



BIOR

PĀRTIKAS DROŠĪBAS, DZĪVNIEKU VESELĪBAS
UN VIDES ZINĀTNISKAIS INSTITŪTS

**NANOMATERIĀLU SATURA
UN IESPĒJAMO RISKU
NOVĒRTĒJUMS LATVIJAS
TERITORIJĀ IZPLATĪTAJĀ
PĀRTIKĀ UN PĀRTIKAS
IEPAKOJUMĀ**

RĪGA 2018

APSTIPRINU
Zemkopības ministrijas
Veterinārā un pārtikas departamenta direktore
Zanda Matuzale

PROJEKTA STARPPOSMA ATSKAITE

**“Nanomateriālu satura un iespējamo risku novērtējums Latvijas
teritorijā izplatītajā pārtikā un pārtikas iepakojumā”**

IZPILDĪTĀJS

Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts „BIOR”

Rīga
2018

SATURA RĀDĪTĀJS

Sadaļas Nr.	Nosaukums	Lpp
1	Ievads	3
2	Literatūras apskats par nanomateriālu pielietojumu pārtikā, pārtikas iepakošanas materiālos, apdraudējumu veselībai, likumdošanu un noteikšanas metodēm	5
3	Informācija par starpinstitūciju darba grupas iespējamo sastāvu	17
4	Nanomateriālu (Ag, TiO ₂) ICP-MS noteikšanas metodes	21
5	Latvijas tirgū esošo produktu analīzes rezultāti	28
6	Secinājumi	31
7	Literatūras saraksts	32

1.Ievads

Nanotoksikoloģiskais piesārņojums ir viena no aktuālām problēmām mūsdienu attīstītajā tehnoloģiju laikmetā. Biodrošība, vides un cilvēku potenciālais apdraudējums, kas attiecināms uz šādu nanoizmēra daļiņu izplatību un pārnesei uz pārtikas produktiem īpaši aktualizējies pēdējā desmitgadē. Neorganiskas izcelsmes nanomateriālu (nemetāliskas, metāliskas vielas, oksīdi u.c.) plašais patēriņš kosmētikā, saimniecības precēs un pārtikas iepakojumā pēdējos gados radījis bažas par potenciālu apdraudējumu videi un cilvēku veselībai.

Sudraba un titāna dioksīda nanodaļiņas ir vienas no plašāk pielietotajām nanopildvielām, kas izmantotas pārtikas iepakojumu materiālos. Sudrabam piemīt spēcīga antibakteriālā un bioloģiskā aktivitāte. Titāna dioksīds (TiO_2) ne tikai ir viena no plašāk pielietotajām krāsvielām, kas arī tiek pielietots pārtikas iepakojumos, lai aizsargātu to no novecošanas, nodrošinātu gaismas caurlaidību un, līdzīgi sudraba nanodaļiņām, nodrošinātu antibakterioloģisko aizsardzību pārtikas produktiem. E-vielu sarakstā titāna dioksīds un sudrabs apzīmēti ar E171 un E174 un ir iekļauti pārtikas produktu iepakojumu materiālu sastāvā. Samazinoties šo vielu izmēriem līdz nanoskalas lieluma daļiņām (<100 nm), daļiņas var būt pietiekami niecīgas, lai dermāli, perorāli vai caur plaušu alveolām uzņemtas pārsniegtu bioloģisko audu, kaula smadzeņu un placentālo barjeru, tādējādi uzkrājos organismā un iesaistoties nevēlamos bioķīmiskajos procesos. Par šādu nanoizmēra daļiņu potenciālu apdraudējumu cilvēka veselībai ziņojušas tādas starptautiskas organizācijas kā Pasaules Veselības organizācija, pētījumi publicēti zinātniskajos rakstos un apskata rakstos. Tādēļ projektā ir būtiski veikt detalizētu novērtējumu par titāna un sudraba saturu un šo savienojumu daļiņu izmēriem, ķīmisko formu un to daļiņu izmēru saturu, potenciālajiem pārneses procesiem no iepakojuma materiāla uz pārtikas produktiem, lai izvērtētu iespējamos riskus un to mazināšanas pasākumus.

Nanoizmēra titāna dioksīdam un sudraba daļiņām piedēvētas potenciāli toksiskas īpašības, kas saistītas ar to spēju piesaistīt skābekļa radikāļus, vienlaikus veicinot oksidatīvā stresa izraisītu sasilšanu attīstību. Līdzīgi kā TiO_2 , sudraba daļiņas pētījumos ar dzīvniekiem uzrādījušas genotoksiskas īpašības, kas var radīt bažas par to potenciālu apdraudējumu, uzņemot ar pārtiku.

Projekta pirmā posma mērķis ir izstrādāt un pielietot sudraba un titāna dioksīda ICP-MS noteikšanas metodes, lai apzinātu un raksturotu šo nanodaļiņu izplatību Latvijas teritorijā

izplatītajā pārtikā un izplatītās pārtikas iepakojuma sastāvā un veikt literatūras apskatu par nanomateriālu pielietojumu pārtikā, pārtikas iepakojuma materiālos, apdraudējumu veselībai, likumdošanu un noteikšanas metodēm, kā arī apzināt Latvijas institūciju kapacitāti nanomateriālu kontroles jomā.

2. Literatūras apskats par nanomateriālu pielietojumu pārtikā, pārtikas iepakojuma materiālos, apdraudējumu veselībai, likumdošanu un noteikšanas metodēm

Mūsdienās "nanomateriāli" ir raduši ļoti plašas pielietojuma iespējas rūpniecībā, moderno tehnoloģiju izstrādē, kā arī plaša patēriņa materiālos, piemēram, saimniecības preču, kosmētikas un pārtikas produktu sastāvā. Industriālos un ražošanas procesos bez daudziem tehniskiem un fizikāli-ķīmisko īpašību uzlabojumiem (optiskās, termiskās, dielektriskās un citas īpašības), nano-daļiņu atlieku vai to pārveidoto formu izplatīšanās industriālo vai rokas iekārtu radītos procesos tvaiku, koloīdu, putekļu veidā var radīt bioloģiska un ķīmiska rakstura riskus, kas ir viena no aktuāli pētītām problēmām pasaulē, it īpaši industriālajās valstīs [1, 2]. Nevēlami faktori saistīti arī ar nanomateriālu daļiņu izplatību no impregnēta apģērba, vai piemēram veidojoties kopēšanas un citos procesos, kā piemēram izdaloties pigmentu daļiņām no krāsām [3-4].

Pēdējos gados uzmanība pievērsta nanomateriālu radītiem apdraudējumiem no ikdienā saimniecībā plaša patēriņa produktiem: kosmētikas un higiēnas līdzekļiem, kas satur cinka oksīdu (ZnO), titāna oksīdu (TiO₂), sudrabu (Ag), nanomālus u.c. nano-izmēra neorganisku un organisku savienojumu piedevas, kas kalpo kā produktu emulgatori, stabilizatori pret UV-starojuma, skābekli izraisīto brīvo radikāļu ietekmi, u.c. faktoriem ietekmi, tai skaitā aizsardzību pret mikrobioloģisko piesārņojumu [5-6]. Šis un citas, tai skaitā organiskas dabas nanodaļiņas tiek pielietotas pārtikas ražošanā un iepakojumā, lai stabilizētu pārtikas produktu struktūru un homogenitāti, aizsargātu pārtikas produktus no UV, skābekļa u.c. brīvos radikāļus veicinošiem faktoriem, kas var veicināt oksidēšanos, vienlaikus sekmējot produktu uzglabāšanās kvalitāti / ilgumu un drošumu patērētājam [7-8]. Vienlaikus pozitīvajiem mērķiem un ilgstoši uzskatītam uzskatam, ka šīs sīkās daļiņas neietilpst cilvēka veselību apdraudošajā kategorijā, uzkrātie eksperimentālie dati liecinājuši, ka 1-100 nanometru ($1\text{ nm} = 10^{-9}\text{ m}$) un atsevišķos gadījumos arī lielāku izmēru nano-izmēru daļiņas var radīt potenciālu risku, nokļūstot organismā. Šīs sīkās daļiņas spēj labi pārvarēt organisma bioloģisko membrānu barjeras un migrēt tajos, kas nav iespējams mikronu un lielāku izmēru daļiņām, kur priekšnoteikums ir izšķīšana, tādēļ tieši nanodaļiņas tiek pēdējos gados plaši izvērtētas, izvērtējot potenciālus apdraudējumus, kā piemēram anomālijas asins šūnu ķermenīšos, elpošanas ceļu un citu orgānu funkciju traucējumus u.c. indikācijas [9-11]. Mūsdienās ne tikai augstās tehnoloģijas, bet pārtikas izstrādes tehnoloģijas bieži vien nevar iztikt bez nanomateriāliem, kas palīdz veidot "hibrīdos" produktus ar paaugstinātu minerālvielu, vitamīnu saturu un uzlabotu uzglabāšanās ilgumu. Piemēram bieži tiek lietoti organiskas dabas nanomateriāli (kazeīna micellu nanodaļiņas piena sastāvā— piens ar palielinātu folijskābes un citu vitamīnu vai minerālvielu saturu), neorganiskas dabas metāliski vai

nemetāliski nanomateriāli (gaļas izstrādājumu iepakojuma materiāli ar cinka oksīdu (ZnO) vai Au, Ag – zelta vai sudraba nanodaļiņām, kas nodrošina uzturvērtību, aizsargā pret bioloģisko piesārņojumu), ar silīcija oksīdu pārklāts titāna dioksīdu saturoši produkti (sinerģijas efekts stabilizēšanai un aizsardzībai pret oksidēšanos) ir vien daļa no zināmiem piemēriem pārtikas produktu sastāvā lietotiem nanomateriāliem [12-14].

Pārskata materiāls vienkopus koncentrētā veidā apkopo jaunāko zinātnisko informāciju par galvenajiem pārtikas ražošanā (iepakojumu sastāvā, pārtikas produktu matricu sastāvā) izmantotajiem nanomateriāliem to iespējamo apdraudējumu patērētājam, migrāciju no iepakojuma pārtikā. Analīžu metodes nanodaļiņu izpētei bieži ir saistītas ar samērā komplikētiem faktoriem: nanomateriālu struktūras īpatnības, daudzums, izkliedējošā matrica – polimēru iepakojums, vai pārtikas produkts, atšķirīgu agregātstāvokļu (šķidr, ciets) pārtikas matricās īpatnības. Šajā apskatā vairāk uzmanība tiks veltīta tieši metodēm, kas tiek pielietotas pārtikas iepakojumu un pārtikas produktu sastāvā plaši lietoto titāna dioksīda un sudraba nanodaļiņu (TiO₂-ND, Ag-ND) satura analīzei, vienlaikus akcentējot kopējās tendences apskatot arī citus nanomateriālus, kas var būt sastopami pārtikā. Ņemot vērā šo aktualitāti, pētījuma projekta ietvaros šis pārskata raksts apkopo jaunākās atziņas par likumdošanas prasībām, svarīgākajiem dokumentiem, tai skaitā Eiropas Komisijas (EK) Regulām u.c. institūciju dokumentāciju, galvenajiem aspektiem nanomateriālu izpētē pārtikā, pārtikas iepakojumos, šobrīd pielietotajām metodēm. Sagatavotais materiāls tiks izmantots ne tikai kā formāls literatūras pārskats, bet galvenokārt kalpos praktisko eksperimentu veikšanai un rezultātu sagatavošanai, atsaucoties uz jaunākajām pamatnostādņēm nanomateriālu klātbūtnes, formu un satura noteikšanai pārtikā un tās iepakojuma materiālos [15].

Likumdošana

Jāatzīmē vairākas starptautiskas organizācijas un to izstrādātie dokumenti, kuriem ir nozīme nanomateriālu izpētes jomā, pirmkārt definējot nanomateriālus un arī izstrādājot plānotu pētniecību attiecībā uz nanomateriālu saturu pārtikas iepakojuma materiālos un pārtikas produktu matricās.

2000. gadu beigās tika uzkrātas zināšanas par nanomateriālu pozitīvajām iezīmēm, kā arī vienlaikus tika novērtētas šādu moderno materiālu ēnas puses – potenciālais kaitējums strādājošajiem, ar nanomateriāliem saistītās ražotnes sfērās, tai skaitā saimniecības ķīmijas preču, kosmētikas, pārtikas iepakojumu, pārtikas ražošanā un lietošanā iesaistītajiem. Eiropas Savienības dokumentā „Nanozinātnes un nanotehnoloģija. Eiropas rīcības plāns 2005. – 2009. gadam” (turpmāk – Rīcības plāns) sadaļā „Sabiedrības veselība, drošība, vides un patērētāju aizsardzība” tika noteikti vairāki jauni un prioritāri darbības virzieni un uzdevumi, kas iekļāva nanomateriālu satura izpēti pārtikas ražošanā, tai skaitā iepakojumu materiālos, kā arī šo daļiņu īpašību izpēti mikrobioloģiskajos, tai skaitā *in vivo* un *in vitro* pētījumos.

2006. gada 10. martā Zinātniskā komiteja sniedza savu viedokli par esošo metodoloģiju piemērotību potenciālā riska novērtēšanai saistībā ar ražotajiem un nejauši izdalītajiem nanotehnoloģijas produktiem, atzīmējot jaunu riska novērtēšanas metožu nepieciešamību, it īpaši izstrādājot jaunas toksikoloģiskās un ekotoksikoloģiskās metodes, jo pašreizējās var nebūt pietiekamas, lai pilnībā novērtētu nanomateriālu apdraudējumus [16].

