-B: Corsi ym. (2015), tekstejä muokattu. C: Aikuisen kaksineuvoinen *C. elegans* -sukkulamato. Yksilön pää on vasemmalla ja vatsanpuoli alaspäin. Sukkulamato liikkuu kyljellään. Läpikuultavasta yksilöstä voidaan erottaa kehittyvät oosyytit, alkiot sekä spermatheca, jossa siittiöt kehittyvät. Kuva: Goldstein (n.d.), tekstejä muokattu.

Sukkulamatojen ominaisuuksia on hyödynnetty toksikologian tutkimuksissa, esimerkiksi epäorgaanisten nanomateriaalien osalta (Roh ym., 2009; 2010). Lisäksi sukkulamatoja on käytetty ympäristön biomonitorointiin jo 30 vuoden ajan, kuten varhaisena indikaattorina ympäristön sienitautien torjunta-aineille (Jones ym., 1996). Biomonitoroinnilla tarkoitetaan biologisen eliön avulla tapahtuvaa ympäristöaltisteiden havaitsemista ja arviointia.

Biomonitorointia varten sukkulamatokantoihin on siirretty vihreää fluoresoivaa proteiinia (GFP) ilmentävä geeni. Tutkija Osamu Shimomura löysi GFP:n 1960-luvulla *Aequorea victoria* -meduusasta, mutta vasta 1990-luvulla kloonattua GFP:tä voitiin käyttää organismeissa geeniekspression reportterina ja proteiinien lokalisaation työkaluna. Sittemmin GFP:stä on kehitetty erilaisia väriltään ja stabiilisuudeltaan poikkeavia variantteja.

GFP:n fluoresenssin tuotto perustuu ESPT-mekanismiin (engl. excited state proton transfer) eli protoninsiirtoon proteiinissa. Esimerkiksi Kennis ym. (2004) ovat kuvailleet mekanismin. GFP-molekyylissä on yksitoista β -säiettä, jotka muodostavat lieriömäisen β -tynnyrin (engl. β -barrel), jonka sisällä kulkee lyhyt α -heliksi (kuva 4A). Heliksin keskelle muodostuu proteiinin toiminnan kannalta keskeinen kromofori. Kromofori muodostuu proteiinin laskostuessa, kun

seriini 65, tyrosiini 66 ja glysiini 67 järjestäytyvät kovalenttisesti ja hapettuvat. β -tynnyri toimii kromoforin suojarakenteena, estäen virityksen purkautumisen lämpönä. ESPT käynnistyy, kun kromofori absorboi fotonin ja rakenteen elektronit virittyvät. Kromofori voi kuitenkin esiintyä kahdessa eri protonaatiotilassa, mikä näkyy kahtena absorptiohuippuna. Protonoitu A-muoto absorboi UV-valoa noin 395 nm:n kohdalla, kun taas deprotonoitu B-muoto absorboi sinistä valoa noin 475 nm:n kohdalla (Ormö ym., 1996). ESPT-mekanismissa virittynyt A-muodon kromofori luovuttaa protonin järjestäytynyttä reittiä pitkin, kromoforin hydroksyyli ryhmästä vesimolekyylin ja seriinin 205 hydroksyylin kautta glutamiiniin 222, joka vastaanottaa protonin (kuva 4B). Protoninsiirron seurauksena syntyy virittynyt anioninen I* tila, joka emittoi vihreän fotonin eli vihreää fluoresenssia. Fluoresenssin emissiohuippu on 509 nm:ssä ja sivuhuippu 540 nm:ssä (Morise, 1974).



Kuva 4. A: Piirretyt GFP-molekyylit. Oikealla β -tynnyrin rakenne on avattu paljastaen kromoforin. Kuva: Yang ym. (1996). B: Malli GFP/S65T-variantin kromoforista ja sen välittömästä ympäristöstä. Typpiatomit on merkitty sinisellä ja happiatomit punaisella. Vetysidokset ja muut mahdollisesti tärkeät vuorovaikutukset on esitetty katkoviivoina ja niille on merkitty pituudet ångströmeinä (Å). Kuva: Remington (2011), tekstiä muokattu.

C. elegans -sukkulamadon käyttö on sittemmin vakiintunut työkaluna ympäristön kemikaalien biomonitoroinnissa. Anbalagan ym. (2012) arvioivat metallistressiä maaperän huokosvedestä. He havaitsivat, että sukkulamadot reagoivat lyijyn läsnäoloon. Jatkotutkimuksessa (2013) tarkasteltiin maaperässä yleisesti käytettyjä torjunta-aineita ja havaittiin orgaanisia yhdisteitä, jotka aiheuttivat sukkulamadoissa vasteen.

Samoja Anbalagan ym. (2012) siirtogeenisiä sukkulamatokantoja on tutkimusryhmämme ensimmäistä kertaa käyttänyt sisäilman biomonitorointiin Paavanen-Huhtala ym. (2023). Tutkimuksessa tarkasteltiin *C. elegans* -sukkulamatojen soveltuvuutta sisäilman kemikaalien sekä sienten toksiinien biomonitorointiin. Havaittiin, että sukkulamadot reagoivat herkästi toksisiin sisäilmayhdisteisiin, kuten VOC:ihin kosteuden vaurioittamissa materiaaleissa, joihinkin pesuaineyhdisteisiin sekä erityisesti mikrobinäytteisiin. Sukkulamatojen vasteet korreloivat näytteiden biologisen kuormituksen kanssa.

1.4 Tutkielman tavoite

Tässä tutkielmassa tarkastellaan mineraalikuitujen keräämiseen liittyviä haasteita, syklonista ilmankeräintä uutena mahdollisena kuitunäytteenottomenetelmänä, sekä sukkulamatomohjaisen biomonitorointimenetelmän mahdollisuuksia ja rajoitteita. Tutkielman ensimmäisenä tavoitteena oli arvioida, kykeneekö sykloninen ilmankeräin keräämään sisäilmasta teollisia mineraalikuituja. Tällainen ilmankeräin on vähintään 40 kertaa virtaukseltaan nopeampi kuin tavanomaisessa asbestinäytteenotossa käytettävät ilmapumput.

Toiseksi haluttiin selvittää, voidaanko biologista *Caenorhabditis elegans* -sukkulamatomallia hyödyntää sisäilman laadun indikaattorina kuituiselle sisäilmalle tai muille sisäilman epäpuhtauksille. Tutkielmassa käytettiin siirtogeenisiä sukkulamatokantoja, jotka ilmentävät stressaantuessaan vihreää fluoresoivaa proteiinia (GFP) reportterigeeninä. Sukkulamatojen vasteita näytteille tarkasteltiin fluoresenssi- ja liikkuvuusmittauksin.

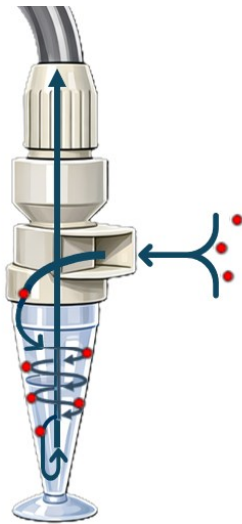
Ensimmäisen hypoteesin mukaan sykloninen ilmankeräin pystyy keräämään teollisia mineraalikuituja sisäilmasta edustavammin kuin nykyinen geeliteippimenetelmä. Toisen hypoteesin mukaan sukkulamatojen pieni koko, nopea elinkierto ja herkkyys ympäristömuutoksille tarjoavat toimivan työkalun teollisten mineraalikuitujen biomonitorointiin. Lisäksi oletuksena on, että syklonisella ilmankeräimellä on mahdollista kerätä sisäilman mikrobeja ja haihtuvia orgaanisia yhdisteitä (VOC), ja sukkulamatojen vasteiden avulla arvioida myös näistä aiheutuvia sisäilmaongelmia. Mikrobi- ja VOC-näytteet

toimivat vertailukohteina kuitunäytteille ja mahdollistivat menetelmän toimivuuden varmistamisen sekä vertailun aiempaan tutkimukseen (Paavanen-Huhtala ym., 2023), jossa sukkulamatojen oli todettu reagoivan muun muassa mykotoksiineille ja sisäilman VOC:eille. Geeliteippimenetelmä ei sovellu mikrobien tai muiden sisäilman epäpuhtauksien määrittämiseen, kuten sykloninäytteet potentiaalisesti sopisivat, joten jälkimmäisillä voisi olla mahdollista saada kokonaisvaltaisempi käsitys sisäilman laadusta. Osa aineistosta on julkaistu aiemmin Turves ym. (2025) seminaariartikkelissa, jossa käsitellään syklonista ilmankeräintä sekä tämän tutkielman tuloksia teollisten mineraalikuitujen osalta.

2 Aineisto ja menetelmät

2.1 Näytteiden kerääminen

Keräsin näytteet normaalissa käytössä olevista tiloista, joissa kuidut liikkuvat ilmassa muun muassa ihmisten aiheuttamien ilmavirtausten ansiosta. Yksi näytteenottokohde oli poistettu käytöstä, jolloin ilmanvaihdon käynnistämällä ja pintojen harjaamisella nostettiin kuituja ilmaan näytteenkeräystä varten. Keräsin näytteet syklonisella ilmankeräimellä (Coriolis μ , Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux, Ranska), joka imee ilmaa jopa 300 litraa minuutissa ja siirtää keräämästään ilmasta epäpuhtaudet valittuun nesteeseen syklonisen pyörityksen avulla (kuva 5).



Kuva 5. Syklonisen ilmankeräimen toimintaperiaate. Ilma, jonka virtausta on kuvattu nuolilla ja ilmassa olevat epäpuhtaudet, jotka on kuvattu punaisilla pisteillä, virtaavat tangentiaalisesti keräysputkeen. Ilma kulkee spiraalimaisesti pitkin keräysputken kaarevaa seinämää. Epäpuhtaudet törmäävät seinämään keskipakovoiman seurauksena ja siten kerääntyvät valittuun näytteenkeräysnesteeseen (Carvalho ym., 2008). Tämän jälkeen ilmavirta poistuu keräysputken keskeltä ylöspäin. Kuva: Emilia Turves, 2026.

Keräsin näytteet toimistotyyppisistä tiloista sekä koulu- ja päiväkotirakennuksista Varsinais-Suomen alueelta. Valitsin näytteenottokohteet yhteistyössä Sirate Group Oy (Sirate) ja Aeronos Oy (Aeronos) rakennusterveysasiantuntijoiden kanssa. Keräämieni näytteiden lisäksi Siraatan asiantuntija keräsi näytteitä Varsinais-Suomesta ja Kanta-Hämeestä tiloista, joissa epäiltiin teollisten mineraalikulitujen aiheuttamia sisäilmaongelmia. Näin ollen kuitunäytteenotto tehtiin yhteensä seitsemästä rakennuksesta. Aeronosin asiantuntija täydensi näytteenottoa Varsinais-Suomesta kahdesta rakennuksesta, joissa epäiltiin haihtuvien orgaanisten yhdisteiden (VOC) aiheuttamia sisäilmaongelmia. Lisäksi valitsin ohjaajan

kanssa näytteenottoon kylmätilan biologian laitokselta, jossa oli aistinvaraisesti havaittu mikrobikasvustoa kalusteissa ja seinien sisäpinnoilla.

Näytteenotossa sykloninen ilmankeräin asetettiin keräämään ilmaa 300 l/min. Keräsin näytteet liuokseen, joka sisälsi 15 ml joko ultrapuhdasta vettä, 70 % etanolia tai 65,8 % (v/v) etanoli-K-puskuria. Asetin näytteenkeräimen mahdollisimman lähelle oletettua kuitujen tai muiden epäpuhtauksien lähdettä, mutta kuitenkin tilan käyttäjän oleskeluvyöhykkeelle (kuva 6). Keräysaika oli 7–10 minuuttia, jolloin kerätty ilmamäärä (2100–3000 l) vastasi keskimäärin ihmisen kahdeksan tunnin aikana hengittämää ilmamäärää (Pleil ym. 2021). Lyhyt näytteenkeräysaika mahdollisti useiden rinnakkaisnäytteiden keräämisen samana päivänä ja useammista tiloista, häiritsemättä rakennuksen normaalia käyttöä.



Kuva 6. Näytteen kerääminen tilasta oleskeluvyöhykettä mukaillen keräimen ollessa pulpetilla. Katon akustiikkalevyt olivat mahdollinen teollisten mineraalikuitujen lähde. Kuva: Emilia Turves, 2024.

Kussakin rakennuksessa suoritettujen näytteiden keräämisen jälkeen dekontaminoin syklonikeräimen laboratorioissa pyyhkimällä laitteen pinnan 70 % etanolilla ja pyörittämällä 70 % etanolia keräysputkessa 8 minuutin ajan 300 l/min virtausnopeudella. Huuhtelin myös laitteen varren ja ilmasuuttimen 70 % etanolilla. Kunkin näytteenoton tai dekontaminoinnin jälkeen tiskasin käytetyn keräysputken ja huuhtelin sen ultrapuhtaalla vedellä.

Jos rakennuksessa epäiltiin mineraalikuituongelmia, Sirate keräsi kuntotutkimukseen kuuluvia näytteitä pintapölyn laskeumasta geeliteippimenetelmällä. Geeliteippinäytteitä kerättiin yhteensä 129. Geeliteippimenetelmä on esitetty asumisterveysasetuksen soveltamisohjeessa ja

kuvattu tarkkaan esimerkiksi Työterveyslaitoksen verkkosivuilla (Työterveyslaitos, n.d.). Geeliteippinäytettä varten tutkittavan tilan pintataso puhdistettiin liasta ja rajattiin. Pölyn annettiin laskeutua koskemattomana pidetylle tasolle kahden viikon ajan, jonka jälkeen pinnalle laskeutuneet hiukkaset kerättiin painamalla pintaa geeliteipillä. Teippi siirrettiin petrimaljalle tartuntapinta ylöspäin, malja suljettiin ja toimitettiin analysoitavaksi FINAS-akkreditoituun Aerobiologian laboratorioon Turkuun.

Keräsin näytteitä myös biologian laitoksen kylmätilasta, jossa oli havaittu mikrobikasvustoa. Keräys suoritettiin sekä ennen että jälkeen tilassa tehdyn homesiivouksen (kuva 7). Kaikkiaan syklonikeräimellä kerättiin 56 näytettä, joista 22 olivat kuitunäytteitä.

Sykloninäytteiden lisäksi keräsin eristevillan materiaalinäytteitä epäiltyjen kuituongelmaisten rakennusten ulkoseinistä. Eristevilla kerättiin kourallisen tikun avulla ulkoseiniin poratuista rei'istä. Myös Sirate keräsi eristevillan materiaalinäytteitä biomonitorointia varten sellaisista rakennuksista, joissa epäiltiin sisäilmaongelmaa.



Kuva 7. Sykloninäytteenkeräys tilasta, jossa oli havaittu mikrobikasvustoa sisäpinnoilla. Uusia näytteitä kerättiin siivouksen jälkeen. Kuva: Emilia Turves, 2024.

2.2 Teollisten mineraalikuitujen ja mikrobien tutkiminen näytteistä

Aerobiologian laboratorio analysoi Siraten toimittamat geeliteippinäytteet asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisesti. Tuloksia verrattiin asumisterveysasetuksen toimenpiderajaan. Laboratorio raportoi tulokset Siratelle.

Tutkin syklonisella ilmankeräimellä kerättyjen näytteiden teollisten mineraalikuitujen esiintymistä valomikroskoopilla (Fluovert FS, Wild Leitz) ja EVOS M7000-mikroskoopilla (ThermoFisher Scientific). Pipetoin nestemäiset näytteet 250 μ l erissä pohjastaan optisesti läpäisevälle 96-kuoppalevyille (IsoPlateTM-96 F, Perkin Elmer) lähes kokonaisuudessaan sen

jälkeen kun osa näytteestä oli erotettu biomonitorointia tai mikrobianalyysiä varten. Tarkastelin kuoppalevyn kuoppia valomikroskoopilla 4- ja 25-kertaisilla suurennoksilla, joilla erotin vähintään 10 µm pitkät mineraalikuidut. Havaitessani teollisia mineraalikuituja tai niitä muistuttavia partikkeleita nesteessä, kuvasin kuopan sisällön EVOS M7000-mikroskoopilla 10- ja 25-kertaisella suurennoksella. EVOS M7000:n resoluutio ja tarkemmat valon ja kontrastin säätömahdollisuudet auttoivat varmistamaan havainnot tarkemmin kuin tavallisella valomikroskoopilla oli mahdollista. Asumisterveysasetuksen edellyttämää 100-kertaista suurennusta ei käytetty tutkielman puitteissa. Teollisten mineraalikuitujen pituus mitattiin mikroskooppikuvista käyttäen ImageJ 1.53 m-ohjelmistoa (National Institute of Health). Ennen mittaamista ImageJ:ssa asetettiin kuvan mittakaava hyödyntäen mikroskooppikuvien mittakaavaa. Kuidut rajattiin kuvalle visuaalisesti ja pituus mitattiin "Straight line"-työkalulla.

Kuituja tarkasteltiin lisäksi pyyhkäisyelektronimikroskoopilla (SEM, engl. scanning electron microscope; Apreo 5, Thermo Fisher Scientific). Valitsin SEM-analyysiin näytteitä sellaisista tiloista, joista Siraten keräämissä geeliteippinäytteissä oli havaittu teollisia mineraalikuituja, sillä SEM-kuvauksessa ei ollut vielä selvää, missä sykloninäytteissä niitä voisi olla. Imusuodatin valitut näytteet, sillä SEM-laitteistoon ei saa päätyä nesteitä. Käytin imusuodatukseen saatavilla olevia polykarbonaattisuodattimia, joiden huokoskoko oli 0,2 µm (25 mm polycarbonate track-etched filters, Sartorius). Säilytin suodattimia kontaminaatiolta suojattuina petrimaljoilla, jotka oli vuorattu foliolla. Folio esti suodattimen varautumisen ja kiinnittymisen maljan kanteen.

Toimitin osan syklonisella ilmankeräimellä otetuista näytteistä Aerobiologian laboratorioon mikrobiviljelyyn. Keräsin viljellyt näytteet syyskuun lopussa ja lokakuun alussa, jolloin myös ulkoilmassa on paljon mikrobeja, jotka saattavat päätyä sisäilmaan. Säilytin laboratorioon toimitettavia näytteitä jääkaappilämpötilassa korkeintaan 24 tuntia keräämisestä. Erotin kokonaismäärästä näytenestettä 500 µl erilliseen Eppendorf-putkeen mikrobiviljelyä varten, ja loput näytteestä pakastettiin. Erotetusta osasta 100 µl alieriä kasvatettiin Aerobiologian laboratoriossa mallasuuteagarilla (M2-agar) ja tryptoni-hiivauute-glukoosikasvatusalustalla (THG) viikon ajan.

2.2.1 Kuituanalyysi automaattimikroskoopilla

EVOS M7000-mikroskoopilla suoritettu kuvantaminen oli pitkälti automatisoitua. Robottiohjattu näytepöytä ohjasi mikroskoopin ottamaan kuvia ennalta määritetyillä asetuksilla halutuista kohdista. Jokaisesta 96-kuoppalevyn kuopasta otettiin 4- tai 10-

kertaisella suurennoksella yksi kuva, jonka laite tarkensi ja tallensi. Näytealueen kuvaaminen kesti tyypillisesti minuuteista kymmeneen minuutteihin riippuen näytteenesteen määrästä (1–15 ml). Tarvittaessa otin kuopista kuvia myös 25-kertaisella suurennoksella. Tätä suuremmalla suurennoksella, kuten 100-kertaisella suurennoksella kuoppalevyn kuvaaminen olisi voinut kestää kymmenistä minuuteista tunteihin kuvauspisteiden määrän mukaan. Näytteitä laimennettiin tarpeen mukaan, mikäli kerättyjä partikkeleja oli niin paljon, ettei yksittäisiä partikkeleja voitu erottaa helposti.

2.2.2 Kuituanalyysi SEM:lla

SEM:lla tarkasteltiin näytteitä kohdistetulla elektronisäteellä, jota käytetään kokoluokassa 10 nm – 1 mm. Menetelmässä näytteeseen kohdistetaan elektronisäde alipaineistetussa tilassa. Kun säde osuu näytteen pintaan, syntyy erilaisia signaaleja, kuten sekundäärielektroneja (SE, engl. secondary electrons) ja takaisinsironneita elektroneja (BSE, engl. backscattered electrons). SEM-kuvauksen yhteydessä voidaan käyttää energiaerotteista röntgenspektrometriaa (EDS, engl. energy dispersive x-ray spectrometry), jolla saadaan tietoa näytteen alkuainekoostumuksesta ja luodaan niin kutsuttu alkuainekartta.

