



BIOR

PĀRTIKAS DROŠĪBAS, DZĪVNIĒKU VESELĪBAS
UN VIDES ZINĀTNISKAIS INSTITŪTS

INSTITŪTA “BIOR”

ATSKAITE

LATVIJAS IZCELSMES MEDUS AUTENTISKUMA, KVALITĀTES UN NEKAITĪGUMA NOVĒRTĒJUMS

Izpildītājs:

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

RĪGA 2022

APSTIPRINU
Zemkopības ministrijas
Veterinārā un pārtikas departamenta direktore
Zanda Matuzale

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

Zemkopības ministrijas pasūtītais zinātniskais pētījums

Līgums Nr. 22-00-SOINV05-000006

**LATVIJAS IZCELSMES MEDUS AUTENTISKUMA,
KVALITĀTES UN NEKAITĪGUMA NOVĒRTĒJUMS**

GALA ATSKAITE

Rīga

2022

SATURS

IEVADS	4
1. LITERATŪRAS APSKATS	6
1.1. MEDUS SASTĀVA UN UZTURVĒRTĪBAS IZVĒRTĒJUMS.....	6
1.2. MEDUS VILTOŠANA	7
1.3. PESTICĪDU ATLIEKVIELU SASTOPAMĪBA MEDUS PARAGOS	8
1.4. VIEGLI GAISTOŠO SAVIENOJUMU PIELIETOŠANA MEDUS IZCELSMES NOTEIKŠANĀ.....	11
1.5. MEDUS ELEMENTU SASTĀVS	12
2. PIELIETOTĀS METODEDES.....	13
2.1. MEDUS KVALITĀTES NOVĒRTĒJUMA METODEDES	13
2.2. MEDUS NEKAITĪGUMA NOVĒRTĒJUMA METODEDES.....	13
2.3. VIEGLI GAISTOŠO SAVIENOJUMU TESTĒŠANA AR GH-MS METODI	13
3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS	17
3.1. FIZIKĀLI-ĶĪMISKO PARAMETRU IZVĒRTĒJUMS MEDUS PARAGOS.....	17
3.2. PESTICĪDU ATLIEKVIELU SASTOPAMĪBA MEDUS PARAGOS	18
3.3. VIEGLI GAISTOŠO SAVIENOJUMU ANALĪZE MEDUS PARAGIEM.....	20
3.4. ELEMENTU SASTĀVS MEDUS PARAGOS.....	25
SECINĀJUMI	31
IZMANTOTĀ LITERATŪRA	32
PIELIKUMS	37

IEVADS

Medus ir dabīga, salda viela, ko bites (*Apis mellifera*) ražo no augu nektāra vai augu dzīvo daļu sekrēta, vai sūcējzinsekta izdalījumiem uz augu dzīvajām daļām, kurus tā vāc, pārveido, papildinot ar savām īpašām vielām, nogulsnē, dehidrē, uzglabā un atstāj medus šūnās nobriest un nogatavoties. Medus ir uzskatāms par ogļhidrātu avotu, skatoties no uzturvērtības viedokļa. Bet medū vēl ir vesela virkne citu bioloģiski aktīvu vielu, kuras piešķir tam dziednieciskas īpašības (fermenti, flavonoīdi, ketoni, esteri, fenolskābes u.c.).

Mūsdienās īpaša uzmanība tiek pievērsta vides piesārņojumam un atbilstošu piesārņojuma rādītāju identificēšanai. Tādā veidā medus tika pierādīts un pašlaik tiek atzīts kā vides piesārņojuma indikators. 2020. gadā Zinātniskā institūtā BIOR veiktais pētījums uzrādīja, ka visos testētajos medus paraugos (n=15) tika konstatētas pesticīdu atliekvielas ar maksimālo skaitu divas dažādas pesticīdu atliekvielas vienā paraugā. Trijos gadījumos glifosāta atliekvielas pārsniedza maksimāli pieļaujamo normu (MRL), kas ir 0,05 mg/kg saskaņā ar Regulu (EU) 293/2013. 2021. gada pētījumā 24 no 50 medus paraugos tika detektēti 9 pesticīdu atliekvielas, no kurām vienā paraugā tika pārsniegts MRL glifosāta gadījumā. No pētījumā detektējamiem pesticīdiem - tiakloprīds un dimetoāts uz to brīdi vairs nebija atļauti lietošanai.

Medus kā augsti novērtēts produkts ir viens no visbiežāk sastopamajiem viltošanas objektiem. Viltošanas nolūks ir palielināt ekonomisko labumu, izmantojot krāpniecisku ražošanas praksi un nepareizu izcelsmes marķēšanu. Medus īpašības ir atkarīgas no iegūšanas vietas vides faktoriem - floras, faunas un klimata. Tādā veidā medus no dažādām vietām atšķiras pēc to fizikālajām un ķīmiskajām īpašībām, un medus ekonomisko vērtību nosaka tā unikālās īpašības, kas ir atkarīgas no izcelsmes vietas. Šī iemesla dēļ medus no dažām valstīm tiek tirgots kā augstākas kvalitātes produkts ar lielāku ekonomisko vērtību salīdzinājumā ar medu no citām valstīm. Līdzīgi ir arī vienzienu medus gadījumā, kura izcelsme ir pilnībā vai lielā mērā no viena konkrēta ziedu avota. Tam piemīt specifiskas īpašības un atšķirīgi garšas un smaržas profili salīdzinājumā ar daudzzienu medu. Pieprasījums pēc vienzienu medus ir lielāks nekā pēc daudzzienu medus, un patērētāji bieži ir gatavi par to maksāt vairāk.

Lai novērtētu konvencionāli iegūtā medus autentiskumu, kvalitāti un nekaitīgumu, kā arī lai identificētu Latvijas izcelsmes medus raksturlielumus, projekta ietvaros tika veikti pētījumi vairāku ķīmisko komponentu noteikšanai.

Darba uzdevumi:

1. Medus autentiskuma noteikšana, veicot medus sastāvā esošo savienojumu analīzi ar gāzu hromatogrāfijas (gaistošie savienojumi) un induktīvi saistītās plazmas masspektrometrijas (mikro un makroelementi) metodēm. Pētījuma rezultātā izveidotās datubāzes sastādīšana, izmantojot testēšanas algoritmu vismaz 20 ārzemju izcelsmes medus paraugu atšķiršanai no Latvijas medus paraugiem.

2. Medus kvalitātes parametru (HMF, cukuru saturs, elektrovadītspēja, ūdens saturs u. c.) noteikšana Latvijas izcelsmes paraugos.
3. Pesticīdu atlieku izplatības monitorings ar masspektrometrijas metodēm (AEŠH-MS/MS un GH-MS/MS katram paraugam) vismaz 30 paraugos. 15 paraugiem veikt glifosāta noteikšanu ar AEŠH-MS/MS metodi.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Medus sastāva un uzturvērtības izvērtējums

Medus ir dabīga, salda viela, ko bites ražo no augu nektāra, augu dzīvo daļu sekrēta vai sūcējinsektu izdalījumiem uz augu dzīvajām daļām, kurus tās ievāc, pārveido, nogulsnē, dehidrē, uzglabā un atstāj medus šūnās nobriest un nogatavoties. Pēc iegūšanas izcelsmes medu iedala: ziedu jeb nektāra medus, ko iegūst no augu nektāra, un lapu izsvīduma medus, ko iegūst no sūcējinsektu izdalījumiem uz augu dzīvajām daļām vai no augu dzīvo daļu sekrēta [1]. Medus aptuveni līdz 18. gadsimta beigām, kad to pakāpeniski sāka aizstāt ar rūpnieciski iegūtu cukuru, bija vienīgais plaši pieejamais saldinātājs [2].

Medus ķīmiskais sastāvs ir sarežģīts un ļoti atkarīgs no ievāktā augu nektāra, bišu barības, klimatiskajiem apstākļiem, bišu sugas un daudziem citiem faktoriem. Visbiežāk bišu barība ir dabisks ziedu nektārs, bet bites var tikt piebarotas arī mākslīgi, piemēram, ar cukura sīrupu vai kandiju – biezu, mīkstu cukura masu, kurai var būt pievienoti ziedputekšņi. Kopumā medus var saturēt vairāk nekā 200 dažādas vielas [3].

Medus enerģētiskā vērtība ir aptuveni 304 kcal/100 g [4], bet cukura, kuru mēdz aizstāt ar medu, enerģētiskā vērtība ir 400 kcal/100 g. Kā redzams 1.1. tabulā medus galvenokārt sastāv no ogļhidrātiem un ūdens. Ogļhidrāti veido aptuveni 95 % no medus sausās masas. Galvenie ogļhidrāti medū ir monosaharīdi fruktoze un glikoze, kas sastāda līdz pat 75 % no kopējā ogļhidrātu satura. 100 gramos medus vidēji ir 38 gramu fruktozes, 30 g glikozes un tikai 0,7 gramu saharozes. Vēl no izplatītākajiem ogļhidrātiem medū ir jāatzīmē monosaharīds galaktoze (aptuveni 3 g) un disaharīds maltose (1,4 gramu) [4]. Medū kopumā ir konstatēti aptuveni 25 dažādi oligosaharīdi. Lapu izsvīduma medū ir mazāks monosaharīdu, bet lielāks disaharīdu un oligosaharīdu, it īpaši melozitozes un rafinozes, daudzums nekā ziedu medū.

Olbaltumvielu saturs medū ir aptuveni 0,5%. Galvenokārt tie ir enzīmi un brīvās aminoskābes. No enzīmiem medū visvairāk ir amilāzes, invertāzes un glikozes oksidāzes. Medū kopumā ir 18 brīvās aminoskābes, bet to daudzums ir ļoti niecīgs. No tām visvairāk ir prolīns, asparagīnskābe, glutamīnskābe un neaizstājamā aminoskābe fenilalanīns [4].

1.1. tabula

Medus ķīmiskais sastāvs

Rādītājs	Ziedu medus		Izsvīduma-lapu medus	
	Vidēji, g/100 g	Min – max, g/100 g	Vidēji, g/100 g	Min – max, g/100 g
Ūdens	17,2	12–20	16,3	15–20
Monosaharīdi:				
fruktoze	38,2	30–45	31,8	28–40
glikoze	31,3	24–40	26,1	19–32

Disaharīdi:				
saharoze	0,7	0,7–4,8	0,5	0,1–4,7
citi	5,0	2–8	4,0	0,3–22,0
Trisaharīdi:				
melezitoze	0,8	0,5–6	4,0	0,3–22,0
citi	0,5		1,0	0,1–6
Oligosaharīdi:				
	3,1	0,5–1	10,1	0,1–6
Cukuri (kopā)	79,7	57,7–104,8	80,5	47,9–132,7
Minerālvielas	0,2	0,1–0,5	0,9	0,6–2,0
Aminoskābes, olbaltumvielas	0,3	0,2–0,4	0,6	0,4–0,7
Organiskās skābes	0,5	0,2–0,8	1,1	0,8–1,5
pH	3,9	3,5–4,5	5,2	4,5–6,5

Vitamīnu un minerālvielu daudzums medū ir niecīgs. No uzturvērtības viedokļa, kā būtiskākās minerālvielas var minēt hromu, mangānu un selēnu, bet no vitamīniem visvairāk ir B grupas vitamīnu. Medus satur 0,3–25 mg/kg holīna un 0,06–5 mg/kg acetilholīna. Holīns ir nozīmīgs kardiovaskulārajām un smadzeņu funkcijām, kā arī šūnu membrānas sastāvdaļa, bet acetilholīns darbojas kā neurotransmiters [4].

Polifenoli ir nozīmīga ķīmisko savienojumu grupa, jo tiem piemīt antioksidantu īpašības. Kopējais fenolu daudzums, kas variē dažāda veida medū ir no 56 līdz 500 mg/kg medus. Galvenokārt tie ir flavanoīdi (kvertecīns, luteolīns, apigenīns, galangīns, kaempferīds), fenolskābes un fenolskābju atvasinājumi. Flavanoīdu daudzums variē no 60 līdz 460 µg/100 g atkarībā no medus veida. Tumšākā medū ir lielāks antioksidantu daudzums nekā gaišākā medū [5,6]. Pētījumā, kur tika analizēts antioksidantu daudzums dažādas izcelsmes medus paraugos, Ilinoizas griķu medū, kas bija tumšākais no analizētajiem paraugiem, antioksidantu koncentrācija bija 20 reizes lielāka nekā gaišākajā analizētajā medū – Kalifornijas salviju medū. Ja daļu no ikdienā patērētajiem saldīnātājiem aizvietotu ar medu, tas radītu antioksidantu pieaugumu cilvēku uzturā [6].

Latvijas ģeogrāfiskais stāvoklis ir labvēlīgs augstvērtīga medus iegūšanai. Mērenā klimata zonas jaukto koku meži, kas mijas ar plašiem siliem, dabiskajām un palieņu pļavām, krūmājiem, purviem un virsājiem, ir lieliska nektāraugu mājvieta. Nektāraugu daudzveidība un to kvalitāte ir galvenais priekšnosacījums ievāktā medus kvalitātei. Turklāt ziemeļu reģionos, arī Latvijā, nektāraugu īsajā ziedēšanas laikā nektārs izdalās koncentrētāks un bagātāks ar bioloģiski aktīvām vielām nekā dienvidu reģionos [7].

1.2. Medus viltošana

Tā kā medus ir unikāls dabīgs līdzeklis ar antibakteriālām īpašībām un patīkamu saldu garšu, arī tā vērtība tirgū ir salīdzinoši lielāka nekā citiem saldīnātājiem, kā, piemēram, cukurniedru, cukurbiešu sīrupiem.

Aizvien biežāk lētāku cukuru sīrupi medum tiek pievienoti rūpnieciski, tādējādi izmainot medus īpašības. Medus tik ātri nesacukurojas, ir mazāk viskozs, vizuāli patīkamāks patērētājiem [10].

Izplatītākie apzināti pievienotie piemaisījumi medum ražošanas gaitā ir glikozes, saharozes sīrupi no cukurbietēm vai cukurniedrēm, kā arī inverto cukuru sīrupi. Pievienojot medum inverto cukuru sīrupu, tiek panākts tuvākais pakāpdarinājums dabīgam medum, padarot šādu viltojumu grūtāk nosakāmu, izmantojot tautsaimniecības metodes un vienkāršākās laboratorijas metodes [11]. Vīnogu sīrups tiek pagatavots no svaigas vīnogu sulas, ietvaicējot to līdz 20-25% no sākotnējā tilpuma. Cukurniedru sīrupu pagatavo saberžot cukurniedres, uzsildot, dekantējot, filtrējot un atkārtoti sildot līdz tiek iegūts tumšam medum līdzīgs produkts, kura sastāvā ir apmēram 20% ūdens. Palmu sīrupu iegūst iegriežot palma centrālajā mezglā stumbra galā, notecinot sulu, kuru ietvaicē līdz 12,5-20% no sākotnējā svara. Rezultātā iegūst brūnas krāsas sīrupu ar augstu viskozitāti un patīkamu aromātu. Šādus izstrādājumus mēdz dēvēt par invertcukura krēmiem. Sīrupus mēdz pievienot medum netieši, t.i., barojot bites jau ar gatavu sīrupu [12].

Dārgu medu mēdz viltot, pievienojot lētāku medu. Akācijas medus (*Robinia pseudoacacia*) ir dzeltenīgi caurspīdīgi ar skābenu garšu, un tas vāji kristalizējas. Rapšu medus, kas iegūts no rapšu ziediem, ir salds, gaišas krāsas medus, kas viegli kristalizējas. Tā kā rapša medus krāsa ir līdzīga akācijas medus krāsai, tas ir izplatīts piemaisījums akācijas medus viltošanā. Šāda medus autentiskuma apstiprināšana ir visai sarežģīts process [13].

Tiek izmantotas dažādas metodes, kas ļauj izdarīt secinājumus par medus autentiskumu: vieglo stabilo izotopu attiecību masspektrometrija, gāzu hromatogrāfija, augsti efektīvā šķidrums hromatogrāfija, augstas izšķirtspējas anjonu apmaiņas hromatogrāfija, tuvā infrasarkanā spektra spektroskopija, kodolu magnētiskā rezonanse, Ramana spektroskopija, ultra augsti efektīvā šķidrums hromatogrāfija tandēmā ar kvadrupola lidojuma laika masspektrometriju. Pēdējā desmitgadē visplašāk izmantotā metode ir IRMS, ar kuru iespējams noteikt medus viltošanu ar cukurniedru vai kukurūzas cukuriem. Lai izdarītu secinājumus par medus autentiskumu, izmantojot IRMS, ir nepieciešams medū esošos cukurus atdalīt no proteīniem un noteikt attīrītā proteīna un medus parauga $\delta^{13}\text{C}$ vērtības [14].

1.3. Pesticīdu atliekvielu sastopamība medus paraugos

Medus bites ir nozīmīga vides ekosistēmas sastāvdaļa. Tās ne vien to sniedz plašu produktu klāstu – medu, vasku, ziedputekšņus, bišu maizi, bet arī pilda būtisku lomu augu apputeksnēšanā. Pārtikas drošība un nekaitīgums ir svarīgs aspekts patērētāju veselības nodrošināšanā līdz ar to ir nepieciešams veikt dažādu ķīmisko piesārņotāju, tai skaitā pesticīdu, uzraudzību pārtikas produktos. Medus ir plaši patērēts pārtikas produkts visā pasaulē, kā arī dažādās vecuma grupās, ieskaitot bērnus un gados vecākus cilvēkus, kas ir īpaši neaizsargāti. Pesticīdu lietošana rada būtisku apdraudējumu arī bišu koloniju dzīvotspējai, kas, savukārt var novest pie nopietnām ekoloģiskām problēmām.

Viens no iespējamiem ceļiem, kā pesticīdi nonāk medū, ir tieša bišu koloniju apstrāde ar pesticīdu preparātiem, lai atbrīvotos no kaitēkļiem vai slimībām. Latvijā viena no izplatītākajām bišu slimībām ir varroze.

Varroze ir varru jeb *Varroa destructor* parazitisko ērcu izraisīta bišu slimība, kas parazitē bišu saimēs visā pasaulē. Šīs slimības rezultātā tiek novājināts bites organisms, samazinās gan iegūtās produkcijas apjoms, gan apputeksnēto kultūraugu daudzums. Šo iemeslu dēļ varrozes apkarošanai ir būtiska nozīme modernajā biškopībā. Viens no efektīvākajiem paņēmieniem cīņai ar varrozi ir sintētisko pesticīdu izmantošana. Starp varrozei lietotajiem akaricīdiem ir piretroīdi – fluvalināts, flumetrīns un akrinatrīns, formamidīns – amitrāzs, organofosfāti – kumafoss, kā arī cimiazols, fenpiroksimāts un bromopropilāts [15]. No minētajiem Latvijā reģistrēti tikai fluvalinātu (*Apistan*) un flumetrīnu (*Bayvarol*) saturoši preparāti [16]. Lai gan šiem līdzekļiem raksturīga augsta efektivitāte, pēdējos gados to izmantošana arvien sarūk. Galvenais iemesls ir rezistences veidošanās. Latvijas bitenieki arvien biežāk izvēlas alternatīvas metodes cīņai ar varrozi, piemēram, ārstēšanu ar timolu vai dažādām organiskām skābēm [15].

Ietekmes ziņā nozīmīgāks pesticīdu piesārņojuma avots medū ir tieši ārējie avoti – ar pesticīdiem apstrādātas lauksaimniecības kultūras, kur bites ievāc medu. Lauksaimniecībā izmantojamo pesticīdu klāsts ir ļoti plašs, tādēļ arī to ietekme uz bitēm ir atšķirīga. Vieni no kaitīgākajiem pesticīdiem bitēm ir neonicotinoīdi. Neonicotinoīdi ir insekticīdi – paredzēti nevēlamu kukaiņu apkarošanai. Šī iemesla dēļ tie nodara kaitējumu arī bitēm. Neonicotinoīdi ir sistemātiskie pesticīdi – tie absorbējas un izplatās visās auga daļās, tajā skaitā putekšņos un nektārā. Pirmo reizi Eiropas Savienībā neonicotinoīdi reģistrēti 2005. gadā un tos galvenokārt lietoja sēklu kodināšanai. 2013. gadā izmantošanai ES tika apstiprināti pieci neonicotinoīdi – imidakloprīds, tiametoksāms, klotianidīns, acetamiprīds un tiakloprīds. Tomēr jau neilgi pēc tam, pamatojoties uz Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestādes (EFSA) riska izvērtējumu, tika ierobežota klotianidīna, imidakloprīda un tiametoksāma lietošana. Riska izvērtējumā tika konstatēts, ka neonicotinoīdu ietekmē bitēm pasliktinās mācīšanās spēja, ir apgrūtināta orientēšanās, līdz ar to pazeminās medus vākšanas efektivitāte. Tāpat ir pierādījumi, ka neonicotinoīdi ietekmē reproducēšanās efektivitāti [17]. Sākotnējie neonicotinoīdu lietošanas ierobežojumi attiecās uz ziedošām kultūrām, kas pievilcīgas bitēm, piemēram, kukurūza, rapsis un saulespuķes. Balstoties uz turpmākiem pētījumiem, 2018. gadā tika pilnīgi aizliegta minēto trīs neonicotinoīdu izmantošana ārpus siltumnīcām, savukārt 2020. gadā tika aizliegta vēl viena neonicotinoīda – tiakloprīda lietošana. Līdz ar to no pieciem sākotnējiem neonicotinoīdiem šobrīd ES atļauts lietot tikai acetamiprīdu, jo tam raksturīgs zems risks bitēm [18].