2011. gadā Eiropas Komisija izdeva Regulu Nr. 1169/2011, kas definēja nanomateriālu īpašības, lai varētu izstrādāt tālākus rīcības plānus nanomateriālu analīzei pārtikas produktos [17].

Gadu vēlāk Eiropas Ķīmisko Vielu aģentūra (ECHA) izveidoja nanomateriālu ekspertu grupu (ECHA-NMEG) ar kompetento iestāžu (CARACAL), kā arī biocīdu kompetento iestāžu atbalstu. Šī neformālā konsultatīvā grupa atbalsta ECHA Darba plāna par nanomateriāliem 2016.–2018. gadam izpildi un nodrošina informāciju un konsultācijas zinātniskajos un tehniskajos jautājumos saistībā ar REACH, CLP un BPR regulu īstenošanu attiecībā uz nanomateriāliem; izstrādātās rekomendācijas un citi dokumenti pieejami ECHA mājaslapā.

Eiropas Parlamenta un Padome izdevusi Regulu Nr. 2015/2283 attiecībā uz jaunu pārtiku, kas izrietēja no iepriekšējās 2011. g. Regulas Nr. 1169/2011 nanomateriālu pielietojumam pārtikā, kas šobrīd ir galvenais Eiropas Komisijas izdots dokuments attiecībā uz nanomateriālu aprites regulējumu un nanomateriālu definējumu [18]. Pēdējo gadu izpēte šajā jomā sekmējuši Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestāde (EFSA) rekomendāciju izstrādi, kas gan nav regulējošs dokuments, bet šobrīd ir galvenais dokuments, kas sekmējis EK Regulējuma jaunās redakcijas 2018. g. un ir izmantojams nanomateriālu izpētei pārtikā [19, 20]. Saskaņā ar EK jaunās regulas norādēm, no 2018. gada 1. janvāra mainītas prasības jauniem pārtikas produktiem. Atļaujas jauniem pārtikas produktiem izsniegs Eiropas Komisija pēc tam, kad Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestāde (EFSA) būs veikusi nekaitīguma novērtējumus saskaņā ar 2018. g. izstrādāto riska novērtēšanas plānu. Visi atļautie jaunie pārtikas produkti tiks iekļauti Eiropas Savienības jauno produktu sarakstā, kurā ietverta atļauto jaunās pārtikas produktu specifikācija, to lietošanas nosacījumi, īpašas papildu marķēšanas prasības. EK norādes attiecībā uz jauno pārtiku iekļautas arī 2017.gada 12. decembra Ministru kabineta noteikumos Nr.744 "Jaunās pārtikas atbilstības klasifikācijas un kvalitātes prasību novērtēšanas kārtība", ar kuriem tiek noteikta kārtība, kādā novērtējama jaunās pārtikas atbilstība klasifikācijas un kvalitātes prasībām [21].

Tādējādi, pēdējos gados paveiktie un uzkrātie pētījumi ne tikai par pielietojuma ieguvumiem, bet izplatību, struktūras un fizikāli-ķīmisko īpašību ietekmi uz pārtikas produktiem, cilvēku, dzīvnieku veselību, bioloģiskie un toksikokinētiskie pētījumi ir devuši iespēju uzkrāt zināšanas par iespējamiem apdraudējumiem, to kontroles iespējām. Latvijā šobrīd pētījumi ir tikai sākuma stadijā, tādēļ šajā pārskatā tiks apkopotas galvenās atziņas, kas gūtas no EFSA izdotā materiāla [20] un zinātnisko publikāciju datiem uz nepieciešamiem

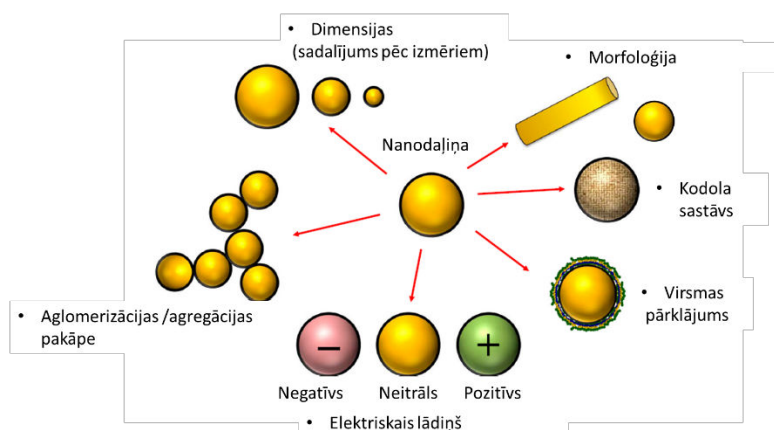
pasākumiem pareizai un pārdomātai nanomateriālu satura novērtēšanai Latvijā izplatītajos pārtikas produktos, tai skaitā iepakojumu materiālos.

Nanomateriālu raksturojums

Starptautiskā standartizēšanas organizācija ISO 2015. gadā definējusi, ka nanomaterials ir daļiņas, kuru ārējās dimensijas (diametrs) mērāmas nanoskalas izmēros, kur $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$. Vispārīgi nanoobjekts tiek definēts kā diskrēta 2-dimensionāla vai 3-dimensionāla daļiņa, kuras garums un platums mērāmi nanometros, pieņemot, ka garākās un īsākās ass parametri būtiski neatšķiras savā starpā. Gadījumos, kad viens no parametriem mērāms mikrometru skalā, bet citās asīs saglabā nanoizmērus, lieto atšķirīgus terminus – nanošķiedras (divas ārējās assis – biezums un platums ir nm, bet garums – mikroizmēros) vai arī nanoplāksnes (biezums mērāms nm, bet diametrs – mikronos).

Nanomateriāls saskaņā ar ISO 2015 pieņemto definējumu, kas tiek lietots arī EFSA un EK Regulu izstrādātajos dokumentos tiek definēts kā materiāls, kur daļiņas ir nanoskalas izmēros robežās no 1 nm līdz 100 nm. Ņemot vērā, ka daudzi materiāli var saglabāt lielākus parametrus nekā 100 nm, definīcija arī nosaka, ka nanomateriāls ir tāds, kuram vismaz 50% frakcija satur daļiņas, kuru izmēri vismaz vienas ass dimensijā ir nm līmenī. Šādos gadījumos EK Regulas norādes ļauj identificēt šādas daļiņas kā nanomateriālu, ja tam saglabājas nanomateriāliem raksturīgās īpašības (liela īpatnējā virsma). Jāatzīmē, ka nanodaļiņu izmēri var pārsniegt 100 nm arī dēļ samērā labas Van der Waalsa mijiedarbības, kas, lai gan pieder pie vājo spēku mijiedarbības efektiem, var mazākā vai lielākā mērā ietekmēt daļiņu mijiedarbību un tādējādi lielāku veidojumu veidošanos, kas potenciālas apstrādes procesā (piemēram pārtikas produktu samaisīšana utt., matricas šķīšana, var sadalīties sīkākās daļiņās, tādējādi sekmējot nanomateriāliem raksturīgos efektus. Daļiņu salipšanas dēļ, sekundārās daļiņas var pastāvēt aglomerātu formā (maza izmēra daļiņu sakopojumi ar vāju mijiedarbību) vai arī agregātu veidā [20]. Gadījumos, kad daļiņas ir mazākas par 1 nm, kā piemēram grafēna, nanocaurulišu un fullerēnu gadījumā, šādi materiāli tiek pieskaitīti pie nanomateriāliem [20].

Nesen publicētā žurnāla *Nature* apskata rakstā labi definētas iespējamās dažādu nanomateriālu atšķirības, kas var pastāvēt un ietekmēt to īpašības (1. att.). Bieži vien apstrādes procesā nanomateriāli tiek pārklāti, tādējādi iegūstot hibrīdas daļiņas ar mērķi aizsargāt tās no aglomerizācijas vai / un uzlabot to īpašības, piemēram, aizsardzībai pret mikrobioloģisku piesārņojumu vai stimulējot aizsardzību pret UV starojumu.



1. att. Iespējamie nanomateriālu veidi (Tulkots attēls no [21]).

Nanomateriālu fizikāli-ķīmiskās īpašības un to ietekme uz toksiskumu

Nanoizmēra daļiņu fizikāli-ķīmiskās īpašības un to spēja migrēt no iepakojuma materiāla pārtikā ir saistīta ar kombinētu vairāku fizikāli-ķīmisko faktoru ietekmi, ko lielā mērā nosaka specifiskās nanomateriālu īpašības, salīdzinot ar mikronu un citu lielāku daļiņu ģeometriskajām, un fizikālajām īpašībām.

Ir zināmi dati par nanodaļiņu ietekmi uz augšējo elpošanas ceļu sistēmu, asinsrites sistēmu, gastroenterālā trakta traucējumiem, kā arī ietekmi uz DNS. Tādēļ ir būtiski gan no drošības aspektiem, gan arī no izvērtēšanas efektivitātes novērtēt fizikāli ķīmiskās īpašības pārtikā un pārtikas iepakojuma materiālos izplatītām nanodaļiņām [23, 24]. Toksicitāti ietekmējošie faktori galvenokārt ir saistīti ar nanoizmēra daļiņu lielu īpatnējās virsmas laukumu vai arī toksikinētiskajiem parametriem (būtiskas absorbcijas izmaiņas, daļiņu sadalījuma faktors, metabolisms u.c.). Galvenie parametri, kas jāņem vērā, izvērtējot nanodaļiņu īpašības, ietver šādus būtiskus faktorus [20, 22] :

a) nanomateriālu struktūras un ārējās virsmas morfoloģija. Piemēram, stingras, garas caurules vai plēves, nanomateriāli ar augsto malu attiecību, fullerēni, titāna oksīda vai cinka kristālu struktūra un kristālrežģa orientācija, porainība) vai arī (piemēram, daudzfunkcionāli nanomateriāli, pie kuriem pieskaitāmi pārtikas iepakojumus veidojošie kompozīti);

b) kompleksās laika atkarīgās fizikāli ķīmiskās pārvērtības (piemēram, novecošana, virsmas īpašību izmaiņas, porainība) vai metabolītu veidošanās, saistot kompleksi nanodaļiņas;

c) pazemināta hidrofobitāte / hidrofilitāte (atkarībā no nanomateriāla veida un to pārvērtībām);

d) termiskā, ķīmiskā noturība / augsta stabilitāte (piemēram, ūdenī, taukos vai ķermeņa šķidrums, zema noārdīšanās spēja un / vai šķīdība);

e) paaugstināta reaktivitāte salīdzinājumā ar līdzvērtīgu ne-nanomateriālu (piemēram, katalītiska, ķīmiska, bioloģiska reaktivitāte, ko nosaka liela īpatnējā virsma, salīdzinot ar mikro / makro izmēru daļiņām);

f) mērķtiecīga vai kontrolēta atbrīvošanās no nanomateriāla;

g) nanomateriāli ar pretmikrobu darbību;

h) nanomateriāla atšķirīga vai palielināta mobilitāte in vivo salīdzinājumā ar parasto nanomateriālu, t.i., palielināta bioakumulācijas spēja, piemēram, transportēšana ar makrofāgu, transportēšana caur šūnu membrānām, asinsrades barjeru un / vai placentu, piegādes sistēmām) un mobilizācijas potenciāls (piem., filtrēšana, sorbcija, kompleksu veidošana, kas sekmē daļiņu uzkrāšanos);

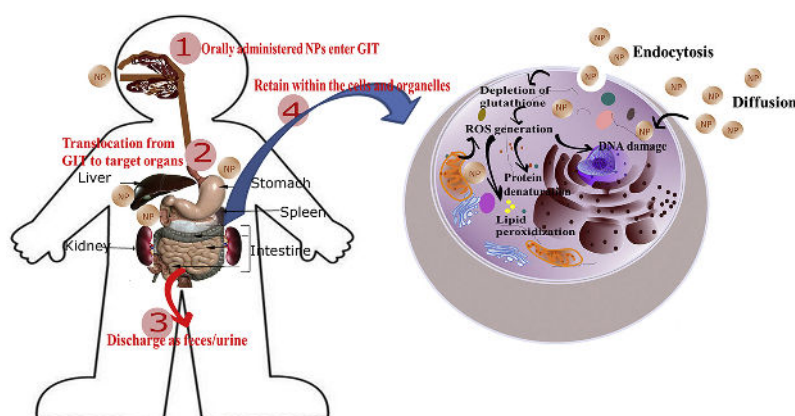
i) mijiedarbība ar biomolekulām, tādām kā fermenti, DNS, receptori, potenciālais "Trojas zirgs" ieskaitot imunitātes toksicitāti;

j) bioakumulācija;

k) kvantu efekti (piemēram, mainītās optiskās, elektriskās, magnētiskās, mehāniskās vai redox īpašības nanomateriālos).

Dekkers et al. (2016) secināja, ka toksikokinētikas un cilvēka bīstamības novērtējuma aspekti, kurus, visticamāk, var ietekmēt materiāla nanospecifikācijas īpašības, ir degradācija / šķīdināšana, uzkrāšanās, genotoksicitāte un imunitātes toksicitāte, uz ko arī norādījusi Pasaules Veselības Organizācija (PVO) savā 2017. g. pārskatā, kas apkopoja principus un metodes Novērtējiet imunitātes toksiskuma risku, kas saistīts ar nanomateriālu iedarbību [25, 26].

