

# **Elintarvikkeiden lisäaineet lukion kemian opetuksessa**

Pro gradu tutkielma  
Jyväskylän yliopisto  
Kemian laitos  
Opettajankoulutuslinja  
24.9.2007  
Harri Niemi

## Tiivistelmä

Niemi, Harri Jaakko Hermanni. Pro gradu tutkielma: Elintarvikkeiden lisäaineet lukion kemian opetuksessa. Jyväskylän yliopisto, kemian laitos, opettajankoulutuslinja. 24.9.2007. Asiasanat: kemia, opettaminen, lukio, elintarvikkeiden lisäaineet, lisäaineanalytiikka

Pro gradu-tutkielmassa asetettiin pääpaino lisäaineanalytiikkaan liittyville laboratoriotöille. Työohjeita etsittiin lukiossa käytössä olevista oppikirjoista sekä tieteellisestä kirjallisuudesta. Lisäksi tutkittiin 12 lukion kemian oppikirjaa etsien viitteitä elintarvikkeiden lisäaineisiin. Kaikki löydetyt viitteet kirjattiin ylös.

Laboratoriotöissä tutkittiin makeutusainetabletin aspartaamipitoisuutta, kuivattujen hedelmien sulfiittipitoisuutta, tankoparsasäilykkeen sitruunahappopitoisuutta ja mehujen askorbiinihappopitoisuutta sekä tehtiin ohutlevykromatografiaan liittyvä työ elintarvikväreillä. Työt testattiin laboratoriossa ja kirjattiin havainnot ja tulokset ylös, sekä muokattiin työohjeet oppilaille sopiviksi.

Lukion opetussuunnitelmassa ei lisäaineista erikseen mainintaa todettu löytyvän, mutta on oletettavaa, että lisäaineiden kemia kuuluu lukio-opetukseen. Oppikirjoissa viitteitä lisäaineisiin todettiin olevan jonkin verran, lähinnä irrallisina esimerkkeinä.

Yleistä tietoa lisäaineista etsittiin luotettaviksi katsotuista kirjoista ja virallisten tahojen www-sivuilta: Elintarviketurvallisuusvirasto, Kuluttajavirasto, Euroopan Unionin www-sivut.

## **Esipuhe**

Elintarvikkeissa on nykyään varsin paljon lisäaineita. Lisäaineet on usein nimetty niiden kemiallisen nimen mukaan. Se saa ihmiset suhtautumaan niihin usein hieman pelokkaasti ja usein jopa vastenmielisesti. Siitä syystä lisäaineista olisi syytä jakaa valistavaa tietoa. Lukio on yleissivistävä oppilaitos. Tieto elintarvikekemiasta ja elintarvikkeiden lisäaineista sisältyy yleissivistykseen.

Lähdin tutkimaan aihetta puhtaasti omasta mielenkiinnosta. Ehkäpä eniten mieltä askarrutti lisäaineiden turvallisuus. Esimerkeiksi otin omasta mielestäni mielenkiintoisimpia lisäaineita, aspartaamin, atsovärit, rikkihapokkeen ja nitraatit sekä nitriitit. Lisäksi halusin ottaa selvää mitä lukion oppikirjoissa lisäaineista kerrotaan, ja pohtia miten ja miksi aihetta voisi tuoda opetukseen.

Tahdon kiittää kärsivällistä pro gradu-työni ohjaajaa ja toista tarkistajaa. Lisäksi tahdon kiittää lukion kirjojen kustantajia, Tammea ja WSOY:tä jotka lähettivät näytekirjoja tutkittavaksi.

## Sisällys

<b>TIIVISTELMÄ</b> .....	<b>I</b>
<b>ESIPUHE</b> .....	<b>II</b>
<b>1 JOHDANTO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 LUKION KEMIAN OPETUS JA ELINTARVIKKEIDEN LISÄAINEET</b> .....	<b>3</b>
2.1 LUKION OPETUSSUUNNITELMA .....	3
2.2 ELINTARVIKKEIDEN LISÄAINEET LUKION KEMIAN OPPIKIRJOISSA .....	4
2.2.1 Mooli-kirjasarja .....	4
2.2.2 Neon-kirjasarja.....	5
2.2.3 Kide-kirjasarja .....	6
2.2.4 Kemisti-kirjasarja.....	6
2.2.5 Reaktio-kirjasarja.....	7
2.2.6 Yhteenveto tarkastelluista lukion kemian kirjoista.....	8
<b>3 LISÄAINEIDEN TURVALLINEN SAANTITASO JA ADI-ARVO</b> .....	<b>9</b>
<b>4 LISÄAINERYHMÄT</b> .....	<b>10</b>
4.1 AROMINVAHVENTEET.....	10
4.2 AROMIT .....	10
4.3 EMULGOINTIAINEET .....	11
4.4 ENTSYYMIT .....	11
4.5 HAPETTUMISEN ESTOAINET .....	11
4.6 HAPOT .....	12
4.7 HAPPAMUUDEN SÄÄTÖAINET .....	12
4.8 HYYTELÖIMISAINET .....	12
4.9 JAUHONPARANTEET.....	12
4.10 KANTAJA-AINEET .....	12
4.11 KIINTEYTTÄMISAINET.....	12
4.12 KOMPLEKSIINMUODOSTAJAT .....	13
4.13 KOSTEUDENSÄILYTTÄJÄT.....	13
4.14 MAKEUTUSAINET .....	13
4.15 MUUNNETUT TÄRKKELYKSET .....	14
4.16 NOSTATUSAINET .....	14
4.17 PAAKKUUNTUMISEN ESTOAINET .....	14
4.18 PAKKAUSKAASUT.....	14
4.19 PINTAKÄSITTELYAINET.....	15
4.20 PONNEAINET .....	15
4.21 SAKEUTTAMISAINET.....	15
4.22 STABILOINTIAINEET .....	15
4.23 SULATESUOLAT.....	15
4.24 SÄILÖNTÄAINET.....	15
4.25 TÄYTEAINET .....	16
4.26 VAAHDONESTOAINET .....	16
4.27 VAAHDOTUSAINET .....	16
4.28 VÄRIAINET.....	16
<b>5 ELINTARVIKEVÄRIKROMATOGRAFIA</b> .....	<b>17</b>
5.1 TYÖN SUORITUS .....	18
5.1.1 Päätelmät tuloksista.....	21
5.1.2 Työn tulosten tarkastelu.....	22
<b>6 ATSOVÄRIAINET</b> .....	<b>23</b>

<b>7</b>	<b>ASPARTAAMI .....</b>	<b>26</b>
7.1	YLEISTÄ.....	26
7.2	ASPARTAAMIN KEMIAA .....	26
7.3	ASPARTAAMIN HAITOISTA .....	27
7.4	ASPARTAAMIPITOISUUDEN MÄÄRITYS PERKLOORIHAPPOTITRAUKSELLA .....	28
7.4.1	<i>Työn tulosten tarkastelu</i> .....	30
7.4.2	<i>Laskut</i> .....	30
<b>8</b>	<b>ASKORBIINIHAPPO.....</b>	<b>33</b>
8.1	ASKORBIINIHAPPOPITOISUUDEN, C-VITAMIININ, MÄÄRITYS TITRIMETRISESTI .....	33
8.1.1	<i>Työn suoritus</i> .....	35
8.1.2	<i>Työn tulosten tarkastelu</i> .....	36
8.1.3	<i>Laskut</i> .....	37
<b>9</b>	<b>SITRUUNAHAPPO.....</b>	<b>39</b>
9.1	SITRUUNAHAPPOPITOISUUDEN MÄÄRITYS .....	39
9.1.1	<i>Sitruunahappopitoisuuden määrittäminen puristetusta appelsiinimehusta ja tankoparsasäilykkeestä</i> .....	40
9.1.2	<i>Työn tulosten tarkastelu</i> .....	41
9.1.3	<i>Laskut</i> .....	41
<b>10</b>	<b>RIKKIHAPOKE JA SULFIITTIYHDISTEET.....</b>	<b>45</b>
10.1	RIKKIHAPOKKEEN JA SULFIITTIYHDISTEIDEN LISÄAINEKÄYTTÖ .....	45
10.2	RIKKIHAPOKKEEN TAI SULFIITIN MÄÄRITYS KUIVATUISTA HEDELMISTÄ .....	46
10.2.1	<i>Työn suoritus</i> .....	47
10.2.2	<i>Työn tulosten tarkastelu</i> .....	48
10.2.3	<i>Laskut</i> .....	48
<b>11</b>	<b>NITRAATIT JA NITRIITIT LISÄAINEINA .....</b>	<b>51</b>
<b>12</b>	<b>YHTEENVETO .....</b>	<b>53</b>
	<b>KIRJALLISUUS .....</b>	
	<b>LIITTEET .....</b>	

# 1 Johdanto

Nykyään lisäaineita käytetään ravinnossa melko monipuolisesti. Niillä parannetaan elintarvikkeiden ominaisuuksia. Tällainen monipuolinen käyttö on melko uutta. Lisäaineiden käyttö elintarvikkeissa juontaa juurensa tuhansien vuosien taakse. Lisäaineita on käytetty säilyvyyden ja ulkonäön parantamiseen. Ensimmäisiä viitteitä väriaineiden käytöstä löytyy 3000 vuoden takaa. Tuohon aikaan värit olivat lähinnä kasviperäisiä: sahamia, kurkumaa ja marjauutteita. Ruokasuolaa taas on opittu hyödyntämään jo 7000 vuotta sitten. Ruokasuolaa ei tosin enää nykyään katsota lisäaineeksi (Penttilä, P-L.1998).

Väriaineiden käyttö yleistyi 1800-luvulla. Luonnon väriaineiden lisäksi käyttöön otettiin hyvinkin myrkyllisiä yhdisteitä. Värjäämisen ensisijainen tarkoitus oli tehdä tuotteista houkuttelevamman näköisiä. Tuotteita jopa suorastaan värennettiin värien avulla. Värjäämiseen saatettiin käyttää jopa tappavan myrkyllisiä lyijy-, kupari, ja elohopeasuoloja. 1900-luvun alusta lähtien niin elintarvikevärien kuin muidenkin lisäaineiden käyttöä on alettu valvoa lainsäädännöllä. (Penttilä, P-L. 1983)

Säilyvyyden parantaminen lienee ollut tärkein lisäaineiden käyttötarkoitus. Suolan lisäksi vanhoja säilöntämenetelmiä on ollut mm. orgaanisiin happoihin säilöminen. Bakteerit eivät kykene lisääntymään, kun pH-arvo laskee alle 4. Homeet ja hiivat eivät kykene lisääntymään alle pH-arvon 2 (Häikiö, I. 2000). Orgaaniset hapot antavat lisäksi niille ominaisen kirpeän maun. Orgaanisten happojen säilövä vaikutus ei perustu ainoastaan niiden happoluonteeseen ja happamuutta lisäävään vaikutukseen, vaan orgaanisen molekyylin muotoon ja molekyylin sekä mikro-organismien väliseen vuoro-vaikutukseen (Louekari, K. 1994).

Salpietari eli kalium-, natrium- ja kalsiumnitraatit on myöskin vanha lisäaine. Jo keskiajalla salpietaria käytettiin suolan ohella lihan säilöntään. Nitraatit estävät vaarallisten, ennen kaikkea erittäin vaarallisten *clostridium botulinium* – bakteerien lisääntymisen. *C. botulinium* on bakteeri, joka tuottaa erittäin myrkyllistä botuliini-toksiinia. Nitraatit lisäksi auttavat lihaa säilyttämään kauniin punaisen värin.

Nykyisin suuri osa elintarvikkeista valmistetaan teollisesti. Teollisuudessa elintarvikkeiden laatua, säilyvyyttä, makua, väriä ja muita ominaisuuksia pyritään parantamaan käyttämällä lisäaineita. Lisäaineen käyttö on sallittua, jos siitä on jotain perusteltua hyötyä. Voitaisiin sanoa, että elintarviketeollisuus ei yleensä voi ilman lisäaineita tuottaa valmisteita, jotka täyttävät elintarvikelainsäädännön vaatimukset.

Lisäaineet ovat hyvin heterogeeninen ryhmä kemiallisia yhdisteitä. Osa saadaan sellaisenaan eristämällä luonnosta ja osa valmistetaan synteettisesti. Suuri osa syntetisoiduista lisäaineista on samoja kuin mitä luonnossa, esim. bentsoehappo, etikka-happo ja glutamaatit.

Jokainen meistä saa ravinnosta melko runsaasti lisäaineita. Lisäaineiden terveysvaikutuksista kiistellään jatkuvasti. Voidaan kuitenkin sanoa, että lisäaineet osaltaan takaavat korkean elintason. Säilöntäaineet estävät ruuan mikrobiologista tai kemiallista pilaantumista, ja näin ollen suojelevat terveyttämme ja pienentävät kustannuksia. Osa lisäaineista taas parantaa elintarvikkeen rakennetta esimerkiksi homogenisoimalla seoksen. Kananmuna tekee kotileivonnassa taikinoista homogeenistä. Voidaan puhua emulgointiaineesta. Taikinasta muodostuu pysyvä emulsio kananmunan avulla. Kananmuna ei ole lisäaine. Teollisuudessa on monestakin syystä, mm. kustannukset, säilyvyys, järkevää käyttää samaan tarkoitukseen muita, lisäaineiksi luokiteltavia emulgointiaineita, mm. kasviperäistä soijalesitiiniä.

Käytössä olevia lisäaineita on tutkittu paljon, ja ne on todettu sen hetkisen tietämyksen valossa turvallisiksi. Eräät lisäaineet aiheuttavat kuitenkin haittoja tietyille väestön osille. Kuten lähes mille tahansa, voi jollekin lisäaineellekin olla allerginen. Säilöntäaine-bentsoehapolle ja sen johdoksille on moni allerginen. Monien lisäaineiden käyttö on kuitenkin ilman allergiavaikutustakin hieman kyseenalaista. Uusissa tutkimuksissa jokin täysin turvallisena pidetty lisäaine voi osoittautua haitalliseksi. Tällainen aine on mm. hyvin yleisesti käytössä oleva makeutusaine aspartaami. Viimeaikoina on todettu aspartaamin aiheuttavan eläinkokeissa syöpää (Soffiritti, M. 2005, sekä Soffiritti, M. 2007). Aiemmin aspartaamin on todettu lisäävän mielialaongelmia masennuspotilaille (Walton, R., 1993)

## 2 Lukion kemian opetus ja elintarvikkeiden lisäaineet

### 2.1 Lukion opetussuunnitelma

Opetussuunnitelmassa ei suoranaisesti elintarvikkeiden lisäaineita mainita, mutta löytyy kohta, jossa sanotaan: ”Kemian opetuksen tavoitteena on, että opiskelija osaa kemian keskeisimmät peruskäsitteet ja tietää kemian yhteyksiä jokapäiväisen elämän ilmiöihin sekä ihmisen ja luonnon hyvinvointiin.” Tähän tavoitteeseen voidaan ajatella elintarvikkeiden lisäaineita koskevan opetuksen kuuluvan. Lisäksi sanotaan: ”Opetus auttaa ymmärtämään jokapäiväistä elämää, luontoa ja teknologiaa sekä kemian merkitystä ihmisen ja luonnon hyvinvoinnille tutkimalla aineita, niiden rakenteita ja ominaisuuksia sekä aineiden välisiä reaktioita.” Opetussuunnitelmassa ei siis suoranaisesti vaadita lisäaineista opettamista, mutta väistämättäkin jokapäiväiseen elämään liittyvänä kemiana niistä varmasti jotain oppikirjoissakin kerrotaan.

Koska saamme ravinnostamme lisäaineita käytännössä päivittäin, on lisäaineiden kemia keskeinen osa jokapäiväisen elämän kemiaa. Lukiolaisenkin on syytä miettiä, ovatko kaikki lisäaineet todella vaarattomia, ja onko niiden käytöstä saatava hyöty riittävän suuri haittoihin nähden. Onko makeisen houkutteleva ulkonäkö riittävän hyvä syy haittalliseksi todettujen (Rowe, KS., 1994) atsoväriä käyttölle.

Lukiokirjoissa käsitellään jonkin verran lisäaineisiin liittyvää analytiikkaa. Monien lisäaineiden pitoisuuksien määrittäminen tai kvalitatiivisia osoitusreaktiota ravinnosta on verrattain yksinkertaista suorittaa koululaboratorioissa. Perusmenetelmiksi soveltuvat perinteiset titraukset. Titraus on kemian perusanalyysimenetelmä, jonka on hyvä tulla tutuksi jossain käytännön elämän aihealueessa. Hyviksi esimerkeiksi titrauksista on tähän pro gradu-tutkimukseen valittu C-vitamiinipitoisuuden määrittäminen jodometrisellä titrauksella, sulfiitin ja rikkihapokkeen määrittäminen kuivatuista hedelmistä, sitruunahappopitoisuuden määrittäminen happo-emästitrauksella ja aspartaamipitoisuuden määrittäminen titrimetrisesti. Toisenlaisena työnä esitellään elintarvikkeiden väriä tutkimaan ohutlevykromatografialla (Lehtiniemi, K., 2005).

Näissä töissä tutustutaan erityyppisiin, mutta melko yleisiin ja arkipäiväisiin lisäaineisiin. Monien lisäaineiden analytiikka on liian vaativaa lukiotasolle, ja koska lisäaineet ovat hyvin heterogeeninen aineryhmä, joten niiden analytiikkaankin mahtuu laaja kirjo



eri menetelmiä. Lisäaineanalytiikassa käytetään nykyisin paljon korkean erotuskyvyn nestekromatografiaan perustuvia menetelmiä ja spektrometriaa (Mattila, P., 2001).

## ***2.2 Elintarvikkeiden lisäaineet lukion kemian oppikirjoissa***

Eniten lisäaineasiaa voisi olettaa olevan pakollisen kemian kurssin, elämän kemian, kirjoissa, ja jonkin verran myös muiden, syventävien kurssien kirjoissa. Tarkasteluun otettiin mukaan seuraavat viisi käytössä olevaa kirjasarjaa:

- Mooli 1-3
- Kemisti 1 ja 3
- Kide lukion kemia 1 ja 2
- Neon, 1-3
- Reaktio, 1 ja 2

### **2.2.1 Mooli-kirjasarja**

Mooli-kirjasarjassa, lähinnä Mooli 1-kirjassa, on tarkasteltavista oppikirjoista ehkäpä eniten viittauksia lisäaineisiin. Ilmeisesti tarkoituksella Mooli-kirjasarjaan on otettu mukaan paljon syventävää lisätietoa eri arjen kemian asioista. Mooli 1:ssä löytyy suoranaisia viittauksia lisäaineisiin: Puhutaan leivinjauheesta lisäaineena (s.19 ja 31), ja tehtävässä (s.19) tarkastellaan leivinjauheen komponenttien E-koodeja. Elintarvikevärien ohutlevykromatografista tunnistamista kirjassa kerrotaan useankin otteeseen (s.44 ja 155). Samaan aiheeseen liittyvä laboratoriotyö (s.155), jota tämän pro gradun yhteydessä on tarkasteltu, on peräisin Mooli 1:stä. Synteettisiä makeutusaineita, aspartaamia, asesulfaami-K:a ja sakariinia vertaillaan kirjan tekstissä sokereihin (s.128). Rakennekaavat niille myöskin esitetään. Aspartaamiin liittyvä tehtävä on kirjassa mainittu (s.145). Ksylimolista puhutaan luettelon yhteydessä (s.22). Ksylimolista on myös tehtävä (s.125). Eräässä kirjan tehtävässä (s.122) pitäisi päätellä, että etaanihapon protolyysi ja etikkasäilykkeiden happamuus liittyvät yhteen. Laboratoriotyössä (s.163) määritellään etikkahappopitoisuutta talousetikasta. Kirjassa mainitaan viinien lisä-aineista (s.129). Nitraateista, nitriiteistä lisäaineina sekä nitrosoamiineista kirjassa on valistuksen omaista kerrontaa (s.147). Karboksyylihapoista ja niiden käytöstä säilöntäaineena kirjassa myöskin mainitaan (s.115). Pohdintatehtävässä (s.18) pohditaan Coca Colan koostumusta. On oletettavaa, että tehtävässä tulisi pohtia ennen kaikkea Coca Colan lisäainei-

ta. Erilaisista lisäaineina käytetyistä aromiaineista on hajanaisia mainintoja: kanelialdehydi ja vanilliini (s. 106), bentsaldehydi ja sen hapettuminen bentsoehapoksi (s.109), päärynäesanssitehtävä (s.122). vanilliini ja anisaldehydi- tehtävä (s.123), esansseja- tehtävä (s.124). Hedelmäesterisynteesi esitellään kirjassa laboratoriotyönä (s.166). Toisin kirjassa näitä esansseja tarkastellaan enemmänkin tuoksuina kuin makuina, mutta kuitenkin näitä käytetään aromiaineina elintarvikkeissa. Aromiaineista näyttäisi olevan runsaasti mainintoja myös muissa kirjasarjoissa.

Oppikirjassa Mooli 2 suoranaista lisäaineasiaa on melko niukasti: Kirjassa on päärynän makuiseen esanssiin liittyvä tehtävä (s.70). Saman tehtävän b-kohdassa puhutaan säilöntäaine-bentsoehaposta ja sen natriumsuolasta. Piparmintun makuinen esanssi, L-karvoni ja kuminan makuinen D-karvoni mainitaan eräässä kirjan tehtävässä (s.114). Aromiainementoli mainitaan toisessa tehtävässä (s.117). Mooli 1:ssä mainittu elintarvikevärökromatografia-työ otetaan uudelleen esille Mooli 2:ssa (s.142).

Oppikirjassa Mooli 3 on seuraavia mainintoja: Pohditaan leivinjauheen toimintaa (s.12). Samalla sivulla toisessa tehtävässä pohditaan miksi elintarvikkeiden joukkoon lisätään antioksidanteja, hapettumisenestoaineita. Leivinjauheen hajoamisesta on esimerkki (s. 55). Ruokasoodan hajoamista taas pohditaan tehtävässä (s.69). Kuivattujen hedelmien sisältämästä rikkihapokkeesta on maininta esimerkissä (s.22). Tämän pro gradu-tutkielman yhteydessä on työ, jossa rikkihappopitoisuus määritetään kuivahedelmistä: katso liite 5. Aspartaamin esterihydrolyysiä käsitellään tehtävässä (s.72). Kirjassa on ruokasuolapitoisuuden määrittäminen -laboratoriotyö. Ruokasuolaa ei enää katsota lisäaineeksi, mutta on katsottu vielä jokin aika sitten (Penttilä, P-L., 1998). Hedelmäesterisynteesin ohje on myös kirjassa laboratoriotyönä (s.125).

### **2.2.2 Neon-kirjasarja**

Neon-sarjassa on tarkasteltavista kirjasarjoista niukimmin mainintoja lisäaineista. Kirjassa Neon 1 kerrotaan säilöntäaineista tieteenala-kemian esittelyn yhteydessä (s.6). Kirjan eräässä kuvassa (s.22) on elintarvikepakkauksen tuoteselosta, jossa näkyy selvästi lisäaineita E-koodeineen. Ksylimulista ja sorbitolista makeutusaineina puhutaan esimerkissä (s.91). Alkoholijuomista puhutaan terveystieteiden omaisesti (s.95). Siinä yhteydessä on pieni maininta alkoholijuomien lisäaineista. Kirjassa on maininta bentsoehaposta ja sen suoloista säilöntäaineena (s.102). Hedelmäestereistäkin on maininta

(s.106), mutta enemmän tuoksuvina yhdisteinä kuin makuina. Kirjaan on otettu mukaan klassinen esterisynteesi-laboratoriotyö (s.133).

Oppikirjassa Neon 2 mainintoja lisäaineista on muutama: Kaliumjodidia kerrotaan käytettävän ruokasuolan lisäaineena (s.46). Elintarvikkeen lisäaineesta ei kuitenkaan varsinaisesti ole kysymys. Esimerkissä (s.51) kerrotaan, että typeä käytetään eräiden elintarvikepakkausten suojakaasuna. Liponeeni ja mentoli mainitaan aromiaineina (s.123). Tässä kirjassa ruokasuolapitoisuuden määrittäminen tehdään makkarasta (s.170).

Oppikirjassa Neon 3 on tehtävä (s.16), joka liittyy karvonin, erään aromiaineen isomeeriaan. Säilönnästä ja säilöntäaineista on aukeaman verran asiaa (ss.78-79). Kirjassa kerrotaan rikkiyhdisteiden estävän homeiden kasvua (s. 86).

### **2.2.3 Kide-kirjasarja**

Kirjassa Kide 1 puhutaan orgaanisista hapoista säilöntäaineina, erityisesti bentsoehaposta ja sen johdoksista (s.39). Bentsoehaposta on toinenkin maininta (s.94). Alkoholi-juomien lisäaineista kirja myös mainitsee (s.82). Kirjassa kerrotaan etikkahapon käytöstä säilöntäaineena ja mausteena (s.93). Kirjassa on etikkahappopitoisuuden määrittäminen (s.124). Estereistä esansseina kirja myöskin mainitsee (s. 96). Eräissä kuvatekstissä ohimennen mainitaan makeutusaineista (s.114).

Kide 2-kirjassa mainitaan antioksidanteista elintarvikkeissa (s.16). Kirjassa esitellään EDTA:n, etyleenidiamiinitetra-asetatin, käyttöä antioksidanttina elintarvikkeissa (s. 34). Samalla sivulla olevassa kuvassa salaattinastikepullon etiketissä näkyy maininta muistakin lisäaineista E-koodeineen. Kirjassa esitellään laboratoriotyönä metyyllisylisylaatin valmistus (s.90). Metyylisylisylaatti on hedelmäesteri. Sitä voidaan käyttää aromiaineena. Kirjassa on myös elintarvikevärinkromatografiatyö (s.93), tosin hieman toisenlaisena kuin Mooli-sarjassa.

### **2.2.4 Kemisti-kirjasarja**

Kemisti-kirjasarjassa mainintoja on niukasti: Oppikirjassa Kemisti 1 mainitaan makeutusaineet ksylitoli ja sorbitoli (ss.48-49). Glyserolin käytöstä elintarvikkeissa on maininta samalla sivulla. Orgaanisista hapoista säilöntäaineina kirjassa myöskin mainitaan

(s.50). Lisätieto-laatikossa puhutaan hapettumisen estämisestä ja myös elintarvikkeiden hapettumisen estoaineista (s.73). Kirjassa on kuva mittalasista, jossa on kerroksittain elintarvikeväreillä erivärisiksi värjättyjä sokeriliuoksia kuvaamassa liukoisuuskäsitettä (s.98). Esimerkki tuo tutuksi elintarvikevärejä.

