

TARTU LUTERLIK PEETRI KOOL
LAURA VEERDE
8. KLASS

TOIDUVÄRVI E102 (TARTRASIIN) SISALDUSE SPEKTROMEETRILINE MÄÄRAMINE LIMONAADIDES JA PIRNIMAITSSELISES SIIRUPIS

JUHENDAJA ÕP JOANA JÖGELA

SISSEJUHATUS

Tänapäeva ühiskonnas ja elus on täiesti normaalne, paljudele ka igapäevane tegevus, juua erinevaid karastus- või magustatud jooke. Kuid kas me ka neid jooke tarbides teame, kui palju ja milliseid erinevaid aineid need sisaldavad? Kas oskame hinnata seda, kui tervislikud või kahjulikud need lisatud ained võivad meie kehale olla?

Lisaks jookidele tarbime me nii looduslikke kui ka sünteetilisi toiduainetööstuses kasutusel olevaid värvaineid paljude erinevate küpsetiste, jäätiste, kommide jt toodetega. Sagedasti tööstuses kasutatav sünteetiline värvainete rühm on asovärvained, mille üks esindaja on tartrasiin (E102), mille uurimisega mina oma töös tegelesin. E102 ehk tartrasiin on rohelist värvi toiduvärv, mida kasutatakse nii toitudes kui ka jookides. Kuna paljud sünteetilised toiduvärvid omavad teatavat mõju meie tervisele, siis on pandud paika kindlad kogused, kui palju võivad erinevad tooted neid värvaineid sisaldada ja milline on päevane tarbimise piirmäär.

Selle töö eesmärk oli välja selgitada, kui palju sisaldavad kolm erinevat rohelist värvi jooki värvainet E102. Uuritavad joogid olid pirnimaitseline siirup (tootja Heliis, Eesti), tavaline tarhuni limonaad (tootja Chernogolovka, Venemaa) ja vaarikamaitseline tarhuni limonaad (tootja Aqualine, Eesti). Samuti selgitasin kirjanduse andmetel selle värvaine kahjulikkust inimesele ning tutvustasin spektroskoopiat kui keemilise analüüsi meetodit.

Töö eesmärgi saavutamiseks püstitasin 2 hüpoteesi:

- 1) kõigis testitud jookides jääb E102 sisaldus lubatud piiridesse (100 mg/l) [1];
- 2) pirnimaitselises siirupis, mida tarbimiseks veega lahjendatakse, on E102 sisaldus suurem kui limonaadides.

Töö praktiline osa viidi läbi Tartu Hugo Treffneri Gümnaasiumi laboris. Töö teoreetilises osas antakse lühike ülevaade valgusest ja selle omadustest, spektroskoopiast ning neeldumisspektroskoopiast. Lühidalt tutvustatakse ka värvainete olemust ning täpsemalt käsitletakse värvainet E102. Praktilises osas kirjeldatakse kalibreerimislahuste valmistamise protsessi, nende neelduvuse mõõtmist ning proovilahuste neelduvuste mõõtmist ja nendes oleva E102 sisalduste määramiseks tehtud arvutusi. Viimases peatükis analüüsitakse mõõtmistulemusi ning tehakse järeldusi.

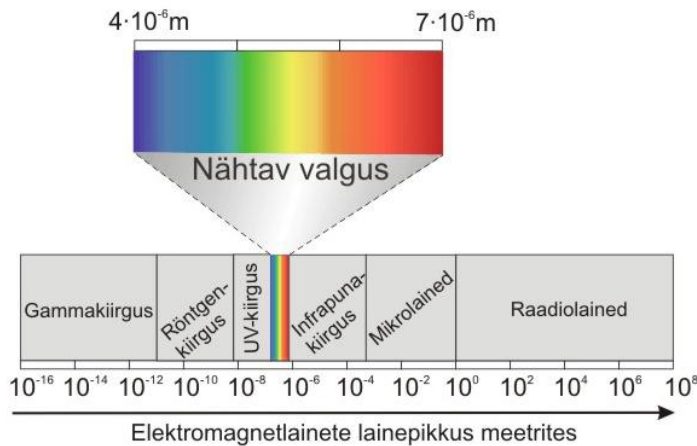
SISUKORD

SISSEJUHATUS	1
1. TEOREETILINE TAUST	4
1.1. Valgus	4
1.2. Valguse omadused	4
1.3. Spektroskoopia	5
1.3.1. Neeldumisspektroskoopia	5
1.4. Värvained	6
2. PRAKTILINE OSA	8
2.1. Kalibreerimislahuste valmistamine	8
2.2. Kalibreerimislahuste neelduvuse mõõtmine	12
2.3. Proovilahuste neelduvuse mõõtmine, tartrasiini sisalduse arvutamine ja tulemuste analüüs	19
KOKKUVÕTE	23
KASUTATUD KIRJANDUS	24
LISA 1. LOOVTÖÖ PÄEVIK	26

1. TEOREETILINE TAUST

1.1. Valgus

Valguse võib laias laastus jagada kaheks: nähtav valgus ja nähtamatu valgus (joonis 1). Nähtav valgus on see valguse osa, mida inimesed näevad. Nähtamatu valgus on aga infrapunavalgus ehk infravalgus ja ultraviolettvalgus ehk ultravalgus (ka UV-kiirgus). Need valgused ümbritsevad meid isegi siis, kui viibime pimedas ruumis ja silmadega midagi ei näe. Valgust ning valguse levimist käsitleb optika ehk valgusõpetus [2, 3].



Joonis 1. Valguse jaotumine [4].

Füüsikalises mõttes on kõik reaalsed kehad soojad ja kuna kõik soojad kehad kiirgavad infrapunavalgust, siis ümbritseb meid soojuskiirgus ka täiesti pimedas ruumis. Lisaks infravalgusele ümbritseb meid ultravalgus. Seda valgust me samuti ei näe, kuid see mõjutab meid näiteks siis, kui me päevitame, sest just ultravalguse toimel muutub nahk jumekamaks [3, 5].

Valgus on samuti kiirgus, kuid ainult see kiirguse osa, mille me võtame vastu oma silmadega. Kiirgus on valguse levimise viis. Kiirguse teel soojendabki valgus kehi, millele ta langeb. [6]

1.2. Valguse omadused

Lisaks nähtamatule valgusele on olemas nähtava valguse lainepikkustel nn värviline valgus. Seda tekkivat värvide paletti (vikerkaare värvid) nimetatakse spektriks ning selle mõiste võttis kasutusele Isaac Newton juba 1666. aastal. Peamine põhjus, miks me valgust värvilisena näeme, on see, et see valgus kiirgab meie silmas olevatele kolvikestele mingit kindla lainepikkusega valguskiirgust. Valgus võib neelduda ja peegelduda. Näiteks, kui meil on värvilised lahused, siis suudavad need neelata ja ka kiirata teatud lainepikkusega valgust ja seetõttu näevad inimesed neid lahuseid värvilisena. Kui meil on näiteks punast värvi lahus,

siis neelab see lahus ära kõik ülejäänud värvi valgused, mis meid ümbritsevad, ja kiirgab ainult seda kindlat värvi ehk punast värvi valgust, mis jõuab meie silma. Seega kui meil ongi mingisugune lahus või proov ja sellele langeb valgus, siis ainult osa valgusest tungib sellest läbi, mis tähendab, et mingi osa valgusest jääb sinna sisse ehk neeldub. Mida suurem on aine sisaldus, seda rohkem on ka aineosakesi, mis kindlat värvi valgust neelavad [3, 5, 6]