Pesticīdu izplatība medus paraugos apkopota 1.2. un 1.3. tabulā – attiecīgi Eiropas izcelsmes medū un Latvijas izcelsmes medū. No datiem redzams, ka visbiežāk paraugos gan Eiropā, gan Latvijā tiek detektēts tiakloprīds. Kā augstāk minēts, tas ir neonicotinoīdu grupas pesticīds, ko kopš 2020. gada aizliegts lietot ārpus siltumnīcām. Detalizēta informācija par Eiropas medu pieejama tikai līdz 2019. gadam, taču arī 2020. gadā tiakloprīds minēts kā biežāk konstatētais pesticīds medū [19]. Eiropā tiakloprīda krājumus atļauts izlietot līdz 2021. gada februārim, tādēļ gaidāma būtiska izplatības samazināšanās. Šādas tendences novērojamas arī Latvijas medus paraugos, tomēr tiakloprīds vēl joprojām ir detektēts medū arī pēc tā krājumu izlietošanas beigu termiņa, kas Latvijā noteikts 31.12.2020. [20]. Eiropā medū plaši izplatīts arī acetamiprīds – vienīgais

neonikotinoīds, ko joprojām atļauts izmantot atklātos laukos. Attiecībā uz varrozes apkarošanai paredzētiem pesticīdiem Eiropā medū izplatītākais pesticīds ir amitrāzs, tāpat ticis konstatēts arī kumafoss. Kā minēts iepriekš, Latvijā varrozes apkarošanai lieto tikai fluvalinātu un flumetrīnu, taču tie nav tikuši konstatēti paraugos.

1.2. tabula

Pesticīdu izplatība Eiropas medū						
Gads	2017 [21]		2018 [22]		2019 [23]	
Analizēto paraugu skaits	659		762		1301	
Pesticīdus saturoši paraugi	195 (30%)		161 (21%)		277 (21%)	
Neatbilstoši paraugi	12 (1,8%)		9 (1,2%)		12 (0,9%)	
Pesticīds	Detektēšanas biežums	Neatbilstoši paraugi	Detektēšanas biežums	Neatbilstoši paraugi	Detektēšanas biežums	Neatbilstoši paraugi
Tiakloprīds	106 (16%)	2 (0,3%)	106 (14%)		173 (13%)	1 (0,08%)
Acetamiprīds	36 (6%)	1 (0,2%)	24 (3%)	2 (0,3%)	49 (4%)	1 (0,08%)
Amitrāzs	13 (2%)		25 (3%)		37 (3%)	4 (0,3%)
Dimoksistrobīns	20 (3%)		14 (1,8%)	2 (0,3%)	29 (2%)	
Azoksistrobīns	22 (3%)		6 (0,8%)		27 (2,1%)	1 (0,08%)
Glifosāts	24 (4%)	8 (1,2%)	9 (1,2%)	5 (0,7%)	17 (1,3%)	2 (0,15%)
Boskalīds	8 (1,2%)		9 (1,2%)	2 (0,3%)	<10 (<0,8%)	1 (0,08%)
Kumafoss	4 (0,6%)		5 (0,7%)		10 (0,8%)	
Flonikamīds					10 (0,8%)	
Tebukonazols			3 (0,4%)			

1.3. tabula

Pesticīdu izplatība Latvijas medū						
Gads	2019 [24]		2020 [25]		2021 [26]	
Analizēto paraugu skaits	20		15		50	
Pesticīdus saturoši paraugi	16 (80%)		15 (100%)		24 (48%)	
Neatbilstoši paraugi	0 (0%)		3 (20%)		1 (2%)	
Pesticīds	Detektēšanas biežums	Diapazons, mg/kg	Detektēšanas biežums	Diapazons, mg/kg	Detektēšanas biežums	Diapazons, mg/kg
Tiakloprīds	11 (55%)	0,0024-0,036	13 (87%)	0,003-0,033	13 (26 %)	0,0017-0,0085
Glifosāts	5 (25%)	0,016-0,040	7 (47%)	0,010-0,35	7 (14 %)	0,010-1,4
Fluopirāms			1 (7%)	0,016	9 (18%)	0,0010-0,011
Tebukonazols	2 (10%)	0,0010-0,0012			3 (6 %)	0,0027-0,0054
Karbendazīms			1 (7%)	0,005	1 (2%)	0,0041
Protiokonazols					2 (4 %)	0,0017-0,0069
Acetamiprīds					1 (2%)	0,038
Boskalīds	2 (10%)	0,0031-0,010				
Dimetoāts					1 (2%)	0,0022
Piraklostrobīns					1 (2%)	0,0031
Tiametoksāms	2 (10%)	0,0011-0,0018				

Būtiskas atšķirības starp Latvijas un Eiropas izcelsmes medus paraugiem novērojamas glifosāta izplatības ziņā. Glifosāts ir plaša spektra neselektīvs herbicīds, ko lieto, lai iznīcinātu dažādus nevēlamus augus. Vienlaikus glifosātu izmanto arī graudaugu novākšanas procesā kā ražas nožāvēšanas veicinātāju. Plašā pielietojuma dēļ glifosāts ir pasaulē visvairāk lietotais herbicīds [27]. Līdz šim veiktajos pētījumos Latvijas medū glifosāts ir otrs izplatītākais pesticīds, turklāt tas ir vienīgais pesticīds, kas Latvijas medus paraugos ticis konstatēts virs maksimāli pieļaujamā atliekvielu līmeņa (MRL). Šie novērojumi norāda, ka Latvijā bites tiek pakļautas glifosāta ietekmei lielākā mērā nekā citur Eiropā. Sākotnējos riska novērtēšanas pētījumos glifosāts ticis atzīts par drošu bitēm, jo netika novērota tieši izraisīta mirstība, tomēr pēdējā laikā tiek iegūts arvien vairāk liecību par tā nevēlamo ietekmi uz bišu veselību [28]. Noskaidrots, ka glifosāts izmaina bišu gremošanas trakta mikrofloru, negatīvi ietekmējot imūnsistēmu [29].

Starp citiem Latvijas medū bieži konstatētiem pesticīdiem ir fungicīdi fluopirāms un tebukonazols. Šīs aktīvās vielas iekļautas kopumā 24 Latvijā šobrīd reģistrētu augu aizsardzības līdzekļu sastāvā. Šos līdzekļus atļauts lietot dažādu sēnīšu izraisītu slimību, piemēram, pelēkās puves un graudzāļu miltrasas apkarošanai dažādās graudzāļu kultūrās (auzas, mieži, kvieši, rudzi), pākšaugos (zirņi, pupas), kā arī rapsī un kukurūzā [30]. Līdz ar to šo fungicīdu klātbūtne medū visticamāk ir rapsju miglošanas rezultāts.

1.4. Viegli gaistošo savienojumu pielietošana medus izcelsmes noteikšanā

Medus sastāv galvenokārt no ogļhidrātiem, ūdens un citām vielām, piemēram, olbaltumvielām, organiskajām skābēm, vitamīniem, minerālvielām, pigmentiem, polifenoliem, kā arī dažādiem gaistošiem organiskiem savienojumiem (GOS), kas nodrošina medus aromātiskās īpašības [31]. Pateicoties tam, ka katram augam ir nedaudz mainīgs GOS sastāvs, kas nonāk arī medū, šos savienojumus var uzskatīt par konkrēta medus pirkstu nospiedumu. Šī informācija var sniegt ieskatu par medus botānisko izcelsmi un atšķirt vienziedu medu no daudziedu medus. GOS klases savienojumus var iedalīt vairākās kategorijās, piemēram, aldehīdi, ketoni, skābes, spirti, ogļūdeņraži, izoprenoīdi, terpēni un benzola atvasinājumi, kā arī furāna un pirāna atvasinājumi [32].

Saskaņā ar šajā pētījumā izmantoto medus paraugu botānisko izcelsmi, raksturīgākie GOS katram vienziedu medus veidam apkopoti 1.4. tabulā.

1.4. tabula

GOS griķu, āboliņu, viršu, liepziedu, rapsju un vītolu medū

Botāniskā izcelsme	Raksturīgākie gaistošie organiskie savienojumi	Literatūras avots
Griķi	Etanols, 3-metilbutanols, etiķskābe, skudrskābe, 3-metilbutanāls, furfuols, metilbutanāls, pentanāls, 2-metilbutanols	[33], [34]
Āboliņš	Oktadec-9-ēn-1-ols, nonadekāns, heksadekān-1-ols, oktadekān-1-ols, heksadecēnskābe, nonanāls, 2-metilbutānitrils, 2-metilpropānitrils, 2-metilpropānskābe, benzaldehīds	[35], [36]

Virši	Fenilacetaldehīds, kanēļskābe, sviestskābe, dimetiltrisulfīds, heksilheksanoāts, acetoīns, α -izoforons, benzilspirts, 2-feniletanols	[37], [38]
Liepa	Dimetilstirols, furfurols, metilstirols, p-metilacetofenons, 8-p-mentēn-1,2-diols, trans- β -damascenons, 4-vinilguajakols, linalols, cis-rozes oksīds (<i>cis-rose oxide</i>), 2-acetil-1-pirolīns	[39], [40]
Rapsis	2-metilbutānskābe, furfurols, benzaldehīds, etiķskābe, 2-feniletanols, feniletiķskābe, 3-fenilpropānskābe, 2-metilbutānskābe, 3-metilbutānskābe, benzilspirts	[41], [42]
Vītols	Ceriņu aldehīda (<i>lilac aldehyde</i>) izomēri, hotrienols, linalola oksīds, terpinen-4-ols	[43]

1.5. Medus elementu sastāvs

Medus satur dažādus elementus, kas galvenokārt tiek iegūti no augšnes caur ziedošajiem augiem, taču jāņem vērā arī vides piesārņojums un citi medus antropogēni metālu avoti, īpaši Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb un Zn gadījumā, kas var apdraudēt cilvēku veselību un negatīvi ietekmē medus kvalitāti un drošību. Medus elementu saturs ir arī atkarīgs no tādiem faktoriem kā botāniskā un ģeogrāfiskā izcelsme [44].

Dažādās pētniecības jomās ir pieņemts atšķirīgs ķīmisko elementu iedalījums mikroelementos, makroelementos un toksiskos elementos. Ņemot vērā elementu nozīmību cilvēka fizioloģijā un sastopamību medū, šajā pētījumā izmanto šādu klasifikāciju: makroelementi – elementi ar koncentrāciju vairāk par 1 mg/kg un mikroelementi – elementi ar koncentrāciju mazāk par 1 mg/kg. Tādējādi toksisko elementu grupā iekļauti - As, Cd, Hg, Pb, makroelementu grupā - Na, Mg, Al, K, Ca, Mn, Fe, Zn, Rb un mikroelementu grupā - Li, Be, V, Cr, Co, Ni, Cu, Ga, Se, Sr, Mo, Ag, Pd, Sn, Sb, Cs, Ba, Tl.

Lielāka toksisko un mikro – elementu, piemēram, As, Cd, Cr, Hg, Ni un Pb, koncentrācijas medū ir noteiktas reģionos, kuros notiek rūpnieciskā darbībā, piemēram, kalnrūpniecība, kausēšana un rūpnieciski tehnoloģiskie procesi, kur piesārņojums, ar smagiem metāliem ir nopietna problēma [45-46]. Medus un bišu produktu piesārņojumu var radīt arī agroķīmisko līdzekļu (pesticīdu) izmantošana, kuru pamatā ir arsēns, vai mēslošanas līdzekļu izmantošana, kas satur organisko dzīvsudrabu vai kadmiju [47]. Ķīmisko elementu koncentrācija medū ir bioakumulācijas procesu rezultāts un lielā mērā atkarīgs tieši no vides ietekmes [48-49].

2. PIELIETOTĀS METODEDES

2.1. Medus kvalitātes novērtējuma metodes

Latvijas izcelsmes medus autentiskuma, kvalitātes un nekaitīguma novērtējumam tika pielietotas septiņas Zinātniskā institūtā BIOR akreditētas analītiskās metodes:

- Fruktozes, glikozes un saharozes noteikšana ar augsti efektīvo šķidrums hromatogrāfiju (§ 64 LFGB L 40.00-7);
- Mitruma noteikšana ar refraktometrisko metodi (IHC 1:2009);
- Elektrovadītspējas noteikšana (IHC 2:2009);
- pH un brīvā skābuma noteikšana ar titrēšanu līdz pH 8,3 (IHC 4.1:2009);
- Diastāzes aktivitātes (skaitļa) noteikšana pēc Phadebas (IHC 6.2:2009);
- Ūdenī nešķīstošo vielu noteikšana (IHC 8:2009);
- 5-(Hidroksimetil)furfuola (HMF) noteikšana medū ar šķidrums hromatogrāfiju (BIOR-T-012-184-2016).

Detalizēti metožu apraksti doti šīs atskaites pielikumā.

2.2. Medus nekaitīguma novērtējuma metodes

Medus nekaitīguma novērtēšanai tika testētas pesticīdu atliekvielas un elementu daudzums. Testēšanai tika pielietotas sekojošas laboratorijā akreditētas metodes: pesticīdu noteikšanas multi-metode ar šķidrums un gāzu hromatogrāfiju – tandēma masspektrometriju (LVS EN 15662:2018) un vienatlieku metode glifosāta noteikšanai augu un dzīvnieku izcelsmes produktos ar šķidrums hromatogrāfiju – tandēma masspektrometriju (BIOR-T-012-145-2013). Elementu noteikšanai pielietota induktīvās plazmas masspektrometrijas metode (BIOR-T-012-148-2013).

Detalizēti metožu apraksti doti šīs atskaites pielikumā.

2.3. Viegli gaistošo savienojumu testēšana ar GH-MS metodi

Medus autentiskuma noteikšanai, nosakot medus sastāvā esošo viegli gaistošo savienojumu, tika izstrādāta GH-MS metode.

Reāģenti un materiāli

- Nonāns (ACS tīrības pakāpes, ≥99,0%);
- Dejonizēts ūdens (iegūts no Milli-Q attīrīšanas sistēmas);
- Heksāns (AEŠH tīrības pakāpes, ≥95%);
- Dietilēteris (ACS tīrības pakāpes, ≥99,0%);
- Nātrija hlorīds (ACS tīrības pakāpes, ≥99,0%);
- Bezūdens magnija sulfāts (ACS tīrības pakāpes, ≥99,0%);

- 1,5 mL *Eppendorf* tipa centrifūgas stobriņi;
- 15 mL polipropilēna centrifūgu stobriņi;
- 20 µL, 200 µL, 1 mL un 5 mL automātisko pipešu uzgaļi.

Aparatūra un trauki

- Automātiskās pipetes ar maināmu tilpumu 20 µL, 200 µL, 1 mL un 5 mL;
- GH-MS autosamplera pudelītes ar 250 µL ieliktnīšiem;
- Analītiskie svāri Kern 770 ar precizitāti 0,0001 g;
- Orbitālais maisītājs (BioSan);
- Centrifūga ar apgriezīnu skaitu vismaz 3500 apgriezīniem minūtē;
- Ultraskaņas vanna (Cole-Parmer 8890).

Paraugu sagatavošana

Kvantitatīvi pārnes 2,00 ± 0,05 gramus medus parauga uz 15 mL polipropilēna stobriņu un atšķaida ar 2 mL dejonizēta ūdens. Medus paraugam pievieno 100 ± 10 mg bezūdens magnija sulfāta, 2 mL n-heksāna:dietilētera (1:2, t/t) maisījuma un 1 µL nonāna. Polipropilēna stobriņu hermētiski noslēdz ar korķi un ievieto ultraskaņas vannā uz 15 minūtēm. Pēc noteiktā laika, ekstraktam papildus pievieno 2 mL piesātinātu nātrija hlorīda šķīdumu (36 g NaCl uz 100 mL ūdens), sakrata un centrifugē pie 3500 apgriezīniem minūtē. Tālāk, 1 mL no augšējā organiskā slāņa uzmanīgi pārnes uz 5 mL tumšā stikla pudelīti. Ekstrakciju atkārto ar 2 mL n-heksāna:dietilētera (1:2, t/t) maisījuma. Otrajā ekstrakcijas ciklā ultraskaņas ekstrakcijas un centrifugēšanas ilgums tiek saglabāts tāds pats, kā pirmajā ciklā, bet papildus netiek pievienots piesātinātā nātrija hlorīda šķīdums. Pēc slāņu atdalīšanas ar centrifūgas palīdzību, 1 mL no augšējā organiskā slāņa apvieno ar pirmajā ekstrakcijas ciklā iegūto ekstraktu. Ņemot vērā, ka dietilēteris ir higroskopisks šķīdinātājs, apvienoto ekstraktu nepieciešams žāvēt, lai sekmīgi varētu realizēt paraugu analīzi ar gāzu hromatogrāfiju apvienojumā ar masspektrometriju (GH-MS). Žāvēšanu veic, apvienotajiem ekstraktiem pievienojot 200 mg bezūdens nātrija sulfāta un maisot 15 sekundes uz orbitālā maisītāja. Visbeidzot, 1 mL no izžāvētā gala ekstrakta pārnes uz 1,5 mL *Eppendorf* tipa centrifūgas stobriņu, centrifugē 10 minūtes pie 3500 apgriezīniem minūtē un 200 µL pārnes uz GH-MS autosamplera pudelīti. Ekstraktus pirms analīzes uzglabā -20 °C saldētavā.

Instrumentālā analīze

Viegli gaistošo savienojumu analīzei tika izmantots Hewlett Packard 5973 masspektrometrs apvienojumā ar HP 6890 gāzu hromatogrāfu. Savienojumu hromatogrāfiskai atdalīšanai tika izmantota ZB-624 60 m × 0,26 mm × 1,4 µm (Phenomenex) ar plūsmas ātrumu 1 mL/min (nesējgāze – hēlijs). Gāzu hromatogrāfa temperatūras programma atspoguļota 1. tabulā. Injektora parametri bija sekojoši:

- injektora temperatūra: 250 °C;

- injektora režīms: ar plūsmas dalīšanu (*split*);
- plūsmas dalīšanas attiecība: 1 pret 5;
- šļirces skalošanas šķīdinātāji: acetons un heksāns;
- pārejas līnijas temperatūra: 280 °C;
- injekcijas tilpums: 2 µL.

Savienojumu jonizācija tika panākta ar elektronu triecienu jonizācijas avotu, piemērojot 70 eV elektronu enerģiju. Masas spektrs tika uzņemts 20-250 m/z¹ diapazonā pilnajā skenēšanas režīmā no 5 līdz 20 minūtei.

2.1. tabula

Gāzu hromatogrāfa temperatūras programma

Sākuma T, °C	Beigu T, °C	Ātrums, °C/min	Ilgums, min	Kopējais laiks, min
35	35	0	4,00	4,00
35	50	4	3,75	7,75
50	225	10	17,50	25,25
225	225	0	5,00	30,25

Pētījumā iekļauto paraugu apraksts

Viegli gaistošo savienojumu analīze kopumā tika veikta 30 medus paraugiem, kuru augu izcelsme ir sekojoša:

- griķu medus (n=6);
- āboliņu medus (n=5);
- viršu medus (n=4);
- liepziedu medus (n=3);
- rapšu medus (n=5);
- vītolu medus (n=7).

Medus ziedputekšņu sastāva analīze paraugiem tikusi veikta jau 2021. gada pētījumā [50], lai noskaidrotu to botānisko izcelsmi. Iegūtie botāniskās izcelsmes rezultāti, ziedputekšņu relatīvais sadalījums un paraugu kodi attēloti 2.2. tabulā.

2.2. tabula

Pētījumā iekļauto paraugu saraksts

Parauga kods	Botāniskā izcelsme	Ziedputekšņu relatīvais daudzums, %	Parauga kods	Botāniskā izcelsme	Ziedputekšņu relatīvais daudzums, %
10	Griķi	46%	5	Liepa	91%
11	Griķi	48%	6	Liepa	42%
12	Griķi	40%	28	Liepa	89%
13	Griķi	45%	1	Rapsis	75%
26	Griķi	46%	2	Rapsis	72%

¹ masas-lādiņa attiecība, no Angļu val. *mass-to-charge ratio*, m/z

14	Āboliņš	50%	3	Rapsis	83%
15	Āboliņš	83%	4	Rapsis	89%
16	Āboliņš	54%	27	Rapsis	78%
17	Āboliņš	56%	19	Vītols	54%
18	Āboliņš	78%	20	Vītols	66%
23	Āboliņš	72%	21	Vītols	64%
7	Virši	55%	22	Vītols	52%
8	Virši	80%	24	Vītols	80%
9	Virši	42%	25	Vītols	61%
30	Virši	Pašdeklarēts	29	Vītols	64%

3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

3.1. Fizikāli-ķīmisko parametru izvērtējums medus paraugos

Pētījuma gaitā tika izvērtēti sekojoši medus kvalitātes rādītāji: pH, elektrovadītspēja, mitrums, brīvās skābes, diastāzes skaitlis, hidrosimetilfurfuols, ūdenī nešķīstošās vielas un cukuru saturs. Medus atbilstības izvērtēšanas kvalitātes rādītāji, kas norādīti MK noteikumos Nr. 251 "Kvalitātes, klasifikācijas un papildu marķējuma prasības medum" un medus paraugu testēšana rezultāti, kuru testēšana bija pabeigta uz atskaites sagatavošanas brīdi, ir apkopoti 3.1. tabulā.

3.1. tabula

Medus sastāva rādītāju apkopojums

Parametrs	pH	Mitrums	Diastāzes skaitlis	Saharozes	Reducējošie cukuri	Brīvais skābums	Hidroksi-metilfurfuols	Elektro-vadītspēja	Ūdenī nešķīstošās vielas
Mērvienība	-	%	<i>Schade</i> skalas vienības	%	%	mekv/kg	mg/kg	mS/cm	g/100g
<i>N</i>	50	294	263	158	92	104	200	98	25
<i>N < LOQ</i>	-	-	-	143	-	-	42	-	2
<i>Maksimālais</i>	6	20,1	79,6	3,9	79	44,6	527	1,03	0,034
<i>Minimālais</i>	3,36	7,6	2,6	1,0	56	8,3	1,0	0,13	0,003
<i>Vidējais lielums</i>	4,3	17	38	1,6	71	22	6	0,5	0,014
<i>Mediāna</i>	4,0	17	38	1,4	71	21	2	0,4	0,012
<i>Norma</i>	-	< 20%	> 8	< 5	> 60	< 80	< 40	< 0,8 > 0,8	< 0,1
<i>Neatbilstošo paraugu skaits</i>	-	1	2	0	1	0	1	-	0

Kopā 5 medus paraugi neatbilda noteiktajām prasībām, divos gadījumos pārsniedzot mitruma un HMF saturu, un trīs gadījumos bija pazemināts reducējošo cukuru daudzums un diastāzes skaitlis.