Ennen SEM-kuvausta tarkastelin imusuodatettujen näytteiden suodattimia valomikroskoopilla Aerobiologian laboratoriossa asiantuntevan henkilöstön avustuksella, ja valitsin SEM-tarkasteluun suodattimen, jossa havaitsimme teolliselta mineraalikuudelta näyttäviä partikkeleja. Tutkielman puitteissa en valmistellut suodatinta elektronimikroskopiaan pinnoitteilla, vaan suodatin kuvattiin alkuperäisessä tilassaan. Kuvauksessa halutut partikkelit paikannettiin suodattimelta ja kuvattiin matalavakuuutilassa, jossa kuvauskammion paine oli vesihöyryllä 80–100 Pa. Sekundäärielektronikuvat otettiin käyttäen 2 kV kiihdytysjännitettä. Sekundäärielektronit (SE:t) ovat peräisin näytteen pinnasta, jolloin ne kuvaavat näytteen topografiaa. Niitä keräävä detektori oli asetettu pieneen kulmaan näytetasoon nähden, jolloin detektorin suuntaan olevat pinnat näyttivät hieman kirkkaammilta, toisen puolen jäädessä katveeseen.

Takaisinsirontaelektronikuvat (BSE-kuvat) otettiin käyttäen 10 kV:n kiihdytysjännitettä. BSE:t kimpoilevat näytteen sisällä, minkä vuoksi ne eivät anna tietoa pinnan muodoista, joten BSE-kuvat näyttävät litteiltä. Heikon signaalin vuoksi BSE-kuvia kerättiin matalammalla paikkaresoluutiolla pidemmän aikaa, pyyhkien elektronisädettä näytteen yli toistuvasti. BSE-kuvien yhteydessä kerättiin alkuainekarttoja käyttäen 10 kV:n kiihdytysjännitettä. Alkuainekartan tuloksena saatava atomiprosentti kertoo, kuinka suuri osuus näytteestä

mitatuista alkuaineista on tiettyä alkuainetta. Alkuainekarttaa kerättiin vain pieneltä alueelta näytettä, mutta pitkän aikaa, jotta tarkka näytteen koostumus saatiin selville.

2.3 Tutkielmassa käytetyt *C. elegans*-GFP-reportterikannat

Tässä tutkielmassa käytetään samoja GFP-siirtogeenisiä sukkulamatomakantoja kuin Anbalagan ym. (2012) sekä Paavanen-Huhtala ym. (2023) tutkimuksissa, mutta etupäässä BC20306-kantaa (*cyp-34A9::GFP*) ja BC20333-kantaa (*sod-4::GFP*), jotka ovat alkujaan peräisin Baillie Genome GFP Project -hankkeesta (Hunt-Newbury ym., 2007). *Cyp-34A9::GFP*-kanta tuottaa stressaantuessaan GFP-proteiinia *cyp-34A9*-geenin promoottorin säätelämäksi. *Cyp-34A9*-geenin tuote kuuluu sytokromi P450-entsyymiperheeseen ja osallistuu orgaanisten happojen ja ksenobioottien metaboliaan (Larigot ym., 2022).

Ksenobiootit ovat elimistölle vieraita, usein synteettisiä yhdisteitä, joiden rakenteita ei esiinny luonnossa. Tyypillisesti ksenobiootit hajoavat elimistössä kolmessa vaiheessa (Williams, 1959). Aluksi ne hydroksyloidaan sytokromi P450-entsyymien katalysoimana, mikä lisää ksenobiootin vesiliukoisuutta. Seuraavaksi ne konjugoituvat polaariseen ryhmään, ja lopuksi konjugaatti eritetään solusta ulos kuljettajaproteiinien avulla. (Harlow ym., 2018). Sytokromi P450-entsyymit ovat aktiivisia solukalvolla (De Montellano, 2015) ja endoplasmakalvostolla (Neve ja Ingelman-Sundberg, 2008). Ihmisen sytokromi P450-entsyymit ovat osin homologisia sukkulamadon P450-entsyymeille (Larigot ym., 2022).

Sod-4 puolestaan koodaa superoksididismutaasia, joka osallistuu oksidatiivisen stressin hallintaan. Superoksididismutaasit muuntavat vahingolliset superoksidiradikaalit (O_2^-) solulle vähemmän haitalliseksi vetyperoksidiksi (H_2O_2), joka voidaan katalaasilla vaikutuksesta edelleen muuntaa vedeksi ja hapeksi. *C. elegans* -sukkulamadossa on ennen *sod-4*:n tunnistamista kuvattu kolme muuta superoksididismutaasia, *sod-1/-2/-3*, jotka ovat aktiivisia solulimassa ja mitokondrioissa, kun taas *sod-4* toimii solukalvoon sitoutuneena ja solun ulkopuolella täydentäen antioksidanttista puolustusjärjestelmää. *Sod-4* on homologinen nisäkkäiden solunulkoisille Cu/Zn-superoksididismutaaseille. (Fujii ym., 1998.)

Tutkielmassa kokeiltiin myös kolmen muun GFP-siirtogeenisen *C. elegans* -kannan vasteita sisäilman näytteille. Käytetyt kannat olivat BC20330 (*gst-4::GFP*) ja BC20309 (*mtl-1::GFP*), Baillie Genome GFP Project -hankkeesta, sekä CL2070 (*hsp-16.2::GFP*), alkujaan Link ym. (1999) tutkimuksista. Useampaa kantaa käytettäessä saadaan laajempi käsitys tutkittavan ympäristötekijän vaikutuksista elimistöön. *Gst-4* ilmentyy sekä oksidatiivisen stressin, että

ksenobiotoallistuksen yhteydessä, osallistuen detoksifikaatioon (Ferguson ja Bridge, 2019), *mtl-1* ilmenee raskasmetallistressissä (Freedman ym., 1993) ja *hsp-16.2* on lämpöshokkigeeni, joka ilmenee lämpö- ja oksidatiivisessa stressissä, suojaen solun proteiineja vaurioilta (Strayer ym., 2003).

2.4 *C. elegans* -sukkulamatojen ylläpito

Ylläpidin *Caenorhabditis elegans sod-4::GFP* ja *cyp-34A9::GFP*-kantoja taaten niiden ravinnonsaannin ja tasaiset elinolot. Yleisesti käytössä olevat ylläpitomenetelmät on dokumentoitu WormBook-yhteisön artikkeliin "Maintenance of *C. elegans*" (Stiernagle, 2006). Artikkelissä sisältyy perusteelliset ohjeet sukkulamatojen kasvatukseen ja ylläpitoon laboratorio-olosuhteissa.

Aloitin populaation kasvatuksen sulattamalla 15 % glyserolissa syväjäädetyt (-80 °C) sukkulamatoliuoksen vesihautteessa. Jaoin liuoksen 250 µl pisaroina sukkulamatojen kasvatusmaljalle (NGM, engl. nematode growth medium; liite 1, NGM-maljojen valmistus). Kasvatin sukkulamatoja lämpösäädelyssä inkubaattorissa (MIR-154, Panasonic) +20°C lämpötilassa. Siirsin pakastuksesta selviytyneet yksilöt n. 48 tunnin kuluttua uusille kasvatusmaljoille leikkaamalla steriilillä leikkausveitsellä maljan geelistä kolmioita alueilta, joilla havaitsin eläviä yksilöitä. Siirsin sukkulamatoja uusille kasvatusmaljoille noin 3–4 päivän välein, jotta niillä olisi riittävästi ravintoa ja elintilaa.

Käytin NGM-maljojen ravintobakteerina urasiiliauksotrofista *Escherichia coli* OP50-1-kantaa (liite 2, OP-50 bakteerisuspension valmistus ja NGM-maljalle lisääminen). Uraasiiliauksotrofia hidastaa *E. coli* kasvu, jolloin sukkulamadoilla on ravintoa pidemmäksi aikaa. Lisäsin maljoille myös streptomysiiniä, jolloin vain *E. coli* -kanta OP50-1, joka kantaa streptomysiinin resistenssigeeniä, pystyi kasvamaan maljalla. Tällä menetelmällä bakteeriviljelmä pysyi tasalaatuisena, kun maljan kontaminoitumisen riski väheni.

2.5 Näytteiden esikäsittely ennen biomonitorointikokeita

Ilmasta kerättyjen näytteiden tilavuus oli 1–15 ml sen mukaan, kuinka paljon nestettä ja etenkin sen sisältämää etanolia oli haihtunut keräyksen aikana. Siirsin näytteet keräysputkista 15 ml sentrifugiputkiin ja pakastin ne -20 °C mahdollisimman pian näytteenkeräyksen jälkeen, jotta mikrobit eivät lisääntyisi niissä. Sulatin näytteet vesihautteessa juuri ennen kokeiden aloittamista. Sentrifugoin sulaneet näytteet (Centrifuge 5810 R, Eppendorf) 4000

rpm nopeudella 10 minuutin ajan, jotta mahdolliset epäpuhtaudet konsentroituisivat putkien pohjalle pelletiksi. Sentrifugoin näytteet, koska epäpuhtauksia oli koko nestemäärässä vain vähän ja halusin maksimoida niiden läsnäolon biomonitorointikokeessa. Jätin pelletiksi 500 µl liuosta, kun erotin supernatantin uusiin 15 ml sentrifugiputkiin ja pakastin mahdollista jatkokäyttöä varten. Kun näytteenkeräysnesteena oli käytetty vettä, puskuroin näytteen lisäämällä siihen kantaliuoksia tarvittavan määrän, jotta loppupitoisuudet olivat 53 mM NaCl ja 32 mM KCl. Lopuksi inkuboin näytteitä +50 °C lämpöblokkissa (Multi-blok heater 2052, Lab-line) 10 minuutin ajan. Inkuboinnin tarkoituksena oli saada etenkin rasvaliukoiset toksiinit liukenemaan nesteeseen (Paavanen-Huhtala ym., 2023). Inkubointi myös pysäytti mikrobien kasvun.

Esikäsitteilin myös eristevillan materiaalinäytteitä. Aluksi punnitsin tyhjä Eppendorf-putket vaa'alla (MSV1276-300-81, Sartorius). Revin eristevillaa putkiin steriileillä pinseteillä vetokaapissa. Määritin villan tarkan massan punnitsemalla Eppendorf-putket uudelleen villan lisäämisen jälkeen ja vähentämällä kokonaispainosta tyhjän putken painon. Lisäsin putkeen K-puskuria (53 mM NaCl, 32 mM KCl) suhteessa 0,1 ml/10 mg villaa. Sen jälkeen inkuboin näytteitä +50°C lämpöblokkissa noin 70 tunnin ajan. Inkuboinnin jälkeen sentrifugoin näytteet 15000 rpm nopeudella 2 minuutin ajan, jotta villa erottuisi liuksesta (Centrifuge 5424 R, Eppendorf), ja käytin näytteen supernatanttia altisteena (eristevillan inkubointiliuos).

2.6 Biomonitorointikokeet *C. elegans* -sukkulamadoilla

Aloitin *cyp-34A9::GFP*- ja *sod-4::GFP*- sukkulamatokantojen synkronoinnin neljä päivää ennen biomonitorointikokeen käynnistämistä. Synkronoinnin tarkoituksena oli saada kokeisiin samassa kehitysvaiheessa olevia nuoria aikuisia sukkulamatoja. Noudatin synkronoinnissa ja biomonitorointikokeissa aiemmin kuvattuja menetelmiä (Paavanen-Huhtala ym., 2023). Toteutin synkronoinnin valkaisuaineliuksella, joka sisälsi 0,25 M NaOH, 0,1 M valkaisuainetta ja ultrapuhdasta vettä. Valmistin liuosta 5 ml yhtä kasvatusmaljaa kohti.

Keräsin synkronoitavat sukkulamadot M9-puskurilla maljoilta sentrifugiputkeen. Aikuisten sukkulamatojen laskeuduttua putken pohjalle, keräsin supernatantin toukkineen talteen kannan ylläpitoa varten. Tätä varten laskin supernatantin toukat ja siirsin noin 2000 yksilöä tuoreille kasvatusmaljoille. Lisäsin valkaisuaineliuksen siihen putkeen, jossa aikuisten sukkulamatojen pelletti oli. Sen jälkeen inkuboin putkea pyöröravistelijassa (RS-TR05, Phoenix instrument) noin 8 minuutin ajan, kunnes aikuiset yksilöt olivat lähes täysin

hajonneet ja niiden sisällä olleet munat vapautuneet liuokseen. Tämän jälkeen sentrifugoin putkea välittömästi 4000 rpm nopeudella 1 minuutin ajan. Poistin supernatantin ja suspensoin M9-puskuriin pelletin, joka sisälsi valkaisuainekäsittelystä selvinneet munat. Vorteksoin putkea puskurin lisäämisen jälkeen. Sentrifugoin liuoksen uudelleen 3500 rpm nopeudella 1 minuutin ajan. Toistin M9-puskurihuuhtelun viisi kertaa valkaisuaineen poistamiseksi. Lopuksi suspensoin pelletin M9-puskuriin, peitin putken foliolla ja asetin pyöröravistelijaan yön yli. Seuraavana päivänä laskin kasvaneet toukat ja siirsin noin 2000 yksilöä tuoreille kasvatusmaljoille. Samalla varmistin valomikroskoopilla tarkastelemalla, että synkronointi oli onnistunut. Annoin toukkien kehittyä nuoriksi aikuisiksi ennen kokeen aloittamista.

Juuri ennen kokeen aloittamista keräsin synkronoidut nuoret aikuiset yksilöt kasvatusmaljoilta sentrifugiputkeen K-puskurilla. Annoin sukkulamatojen laskeutua putken pohjalle, poistin supernatantin ja suspensoin löyhän pelletin uudestaan K-puskurin. Pesin sukkulamato samalla tavalla kolme kertaa K-puskurilla bakteerien poistamiseksi. Lopuksi suspensoin pelletin K-puskurin, johon oli lisätty 0,001 % Triton-X:ää. Triton on tensidi, joka alentaa pintajännitystä, jolloin ehkäistään sukkulamatojen tarttumista pipetin kärkiin ja kokeessa kuoppalevyn reunoihin.

Laskin sukkulamatojen lukumäärän ja laimensin sukkulamato-puskuriseoksen siten, että sain 200 µl liuokseen noin 400 yksilöä. Pipetoin pohjastaan optisesti läpäisevälle, mustalle kuoppalevylle (IsoPlate™-96 F, Perkin Elmer) 250 µl K-puskuria nollanäytteiksi. Tein kullekin näytteelle nollanäytteen lisäämällä kuoppiin 200 µl puskuria ja 50 µl näyteliuosta. Näin pystyin havaitsemaan näytteen epäpuhtauksista mahdollisesti johtuvan fluoresenssin. Lisäsin muihin kuoppiin 200 µl eriä sukkulamato-puskuriseosta. Altistin sukkulamato 2–6 rinnakkaisessa kuopassa 50 µl näytteille tai paloille eristevillaa. Kontrollina käytin 50 µl K-puskuria. Tein myös pienemmällä näytemäärillä kokeita, jolloin kontrollin määrä suhteutettiin näytemäärään. Tällöinkin lisäsin kokeisiin 200 µl eriä sukkulamato-puskuriseosta, mutta lisäsin K-puskuria saadakseni kuopan lopputilavuudeksi 250 µl.

Tutkin sukkulamatojen vasteita näytteisiin niiden fluoresenssin, kehityksen sekä liikkuvuuden perusteella. Mittasin GFP-fluoresenssin kuopista välittömästi sekä noin 24 ja 48 tunnin kuluttua altistuksen aloittamisesta. Mittauksissa käytin Synergy H1-kuoppalevylukijaa (BioTek, Agilent Technologies), 485 nm eksitaatioaallonpituutta ja 528 nm emissioaallonpituutta. Säilytin kuoppalevyä mittausten välissä orbitaaliravistelijalla

(VIBRAX-VXR, IKA electronic) rauhallisella nopeudella, jotta näyte ja sukkulamadot pysyisivät tasaisesti levittyneinä.

Kuvasin sukkulamatoja EVOS M7000-mikroskoopilla mahdollisuuksien mukaan noin 48 tunnin altistuksen jälkeen, jolloin mahdollinen fluoresenssi oli voimakkaimmillaan. Mikroskoopin varausten takia fluoresenssia kuvattiin myös 24 tunnin altistuksen jälkeen. Käytin fluoresenssikuvauksessa 4- ja 10-kertaista suurennosta. Arvioin kuvista sukkulamatojen kehitystä ja fluoresenssia. Lisäksi otin kuopista 5 sekunnin mittaiset videot liikkuvuuden analysoimiseksi. Biomonitorointikoe lopetettiin viimeistään silloin, kun sukkulamadot alkoivat lisääntyä ja seuraavan sukupolven toukat lisätä fluoresenssia, jolloin fluoresenssin lisääntyminen ei enää kertonut luotettavasti vasteesta näytteelle.

Analysoin sukkulamatojen suhteellista liikkuvuutta videoista tutkimusryhmän käytössä olleella siittiöiden liikkuvuuden mittaukseen kehitetyllä MatLab-pohjaisella Semen mobility test-ohjelmalla (Castagnoli ym., 2018). Käytin liikkuvuuden vertailussa negatiivisena kontrollina näytettä, jossa sukkulamadot olivat kuolleet, eli liikkuvuus oli 0 %.

Altistamattomat sukkulamadot edustivat 100 % liikkuvuutta.

Ennen varsinaisten mittaustulosten analysointia näytetuloksista vähennettiin nollanäytteiden arvot, jotta voitiin erottaa näytteen väri sukkulamatojen fluoresenssista. Laskin fluoresenssista muutoksen kertoimen (FC, engl. fold change), joka mittaa muutoksia mittausten välillä. Laskin muutuskertoimen jakamalla mittauksen arvon saman mittauksen alkuarvolla. Arvo, joka on >1 , viittaa fluoresenssin voimistumiseen, kun taas arvo <1 viittaa vähenemiseen.

Samoja koemenetelmiä käytettiin, kun biologian laitoksen tiloista kerättyjä näytteitä hyödynnettiin opetuksessa. Maisterivaiheen opiskelijat testasivat *sod-4::GFP*, *gst-4::GFP*, *hsp-16.2::GFP* ja *mtl-1::GFP*-kantojen fluoresenssin muutoksia näytteillä (liite 3, sykloninäytteiden biomonitorointi *C. elegans*-GFP-reportterikannoilla opetuksessa: fluoresenssin muutos näytteissä ennen näytteenottotilan homesiivousta ja sen jälkeen).

2.7 Tilastolliset analyysit

Analysoin tuloksia ja loin kuvaajia Excelillä (Microsoft) ja R-ohjelmistolla RStudio-ympäristössä (versio 4.2.2, Posit PBC). Ennen fluoresenssin muutuskertoimen laskemista ja visualisointia arvioin tulosten merkitsevyyttä siten, että merkitsevässä tuloksessa fluoresenssin tuli ylittää nollanäyte ja näytteen kuoppien keskihajonnan oli oltava riittävän pientä. Kontrollin fluoresenssin tuli pysyä tasaisena siten, että muutoskerroin olisi

mahdollisimman lähellä 1. Arvioin tuloksia variaatiokertoimella (CV %) siten, että katsoin alle 10 % arvojen viittaavan hyvään toistettavuuteen ja yli 30 % arvojen heikkoon toistettavuuteen.

Liikkuvuuden analyyseissä käytin Welchin t-testiä tulosten tilastollisen merkitsevyyden arviointiin. Merkitsin tähdellä merkitsevät erot ($p < 0,05$) verrattuna kontrollinäytteisiin, ja virhepalkit esittivät keskihajontaa. Koska otoskoko oli kuitenkin osassa kokeita vain kaksi otosta näytettä kohden, tilastollista t-testiä ei voitu luotettavasti suorittaa loppuun, eikä ryhmien välisiä eroja voitu arvioida tilastollisesti merkitseviksi.