1.3. Spektroskoopia

Erinevalt optikast, mis uurib eelkõige valgust ennast, uurib spektroskoopia kiirguse vahendusel ainet. Seega spektroskoopias uuritaksegi mingi aine ja kiirguse (elektromagnetlainete) vastastikmõju. Kiirguse ja aine vastastikmõju põhivorme on mitmeid, aga selle töö raames käsitletakse valguse neelduvust aines. Spektroskoopiaga uuritakse ainete kiirgus- ja neelduvusspektreid, mis annavad infot aine iseloomu kohta. Elektromagnetiliseks spektriiks nimetatakse valguse sageduse muutumist footonite (valgusosakeste) suhtes. Kindla kiirguse ja neeldumise mõõtmiseks tuleb ka valida sobiv lainepikkus. Valguslained koosnevad footonitest, mis on kindla energiaga valguse osakesed. Nähtav valgus on üks elektromagnetlainete vorm. Seetõttu kasutataksegi spektroskoopias aine omaduste uurimiseks elektromagnetkiirgust. Elektromagnetlainete skaalast, mida kasutatakse erinevate materjalide uurimiseks, moodustab vaid väikese osa see valgus, mida meie oma silmadega näeme (joonis 1). Elektromagnetkiirgust, mis on tajutav silmadega, nimetatakse ka optiliseks kiirguseks ehk valguskiirguseks. Neeldumise mõõtmiseks nii ultraviolettkiirguse kui ka nähtava valguse lainepikkustel kasutatakse seadet, mida nimetatakse spektromeetriks [7, 8, 9].

1.3.1. Neeldumisspektroskoopia

Neeldumisspektroskoopia, mis on üks osa spektroskoopiast, uurib aines neelduvat valgust. Ainetes olevad aineosakesed on võimelised meid ümbritsevat valguskiirgust neelama, seega mida rohkem on aines aineosakesi, seda rohkem see aine valgust neelab. Seesama loogika on lihtsasti kokku võetav Lambert-Beer'i seadusega, mis ühendab omavahel uuritava aine kontsentratsiooni (sisalduse) lahuses ja selle lahuse mõõdetud neelduvuse [8].

Lambert-Beer'i seadus on kirjeldatav järgneva võrrandiga: $A = \epsilon \times c \times l$

A – valguse neelduvus (antud lainepikkusel)

ϵ – neeldumiskoeffitsient: ainet iseloomustav konstant, mis sõltub ainest ja kasutatavast lainepikkusest

c – uuritava aine kontsentratsioon lahuses

l – optiline teepikkus ehk valguse teepikkus anumal (vedelikukihis)

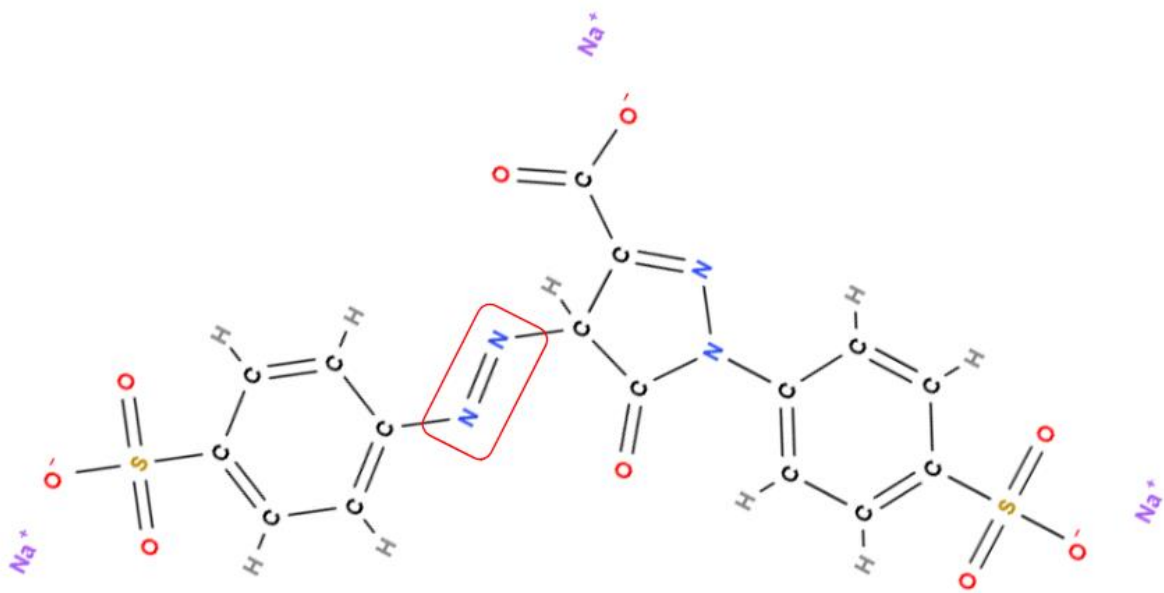
Lambert-Beer'i seadusest tulenevalt saame öelda, et mida rohkem on lahuses ainet ja mida pikema maa peab valgus lahuses läbima, seda suurem osa sellest valgusest neeldub [8].

Erinevad ained neelavad erineva energiaga footoneid. Sel viisil on võimalik läbi viia ainete kvalitatiivne analüüs ehk aineid segudest identifitseerida. Kasutades puhaste ainete lahuseid on võimalik aineid ka kvantiteerida ehk määrata nende kontsentratsioone [8]

1.4. Värvained

Lisaaainete alla kuuluvad säilitusained ja antioksidandid ning ka ühed kõige enam toidus kasutatavad lisaained: värvained. Värvained, nagu nende nimetus ütleb, annavad tootele kindla värvuse. Toiduvärvid kuuluvad rühma E100–E199. Igal konkreetsele ainel on oma märgistus. Numbrite ees olev E on Euroopa numbritunnus ehk E-number. Seega on antud lisaaine läbinud kindlad ohutuse hinnangud ning vastavad ained on Euroopa Liidus heaks kiidetud. Toiduvärve kasutatakse laialdaselt toiduainetööstuses kondiitritoodete, karastusjookide, maiustuste jne koostises. Toiduvärvide liike on erinevaid – need võivad olla nii sünteetilised kui ka looduslikud. Sünteetiliste toiduvärvide üheks näiteks on aso-toiduvärvid, mida kõik inimesed ei talu. Tõenäoliselt on tootes kasutatud aso-toiduvärve siis, kui toodete värvus on väga ere. Need toiduvärvid on odavad ja muudavad tooted silmapaistvaks. Peamised aso-toiduvärvid on E102 tartrasiin, E110 päikeseloojangukollane, E122 asorubiin, E123 amarant. Osal sünteetiliste toiduvärvide sisaldusega toodetel võib olla toodud ka järgmine märgistus: „toiduvärvi nimetus või E-number: võib avaldada kahjulikku mõju laste aktiivsusele ja tähelepanuvõimele“ [10]

Selle töö raames tegelesin ma värvaine E102 ehk tartrasiini kindlakstegemisega (joonis 2). Tartrasiini tarbimist seostatakse lastel hüperaktiivsuse tekkega. Samuti on leitud seoseid tartrasiini pideva tarbimise ja aktiivsuse- ja tähelepanuhäire vahel [11]. Euroopa Liidus on toiduainetes kasutatavate värvainete kohta sätestatud piirnormid: alkoholivabades maitsestatud jookides on tartrasiini piirnorm 100 mg/l ja soovituslik päevase tarbimise piirmäär on maksimaalselt 7,5 mg 1 kg kehamassi kohta [1, 12].