Metabolisma un ekskrēcijas parametri ir svarīgie biopieejamības rādītāji. Vielas / materiāla noturība ir tās spēja turpināt palikt ķermenī vai vidē. Bioizturība nozīmē, ka viela / materiāls spēj izturēt tādas degradācijas, kas var izraisīt tā šķīdināšanu, metabolisma noārdīšanos / detoksikāciju vai klīrensu no bioloģiskās sistēmas. Nanomateriāla uzkrāšanās bioloģiskās sistēmās vai tā noārdīšanās produktu saglabāšana nanomateriāla veidā (piemēram, materiāla sakausesējums pēc pārklājuma noārdīšanas) organismā var izraisīt tā bioakumulāciju. Tāpēc rūpīgi jāizvērtē nanomateriālu biopieejamība un bioakumulācija. Galvenie pārtēkā sastopamo nanomateriālu iedarbības mehānismi, nonākot cilvēka organismā, raksturoti 2018. g. publicētā apskata rakstā (2. att.) [27].



2. att. Nanomateriālu iekļūšana organismā no pārtikas un iespējamie iedarbības un metabolisma mehānismi [27].

Jāatzīmē, ka ir ļoti būtiski novērtēt tieši nanodaļiņu formu un precīzu struktūru nanomateriālam, jo dažādi materiāli var atšķirīgi uzvesties kontaktā ar pārtikas matricām. Piemēram, titāna dioksīdam un citiem metālisko oksīdu nanomateriāliem atšķirīgām formām var piemist samērā laba izturība neitrālā vidē, kas var veicināt šādu daļiņu migrāciju no pārtikas iepakojuma pārtikas produktā, kur daudzas daļiņas skābā vidē ($\text{pH} < 7$) galvenokārt migrē jonu formā. Šis ir viens no vairākiem faktoriem, kas jāņem vērā, novērtējot nevēlamo efektu samazināšanos, materiālu nanoīpašībām izzūdot migrācijas ceļā.

Izvērtējot nanodaļiņu bīstamību, migrācijas efekti, tai skaitā kopējā nanomateriālu veidojošā savienojuma (īpaši attiecināms uz kopējo metālisko elementu saturu no neorganiskām nanodaļiņām) un nanoizmēra frakcijas izmērus un sadalījumu ir individuāli jānovērtē, lai konstatētu ne tikai nanomateriāla klātbūtni, bet potenciālo iedarbības mehānismu un bīstamību patērētājam.

Pie šāda scenārija nanomateriāla īpašības izzūd un arī potenciālais kaitējums / drošība jāizvērtē jau attiecībā uz noteiktā elementa uzkrāšanos vai metabolismu, neņemot vērā sākotnējos nanoizmērus. Galvenie faktori, kas var kalpot par iemeslu šādai pieejai, ir sekojoši [20]:

- 1) laba šķīdība ūdenī, pārtikas matricā, organisma šķīdumos;
- 2) augsta noārdīšanās spēja (bioloģiska, fotokatalītiska, u.c.), kur noārdīšanās produkti vairs nav nano-izmērā;
- 3) daļiņu eksistēšana agregātu veidā, kas neļauj veidoties nanoizmēra daļiņām (ļoti atkarīgs no pārtikas sastāva, pH, vides u.c. faktoriem);
- 4) matricu stabilitāte, tai skaitā nanodaļiņu iekapsulēšana, nodrošinot to efektivitāti ārēju faktoru novēršanai, bet neļaujot migrēt daļiņām no iepakojuma.

Nanostrukturētas virsmas modifikācijas un nanostrukturās, kas neizdalās daļiņās un nav reaktīvas, parasti neparedz nelabvēlīgu ietekmi (piemēram, nanoporas vai lotosa efekta struktūras). Tomēr dažos gadījumos šāds lietojums var izraisīt nanomateriālu izplatīšanu, kam vajadzētu būt novērtētam. Attiecībā uz daļiņām, kas iekļautas pārtikas iepakojumā, jāņem vērā arī daļiņu mehāniskā izdalīšanās ar mehānisku spriegumu (lieces vai elastības, kas rodas lietošanā, virsmas defekti, plīsumi, poras).

Echegoyen un Nerin (2013) rakstā demonstrēta Ag-ND migrācija no pārtikas iepakojuma, kur sākotnējais daļiņu izmērs bija 30-60 nm [28]. Jaunāki publikāciju dati attiecībā uz zema blīvuma polietilēna / Ag-ND kompozīta iepakojumu gaļas produktiem sekmīgi demonstrēja, ka visas daļiņas migrējot pāriet Ag (I) jonu formā, tādējādi pārtikā uzkrātais sudrabs vairs nav attiecināms uz nanoizmēra daļiņām [29]. Bez Ag-ND jāatzīmē citi galvenie materiāli, kas var būt pārtikas iepakojumos un pašā pārtikā.

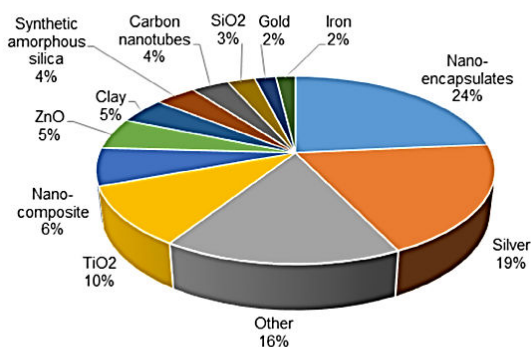
Nanomateriālu pielietojums pārtikas iepakojuma materiālos un pārtikas produktos

Kā jau ievada daļā minēts, viena no galvenajām problēmām, kam pēdējos gados pētniecības institūcijas, tai skaitā pārtikas kvalitātes un drošības pārraugošās starptautiskās uzraugošās institūcijas, EK un arī Latvijas likumdevēju vara kopēji pievērsušas uzmanību potenciālo apdraudējumu iespējamībai attiecībā uz nanomateriālu izplatību pārtikā un iepakojuma materiālos. Galvenās tendences attiecībā uz nanodaļiņu veidiem ir apkopotas vairākos apskata rakstos. Jāatzīmē, ka pēdējos gados īpaši pieaudzis publikāciju skaits, kas iekļauj dažādas instrumentālās un struktūranalīzes metodes nanodaļiņu satura un veida noteikšanai, kā arī specifiskas risku novērtēšanas metodes, tai skaitā *in vitro* / *in vivo* pētījumus.

Nanodaļiņas, kas izmantotas pārtikas sastāvā var idalīt šādās grupās:

- 1) Organiskās nanodaļiņas (lipīdi, proteīni, cukuri)
- 2) Neorganiskas nanodaļiņas (metālu oksīdi, metāli, nemetālu oksīdi (silīcija oksīds)
- 3) Hibrīdās nanodaļiņas – iekapsulētas neorganiskas vai organiskas daļiņas)

Pēdējo gadu pētījumi attiecībā uz nanomateriālu ražošanu ar mērķi tos pielietot pārtikas sastāvā ir apkopoti vairākos apskata rakstos, kas liecina, ka nano izmēra sudrabs (16%), titāna dioksīds (10%), silīcijs un cinka oksīds ir visbiežāk lietotie nanomateriāli (3. att.) [22, 30].



3. att. Nanomateriālu sadalījums pēc to pielietojuma biežuma pārtikas produktu sastāvā [30].

Tabulā 1. apkopoti galvenie piemēri nanomateriālu pielietojumam pārtikas produktu sastāvā. Var redzēt, ka vairumā gadījumu tie ir piena produkti, cietās matricas, kur nanomateriāli galvenokārt stabilizē produktu sastāvu un vienlaikus aizsargā no apkārtējās vides faktoru ietekmes uz produktu kvalitāti, nodrošinot uzglabāšanās ilgumu.

Tabula 1. Galvenie piemēri nanodaļiņām un to saturošām matricām [22]

Nanomateriāls	Raksturojums	Produkti
Organiskas dabas		
Kazeīna micellas	Proteīnu-minerālu/vitamīnu klasteri	Piens, krēmi
Šūnu organellas	Ribosomas, vakolas, lizosomas	Gaļa, zivis, dārzeņi
Lipīdu nanodaļiņas	Emulgatori	Mērces, krēmi
Neorganiskas dabas		
Dzelzs oksīds	FeO, dzelzs piedeva	Desas, uzturvielas
TiO ₂	UV aizsardzība, baltā krāsa	Konfektes, košļājamā gumija, piena pulveri u.c.
SiO ₂	Pulveru disperģējamība	Sāls, sausie pulveri, saussais piens, pūdercukurs
Sudrabs	Pretmikrobu īpašības	Gaļa, pārtikas subprodukti, konservi u.c.

Daudz plašāks dažādu neorganisku daļiņu pielietojums ir tieši pārtikas iepakojumu sastāvā, kas pamatā sastāv no klasiski pielietojamiem polimēriem kā zema blīvuma polietilēns, polipropilēns, celofāns, biopolimēri uz hitozāna un citu dabas polisaharīdu bāzes [31, 32].

- TiO₂- ND iepakojuma materiālos kalpo kā pārtikas krāsviela, aizsargā pārtikas iepakojumus pret UV starojumu un kontrolē mikrobu augšanu (Ge, Schimel, & Holden, 2012). Iepakojuma plēve, kas satur TiO₂, sekmīgi iedarbojas uz pārtikas virsmu piesārņojumu ar *E. Coli*, aerobajiem mikroorganismiem, TiO₂ ND paredzētas skābekli jutīgiem pārtikas, kas palīdz palielināt uzglabāšanas stabilitāti un ierobežo zaudējumus. Pētījumi parādījuši, ka pārtikā lietotā titāna dioksīda (E171) vidējais diametrs ir robežās 100-nm, kur mazāk par 36% ir ar mazāku izmēru par 100 nm [22, 32].
- Ag un tā kombinācijas ar TiO₂ ND, kas integrēti polimēru iepakojumā, saglabā svaigā siera un jogurta kvalitāti, nodrošina desu un/vai gaļas svaigumu, var paildzināt maizes uzglabāšanas ilgumu par vairākām dienām [22, 31].
- Zelta nanodaļiņas lieto līdzīgi kā sudraba nanodaļiņas, bet pamatā šķīdrajās matricās. Turklāt tās ir daudz dārgākas, tādēļ tiek retāk lietotas.
- ZnO saturošiem iepakojumiem arī piemīt antimikrobas īpašības attiecībā pret plaša spektra baktērijām un UV aizsardzība.
- Silīcija dioksīda (SiO₂) (E551) daļiņas parasti ir izmēros 100 -1000 nm range, bet var būt arī mazākos izmēros, kur tās kalpo birstamības nodrošināšanai sausajiem produktiem.
- Trīsvertīgā dzelzs nanodaļiņas parasti pievieno gaļas produktiem krāsas nodrošināšanai un produktu bagātināšanai ar dzelzi.

Galvenās metodes nanomateriālu kvalitatīvā un kvantitatīvā satura noteikšanai pārtikā un iepakojuma materiālos

EFSA norādītajās rekomendācijās apkopotas galvenās metodes, kuras piemērotas nanomateriālu raksturošanai, to satura analīzei pārtikas produktos un / vai pārtikas produktiem paredzētajos iepakojuma materiālos [20]. Būtiski ir ņemt vērā nanodaļiņu virsmas zonas izmērus, formu, sastāvu, virsmas lādiņu un absorbcijas spējas. Tāpat arī svarīgas īpašības ir virsmu modifikācijas, agregācijas spējas, šķīdība un sadalīšanās spējas. Novērtējot neorganiskas dabas nanomateriālus, kas galvenokārt sastāv no dažādu metālisku elementu veidotiem oksīdiem vai metālisko daļiņu nanomateriāliem kā Ag-ND vai Au-ND.

Kā būtiska prasība visām dokumentācijām, kas saistītas ar nanomateriāliem, ir jāpievieno detalizēta informācija par daļiņu izmēra sadalījumu un citiem parametriem.

Turklāt, ņemot vērā migrāciju, jāparedz, ka materiāli izšķīst, potenciāli radot vairāk toksiskas mazākās daļiņas (nano izmēros), vai arī pāriet pārtikā jonu vai molekulu formā. Tādēļ sākotnējā analīze paredz materiāla fiziskās un ķīmiskās identitātes noteikšanu, tai skaitā ņemot vērā saistību ar matricu.

Eiropas Pārtikas Drošības Aģentūras 2018. g. rekomendācijas norādītas galvenās instrumentālās metodes, kas piemērotas nanomateriālu identificēšanai pārtikas produktos un citās matricēs, kā arī to fizikāli ķīmisko īpašību raksturošanai, kas iedalās:

1. Ķīmiskā sastāva, tīrības un virsmas raksturošanas metodes;
2. Struktūranalīzes metodes daļiņu formas, izmēru un sadalījuma novērtēšanai;

Tabulā 2. apkopotas galvenās metodes, kas aprakstītas zinātniskajā literatūrā un arī norādītas EFSA dokumentācijā.

Tabula 2. Metožu pārskats, kas pielietojamas nanomateriālu raksturošanai (Ag, TiO₂ u.c.)