2.8 Tekoälyn käyttö tutkielmassa

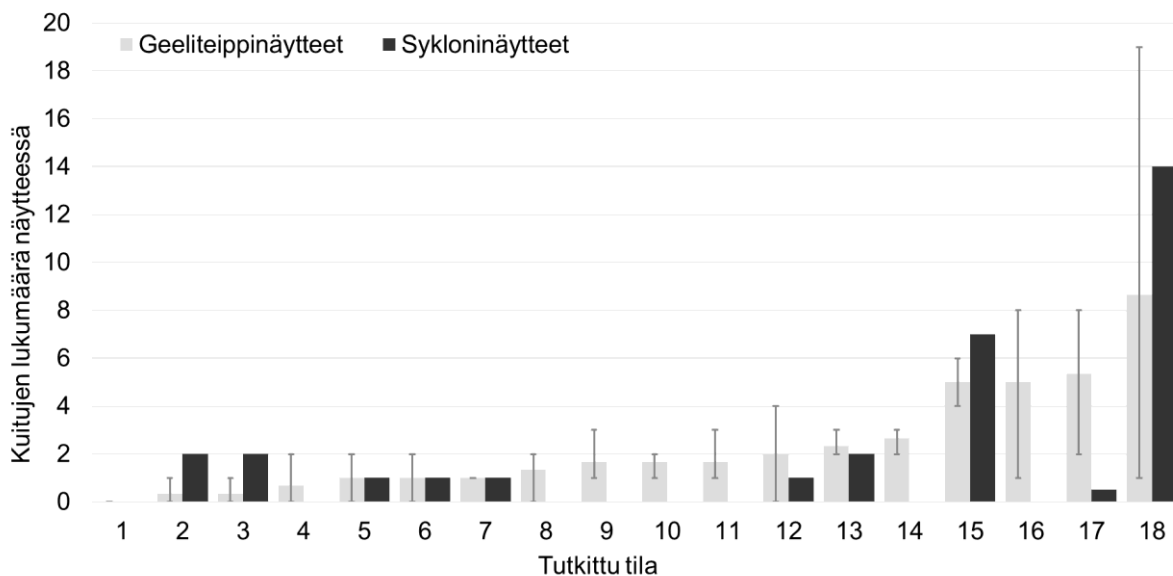
Tutkielmassa hyödynsin tekoälyohjelmaa ChatGPT (OpenAI, GPT-5.2) lähteiden hakemisen tukena tunnetuista tietokannoista. Tutkielman osia tai sen aineistoa, kuten näytteenottokohteiden tietoja ei ole jaettu tekoälyohjelmalle.

3 Tulokset

Tuloksissa tarkastellaan ensin, onnistuiko sykloninen ilmankeräin keräämään sisäilmasta teollisia mineraalikuituja, mikrobeja tai VOC:ejä käytetyillä näytteenottoparametreilla. Seuraavaksi käsitellään erilaisten näytteiden biomonitorointikokeiden tuloksia. Alkuvaiheessa tutkielmaa keskityttiin eristevillan materiaalinäytteisiin, joita ei kerätty ilmasta. Näiden kokeiden perusteella haluttiin selvittää, miten eristevillan kuidut tai niistä mahdollisesti vapautuvat yhdisteet vaikuttavat sukkulamatojen elintoimintoihin sellaisenaan. Seuraavaksi kokeiltiin syklonisella ilmankeräimellä kerättyjä näytteitä ja pyrittiin saamaan kattavampi käsitys siitä, millaisia biologisia vaikutuksia ilmassa esiintyvillä teollisilla mineraalikuiduilla tai niiden sisältämällä yhdisteillä voi olla sukkulamatoihin. Lisäksi sukkulamadoilla tehtiin vertailun vuoksi mikrobi- ja VOC-sykloninäytteiden biomonitorointia.

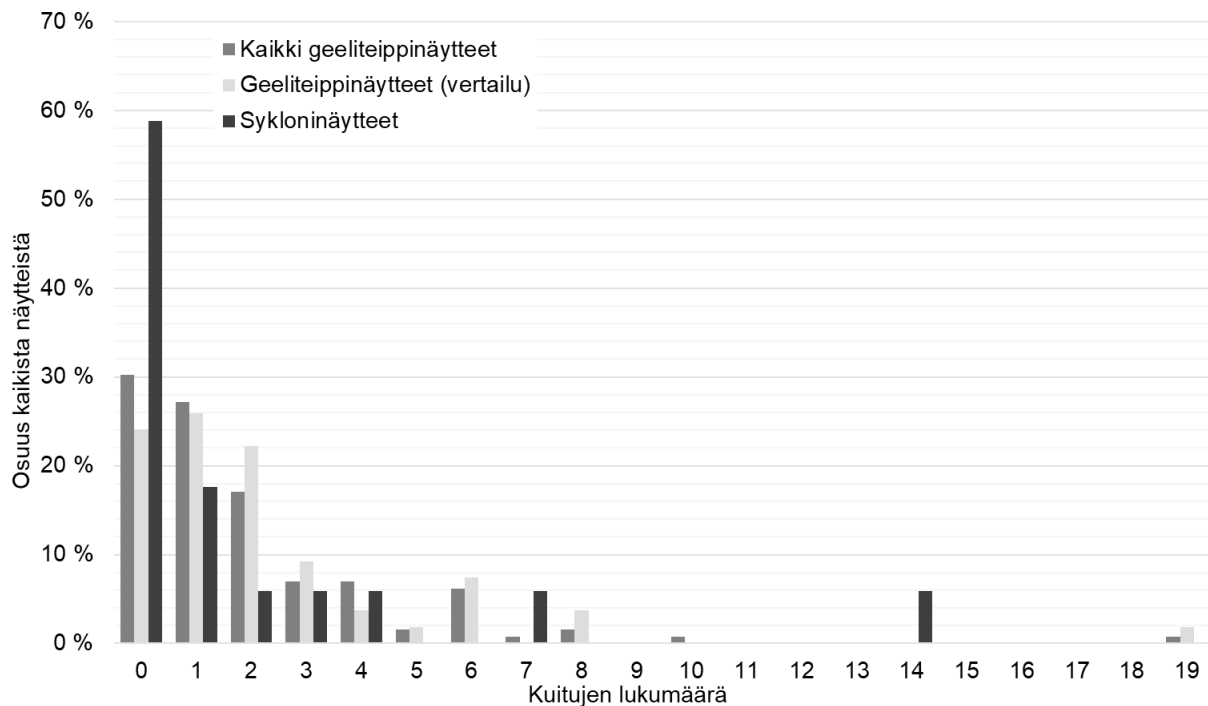
3.1 Teolliset mineraalikuidut näytteissä

Syklonisella ilmankeräimellä kerättyistä näytteistä havaittiin kuituja sekä optisella mikroskoopilla että pyyhkäisyelektronimikroskoopilla (SEM). Yhteensä kahdestatoista sykloninäytteestä havaittiin vähintään yksi teollinen mineraalikuitu. Kuitujen lukumäärä oli suurimmillaan neljätoista kuitua yksittäisessä sykloninäytteessä. Geeliteippi- ja sykloninäytteitä vertailtaessa kuitujen lukumäärät vaihtelivat 0–19 näytettä kohden, kun molemmilla menetelmillä analysoitiin yhteensä 18 tilaa (kuva 8).



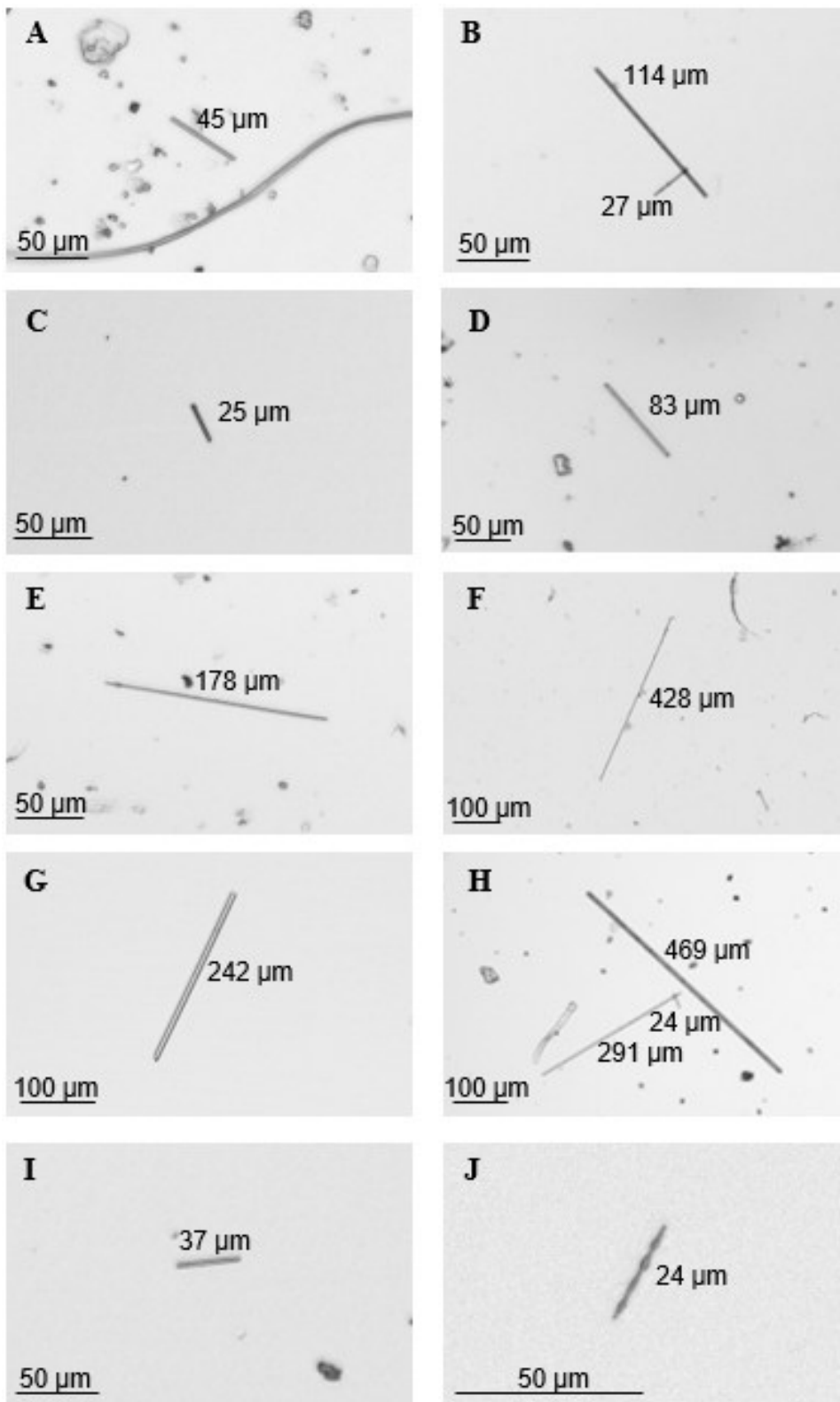
Kuva 8. Geeliteippi- ja sykloninäytteiden kuitujen lukumäärät vertailutiloista. Jokaisesta tilasta on kerätty kolme geeliteippinäytettä. Pystyviivat kuvastavat geeliteippinäytteiden kuitujen lukumäärän vaihteluväliä. Kuva on julkaistu aiemmin seminaariartikkelissa (Turves ym., 2025), mutta kaavion muotoilua on muokattu.

Joissakin tapauksissa sykloninäytteistä havaittiin enemmän kuituja kuin samoista tiloista otetuista geeliteippinäytteistä. Toisaalta lähes 60 % sykloninäytteistä ei sisältänyt yhtään kuitua, kun geeliteippinäytteissä vastaava osuus oli 25–30 % (kuva 9). Yhden tai kahden kuidun sisältäviä näytteitä esiintyi molemmilla menetelmillä, mutta niiden osuus oli suurempi geeliteippinäytteissä. Sitä useamman kuidun näytteitä havaittiin useammin geeliteippinäytteissä kuin sykloninäytteissä.



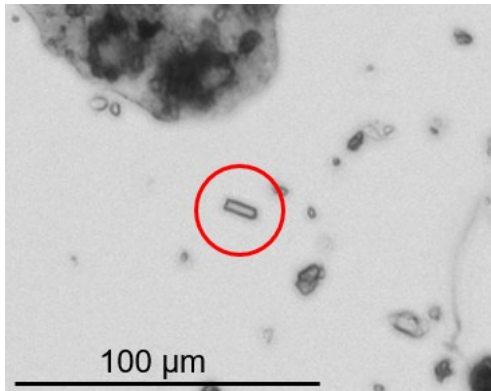
Kuva 9. Kuitumäärien jakauma näytteissä. Kuvaajassa esitetään vertailun vuoksi kaikkien tiloista kerättyjen geeliteippinäytteiden kuitumääräjakauma, sellaisten tilojen geeliteippinäytteiden jakauma, joista otettiin myös sykloninäytteet, sekä kaikkien sykloninäytteiden kuitumääräjakauma. Kuva on julkaistu aiemmin seminaariartikkelissa (Turves ym., 2025), mutta kaavion muotoilua on muokattu.

Sykloninäytteiden teolliset mineraalikuidut havaittiin optisella mikroskoopilla kuoppalevyiltä (kuvat 10 A-J). Syklonisella ilmankeräimellä voitiin kerätä sisäilmasta hyvin erikokoisia teollisia mineraalikuituja. Lyhimmät havaitut kuidut olivat 24–25 μm pitkiä (kuvat 10 C ja 10 J) kun taas pisimmät olivat noin 470 μm mittaisia (kuva 10 H). Väliltä havaittiin monen mittaisia kuituja, esimerkiksi 178 μm (kuva 10 E), 242 μm (kuva 10 G) ja 428 μm (kuva 10 F).

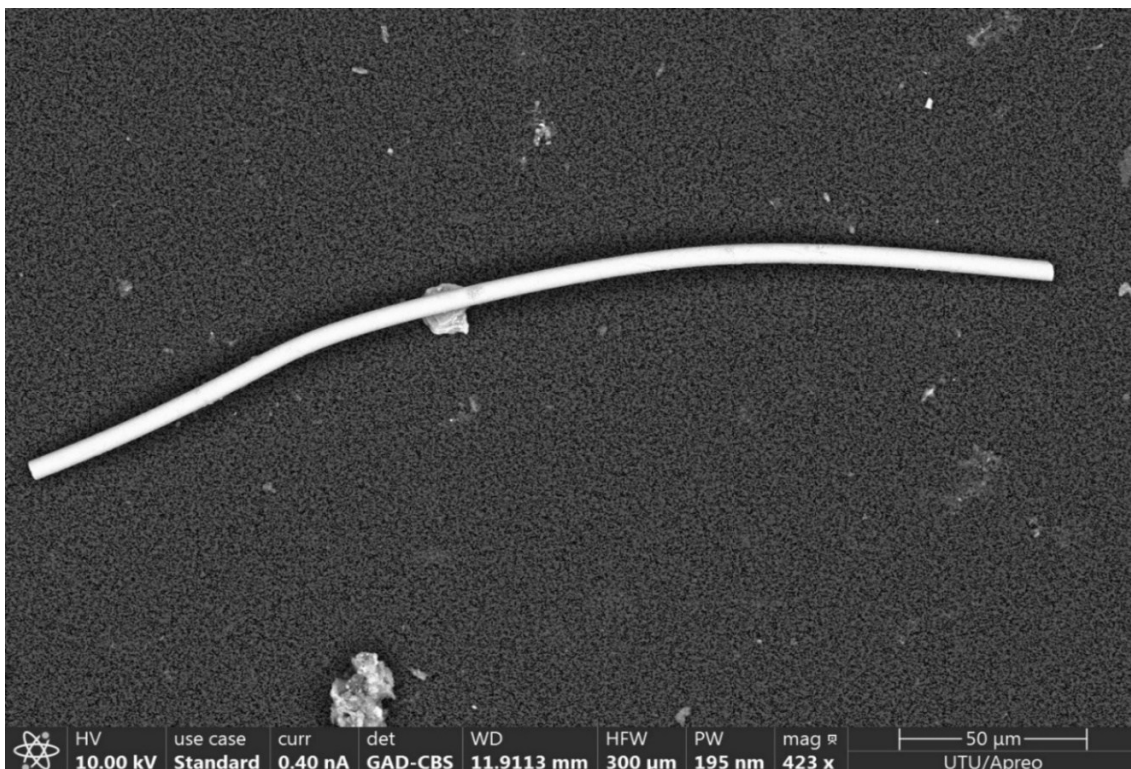


Kuva 10 A-J. EVOS M7000-mikroskooppikuvia syklonisella ilmankeräimellä kerätyistä teollisista mineraalikuuduista. Kuidun viereen on merkitty sen pituus.

Pienin havaittu mahdollinen teollinen mineraalikuitu oli noin 10 µm pitkä (kuva 11). On mahdollista, että tämä kuitu oli katkennut samasta näytteestä havaitusta pidemmästä kuidusta, jonka leveys oli sama. Havainnon varmistaminen edellyttäisi kuitenkin tarkempaa analyysiä, esimerkiksi tarkastelua suuremmalla suurennuksella tai SEM-menetelmällä. Yksi partikkeli voitiin tunnistaa teolliseksi mineraalikuiduksi SEM-analyysin avulla, joka tarjosi tarkkaa tietoa kuidun rakenteesta (kuva 12).

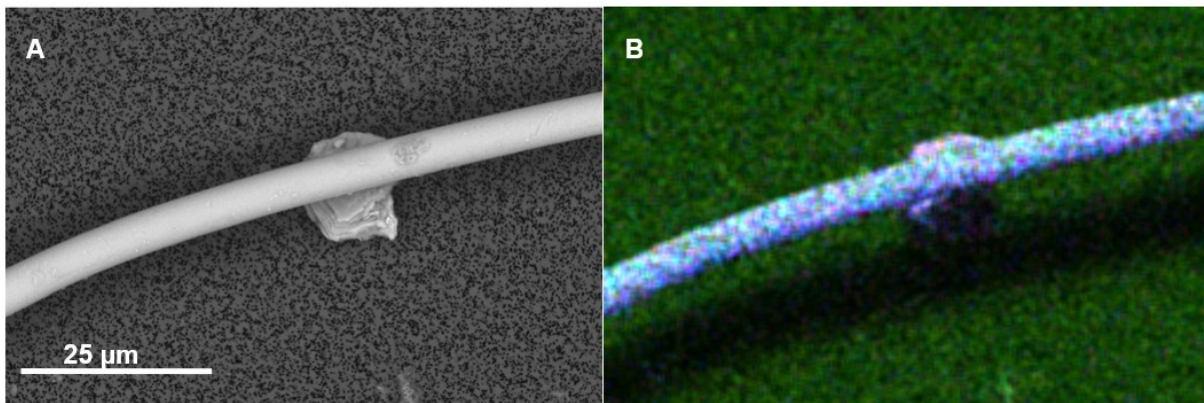


Kuva 11. Pienimmillään havaittu mahdollinen teollinen mineraalikuitu.



Kuva 12. SEM-laitteiston BSE-kuva ilmankeräimellä kerätystä teollisesta mineraalikuidusta. Kuidun pituus on noin 165 µm. Epäorgaaninen aines erottui kuvauksessa kirkkaana orgaanisesta taustastaan. Kuitu näyttää todellista taittuneemmalta, koska kuva jouduttiin kuidun varautuneisuuden ja siirtymisen vuoksi ottamaan kolmessa osassa, jonka jälkeen kuvat yhdistettiin. Kuvan suurennos on 423-kertainen. Kuva on julkaistu aiemmin seminaariartikkelissa (Turves ym., 2025).

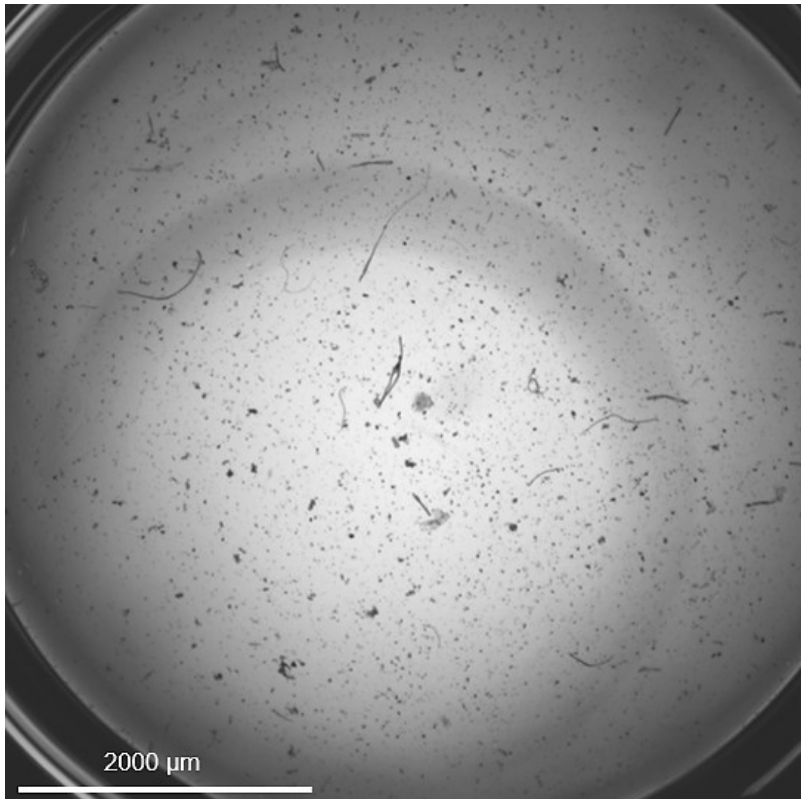
SEM-laitteiston energiaerotteisella röntgenspektrometrialla (EDS) tunnistettiin kuidun alkuainekoostumus, mikä auttoi kuidun tarkemmassa määrittelyssä (kuvat 13A ja 13B). EDS-spektrin alkuaineiden pitoisuudet olivat suuntaa antavia, koska kuvauksessa käytetty matalavakuumi aiheutti säteen leviämistä. Analyysissä pääasialliset alkuaineet olivat happi (43,7 at%), hiili (33,3 at%) ja pii (9,9 at%). Näitä seurasivat kalsium (4,3 at%), magnesium (3,3 at%) ja alumiini (2,7 at%). Lisäksi pienempiä määriä havaittiin rautaa (1,4 at%), natriumia (0,7 at%) ja kaliumia (0,5 at%). Spektri viittasi piipohjaiseen materiaaliin, lasimaiseen aineeseen ja silikaattimateriaaleihin. Teollinen mineraalikuitu oli todennäköisimmin lasikuitu. Kuidun alla oli epäorgaaninen partikkeli, joka EDS-analyysin perusteella saattoi olla silikaatti tai piin ja muiden alkuaineiden yhdiste, kuten piidioksidi.



