



BIOR

PĀRTIKAS DROŠĪBAS, DZĪVNIĒKU VESELĪBAS
UN VIDES ZINĀTNISKAIS INSTITŪTS

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

Izpildītājs:

Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības
un vides zinātniskais institūts "BIOR"

RĪGA
2019

APSTIPRINU

Zemkopības ministrijas

Veterinārā un pārtikas departamenta direktore

Zanda Matuzale

Zemkopības Ministrijas Lauku atbalsta dienesta projekts

Nanomateriālu izplatība Latvijas tirgū, viedoklis par risku patērētājiem

Projekts Nr. 18-100-INV18-5-000020

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

Izpildītājs:

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

Rīga

2019

Saturs

Ievads.....	4
1. Pārtikā lietotās nanodaļiņas, drošība patērētājam	6
1.1. Literatūras dati par TiO_2 (E 171) drošību patērētājiem	9
1.2. Literatūras dati par Ag (E 174) drošību patērētājiem	11
2. Izstrādātās metodes nanodaļiņu noteikšanai	12
2.1. Metode TiO_2 nanodaļiņu noteikšanai pārtikā	14
2.2. Metode Ag nanodaļiņu noteikšanai pārtikā.....	17
2.3. Metožu aprobācija SiO_2 un ZnO nanodaļiņu noteikšanai.....	21
3. Ti un Ag izplatība Latvijā izplatītajā pārtikā.....	22
3.1 Ti un TiO_2 (E 171) kopējais saturs pārtikas produktos.....	23
3.2. Ag (E174) kopējas saturs pārtikā.....	27
3.3. TiO_2 un Ag nanodaļiņu noteikšana pārtikas produktos.....	27
4. Diskusija par konstatēto nanomateriālu apdraudējuma novērtējumu Latvijas patērētājiem	30
Secinājumi un rekomendācijas	32
Izmantotā literatūra.....	33

Ievads

Dokuments ietver pētījuma projekta ietvaros uzkrātās zināšanas par Latvijas tirgū izplatītajā pārtikā konstatēto titāna (IV) oksīda (TiO_2) un sudraba (Ag), tai skaitā nanodaļiņu (nano- TiO_2 , nano-Ag) saturu. Šim mērķim projekta otrā posma ietvaros sasniegti plānotie rezultāti:

- Ņemot vērā informāciju par 2018.gadā konstatēto nanomateriālu izplatību, iegūta zinātnisko datu kopa par kopējo TiO_2 un kopējo Ag izplatību pārtikas produktos.
- izstrādātas instrumentālās metodes nano- TiO_2 , nano-Ag satura noteikšanai pārtikas produktos, pielietojot induktīvi saistītās plazmas - kvadrupola masspektrometrijas metodi (vienas daļiņas (single particle: sp-ICP-MS) mērīšanas režīmā, kas ļauj noteikt kopējo nanodaļiņu skaitu). Metodes validētas un ieviestas ievākto paraugu analīzēm.
- Iegūtas zināšanas par nano- TiO_2 , nano-Ag daļiņu saturu pārtikas produktos ar palielinātu kopējo TiO_2 un Ag saturu ($>5 \text{ mg/kg}$),
- Izstrādātās metodes nanodaļiņu noteikšanai aprobētas nanoizmēra silīcija dioksīda (nano- SiO_2) un cinka oksīda (nano- ZnO) novērtēšanai;
- Pamatojoties uz apkopoto informāciju par TiO_2 nanodaļiņu saturu pārtikā nanomateriālu izplatību Latvijas tirgū, sagatavots viedoklis par risku Latvijas patērētājiem, kas ikdienā patērē pārtikā košļājamās gumijas (bērni, pusaudži, pieaugušie).

Projekta ietvaros apkopota un analizēta zinātniskā literatūra un starptautisko pārtikas drošības institūciju (Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestādes (EFSA), Eiropas Komisijas (EK), Francijas Pārtikas, vides un arodveselības un darba drošības iestādes (ANSES) u.c.) ziņojumi par dažādu nanodaļiņu izplatību pārtikā un pārtikas iepakojuma materiālos, kā arī potenciālo apdraudējumu novērtējumu patērētājiem. Pamatojoties uz iegūtajām atziņām, var secināt, ka pārtikā izmantotajiem nanomateriāliem ir atšķirīgs potenciāls iekļūt cilvēka organismā caur uzņemto pārtiku, tai skaitā migrējot no iepakojuma pārtikas produktos.

Projekta pirmajā posmā BIOR pētnieku grupa izstrādāja jutīgas ICP-MS metodes kopējo TiO_2 un Ag koncentrāciju noteikšanai pārtikas produktos, kas tika aprobētas nelielai paraugu datu kopas analīzei, kā arī uzkrātās zināšanas, kas izmantotas sekmīgai projekta realizācijai otrajā posmā, lai sasniegtu izvirzītos uzdevumus.

Otrā posma ietvaros Latvijas veikalos iegādāti 100 pārtikas produkti, kas ietvēra vairāk nekā desmit atšķirīgas produktu grupas, tostarp košļājamo gumiju, saldumus (zefirus, šokolādes, cepumus, dažādus glazētos produktus - pastilas, dražejas u.c.), pienu un piena produktus (saldo krējumu, kafijas krējumu, svaigos sierus u.c.), dažādas sulas un smūtijus, termiski neapstrādātu un apstrādātu mājputnu, liellopu un cūkgaļas produkciju, kā arī citus pārtikas produktus. Iegūta zinātnisko datu kopa par kopējo Ti, TiO_2 , un Ag saturu.

Izstrādātās metodes nanodaļiņu noteikšanai tika pilnībā validētas, izmantojot pieejamos standartus (TiO_2 ar daļiņu diametru 21 nm, Ag nanodaļiņu suspensija ar nanodaļiņu diametru 60 nm), veicot kopējo

daļiņu izmēra novērtējumu pārtikas produktos. Veicot papildus izpēti, korektāk novērtēt bija tās pārtikas grupas, kurās tika konstatēts paaugstināts kopējā Ti un Ag saturs (> 5 mg/kg). Pārējos paraugos Ti un Ag saturs bija pārāk zems, lai varētu uzskatīt, ka to saturs pat pie 100% nanofrakcijas satura varētu radīt potenciālu apdraudējumu patērētājam. Tādēļ galvenokārt uzmanību jāpievērš pārtikas produktiem ar potenciāli augstāku kopējo nanodaļiņu saturošo materiālu koncentrācijas līmeņiem.

Novērtēts potenciālais apdraudējums Latvijas patērētājiem, uzņemot nanodaļiņas caur pārtiku Izvēlēta košļājamā gumija kā pārtikas etalons ar salīdzinoši augstāko TiO_2 nanodaļiņu saturu. Novērtēta akūtas ekspozīcijas varbūtība dažādām Latvijas populācijas grupām (bērni, pieaugušie) – izvērtēts vidējais iespējamais scenārijs un sliktākā gadījuma scenārijs pie potenciāla apdraudējuma ar ticamību 95%, . Novērtējumā analizētas košļājamās gumijas, ņemot vērā Eiropas patēriņa datus no Pārtikas nekaitīguma iestādes (EFSA). Ņemot vērā līdzšinējo zināšanu trūkumu par nanodaļiņu izplatību Latvijas tirgū un potenciālajiem riskiem patērētājam, projektā iegūtie rezultāti sniedz atziņas par Latvijā izplatītās pārtikas drošumu, kā arī ļauj novērtēt šos rezultātus salīdzinājumā ar citu Eiropas Savienības valstu ziņojumiem.

Projekta rezultāti izklāstīti četrās nodaļās. 1. nodaļā raksturotas teorētiskās atziņas; 2. nodaļā raksturotas izstrādātās metodes; 3. nodaļā analizēti eksperimentālie rezultāti par TiO_2 un Ag kopējo saturu, nanodaļiņu saturu, metožu aprobāciju, 4. nodaļā iekļauts nanofrakciju ekspozīcijas novērtējums pārtikas riska grupās ar augstāko daļiņu koncentrāciju (košļājamās gumijas, saldumi, konditorejas izstrādājumu dekorī); secinājumu daļā raksturots viedoklis par drošību patērētājiem, balstoties uz uzkrātajām zināšanām.

1. Pārtikā lietotās nanodaļiņas, drošība patērētājam

Projekta pirmā posma ietvaros BIOR pētnieki veica padziļinātu literatūras izpēti, kas ļāva aktualizēt galvenos ķīmiskos savienojumus, kuru mikro un nanoizmēra daļiņas var atrasties dažādu iepakojumu un pārtikas produktu, vai to glazūru sastāvā (BIOR, 2018).

- TiO_2 (pārtikas piedevas kods E 171) var pastāvēt dažādu kristālrežģu struktūru formā – populārākās ir rutila, antāza – šīm formām piemīt atšķirīgs baltā pigmenta spīdums, ko var pielietot, lai mainītu glazūras toni un krāsu. Saskaņā ar EFSA norādēm abas formas ir pieļaujamas pārtikas produktos, pārtikas baltā pigmenta TiO_2 piedevas kods ir E171 (EFSA, 2016a). EFSA dalības organizāciju kā ANSES pēdējo gadu pētījumi nav viennozīmīgi attiecībā uz pilnīgu E171 drošību patērētājam (EFSA 2016b; EFSA, 2019). Detalizētāk šo jautājumu apspriedīsim šajā nodaļā;
- Sudrabs (Ag, pārtikas piedevas kods E 174): galvenokārt tiek izmantots pārtikas iepakojumu materiālos kā antibakteriāla piedeva, lai aizsargātu produktus no mikrobioloģiskā piesārņojuma, nodrošinātu barjeras īpašības, un paildzinātu produkta glabāšanas laiku. Iepriekšējā posmā iegūtie literatūras izpētes rezultāti parādīja, ka pārtikās produktos parasti tiek lietotas NM 300K markas Ag nanodaļiņas, aglomerāti, kur daļiņu diametrs (d) ir >100 nm, kas tiek iestrādātas iepakojumos (kartona tetrapakas, plastmasas taras), vai uz to virsmas (plēves) un nodrošina, ka nano-Ag koncentrācija (migrācijas) nepārsniedz pieļauto migrācijas robežvērtību: 0,01 mg/kg (EK 10/2011 un 2015/174 Regula) (Chawla et al., 2018; Cwiek-Ludwicka et al., 2017; ES, 2015; Ntim et al., 2018). Vienlaikus E174 pulvera veidā, vai plānu Ag folijas pārklājumu veidā tiek lietoti konditorejas izstrādājumu un citu pārtikas dekoru sastāvā – sudraba lodītes, cukura drumsas, dažādu ornamentu dekoru ar sudraba, vai zelta spīdumu, u.c., kas īpaši Ag pulveru formā var saturēt iespējamu nano-daļiņu frakciju ar daļiņu izmēriem <100 nm, kas nedrīkstētu pārsniegt 50% masas daļu no kopējā nano-Ag satura (EFSA. 2016c; Jokar et al., 2018)
- Silīcija dioksīds (amorfais SiO_2 , E551) tiek samērā plaši lietots galvenokārt dažādu pulverveida produktu sastāvā kā pretsalīpes viela, lai uzlabotu birstamību un kopējās barjeras īpašības, kā arī dažādu smaržvielu, garšvielu piedevu saglabāšanai (iekapsulējot hidroforas piedevas silīcija oksīda lodītēs, tai skaitā kombinēti ar dažādām citām nanodaļiņām, lai uzlabotu to iedarbības efektivitāti atkarībā no pielietojuma funkcijām; EFSA 2009. gadā secināja, ka pārtikas kvalitātes SiO_2 lietošana līdz 1500 mg silīcija/dienā (kas atbilst 21 mg/kg ķermeņa svara dienā 70 kg smagam cilvēkam) nerada bažas par drošību patērētājiem (EFSA. 2018a; Peters, et al., 2016) vienlaikus ANSES iekļāvuši nano- SiO_2 līdz ar nano- TiO_2 starp prioritāri kontrolējamām nanodaļiņām pārtikas produktos (EFSA, 2019). Attiecīgi EFSA veikusi E 551 pārvērtēšanu un secināja, ka, neskatoties uz ierobežojumiem subhroniskajos, reproduktīvajos un attīstības toksikoloģiskajos pētījumos, ieskaitot pētījumus ar nano-silīcija dioksīdu, nav konstatētas norādes par nelabvēlīgu iedarbību, kā arī netika novērotas bažas par genotoksicitāti. Tā kā nav ilgtermiņa pētījumu attiecībā uz nano silīcija dioksīdu, ekspertu

grupa nevarēja ekstrapolēt pieejamā hroniskā pētījuma rezultātus uz materiālu, kas neaptver pilnu nanodaļiņu daļiņu diapazonu, kas varētu būt pārtikas piedevā. E 551 materiālam, kas atbilst pašreizējām specifikācijām, nevar izslēgt nanodaļiņu klātbūtni pārtikas piedevā (EFSA. 2018b).