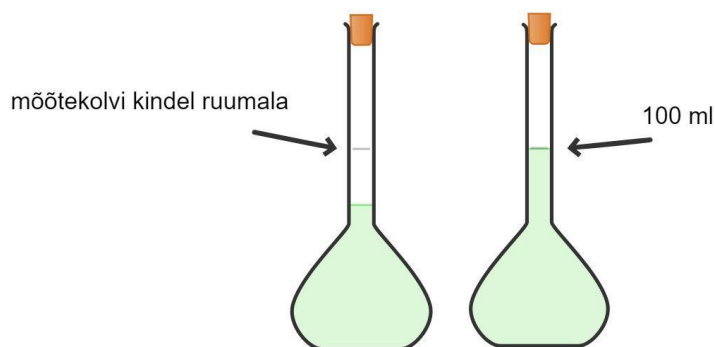
Joonis 2. Tartrasiini molekul, asorühm on märgitud punase kastikesega (autori tehtud joonis <https://molview.org/> keskkonnas).

2. PRAKTILINE OSA

Praktilise osa katsed tein ma Hugo Treffneri Gümnaasiumi keemialaboris. Tööga alustasin 3. augustil 2021. aastal, kui õppisin tundma ja kasutama laborivahendeid, mida kasutasin enda praktilises töös, ning katsetasin ka pipeteerimist ja lahuste tegemist. 11. augustil, 20. novembril ja 4. detsembril tegelesin ma laboris praktilise tööga. Kõikidel kordadel kulus laboris aega 4 kuni 5 tundi. Uurimistöö päevik on toodud lisas 1.

2.1. Kalibreerimislahuste valmistamine

Kõigepealt oli vaja valmistada kalibreerimislahused, et oleks võimalik tartrasiini kogust proovides kindlaks teha. Selle jaoks võtsin ma seitse 100 ml mõõtekolbi. Mõõtekolbi (joonis 3) kasutatakse erinevate segude ja lahuste valmistamiseks ning vedeliku ruumala mõõtmiseks. Mõõtekolbidel on pikad ja kitsad kaelad, mille peale on märgitud kriips, mis tähistab mõõtekolvi kindlat ruumala. Tänu sellele märgile on teada, mis ruumalani mõõtekolb tuleb täita, et ma saaksin täpse vedelikukoguse. Mina kasutan enda tööd tehes mõõtekolbe vastavalt täpsusele. Mõõtekolbidele panin sobivad korkid, et lahuseid mõõtekolvis segada saaks ja lahused jääksid puhtaks.

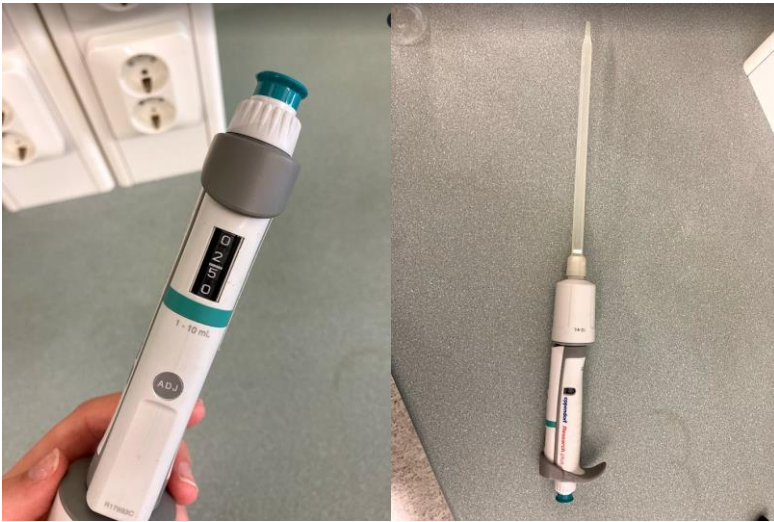


Joonis 3. Mõõtekolvid (autori tehtud joonis <https://chemix.org/keskkonnas>).

Mõõtekolbidesse hakkasin ma erineva tartrasiini sisaldusega kalibreerimislahuseid valmistama. Lahused koosnesid emalahusest (2 g/l tartrasiini lahus destilleeritud vees, oli laboris olemas), mille lahjendasin destilleeritud veega. Selleks, et saada täpne kogus emalahust kalibreerimislahustesse, kasutasin ma automaatpipette (Eppendorf Research Plus), mille ruumalade vahemik oli 1...10 ml ja 0,1...1 ml.

Automaatpipett (joonis 4) koos sobiva otsikuga on mõõtevahend, mida kasutatakse (väikeste) vedelikukoguste täpseks mõõtmiseks. Kuna tänapäeval on analüüsimeetodid väga tundlikud, siis on äärmiselt oluline korrektselt ja täpselt pipeteerida. Selleks ongi üks paremaid

pipeteerimise võimalusi automaatpipett. Automaatpipeti mõõtetäpsus on enamasti suurem kui klassikalise klaasist pipeti (joonis 5) oma.



Joonis 4. Automaatpipett otsikuga (autori fotod).

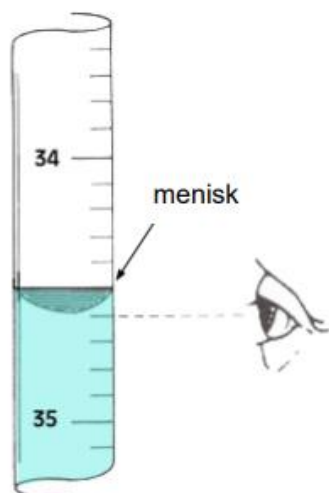


Joonis 5. Mõõtejoontega klaaspipett [13].

Automaatpipetti kasutades tuligi sellele kõigepealt keerata õige ruumala, siis panna automaatpipeti otsa pipetiotsik ning ülemist nuppu all hoides tõmbasin automaatpipeti otsikusse sisse täpse koguse emalahust. Enne automaatpipetiga konkreetse lahuste valmistamist tuleb automaatpipeti otsikut sama lahusega puhastada. Selle jaoks võtsin emalahust kolm korda automaatpipeti otsikusse ja tühjendasin selle jääkide kaussi. Seejärel asusin pipeteerima kalibreerimislahuseid. Esimest, kõige lahjamat lahust tehes läks mul vaja emalahust 0,5 ml ja lahuse lõppruumala tõstsin 100 ml-ni. Emalahuse ruumalad on toodud tabelis 1.

Esimese lahuse (lõppkontsentratsioon kalibreerimislahusel 10 mg/l) tegemiseks kasutasin ma 10...1000 μ l automaatpipetti, sest selle lahuse ruumala jäi sinna mõõtepiirkonda. Teiste lahuste tegemisel kasutasin ma suuremat automaatpipetti, mille mõõtepiirkond oli 1...10 ml.

Emalahust mõõtekolvi pipeteerides hoidsin ma automaatpipeti otsikut õrnalt klaasi vastas, et kõik vedelik läheks mõõtekolbi. Kui emalahus oli mõõtekolvis, lisasin ma destilleeritud vett (kuni mõõtekolvil märgitud jooneni). Vee lisamise lõpus pidin olema ettevaatlik, et vedeliku lõppruumala ei ületaks 100 ml. Veendumaks, et vedeliku tase on täpselt mõõtekriipsu juures, kükitasin nii, et vedeliku piir oleks minu silmadega ühel kõrgusel. Kuna vedeliku piir moodustab mõõtekolvi torujas kaelas kausi kuju, mida kutsutakse keemias meniskiks (joonis 6), siis vee lisamisel jälgisin ma, et meniski alumine äär oleks mõõtekolvil märgitud joonega samal kohal.