Kirjassa Kemisti 3 on työohje ruokasoodan puhtauden määrittämisestä (s.24 ja 116). Kirjassa on maininta estereistä aromiaineina (s.73). Eräässä tehtävässä (s.83) käsitellään vanilliinia. Tässäkin oppikirjassa on maininta alkoholijuomien lisäaineista (s.99).

### **2.2.5 Reaktio-kirjasarja**

Reaktio-kirjasarjassa viitteitä lisäaineisiin on jonkin verran. Oppikirjassa Reaktio 1 mainitaan esimerkissä kofeiini (s.33) lisäainekäytössä. Tässäkin kirjassa on maininta etikasta (s.36). Ksylitoli otetaan esille kahteen otteeseen (s.39, 98). Eräässä tehtävässä käsitellään aspartaamia, ruokasoodaa, ruokasuolaa säilöntäaineena, etikkaa ja sitruunahappoa (s.40). Makeutusaine syklimaatti mainitaan toisessa tehtävässä (s.42). Sitruunahappo mainitaan esimerkissä (s.6). Eräässä tehtävässä (s.75) puhutaan aromiaineista, vaikkakin taas enemmän hajuina. Samalla sivulla esitellään aspartaamiin liittyvä tehtävä. Kirjassa esitellään toinenkin aromiaineisiin liittyvä tehtävä (s.91). Tässäkin kirjassa mainitaan karboksyylihappojen esittelyn yhteydessä niiden käytöstä säilöntäaineena (ss.104-105). Kuvatekstissä kerrotaan antioksidanttien käytöstä hedelmien tummumisen ehkäisemiseen (s.124). Antioksidanteista on myöskin maininta (s.126). Tehtävässä puhutaan säilöntäaine-sorbiinihaposta ja sen suoloista, sekä mainitaan E-koodit (s.136). Toisessa tehtävässä puhutaan glutamaateista aromivahventeina (s.137). Samalla sivulla on myös bentsoehappoon liittyvä tehtävä. Kirjan laboratoriotöissä syntetisoidaan kaneliaromia, kanelialdehydiä (s.147). Laboratoriotöissä on myös esterisynteesi (s.152).

Oppikirjassa Reaktio 3 esitellään massaspektrometriaa (s.29), ja esimerkkiyhdisteeksi on otettu aromiaineenakin tunnettu anisaldehydi. Kirjassa esitellään NMR-spektroskopiaa, ja esimerkkiyhdisteenä on anisaldehydi (s.123). Anisaldehydi esiintyy myös eräässä tehtävässä (s.53). Toisessa tehtävässä puhutaan syklimaateista ja toisessa samalla sivulla olevassa tehtävässä vanilliinista (s.33). Kanelialdehydistä löytyy maininta (s.59). Erään tehtävän yhteydessä on bentsaldehydin, karvasmantelin makuisen aromiaineen rakennekaava (s.83). Eräässä tehtävässä puolestaan käsitellään sitruunahappoa

(s.111), toisessa ruokaetikkaa (s.112). Aromiaineista puhutaan kahden sivun verran (ss.128-129).

### 2.2.6 Yhteenveto tarkastelluista lukion kemian kirjoista

Oppikirjoissa on melko paljon hajanaisia esimerkkejä lisäaineista. Tavallisimmin kerrotaan tietyn yhdisteryhmän esittelyn yhteydessä jostain siihen kuuluvasta lisäaineesta. Mukana on useasti lisäaineen rakennekaava. Tyypillisesti lisäaineista mainitaan jonkin tehtävän yhteydessä. Seuraavassa esimerkki:

”Natriumsyklamaatti on keinotekoinen kiinteä makeutusaine, joka on kolmekymmentä kertaa makeampaa kuin tavallinen ruokosokeri eli sakkaroosi. Ruuanvalmistuksessa annosteltavat määrät ovat muutaman gramman suuruusluokkaa, joten niitä ei voida punnita keittiöva’alla. Annostelun helpottamiseksi valmistetaan puoli litraa liuosta, jossa natriumsyklamaatin konsentraatio on 1,5 mol/l. Paljonko natriumsyklamaattia on punnittava? Natriumsyklamaatin kaava on  $C_6H_{12}NSO_3Na$ . ” (Kaila L., Reaktio 1 s.42)

Yhdessäkään tarkasteltavista kirjoista ei ollut erityistä kappaletta elintarvikkeiden lisäaineista, joskaan sellainen ei liene edes tarpeen. Sen sijaan suoranaista lisäaineanalytiikkaa oppilaille tarkoitetuissa laboratoriotöissä on jonkin verran. Kirjoissa on mainintoja lisäaineina käytetyistä yhdisteistä myös muissa, ehkä lisäainekäyttöä yleisimmissä asiayhteyksissä. Esim. etikkahappo on varsin yleisesti käytetty kemikaali eikä sen käyttö aina liity elintarvikkeisiin. Tällaiset maininnat lisäainekemikaaleista on jätetty tarkastelun ulkopuolelle.

Kirjantekijöiden mielestä lisäaineista kertominen sinällään ei liene keskeistä asiaa lukion kemian kurseissa, mutta jonkin verran niistä olisi syytä tietää. Lisäaineisiinhan törmää käytännössä joka päivä. Varmasti oppikirjoissa olevat esimerkit auttavat opiskelijaa ymmärtämään sen yhdisteryhmän kemian, jonka yhteydessä lisäaine on esimerkkinä, mutta esimerkiksi laajempi pohdintatehtävä lisäaineiden käytöstä ja mahdollisista haitoista hyötyihin verrattuna voisi olla paikallaan. Lukion tarkoitus on antaa yleissivistystä. Tieto lisäaineista varmasti lisää sitä. Lisäaineista mainitseminen juuri jonkin yhdisteryhmän yhteydessä auttaa oppijaa ymmärtämään yhdisteryhmän kemian käytännön tasolla, ja soveltaa tietoaan myös Johstonen kolmitasomallin (Gabel, D., 1999) mukaiselle mikrotasolle.

### 3 Lisäaineiden turvallinen saantitaso ja ADI-arvo

Lisäaineille on määritelty turvalliset saantitasot. Lisäaineen turvallisuutta arvioidaan samalla tavalla kuin kemikaalien turvallisuutta yleensä. Lisäaineet ovat vaan siitä poikkeuksellinen ryhmä, että niitä nautitaan sisäisesti ja lisätään ruokaan tarkoituksella. Turvallisuuden arvioinnissa perusteena on, ettei yksipuolisessakaan ruokavaliossa lisäaineesta aiheudu mitään terveysriskiä henkilön koko eliniän aikana.

Maailman terveysjärjestön, WHO:n lisäaineasiantuntijatyöryhmä, JECFA (Join Expert Committee on Food Additives) arvioi vuosittain lisäaineiden turvallisuutta tutkimusten perusteella. Komitea määrittää turvallisiksi katsomilleen lisäaineille ns. ADI-arvon. ADI-arvo (Acceptable Daily Intake) kertoo lisäaineen suurimman sallitun päivittäisen käyttömäärän milligrammoissa henkilön painokiloa kohden. ADI-arvon mukaisista lisäainemääristä ei katsota olevan henkilölle haittaa, vaikka henkilö saisi lisäainetta päivittäin koko elinikänsä ajan. Periaatteessa ADI-arvo on lainsäädännöllinen arvo, mutta yleensä ADI-arvon perustana on eläinkokeet, usein rottakokeet. ADI-arvo määritetään tällöin suurimmasta annoksesta, joka ei ole aiheuttanut mitään oireita tai muutoksia koe-eläimissä. Saatu arvo jaetaan turvallisuuskertoimella. Turvallisuuskertoimet ovat yksilöllisiä kullekin aineelle. Niistä päätetään asiantuntijoiden harkinnan mukaan. Turvallisuuskerroin on tavallisesti vähintään 100, mutta voi joskus olla jopa 10 000. Jos aineella todetaan tai on todettu haitallisia vaikutuksia koe-eläimissä, turvallisuuskerrointa suurennetaan. Ihmisten välillä on herkkyseroja lisäaineidenkin suhteen. Toinen tarvitsee esim. kymmenkertaisen annoksen kuin toinen saadakseen oireita. Samanlaisia eroja on myös koe-eläinten ja ihmisten välillä. (Penttilä P-L., 2000).

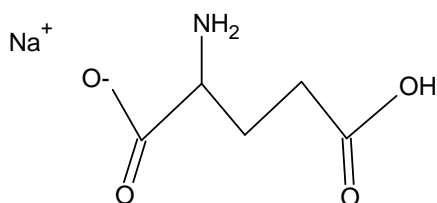
Euroopan elintarviketurvallisuusvirasto, EFSA on aloittanut kaikkien käytössä olevien lisäaineiden turvallisuuden uudelleen arvioimisen. Väriaineiden arviointi on vuorossa ensimmäisenä. Tavoitteena on saada ainakin väriaineiden turvallisuus uudelleen arvioidua vuoden 2007 aikana. (Finfood uutispalvelu, 2007).

## 4 Lisäaineryhmät

Lisäaineita käytetään erilaisiin tarkoituksiin: Taataan elintarvikkeen turvallisuus estämällä mikrobitoimintaa; muutetaan elintarvikkeen rakennetta esim. sakeuttamalla; parannetaan elintarvikkeen makua, hajua tai väriä; pyritään saamaan elintarvikkeen ravintoaineet säilymään (Penttilä, P-L., 2000). Lisäaineet on jaettu ryhmiin käyttötarkoituksensa mukaan. Seuraavassa on esitelty Suomessa käytössä oleva elintarvikelisiä aineiden luokitus. Kunkin ryhmän aineita käytetään elintarvikkeissa samaan tarkoitukseen, mutta saman ryhmän aineet eivät välttämättä ole kemiallisesti samankaltaisia. Pääosin luokittelu perustuu lainsäädäntöön.

### 4.1 Arominvahventeet

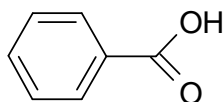
Arominvahventeilla korostetaan elintarvikkeen omaa makua tai tuoksua. Ne itsessään eivät anna uutta aromia. Käytetyin arominvahvenne on natriumglutamaatti (kuva 1)



Kuva 1. Natriumglutamaatti.

### 4.2 Aromit

Aromit ovat aineita, joilla muutetaan elintarvikkeen makua. Aromiaine voi olla luonnontuotteesta eristetty eli luontainen tai syntetisoitu. Syntetisoitu aromiaine voi olla luontaisen kaltainen, eli kemialliselta rakenteeltaan samanlainen, mitä luonnosta löytyy. Usein aromiaineet ovat eettereitä, ketoneita, aldehydejä, estereitä tai alkoholeja. Karvasmantelin makuinen bentsaldehydi on hyvä esimerkki luontaisen kaltaisesta aromiaineesta (kuva 2).



Kuva 2. Bensaldyhydi, karvasmantelin makuinen aromiaine.

### 4.3 Emulgointiaineet

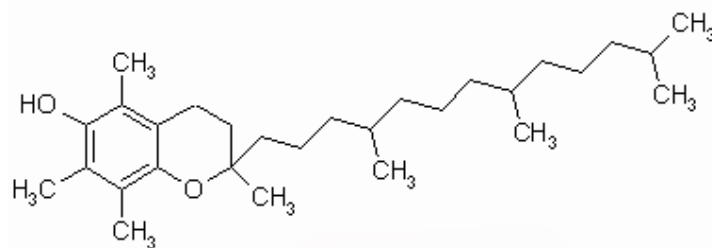
Emulgointiaine eli emulsionmuodostaja on aine, jota lisätään elintarvikkeeseen säilyttämään yhtenäisenä kaksi toisiinsa liukenematonta faasia, esim. rasva ja vesi. Emulgointiaineella tuotteen laatu ja rakenne pyritään pitämään tasaisena. Eräs tyypillinen emulgointiaine on soijalesitiini.

### 4.4 Entsyymit

Biologisia katalyyttejä kutsutaan entsyymeiksi. Elintarvikkeissa entsyymejä tarvitaan tuotteen värin, rakenteen ja maun takia. Niitä on elintarvikkeissa luonnostaan, mutta usein niitä myös lisätään. Esimerkiksi maidosta voidaan poistaa laktoosi lisäämällä siihen valmistusvaiheessa laktaasientsyymiä. Entsyymejä eristetään luonnon raaka-aineista tai tuotetaan mikrobien avulla.

### 4.5 Hapettumisenestoaineet

Hapettumisenestoaineet eli antioksidantit ovat aineita, jotka estävät elintarvikkeessa tapahtuvia hapettavia reaktioita, jotka aiheuttaisivat pilaantumista esim. rasvojen härskiintymistä. Rasvoissa käytetään tähän tarkoitukseen mm. tokoferolia eli E-vitamiinia (kuva 3). Toinen tyypillinen antioksidantti on askorbiinihappo. Askorbiinihapon L-enantiomeeriä kutsutaan C-vitamiiniksi.



Kuva 3. Tokoferoli eli E-vitamiini, mm. rasvavalmisteissa käytetty antioksidantti.



#### ***4.6 Hapot***

Happoja käytetään lisäaineena mausteenomaisesti. Tarkoituksena on antaa elintarvikkeelle hapanta ja kirpeää makua. Tavallisimmin nämä hapot ovat karboksyylihappoja. On huomattava, jos tuotteessa jotain yhdistettä käytetään hapoksi luokiteltua lisäainetta, lisäyksen tarkoitus on ainoastaan vaikuttaa makuun, ei rakenteeseen.

#### ***4.7 Happamuuden säätöaineet***

Happamuudensäätöaineet säätelevät elintarvikkeen pH-arvoa happamammaksi tai emäksisemmäksi. Yleisin syy happamuudensäätöaineen tarpeelle on säilyvyyden parantaminen. Mikrobit eivät pysty elämään happamissa olosuhteissa. Toisaalta pH-arvo vaikuttaa elintarvikkeen rakenteeseen.

#### ***4.8 Hyytelöimisaineet***

Hyytelöimisaineet antavat elintarvikkeelle hyytelömäisen rakenteen. Esim. pektiini ja agar ovat tyypillisiä hyytelöimisaineita.

#### ***4.9 Jauhonparanteet***

Jauhonparanteet parantavat jauhojen ja elintarvikkeen leipoutuvuutta tai väriä. Eräs tyypillinen jauhonparanne on askorbiinihappo.

#### ***4.10 Kantaja-aineet***

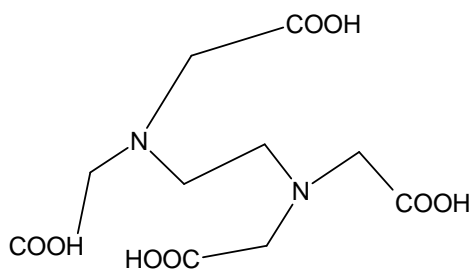
Kantaja-aineita käytetään helpottamaan toisen lisäaineen käsittelyä elintarvikkeessa muuttamalla tätä fyysisesti. Kantaja-aine voi olla esim. jokin liuotinaine.

#### ***4.11 Kiinteyttämisaineet***

Kiinteyttämisaineet ovat aineita, jotka tekevät tai säilyttävät hedelmän tai kasviksen solukon kiinteänä ja rapeana, tai jotka yhdessä hyytelöimisaineiden kanssa muodostavat tai lujittavat hyytelörakennetta.

#### 4.12 Kompleksinmuodostajat

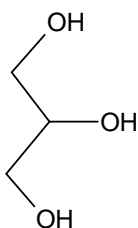
Kompleksinmuodostajat muodostavat kompleksiyhdisteitä metalli-ionien kanssa. Tyypillinen esimerkki kompleksinmuodostajista on EDTA, etyleenidiamiinitetra-asetaatti (kuva 4).



Kuva 4. EDTA, kompleksin muodostaja, jota käytetään myös elintarvikkeissa.

#### 4.13 Kosteudensäilyttäjät

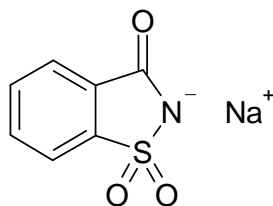
Kosteudensäilyttäjiä käytetään estämään elintarviketta kuivumasta kosteuspitoisuudeltaan alhaisen säilytysilman vaikutuksesta. Glyseroli, 1,2,3-propaanitrioli (kuva 5) on tyypillinen kosteudensäilyttäjä.



Kuva 5. Glyseroli.

#### 4.14 Makeutusaineet

Makeutusaineet ovat aineita, jotka maistuvat makealta, mutta jotka eivät ole mono- tai disakkarideja. Niitä käytetään sokerin korvikkeena. Eräs tyypillinen makeutusaine on natriumsakariini (kuva 6).



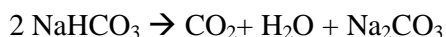
Kuva 6. Natriumsakariini, synteettinen makeutusaine.

#### 4.15 Muunnetut tärkkelykset

Muunnettuja tärkkelyksiä saadaan yhdellä tai useammalla kemiallisella käsittelyllä syötävästä tärkkelyksestä, joka voi olla fyysisesti tai entsyymaattisesti käsiteltyä ja jota on voitu ohentaa tai valkaista happo- tai emäskäsittelyllä.

#### 4.16 Nostatusaineet

Nostatusaineet ovat aineita tai seoksia, joilla saadaan vapautumaan kaasua, jolla puolestaan saadaan taikinan tilavuutta suuremmaksi ja taikina kuohkeammaksi. Tyypillinen nostatusaine on ruokasooda, natriumvetykarbonaatti,  $\text{NaHCO}_3$ . Sen nostattava vaikutus perustuu natriumvetykarbonaatin kuumassa uunissa tapahtuvaan hajoamisreaktioon natriumkarbonaatiksi, hiilidioksidiksi ja vedeksi:



#### 4.17 Paakkuuntumisen estoaineet

Paakkuuntumisen estoaineet vähentävät elintarvikkeen yksittäisten osasten taipumusta kiinnittyä toisiinsa.

#### 4.18 Pakkauskaasut

Pakkauskaasut ovat muita kaasuja kuin ilma, jota lisätään pakkaukseen samanaikaisesti tai ennen tai jälkeen elintarvikkeen sulkemista pakkaukseen.

#### ***4.19 Pintakäsittelyaineet***

Pintakäsittelyaineita käytetään elintarvikkeen ulkopinnalla lisäämään kiiltoa tai muodostamaan suojaavan pinnan.

#### ***4.20 Ponneaineet***

Ponneaineiksi sanotaan kaasuja, ei kuitenkaan ilmaa, jotka työntävät elintarvikkeen ulos säiliöstä.

#### ***4.21 Sakeuttamisaineet***

Sakeuttamisaineilla lisätään elintarvikkeen jähmeyttä.

#### ***4.22 Stabilointiaineet***

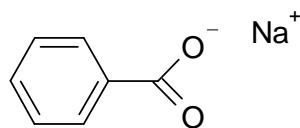
Stabilointiaineilla mahdollistetaan tasainen seoksen säilyminen kahdesta tai useammasta toisiinsa sekoittumattomasta ainesosasta tehdyssä elintarvikkeessa. Moni emulgointi- ja sakeuttamisaine toimii myös stabilointiaineena.

#### ***4.23 Sulatesuolat***

Sulatesuolat ovat aineita, joilla estetään rasvan erottumisen sulatejuuston valmistuksessa vaikuttamalla juuston proteiineihin.

#### ***4.24 Säilöntäaineet.***

Säilöntäaineilla pidennetään elintarvikkeiden säilyvyyttä suojaamalla niitä mikrobien aiheuttamalta pilaantumiselta. Eräs tavallinen säilöntäaine on natriumbentsoaatti (kuva 7).



*Kuva 7.* Natriumbentsoaatti, eräs tavallisimmista säilöntäaineista.

#### ***4.25 Täyteaineet***

Täyteaineilla lisätään elintarvikkeen massaa lisäämättä merkitsevästi sen hyödynnettävää energiasisältöä. Ilma ja vesi eivät ole täyteaineita. Esim. karboksimeetyliselluloosaa, CMC:aa, käytetään tyypillisesti täyteaineena.

#### ***4.26 Vaahdonestoaineet***

Vaahdonestoaineilla vähennetään tai kokonaan estetään vaahdon muodostuminen

#### ***4.27 Vaahdotusaineet***

Vaahdotusaineilla mahdollistetaan kaasumaisen olomuodon tasainen jakautumisen nestemäisessä tai kiinteässä elintarvikkeessa.

#### ***4.28 Väriaineet***

Väriaineilla parannetaan, lisätään tai muutetaan elintarvikkeen väriä. Väriaineita on käytössä monenlaisia. Osa saadaan luonnosta esim. punajuuriväri, ja osa valmistetaan synteettisesti esim. atsovärit.

## 5 Elintarvikevärikromatografia

Elintarvikevärejä voidaan tutkia tai tunnistaa ohutlevykromatografialla (Lehtiniemi, K., 2005). Ohutlevykromatografia on yksinkertainen erotus- ja analyysimenetelmä, jonka avulla tässä työssä eri väriaineet voidaan tunnistaa. Kullakin väriaineella on sille ominainen  $R_f$ -arvo.  $R_f$ -arvoksi kutsutaan arvoa, joka saadaan jakamalla näytetäplän kulkeuma matka liuotinrintaman kulkemalla matkalla.  $R_f$ -arvo on olosuhteista riippuvainen.  $R_f$ -arvot ovat uniikkeja kullekin kokeelle, eikä niitä välttämättä pystytä suoraan vertaamaan eri kokeiden välillä. Tässä työssä huomattiin, että puhtaankin väriaineyhdisteen kromatogrammi voi fraktioitua eli täpliä tulee paperille useampia, vaikka väriaine ei olisikaan yhdisteiden seos. Havainnolle lienee selityksenä eluutin kolmen eri komponentin erilainen liikkuvuus silikageelilevyllä. Alkuperäisen työohjeen (Lehtiniemi, K., 2005) tarkoitus oli selvittää monestako komponentista seos koostuu. Tällainen määrittäminen ei käytännössä onnistunut eluutin eri komponenttien fraktioitumisen vuoksi.

Työssä tutkittiin kahta punaista, kahta vihreää ja kahta keltaista väriainetta sekä indigokarmiinia sekä näiden kaikkien seosta. Toinen punaisista, vihreistä ja keltaisista väreistä oli valmiiksi vesiliuoksena. Näiden värien pakkauksissa ei ollut mainintaa, mitä aineita värit olivat. Toinen tarkasteltavissa punaisista, vihreistä ja keltaisista väreistä oli kiinteässä muodossa 50 % seoksena maissitärkkelyksen, joka on väritöntä, joten se ei häiritse määrittäystä. Jauhemaisista väreistä punainen väri oli karmiininpunaista, keltainen kinoliininkeltaista ja vihreä indigokarmiinin ja kinoliininkeltaisen seosta. Lisäksi kokeessa oli mukana puhdasta indigokarmiinia. Väriaineet liuotettiin veteen, koska todettiin etanoliliukoisuuden olevan huono. Värit saatiin erottumaan hyvin kromatografialevyllä, mutta oleellisen tärkeäksi huomattiin, että levyt ovat oikean tyyppisiä, silikageelilevyjä, ei alumiinioksidipinnoitteisia levyjä.

Jokainen väriaine tai väriaineseos todettiin erilaiseksi. Kummankin vihreän värin todettiin sisältävän indigokarmiinia.

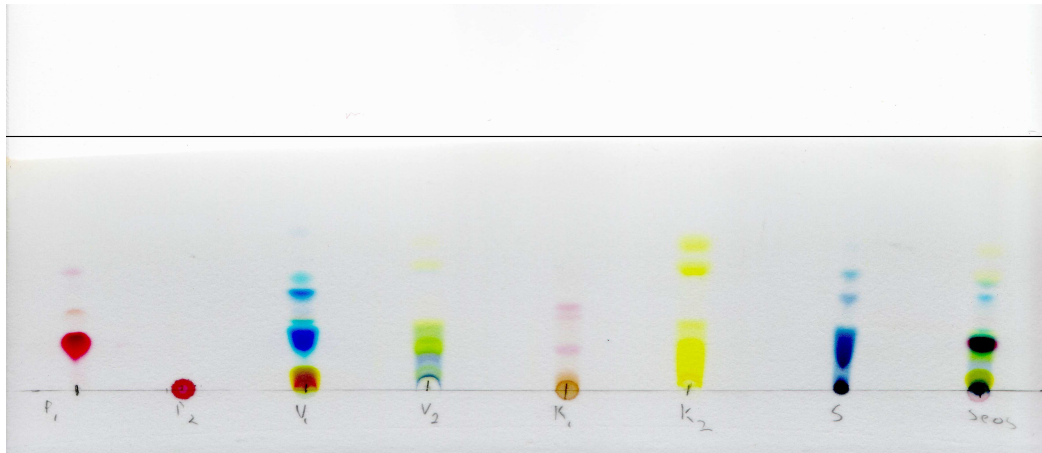
Työstä on tehty ohjeet opettajalle ja oppilaalle sovellettavaksi lukion kemian opetuksessa. Katso liite 2.

## 5.1 Työn suoritus

Työ tehtiin soveltaen ohjetta lukion pakollisen kemian kurssin oppikirjasta (Lehtiniemi, K., 2005) Työssä tutkittiin näytteinä kaupallisia elintarvikevärejä, punainen, keltainen ja vihreä, vesiliuoksina ja samanvärisiä jauhemaisia elintarvikevärejä sekä indigokarmiinia. Valitettavasti ei ollut tietoa, mitä yhdisteitä nämä valmiiksi liuosmaiset värit olivat. Jauhemaisista väreistä punainen sisälsi karmininpunaista,  $\text{Ca}(\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{S})$ ; vihreä indigokarmiinin,  $\text{C}_{16}\text{H}_8\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$  ja kinoliininkeltaisen,  $\text{C}_{18}\text{H}_9\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2\text{N}$  seosta; ja keltainen kinoliinikeltaista, Sinisenä värinä käytettiin pa.-laatuista indigokarmiinia,  $\text{C}_{16}\text{H}_8\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ . Todettiin, että näiden väriaineiden liukoisuus etanoliin on huono, mutta veteen hyvä. Niinpä työohjeesta poiketen käytettiin liuottimena ionivaihdettua vettä. Jauhemaisista väreistä tehtiin kylläiset liuokset.

Kromatografian eluenttiliuosta valmistettiin useampaa määritystä varten 100 ml 1-butanolista, sulfiittispriistä ja 25% ammoniakkiliuoksesta tilavuussuhteissa 60:20:20.