Analizētajos medus paraugos tika konstatēts vidēji 17 % ūdens saturs, minimālais mitruma rādītājs ir 7,6 % un maksimālais – 20,1 %. Piemērojot MK noteikumos Nr. 251 noteiktās prasības par pieļaujamo ūdens saturu medū, tika secināts, ka 1 paraugs neatbilst normai, kas ir 20%. Paaugstināts ūdens daudzums, veicina medus rūgšanu.

Diastāze ir viens no medus fermentiem, ko medus pagatavošanas procesā nektāram pievieno bites. Diastāzes skaitlis ir mazs, ja bites barotas ar cukursīrupu, medus ir pārkarsēts vai ilgi glabāts. Medu uzglabājot, pēc 3-4 gadiem tā fermentu aktivitāte samazinās apmēram divas reizes. Fermentu aktivitāte kalpo kā medus svaiguma rādītājs un pārkarsēšanas indikators. Pētījumā analizēto medu raksturo plaša diapazona diastāzes skaitlis – no 2,8 līdz 79,6 *Schade* jeb *Gotes* vienībām ar vidējo rādītāju 38 *Schade* vienības, kopumā norādot uz medus svaigumu un dabīgumu, izņemot divus paraugus, kuriem rādītājs bija pazemināts.

Saharoze ir disaharīds, kura daudzums dažādās medus šķirnēs var būt atšķirīgs, līdz pat 5% dabiskā medū. No 158 pētītajiem paraugiem 143 paraugos saharozes saturs bija zemāks par 1% un 15 medus paraugos tā saturs variēja no 1,0 līdz 1,6 %, iekļaujoties MK noteikumos Nr. 251 noteiktai prasībai par saharozes daudzumu līdz 5%.

Bišu siekalu dziedera fermenta invertāzes ietekmē notiek saharozes inversija – tā sašķeļas glikozē un fruktozē, kurus apzīmē par reducējošiem cukuriem. Medum nogatavojoties, gandrīz visa saharoze pārvēršas glikozē un fruktozē. Parasti dabiskajā medū ir no 65 līdz 75% reducējošo cukuru. Glabāšanas procesā saharozes daudzums medū var samazināties pašinversijas rezultātā, ko veic medū esošie fermenti un organiskās skābes. Testētajos medus paraugos reducējošo cukuri tika konstatēti no 56 līdz 79%, ar vidējo vērtību 71%, divos gadījumos uzrādot neatbilstošus rezultātus atbilstoši MK noteikumiem Nr. 251, kur norādīts, ka reducējošo cukuru daudzumam jābūt lielākam par 60%.

Medū atrodamas organiskās un neorganiskās skābes, kurām ir liela nozīme medus aromāta un garšas veidošanā. Medus paraugos konstatētais brīvo skābju daudzums ir no 8,3 līdz 44,6 mekv/kg ar vidējo vērtību 22 mekv/kg. Visi paraugi atbilst MK noteikumu Nr. 251 prasībām.

Medus elektrovadītspēju nosaka medū esošo minerālvielu koncentrācija. Pieļaujamā elektrovadītspēja medū vai medus maisījumos ir līdz 0,8 mS/cm. Pētījumā testētajos medu paraugos elektrovadītspēja ir no 0,13 līdz 1,03 mS/cm, ar vidējo vērtību 0,50 mS/cm. Piecos medus paraugos elektrovadītspēja bija virs 0,8mS/cm, kas norāda, ka medus uzskatāms par lapu vai izvīdumu medu.

Neviens no testētajiem medus paraugiem neuzrādīja paaugstinātu ūdenī nešķīstošo vielu saturu, kurš atbilstoši MK noteikumiem Nr. 251 nedrīkst pārsniegt 0,1g/100g.

Hidroksimetilfurfuols jeb HMF ir cukuru termiskās šķelšanās produkts. HMF daudzums medū ir medus svaiguma un dabiskuma rādītājs. Tikko sviestā dabiskā medū HMF tikpat kā nav konstatējams. Augsts HMF saturs norāda uz augstā temperatūra sildītu vai ilgi glabātu medu. HMF svaigā medū pieaug atkarībā no pH vērtības un uzglabāšanas temperatūras – apmēram par 2-3 mg/kg gadā. Uzglabājot medu 21°C temperatūrā, gada laikā HMF pieaug līdz 20 mg/kg. Augsts HMF saturs medū cilvēku veselībai nav vēlams un ir pat kaitīgs, tāpēc svarīgi, lai HMF saturs nepārsniedz normas. HMF ir konstatēts lielākai daļai testētajos medus paraugos no 1 līdz 30,6 mg/kg. Vienā medus paraugā konstatēts palielināts HMF saturs 527 mg/kg, kas pārsniedza MK noteikumos Nr. 251 noteikto prasību HMF saturam ne vairāk par 40 mg/kg.

3.2. Pesticīdu atliekvielu sastopamība medus paraugos

Pesticīdu atliekvielu sastopamības novērtēšanai tika analizēti 30 Latvijas izcelsmes medus paraugi. Kopumā 21 no 30 paraugiem (70%) tika detektētas 8 pesticīdu atliekvielas, noteiktās koncentrācijas apkopotas 3.2. tabulā. Starp detektētajiem pesticīdiem ir fungicīdi (fluopirāms, boskalīds, piraklostrobīns, protiokonazols, tebukonazols), insekticīdi (acetamiprīds, tiakloprīds) un herbicīdi (glifosāts). Divos no paraugiem tika konstatētas četras dažādas pesticīdu atliekvielas, divos paraugos – trīs, sešos paraugos – divas, bet pārējos pa

vienai atliekvielai. Biežāk konstatētais pesticīds medus paraugos bija acetamiprīds, kas tika detektēts 13 paraugos, savukārt glifosāta klātbūtne tika konstatēta 7 paraugos.

Kopumā noteiktie pesticīdu atliekvielu līmeņi ir zemi un nerada draudus patērētājam. Izņēmums ir divi glifosātu saturoši paraugi, kuros konstatētā koncentrācija pārsniedz medū maksimāli pieļaujamo atlieku līmeni (MRL), kas ir 0,05 mg/kg saskaņā ar EK regulu 293/2013 [51]. Vēl divos no paraugiem tika konstatēta augsta glifosāta koncentrācija – 0,096 un 0,098 mg/kg, taču, ņemot vērā mērījuma nenoteiktību, kas ir 50%, šie paraugi netiek uzskatīti par neatbilstošiem. Iegūtie rezultāti liecina, ka Latvijā glifosāts tiek lietots lielā apmērā un medū nonākušais daudzums ir patērētājam potenciāli kaitīgs.

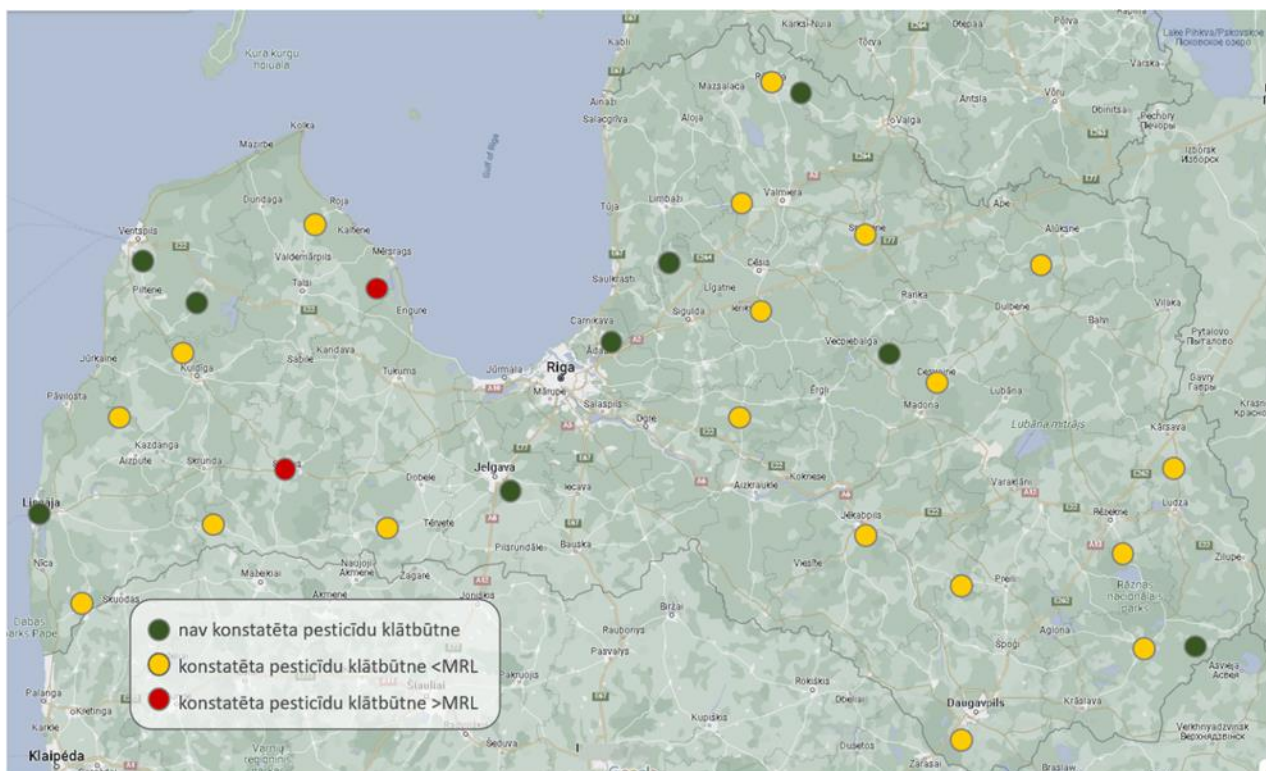
3.2. tabula

Konstatēto pesticīdu atliekvielu daudzumu (mg/kg) apkopojums

Pesticīds	Detektēšanas biežums	Maksimālais	Minimālais	Vidējais	Mediāna	Norma (MRL, mg/kg)	Neatbilstošo paraugu skaits
Acetamiprīds	13 (43%)	0,041	0,0015	0,012	0,0072	0,05	0
Glifosāts	7 (23%)	0,51	0,011	0,13	0,096	0,05	2
Tiakloprīds	5 (17%)	0,027	0,0014	0,0095	0,0048	0,20	0
Fluopirāms	5 (17%)	0,019	0,0010	0,0050	0,0015	0,05	0
Boskalīds	3 (10%)	0,0058	0,0013	0,0039	0,0046	0,15	0
Piraklostrobīns	2 (7%)	0,0033	0,0013	0,0023	0,0023	0,05	0
Protiokonazols	1 (3%)	0,0088	0,0088	0,0088	0,0088	0,05	0
Tebukonazols	1 (3%)	0,0029	0,0029	0,0029	0,0029	0,05	0

Neonikotinoīdu (tiakloprīds un acetamiprīds) gadījumā zemākā validētā kvantificēšanas robeža ir 0,001 mg/kg, pārējiem pesticīdiem – 0,01 mg/kg. Pesticīdu klātbūtne, kas konstatēta zem zemākas validētās kvantificēšanas robežas, tika apstiprināta pēc sekojošiem kritērijiem: i) vielas aiztures laiks: 0,2 min no vielas aiztures laika paraugā ar standartpiedevu, ii) jonu attiecība: $\pm 20\%$ no jonu attiecības paraugā ar standartpiedevu, iii) signāla/trokšņa attiecība > 10 .

Medus paraugi tika ievākti visā Latvijas teritorijā. 3.1. attēlā ir norādītas medus ievākšanas vietas pēc to novadiem, krāsu indikatori raksturo pesticīdu atliekvielu testēšanas rezultātu dotajā paraugā: i) zaļš - pesticīdu klātbūtne nav konstatēta, ii) dzeltens - pesticīdu klātbūtne ir konstatēta un iii) sarkans - konstatētā pesticīda daudzums pārsniedz maksimāli pieļaujamo līmeni. Nav novērojamas tendences pesticīdu izplatības un ģeogrāfiskās izcelsmes ziņā. Salīdzinot ar 2021. gadā novēroto pesticīdu ģeogrāfisko izplatību medū, 2022. gada paraugos vērojama pesticīdu izplatības palielināšanās Latgales reģiona medus paraugos.



3.1. attēls. Medus paraugu izcelsme pēc novadiem un pesticīdu atliekvielu konstatēšanas dati

Salīdzinot rezultātus ar iepriekšējos gados veiktajiem pētījumiem, galvenās izmaiņas vērojamas neonicotinoīdu detektēšanas biežumā – acetamiprīds līdz šim ticis detektēts tikai vienā paraugā 2021. gadā. Kā minēts literatūras apskatā, kopš 2021. gada acetamiprīds ir vienīgais Eiropas Savienībā atļautais neonicotinoīds, līdz ar to tā izplatība medū ir krasi palielinājusies. Turpretī tiakloprīds, kura lietošana kopš 2021. gada Eiropas Savienībā ir aizliegta, 2022. gadā ievāktajos medus paraugos detektēts retāk (16% analizēto paraugu), salīdzinot ar iepriekšējiem gadiem (26-87%). Tomēr tiakloprīda atliekvielu konstatēšana fakts liecina, ka šī augu aizsardzības līdzekļa lietošanas aizliegums joprojām netiek ievērots pilnībā. Glifosāta izplatība Latvijas medū ir samērā nemainīga, tāpat arī koncentrāciju diapazons. Jau trešo gadu pēc kārtas visi konstatētie neatbilstošie medus paraugi saistīti tieši ar glifosāta klātbūtni. Attiecībā uz fungicīdu sastopamību medū nav novērojamas būtiskas izmaiņas ne koncentrāciju, ne savienojumu klāsta ziņā.

Tāpat kā iepriekšējos gados veiktajos pētījumos, arī šogad nevienā paraugā netika detektēti akaricīdi, ko lieto varrozes apkarošanai – fluvalināts, amitrāzs, kumafoss. Tas liecina, ka biškopji ievēro akaricīdu lietošanas norādījumus vai arī izvēlas citas ārstēšanas metodes.

3.3. Viegli gaistošo savienojumu analīze medus paraugiem

Veicot GOS analīzi ar GH-MS metodoloģiju, tika konstatēta 18 GOS klātbūtne dažādos medus paraugos. Izvēlētie savienojumi tika atlasīti (i) balsoties uz literatūras avotiem (skatīt 1.4. tabulu) un (ii) Nacionālā standartu un tehnoloģiju institūta (NIST) 2017. gada masas spektru bibliotēku (2.3. versija).

Katram detektētajam savienojumam tika piemērota dispersijas analīze, lai noskaidrotu, vai iegūtās signālu intensitātes starp atšķirīgām paraugu apakškopām (botāniskās izcelsmes) ir statistiski nozīmīgas. Statistiski nozīmīgie savienojumi ir atzīmēti ar zvaigznītes simbolu sekojošā p-vērtību diapazonā: $0 < p < 0,001$ '****' $0,001 < p < 0,01$ '**' $0,01 < p < 0,05$ '*'. Tikai p-vērtības, kas zemākas vai vienādas par 0,05 tika pieņemtas kā statistiski nozīmīgas. Tāpat tika veikts salīdzinājums starp GOS savienojumu detektēšanas biežumu paraugos atkarība no to botāniskās izcelsmes. Iegūtie rezultāti apkopoti 3.3. tabulā.

3.3. tabula

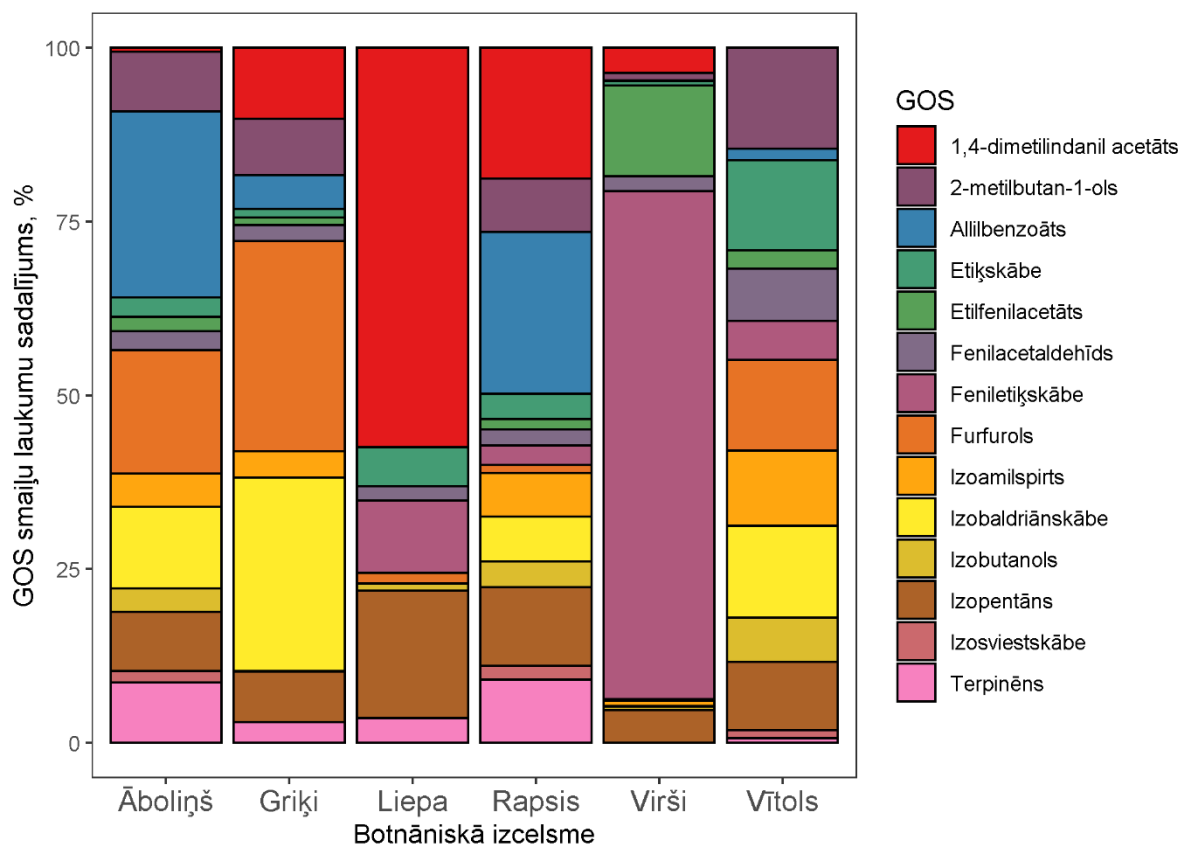
Detektēti gaistošie organiskie savienojumi medus paraugos un to detektēšanas biežums starp atšķirīgām paraugu apakškopām

Savienojums	Botāniskā izcelsme					
	Rapsis	Āboliņš	Vītols	Liepa	Virši	Griķi
Izopentāns**						
Izoamilspirts						
Allilbenzoāts						
2-metilbutan-1-ols						
Izobutanols						
Etilfenilacetāts***						
Feniletiķskābe***						
Fenilacetaldehīds***						
Etilacetāts *						
Furfurols***						
1,4-dimetilindanil acetāts						
Dibutilhidroksitoluols						
Toluols						
Izosviestskābe						
Etiķskābe						
Terpinēns						
Izobaldriānskābe*						
Detektēšanas biežums:	Nav konstatēts					
	Konstatēts daļā paraugu <50%					
	Konstatēts daļā paraugu >50%					
	Konstatēts visos paraugos					

No 3.3. tabulas datiem var secināt, ka pēc iegūtajiem GOS profiliem augstu savstarpēju līdzību uzrāda rapšu, vītola un āboliņa botāniskās izcelsmes medus paraugi. Savukārt liepas, viršu un griķu medus paraugiem piemīt būtiskas atšķirības:

- Liepziedu medus paraugos sastopama vismazākā GOS dažādība. Nevienā no paraugiem netika detektēts izoamilspirts, allilbenzoāts, 2-metilbutan-1-ols (amilspirts), etilfenilacetāts un izosviestskābe.
- Griķu medū savukārt netika detektēta feniletiķskābe un izosviestskābe, bet pilnīgi visos paraugos tika konstatēti augstas intensitātes furfurola signāli un izobaldriānskābe. Paaugstināta furfurola klātbūtne sakrīt ar literatūras datiem.
- Visbeidzot, viršu medus bija visatšķirīgākais pēc iegūtajiem GOS profiliem. Tajā izteikti dominēja vairāki aromātiski fenil- atvasinājumi, jo īpaši – feniletiķskābe, fenilacetaldehīds un etilfenilacetāts.

Lai niansētāk aplūkotu atšķirībās starp dažādām medus paraugu klasēm, tika veikts iegūto GOS signālu intensitāšu salīdzinājums. Katrai botāniskajai klasei tika aprēķināts GOS smaiļu intensitāšu relatīvais sadalījums. Par ievades datiem šajos aprēķinos izmantoja katra savienojuma vidējās intensitātes vērtība katras botāniskās klases ietvarā. Iegūtie rezultāti attēloti 3.2. attēlā (savienojumi, kas tika detektēti pilnīgi visos paraugos, nav iekļauti grafikā).