Kuva 13. A: BSE-lähikuva kuidun pinnasta. B: Kerrostetut EDS-spektrikuvat, joissa vaaleansinisenä näkyy pii, violettina alumiini, tummansinisenä magnesium, keltaisena happi ja vihreänä hiili. Kuvat otettiin 10 kV matalavakuumissa.

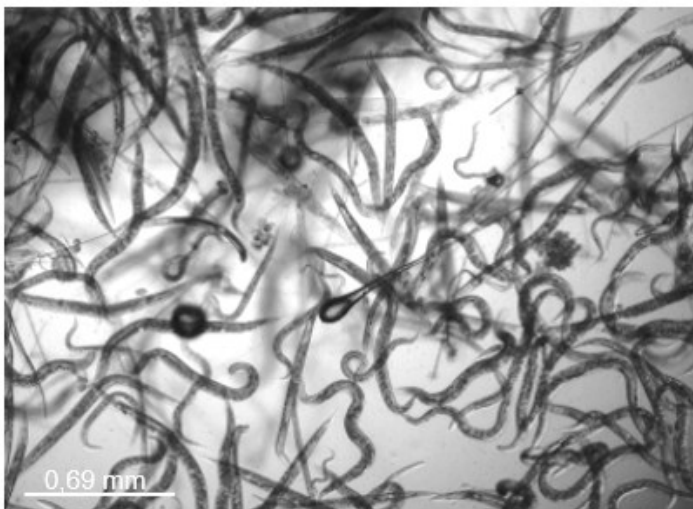
3.2 Muut epäpuhtaudet näytteissä

Aerobiologian laboratoriossa viljeltiin sykloninäytteitä niiden sisältämien mikrobien arvioimiseksi. Viljelmistä ei kasvanut pesäkkeitä muodostavia mikrobeja. Kaikissa näytteissä oli kuitenkin runsaasti erilaisia sisäilman partikkeleita, jotka havaittiin mikroskooppisissa tarkasteluissa (kuva 14). VOC:ien kertymistä sykloninäytteisiin ei tutkielman puitteissa päästy selvittämään.



Kuva 14. Osa syyskuussa 2024 kerätystä sykloninäytteestä kuopassa. Suurin osa partikkeleista näytti orgaanisilta ihmisperäisiltä partikkeleilta eli pölyltä ja vaatteiden kuiduilta. Tällaisesta yleiskatsauksesta tarkennettiin kuidulta näyttäviin partikkeleihin teollisia mineraalikuivia etsittäessä.

Materiaalinäytteiden altistuskokeissa havaittiin mahdollisesti eristevillan sidosaineita. Ne havaittiin mikroskooppikuvista kuituihin kiinnittyneinä pisaramaisina partikkeleina (kuva 15). Osa sidosaineista vaikuttaa siis säilyneen liukenemattomassa muodossa käsittelyistä huolimatta, ja olleen siten läsnä biomonitorointikokeissa.



Kuva 15. Eristevillanäytteissä kuitujen yhteydessä esiintyi pisaran muotoisia partikkeleja. Kuvassa on myös sukkulamatoja.

3.3 Biomonitorointikokeiden tulokset

3.3.1 *C. elegans* -sukkulamatojen vasteet eriste villalle sekä eriste villan inkubointiliuokselle

Eriste villan sekä eriste villan inkubointiliuoksien vaikutuksia sukkulamatojen stressivasteeseen tutkittiin *sod-4::GFP*- ja *cyp-34A9::GFP*-kannoilla biomonitorointikokeissa. Muutamien näytteiden kokoisissa altistuskokeissa sukkulamatojen vasteet vastasivat kontrollinäytteiden tasoja, eikä altistuksella havaittu olevan tilastollisesti merkitseviä vaikutuksia.

3.3.2 *C. elegans* -sukkulamatojen vasteet sykloninäytteille

Myös teollisten mineraalikuittujen sykloninäytteiden vaikutuksia sukkulamatojen stressivasteeseen tutkittiin *sod-4::GFP*- ja *cyp-34A9::GFP*-kannoilla biomonitorointikokeissa. Yhteensä kahdenkymmenen kahden sykloninäytteen altistuskokeissa ei havaittu tilastollisesti merkitseviä vasteita teollisille mineraalikuuduille. Negatiivisten tulosten syihin perehdytään tutkielman seuraavassa osiossa 4, tulosten tarkastelussa.

Sen sijaan VOC-sykloninäytteiden biomonitoroinnissa havaittiin selviä vasteita. VOC-näytteet kerättiin Aeronosin toimesta rakennuksista, joissa epäiltiin VOC-yhdisteiden aiheuttamia sisäilmaongelmia. Näytteenkeräysnesteinä käytettiin 70 % etanolia. Taulukossa 1 esitetään *cyp-34A9::GFP*-fluoresenssin (RFU) keskiarvot eri aikapisteissä sekä niihin liittyvät keskihajonnat ja variaatiokertoimet. Taulukosta nähdään, että fluoresenssi kasvaa ajan myötä kaikissa VOC-käsittelyissä, erityisesti VOC 1-näytteessä. Kokeen kontrollinäyte sisälsi 2,8 % (v/v) etanolia, koska näytteet oli kerätty tutkielman varhaisessa vaiheessa etanoliliuokseen ja etanolipitoisuus sekä etanolin haihtuminen näytteenkeräyksessä huomioitiin kontrollissa vertailukelpoisten tulosten varmistamiseksi.

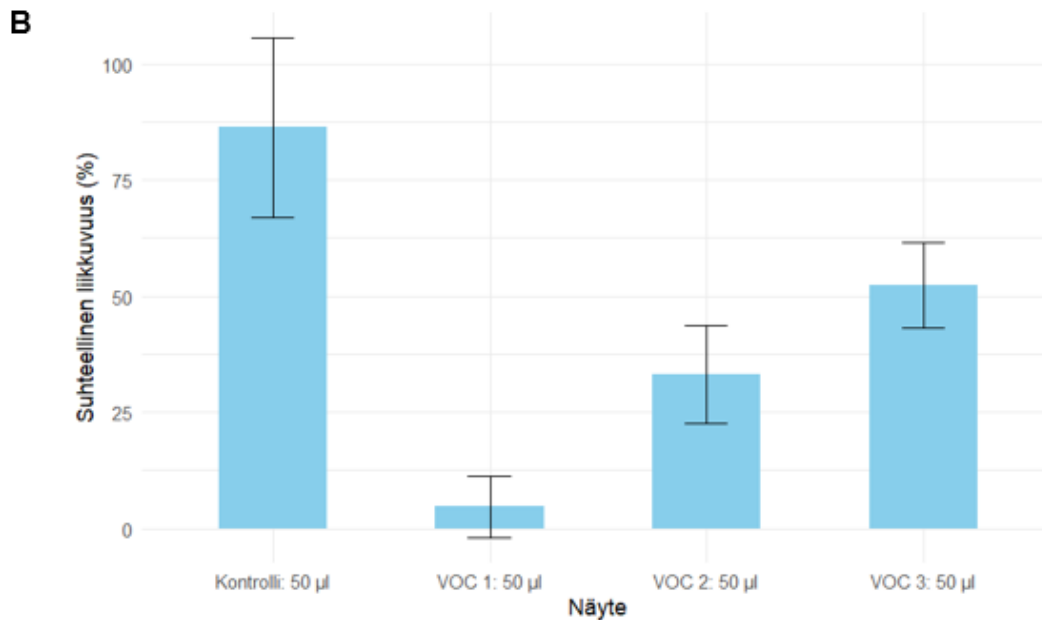
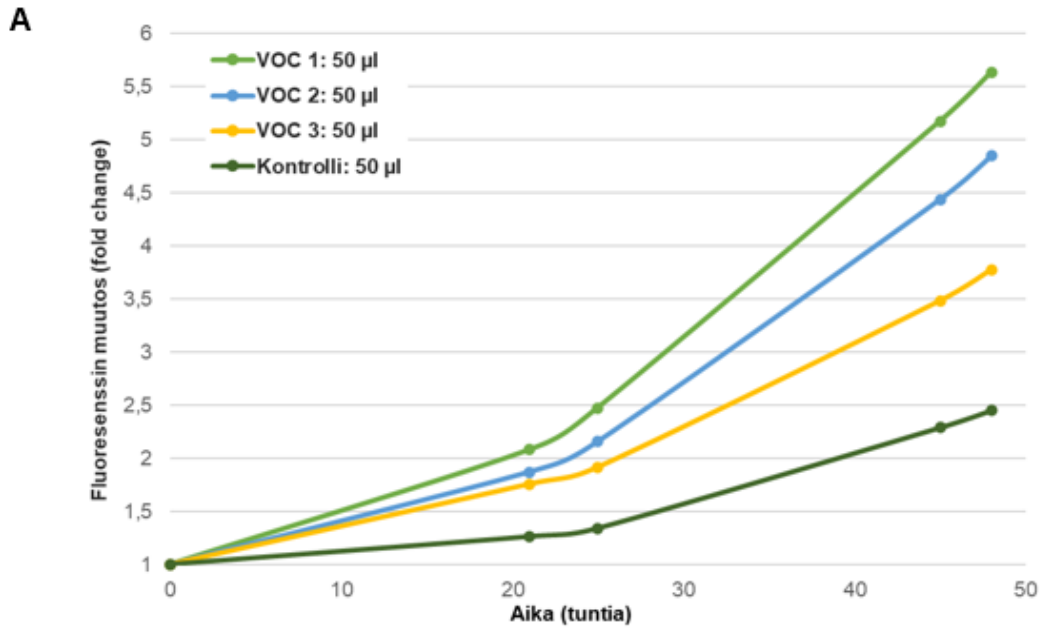
Taulukko 1. Cyp-34A9::GFP fluoresenssin (RFU) keskiarvot kuopissa VOC-kokeessa. Keskiarvon jälkeen on ilmoitettu keskihajonta sekä variaatiokerroin (%).

Näyte/ fluoresenssi (RFU) aikapisteessä	0 tuntia	21 tuntia	25 tuntia	45 tuntia	48 tuntia
VOC 1: 50 µl	480 ± 146 (CV 30,3 %)	999 ± 252 (CV 25,3 %)	1189 ± 285 (CV 24,0 %)	2485 ± 490 (CV 19,7 %)	2707 ± 511 (CV 18,9 %)
VOC 2: 50 µl	342 ± 70 (CV 20,5 %)	640 ± 200 (CV 31,3 %)	738 ± 208 (CV 28,2 %)	1518 ± 500 (CV 32,9 %)	1658 ± 549 (CV 33,1 %)
VOC 3: 50 µl	463 ± 44 (CV 9,5 %)	813 ± 23 (CV 2,8 %)	887 ± 30 (CV 3,3 %)	1613 ± 136 (CV 8,4 %)	1749 ± 185 (CV 10,6 %)
Kontrolli: 50 µl	461 ± 29 (CV 6,2 %)	582 ± 187 (CV 32,2 %)	618 ± 192 (CV 31,1 %)	1055 ± 356 (CV 33,7 %)	1129 ± 374 (CV 33,1 %)

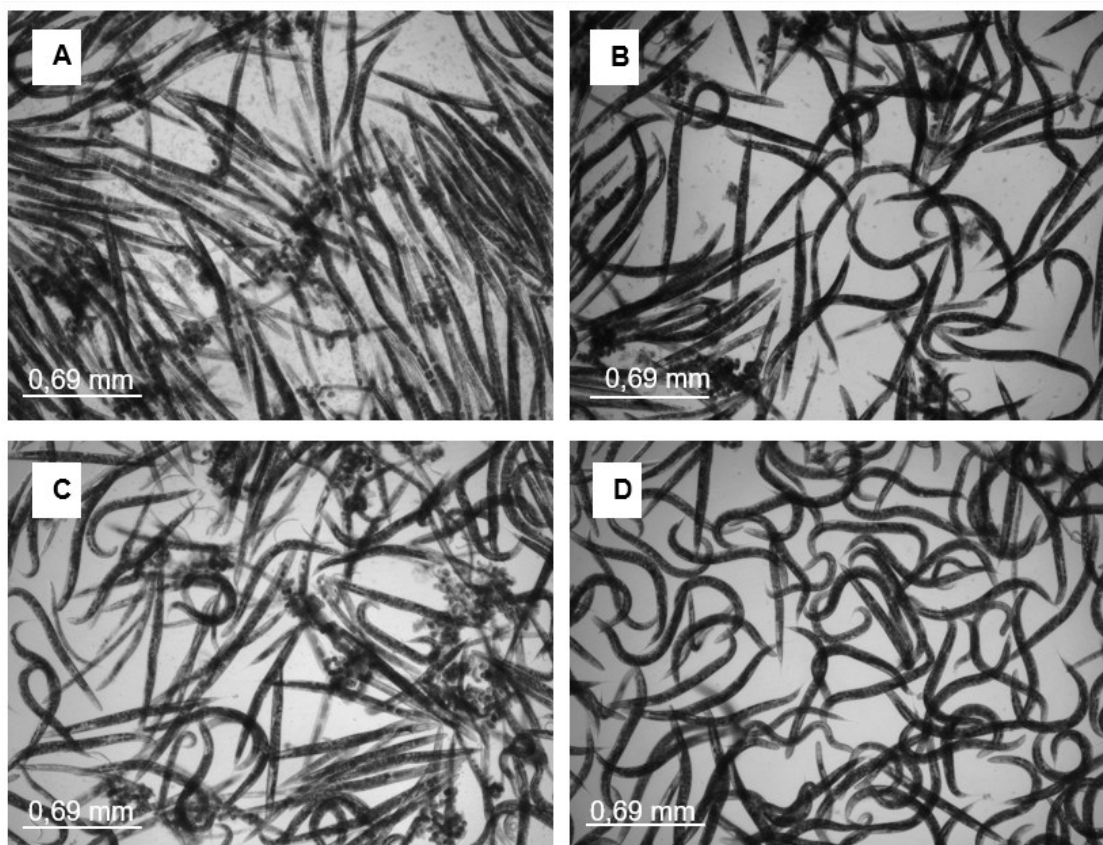
Tulosten havainnollistamiseksi kuvassa 16 A esitetään fluoresenssin suhteellinen muutos 48 tunnin aikana. VOC 1-näytteessä fluoresenssi kasvoi 5,6-kertaiseksi lähtötasoon verrattuna ja VOC 2-näytteessä noin 4,8-kertaiseksi. VOC 3-näytteessä muutos on maltillisempi ja fluoresenssi kasvoi noin 3,7-kertaiseksi. Kontrolliryhmässä fluoresenssi kasvoi noin 2,4-kertaiseksi.

Kuvassa 16 B tarkastellaan vastaavasti sukkulamatojen suhteellista liikkuvuutta. Kontrollissa liikkuvuus oli korkea, noin 85–90 %, mikä kuvastaa normaalia aktiivisuutta. VOC 1-näytteessä liikkuvuus laski jyrkästi noin 5 %:iin, sukkulamatojen ollessa lähes kokonaan kuolleita. VOC 2-näytteessä liikkuvuus oli noin 30–35 %, joten vaikutus oli selvä, muttei yhtä voimakas kuin VOC 1:llä. VOC 3 -näytteessä liikkuvuus säilyi noin 50–55 %.

Sukkulamatojen liikkuvuutta havainnollistavat myös liikkuvuusanalyysivideoiden kuvankaappaukset (kuvat 17 A-D) kuoppien olosuhteista.



Kuva 16. A: *C. elegans cyp-34A9::GFP* fluoresenssin muutos altistuksessa VOC-näytteille. Y-akseli kuvaa fluoresenssin muutoskerrointa (fold change). FC >1 tarkoittaa fluoresenssigeenin ilmentymistä. B: *C. elegans cyp-34A9::GFP* suhteellinen liikkuvuus (%) noin 24 tuntia VOC-näytteille altistumisen alkamisesta. Virhepalkit kuvaavat keskihajontaa kahdessa näytekupassa.



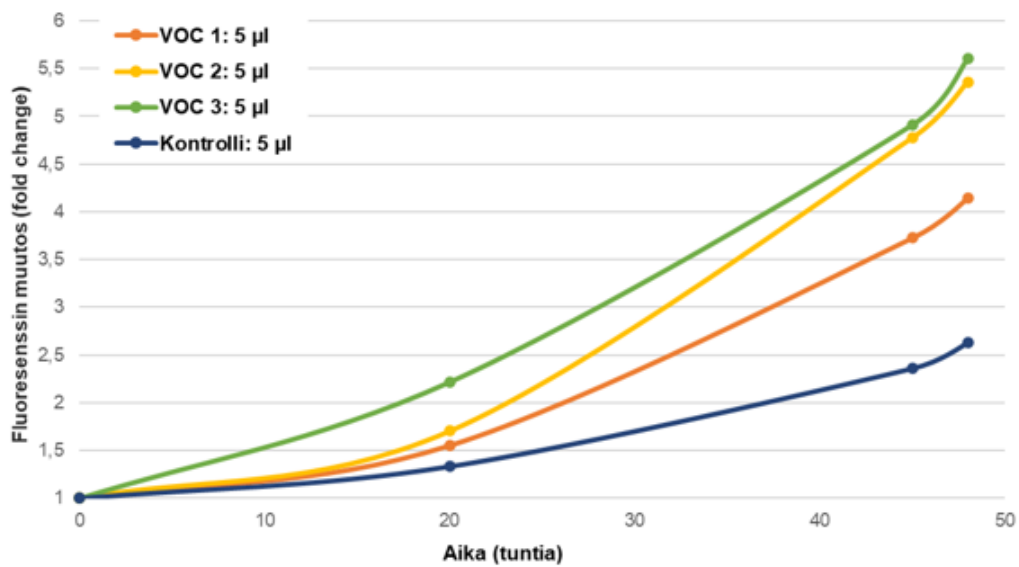
Kuva 17. *Cyp-34A9::GFP* sukkulamadot noin 24 tuntia altistumisen alkamisesta. Kuva A esittää VOC-näytettä 1, kuva B VOC-näytettä 2, kuva C VOC-näytettä 3 ja kuva D kontrollia.

VOC-koe toistettiin kymmenesosamäärällä samoja sykloninäytteitä, ja sukkulamatojen vaste todennettiin uudelleen. Taulukossa 2 esitetään fluoresenssiarvot (RFU) eri aikapisteissä. Koekuoppia oli vain yksi näytettä kohden. Tuloksia havainnoidaan kuvassa 18 A, jossa esitetään *cyp-34A9::GFP*-sukkulamatojen fluoresenssin suhteellinen muutos 48 tunnin aikana. Kontrollinäyte sisälsi 1,4 % (v/v) etanolia, kun näytteen etanolipitoisuus huomioitiin jälleen kontrollissa. Kontrollinäytteen fluoresenssi kasvoi noin 2,6-kertaiseksi, VOC 1 fluoresenssi kasvoi 4,1-kertaiseksi, VOC 2 noin 5,3-kertaiseksi ja VOC 3 yli 5,5-kertaiseksi. Liikkuvuuskuvaajassa 18 B kontrolliryhmän liikkuvuus oli kokeen lopussa noin 72 %, jolloin normaali aktiivisuus säilyi korkeana. VOC 1 liikkuvuus putosi noin 58 % tasolle, VOC 2 vain noin 25 % prosenttiin sekä VOC 3 noin 39 % tasolle. Vaikka VOC 3 aiheuttaa suurimman muutoksen fluoresenssiin, se ei kuitenkaan aiheuttanut kokeessa liikkuvuuteen yhtä suurta muutosta kuin VOC 2. Sukkulamatojen olosuhteita esitetään kuvissa 19 A-D.