- Cinkam ir nozīme cilvēka organisma imūnās sistēmas stiprināšanā, kā arī citu organisma funkciju darbības stiprināšanā (šūnu augšana un dalīšanās), tādēļ pārtikas produkti nereti tiek papildināti ar dažādiem cinka savienojumiem, taču pārsvarā pārtikas rūpniecībā nelieto cinka oksīdu. Lai gan cinka oksīdam arī piemīt balta krāsa, tā nav tik intensīva, salīdzinot ar TiO_2 . Cinka oksīds nano-ZnO daļiņu formā tiek lietots galvenokārt neplastificētu iepakojuma materiālu sastāvā (maksimālais saturs nedrīkst pārsniegt 2% w/w), un šīs iepakojuma materiālas primāras mērķis ir aizkavēt UV, gaismas un citu nevēlamo procesu ietekmi uz pārtikas produktu oksidēšanos uzglabāšanas apstākļos, bet vienlaikus ZnO var piemist arī antibakteriālas īpašības (EFSA. 2018b; Siddiqi, et al., 2018). EFSA novērtējumā, pamatojoties uz pieejamo informāciju un veikto novērtējumu migrācijas modeļpētījumiem attiecībā uz pārtikas kontakta materiāliem secināts, ka ir ļoti maza iespējamība cinka oksīda nanodaļiņām nonākt pārtikā, jo sagaidāma cinka pāreja jonu formā Zn^{2+} , tādējādi pastāv ļoti maza apdraudējuma iespēja patērētājam (EFSA, 2016d).

Ņemot vērā dažādu augstāk minēto pārtikas piedevu daļiņu izmērus, jāņem vērā, ka saskaņā ar ISO standarta un Eiropas Komisijas pieņemto definējumu, kas šobrīd ir izskatīšanā, nanodaļiņas ir maza izmēra (parasti 1-100 nm, kur $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$) organiskas, vai biežāk neorganiskas izcelsmes materiāli (1. att.), kuru īpašības būtiski atšķiras no mikro un makro skalas materiāliem (ES, 2011). Starptautiskā standartizēšanas organizācija ISO 2015. gadā definējusi, ka nanoobjektam piemīt diskrēta 2-dimensionāla vai 3- dimensionāla forma, 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 vai arī nanoplāksnes (Baranowska-Wójcik, et al., 2019; Bouwmeester, et al., 2014). Šādām daļiņām piemīt specifiska īpatnējā virsma, paaugstināta mehāniskā stiprība, specifiskas barjerīpašības, ķīmiskā izturība, var piemist antibakteriālas īpašības, aizsardzība pret UV starojuma, gaismas iedarbību atkarībā no daļiņu ķīmiskās dabas, struktūras, dimensionāliem parametriem (Bouwmeester, et al., 2014).

gumijas, kas atbilst 20 spilventiņiem (standarta košļājamās gumijas paciņas 2 x 13,6-14 g $\approx$ 28 g) izteikta, izmantojot beziedarbības līmeņus (DNEL). DNEL metodika pamatojas uz Ķīmisko vielu reģistrēšanas, novērtēšanas, licencēšanas un ierobežošanas (REACH) regulas ieteikto metodiku, novērtējot toksisko iedarbību atbilstoši LOAEL (zemākā deva, kas izraisa bīstamus efektus), NOAEL (lielākā deva, kas neizraisa bīstamus efektus) datiem, starpsugu novērtējumam (DEPA, 2015). Atsaucoties uz Dānijas grupas pētījumu, akcentēsim arī norādītās pieejamo datu nepilnības, piem. dati metrikā, kas nav masas metrika, ņemot vērā arī citu novērtējuma metožu trūkumu.

1.1. Literatūras dati par TiO₂ (E 171) drošību patērētājiem

Jau 1969 Apvienotā FAO / PVO ekspertu komiteja pārtikas piedevām (JECFA) apstiprināja pārtikas kvalitātes TiO₂ gan anatāzes, gan rutila formā kā pārtikas krāsvielu E171 “bez ierobežojuma” un secinājis, ka pieņemamas dienas devas noteikšana nebija nepieciešama, ņemot vērā absorbcijas trūkumu audos pēc norīšanas iekšķīgi. Balstoties uz JECFA novērtējumu, ES atļāva lietot TiO₂ kā pārtikas krāsvielu anatāzes formā bez jebkādiem ierobežojumiem, kā noteikts Direktīvā 94/36 / EEK. EFSA (2004) rutila formu ir novērtējusi kā alternatīvu anatāzei TiO₂, kas ir forma, kas atļauta Direktīvā 94/36 / EK par krāsvielām, kuras lieto pārtikas produktos. EFSA secināja, ka pārtikas nano-TiO₂ ir nešķīstošs savienojums, un neliela daudzuma titāna jonu absorbcija nerada toksisku iedarbību, tādejādi nav nepieciešama pieņemamās dienas robežvērtības (tdi – tolerable daily intake) noteikšana cilvēkiem. Toksikoloģijas pētījumu rezultāti arī uzrādīja, ka titāns audos neuzkrājas pat pēc 200 mg TiO₂ / kg uztura uzņemšanas uzturā. Hroniskas ekspozīcijas pētījumā, lietojot līdz 5% ar TiO₂ pārklātu vizlu, žurkām 130 nedēļu laikā netika novērota toksikoloģiska vai kancerogēna iedarbība (DEPA, 2015; EFSA, 2016a).

Saskaņā ar EFSA tālākiem pētījumiem, kopējais aprēķinātais rutila TiO₂ patēriņš pārtikas un zāļu lietojumiem ES noteikts ir 1,3 mg/kg b.w.dienā (EFSA, 2016a; EFSA, 2016b; EFSA, 2019). To EFSA definējusi par sliktākā gadījuma vērtību (worst case) un tas, iespējams, ir iespējamās kopējās iedarbības potenciālais kopējais pārvērtētais līmenis.

Novērtējot pēdējās desmitgades galvenos rezultātus izpētes jomā, jaakcentē galvenokārt EFSA pētījumi, kas veltīti rutila un anatāza – dažādu E171 kristālisko formu toksikoloģisko īpašību izpētei, novērtējot to potenciālu kaitējumu veselībai, kā arī izvērtējot šīs pārtikas piedevas risku novērtējumam. EFSA un ANSES diskusijas ir novedušas pie aktualizēšanas turpināt eksperimentus ar dzīvniekiem, pamatojoties uz to, ka šobrīdējie testi nedod pilnīgi vienošmīgu rezultātu un nav par pamatu pārvērtējumam un ADI/ TDI piešķiršanai (EFSA, 2016a; EFSA, 2016b; EFSA, 2019).

Minētajā Dānijas vides aizsardzības iestādes 2015. g. projekta ziņojumā tika prezentēti ekspozīcijas scenāriji, kas parādīja, ka TiO₂ uzņemšana ir iespējama vienīgi caur uzņemšanu ar pārtiku. Autori piedāvāja ekspozīcijas riska novērtējumu sliktākā scenārija ar ticamību 95% (“worst case scenario”) gadījumam, kad dienā tiek uzņemtas (sakošļātas) divas standarta košļājamās gumijas paciņas (divdesmit gumijas spilventiņi:

28 g TiO₂ (DEPA, 2015). Pētījuma rezultāti no Dānijas pētnieku ziņojuma parādīti 1.1. tabulā.

2.1. tabula Dānijas institūta pētījums: TiO₂ ekspozīcijas riska novērtējuma scenārijs (DEPA, 2015).

Savienojums	Scenārijs	Ekspoz. grupa	Ekspozīcijas līmenis (oral)
E171: nano-TiO ₂	Dienā uzņemti 20 košļājamās gumijas gabaliņi 1 gabaliņš satur 1,7-3,9 mg nano-TiO ₂ /g jeb 2,4-7,5 mg/gab.	Bērni Pieaugušie	30 mg nano-TiO ₂ /dienā (150 mg E175): 1,62 mg nano-TiO₂/ b.w. kg dienā 30 mg nano-TiO ₂ /dienā: 0,5 mg nano-TiO₂/ b.w. kg dienā

Dati iegūti, pamatojoties uz noteikto E171 koncentrāciju (1,7-3,9 mg/g jeb 2,4-7,5 mg/ košļājamās gumijas spilventiņā (vienā gabaliņā)) un ņemot vērā pētnieku ievāktos ekspozīcijas datus dažādām populācijas grupām un izsakot sliktākā gadījuma (20 gabaliņi) scenāriju.

Noteikts, ka vidējais dienas patēriņš ir puse no paciņas: pieci košļājamās gumijas gabali, kas dienā novedīs pie mazākas košļājamo gumiju akūtas ekspozīcijas: apmēram 0,4 mg nano-TiO₂ / b.w. kg dienā bērniem un aptuveni 0,12 mg nano-TiO₂ / b.w. kg diena pieaugušajiem.

Norādīts, ka iepriekš noteikta toksiskuma deva LOAEL ir 5 mg nano-TiO₂/ kg b.w. dienā (testi ar žurkām). Atbilstoši norādēm, lai pārietu uz NOAEL, LOAEL vērtību parasti daļa ar koeficientu 3 (ECETOC, 2003). Ņemot vērā ņemot vērā atšķirības sugu un sugu starpā, vērtību vēl jādala ar koeficientu 100. Tādējādi beziedarbības līmeņa vērtība (DNEL) būtu 0,01–0,02 mg b.w. kg dienā.

Autori norādījuši, ka, ja šis LOAEL ir piemērojams nano-TiO₂ E171, tad pat iedarbības aplēses, kas koriģētas, ņemot vērā pat piecu košļājamās gumijas gabaliņu uzņemšanu, šķiet lieluma secībā virs iegūtā DNEL, norāda uz iespējamu risku patērētājam.

Turklāt šeit netiek ņemta vērā papildus nano-TiO₂ uzņemšana no citiem avotiem.

Kopumā galvenā nenoteiktība šajā novērtējumā ir saistīta ar iespējamo DNEL atvasināšanu, pamatojoties uz 5 mg nano-TiO₂ / kg svara dienā LOAEL.

Autori norādījuši, ka galvenās nenoteiktības, kas saistītas ar nanomateriālu novērtēšanu patēriņa precēs, ir:

- vispārējs zināšanu trūkums par to, kāda ir īpaša nanodaļiņu forma (izmērs, forma, pārklājums utt.) noteiktā produktā;

- fakts, ka toksicitāte nav pārbaudīta attiecībā uz visām iespējamām nanomateriālu ķīmijas nano formām.

Tādēļ bīstamības novērtējums, ieskaitot iespējamās atvasinātās DNEL, var atšķirties no nano formas patēriņa produktā, kas atkal rada neskaidrības risku novērtēšanā. Šī nenoteiktība ir būtiska arī pašreizējam scenārijam, lai gan vispārējai sliktākā gadījuma pieejai vajadzētu būt lielākai šīs nenoteiktības apiešanai (Weir, A., et al., 2012). Ja mēs šos datus izvērtējam, izmantojot EFSA piedāvāto *worst-case* vērtību, var secināt, ka maksimālā sliktākā gadījumā, apēdod 20 gabaliņus, EFSA ieteiktā vērtība tiek pārsniegta par 24 % bērnu gadījumā, bet pieaugušo gadījumā tā netiek sasniegta.

“Piecu gabaliņu” piemērā, kas raksturo vidējo ikdienas patēriņu pēc ēdienreizēm, šādu daudzumu uzņemšana nerada potenciālu apdraudējumu patērētājam, salīdzinot nano-TiO₂ daudzumu piecos košļājamās gumijas gabaliņos un EFSA norādīto vērtību: 1.3 mg TiO₂/ kg b.w. dienā.

1.2. Literatūras dati par Ag (E 174) drošību patērētājiem

Līdzīgi E 171, arī E174 JFCA apstiprināja pārtikas piedevu sastāvā, turklāt attiecīgi netika konstatēts apdraudējums, veicot testus, ņemot vērā potenciālu nano-Ag pāreju jonu formā. Tiek lēsts, ka sudraba (visu veidu sudraba) ikdienas deva cilvēkam ir 0,007–0,5 µg / kg / dienā (0,007–0,5 x 10⁻³ mg / kg ķermeņa masas / dienā) no visu perorālās iedarbības avotu summas.

EFSA ekspertu grupa atzīmēja, ka, lai veiktu sudraba (E 174) riska novērtējumu, ir trūkumi un problēmas, kas jārisina: trūkst datu par elementārā sudraba vai pārtikas piedevas toksicitātes pētījumiem (E 174); nezināms pārtikas piedevas daļiņu lieluma sadalījums (E 174); pierādījumi par sudraba jonu veidošanos no elementārā sudraba, kas var radīt bažas. Tomēr sudraba (E 174) sudraba jonu izdalīšanās pakāpe nav zināma. Ekspertu grupa secināja, ka pieejamā informācija nebija pietiekama, lai novērtētu sudraba kā pārtikas piedevas nekaitīgumu (EFSA. 2016c).

Arī Jaunu un identificētu veselības risku zinātniskā komiteja (SCENIHR) secināja, ka Ag, ieskaitot Ag nanodaļiņas, toksicitāte cilvēkiem parasti ir zema dēļ pārāk zema ekspozīcijas līmeņa, pieļaujot gan nano, gan citu formu klātbūtni nanodaļiņu sastāvā (EFSA. 2016c; DEPA, 2015; Peters, et al., 2016).