Joonis 6. Meniski asukoht mõõtesilindris [14].

Selleks, et mul kindlasti lahuse lõppruumala üle lubatud piiri ei läheks, kasutasin ma vee lisamise lõpus Pasteuri pipetti (joonis 7). Sedasorti pipette kasutatakse väikeste vedelikuguste tilgakaupa lisamiseks lahustesse või segudesse.



Joonis 7. Pasteuri pipett [15].

Kui õige kogus emalahust oli mõõtekolvi pipeteeritud ja vesi lisatud, siis panin mõõtekolvi korgi peale ja loksutasin seda viis-kuus korda kolbi ümber keerates, et ained seguneksid. Selle töö tegi lahuse sees olev õhumull.

Kui esimene lahus oli valmis, võtsin ma teise mõõtekolvi ja hakkasin sinna teist lahust tegema. Seekord võtsin automaatpipetil ruumalaks 1,000 ml, kuna teine lahus sisaldas 1 ml emalahust. Edasi käis töö täpselt samamoodi ka kõigi teiste lahustega, emalahuse koguse pipeerisin vastavalt tabelis 1 toodud ruumaladele ning lisasin destilleeritud vett 100 ml-ni.

Tabel 1. Kalibreerimislahuste kontsentratsioonid ja selleks vajamineva emalahuse ruumala 100 ml kohta.

Kalibreerimislahuse kontsentratsioon (mg/l)	Emalahuse maht (ml)
10	0,5
20	1
30	1,5
40	2
50	2,5
60	3
70	3,5

2.2. Kalibreerimislahuste neelduvuse mõõtmine

Kui kõik lahused olid valmis (joonis 8), siis mõõtma nende optilist neelduvust.

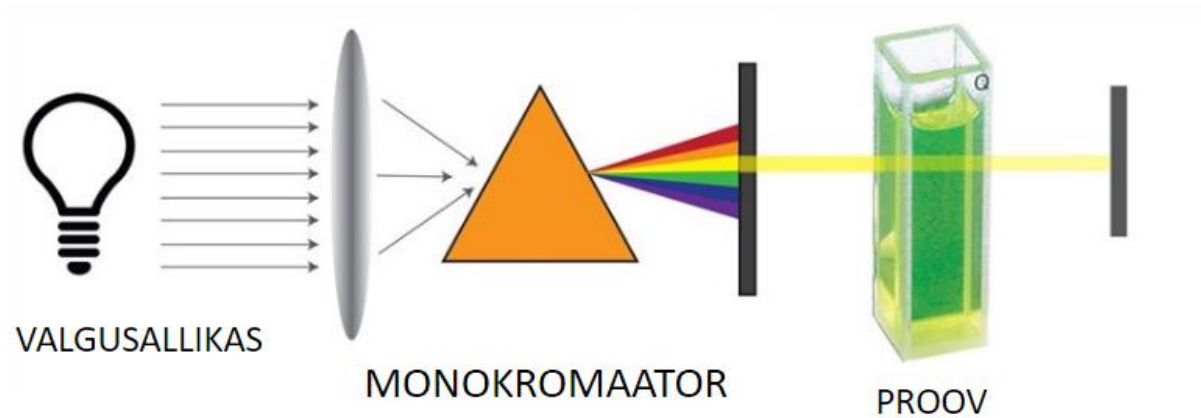


Joonis 8. Valmis kalibreerimislahused (autori foto).

Neelduvuste mõõtmiseks kasutasin nähtava valguse lainepikkusi kasutavat spektromeetrit (joonis 9; Genesys30, tootja Thermo Scientific. Spektromeeter on seade, millega määratakse elektromagneetilise kiirguse intensiivsuse ja lainepikkuse vahelist sõltuvust [8]. Spektromeeter toimib vastavalt joonisel 10 näidatud põhimõttele: paned masinasse lahuse proovi, millele langeb peale laseri genereeritud valgus ning möödab proovi läbivat valgust kindlal lainepikkusel. Osa laserist tulevat valgust neeldub proovis ja vastuvõtjasse (detektorisse) jõuab vähem valgust kui laserist väljastati. Masin ise arvutab välja, kui suur osa valgusest proovis neeldus ja näitab ekraanil vastavat numbrilist väärtust.



Joonis 9. Spektromeeter Genesys30, Thermo Scientific (autori foto).



Joonis 10. Spektromeetri tööpõhimõte [16], joonise on eesti keelde tõlkinud autor.

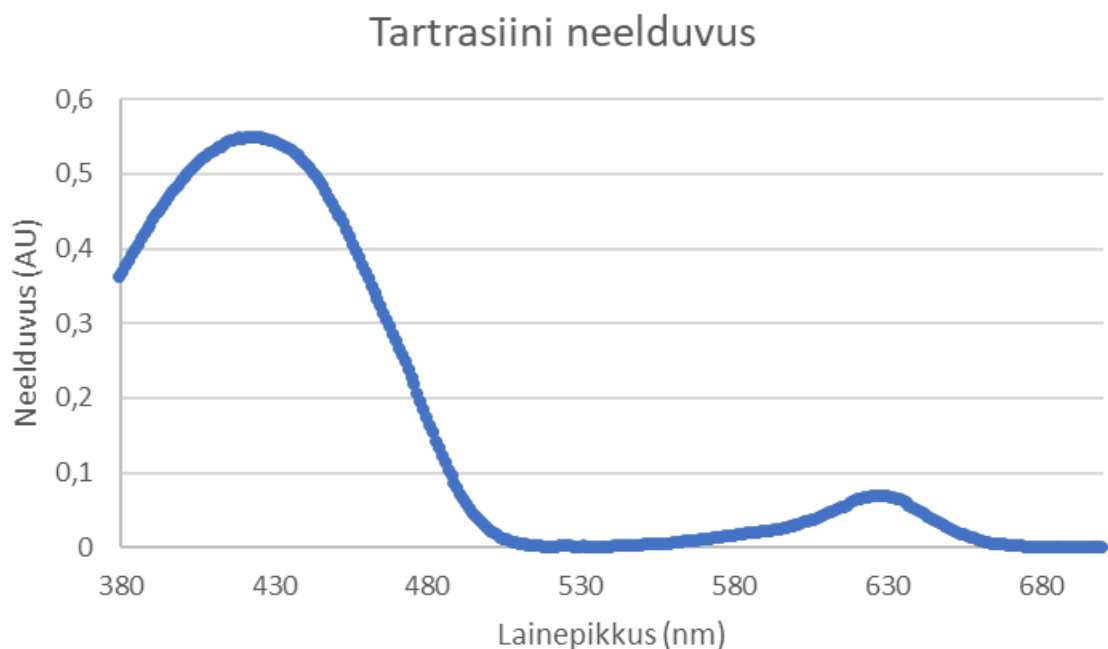
Kuna vedelikku ei saa spektromeetrisse otse valada, siis kasutasin väikeseid kindlate mõõtudega mõõte- ja hoiuanumaid vedelike jaoks, mida nimetatakse küvettideks (joonis 11).



Joonis 11. Plastikküvett [17]

Küvetil on erinevad tahud – pika suunaga tahk (mida nimetatakse ka optiliseks tahuks) ja lühikese suunaga tahk. Küvett tuleb kindlasti masinasse asetada nii, et optiline tahk läheb masinas oleva laseri (valgusallikas) ja vastuvõtja vahele. Laserist väljub kindlal lainepikkusel valguskiir ning vastuvõtja mõõdab sinna jõudnud valguse intensiivsust. Seetõttu tuligi hoida küvetti ülemisest servast, et osale, kust laser küvetti läbib, ei jääks näpujälgi, sest siis ei saa laser seda proovi täpselt mõõta.