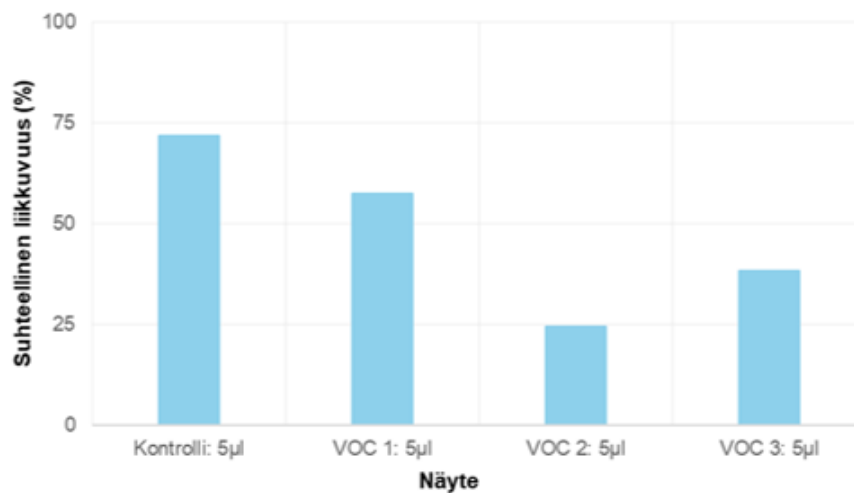
Taulukko 2. Cyp-34A9::GFP fluoresenssiarvot (RFU) VOC-kokeessa.

Näyte/ fluoresenssi (RFU) aikapisteessä	0 tuntia	21 tuntia	25 tuntia	45 tuntia
VOC 1: 5 µl	262	407	976	1085
VOC 2: 5 µl	281	479	1341	1506
VOC 3: 5 µl	114	253	560	639
Kontrolli: 5 µl	339	452	799	890

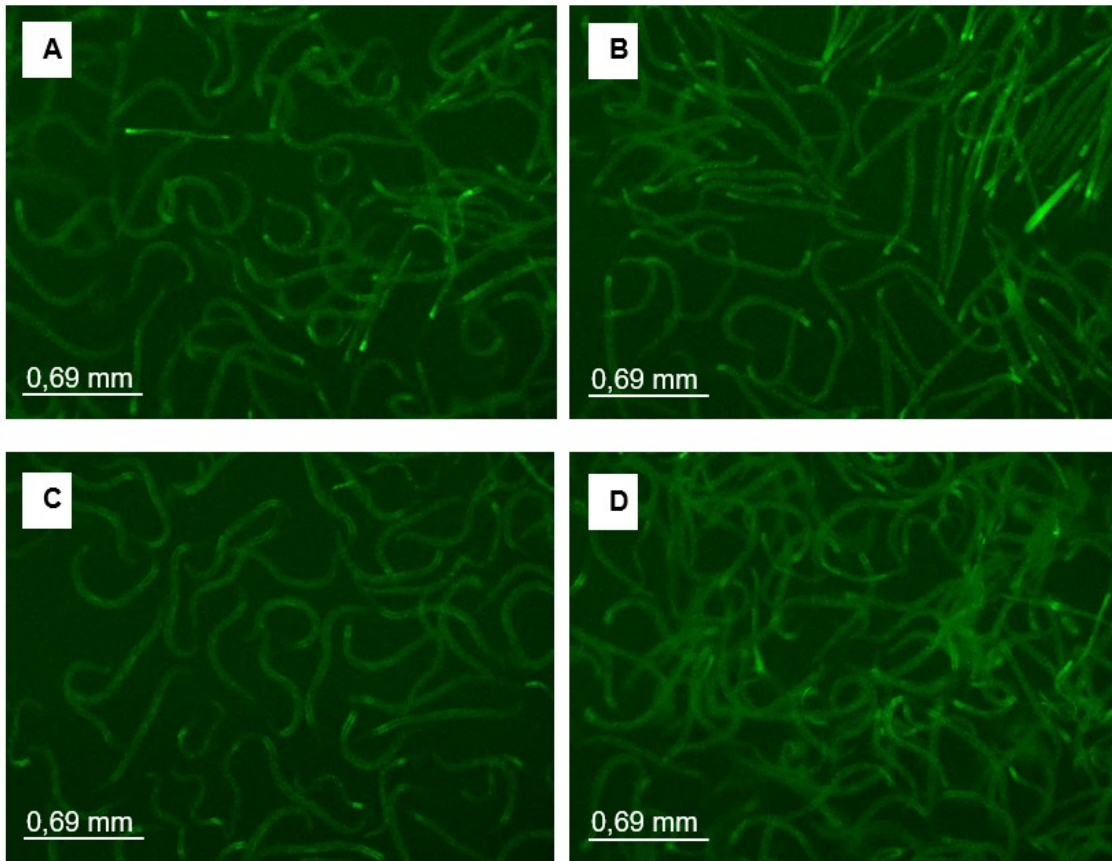
A



B



Kuva 18. A: Cyp-34A9::GFP fluoresenssin muutos VOC-näytteille altistuksessa. Y-akseli kuvaa fluoresenssin muutoskerrointa (fold change). FC >1 tarkoittaa fluoresenssigeenin ilmentymistä. B: Cyp-34A9::GFP suhteellinen liikkuvuus (%) noin 24 tuntia VOC-näytteille altistumisen alkamisesta.



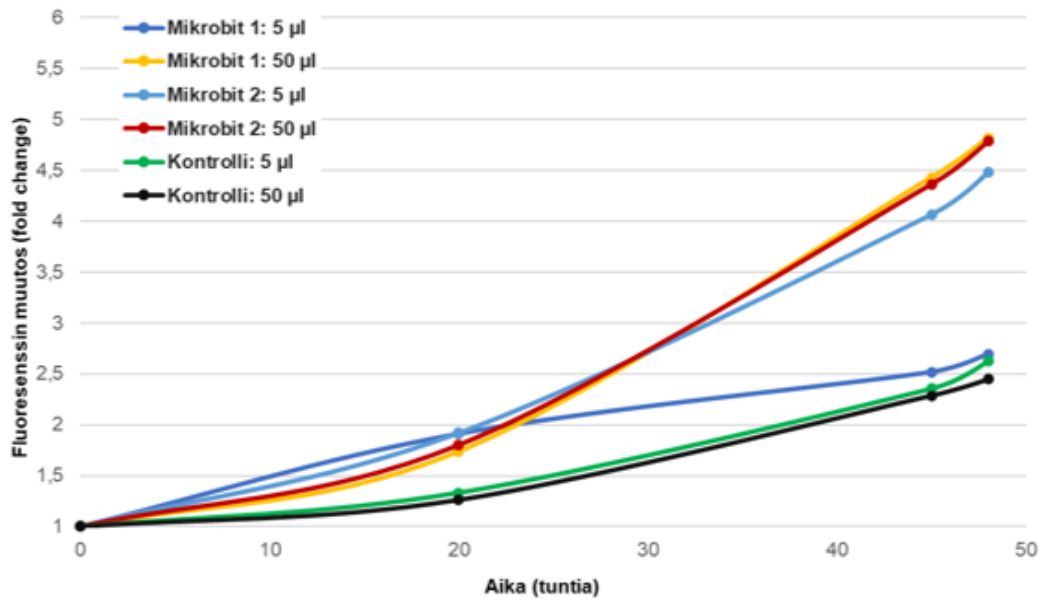
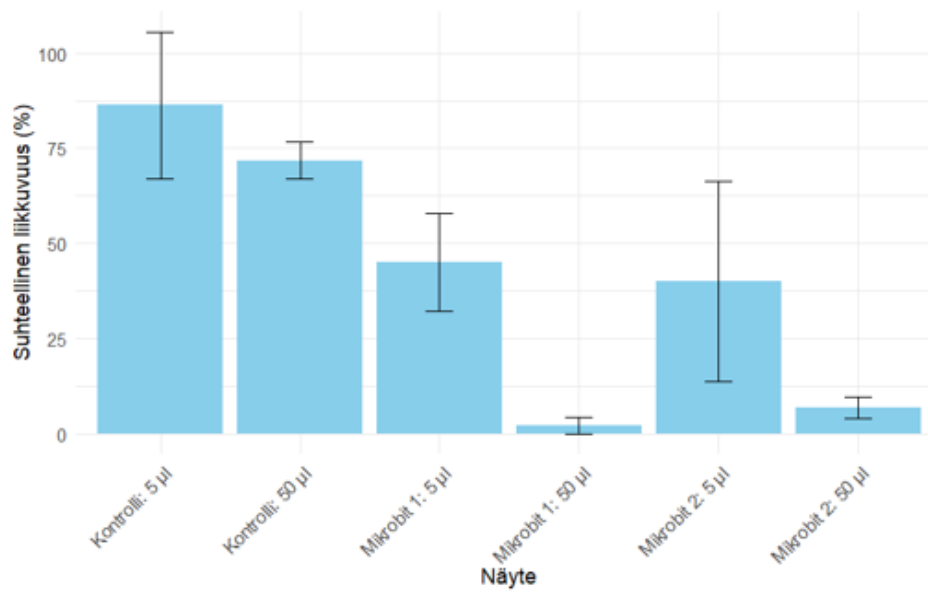
Kuva 19. *Cyp-34A9::GFP* sukkulamadot GFP-kuvattuina noin 24 tuntia altistumisen alkamisesta. Kuva A esittää VOC-näytettä 1, kuva B VOC-näytettä 2, kuva C VOC-näytettä 3 ja kuva D kontrollia.

Sykloninäytteistä, jotka oli kerätty biologian laitoksen tilasta, havaittiin myös vasteita sukkulamadoissa. Näytteenkeräysnesteinä käytettiin 70 % etanolia. Mikrobinäytteisiin kerättiin mahdollisesti sekaisin eri mikrobipopulaatioita, sillä kokeen näytteet kerättiin pintahomeisen tilan ilmasta ennen siellä tehtyä homesiivousta. Sukkulamadot altistettiin mikrobinäytteille eri näytetilavuuksilla. Taulukossa 3 esitetään *cyp-34A9::GFP*-fluoresenssin (RFU) keskiarvot eri aikapisteissä sekä niihin liittyvät keskihajonnat ja variaatiokertoimet. Fluoresenssi kasvoi ajan myötä kaikissa käsittelyissä. Suurimmat fluoresenssiarvot havaittiin 50 µl mikrobikäsittelyissä, erityisesti mikrobien 1 50 µl -näytteessä, jossa RFU-arvo nousi 2413 ± 125 :een 45 tunnin kohdalla ja pysyi korkeana myös 48 tunnin kohdalla, 2626 ± 169 . Pienemmällä, 5 µl annoksella fluoresenssiarvot olivat kauttaaltaan matalampia. Variaatiokertoimien perusteella mittausten hajonta oli kuitenkin suurta erityisesti mikrobien 1 5 µl -näytteessä alkuvaiheessa, jossa CV oli jopa yli 80 %, mutta pieneni ajan myötä. Kontrollinäytteissä fluoresenssin kasvu oli odotetusti vähäisempää. Kontrolleissa havaittiin pieni ero näytetilavuuksien välillä, kontrollin sisältäessä etanolia 0,28 % (v/v) tai 2,8 % (v/v), mutta vaikutus fluoresenssiin oli vähäisempää kuin altistetuilla sukkulamadoilla.

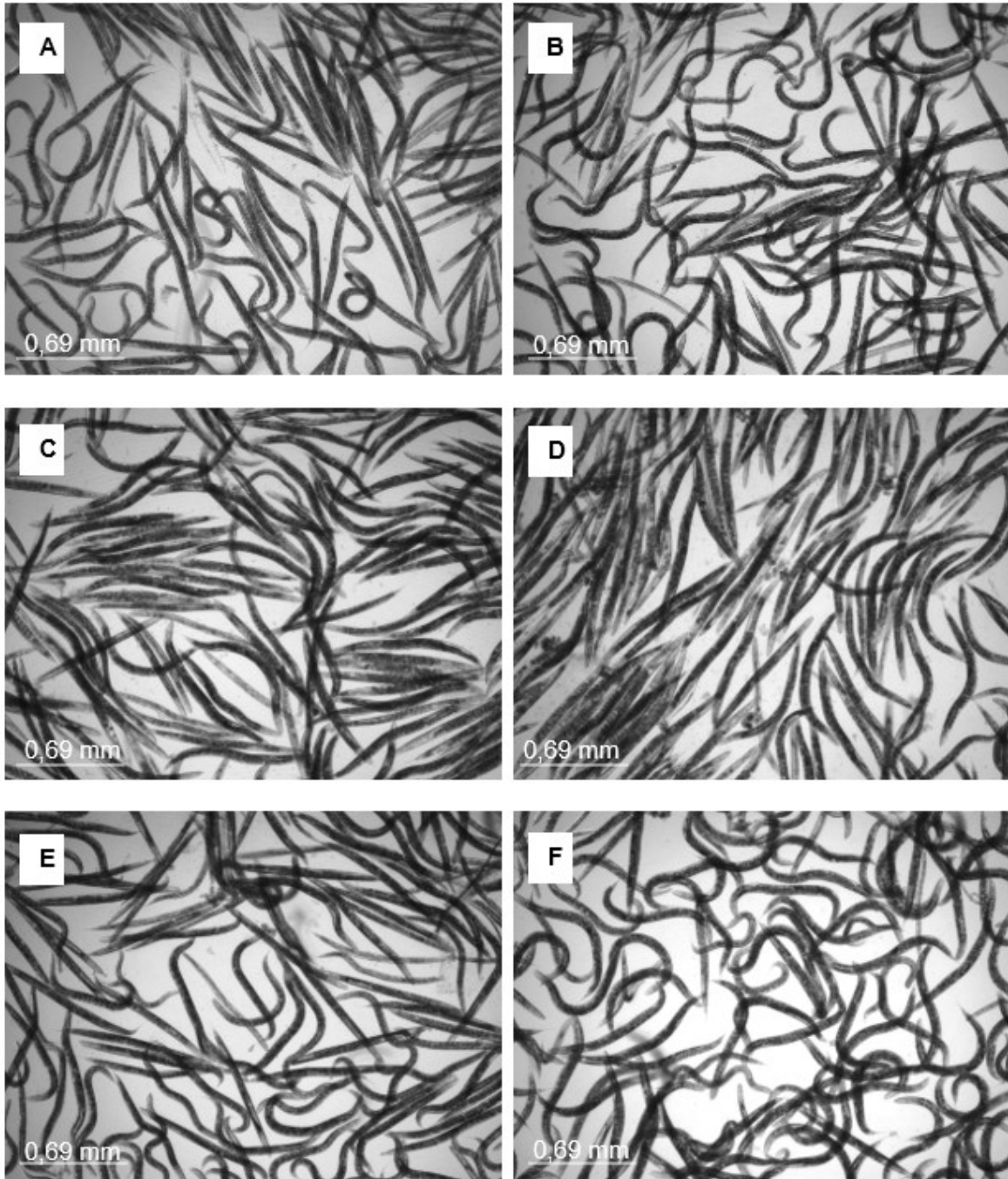
Taulukko 3. Cyp-34A9::GFP fluoresenssin (RFU) keskiarvot mikrobikokeessa. Keskiarvon jälkeen on ilmoitettu keskihajonta sekä variaatiokerroin (%).

Näyte/ fluoresenssi (RFU) aikapisteessä	0 tuntia	20 tuntia	45 tuntia	48 tuntia
Mikrobit 1: 5 µl	647 ± 497 (CV 76,8 %)	1236 ± 1023 (CV 82,7 %)	1628 ± 472 (CV 29,0 %)	1742 ± 447 (CV 25,7 %)
Mikrobit 2: 5 µl	235 ± 27 (CV 11,6 %)	451 ± 36 (CV 8,0 %)	956 ± 202 (CV 21,2 %)	1053 ± 233 (CV 22,2 %)
Mikrobit 1: 50 µl	545 ± 58 (CV 10,7 %)	947 ± 15 (CV 1,5 %)	2413 ± 125 (CV 5,2 %)	2626 ± 169 (CV 6,4 %)
Mikrobit 2: 50 µl	453 ± 12 (CV 2,5 %)	816 ± 55 (6,7 %)	1977 ± 156 (CV 7,9 %)	2168 ± 174 (CV 8,0 %)
Kontrolli: 5 µl	339 ± 77 (CV 22,7 %)	452 ± 97 (CV 21,4 %)	799 ± 255 (CV 32 %)	890 ± 295 (CV 33,1 %)
Kontrolli: 50 µl	461 ± 29 (CV 6,2 %)	582 ± 187 (CV 32,2 %)	1055 ± 356 (CV 33,7 %)	1129 ± 374 (CV 33,1 %)

Tuloksia havainnollistaa kuva 20 A, jossa esitetään fluoresenssin muutoskerroin ajan funktiona. Mikrobitien 1 5 µl näytteissä fluoresenssin lisääntyminen oli maltillista ja tasainen kasvu jäi lähes kontrollien tasolle noin 2,7-kertaisena. Sen sijaan 50 µl näytteessä fluoresenssi kasvoi voimakkaammin 4,7-kertaiseksi. Mikrobitien 2 -näytteissä fluoresenssin kasvu oli ensimmäistä näytesarjaa korostuneempaa. Sekä 5 µl että erityisesti 50 µl käsittelyissä havaittiin 4,5–4,7-kertainen fluoresenssin kasvu. Altisteiden vaikutukset sukkulamatojen liikkuvuuteen kuvan 20 B perusteella vaihtelevat selvästi eri käsittelyiden välillä. Kontrollinäytteissä liikkuvuus on korkein, 5 µl kontrollissa noin 85–90 % ja 50 µl kontrollissa noin 70–75 %, mikä viittaa normaaliin elinvoimaisuuteen ilman mikrobialtistusta. Mikrobitien 1 50 µl näytteessä sukkulamadot olivat lähes kuolleita. Saman näytteen pienempi annos osoitti liikkuvuudeksi noin 45 %. Mikrobitien 2 käsittelyssä suurella annoksella liikkuvuus oli vain 5–10 %, mutta säilyi pienemmällä näyteannoksella noin 40 % tasossa. Virhepalkit osoittavat vaihtelua mittausten välillä, erityisesti mikrobitien 2 5 µl -näytteessä. Sukkulamatojen olosuhteita voidaan arvioida myös kuvista 21 A-F.

A**B**

Kuva 20. A: *Cyp-34A9*::GFP fluoresenssin muutos altistuksessa mikrobinäytteille. Y-akseli kuvaa fluoresenssin muutoskerrointa (fold change). FC >1 tarkoittaa fluoresenssigeenin ilmentymistä. 20B: *Cyp-34A9*::GFP suhteellinen liikkuvuus (%) noin 24 tuntia mikrobinäytteille altistumisen alkamisesta. Virhepalkit kuvaavat keskihajontaa kahdessa näytekuopassa.



Kuva 21. *Cyp-34A9::GFP* sukkulamadot noin 24 tuntia altistumisen alkamisesta. Kuva A esittää 5 µl mikrobinäytettä 1, kuva B 5 µl mikrobinäytettä 2. Kuva C ja D esittävät 50 µl mikrobinäytteitä 1 ja 2. Kuva E esittää 5 µl kontrollia ja kuva F 50 µl kontrollia.

Sukkulamatojen vasteita vertailtiin myös näytteiden välillä, jotka oli kerätty joko ennen tai jälkeen tiloissa tehdyn homesiivouksen. Tulokset osoittivat, että vasteet olivat voimakkaampia ennen siivousta kerätyissä näytteissä, kun käytettiin *sod-4::GFP*-, *gst-4::GFP*-, *hsp-16.2::GFP*- ja *mtl-1::GFP*-sukkulamatokantoja. Vertailu tehtiin, kun näytteitä hyödynnettiin kurssimateriaalina (liite 3).

4 Tulosten tarkastelu

Seuraavissa osioissa tarkastellaan tutkimuksen keskeisiä tuloksia ja pohditaan niiden merkitystä suhteessa sisäilmaan nyt ja jatkotutkimuksissa. Aluksi arvioidaan teollisten mineraalikuitujen esiintymistä näytteissä. Tämän jälkeen käsitellään biomonitorointikokeiden tuloksia, mukaan lukien negatiivista tulosta eristevillan materiaalinäytteille ja inkubointiliuoksille. Seuraavaksi huomiota kiinnitetään mikrobeja ja VOC:eja sisältävien näytteiden vasteisiin ja tulokset suhteutetaan aikaisempiin muihin tutkimuksiin. Tarkastelun päätteeksi pohditaan tulosten luotettavuutta ja pro gradu -tutkielman tavoitteissa onnistumista.