Šobrīd Ag riska novērtējums visbiežāk balstās uz datiem par cilvēkiem, kas parāda argīrijas attīstību (ādas krāsas maiņu zilgani pelēkā krāsā) cilvēkiem atbilstoši pasaules veselības organizācijas pētījumiem, pamatojoties uz perorālo NOAEL (10 g Ag) kā mūža devas līmeni – aprēķinot perorālo NOAEL 5 µg /kg dienā (0,005 mg/kg ķermeņa masas / dienā), pieņemot, ka cilvēks ar 70 kg svaru nodzīvo 75 gadus (DEPA, 2015).

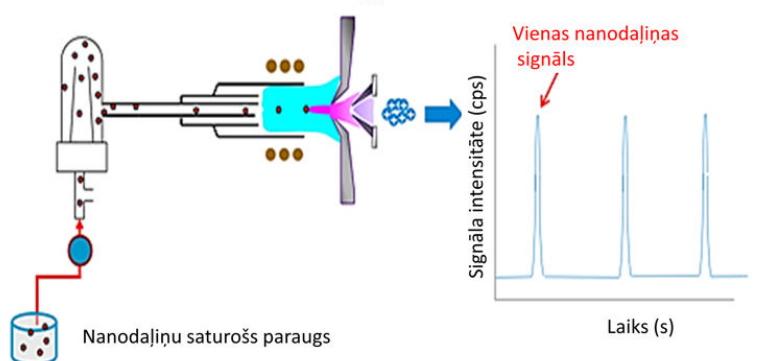
Dānijas pētnieki attiecīgi noteikuši perorālo DNEL visām Ag sugām, ieskaitot nano-Ag: 0,005 mg Ag / kg bw dienā. Taču autoru veiktais pētījums bija attiecināts uz uzņemšanu caur migrējošo daļu, kas nav attiecināms uz mūsu projektā novēroto.

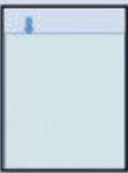
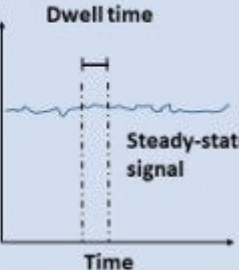
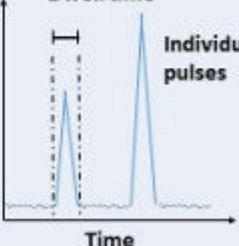
2. Izstrādātās metodes nanodaļiņu noteikšanai

Projekta otrā posma ietvaros institūta BIOR Ķīmijas laboratorijā tika izstrādātās divas sp-ICP-MS analītiskās metodes nanodaļiņu noteikšanai:

- Metode Nr. BIOR-T-012-206-2019 “Titāna(IV)oksīda nanodaļiņu noteikšana ar induktīvi saistītās plazmas masspektrometriju”;
- Metode Nr. BIOR-T-012-207-2019 “Sudraba nanodaļiņu noteikšana ar induktīvi saistītās plazmas masspektrometriju”.

Metožu pamatā ir sp-ICP-MS instrumentālā iekārta, kas dod iespēju mērīt nanodaļiņu koncentrāciju, diametru un daļiņu lieluma sadalījumu ar ICP-MS analīzes metodi, kur viena smaile atbilst vienai nanodaļiņai (2.1. att.)



Sample	Plasmainjector	MS Signal
 Sample solution containing dissolved metals	Dwell time  Constant stream of analytes entering the plasma	Dwell time  Steady-state signal
 Sample suspension containing metal NPs	Dwell time  Single particles entering the plasma one-by-one	Dwell time  Individual pulses

2.1. att. sp-ICP-MS princips

Sp-ICP-MS analīzei ir divas galvenās prasības:

- Daļiņu skaita koncentrācijai paraugā ir jābūt ļoti zelai, lai samazinātu varbūtību, ka ICP-MS vienlaikus ievada vairākas daļiņas (tas nozīmē, ka paraugi jāgatavo ļoti lielos atšķaidījumos);
- Masas analizatoru darbina ar kavēšanās / integrācijas laiku <2 milisekundes (ms), lai novērotu atsevišķu daļiņu klātbūtni.

Pielietojot šo metodi, praktiski var izmantot jebkuru šķidruma paraugu ievadīšanas sistēmu, dažas no tām ir daudz efektīvākas daļiņu transportēšanai un jonizēšanai nekā citas. Daļiņu suspensiju parasti atšķaida līdz koncentrācijai 10^5 daļiņas/ml, atkarībā no MS aparātūras konfigurācijas. Kad daļiņu skaits paraugā ir pietiekami mazs, ICP vienlaikus ienāks tikai viena daļiņa. Pēc nonākšanas plazmā daļiņa tiek iztvaicēta, atomizēta un jonizēta, veidojot elementāru jonu mākonī. Izveidotie joni tiek novirzīti no ICP uz masas analizatoru caur spiediena samazināšanas saskarni, kas saskaņo spiediena starpību starp atmosfēras spiediena ICP un zema spiediena (piemēram, 10^{-6} mbar) masas analizatoru. Jonu optika tiek izmantota, lai efektīvi pārsūtītu jonus uz masas analizatoru. Masas analizators izmanto elektriskos un / vai magnētiskos laukus, lai jonus atdalītu pēc to masas un lādiņa attiecības (m/z), pirms tie iekļūst MS detektorā, kur identificē parāda jonu skaitu, kas reģistrēts katrā m/z . M/z var izmantot, lai noteiktu jonu elementāro identitāti, un jonu skaitu, lai noteiktu elementa koncentrāciju. Elementāro jonu mākonis, kas izveidots no vienas daļiņas ICP avotā, ģenerēs ļoti ātru pārejošu signālu (signāla smaile) ar kopējo ilgumu milisekundēs. Tāpēc masas analizatoram jāspēj ļoti ātri veikt mērījumus, lai noteiktu šos jonus.

2.1 tabulā raksturoti metožu izstrādē izmantotie trauki un iekārtas. Detalizētāk metožu apstākļi TiO_2 un Ag nanodaļiņu noteikšanai raksturoti atsevišķās apakšnodaļās.

2.1. tabula Trauki un iekārtas TiO_2 un Ag nanodaļiņu noteikšanai pārtikā

Ultraskaņas vanna	
Analītiskie svāri <i>Kern GJ</i>	Precizitāte: 0,01 g
ICP-MS iekārta (sp-mode)	THERMO SCIENTIFIC ICAP™ RQ
Mērcilindrs	50 mL
Automātiskās pipetes	Tilpums: 10, 50, 300, 1000 un 5000 µL
PP stobriņi	Tilpums: 15 un 50 mL

2.1. Metode TiO₂ nanodaļiņu noteikšanai pārtikā

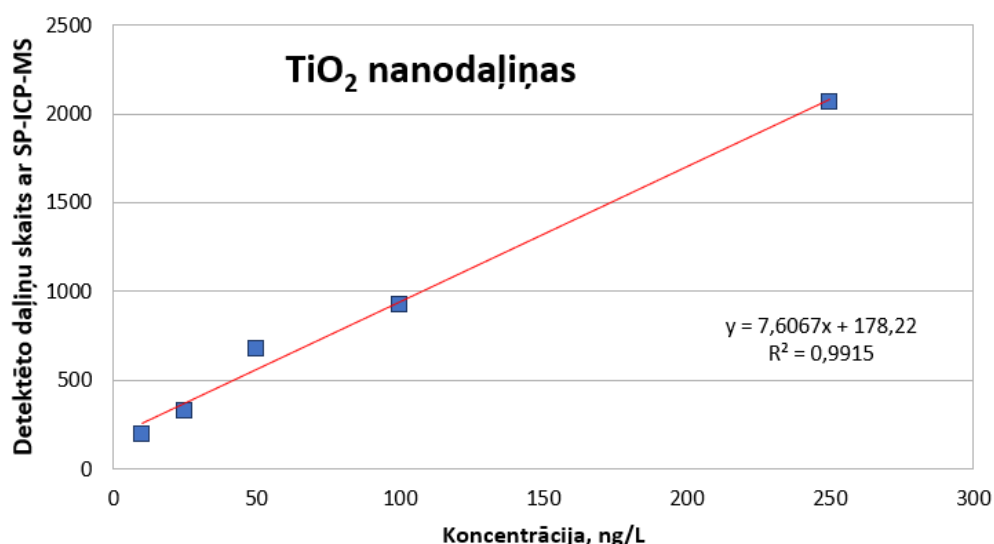
Metode ir paredzēta TiO₂ nanodaļiņu noteikšanai košļājamās gumijās, konfektēs un citos produktos, kas var saturēt balto pigmentu E171s, izmantojot induktīvi saistītās plazmas masspektrometriju (ICP-MS).

Reāģenti. Metodes izstrādē tika izmantotas TiO₂ nanodaļiņas ar diametru 21nm, (*Sigma* 718467, Sigma Aldrich). Daļiņu izšķīdināšanai lietots dejonizēts ūdens (18.2 MΩ × cm), kas ģenerēts ar Milli-Q iekārtu (Millipore, Billerica, ASV).

Titāna(IV)oksīda nanodaļiņu standartšķīdumu pagatavošana. Standartvielas šķīdumu (STD-1) pagatavo no TiO₂ nanodaļiņu pulverai līdz koncentrācijai 46 mg/L. Sagatavoto šķīdumu ievieto US vannā uz 30 min. Standartvielas šķīdumus (STD-2) pagatavo, atšķaidot STD-1 šķīdumu līdz koncentrācijām 500, 250, 100, 50, un 10 ng/ L. **Paraugu sagatavošanas procedūra.** Analizējamo paraugu (1-2,5 g) iesver 50 mL PP stobriņā un pievieno 50 mL dejonizēta ūdens. PP stobriņu ar paraugu ievieto kratītājā uz 10 min, bet pēc tam turpina maisīt 30 min ultraskaņas vannā. No šķīduma paņem alikvotu daļu 15-50 µl un pārnes 15 ml PP stobriņā, un pievieno 10ml dejonizētu ūdeni. Stobriņu ievieto uz 10 min US vannā un pēc tam paraugu analizē ar sp-ICP-MS

Kalibrācija. TiO₂ nanodaļiņu kvantitatīvai noteikšanai izmanto kalibrāciju uz matricas, pievienojot kalibrācijas šķīdumu paraugiem pirms parauga sagatavošanas zināmo daudzumu STD-2 šķīduma un veic norādītās parauga sagatavošanas procedūras.

Kalibrācijas grafiks TiO₂ nanodaļiņu noteikšanas metodei dots 2.2. attēlā, kur izteikts nanodaļiņu skaits kā funkcija no TiO₂ standartšķīduma koncentrācijas.



2.2. att. Kalibrēšanas grafiks TiO₂ metodei

Instrumentāla analīze. Titāna (IV) oksīda nanodaļiņu analīzei izmantota *Thermo Scientific iCAP RQ*

ICP-MS iekārta. ICP-MS parametri apkopoti tabulās 2.2. un 2.3.

2.2. tabula ICP-MS parametri

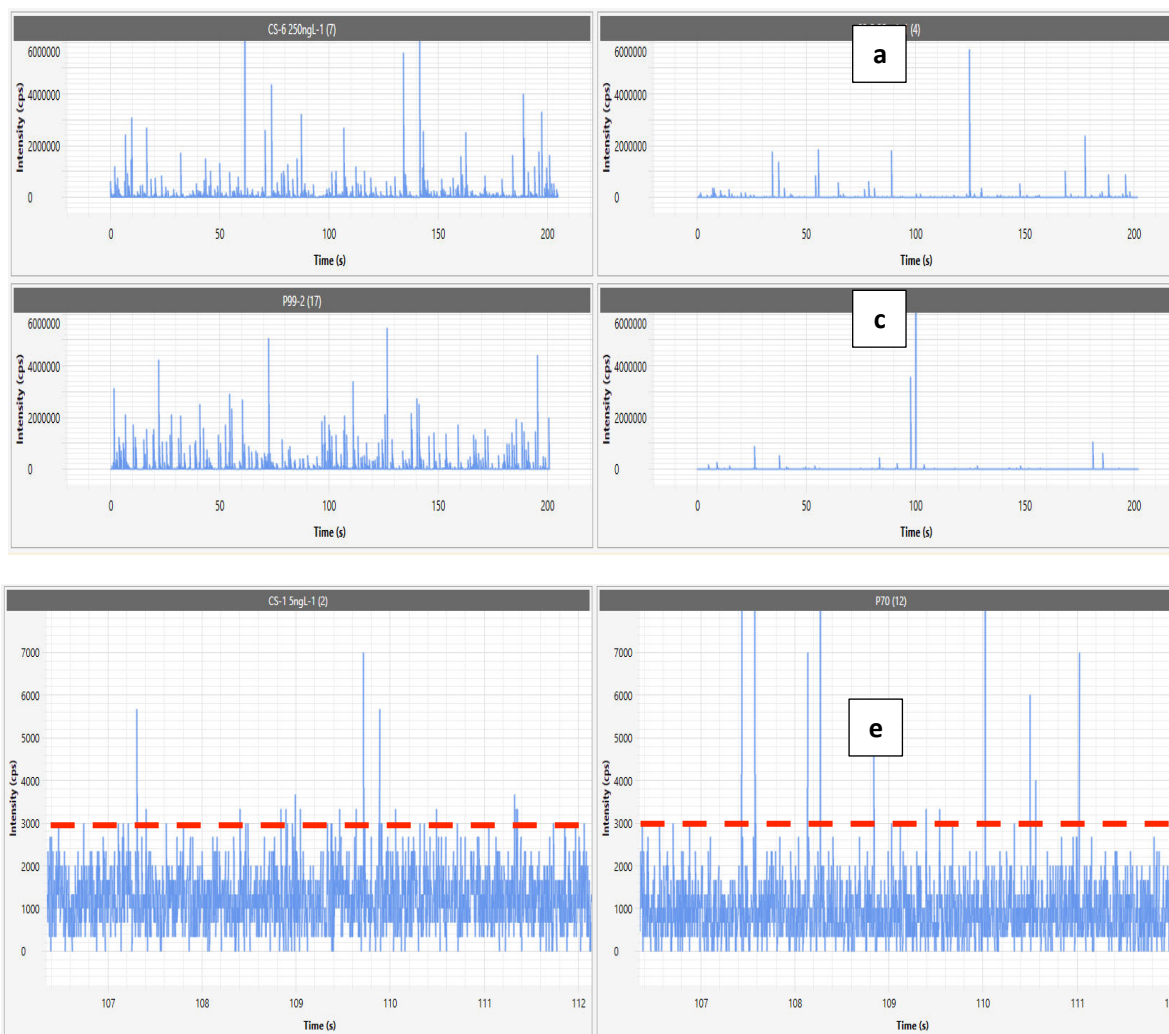
Plazmas jauda	1550 W
Nebilizējošās gāzes plūsma	1,0463L/min
Analizējama parauga plūsma	53 rpm