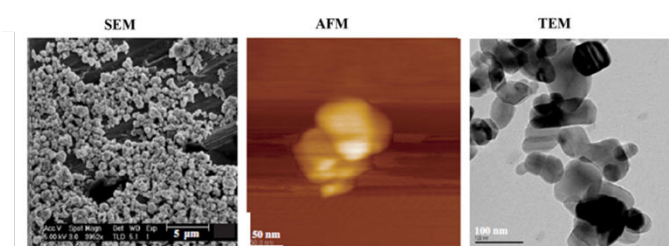
Pielietojums	Metode	Standarts
Kopējā metālisko elementu satura noteikšana	Induktīvi saistītās plazmas-masspektrometrija(ICP-MS)	ISO 13278
Kopējā elementu satura noteikšana (oksīdu un/elementu formā) – metode ļauj ar zemu precizitāti raksturot pamatsastāvu (nesagraujoša metode piemērota dažādām matricām)	Rentgenstaru fluorescences spektroskopija (XRF)	

Elementu sastāva noteikšanas metode kombinēta ar SEM/TEM	Energijas dispersīvās Rentgenstaru spektroskopija (EDX)	ISO 22489
Nanodaļiņu satura noteikšana, novērtējot to sadalījumu (nm)	Field flow fractionation (FFF)-lauka plūsmas frakcionēšana kombinācijā ar ICP-MS	ISO/TS 21362
Nanodaļiņu satura noteikšana, novērtējot sadalījumu (nm)	Single particle ICP-MS – vienas daļiņas ICP-MS	ISO/TS 19590
Nanodaļiņu formas, struktūras izmēru, aglomerizācijas raksturošana	Transmisijas elektronu mikroskopija (TEM)	ISO/WD 21363ISO 13322-1ISO 29301
Nanodaļiņu formas, struktūras izmēru, aglomerizācijas raksturošana	Skenējošā elektronu mikroskopija (SEM)	ISO/WD 19749ISO 13322-1ISO 16700
Nanodaļiņu formas, struktūras izmēru, aglomerizācijas raksturošana	Atomspēku mikroskopija (AFM)	ISO 25178 seriesIEC 62622
Kristāliskuma, formas analīze	Rentgendifraktometrija (XRD)	EN 13925-1, -2, -3
	UV/VIS absorbcijas spektroskopija	ISO 17466
Nanomateriālu identifikācija	Furjē transformāciju infrasarkanā spektroskopija / Raman spektroskopija	
Nanodaļiņu īpatnējās virsmas (laukuma, masas) analīze	Adsorbcijas izoterms: BET	ISO 9277, ISO 15901-2/-3, ISO 18757
Virsmas lādiņa analīze	Zet potenciāls	ISO 13099
Fularēnu vai organisko nanodaļiņu satura identificēšana	Ultra augstas izšķirtspējas masspektrometrija kombinēta ar GC, LC metodēm: - TOF - Orbitrap-HRMS - Furjē transformāciju jonu ciklotrona rezonanses MS	- ISO/TS 14101 - ISO/TS 14101

Iepakojuma materiāla un kompozīta analīze (polimēra identificēšana)	Gravimetriskā analīze ar FTIR Diferenciāli skenējošā kalorimetrija	
---	---	--

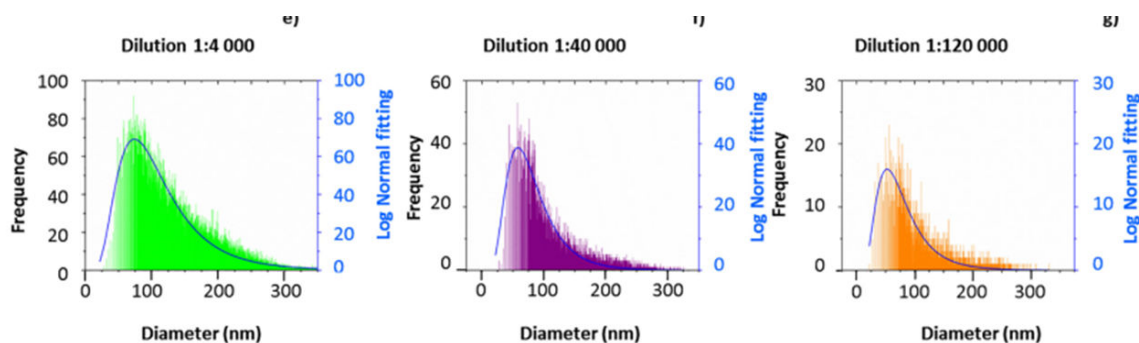
Galvenās metodes, kas tiek lietotas nanoizmēra daļiņu noteikšanai ir kopš 1991. g. lietotā asimetriskās plūsmas lauka frakcionēšana, kas pirms ICP-MS analīzes ļauj sadalīt daļiņas pēc to izmēriem, tādējādi analizējot noteiktu nanoizmēru frakcijas. Šobrīd plašāku pielietojumu radusi sp-ICP-MS, kas impulsu veidā ļauj skaitīt noteiktus fragmentus ar daļiņām, tādējādi ļaujot novērtēt daļiņu sadalījumu, nosakot metālu saturu ar ICP-MS metodi [33, 34]. Šī metode efektīvi ir lietota starplaboratoriju pētījumos sudraba nanodaļiņu noteikšanai vistas gaļā [34].

Papildus metālisko daļiņu novērtējumam, būtiski ir arī raksturot nanodaļiņu formu un struktūru ar spektroskopijas un mikroskopijas metodēm. Attēlā 4. raksturoti dažādu mikroskopijas analīžu dati, nosakot TiO₂ nanodaļiņas pārtikas produktu iepakojumā, kas ļauj kombinēti iegūt ainu par daļiņu formu, aglomerizāciju un citiem rādītājiem [35].



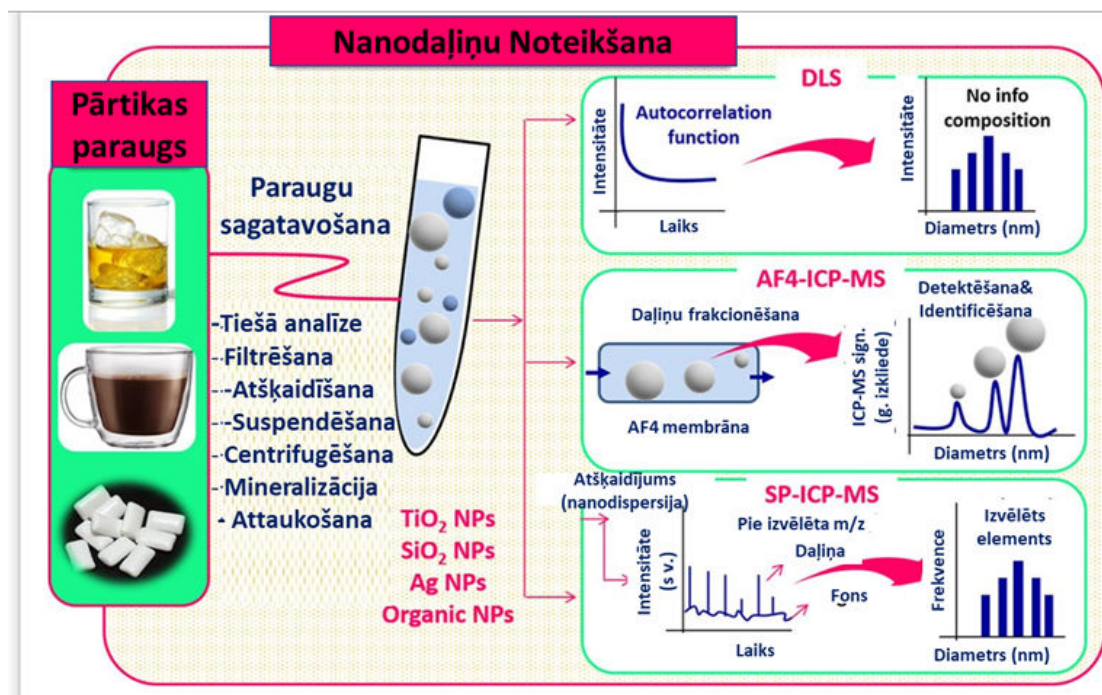
4. att. Uzskates piemērs TEM, SEM un AFM attēliem pārtikas produktu iepakojuma materiālā [35]

Nesen publicētā apskata rakstā detalizēti izvērtētas dažādas metodes titāna dioksīda analīzei pārtikas produktos (šokolādes konfektes) un sauļošanās krēmos, kas liecināja, ka sp-ICP-MS kombinācijā ar SEM/TEM analīžu metodēm ir piemērotākās metodes pārtikas produktu analīzei, kur būtiska nozīme ICP-MS metodes pielietojumā ir dažādu nanodispersijas līmeņu analīzei. Attēlā 5. demonstrētas sp-ICP-MS histogrammas, kas parāda atšķirīgu nanodaļiņu sadalījumu, tādējādi ļaujot identificēt daļiņu izmērus pārtikas produktā: biežāk sastopamais ar sp-ICP-MS metodi identificētais nanodaļiņu izmērs, kas konstatēts produkta nanodispersijā pie atšķaidījumā 1: 4000 bija 147 ± 7 nm, bet 1:120,000 atšķaidījumā: 52 ± 4 nm [36].



5. att. Uzskates piemērs TiO_2 nanodaļiņu sadalījumam šokolādes konfekšu matricā [36]

No datiem var spriest, ka būtiska nozīme ir vairāku metožu pielietošanai, kas ļauj novērtēt nanomateriālu formu, sadalījumu un novērtēt to potenciālo migrāciju, kā arī apdraudējumu patērētājam. Nanomateriālu kontroles jomā izmantoto metožu kopsavilkums ir parādīts 6.att.



6. att. Nanomateriālu kontroles jomā izmantoto metožu kopsavilkums

3. INFORMĀCIJA PAR STARPINSTITŪCIJU DARBA GRUPAS IESPĒJAMO SASTĀVU

Darba uzdevums projekta mērķa izpildei ir apzināt Latvijas zinātnisko institūciju zinātniski tehniskās bāzes nodrošinājumu un piemērotību projektā paredzēto pētījumu veikšanai, novērtējot TiO₂-ND un Ag-ND izplatību pārtikas iepakojuma materiālos un migrāciju pārtikā.

Projektā sākuma posmā veiktā zinātniskās literatūras apkopošana un analīze par nanodaļiņu izplatību un noteikšanas metodēm. Literatūras izpēte ļāva apzināt nepieciešamās instrumentāli analītiskās un / vai struktūranalīzes metodes, lai nodrošinātu pilnvērtīgu nanomateriālu satura un potenciālo risku novērtējumam attiecībā uz patērētājiem. Tā kā pētījums vērsts uz analītisko metožu izstrādi un pielietojumu izplatības, daļiņu formu, sadalījuma un migrācijas izvērtēšanai, izvērtētas galvenokārt šāda veida metodes.

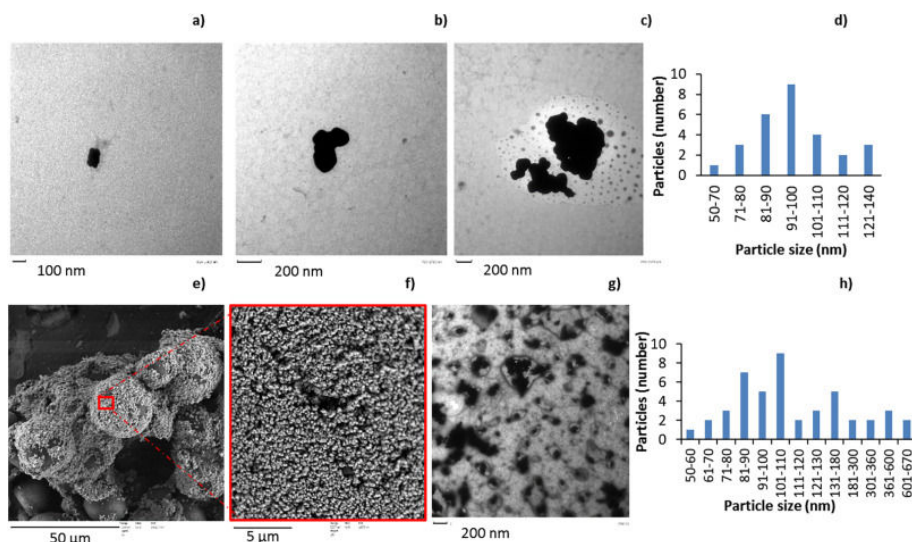
Citas metodes, kas attiecināmas uz riska analīzi, toksikokinētiskajiem pētījumiem, netika apskatītas, jo tās ietver atšķirīgu specifisku metožu kopumu (gaisa vides mērījumi, *in situ* / *in vivo* u.c. ķīmisko un bioloģisko risku novērtējums attiecībā uz nanomateriālu pielietojumu.

Pētnieciskās bāzes efektīva apgūšana un pielietošana ietver sadarbību starp pētniekiem, kuri strādā dažādās zinātnes nozarēs (analītiskā ķīmija, fizikālā ķīmija, fizikālās un materiālzinātnes virzieni). Ņemot vērā mūsdienu pasaules tendences, tieši sadarbība starp dažādu disciplīnu speciālistiem ir būtiska, ņemot vērā, ka iekārtas ir dārgas un to uzturēšanas un apkalpošanas efektivitāti nosaka ne to pieejamības kapacitāte, kas būtu neekonomiski, bet kvalitāte, specifiskas iekārtas apkalpojot laboratoriju ekspertiem, kuriem ir zināšanas un pieredze analīžu veikšanā, lai nodrošinātu pilnvērtīgu datu iegūšanu un izvērtējumu.

Tādēļ projekta mērķu sasniegšanai tika veikta zinātnisko institūciju laboratoriju tehnisko bāzu izvērtēšana, pamatojoties uz zinātnisko institūciju publiski sniegto informāciju universitāšu institūtu un privāto institūtu mājaslapās, specifisku zinātnisko datubāzu izpēti (RTU izstrādātā zinātnisko iekārtu un pakalpojumu datu bāze «Use science») [37]. Lai nodrošinātu nepārklātu un vienlaikus efektīvu kopdarbu, tika novērtētas projekta plānotās aktivitātes un nepieciešamās iekārtas to realizācijai.