Väripisarojen annostelua varten katkottiin ohuesta kapillaarilasiputkesta n. 20 cm paloja. Paloja kuumennettiin keskeltä bunsenliekillä venyttäen keskikohtaa ohuemmaksi katkeamiseen asti niin, että saatiin kaksi ohuempikärkistä annosteluvälinettä. Näillä lasivälineillä kutakin väriaineliuosta (kahta punaista, kahta vihreää, kahta keltaista ja sinistä indigokarmiinia) annosteltiin silikageelilevylle (kokonainen levy, 20 x 20 cm) n. 1,5 cm kohdalle alareunasta piirretyn viivan päälle samankokoiset pisarat. Lisäksi kaikkien väriaineiden seoksesta tehtiin täplä levylle. Levy asetettiin isoon viiden litran lasipurkkiin reunoja vasten siten, että jokaisessa kohdassa levyn pohja on tiukasti lasipurkin pohjaa vasten. Mikään kohta ei saa olla koholla, ettei liuotin kulje eri kohdissa eri matkoja. Muuten tulokset eivät olisi vertailukelpoisia. Purkki pantiin vetokaappiin. Eluenttia kaadettiin purkin pohjalle niin paljon, että liuoksen pinta nousi lähes piirrettyyn viivaan asti. Purkin päälle asetettiin alumiinifolio. Purkki annettiin olla jonkin aikaa. Toistokokeissa sopivaksi ajaksi todettiin 40 min. Lähes joka kokeessa kromatogrammit näyttivät suunnilleen samanlaisilta: toista punaista väriä lukuun ottamatta, joka ei liikunut mihinkään, kaikkien värien kromatogrammit fraktioituivat pisteiksi. Sellaiset väriaineet, mitkä ilmeisesti eivät olleet seoksia, fraktioituivat selkeästi kolmeksi täpläksi. Havainnolle lienee selityksenä eluentin kolmen eri komponentin erilainen liikkuvuus silikageelilevylle (kuva 8).



*Kuva 8.* Elintarvikevärien erottelu kromatografialla, silikageelilevy. Huom. Kuva ei ole oikeassa mittasuhteessa. Piirretty musta viiva kuvan yläosassa kuvaa liuotinrintaman nousemaa matkaa.

Mittauksen päätyttyä silikageelilevyyn merkittiin varovasti lyijykynällä eluettirintaman kulkema matka. Parhaalta näyttänyt levy asetettiin lasilevyjen välissä valokuvakanneriin. Kuvankäsittelyohjelmalla approksimoiden piirrettiin tasainen viiva liuotinrintaman ylärajalle. Heikoimpia täpliä hieman terävöitettiin. Tästä kuvasta otettiin 1:1 värituloste, josta viivoittimella mitattiin näytetäplien yläreunoista näytteen kulkema matka.  $R_f$ -arvot laskettiin jakamalla näytteen kulkema matka liuottimen kulkemalla matkalla. Tulokset esitetty taulukoissa 1 ja 2.





### 5.1.1 Päätelmät tuloksista

Kullekin väriaineelle saatiin omanlainen kromatogrammi. Niinpä voidaan olettaa jokaisen väriaineen olleen eri aineita. Selvästi nähtiin, että kummatkin vihreät värit ovat sinisen ja keltaisen väriaineen seoksia, sillä väreistä erottui selvästi sininen ja keltainen komponentti. Valmiiksi liuosmaisesta vihreästä väristä erottunut keltainen komponentti värjäytyi jostain syytä punaruskeaksi. Samanväriseksi värjäytyi myös keltainen valmiiksi liuosmainen väri. Todennäköisesti kyseessä on aineen käyttäytyminen happo-emäsindikaattorina työssä käytettävän emäksisen (ammoniakin aiheuttama) ajoliuoksen vuoksi. Molemmissa väriaineissa ruskeaksi värjäytyneen keltaisen komponentin voimakkaimman täplän  $R_f$ -arvot ovat samat, 0. Keltaisen värin kaksi muuta täplää peittyvät sinisen komponentin täplien alle. Kuitenkin voisi sanoa, että valmiiksi liuosmaisissa väreissä vihreässä ja keltaisessa on sama keltainen väriaine, jonka rakenne jäi tässä työssä tuntemattomaksi. Valmiiksi liuosmainen punainen väri ei ollut samaa kuin jauhemainen, karmiininpunainen, koska jauhemaisen punaisen väriaineen täplä jäi paikalleen silikageelilevyssä. Toinen punainen sen sijaan jätti kolme täplää. Jauhemainen vihreä väri koostui kinoliininkeltaisesta ja indigokarmiinista, joita molempia oli näytteenä. Kahden viimeksi mainitun värin kromatogrammin kombinaatio ei kuitenkaan suoranaisesti ole samanlainen kuin jauhemaisen vihreän värin. Tulokset olivat samansuuntaisia aikaisemmissakin kokeissa. Kuitenkin samoja tai melko lähellä olevia  $R_f$ -arvoja voitiin havaita: Vihreällä 0,28 – indigokarmiinilla 0,26; vihreällä 0,47 – indigokarmiinilla 0,47 sekä 0,09 ja 0,09. Indigokarmiinin täplää  $R_f$ -arvolla 0,38 ei vihreän värin kromatogrammista havaittu, mikä lienee johtunut siitä, ettei tuon komponentin täplä tullut näkyviin pienenä pitoisuutena. Samoin kävi kinoliininkeltaisen täplälle  $R_f$ -arvolla 0,60. Valmiiksi liuosmaisesta vihreästä väristä voitiin havaita selvästi indigokarmiinin  $R_f$ -arvoja vastaavat pisteet: 0,28; 0,40 ja 0,47 (0,26; 0,38 ja 0,47). Eroavuudet johtuvat mahdollisesti esim. näytepisaroiden hieman poikkeavasta koosta. Ohutlevykromatografia ei ole kovin tarkka menetelmä. Kinoliininkeltaiselle todettiin vastaavuus vihreässä jauhemaisessa väriaineessa  $R_f$ -arvolla 0,50 – 0,47 sekä 1,2 – 1,2 ja 1,6 – 1,6. Vihreissä väreissä oli siis sama sininen komponentti, indigokarmiini, mutta eri keltainen komponentti.

Kaikkien värien seoksen kromatogrammi on päällekkäisyyksien vuoksi hieman vaikeatulkintainen, mutta kaikille  $R_f$ -arvoille löytyi vastaavuudet: 0 – jauhemainen punainen,

liuosmaisena vihreän keltainen komponentti, liuosmainen keltainen. Myös indigokarmiinin ja kinoliininkeltaisen täplän alareuna sijoittuu lähelle  $R_f$ -arvoa 0 vastaavaa pistettä.  $R_f$ -arvo 0,09 tulee ilmeisesti indigokarmiinista, 0,21 kinoliinikeltaisesta, 0,22 valmiiksi liuosmaisesta punaisesta, 0,26 ja 0,38 indigokarmiinista, 0,43 ilmeisesti indigokarmiinista ja 0,60 kinoliininkeltaisesta. Muiden osakomponenttien muut  $R_f$ -arvot joko peittyvät voimakkaamman väristen alle tai jäivät heikoiksi.

Näytettä yritettiin saada silikageelilevylle mm. lääkeruiskun neuloilla. Tarpeeksi pieniä ei löytynyt. Myös pasteur-pipetillä tippakoko todettiin aivan liian suureksi. Lasikapillaariputketkin ilman kärjen kaventamista osoittautuivat liian suuriksi. Hiuskapillaarit olisivat voineet tulla kysymykseen, mutta niitä ei ollut saatavilla.

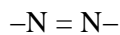
Väriaineita yritettiin uuttaa voimakkaasti värjätyiksi katsotuista makeisista, mutta siltikään tarpeeksi voimakkaasti värjättyjä ei ollut saatavilla. Täplät jäivät liian laimeiksi. Liuottimena kokeiltiin vettä, etanolia, asetonia ja kloroformia.

### 5.1.2 Työn tulosten tarkastelu

Kullekin elintarvikevärille saatiin omanlaisensa kromatogrammi. Eri väriaineet siis voitiin tunnistaa melko hyvin ohutlevykromatogrammien avulla. Seosväreistä voitiin tunnistaa osakomponentteja vertaamalla niitä puhtaiden väriaineiden kromatogrammeihin. Koe oli toistettavissa. Kunhan näytetäplät tehtiin huolellisesti, tuli kromatogrammeista joka kerralla samanlaisia kohtuullisella toleranssilla. Joskus heikoimmat täplät jäivät huomaamattoman himmeiksi. Huomiota kiinnitettiin puhtaiksi oletettujen väriaineiden kromatogrammien fraktioitumiseen. Syyksi oletettiin ajoliuoksen kolmen eri komponentin erilainen liikkuvuus silikageelilevyltä. Alkuperäisen työohjeen tarkoitus oli selvittää monestako komponentista seos koostuu. Tällainen määrittäminen ei käytännössä onnistunut juuri tästä syystä.

## 6 Atsoväriaineet

Väriaineiden tarkoitus on tehdä tuotteista houkuttelevamman ja paremman näköisiä. Atsovärit ovat synteettisesti valmistettuja väriaineita, jotka ovat halpoja valmistaa. Atsovärien värillisyyttä johtuu atso-ryhmästä. Atso-ryhmässä on kaksi  $sp^2$ -hybridisoitunutta typpiätomia (kuva 9.)



*Kuva 9.* Atsoväriaineiden molekyyliarakenteessa esiintyvä atsoryhmä.

Atsoväriaineiden molekyyli rakenne on melko monimutkainen. Yleisimpiä käyttökohteita ovat makeiset ja virvoitusjuomat, mutta atsovärejä käytetään monissa eri elintarvikkeissa. Jopa joidenkin lääkkeiden kapselikuorissa käytetään atsovärejä. Elintarvikkeiden ja lääkkeiden ohella atsovärejä käytetään muuhunkin: tekstiiliväreistä yli puolet on atsovärejä. (Lähtenmäki, P. 1996).

Kaikki atsovärit elintarvikelisiä aineina kiellettiin Suomessa 1981, koska niistä aiheutui yliherkkyysoireita. Euroopan unioniin liittymisen myötä tuli lailliseksi myydä Suomessakin atsovärejä sisältäviä elintarvikkeita, sillä ne olivat eräissä unionin jäsenmaissa laillisia. EU-lainsäädäntö edellyttää, että jossain jäsenvaltiossa sallitun lisäaineen on oltava sallittu kaikissa muissakin. Taulukossa 3 on luettelo Suomessa käytetyistä atsoväreistä. Punaisen, G2-atsoväriaineen, E 128 käyttö hetki sitten kiellettiin elintarvikkeissa. Euroopan yhteisön asetus tuli voimaan Suomessa 28.7.2007. Kyseisen väriaineen metaboliatuotteena syntyy elimistössä karsinogeeniseksi ja mutageeniseksi todettua aniliinia (Finfood uutispalvelu, 2007).

Haitallisin käytössä oleva atsoväri on tatrasiini (kuva 10) Muillakin atsoväreillä on saman tyyppisiä haittavaikutuksia, mutta tatrasiini edustaa hyvin koko ryhmää. Nokkosihottuma ja allerginen nuha ovat haittavaikutuksista yleisimmät. Moni astmaatikko saa keuhkoputken supistusoireita tatrasiinista. Muita raportoituja oireita ovat allerginen purppura eli punasolujen pääseminen ihoon, kuume, vatsakipu, pahoinvointi, nivelkivut ja migreenikohtausten paheneminen joka viidennellä migreeniä potevalla lapsella. En-

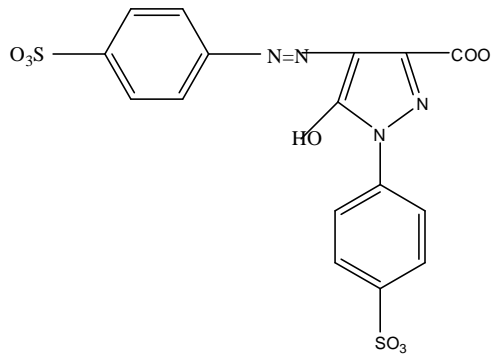
nen kaikkea tatrasiini aiheuttaa lapsille ylivilkkautta ja käytöshäiriöitä. Englantilaisen lasten ylivilkkausyhdistyksen mukaan, viitaten vuonna 1994 tehtyyn tutkimukseen (Rowe, KS., 1994), 89 % ylivilkkaista lapsista sai pahenevia oireita atsoväreistä yleensä.

Samassa vuonna 1994 tehdyssä lumekontrolloidussa kaksoissokkotutkimuksessa (Rowe, KS., 1994) lähes puolet lapsista osoittautuivat tatrasiiniyliherkiksi. Yhden mg:n päivittäisellä annoksella alkoi ilmentyä ärtyneisyyttä, rauhattomuutta ja unihäiriöitä. Kymmenkertainen annos teki käytöshäiriöistä jatkuvia.

Atsovärien kohdalla on hyvä miettiä, onko niiden käyttö tarpeellista. On olemassa muitakin tiettävästi haitattomia väriaineita. Ylittääkö atsoväreistä saatava hyöty niistä aiheutuneet haitat, ja onko tutkimus uskottava.

Taulukko 3. Suomessa elintarvikkeiden lisäaineina käytössä olevat atsovärit ja niiden E-koodit

- Tartratsiini, E 102
- Paraoranssi, E 110
- Atsorubiini, E 122
- Amarantti, E 123
- Uuskokkiini, E 124
- (Punainen, E 128, kielletty 28.7.2007 )
- Alluranpunainen, E 129
- Vihreä, E142
- Briljanttimusta, E 151
- Ruskea, E 154/155
- Litolirubiini, E 180



*Kuva 10.* Tetrasiini.

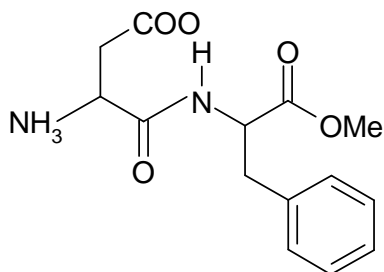
## 7 Aspartaami

### 7.1 Yleistä

Aspartaami, E951 lienee nykyisin käytetyimpiä makeutusaineita, vaikkakin ehkä maailman suosituimman virvoitusjuoman, Coca Colan light – versiossa nykyisin sen käytöstä ollaan luovuttu. Sen sijaan uudessa Coca Cola Zerossa on aspartaamia. Aspartaamin terveyshaitoista on varsin ristiriitaista tietoa. Jostain syystä aspartaamin haitoista kertoviin tutkimuksiin ei suhtauduta vakavasti, vaan edelleen virallisesta tiedotuksesta vastaavien tahojen kuten Elintarvikeviraston ja Euroopan elintarviketurvallisuusviraston kanta on, että aspartaami on täysin turvallinen lisäaine. Enimmäissaantisuositus, ADI-arvo on 40 mg painokiloa kohti vuorokaudessa, mikä vastaa suunnilleen neljää litraa aspartaamilla makeutettua light-juomaa.

### 7.2 Aspartaamin kemiaa

Rakenteeltaan aspartaami,  $C_{14}H_{18}N_2O_5$  on dipeptidi ja esteri. Molekyyli muodostuu aspargiinihaposta ja fenyylialaniinista, joiden välillä on peptidisidos sekä fenyylialaniinin esterisidoksella liittyneestä metyyliryhmästä (kuva 11). Luonnossa aspartaamia ei esiinny. Aspartaami on 100-200 kertaa makeampaa kuin sokeri. Makeusarvo on aika subjektiivinen ominaisuus, sillä aspartaami ei aivan täysin sokerilta maistu. Aineenvaihdunnassa aspartaami hajoaa metanoliksi ja aminohapoiksi.



Kuva 11. Aspartaamin rakenne.

### 7.3 *Aspartaamin haitoista*

Vuonna 2005 julkaistiin italialaisen syöpäsairauksia tutkivan Razmani-instituutin toimesta (Soffritti, M., 2005) tutkimus, jossa kerrottiin aspartaamin lisännen selvästi syöpäkasvainten määrää naarasrotissa. Rottia oli altistettu aspartaamille ADI-arvon selvästi alittavalla määrällä niiden koko eliniän ajan. Vuonna 2007 todettiin, että jo sikiökautinen altistus aspartaamille lisäsi selvästi syöpien määrää uros- ja naarasrotissa. Syöpien määrän todettiin olevan riippuvainen päivittäisen aspartaamiannoksen suuruudesta. Käytetyt annokset olivat 20 - 80 mg / kg (soffritti, M., 2007).

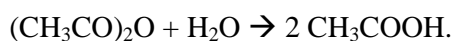
Eniten aspartaamin katsotaan aiheuttavan oireita henkilöille, jotka kärsivät masennuksesta tai muusta mielenterveyshäiriöstä. Eräässä lumekontrolloidussa kaksoissokkotutkimuksessa (Walton, R., 1993) annettiin mielenterveysongelmallisille koehenkilöille aspartaamia 30 mg / painokilo / päivä viikon ajan. Tutkimus jouduttiin keskeyttämään joidenkin koehenkilöiden osalta, koska moni koehenkilö sai ankaria oireita. Raportoituja oireita olivat mm. muistiongelmat: aspartaami 63 %:lla, placebo 0 %:lla; pahoinvointi: aspartaami 100 %:lla, placebo 25 %:lla; masennus: aspartaami 75 %:lla, placebo 38%:lla. Kokeessa oli myös verrokkina henkilöitä, joilla ei oltu todettu mielenterveysongelmia. Heillä ei vastaavia oireita aspartaamista tullut. Mainittakoon, että lumeaspartaamia saaneista terveistä 80 % kertoi saaneensa päänsärkyä, aspartaamia saaneista 20 %. Tutkijoiden mukaan joka tapauksessa voidaan päätellä aspartaamin olevan haitallista mielenterveysongelmallisille.

Aspartaamin epäedullisia vaikutuksia selitetään rottakokeiden tuloksilla (Wurtman, R., 1983). Aspartaamin nauttiminen nostaa rotan aivoissa fenyylialaniinitasoa, ja aspartaami-hiilihydraattiyhdistelmät voivat nostaa aivojen tyrosiinitasoa, ja tukahduttaa tryptofaanitason nousun, mikä puolestaan on peräisin hiilihydraattipitoisesta ravinnosta. Näiden aminohappojen keskinäisen tasapainon häiriöiden puolestaan oletetaan häiritsevän keskushermoston katekoliamiini – indoliamiinitasapainoa henkilöillä joilla on mielenterveyden häiriöitä Tämä on tyypillistä muutenkin mielenterveysongelmallisilla, mutta on syytä olettaa myös aspartaamin indusoivan sitä.

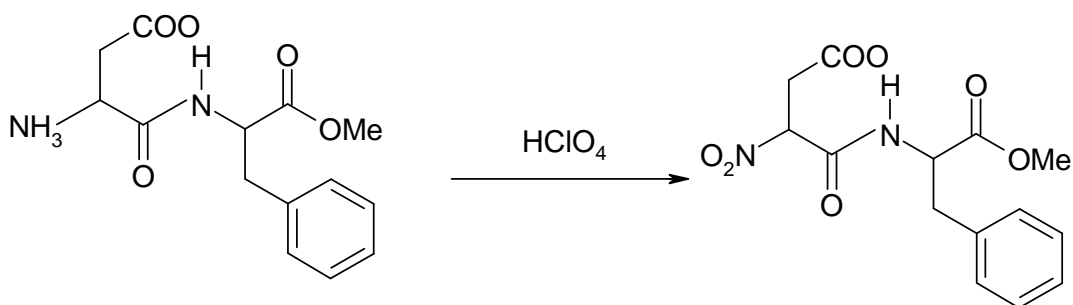


#### 7.4 Aspartaamipitoisuuden määrittäminen perkloorihappotitrauksella

Aspartaamipitoisuus voidaan määrittää titrimetrisesti kahdella tavalla: perkloorihappo- tai natriummetoksidititrauksella. (Visplava, P., 1988; Majewska, E., 2002) Perkloorihappotitraus todettiin näistä kahdesta menetelmästä käyttökelpoisemmaksi lukio-opetukseen. Perkloorihappotitrantti on vahvuudeltaan 0,05 N. Liuottimena käytetään etikkahappoa, jossa vedenpoistoreagenssina on etikkahappoanhydridiä. Anhydridi sitoo vettä happokatalyytin (etikkahappo) läsnä ollessa:



Perkloorihappo reagoi aminoryhmän kanssa hapettaen sen nitroryhmäksi (kuva 12)



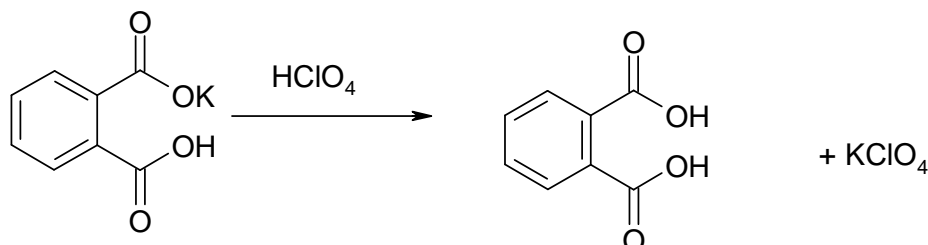
Kuva 12. Aspartaamin titrausreaktio perkloorihapon kanssa

Työssä määritettiin aspartaamipitoisuus Pirkan makeutusainetableteista titrimetrisesti 0,05 N perkloorihapolla. Kaikki liuokset tehtiin 100 %:een etikkahappoon. Titrantin konsentraatio tarkistettiin kaliumvetyftalaatilla. Tableteissa todettiin olevan keskimäärin 24 mg aspartaamia, mikä vastaa 41%:n osuutta tabletin massasta.

Työstä on tehty ohjeet opettajalle ja oppilaalle sovellettavaksi lukion kemian opetuksessa. Katso liite 3.

Perkloorihappoa, 70-72 % pipetoitiin 0,85 ml. Lisättiin n. 100 ml 100 %:sta etikkahappoa ja 2,5 ml etikkahappoanhydridiä. Liuos laimennettiin mittapullossa 200,0 ml:ksi etikkahapolla. Perkloorihapon konsentraatio tarkistettiin titraamalla sillä 1,00 ml:n näyte 0,1 N kaliumvetyftalaattia,  $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$  100%:ssa etikkahapossa. Titranttia kului

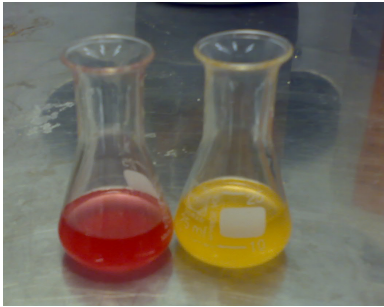
2,04 ml. Kolmella perättäisellä määrittelyllä saatiin sama tulos. Tällöin perkloorihapon todelliseksi konsentraatioksi saatiin 0,049 M. Titrausreaktio on esitetty kuvassa 13.



Kuva 13. Perkloorihapon tarkistustitraus kaliumvetyftalaatilla - reaktio

Ensiksi yritettiin määrittää light-virvoitusjuomien aspartaamipitoisuutta. Ongelmaksi kuitenkin osoittautui näytteessä oleva vesi. Värimuutos ei tapahtunut terävästi vaan vähitellen kun titranttia valutettiin limonadinäytteeseen. Lisäksi värin muuttuminen alkoi jo ensimmäisestä titranttipisarasta. Veden poistoa näytteestä yritettiin mm. etikkahappoanhydridillä ja kalsiumkloridilla. Metallinen natrium ei liioin tullut kysymykseen, koska se reagoi etikkahapon kanssa (Simonen, T., 1975). Veden poisto vesiliuoksesta osoittautui liian hankalaksi. Rainbow-makeutusjauheella määrittely ei liioin onnistunut. Jauheessa oli 3 % aspartaamia, ja loppu oli maltodekstriiniä, ainetta, joka liukeni huonosti etikkahappoon ja ilmeisesti reagoi häiritsevästi jonkin mukana olleen aineosan kanssa.

Sen sijaan Pirkka-makeutusainetableteilla määrittely onnistui. Tabletteja punnittiin kaksi kpl 50 ml erlenmeyer-pulloon, ja liuotettiin n. 10 ml:aan 100%:sta etikkahappoa. Rinakkaisia määrittelyjä tehtiin kolme. Osa tablettista jäi liukenemattomaksi lietteeksi, mutta se ei haitannut määrittelyä. Indikaattoriksi lisättiin muutama tippa resazuriinin etikkahappoliuosta. Näytteitä titrattiin perkloorihappotitrantilla 5 ml:n byretillä värimuutospisteeseen asti. Värimuutospisteessä resazuriini muuttui lohenpunaisesta oranssiksi (kuva 14). Ensimmäisellä kerralla titranttia kului 3,35 ml (tablettien massa 0,1180 g), toisella 3,30 ml (tablettien massa 0,1211 g) ja kolmannella kerralla 3,32 ml (tablettien massa 0,1177 g). Näin ollen aspartaamin määräksi näytteissä saatiin 24 mg / tabletti. Tableteissa todettiin siis olevat 41 % aspartaamia. Lisäksi oletettiin, että tableteissa olevat muut aineosat eivät häiritse määrittelyä.



*Kuva 14.* Resazuriini-indikaattorin värinmuutos aspartaaminäytteen perkloorihappotitrauksessa. Vasemmalla titraamaton näyte.

#### 7.4.1 Työn tulosten tarkastelu

Alkuperäisestä oletuksesta poiketen työ toimi ainoastaan vedettömille näytteille. Makeutusainetablettien aspartaamipitoisuudeksi saatiin järkeviä mittaustuloksia. Työn suoritus oli melko yksinkertaista, ja indikaattorin värinmuutos ekvivalenttipisteessä oli helposti huomattavissa.

#### 7.4.2 Laskut

##### 7.4.2.1 Perkloorihapon tarkistustitraus.

Kaliumvetyftalaatin moolimassa on 204,44 g/mol. Tarvitaan 0,1 N liuos. Reaktioyhtälön mukaan reaktio tapahtuu siten, että 0,1 N liuos vastaa 0,1 M liuosta. Liuosta tarvitaan 100 ml.

Massa kaliumvetyftalaatille saadaan kemian perusyhtälöistä ainemäärän ja moolimassan tulona,  $m = nM$ . Ainemäärä puolestaan saadaan konsentraation ja tilavuuden tulona.

$$n = CV.$$

$$n \text{ (kaliumvetyftalaatti)} = 0,1 \text{ M} \cdot 0,1 \text{ l} = 0,01 \text{ mol}$$

$$m \text{ (kaliumvetyftalaatti)} = 0,01 \text{ mol} \cdot 204,44 \text{ g/mol} = 2,0444 \text{ g}$$

Kaliumvetyftalaattia punnittiin 2,044 g. Näin ollen sen konsentraatio oli tarkasti 0,1 M.

Titrauksissa kului 2,04 ml titranttia 1.00 ml näytteeseen kaliumvetyftalaattiliuosta.