2.3. tabula ICP-MS jonu analīzes parametri

Analīta izotops	Aiztures laiks (s)	Kanālss	Mērījuma solis (u)
⁴⁸ Ti	0,1	1	0,1

2.3. attēlā raksturotas TiO₂ nanodaļiņu hromatogramma ar SP-ICP-MS instrumentāciju standartšķīdumiem ar daļiņu koncentrāciju 250, 25 un 5 mg/L un reāliem paraugiem.

No spektriem var redzēt, būtisku trokšņa ietekmi. Tādēļ tālākā apstrādē pārrēķinātais Ti daudzums no TiO₂ nanodaļiņām var būt augstāks par kopējo noteikto Ti saturu, pielietojot ICP-MS, jo TiO₂ mērījumiem zemā līmenī traucē analītiskais trokšnis. Trokšņa ietekmi TiO₂ nanodaļiņu satura novērtēšanai labi parāda 2.3. attēla e un f hromatogrammas, kur paraugā ar TiO₂ konstatētais daļiņu skaits ir lielāks, nekā standartšķīdumā ar līdzīgu koncentrāciju, pieaugot analītiskā trokšņa ietekmei. Plānots, ka tālākā metodes optimizācijā tiks lietoti TiO₂ standarti ar atšķirīgu nanodaļiņu diametru, kas ļaus uzlabot metodes efektivitāti.



2.3. att. TiO_2 nanodaļiņu spektri ar SP-ICP-MS instrumentāciju: a, b, e – standartšķīdumi ar TiO_2 nanodaļiņu koncentrāciju 250, 25 un 5 ng/L, c – Paraugs X1 (TiO_2 = 661 mg/kg), d- Paraugs X2 (TiO_2 = 37,6 mg/kg), f - Paraugs X3 (TiO_2 = 5,63 mg/kg); sarkanā līnija: trokšņa līmeņa salīdzinājums standartam un reālam paraugam

Kvalitātes kontrole. Lai pārbaudītu iespējamo laboratorijas trauku vai reaģentu piesārņojumu ar TiO₂ nanodaļiņām, katrā analīžu sērijā jāiekļauj tukšais paraugs. Ja tukšais paraugs satur TiO₂ nanodaļiņas, iegūtais rezultāts ir jāņem vērā un jāatņem no parauga iegūtajiem rezultātiem. Lai novērtētu metodes atgūstamību, katrā analīžu sērijā jāiekļauj arī attiecīgās matricas kvalitātes kontroles paraugs, kas satur TiO₂ nanodaļiņu standartpiedevu (kvalitātes kontroles eksperimentos izmantotā standartpiedeva ar koncentrāciju 250 ng/L).

Lai izvērtētu metodes stabilitāti, kvalitātes kontroles rezultātus apkopo kvalitātes kontroles kontrolkartēs. Kvantitatīvai analīzei izmanto piecu kalibrēšanas punktu grafiku, kura aptvertajā koncentrāciju diapazonā iekļaujas paraugu sērijas titāna(IV)oksīda nanodaļiņu koncentrācijas (2.2. att.). Noteikts, ka metode uzrāda apmierinošu linearitāti: $R > 0,99$. Metodes atgūstamība un standartnovirze ir apmierinošanas izstrādātajai metodei, lai to pielietotu tālākai paraugu analīzei.

Kvalitātes kontroles dati TiO₂ nanodaļiņu noteikšanas metodei apkopoti 2.4. tabulā.

2.4. tabula Kvalitātes kontroles dati TiO₂ nanodaļiņu noteikšanas metodei

Paraugs	Skaits (Qc+Paraugš)	Skaits (paraugš)	Skaits (QC)	C,ng/L (standartpiedevas saturs: 250 ng/L)	Vidējā atgūstamība,%	Standartnovirze, %
P84-QC	2901	1129	1772	209,5243	85,97	33,2
P99-QC	3959	1241	2718	333,8892		
P75-QC	1727	293	1434	165,0895		
P80-QC	1822	494	1328	151,1544		
Vidēji	2901	1129	1772	214,9143		

2.2. Metode Ag nanodaļiņu noteikšanai pārtikā

Metode ir paredzēta Šī metode ir paredzēta Ag nanodaļiņu (E 174 iespējamās nanofrakcijas) noteikšanai konfektēs un pārtikas dekoros, izmantojot induktīvi saistītās plazmas masspektrometriju (ICP-MS). Metodes pielietošanai paraugu iepakojumu analīzēm būtu jāveic optimizācija attiecībā uz paraugu sagatavošanu.

Reaģenti. Metodes izstrādē šobrīd tika izmantots - Ag nanodaļiņu standartšķīdums (daļiņu diametrs 60nm 0,02mg/mL) 730815 Sigma (Sigma-Aldrich). Daļiņu izšķīdināšanai lietots dejonizēts ūdens (18.2 MΩ ×

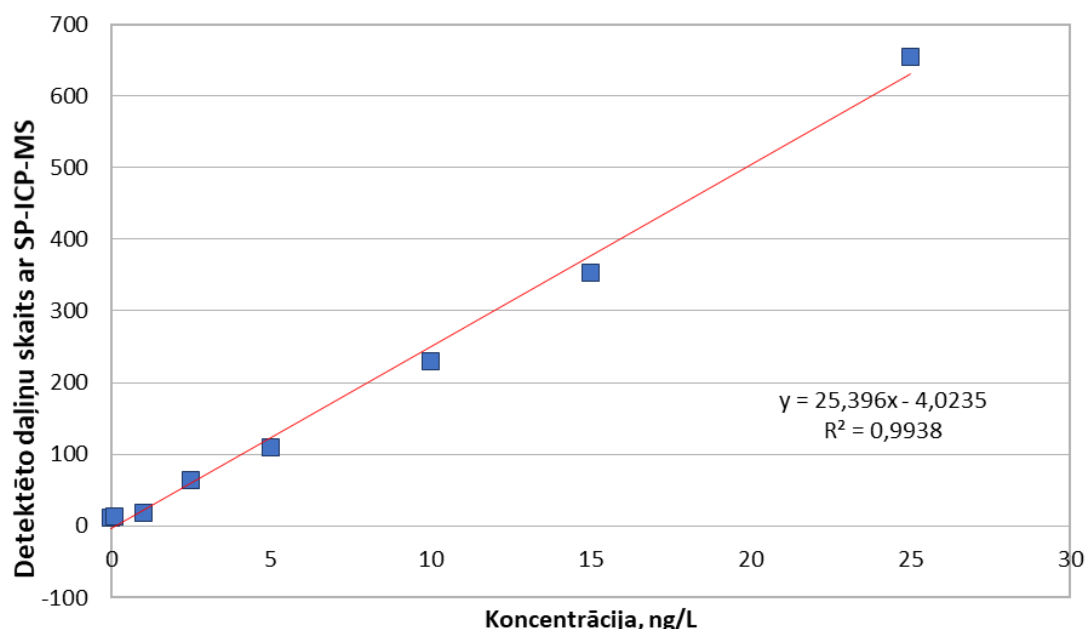
cm), kas ģenerēts ar Milli-Q iekārtu (Millipore, Billerica, ASV).

Ag nanodaļiņu standartšķīdumu pagatavošana. Standartvielas šķīdumus (STD-1) pagatavo no Ag nanodaļiņu standartšķīduma atšķaidot līdz 1000, 500, 100, 50, 25, 10, 5, 2.5, 1, 0.1 ng/L

Paraugu sagatavošanas procedūra. Analizējamo paraugu (1-2,5 g) iesver 50 mL PP stobriņā un pievieno 50 mL dejonizēta ūdens. PP stobriņu ar paraugu ievieto kratītājā uz 10 min. No šķīduma paņem alikvotu un to analizē ar sp-ICP-MS

Kalibrācija. Ag nanodaļiņu kvantitatīvai noteikšanai izmanto kalibrāciju uz matricas, pievienojot kalibrācijas šķīdumu paraugiem pirms parauga sagatavošanas zināmo daudzumu STD-1 šķīduma un veic norādītās parauga sagatavošanas procedūras.

Kalibrācijas grafiks Ag nanodaļiņu noteikšanas metodei dots 2.4. attēlā, kur izteikts nanodaļiņu skaits kā funkcija no Ag standartšķīduma koncentrācijas.



2.4. att. Kalibrēšanas grafiks Ag nanodaļiņu noteikšanas metodei

Instrumentāla analīze. Ag nanodaļiņu analīzei tika izmantota *Thermo Scientific iCAP RQ* ICP-MS iekārta. ICP-MS parametri apkopoti 2.5. un 2.6. tabulās.

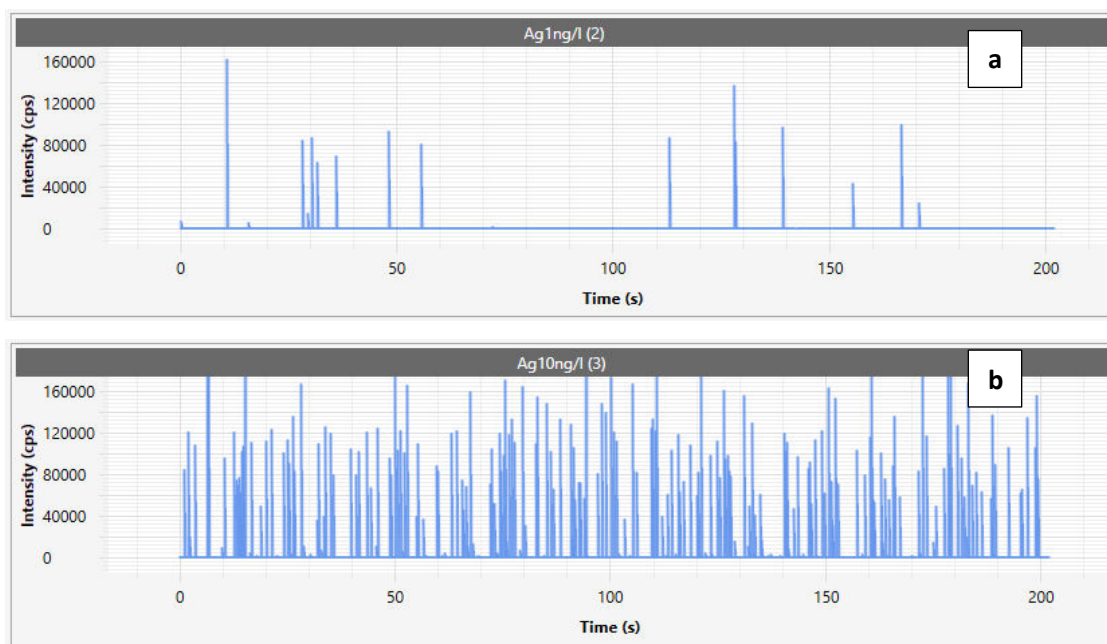
2.5. tabula ICP-MS parametri analīzei

Plazmas jauda	1550 W
Analīta plusma	40 rpm
Nebilizējošās gāzes plūsma	1L/min

2.6. tabula ICP-MS jonu analīzes parametri Ag nanodaļiņu analīzei

Analīta izotops	Aiztures laiks (s)	Kanālss	Mērījuma solis (u)
^{107}Ag	0,1	1	0,1
^{109}Ag	0,1	1	0,1