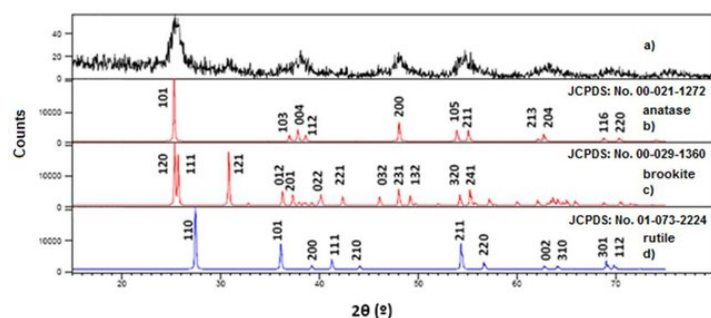
- Ievākt potenciāli pētāmo iepakojuma matricu (plēves, trauciņi, tetrapakas) un dažādu matricu pārtikas produktu (šķidri, sausi) paraugus.
- Pirmkārt novērtēt kopējo Ti un Ag kopējo katra elementa saturu analizējamajos paraugos, pielietojot induktīvi saistītās plazmas – masas spektrometrijas metodi (ICP-MS), parēķinot titāna saturu uz TiO₂.

- Tālākai novērtēšanai nepieciešams identificēt TiO_2 un Ag daļiņu skaita sadalījumu pārtikas produktu / iepakojumu matricās – šim mērķim nepieciešams pielāgot ICP-MS metodi, vai lietojot impulsveida (single particle (SP) mode – vienas daļiņas režīms, kas impulsu veidā ļauj saskaitīt dažādu izmēru daļiņas un apstrādes rezultātā dod kopainu par daļiņu izmēra sadalījumu) vai ar piemērotu laika plūsmas frakcionēšanu (field flow fractionation), kas nodrošina ātrāku un selektīvu nanodaļiņu sadalījuma izpēti [34,38]. Šobrīd pieejamais risinājums institūtā BIOR ir SP-ICP-MS, kas nodrošinās iespēju nolasīt relatīvo TiO_2 -ND un Ag-ND nanodaļiņu sadalījumu iepakojuma materiālos un pārtikā. No nesen publicētiem literatūras izpētes datiem var spriest, ka, lai gan lielāks TiO_2 saturs ir dažādos krēmos un zobupastās, dzērieni, košļājamās gumijas, konfektes ir galvenie TiO_2 pārnese produkti cilvēkam caur pārtiku, kur TiO_2 -ND daļiņu izmērs var svārstīties plašā diapazonā (galvenokārt ir robežās no 80 – 130 nm) [39].
- Citu struktūras metožu pielietojums papildus datu analīzei ir būtisks, jo ietver plašāku informāciju par daļiņu virsmas īpatnībām – formu, virsmas morfoloģiju (piemēram, tīras izkļiedētas daļiņas, aglomerāti – mazi daļiņu sakopojumi ar vāju mijiedarbību, agregāti – lielāki daļiņu apkopojumi ar izteiktu π - π mijiedarbību, virsmas morfoloģija, piemēram - pārklātas ar SiO_2 daļiņas TiO_2 gadījumā, kas var būt novērojams, ņemot vērā, ka šādi tiek uzlabotas nanodaļiņu īpašības – UV aizsardzība, radikāļu saistīšana, termiskā stabilitāte u.c., kas nodrošina vēlamos efektus iepakojuma vai pārtikas stabilizēšanai). Alternatīvās struktūranalīzes metodes kombinācijā ar ICP-MS ļauj skaidrot ķīmisko formu maiņu (cietas daļiņas, jonu forma, utt.), izvērtējot iespējamo migrāciju cietu un šķidru pārtikas produktu gadījumā: Raman spektrometrijas, skenējošo elektronu mikroskopija (SEM) un caurejošā elektronu mikroskopija (TEM), kā arī atomspēku mikroskopijas (AFM) metodes ir piemērotas, lai identificētu ne tikai daļiņu formu, piemēram ļaujot spriest par raksturīgu daļiņu sadalījumu, apstiprinātu notikušu vai tieši nenotikušu migrāciju no iepakojuma pārtikas matricā. Turklāt SEM/TEM metodēm pielāgotās EDX elementu analīzes iespējas ļauj precīzi apstiprināt, ka nosakāmās struktūras uz analizējamās virsmas atbilst nosakāmajiem elementiem, (t.i., Ag, u.c.), kā arī formas īpatnības ļauj identificēt Ti brīvu vai piem. TiO_2 formu. Piemēram att. 1 redzams no nesena raksta novērtējums TiO_2 novērtējumam ar SEM, TEM metodēm [40].



7. att. Salīdzinājums SEM, TEM metožu pielietojumam titāna dioksīda daļiņas novērtējumam dažādās matricās: (a) -TEM un (e) - titāna dioksīda daļiņas šokolādes konfektēs

- Rentgendifraktometrijas metodes pielietojums ir būtisks, lai noteiktu TiO_2 kristālisko formu, ņemot vērā to atšķirīgu radikāļu aktivitāti un potenciālu bīstamību. Piemēram, rutilam tiek uzskatīts, ka piemīt labāka spēja OH radikāļu saistīšanai, turklāt šīm daļiņām ir atšķirīgi šķīdīdības parametri neitrālā pH apstākļos (skābā vidē šķīdība uzlabojas), kas var būt par iemeslu rutila u.c. daļiņu formu pārejai nepārveidotā formā no iepakojuma pārtikas produktā [39, 41]. Piemēram, katrai no TiO_2 daļiņu kristāliskajām formām ir savs raksturīgs rentgenspektrs, kas ļauj tos identificēt (2. att) [42,30]. Tāpat XRD ļauj novērtēt identificētu Ag struktūru [43].
- Ļoti būtiski ir reizēm iegūt vismaz pirmējo novērtējumu, salīdzinot ar ICP-MS datiem attiecībā uz elementu sastāvu. Šim mērķim kā efektīva ātra, relatīvi lēta un nedestruktīva līdzīgi kā XRD metode, ko var pielietot, ir rentgenfluorescence (XRF) spektroskopija, kas varbūt neuzrāda augstu precizitāti (metode saskaras ar precizitātes problēmām matricas faktoru dēļ, nepieciešama kalibrēšana), taču metode ļauj novērtēt piemēram potenciālu migrācijas ietekmi – identificējot Ag vai Ti elementus, turklāt metode ļauj arī spriest par silīcija saturu un iespējamu TiO_2 daļiņu pārklāšanos ar silīciju, kombinējot XRF ar XRD, mikroskopijas un ICP-MS metodēm [30, 35].
- Lai identificētu iepakojumu materiālus, bieži nepieciešama materiālzinātnes nozares ekspertu pieredze, kas darbojas polimēru izpētes jomā



8. att. Rentgendifraktogrammas TiO₂ nanodaļiņām (a) un atšķirīgu kristālisko formu TiO₂ (b-d) paraugiem [42]

Darba grupas apraksts

Pamatojoties uz plānotajiem uzdevumiem un veikto Latvijas institūciju apzināšanu, izveidots potenciālais grupas sastāvs, nosakot prioritārās institūcijas un pieejamo zinātniski tehnisko bāzi pētījumu veikšanai. Galvenokārt ņemta vērā, pieejamība institūcijai, iekārtu tehniskais stāvoklis un laboratoriju speciālistu pieredze dažādu daļiņu izpētē, īpaši uzsverot nanomateriālu izpēti. Zinātniskās institūcijas, pieejamās tehniskās iekārtas raksturotas 3 tabula.

Tabula 3. Poltenciālā darba grupa nanodaļiņu (titāna dioksīda, sudraba) izpētei pārtikas iepakojumā un migrācijai pārtikas produktos.

Institūcija	Kontaktpersona	Iekārtas	Pielietojums
BIOR	Dr.chem. PVIL vadītājs Vadims Bartkevics (Lejupe iela 3, Rīga, Vadims.Bartkevics@bior.lv)	1) ICP-MS 2) SP-ICP-MS 3)HPLC-TOF- MS	1) Ti, Ag katra elementa kopējā satura noteikšana pārtikas / iepakojumu matricās. 2) TiO ₂ , Ag daļiņu nm izmēru sadalījuma novērtējums single sample analīzes režīmā 3) Ja nepieciešams C60, C70 u.c. fullerēnu analīzēm
Latvijas Universitāte (Ķīmijas fakultāte)	Prof. Andris Actiņš (Jelgavas iela 1, Rīga, Andris.Actins@lu.lv)	Nedestruktīvās metodes: 1) XRD 2) XRF	1) Titāna oksīda kristāliskās formas (anatāzs, rutilis, brukīts) un sudraba identificēšana un struktūras parametru raksturošana

			2) Ti, Ag kvalitatīvā / kvantitatīvā satura novērtēšana iepakojuma materiālos vai arī pārtikas produktos (puskvantitatīva nedestruktīva un lēta metode)
Latvijas Universitāte (Ķīmiskās fizikas institūts)	Direktors Donāts Erts (Jelgavas iela 1, Rīga, Donats.Erts@lu.lv)	1) SEM/EDX 2) AFM	1) TiO ₂ , Ti, Ag daļiņu izmēra, elementsastāva novērtējums 2) Nano daļiņu formas, izmēru novērtējums
Latvijas Universitātes Cietvielu Fizikas Institūts	Dr. Andris Fedotovs (Ķengaraga iela 8, Latgales priekšpilsēta, Rīga, andris.fedotovs@cfi.lu.lv)	1) TEM/EDX 2) Raman spektroskopija	1) 1 TiO ₂ , Ti, Ag daļiņu izmēra, elementsastāva novērtējums. 2) TiO ₂ , Ag formas identificēšana iepakojuma materiālā,
Rīgas Tehniskā Universitāte (Polimērmateriālu institūts)	Direktors Dr.sc.ing. Jānis Zicāns (Rīga, Paula Valdena iela 3, Telefons: +371-67089252. E-pasts: zicans@ktf.rtu.lv	1)FTIR vai FTIR-TGA 2)DSC 3) Zeta potenciāls	1) Polimērmateriālu un nanodaļiņu satura identificēšana (pieejamas datubāzes) 2) polimērmateriālu identificēšana (pieejamas datubāzes) 3) Nanodaļiņu izmēra raksturošana

4. NANOMATERIĀLU (Ag, TiO₂) ICP-MS NOTEIKŠANAS METODES

Metode nosaka, kā jāveic elementu (Ag un Ti) noteikšanu pārtikas produktos ar induktīvi saistītās plazmas masspektrometrijas (ICP-MS) metodi. Metodika ir piemērojama visu veidu pārtikas produktiem, kuri ir paredzēti mineralizācijai mikroviļņu krāsnī. Tā paredzēta lietošanai Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta „BIOR” Diagnostikas centra darbiniekiem.

4.2. Norises apraksts

4.2.1. *Princips*

Ar ICP-MS ir iespējams kvalitatīvi un kvantitatīvi noteikt elementus šķīdumos. Šķīdumi, kas tiek analizēti, tiek pārvērsti par aerosolu, sajaukti ar nesošo gāzi (argonu), kas tiek transportēts uz augstfrekvenču plazmu, kurā tas tiek atomizēts un jonizēts. Šie joni ar augstas frekvences plazmu tiek iesūkti caur konusu sistēmu un sadalīti atbilstoši to masas-lādiņa attiecībai. Pēc sadalīšanas, jonus reģistrē detektors un iegūtie signāli tiek novērtēti ar masspektrometra programmatūru.

Kvantitatīva analīze ir realizējama, veicot kalibrēšanu ar standartšķīdumiem, jo pastāv lineāra sakarība starp pārbaudāmo jonu signālu intensitāti un elementu koncentrāciju.

4.2.2. *Reaģenti, šķīdumi:*

4.2.2.1) Ultra tīrs ūdens (no sistēmas Milli-Q), pretestība ~18 MΩ·cm;

4.2.2.2) Destilēts ūdens;

4.2.2.3) Koncentrētā slāpekļskābes (HNO₃) ≥65%, augstās vai īpaši augstās tīrības pakāpes;

4.2.2.4) Koncentrētā sālsskābe (HCl) ≥30%, augstās vai īpaši augstās tīrības pakāpes;

4.2.2.5) Koncentrētā fluorūdeņražskābe (HF) ≥47%, augstās vai īpaši augstās tīrības pakāpes;

4.2.2.6) Koncentrētā borskābe (H₃BO₃) ≥99%, augstās vai īpaši augstās tīrības pakāpes;

4.2.2.7) Koncentrēts ūdeņraža peroksīds ≥30%, augstās vai īpaši augstās tīrības pakāpes;

4.2.2.8) Viena elementa vai multielementu standartšķīdums.

4.2.3. Aparatūra, trauki:

- 4.2.3.1) Mērkolbas 50 mL (precizitāte $\pm 0,06$ mL) un 100 mL (precizitāte $\pm 0,10$ mL);
- 4.2.3.2) Plastmasas kolbas 50 mL;
- 4.2.3.3) Graduētas pipetes 1 mL (precizitāte $\pm 0,01$ mL);
- 4.2.3.4) Automātiska pipete 100-1000 μ L;
- 4.2.3.5) Analītiskie svāri ar svēršanas iespēju 0,0001 g;
- 4.2.3.6) Bezpelnu celulozes filtrpapīrs: ātras (poru izmērs 22 μ m) un lēnas (poru izmērs 2,7 μ m) filtrēšanas;
- 4.2.3.7) Mikroviļņu krāsns CEM Mars 6 ar traukiem MARSXpress Plus;
- 4.2.3.8) ICP-MS Agilent 7700x.