Lasketaan perkloorihapon ainemäärä, joka reaktioyhtälön kertoimien mukaan on yhtä suuri kuin kaliumvetyftalaatin ainemäärä:

$$n = c \cdot V(\text{kaliumvetyftalaatti})$$

$$n = 0,1 \text{ M} \cdot 1,00 \cdot 10^{-3} \text{ l} = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$$

Tästä päästään perkloorihappotitrantin konsentraatioon:

$$c = n / V(\text{HClO}_4)$$

$$c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} / 2,04 \cdot 10^{-3} \text{ l} = 0,0490... \text{ M}$$

#### **7.4.2.2 Näytteiden titraus**

Lasketaan aspartaamin massa näytteissä. Massa saadaan konsentraation, titrantin tilavuuden ja aspartaamin moolimassan tulona.

$$m(\text{aspartaami}) = c(\text{HClO}_4) \cdot V(\text{titranti}) \cdot M(\text{aspartaami})$$

Aspartaamin prosentuaalinen määrä saadaan jakamalla analysoitu aspartaamipitoisuus tablettien kokonaismassalla. Käytetään laskuissa näytteen sisältämien kahden tabletin massaa ja niistä analysoitua aspartaamipitoisuutta.

$$\text{Aspartaami-\%} = m(\text{aspartaami}) / m(\text{tabletit}) \cdot 100 \%$$

$$M(\text{aspartaami}) = 294,31 \text{ g} / \text{mol}$$

##### **1. näyte 0,1180 g**

$m(\text{aspartaami}) = 0,0490 \text{ M} \cdot 3,35 \cdot 10^{-3} \text{ l} \cdot 294,31 \text{ g} / \text{mol} = 0,04833... \text{ g} \approx 48 \text{ mg}$ . Tällöin yhdessä tabletissa oli 24 mg aspartaamia.

$$\text{Aspartaami-\%} = 0,1180 \text{ g} / 0,04833 \text{ g} \cdot 100 \% = 40,95... \% \approx 41 \%$$

##### **2. näyte 0,1211 g**

$m(\text{aspartaami}) = 0,0490 \text{ M} \cdot 3,30 \cdot 10^{-3} \text{ l} \cdot 294,31 \text{ g} / \text{mol} = 0,04760... \text{ g} \approx 48 \text{ mg}$ . Tällöin

yhdessä tabletissa oli 24 mg aspartaamia.

$$\text{Aspartaami-\%} = 0,1211 \text{ g} / 0,04760 \text{ g} \cdot 100 \% = 40,69\dots\% \approx 41 \%$$

**3. näyte 0,1177 g**

$m(\text{aspartaami}) = 0,0490 \text{ M} \cdot 3,33 \cdot 10^{-3} \text{ l} \cdot 294,31 \text{ g/mol} = 0,04789\dots \text{ g} \approx 48 \text{ mg}$ . Tällöin yhdessä tabletissa oli 24 mg aspartaamia.

$$\text{Aspartaami-\%} = 0,1177 \text{ g} / 0,04789 \text{ g} \cdot 100 \% = 40,70\dots\% \approx 41 \%$$

## 8 Askorbiinihappo

C-vitamiini, askorbiinihapon L-enantiomeeri (Fessenden, R., 2004) on luonnossa esiintyvä orgaaninen happo, jota on mm. kasviksissa ja hedelmissä. Ihminen tarvitsee sitä moniin elintoimintoihinsa. C-vitamiini toimii elimistössä antioksidanttina eli estää eräiden yhdisteiden hapettumista.

C-vitamiini on myös lisäaine. Elintarviketeollisuus käyttää askorbiinihappoa, E300 ja sen suoloja, mm. natriumaskorbaattia, E301 ja kalsiumaskorbaattia, E302 estämän hapettumista myös elintarvikkeissa. Jonkin verran sitä lisätään vitaminoimaan elintarvikkeita.

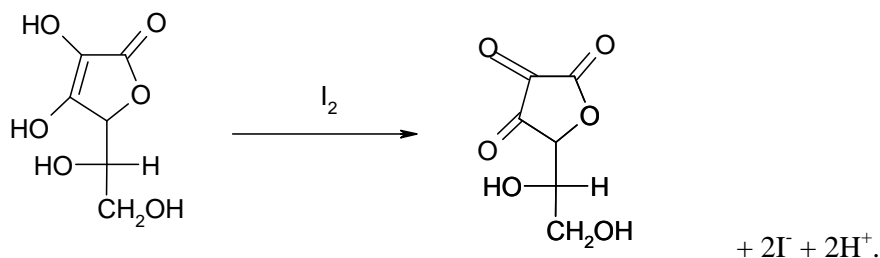
Myös askorbiinihapon toista optista isomeeriä, D-askorbiinihappoa käytetään antioksidanttina. D-muotoa ei esiinny luonnossa, eikä D-muodolla ole vitamiinivaikutusta.

### *8.1 Askorbiinihappopitoisuuden, C-vitamiinin, määrittäminen titrimetrisesti*

Monissa hedelmissä, mm. sitruhedelmissä, on luontaisesti melko paljonkin C-vitamiinia. Hedelmämehuista ja tuotteista, joissa askorbiinihappoa on lisäaineena, voidaan askorbiinihappopitoisuutta analysoida jodometrisellä titrauksella (Välisaari, J., 2005 a). Näytettä titrataan liuoksella, jossa on jodia ja kaliumjodidia liuotettuna etanoli-vesiseokseen. Jodi pelkistyy jodidiksi ja askorbiinihappo hapettuu dehydroksiaskorbiinihapoksi (kuva 15). Reaktio voidaan kirjoittaa muodossa:



Ekvivalenttipistettä indikoidaan tärkkelysliuoksella. Jodi muodostaa tärkkelyksen kanssa sinimustan kompleksin, ja jodidi-ionit ovat värittömiä.



Kuva 15. Askorbiinihapon määrittäminen, titrausreaktio.

Työstä on tehty ohjeet opettajalle ja oppilaalle sovellettavaksi lukion kemian opetuksessa. Katso liite 4.

Tähän työhön valittiin vertailtaviksi näytteitä, jossa C-vitamiinia on luonnostaan, ja joihin C-vitamiinia on lisätty. Analysoitaviksi otettiin Marli Natur C-vitamiinoitua omenamehua, puristettua appelsiinimehua, Marli Natur C-vitamiinoitua appelsiinimehua, 5 min keitettyä appelsiinimehua ja keitettyä punaviinimarjamehua. Lisäksi tehtiin standardiliuos, jossa on C-vitamiinia 100 mg / 100 ml.

Alkuperäisessä työohjeessa (Välisaari, J., 2005 a) tämä työ oli suunniteltu tehtäväksi kennolevyllä. Nähtiin kuitenkin paremmaksi suorittaa työ 5 ml:n byretillä tavanomaisesti titrauksena. Kutakin näytettä otettiin 2 ml.

Marli Natur omenamehussa askorbiinihappo todettiin olevan 33 mg / 100 ml, Marli Natur appelsiinimehussa 74 mg / 100 ml, puristetussa appelsiinimehussa 50 mg / 100 ml. 5 min keitettyssä appelsiinimehussa: 40 mg / 100 ml sekä keitettyssä punaviinimarjamehussa 4 mg / 100 ml. Molemmissa Marlin mehuissa askorbiinihappoa kerrottiin olevan 30 mg / 100 ml. Ilmoitettua suuremman pitoisuuden katsottiin olevan seurausta, että mehuun on lisätty askorbiinihappoa ylimäärä, ja 30 mg / 100 ml on vähimmäismäärä, joka mehuissa taataan olevan parasta ennen-päivään asti.

## **8.1.1 Työn suoritus**

### **8.1.1.1 Liuosten valmistus**

#### **8.1.1.1.1 Askorbiinihapon standardiliuos 100 mg / 100 ml**

Valmistettiin askorbiinihapon standardiliuos. Punnittiin 0,1004 g pa.-laatuista askorbiinihappoa. Liuotettiin ionivaihdettuun veteen tehden 100 ml liuosta 100 ml:n mittapulloon.

#### **8.1.1.1.2 Jodi-kaliumjodidiliuos 10 mmol / l I<sub>2</sub>**

Punnittiin 0,5002 g jodia ja 2,003 g kaliumjodidia. Molemmat yhdessä liuotettiin 100 ml:aan ionivaihdettua vettä. Kaikki jodi ei liuennut vielä tässä vaiheessa. Laimennettiin liuos mittapullossa 200 ml:ksi etanolilla.

#### **8.1.1.1.3 Tärkkelysliuos 10 g / l**

Valmistettiin indikaattorina käytettävä tärkkelysliuos. Lietettiin 1,005 g tärkkelystä 15 ml:aan ionivaihdettua vettä 50 ml:n dekanterilasissa. Tämä liuos lisättiin koko ajan lasisauvalla sekoittaen 200 ml:n dekanterilasissa olevaan kiehuvaan veteen, jota oli 90 ml. Koko ajan edelleen sekoittaen liuoksen annettiin kiehahtaa. Liuos jätettiin jäähtymään.

### **8.1.1.2 Standardiliuoksen titraus**

Standardiliuosta pipetoitiin 2,00 ml:n näyte 50 ml:n erlenmeyrpulloon. Lisättiin 1 ml tärkkelysliuosta. Samanlaisia näytteitä valmistettiin kolme kappaletta. Titrattiin 5 ml:n byretillä, kunnes jodin sininen väri jäi näkyviin. Kullakin kolmella kertaa titrantin kulumaksi saatiin 1,13 ml. Tällöin standardiliuoksen askorbiinihappopitoisuus on 97,4 mg / 100 ml.

### **8.1.1.3 Näytteiden titraus**

Näytteitä otettiin 2 ml:n näyte lääkeruiskulla 50 ml:n erlenmeyr-pulloon, lisättiin 1 ml tärkkelysliuosta, ja titrattiin kuten standardiliuos. Jokaisella näytteellä titraus tehtiin kolme kertaa, ja tuloksista laskettiin keskiarvo. Titrantin kulutusten perusteella laskettiin standardiliuokseen vertaamalla askorbiinihappopitoisuudet.



#### **8.1.1.3.1 Marli Natur C-vitamiinoinen omenamehu**

Titranttia kului kussakin kolmessa titrauksessa 0,38 ml. Askorbiinihappopitoisuudeksi saatiin 33 mg / 100 ml. Pakkauksessa ilmoitetaan askorbiinihappoa olevan 30 mg / 100 ml.

#### **8.1.1.3.2 Marli Natur C-vitamiinoinen appelsiinimehu**

Marlin appelsiinimehussa ilmoitetaan askorbiinihappoa olevan 30 mg / 100 ml. Titrantin kulumaksi saatiin kussakin kolmessa titrauksessa 0,86 ml. Askorbiinihappopitoisuudeksi saatiin analyysissä 74 mg / 100 ml

#### **8.1.1.3.3 Tuore puristettu appelsiinimehu**

Mehua puristettiin tuoreesta appelsiinista. Näytteet titrattiin. Esimmäisellä kerralla titranttia kului 0,60 ml, toisella 0,58 ml, ja kolmannella 0,59 ml. Näiden keskiarvolla, 0,59 ml laskettiin askorbiinihappopitoisuudeksi 50 mg / 100 ml.

#### **8.1.1.3.4 Keitetty appelsiinimehu**

Edellä mainittua itse puristettua appelsiinimehua keitettiin 5 min 100 ml dekanterilasisissa. Keittämisen jälkeen otettiin kolme näytettä jotka titrattiin. Titrantin kulutukseksi saatiin kullakin kerralla 0,46 ml. Siitä laskettuna askorbiinihappoa on 40 mg / 100 ml.

#### **8.1.1.3.5 Keitetty punaviinimarjamehu**

Keitetyn punaviinimarjamehun titraus muodostui hieman ongelmalliseksi. Kahdella ensimmäisellä näytteellä kulutukseksi saatiin 0,02 ml ja kolmannella 0,5 ml, ilmeisesti titrausvirhe. Kolmannella kerralla näytettä otettiin edellisistä poiketen 10 ml:n näyte. Nyt titrantin kulutukseksi saatiin 2,20 ml. Mehun vähäisen määrän vuoksi titrausta ei pystytty enää toistamaan. Tuolla titrantin kulutuksella askorbiinihappopitoisuudeksi saatiin 4 mg / 100 ml.

### **8.1.2 Työn tulosten tarkastelu**

Tulokset olivat järkeviä, ja odotettavissa olevia. Varsinkin Marli Natur appelsiinimehun huomattavasti pakkauksessa ilmoitettua korkeampi askorbiinihappopitoisuus johtuu

ilmeisesti siitä, että mehuun on lisätty tarkoituksella enemmän vaarattomaksi katsottua askorbiinihappoa, jotta sitä olisi varmasti luvattu määrä parasta ennen-päivään asti. Askorbiinihappo hapettuu dehydroksiaskorbiinihapoksi, kun mehua säilytetään pitkään.

Työmenetelmä oli selkeä. Liuokset oli helppo valmistaa. Värimuutos ekvivalenttipisteessä oli selkeä.

### 8.1.3 Laskut

Lasketaan punnitun jodin ainemäärä. Ainemäärä on punnitun jodin massa jaettuna jodin moolimassalla, 253,8 g/mol.

$$n = m / M$$

$$n = 0,5002 \text{ g} / 253,8 \text{ g} / \text{mol} \approx 1,97 \text{ mmol.}$$

Jodin konsentraatio liuoksessa on sen ainemäärä jaettuna valmistetun liuoksen tilavuudella

$$c = n / V$$

$$c = 1,9708... \text{ mmol.} / 0,2000 \text{ l} \approx 9,85 \text{ mmol/l}$$

Standardiliuosnäytteellä titrantin kulutukseksi saatiin 1,13 ml (kolme toistoa). Reaktioyhtälön



mukaan kuluneen jodititrantin ainemäärä on sama kuin askorbiinihapon ainemäärä. Tällöin askorbiinihapon ainemäärä saadaan titrantin kuluman ja titrantin konsentraation tulona.

$$n = c \cdot V$$

$$n = 9,85 \text{ mmol/l} \cdot 1,13 \cdot 10^{-3} \text{ l} \approx 1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$$

Standardiliuosnäytteessä olevan askorbiinihapon massa saadaan askorbiinihapon ainemäärän ja moolimassan, 175,116 g / mol tulona.

$$m = n \cdot M$$

$$m = 1,11 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot 175,116 \text{ g} \approx 1,94 \text{ mg.}$$

Näytettä oli 2,00 ml. 100 ml:ssa on tällöin  $1,94 \text{ mg} / 2 \text{ ml} \cdot 100 \text{ ml} \approx 97 \text{ mg}$

Näytteiden askorbiinihappopitoisuus saadaan laskettua standardiliuoksen askorbiinihappopitoisuuden avulla.

Näytteen askorbiinihappopitoisuus = titrantin kuluma näytteessä / titrantin kuluma standardiliuoksessa  $\cdot 97,498 \dots \text{ mg} / 100 \text{ ml}$

Marli Natur omenamehu:  $0,38 \text{ ml} / 1,13 \text{ ml} \cdot 97 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \approx 33 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$

Marli Natur appelsiinimehu:  $0,86 \text{ ml} / 1,13 \text{ ml} \cdot 97 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \approx 74 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$

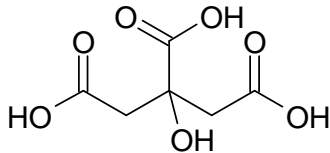
Puristettu appelsiinimehu:  $0,59 \text{ ml} / 1,13 \text{ ml} \cdot 97 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \approx 50 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$

5 min keitetty appelsiinimehu:  $0,46 \text{ ml} / 1,13 \text{ ml} \cdot 97 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \approx 40 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$

Keitetty punaviinimarjamehu. Näytettä oli viisinkertainen annos, joten jaetaan titraustulos viidellä:  $0,22 \text{ ml} / 5 / 1,13 \text{ ml} \cdot 97 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \approx 4 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$

## 9 Sitruunahappo

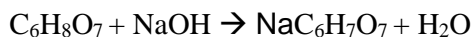
Sitruunahappo, 2-hydroksi-1,2,3-propaanitrikarboksyylihappo,  $\text{CH}_2(\text{COOH})\text{COH}(\text{COOH})\text{CH}_2(\text{COOH})$ ,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  (kuva 16) on kolmearvoinen orgaaninen happo, jota esiintyy luontaisesti sitrushedelmissä, mutta paljolti sitä käytetään lisäaineena. Sitruunahapon E-koodi on E 330. Lisäainekäytössä sillä on useita erilaisia tarkoituksia. Sitä käytetään ensinnäkin happamuudensäätöaineena. Happamuudensäätöaineella pyritään muuttamaan elintarvikkeen pH-arvoa happamammaksi tai emäksisemmäksi. Yleisin syy happamuudensäätöaineen tarpeelle on säilyvyyden parantaminen. Mikrobit eivät pysty elämään happamissa olosuhteissa. Toisaalta pH-arvo vaikuttaa elintarvikkeen rakentamiseen. Toisekseen sitruunahappoa käytetään elintarvikkeissa mausteen omaisesti. Sitruunahapolla on kirpeä maku, jota mm. makeisiin halutaan. Mausteenomaisessa käytössä sitruunahappo kuuluu lisäaineryhmään hapot.



Kuva 16. Sitruunahapon rakennekaava.

### 9.1 Sitruunahappopitoisuuden määrittäminen

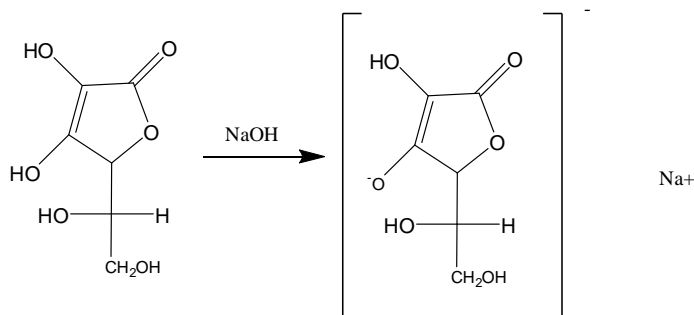
Sitruunahappopitoisuus voidaan määrittää perinteisellä happo-emästitrauksella (Välisääri, J., 2007 b). Titranttina voidaan käyttää esimerkiksi natriumhydroksidiliuosta tai ammoniakiliuosta, indikaattorina fenoliftaleiinia. Sitruunahappo on kolmearvoinen happo, ja oletettiin, että titrusreaktiossa suolanmuodostukseen ja neutraloitumisreaktioon osallistuu ainoastaan yksi karboksyyliryhmä. Tehtiin koejärjestely: valmistettiin 0,1 M sitruunahappoliuos liuottamalla 2,104 g kidevedellistä sitruunahappoa mittapullossa 100 ml:ksi liuosta. Liuoksesta otettiin 8 ml:n täyspipetillä näyte kahteen 50 ml:n erlenmeyerpulloon. 0,12 M NaOH-liuoksella titrattaessa titrantin kulutukseksi saatiin kummallakin kerralla 8,0 ml. Indikaattorina käytettiin fenoliftaleiinia. Tuloksen perusteella todettiin, että titrusreaktiossa sitruunahaposta reagoi yksi karboksyyliryhmä:



Titrauksen päätepisteessä tulee esiin hyvin selkeänä indikaattorin aniliininpunainen väri. Jos sitruunahappopitoisuutta määritetään punaisista tai voimakkaan värisistä elintarvikkeista, kuten juomatiivisteistä ei titrauksen ekvivalenttipiste todennäköisesti näy. Titraus voidaan kuitenkin suorittaa esim. pH-mittarin avulla.

### 9.1.1 Sitruunahappopitoisuuden määrittäminen puristetusta appelsiinimehusta ja tankoparsasäilykkeestä

Sitruunahappopitoisuus määritettiin appelsiinin mehusta ja tankoparsasäilykkeestä, jossa käytännössä voitiin olettaa happamuuden olevan peräisin yksin lisäaineena käytetyn sitruunahaposta. Appelsiinissa oletettiin olevan sitruunahapon lisäksi happamuutta aiheuttavaksi tekijäksi askorbiinihappoa, jonka pitoisuudeksi oli toisessa analyysissä todettu 50 mg /100 ml. Kuvassa 17 on esitetty askorbiinihapon ja natriumhydroksidin välinen reaktio.



*Kuva 17.* Sivureaktio sitruunahapon titrimetrisessä määrittämisessä. Askorbiinihapon ja natriumhydroksidin välinen reaktio.

Työstä on tehty ohjeet opettajalle ja oppilaalle sovellettavaksi lukion kemian opetuksessa. Katso liite 6.

Appelsiinista puristettiin mehua, ja parsasäilykkeestä otettiin säilykepurkin lientä. Sekä puristetusta appelsiinin mehusta, että tankoparsasäilykkeen liemestä otettiin 10 ml:n näyte 50 ml:n erlenmeyerpulloon. Lisättiin muutama pisara fenoliftaleiinin etanoliliuos indikaattoriksi. Byretti täytettiin 0,1 M natriumhydroksidiliuoksella. Titrattiin indikaattorin värinmuutospisteeseen asti.

Appelsiinimehulle titrantin kulutukseksi saatiin ensimmäisellä kerralla 12,0 ml. Toisella ja kolmannella 12,1. Puristetun appelsiinimehun sitruunahappopitoisuudeksi saatiin 634 mg / 100 ml.

Tankoparsasäilykkeen liemellä titrantin kulutukseksi saatiin kullakin kolmella näytteellä 1,5 ml. Sitruunahappopitoisuudeksi saatiin 288 mg / 100 g.

### 9.1.2 Työn tulosten tarkastelu

Sitruunahapon määrittäminen happo-emästitrauksella todettiin helpoksi ja yksinkertaiseksi suorittaa. Kolmenarvoisten happojen titraaminen ei aina ole yksiselitteistä, mutta standardiliuoksen titrauksen perusteella sitruunahaposta reagoi ainoastaan yksi karboksyylihapporyhmä. Fenoliftaleiini-indikaattorin värinmuutos oli erittäin selkeä.

### 9.1.3 Laskut

Sitruunahappoa punnittiin tarkistusliuosta varten 2,1040 g. Lasketaan sitruunahapon ainemäärä 10 ml:n näytteessä. Oletetaan, että sitruunahapolla on yksi kidevesi. Todellisuudessa säilytyksen aikana osa kidevedestä rapautuu pois.

$$C = n / V, n = m \cdot M$$

Kidevedellisen sitruunahapon moolimassa on 210,146 g / mol

$$n(\text{sitruunahappo}) = m(\text{sitruunahappo}) / M(\text{sitruunahappo})$$

$$n = 2,1040 \text{ g} / 210,146 \text{ g/mol} \approx 0,0100 \text{ mol}$$

8 ml:n standardinäytteessä sitruunahapon ainemäärä on 8 ml / 100 ml. Liuosta tehtiin 100 ml.

$$n(\text{standardinäyte}) = 8 / 100 \cdot 0,0100 \text{ mol} \approx 8 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$$

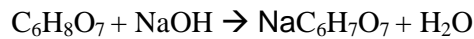
Natriumhydroksidiliuos laimennettiin 3 M liuoksesta 0,12 M:ksi. Titranttia kului kummallakin kerralla 8,00 ml. Tällöin natriumhydroksidin ainemäärä saadaan kaavasta

$$n = c \cdot V$$

$$n = 0,12 \text{ M} \cdot 8 \cdot 10^{-3} \text{ l} \approx 9,6 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$$

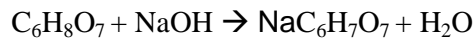
Ainemääräsuhteet ovat nyt  $8 \cdot 10^{-4} \text{ mol} : 9,6 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$  (sitruunahappo : NaOH)

Ottaen huomioon kideveden sitruunahapossa ja sen, että NaOH –liuoksen konsentraatiota ei ole tarkistettu, voidaan olettaa ainemäärien olevan 1:1. Sitruunahaposta reagoi siis vaan yksi karboksyyliiryhmä:



Lasketaan sitruunahapon massa näytteissä.

Reaktioyhtälön,



perusteella Sitruunahapon ainemäärä voidaan ratkaista suoraan natriumhydroksidin ainemäärästä, jos oletetaan kaiken näytteessä olevan happamuuden johtuvan sitruunahaposta. Näin voidaan tehdä tankoparsasäilykkeen liemelle, mutta appelsiinimehun tapauksessa pitää ottaa huomioon askorbiinihappopitoisuus.

$$n(\text{sitruunahappo}) = n(\text{NaOH})$$

Natriumhydroksidi-titrantin ainemäärä on titrantin konsentraation ja titrantin kulutuksen tulo.

$$n(\text{Sitruunahappo}) = n(\text{NaOH}) = C(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH})$$

Kidevedettömän sitruunahapon massa näytteessä puolestaan on sen moolimassan, 192,13 g/mol ja ainemäärän tulo.

$$m(\text{sitruunahappo}) = 192,13 \text{ g/mol} \cdot C(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH})$$

Lasketaan sitruunahappopitoisuus tankoparsasäilykkeessä:

Titrantin kulutus,  $V(\text{NaOH})$ , 1,5 ml

$$m(\text{sitruunahappo}) = 192,13 \text{ g/mol} \cdot 0,1 \text{ M} \cdot 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ l} \approx 0,0288 \text{ g} / 10 \text{ ml} = 288 \text{ mg} / 100 \text{ ml}.$$

Kiinteissä elintarvikkeissa on mielekkäämpää ilmoittaa sitruunahappopitoisuus 100 grammaa kohti. Voidaan olettaa, että sitruunahappokonsentraatio on osmoosin ja diffuusion vaikutuksesta vakio koko säilykkeessä, itse tankoparsoissa ja liemessä. Säilykkeen tiheydeksi voidaan olettaa 1000 g / litra. Tällöin sitruunahappoa on säilykkeessä 288 mg / 100 g.

Lasketaan sitruunahappopitoisuus appelsiinimehussa:

Lasketaan ensin, paljonko natriumhydroksidititranttia kuluu askorbiinihapon neutraloimiseen.