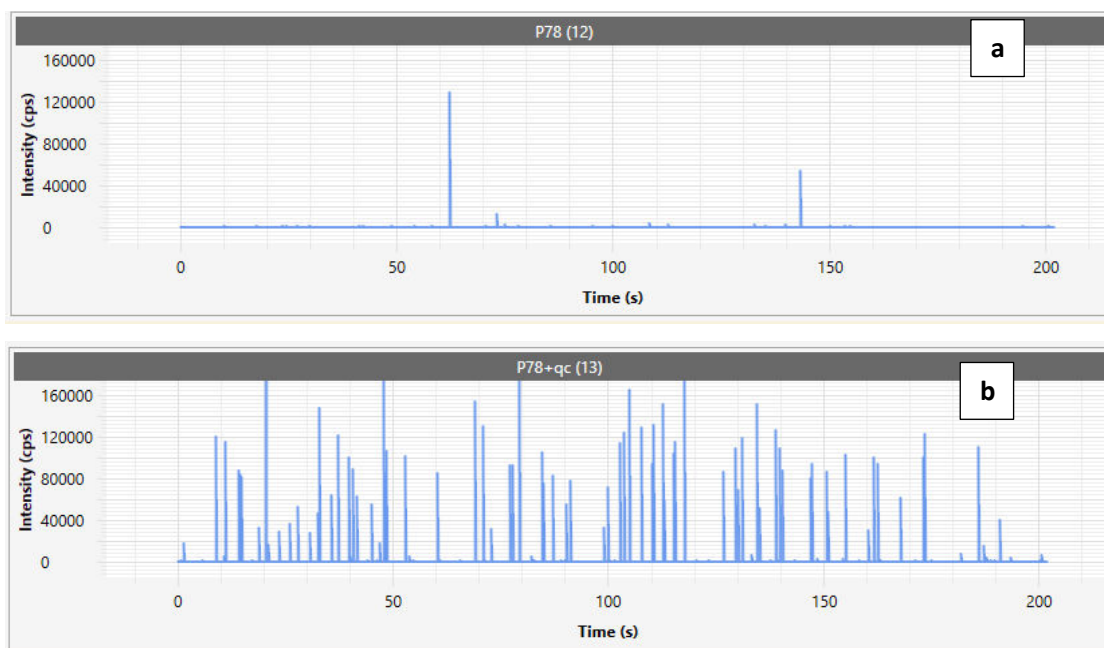
2.5. attēlā raksturotas Ag nanodaļiņu hromatogrammas standartšķīdumiem.



**2.5. att. Sudraba nanodaļiņu hromatogramma ar SP-ICP-MS instrumentāciju:
a - 1 ng/L standartšķīdums, b - 10 ng/L.**

Var novērot būtisku daļiņu skaita pieaugumu, lineāri pieaugot standartšķīduma koncentrācijai. Šajā gadījumā netika novērota tik izteikta fona trokšņa ietekmē, kā tas bija TiO_2 metodes gadījumā, kur izmantotajam TiO_2 standartam bija ļoti mazi daļiņu izmēri.

Analizētā parauga (sudraba un baltas krāsas lodītes) bez un ar standartpiedevu hromatogrammas raksturotas 2.6. attēlā.



2.6. att. Sudraba nanodaļiņu hromatogrammas ar SP-ICP-MS instrumentāciju: a - P78 (cukura lodītes: Ag = 16,2 mg/kg), b - P78 ar 2.5 ng/L standartpiedevu

Kvalitātes kontrole. Lai pārbaudītu iespējamo laboratorijas trauku vai reaģentu piesārņojumu ar Ag nanodaļiņām, katrā analīžu sērijā jāiekļauj tukšais paraugs. Ja tukšais paraugs satur Ag nanodaļiņas, iegūtais rezultāts ir jāņem vērā un jāatņem no parauga iegūtajiem rezultātiem. Lai novērtētu metodes atgūstamību, katrā analīžu sērijā jāiekļauj arī attiecīgās matricas kvalitātes kontroles paraugs, kas satur Ag nanodaļiņu standartpiedevu. Lai izvērtētu metodes stabilitāti, kvalitātes kontroles rezultātus apkopo kvalitātes kontroles kontrolkartēs. Kvantitatīvai analīzei izmanto piecu kalibrēšanas punktu grafiku, kura aptvertajā koncentrāciju diapazonā iekļaujas paraugu sērijas sudraba nanodaļiņu koncentrācijas. Kvalitātes kontroles dati Ag nanodaļiņu noteikšanas metodei apkopoti 2.7. tabulā.

2.7. tabula Kvalitātes kontroles dati TiO_2 nanodaļiņu noteikšanas metodei

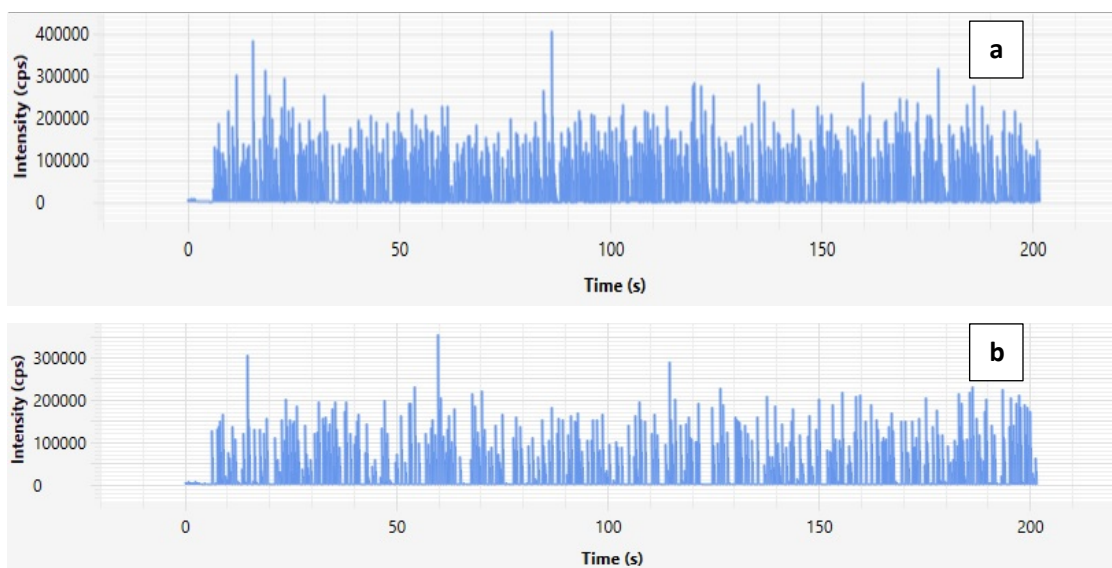
Paraugs	Skaits (Qc+Paraugs)	Skaits (paraugs)	Skaits (QC)	C, ng/L (standartpiedevas saturs: 2,5 ng/L)	Vidējā atgūstamība, %	Standartnovirze, %
P80+qc	94	20	74	2,91	122	5,6
P78+qc	90	9	81	3,19		
Vidēji	92	14,5	77,5	3,05		

Novērtējot metožu jutību, izmantojot standartsķīdumus, noteikts, ka TiO_2 un Ag nanodaļiņu noteikšanas metodes ļauj uidentificēt daļiņas virs 18 nm. Šobrīdējās izstrādātās metodes tika pielietotas, lai raksturotu kopējo nanofrakciju saturu analizējamajos paraugos, pirms tam veicot kopējā Ti (pārrēķināts pēc

tam uz TiO_2) un kopējā Ag noteikšanu ar projekta pirmajā periodā izstrādātajām ICP-MS metodēm, bet pēc tam izvērtējot paraugus, kuri tika analizēti, lai noteiktu iespējamu nanodaļiņu frakciju. Šajā periodā netika iepļānotas citas metodes, lai detalizētāk raksturotu nanodaļiņu izmērus (TEM u.c.). Metodes tika pielietotas tālākai reālo paraugu analīzei.

2.3. Metožu aprobācija SiO_2 un ZnO nanodaļiņu noteikšanai

Pārbaudīta metožu piemērotība SiO_2 un ZnO nanodaļiņu noteikšanai. Izmantoti iegūti SiO_2 un ZnO standarti (Sigma Aldrich). Izmantojot TiO_2 nanodaļiņu analīzei pielāgotos paraugu pagatavošanas apstākļus, sekmīgi sagatavoti analīzēm citu nanomateriālu standartšķīdumi. Pirmie pētījumi ar sagatavotajiem standartšķīdumiem parādīja, ka izstrādātās metodes var aprobēt arī SiO_2 un ZnO analīzēm, taču jāturpina darbs pie metožu optimizācijas, pielāgojot metodes atšķirīgas polaritātes pārtikas paraugu un iepakojuma materiālu (attiecībā uz nano-ZnO UV aizsardzības piedevām) analīzēm. Standartšķīdumu spektri nano- SiO_2 (koncentrācija: $2,5 \mu\text{g/L}$) un nano-ZnO ($1,0 \mu\text{g/L}$) raksturoti 2.7. att.



2.7. att. sp-ICP-MS hromatogrammas standartšķīdumiem: a - nano- SiO_2 ($2,5 \mu\text{g/L}$),
b - nanoZnO $1,0 \mu\text{g/L}$)

Pētījumi pie šo metožu optimizācijas tiks turpināti.

3. Ti un Ag izplatība Latvijā izplatītajā pārtikā

Projekta pirmajā posmā tika apkopota vispārējā literatūra par nanodaļiņu specifiskajām īpašībām, galvenajiem ķīmiskajiem savienojumiem un to formām, izplatību pārtikā, klātbūtni pārtikas iepakojumā un migrācijas potenciālu pārejai no iepakojuma materiāla dažādās pārtikas produktu vidēs (skāba, bāziska, polāra, nepolāra) (*BIOR, 2018*). Novērtētas vispārējās zināšanas par nanodaļiņu potenciālo apdraudējumu patērētājiem, tai skaitā, ja nanodaļiņas tiek uzņemtas orāli ar pārtiku. Pamatojoties uz veikto literatūras analīzi, TiO_2 un Ag apzināti kā vieni no biežāk izplatītajiem savienojumiem pārtikas, vai iepakojuma materiālos, kur šo pārtikas piedevu E171 un E174 sastāvā līdz ar mikroizmēru daļiņām iespējama nanoizmēru frakcija (diametrs 1-100 nm).

Priekšizpēte ar izstrādāto ICP-MS metodi 26 "balto matricu" pārtikas produktos ļāva identificēt Ti robežās no $<0,05$ mg/kg (metodes detektēšanas robeža) līdz pat 600 mg/kg, kas tika konstatēts košļājamā gumijā. Atbilstošā TiO_2 koncentrācija bija 1002 mg/kg, kas pārrēķināta, pareizinot Ti koncentrācijas vērtību ar koeficientu 1,67 atbilstoši molmasu attiecībai $M(\text{TiO}_2)/M(\text{Ti})$ (*BIOR, 2018*). Izstrādātā metode kopējā Ag satura noteikšanai tika aprobēta 14 paraugos analīzēm, lai novērtētu sudraba saturu literatūrā aprakstītajos pārtikas produktos, kas var nonākt kontaktā ar sudraba daļiņām, migrējot no iepakojuma (polimēra plēves, kartona tetra pakas, plastmasas pudeles) gaļā, skābās un neitrālās matricās (sulas, piena produkti u.c.), vai arī tiešā veidā dažādu pārtikas dekoru sastāvā (sudraba un zelta krāsas cukura dekoru). Faktiskie rezultāti iepriekšējā posmā uzrādīja tikai vienu paraugu (zelta krāsas dekoru, kas saturēja Ag saturu virs detektēšanas līmeņa ($0,010$ mg/kg): $0,051 \pm 0,005$ mg/kg. Plašāk šie rezultāti aprakstīti iepriekšējā posma atskaitē (*BIOR, 2018*):

Pamatojoties uz uzkrātajām zināšanām, otrā projekta posmā bija izvirzīti sekojošie uzdevumi:

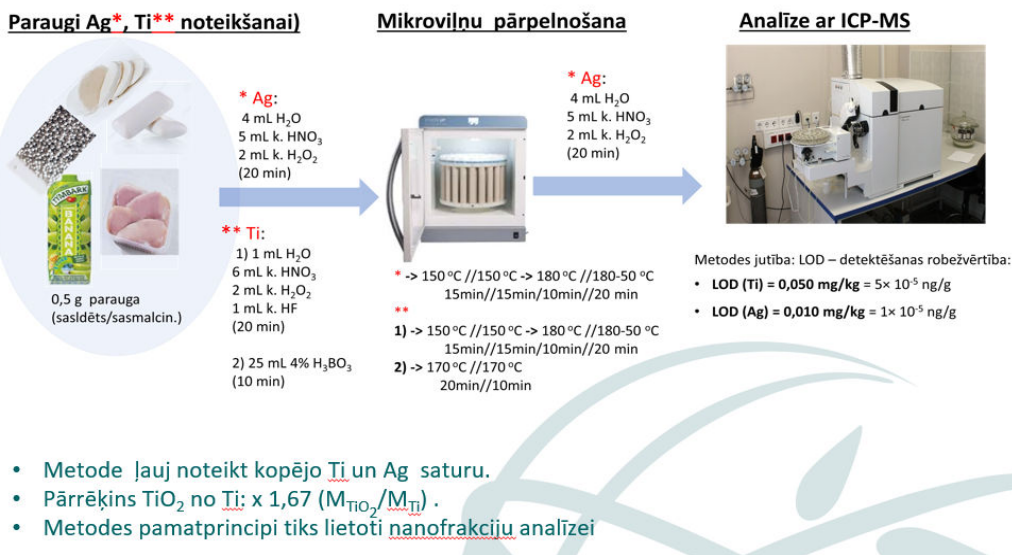
- 1 Izvērtēt plašāku datu kopu ar baltās krāsas produktiem, kuru sastāvā ir norādīta, vai tieši nav norādīta baltā pigmenta klātbūtne (E 171);
- 2 Izstrādāt metodes un pielietot, lai analizētajos paraugos noteiktu nano- TiO_2 un nano-Ag frakcijas, un izvērtētu nanomateriālu potenciālo apdraudējumu, pielietojot līdzšinējās zināšanas par potenciālo pētāmo nanodaļiņu bīstamību un ekspozīcijas risku novērtēšanas metodēm atbilstoši Eiropas Pārtikas Drošības aģentūras rekomendācijām un ekspozīcijas datubāzu datiem (*EFSA, 2011; Richards, et al., 2017*).