4.2.4. Paraugu pagatavošanas vispārīgie principi:

Visās paraugu pagatavošanas stadijās jāizvairās no parauga piesārņojuma ar pētāmiem elementiem. Pagatavotus paraugus jātur tumsā pie temperatūras 4 ± 2 °C. Lai nepieļautu paraugu piesārņojumu no laboratorijas traukiem (ar Cr, Hg un citiem) jālieto plastmasas, teflona, borsilikāta vai kvarca traukus.

Nepieciešamās pirmapstrādes darbības (mazgāšana, smalcināšana u.c.) dažiem paraugiem jāskatās ražotāja metodes piezīmju kopsavilkumos, normatīvajos dokumentos vai citā literatūrā.

4.2.5. Paraugu pagatavošanas:

Paraugu pagatavošanas shēma (reāģentu daudzums, izturēšanas laiks un sildīšanas temperatūras profils mikroviļņu krāsnī), kura piemērota dažādiem pārtikas paraugiem sudraba un citu elementu noteikšanai:

- 4.2.5.1) Paraugu atsaldē, lai to varētu sasmalcināt līdz daļiņām, kuras ir mazākas par 5 mm;

4.2.5.2) Izmantojot analītiskos svarus, mikroviļņu krāsns traukos nosver apmēram 0,5 g parauga, pēc tam ar dispenseru vai automātisko pipeti pievieno 4 mL ultra tīras ūdens, 5 mL koncentrētas slāpekļskābes un 1 mL koncentrētā ūdeņraža peroksīda, un iztur vismaz 20 minūtes.

4.2.5.3) Pēc paraugu izturēšanas mikroviļņu krāsns traukus hermētiski aizver ar vākiem un ieliek sildīties mikroviļņu krāsnī, sildīšanas laiks 15 minūtes līdz 150 °C, izturēšanas laiks 15 minūtes, tad sildīšanas laiks 10 minūtes līdz 180 °C, izturēšanas laiks 20 minūtes. Pēc tam traukus atdzesē līdz temperatūrai ≤ 50 °C.

4.2.5.4) Uzmanīgi atver traukus, nolaižot uzkrātās gāzes caur tam paredzēto caurumu vākā, paraugu filtrē, izmantojot ātras filtrēšanas filtrpapīru, nomazgājot paraugu no trauka sienam ar ultra tīro ūdeni;

4.2.5.5) Filtrēto paraugu pārlej 50 mL mērkolbā un uzpilda mērkolbu līdz zīmei ar ultra tīro ūdeni;

4.2.5.6) Iegūtos šķīdumus pārlej 50 mL plastmasas kolbās;

4.2.5.7) Ja iegūtajā šķīdumā ir saskatāmas neizšķīdušas daļiņas, filtrēšanu atkārto, izmantojot lēnas filtrēšanas filtrpapīru.

Paraugu pagatavošanas shēma (reaģentu daudzums, izturēšanas laiks un sildīšanas temperatūras profils mikroviļņu krāsnī), kura piemērota dažādiem pārtikas paraugiem titāna noteikšanai:

4.2.5.8) Paraugu saldē, lai to varētu sasmalcināt līdz daļiņām, kuras ir mazākas par 5 mm;

4.2.5.9) Izmantojot analītiskos svarus, mikroviļņu krāsns traukos nosver apmēram 0,5 g parauga, pēc tam ar dispenseru vai automātisko pipeti pievieno 1 mL ultra tīras ūdens, 6 mL koncentrētas slāpekļskābes, 2 mL koncentrētā ūdeņraža peroksīda, 1 mL koncentrētas fluorūdeņražskābes un iztur vismaz 20 minūtes.

4.2.5.10) Pēc paraugu izturēšanas mikroviļņu krāsns traukus hermētiski aizver ar vākiem un ieliek sildīties mikroviļņu krāsnī, sildīšanas laiks 15 minūtes līdz 150 °C, izturēšanas laiks 15 minūtes, tad sildīšanas laiks 10 minūtes līdz 180 °C, izturēšanas laiks 20 minūtes. Pēc tam traukus atdzesē līdz temperatūrai ≤ 50 °C.

4.2.5.11) Mikroviļņu krāsns trauku atver, ar dispenseru vai automātisko pipeti pievieno 25 mL 4% borskābes un iztur vismaz 10 minūtes.

4.2.5.12) Pēc paraugu izturēšanas mikroviļņu krāsns traukus hermētiski aizver ar vākiem un ieliek sildīties mikroviļņu krāsnī, sildīšanas laiks 20 minūtes līdz 170 °C, izturēšanas laiks 10 minūtes. Pēc tam traukus atdzesē līdz temperatūrai ≤50 °C.

4.2.5.13) Uzmanīgi atver traukus, nolaižot uzkrātās gāzes caur tam paredzēto caurumu vākā, paraugu filtrē, izmantojot ātras filtrēšanas filtrpapīru, nomazgājot paraugu no trauka sienam ar ultra tīro ūdeni;

4.2.5.14) Filtrēto paraugu pārlej 50 mL mērkolbā un uzpilda mērkolbu līdz zīmei ar ultra tīro ūdeni;

4.2.5.15) Iegūtos šķīdumus pārlej 50 mL plastmasas kolbās;

4.2.5.16) Ja iegūtajā šķīdumā ir saskatāmas neizšķīdušas daļiņas, filtrēšanu atkārto, izmantojot lēnas filtrēšanas filtrpapīru.

4.2.6. Mikroviļņu krāsns trauku mazgāšana:

Pēc paraugu pagatavošanas nepieciešams labi izmazgāt mikroviļņu krāsns traukus, lai nepieļautu kroskontamināciju. Ar traukiem jābūt uzmanīgiem, jo tie uztaisīti no teflona un var būt saskrāpēti, tāpēc jāizvēlas birstes ar mīksti sariem, to metāliskam daļām jābūt krāsotām vai pārklātiem ar polimeru.

4.2.6.1) Trauku, iekšējo un ārējo vāciņu mazgāšanu sāk - nomazgājot tos ar silto ziepju ūdeni un novāc nogulsnes no trauku dibena un sienam ar birsti un noskalo ar krāna vai destilēto ūdeni. Atkārto divas reizes, bet ja nepieciešams vairākas reizes, ja nelīdz atstāj uz nakti ar ziepju ūdeni.

4.2.6.2) Noskalo traukus ar destilēto ūdeni 2 reizes un tad 2 reizes ar ultra tīro ūdeni.

4.2.6.3) Traukos iepilda 10 mL koncentrētas slāpekļskābes (ACS vai tīrākas) un traukus hermētiski aizver ar vākiem un ieliek sildīties mikroviļņu krāsnī, sildīšanas laiks 15 minūtes līdz 150 °C, izturēšanas laiks 10 minūtes. Pēc tam traukus atdzesē līdz temperatūrai ≤50 °C.

4.2.6.4) Skābi izlej, lai ne bojātu kanalizācijas tīklu, koncentrētu skābi pirms tas izliešanas stipri jāatšķaida. Noskalo traukus ar destilētu ūdeni 2 reizes un tad 2 reizes ar ultra tīro ūdeni.

4.2.6.5) Traukus un vāciņus žāvē žāvējamā skapī uz tīriem papīra dvieļiem pie temperatūras

80-90 °C. Tīros traukus atdzesē un nogādā glabāšanas vietā.

Papildus jāseko līdz mikroviļņu krāsns, karuseļa un trauku čaulu tīrībai, ja nepieciešams nomazgāt tas ar silto ziepju ūdeni, noskalot ar destilēto ūdeni un nosusināt ar papīra dvieļi.

4.2.7. Šķīdumu pagatavošana:

4.2.7.1) Tukšo paraugu pagatavo – 50 mL mērkolbā ar automātisko pipeti pievieno 0,25 mL koncentrētas slāpekļskābes un uzpilda mērkolbu līdz atzīmei ar ultra tīro ūdeni, pārlej 50 mL plastmasas kolbā.

4.2.7.2) No viena elementa vai multielementu standartšķīduma pagatavo kalibrēšanas standartšķīdumus tā, lai visu nosakāmo elementu koncentrācijas atrastos kalibrēšanas intervālā, piemēram, 0, 5, 10, 100, 500 un 1000 µg/L.

4.2.7.3) Pagatavo 10 mg/L standartšķīdumu no sākotnējā standartšķīduma ar koncentrāciju 1g/L, 50 mL mērkolbā ar graduēto pipeti pievieno 1 mL koncentrētās slāpekļskābes un 0,5 mL sākotnējā šķīduma, uzpilda mērkolbu līdz atzīmei ar ultra tīro ūdeni, pārlej 50 mL plastmasas kolbā. Plastmasas kolbu marķē norādot elementu vai elementus, koncentrācijas, pagatavošanas datumu (derīguma termiņš: 1 mēnesis no pagatavošanas datuma).

4.2.7.4) 50 mL mērkolbā ar graduēto pipeti pievieno 5 mL elementu šķīduma ar koncentrāciju 10 mg/L, uzpilda mērkolbu līdz atzīmei ar ultra tīro ūdeni, pārlej 50 mL plastmasas kolbā. Ir pagatavots 1000 µg/L kalibrēšanas standartšķīdums.

Citi kalibrēšanas standartšķīdumi tiek pagatavoti paralēli, izmantojot atbilstošu standartšķīduma daudzumu. Plastmasas kolbas marķē - norādot elementu vai elementus, koncentrācijas, pagatavošanas datumu (derīguma termiņš standartiem ar koncentrāciju mazāku par 10 mg/L ir 24 stundas).

4.2.7.5) Kvalitātes kontroles nodrošināšanai katrā paraugu sērijā iekļauj tukšos paraugus un šķīdumus ar zināmo koncentrāciju (2 un 50 µg/L). Pagatavojot kontroles paraugus no multielementu standartšķīdumiem ar atšķirīgu elementu koncentrāciju, ir iespējams izvēlēties arī citas koncentrācijas, piemēram, 20 µg/L.

4.2.8. Analīžu veikšana

Mērījumus veic atbilstoši ICP-MS Agilent 7700x ražotāja instrukcijai.

ICP-MS Agilent 7700x parametri:*

Plasma mode	Normal, robust
RF forward power (W)	1300
Sampling depth (mm)	8.0
Carrier gas flow (L/min)	0.6
Dilution gas flow (L/min)	0.4
Spray chamber temperature (°C)	2
Extraction lens 1 (V)	0
Kinetic energy discrimination (V)	3

*Uzstādījumi var atšķirties, ja pirms mērījumiem tiek izmantota autokalibrēšana.

4.2.9. Rezultātu aprēķināšana:

ICP-MS programmatūra ļauj noteikt elementu koncentrācijas, veicot mēriekārtas kalibrēšanu, nosakot sakarību starp jonu signālu intensitātēm un elementu koncentrācijām, izmantojot standartšķīdumus. Ja paraugi bija atšķaidīti pirms mērīšanas, tad, aprēķinot rezultātu, tiek ņemts vērā arī atšķaidījums. Ja nepieciešams paraugam noteikt elementu koncentrācijas pret masas vienību, tad elementu koncentrācijas ω tiek uzdotas proporcionāli paraugā sākotnējai masai, to aprēķina pēc formulas:

$$\omega = p \times V/M, \text{ kur}$$

ω - elementu koncentrācijas, $\mu\text{g/g}$;

p - noteiktā elementa koncentrācija, $\mu\text{g/L}$;

V - sagatavotā parauga tilpums, mL;

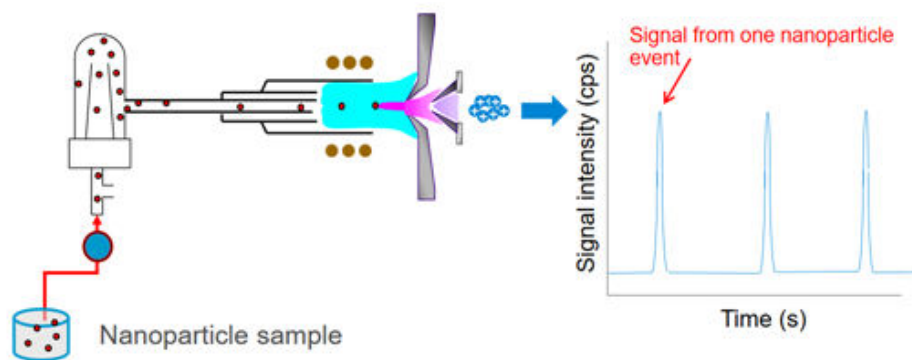
M - parauga masa, pagatavojot paraugu, mg.

Atsauces

- LVS EN 15763:2010 "Pārtika. Mikroelementu noteikšana. Arsēna, kadmija, dzīvsudraba un svina noteikšana pārtikā ar induktīvi saistītās plazmas masas spektrometriju (ICP-MS) pēc augstspiediena mineralizācijas";
- LVS EN 13804:2013 "Pārtikas produkti. Ķīmisko elementu un to savienojumu noteikšana. Vispārīgi norādījumi un īpašas prasības";
- LVS EN 13805:2015 "Pārtikas produkti. Mikroelementu noteikšana. Augstspiediena mineralizācija";
- LVS EN ISO 17294-1:2006 "Ūdens kvalitāte. Induktīvi saistītās plazmas masspektrometra lietošana (ICP-MS). 1.daļa: Vispārīgās vadlīnijas";
- LVS EN ISO 17294-2:2016 "Ūdens kvalitāte. Induktīvi saistītās plazmas masas spektrometrijas (ICP-MS) pielietošana. 2.daļa: Atsevišķu elementu, to starp urāna izotopu, noteikšana (ISO 17294-2:2016)";
- "MARS 6 microwave acid digestion, method note compendium", CEM, 2018.