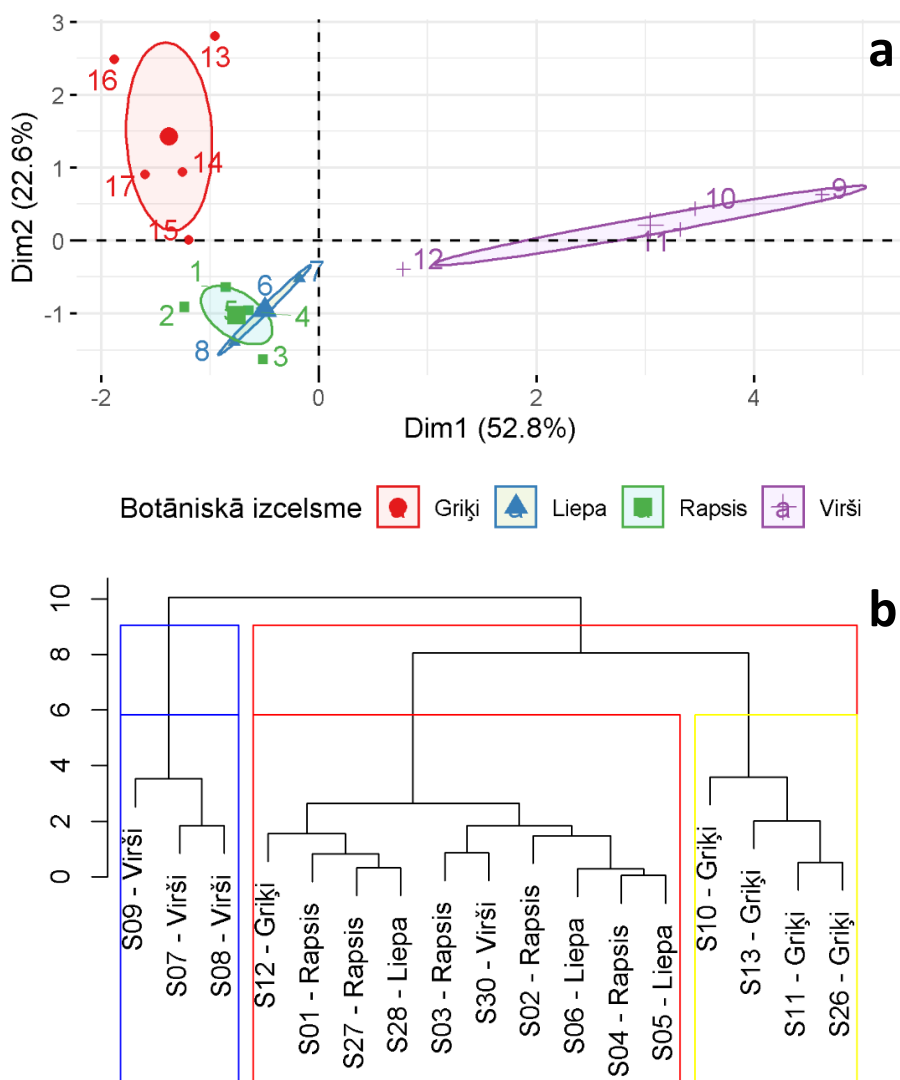


3.2. att. Detektētu gaistošo organisko savienojumu signālu intensitāšu relatīvais sadalījums

Arī šajā datu attēlojuma formā novērojamas izteiktākas atšķirības starp viršu, liepziedu un griķu medus paraugiem, salīdzinot tos ar pārējām botāniskajām klasēm. Redzams, ka vidēji griķu medus uzrāda visaugstākās furfurola signāla intensitātes, tikmēr liepziedu un viršu medus paraugos šis savienojums tikpat kā nav

detektēts. Liepziedu medū dominē dimetilindanola acetāts, bet viršu medū savukārt visizteiktāk novērojama feniletikskābe un etilfenilacetāts (feniletikskābes etilesteris).

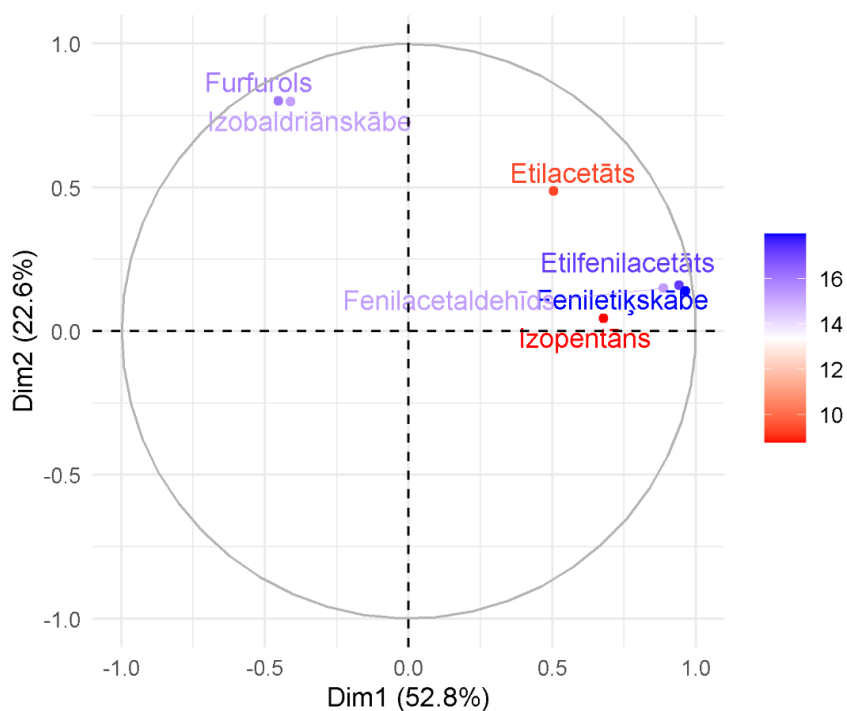
Lai pārbaudītu, vai iegūtos rezultātus var izmantot botāniskās izcelsmes noteikšanai, tika izmantotas divas metodoloģijas: galveno komponentu analīze (GKA) un hierarhiskā klasteru analīze. Abās metodoloģijās par ievades datiem izvēlējās normalizētas signālu intensitātes tiem GOS, kuri uzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības (skatīt 3.3. tabulu). Ņemot vērā, ka iegūtā datu izkliede āboliņa un vītola medus paraugos bija pārāk neviendabīga, šīs paraugu diferencēšanas metodes tika piemērotas tikai griķu, liepziedu, viršu un rapša medus paraugiem. Iegūtie rezultāti attēloti 3.3. attēlā.



3.3. att. Galveno komponentu analīzes (a) un hierarhiskā klasteru analīzes (b) grafiskais attēlojums griķu, liepziedu, viršu un rapša medus paraugiem

Galveno komponentu analīze (3.3.a att.) liecina, ka pirmās divas komponentes spēj izskaidrot 75% no kopējās datu variācijas. Attēlā var novērot, ka ir iespējams sekmīgi diskriminēt griķu medu un viršu medu, bet liepziedu un rapša medus neveido divas savstarpēji atšķiramas grupas. Iedziļinoties katra GOS ietekmē uz galveno komponentu analīzes pirmajiem diviem komponentiem (skatīt 3.4. att.), var secināt, ka vislielākā

pozitīvā slodze uz pirmo komponentu ir feniletiķskābes atvasinājumiem, bet uz otro komponentu – furfurolam un izobaldriānskābei.

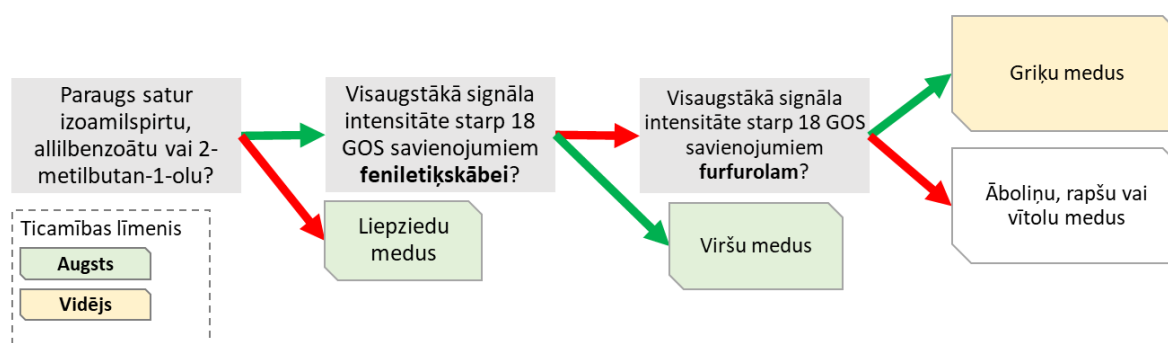


3.4. att. Slodzes grafiks pirmajiem diviem galveno komponentu analīzes komponentiem [31]

Šis novērojums tiešā veidā atsaucas uz iegūtajiem rezultātiem, jo viršu medus saturēja lielāku proporciju feniletiķskābes atvasinājumu un tādēļ GKA grafikā (3.3.a att.) šie medus paraugi novietojas izteikti pirmās komponentes pozitīvajā diapazonā. Turpretim, griķu medū feniletiķskābes atvasinājumi tikpat kā nav sastopami, bet dominē furfurols un izobaldriānskābe. Šī iemesla dēļ griķu medus paraugi GKA grafikā ir izvietoti tuvāk otrās komponentes maksimumam.

Hierarhiskā klasteru analīzē (3.3.b att.) tiek iegūts līdzīgs secinājums kā pielietojot galveno komponentu analīzi. Datu kopā var izdalīt trīs klasterus: viršu medus (zils), griķu medus (dzeltens) un liepziedu vai rapšu medus (sarkans). Arī šoreiz nav iespējams sekmīgi diferencēt liepziedu un rapšu medu, izmantojot šo statistisko datu apstrādes metodiku.

Apvienojot iegūto informāciju par dažādu GOS sastopamību medus paraugos ar atšķirīgu botānisko izcelsmi, iespējams izveidot vienkāršotu paraugu diferenciacijas algoritmu (3.5. att.), ko būtu iespējams pielietot kopā ar izstrādāto GH-MS metodi.



3.5. att. Medus paraugu diferenciacijas algoritms priekš rezultātu interpretācijas, kas paredzēts izstrādātajai viegli gaistošo savienojumu noteikšanas metodei

Svarīgi piebilst, ka kopumā identificētās 18 gaistošās vielas ir vien maza daļa no kopējā gaistošo savienojumu klāsta, kas teorētiski sastopams medū. Tas saistāms ar paraugu sagatavošanas metodes un instrumentālās analīzes radītajiem ierobežojumiem. Šajā pētījumā nebija iespējams raksturot viegli gaistošo ogļūdeņražu frakciju (piem., lineārus un sazarotus alkānus), jo par ekstrakcijas šķīdinātājiem tika izmantots dietilētera un n-heksāna maisījums, kas piemaisījumu veidā satur daudzus šāda veida gaistošos savienojumus.

3.4. Elementu sastāvs medus paraugos

Medus paraugos tika noteikti 9 makroelementi, kuru koncentrācija ir lielāka par 1 mg/kg: Na, Mg, Al, K, Ca, Mn, Fe, Zn, Rb. Analizēto medus paraugu elementu sastāvs ir apkopots 3.4. tabulā.

3.4. tabula

Makroelementu sastāvs pētāmos medus paraugos (mg/kg)										
Medus veids	Parametrs	Na	Mg	Al	K	Ca	Mn	Fe	Zn	Rb
Viršu	Koncentrāciju diapazons	6,43-32,8	11,3-45,5	0,044-1,16	275-1809	28,2-138	0,223-15,5	<0,2-14,3	<0,1	0,281-8,47
	Vidējā vērtība	16,3	19,8	0,403	1098	62,3	7,99	1,845	<0,1	4,67
	Mediāna	16,4	17,7	0,308	1210	60,5	7,59	<0,2	<0,1	4,68
Liepu	Koncentrāciju diapazons	4,65-24,0	13,5-20,1	<0,12-0,773	228-1772	25,7-53,1	0,157-1,63	<0,2-2,97	<0,1-2,69	0,158-2,05
	Vidējā vērtība	11,1	16,1	0,232	798	41,3	0,756	<0,2	<0,1	1,03
	Mediāna	9,22	16,4	0,147	686	39,8	0,572	<0,2	<0,1	0,779
Griķu	Koncentrāciju diapazons	2,95-21,3	10,6-21,3	<0,12-5,22	368-699	25,3-48,9	2,93-9,95	<0,2-3,63	<0,1-3,07	0,507-1,53
	Vidējā vērtība	10,2	17,2	1,193	571	36,7	6,04	<0,2	<0,1	0,953
	Mediāna	8,54	16,8	0,140	601	36,5	6,05	<0,2	<0,1	0,931
Rapšu	Koncentrāciju diapazons	5,16-9,13	9,67-18,9	<0,12-0,419	141-731	19,5-51,9	0,205-2,33	<0,2-1,31	<0,1	0,226-1,80
	Vidējā vērtība	6,24	13,6	0,168	333	32,8	0,822	<0,2	<0,1	0,628
	Mediāna	5,33	12,9	0,126	229	30,0	0,378	<0,2	<0,1	0,244
Āboliņa	Koncentrāciju diapazons	5,20-27,5	12,8-27,6	0,300-0,419	616-1195	44,2-85,3	0,387-0,737	<0,2-1,71	<0,1-6,49	0,468-0,913
	Vidējā vērtība	14,8	19,7	0,368	925	70,3	0,507	<0,2	2,54	0,708
	Mediāna	11,7	18,5	0,384	965	81,4	0,397	<0,2	<0,1	0,742
Pļavu, meža ziedu un jauktā tipa	Koncentrāciju diapazons	5,60-19,8	13,2-45,3	0,180-1,78	790-1233	37,6-57,1	1,83-8,55	<0,2-14,2	<0,1-2,34	1,36-5,41
	Vidējā vērtība	10,0	22,4	0,740	1052	46,1	3,68	3,01	<0,1	2,89
	Mediāna	7,63	18,2	0,493	1093	46,8	2,94	<0,2	<0,1	2,81

Dominējošais elements visos medus paraugos ir kālijs, kura koncentrācijas bija ievērojami augstākas, salīdzinot ar citiem elementiem. Visaugstākās šī elementa koncentrācijas tika novērtas viršu medū diapazonā no 275-1809 mg/kg. Otrs dominējošais elements ir kalcijs, kura augstākās koncentrācijas tika noteiktas viršu un āboliņa medus paraugos koncentrāciju diapazonā 28,2-138 mg/kg un 44,2-85,3 mg/kg attiecīgi. Nātrijs un magnijs ir nozīmīgi makro elementi medus paraugos, Na mediānas vērtības variē no 5,33 mg/kg rapšu medū līdz 16,4 mg/kg viršu medū, savukārt Mg mediānas vērtības variē no 12,9 mg/kg rapšu medū līdz 18,5 mg/kg āboliņā medū. Dzelzs tika konstatēts visos rapšu medus paraugos koncentrāciju diapazonā 0,119-1,31 mg/kg, bet augstākā koncentrācija bija āboliņa un viršu medū attiecīgi 14,2 un 14,3 mg/kg. Cinks un rubīdijs ir detektēti visos paraugos plašā koncentrāciju diapazonā. Augstākās Zn koncentrācijas tika noteikta āboliņu medū diapazonā no 0,481-6,49 mg/kg. Rb ir viens no dominējošiem mikroelementiem daudzos medus veidos, taču visaugstākās koncentrācijas tika novērotas viršu medus paraugos diapazonā no 0,281-8,47 mg/kg.

Zinātniskajā literatūrā ir aprakstīts, ka dominējošie makroelementi medus paraugos ir K un Ca [44], kas sakrīt ar šī pētījumā rezultātiem, kā arī Na un Mg, kas tika konstatēti visos paraugos neatkarīgi no botāniskās izcelsmes. Makroelementu noteikšana nesniegs informāciju par medus izcelsmi un autentiskumu. Literatūra ir aprakstīts, ka medus paraugos bieži var sastapt mikroelementus: Zn, Fe, Rb [52-54], kas arī sakrīt ar šī pētījuma iegūtajiem rezultātiem.

Medus paraugos tika noteikti 18 mikroelementi: Li, Be, Cr, V, Co, Ni, Cu, Ga, Se, Sr, Mo, Ag, Pd, Sn, Sb, Cs, Ba un Tl. Analizēto medus paraugu elementu sastāvs ir apkopots 3.5. tabulā. Mikroelementu sastāvs medu paraugos ir daudzveidīgs un atšķirīgs katrā medus veidā, taču tika novērotas dažādas sakarības. Zn, Sr, Ba tika noteikti visos paraugos plašā koncentrāciju diapazonā. Cu visaugstākās koncentrācijās tika konstatētas griķu medū diapazonā no 0,354-0,894 mg/kg. Liepu medus paraugos tika detektēti visaugstākie Sr līmeņi, koncentrāciju diapazons šim elementam bija 0,044-0,128 mg/kg. Ba visaugstākās koncentrācijas ir pļavu, meža ziedu un jauktā tipa medū, koncentrāciju diapazons ir 0,020-1,05 mg/kg. Pārējie mikroelementi ir detektēti zemākas koncentrācijās nelielā paraugu skaitā. No iegūtiem datiem var secināt, ka mikroelementu sastāvs ir mainīgs atkarībā no medus botāniskās izcelsmes. Mikroelementu noteikšanu iespējams izmantot medus izcelsmes pētīšanai, palielinot paraugu skaitu un veicot papildus eksperimentus.

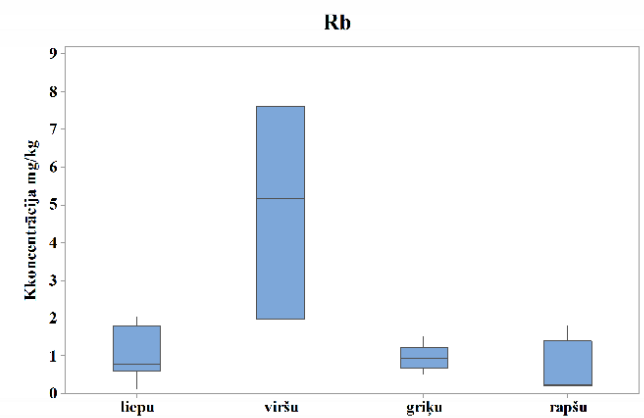
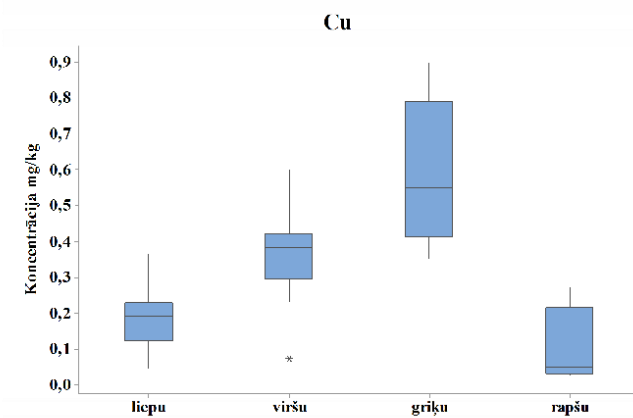
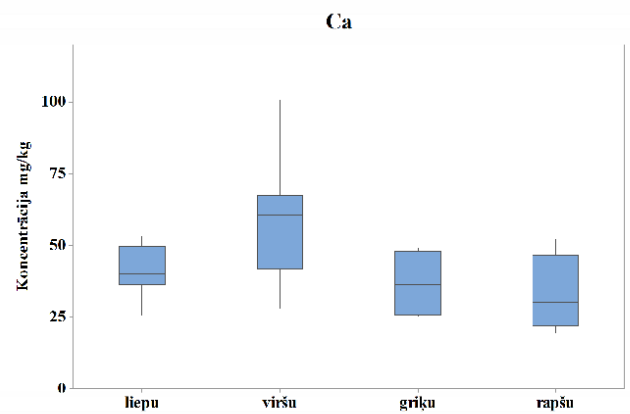
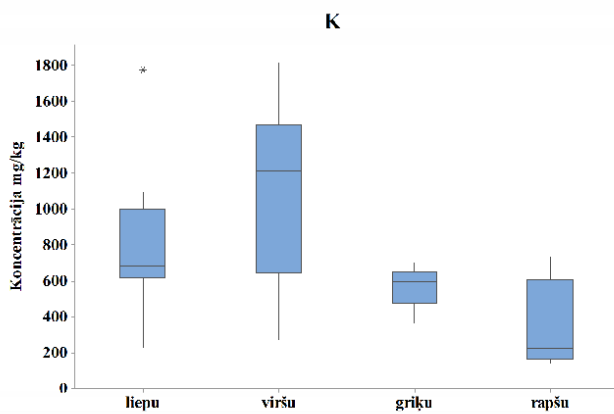
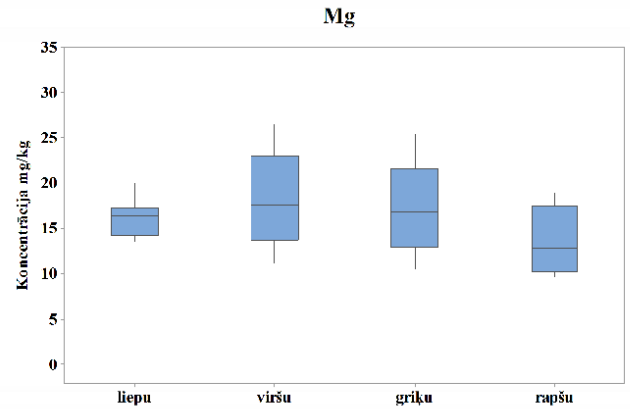
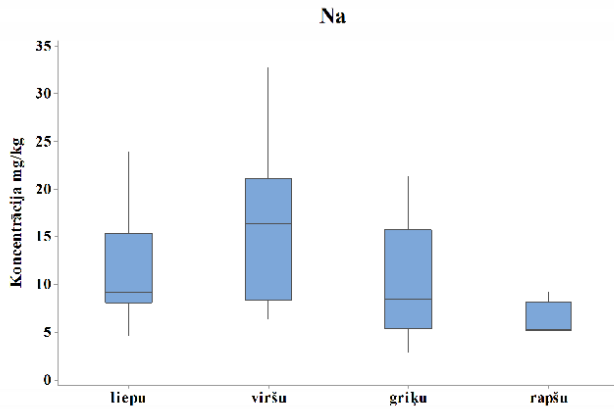
3.5. tabula

Mikroelementu sastāvs pētamos medus paraugos (mg/kg)