Otrā projekta ietvaros, turpinot eksperimentus, tika iegādāti 100 dažādi pārtikas paraugi: košļājamās gumijas ($n = 9$), želejas, želejas konfektes ($n = 6$), zefīri ($n = 4$), cepumi ($n = 2$), šokolādes, tai skaitā glazēti šokolādes izstrādājumi ($n = 5$), augļu, vai piparmētru pastilas un dražejas ar spīdumu, vai baltu krāsu ($n = 7$), pārtikas (kūku) dekoru ($n = 9$), dažāda veida piens ($n = 3$), svaigie sieru ($n = 7$), kafijas krējumi ($n = 6$), saldaiss krējums ($n = 4$) un citi piena produkti ($n = 3$), kā arī dažādi neapstrādāti un termiski apstrādāti

gaļas produkti (n = 8), sulas (n = 12), bezalkoholiskie dzērieni (n = 2) un citi produkti – 3.1. tabulā raksturoti visi analizētie paraugi un noteiktie titāna, sudraba koncentrāciju līmeņi šajos produktos.

Analīzes tika veiktas ar iepriekšējā posmā izstrādātajām ICP-MS metodēm, lietojot Agilent 7700X detektoru un kombinētu paraugu sagatavošanu Ti un Ag noteikšanai (3.1. attēls) (BIOR, 2018).

Paraugu sagatavošana ICP-MS (Ti, Ag) un analīze*



3.1. att. Projekta pirmajā posmā izstrādātā metode un paraugu sagatavošanas protokols kopējā Ti un Ag satura noteikšanai pārtikas produktos (attēls no BIOR pirmā posma ziņojuma atskaites (BIOR, 2018))

3.1 Ti un TiO₂ (E 171) kopējais saturs pārtikas produktos

Iepriekšējās nodaļās jau tika apspriests, ka TiO₂ pārtikas piedeva galvenokārt tiek lietota, lai piešķirtu baltāku toni un spīdumu baltās krāsas pārtikas produktiem, vai pastiprinātu spīdumu krāsainām glazūrām, turklāt Eiropas Savienībā tirgotajos pārtikas produktos jābūt marķējumā norādītam, ka produkti satur krāsvielu E171.

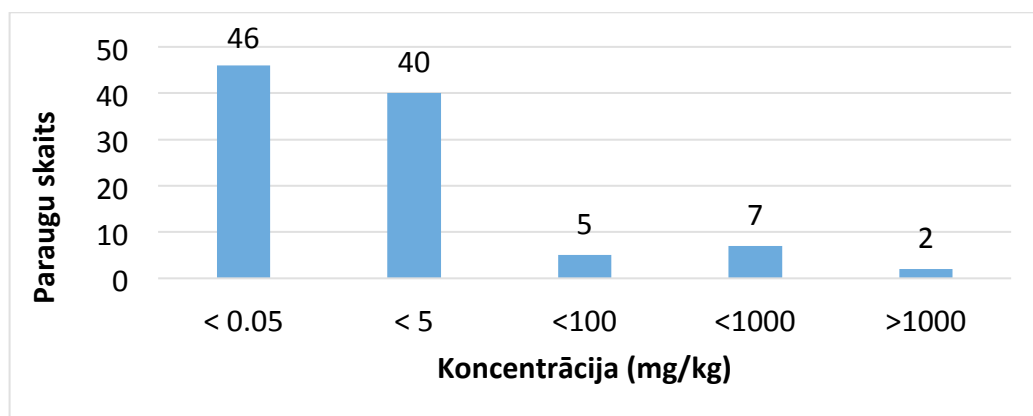
Pārsvarā visu iegādāto saldumus, zefīru un košļājamo gumiju sastāvdaļu aprakstā bija norādes par E171 pigmentu saturu. Parasti produkti satur daļiņas, kuru diametrs ir robežās no 200 – 300 nm, vai vairāk (mikrolīmeņa izmēri), taču iespējama zemāku (nanoizmēra frakciju klātbūtne (<100 nm)).

Pielietojot iepriekšējā projekta izstrādātās metodes, visos analizējamajos paraugos tika novērtēts kopējais Ti saturs, bet TiO₂ daudzums tika izteikts atbilstoši pārrēķina metodikai, ņemot vērā molmasas koeficientu (1,67). Rezultāti ir apkopoti 3.1. tabulā. Veicot izpēti, apzināti tika analizēta Ti klātesamība arī tajos paraugos, kuros nebija sagaidāma E171 klātbūtne, lai pārliecinātos par metodes pielietojamību.

Četrdesmit sešos no analizētajiem paraugiem tika konstatēts, ka Ti koncentrācijas bija zem < 0,05 mg/kg. Piemēram, visos analizētajos sulas un dzērienu, vai smūtijū paraugos Ti bija zem detektēšanas

robežas, izņemot vienu smūtiņa paraugu, kurā identificēta ļoti zema detektējama Ti koncentrācija (Hello mango smūtijā Ti un TiO_2 noteiktas vidējās koncentrācijas: 0.093 un 0.16 mg/kg).

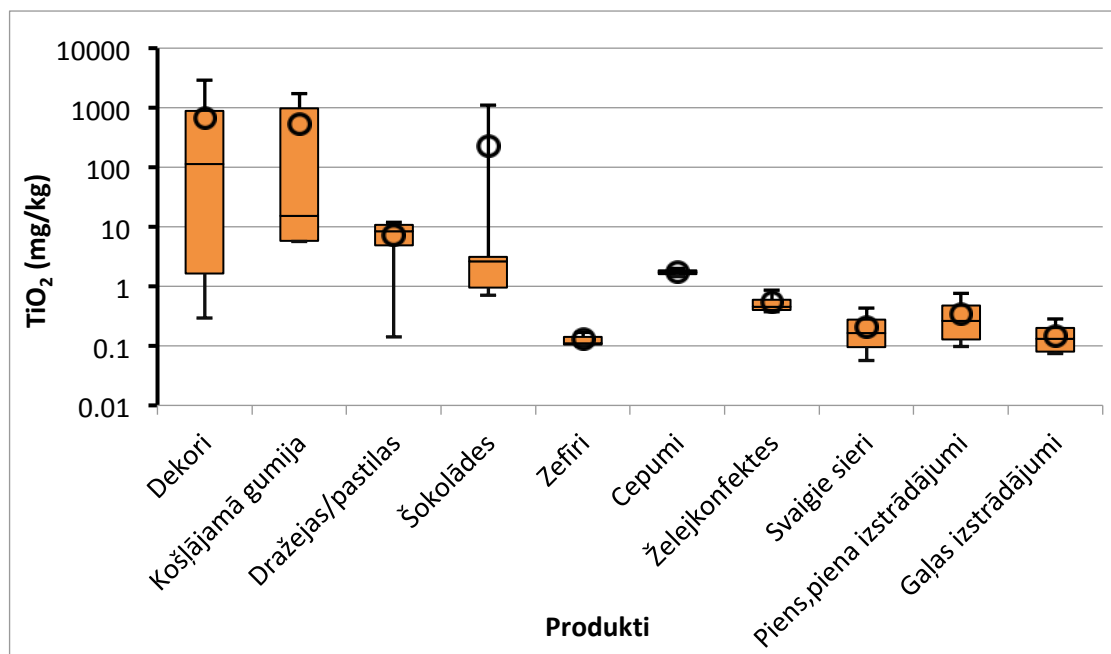
3.2. attēlā parādīti identificētie Ti koncentrācijas līmeņi analizētajos paraugos. Lielākajā daļā paraugu (gaļas, piena produkti, tai skaitā kafijas krējumi) koncentrācijas līmeņi bija vai nu zem detektēšanas robežas, vai arī zemāki par 5 mg/kg ($n = 40$). Piemēram cepumos, šokolādēs, tai skaitā M&M markas šokolādēs Ti saturs bija <2 mg/kg (oksīda saturs attiecīgi zem 4 mg/kg). Šie dati sakrīt ar iepriekšējā projekta periodā konstatētajiem Ti un TiO_2 koncentrācijas līmeņiem dažādos pārtikas produktos (BIOR, 2018). Tikai četrpadsmit analizētie paraugi saturēja Ti lielāku par 5 mg/kg: kopējais Ti saturs šajos paraugos bija 3,4-1738 mg/kg (3.1. tabula).



3.2. att. Titāna koncentrāciju sadalījums analizētajos pārtikas paraugos

Pieci no paraugiem, kur Ti koncentrācijas bija zemākas par 100 mg/kg galvenokārt ietvēra atsevišķas dražejas, jauktu krāsu dekorus un atsevišķas košļājamās gumijas. Arī pārējās 3.2. att norādītās koncentrāciju grupas robežās no >100 mg/kg līdz pat >1000 mg/kg ietvēra šīs trīs kategorijas, izņemot vienu paraugu, jo Ti saturs šajā paraugā bija 672 ± 66 mg/kg un attiecīgi pārreķinot, vidējā TiO_2 kopējā koncentrācija pārsniedza 1000 mg/kg.

Salīdzināsim kopējo TiO_2 izplatību (pārreķināti dati, pareizinot vidējās Ti koncentrācijas ar koeficientu 1,67) dažādās pārtikas produktu grupās (3.3. att.)



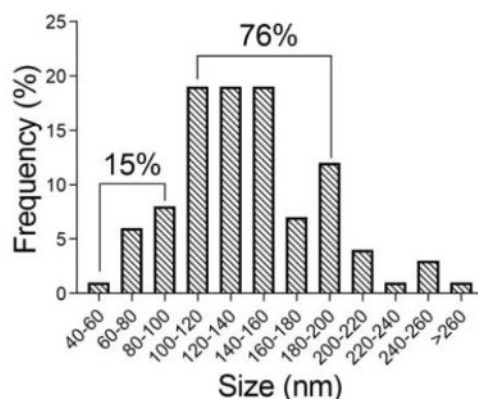
3.3. att. Titāna koncentrāciju sadalījums analizētajos pārtikas paraugos

TiO₂ saturs dažādās pārtikas produktu grupās paraugos kā piena produkti, kafijas krējums, zefīri ir salīdzināms ar datiem, ko ziņojuši citu valstu pētnieki savās publikācijās (EFSA, 2011; EFSA, 2015; Fiordaliso, et al., 2018; Peters, et al., 2014; Weir, et al., 2012).

Iepriekšējā projekta posmā veiktajā priekšizpētē pārtikas dekoros tika analizēts tikai Ag, taču šajā paplašinātajā pētījumā konstatēts, ka dažādi dekorēšanai lietoti produkti var saturēt Ti koncentrācijas robežās no 1,15 mg/kg līdz pat 2902 mg/kg. Neona un dažādu krāsu cukura pērlītēs konstatētās Ti vērtības bija robežās starp 400-500 mg/kg (attiecīgi no >600 līdz > 1000 mg/kg, pārrēķinot uz titāna oksīdu). Lielākās Ti koncentrācijas noteiktas balto cukura pērlīšu un zelta pērlīšu paraugos, turklāt, pārrēķinot uz TiO₂ saturu, vienā no cukura dekoru paraugiem TiO₂ 1,6 reizes pārsniedza košļājamās gumijās konstatētās maksimālās koncentrācijas līmeni.

2018. g. Fiordaliso et al. ziņoja pētījuma datus par TiO₂ kopējo saturu un nanofrakcijas saturu testētos komerciālajos E 171 paraugos un komerciālajās košļājamās gumijās (Fiordaliso, et al., 2018).