Kuvan 17 reaktioyhtälön perusteella askorbiinihappo kuluttaa natriumhydroksidititranttia moolisuhteessa 1:1.

$$n(\text{askorbiinihappo}) = n(\text{NaOH})$$

Tämä ainemäärä on askorbiinihapon massan näytteessä, 5 mg, ja sen moolimassan, 175,116 g / mol tulo.

$$n(\text{NaOH}) = 0,0288 \text{ mol}$$

Titrantrin laskennallinen kulutus puolestaan on natriumhydroksidin ainemäärän ja konsentraation osamäärä:

$$V = n / C$$

$$V = 0,0288 \text{ mol} / 0,1 \text{ M} \approx 0,288 \text{ ml}$$

$$\text{Titrantrista kului tällöin sitruunahapon titraamiseen } 12,1 \text{ ml} - 0,288 \text{ ml} = 11,812 \text{ ml}$$

Lasketaan sitruunahapon määrä appelsiinimehussa edellä johdetulla kaavalla:

$$m(\text{sitruunahappo}) = 192,13 \text{ g/mol} \cdot C(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH})$$

$$\text{Titrantrin kulutus, } V(\text{NaOH}) = 11,812 \text{ ml}$$

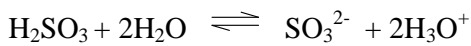
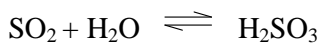


$$m(\text{sitruunahappo}) = 192,13 \text{ g/mol} \cdot 0,1\text{M} \cdot 3,3 \cdot 10^{-3} \text{ l} \approx 0,0634 \text{ g} / 10 \text{ ml} = \underline{\underline{634 \text{ mg} / 100 \text{ ml}}}$$

## 10 Rikkihapoke ja sulfiittiyhdisteet

### 10.1 Rikkihapokkeen ja sulfiittiyhdisteiden lisäainekäyttö

Kuivatuissa hedelmissä, perunahiutaleissa ja rypälepohjaisissa juomissa esim. viineissä käytetään sulfiitteja, rikkihapokkeen suoloja,  $\text{SO}_3^{2-}$  ja rikkidioksidikaasua,  $\text{SO}_2$  säilöntäaineena estämään tuotteessa tapahtuvaa hapettumista. (Koponen A., 1999). Taulukossa 4 on lueteltu Suomessa elintarvikkeiden lisäaineina käytettävät sulfiittiyhdisteet. Nämä yhdisteet estävät myös hapettumisesta johtuvaa tummumista. Rikkidioksidin liueteessa veteen muodostuu rikkihapoketta, joka puolestaan protolysoituu sulfiitti- ja oksoniumioneiksi:



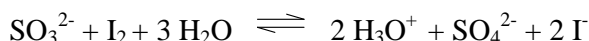
Taulukko 4. Säilöntäaineena käytettävät sulfiittiyhdisteet

- E220 Rikkihapoke
- E221 Natriumsulfiitti
- E222 Natriumvetysulfiitti
- E223 Natriumdisulfiitti
- E224 Kaliumdisulfiitti
- E225 Kaliumsulfiitti
- E226 Kalsiumsulfiitti
- E227 Kalsiumvetysulfiitti

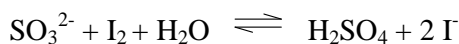
Sulfiiteilla ja rikkidioksidilla on todettu jonkin verran haittavaikutuksia. Pääasiassa haittavaikutusena on hengitystieoireita, keuhkoputken supistumista, limakalvo-oireita ja mahaärtytystä. Arvioiden mukaan 5-10 % astmapotilaista saa helposti oireita sulfiiteista. Yhdysvalloissa on saatavana kotitalouksien käyttöön rikkidioksidia sisältävää aerosolia, jolla voidaan estää tuoresalaatin pilaantumista. Tästä suihkeesta on astmapotilaiden todettu saavan erityisen vakaviakin oireita. (Koponen A., 1999)

## 10.2 Rikkihapokkeen tai sulfiitti-ionien määrittäminen kuivatuista hedelmistä

Rikkihapokkeen tai sulfiitti-ionien kvantitatiivinen määrittäminen on varsin yksinkertainen suorittaa. Sulfiittipitoisuus määritetään tässä työssä hapetus-pelkistytitralla (Välisaari, J., 2007 c). Veteen liuenneet sulfiitti-ionit voidaan hapettaa jodilla sulfaatti-ioneiksi:

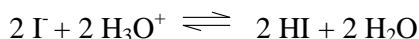


Tarkasti ottaen rikkihapokkeen tapauksessa muodostuu rikkihappoa, koska liuoksessa on sulfaatti- ja oksoniumioneita:

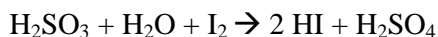


Hedelmiä uutetaan ionivaihdetuissa vedessä, ja titrataan titrantilla, joka on jodin ja kaliumjodidin liuosta. Ekvivalenttipiste saadaan selville tärkkelysliuoksen avulla. Muodostuu sinimusta tärkkelys-jodikompleksi.

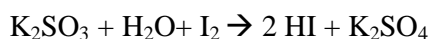
Titrausreaktiossa jodidi-ionit reagoivat pääasiassa rikkihapokkeen protolyysistä peräisin olevien oksoniumionien kanssa muodostaen jodivetyhappoa ja vettä:



Kokonaisuudessaan titrausreaktio on seuraava, jos oletetaan reaktio reversiibeliksi:



Jos titrattava aine on rikkihapokkeen suola, muodostuu vastaavan kationin jodidisuola, esim:



On syytä huomata, että muuttunut väri liuoksessa on nähtävissä vain hetken aikaa. Tähän työhön sopiva titrantin annostelija on 1 ml:n lääkeruisku, sillä lääkeruiskulla pystytään titrantti lisäämään nopeasti. Lisäksi sen käyttö on byrettiä helpompaa. Alkuperäi-

sessä työohjeessa käsketään tärkkelysliuosta lisäämään 1 ml, mutta sitä tarvitaan vähintään kolminkertainen määrä. Muuten värinmuutos ei näy.

Työstä on tehty ohjeet opettajalle ja oppilaalle sovellettavaksi lukion kemian opetuksessa. Katso liite 5.

## **10.2.1 Työn suoritus**

### ***10.2.1.1 Liuosten valmistus***

#### ***10.2.1.1.1 Jodi-kaliumjodidi-liuos***

Liuotettiin 0,1520 g jodia ja 0,7500 g kaliumjodidia 100 ml:ksi liuosta mittapullossa veteen. Liuotuksessa jouduttiin käyttämään magneettisekoitusta, koska liukeneminen oli hidasta.

#### ***10.2.1.1.2 Tärkkelysliuos***

Punnittiin 1 g tärkkelystä. Se lietettiin 15 ml:aan vettä pienessä dekanterilasissa. Kuumennettiin 85 ml ionivaihdettua vettä kiehuvaaksi 200 ml:n dekanterilasissa. Lasisauvalla koko ajan kiehuva vettä sekoittaen lisättiin liete vähitellen kiehuvaan veteen. Liete pidettiin homogeenisena kevyellä ravistelulla. Liuoksen annettiin kiehahtaa, ja se jätettiin jäähtymään.

#### ***10.2.1.2 Titraus***

Työ suoritettiin alkuperäisen työohjeen mukaan. Mikrobyretin sijasta tosin käytettiin 1 ml lääkeruiskua, ja tärkkelysliuosta lisättiin nelinkertainen määrä.

Kuivattuja hedelmiä, luumu-omena-aprikoosi, punnittiin kolme kappaletta 100 ml:n keitinlasissa 12,7106 g. Ionivaihdetun veden pH-arvoksi mitattiin 5,2 käyttäen Merck:n Spezial Indicator für pH 5,2 - 7,2- ja pH 4,0 - 5,7 -papereilta. Hedelmänpalojen päälle lisättiin vettä n. 30 ml. Hedelmänpala-vesiseoksen annettiin olla rauhassa 20 min. Tehtiin oletus, että kaikki sulfiitti-ionit liukenevat veteen. Tämän jälkeen pH-arvoksi mitattiin 4,2. Hedelmät otettiin pinseteillä pois huuhdellen ne pienellä määrällä vettä liuoksen päällä. Tämän jälkeen lisättiin 4 ml tärkkelysliuosta indikaattoriksi, ja titrattiin jodi-kaliumjodidiliuoksella 1 ml:n neulallisella lääkeruiskulla. Kun titranttia oli kulunut 0,6 ml, tuli mustansininen väri näkyviin. Tällä titrantin kulutuksella hedelmien rikkihapok-

keen määräksi saatiin 237 µg, mikä vastasi 18,7 ppm osuutta. Vastaavasti sulfiitti-ionipitoisuus oli 230 µg.

Toisella kertaa hedelmien paloja punnittiin kolme kappaletta, 9,2106 g. Samalla menetelyllä titrantin kulutukseksi saatiin 0,60 ml. Hedelmien rikkihapokkeen määräksi saatiin tällä näytteellä sama 237 µg, koska titrantin kulutus oli sama. Se kuitenkin vastasi 25,8 ppm osuutta. Vastaavasti sulfiitti-ionipitoisuus oli 230 µg ja 25,0 ppm. Tuloksista laskettiin keskiarvot. Rikkihapoketta todettiin olevan 21,6 ppm ja sulfiittia vastaavasti 22,3 ppm.

### 10.2.2 Työn tulosten tarkastelu

Rikkihapokepitoisuus säilötyissä hedelmissä on määrällisesti varsin pieni. Pienikin määrä riittää säilöntäaineeksi, mutta toisaalta jo pienikin määrä riittää laukaisemaan oireet herkällä ihmisillä. Oletettiin, että kaikki rikkihapoke ja sulfiitti liukenevat veteen. Voidaan siis tehdä johtopäätös, että hedelmien huuhtelevaaminen ennen käyttöä poistaa suurimman osan rikkihapokkeesta. Sekahedelmäpussissa oli erilaisia hedelmiä. Tulos saattoi riippua siitä, mitä hedelmiä näytteeksi otettiin. Eri hedelmät todennäköisesti absorboivat säilöntäaineen eri tavalla.

Esimerkkityössä käytettiin 1 ml:n lääkeruiskua. Alkuperäisessä työohjeessa neuvottiin käyttämään 5 ml:n mikrobyrettiä. Kannattaa testata työtä käytettävillä hedelmillä ennen oppilailta teettämistä. Jos näyttää, ettei 1 ml:n lääkeruisku riitä, kannattaa käyttää isompaa. Tosin tarkkuus isommissa ei ole samaa luokkaa. 1 ml:n lääkeruiskussa on yleensä 0,02 ml:n jaotus, mutta 5 ml:n ruiskussa vain 0,5 ml:n. Ruiskun käyttö byretin sijaan nopeuttaa työtä. Lukiotasolla päästään varmasti riittävän tarkkoihin tuloksiin epätarkemmallakin ruiskulla.

### 10.2.3 Laskut

Lasketaan jodin konsentraatio titrantissa. Konsentraatio saadaan jakamalla massan ja moolimassan osamäärä eli ainemäärä koko liuoksen tilavuudella:

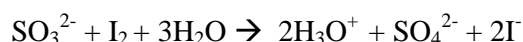
$$c = m / M / V$$

$$M(\text{I}_2) = 253,8 \text{ g/mol}$$

$$m(\text{I}_2) = 0,1520 \text{ g}$$

$$c = 0,1520 \text{ g} / 253,8 \text{ g/mol} / 0,1 \text{ l} \approx 5,9889 \text{ mmol}$$

Reaktion stoikiometriaa voidaan tarkastella yksinkertaistetun reaktioyhtälön,



avulla. Siitä voidaan todeta, että titrausreaktiossa diiodin ja sulfiitti-ionien ainemäärät ovat samat tasapainotilassa. Sulfiitti-ionien ainemäärä saadaan titrantin kulutuksen ja konsentraation tulona. Sulfiitti-ionien määrä ja massa molemmissa näytteissä on sama, koska titranttia kului yhtä paljon molemmissa tapauksissa.

$$n(\text{SO}_3^{2-}) = c(\text{I}_2) \cdot V(\text{I}_2) = 5,9889 \text{ mmol} \cdot 0,6 \text{ ml} \approx 3,59338 \cdot 10^{-6} \text{ mol}$$

Sulfiitti-ionien massa on äsken laskettu ainemäärä kerrottuna sulfiitti-ionien moolimassalla, 64,06 g/mol

$$m = n \cdot M$$

$$m = 3,593380614 \dots \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot 64,06 \text{ g/mol} = 2,3019 \cdot 10^{-4} \text{ g}$$

Vastaavasti rikkihapokkeen moolimassan, 66,076 g/mol, avulla saadaan rikkihapokkeen massaksi:

$$m = n \cdot M$$

$$m = 3,5933 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot 66,076 \text{ g/mol} \approx 2,3743 \cdot 10^{-4} \text{ g}$$

Näytteessä oleva rikkihapoke- ja sulfiitti-ionipitoisuus miljoonasosina (ppm) saadaan jakamalla niille äsken laskettu massa näytteen massalla ja kertomalla miljoonalla ppm:lla.

1. näyte, 12,7106 g.

$$\text{sulfiitti-ionipitoisuus: } 2,3019 \cdot 10^{-4} \text{ g} / 12,7106 \text{ g} \cdot 10^6 \text{ ppm} \approx 18,1 \text{ ppm}$$

rikkihapokepitoisuus:  $2,3743 \cdot 10^{-4} \text{ g} / 12,7106 \text{ g} \cdot 10^6 \text{ ppm} \approx 18,7 \text{ ppm}$

2. näyte, 9,2106 g.

sulfiitti-ionipitoisuus:  $2,30191 \cdot 10^{-4} \text{ g} / 9,2106 \text{ g} \cdot 10^6 \text{ ppm} \approx 25,0 \text{ ppm}$

rikkihapokepitoisuus:  $2,3743 \cdot 10^{-4} \text{ g} / 9,2106 \text{ g} \cdot 10^6 \text{ ppm} \approx 25,8 \text{ ppm}$

Lasketaan näille keskiarvot.

sulfiitti-ionipitoisuus:  $(18,1 \text{ ppm} + 25,0 \text{ ppm}) / 2 \approx 21,6 \text{ ppm}$

rikkihapokepitoisuus:  $(18,7 \text{ ppm} + 25,8 \text{ ppm}) / 2 \approx 22,3 \text{ ppm}$

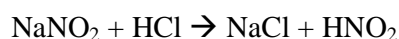
## 11 Nitraatit ja nitriitit lisäaineina

Nitraatit,  $-\text{NO}_3^-$  ja nitriitit,  $-\text{NO}_2^-$  ovat yhdisteitä, joita saadaan jatkuvasti ravinnosta. Nitraatinkerääjäkasvikset, pinaatti, lehtisalaatti, punajuuri, lanttu, nauris, nokkonen, kiinankaali jne. sisältävät nitraattia ja nitriittiä luonnostaan. Kasveille nitraatit ovat tärkeimpiä ravinteita (Sandberg, U., 2006)

Nitraattien ja nitriittien käyttö elintarvikkeissa, kuten makkaroiden on usein välttämätöntä. Ne ehkäisevät erittäin vaarallisen *Clostridium botulinum*-bakteerin kasvua. *C. botulinum* erittää todella myrkyllistä botuliinitoksiinia. Lisäksi nitraatit ja nitriitit ehkäisevät *Salmonella*-lajien, *Bacillus cereuksen* ja *Clostridium perfringensin* lisääntymistä. Nitraatteja käytetään lisäksi lihan punasuolaukseen.

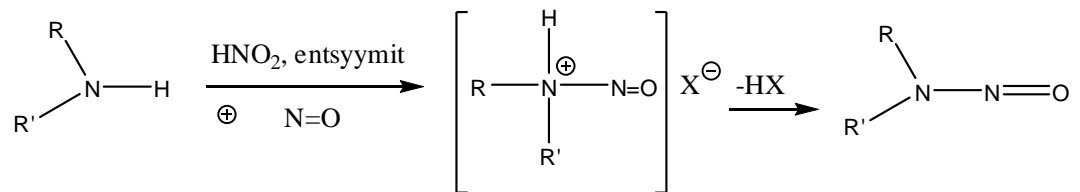
Nitraatit voivat pelkistyä elimistössä nitriiteiksi. Nitriitit vaurioittavat suolen limakalvoa aiheuttaen suolistovaivoja ja edesauttaen allergioiden ja jopa tyypin I diabeteksen syntymistä, voivat pahentaa nokkosihottumaa, vaikuttaa punasolujen hemoglobiiniin estäen hapen kuljetusta (Koponen A., 1999). Tämän hemoglobiini-vaikutuksen vuoksi nitraatteja ja nitriittejä käytetään säilyttämään lihan punainen väri. Menetelmää kutsutaan punasuolaukseksi. Punasuolauksessa nitraatit ja nitriitit hapettavat lihan hemoglobiinia methemoglobiiniksi. Hemoglobiinissa rauta on kahdenarvoisena ( $\text{Fe}^{2+}$ ), ja methemoglobiinissa kolmenarvoisena,  $\text{Fe}^{3+}$ . (Helsingin avoimen yliopiston luentomateriaalit). Nitraattien ja nitriittien saantitaso on huolestuttavan korkea. Lapset saavat 89 % aikuisväestölle lasketun ADI-arvon mukaisesta nitraatti- ja nitriittimäärästä. (Koponen, A., 1999).

Erityisen haitalliseksi nitraatti- ja nitriittiyhdisteet tekee, jos ne pääsevät muuttumaan mahalaukussa ja suolistossa bakteerien erittämien entsyymien vaikutuksesta nitrosoamiineiksi. Nitrosoamiinit ovat karsinogeenisiä. Toinen merkittävä nitrosoamiinien lähde ihmisillä on tupakka. Nitrosoamiineita syntyy, kun sekundäärinen amiini reagoi typpihapokkeen kanssa mahalaukussa (kuva 18). Typpihapoke on peräsin nitriittisuolan ja mahanesteen suolahapon välisestä reaktiosta esim:





Nitrosoamiinien muodostumista eli N-nitrosaatiota voidaan inhiboida antioksidanteilla, kuten askorbiinihapolla, sorbiinihapolla tai kasvisten tai synteettisillä flavonoideilla. Kasvisperäinen nitraatti ja nitriitti ei siis ole niin vaarallista, koska kasviksissa antioksidantteja on luonnostaan. Nitraatti ja nitriittipitoisten liharuokien yhteydessä tulisi syödä kasviksia tai jotain antioksidanttia, kuten C-vitamiinia tai E-vitamiinia ravintolisänä. Yhdysvalloissa kaikkeen nitraattia tai nitriittiä sisältäviin elintarvikevalmisteisiin lisätään nykyään askorbiinihappoa tai erytorbiinihappoa antioksidantiksi. Tämä on vähentänyt mahalaukun syöpätapauksia huomattavasti (Koponen, A., 1999).



Kuva 18. N-nitrosaatio. Nitrosoamiinien muodostuminen elimistössä.

## 12 Yhteenveto

Pro gradu-tutkielmassa asetettiin pääpaino lisäaineanalytiikkaan liittyviin laboratorio-töille, joiden katsottiin sopivan oppilastöiksi lukioon. Työohjeita etsittiin lukiossa käytössä olevista oppikirjoista ja Scifinder-sovelluksen avulla tieteellisistä artikkeleista.

Laboratoriotöissä tutkittiin makeutusainetabletin aspartaamipitoisuutta, kuivattujen hedelmien sulfiitti- ja rikkihapokepitoisuutta, tankoparsasäilykkeen sitruunahappopitoisuutta ja mehujen askorbiinihappopitoisuutta sekä tehtiin ohutlevykromatografiaan liittyvä työ elintarvikeväreillä. Nämä työt valittiin, koska ne koettiin mielenkiintoisiksi ja teorialtaan olennaisesti lisäaineanalytiikkaan sopiviksi. Työt testattiin laboratoriossa ja kirjattiin havainnot ja tulokset ylös, ja muokattiin työohjeet oppilaille sopiviksi.

Aspartaamin määrittäminen tehtiin perkloorihappotitrantilla etikkahappoliuoksessa vedettömissä olosuhteissa. Työohje muokattiin tehtäväksi pienemmässä mittakaavassa. Sopivaksi näytteeksi todettiin Pirkan makeutusainetabletit tai vastaavat. Makeutusainetablettien todettiin sisältävän keskimäärin 24 mg aspartaamia. Työ todettiin melko yksinkertaiseksi suorittaa, kunhan varottiin etikkahappohöyryä.

Askorbiinihappopitoisuus määritettiin jodometrisellä titrauksella käyttäen indikaattorina tärkkelysluosta. Askorbiinihappopitoisuuksiksi mehuissa saatiin: Marli Natur omenamehu, 33 mg / 100 ml; Marli Natur appelsiinimehu 74 mg / 100 ml; puristettu appelsiinimehu 50 mg / 100 ml; 5 min keitettyssä appelsiinimehussa: 40 mg / 100 ml; sekä keitetty punaviinimarjamehussa 4 mg / 100 ml. Työ koettiin helpohkoksi.

Sitruunahappopitoisuus määritettiin yksinkertaisella happo-emäs-titrauksella. Appelsiinimehun sitruunahappopitoisuudeksi saatiin 634 mg / 100 ml, ja tankoparsasäilykkeen sitruunahappopitoisuudeksi 288 mg / 100 g. Kolmenarvoisena happona titrausreaktio ei ollut yksiselitteinen. Oletettiin kuitenkin, että ainoastaan yksi vety sitruunahaposta reagoi.

Kuivattujen hedelmien rikkihapoke- ja sulfiittipitoisuutta määritettiin jodometrisellä titrauksella. Hedelmien rikkihapokepitoisuudeksi saatiin 237 µg, mikä vastasi massaan nähden keskimäärin 21,6 ppm osuutta. Vastaavasti sulfiitti-ionipitoisuudeksi saatiin 230 µg vastaten keskimäärin 22,3 ppm osuutta. Jodometrisen titrausreaktio tässä tapauksessa

ei ollut kovin selkeästi indikoitavissa. Värimuutos näkyi vain tovin. Ongelmaa voitiin kompensoida käyttämällä kolminkertaista määrää tärkkelys-indikaattoria.

Lukion opetussuunnitelmassa ei lisäaineista erikseen mainintaa todettu löytyvän, mutta on oletettavaa, että lisäaineiden kemia kuuluu lukio-opetukseen.

Tutkittiin lukion 12 kemian oppikirjaa, ja etsittiin viitteitä elintarvikkeiden lisäaineisiin. Kaikki löydetyt viitteet kirjattiin ylös.

Lukiokirjojen viitteiden lisäaineisiin todettiin olevan lähinnä hajanaisia esimerkkejä, joskin niitä todettiin olevan melko runsaasti. Tyypillisimmin yksittäinen lisäaine esiteltiin puhuttaessa jonkin yhdisteryhmän kemiasta. Esimerkiksi bentsoehapon lisäainekäyttö esiteltiin monissa oppikirjoissa puhuttaessa karboksyylihapoista.

Tietoa lisäaineista etsittiin tieteellisistä julkaisuista, luotettaviksi katsotuista kirjoista ja virallisten tahojen, Elintarviketurvallisuusviraston, Kuluttajaviraston ja Euroopan Unionin [www-sivustoista](#). Mukaan otettiin taustatietoa lisäaineiden käytön historiasta; tutkimustietoa eri lisäaineiden turvallisuudesta; käytön perusteista sekä lisäaineiden kemias-  
ta.

## Kirjallisuus

Elintarviketurvallisuusviraston www-sivut, <http://www.evira.fi/portal/fi/> (29.8.2007)

Euroopan Unionin www-sivut, *Elintarvikkeiden lisäaineiden turvallisuuden uudelleen-arviointi*, <http://www.europa.eu/scadplus/leg/fi/lvb/121069.htm>

Fessenden, R., Fessenden, J., Logue, M., *Organic Chemistry*, 6. Edition, Brooks / Cole Publishing Company, U.S.A., 1998

Finfood uutispalvelu, *EU kielsi väriaineen E 128 käytön*, <http://www.finfood.fi/otsikot/9BC2FAC5DF6D41E7C2257328003DBE99> (17.8.2007)

Gabel, D. Improving teaching and learning through chemistry education. research: A look to the future. *Journal of Chemistry Education* 1999, 76(4), 548-554

Helsingin avoimen yliopiston www-luentomateriaalit, *Ravitsemustieteen perusteita, sanasto*, <http://www.avoin.helsinki.fi/materiaalit/ravitsemustiede/sanasto.html> (1.3.2006)

Hannola-Teitto, M., Jokela, R., Leskelä, M., Näsäkkälä, E., Pohjakallio, M., Rassi, M., *Neon 1 Ihmisen ja elinympäristön kemia*, Edita, Helsinki, 2004

Hannola-Teitto, M., Jokela, R., Leskelä, M., Näsäkkälä, E., Pohjakallio, M., Rassi, M., *Neon 1 2 Kemian mikromaailma*, Edita, Helsinki, 2004

Hannola-Teitto, M., Jokela, R., Leskelä, M., Näsäkkälä, E., Pohjakallio, M., Rassi, M., *Neon 3 Reaktiot ja energia*, Edita, Helsinki, 2004

Häikiö, I., *Elintarvikemikrobiologia*, 2.painos, WSOY, Porvoo, 2000, s.53

Kaila, L., Meriläinen, P., Ojala, P., Pihko, P., Salo, K. *Reaktio 1 Ihmisen ja elinympäristön kemia*, Tammi, Jyväskylä, 2006.

Kaila, L., Meriläinen, P., Ojala, P., Pihko, P., Salo, K. *Reaktio 2 Kemian mikromaailma* Tammi, Jyväskylä, 2006.