Medus veids	Parametrs	Li	Be	Cr	V	Co	Ni	Cu	Ga	Se	Sr	Mo	Ag	Pd	Sn	Sb	Cs	Ba	Tl
Viršu	Koncentrāciju diapazons	<0,010	<0,010	<0,050	<0,010	<0,010	<0,015	<0,050 -0,600	<0,010	<0,002	0,033- 0,073	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010- 0,283	0,028- 0,371	<0,010- 0,044
	Vidējā vērtība	0,001	<0,010	<0,050	0,002	<0,010	<0,015	0,364	<0,010	<0,002	0,050	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	0,107	0,166	0,015
	Mediāna	<0,010	<0,010	<0,050	<0,010	<0,010	<0,015	0,385	<0,010	<0,002	0,047	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	0,089	0,171	0,018
Liepu	Koncentrāciju diapazons	<0,010	<0,010	<0,050	<0,010	<0,010	<0,015- 0,904	<0,050 -0,363	<0,010	<0,002	0,044- 0,128	<0,010 -0,016	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010	0,013- 0,048	<0,010
	Vidējā vērtība	<0,010	<0,010	<0,050	0,001	<0,010	<0,015	0,169	<0,010	<0,002	0,073	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010	0,033	<0,010
	Mediāna	<0,010	<0,010	<0,050	0,002	<0,010	<0,015	0,147	<0,010	<0,002	0,074	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010	0,032	<0,010
Griķu	Koncentrāciju diapazons	<0,010	<0,010	<0,050 -0,072	<0,010	<0,010 -0,486	<0,015- 2,77	0,354- 0,894	<0,010	<0,002	0,026- 0,067	<0,010 -0,005	<0,010 -0,012	<0,010 -0,012	<0,010	<0,002 -0,012	<0,010- 0,010	0,013- 0,076	<0,010
	Vidējā vērtība	0,000	0,000	0,017	0,002	0,099	0,562	0,589	<0,010	<0,002	0,049	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010	0,040	<0,010
	Mediāna	0,000	0,000	<0,050	0,000	<0,010	<0,015	0,546	<0,010	<0,002	0,051	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010	0,034	<0,010
Rapšu	Koncentrāciju diapazons	<0,010	<0,010	<0,050	<0,010	<0,010 -0,010	<0,015	<0,050 -0,271	<0,010	<0,002	0,031- 0,061	<0,010 -0,009	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010- 0,012	0,014- 0,077	<0,010
	Vidējā vērtība	0,000	0,000	<0,050	0,001	<0,010	<0,015	<0,050	<0,010	<0,002	0,044	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010	0,034	<0,010
	Mediāna	0,000	0,000	<0,050	0,001	<0,010	<0,015	<0,050	<0,010	<0,002	0,042	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010	0,023	<0,010
Āboliņa	Koncentrāciju diapazons	<0,010	<0,010	<0,050	<0,010	<0,010	<0,5- 0,149	<0,050 -0,468	<0,010	<0,002	0,060- 0,103	<0,010 -0,006	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010	0,033- 0,036	<0,010
	Vidējā vērtība	0,000	0,000	<0,050	0,001	<0,010	<0,015	0,289	<0,010	<0,002	0,075	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010	0,034	<0,010
	Mediāna	0,000	0,000	<0,050	0,000	<0,010	<0,015	0,262	<0,010	<0,002	0,063	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010	0,034	<0,010
Pļavu, meža ziedu unjauktā tipa	Koncentrāciju diapazons	<0,010	<0,010	<0,050	<0,010	<0,010 -0,014	<0,015- 0,804	0,163- 0,657	<0,010	<0,002	0,048- 0,067	<0,010 -0,013	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010- 0,173	0,020- 1,05	<0,010- 0,014
	Vidējā vērtība	0,001	0,000	<0,050	0,001	<0,010	<0,015	0,379	<0,010	<0,002	0,060	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	0,040	0,246	<0,010
	Mediāna	0,000	0,000	<0,050	0,000	<0,010	<0,015	0,358	<0,010	<0,002	0,061	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,002	<0,010	0,061	<0,010

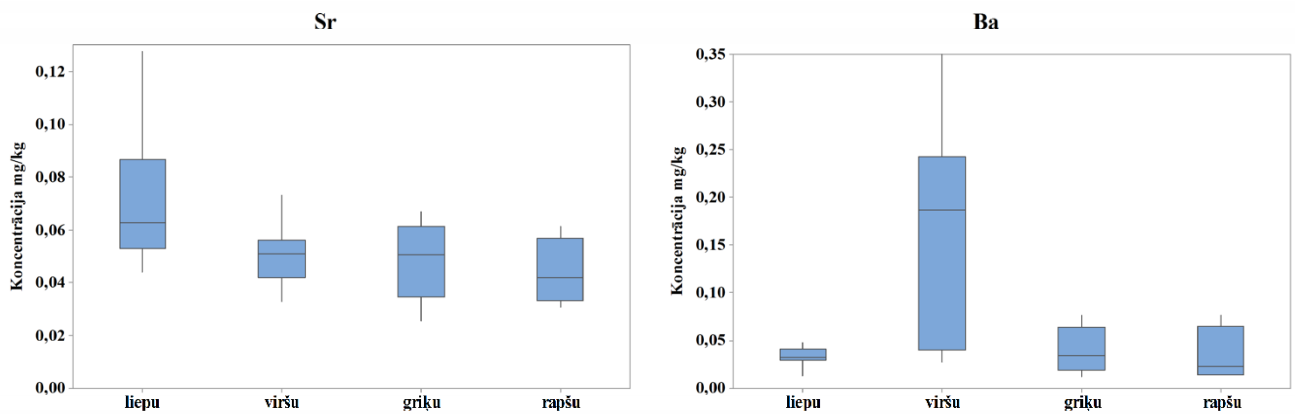
Medus paraugos tika analizēti 4 toksiskie elementi – As, Cd, Hg un Pb, lielāka daļa no tiem netika detektēta pētāmajos medus paraugos. Noteiktās toksisko elementu koncentrācijas vairumā gadījumu bija zem metodes noteikšanas robežas. Pb gadījumā liepu, rapšu un āboliņa medus paraugi saturēja šo elementu zemās koncentrācijās.

Medus izcelsmes novērtēšanai un raksturīgāko elementu identificēšanai veica analīzi, izmantojot statistisko datorprogrammu Minitab 17. 3.6. attēla ir atspoguļota dominējošo makroelementu koncentrācijas atkarībā no medus botāniskās izcelsmes. Na un Mg koncentrācijas ir līdzīgā koncentrāciju diapazonā un līdzīgi visiem medus paraugiem neatkarīgi no izcelsmes. Na koncentrācija uzrāda rezultātu izkliedi visos medu paraugos neatkarīgi no izcelsmes. Ca koncentrāciju diapazoni ir nedaudz augstāki nekā Na un Mg, taču nav ievērojamas atšķirības koncentrāciju līmeņos atkarībā no medus botāniskās izcelsmes. Viršu medus paraugiem ir novērojama rezultātu izkliede un kopumā ir nedaudz augstākas vērtības nekā citu izcelsmju medus paraugos. K uzrādīja visaugstākās koncentrācijas starp makroelementiem, kā arī ir novērojamas atšķirības koncentrāciju diapazonos atkarībā no medus izcelsmes. Viršu medum ir novērojama liela rezultātu izkliede un lielākā mediānas vērtība 1200 mg/kg, savukārt liepu medus paraugos rezultātu izkliede ir ievērojami mazāka un līmeņi ir zemāki nekā viršu medū, mediānas vērtība ir 690 mg/kg. Griķu un rapšu medus K koncentrāciju diapazoni ir viszemākie, taču paraugu skaits ir nepietiekams, lai novērtētu atšķirības un tendences koncentrāciju līmeņos. Cu koncentrāciju līmeņi ir atšķirīgi dažādās izcelsmes medus paraugos. Augstākās koncentrācijas ir novērotas griķu medū pat pie neliela paraugu skaita (n=5), palielinot paraugu skaitu un apstiprinot šo tendenci, informāciju var izmantot nezināmas izcelsmes paraugu identificēšanai. Viršu medus paraugos Cu koncentrāciju līmeņi ir nedaudz zemāki nekā griķu paraugos, un rezultātu izkliede ir neliela. Koncentrāciju diapazons viršu medū svārstās no 0,30 līdz 0,40 mg/kg ar mediānu 0,35 mg/kg. Liepu medus paraugos koncentrāciju līmeņi svārstās no 0,10 līdz 0,25 mg/kg ar mediānas vērtību 0,20 mg/kg. Savukārt viszemākās koncentrācijas ir novērotas rapšu medus paraugiem, bet paraugu skaits ir pārāk mazs, lai novērotu raksturīgās tendences. Kopumā Cu var izmantot turpmākos pētījumos nezināmās izcelsmes paraugu identificēšanai. Rb koncentrāciju līmeņi viršu medus paraugos ir ievērojami augstāki nekā citas izcelsmes paraugos, tie svārstās no 2,0 līdz 7,5 mg/kg. Liepu un griķu paraugos Rb koncentrāciju līmeņi ir līdzīgi un svārstās no 0,005 līdz 2,0 mg/kg un no 0,005 līdz 1,0 mg/kg, savukārt mediānas vērtības ir 0,8 un 0,9 mg/kg attiecīgi. Novērtējot Rb koncentrācijas nezināmās izcelsmes paraugos, iespējams šo medu identificēt kā viršu medu augsto koncentrāciju dēļ, savukārt novērtējot Cu koncentrācijas, iespējams identificēt griķu izcelsmes medus paraugus.



3.6. att. Dominējošo makroelementu koncentrācijas medus paraugos

Kopumā viršu medus paraugiem ir novērojama lielākas makro elementu koncentrācijas, salīdzinot ar citas izcelsmes medus paraugiem, šo informāciju var izmantot nezināmas izcelsmes paraugu identificēšanai. Nepieciešams palielināt paraugu skaitu, lai precīzāk novērtēt un apstiprināt novērotas atšķirības makroelementu koncentrāciju līmeņos.



3.7. att. Dominējošo mikroelementu koncentrācijas medus paraugos

3.7. attēla ir atspoguļota dominējošo mikroelementu koncentrācijas atkarībā no medus izcelsmes. Sr koncentrācijas visos medus paraugos ir līdzīgas, rezultātu izkliede ir neliela. Ba koncentrāciju līmeņi liepu, griķu un rapšu izcelsmes medus paraugos ir līdzīgi un salīdzinoši zemi. Savukārt viršu izcelsmes medus paraugos koncentrāciju līmeņi ir augstāki, tie svārstās no 0,05 līdz 0,25 mg/kg. Mediānas vērtība viršu medus paraugos ir 0,17 mg/kg, kas ir ievērojami augstāka, salīdzinot ar citu izcelsmju medus paraugiem, kuru mediānas vērtības ir 0,03-0,04 mg/kg. Mikroelementu sastāvs ir atšķirīgs dažādās izcelsmes paraugiem. Novērotās tendences ir iespējams izmantot nezināmas izcelsmes paraugu identificēšanai, novērtējot Rb un Ba koncentrācijas, iespējams identificēt viršu izcelsmes medus paraugus.

SECINĀJUMI

1. Veicot 1284 kvalitātes rādītāju testēšanu Latvijas izcelsmes medus paraugiem, tika secināts, ka 5 rādītāji neatbilst noteiktajām prasībām. Kopumā neatbilstību īpatsvars šajā pētījumā ir mazāks par 1%.
2. No pētījumā iegūtajiem rezultātiem par augu aizsardzības līdzekļa tiakloprīda atliekvielu klātbūtni medū var secināt, ka medus var būt labs indikators neatļauto vai neregistrēto augu aizsardzības līdzekļu lietošanai.
3. Glifosāta klātbūtne tika konstatēta 23% no visiem medus paraugiem, divos paraugos (ņemot vērā metodes mērījumu nenoteiktību) pārsniedzot maksimāli pieļaujamo normu (MRL), kas ir 0,05 mg/kg saskaņā ar Regulu (EU) 293/2013.
4. Veicot gaistošo organisko savienojumu analīzi ar GH-MS, tika konstatēti 18 dažādi savienojumi, kuri varētu kalpot par medus botāniskās izcelsmes marķieriem. Vislabāk iespējams atšķirt viršu medu, jo tajā izteikti dominē dažādi feniletiķskābes atvasinājumi. Tāpat salīdzinoši veiksmīgi var atšķirt griķu medu, jo tā gaistošo organisko savienojumu profilā dominē furfurols. Vismazākā gaistošos organisko vielu dažādība konstatēta liepziedu medus paraugos. Šo īpašību var izmantot, lai atšķirtu liepziedu medus paraugus no pārējiem. Izstrādātā GH-MS metode nespēja sniegt viennozīmīgu atbildi, kas ļautu savstarpēji atšķirt āboliņu, rapšu un vītolu medus paraugus.
5. Visos medus paraugos neatkarīgi no izcelsmes dominējošie makroelementi ir K, Ca, Mg un Na. Griķu medū ir novērota augstākā makro elementa Cu koncentrācija un viršu medū – Rb koncentrācija. Tika noteikts, ka daži mikroelementi raksturīgi konkrētajām medus grupām. Augstākās Sr koncentrācijas tika novērotas liepziedu medum, savukārt viršu medum – Ba.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Ministru kabinets; Kvalitātes, klasifikācijas un papildu marķējuma prasības medum. Apstiprināts ar LR MK rīkojumu Nr. 251 2015. gada 26. maijā. Pieejams: <http://likumi.lv/ta/id/274304-kvalitates-klasifikācijas-un-papildu-marķējuma-prasības-medum> [skatīts: 11.11.2022.]
2. Bogdanon, S.; Jurendic, T.; Sieber, R.; Gallmann, P. A. Review: Honey for Nutrition and Health. *J Am Coll Nutr.* 2008, 27, 678–689
3. Vincēviča-Gaile, Z. Makro- un mikroelementu saturs medū. 2010, Latvijas Lauksaimniecības Universitātes Raksti, 56–66
4. USDA National Nutrient Database, Agricultural Research Service, atjaunota 2015. gada oktobrī. Full Report (All Nutrients): 19296, Honey"
5. Gheldof, N.; Wang, X.H.; Engeseth, N.J. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *J Agric Food Chem.*, 2002, 50, 5870–5877
6. Schramm, D.D.; Karim, M.; Schrader, H.R.; Holt, R.R.; Cardetti, M.; Keen, C.L. Honey with High Levels of Antioxidants Can Provide Protection to Healthy Human Subjects. *J Agric Food Chem.* 2003, 51, 1732–1735
7. Latvijas Republikas Zemkopības Ministrija; Latvijas Lauksaimniecība 2020. Pieejams: https://www.zm.gov.lv/public/files/CMS_Static_Page_Doc/00/00/01/89/03/2020_lauksaimniecibas_gada_zinojums1.pdf [skatīts: 11.11.2022.]
8. Centre for the Promotion of Imports from developing countries. What is the demand for honey in Europe? 2016 Pieejams: <https://www.cbi.eu/market-information/honey-sweeteners/trade-statistics/> [skatīts: 09.11.2022]
9. Latvijas biškopības programma 2020.–2022. gadam. Pieejams: http://www.lad.gov.lv/files/ladDocument/1832/LV_biskopibas_programma_2020-2022.pdf [skatīts: 11.11.2022.]
10. Amiry, S.; Esmaili, M.; Alizadeh, M.; Classification of adulterated honeys by multivariate analysis. *Food Chemistry.* 2017, 224, 390-397
11. Siddiqui, A.J.; Musharraf, S.G.; Choudhary, M.I.; Rahman A.; Application of analytical methods in authentication and adulteration of honey. *Food Chemistry.* 2017, 217, 687-698
12. Ruiz-Matute, A.I.; Soria, A.C.; Sanz, M.L.; Martinez-Castro, I.; Characterization of tradicional Spanish edible plant syrups based on carbohydrate GC-MS analysis. *Journal of Food Composition and Analysis.* 2010, 23, 260-263
13. Kenjeric, D.; Mandic, M.L.; Primorac, L.; Bubano, D.; Perl, A.; Flavonoid profile of Robinia honeys produced in Croatia. *Food Chemistry.* 2007, 102, 683-690

14. Wu, L.; Du, B.; Heyden, Y. V.; Chen, L.; Zhao, L.; Wang, M.; Xue, X.; Recent advancements in detecting sugar-based adulterants in honey – A challenge. Trends in Analytical Chemistry. 2017, 86, 25-38
15. Latvijas biškopības biedrība; Varrozes invāzijas ierobežošana dravā. Pieejams: <https://www.strops.lv/attachments/article/66/varroze.pdf> [skatīts: 09.11.2022].
16. Latvijas Biškopības biedrība; Par zāļu lietošanu biškopībā. Pieejams: <https://www.strops.lv/index.php/raksti/slimibas-un-kaitekli/26-par-zalu-lietosanu-biskopiba> [skatīts: 09.11.2022].
17. Goulson, D. REVIEW: An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. J. Appl. Ecol. 2013, 50, 977-987. doi.org/10.1111/1365-2664.12111
18. Eiropas Komisija. Neonicotinoids. Pieejams: https://food.ec.europa.eu/plants/pesticides/approval-active-substances/renewal-approval/neonicotinoids_en [skatīts: 09.11.2022].
19. EFSA (European Food Safety Authority); Cabrera, C. L.; Pastor, M. P. The 2020 European Union report on pesticide residues in food. EFSA Journal 2022, 20, 7215, 57. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7215>
20. Latvijas Vēstnesis. Laidiens: 26.03.2020., Nr. 61 Oficiālās publikācijas Nr.: 2020/61.22 Pieejams: <https://www.vestnesis.lv/op/2020/61.22> [skatīts: 09.11.2022]
21. EFSA (European Food Safety Authority). Scientific report on the 2017 European Union report on pesticide residues in food. EFSA Journal 2019, 7, 5743, 152. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5743>
22. EFSA (European Food Safety Authority); Medina-Pastor P.; Triacchini, G.; The 2018 European Union report on pesticide residues in food. EFSA Journal 2020, 18, 6057, 103. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6057>
23. EFSA (European Food Safety Authority); Cabrera, C. L.; Medina Pastor, P. The 2019 European Union report on pesticide residues in food. EFSA Journal 2021, 19, 6491, 89. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6491>
24. Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts BIOR; Latvijas izcelsmes medus autentiskuma, kvalitātes un nekaitīguma novērtējums un prasmes pārbaūžu organizēšana. 2019. Pieejams: <https://www.llu.lv/lv/projekti/apstiprinatie-projekti/2019/latvijas-izcelsmes-medus-autentiskuma-kvalitates-un> [skatīts 09.11.2022]
25. Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts BIOR; Latvijas izcelsmes medus autentiskuma, kvalitātes un nekaitīguma novērtējums un prasmes pārbaūžu organizēšana. 2020. Pieejams: <https://www.llu.lv/lv/projekti/apstiprinatie-projekti/2020/latvijas-izcelsmes-medus-autentiskuma-kvalitates-un> [skatīts: 09.11.2022]
26. Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts BIOR; Latvijas izcelsmes medus autentiskuma, kvalitātes un nekaitīguma novērtējums. 2021. Pieejams:

<https://www.ltu.lv/lv/projekti/apstiprinatie-projekti/2021/latvijas-izcelsmes-medus-autentiskuma-kvalitates-un> [skatīts: 09.11.2022]

27. Benbrook, C.M.; Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environ. Sci. Eur.* 2016, 28, 3. <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>
28. Battisti, L.; Potrich, M.; Sampaio, A. R.; de Castilhos Ghisi, N.; Costa-Maia, F. M.; Abati, R.; Bueno dos Reis Martinez, C.; Sofia, S. H. Is glyphosate toxic to bees? A meta-analytical review. *Sci. Total Environ.* 2021, 67, 145397. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145397
29. Motta, E.; Powell, J. E.; Moran, N. A. (2022). Glyphosate induces immune dysregulation in honey bees. *Animal microbiome.* 2022, 4, 16. <https://doi.org/10.1186/s42523-022-00165-0>
30. Valsts augu aizsardzības dienests; Augu aizsardzības līdzekļu saraksts. Pieejams: http://registri.vaad.gov.lv/reg/aal_saraksts.aspx [skatīts 09.11.2022]
31. da Silva, P. M. ; Gauche, C.; Gonzaga, L.V.; Costa, A.C.O.; R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem.* 2016, 196, 309–323. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.09.051.
32. Manyi-Loh, C.E.; Ndip, R.N.; Clarke, A.M. Volatile Compounds in Honey: A Review on Their Involvement in Aroma, Botanical Origin Determination and Potential Biomedical Activities. *Int. J. Mol. Sci.* 2011, 12 (12), 9514–9532. doi: 10.3390/ijms12129514.
33. Wardencki, W.; Chmiel, T.; Dymerski, T.; Biernacka, P.; Plutowska, B. Application of gas chromatography, mass spectrometry and olfactometry for quality assessment of selected food products = Zastosowanie chromatografii gazowej, spektrometrii mas i olfaktometrii w ocenie jakości wybranych produktów spożywczych, p. 14.
34. Panseri, S.; Manzo, A.; Chiesa, L.M.; Giorgi, A. Melissopalynological and Volatile Compounds Analysis of Buckwheat Honey from Different Geographical Origins and Their Role in Botanical Determination. *J. Chem.* 2013, 1–11 doi: 10.1155/2013/904202.
35. Kaškonienė, V.; Venskutonis, P.R.; Čeksterytė, V. Composition of volatile compounds of honey of various floral origin and beebread collected in Lithuania. *Food Chem.* 2008, 111 (4), 988–997. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.05.021.
36. Jerković I. et al. Red clover (*Trifolium pratense* L.) honey: volatiles chemical-profiling and unlocking antioxidant and anticorrosion capacity. *Chem. Pap.* 2016, 70, 6. doi: 10.1515/chempap-2016-0016.
37. Seisonen, S.; Kivima, E.; Vene, K. Characterisation of the aroma profiles of different honeys and corresponding flowers using solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry/olfactometry. *Food Chem.* 2015, 169, 34–40. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.125.
38. Guyot, C.; Scheirman, V.; Collin, S. Floral origin markers of heather honeys: *Calluna vulgaris* and *Erica arborea*. *Food Chem.* 1999, 64 (1), 3–11. doi: 10.1016/S0308-8146(98)00122-8.