Pielietojot induktīvi saistītās plazmas-optiskās emisijas spektrometriju un TEM analīzes, šajā pētījumā konstatēts, ka nano-TiO₂ frakcijas saturs E171 standartos bija robežās no 6-18%. Turklāt trijos no testētajiem E 171 paraugiem tika konstatēti 12-18% titāna oksīda frakcijas ar daļiņu izmēru <100 nm, bet 75-79% bija ar daļiņu izmēru 100-200 nm (3.4. att.) (Fiordaliso, et al., 2018).



3.4. att. Salīdzinājuma piemērs – TiO₂ nanofrakciju sadalījums E171 (*Fiordaliso, et al., 2018*).

Pētījumā testētas astoņās dažādās košļājamās gumijās (E 171 saturoši pārtikas produktu prototipi). Autori noteikuši, ka tikai vienā no košļājamām gumijām netika identificēts Ti. Kopejais titāna oksīda saturs svārstījās robežās 0,25-7,48 mg/g jeb 0,35-15,25 mg uz vienu gumijas paraugu. bet nano-TiO₂ koncentrācijas pētījumā iekļautos paraugos bija robežās no 0.01-0.66 mg/gumijas spilventiņa paraugā (0.01-0.37 mg/kg, nanofrakcijas saturs: līdz 5% no kopējā TiO₂) (*Fiordaliso, et al., 2018*).

15% no kopējām TiO₂ daļiņām ar kalcija karbonātu pārklātajos košļājamo gumiju spilventiņos bija ar daļiņu diametru robežās no 40-100 nm, bet 76% saturs ar daļiņu bija robežas >100 nm un līdz 200 nm (*Weir, et al., 2012*).

Pamatojoties uz EFSA datubāzes datiem par košļājamo gumiju patēriņa datiem Eiropā (*DEPA, 2015*), autori aprēķinājuši, ka nano-TiO₂ uzņemtais daudzums, lietojot košļājamās gumijas, ir robežās 0.28-112.40 µg/kg b.w./dienā, kur daudz lielāks risks ir tieši bērniem, salīdzinot ar pusaudžiem un pieaugušajiem (*Fiordaliso, et al., 2018*).

Mūsu pētījumā testētajās košļājamās gumijās kopējais Ti saturs svārstījās robežās 3,4-1049 mg/kg attiecīgi, kas atbilst titāna oksīda kopējam saturam 5,68-1752 mg/kg.

Augstākā koncentrācija attiecināma uz košļājamo gumiju, kuras svars paciņai ar 10 gumijas spilventiņiem ir 14 g. Nosverot dažādus spilventiņus, aprēķināts, ka kopējais svars ir nedaudz lielāks: viena spilventiņa masa ir vidēji 1,46±0,03 g.

Pieņemot, ka viena k. gumijas gabaliņa ("spilventiņa") masa ir 1,46 g un kopējais svars paciņai ir 14,6 g, var aprēķināt vidējo kopējā TiO₂ saturu vienā gumijas spilventiņā, kas atbilst vidēji 2,55 mg TiO₂ vienā košļājamās gumijas gabaliņā – šie dati kas iekļaujas *Fiordaliso et al. (2018)* pētījumā konstatētajā TiO₂ kopējā koncentrāciju intervālā (*Fiordaliso, et al., 2018*).

3.2. Ag (E174) kopējas saturs pārtikā

Visi simts paraugi tika arī analizēti, lai novērtētu kopējo sudraba klātbūtni. Galvenokārt uzmanība tika veltīta sulu, dažādu gaļas izstrādājumu un sudraba krāsas dekoru paraugiem, ņemot vērā iepriekšējā periodā veikto literatūras analīzi un priekšizpēti. Otrā perioda paraugu analīze uzrādīja, ka gaļas vai sulas paraugos Ag saturs bija zem detektēšanas robežvērtības (0,010 mg/kg).

Līdzīgi kā priekšizpētē, apkopojot datus, tika konstatēts, ka tikai pārtikas dekori, kas satur sudraba, vai zelta krāsas lodītes, uzrāda pozitīvas Ag koncentrācijas robežās no $0,06 \pm 0,006$ mg/kg līdz pat 2714 ± 266 mg/kg.

Tālākai izpētei, lai novērtētu nano-Ag frakciju saturu tika izvēlēti trīs dekoru paraugi ar Ag koncentrāciju $0,48 \pm 0,05$, 86 ± 8 mg/kg un maksimālo noteikto Ag saturu, ņemot vērā iespējamu dažādu Ag daļiņu sadalījumu šajos paraugos.

3.3. TiO₂ un Ag nanodaļiņu noteikšana pārtikas produktos

Novērtējot kopējo Ti un Ag saturu, tālākām analīzēm tika izvēlēti paraugi, kas saturēja vismaz 5 mg/kg kopējo Ti, vai kopējo Ag paraugā virs noteikšanas robežas. Vienlaikus tika ņemtas vērā paraugu īpašības. Tādēļ nanodaļiņu noteikšanai no kopējā 100 paraugu klāsta tika izvēlēti sešpadsmit paraugi, no kuriem tikai divi pārtikas dekori saturēja pietiekami augstu Ag saturu, kas noteica tālāku Ag nanodaļiņu satura izvērtējumu. 3.2. tabulā raksturotas identificētās nanodaļiņu koncentrācijas, pielietojot 2. nodaļā raksturotās projekta izstrādātās sp-ICP-MS metodes.

3.2. tabula Paraugos noteiktās TiO₂ un Ag nanodaļiņu koncentrācijas

Apzīm.	Produkta grupa	nano-TiO ₂		nano-Ag	
		mg/kg	w, %	mg/kg	w, %
P87	Šokolādes konf.	109	16,22	-	-
P84	Dražējas (glazētas)	23,2	fons	-	-
P85	Dražējas (glazētas)	24,9	fons	-	-
P70	Dražējas (glazētas)	5,62	fons	-	-
P96	Košļ. gumija	37,1	fons	-	-
P94	Košļ. gumija	1552	88,6	-	-
P93	Košļ. gumija	742	84,1	-	-
P99	Košļ. gumija	661	58,4	-	-
P97	Košļ. gumija	583	59,8	-	-
P78	Dekori	16,2	fons	16,2	0,59
P75	Dekori	82,0	9,24	-	-
P74	Dekori	252	31	-	-
P81	Dekori	37,6	2,16	-	-

p80	Dekori	44,7	39,2	74,8	86,9
P79	Dekori	42,8	fons	-	-
P82	Dekori	407	58,7	-	-

Piezīme - fons (šajos paraugus neizdevās noteikt precīzas nanofrakcijas koncentrācijas dēļ fona ietekmes, tādēļ aprēķinātās vērtības bija lielākas par kopējo Ti saturu.

TiO₂ nanodaļiņas pārtikā. Kā tas tika minēts nodaļā par paraugu sagatavošanu, atsevišķu paraugu gadījumā tika novērota pārāk izteikta fona trokšņa ietekme, tādējādi šobrīdējie metodes apstākļi nedeva pietiekami precīzu novērtējumu, jo noteiktais nanofrakcijas TiO₂ masas daļa bija >100%, attiecinot pret kopējo TiO₂ saturu, kas aprēķināts no kopējā Ti satura, veicot novērtējumu ar ICP-MS (dati no 3.1. tabulas). Šādi bija tikai seši paraugi, pārsvarā gadījumu šīs atšķirības nebija par kārtu, bet tikai dažas reizes un attiecināmas uz fonu īpaši pie zemākām TiO₂ koncentrācijām, kā tas parādīts 2.3. att (e un f spektri).

Vienlaikus šie rezultāti loģiski parādīja, ka košļājamās gumijas ir raksturīgākais TiO₂ avots pārtikas Latvijas patērētājiem, īpaši jaunākām grupām (jaunieši, bērni), ko konstatēja arī Dānijas pētnieki līdzīgā pētījumā, turklāt analizējamajos paraugos konstatētais nanofrakcijas saturs svārstījās robežās no 58 – 89% (DEPA, 2015). Pārsteidzoši zemas (vairāk nekā 10 x zemākas) nanofrakcijas vērtības tika ziņotas Fiordaliso et al. (2018) pētījumā, kas ietvēra 8 košļājamās gumijas, kas iegātas Itālijā. Tomēr citu autoru dati ir parādījuši, ka košļājamās gumijās nanofrakcija 50-300 nm var būt pat līdz 90%, īpaši akcentējot ārējo apvalku kā TiO₂ avotu atšķirībā no tehnoloģijas, izgatavojot košļājamās gumijas (Kim, et al., 2018). Arī citi autori ir noteikuši, ka kopējā TiO₂ nanofrakcija dažādos pārtikas produktos, tai skaitā košļājamās gumijās, kas ir izplatītas Eiropas tirgū, var būt pat līdz 50-60% (Weir, et al., 2012). Piemēram, ASV pētījumā konstatēts, ka dažas šokolādes konfektes (glazūra galvenokārt) satur ļoti augstu nanofrakcijas saturu – līdz 1.25 µg/mg, un saturēja līdz pat 36% nanofrakciju ar daļiņu izmēru d <100 nm. Šie dati ir ļoti tuvi mūsu konstatētajai vērtībai – 16% (3.2. tabula).

Iepriekš veiktajā literatūras izpētē konstatēts, ka trūka literatūras atsauces uz TiO₂ nanodaļiņu saturu pārtikas dekoros, kas varbūt maz pētīti zemās ekspozīcijas dēļ. Ēdot kūkas un citus izstrādājumus, kas dekorēti, var uzņemt ļoti mazus daudzumus. Vienlaikus mūsu pētījuma dati parāda, ka dekoros TiO₂ nanodaļiņas var sasniegt pat 407 mg/kg, bet nanofrakcija var būt robežās no 2 līdz pat >50 % no kopējā titāna oksīda satura. Šajā gadījumā gan mēs varam runāt par nanodaļiņām >20 nm un iespējams, kas daļa pārsniedz 100 nm.

Ag nanodaļiņas pārtikā ir attiecināmas uz migrāciju nepārejot jonu formā no iepakojuma materiāliem (Bumbudsanpharoke, et al., 2015). Taču dažādas mikronu un pat relatīvi lielu nanofrakcijas saturu var saturēt dažādi dekori, atkarībā no pagatavošanas tehnoloģijas (Verleyse, et al., 2015). 100 paraugu analīze neļāva konstatēt migrāciju, par ko būtu jāliecina kopējā Ag saturam analizētajos paraugos, taču tas netika novērots (3.1. tabula). Ag nanodaļiņas tika konstatētas tikai divos dekoru paraugos, turklāt konstatētās koncentrācijas būtiski atšķīrās: no 16.2 līdz 74,8 mg/kg. Turklāt konstatēts, ka pirmajā gadījumā cukura pērlītes (baltā un sudraba krāsā) iespējams bija pārklātas ar Ag folijas kārtiņu, ar ko varētu skaidrot

ļoti zemo nanofrakcijas saturu. Otrā gadījumā visdrīzāk nanofrakciju ietekmēja pulvera tehnoloģija. Abos paraugos bija norādes uz E174 klābūtni.

4. Diskusija par konstatēto nanomateriālu apdraudējuma novērtējumu Latvijas patērētājiem

Šajā pētījumā ir secināts, ka nav pamata novērtēt nano-Ag daļiņu potenciālu kaitējumu, ņemot vērā zemo ekspozīcijas iespējamību. Tādēļ uzmanība vērsta uz TiO₂ novērtējumu. Pamatojoties uz projekta ietvaros apkopoto informāciju, var spriest, ka nav pietiekami daudz datu, tādēļ novērtējumam izvēlēti divi gadījumi nano-TiO₂ akūtās ekspozīcijas novērtējumam Latvijā, kur pārtikas modeļvielas ir košļājamās gumijas:

- 1) vidējais ticamais patēriņš, kad tiek uzņemtas 5 gabaliņi dienā ik pēc ikdienas ēdienreizēm un/vai uzkodām;
- 2) sliktākā iespējamā scenārija gadījums, kad tiek uzņemti līdz pat 20 gabaliņiem dienā (95% worst case scenario).

Salīdzinājumam izmantosim EFSA ieteikto worst case vērtību 1,3 mg TiO₂ /kg b.w. dienā. Lai gan ir iespējams salīdzināt datus ar Dānijas pētījumā aprēķināto DNEL vērtību (0,02 TiO₂ mg /kg b.w. dienā), autori jau norādīja, ka šī ir pārāk zemā vērtība, lai būtu ticama, kas nosaka nepieciešamību izvērtēt LOAEL datu patiesumu (DEPA, 2015).

Izmantojot 3.2. tabulas datus, salīdzināsim divas košļājamās gumijas ar maksimālo konstatēto nano-TiO₂ saturu starp četrām identificētajām košļājamām gumijām ar 58-88,6% nanofrakcijas saturu (4.1. tabula). Tabulā parādīti pārrēķinātie dati, ņemot vērā paciņas svaru (14 g) un paciņas svaru (13,6 g) un to, ka katra paciņa satur 10 gabaliņus. Attiecināsim šos datus uz akūtu ekspozīciju bērniem (mediāna svars 21,7 kg), pusaudžiem (60 kg) un pieaugušiem (svars 70 kg) (EFSA, 2012). Skatīt 4.2. tabulu.