4.1 Teolliset mineraalikuidut näytteissä

Tässä tutkielmassa tarkastellaan teollisten mineraalikuitujen esiintymistä sisäympäristön näytteissä kahdella eri menetelmällä, syklonisella ilmankeräimellä ja geeliteippinäytteenotolla. Kun menetelmien näytteitä verrataan, havaitaan, että kuitujen lukumäärät vaihtelevat molemmilla menetelmillä 0–19 näytettä kohden. Joissakin tapauksissa sykloninäytteistä havaitaan enemmän kuituja kuin samoista tiloista otetuista geeliteippinäytteistä, mutta toisaalta lähes 60 % sykloninäytteistä ei sisällä lainkaan kuituja, kun taas geeliteippinäytteissä vastaava osuus on vain 25–30 %. Sykloninäytteenotto tuottaa useammin nollatuloksia kuin geeliteippimenetelmä.

Ero havaintojen määrässä voi osittain selittyä näytteenottotavalla. Sykloninäytteet kerättiin yhdestä pisteestä tilaa, kun taas geeliteippinäytteet kerättiin useammasta kohdasta, jolloin ne voivat antaa kattavamman kuvan kuitujen alueellisesta jakautumisesta. Aikaisemman tutkimuksen perusteella ilmanäytteiden tulokset voivat vaihdella tilan ilmavirtausten, käyttötilanteen ja hetkellisten hiukkaspitoisuuksien mukaan, mikä voi lisätä tulosten hajontaa ja nollatulosten määrää (Obmiński, 2021). Geeliteippimenetelmä puolestaan mittaa pinnoille laskeutuneita kuituja pidemmältä aikaväliltä, jolloin yksittäiset vaihtelut ilman kuitupitoisuuksissa eivät näy yhtä voimakkaasti. Toisaalta suuret kuidut myös laskeutuvat massansa vuoksi nopeasti ilmasta pinnoille (Centers for Disease Control and Prevention, 1994). Sahmelin ym. (2015) tutkimuksessa, jossa tarkasteltiin kuitujen poistumista ilmasta, havaittiin, että 99 % yli 5 µm pituisista ja vähintään 3:1 pituus-leveysuhteen omaavista kuiduista poistui ilmasta noin 20–80 minuutin kuluessa häirinnän jälkeen. Myös Kovanen ym. (2006) tutkimuksessa todettiin, että usean asunnon ja toimistotilan sisäilmamittauksen kuitupitoisuudet ovat alle määritysrajojen juuri kuitujen nopean laskeutumisen vuoksi.

Kuitujen nopeaa laskeutumista saattaa kuitenkin kompensoida tilojen käyttö ja riittävän tehokas käytetty keräin.

Syklonisella ilmankeräimellä kerätyistä näytteistä tunnistetut kuidut vaihtelevat selvästi pituudeltaan. Lyhimmät mitatut kuidut ovat noin 25 µm pitkiä, kun taas pisimmät ovat lähes 470 µm mittaisia. Pienin mahdollinen havaittu kuitu on noin 10 µm pitkä. On mahdollista, ettei käytetyllä menetelmällä voida kerätä lyhyempiä kuituja, sillä esimerkiksi työhygieniassa syklonisia ilmankeräimiä käytetään erottamaan varsinaisesta suodattimelle kerättävästä näytteestä pois raskaimmat ja suurimmat epäpuhtaudet. Yhdysvaltain ympäristönsuojeluviraston (2025) mukaan korkean virtausnopeuden syklonia voidaan kuitenkin käyttää pienempien alle 10 mikrometrin kokoisten hiukkasten keräämiseen. Toisaalta optisella mikroskoopilla ei voitu luotettavasti varmistaa, että havaitut lyhyemmät hiukkaset ovat mineraalikituituja. Sen sijaan pienempiä kuituja voitaisiin tunnistaa SEM:llä.

SEM:n käyttö osoittautui tässä tutkimuksessa hyödylliseksi, sillä menetelmällä varmistettiin ainakin yksi partikkeli teolliseksi mineraalikuiksi EDS-analyysillä. Aiemmissa vaatekuitututkimuksissa on huomattu, että SEM:n EDS on ylivertainen mahdollistaessaan kuitujen alkuainekoostumuksen selvittämisen ja sitä kautta jopa kuidun alkuperän selvittämisen, mitä valomikroskopialla ei kyetä tekemään (Mahltig ja Grethe, 2022). Jatkossa suosittelen SEM:n hyödyntämistä pienimpien kuitujen havaitsemiseksi, mutta edellyttäisin kuvausprosessin automatisointia sekä huolellista näytteiden esikäsitteilyä. Manuaalinen kuvausmenetelmä SEM-analyyseissä on työläs ja pitkäkestoinen. SEM-näytteiden kuvanlaatu paranee, mikäli näytteet päällystetään johtavalla kerroksella, kuten kullalla tai hiilellä. Pinnoite ehkäisee kuidun siirtymistä varauksensa takia kesken kuvauksen. Kuitujen laskeminen automaattimikroskooppikuvista kuoppalevyiltä sen sijaan on melko helppoa.

Koska syklonin läpi kulkeva ilmamäärä on suuri, teollisten mineraalikituitujen laskennallinen pitoisuus ilmatilavuutta kohden (kg/m^3) jää hyvin pieneksi verrattuna kansainvälisiin viitearvoihin. Erityisesti osa pienikokoisista, varsinkin alle kymmenen mikrometrin kokoisista kuiduista saattoi jäädä analyyseissä havaitsematta, mikä johtaa aliarvioon todellisesta pitoisuudesta. Lisäksi osa näytteestä käytettiin tutkielman muihin analyysihin, mikä edelleen vähentää tarkasteltavissa olevaa aineistoa. Näiden tekijöiden vuoksi pitoisuutta ei tässä tutkielmassa katsottu tarkoituksenmukaiseksi laskea, sillä tulos ei olisi vertailukelpoinen eikä anna lisäarvoa kokonaisarvion kannalta.

Kokonaisuudessaan tulokset osoittavat, että sykloninen ilmankeräin soveltuu teollisten mineraalikuitujen keräämiseen sisäilmasta ja sen avulla voidaan havaita hyvin erikokoisia kuituja. Kun tutkielman tuloksia verrataan geeliteippimenetelmien tuloksiin, voidaan todeta, että vaikka yksittäisten näytteiden kuitujen lukumäärät vaihtelevat, kokonaiskuva tilojen kuituesiintymisistä on samansuuntainen. Jatkossa vielä parempi kuva sisäilman kuiduista saadaan mahdollisesti keräämällä useampia näytteitä eri puolilta tilaa.

4.2 Teollisten mineraalikuitujen tutkimisesta

Teolliset mineraalikuidut ovat Suomessa ja muissa Pohjoismaissa nousseet viime vuosina aiempaa puhuttavammiksi sisäilmaongelmiksi. Suomessa sisäilman kuiduilla on kansanterveydellisesti suurempi merkitys kuin esimerkiksi Keski- ja Etelä-Euroopassa, mikä johtuu suurelta osin ilmaston edellyttämistä rakennusteknisistä ratkaisuista. Keski- ja Etelä-Euroopan monissa maissa on käytössä pääasiassa painovoimainen ilmanvaihtotyyppi tai pelkkä koneellinen poistoilmanvaihto, vaikkakin uusissa energiatehokkaissa rakennuksissa koneellinen tulo- ja poistoilmanvaihto on yleistymässä EU:n energiantehokkuuden lainsäädäntökehysten myötä (Zukowska ym., 2021). Suomen kylmät talvet edellyttävät tehokasta lämmöneristystä ja tiiviitä rakenteita. Mineraalivillapohjaisia materiaaleja käytetään erityisesti julkisissa rakennuksissa, kuten kouluissa ja toimistoissa, joissa panostetaan akustiikkaan ja lämmöneristykseen. Myös lämmön karkaamisen estämiseksi ja paremman tuuletuksen takaamiseksi koneellinen ilmanvaihto on yleinen suomalaisissa julkisissa rakennuksissa, jolloin kuitujen kulkeutuminen sisäilmaan korostuu, jos järjestelmissä on puutteita tai materiaalit haurastuvat. Suomessa suuri osa julkisesta rakennuskannasta on rakennettu 1960–1980-luvuilla (Ympäristöministeriö, 2020), jolloin mineraalikuitujen käyttö oli jo runsasta. Rakennusten ikääntyessä ja materiaalien vanhetessa kuitujen irtoaminen lisääntyy.

Kuitujen koko, jota Suomessa tarkastellaan, on poikkeavaa muuhun maailmaan verrattuna. Suomessa sisäilmatutkimuksissa suuret kuidut ovat tyypillisiä ärsytysoireiden aiheuttajia. Ne ovat optisella mikroskopialla havaittavissa ja laskettavissa, mikä tekee niistä käytännöllisen mittauskohteen rutiinianalyseissä. Muualla maailmassa tarkastellaan etenkin alveolijakeisi kuituja, jotka liittyvät pitkäaikaisiin terveysvaikutuksiin esimerkiksi kuitupölyaltistuksessa teollisuudessa. Tällöin tutkimuksessa käytetään usein elektronimikroskopiaa. Käytännössä kuitenkin suurien kuitujen lisäksi myös pienet, suuremmista kuiduista katkenneet kuidut

saattavat viitata kuituiseen sisäilmaan, joten olisi perusteltua kehittää suomalaisia menetelmiä myös pienempien kuitujen havaitsemiseksi.

Suomessa käytetään nykyisellään ilmanäytteenoton sijaan pääasiassa geeliteippinäytteenottoa, sillä useimmissa toimistotyypisissä sisäympäristöissä ilmanäytteenoton tulokset ovat olleet hyvin alhaisia eivätkä ole ylittäneet määrittämissä rajan ylittävälle tasolle. Tämän perusteella on koettu, että geeliteippinäytteet riittävät kuvaamaan tilannetta nykyisessä suomalaisessa sisäympäristössä, eikä ilmanäytteenottoa ole laajasti vakiinnutettu teollisten mineraalikuitujen osalta. Menetelmien erosta johtuu kuitenkin myös se, etteivät kansainväliset tulokset ole vertailukelpoisia suomalaistutkimusten tuloksiin. Kun sisäilman laatuun liittyvä tieto lisääntyy ja sisäympäristöjen teollisten mineraalikuitujen riskit kasvavat ikääntyvässä rakennuskannassa (Rakennusinsinöörien liitto ry, 2023), on perusteltua pohtia, miksi Suomessa ei kehitettäisi perinteistä geeliteippimenetelmää luotettavampaa ja vertailukelpoisempaa kuitukeräysmenetelmää ilmanäytteenoton avulla. Ilmanäytteenotto on vakiintunut menetelmä esimerkiksi asbestin ja kemiallisten altisteiden arvioinnissa sekä työhygieenisissä mittauksissa erilaisten hiukkaspitoisuuksien määrittämisessä (STM, 2025).

Ilmankeräinmenetelmää voitaisiin kehittää ja tutkia edelleen tutkielmassa käytetyn kaltaisilla syklonisilla ilmankeräimillä vertailumittauksin geeliteippinäytteiden kanssa. Tässä tutkielmassa Siraten keräämissä geeliteippinäytteissä oli mukana tiloja, joissa toimenpideraja ylittyi. Tiloja vastaavissa sykloninäytteissä tunnistettiin kuitujen läsnäolo, eli kuituja kerättiin myös sykloniseen keräimeen usein samoista tiloista. Sykloninäytteissä kuitujen lukumäärät eivät kuitenkaan sellaisenaan olleet vertailukelpoisia toimenpiderajaan, vaan sykloninäytteissä esiintyvien kuitujen määrät loisivat uudenlaisen indikaation sisäilman kuituongelmasta. Vertaileva lähestymistapa kuitenkin tuottaisi lisää tietoa siitä, missä määrin geeliteippinäytteet kuvaavat hengitettävää kuitukuormaa ja missä tilanteissa sykloninäytteenotto olisi perusteltua. Yksi ohjaajan ehdotus menetelmän jatkotutkimuksiin on, että kuituja annosteltaisiin tyhjiin, kontrolloituun tilaan, kerättäisiin sekä ilmankeräimellä että geeliteippimenetelmällä, ja kerättyjen kuitujen määrää verrattaisiin annosteltujen määrään.

4.3 Muut epäpuhtaudet näytteissä

Mineraalikuitujen lisäksi näytteissä havaittiin runsaasti erilaisia sisäilman partikkeleita, jotka ovat todennäköisesti pääosin peräisin ihmisistä (tekstiilikuidut, hilse). Ilman epäpuhtaudet ovat hyvin monimuotoisia ja niiden tarkkaa alkuperää on usein mahdotonta selvittää. Koska ilmasta kerätyistä näytteistä ei onnistuttu kasvattamaan mikrobikasvustoa ajankohtana, jolloin

ilmassa esiintyy runsaasti itiöitä, on todennäköistä, että viljelyyn käytetty liuos oli liian laimeaa kasvatusmenetelmän kannalta. Tämä oletus saa tukea vertailusta Andersen-keräimellä otettuihin näytteisiin, joissa maljoille kerätty ilmamäärä on tyypillisesti 285–420 litraa, kun taas tässä tutkimuksessa maljalle pipetoitiin vain noin 20 litraa ilmaa vastaava näytemäärä (S. Häkkilä, henkilökohtainen tiedonanto, 2024). Näin pieni ilmamäärä saattaa selittää, miksi mikrobikasvustoa ei havaittu, vaikka ilmassa olisi ollut itiöitä. Jos näytteitä halutaan viljellä, näytteenotto paranee pidentämällä keräysaikaa tai konsentroimalla näytettä, jolloin tilavuus vastaa viljelyssä paremmin Andersen-keräimen näytteen tilavuutta.

Mikrobien DNA:n sekvensointi suoraan ilmasta kerätyistä näytteistä ilman viljelyä tarjoaisi tulevaisuudessa tarkempaa tietoa sisäilman mikrobilajistosta. Menetelmä ei kuitenkaan ole vielä vakiintunut, eikä tulosten tulkintaa varten ole olemassa vertailukelpoisia indikaattorilajeja. Lisäksi uusimman Terveiden ja hyvinvoinnin laitoksen (THL) katsauksen mukaan mikrobien lajistolla ei ole keskeistä merkitystä terveyshaittojen kannalta, vaan ratkaisevampaa on mikrobikasvuston määrä ja sen viittaama rakenteellinen kosteusvaurio (THL, 2025).

4.4 Biomonitorointikokeiden tulokset

4.4.1 *C. elegans* -sukkulamatojen vasteet eristevillalle ja eristevillan inkubointiliuokselle

Tutkimuksessa havaittiin, että altistuminen eristevillanäytteille ei aiheuta *Caenorhabditis elegans* -sukkulamadoissa vastetta. Toisaalta sukkulamatomallilla on aikaisemmassa tutkimuksessa havaittu, että muut epäorgaaniset nanohiukkaset, kuten hopea-, kuparioksidi (CuO) ja titaanioksidihhiukkaset (TiO₂) vaikuttavat sukkulamadon elintoimintoihin (Roh ym., 2009 ja Roh ym., 2010). Lisäksi nanomateriaalitutkimuksissa on havaittu, että hiukkasten koko, pinta-ala ja reaktiivisuus vaikuttavat niiden haitallisuuteen. Pienempi materiaali on reaktiivisempi ja voi aiheuttaa voimakkaamman vasteen kuin suuremmat kiinteät partikkelit (Lei ym., 2018). On siis mahdollista, että kuitujen suuren koon ja kiinteyden vuoksi ne eivät olleet haitallisia sukkulamadoille. Kuitenkin aiemmista nanomateriaalitutkimuksista saadun näytön perusteella jatkotutkimuksissa olisi perusteltua tarkastella myös pienempien kuitujen biologista haitallisuutta.

Lisäksi olisi mielenkiintoista tutkia lisää mineraalikulujen sisältämien sidosaineiden mahdollisia vaikutuksia sukkulamatoihin biomonitoroinnin avulla. Tässä tutkielmassa

materiaalinäytteistä pyrittiin poistamaan kuituihin sitoutuneita epäpuhtauksia etanolikäsitteilyn ja lämpökäsitteilyn avulla (inkubointiliuokset). Käytetyillä pitoisuuksilla ja näytemäärillä etanolin kuitenkin havaittiin itsessään vaikuttavan häiritsevästi sukkulamatojen elintoimintoihin. K-puskuria käytettäessä, lämpökäsitteilyä huolimatta, on mahdollista, etteivät eristevillan sidosaineet lienneet näytteeseen. Etanolinäytteiden näytemäärän pienentäminen olisi voinut lieventää häiriötä, mutta inkubointiliuoskojeita ei tutkielman aikataulullisissa puitteissa voitu toistaa useilla parametreilla.

4.4.2 *C. elegans* -sukkulamatojen vasteet sykloninäytteille

Tuloksissa teollisten mineraalikutujen sykloninäytteistä ei havaittu merkitseviä vasteita *C. elegans* -sukkulamatojen *sod-4::GFP*- eikä *cyp-34A9::GFP*-kannoilla. Sykloninäytteiden kuitujen määrä oli lopulta vähäinen, joten on todennäköistä, ettei biomonitorointiin käytettyyn näyteosuuteen päätyntä lainkaan kuituja, jolloin sukkulamato eivät altistuneet tavoitellulla tavalla. Kuituisten sykloninäytteiden fluoresenssin spektrometrinen mittaus osoittautui myös haastavaksi, sillä kuidut osin fluoresoivat tai heijastavat laitteiston valoa, jolloin nollanäytteiden asettaminen ja sukkulamatojen todellisen fluoresenssin havaitseminen edellyttäisi hyvin kontrolloitua kuitumäärää näytettä kohden. Tällainen koeasetelma taas ei välttämättä tue tarkoitusta suoraan sisäilman biomonitoroinnissa, vaan tuottaa yleisesti tietoa kuitujen biologisista vaikutuksista sukkulamadoilla. Tutkielman kannalta hyödyllisempää olisi ollut myös kuitujen tutkiminen kuopista ennen sukkulamatojen lisäämistä, sen sijaan että kuitujen päätyminen näytteeseen olisi oletettu siksi, että muusta osasta näytettä havaittiin kuituja.

Sykloninäytteistä, jotka oli kerätty biologian laitoksen tilasta ja joissa oletettiin olevan mikrobeja tilojen pintojen homeisuuden vuoksi, havaittiin vasteita sukkulamadoissa sekä omissani sekä muiden opiskelijoiden suorittamissa kokeissa. He myös havaitsivat, että homesiivous vähensi altisteiden toksisia vaikutuksia. Vaikka tarkkoja mikrobilajistoja ei voitu tunnistaa tutkielmassa, tuloksia voidaan verrata Paavanen-Huhtalan ym. tutkimukseen (2023), jossa havaittiin sukkulamatojen *sod-4::GFP*- ja *cyp-34A9::GFP*-kantojen reagoivan erityisesti rasvaliukoisiin mykotoksiineihin liuosaltistuksissa. Kosteusvaurioituneista rakennuksista eristettyjen sieninäytteiden laimennetuissa etanoliliuosissa (1:100) *Stachybotrys*-suvun näytteet aiheuttivat sukkulamadoissa nopeasti nousevan, tappavan vasteen, kun taas *Aspergillus*- ja *Trichoderma*-lajit tuottivat matalampia toksisuusvasteita. Matalammat toksisuusvasteet aiheuttivat fluoresenssin kaksin- tai nelinkertaistumisen verrattuna

kontrollinäytteisiin tai näytteisiin, jotka oli altistettu myrkyttömälle *Geotrichum candidum* (a/548) -suspensiolle. Omissa kokeissani fluoresenssit noin puolitoista- tai kaksinkertaistuivat mikrobinäytealtistuksissa suhteessa kontroleihin.

Lisäksi tässä tutkielmassa, kuten Paavanen-Huhtalan ym. artikkelissa, sukkulamadot reagoivat myös VOC-yhdisteisiin, kuten 2-etyyli-1-heksanoliin (2E1H), C9- ja C10-alifaattisiin alkoholeihin sekä pienempiin määriin muita yhdisteitä. Paavanen-Huhtalan ym. sukkulamatokokeissa sukkulamatoja altistettiin ilmateitse VOC-yhdisteille, minkä lisäksi tehtiin fluoresenssianalyysejä ja kemotaktisia analyysejä, joissa mitattiin sukkulamatojen liikkumista joko kohti eri yhdisteitä tai niistä poispäin. Molemmat *C. elegans* -kannat välttivät voimakkaasti osaa VOC-yhdisteistä kemotaktisissa kokeissa. Lisäksi yhdisteet vaikuttivat selvästi fluoresenssivasteisiin, joissa havaittiin noin 2,5-kertainen fluoresenssin kasvu verrattuna kontrolliin. Tämän tutkielman puitteissa sykloninäytteiden VOC-yhdisteen tyyppiä ei selvitetty, mutta liuosanalyyseissä sykloninäytteiden fluoresenssivasteet noin kaksinkertaistuivat suhteessa kontrolliin.