39. Plutowska, B.; Chmiel, T.; Dymerski, T.; Wardencki, W. A headspace solid-phase microextraction method development and its application in the determination of volatiles in honeys by gas chromatography. *Food Chem.* 2011, 126(3), 1288–1298, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.11.079.
40. Blank, I.; Fischer, K.-H.; Grosch, W. Intensive neutral odourants of linden honey Differences from honeys of other botanical origin. *Z Lebensm Unters Forch.*, 1989, 189(5), 426–433. doi: 10.1007/BF01028316.
41. Ruisinger, B.; Schieberle, P. Characterization of the Key Aroma Compounds in Rape Honey by Means of the Molecular Sensory Science Concept. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60 (17), 4186–4194, doi: 10.1021/jf3004477.
42. Siegmund, B.; Urdl, K.; Jurek, A.; Leitner, E. More than Honey': Investigation on Volatiles from Monovarietal Honeys Using New Analytical and Sensory Approaches. *J. Agric. Food Chem.* 2018, 66, (10), 2432–2442. doi: 10.1021/acs.jafc.6b05009.
43. Bilandžić, N.; Sedak, M.; Đokić, M.; Bošković, A. G.; Florijančić, T.; Bošković, I.; Kovačić, M.; Puškadija, Z.; Hruškar, M. Element Content in Ten Croatian Honey Types from Different Geographical Regions during Three Seasons. *J. Food Compos. Anal.* 2019, 84. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103305>.
44. Pohl, P. Determination of Metal Content in Honey by Atomic Absorption and Emission Spectrometries. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 2009, 28 (1), 117–128. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.09.015>.
45. Aghamirlou, H.M.; Khadem, M.; Rahmani, A.; Sadeghian, M.; Mahvi, A.H.; Akbarzadeh, A.; Nazmara, S. Heavy Metals Determination in Honey Samples Using Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry. *J. Environ. Heal. Sci. Eng.* 2015, 13 (1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s40201-015-0189-8>
46. Puścion-Jakubik, A.; Borawska, M. H.; Socha, K. Modern Methods for Assessing the Quality of Bee Honey and Botanical Origin Identification. *Foods* 2020, 9 (8), 1–21. <https://doi.org/10.3390/foods9081028>.
47. Atanassova, J.; Pavlova, D.; Lazarova, M.; Yurukova, L. Characteristics of Honey from Serpentine Area in the Eastern Rhodopes Mt., Bulgaria. *Biol. Trace Elem. Res.* 2016, 173 (1), 247–258. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0616-9>.
48. Almeida-Silva, M.; Canha, N.; Galinha, C.; Dung, H.M.; Freitas, M.C.; Siteo, T. Trace Elements in Wild and Orchard Honeys. *Appl. Radiat. Isot.* 2011, 69 (11), 1592–1595. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2011.01.013>.
49. Czipa, N.; Diósi, G.; Phillips, C.; Kovács, B. Examination of Honeys and Flowers as Soil Element Indicators. *Environ. Monit. Assess.* 2017, 189 (8). <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6121-1>.
50. Labsvards, K.D. et al. Determination of Floral Origin Markers of Latvian Honey by Using IRMS, UHPLC-HRMS, and 1H-NMR. *Foods.* 2021, 11 (1), 42. doi: 10.3390/foods11010042

51. Komisijas regula (ES) Nr. 293/2013 (2013. gada 20. marts), ar ko groza II un III pielikumu Eiropas Parlamenta un Padomes Regulai (EK) Nr. 396/2005 attiecībā uz maksimāli pieļaujamajiem emamektīna benzoāta, etofenproksa, etoksazola, flutriafola, glifosāta, fosmeta, piraklostrobīna, spinosada un spirotetramāta atlieku līmeņiem konkrētos produktos vai uz tiem. Pieejams: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/LV/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013R0293&from=EN> [skatīts 09.11.2022].
52. Ioannidou, M.D.; Zachariadis, G.A.; Anthemidis, A.N.; Stratis, J.A. Direct Determination of Toxic Trace Metals in Honey and Sugars Using Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. *Talanta* 2005, 65 (1), 92–97. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.05.018>.
53. Silva, B.; Gonzaga, L.V.; Maltez, H. F.; Samochvalov, K. B.; Fett, R.; Costa, A. C. O. Elemental Profiling by ICP-MS as a Tool for Geographical Discrimination: The Case of Bracatinga Honeydew Honey. *J. Food Compos. Anal.* 2021, 96 (October 2020), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103727>.
54. Vincevica-Gaile, Z.; Klavins, M. Concentration of Elements in Food: How Can It Reflect Impact of Environmental and Other Influencing Factors? *Environ. Clim. Technol.* 2013, 12 (1), 15–19. <https://doi.org/10.2478/rtuect-2013-0011>.

PIELIKUMS

1. Fruktozes, glikozes un saharozes noteikšana ar augsti efektīvo šķidrums hromatogrāfiju (§ 64 LFGB L 40.00-7)

Mērķis un darbības joma

Metode paredzēta fruktozes, glikozes un saharozes noteikšanai pārtikas produktos. Metode ietver parauga homogenizēšanu, ekstrakciju ar ūdeni un filtrēšanu caur papīra filtru. Kvantitatīvai cukuru noteikšanai izmanto augsti efektīvo šķidrums hromatogrāfu (AEŠH), kas savienots ar refraktometrisko (RI) detektoru.

Reāģenti un standartvielas

- Acetonitrils (AEŠH tīrības pakāpe);
- dejonizēts ūdens (1. tīrības pakāpe, ūdens pretestība > 18 MΩ-cm);
- fruktoze (piem., Fluka, tīrība 99,0%);
- glikoze (piem., Fluka, tīrība 99,5%);
- saharoze (piem., Fluka, tīrība 99,5%).

Aparatūra un trauki

- Mērkolbas un mērcilindri, A klase;
- analītiskie svāri ar precizitāti ± 0,0001 g;
- automātiskās pipetes ar maināmo tilpumu;
- polipropilēna stobriņi ar vāciņiem, 50 ml;
- stikla piltuves, d = 50 mm;
- papīra filtri, d = 90 mm;
- hromatogrāfijas stikla pudelītes (1,5 ml) ar vāciņiem.

Standartšķīdumu pagatavošana

Pamatšķīdumus pagatavo paraugu analīzes dienā. Pagatavojot pamatšķīdumus, ņem vērā standartvielu tīrību:

PŠ1: 2,02 g fruktozes atšķaida līdz 10 ml ar dejonizētu ūdeni. Iegūtā koncentrācija 20%.

PŠ2: 2,01 g glikozes atšķaida līdz 10 ml ar dejonizētu ūdeni. Iegūtā koncentrācija 20%.

PŠ3: 2,01 g saharozes atšķaida līdz 10 ml ar dejonizētu ūdeni. Iegūtā koncentrācija 20%.

Kalibrācijas šķīdumu pagatavošana

Kalibrācijas šķīdumus pagatavo atšķaidot šķīdumus 10 ml mērkolbās ar dejonizētu ūdeni kā norādīts tabulā:

Kalibrācijas šķīdums	Tilpums	Iegūtā koncentrācija, %	Iegūtā koncentrācija, pārrēķinot uz paraugu, %
KŠ1	2,5 ml PŠ	5	50
KŠ2	5 ml KŠ1	2,5	25
KŠ3	4 ml KŠ2	1,0	10
KŠ4	5 ml KŠ3	0,5	5
KŠ5	5 ml KŠ4	0,25	2,5
KŠ6	4 ml KŠ5	0,1	1

Kontrolparaugs

Katrā paraugu sērijā iekļauts kontrolparaugs, kam pievienota zināma cukuru koncentrācija. Paraugs ar 10% fruktoze, 10% glikoze un 1% saharoze: pie 5,00 g parauga pievieno 2,5 ml PŠ1, 2,5 ml PŠ2 un 0,25 ml PŠ3, tālāk rīkojas tāpat kā ar paraugu.

Darba gaita

- 5 g homogenizēta parauga iesver polipropilēna stobriņā.
- Stobriņu piepilda ar ~ 20 mL dejonizēta ūdens un samaisa.
- Stobriņa saturu pārnes 50 mL mērkolbā un uzpilda kolbu ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei.
- Kolbas saturu rūpīgi samaisa un ekstraktu filtrē caur papīra filtru.
- Attīrīto ekstraktu pārnes hromatogrāfijas pudelītē un 10 µL ievada šķidrums hromatogrāfā.

AEŠH-RI analīzes parametri

Šķidrums hromatogrāfs (piem., *Waters Alliance 2695*) ar RI detektoru (piem., *Waters 2414*).

- Kolonna: NH2 4,6 µm 150 mm, daļiņu izmērs 5 µm (piem., Phenomenex);
- kustīgā fāze: dejonizēta ūdens/acetnitrila maisījums (9/91, v/v);
- plūsmas ātrums: 1,5 mL/min;
- kolonnas temperatūra: 30 °C;
- injekcijas tilpums: 10 µL;
- analīzes laiks: 40 minūtes.

2. Mitruma noteikšana ar refraktometrisko metodi (IHC 1:2009)

Mērķis un darbības jomas

Metode paredzēta mitruma noteikšanu medus paraugos ar refraktometru.

Iekārtas un trauki.

- Žāvskaipis;

- PP 15 ml stobriņi;
- Abbe vai digitālais refraktometrs (ar termostatu 20 °C un iespēju regulāri kalibrēt ar destilētu ūdeni vai citu sertificētu references materiālu).

Darba gaita

- Ja medus satur cukura kristālus – homogenizētu medu ievieto 15 mL PP stobriņos un ievieto žāvskapī pie temperatūras 50 °C ($\pm 0,2$) līdz cukura kristāli izkusuši. Atdzesē un vēlreiz samaisa. Veic mitruma satura noteikšanu.
- Ja medus kristālus nesatur, paraugu homogenizē samaisot un tālāk veic mitruma satura noteikšanu.
- Pārbauda refraktometru ar destilētu ūdeni (refrakcijas indeksam jābūt 1,3330).
- Uz sausas, tīras prizmas uzliek medus paraugu, aizver prizmas virsmu:
 - ja mērīšanu veic ar Abbes tipa refraktometru, tad nolasījumu veic pēc 2 min;
 - ja mērīšanu veic ar digitālo refraktometru, tad nolasījumu veic pēc 6 min.
- Pēc mērīšanas rūpīgi notīra prizmu ar destilētu ūdeni un pārlicinās, vai tā ir tīra, izmērot destilēta ūdens refrakcijas indeksu (tam jābūt 1,3330).
- Katram medus paraugam veic 2 atkārtotus mērījumus, pēc tam tabulā (skatīt standartu) atrod atbilstošo mitruma saturu mērījumiem.

Rezultāta aprēķināšana

Izrēķina vidējo rezultātu no 2 atkārtotajiem mērījumiem.

- ja medus mērījumi nav veikti 20 °C temperatūrā, tad veic refrakcijas koeficienta pārrēķinu atbilstoši medus temperatūrai;
- ja temperatūra virs 20 °C, tad pieskaita 0,00023 par katru grādu, ja zem 20 °C, tad atņem 0,00023.

Atkārtojamība: $r = 0,093 \times W / (W - 5,97)$

Reproducējamība: $R = 0,067 \times W / (W - 9,20)$

3. Elektrovadītspēja noteikšana (IHC 2:2009)

Mērķis un darbības jomas

Metode nosaka kārtību, kādā jāveic elektrovadītspējas noteikšana medus paraugos ar konduktometru. Metodi izmanto medus paraugiem, kuros elektrovadītspēja ir intervālā no 0,1 līdz 3 mS/cm.

Aprīkojums un materiāli

- Ūdens vanna vai termostats, kas nodrošina $20 \pm 0,5$ °C;
- mērkolbas un vārglāzes;

- termometrs ar iedaļu 0,1 °C, ja iekārtā nav temperatūras sensora;
- konduktometrs – zemākā noteikšanas robeža 10^{-7} S, ar specializētu elektrodu – šūnu elektrovadītspējas mērīšanai.

Reāģenti

Kālija hlorīda 0,1M šķīdums. Gatavo vienmēr svaigu. Nosver 7,4557 g izžāvētu pie 130 °C KCl un izšķīdina svaigā dejonizētā ūdenī 1000 ml mērkolbā.

Darba gaita

- Šūnas konstantes noteikšana: vārglāzītē ielej 40 ml svaigi pagatavotā kālija hlorīda šķīduma, tā šķīduma temperatūrai jābūt 20 °C, noskalo elektrodu ar mērāmo šķīdumu un iemērc elektrodu un nolasa elektrovadītspējas rādījumu mS pie 20 °C, noskalo elektrodu ar dejonizētu ūdeni.

Šūnas konstanti K aprēķina pēc formulas:

$$K = 11,691 \times 1/G, \text{ kur}$$

11,649 – elektrovadītspēja vidējo vērtību summa, kuras mērīta svaigi destilētam ūdenim un 0,1 M kālija hlorīda šķīdumam pie 20 °C;

K – šūnas konstante, cm^{-1} ;

G- izmērītā elektrovadītspēja svaigi pagatavotajam kālija hlorīda 0,1 M šķīdumam, mS.

- Nosver 20,0 g bezūdens medus, lai to izdarītu ir jāzina, kāds ir ūdens saturs analizējamajā medū un pēc šī rezultāta veic iesvara pārrēķinu pēc formulas:

$$X = W \times 100 / (100 - W), \text{ kur}$$

W – ūdens saturs medus paraugā, %

X – pārrēķinātais medus parauga iesvars, g

- Medus iesvaru izšķīdina dejonizētā ūdenī un kvantitatīvi pārnes 100 ml mērkolbā, uzpilda līdz atzīmei un samaisa.
- Ieteicamā parauga temperatūra pie mērīšanas ir 20 °C, lai nevajadzētu pārrēķināt rezultātu atbilstoši parauga šķīduma temperatūrai.
- Ar daļu no pagatavotā medus šķīduma noskalo konduktometra elektrodu, ielej vārglāzītē 40 ml pagatavotā medus šķīduma, pēc tam ievieto elektrodu un izmēra parauga elektrovadītspēju.

Rezultātu apstrāde

Medus parauga elektrovadītspēju $\text{mS} \times \text{cm}^{-1}$ aprēķina pēc formulas:

$$SH = K \times G, \text{ kur}$$

G – medus parauga šķīduma vadītspēja, mS,

K – šūnas konstante, cm^{-1} .

Ja mērījumi veikti atšķirīgā temperatūrā nekā pie 20 °C, tad jāveic rezultātu pārrēķins ņemot vērā temperatūru:

- ja temperatūra augstāka par 20 °C, tad rezultātam atņem 3,2% no rezultāta par katru grādu,
- ja temperatūra zemāka par 20 °C, tad rezultātam pieskaita 3,2 % no rezultāta par katru grādu.

Rezultātus aprēķina līdz $0,01 \text{ mS} \times \text{cm}^{-1}$.

4. pH un brīvā skābuma noteikšana ar titrēšanu līdz pH 8,3 (IHC 4.1:2009)

Mērķis un darbības jomas

Metode paredzēta pH un brīvā skābuma noteikšanas kārtību medū.

Iekārtas, trauki.

- pH-metrs ar precizitāti 0,01 vienības;
- magnētiskais maisītājs;
- birete 10ml, 25ml vai automātiskais titrators;
- vārglāze – 100 ml;
- analītiskie svāri.

Reāģenti

- dejonizēts ūdens (*1. tīrības pakāpe, ūdens pretestība > 18 MΩ-cm*);
- buferšķīdumi pH-metra kalibrēšanai (pH – 4.00, 7.00, 10.00);
- nātrija hidroksīda standartšķīdums 0,1 M.

Darba gaita

pH noteikšana

- Ieslēdz pH-metru un atbilstoši tā instrukcijai veic iekārtas kalibrēšanu;
- 100 ml vārglāzē nosver 10 g parauga un izšķīdina 75 ml destilēta ūdens.
- Vārglāzi ar izšķīdināto medus paraugu maisa ar magnētisko maisītāju un šķīdumā ievieto pH mērīšanas elektrodu, gaida līdz mērījums nostabilizējas un nolasa mērījumu.

Brīvā skābuma noteikšana

- Ieslēdz pH-metru un atbilstoši tā instrukcijai veic iekārtas kalibrēšanu (ja tāda jau nav veikta).
- 100 ml vārglāzē nosver 10 g parauga un izšķīdina 75 ml destilēta ūdens.
- Vārglāzi ar izšķīdināto medus paraugu maisa ar magnētisko maisītāju un šķīdumā ievieto pH mērīšanas elektrodu.

- Titrē ar 0,1M NaOH šķīdumu līdz pH vērtībai 8.3.
- Titrēšana jāveic 2 minūšu laikā, rezultātu nolasa līdz tuvākajai 0,2 ml iedaļai, ja titrē ar bireti, bet, ja titrē ar automātisko titratoru, tad līdz 0,01 ml.

Rezultātu aprēķināšana

- pH rezultātu nolasa un uzrāda ar divām decimālzīmēm.
- Brīvo skābumu, kuru izsaka miliekvivalentos vai milimolos skābes/kg medus, aprēķina pēc formulas:

$$X = V \times 10, \text{ kur}$$

V – izlietotā 0,1 M NaOH tilpums titrēšanā, ml

5. Diastāzes aktivitātes (skaitļa) noteikšana pēc Phadebas (IHC 6.2:2009)

Mērķis un darbības jomas

Metode paredzēta diastāzes skaitļa noteikšanai medus paraugos pēc Phadebas metodes.

Iekārtas, trauki.

- Spektrofotometrs;
- pH-metrs;
- ūdens vanna ar termostatu;
- svāri ar precizitāti līdz 0,01 g;
- mēģenes ar piespīlētiem korķiem;
- PP 50 mL stobriņi
- automātiskās pipetes;
- kivetes
- filtrpapīrs;
- taimeris.

Reaģenti

- Phadeba tabletes;
- nātrija hidroksīda šķīdums 0,5M;
- acetāta buferšķīdums pH = 5,2 (nosver 13,6 g nātrija acetāta trihidrātu un izšķīdina ūdenī 1000 ml mērkolbā un, neuzpildot līdz atzīmei, pievieno ledus etiķskābi 1-2 ml ieregulējot pH = 5,2, pēc tam uzpilda līdz atzīmei).

Darba gaita (visas zemāk minētās procedūras jāveic vienas stundas laikā!)

- PP 50 mL stobriņā nosver 0,50 g medus parauga, šķīdina nelielā daudzumā (30 ml) acetāta buferšķīdumā, kad medus paraugs izšķīdis uzpilda PP stobriņu līdz atzīmei ar acetāta buferšķīdumu, samaisa.
- 5,0 ml sagatavotā medus šķīdumā ar pipeti iemēra pirmā mēģenē; otrā mēģenē iemēra 5 ml acetāta buferšķīduma (kontrolai).
- Mēģenes ievieto ūdens vannā pie 40 °C uz 5 minūtēm, pēc tam katrā mēģenē ar pinceti ievieto pa vienai Phadebas tabletei, uzliek korķīti un intensīvi sakrata 8 – 10 sekundes, līdz tablete izšķīst.
- Mēģenes ievieto ūdens vannā uz 30 minūtēm.
- Pēc šī laika katrā mēģenē ar pipeti pielej 1 ml 0,5 M nātrija hidroksīda šķīduma (reakcijas apstādināšanai) uzliek korķīti un sakrata 5 sekundes.
- Nekavējoties filtrē caur filtrpapīru (ietiecams par tiešo kivetē, ar kuru mērīs absorbciju) un atstāj uz piecām minūtēm. Izmēra absorbciju pie 620 nm, 1 cm kivetē, gan kontrolai, gan paraugam.

Rezultātu apstrāde

Diastāzes skaitli Shades vai Gotes vienībās aprēķina pēc formulas:

$$DSK = 28,2 \times \Delta A_{620} + 2,64$$

Ja diastāzes skaitlis ir no 0 līdz 6, tad izmanto sekojošu formulu:

$$DSK = 35,2 \times \Delta A_{620} - 0,46$$

Atkārtojamība: $r = 0,02 + 0,06 \times A_{620}$

Reproducējamība: $R = 0,04 + 0,32 \times A_{620}$

6. Ūdenī nešķīstošo vielu noteikšana (IHC 8:2009)

Mērķis un darbības jomas

Metode paredzēta ūdenī nešķīstošo vielu noteikšanai medū ar gravimetrisko metodi.

Iekārtas, trauki.

- Analītiskie sviri ar precizitāti līdz 0,0001 g;
- filtrtīģelis ar poru izmēru no 15-40 mikroni;
- žāvkapsis ar iespēju ieregulēt temperatūru 135 ± 1 °C.

Darba gaita

- Nosver aptuveni 20 g medus parauga un izšķīdina to 200 ml 80 °C karsta ūdens.
- Izkarsē filtrtīģeli žāvkapsī un atdzesē līdz istabas temperatūrai eksikatorā.

- Izšķīdināto medus paraugu filtrē caur filtrtīgelī un mazgā ar siltu ūdeni, līdz tas nesatur cukurus (pārbauda ar 1 % florglucinola šķ. etilspirtā. To piepilina mēģenē ielietam filtrātam un gar mēģenes sienām piepilina pāris pilienus konc. sērskābi, ja filtrāts satur cukurus, veidojas krāsa).
- Žāvē filtrtīgeli vienu stundu žāvskapī pie 135 °C, atdzesē un nosver.
- Filtrtīgeli ievieto vēlreiz žāvē žāvskapī pie 135 °C 30 minūtes, atdzesē un nosver.
- Žāvēšanu turpina, līdz filtrtīgelis ir ar konstantu svaru.

Rezultātu apstrāde

Nešķīstošo vielu masu aprēķina pēc formulas:

$$\text{Nešķ.v. (\%)} = m \times 100 / m_1, \text{ kur}$$

m – nešķīstošo vielas masa, g

m_1 – parauga iesvars, g

7. 5-(Hidroksimetil)furfurola (HMF) noteikšana medū ar šķidrums hromatogrāfiju (BIOR-T-012-184-2016)

Analīzes mērķis un sfēra

Metode paredzēta 5-(hidroksimetil)furfurāla (HMF) noteikšanai medū ar šķidrums hromatogrāfiju. Metode ietver parauga atšķaidīšanu, attīrīšanu ar *Carrez* šķīdumiem, attīrīšanu ar cietfāžu ekstrakcijas kolonnām un HMF noteikšanu, izmantojot augsti efektīvo šķidrums hromatogrāfiju (AEŠH) ar C18 reversās fāzes kolonnu un UV detektoru.

Reaģenti un materiāli

- Kālija heksacianoferāta (II) trihidrāts ($K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3 H_2O$) (*ACS tīrības*);
- cinka acetāta dihidrāts ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2 H_2O$) (*ACS tīrības*);
- metanols (*AEŠH tīrības pakāpe*);
- acetonitrils (*AEŠH tīrības pakāpe*);
- dejonizēts ūdens (*1. tīrības pakāpe, ūdens pretestība > 18 MΩ-cm*);
- cietfāžu ekstrakcijas kolonnas C18, 500 mg/6 mL (piem., *Phenomenex*);
- hromatogrāfijas kolonna C18, 100 mm x 2,0 mm, daļiņu izmērs 3 μm (piem., *Phenomenex*).