Enne kalibreerimislahuste ja proovilahuste neelduvuste mõõtmist tuli kindlaks määrata, millisel lainepikkusel tartrasiin kõige rohkem valgust neelab. Selleks skaneerisin kogu nähtava valguse lainepikkuste vahemiku (380...700 nm) neelduvuse kõigepealt veega, et näha, kui palju vesi valgust erinevatel lainepikkustel neelab. Nii saab seadistada, et masin hiljem vee mõju maha lahutaks (sest lahustina kasutame vett), ja näeksin ekraanilt ainult uuritava aine neeldumist. Seejärel skaneerisin tartrasiini neelduvused nähtava valguse lainepikkustel. Neelduvuse väärtus oli kõige suurem lainepikkusel 425 nm, millega ma tegin järgnevad uuritavate proovide mõõtmised (joonis 12).



Joonis 12. Tartrasiinilahuse (60 mg/l) neelduvuse väärtused lainepikkustel 380–700 nm.

Järgnevalt mõõtsin kalibreerimislahuse neelduvuse väärtused 425 nm-l. Kõigepealt seadistasin spektrofotomeetri 0-proovi ehk vee vastu, et vee neelduvus ei mõjutaks saadud väärtusi. Selle jaoks vajutasin masinal 0,00-nuppu, et masin fikseeriks null-nivoo. Seejärel võtsin ma 2 ml mahuga küveti ja valasin sinna sisse proovi (umbes pool küveti) ning panin proovi masinasse. Ilma nuppu vajutamata näitas seade neelduvuse väärtuse, mille kirjutasin tabelisse. Iga lahuse neelduvust mõõtsin kolm korda, et pärast saaksin arvutada nende tulemuste keskmise. Iga järgmise erineva kontsentratsiooniga lahuse mõõtmise jaoks võtsin ma uue küveti. Pärast kõikide lahuste neelduvuste mõõtmist arvasin iga lahuse neelduvuse keskmise ja sain teada, milline on igas kalibratsioonilahuses olevale tartrasiini kontsentratsioonile vastav neelduvuse väärtus. Erinevatel kuupäevadel läbi viidud kalibreerimislahuste mõõtmised on toodud tabelites 2, 3, 4.

Tabel 2. Kalibreerimislahuste tartrasiini sisaldus ja vastavate neelduvuste väärtused (11. augusti mõõtmine).

Sisaldus (mg/l)	Neelduvus (AU)			Keskmine neelduvus (AU)
0	0,006	0,007	0,007	0,007
10	0,086	0,090	0,094	0,090
20	0,188	0,187	0,188	0,188
30	0,275	0,270	0,268	0,271
40	0,358	0,364	0,364	0,362
50	0,455	0,455	0,459	0,456
60	0,553	0,552	0,552	0,552
70	0,642	0,643	0,643	0,643

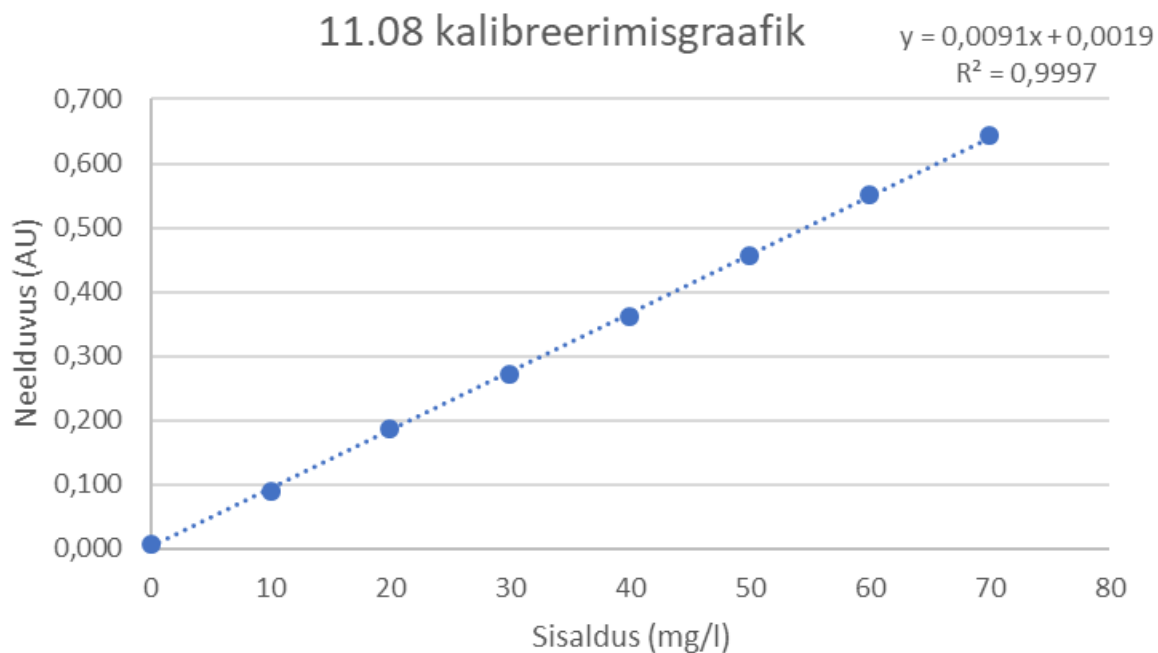
Tabel 3. Kalibreerimislahuste tartrasiini sisaldus ja vastavate neelduvuste väärtused (20. novembri mõõtmine).

Sisaldus (mg/l)	Neelduvus (AU)			Keskmine neelduvus (AU)
0	0,002	0,003	0,002	0,002
10	0,101	0,101	0,098	0,100
20	0,206	0,205	0,205	0,205
30	0,303	0,301	0,300	0,301
40	0,395	0,398	0,396	0,396
50	0,492	0,491	0,491	0,491
60	0,592	0,592	0,592	0,592
70	0,685	0,684	0,683	0,684

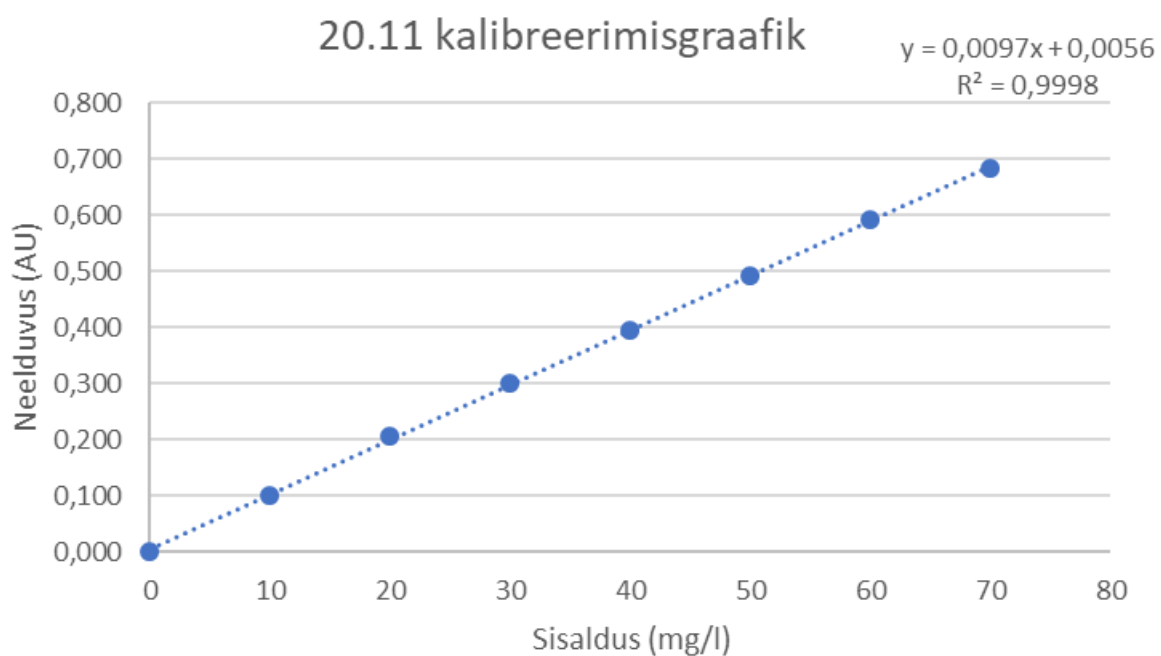
Tabel 4. Kalibreerimislahuste tartrasiini sisaldus ja vastavate neelduvuste väärtused (4. detsembri mõõtmine).