- Kalkku, I., Kalmi, H., Korvenranta, J. *Kide lukion kemia 1 Ihmisen ja elinympäristön kemia*, Otava, Keuruu, 2004
- Kalkku, I., Kalmi, H., Korvenranta, J. *Kide lukion kemia 2 Kemian mikromaailma*, Otava, Keuruu, 2004
- Koponen, A. *Tiedätkö mitä syöt?* Tammi, Hämeenlinna, 1999
- Kuluttajaviraston www-sivut, *elintarvikkeiden lisäaineiden turvallisuus*, [http://www.kuluttajavirasto.fi/user\\_nf/default.asp?site=34&tmf=6475&lmf=6511&mode=readdoc](http://www.kuluttajavirasto.fi/user_nf/default.asp?site=34&tmf=6475&lmf=6511&mode=readdoc) (25.4.2007)
- Lampiselkä, J., Sorjonen, T., Vakkilainen, K-M., Aroluoma, I., Kanerva K., Karkela L., Mäkelä R., *Kemisti 1 Ihmisen ja elinympäristön kemia*, WSOY, Porvoo, 2004
- Lampiselkä, J., Sorjonen, T., Vakkilainen, K-M., Aroluoma, I., Kanerva K., Karkela L., Mäkelä R., *Kemisti 3 Reaktiot ja energia*, WSOY, Porvoo, 2004
- Lehtiniemi, K., Turpeenoja, L., *Mooli 1 Ihmisen ja elinympäristön kemia*, Keuruu, Otava, 2005
- Lehtiniemi, K., Turpeenoja, L., *Mooli 2 Kemian mikromaailma*, Otava, Keuruu, 2005
- Lehtiniemi, K., Turpeenoja, L., *Mooli 3 Reaktiot ja energia* Otava, Keuruu, 2005
- Louekari, K., Salminen, S., Von Wright, A., Himberg, K., Mykkänen, H., Penttilä, P-L. *Elintarvikkeiden turvallisuus*, Tammer-Paino, Tampere, 1994
- Lähteenmäki, P., Nuutinen, T., Parkkinen, P., *Ravintomme lisäaineet Käyttö Haitat Lisäaineeton ravinto* Forssan kirjapaino, Forssa 1996
- Mattila, P., Piironen, V., Ollilainen, V. *Elintarvikekemian ja analytiikka*, Yliopistopaino, Helsinki, 2001
- Majewska, E., Quantitative determination of aspartame in food products by titration method, *Żywność* 2002 9(3) 100-108
- Opetushallitus, Lukion opetussuunnitelman perusteet 2003 Nuorille tarkoitettun lukio-koulutuksen opetussuunnitelman perusteet, Vammalan kirjapaino Oy, Vammala 2003

Penttilä, P-L., Elintarvikkeiden lisäaineet, Weilin+Göös, Espoo, 1983

Penttilä P-L., *Ruoan Riskit*, WSOY, Juva 1998

Rowe, KS., Briggs, DR., Food additives and behaviour. *The Medical Journal of Australia*, **1994** 161, 581-582,

Rowe, KS., Rowe. KJ., Synthetic food coloring and behaviour: A dose response effect in a double-blind, placebo-controlled, repeated-measures study. *The Journal of Pediatrics* **1994**, 691-698, 1994

Sandberg, U., Wahlstöm, E., *Kemi i maten* Kemilärarnas resurscentrum, Tukholma, Ruotsi, 2006

Simonen, T., *Orgaanisen kemian synteettiset työmenetelmät*, Otava, Helsinki, 1975

Soffritti, M., Belboggi, F., Esposti, D.D., Lamberti, L., Tibaldi, E. ja Rigano, A. First Experimental Demonstration of the Multipotential Carcinogenic Effects of Aspartame Administrated in the Feed to Sprague-Dawley Rats. *Enviromental Helth Perspectives*, **2006** 114(3) 379-385

Soffritti, M., Belboggi, F., Esposti, D.D., Lauriola, M., ja Tibaldi, E. Life-Sapn Exposure to Low Doses of Aspartame Beginning during Prenatal Life Increases Cancer Effects in Rats. *Enviromental Helth Perspectives*, **2007** 115(9) 1293-1197

Stenigink, L.D., Filer, L.J Jr., Baker G.L., McDonnel, J.E., Effect of Aspartame Loading upon Plasma and Erythrocyte Amino Acid Levels in Phenylketonuric Heterozygotes and Normal Adult Subjects, *Journal of Nutrition*, **1979** 4(109) 708-717

Visplava Prasad, U., Divakar, T. E., Sastry, C. S. P., New methods for the Determination of Aspartame *Food Chemistry* 1988 28, 269-278

Verkkouutiset, *Turhaa huolta elintarvikkeiden lisäaineista*, [http://www.verkkouutiset.fi/arkisto/Arkisto\\_1997/27.maaliskuu/lisaain.htm](http://www.verkkouutiset.fi/arkisto/Arkisto_1997/27.maaliskuu/lisaain.htm) (15.2.2007)

Wurtman, R. J., Neurochemical changes following high-dose aspartame with dietary carbohydrates, *The New England Journal of Medicine*, **1983** 309(7) 429-430

Välisaari, J., Työohje C-vitamiinipitoisuuden määrittäminen, Julkaisematon, Jyväskylän yliopiston kemian laitoksen opettajankoulutuksen oppimateriaalia, 2005 a

Välisaari, J., Työohje sitruunahappopitoisuuden määrittäminen, Julkaisematon, Jyväskylän yliopiston kemian laitoksen opettajankoulutuksen oppimateriaalia, 2005 b

Välisaari, J., Työohje säilöntäaineiden määrittäminen kuivatuista hedelmistä, Julkaisematon, Jyväskylän yliopiston kemian laitoksen opettajankoulutuksen oppimateriaalia, 2005 c

Walton, R. G., Hudak, R. ja Green-Waite R. J., Adverse Reactions to Aspartame: Double-Blind Challenge in Patients from a Vulnerable Population

## Liite 1 Elintarvikkeiden lisäaineiden E-koodit

Suomessa käytetyt elintarvikkeiden lisäaineet on luetteloitu seuraavassa E-koodin mukaiseen järjestykseen

E100 Kurkuminoidit	E170 Kalsiumkarbonaatti
E101 Riboflaviini	E171 Titaanioksidi
E101 Riboflaviini 5' fosfaatti	E172 Rautaoksidit ja -hydroksidit
E102 Tartratsiini	E173 Alumiini
E104 Kinoliininkeltainen	E174 Hopea
E110 Paraoranssi, oranssi, Sunset Yellow FCF	E175 Kulta
E120 Karmiinit, kokkiniili, karminihappo	E180 Litolirubiini
E122 Atsorubiini, karmosiini	E200 Sorbiinihappo
E123 Amarantti	E201 Natriumsorbaatti
E124 Uskokkiini, kokkeniilipunainen, Ponceau 4R	E202 Kaliumsorbaatti
E127 Erytrosiini	E203 Kalsiumsorbaatti
(E128 Punainen 2G Kielletty 28.7.2007)	E210 Bentsoehappo
E129 Alluranpunainen AC	E211 Natriumbentsoaatti
E131 Patenttisininen	E213 Kalsiumbentsoaatti
E132 Indigokarmiini	E214 Etyyli-p-hydroksibentsoaatti
E133 Briljanttisininen	E215 Etyyli-p-hydroksibentsoaatin natrium-suola
E140 Klorofyllit	E216 Propyyli-p-hydroksibentsoaatti
E140 Klorofylliinit	E217 Propyyli-p-hydroksibentsoaatin natrium-suola
E141 Klorofyllikuparikompleksin kalium- ja natriumsuolat	E218 Metyyli-p-hydroksibentsoaatti
E141 Klorofylliinkuparikompleksin kalium- ja natriumsuolat	E219 Metyyli-p-hydroksibentsoaatin natrium-suola
E142 Vihreä S	E220 Rikkihapoke, rikkidioksidi
E143 Patenttivihreä	E221 Natriumsulfiitti
E150a Sokerikulööri	E222 Natriumvetysulfiitti
E150b Emäksinen sulfiittisokerikulööri	E223 Natriumdisulfiitti
E150c Ammoniummenetelmän sokerikulööri	E224 Kaliumdisulfiitti
E150d Ammoniumsulfiittimenetelmän sokerikulööri	E225 Kaliumsulfiitti
E151 Briljanttimusta BN, musta PN	E226 Kalsiumsulfiitti
E153 (Kasvipiperäinen) lääkehiili, kasvihiili	E227 Kalsiumvetysulfiitti
E154 Ruskea FK	E234 Nisiini
E155 Ruskea HT	E235 Natamysiini
E160a Beetakaroteeni	E239 Heksametyleenitetramiini
E160a Karotenoidit	E242 Dimetyylikarbonaatti
E160b Annatto, biksiini, norbiksiini	E249 Kaliumnitriitti
E160c Paprikaoleosiini, paprikauute, kapsantiini, kapsorubiini	E250 Natriumnitriitti
E160e Beta-apo-8'-karotenaali (C30)	E251 Natirumnitraatti
E160f Beta-apo-8'-karoteenihappoetyyliesteri (C30)	E252 Kaliumnitraatti
E160g Kantaksantiini	E260 Etikkahappo
E161b Luteoliini, luteiini	E261 Kaliumasettaatti
E162 Punajuuriväri, betalaiini, betaiini	E262 Natriumasettaatti
E163 Antosyaanit	E262 Natriumvetyasettaatti (natriumdiasetaatti)
	E263 Kalsiumasettaatti
	E270 Maitohappo
	E280 Propionihappo



E281	Natriumpropionaatti	E354	Kalsiumtartraatti
E282	Kalsiumpropionaatti	E355	Adipiinihappo
E283	Kaliumpropionaatti	E356	Natriumadipaatti
E284	Boorihappo	E357	Kaliumadipaatti
E285	Natriumtetraboraatti, Booraksi	E363	Meripihkahappo
E290	Hiilidioksidi	E380	Triammoniumsitraatti
E296	Omenahappo	E385	Kalsiumdinatriumetyleeni- diamiinitetra-asettaatti (Kalsiumdinatrium EDTA)
E297	Fumaarihappo	E400	Algiinihappo
E300	Askorbiinihappo	E401	Natriumalginaatti
E301	Natriumaskorbaatti	E402	Kaliumalginaatti
E302	Kalsiumaskorbaatti	E403	Ammoniumalginaatti
E304	Askorbyyilipalmiaatti	E404	Kalsiumalginaatti
E304	Askorbyylistearaatti	E405	Propyleeniglykolialginaatti
E306	Tokoferoliute	E406	Agar
E307	Alfa-Tokoferoli	E407	Karrageeni
E308	Gamma-Tokoferoli	E407a	Käsitelty Euchema-levä
E309	Delta-Tokoferoli	E410	Johanneksenleipäpuujauhe
E310	Propyyiligallaatti	E412	Guarkumi
E311	Oktyyiligallaatti	E413	Tragantti
E312	Dodekyyiligallaatti	E414	Arabikumi
E320	Butyylihydroksianisoli (BHA)	E415	Ksantaanikumi
E321	Butyylihydroksitolueeni (BHT)	E416	Karajakumi
E322	Lesitiinit	E417	Tarakumi
E325	Natriumlaktaatti	E418	Gellaanikumi
E326	Kaliumlaktaatti	E420	Sorbitoli
E327	Kalsiumlaktaatti	E420	Sorbitolisiirappi
E330	Sitruunahappo	E421	Mannitoli
E331	Mononatriumsitraatti	E422	Glyseroli
E331	Dinatriumsitraatti	E425	Konjak-hartsi
E331	Trinatriumsitraatti	E425	Konjak-glukomannaani
E332	Monokaliumsitraatti	E430	Polyoksietyleeni(8)monostearaatti
E332	Trikaliumsitraatti	E431	Polyoksietyleeni(40)-stearaatti
E333	Monokalsiumsitraatti	E432	Polyoksietyleenisorbitaani- monolauraatti (polysorbaatti 20)
E333	Dikalsiumsitraatti	E433	Polyoksietyleenisorbitaanimono- oleaatti (polysorbaatti 80)
E333	Trikaliumsitraatti	E435	Polyoksietyleenisorbitaanimono- stearaatti (polysorbaatti 60)
E334	L-viinihaapo	E440	Pektiini
E335	Mononatriumtartraatti	E440	Amidoitu pektiini
E335	Dinatriumtartraatti	E442	Ammoniumfosfatidi
E336	Monokaliumtartri	E444	Sakkaroosidiasetaattiheksa-isobutyraatti (SAIB)
E336	Dikaliumtartri	E445	Puuhartsien glyserolierit
E337	Natriumkaliumtartraatti	E450a	Natrium- ja kaliumdifosfaatit
E339	Mononatriummonofosfaatti	E450b	Natrium- ja kaliumtrifosfaatit
E339	Dinatriummonofosfaatti	E450c	Natrium - ja kaliumpolyfosfaatit
E339	Trinatriummonofosfaatti	E451	Pentanatriumtrifosfaatti
E340	Monokaliumfosfaatti	E452	Natriumpolyfosfaatti
E340	Dikaliumfosfaatti	E452	Kaliumpolyfosfaatti
E340	Trikaliumfosfaatti	E452	Kalsiumpolyfosfaatti
E341	Monokalsiumfosfaatti	E459	Betasyklodeksriini
E341	Dikalsiumfosfaatti	E460	Mikrokiteinen selluloosa
E341	Trikaliumfosfaatti	E460	Selluloosajauhe
E343	Monomagsiumfosfaatti	E461	Metyyliselluloosa
E343	Dimagnesiumfosfaatti		
E350	Natriummalaatti		
E350	Natriumvetymalaatti		
E351	Kaliummalaatti		
E352	Kalsiummalaatti		
E353	Metaviinihappo		

E462 Etyyliselluloosa	E514 Natriumsulfaatti
E463 Hydroksipropyyliselluloosa	E515 Kaliumsulfaatti
E464 Hydroksipropyylimetyyli-selluloosa	E515 Kaliumvetyksulfaatti
E465 Metyylietyyliselluloosa	E516 Kalsiumsulfaatti
E466 Karboksimeetyyliselluloosa (CMC), natriumkarboksimeetyyliselluloosa	E517 Ammoniumsulfaatti
E468 Sillloitettu natriumkarboksimeetyylisel- luloosa	E518 Magnesiumsulfaatti
E469 Entsymaattisesti hydrolysoitu karbok- simetyyliselluloosa	E519 Kuparisulfaatti
E470a Rasvahappojen natrium-, kalium- ja kalsiumsuolat	E520 Alumiinisulfaatti
E470b Rasvahappojen magnesiumsuolat	E521 Alumiininatriumsulfaatti
E471 Rasvahappojen mono- ja diglyseridit	E522 Alumiinikaliumsulfaatti
E472a Rasvahappojen mono- ja diglyseridien etikkahapoeesterit	E523 Alumiiniammoniumsulfaatti
E472b Rasvahappojen mono- ja diglyseridien maitohapoeesterit	E524 Natriumhydroksidi
E472c Rasvahappojen mono- ja diglyseridien sitruunahapoeesterit	E525 Kaliumhydroksidi
E472d Rasvahappojen mono- ja diglyseridien viinihapoeesterit	E526 Kalsiumhydroksidi
E472e Rasvahappojen mono- ja diglyseridien diasetyyliviinihapoeesterit	E527 Ammoniumhydroksidi
E472f Rasvahappojen mono- ja diglyseridien etikka- ja viinihapoeesterien seokset	E528 Magnesiumhydroksidi
E473 Rasvahappojen sakkaroosiesterit	E529 Kalsiumoksidi
E473 Sokeriglyseridit	E530 Magnesiumoksidi
E475 Rasvahappojen polyglyseroliesterit	E535 Natriumheksasyanoferraatti
E476 Polyglyserolipolyrisiiniolaatti	E536 Kaliumheksasyanoferraatti
E477 Rasvahappojen 1,2- propyleeniglykoliesterit	E538 Kalsiumheksasyanoferraatti
E479b Termisesti hapetettu ja polymerisoitu soijaöljy	E541 Natriumalumiinifosfaatti, hapan
E481 Natriumstearoyyli-2-laktylaatti	E551 Piioksidi
E482 Kalsiumstearoyyli-laktylaatti	E552 Kalsiumsilikaatti
E483 Stearyylitatraatti	E553a Magnesiumsilikaatti
E491 Sorbiinimonostearaatti	E553a Magnesiumtrisilikaatti
E492 Sorbiinitristearaatti	E553b talkki
E493 Sorbiinimonolauraatti	E554 Natriumaluminiumsilikaatti
E494 Sorbiinimono-oleaatti	E555 Kaliumalumiinisilikaatti
E495 Sorbiinimonopalmitaatti	E556 Kalsiumalumiinisilikaatti
E500 Natriumkarbonaatti	E558 Bentoniitti
E500 Natriumvetykarbonaatti	E559 Aluminiumsilikaatti (Kaoliini)
E500 Natriumseskvikarbonaatti	E560 Kaliumsilikaatti
E501 Kaliumkarbonaatti	E570 Rasvahapot
E501 Kaliumvetykarbonaatti	E572 Magnesiumstearaatti
E503 Ammoniumkarbonaatti	E474 Glukonihappo
E503 Ammoniumvetykarbonaatti	E575 Glukodeltalaktoni
E504 Magnesiumkarbonaatti	E576 Natriumglukonaatti
E504 Magnesiumvetykarbonaatti	E577 Kaliumglukonaatti
E507 Suolahappo	E578 Kalsiumglukonaatti
E508 Kaliumkloridi	E579 Rauta(II)glukonaatti
E509 Kalsiumkloridi	E585 Rauta(II)laktaatti
E511 Magnesiumkloridi	E620 Glutamiinihappo
E512 Tinakloridi	E621 Mononatriumglutamaatti
E513 Rikkihappo	E622 Monokaliumglutamaatti
	E623 Kalsiumdiglutamaatti
	E624 Monoammoniumglutamaatti
	E625 Magnesiumdiglutamaatti
	E626 Guanyylihappo
	E627 Dinatriumguanylaatti
	E628 Dikaliumguanylaatti
	E629 Kalsiumguanylaatti
	E630 Inosiinihappo
	E631 Dinatriuminosinaatti
	E632 Dikaliuminosinaatti
	E633 Kalsiuminosinaatti
	E634 Kalsium-5'-ribonukleotidit

E635 Dinatrium-5'-ribonukleotidit	E1414 Asetyloitu ditärkkelysfosfaatti
E640 Glysiini ja natriumsuola	E1420 Tärkkelysasettaatti AA
E641 L-Leusiini	E1421 Tärkkelysasettaatti VA
E650 Sinkkiasetaatti	E1422 Asetyloitu ditärkkelysadipaatti
E900 Dimetyylipolysiloksaani	E1440 Hydroksipropyylitärkkelys
E901 Mehiläisvaha, valkoinen ja keltainen	E1442 Hydroksipropyylitärkkelys-
E902 Kadellivaha	fosfaatti
E903 Karnaubavaha	E1450 Natriumoktenyylisukkinaatti- tärkke-
E904 Sellakka	lys
E905 Mikrokiteinen vaha	E1451 Asetyloitu hapetettu tärkkelys
E905 Parafiini ja parafiinivaha	E1505 Trietyylisitraatti
E907 Vetykäsitelty poly-1-dekeeni	E1517 Glyseryylidiasetaatti
E912 Montaanahapon esterit	E1518 Glyserolitriasettaatti
E914 Hapetettu polyeteenivaha	E1519 Bentsyylialkoholi
E920 L-Kysteinihydrokloridi	E1520 Propaani-1.2-dioli, propyleeniglykoli
E920 L-kysteini	E1521 Polyetyleeniglykoli
E927b Karbamidi	E1525 Etyyliselluloosa
E938 Argon	
E939 Helium	
E941 Typpi	
E942 Typpimonoksidi	
E943a Butaani	
E943b Isobutaani	
E944 Propaani	
E948 Happi	
E949 Vety	
E950 Asesulfaami K	
E951 Aspartaami	
E952 Syklamihappo ja sen kalsium- ja natri-	
umsuolat	
E953 Isomaltitoli, isomalti	
E954 Sakariini ja sen kalsium- ja natrium-	
suolat	
E955 Sukraloosi	
E957 Taumatiini	
E959 Neohesperidiini, DC	
E962 Aspatraamiasulfaamisuoala	
E965 Maltitoli	
E965 Maltitolisiirappi	
E966 Laktitoli	
E967 Ksylitoli	
E968 Erytrioli	
E999 Kvillauute	
E1100 Amylaasi	
E1101 Proteaasi	
E1102 Glukoosioksidaasi	
E1103 Invertaasi	
E1105 Lysotsyymi	
E1200 Poludekstroosi	
E1201 Polyvinyylipyrrolidoni	
E1202 Polyvinyylipolypyrrolidoni	
,liukenematon	
E1403 Valkaistu tärkkelys	
E1404 Hapetettu tärkkelys	
E1410 Monotärkkelysfosfaatti	
E1412 Ditärkkelysfosfaatti	
E1413 Fosfatoitu ditärkkelysfosfaatti	

## Liite 2 Elintarvikevärıkromatografia - Työohje opettajalle

### *Työn taustaa*

Elintarvikevärit ovat tavallisimpia lisäaineita. Väriaineet – kuten lisäaineet yleensä ovat hyvin sekalainen joukko eri tyyppisiä yhdisteitä.

Elintarvikevärejä voidaan tutkia tai tunnistaa ohutlevykromatografialla (Lehtiniemi, K., *Mooli 1*, 2005). Ohutlevykromatografia on yksinkertainen erotus- ja analyysimenetelmä, jonka avulla tässä työssä eri väriaineet voidaan tunnistaa. Kullakin väriaineella on sille ominainen  $R_f$ -arvo.  $R_f$ -arvoksi kutsutaan arvoa, jossa jaetaan näytetäplän kulkema matka liuotinrintaman kulkemalla matkalla.  $R_f$ -arvo on olosuhteista riippuvainen.  $R_f$ -arvot ovat uniikkeja kullekin kokeelle, eikä niitä välttämättä pystytä suoraan vertaamaan eri kokeiden välillä.

Osa teollisista elintarvikeväreistä koostuu useammasta yksittäisestä väriaineyhdisteestä.

### *Välineet ja reagenssit*

- Elintarvikevärejä, liuoksia tai jauheita
- Mittalasi tai mittapipettejä
- Etanolia  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (l)
- 1-Butanolia,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$  (l)
- Ammoniakkiliuosta 25 - 30%  $\text{NH}_3(\text{aq})$
- Dekanterilaseja
- Silikageelilevyjä
- Kromatografiakammio tai iso lasipurkki
- Alumiinifoliota tai kansi edelliseen
- Hiuskapillaareja, kapillaaripipettejä tai lasikapillaariputkea
- Bunsenliekki tai vastaava

Sekoita dekanterilasissa 4 ml etanolia, 12 ml butanolia ja 4 ml ammoniakkiliuosta. Ota lasikapillaariputkesta 20 cm paloja. Kuumenna lasikapillaarin pätkän keskikohtaa bunsenliekissä punahehkuun. Venytä niin kauan, että lasikapillaari katkeaa. Valmista mah-

dollisimman ohutkärkisiä annosteluvälineitä. Voi olla, että tehdyn annosteluvälineen kärjestä pitää varovasti taittaa pala pois. Ohuena materiaalina kapillaariputkia on helppoa käsitellä.

Jos elintarvikevärit ovat kiinteitä, liuota pieni määrä, spaattelin kärjellinen muutamaan pisaraan vettä esim. 10 ml:n dekanterilasissa. Liuosmaisia värejä voidaan käyttää sellaisenaan. Tee sekoitus kaikista väreistä laittamalla pisara kutakin väriä esim. pieneen dekantterilasiin. Leikkaa silikageelilevystä sopiva pala riippuen väriaineiden määrästä. Isolle levyille, 20 x 20 cm, mahtuu 10 näytettä. Piirrä 1,5 cm:n korkeudelle levyn alareunaan kevyesti painaen viiva lyijykynällä. Siirrä kapillaaripipetillä tai tehdyllä annostelutyökalulla piirretylle viivalle kutakin värinäytettä yksi pisara tai pidä kunkin annosteluvälineen kärkeä niin kauan kiinni levyssä, että saadaan samankokoiset täplät.

Vie silikageelilevy kromatografiakammioon tai varovasti kierrettynä C:n muotoisena isoon lasipurkkiin. Varmista, että joka kohdassa levyn alareuna on kiinni astian alareunassa, että tulokset olisivat vertailukelpoisia. Kaada eluentiliuosta varovasti astian reunaan pitkin niin, että nestepinta on ihan vähän piirretyn viivan alapuolella. Peitä astia sopivalla kannella tai laita päälle alumiinifolio. Anna astian olla rauhassa niin kauan, että eluentti on noussut sopivalle korkeudelle. Riippuu näytteistä, mutta sopiva aika lienee 45 min.

Ota levy pois. Merkitse eluentin korkeus ja täplien paikat. Mittaa ne viivoittimella levyn kuivuttua. Jos jäljet ovat heikkoja, pitää ne mitata määstä levystä tai merkitä varovasti märkään levyyn. Laske kullekin täplälle  $R_f$ -arvo.  $R_f$ -arvot saadaan jakamalla näytteen kulkema matka täplän yläreunasta liuottimen kulkemalla matkalla. Paikallaan pysyneelle näytteelle  $R_f$ -arvo on 0.  $R_f$ -arvo on yksikötön. Vertaile seoksen täplien  $R_f$ -arvoja yksittäisten värien  $R_f$ -arvoihin. Huomaa, että työssä käytettävä eluentti on kolmen eri nesteen seos, jonka vuoksi väriaineiden kromatogrammit saattavat fraktioitua useiksi eri pisteiksi. Väriaineet voidaan tunnistaa omanlaistensa kromatogrammien avulla. Kirjaa havainnot ja lasketut  $R_f$ -arvot ylös. Aikaa työ vie paljon. Töihin menee 15 min, ja mittauksen ainakin 45 min riippuen näytteistä. Työ kannattakin tehdä kaksoistunnilla. Mittauksen aikana voi tehdä jotain muuta.

***Kommentteja opettajalle ja arvio työstä oppilastyönä***

Työ vaatii suurta huolellisuutta. Lasin käsittely ja kapillaariputkien venytys vaatii harjoitusta, jos päädytään tekemään annostelutyökalu lasikapillaarista. Pisarojen on oltava riittävän pieniä, etteivät värit leviä. Samankokoisiakin niiden on oltava, että  $R_f$ -arvot ovat vertailukelpoisia.

Alunperin työohje on tarkoitettu lukion pakolliselle kemiankurssille. Periaatteessa työ soveltuu siinä mielessä parhaiten tälle pakolliselle kurssille, koska elintarvikkeiden lisäaineet aiheena liittyy eniten juuri Elämän kemia teemaan. Toisaalta työ soveltuu hyvin myös laboratoriotyökurssille, jos sellainen koulussa järjestetään. Työ on teorialtaan ja laskuiltaan hyvin yksinkertainen, mutta tulokset voivat olla joskus tulkinnanvaraisia. Opettajan pitää korostaa, että ohutlevykromatografia on lähinnä suuntaa antava menetelmä. Erittäin hyvä käytännön sovellus tästä työstä voisi olla jonkin voimakkaasti värjätyin elintarvikkeen väriaineen uuttaminen

Oppilaalle tulee työn myötä tutuksi keskeisen tutkimus- ja erotusmenetelmän, kromatografian periaate.

## Elintarvikevärıkromatografia - Työohje oppilaalle

### *Työn taustaa*

Elintarvikevärit ovat tavallisimpia lisäaineita. Väriaineet – kuten lisäaineet yleensä ovat hyvin sekalainen joukko eri tyyppisiä yhdisteitä.

Elintarvikevärejä voidaan tutkia tai tunnistaa ohutlevykromatografialla (Lehtiniemi, K., *Mooli 1* 2005). Ohutlevykromatografia on yksinkertainen erotus- ja analyysimenetelmä, jonka avulla tässä työssä eri väriaineet voidaan tunnistaa. Kullakin väriaineella on sille ominainen  $R_f$ -arvo.  $R_f$ -arvoksi kutsutaan arvoa, jossa jaetaan näytetäplän kulkema matka liuotintaman kulkemalla matkalla.  $R_f$ -arvo on olosuhteista riippuvainen.  $R_f$ -arvot ovat uniikkeja kullekin kokeelle, eikä niitä välttämättä pystytä suoraan vertaamaan eri kokeiden välillä.

Osa teollisista elintarvikeväreistä koostuu useammasta yksittäisestä väriaineyhdisteestä.

### *Välineet ja reagenssit*

- Elintarvikevärejä, liuoksia tai jauheita
- Mittalasi tai mittapipettejä
- Etanolia  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (l)
- 1-Butanolia,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$  (l)
- Ammoniakkiliuosta 25 – 30 %  $\text{NH}_3(\text{aq})$
- Dekanterilaseja
- Silikageelilevyjä
- Kromatografiakammio tai iso lasipurkki
- Alumiinifoliota tai kansi edelliseen
- Hiuskapillaareja, kapillaaripipettejä tai lasikapillaariputkea
- Bunsenliekki tai vastaava

Sekoita dekanterilasissa 4 ml etanolia, 12 ml butanolia ja 4 ml ammoniakkiliuosta. Ota lasikapillaariputkesta 20 cm paloja. Kuumenna lasikapillaarin pätkän keskikohtaa bunsenliekissä punahehkuun. Venytä niin kauan, että lasikapillaari katkeaa. Valmista mahdollisimman ohutkärkisiä annosteluvälineitä. Voi olla, että tehdyn annosteluvälineen

kärjestä pitää varovasti taittaa pala pois. Ohuena materiaalina kapillaariputkia on helppoa käsitellä.