4.5 Tulosten luotettavuuden arviointi

Biomonitoroinnin tuloksissa tarkastellaan sukkulamatojen fluoresenssin keskiarvoja, keskihajontaa ja variaatiokertoimia. Aineistossa osa fluoresenssimittauksista osoitti hyvää toistettavuutta, kun taas osassa mittauksista havaittiin huomattavaa vaihtelua ($CV > 40\%$). Otokoot olivat pieniä ja CV % kasvaa suhteettomasti tuloksen keskiarvon pienentyessä eli fluoresenssin ollessa alhaista. Osaa tuloksia voidaan tämän vuoksi tulkita suuntaa antavina. Rinnakkaisia näytekuoppia oli kokeissa yleensä kaksi, eräissä kokeissa enimmillään kuusi näytettä kohden, mutta pääasiassa samaa näytettä ei vertailtu yli kahdessa erillisessä kokeessa. Olisi siis perusteltua tehdä lisää kokeita ja useammalla sukkulamatomakannalla, lisäten kuoppien määrää näytettä kohden, jotta tuloksille voitaisiin suorittaa lisää tilastollista analyysiä.

Tutkielmassa muita mahdollisia virhelähteitä ovat muun muassa epätasaisesti kuoppiin jakautuneet sukkulamadot tai näytteen pipetointivirheet. Lisäksi biomonitorointikokeissa havaittiin joissakin kuopissa sukkulamatojen yhteen kerääntymistä. Aiempien tutkimusten mukaan yhteen kerääntyminen on yleinen reaktio monilla sukkulamatolajeilla silloin, kun ympäristö muuttuu epäsuotuisaksi. Esimerkiksi sieniä ravintonaan käyttävä sukkulamato *Ditylenchus myceliophagus* muodostaa parven ruuan ehtyessä (Hesling, 1966).

Parveutuminen lisäsi sukkulamatojen fluoresenssia. Ajoittain oli kuitenkin vaikeaa arvioida,

johtuiko parveutuminen esimerkiksi ravinnon loppumisesta, näytteestä vai esimerkiksi sukkulamatojen ahtaudesta kuopissa.

Biomonitorointikoetta voitaisiin edelleen kehittää sukkulamatojen eloonjäämisanalyysillä. Yhdessä aiemmassa tutkimuksessa Chung ym. (2020) tutkivat sukkulamadon eloonjäämistä altistettaessa sukkulamatoja liikenteen aiheuttamille ilmansaasteille. Eloonjäämisanalyysi mittaa ajan funktiona, kuinka hyvin sukkulamadot selviävät altistuksesta, tarkastelemalla kuinka nopeasti ne kuolevat. Analyysi paljastaa vaikutuksia pitkäaikaisista altistuksista, jotka eivät ilmene heti näkyvinä vasteina. Analyysi toteutettaisiin NGM-maljoilla. Aiempien tutkimusten menetelmiä mukaillen altistetut sukkulamadot siirrettäisiin päivittäin uudelle maljalle, kunnes ne eivät enää munisi. Tämän jälkeen sukkulamatojen elinkykyä arvioitaisiin niiden eliniän ajan, noin kolme viikkoa. Arviointi tehtäisiin tökkäämällä sukkulamatoa kevyesti ohuella platinalangalla ja reagoimattomat sukkulamadot luokiteltaisiin kuolleiksi. Muut luokiteltaisiin elossa oleviksi tai kadonneiksi. Kokeessa altistettaisiin sukkulamatoja eri konsentraatioille altistetta. Tulokset ilmoitettaisiin eloonjäämiskäyrällä eli Kaplan–Meier-käyrällä. (Chung ym., 2020; Kwon ja Lee, 2025).

Lisäksi sukkulamatojen vasteita tulkittaisiin yhä luotettavammin, jos tiedettäisiin tarkkaan, mitkä altisteet päätyvät sukkulamadon elimistöön näytteistä ja miten. Tällöin vasteet yhdistettäisiin suoraan tiettyihin materiaaleihin. Tässä tutkielmassa ei ollut käytettävissä menetelmää, jolla olisi voitu havaita, olisiko mineraalikuituja päätynyt sukkulamadon suuhun tai nieluun tai sen liikkumiselle oleellisiin lihaksiin. Tutkielmassa ei myöskään havaittu, läpäiseekö mineraalikuitu sukkulamadon tai sen toukan kutikulan. Lopuksi voidaan kuitenkin todeta, että sukkulamatojen biomonitorointikokeet suoritettiin toistettavissa olevissa olosuhteissa ja menetelmät noudattivat vakiintuneita käytäntöjä sukkulamatojen käsittelyssä ja havainnoinnissa.

4.6 Yhteenveto

Tutkielmassa avataan teollisten mineraalikuitujen merkitystä sisäilmaongelmissa, käsitellään teollisten mineraalikuitujen geeliteippinäytteenoton haasteita ja mahdollisuuksia sykloniselle ilmanäytteenkeräämiselle, sekä arvioidaan sukkulamatomallin soveltuvuutta biomonitoroinnissa sisäilman erilaisille epäpuhtauksille. Hypoteesina oli, että sykloninen ilmankeräin pystyy keräämään teollisia mineraalikuituja sisäilmasta edustavammin kuin nykyiset menetelmät, ja että sukkulamatomalli toimisi sisäilman laadun arvioinnissa teollisten

mineraalikuitujen osalta. Tulokset osoittivat, että sykloninen ilmankeräin pystyy keräämään mineraalikuituja. Edustavan näytteenkeräyksen varmistaminen vaatii lisää tutkimusta.

Sukkulamadot sen sijaan eivät toimineet sisäilman biomonitoinnin välineenä teollisten mineraalikuitujen osalta sellaisenaan, eivätkä ne reagoineet eristevillaan, mutta menetelmä olisi vielä kehitettävissä esimerkiksi tutkielmassa kerättyjä mineraalikuituja pienempien kuitujen biomonitointiin. Sukkulamadot ovat aiemmin tutkitun mukaan käyttökelpoisia nanomateriaalien biologisten vaikutusten alustavassa arvioinnissa (Gonzalez-Moragas ym., 2015), mikä tukee niiden soveltuvuutta teollisten mineraalikuitujen biomonitoinnin jatkotutkimuksiin. Teollisia mineraalikuituja ja muita nanomateriaaleja yhdistää erittäin pieni kokoluokka ja erityiset mekaaniset tai kemialliset ominaisuudet biologisessa ympäristössä (Yang ym., 2021; Tukes, n.d.). Myös eristeillan sisältämien sidosaineiden biologiset vaikutukset tunnetaan edelleen huonosti.

Tämä tutkielman tulosten mukaan näyttäisi siltä, että biomonitointi soveltuu kuituja paremmin VOC-yhdisteiden ja mikrobien arviointiin. Tulokset tukevat siten aiempia Paavanen-Huhtala ym. (2023) tutkimustuloksia.

Syklonisen ilmankeräimen näytteenoton kehittämiseksi tulevaisuudessa olisi hyödyllistä tehdä laajempaa vertailua eri näytteenottomenetelmien välillä, pidentää näytteenottojaksoja suuremman kuitumäärän keräämiseksi, sekä esimerkiksi hyödyntää syklonisen ilmankeräimen liikkuttamista huoneessa edustavamman otoksen keräämiseksi. Nykymenetelmin kuitujen analyysit edellyttävät kuitujen manuaalista etsimistä geeliteipiltä tai SEM:n monista kuvakentistä, mikä on työlästä ja aikaa vievää, mutta jota nestemäisillä näytteillä ja automaattimikroskopiolla potentiaalisesti helpotettaisiin.

Kaiken kaikkiaan tutkimuksen tavoitteet saavutettiin siinä mielessä, että työ tuotti uuden potentiaalisen menetelmän syklonisesta ilmankeräyksestä ja toi lisää tietoa sukkulamatojen soveltuvuudesta ja mahdollisuuksista arvioida sisäilmaongelmien aiheuttajia. Tulokset laajentavat ymmärrystä teollisista mineraalikuuduista, mikrobeista ja muista sisäilman epäpuhtauksista, sekä tarjoavat lähtökohtia uudelleenlaiseen sisäilmatutkimukseen.

Kiitokset

Vilpittömät kiitokseni ohjaajilleni Päivi Koskiselle ja Vesa Koskiselle erinomaisesta ohjauksestanne. Eritaustaiset näkökulmanne täydensivät tutkielman eri vaiheissa toisiaan ja loivat antoisan yhteistyön. Toivon, että yhteistyömme jatkuu jollain tavalla valmistumiseni jälkeenkin. Lämmin kiitos myös Sirkku Häkkilälle panoksestasi menetelmien kehittämiseksi. Kiitos Arto Hiltuselle laitteiston lainaamisesta ja kirjoitustyön vertaistuesta. Kiitos Ermei Mäkilälle omistautumisestasi SEM-kuvantamisen onnistumiseksi, myöhäiseen perjantai-iltaan asti. Lopuksi kiitän kumppaniani, perhettäni, ystäviäni ja muita läheisiäni, jotka ovat tukeneet minua opinnoissani. Teidän avullanne voin todeta, että tutkielma on valmis, ja katse suuntautuu kohti tulevia mahdollisuuksia.

Lähteet

- Anbalagan, C., Lafayette, I., Antoniou-Kourouniotti, M., Haque, M., King, J., Johnsen, B., Baillie, D., Gutierrez, C., Martin, J.A., de Pomerai, D. (2012). Transgenic nematodes as biosensors for metal stress in soil pore water samples. *Ecotoxicology* 21 (2), s. 439–455. <<https://doi.org/10.1007/s10646-011-0804-0>>
- Anbalagan, C., Lafayette, I., Antoniou-Kourouniotti, M., ym. (2013). Use of transgenic GFP reporter strains of the nematode *Caenorhabditis elegans* to investigate the patterns of stress responses induced by pesticides and by organic extracts from agricultural soils. *Ecotoxicology* 22, s. 72–85. <<https://doi.org/10.1007/s10646-012-1004-2>>
- Arbetsmiljöverket (2018). Arbetsmiljöverkets föreskrifter om ändring i Arbetsmiljöverkets föreskrifter och allmänna råd om hygieniska gränsvärden (AFS 2018:1), 80 sivua. Arbetsmiljöverket, Tukholma.
- de Bono, M. (2003). Molecular approaches to aggregation behavior and social attachment. *Journal of Neurobiology* 54 (1), s. 78–92. <<https://doi.org/10.1002/neu.10162>>
- Bozsaky, D. (2010). The historical development of thermal insulation materials. *Periodica Polytechnica – Architecture* 41 (2), s. 49–56. <<https://doi.org/10.3311/pp.ar.2010-2.02>>
- Brenner, S. (1974). The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 77 (1), s. 71–94. <<https://doi.org/10.1093/genetics/77.1.71>>
- Carvalho, E., Sindt, C., Verdier, A., ym. (2008). Performance of the Coriolis air sampler, a high-volume aerosol-collection system for quantification of airborne spores and pollen grains. *Aerobiologia* 24, s. 191–201. <<https://doi.org/10.1007/s10453-008-9098-y>>
- Cassada, R.C. ja Russell, R.L. (1975). The dauerlarva, a post-embryonic developmental variant of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Developmental biology*, 46 (2), s. 326–342. <[https://doi.org/10.1016/0012-1606\(75\)90109-8](https://doi.org/10.1016/0012-1606(75)90109-8)>

- Castagnoli, E., Salo, J., Toivonen, M.S., Marik, T., Mikkola, R., Kredics, L., Vicente-Carrillo, A., Nagy, S., Andersson, M.T., Andersson, M.A., Kurnitski, J., Salonen, H. (2018). An evaluation of boar spermatozoa as a biosensor for the detection of sublethal and lethal toxicity. *Toxins* 10 (11), s. 463. <<https://doi.org/10.3390/toxins10110463>>
- Centers for Disease Control and Prevention (1994). Method 7400: Asbestos and other fibers by PCM. NIOSH manual of analytical methods, 4. painos, 15 sivua. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). <<https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/7400.pdf>> [luettu 20.4.2026].
- Chisholm, A.D. ja Hsiao, T.I. (2012). The *Caenorhabditis elegans* epidermis as a model skin. I: Development, patterning, and growth. *Wiley interdisciplinary reviews: Developmental Biology* 1 (6), s. 861–878. <<https://doi.org/10.1002/wdev.79>>
- Corsi, A.K., Wightman, B., Chalfie, M. (2015). A transparent window into biology: a primer on *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 200 (2), s. 387–407. <<https://doi.org/10.1534/genetics.115.176099>>
- Chung, M.C., Huang, K.L., Avelino, J.L., Tayo, L.L., Lin, C.C., Tsai, M.H., Lin, S.L., Mansor, W.N.W., Su, C.K., Huang, S.T. (2020). Toxic assessment of heavily traffic-related fine particulate matter using an *in-vivo* wild-type *Caenorhabditis elegans* model. *Aerosol and air quality research* 20, s. 1974–1986. <<https://doi.org/10.4209/aaqr.2020.05.0192>>
- EIPPCB - European integrated pollution prevention and control bureau (2013). Industrial emissions directive 2010/75/EU, integrated pollution prevention and control: best available techniques (BAT) reference document for the manufacture of glass (JRC Reference Report), 485 sivua. <https://eippcb.jrc.ec.europa.eu/sites/default/files/2019-11/GLS_Adopted_03_2012_0.pdf> [luettu 20.4.2026].
- EPRA - European Phenolic Resins Association (n.d.). Mineral wool. <<https://epra.eu/en/phenolic-resin/application-areas/mineral-wool/>> [luettu 31.1.2025].

- Ferguson, G.D. ja Bridge, W.J. (2019). The glutathione system and the related thiol network in *Caenorhabditis elegans*. *Redox Biology* 24.
<<https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101171>>
- Freedman, J.H., Slice, L.W., Dixon, D., Fire, A., Rubin, C.S. (1993). The novel metallothionein genes of *Caenorhabditis elegans*: structural organization and inducible, cell-specific expression. *Journal of Biological Chemistry* 268 (4), s. 2554–2564. <[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)53810-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)53810-2)>
- Fujii, M., Ishii, N., Joguchi, A., Yasuda, K., Ayusawa, D. (1998). A novel superoxide dismutase gene encoding membrane-bound and extracellular isoforms by alternative splicing in *Caenorhabditis elegans*. *DNA Research* 5 (1), s. 25–30.
<<https://doi.org/10.1093/dnares/5.1.25>>
- Goldstein, B. (n.d.). *C. elegans* -movies. University of North Carolina, Chapel Hill.
<<https://labs.bio.unc.edu/Goldstein/movies.html#adults>> [luettu 20.4.2026].
- Gonzalez-Moragas, L., Roig, A., Laromaine, A. (2015). *C. elegans* as a tool for in vivo nanoparticle assessment. *Advances in Colloid and Interface Science* 219, s. 10-26.
<<https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.02.001>>
- Harlow, P.H., Perry, S.J., Stevens, A.J., ym. (2018). Comparative metabolism of xenobiotic chemicals by cytochrome P450s in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Scientific Reports* 8, 13333. <<https://doi.org/10.1038/s41598-018-31215-w>>
- Hesling, J.J. (1966). Preliminary experiments on the control of mycophagous eelworms in mushroom beds, with a note on their swarming. *Plant Pathology* 15 (4), s. 163–166.
<<https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1966.tb00342.x>>
- Hodgkin, J. ja Barnes, T.M. (1991). More is not better: brood size and population growth in a self-fertilizing nematode. *Proceedings. Biological sciences*, 246 (1315), s. 19–24.
<<https://doi.org/10.1098/rspb.1991.0119>>

Hunt-Newbury, R., Viveiros, R., Johnsen, R., Mah, A., Anastas, D., Fang, L., Halfnight, E., Lee, D., Lin, J., Lorch, A., McKay, S., Okada, H.M., Pan, J., Schulz, A.K., Tu, D., Wong, K., Zhao, Z., Alexeyenko, A., Burglin, T., Sonnhammer, E., Moerman, D.G., ym. (2007). High-throughput in vivo analysis of gene expression in *Caenorhabditis elegans*. *PLOS Biology* 5 (9), s. 237. <<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050237>>

IARC - International Agency for Research on Cancer. Working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans. (2002). Man-made vitreous fibres, teoksessa IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, nro 81, 418 sivua. International agency for research on cancer, Lyon.

Ivanič, A., Kravanja, G., Kidess, W., Rudolf, R., Lubej, S. (2020). The influences of moisture on the mechanical, morphological and thermogravimetric properties of mineral wool made from basalt glass fibers. *Materials* 13 (10), s. 2392. <<https://doi.org/10.3390/ma13102392>>

Jolanki, R., Mäkinen, I., Suuronen, K., Alanko, K., Estlander, T. (2003). Occupational irritant contact dermatitis from synthetic mineral fibres according to Finnish statistics. *Contact Dermatitis* 47 (6), s. 331–336. <<https://doi.org/10.1034/j.1600-0536.2002.470602.x>>

Jones, D., Stringham, E.G., Babich, S.L., Candido, E.P. (1996). Transgenic strains of the nematode *C. elegans* in biomonitoring and toxicology: effects of captan and related compounds on the stress response. *Toxicology* 109 (2–3), s. 119–127. <[https://doi.org/10.1016/0300-483x\(96\)03316-1](https://doi.org/10.1016/0300-483x(96)03316-1)>

Juntunen, M., Salmela, A., Jalkanen, K., Hovi, H., Wallenius, K., Hyvärinen, A. (2022). Haihtuvat orgaaniset yhdisteet asunnoissa: Pitoisuustasot, yleisimmät yhdisteet ja terveysvaikutukset (Työpaperi 5/2022), 36 sivua. Terveystieteiden ja hyvinvoinnin tutkimuskeskus (THL), Helsinki.

Kennis, J.T., Larsen, D.S., van Stokkum, I.H., Vengris, M., van Thor, J.J., van Grondelle, R. (2004). Uncovering the hidden ground state of green fluorescent protein. *Proceedings*

of the National Academy of Sciences 101 (52), 17988–17993.

<<https://doi.org/10.1073/pnas.0404262102>>

Kilpikari, J., Maula, H., Saarinen, P. (2021). Sisäkatoista irtoavat mineraalikulut – laboratorio- ja kenttämittauksia. Sisäilmastoseminaari 2021. Verkko-seminaari 9.3.2021. Sisäilmayhdistyksen raportti, nro. 39, 429 sivua. SIY Sisäilmatieto Oy.

Kovanen, K., Heimonen, I., Laamanen, J., Riala, R., Harju, R., Tuovila, H., Kämppi, R., Säntti, J., Tuomi, T., Salo, S.-P., Voutilainen, R., Tossavainen, A. (2006). Ilmanvaihtolaitteiden hiukkaspäästöt – Altistuminen, mittaaminen ja tuotetestaus, VTT tiedotteita 2360, Espoo 2006, 67 sivua.
<<https://publications.vtt.fi/pdf/tiedotteet/2006/T2360.pdf>> [luettu 20.4.2026].

Kwon, H.C. ja Lee, S.-J.V. (2025). Brief guide to *Caenorhabditis elegans* survival assays, *Molecules and Cells*, 48 (8). <<https://doi.org/10.1016/j.mocell.2025.100232>>

Laamanen P., Pitkäranta M., Holmström J., Kantola J., Kaurinvaha E., ym. (2016). Rakennuksen kosteus- ja sisäilmatekninen kuntotutkimus. Teoksessa: Ympäristöopas 2016, 238 sivua. Toim. Pitkäranta, M. Ympäristöministeriö, Helsinki.