Sisaldus (mg/l)	Neelduvus (AU)			Keskmine neelduvus (AU)
0	0,001	0,001	0,002	0,001
10	0,096	0,096	0,095	0,096
20	0,190	0,188	0,189	0,189
30	0,285	0,285	0,284	0,285
40	0,386	0,384	0,383	0,384
50	0,470	0,471	0,471	0,471
60	0,572	0,571	0,570	0,571
70	0,668	0,666	0,667	0,667

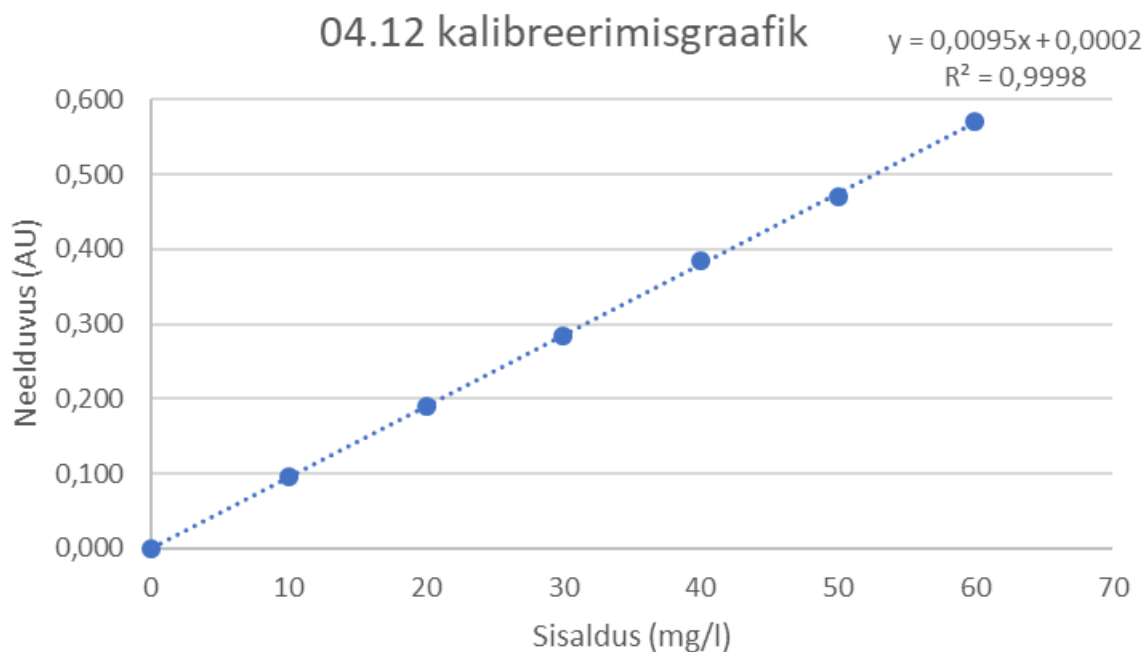
Saadud andmetest koostas graafiku, mis iseloomustab neelduvuse väärtuse sõltuvust aine kontsentratsioonist. Graafiku x-teljel on kontsentratsioon (mg/ml tartrasiini) ja y-teljel on vastavate lahuste neelduvuste keskmised väärtused. Seejärel lisasin sinna Exceli programmi abil R-ruudu (regressioonikordaja) väärtuse. Mida lähemal on regressioonikordaja ühele, seda täpsemalt olen pipeteerinud ja mõõtmisi teinud, ning erineva kontsentratsiooniga punktid asuvad ühel sirgel [18]. Samuti lisasin graafikule sirge võrrandi ehk kuidas y ja x on omavahel seotud. Vastavad kalibreerimisgraafikud on toodud joonistel 13, 14 ja 15.



Joonis 13. Kalibreerimisgraafik 1 (11. august)



Joonis 14. Kalibreerimisgraafik (20. november)



Joonis 15. Kalibreerimisgraafik (4. detsember)

2.3. Proovilahuste neelduvuse mõõtmine, tartrasiini sisalduse arvutamine ja tulemuste analüüs

Valisin uuritavateks jookideks roheline värvusega tartrasiini sisaldavad joogid: kaks erineva tootja estragonimaitselist limonaadi ja pinnimaitseliste siirupi. Neelduvused mõõtsin pinnimaitseliste siirupi (tootja Heliis, Eliis), vaarikamaitseliste tarhuni (tootja Aqualine, Eesti) ja tavalise tarhuni (tootja Chernogolovka, Venemaa) lahustes. Selleks, et tavalise tarhuni neelduvus jääks kalibreerimislahuste neelduvuste väärtuste piiridesse, lahjendasin ma seda 4 korda (lahjendatud lahuse lõppruumala oli 40 ml, seega ma lisasin sinna 10 ml tarhuni ja 30 ml vett). Proovide neelduvuste väärtused on toodud tabelites 5, 6 ja 7.

Tabel 5. Proovide neelduvuste mõõtmised 1 (11. august).

Proov	Neelduvused (AU)			Keskmise neelduvus (AU)
Pirnisiirup	0,625	0,624	0,625	0,625
Limonaad tarhun (vaarika)	0,506	0,506	0,506	0,506
Limonaad tarhun (tavaline), 4x lahjendatud	0,265	0,262	0,267	0,265

Tabel 6. Proovide neelduvuste mõõtmised 2 (20. november).

Proov	Neelduvused (AU)			Keskmine neelduvus (AU)
Pirnisiirup	0,617	0,618	0,619	0,618
Limonaad tarhun (vaarika)	0,510	0,509	0,509	0,509
Limonaad tarhun (tavaline), 4x lahjendatud	0,263	0,264	0,266	0,264

Tabel 7. Proovide neelduvuste mõõtmised 3 (4. detsember).