Jos elintarvikevärit ovat kiinteitä, liuota pieni määrä, spaattelin kärjellinen muutamaan pisaraan vettä esim. 10 ml:n dekanterilasissa. Liuosmaisia värejä voidaan käyttää sellaisenaan. Tee sekoitus kaikista väreistä laittamalla pisara kutakin väriä esim. pieneen dekanterilasiin. Leikkaa silikageelilevystä sopiva pala riippuen väriaineiden määrästä. Isolle levyille, 20 x 20 cm, mahtuu 10 näytettä. Piirrä 1,5 cm:n korkeudelle levyn alareunaan kevyesti painaen viiva lyijykynällä. Siirrä kapillaaripipetillä tai tehdyllä annostelutyökalulla piirretylle viivalle kutakin värinäytettä yksi pisara tai pidä kunkin annosteluvälineen kärkeä niin kauan kiinni levyssä, että saadaan samankokoiset täplät.

Vie silikageelilevy kromatografiakammioon tai varovasti kierrettynä C:n muotoisena isoon lasipurkkiin. Varmista, että joka kohdassa levyn alareuna on kiinni astian alareunassa, että tulokset olisivat vertailukelpoisia. Kaada eluenttiliuosta varovasti astian reunaan pitkin niin, että nestepinta on ihan vähän piirretyn viivan alapuolella. Peitä astia sopivalla kannella tai laita päälle alumiinifolio. Anna astian olla rauhassa niin kauan, että eluentti on noussut sopivalle korkeudelle. Riippuu näytteistä, mutta sopiva aika lienee 45 min.

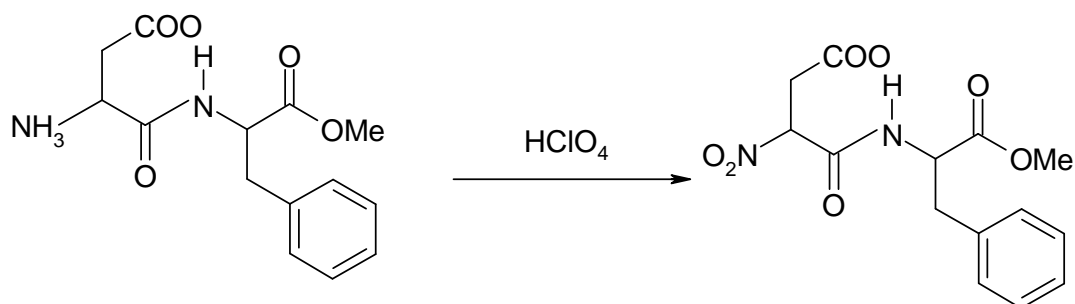
Ota levy pois. Merkitse eluentin korkeus ja täplien paikat. Mittaa ne viivoittimella levyn kuivuttua. Jos jäljet ovat heikkoja, pitää ne mitata määstä levystä tai merkitä varovasti märkään levyyn. Laske kullekin täplälle  $R_f$ -arvo.  $R_f$ -arvot saadaan jakamalla näytteen kulkema matka täplän yläreunasta liuottimen kulkemalla matkalla. Paikallaan pysyneelle näytteelle  $R_f$ -arvo on 0.  $R_f$ -arvo on yksikötön. Vertaile seoksen täplien  $R_f$ -arvoja yksittäisten värien  $R_f$ -arvoihin. Huomaa, että työssä käytettävä eluentti on kolmen eri nesteen seos, jonka vuoksi väriaineiden kromatogrammit saattavat fraktioitua useiksi eri pisteiksi. Väriaineet voidaan tunnistaa omanlaistensa kromatogrammien avulla. Kirjaa havainnot ja lasketut  $R_f$ -arvot ylös.



## Liite 3 Aspartaamipitoisuuden määrittäminen makeutusainetableteista -Työohje opettajalle

### *Yleistä*

Aspartaamipitoisuus voidaan määrittää titraamalla sitä perkloorihapolla (Visplava P. 1988), mutta olosuhteiden on oltava vedettömät. Liuottimena käytetään väkevää etikkahappoa ja indikaattorina resazuriinia. Resazuriini on hapetus-pelkistysindikaattori. Titrausreaktio kuvassa 1.



Kuva 1. Aspartaamin titrausreaktio perkloorihapon kanssa

### *Työturvallisuudesta*

Perkloorihappo on vahva hapetin, ja protolyytinäkin vahvempi kuin tavanomaiset mineraalihat. Se on voimakkaasti syövyttävää, eikä oppilaiden pidä antaa käsitellä sitä laimentamattomana. Etikkahappokin on syövyttävää, ja väkevästä etikkahaposta haihtuu tukahduttavan voimakasta etikkahappohöyryä. Etikkahappoa ja sen anhydridiä pitää käsitellä vetokaapissa. Indikaattorireagenssit ovat voimakkaasti sotkevia. On siis paras, että opettaja valmistaa kaikki tässä työssä tarvittavat liuokset näytettä lukuun ottamatta.

### ***Tarvittavat välineet ja reagenssit***

- aspartaami
- etikkahappo 100 %
- etikkahappoanhydridi
- perkloorihappo 70 - 72 %
- kaliumvetyftalaatti
- resazuriini, kiinteä tai 0,1 % liuos 100 % etikkahapossa
- Kristallinvioletti, kiinteä tai 0,1 % liuos 100 % etikkahapossa
- makeutusainetabletteja, joissa on aspartaamia, E951, esim. Pirkka

### ***Liuosten valmistus***

#### ***Indikaattorit***

Punnitse indikaattoreita, resazuriinia ja kristallinviolettia 0,1 g. Liuota kumpikin 100 ml:ksi etikkahappoon.

#### ***Perkloorihappoliuos***

Ota 0,85 ml perkloorihappoa 200 ml mittapulloon. Lisää n. 100 ml 100 %:sta etikkahappoa. Lisää 2,5 ml etikkahappoanhydridiä varmistamaan vedettömyys. Laimenna 200 ml:ksi etikkahapolla. Tarkisteta konsentraatio kaliumvetyftalaatilla: Valmista 0,1 M kaliumvetyftalaattiliuos punnitsemalla 2,044 g kaliumvetyftalaattia, 0,01 mol, ja liuottamalla tämän etikkahappoon. Ota 1 ml kaliumvetyftalaattiliuosta, ja titraa se 5 ml:n byretillä valmistetulla perkloorihapotitrantilla. Käytä indikaattorina kristallinviolettiä. Väri muuttuu ekvivalenttipisteessä violetista keltaiseksi. Toista titraus pari kertaa, ja laske tulosten keskiarvo. Ilmoita oppilaille perkloorihapon tarkistettu konsentraatio, tai anna tarvittavat tiedot sen laskemiseen. Melko tarkkoihin tuloksiin kuitenkin päästään vaikei tarkistustitrausta tehtäisikään. On syytä huomata, että titrantti ei säily montaa päivää

#### ***Aspartaamin standardiliuos***

Pa.-laatuinen aspartaami on kallista, joten standardiliuosta kannattaa tehdä vain vähän. Riittää, kun esim. opettaja tai yksi ryhmä / työpari tekee titrauksen standardiliuoksella.

Valmista standardiliuos liuottamalla tarkasti noin 20 - 80 mg aspartaamia mittapullossa 20 ml:ksi etikkahappoon. Liuoksen määrän voi tarvittaessa puolittaa.

### ***Aspartaamin määrittäminen makeutusainetableteista***

Huomautus: Varmista, että kaikki käyttämäsi välineet ovat ehdottoman kuivia, sillä vesi häiritsee määrittämistä.

Punnitse tarkasti kaksi makeutusainetablettia. Liuota ne 50 ml:n erlenmeyerpullossa etikkahappoon lasisauvaa apuna käyttäen. Lisää muutama pisara resazuriini-indikaattoria. Hyvä olisi, jos käytettävissä olisi magneettisekoitin ja -sauva, sillä tableteissa on ylimääräisiä ainesosia, jotka eivät liukene etikkahappoon. Analyysiä ne kuitenkin eivät häiritse. Lisää sekaan 10 ml etikkahappoa. Valmistele ainakin toinen samanlainen näyte.

Täytä 5 ml:n byretti tai mikrobyretti 0,05 N perkloorihappotitrantilla. Käytä laskuissa tarkistettua konsentraatiota, mikäli mahdollista. Huuhtelee byrettia titrantilla valuttamalla se kerran tyhjäksi. Täytä byretti merkkiin asti. Valuta titranttia varovasti, ei liian nopeasti, näytteeseen, ja kirjaa ylös lukema, jossa indikaattorin väri vaihtui lohenpunaisesta oranssiksi. Toista titraus uusilla näytteillä.

Jos käytettävissä on aspartaamin standardiliuos, ota standardiliuoksesta 2,0 ml:n näyte 50 ml:n erlenmeyerpulloon. Lisää muutama pisara resazuriini-indikaattoria. Titraa 0,05 N perkloorihappotitrantilla värinmuutospisteeseen asti. Tee ainakin toinen rinnakkainen määrittäminen

Laske aspartaamin määrä yhdessä tabletissa milligrammoina sekä prosenttiosuutena. Tulos, massa, voidaan laskea kemian perusyhtälöillä titrantin ainemäärästä ja aspartaamin molekyylimassasta, 294,31 g/mol. Toinen vaihtoehto on laskea verrannolla standardiliuoksesta. Kirjaa tulokset ylös, ja käytä niitä seuraavissa tehtävissä.

### ***Tehtäviä***

Aspartaamin ADI-arvo, "Acceptable Daily Intake", maksimisaantisuositus painokiloa kohden vuorokaudessa on 40 mg / painokilo. Kuinka monta Pirkan makeutusainetablettia voi 50 kg painava oppilas vuorokaudessa nauttia ADI-arvon puitteissa?

Kuinka suurta määrää tavallista sokeria, sakkaroosia yhden Pirkan makeutusaine-tabletin makeus vastaa, jos oletetaan aspartaamin makeuden olevan 160-kertainen sakkaroosiin nähden?

### ***Ratkaisut tehtäviin***

ADI-arvon mukainen aspartaamin kokonaismäärä on  $50 \text{ kg} \cdot 40 \text{ mg} / \text{kg} = 2000 \text{ mg}$ . Yhdessä tabletissa määritettiin olevan 24 mg aspartaamia. Tällöin tabletteja voi syödä  $2000 \text{ mg} / 24 \text{ mg} \approx \underline{83 \text{ kpl}}$

Kerrotaan yhdessä tabletissa olevan aspartaamin makeusarvokertoimella:  $24 \text{ mg} \cdot 160 = 3840 \text{ mg} \approx \underline{3,8 \text{ g}}$

### ***Tulosten käsittely- ja laskuohje***

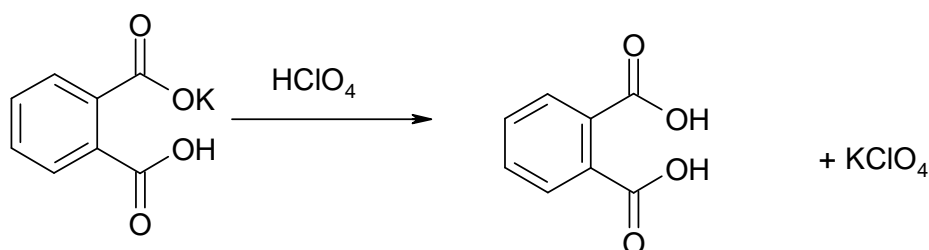
#### ***Perkloorihappoliuoksen konsentraation tarkistus:***

Reaktioyhtälön (kuva 2) kertoimien mukaan perkloorihapon ainemäärä titrausreaktiossa on yhtä suuri kuin kaliumvetyftalaatin ainemäärä, joka puolestaan saadaan kaliumvetyftalaattiliuoksen konsentraation, 0,1 M perusteella.

$$n = c \cdot V$$

Yhtälössä  $n$  = perkloorihapon ainemäärä,  $c$  = kaliumvetyftalaatin konsentraatio, 0,1 M ja  $V$  = kaliumvetyftalaattiliuoksen tilavuus, 1 ml

$$n = 0,1 \text{ M} \cdot 1,00 \cdot 10^{-3} \text{ l} = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$$



Kuva 2. Perkloorihapon tarkistustitraus kaliumvetyftalaatilla - reaktio

Tästä päästään perkloorihappotitrantin konsentraatioon.

$$c = n / V(\text{HClO}_4)$$

Yhtälössä  $c$  = perkloorihapon konsentraatio,  $n$  = edellä johdettu perkloorihapon ainemäärä,  $1 \cdot 10^{-4}$  mol, ja  $V$  = titrantin kulutus litroina

### *Näytteiden titraus*

Aspartaamin massa näytteissä saadaan tarkistetun perkloorihapon konsentraation, titrantin kulutuksen ja aspartaamin moolimassan, 294,31 g / mol, tulona.

$$m(\text{aspartaami}) = c(\text{HClO}_4) \cdot V(\text{titranti}) \cdot M(\text{aspartaami})$$

Aspartaamin prosentuaalinen määrä saadaan jakamalla analysoitu aspartaamipitoisuus tablettien kokonaismassalla. Käytetään laskuissa näytteen sisältämien kahden tabletin massaa ja niistä analysoitua aspartaamipitoisuutta

$$\text{Aspartaami-\%} = m(\text{aspartaami}) / m(\text{tabletit}) \cdot 100 \%$$

Jos käytetään standardiliuosta, ei välttämättä tarvita perkloorihappotitrantin tarkistustitrausta, vaan tulos saadaan yksinkertaisesti verrannosta. Aspartaamipitoisuuden, mg / 100 ml, suhde titrantin kulutukseen on vakio.

### *Kommentteja opettajalle ja arvio työstä oppilastyönä*

Alunperin titraus on suunniteltu 50 ml:n byretille. Etikkahaposta lähtee voimakkaasti ärsyttäviä höyryjä. Työ toimii varsin hyvin pienemmilläkin ainemäärillä. 5 ml:n byretti todettiin sopivaksi. Mikäli sellaisia ei ole, voi käyttää pipetistä rakennettua mikrobyrettiä. Värimuutos resazuriinilla on aika selkeä huomata.

Työ on helppo yksinkertainen titraus, ja se sopii moneenkin asiayhteyteen, esim. elintarvikekemiaan laboratoriotyökurssille tai tutkimusprojektiin. Tulokset on helposti las-

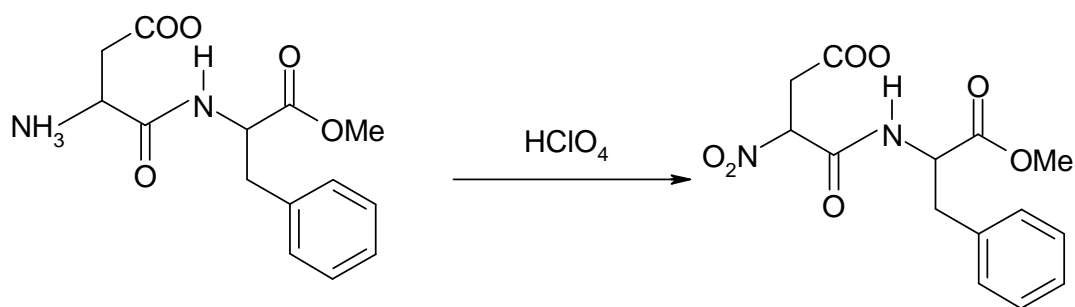
kettavissa. Teoria titrausreaktiosta on monimutkainen, ja siksi reaktioyhtälöt on annettu valmiina.

## Aspartaamipitoisuuden määrittäminen makeutusainetableteista - työohje oppilaalle

### *Yleistä*

Aspartaami, E951 lienee nykyisin käytetyimpiä makeutusaineita, vaikkakin ehkä maailman suosituimman virvoitusjuoman, Coca Colan light – versiossa nykyisin sen käytöstä ollaan luovuttu. Sen sijaan Coca Cola Zerossa on aspartaamia. Aspartaamin terveyshaitoista on varsin ristiriitaista tietoa. Jostain syystä aspartaamin haitoista kertoviin tutkimuksiin ei suhtauduta vakavasti, vaan edelleen virallisesta tiedotuksesta vastaavien tahojen kuten Elintarvikeviraston ja Euroopan elintarviketurvallisuusviraston kanta on, että aspartaami on täysin turvallinen lisäaine. Enimmäissaantisuositus, ADI-arvo on 40 mg painokiloa kohti vuorokaudessa, mikä vastaa suunnilleen neljää litraa aspartaamilla makeutettua light-juomaa.

Aspartaamipitoisuus voidaan määrittää titraamalla sitä perkloorihapolla (Visplava P. 1988), mutta olosuhteiden on oltava vedettömät. Liuottimena käytetään väkevää etikkahappoa ja indikaattorina resazuriinia. Resazuriini on hapetus-pelkistysindikaattori. Titrausreaktio kuvassa 1.



Kuva 1. Aspartaamin titrausreaktio perkloorihapon kanssa

### *Työturvallisuudesta*

Perkloorihappo on vahva hapetin, ja protolyytinäkin vahvempi kuin tavanomaiset mineraalihatot. Se on voimakkaasti syövyttävää, eikä oppilaiden pidä antaa käsitellä sitä laimentamattomana. Etikkahappokin on syövyttävää, ja 100 %:sta haihtuu tukahdutta-

van voimakasta etikkahappohöyryä. Etikkahappoa ja sen anhydridiä pitää käsitellä vetokaapissa. Indikaattorireagenssit ovat voimakkaasti sotkevia. On siis parasta, että opettaja valmistaa kaikki tässä työssä tarvittavat liuokset näytettä lukuun ottamatta.

### ***Tarvittavat välineet ja reagenssit***

- aspartaamin standardiliuos 100...400 mg /100 ml
- etikkahappo 100 %
- perkloorihappoliuos, tarkasti n. 0,05 N 100 %:ssa etikkahapossa
- kaliumvetyftalaatti
- resazuriini, kiinteä tai 0,1 % liuos 100 %:ssa etikkahapossa
- Kristallinvioletti, kiinteä tai 0,1 % liuos 100 %:ssa etikkahapossa
- makeutusainetabletteja, joissa on aspartaamia, E951 (esim. Pirkka)

### ***Aspartaamin määrittäminen makeutusainetableteista***

Huomautus: Varmista, että kaikki käyttämäsi välineet ovat ehdottoman kuivia, sillä vesi häiritsee määrittäystä.

Punnitse tarkasti kaksi makeutusainetablettia. Liuota ne 50 ml:n erlenmeyerpullossa etikkahappoon lasisauvaa apuna käyttäen. Lisää muutama pisara resazuriini-indikaattoria. Hyvä olisi, jos käytettävissä olisi magneettisekoitin ja -sauva, sillä tableteissa on ylimääräisiä ainesosia, jotka eivät liukene etikkahappoon. Analyysiä ne kuitenkin eivät häiritse. Lisää sekaan 10 ml etikkahappoa Valmistele ainakin toinen samanlainen näyte.

Täytä 5 ml:n byretti (tai mikrobyretti) 0,05 N perkloorihappotitrantilla. Käytä laskuissa tarkistettua konsentraatiota, mikäli mahdollista. Huuhtelee byrettiä titrantilla valuttamalla se kerran tyhjäksi. Täytä byretti merkkiin asti. Valuta titranttia varovasti, ei liian nopeasti, näytteeseen, ja kirjaa ylös lukema, jossa indikaattorin väri vaihtui lohenvuonaisesta oranssiksi. Toista titraus uusilla näytteillä.

Jos käytettävissä on aspartaamin standardiliuos, ota standardiliuoksesta 2,0 ml:n näyte 50 ml:n erlenmeyerpulloon. Lisää muutama pisara resazuriini-indikaattoria.



Titraa 0,05 N perkloorihappotitrantilla värinmuutospisteeseen asti. Tee ainakin toinen rinnakkainen määrittely

Laske aspartaamin määrä yhdessä tabletissa milligrammoina sekä prosenttiosuutena. Tulos, massa, voidaan laskea kemian perusyhtälöillä titrantin ainemäärästä ja aspartaamin molekyylimassasta, 294,31 g/mol. Käytä laskuissa tarkistettua perkloorihappoliuoksen konsentraatiota. Toinen vaihtoehto on laskea verrannolla standariliuoksesta. Kirjaa tulokset ylös, ja käytä niitä seuraavissa tehtävissä.

### ***Tehtäviä***

Aspartaamin ADI-arvo, "Acceptable Daily Intake", maksimisaantisuositus painokiloa kohden vuorokaudessa on 40 mg / painokilo. Kuinka monta Pirkan makeutusainetablettia voi 50 kg painava oppilas vuorokaudessa nauttia ADI-arvon puitteissa?

Kuinka suurta määrää tavallista sokeria, sakkaroosia yhden Pirkan makeutusainetabletin makeus vastaa, jos oletetaan aspartaamin makeuden olevan 160-kertainen sakkaroosiin nähden?

## **Liite 4 Askorbiinihappopitoisuuden, C-vitamiinin määrittäminen titrimetrisesti - opettajan ohje**

### ***Työturvallisuudesta***

Jodiyhdisteiden nauttiminen voi aiheuttaa kilpirauhasen toimintahäiriöitä. Jodille ja jodiyhdisteille voi olla allerginen. On syytä ottaa selvää, ettei kukaan ole allerginen. Pienikin määrä sublimoitunutta jodia saattaa laukaista vakavankin allergiareaktion.

### ***Tarvikkeet ja reagenssit***

- Askorbiinihappo
- Jodi
- Kaliumjodidi
- Mehuja tai muita nestemäisiä tuotteita, joissa on askorbiinihappoa
- Tärkkelys
- Etanoli
- 5 ml byretti tai mikrobyretti, koura kaksoispuuristin ja statiivi
- 50 ml erlenmeyer-pulloja
- 2 ml täyppipettejä tai vastaavan kokoisia lääkeruiskuja
- 100 ml mittapullo
- 200 ml mittapullo
- 50 ml keitinlasi
- 200 ml keitinlasi
- Lasisauva

### ***Liuosten valmistus***

#### ***Askorbiinihapon standardiliuos***

Punnitse tarkasti noin 0,1 g askorbiinihappoa. Liuota 100 ml:aan tislattua vettä 100 ml:n mittapullossa.

***Jodi-kaliumjodidiliuos***

Punnitse tarkasti 0,5 g jodia ja 2 g kaliumjodidia. Liuota molemmat yhdessä 100 mg:aan tislattua vettä. Jodi ei liukene veteen, mutta liukenee kaliumjodidin vesiliuokseen. Laimenna mittapullossa 200 ml:ksi etanolilla. Liuosta säilytetään valolta suojattuna.

***Tärkkelysliuos***

Lietä 1 g tärkkelystä 15 mg:aan vettä. Kuumenna 100 ml ionivaihdettua kiehuvaaksi. Kaada koko ajan lasisauvalla sekoittaen tärkkelysliete ohuena nauhana kiehuvan veden sekaan. Kun kiehumispiste on saavutettu, siirrä liuos jäähtymään.

***Titraus***

Kiinnitä byretti kouran ja kaksoispuristimen avulla statiiviin. Täytä byretti jodiliuoksella, ja valuta se kerran tyhjäksi. Täytä byretti uudelleen varmistaen, ettei liuoksessa ole kaviteettejä.

Ota 50 ml:n erlenmeyerpulloon 2 ml standardiliuosta 2 ml:n täyppipetillä tai lääkeruiskulla. Lisää lääkeruiskulla 1 ml tärkkelysliuosta indikaattoriksi. Titraa ekvivalenttipisteeseen asti. Ekvivalenttipisteessä tulee esiin jodi-tärkkelyskompleksin sininen, melkein musta väri. Toista tiraus ainakin kahdesti niin, että tulokset ovat samoja 0,01 ml:n tarkkuudella. Laske standardiliuoksen askorbiinihappopitoisuus jodiliuoksen lasketun konsentraation avulla. Ilmoita askorbiinihappopitoisuus milligrammoina 100 ml:aa kohti, kuten elintarvikkeissa yleisesti on tapana.

Ota valittuja näytteitä 2 ml täyspipetillä tai lääkeruiskulla 50 ml:n erlenmeyer-pulloon. Titraa samoin kuten standardiliuosta. Toista tiraus ainakin kahdesti niin, että tulokset ovat samoja 0,01 ml:n tarkkuudella. Laske askorbiinihappopitoisuus vertaamalla standardiliuokseen:

Näytteen askorbiinihappopitoisuus = titrantin kulutus näytteessä / titrantin kulutus standardiliuoksessa · standardiliuoksen askorbiinihappopitoisuus.

***Kommentteja opettajalle ja arvio työstä oppilastyönä***

Oppilastyönä askorbiinihapon jodometrinen titraus on varmasti mielenkiintoa herättävä. C-vitamiini katsotaan terveystieteissä varsinkin tärkeäksi, ja oppilaat ovat kiinnostuneet mitkä elintarvikkeet sisältävät askorbiinihappoa. Työ ei suoranaisesti ole lisäaineanalytiikkaa, mutta askorbiinihapolla on myös lisäainekäyttöä antioksidanttina.

Titraus on melko yksinkertainen ja värinmuutos selkeä. Aikaa työn suorittamiseen menee alle puoli tuntia, jos liuokset on tehty valmiiksi. Jos oppilaiden annetaan tehdä liuokset itse, menee aikaa yli tunti. Lienee parasta, että opettaja tekee ainakin jodi- ja tärkkelysluokset.

## Askorbiinihappopitoisuuden, C-vitamiinin määrittäminen titrimetrisesti - oppilaan ohje

### *Työturvallisuudesta*

Jodiyhdisteiden nauttiminen voi aiheuttaa kilpirauhasen toimintahäiriöitä. Jodille ja jodiyhdisteille voi olla allerginen. On syytä ottaa selvää, ettei kukaan ole allerginen. Pienikin määrä sublimoitunutta jodia saattaa laukaista vakavankin allergiareaktion.

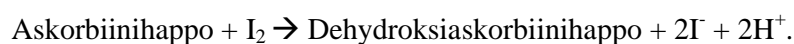
### *Teoriaa*

C-vitamiini, askorbiinihapon L-enantiomeeri (Fessenden, R., 2004) on luonnossa esiintyvä orgaaninen happo, jota on mm. kasviksissa ja hedelmissä. Ihminen tarvitsee sitä moniin elintoimintoihinsa. C-vitamiini toimii elimistössä antioksidanttina eli estää eräiden yhdisteiden hapettumista.