4.1. tabula Ekspozīcijas raksturojums, uzņemot 5 līdz 20 košļājamās gumijas gabaliņus dienā (vidējais pieņemtais patēriņš – uz košļājamo gumiju, kur viena paciņa satur 10 gabaliņus (DEPA, 2015).

Produkts	nano-TiO ₂ , mg/kg	nano-TiO ₂ , mg paciņā	nano-TiO ₂ , mg/gab.	Ikdienas uzņemšana pēc ēdienreizēm (5 gabaliņi/dienā)	Sliktākais scenārijs akūta uzņemšana (20 gabaliņi/dienā)
Košļ.gumija Nr.1	1552	21,73	2,17	10,9	43,4
Košļ.gumija Nr.2	583	8,16	0,82	4,08	16,4

Šie dati labi iekļaujas robežās, ko noteikuši citi autori, kas pētījuši nano-TiO₂ saturu košļājamās gumijās un potenciālo risku novērtējumu patērētājiem (Fiordaliso, et al., 2018; Peters, R.J., et al., 2014; Weir, et al., 2012).

4.2. tabula Latvijas patērētāju ekspozīcijas novērtējums dažādām grupām

Scenārijs	Ekspozīcijas grupa	Ekspozīcijas līmenis (oral)
Vidējais: 5 gabaliņi (nano-TiO ₂ mg = 0,82-2,17 mg/gab)	Bērni (līdz 10 g.)	0,19-0,50 mg nano-TiO ₂ / b.w. kg dienā
	Pusaudži (<18. g.)	0,07-0,18 mg nano-TiO ₂ / b.w. kg dienā
	Pieaugušie	0,06-0,16 mg nano-TiO ₂ / b.w. kg dienā
Sliktākais gadījums: 20 gabaliņi dienā (nano-TiO ₂ mg = 0,82-2,17 mg/gab)	Bērni (līdz 10 g.)	0,76-2,00 mg nano-TiO ₂ / b.w. kg dienā
	Pusaudži (<18. g.)	0,27-0,72 mg nano-TiO ₂ / b.w. kg dienā
	Pieaugušie	0,23-0,62 mg nano-TiO ₂ / b.w. kg dienā

Ja mēs salīdzinām noteiktās akūtās ekspozīcijas vērtības pēc ēdienreizēm atsvaidzinot elpu (5 gabaliņi) – var redzēt, ka visām populācijas grupāmdienas ekspozīcijas vērtība ir zemāka nekā EFSA norādītā riska vērtība (worst case) 1,3 mg/ kg b.w. dienā. Šāds scenārijs ir ļoti ticams, pieņemot, ka vidēji cilvēks ēd trīs ēdienreizes, pēc kurām var nokošļāt līdz pat piecus gabaliņus.

Pallielinot patēriņu līdz 1 paciņai, vērtības dubultojas. Būtisks potenciāls risks pieaug tieši bērnu grupai līdz 10 g. vecumam, kas arī var lietot vairāk košļājamo gumiju, lai pūstu burbuļus.

Ja mēs apskatāmies pieņemto sliktāko scenāriju, dati parāda, ka bērniem nav ieteicams uzņemt pārāk lielu daudzumu košļājamās gumijas ar paaugstinātu TiO₂ nanodaļiņu saturu, īpaši tas attiecināms uz noteikto piemēru, kur nanofrakcijas saturs ir > 80% un nano- TiO₂ saturs ir > 1500 mg/kg (kopējais TiO₂ saturs > 1700 mg/kg, skat 3.1. un 3.2. tabulas), jeb 2,17 nano- TiO₂ mg/gab košļ. gumijas. Līdzīgi secinājumi konstatēti Itālijas pētījumā par dažādu populācijas grupu ekspozīciju (*Fiordaliso, et al., 2018*).

Salīdzinot, vidusskolniekiem un pieaugušiem būtu jāapēd vismaz 4 paciņas, lai pārsniegtu pieļaujamo līmeni, kas ir netipiski, jo pat 2. paciņu ekspozīcija ir vairāk nekā 1.5 reizes mazāka par EFSA ieteikto sliktākā gadījuma ekspozīcijas vērtību. Tādējādi var uzskatīt, ka, lietojot nepārspīlētos daudzumos, nano-TiO₂ saturs nevar izraisīt būtisku apdraudējumu patērētājiem Latvijā.

Secinājumi un rekomendācijas

1. Izstrādātas divas jaunas metodes nano-TiO₂ un nano-Ag noteikšanai, kas pielietotas, lai izvērtētu nanofrakciju saturu, koncentrācijas analizējamajos paraugos (košļājamās gumijas, saldumi, pārtikas dekorī), kā arī aprobētas citu nano-daļiņu (ZnO, SiO₂) analīzēm pārtikas produktos.
2. Pētījuma rezultātā tika novērtētas kopējā Ti un Ag koncentrācijas simts pārtikas paraugos, kur tikai atsevišķas saldumu grupas, košļājamā gumija un pārtikas dekorī saturēja šo metālisko elementu koncentrācijas virs 5 mg/kg. Citas pārtikas grupas saturēja niecīgas Ti koncentrācijas, kur pat Ti un attiecīgi pārrēķinātais TiO₂ saturs dekoros pārsniedz koncentrācijas, kas detektētas košļājamās gumijās.
3. Vairāku zinātnieku veiktais novērtējums TiO₂ košļājamās gumijās ļauj izmantot šo pārtikas matricu kā modeli, lai izvērtētu potenciālu risku patērētājiem, ņemot vērā, ka tieši šajā produktu grupā ir novērojamas augstākās nano-TiO₂ koncentrācijas robežās no 37,1-152 mg/kg,
4. Konstatēts, ka nanofrakcijas saturs Latvijā izplatītajās košļājamās gumijās var pat pārsniegt 50% (nano-TiO₂ koncentrācijas attiecīgi), tādējādi pieaug potenciāla apdraudējuma risks patērētājiem, ņemot vērā iespējami TiO₂ frakcijas saturu košļājamo gumiju spilventiņu ārējā apvalkā. Var ieteikt aizvietot šādas košļājamās gumijas ar plāksnīšveida produktiem, kas nav glazēti ar E 171 krāsvielu.
5. Košļājamo gumiju sastāvā nano-TiO₂ mg koncentrācijas ir 0,82-2,17 mg uz gabaliņu košļājamās gumijas. Uzņemot bērniem un pieaugušiem līdz 5 gabaliņiem košļājamās gumijas dienā, kas atbilst standarta puspaciņai, nepastāv būtisks apdraudējums.
6. Taču būtiski pārsniegtām vērtībām (2 pilnas paciņas bērniem, kas atbilst TiO₂ : 2.00 mg /kg b.w. d, vai vismaz 4 paciņas pieaugušiem (2.48 mg /kg b.w. d): var sagaidīt, ka tiks būtiski pārsniegta optimālā akūtas ekspozīcijas vērtība, kas sliktākā gadījuma scenārijam ir noteikta 1,3 mg / kg b/w// dienā nano-TiO₂ saskaņā ar EFSA rekomendācijām
7. Latvijas tirgū izplatītajā pārtikā metodes jutības diapazonā (detektēšanas robeža: 0,010 mg/kg) nav konstatēta sudraba migrācija no pārtikas iepakojumiem, jo iespējams plaša patēriņa pārtikas iepakojumi nesatur Ag antibakteriālās daļiņas
8. Ir ļoti maza iespējamība pārtikā uzņemt sudraba nanodaļiņas – galvenais potenciālais izcelsmes avots ir konditorejas izstrādājumi, kas var saturēt dažādus dekoru, kas var saturēt no 2- 87% Ag nanodaļiņas ar izmēriem > 60 nm no kopējā satura. Vienlaikus ekspozīcijas risks ir pārāk zems, lai varētu uzskatīt, ka pastāv riski patērētājiem

Izmantotā literatūra

- Baranowska-Wójcik, E., et al., 2019.* Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles Exposure on Human Health—a Review. Biological trace element research, 1-12.
- BIOR, 2018.* Projekta starpposma atskaite. “Nanomateriālu satura un iespējamo risku novērtējums Latvijas teritorijā izplatītajā pārtikā un pārtikas iepakojumā”. Pieejams: <http://www.llu.lv/sites/default/files/files/projects/Nanoprojekta%20atskaite%202018.pdf> (skatīts 05.11.2019.).
- Bouwmeester, H., et al., 2014.* State of the safety assessment and current use of nanomaterials in food and food production. Trends in food science & technology, 40(2), 200-210.
- Bumbudsanpharoke, N., et al., 2015.* Nano-food packaging: an overview of market, migration research, and safety regulations. Journal of food science, 80(5), R910-R923.
- Chawla, J., et al., 2018.* Identifying challenges in assessing risks of exposures of silver nanoparticles. Exposure and Health, 10(1), 61-75.
- Cwiek-Ludwicka, K., et al., 2017.* Nanomaterials in food contact materials; considerations for risk assessment. Roczniki Państwowego Zakładu Higieny, 68(4).
- DEPA, 2015.* Danish Environmental Protection Agency. Consumer risk assessment for nanoproducts on the Danish market Environmental project No. 1730, 2015. Project report <https://www2.mst.dk/Udgiv/publications/2015/07/978-87-93352-48-3.pdf>
- ECETOC, 2003.* Derivation of Assessment Factors for Human Health Risk Assessment. Technical Report No. 86. Pieejams: <http://www.ecetoc.org/wp-content/uploads/2014/08/ECETOC-TR-086.pdf>
- EFSA, 2011.* Use of the EFSA comprehensive European food consumption database in exposure assessment. EFSA J. 9(3):2097-2131.
- EFSA, 2012.* Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. EFSA journal, 10(3), 2579.
- EFSA, 2015.* Use of EFSA Comprehensive European Food Consumption Database for estimating dietary exposure to genetically modified foods. EFSA J. 13(2): 4034-4045.
- EFSA, 2016a.* Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food), 2016. Scientific Opinion on the re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive. *EFSA Journal*, 14(9), 4545.
- EFSA. 2016b.* ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food). Scientific opinion on the re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive. *EFSA Journal*. 14(9), 83.
- EFSA. 2016c.* EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). Scientific opinion on the re-evaluation of silver (E 174) as food additive. *EFSA Journal*, 14(1), 4364.

- EFSA, 2016d.* Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF). Safety assessment of the substance zinc oxide, nanoparticles, for use in food contact materials. *EFSA Journal*, 14(3), 4408.
- EFSA. 2018a.* Call for technical and toxicological data on silicon dioxide (E 551) for uses as food additive in foods for all population groups including infants below 16 weeks of age. https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/consultation/callsfordata/2018-00773_call_for_data_silicon_dioxide_E_551.pdf
- EFSA. 2018b.* EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), Younes, M., Aggett, P., Aguilar, F., Crebelli, R., Dusemund, B., & Gundert-Remy, U. 2018. Re-evaluation of silicon dioxide (E 551) as a food additive. *EFSA Journal*, 16(1), e05088.
- EFSA, 2019.* ANSES (French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety), Anastasi, E., Riviere, G., Teste, B. 2019. Nanomaterials in Food–Prioritisation & Assessment. *EFSA Journal*, 17, e170909.
- ES, 2011.* Komisijas lēmums 2011/696/ES (2011. gada 18. oktobris) par nanomateriālu definīciju. *OJ L* 275, 20.10.2011, p.38–40.
- ES, 2015.* Komisijas Regula (ES) 2015/174 (2015. gada 5. februāris,) ar kuru groza un labo Regulu (ES) Nr. 10/2011 par plastmasas materiāliem un izstrādājumiem, kas paredzēti saskarei ar pārtiku. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R0174&from=EN>
- Fiordaliso, F., et al., 2018.* Realistic Evaluation of Titanium Dioxide Nanoparticle Exposure in Chewing Gum. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(26), 6860-6868.
- Jokar, M., et al., 2018.* Behavior of silver nanoparticles and ions in food simulants and low fat cow milk under migration conditions. *Food Control*, 89, 77-85.
- Kim, N., et al., 2018.* Determination and identification of titanium dioxide nanoparticles in confectionery foods, marketed in South Korea, using inductively coupled plasma optical emission spectrometry and transmission electron microscopy. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 35(7),1238-124.
- Ntim, A., et al., 2018.* Effects of consumer use practices on nanosilver release from commercially available food contact materials. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 35(11), 2279-2290.
- Peters, R.J., et al., 2014.* Characterization of titanium dioxide nanoparticles in food products: analytical methods to define nanoparticles. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(27), 6285-6293.
- Peters, R. J., et al. 2016.* Nanomaterials for products and application in agriculture, feed and food. *Trends in Food Science & Technology*, 54, 155-164.
- Richards, D.A., et al., 2017.* Antibody fragments as nanoparticle targeting ligands: a step in the right direction. *Chemical science*, 8(1), 63-77.
- Siddiqi, K.S., et al., 2018.* Properties of zinc oxide nanoparticles and their activity against microbes. *Nanoscale research letters*, 13(1), 141.

- Verleysen, E., et al., 2015.* TEM and SP-ICP-MS analysis of the release of silver nanoparticles from decoration of pastry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(13), 3570-3578.
- Weir, A., et al., 2012.* Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environmental science & technology*, 46(4), 2242-2250.