Proov	Neelduvused (AU)			Keskmine neelduvus (AU)
Pirnisiirup	0,625	0,619	0,622	0,622
Limonaad tarhun (vaarika)	0,524	0,521	0,518	0,521
Limonaad tarhun (tavaline), 4x lahjendatud	0,268	0,265	0,266	0,266

Kui mul olid kõikide jookide keskmised neelduvused teada, arvutasin ma välja, kui palju uuritavad lahused tartrasiini (E102) sisaldavad. Selle jaoks kasutasin ma kalibreerimisgraafikult saadud sirge võrrandit ning proovide keskmist neelduvust, asendades sirge võrrandis y-i vastava neelduvuse väärtusega ning arvutasin välja x-i ehk kontsentratsiooni. Näiteks 11. augusti mõõtmistest tulenev sirge võrrand on $y = 0,0091x + 0,0019$. Pirnisiirupi lahuse neelduvuse keskmiseks väärtuseks mõõtsin sellel päeval: 0,625 AU. Arvutan E102 sisalduse pirnisiirupis:

$$0,625 = 0,0091x + 0,0019$$

$$0,0091x = 0,625 - 0,0019$$

$$0,0091x = 0,6231 \quad | : 0,0091$$

$$x = 68,47 \text{ (mg/l)}$$

Kasutades samasugust arvutuskäiku, arvutasin ka teistes proovides sisalduva E102 kontsentratsiooni. Saadud tulemused on toodud tabelis 8.

Kuna ma lahjendasin tavalist tarhuni mõõmiseks veega (4 x), siis arvutamisel võtsin tehtud lahjendust arvesse. Limonaadi juuakse tavaliselt otse pudelist, ilma lahjendust tegemata. Selle jaoks tuli leitud väärtus korrutada 4-ga.

Tabel 8. Tartrasiini (E102) sisaldus testitud jookides. Tavalise tarhuni arvutustes on tehtud lahjendust arvesse võetud.

Määramise nr ja kuupäev	Pirnisiirup (mg/l)	Limonaad tarhun (vaarika) (mg/l)	Limonaad tarhun (tavaline) (mg/l)
1 (11. august)	68,47	57,04	116,08
2 (20. november)	63,13	51,90	106,56
3 (4. detsember)	65,26	54,63	111,16

Töö esimene hüpotees oli, et kõigis jookides jääb E102 sisaldus lubatud piiridesse. Saadud tulemustest saan järeldada, et vaarikamaitselisel tarhunis on E102 sisaldus keskmiselt 54,52 mg/l, mis jääb alla soovitatud maksimaalse sisalduse, milleks on 100 mg/l [1]. Kuna juues lahjendame pirnisiirupit veega veel umbes 10 korda, et teha sellest morssi, siis saadud sisaldusest, milleks oli keskmiselt 65,62 mg/l, joogiga saadakse umbes 5,5 mg/l värvainet. Seevastu tavalist tarhuni limonaadi tarbitakse lahjendamata ja seal on E102 sisaldus keskmiselt 111,27 mg/l. See aga ületab mõningal määral Euroopa Parlamendi ja nõukogu direktiivis toodud piirväärtust, mis ütleb, et karastusjookides või magusates jookides ei tohi olla rohkem kui 100 mg/l tartrasiini. Normidele mittevastavus võib tuleneda sellest, et see limonaad on toodetud väljaspool Euroopa Liitu (Venemaal) ja vastavaid norme ei ole seega jälgitud. Mõlemas Eestis toodetud tootes (vaarikamaitseiline tarhuni limonaad ja pirnimaitseiline siirup) oli tartrasiini sisaldus oluliselt väiksem ja jäi normi piiresse. Seega osutus esimene hüpotees vääraks.

Antud värvaine pikaaegne ja järjepidev tarbimine võib põhjustada lastel tähelepanu- ja ärevushäireid [11]. Maksimaalseks ohutuks päevaseks tartrasiini tarbimiseks loetakse kuni 7,5 mg/kehakaalu kg kohta [12], mis on suhteliselt suur piirnorm, ja selle saavutamiseks on vaja suuremas koguses tartrasiini sisaldavat jooki tarbida. Näiteks 70 kg kaaluv täiskasvanu saab maksimaalse päevanormi (525 mg) 4,7 liitrist limonaadist, aga 20 kg kaaluv laps saab maksimaalse päevanormi (150 mg) juba ligi 1,3 liitrist testitud tavalise tarhuni limonaadist. Samas on inimeste, eriti laste tundlikkus aine suhtes erinev ja võim mõjuda negatiivselt juba

väiksemates kogustes. Seega tegelikult seda jooki juues võime tarbida üle lubatud piiri värvainet ning selle müümine peaks olema keelatud.

Töö eesmärgi saavutamiseks püstitasin ka teise hüpoteesi: pirnimaitseelises siirupis on E102 sisaldus suurem kui limonaadides. Saadud mõõtmistulemustest saan järeldada, et see vastab tõele vaarikamaitseelise tarhuni limonaadi puhul, kus oli veidi vähem tartrasiini kui siirupis, kuid teise tarhuni limonaadi puhul mitte. Pirnimaitseelises siirupis oli E102 sisaldus keskmiselt 65,62 mg/l, mis on märgatavalt madalam tavalise tarhuni E102 sisaldusest, milleks oli 111,27 mg/l. Kuid kui võtta arvesse seda, et enne joomist lahjendame me siirupit veega, siis on tarbimise mõttes pirnimaitseelise siirupi E102 sisaldus kõige väiksem. Kui tarbida ära üksi terve siirupipudeli sisu, siis on tõesti oht ületada maksimaalset päevanormi. Seega saame öelda, et teine hüpotees osutus osaliselt õigeks ja osaliselt vääraks ja tavalisel juhul saab siirupi tarbimisel vähem seda värvainet.

KOKKUVÕTE

Oma töös tegelesin ma värvaine E102 (tartrasiin) sisalduse määramisega erinevates jookides ning tutvusin kirjanduse abil värvainete olemuse, kindlakstegemise võimaluste ja nende mõjuga inimorganismile. Antud töö eesmärk oli optimeerida spektromeetrial põhinev meetod ja välja selgitada, kui palju sisaldavad kolm erinevat rohelist värvi jooki värvainet E102. Töö praktilise osa käigus sain teada, et tarhuni limonaadi (tootja Chernogolovka, Venemaa), mida müüdi ka meie polettidel, keskmine E102 sisaldus oli 111,27 mg/l, mis ületas aga Euroopa Liidus sätestatud tartrasiini normaalpiiri. Seetõttu on see limonaad tervisele kahjulikum kui teised uuritud joogid ning selle pikaaegne tarbimine võib põhjustada lastel tähelepanu- ja ärevushäireid. Seega noorele inimesele, kellele selle joogi tarbimine võib olla igapäevane tegevus, ei pruugi see tervislik olla. Uurimuste käigus selgitasin välja pinnimaitsete siirupi (tootja Heliis, Eesti) ja vaarikamaitsete tarhuni (tootja Aqualine, Eesti) E102 sisalduse, mis on aga ligi kaks korda väiksem kui tavalises tarhunis. Samuti on oluline märkida, et siirupist morssi tehes on morsis värvaine sisaldus kordades väiksem kui limonaadis. Seetõttu pole E102 nende jookide tarbimisel inimestele väga kahjulik ja maksimaalse päevanormi ületamiseks tuleks jooki tarbida väga suurtest kogustes. Siiski oleks mõistlik sissejoodavaid koguseid jälgida ja jääda selliste jookide tarbimisel tagasihoidlikuks ehk mitte tarbida neid liigselt, sest värvainete mõju erinevatele inimestele võib varieeruda.

Töö käigus õppisin ma tundma ja kasutama erinevaid laborivahendeid, näiteks küvetid, automaatpipett ja mõõtekolvid. Kõige põnevamaks laborivahendiks osutus spektromeeter, mille nimest ja olemusest ma ei olnud varem kuulnudki. Samuti tutvusin ma spektroskoopia mõiste ja olemusega, mis mängis mu töös olulist rolli. Õppisin tegema erinevaid graafikuid ja tabeleid. Tutvusin veel värvainete maailmaga, mis tekitas minus suuremat huvi selle teema vastu.