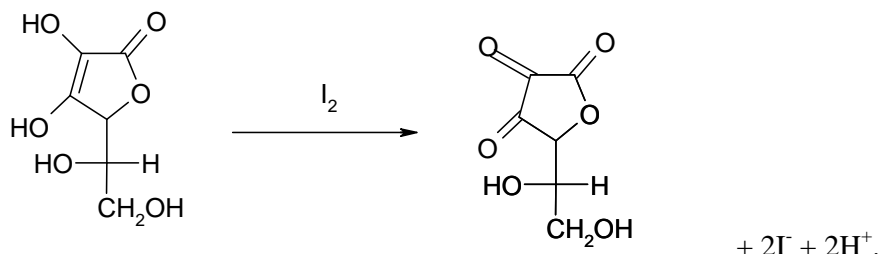
C-vitamiini on myös lisäaine. Elintarviketeollisuus käyttää askorbiinihappoa, E300 ja sen suoloja, mm. natriumaskorbaattia, E301 ja kalsiumaskorbaattia, E302 estämään hapettumista myös elintarvikkeissa. Jonkin verran sitä lisätään vitamiinoimaan elintarvikkeita.

Myös askorbiinihapon toista optista isomeeriä, D-askorbiinihappoa käytetään antioksidanttina. D-muotoa ei esiinny luonnossa, eikä D-muodolla ole vitamiinivaikutusta.

Monissa hedelmissä, mm. sitruhedelmissä, on luontaisesti melko paljonkin C-vitamiinia. Hedelmämehuista ja tuotteista, joissa askorbiinihappoa on lisäaineena, voidaan askorbiinihappopitoisuutta analysoida jodometrisellä titrauksella (Välisaari, 2005a). Näytettä titrataan liuoksella, jossa on alkuainejodia ja kaliumjodidia liuotettuna etanoli-vesiseokseen. Jodi pelkistyy jodidiksi ja askorbiinihappo hapettuu dehydroksiaskorbiinihapoksi (Kuva 1). Reaktio voidaan kirjoittaa muodossa



Ekvivalenttipistettä indikoidaan tärkkelysliuoksella. Jodi muodostaa tärkkelyksen kanssa sinimustan kompleksin, ja jodidi-ionit ovat värittömiä.



Kuva 1. Askorbiinihapon määrittäminen, titrausreaktio.

### *Tarvikkeet ja reagenssit*

- Askorbiinihappo
- Jodi
- Kaliumjodidi
- Mehuja tai muita nestemäisiä tuotteita, joissa on askorbiinihappoa
- Tärkkelys
- Etanoli
- 5 ml byretti tai mikrobyretti, koura kaksoispuristin ja statiivi
- 50 ml erlenmeyerpulloja
- 2 ml täyppipettejä tai vastaavan kokoisia lääkeruiskuja
- 100 ml mittapullo
- 200 ml mittapullo
- 50 ml keitinlasi
- 200 ml keitinlasi
- Lasisauva

### *Liuosten valmistus*

#### *Askorbiinihapon standardiliuos*

Punnitse 1 g askorbiinihappoa. Liuota se 100 ml:aan tislattua vettä 100 ml:n mittapullossa.

***Jodi-kaliumjodidiliuos***

Punnitse tarkasti 0,5 g jodia ja 2 g kaliumjodidia. Liuota molemmat yhdessä 100 ml:aan tislattua vettä. Jodi ei liukene veteen, mutta liukenee kaliumjodidin vesiliuokseen. Laimenna mittapullossa 200 ml:ksi etanolilla. Liuosta säilytetään valolta suojattuna.

***Tärkkelysliuos***

Lietä 1 g tärkkelystä 15 ml:aan vettä. Kuumenna 100 ml ionivaihdettua kiehuvaaksi. Kaada koko ajan lasisauvalla sekoittaen tärkkelysliete ohuena nauhana kiehuvan veden sekaan. Kun kiehumispiste on saavutettu, siirrä liuos jäähtymään

***Titraus***

Kiinnitä byretti kouran ja kaksoispuristimen avulla statiiviin. Täytä byretti jodiliuoksella, ja valuta se kerran tyhjäksi. Täytä byretti uudelleen varmistaen, ettei liuoksessa ole kaviteettejä.

Ota 50 ml:n erlenmeyerpulloon 2 ml standardiliuosta 2 ml:n täyppipetillä tai lääkeruiskulla. Lisää lääkeruiskulla 1 ml tärkkelysliuosta indikaattoriksi. Titraa ekvivalenttipisteeseen asti. Ekvivalenttipisteessä tulee esiin jodi-tärkkelyskompleksin sininen, melkein musta väri. Toista tiraus ainakin kahdesti niin, että tulokset ovat samoja 0,01 ml:n tarkkuudella. Laske standardiliuoksen askorbiinihappopitoisuus jodiliuoksen lasketun konsentraation avulla. Ilmoita askorbiinihappopitoisuus milligrammoina 100 ml:aa kohti, kuten elintarvikkeissa yleisesti on tapana.

Ota valittuja näytteitä 2 ml täyppipetillä tai lääkeruiskulla 50 ml:n erlenmeyerpulloon. Titraa samoin kuten standardiliuosta. Toista tiraus ainakin kahdesti niin, että tulokset ovat samoja 0,01 ml:n tarkkuudella. Laske askorbiinihappopitoisuus vertaamalla standardiliuokseen:

Näytteen askorbiinihappopitoisuus = titrantin kuluma näytteessä / titrantin kuluma standardiliuoksessa standardiliuoksen askorbiinihappopitoisuus

## **Liite 5 Rikkihapokkeen tai sulfiitti-ionien määrittäminen kuiva- tuista hedelmistä - opettajan ohje**

### ***Tarvikkeet ja reagenssit***

- Kuivattuja hedelmiä (luumu, aprikoosi, omena jne.)
- Kaliumjodidi
- Jodi, kiinteä
- Tärkkelys
- Vesi, tislattu tai ionivaihdettu
- Mittapullo, 100 ml
- Spaatteleita tai lusikoita
- Magneettisauva ja sekoitin (jos on)
- Keitinlasi, 200 ml
- Keitinlasi 25 ml
- Lasisauva
- Pinsetit
- Lääkeruisku, 5 ml
- Lääkeruisku, 1 ml + neula
- pH-paperi

### ***Liuosten valmistus***

#### ***Jodi-kaliumjodidiliuos***

Liuota 0,152 g jodia ja 0,75 g kaliumjodidia 100 ml:ksi liuosta mittapullossa veteen. Pelkkä jodi ei käytännössä liukene veteen, mutta liuokseen, jossa on kaliumjodidia, jodi liukenee. Magneettisekoitus nopeuttaa jodin liukenemistä.

#### ***Tärkkelysliuos***

Punnitse 1 g tärkkelystä. Lietä se 15 ml:aan vettä pienessä keitinlasissa. Kuumenna 85 ml vettä kiehuvaan 200 ml:n keitinlasissa. Pidä vesi edelleen kiehuvana. Sekoita lasi-



sauvalla lietetty tärkkelysliuos homogeeniseksi. Pidä tärkkelys-vesiseos homogeenisenä kevyellä liikutuksella. Kaada tärkkelys-vesiseos kiehuvaan veteen samalla koko ajan sekoittaen. Kun kiehumispiste on saavutettu, siirrä liuos jäähtymään. Liuos säilyy jääkaapissa noin viikon.

### ***Rikkihapoke- tai sulfiittipitoisuuden määrittäminen kuivatuista hedelmistä***

Punnitse kuivattuja hedelmän paloja n. 10 g näyte 100 ml:n keitinlasiin. Mittaa tislattun tai ionivaihdetun veden pH. Lisää vettä niin paljon, että näyte on juuri vedenpinnan alapuolella. Sekoita lasisauvalla. Anna näytteen rikkihapokkeen liueta rauhassa 20 min ajan. Voidaan tehdä oletus, että kaikki sulfiitti liukenee, ja sitä on vain hedelmien pinnalla. Ota hedelmänpalat pois pinseteillä vedestä, ja huuhtelee niitä vedellä liuokseen. Mittaa liuoksen pH-arvo pH-paperilla ja kirjaa tulos.

Lisää näytteeseen lääkeruiskulla 4 ml tärkkelysliuosta indikaattoriksi. Titraa 1 ml:n neutraalisen lääkeruiskun avulla jodiliuoksella värinmuutospisteeseen asti. Lisää titranttia kohtuullisen nopeasti varoen kuitenkin, ettei titrata ekvivalenttikohdan ohi. Värinmuutospisteessä tulee esille voimakas sininen, miltei musta tärkkelys-jodikompleksin väri. Sininen väri säilyy vain kymmenisen sekuntia. Toista titraus toisella näytteellä. Laske näytteiden sulfiittipitoisuus massana ja miljoonasosina, ppm, lasketun jodiliuoksen konsentraation ja titrantin kuluman avulla.

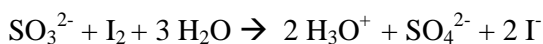
### ***Tulosten käsittely- ja laskuohje***

Lasketaan jodin konsentraatio titrantissa. Konsentraatio saadaan jakamalla massan ja moolimassan osamäärä koko liuoksen tilavuudella

$$c = m / M / V$$

$$M(I_2) = 253,8 \text{ g/mol}$$

Reaktion stoikiometriaa voidaan tarkastella yksinkertaistetun reaktioyhtälön,



avulla. Siitä voidaan todeta, että titrausreaktiossa dijodin ja sulfiitti-ionien ainemäärät ovat samat tasapainotilassa. Sulfiitti-ionien ainemäärä saadaan titrantin kulutuksen ja konsentraation tulona.

$$n(\text{SO}_3^{2-}) = c(\text{I}_2) \cdot V(\text{I}_2)$$

Sulfiitti-ionien massa on äsken laskettu ainemäärä kerrottuna sulfiitti-ionien moolimassalla, 64,06 g/mol

$$m = n \cdot M$$

Vastaavasti samalla tavalla rikkihapokkeen moolimassalla, 66,076 g/mol, voidaan laskea rikkihapokepitoisuus näytteessä, jos tiedetään säilöntäaineen olevan rikkihapoketta.

Näytteessä oleva sulfiitti-ionipitoisuus tai rikkihapokepitoisuus miljoonasosina, ppm saadaan jakamalla niille äsken laskettu massa näytteen massalla ja kertomalla miljoonalla ppm:lla.

### ***Kommentteja opettajalle ja arvio työstä oppilastyönä***

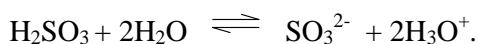
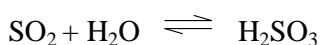
Titraustyö antaa periaatteessa selkeän vastauksen sulfiitin tai rikkihapokkeen määrästä kuivatuissa hedelmissä. Tärkkelysindikaattorin värinmuutos ei ole pysyvä, joten titrantti on lisättävä riittävän nopeasti.

Teorialtaan työ ei ole kovin monimutkainen. Parhaiten se sopii lukion toiseen kemian kurssiin eli kemian mikromaailma-kurssiin. Jos opettaja tekee valmiiksi liuokset, menee työhön aikaa vajaa oppitunti, josta 20 min menee odotteluun, että rikkihapoke tai sulfiittiyhdisteet liukenevat veteen. Ei haittaa vaikka näyte jäisi kauemmaksi kuin 20 minuutiksi veteen.

Rikkihapokkeella ja sulfiittiyhdisteillä voidaan estää elintarvikkeiden tummumista. Useat saavat kuitenkin oireita näistä yhdisteistä. Oppilaiden kanssa voi miettiä onko niiden lisäainekäyttö perusteltua.

## Rikkihapokkeen tai sulfiitti-ionien määrittäminen kuivatuista hedelmistä - oppilaan ohje

Kuivatuissa hedelmissä ja mm. viineissä käytetään sulfiitteja, rikkihapokkeen suoloja,  $\text{SO}_3^{2-}$  ja rikkidioksidikaasua,  $\text{SO}_2$  säilöntäaineena estämään tuotteessa tapahtuvaa hapettumista. Nämä yhdisteet estävät myös hapettumisesta johtuvaa tummumista. Rikkidioksidin liuotessa veteen muodostuu rikkihapoketta, joka puolestaan protolysoituu sulfiitti- ja oksoniumioneiksi:

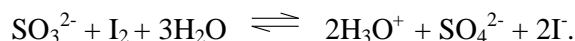


**Taulukko** Säilöntäaineena käytettävät sulfiittiyhdisteet

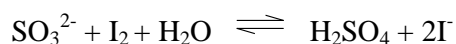
- E220 Rikkihapoke
- E221 Natriumsulfiitti
- E222 Natriumvetysulfiitti
- E223 Natriumdisulfiitti
- E224 Kaliumdisulfiitti
- E225 Kaliumsulfiitti
- E226 Kalsiumsulfiitti
- E227 Kalsiumvetysulfiitti

Sulfiiteilla ja rikkidioksidilla on todettu jonkin verran haittavaikutuksia. Pääasiassa haittavaikutuksena on hengitystieoireita, keuhkoputken supistumista, limakalvo-oireita ja mahaärtytystä. Arviolta 5-10 % astmapotilaista saa helposti oireita sulfiiteista. Yhdysvalloissa on saatavana kotitalouksien käyttöön rikkidioksidia sisältävää aerosolia, jolla voidaan estää tuoresalaatin pilaantumista. Tästä suihkeesta on astmapotilaiden todettu saavan erityisen vakaviakin oireita.

Rikkihapokkeen tai sulfiitti-ionien kvantitatiivinen määrittäminen on varsin yksinkertainen suorittaa. Sulfiittipitoisuus määritetään tässä työssä hapetus-pelkistytitrauksella. Veteen liuenneet sulfiitti-ionit voidaan hapettaa alkuainejodilla sulfaatti-ioneiksi:

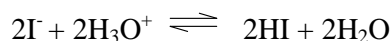


Tarkasti ottaen rikkihapokkeen tapauksessa muodostuu rikkihappoa, koska liuoksessa on sulfaatti- ja oksoniumioneita:

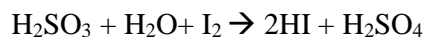


Hedelmiä uutetaan ionivaihdetussa vedessä, ja titrataan titrantilla, joka on jodin ja kaliumjodidin liuos. Ekvivalenttipiste indikoidaan tärkkelysliuoksella. Muodostuu sinimusta tärkkelys-jodikompleksi.

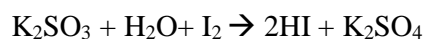
Titrausreaktiossa jodidi-ionit reagoivat pääasiassa rikkihapokkeen protolyysistä peräisin olevien oksoniumionien kanssa muodostaen jodivetyhappoa ja vettä:



Kokonaisuudessaan titrausreaktio on seuraava, jos oletetaan reaktio reversiibeliksi.



Jos titrattava aine on rikkihapokkeen suola, muodostuu vastaavan kationin jodidisuola esim.



On syytä huomata, että muuttunut väri liuoksessa on nähtävissä vaan hetken aikaa. Tähän työhön byrettiä parempi työväline on 1 ml:n lääkeruisku, sillä lääkeruiskulla pystytään titrantti lisäämään nopeasti. Lisäksi sen käyttö on byrettiä helpompaa.

### ***Työn suoritus***

#### ***Tarvikkeet ja reagenssit***

- Kuivattuja hedelmiä, luumu, aprikoosi, omena jne.
- Jodi-kaliumjodidiliuos, 0,152 g I<sub>2</sub> ja 0,75 g KI
- Tärkkelysliuos (0,5 g 100 ml:ssa)
- Vesi, tislattu tai ionivaihdettu

- Keitinlasi 25 ml
- Lasisauva
- Pinsetit
- Lääkeruisku, 5 ml
- Lääkeruisku, 1 ml + neula
- pH-paperi

***Rikkihapoke- tai sulfiittipitoisuuden määrittäminen kuivatuista hedelmistä***

Punnitse kuivattuja hedelmänpaloja n. 10 g näyte 100 ml:n keitinlasiin. Mittaa tislattun tai ionivaihdetun veden pH. Lisää vettä niin paljon, että näyte on juuri vedenpinnan alapuolella. Sekoita lasisauvalla. Anna näytteen rikkihapokkeen liueta rauhassa 20 min ajan. Voidaan tehdä oletus, että kaikki sulfiitti liukenee, ja sitä on vain hedelmien pinnalla. Ota hedelmänpalat pois pinseteillä vedestä, ja huuhtelee niitä vedellä liuokseen. Mittaa liuoksen pH-arvo pH-paperilla ja kirjaa tulos.

Lisää uutokseen lääkeruiskulla 4 ml tärkkelysluosta indikaattoriksi. Titraa 1ml:n neutraalin lääkeruiskun avulla jodiliuoksella värinmuutospisteeseen asti. Lisää titranttia kohtuullisen nopeasti varoen kuitenkin, ettei titrata ekvivalenttikohdan ohi. Värinmuutospisteessä tulee esille voimakas sininen, miltei musta tärkkelys-jodikompleksin väri. Sininen väri on näkyvässä vaaka kymmenisen sekuntia. Toista titraus toisella näytteellä. Laske näytteiden sulfiittipitoisuus massana ja miljoonasosina (ppm) lasketun jodiliuoksen konsentraation ja titrantin kulutuksen avulla.

## Liite 6 Sitruunahappopitoisuuden määrittäminen elintarvikkeista - Työohje opettajalle

Sitruunahappopitoisuus voidaan määrittää perinteisellä happo-emästitrauksella. Titranttina voidaan käyttää esimerkiksi natriumhydroksidiliuosta tai ammoniakiliuosta ja indikaattorina fenoliftaleiinia. Sitruunahappo on kolmiarvoinen happo, ja kokeellisen havainnon perusteella voidaan olettaa, että suolanmuodostukseen ja neutraloitumisreaktioon osallistuu ainoastaan yksi karboksyylihaporyhmä. Kirjoita reaktioyhtälö.

Vastaus:  $C_6H_8O_7 + NaOH \rightarrow NaC_6H_7O_7 + H_2O$ .

Titrauksen päätepisteessä tulee esiin hyvin selkeänä indikaattorin aniliininpunainen väri. Jos sitruunahappopitoisuutta määritetään punaisista tai voimakkaan värisistä elintarvikkeista, kuten juomatiivisteistä ei titrauksen ekvivalenttipiste todennäköisesti näy. Titraus voidaan kuitenkin suorittaa esim. pH-mittarin avulla.

### *Työturvallisuus*

Natriumhydroksidi on laimeanakin syövyttävää, ja voi aiheuttaa vakavia silmävaurioita. Siksi pitää käyttää suojalaseja ja työtakkeja. Fenoliftaleiini on haitallista (vanha ulostuslääke) ja sen etanoliliuos palavaa.

### *Välineet ja reagenssit*

- Elintarvikenäyte, jonka happamuus on peräisin ainoastaan sitruunahaposta
- Natriumhydroksidiliuos 0,1 M
- Fenoliftaleiiniliuos
- 50 ml:n erlenmeyerpulloja
- 10 ml:n täyspipetti
- Byretti, statiivi, koura ja kaksoispuristin

***Työn suoritus***

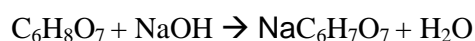
Valmistele näyte nestemäiseen muotoon. Liuota kiinteä näyte tai purista mehua hedelmästä. Pipetoi nestemäistä näytettä 50 ml:n erlenmeyerpulloon. Lisää sekaan pari pisaraa fenoliftaleiini-indikaattoria. Tee ainakin kaksi rinnakkaista näytettä.

Kiinnitä byretti kouran ja kaksoispuristimen avulla statiiviin. Täytä byretti natriumhydroksidiliuoksella, ja valuta se kerran tyhjäksi. Täytä uudelleen, ja varmista ettei ilmakuplia ole.

Titraa näytteet ekvivalenttipisteeseen asti. Ekvivalenttipisteessä tulee esiin indikaattorin selkeä aniliininpunainen väri. Toista tiraus muilla näytteillä. Laske sitruunahappopitoisuus näytteessä, kun tiedetään sitruunahaposta vaan yhden karboksyylihapporyhmän reagoivan muodostaen mononatriumsitraattia ja vettä. Ilmoita sitruunahappopitoisuus milligrammoina 100 millilitraa kohden nestemäisillä elintarvikkeilla tai milligrammoina 100 grammaa kohden kiinteillä elintarvikkeilla kuten elintarvikeanalytiikassa on tapana.

***Tulosten käsittely- ja laskuohje***

Sitruunahaposta reagoi siis vaan yksi karboksyylihapporyhmä. Reaktioyhtälön,



perusteella sitruunahapon ainemäärä on ekvivalenttikohdassa sama kuin natriumhydroksidin ainemäärä, jos oletetaan kaiken näytteessä olevan happamuuden johtuvan sitruunahaposta.

$$n(\text{sitruunahappo}) = n(\text{NaOH}).$$

Natriumhydroksidi-titrantin ainemäärä on titrantin konsentraation ja titrantin kulutuksen tulo.

$$n(\text{sitruunahappo}) = n(\text{NaOH}) = C(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH})$$

Sitruunahapon massa näytteessä puolestaan on sen moolimassan, ilman kidevettä, 192,13 g/mol ja ainemäärän tulo.

$$m(\text{sitruunahappo}) = 192,13 \text{ g/mol} \cdot 0,1 \text{ M} \cdot V(\text{NaOH})$$

Jos näytettä otettiin 10 ml, saadaan sitruunahapon määrä 100 ml kohden jakamalla tulos kymmenellä millilitralla ja kertomalla sadalla millilitralla. Lisäksi täytyy tehdä yksikön muunnos grammoista milligrammoiksi

Kiinteissä elintarvikkeissa on mielekkäämpää ilmoittaa sitruunahappopitoisuus 100 grammaa kohti.

### ***Kommentteja opettajalle ja arvio työstä oppilastyönä***

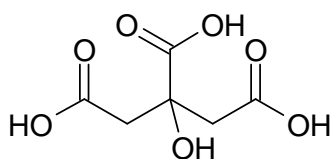
On hankala löytää elintarviketta, jossa happamuus olisi käytännössä yksinomaan peräisin sitruunahaposta. Sitruuna tai jokin juoma, joka koostuu aromiaineista, makeutusaineista, vedestä, ja jossa on sitruunahappoa voisi olla hyvä esimerkki. Tankoparsasäilyke on osoittautunut myös hyväksi esimerkiksi. Monet elintarvikkeet sisältävät myös muita orgaanisia happoja kuin sitruunahappoa. Esim. appelsiini sisältää askorbiinihappoa.

Työ on yksinkertaisuudessaan perinteinen happo-emästitys, ja soveltuu hyvin lähes mille tahansa lukion kemian kurssille. Aikaa työn suorittamiseen menee puolisen tuntia.



## Sitruunahappopitoisuuden määrittäminen elintarvikkeesta - oppilaan ohje

Sitruunahappo, 2-hydroksi-1,2,3-propaanitrikarboxyylihappo,  $\text{CH}_2(\text{COOH})\text{COH}(\text{COOH})\text{CH}_2(\text{COOH})$ ,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  (kuva 1) on kolmevärtinen orgaaninen happo, jota esiintyy luontaisesti sitruushedelmissä, mutta paljolti sitä käytetään lisäaineena. Sitruunahapon E-koodi on E 330. Lisäainekäytössä sillä on useita erilaisia tarkoituksia. Sitä käytetään ensinnäkin happamuudensäätöaineena. Happamuudensäätöaineella pyritään muuttamaan elintarvikkeen pH-arvoa happamammaksi tai emäksisemmäksi. Yleisin syy happamuudensäätöaineen tarpeelle on säilyvyyden parantaminen. Mikrobit eivät pysty elämään happamissa olosuhteissa. Toisaalta pH-arvo vaikuttaa elintarvikkeen rakenteeseen. Toiseksi sitruunahappoa käytetään elintarvikkeissa mausteen omaisesti. Sitruunahapolla on kirpeä maku, jota mm. makeisiin halutaan. Tällöin puhutaan haposta. Katso lisäaineryhmä hapot.



Kuva 1. Sitruunahapon rakennekaava.

### *Sitruunahappopitoisuuden määrittäminen*

Sitruunahappopitoisuus voidaan määrittää perinteisellä happo-emästitrauksella. Titranttina voidaan käyttää esimerkiksi natriumhydroksidiliuosta tai ammoniakiliuosta ja indikaattorina fenoliftaleiinia. Sitruunahappo on kolmevärtinen happo, ja kokeellisen havainnon perusteella voidaan olettaa, että suolanmuodostukseen ja neutraloitumisreaktioon osallistuu ainoastaan yksi karboxyyliryhmä. Kirjoita Reaktioyhtälö.

Titrauksen päätepisteessä tulee esiin hyvin selkeänä indikaattorin aniliininpunainen väri. Jos sitruunahappopitoisuutta määritetään punaisista tai voimakkaan värisistä elintarvikkeista, kuten juomatiiivisteistä tulee väriaine poistaa esim. aktiivihiilellä tai käyttää toista indikaattoria tai pH-mittaria.

### ***Työturvallisuus***

Natriumhydroksidi on laimeanakin syövyttävää, ja voi aiheuttaa vakavia silmävaurioita. Siksi pitää käyttää suojalaseja ja työtakkeja. Fenoliftaleiini on haitallista (vanha ulostuslääke) ja sen etanoliliuos palavaa.

### ***Välineet ja reagenssit***

- Elintarvikenäyte, jossa oletettavasti happamuus on peräisin ainoastaan sitruunahaposta.
- Natriumhydroksidiliuos 0,1 M
- Fenoliftaleiiniliuos
- 50 ml:n erlenmeyerpulloja
- 10 ml:n täyspipetti
- Byretti, statiivi, koura ja kaksoispuristin

### ***Työn suoritus***

Valmistele näyte nestemäiseen muotoon: liuota kiinteä näyte tai purista mehua hedelmästä. Ota nestemäistä näytettä 10 ml:n täyspipetillä 50 ml:n erlenmeyerpulloon. Lisää sekaan pari pisaraa fenoliftaleiini-indikaattoriliuosta. Tee vielä ainakin kaksi samanlaista näytettä.

Kiinnitä byretti kouran ja kaksoispuristimen avulla statiiviin. Täytä byretti natriumhydroksidiliuoksella, ja valuta se kerran tyhjäksi. Täytä uudelleen, ja varmista ettei ilmakuplia ole.

Titraa näytteet ekvivalenttipisteeseen asti. Ekvivalenttipisteessä tulee esiin indikaattorin selkeä aniliininpunainen väri. Toista tirus muilla näytteillä. Laske sitruunahappopitoisuus näytteessä, kun tiedetään sitruunahaposta vaan yhden karboksyyryhmän reagoivan muodostaen mononatriumsitraattia ja vettä (reaktioyhtälö).