Larigot, L., Mansuy, D., Borowski, I., Coumoul, X., Dairou, J. (2022). Cytochromes P450 of *Caenorhabditis elegans*: Implication in biological functions and metabolism of xenobiotics. *Biomolecules* 12 (3), s. 342. <<https://doi.org/10.3390/biom12030342>>

Lei, L., Liu, M., Song, Y., Lu, S., Hu, J., Cao, C., Xie, B., Shi, H., He, D. (2018). Polystyrene (nano)microplastics cause size-dependent neurotoxicity, oxidative damage and other adverse effects in *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Science: Nano* 5, 2009–2020. <<https://doi.org/10.1039/C8EN00412A>>

Link, C.D., Cypser, J.R., Johnson, C. J., Johnson, T.E. (1999). Direct observation of stress response in *Caenorhabditis elegans* using a reporter transgene. *Cell Stress & Chaperones* 4 (4), s. 235–242. <[https://doi.org/10.1379/1466-1268\(1999\)004<0235:doosri>2.3.co;2](https://doi.org/10.1379/1466-1268(1999)004<0235:doosri>2.3.co;2)>

- Lippmann, M. (1990). Effects of fiber characteristics on lung deposition, retention, and disease. *Environmental Health Perspectives*, 88, s. 311–317.
<<https://doi.org/10.1289/ehp.9088311>>
- Marsh, G.M., Buchanich, J.M., Youk, A.O. (2011). Fiber glass exposure and human respiratory system cancer risk: lack of evidence persists since 2001 IARC re-evaluation. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 60 (1), s. 84–92.
<<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2011.02.009>>
- Mahltig, B. ja Grethe, T. (2022). High-performance and functional fiber materials—A review of properties, scanning electron microscopy SEM and electron dispersive spectroscopy EDS. *Textiles* 2 (2), s. 209–251. <<https://doi.org/10.3390/textiles2020012>>
- McElvenny, D.M., Iskandar, I., Daniels, S., Gittins, M., van Tongeren, M. (2025). Systematic review and meta-analysis of the epidemiology of man-made vitreous fibres and respiratory health outcomes. *Annals of Work Exposures and Health* 69 (4), s. 347–359.
<<https://doi.org/10.1093/annweh/wxaf006>>
- de Montellano, P.O.R. (2015). *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry*, 4. painos, 702 sivua. Springer, New York.
- Morise, H., Shimomura, O., Johnson, F.H., Winant, J. (1974). Intermolecular energy transfer in the bioluminescent system of *Aequorea*. *Biochemistry* 13 (12), s. 2656–2662.
<<https://doi.org/10.1021/bi00709a028>>
- Mölsä, S. ja Tompuri, V. (2017). Ilmakanavien ja akustoinnin põlisevät villaeristeet aiheuttavat homeen kaltaisia oireita. *Rakennuslehti* 27.4.2017.
- Mölsä, S. (2018). Home ei ole suinkaan yleisin sisäilmaongelma julkisissa rakennuksissa. *Rakennuslehti* 9.3.2018.
- Nagy, B., Simon, T.K., Nemes, R. (2020). Effect of built-in mineral wool insulations durability on its thermal and mechanical performance. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 139, s. 169–181. <<https://doi.org/10.1007/s10973-019-08384-5>>

- Neve, E.P.A. ja Ingelman-Sundberg, M. (2008) Intracellular transport and localization of microsomal cytochrome P450. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 392, s. 1075–1084. <<https://doi-org.ezproxy.utu.fi:2443/10.1007/s00216-008-2200-z>>
- NIOSH - National Institute for Occupational Safety and Health (2007). NIOSH pocket guide to chemical hazards. DHHS (NIOSH) julkaisu nro. 2005–149, 454 sivua. National Institute for Occupational Safety and Health, Connecticut, Ohio.
- Obmiński, A. (2021). The concentration of asbestos fibres during buildings exploitation: analysis of concentration variability. *Archives of Civil and Mechanical Engineering* 22 (6). <<https://doi.org/10.1007/s43452-021-00323-2>>
- Okhrimenko, D.V., Thomsen, A.B., Ceccato, M., Johansson, D.B., Lybye, D., Bechgaard, K., Tougaard, S., Stipp, S.L.S. (2018). Impact of curing time on ageing and degradation of phenol-urea-formaldehyde binder. *Polymer Degradation and Stability* 152, s. 86–94. <<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2018.03.022>>
- Ormö, M., Cubitt, A.B., Kallio, K., Gross, L.A., Tsien, R.Y., Remington, S.J. (1996). Crystal structure of the *Aequorea victoria* green fluorescent protein. *Science* 273, s. 1392–1395. <DOI: 10.1126/science.273.5280.1392>
- Paavanen-Huhtala, S., Kalichamy, K., Pessi, A.M., Häkkilä, S., Saarto, A., Tuomela, M., Andersson, M.A., Koskinen, P.J. (2023). Biomonitoring of indoor air fungal or chemical toxins with *Caenorhabditis elegans* nematodes. *Pathogens* 12 (2), s. 161. <<https://doi.org/10.3390/pathogens12020161>>
- Petersen R. ja Sabroe S. (1991). Irritative symptoms and exposure to mineral wool. *American Journal of Industrial Medicine* 20 (1), s. 113–122. <<https://doi.org/10.1002/ajim.4700200111>>
- Pleil, J.D., Ariel Geer Wallace, M., Davis, M.D., Matty, C.M. (2021). The physics of human breathing: flow, timing, volume, and pressure parameters for normal, on-demand, and

- ventilator respiration. *Journal of Breath Research* 15 (4).
<<https://doi.org/10.1088/1752-7163/ac2589>>
- Rankin, C.H. (2002). From gene to identified neuron to behaviour in *Caenorhabditis elegans*. *Nature Reviews Genetics* 3 (8), s. 622–630. <<https://doi.org/10.1038/nrg864>>
- Remington, S.J. (2011). Green fluorescent protein: a perspective. *Protein science: a publication of the Protein Society* 20 (9), s. 1509–1519.
<<https://doi.org/10.1002/pro.684>>
- Riddle, D.L., Blumenthal, T., Meyer, B.J., Priess, J.R. (toim.). (1997). *Osiot anatomy, life history and evolution, the biological model ja cuticle teoksessa C. elegans II* (2. painos), 1222 sivua. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- RIL ry – Rakennusinsinöörien liitto ry (2023). Rakennetun omaisuuden tila 2023 (ROTI 2023) raportti. <https://www.ril.fi/media/2023/vaikuttaminen/roti-2023/roti_2023_final_suojattu.pdf> [luettu 20.4.2026].
- Roh, J.Y., Sang, J.S., Yi, J. ym. (2009). Ecotoxicity of silver nanoparticles on the soil nematode *Caenorhabditis elegans* using functional ecotoxicogenomics. *Environmental Science & Technology* 43 (10), s. 3933–3940. <<https://doi.org/10.1021/es803477u>>
- Roh, J.Y., Park, Y.K., Park K., Choi, J. (2010). Ecotoxicological investigation of CeO₂ and TiO₂ nanoparticles on the soil nematode *Caenorhabditis elegans* using gene expression, growth, fertility, and survival as endpoints. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 29 (2), s. 167–172. <<https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.12.003>>
- Sahmel, J., Avens, H.J., Scott, P.K., Unice, K., Burns, A., Barlow, C.A., Madl, A.K., Henshaw, J., Paustenbach, D.J. (2015). Measured removal rates of chrysotile asbestos fibers from air and comparison with theoretical estimates based on gravitational settling and dilution ventilation. *Inhalation Toxicology* 27 (14), s. 787–801.
<<https://doi.org/10.3109/08958378.2015.1110216>>

Salmela A. (2022). Kosteusvaurioiden yleisyys pientalojen riskirakenteissa. *Ympäristö ja Terveys* 53 (5), s. 16-21. <<https://urn.fi/URN:NBN:fi-fe2022091358872>>

Salmela, A., Jalkanen, K., Mäntynen, K., Simpanen, M., Hyvärinen, A. (2024). Katsaus kuntien sisäilmatilanteeseen: Kuntien sisäilmakysely 2023 (Työpaperi 4/2024), 29 sivua. Terveystieteiden tutkimuskeskus, Helsinki.

Schneider, T. ja Lundqvist, G.R. (1986). Man-made mineral fibres in the indoor, non-industrial environment. *Building and Environment*, 21, (3–4), s. 129–133. <[https://doi.org/10.1016/0360-1323\(86\)90021-1](https://doi.org/10.1016/0360-1323(86)90021-1)>

Schneider, T. (2001). Synthetic vitreous fibers teoksessa *Indoor Air Quality Handbook*, 35 sivua. Toim. Spengler, J. D., Samet, J.M. ja McCarthy, J.F. McGraw-Hill Education, New York.

Schneider, T. (2008). Dust and fibers as a cause of indoor environment problems. *Scandinavian journal of work, environment & health supplements*, 4, s. 10–17.

SCOEL - EU:n työperäisten raja-arvojen tieteellinen komitea (2012). Recommendation from the scientific committee on occupational exposure limits for man-made-mineral fibres (MMMMF) with no indication for carcinogenicity and not specified elsewhere. SCOEL/SUM/88, 2012. Euroopan komissio.

Solvang, M., Okhrimenko, D.V., Koch, C. (2023). Investigation of the occurrence of binder material on airborne respirable mineral wool fibers. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 20 (5–6), s. 240–253. <<https://doi.org/10.1080/15459624.2023.2205470>>

Sosiaali- ja terveysministeriön asetus asunnon ja muun oleskelutilan terveydellisistä olosuhteista sekä ulkopuolisten asiantuntijoiden pätevyysvaatimuksista 545/2015, ”Asumisterveysasetus”. <<https://www.finlex.fi/fi/lainsaadanto/2015/545>> [luettu 11.3.2026].

- STM - Sosiaali- ja terveysministeriö (2020). HTP-arvot 2020: Haitallisiksi tunnetut pitoisuudet. Sosiaali- ja terveysministeriön julkaisuja 2020 (24).
<<http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-00-5658-2>>
- STM – Sosiaali- ja terveysministeriö (2025) HTP-arvot 2025: Haitallisiksi tunnetut pitoisuudet. Sosiaali- ja terveysministeriön julkaisuja 2025:4.
<<https://urn.fi/URN:ISBN:978-952-00-4229-5>>
- Stiernagle, T. (2006) Maintenance of *C. elegans* Teoksessa WormBook: the online review of *C. elegans* biology. WormBook 2005–2018. Pasadena, California.
- Strayer, A., Wu, Z., Christen, Y., Link, C.D., Luo, Y. (2003). Expression of the small heat-shock protein *Hsp16-2* in *Caenorhabditis elegans* is suppressed by Ginkgo biloba extract EGb 761. *Federation of American Societies for Experimental Biology* 17 (15), s. 2305–2307. <<https://doi.org/10.1096/fj.03-0376fje>>
- Suder Egnot, N., Allen, H., Hazan, R., Vater, M.F., Denic-Roberts, H., LeClaire, R., Marsh, G.M. (2023). Systematic review of epidemiological studies evaluating the association between exposure to man-made vitreous fibers and non-malignant respiratory diseases. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 139.
<<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2023.105361>>
- Suomen Kuntaliitto ry (2023). Selvitys: Kuntien kiinteistöjen sisäilman tilanne on kohentunut. Terveiden ja hyvinvoinnin laitoksen sekä Kuntaliiton kyselytutkimus, Salmela A., Mäntynen, K. <<https://www.kuntaliitto.fi/ajankohtaista/2023/selvitys-kuntien-kiinteistojen-sisailman-tilanne-kohentunut>> [luettu 26.1.2026].
- Thatcher, T.L. ja Layton D.W. (1995). Deposition, resuspension, and penetration of particles within a residence. *Atmospheric Environment*, 29 (13), s. 1487–1497,
<[https://doi.org/10.1016/1352-2310\(95\)00016-R](https://doi.org/10.1016/1352-2310(95)00016-R)>
- Terveysturvallisuuslaki 763/1994. <<https://www.finlex.fi/fi/lainsaadanto/1994/763>> [luettu 11.3.2026].

- THL - Terveyden ja hyvinvoinnin laitos (2023). Miten sisäilma vaikuttaa terveyteen? <[https://thl.fi/aiheet/ymparistoterveys/sisailma/miten-sisailma-vaikuttaa-terveyteen->](https://thl.fi/aiheet/ymparistoterveys/sisailma/miten-sisailma-vaikuttaa-terveyteen-) [luettu 20.5.2025].
- THL - Terveyden ja hyvinvoinnin laitos (2025). Katsaus: Kosteusvaurioiden aiheuttama riski terveydelle ei selity mikrobeilla. <<https://thl.fi/-/katsaus-kosteusvaurioiden-aiheuttama-riski-terveydelle-ei-selity-mikrobeilla>> [luettu 20.4.2026].
- Thriene, B., Sobottka, A., Willer, H., Weidhase, J. (1996). Man-made mineral fibre boards in buildings—Health risks caused by quality deficiencies. *Toxicology Letters* 88 (1–3), s. 299–303. <[https://doi.org/10.1016/0378-4274\(96\)03764-5](https://doi.org/10.1016/0378-4274(96)03764-5)>
- Tsunoda, M., Kido, T., Mogi, S., Sugiura, Y., Miyajima, E., Kudo, Y., Kumazawa, T., Aizawa, Y. (2014). Skin irritation to glass wool or continuous glass filaments as observed by a patch test among human Japanese volunteers. *Industrial Health* 52 (5), s. 439-44. <<https://doi.org/10.2486/indhealth.2012-0222>>
- Tuomi T., Wallenius K., Mahiout S., Rautiala S., Lappalainen S. (2020). Teolliset mineraalikuidut toimistotyypisissä työtiloissa: esiintyminen, altistumisen arviointi, terveysvaikutukset ja päästöjen hallinta, 59 sivua. Työterveyslaitos, Helsinki.
- Tukes - Turvallisuus- ja kemikaalivirasto (n.d.). Nanomateriaalit. <<https://tukes.fi/kemikaalit/nanomateriaalit>> [luettu 8.4.2025].
- Turves, E., Koskinen, V., Koskinen, P.J. (2025). Sisäilmassa esiintyvien mineraalikuitujen kerääminen syklonisella ilmankeräimellä. *Rakennusfysiikka 2025: Uusimmat tutkimustulokset ja hyvät käytännön ratkaisut*. 28.–29.10.2025, Tampere. Seminaarijulkaisu 9, Osa 2, s. 501–506. Toim. Vinha, J. ja Thitz, U. Grano Oy.
- Työterveyslaitos (2005). Kemikaalit ja työ. Selvitys työympäristön kemikaaliriskeistä, 320 sivua. Toim. Pietikäinen, R. Vammalan kirjapaino Oy, Helsinki.
- Työterveyslaitos (n.d.). Näytteenotto-ohjeet, kuitunäytteen ottaminen teippimenetelmällä. Teolliset mineraalikuidut.

<<https://www.ttl.fi/palvelut/laboratoriopalvelut/naytteenotto-ohjeet/kuitunaytteenottaminen-teippimenetelmalla>> [luettu 12.2.2025].

United States Geological Survey (2005). Anthophyllite asbestos. Denver microbeam laboratory, Georgia. <<https://www.usgs.gov/media/images/anthophyllite-asbestos-0>> [luettu 20.4.2026].

Valvira - sosiaali- ja terveysalan lupa- ja valvontavirasto (2016). Asumisterveysasetuksen soveltamisohje 8/2016, osa 3, dnro 2731/06.10.01/2016, päivitetty 3.5.2024. <<https://lvv.fi/documents/242146171/253121334/Asumisterveysasetuksen-soveltamisohje-osa-3.pdf/1d36a761-abad-7dc6-ad99-d1e033d48836?t=1767017437498>> [luettu 20.4.2026].

Wallenius, K., Hovi, H., Mahiout, S., Remes, J., Rautiala, S., Jokela, P., Leino, K., Liukkonen, T. (2021). Haihtuvat orgaaniset yhdisteet toimistotyypisissä työympäristöissä: päästölähteet, mittausmenetelmät, pitoisuustasot ja terveysvaikutukset, 36 sivua. Työterveyslaitos, Helsinki.

Westermarck, M. ja Iittiläinen, H. (2023). Vähähiiliset ja luonnonmukaiset rakennustuotteet ja niiden käyttöpotentiaali. *Puuinfo* 31.5.2023 <<https://puuinfo.fi/2023/05/31/vahahiiliset-ja-luonnonmukaiset-rakennustuotteet-ja-niiden-kayttopotentiaali/>> [luettu 20.4.2026].

WHO – Maailman terveysjärjestö (1982). Biological effects of man-made mineral fibres, Raportti WHO:n/IARC:n kokouksesta 20.–22.4.1982. EURO Reports and studies 81, Kööpenhamina.

WHO – Maailman terveysjärjestö (2009). WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould. World Health Organization, Geneva.

Williams, R.T. (1959). Detoxification Mechanisms: The metabolism and detoxification of drugs, toxic Substances and other organic compounds, 2. painos, laajennettu, Chapman & Hall Ltd, Lontoo.

- Yang, F., Moss, L., Phillips, G. (1996). The molecular structure of green fluorescent protein. *Natural Biotechnology* 14, 1246–1251 <<https://doi.org/10.1038/nbt1096-1246>>
- Yang, W., Wang, L., Mettenbrink, E.M., DeAngelis, P.L., Wilhelm, S. (2021). Nanoparticle Toxicology. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 61, 269–289. <<https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-032320-110338>>
- Yhdysvaltain terveysministeriö (2004). Toxicological profile for synthetic vitreous fibers. Public health service agency for toxic substances and disease registry. <<https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp161.pdf>> [luettu 20.4.2026].
- Yhdysvaltain ympäristönsuojeluvirasto (2016). Yhteenveto pohjautuen viraston julkaisuihin Integrated risk information system (IRIS), the agency for toxic substances and disease registry's (ATSDR's) toxicological profile for synthetic vitreous fibers, ja NTP:n Report on carcinogens, 13. painos. <<https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-10/documents/fine-mineral-fibers.pdf#:~:text=effects%20of%20fine%20mineral%20fibers,Acute%20inhalation%20exposure>> [luettu 20.4.2026].
- Yhdysvaltain ympäristönsuojeluvirasto (2025). Monitoring by control technique – cyclone. <<https://www.epa.gov/air-emissions-monitoring-knowledge-base/monitoring-control-technique-cyclone?utm>> [luettu 8.5.2025].
- Ympäristöhallinnon verkkopalvelu (n.d.). Rakennusmateriaalien tietopankki. Mineraalivillat; lasivilla, vuorivilla eli kivivilla sekä kuona ja silikaattivilla. <<https://www.ymparisto.fi/fi/rakennettu-ymparisto/ekotehokas-rakentaminen/kiinteistojen-yllapito-ja-korjaaminen/rakennusmateriaalien-tietopankki/mineraalivillat-lasivilla-vuorivilla-eli-kivivilla-seka-kuona-ja-silikaattivilla>> [luettu 23.5.2025].
- Ympäristöministeriö (2020). Pitkän aikavälin korjausrakentamisen strategia 2020–2050, Suomi. Rakennusten energiatehokkuusdirektiivin (2010/31/EU), muutettuna direktiivillä 2018/844/EU, artiklan 2a mukainen ilmoitus.

Ympäristöministeriö (2023). Asbestin käyttö rakennuksissa: Nykytilan kartoitus. Terveet tilat 2028. 37 sivua.

<<https://tilatjaterveys.fi/documents/39510712/92619288/Asbestin+k%C3%A4ytt%C3%B6+rakennuksissa+-+Nykytilan+kartoitus.pdf/>> [luettu 20.4.2026].

Zukowska, D., Rojas, G., Burman, E., Guyot, G., Bocanegra-Yanez, M. del C., Laverge, J., ... Kolarik, J. (2021). Ventilation in low energy residences – a survey on code requirements, implementation barriers and operational challenges from seven European countries. *International Journal of Ventilation*, 20 (2), s. 83–102.

<<https://doi.org/10.1080/14733315.2020.1732056>>

Liitteet

Liite 1, NGM-maljojen valmistus

Ohjeella valmistetaan 40–50 maljaa. Mitataan litran Duran-pulloon NaCl 3,0 g, agar 17,0 g, peptoni tai tryptoni 2,5 g ja ddH₂O 975 ml. Autoklavoidaan ja annetaan jäähtyä noin 55°C. Lisätään 1M CaCl₂ 1 ml, kolesteroli (5 mg/ml in EtOH) 1 ml, 1M MgSO₄ 1 ml ja 1M KPO₄ puskuri, pH 6,0, 25 ml. Sekoitetaan varovasti käännellen, välttäen kuplien muodostamista. Kaadetaan 20–25 ml/malja. Annetaan kuivua huoneenlämmössä 2–3 päivää ennen bakteerisuspension lisäämistä. Kuivuneita maljoja säilytetään +4 °C lämpötilassa.

Liite 2, OP-50 bakteerisuspension valmistus ja NGM-maljalle lisääminen

500 ml:n Erlenmeyer-pulloon kaadetaan 200 ml Luria-Bertani-kasvatusliuosta. Lisätään 200 µl OP-50-kantaa glyserolissa (1:1000, ilman antibiootteja). Jos käytetään streptomysiiniresistenttiä OP-50-1-kantaa, lisätään myös streptomysiiniä (1:1000, 50 mg/ml:n kantaliuoksesta).

Bakteeriviljelmää kasvatetaan 37 °C lämpötilassa yön yli 14–16 tuntia. Tämän jälkeen bakteerisolut kerätään 50 ml sentrifugiputkiin ja sentrifugoidaan 4000 rpm 10 minuutin ajan. 45 ml supernatanttia poistetaan ja jäljelle jäänyt 5 ml resuspendoidaan vorteksoimalla tai pipetoimalla yhteen putkista. Viljelmästä jaetaan 250 µl eriä NGM-maljoille ja annetaan bakteerien kasvaa maljoilla huoneenlämmössä 2–3 päivää ennen niiden siirtämistä +4 °C lämpötilaan.

Liite 3, Sykloninäytteiden biomonitorointi *C. elegans*-GFP-reportterikannoilla opetuksessa: fluoresenssin muutos näytteissä ennen näytteenottotilan homesiivousta ja sen jälkeen