Usun, et ma sain oma tööga paremini hakkama, kui ma oleksin osanud arvata, ning olen enda üle uhke. Omandasin nii palju uusi teadmisi ja oskusi ning mu silmaring muutus sellevõrra palju laiemaks. Täitsin enda eesmärgid täpselt nii nagu lootsin ja suve lõpus, loovtööga alustades, need endale seadsin. Olen tänulik, et alustasin loovtööga juba suvel, kuna seetõttu oli mul rohkem aega tegeleda kooli ning teiste kooliväliste asjadega. Jõudsin kõik asjad õigeaks ajaks valmis, nii nagu ma lootsin.

Raskusi tekkis mõnes kohas aga sellega, et kui pidin midagi uut alustama või kirjutama mingi uue teema kohta, siis ma ei teadnud, kuidas seda alustada. Samuti oli mõnes kohas vaja lugeda ingliskeelset teksti, kuid sellega sain hakkama. Vahepeal polnud ka üldse motivatsiooni loovtööd kirjutada, aga kui selle kätte võtsin ning kirjutamise lainele läksin, oli pärast palju lihtsam jätkata.

KASUTATUD KIRJANDUS

1. Euroopa Parlamendi ja nõukogu direktiiv 94/36/EÜ, 30. juuni 1994, Toiduainetes kasutatavate värvainete kohta. 10.09.1994. Euroopa Ühenduste Teataja. Kättesaadav: <https://op.europa.eu/de/publication-detail/-/publication/a3786277-daa0-46bd-924f-dadb5b06bb29/language-et> (21.02.2022).
2. Tarkpea, K., Voolaid, H. 2013. Optika. E-õpik: Elektromagnetism. Kättesaadav: <https://opik.fyysika.ee/index.php/book/section/1475#/section/1475> (29.03.2022).
3. Tempel, E. 2016. Füüsika õpik 8. klassile. Tallinn: Maurus Kirjastus OÜ, lk 8
4. Sõõrd, L. 2012. Minikursus: Maailm täis valgust ja helisid. Valgus. Kättesaadav: <https://dspace.ut.ee/bitstream/handle/10062/24946/valgus.html> (18.03.2022).
5. Vardja, D. 1960. Valgusest ja valgustusest. Tallinn: Eesti Riiklik Kirjastus, lk 5–7.
6. Pjorõškin, A., Rodina, N. 1991. Füüsika VIII klassile 2. osa. Tallinn: Valgus, lk 109.
7. Kiisk, V. 2021. Spektroskoopia. Lühikonspekt kursusele LTFY.01.014. Kättesaadav: <https://kodu.ut.ee/~kiisk/spec.pdf> (07.01.2022).
8. Spektroskoopia. Meditsiiniline keemia/Medical chemistry LOKT.00.009. 31.08.2015. Kättesaadav: <http://tera.chem.ut.ee/~koit/arstpr/spe.pdf> (07.01.2022).
9. Spektroskoopia ja Spektromeetria erinevus. (aasta puudub). Differences. Kättesaadav: <https://et.differencevs.com/6860250-difference-between-spectroscopy-and-spectrometry> (07.01.2022).
10. Tervise Arengu Instituut 2015. Lisaained. Kättesaadav: <https://toitumine.ee/toiduohutus/lisaained> (21.01.2022).
11. McCann, D., Barrett, A., Cooper, C., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L., Prince, E., Sonuga-Barke, E., O'Warner, J., Stevenson, J. 2007. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community a randomized, double-blinded, placebocontrolled trial. *The Lancet*, 370(9598):1560–1567. Kättesaadav: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2009.1331> (21.01.2022).
12. European Food Safety Authority (EFSA) 2009. Scientific opinion on the re-evaluation tartrazine (E 102). *EFSA Journal*, 7(11):1331. Kättesaadav: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1331> (05.07.2023).
13. Cider Mill. Klaasipipett 10 ml, mõõteribaga. Kättesaadav: <https://www.cidermill.eu/et/a/klaasipipett-10ml-mootheribaga> (12.08.2021).
14. Koorits, A., Kestav, K. 2016. Laboratooriumis kasutatavad vahendid. Tartu Ülikooli Teaduskool. Kättesaadav: https://www.teaduskool.ut.ee/sites/default/files/teaduskool/oppetoo/laboratoorsed_vahendid_2016_2017.pdf (11.08.2021).

15. Made in China. Laboratory Disposable Plastic 3 ml Pasteur Pipette. Kättesaadav: <https://noke190329.en.made-in-china.com/product/WFEJDMwrhTkl/China-Laboratory-Disposable-Plastic-3ml-Pasteur-Pipette.html> (11.08.2022).
16. Orbitbiotech. 2018. Molecular analysis using UV/Visible spectroscopy. Kättesaadav: <https://orbitbiotech.com/molecular-analysis-using-uv-visible-spectroscopy-spectroscopy-uv-absorption-reflection-spectra-electromagnetic-radiation/> (21.03.2022).
17. Biosigma. Macro and semi-micro cuvettes. Kättesaadav: <https://www.biosigma.com/macro-and-semi-micro-cuvettes.html> (12.08.2021).
18. Tooding, L.-M. 2014. Regressioonimudelid. Tartu ülikool. Kättesaadav: <https://samm.ut.ee/regressioonanalyyis> (23.03.2022).

LISA 1. LOOVTÖÖ PÄEVIK

August: 3. augustil käisin esimest korda laboris ning õppisin tundma ja kasutama erinevaid tööks vajalike laborivahendeid. Samuti katsetasin ka pipeteerimist ja lahuste tegemist. Teist korda käisin laboris 11. augustil, mil alustasin oma praktilise töö tegemisega. Mõlemal korral kulus aega umbes 4 kuni 5 tundi. Peale seda hakkasin panema ka juba praktilist osa kirja. Praktilise osaga tegelesin peamiselt 28. augustil.

September: Septembri alguses tegelesin oma praktilise töö kirjutamisega. 25. septembril hakkasin kirjutama ka teoreetilist osa.

Oktoober: Oktoobris tegelesin peamiselt loovtöö teoreetilise osa kirjutamisega ning otsisin informatsiooni raamatutest. Õppisin ka seda, kuidas raamatutele viidata.

November: 20. novembril käisin ma kolmandat korda laboris praktilist tööd tegemas.

Detsember: 4. detsembril käisin ma viimast korda laboris praktilist tööd tegemas ning lõpetasin sellega. Detsembri lõpus kirjutasin praktilist osa.

Jaanuar: 7. jaanuaril kirjutasin teoreetilises osas spektroskoopia osa. Samuti täiendasin ka praktilist osa. Jaanuari lõpus kirjutasin teoreetilise osa värvainetest.

Veebruar: 10. ja 13. veebruaril lisisin ja kirjutasin praktilisse ossa tabeleid ja graafikuid ning täiendasin teoreetilist osa.

Märts: 1. märtsil kirjutasin tööle sissejuhatuse ning 3. märtsil kokkuvõtte. 12. märtsil lisisin ma tööle loovtöö päeviku. 18. märtsil täiendasin kirjalikku osa ning lisisin paar pilti. 21. märtsil alustasin viitamisega. 27. märtsil viitasin kasutatud allikatele ning vormistasin tööd. 28. märtsil parandasin vormistust ning viiteid. 30. märtsil lõpetasin loovtöö.