Aparatūra un trauki

- Mērkolbas (A klase);
- polipropilēna stobriņi, 15 mL un 50 mL;

- automātiskās pipetes ar maināmu diapazonu;
- hromatogrāfijas pudelītes;
- analītiskie svāri ar precizitāti 0,00001 g un elektroniskie svāri ar precizitāti 0,001 g;
- laboratorijas centrifūga;
- vakuuma manifolds un sūkņi.

Šķīdumi

- *Carrez* šķīdums Nr. 1. 7,5 g kālija heksacianoferāta (II) trihidrāta ($K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3 H_2O$) 50 mL polipropilēna stobriņā izšķīdina un atšķaida līdz 50 mL atzīmei ar dejonizētu ūdeni.
- *Carrez* šķīdums Nr. 2. 15,0 g cinka acetāta dihidrāta ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2 H_2O$) 50 mL polipropilēna stobriņā izšķīdina un atšķaida līdz 50 mL atzīmei ar dejonizētu ūdeni.
- *Kustīgā fāze (A)* – dejonizēts ūdens.
- *Kustīgā fāze (B)* – acetnitrils. Degazē 10 min ultraskaņas vannā.
- *Kustīgā fāze (C)* – metanols. Degazē 10 min ultraskaņas vannā.
- *Adatas mazgāšanas šķīdums un eluēšanas šķīdums attīrīšanai ar C18 cietfāžu ekstrakcijas kolonnām* – 20 % metanola šķīdums ūdenī. 200 mL metanola atšķaida līdz 1000 mL ar dejonizētu ūdeni. Degazē 10 min ultraskaņas vannā.

Standarti un standartšķīdumi

5-(hidroksimetil)furfurāls (piem., *Sigma-Aldrich*).

- (A) Standartšķīdums ar HMF koncentrāciju ~ 1000 mg/L. ~ 10 mg tīra 5-(hidroksimetil)furfurāla 10 mL mērkolbā izšķīdina un atšķaida ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei. Standartšķīduma koncentrācijas aprēķinā ņem vērā precīzo iesvara masu, standartvielas tīrību un citus piemaisījumus. Standartšķīdums derīgs vismaz 9 mēnešus, glabājot +4 °C temperatūrā.
- Standartšķīdumu atbilstošajam kalibrēšanas līmenim iepilda 50 mL polipropilēna stobriņā un sagatavo tāpat kā paraugu, izlaižot parauga iesvēršanu.

Kalibrācijas paraugu pagatavošana

Līmenis	Kalibrēšanas šķīduma koncentrācija, mg/kg	Koncentrācija paraugā (iesvars 5 g), mg/kg	Šķīdums "A" (1000 mg/L), µL
1.	0	0	0
2.	0,4	20	100
3.	1,2	60	300
4.	2	100	500

Darba gaita

- Iesver 5,00 g homogenizēta parauga 50 mL polipropilēna stobriņā.

- Paraugam stobriņā pievieno 30 mL dejonizēta ūdens un 1 mL *Carrez* šķīduma Nr. 1.
- Kontrolparaugam stobriņā pievieno standartpiedevu: 100 µL standartšķīduma (1000 mg/L), HMF koncentrācija paraugā 20 mg/kg.
- Stobriņu intensīvi krata līdz paraugs izšķīdis.
- Pievieno ekstraktam stobriņā 1 mL *Carrez* šķīduma Nr. 2 un intensīvi sakrata.
- Stobriņu centrifugē 5 minūtes pie 3500 apgr./min.
- Ekstraktu stobriņā atšķaida līdz 50 mL atzīmei ar dejonizētu ūdeni un sakrata.
- Stobriņu centrifugē 10 minūtes pie 4700 apgr./min.
- Paraugus filtrē, izmantojot C18 cietfāžu ekstrakcijas kolonnas:
 - ✓ 2 mL parauga kvantitatīvi pārnes C18 cietfāžu ekstrakcijas kolonnā un pievieno 4 mL 20 % metanola dejonizētā ūdenī. Lēni izlaiž caur kolonnu līdz sorbenta malai, savācot 15 mL polipropilēna stobriņā.
 - ✓ Uznes papildus 4 mL 20 % metanola šķīduma un lēni izlaiž caur kolonnu līdz tā sausa, izmantojot vakuuma palīdzību.
- Ekstraktu no parauga ar HMF koncentrāciju virs 100 mg/kg atšķaida 5 reizes (piem., hromatogrāfijas pudelītē 200 µL ekstrakta pievieno 800 µL dejonizēta ūdens un samaisa).
- Šķīdumu iepilda hromatogrāfijas pudelītē un veic instrumentālo analīzi.

Instrumentālā metode

Šķīdumu hromatogrāfs *Waters Alliance 2695*, kas savienots ar *Waters 2996* UV detektoru.

<i>UV detektora parametri</i>	
Režīms	2D datu vākšana
Frekvenču joslas platums	1,2
Iztveršanas frekvence	2,0
Viļņa garums (λ)	284 nm
<i>AEŠH parametri</i>	
Kolonna	<i>Luna</i> C18 – 100 mm x 2,0 mm, daļiņu izmērs 3 µm (piem., <i>Phenomenex</i>)
Plūsmas ātrums	0,20 mL/min (gradienta režīms)
Injekcijas tilpums	7,5 µL
Analīzes laiks	25 min
Kolonnas temp.	30 °C

Gradianta programmas	<ul style="list-style-type: none"> • Kustīgā fāze "A": dejonizēts ūdens • Kustīgā fāze "B": acetonitrils • Kustīgā fāze "D": metanols 																																			
	Sekvences uzsākšanas režīms (iekļauj sekvences sākumā, 60 min)																																			
	<table border="1"> <tr> <td>A, %</td> <td>D, %</td> </tr> <tr> <td>90</td> <td>10</td> </tr> </table>	A, %	D, %	90	10																															
	A, %	D, %																																		
90	10																																			
Analīzes režīms (ievadīto paraugu šķīdumu analīzei, gradianta režīms)																																				
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Laiks</th> <th>A, %</th> <th>B, %</th> <th>D, %</th> <th>Līkne</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0,00</td> <td>90</td> <td>0</td> <td>10</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>2,00</td> <td>90</td> <td>0</td> <td>10</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>2,01</td> <td>10</td> <td>90</td> <td>0</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>7,00</td> <td>10</td> <td>90</td> <td>0</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>7,01</td> <td>90</td> <td>0</td> <td>10</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>25,0</td> <td>90</td> <td>0</td> <td>10</td> <td>6</td> </tr> </tbody> </table>	Laiks	A, %	B, %	D, %	Līkne	0,00	90	0	10	-	2,00	90	0	10	6	2,01	10	90	0	6	7,00	10	90	0	6	7,01	90	0	10	6	25,0	90	0	10	6
Laiks	A, %	B, %	D, %	Līkne																																
0,00	90	0	10	-																																
2,00	90	0	10	6																																
2,01	10	90	0	6																																
7,00	10	90	0	6																																
7,01	90	0	10	6																																
25,0	90	0	10	6																																
	Kolonnas skalošanas režīms (iekļauj sekvences beigās)																																			
	<table border="1"> <tr> <th>A, %</th> <th>D, %</th> <th>Ilgums, min</th> </tr> <tr> <td>10</td> <td>90</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>50</td> <td>50</td> <td>60</td> </tr> </table>	A, %	D, %	Ilgums, min	10	90	60	50	50	60																										
A, %	D, %	Ilgums, min																																		
10	90	60																																		
50	50	60																																		

Testēšanas iekārtu kalibrēšana un rezultātu izvērtēšana

Testēšanas iekārtas kalibrēšanu veic un HMF saturu paraugā aprēķina, konstruējot 4 punktu kalibrēšanas taisni. Par kalibrēšanas modeli izmanto lineāro funkciju. Kalibrēšanu veic vismaz reizi divās nedēļās vai pēc vajadzības.

Rezultāta aprēķināšana

Rezultāta aprēķinu veic (hromatogrāfa programmatūrā vai manuāli) pēc sekojošas formulas:

$$c_{HMF} = \frac{x \cdot d}{R \cdot 0,01}$$

, kur c_{HMF} – 5-(hidroksimetil)furfurāla koncentrācija paraugā, mg/kg;
 x – koncentrācija hromatogrāfā ievadītajā šķīdumā, mg/kg;
 d – atšķaidījums, ņemot vērā iesvara masu;
 R – vidējā atgūstamība no kontrolkartes, %.

8. Glifosāta noteikšanas metode augu un dzīvnieku izcelsmes produktos ar šķidruma hromatogrāfiju – tandēma masspektrometriju (BIOR-T-012-145-2013)

Analīzes princips un pielietošanas sfēra

Metode paredzēta glifosāta atliekvielu noteikšanai augu izcelsmes pārtikas produktos un glifosāta noteikšanu dzīvnieku izcelsmes produktos. Metode ietver savienojumu ekstrakciju ar metanolu, dzīvnieku izcelsmes

produktu ekstraktu attīrīšanu ar cietfāžu ekstrakciju un detektēšanu ar šķidrums hromatogrāfiju – tandēma masspektrometriju.

Reāģenti un materiāli

- Metanols (AEŠH tīrības pakāpe);
- acetonitrils (AEŠH tīrības pakāpe);
- dejonizēts ūdens (1. tīrības pakāpe, ūdens pretestība > 18 MΩ-cm);
- ledus etiķskābe (ACS tīrības pakāpes);
- centrifūgas filtri ar poru izmēru 0,2 μm;
- oktadecilsilikagela (C18) sorbents (piem., Sigma-Aldrich);
- papīra filtri, d=110.

Aparatūra un trauki

- Analītiskie svāri ar precizitāti 0,0001g (piem., Kern 770);
- termostatējama centrifūga (piem., Termo Multifuge-3L-R);
- automātiskās pipetes ar maināmo tilpumu;
- homogenizators vai mehāniskais maisītājs (piem., Vortex, BioSan);
- mērkolbas 1000 mL un 10 mL;
- polipropilēna stobriņi 50 mL.

Darba šķīdumi

Kustīgā fāze „A”: 1% etiķskābes šķīdums. 1 L dejonizēta ūdens pievieno 10 mL ledus etiķskābes.

Standartvielas un standartšķīdumi

Glifosāts un glifosāta ¹³C2 ¹⁵N (iekšējais standars). Analīzēm tiek izmantoti analītiski tīras standartvielas (piem., no Dr.Ehrenstorfer, AccuStandart Inc., Riedel-de Haën).

Pagatavo standarta šķīdumus ar koncentrāciju ~1000 ng/μL. Iesver standarta masu, kas atbilst 10 mg, izšķīdina ūdenī un atšķaida līdz 10 mL. Šķīdumus glabā +4 °C temperatūrā 10 gadus.

Standartpievevas pievienošanai izmanto standartšķīdumu ar koncentrāciju 10 ng/μL, ko pagatavo 10 mL mērkolbā, ņemot attiecīgo tilpumu standartšķīduma ar koncentrāciju 1000 ng/μL un atšķaidot ar ūdeni līdz atzīmei. Šķīdumu glabā +4 °C temperatūrā 1 gadu.

Iekšējā standarta pievienošanai izmanto standartšķīdumu ar koncentrāciju 10 ng/μL, ko pagatavo 10 mL mērkolbā, ņemot attiecīgo tilpumu standartšķīduma ar koncentrāciju 1000 ng/μL un atšķaidot ar ūdeni līdz atzīmei. Šķīdumu glabā +4 °C temperatūrā 1 gadu.

Analīzes veikšana

- 5 g homogenizētu parauga iesvaru ievieto 50 mL polipropilēna stobriņā un pievieno 10 mL ūdens.
- Pievieno iekšējo darba standartšķīdumu (C=100 ng/g).
- Kontrolparaugiem pievieno darba standartšķīdumu (C=50 ng/g).
- Pievieno 10 mL dejonizēta ūdens un 10 mL metanola.
- 10 min krata uz mehāniskā maisītāja.
- Centrifugē 10 min 3500 apgr./min.
- Ekstraktu filtrē caur papīra filtriem jaunā 50 mL polipropilēna stobriņā.
- 2 mL ekstrakta pārnes 15 mL polipropilēna stobriņā, kas satur 100 mg C18 sorbentu un 2 mL acetonitrila.
- Samaisa un centrifugē 5 min 3500 apgr./min.
- Nepieciešamības gadījumā filtrē caur centrifūgas filtriem.
- Pārnes autosamplera pudelītēs un analizē ar AEŠH-MS/MS.

Instrumentālā analīze

Šķīduma hromatogrāfs *Acquity UPLC* ar tandēma masspektrometrisko detektoru *QTrap 5500*.

<i>Šķīduma hromatogrāfa parametri</i>					
Kolonna	Thermo Hypercarb 100 x 2,1mm vai analoga				
Kolonnas temperatūra	40°C				
Temperatūra autosamplerī	10°C				
Kustīgā fāze "A"	1% etiķskābes šķīdums (izokrātiskais režīms)				
Plūsmas ātrums	0,3 mL/min				
Injekcijas tilpums	10 µL				
Analīzes ilgums	10 min				
<i>Masspektrometra parametri</i>					
Jonizācijas veids	ESI, negatīvajā jonizācijas režīmā.				
Skenēšanas tips	MRM				
CUR	30 psi				
CAD	Medium				
IS	-4500 V				
TEM	700°C				
GS1	40 psi				
GS2	60 psi				
<i>Analīta skenēšanas parametri</i>					
Savienojums	Q1 (Da)	Q3 (Da)	DP (V)	CE (V)	CXP (V)
Glifosāts	168	63	-50	-20	-17
	168	150	-50	-16	-17
Glifosāts 13C2 15N	171	63	-50	-20	-17

Testēšanas iekārtu kalibrēšana un rezultātu izvērtēšana

Testēšanas iekārtas kalibrēšanu, glifosāta satura aprēķināšanu paraugā veic, izmantojot paraugu ar attiecīgo standartpiedevu. Rezultātu izvērtēšanu veic atbilstoši SANTE 11813/2017 prasībām.

9. Pesticīdu noteikšana ar AEŠH-MS un GH-MS. QuEChERS metode. (LVS EN 15662:2018)

Mērķis un darbības joma

Metode paredzēta pesticīdu noteikšanai augu un dzīvnieku izcelsmes produktos. Metode ietver parauga homogenizēšanu, ekstrakciju ar acetonitrilu un attīrīšanu ar dispersīvu SPE, savienojumu noteikšanu, izmantojot šķidrums un gāzu hromatogrāfijas - masspektrometrijas metodes.

Reaģenti

- Acetonitrils (*AEŠH tīrības pakāpe*);
- etilacetāts (*Augstas tīrības organiskie šķīdinātāji*);
- QuEChERS sāļu maisījums (piem., *Phenomenex*). Saturs: 4 g ± 0,2 g bezūdens magnija sulfāta, 1 g ± 0,05 g nātrija hlorīda, 1 g ± 0,05 g trinātrija citrāta dihidrāta, 0,5 g ± 0,03 g dinātrija hidrogencitrāta seskvihidrāta;
- primāro sekundāro amīnu (PSA) maisījums (piem., *Phenomenex*). Saturs: 900 mg bezūdens magnija sulfāts, 150 mg PSA, 150 mg C18E, 15 ml centrifūgas stobriņā;
- dejonizēts ūdens (1. tīrības pakāpe, ūdens pretestība > 18 MΩ-cm);
- amonija formiāts (*ACS tīrības pakāpes*);
- ledus etiķskābe (*ACS tīrības pakāpes*).

Aparatūra un trauki

- Analītiskie svāri ar precizitāti 0,0001 g;
- mērkolbas un mērcilindri, A klase;
- stikla centrifūgas stobriņi 10 mL;
- automātiskās pipetes ar maināmo tilpumu;
- centrifūgas polipropilēna stobriņi 15 un 50 mL;
- sildīšanas iekārtas un slāpekļa ietvaicēšanas sistēma;
- hromatogrāfijas stikla 2mL mikropudeles ar ieliktniem;
- kratītājs (*piem., BioSan, Vortex*);
- termostatējama centrifūga;
- ultraskaņas vanna;

- centrifūgas filtri ar poru izmēru 0,22 μm (*piem., Ultrafree, Millipore*);
- eppendorfa stobriņi 2 mL.

Šķīdumi

5mM amonija formiāta un 0,01% etiķskābes šķīdums. 1 L mērkolbā ielej 800 mL dejonizēta ūdens, pievieno 0,315 g amonija formiāta un 100 μL ledus etiķskābes, un uzpilda mērkolbu ar dejonizētu ūdeni līdz atzīmei.

Standarti

Analīzēm tiek izmantoti analītiski tīras standartvielas (*piem., no LGC Standard, AccuStandard Inc., SigmaAldrich u.c.*). Pagatavo pesticīdu standartšķīdumus ar koncentrāciju ~1000 ng/μL. 10 mL mērkolbā iesver ~10 mg standartvielas un atšķaida ar acetonitrilu vai toluolu līdz atzīmei. Pamatšķīduma precīzo koncentrāciju aprēķina, ņemot vērā vielas tīrību un veidu, kādā savienojums atrodas standartvielā. Šķīdumus glabā -18 °C temperatūrā 10 gadus.

Augu izcelsmes produktiem standartpieejas pievienošanai izmanto pesticīdu standartšķīdumu maisījumu ar koncentrāciju 4 ng/μL, dzīvnieku izcelsmes produktiem – 10 ng/μL. Attiecīgus standartšķīdumu maisījumus pagatavo 25 vai 10 mL mērkolbās, ņemot attiecīgus standartšķīdumu tilpumus ar koncentrāciju 1000 ng/μL un atšķaidot ar acetonitrilu līdz atzīmei. Šķīdumus glabā +4°C temperatūrā 1 gadu.

Darba gaita

- Paraugus sagatavo sērijās, katrai matricai viens kalibrēšanas paraugs ar standartpiedevu beigās un viens kontroles paraugs ar standartpiedevu sākumā.
- Homogenizētu parauga iesvaru 5,0 ± 0,1 g ievieto polipropilēna stobriņā.
- Kontrolparaugiem pievieno darba standartšķīdumu līdz pesticīdu koncentrācijai paraugā 10 ng/g.
- Pievieno 5 mL ūdens.
- Pievieno 10 mL acetonitrila.
- Paraugu enerģiski krata ar rokām aptuveni 1 min.
- Pēc tam paraugam pievieno QuEChERS sāļu maisījumu.
- Pievienojot sāļu maisījumu paraugu enerģiski krata ar rokām 1 min vai 10 min uz automātiskā maisītāja.
- Paraugu centrifugē 5 min 3000 apgr/min istabas temperatūrā.
- Ja paraugs satur lielu lipīdu daudzumu, tad:
 - ✓ ekstraktu pārnes citā 15 mL PP centrifūgas stobriņā;
 - ✓ paraugu liek saldētavā -80 °C uz 10 minūtēm;
 - ✓ pēc tam paraugu centrifugē 10 min 3000 apgr/min istabas temperatūrā.

- 6 mL ekstrakta uznes uz PSA kolonnām
- Paraugu enerģiski sakrata un centrifugē 10 min 3000 apgr/min istabas temperatūrā
- 250 µL ekstrakta eppendorfa stobriņos sajauc ar 500 µL kustīgās fāzes „A” (vajadzības gadījumā ekstraktu filtrē caur centrifūgas filtriem)
- Kalibrēšanas paraugiem pievieno darba standartšķīdumu līdz pesticīdu koncentrācijai paraugā 10 ng/g (standartšķīduma daudzumu pārrēķina uz beigu acetnitrila daudzumu)
- Pārnes autosamplera pudelītēs un veic skrīninga analīzi ar AEŠH-AIMS vai apstiprinošu analīzi ar AEŠH-MS/MS.
- Pārējo ekstraktu pārnes 10 mL stikla stobriņos un ietvaicē 40 °C ūdens vannā slāpekļa plūsmā
- Sauso atlikumu izšķīdina 200 µL etilacetāta (vajadzības gadījumā ekstraktu filtrē caur centrifūgas filtriem)
- Kalibrēšanas paraugiem pievieno darba standartšķīdumu līdz pesticīdu koncentrācijai paraugā 10 ng/g (standartšķīduma daudzumu pārrēķina uz beigu acetnitrila daudzumu)
- Pārnes autosamplera pudelītēs un veic analīzi ar GH-MS/MS

AEŠH-MS/MS metode

Pesticīdu analīzei izmanto šķidrums hromatogrāfu *UltiMate 3000* ar tandēma masselektīvo detektoru *TSQ Quantiva*.

Šķidrums hromatogrāfa parametri

- Kolonna: *Kinetex C18 1,7u 100A, 50 x 3,00mm* vai analoga
- Injekcijas tilpums: 10 µL (AEŠH-MS/MS), 15 µL (AEŠH-AIMS)
- Temperatūra kolonnai: 30 °C
- Parauga temperatūra: 30 °C
- Plūsmas ātrums: 0,4 mL/min
- Gradienta režīms pēc programmas

Laiks, min	A, %	B, %	Slīpums
0	80	20	0
1	80	20	6
10	10	90	6
11	10	90	6
15	80	20	1

Tandēma masspektrometra parametri

Lieto turboizsmidzināšanas interfeisu pozitīvajā un negatīvajā jonizācijas režīmā.