INFORMĀCIJA PAR PROJEKTĀ IETVAROS IEGĀDĀTO sp-ICP-MS PIEDERUMU (ir paredzēts ieviest 2019.gadā)

Pielietojot speciālu *single nanoparticle* programmatūru, iespējams mērīt nanodaļiņu koncentrāciju, diametru un daļiņu lieluma sadalījumu (1-100 μm diametrs) ar ICP-MS analīzes metodi. Nanodaļiņu saturošs šķīdums tiek ievadīts smidzinātājkamerā, tad nanodaļiņas nokļūst plazmā, kur jonizējas. Detektors identificē signālu, viena smaile atbilst vienai nanodaļiņai.



9.att. sp-ICP-MS principiālā shēma

Atšķirība starp spICP-MS un ICP-MS mērīšanas principiem vizuāli shematiski attēlota attēlā.

Sample	Plasma	Result
 Sample containing dissolved metals	 Dwell time constant stream of charged ions	 Dwell time Constant signal M^+ Time
 Sample containing metal NPs	 Dwell time pulses of charged ions	 Dwell time Individual pulses M^+ Time

10.att. Shēma ICP-MS un sp ICP-MS mērīšanas principiem

5. LATVIJAS TIRGŪ ESOŠO PRODUKTU ANALĪZES REZULTĀTI

TiO₂ ir balta pigmentviela, kuru pievieno pārtikas produktiem. Eiropas Savienībā pārtikas produktos TiO₂ marķē kā krāsvielu E171. Parasti pigments, kuru pievieno pārtikas produktiem, satur daļiņas, kuru diametrs ir robežās no 200 – 300 nm, bet ražotāji norāda, ka var saturēt arī daļiņas <100 nm (nano daļiņas).

4. tabulā apkopota informācija par kopējo Ti saturu dažādos pārtikas produktos. Ja ir zināms kopējais Ti saturs produktā, tad TiO₂ koncentrāciju var izskaitļot, reizinot ar skaitli 1,67.

Tabula 4. Kopējais Ti saturs (mg/kg) pārtikas produktos.

Pārtikas kategorija		Ti, mg/kg
Saldumi	šokolāde	1 [39]
	konfektes	No 1 līdz 1000 [39]
	košļājamās gumijas	no 148 līdz 4470 [44] 1000 [39]
Konditorejas izstrādājumi	kūkas, cepumi	0,23 [45]
Mērces		0,43 [45]
Piena produkti	piens, jogurts, pārstrādātie piena produkti	no 0,12 līdz 0,47 [45]
Dzērieni	bezalkoholiskie	0,06 [45]

Šajā pētījumā tika izvēlēts daudzveidīgs 26 “balto” pārtikas produktu klāsts no vietējiem veikaliem, lai noteiktu kvantitatīvi Ti koncentrāciju. No visiem marķējumiem vienīgi košļājamajām gumijām aprakstā tika minēts, ka produkts satur TiO₂.

Piena produktos noteiktais Ti saturs mainās robežās no 0,287 līdz 0,681 mg/kg, savukārt dažādos dzērienos, kas ražoti no augu valsts izcelsmes izejvielām - no 0,05 līdz 0,405 mg/kg, mērcēs līdz 0,297 mg/kg produkta. Auzu, sojas dzērieniem ir raksturīgi, ka Ti koncentrācija ir zemāka nekā dažādiem piena pārstrādes produktiem. Ti saturs piena pārstrādes produktos mainās vienas kārtas robežās neatkarīgi no izvēlētā ražotāja (Tabula 5).

Pastilās un zefiros noteiktā Ti koncentrācija ir zemāka par metodes noteikšanas robežu (<0,050 mg/kg).

Nīderlandē veiktajos pētījumos konstatēts, ka dažādu vecuma grupu pārtikas produktu lietotājiem vislielākā iespēja uzņemt Ti ir no košļājamajām gumijām, kafijas piena, kapučīno, glazūrām, majonēzes [45].

Visaugstākā Ti koncentrācija mūsu pētījumā konstatēta košļājamajās gumijās - 305 līdz 660 mg/kg. Iegūtie rezultāti ir saskanīgi ar literatūrā pieejamajiem datiem, tos paredzēts turpināt produktiem, kas var saturēt ievērojamu Ti daudzumu.

Tabula 5. Kopējais Ti saturs (mg/kg) Latvijas tirgū nopērkamajos pārtikas produktos

Pārtikas produkts	Ražotājvalsts	Ti, mg/kg
Sojas dzēriens Alpro (nesaldināts)	Alpro C.V.A (Beļģija)	0,405 ± 0,040
Sojas dzēriens ar zemu tauku saturu Valsoia	Valsoia (Itālija)	<0,050
Auzu dzēriens I love Eco	Ražots Zviedrijā (SIA Rimi Latvija)	0,075 ± 0,007
Gurķu mērce Rundāle	SIA Kronis	0,297 ± 0,029
Kafijas krējums Rimi, 10% tauku saturs	Ražots Igaunijā pēc RIMI pasūtījuma	0,435 ± 0,043
Saldaiss krējums 30%, Minusl	OMIRA GmbH	0,287 ± 0,028
Ķiploku mērce Rimi	Ražots Lietuvā pēc Rimi pasūtījuma	0,225 ± 0,022
Ciba mājas siers ar saldo krējumu	AS Cesvaines piens	0,324 ± 0,032
Graudainais Biezpiens Annele	AS Pieno Žvaigždes	0,365 ± 0,036
Graudainais Biezpiens ar saldo krējumu Baltais	AS Tukuma piens	0,283 ± 0,028
Siers Mozzarella Zottarella light, 8,5% tauku saturs	Ražots Vācijā	0,559 ± 0,055
Siers Mozzarella Zottarella light, 8,5% tauku saturs	Ražots Vācijā	0,412 ± 0,041
Siers Mozzarella	AS Smiltenes Piens	0,681 ± 0,068
Kafijas krējums Ciba, 200ml,	Hochwald foods GmbH (pēc	<0,050

12% tauku saturs	A/S siera nams pasūtījuma)	
Jogurta maurloku mērce	SIA Orkla foods Latvija	<0,050
Kafijas krējums Ciba, 10 g, 10% tauku saturs	Hochwald foods GmbH (pēc A/S siera nams pasūtījuma)	<0,050
Cepumi Oreo original	Mondelez Baltic	0,754 ± 0,075
Konfektes Candy King - Baltas	Candy King	<0,050
Konfektes Candy King - Krāsainas	Candy King	<0,050
Konfektes Raffaello	Izplatītājs: SIA Eugesta un partneri	0,257 ± 0,025
Košļājamā gumija Orbit Sweetmint	Wrigley's	660 ± 64
Košļājamā gumija Dirol Sweet	Mondelez Baltic	305 ± 30
Košļājamā gumija Orbit winterfresh	Wrigley's	435 ± 43
Marshmallows (zefīri)	Ražots - Nīderlande (pēc RIMI pasūtījuma)	<0,050
Haribo barbecue pastilas ar vaniļas garšu	Haribo	<0,050
Zefīrs ar vaniļas garšu	SIA Skrīveru saldumi	<0,050

Pasaules pētījumos konstatēts, ka arī noteikta veida iepakojumi, kas satur sudrabu vai iestrādātas sudraba nanodaļiņas antibakteriālā efekta sasniegšanai, var potenciāli nelabvēlīgi ietekmēt produkta lietotājus, jo, lai arī sudrabs ir bioloģiski pieejams pamatā oksīdu veidā pie zemas pH vides, tomēr pastāv zināms risks pārtikā iekļūt tieši šīm nanodaļiņām.

Literatūrā minēts, ka sudraba nanodaļiņas atrodamas dažādos kūku dekorēšanai domātos graudiņos (pērlītēs), šokolādēs, kā arī gaļā (antibakteriālais iesaiņojums). Mūsu pētījumā kopējā sudraba koncentrācija tika kvantificēta gaļas produktos, kūku dekorēšanas graudiņos, sulās.

Gaļa veikalos tika uzglabāta vakuumpakojumā, iepakojumam blīvi pieguļot produktam, kā arī putustirola kastītēs, ar pārsegtu plēvi (šinī gadījumā plēve cieši nepieguļ produktam). Nevienā no analizētajiem paraugiem etiķetē netika norādīts marķējums E174.

Pētījumā tika izvēlētas dažāda veida svaigas gaļas produkti no vairākiem ražotājiem un dažādām izcelsmes valstīm.

Noteiktā Ag koncentrācija gaļā ir zemāka par metodes noteikšanas robežu (<0,010 mg/kg) (Tabula 5). Cunningham *et al.* (1987) pētījumā tika konstatēts, ka sudraba koncentrācija gaļā var mainīties no 0,000 – 0,087 mg/kg, no kā izriet, ka Ag daļiņu migrācija no iepakojumiem analizētajos pārtikas produktos nenotiek vai arī ir niecīga.

Sudraba saturs tika noteikts vienā no kūku dekorēšanas graudiņiem. Verleysen *et al.* (2015) kūku dekorēšanas graudiņos konstatēja Ag saturu 8,4 mg/kg, kas ir 100 reizes vairāk nekā mūsu izpētes produktā.

Tabula 6. Kopējais Ag saturs (mg/kg) Latvijas tirgū nopērkamajos pārtikas produktos.

Pārtikas produkts	Ražotājs/Izplatītājs/Izcelsme	Ag, mg/kg
Vistas fileja, svaiga, atdzesēta	Morliny Ekspert, Polija	<0,010
Cāļu mazās filejas	SIA Rimi Latvija	<0,010
Cūkas kakla karbonāde bez kaula, šķēlēs	SIA Rimi Latvija, Spānija	<0,010
Cāļa krūtiņa fileja	Maxima Latvija, Latvija	<0,010
Svaigs tītara šķiņķis bez kaula	Arvi kalakutai, Lietuva	<0,010
Beef Burger Americano	SIA Rimi Latvija, Polija	<0,010
Liellopa antrekota steiks bez kaula	Konkret, Polija	<0,010
Apelsīnu sula no koncentrāta - Tymbark	Osama Distributors, Polija	<0,010
Apelsīnu sula no koncentrāta - Cido	SIA Cido Grupa	<0,010
Apelsīnu sula no koncentrāta - Favorit	Maxima Latvija	<0,010
Sulas dzēriens - sarkanie apelsīni	SIA Cido Grupa	<0,010
Rotājumi tortēm sudraba graudiņi	Dr Oetker, Lietuva	<0,010
Rotājumi tortēm - Alvo	Maxima Latvija, Vācija	<0,010
Rotājumi tortēm zelta pērlītes	Dr Oetker, Lietuva	0,051 ± 0,005

6. SECINĀJUMI

- Projekta pirmajā posmā veiktais literatūras apskats liecina, ka nano izmēra sudrabs (16%), titāna dioksīds (10%), silīcijs un cinka oksīds ir visbiežāk lietotie nanomateriāli pārtikas produktos. Visbiežāk nanomateriāli tiek pielietoti piena produktos, cietās matricās, kur nanomateriāli galvenokārt stabilizē produktu sastāvu un vienlaikus aizsargā no apkārtējās vides faktoru ietekmes uz produktu kvalitāti, nodrošinot uzglabāšanās ilgumu;
- galvenās metodes, kas tiek lietotas nanoizmēra daļiņu noteikšanai ir asimetriskās plūsmas lauka frakcionēšana, kas pirms ICP-MS analīzes ļauj sadalīt daļiņas pēc to izmēriem. Šobrīd plašāku pielietojumu radusi sp-ICP-MS, kas impulsu veidā ļauj skaitīt noteiktus fragmentus ar daļiņām, tādējādi ļaujot novērtēt daļiņu sadalījumu, nosakot metālu saturu ar ICP-MS metodi;
- pamatojoties uz plānotajiem uzdevumiem un veikto Latvijas institūciju apzināšanu, sastādīts potenciālais grupas sastāvs, nosakot prioritārās institūcijas un pieejamo zinātniski tehnisko bāzi pētījumu veikšanai. Tomēr Latvijas institūcijās trūkst vairākas iekārtas, kas ir nepieciešamas nanomateriālu kontrolei, piem. asimetriskās plūsmas lauka frakcionēšanas – ICP-MS;
- projekta ietvaros ir apgūta sudraba un titāna noteikšanas procedūra pārtikas produktos ar induktīvi saistītās plazmas masspektrometrijas (ICP-MS) metodi un iegādāti piederumi sp-ICP-MS veikšanai 2019.gada posmā.
- projekta ietvaros veiktās analīzes parādīja, ka noteiktā sudraba koncentrācija Latvijas tirgū iegādātajos paraugos ir zemāka par metodes noteikšanas robežu (<0,010 mg/kg). Sudraba saturs tika noteikts tikai vienā no kūku dekorēšanas graudiņiem;
- pētījumā titāna saturs tika noteikts 26 “balto” pārtikas produktiem no vietējiem veikaliem. No visiem marķējumiem vienīgi košļājamajām gumijām aprakstā tika minēts, ka produkts satur TiO_2 . Piena produktos noteiktais Ti saturs mainās robežās no 0,287 līdz 0,681 mg/kg, savukārt dažādos dzērienos, kas ražoti no augu valsts izcelsmes izejvielām - no 0,05 līdz 0,405 mg/kg, mērcēs līdz 0,297 mg/kg produkta. Visaugstākā Ti koncentrācija mūsu pētījumā konstatēta košļājamajās gumijās - 305 līdz 660 mg/kg. Iegūtie rezultāti ir saskanīgi ar literatūrā pieejamajiem datiem, tos paredzēts turpināt produktiem, kas var saturēt ievērojamu Ti daudzumu.

7. LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Kabir, E., Kumar, V., Kim, K. H., Yip, A. C., & Sohn, J. R. (2018). Environmental impacts of nanomaterials. *Journal of environmental management*, 225, 261-271.
2. Li, N., Georas, S., Alexis, N., Fritz, P., Xia, T., Williams, M. A., ... & Nel, A. (2016). A work group report on ultrafine particles (American Academy of Allergy, Asthma & Immunology): Why ambient ultrafine and engineered nanoparticles should receive special attention for possible adverse health outcomes in human subjects. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138(2), 386-396.
3. Martin, J., Demokritou, P., Woskie, S., & Bello, D. (2017). Indoor air quality in photocopy centers, nanoparticle exposures at photocopy workstations, and the need for exposure controls. *Annals of work exposures and health*, 61(1), 110-122.
4. Saber, A. T., Mortensen, A., Szarek, J., Jacobsen, N. R., Levin, M., Koponen, I. K., ... & Wallin, H. (2018). Toxicity of pristine and paint-embedded TiO₂ nanomaterials. *Human and experimental toxicology*, 0960327118774910.
5. De la Calle, I., Menta, M., Klein, M., & Séby, F. (2017). Screening of TiO₂ and Au nanoparticles in cosmetics and determination of elemental impurities by multiple techniques (DLS, SP-ICP-MS, ICP-MS and ICP-OES). *Talanta*, 171, 291-306.
6. Rodrigues, S. M., Demokritou, P., Dokoozlian, N., Hendren, C. O., Karn, B., Mauter, M. S., ... & Welle, P. (2017). Nanotechnology for sustainable food production: promising opportunities and scientific challenges. *Environmental Science: Nano*, 4(4), 767-781.
7. Othman, S. H., Salam, A., Raudhah, N., Zainal, N., Kadir Basha, R., & Talib, R. A. (2014). Antimicrobial activity of TiO₂ nanoparticle-coated film for potential food packaging applications. *International journal of Photoenergy*, 2014.
8. Fu, P. P., Xia, Q., Hwang, H. M., Ray, P. C., & Yu, H. (2014). Mechanisms of nanotoxicity: generation of reactive oxygen species. *Journal of food and drug analysis*, 22(1), 64-75.
9. Smolkova, B., El Yamani, N., Collins, A. R., Gutleb, A. C., & Dusinska, M. (2015). Nanoparticles in food. Epigenetic changes induced by nanomaterials and possible impact on health. *Food and Chemical Toxicology*, 77, 64-73.
10. Van der Fels-Klerx, H. J., Van Asselt, E. D., Raley, M., Poulsen, M., Korsgaard, H., Bredsdorff, L., ... & Frewer, L. J. (2018). Critical review of methods for risk ranking of

- food-related hazards, based on risks for human health. Critical reviews in food science and nutrition, 58(2), 178-193.
11. McClements, D. J., Xiao, H., & Demokritou, P. (2017). Physicochemical and colloidal aspects of food matrix effects on gastrointestinal fate of ingested inorganic nanoparticles. *Advances in colloid and interface science*, 246, 165-180.
 12. Penalva, R., Esparza, I., Agüeros, M., Gonzalez-Navarro, C. J., Gonzalez-Ferrero, C., & Irache, J. M. (2015). Casein nanoparticles as carriers for the oral delivery of folic acid. *Food hydrocolloids*, 44, 399-406.
 13. Belluco, S., Gallochio, F., Losasso, C., & Ricci, A. (2018). State of art of nanotechnology applications in the meat chain: A qualitative synthesis. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(7), 1084-1096.
 14. Yang, Y., Doudrick, K., Bi, X., Hristovski, K., Herckes, P., Westerhoff, P., & Kaegi, R. (2014). Characterization of food-grade titanium dioxide: the presence of nanosized particles. *Environmental science & technology*, 48(11), 6391-6400.
 15. Latvijas Republikas Veselības ministrijas Veselības inspekcija. Nanozinātne un nanotehnoloģijas. [Tiessšaiste]. Pieejams: <http://www.vi.gov.lv/lv/vides-veselib/vides-drosiba/vides-riska-faktori/nanozinatne-un-nanotehnologijas>
 16. Komisijas paziņojums Padomei, Eiropas Parlamentam un Ekonomikas un sociālo lietu komitejai. Nanozinātnes un nanotehnoloģijas: Rīcības plāns Eiropai 2005. – 2009. gadam. Briselē, 07/06/2005. KOM(2005)243 (Nanosciences and nanotechnologies. An action plan for Europe 2005-2009). (COM/2005/243)
 17. Eiropas Parlamenta un Padomes Regula (ES) Nr. 1169/2011 (2011. gada 25. oktobris) par pārtikas produktu informācijas sniegšanu patērētājiem un par grozījumiem Eiropas Parlamenta un Padomes Regulās (EK) Nr. 1924/2006 un (EK) Nr. 1925/2006, un par Komisijas Direktīvas 87/250/EEK, Padomes Direktīvas 90/496/EEK, Komisijas Direktīvas 1999/10/EK, Eiropas Parlamenta un Padomes Direktīvas 2000/13/EK, Komisijas Direktīvu 2002/67/EK un 2008/5/EK un Komisijas Regulas (EK) Nr. 608/2004 atcelšanu Dokuments attiecas uz EEZ OV L 304, 22.11.2011., 18./63. lpp. (BG, ES, CS, DA, DE, ET, EL, EN, FR, IT, LV, LT, HU, MT, NL, PL, PT, RO, SK, SL, FI, SV). Pieejams: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/LV/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1169&from=LV>
 18. Eiropas Parlamenta un Padomes Regula (ES) 2015/2283 (2015. gada 25. novembris) par jauniem pārtikas produktiem un ar ko groza Eiropas Parlamenta un Padomes Regulu (ES) Nr. 1169/2011 un atceļ Eiropas Parlamenta un Padomes Regulu (EK) Nr.

- 258/97 un Komisijas Regulu (EK) Nr. 1852/2001. Pieejams: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/LV/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R2283&from=LV>
19. Mech, A., Rasmussen, K., Jantunen, P., Aicher, L., Alessandrelli, M., Bernauer, U., & Dusinska, M. (2018). Insights into possibilities for grouping and read-across for nanomaterials in EU chemicals legislation. *Nanotoxicology*, 1-23.
 20. EFSA Scientific Committee, Hardy A, Benford D, Halldorsson T, Jeger MJ, Knutsen HK, More S, Naegeli H, Noteborn H, Ockleford C, Ricci A, Rychen G, Schlatter JR, Silano V, Solecki R, Turck D, Younes M, Chaudhry Q, Cubadda F, Gott D, Oomen A, Weigel S, Karamitrou M, Schoonjans R and Mortensen A, 2018. Guidance on risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain: Part 1, human and animal health. *EFSA Journal*. 2018;16(7):5327, 95. doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5327.
 21. Ministru kabineta noteikumi Nr. 200. Grozījumi Ministru kabineta 2015. gada 3. februāra noteikumos Nr. 59 "Valsts un Eiropas Savienības atbalsta piešķiršanas kārtība investīciju veicināšanai lauksaimniecībā"
 22. McClements, D. J., & Xiao, H. (2017). Is nano safe in foods? Establishing the factors impacting the gastrointestinal fate and toxicity of organic and inorganic food-grade nanoparticles. *npj Science of Food*, 1(1), 6.
 23. McClements, D. J., Xiao, H., & Demokritou, P. (2017). Physicochemical and colloidal aspects of food matrix effects on gastrointestinal fate of ingested inorganic nanoparticles. *Advances in colloid and interface science*, 246, 165-180.
 24. de Jong, W. H., Oomen, A. G., Tran, L., Chaudhry, Q., & Lefebvre, D. E. (2017). Engineered Nanoparticles and Food: Exposure, Toxicokinetics, Hazards and Risks. In *Nanotechnologies in Food* (pp. 200-227).
 25. Dekkers S, Oomen AG, Bleeker EAJ, Vandebriel RJ, Micheletti C, Cabellos J, Janer G, Fuentes N, Vazquez-Campos, S, Borges T, Silva MJ, Prina-Mello A, Movia D, Nesslany F, Ribeiro AR, Leite PE, Groenewold M, Cassee FR, Sips AJAM, Dijkzeul A, Teunenbroek T and Wijnhoven SWP, 2016. Towards a nanospecific approach for risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 80, 46–59.
 26. WHO. Draft Environmental Health Criteria Document: Principles and Methods to Assess the Risk of Immunotoxicity Associated with Exposure to Nanomaterials. 2017. Pieejams: <http://www.who.int/ipcs/Immunonano/en>.

27. Karimi, M., Sadeghi, R., & Kokini, J. (2018). Human exposure to nanoparticles through trophic transfer and the biosafety concerns that nanoparticle-contaminated foods pose to consumers. *Trends in Food Science & Technology*. 75, 29-145.
28. Echegoyen, Y., & Nerín, C. (2013). Nanoparticle release from nano-silver antimicrobial food containers. *Food and Chemical Toxicology*, 62, 16-22.
29. Kim, M. H., Kim, T. H., Ko, J. A., Ko, S., Oh, J. M., & Park, H. J. (2019). Kinetic and thermodynamic studies of silver migration from nanocomposites. *Journal of Food Engineering*, 243, 1-8.
30. Pico, Yolanda. "Challenges in the determination of engineered nanomaterials in foods." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 84 (2016): 149-159.
31. Shivakumar, N., Madhusudan, P., & Daniel, S. K. (2018). Nanomaterials for Smart Food Packaging. In *Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications* (pp. 260-270). Elsevier.
32. Khaneghah, A. M., Hashemi, S. M. B., & Limbo, S. (2018). Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. *Food and Bioproducts Processing*.
33. Mudalige, T. K., Qu, H., Van Haute, D., Ansar, S. M., & Linder, S. W. (2018). Capillary Electrophoresis and Asymmetric Flow Field-Flow Fractionation for Size-based Separation of Engineered Metallic Nanoparticles: A Critical Comparative Review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*.
34. Weigel, S., Peters, R., Loeschner, K., Grombe, R., & Linsinger, T. P. (2017). Results of an interlaboratory method performance study for the size determination and quantification of silver nanoparticles in chicken meat by single-particle inductively coupled plasma mass spectrometry (sp-ICP-MS). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(20), 4839-4848.
35. Tsagkaris, Aristeidis S., Spyros G. Tzegkas, and Georgios P. Danezis. Nanomaterials in food packaging: state of the art and analysis. *Journal of food science and technology* (2018): 1-9.
36. de la Calle, I., Menta, M., Klein, M., Maxit, B., & Séby, F. (2018). Towards routine analysis of TiO₂ (nano-) particle size in consumer products: Evaluation of potential techniques. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 147, 28-42.
37. Zinātnisko iekārtu un pakalpojumu datu bāze «USE SCIENCE» Rīgas Tehniskā universitāte [Tiešsaiste] Pieejams: <https://scientificservices.eu/> (skatīts .

38. De La Calle, I., Menta, M., Klein, M., & Séby, F. (2018). Study of the presence of micro-and nanoparticles in drinks and foods by multiple analytical techniques. *Food Chemistry*, 266, 133-145.
39. Weir, A., Westerhoff, P., Fabricius, L., Hristovski, K., & Von Goetz, N. (2012). Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environmental science & technology*, 46(4), 2242-2250.
40. Da Rosa, E. L. S. (2013). Kinetic effects of TiO₂ fine particles and nanoparticles aggregates on the nanomechanical properties of human neutrophils assessed by force spectroscopy. *BMC biophysics*, 6(1), 11.
41. Auffan, M., Rose, J., Bottero, J. Y., Lowry, G. V., Jolivet, J. P., & Wiesner, M. R. (2009). Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nature nanotechnology*, 4(10), 634.
42. Fernández-Acosta, R., Peláez-Abellán, E., Correa, J. R., & Jáuregui-Haza, U. (2016). Nanostructured TiO₂ Obtained by Electrolysis and its Application in the Remediation of Water Polluted with Paracetamol.
43. Kim, M. H., Kim, T. H., Ko, J. A., Ko, S., Oh, J. M., & Park, H. J. (2019). Kinetic and thermodynamic studies of silver migration from nanocomposites. *Journal of Food Engineering*, 243, 1-8.
44. Fiordaliso, F., Foray, C., Salio, M., Salmona, M., Diomedea, L. (2018). Realistic Evaluation of Titanium Dioxide Nanoparticle Exposure in Chewing Gum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 6860-6868.
45. Rompelberg, C., Heringa, M.B., Donkersgoed, G., Drijvers, J., Roos, A., Westenbrink, S., Peters, R., Bommel, G., Brand, W., Oomen, A., G. (2016). Oral intake of added titanium dioxide and its nanofraction from foodproducts, food supplements and toothpaste by the Dutch population. *Nanotoxicology*, 10, 10, 1404-1414.
46. Cunningham, W.C., Stroube, W.B. (1987). Application of an Instrumental Neutron Activation Analysis Procedure to Analysis of Food. *The Science of the Total Environment*, 63, 29-43.
47. Verleysen, E., Doren, E., Waegeneers, N., Temmerman, P.J., Francisco, M.D. (2015). TEM and SP-ICP-MS Analysis of the Release of Silver Nanoparticles from Decoration of Pastry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 3570-3578.