- IS: (-) 2500 V
- IS: (+) 3500 V
- *Sheath gas (Arb)*: 45

- *Aux gas (Arb)*: 25
- *Sweep gas (Arb)*: 4
- Jonu pārnese caurules temperatūra: 320 °C
- Iztaicētāja temperatūra: 450 °C
- Vielu skenēšanas pārejas un sadursmju enerģijas pozitīvajā jonizācijas režīmā

Pesticīds	Molekulārais jons, Da	Meitas jons, Da	Sadursmju enerģija, eV
Acetamiprīds	223.1	90.2	36
	223.1	126.1	22
Aldikarba sulfoksīds	207.1	132.0	10
	224.1	132.0	11
Aldikarba sulfons	240.1	86.2	22
	240.1	148.0	12
Aldikarbs	208.1	89.2	19
	208.1	116.1	8
Azinfoss-etils	346.0	132.1	23
	346.0	160.1	15
Azinfoss-metils	318.1	77.0	39
	318.1	160.0	6
Azoksistrobins	404.0	344.0	35
	404.0	372.0	21
Benomils	291.0	160.0	19
	291.0	192.0	14
Bitertanols	338.0	99.0	16
	338.0	269.0	10
Boskalīds	343.2	271.0	34
	343.2	307.0	19
Bromukonazols	378.0	70.2	22
	378.0	159	32
Bupirimāts	317.3	108.1	27
	317.3	166.1	25
Buprofezīns	306.2	116.0	18
	306.2	201.0	12
Cimoksanils	199.0	111.0	20
	199.0	128.0	10
Ciprodinils	226.0	77.0	42
	226.0	93.0	38
Ciprokonazols	292.1	93.2	30
	292.1	125.0	30
Demeton-S-metils	231.1	61	43
	231.1	88.8	13
Demeton-S-metilsulfons	263.0	121.0	23
	263.0	169.0	23
Desmetil-pirimikarbs	225.0	72.0	20
	225.0	168.0	16
Diazinons	305.2	153.0	22

	305.2	169.0	22
Dietofenkarbs	268.2	180.1	18
	268.2	226.0	13
Difenokonazols	406.1	111.0	55
	406.1	251.0	25
Diflubenzurons	311.0	141.0	50
	311.0	158.0	20
Dihlorvoss	221.0	109.0	20
	223.0	109.0	20
Dimetoāts	230.1	125.1	23
	230.1	199.1	12
Dimetomorfs	388.1	165.0	34
	388.1	301.0	22
Dinikonazols	326.1	70.2	35
	328.0	70.0	35
Disulfotona sulfons	307.1	153.0	19
	307.1	171.0	17
Disulfotona sulfoksīds	291.1	157.0	31
	291.1	185.0	19
DMST	215.2	78.9	41
	215.2	215.2	19
Dodīns	228.0	57.0	24
	228.0	60.0	26
Epoksikonazols	330.0	101.0	63
	332.2	121.0	21
Etions	385.2	171.0	17
	385.2	199.1	12
Etirimols	210.0	98.0	40
	210.0	140.0	35
Etoprofos	243.0	97.0	33
	243.0	131.0	21
Fenamidons	312.2	236.2	16
	312.2	264.2	12
Fenamifosa sulfoksīds	320.0	171.0	24
	320.0	233.0	25
Fenamifosa sulfons	336.0	188.0	30
	336.0	266.0	23
Fenamifoss	304.1	202.0	36
	304.1	217.1	25
Fenarimols	331.1	81.0	31
	331.1	268.0	26
Fenbukonazols	337.0	70.0	33
	337.0	125.0	37
Fenheksamīds	302.0	55.0	36
	302.0	97.0	26
Fenoksikarbs	302.1	116.0	13
	302.1	256.0	14

Fenpiroksimāts	422.2	214.0	34
	422.2	366.0	15
Fenpropidīns	274.0	117.0	52
	274.0	147.0	31
Fensulfotions	309.1	173.0	33
	309.1	252.9	25
Fensulfotiona oksons	293.0	157.0	25
	293.0	265.0	13
Fensulfotiona oksona sulfons	309.0	175.0	25
	309.0	253.0	15
Fensulfotiona sulfons	325.1	191.0	37
	325.1	268.9	23
Fentiona oksona sulfoksīds	279.0	247.0	37
	279.0	264.0	25
Fentiona oksona sulfons	295.0	104.0	38
	295.0	217.0	31
Fentiona oksons	263.0	216.0	38
	263.0	231.0	20
Fentiona sulfoksīds	295.0	109.0	45
	295.0	280.0	25
Fentiona sulfons	311.0	109.0	25
	311.0	125.0	21
Fentoāts	321.0	79.0	42
	321.0	135.0	20
Fentions	279.0	169.0	21
	279.0	247.0	11
Flukvinkonazols	376.1	307.0	20
	376.1	349.2	21
Fluopikolīds	383.0	145.0	60
	383.0	173.0	25
Fluksapiroksads	382.0	342.0	20
	382.0	362.0	14
Fluopirāms	397.0	173.0	29
	397.0	208.0	24
Flusilazols	316.1	165.0	34
	316.1	247.1	19
Flutriafolis	302.1	70.1	19
	302.1	123.0	33
Flutolanils	324.0	242.0	35
	324.0	262.0	25
Foksīms	299.0	77.0	20
	299.0	129.0	10
Formetanāts	222.0	120.0	37
	222.0	165.2	23
Fosalons	368.0	182.0	19
	368.0	184.0	21
Fosmeta oksons	302.0	160.0	20

	302.0	77.0	65
Fosmets	317.9	133.1	34
	317.9	160.1	12
Fostiazāts	284.0	104.0	23
	284.0	228.0	12
Heksakonazols	314.1	70.2	20
	314.1	159.0	29
Heksitiazokss	353.2	168.1	25
	353.2	228.2	18
Hinoksifēns	307.8	161.9	47
	307.8	196.8	33
Hlorantraniliprols	482.0	284.0	20
	484.0	453.0	20
Hlorfenvinfoss	359.0	99.0	39
	359.0	155.0	17
Imazalils	297.1	159.0	24
	297.1	201.0	18
Imidaklopīds	256.1	175.1	20
	256.1	209.1	18
Iprovalikarbs	321.1	119.0	20
	321.1	203.0	10
Isofenfoss-metils	332.0	121.0	40
	332.0	231.0	15
Isoprotialāns	291.0	145.0	49
	291.0	189.0	31
Karbarils	202.0	127.0	30
	202.0	145.0	12
Karbendazīms	192.1	132.1	33
	192.1	160.0	20
Karbofurāns	222.1	123.1	25
	222.1	165.0	14
Karbofurāns-3-hidroksi	238.0	181.0	11
	238.0	220.0	9
Karbosulfāns	381.0	118.0	21
	381.0	160.0	17
Klofentezīns	303.0	102.0	36
	303.0	138.0	18
Klotianidīns	250.1	132.1	18
	250.1	169.0	14
Krezoksim-metils	314.2	116.0	17
	314.2	222.0	14
Linurons	249.1	160.0	17
	249.1	182.0	18
Malaoksons	315.0	99.0	37
	315.0	127.0	19
Malatjons	331.1	99.0	21
	331.1	127.0	15

Mandipropamīds	412.1	327.9	15
	412.1	355.9	11
Mepanipirīms	224.1	77.0	40
	224.1	106.0	27
Metalaksils	280.1	192.1	16
	280.1	220.1	16
Metamidofoss	142.0	94.0	16
	142.0	125.0	16
Metidations	302.9	85.1	20
	302.9	145.1	10
Metiokarba sulfoksīds	242.0	122.0	41
	242.0	185.0	19
Metiokarba sulfons	258.0	122.0	25
	258.0	201.0	13
Metiokarbs	226.0	121.0	16
	226.0	169.0	10
Metoksifenozijs	369.0	133.0	10
	369.0	149.0	18
Metomils	163.0	88.1	10
	163.0	106.1	10
Metrafenons	409.0	209.0	19
	409.0	227.0	25
Miklobutanils	289.1	70.2	19
	289.1	125.0	31
Monokrotofoss	224.0	127.0	28
	224.0	193.1	19
Oksadiksils	279.0	132.0	41
	279.0	219.0	15
Oksamils	237.	72.0	15
	237.0	220.0	9
Oksidemetonmetils	247.0	109.0	39
	247.0	169.0	21
Ometoāts	214.0	155.0	18
	214.0	183.0	13
Paklobutrazols	294.1	70.0	20
	294.1	125.0	33
Pendimetalīns	282.0	194.0	27
	282.0	212.0	17
Penkonazols	284.1	70.1	17
	284.1	159.0	31
Pencikurons	329.0	125.0	30
	329.0	218.0	16
Pimetrozīns	218.0	51.0	25
	218.0	105.0	22
Piraklostrobīns	388.2	163.0	26
	388.2	194.0	14
Piridabēns	365.2	147.0	23

	365.2	309.1	13
Pirimetanils	200.0	82.0	30
	200.0	107.0	24
Pirimifoss-metils	306.1	108.1	33
	306.1	164.0	22
Pirimikarbs	239.0	72.0	21
	239.0	182.0	16
Piriproksifēns	322.2	96.0	16
	322.2	185.3	27
Prochlorazs	376.0	266.0	18
	376.0	308.0	14
Profenofoss	373.0	303.0	23
	375.0	305.0	21
Propamokarbs	189.0	102.1	19
	189.0	144.0	14
Propikonazols	342.2	69.2	21
	342.2	159.0	29
Propizamīds	256.0	173.0	24
	256.0	190.0	16
Prosulfokarbs	252.0	86.0	21
	252.0	91.0	31
Protiokonazols-destio	312.0	70.0	30
	312.0	125.0	35
Rotenons	395.0	192.0	26
	395.0	213.0	23
Spinozīns A	732.5	98.0	47
	732.5	142.0	35
Spinozīns D	746.5	98.0	47
	746.5	142.0	34
Spirodiklofēns	411.0	71.0	24
	411.0	313.0	12
Spiroksamīns	298.2	100.0	35
	298.2	144.0	21
Spiromesifēns	371.3	255.3	25
	371.3	273.3	15
Tebufenozīds	353.1	133.0	19
	353.1	297.0	10
Tebufenpirāds	334.2	117.0	36
	334.2	145.2	28
Tebukonazols	308.2	70.2	21
	308.2	125.0	34
Terbufosa sulfons	321.1	171.0	19
	321.1	115.0	33
Terbufosa sulfoksīds	305.1	159.0	29
	305.1	187.2	17
Terbutilazīns	230.0	174.0	16
	232.0	176.0	25

Tetrakonazols	372.1	70.0	24
	372.1	159.0	39
Tetrametrīns	332.0	135.0	22
	332.0	164.0	20
Tiabendazols	202.0	131.0	35
	202.0	175.0	28
Tiakloprīds	253.1	90.2	37
	253.1	126.1	22
Tiametoksāms	292.1	132.0	24
	292.1	211.1	14
Tiodikarbs	355.0	88.0	16
	355.0	108.0	16
Tiofanāt-metils	343.2	151.0	24
	343.2	311.2	12
Triciklazols	190.0	136.0	30
	190.0	163.0	24
Triadimefons	294.1	197.1	16
	294.1	225.1	16
Triadimenols	296.1	70.0	15
	296.1	99.0	17
Triazofoss	314.1	119.1	38
	314.1	162.0	17
Trifloksistrobīns	409.3	186.0	21
	409.3	206.1	16
Triflumurons	359.0	139.0	32
	359.0	156.0	17
Trihlorfons	257.0	109.0	27
	257.0	221.0	17
Tritikonazols	318.0	70.0	20
	318.0	125.0	30
Zoksamīds	336.0	159.0	59
	336.0	161.0	59

- Vielu skenēšanas pārejas un sadursmju enerģijas negatīvajā jonizācijas režīmā

Pesticīds	Molekulārais jons, Da	Meitas jons, Da	Sadursmju enerģija, eV
Ametoctradīns	274.0	83.0	38
	274.0	121.0	38
Flubendiamīds	681.0	214.0	60
	681.0	254.0	40
Flufenoksurons	487.0	156.0	16
	487.0	467.0	10
Lufenurons	509.0	326.0	18
	509.0	339.0	17
Protiokonazols	342.0	100.0	32
	342.0	125.1	36
Teflubenzurons	379.0	196.0	22

	379.0	339.0	13
--	-------	-------	----

GH-MS/MS analīze

Masu selektīvais detektors *ThermoScientific TSQ Quantum XLS Ultra*

- Kolonna: *Zebron ZB-50 30 m × 0,25 mm × 0,25 μm* vai analoga
- Injekcijas tilpums: 1 vai 2 μL
- Injektors: *PTV Splitless*
- Nesējgāze: hēlijs, plūsmas ātrums: 1,3 mL/min
- Temperatūra: 280 °C
- Jonu avota temperatūra 250 °C
- Injektora temperatūras programma:

	No temp. (°C)	Līdz temp. (°C)	Ātrums (°C/sec)	Laiks (min)
Pārnese	70	280	14,0	10,00
Tīrīšana	280	300	10,0	25,00

- Gāzu hromatogrāfa termostata temperatūras programma:

No temp. (°C)	Līdz temp. (°C)	Ātrums (°C/min)	Laiks (min)	Kopējais laiks (min)
65	65		1,50	
65	150	30,00	0,01	
150	290	5,00	0,00	
290	320	30,00	5,00	
				38,34

- Vielu skenēšanas pārejas un sadursmju enerģijas:

Pesticīds	Molekulārais jons, Da	Meitas jons, Da	Sadursmju enerģija, eV
2-fenilfenols	170.0	115.0	20
	170.0	141.0	20
Acefāts	136.0	94.0	15
	136.0	112.0	10
Akrinatrīns	208.0	181.0	8
	181.0	152.0	23
Aldrīns	262.9	192.9	32
	264.9	229.9	26
Bifenils	153.0	152.0	15
	154.0	153.0	15
Bifentrīns	165.0	139.0	25
	181.0	141.0	22
Brompropilāts	154.9	75.9	20
	184.9	156.9	20

Pesticīds	Molekulārais jons, Da	Meitas jons, Da	Sadursmju enerģija, eV
Ciflutrīns	206.0	151.0	20
	163.0	127.0	10
Cipermetrīns	181.0	152.0	25
	163.0	127.0	10
Deltametrīns	180.9	151.9	20
	252.9	93.0	18
DDD-p,p'	236.9	164.9	20
	234.9	164.9	20
DDE-p,p'	245.9	175.9	25
	247.9	175.9	20
DDT-o,p'	234.9	164.9	20
	236.9	164.9	20
DDT-p,p'	234.9	164.9	20
	236.9	164.9	20
Dieldrīns	262.9	192.9	26
	276.9	240.9	10
Difenilamīns	167.0	139.0	25
	169.0	77.0	25
Diklorāns	205.9	175.9	10
	207.9	177.9	10
Dikofols	138.9	110.9	15
	250.9	138.9	15
Endrīns	262.9	192.9	26
	280.9	244.9	12
Endosulfāna sulfāts	386.8	240.8	15
	421.8	386.8	5
Endosulfāns alfa	240.8	205.9	20
	264.8	192.9	22
Endosulfāns beta	271.8	236.8	18
	339.8	195.9	15
EPN	157.0	110.0	15
	157.0	139.0	15
Esfenvalerāts	167.0	125.0	10
	225.0	119.0	10
Etofēnprokss	163.0	107.0	16
	163.0	135.0	10
Famoksadons	330.1	224.0	10
	330.1	237.0	15
Fenazakvīns	145.0	117.0	15
	160.0	117.0	20
Fenitrotions	260.0	125.0	10
	277.0	109.0	20
Fenpropatrīns	181.0	152.0	23
	265.1	89.0	10
Fenpropimorfs	128.1	110.0	15
	303.2	128.1	15

Pesticīds	Molekulārais jons, Da	Meitas jons, Da	Sadursmju enerģija, eV
Fentions sulfons	125.0	79.0	10
	310.0	246.0	10
Fenvalerāts	167.0	125.0	10
	225.0	119.0	10
Fipronila desulfinils	388.0	333.0	10
	333.0	281.0	10
Fipronila sulfons	255.0	228.0	25
	383.0	255.0	25
Fipronils	366.9	254.9	25
	369.9	214.9	30
Fludioksonils	248.0	127.0	50
	248.0	154.0	20
Flonikamīds	174.0	146.0	25
	174.0	69.0	25
Folpets	146.9	102.9	10
	259.9	94.9	20
Heksahlorbenzols	283.8	248.8	20
	285.8	250.8	20
Heksahlorcikloheksāns, alfa izomērs	180.9	144.9	15
	218.8	182.9	15
Heksahlorcikloheksāns, beta izomērs	180.9	144.9	15
	218.8	182.9	15
Heksahlorcikloheksāns, gamma izomērs	180.9	108.9	25
	182.9	146.9	15
Heptahlor	269.8	234.8	12
	271.8	236.8	15
Heptahlor epoksīds	352.8	262.8	15
	354.8	264.8	15
<i>cis</i> -Hlordāns	372.8	265.8	18
	409.8	374.8	5
<i>trans</i> -Hlordāns	372.8	265.8	18
	409.8	374.8	5
Hlorfenapirs	246.9	226.9	20
	248.9	228.9	20
Hlorpirifoss	196.9	168.9	15
	198.9	170.9	15
Hlorpirifoss-metils	124.9	78.9	10
	285.9	92.9	20
Hlorprofāms	213.0	127.0	15
	213.0	171.0	10
Indoksakarbs	203.0	106.0	20
	203.0	134.0	20
Iprodions	314.0	245.0	15
	314.0	271.0	10
Izokarbofoss	136.0	108.0	15
	230.0	212.0	10

Pesticīds	Molekulārais jons, Da	Meitas jons, Da	Sadursmju enerģija, eV
Kadusafoss	159.0	97.0	20
	159.0	131.0	10
Kaptāns	116.9	82.0	25
	118.9	82.0	25
Kumafoss	226.0	163.0	20
	362.0	334.0	19
Lambda-cihalotrīns	197.0	141.0	15
	181.0	152.0	23
Metribuzīns	198.1	82.0	20
	198.1	89.0	16
Metoksihlors	227.0	212.0	15
	227.0	169.0	20
Nitrofēns	202.0	139.0	21
	283.0	253.0	15
Paraoksons metils	230.0	136.0	10
	230.0	200.0	10
Parations	109.0	81.0	10
	291.0	109.0	15
Parations metils	233.0	124.0	15
	263.0	109.0	15
Permetrīns	183.0	153.0	15
	183.0	168.0	15
Pirimifoss metils	290.0	125.0	15
	290.0	233.0	10
Procimidons	283.0	96.0	15
	283.0	255.0	10
Propargīts	135.0	107.0	15
	173.0	105.0	12
Tau-fluvalināts	181.0	152.0	20
	250.0	200.0	20
Teflutrīns	177.0	127.0	20
	197.0	141.0	15
Tetradifons	226.9	198.9	18
	353.8	158.9	15
Tolilfluanīds	137.0	91.0	20
	238.0	137.0	15
Tolkofoss-metils	264.9	92.9	20
	264.9	219.9	20
Vinklozilīns	212.0	172.0	15
	285.0	212.0	15

Testēšanas iekārtu kalibrēšana un rezultātu izvērtēšana

Testēšanas iekārtas kalibrēšanu un pesticīdu satura aprēķinu veic, izmantojot paraugu ar attiecīgo standartpiedevu. Rezultātu izvērtēšanu veic atbilstoši SANTE/12682/2019 prasībām.

10. Elementu noteikšanai pielietota induktīvās plazmas masspektrometrijas metode (BIOR-T-012-148-2013)

Mērķis un darbības joma

Metode nosaka, kā jāveic elementu noteikšanu pārtikas produktos ar induktīvi saistītās plazmas masspektrometrijas (ICP-MS) metodi. Tā paredzēta vairāku elementu: alumīnija, alvas, antimona, arsēna, bārija, berilija, cinka, dzelzs, dzīvsudraba, hroma, kadmija, kalcija, kobalta, kālija, magnija, mangāna, molibdēna, nātrija, niķeļa, svina, selēna, vanādija, vara noteikšanai. Metodika ir piemērojama visu veidu pārtikas produktiem, tai skaitā svaigai gaļai un gaļas konserviem, zivīm, saldētam zivīm un zivju konserviem, pienam un piena produktiem, medum, eļļai, dzīvnieku barībai, vides paraugiem un citiem, kuri ir paredzēti mineralizācijai mikroviļņu krāsnī.

Reāģenti, šķīdumi

- Dejonizēts ūdens (no sistēmas Milli-Q), pretestība $\sim 18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$;
- Destilēts ūdens;
- Koncentrētā slāpekļskābes (HNO_3) $\geq 65\%$, augstās vai īpaši augstās tīrības pakāpes;
- Koncentrētā sālsskābe (HCl) $\geq 30\%$, augstās vai īpaši augstās tīrības pakāpes;
- Koncentrēts ūdeņraža peroksīds $\geq 30\%$, augstās vai īpaši augstās tīrības pakāpes;
- Viena elementa vai multielementu standartšķīdums.

Aparatūra, trauki

- Mērkolbas 50 mL (precizitāte $\pm 0,06 \text{ mL}$) un 100 mL (precizitāte $\pm 0,10 \text{ mL}$);
- Plastmasas kolbas 50 mL;
- Graduētas pipetes 1 mL (precizitāte $\pm 0,01 \text{ mL}$);
- Automātiska pipete 100-1000 μL ;
- Analītiskie svāri ar svēršanas iespēju 0,0001 g;
- Bezpelnu celulozes filtrpapīrs: ātras (poru izmērs 22 μm) un lēnas (poru izmērs 2.7 μm) filtrēšanas;
- Mikroviļņu krāsns CEM Mars 6 ar traukiem MARSXpress Plus;
- ICP-MS Agilent 7700x.

Testēšana procesa apraksts

Visās paraugu pagatavošanas stadijās jāizvairās no parauga piesārņojuma ar pētāmiem elementiem. Pagatavoti paraugi jātur tumsā pie temperatūras $4 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Lai nepieļautu paraugu piesārņojumu no laboratorijas

traukiem (ar Cr, Hg un citiem), jālieto plastmasas, teflona, borsilikāta vai kvarca trauki. Nepieciešamās pirmapstrādes darbības (mazgāšana, smalcināšana u.c.) dažiem paraugiem jāskatās ražotāja metodes piezīmju kopsavilkumos, normatīvajos dokumentos vai citā literatūrā.

Paraugu pagatavošana

Šī metode paredz paraugu mineralizāciju, izmantojot mikroviļņu krāsni. Lai sekotu paraugu homogenitātei un mērījumu kvalitātei, katru paraugu pagatavo dubultā (2 paralēli iesvari), iesverot tos tā, lai iesvari neatšķiras savā starpa vairāk par 30%.

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

- Paraugu sasmalcina.
- Izmantojot analītiskos svarus, mikroviļņu krāsns traukos nosver apmēram 0,3 g parauga, pēc tam ar dispenseru vai automātisko pipeti pievieno 2 mL dejonizēta ūdens, 5 mL koncentrētas slāpekļskābes un 3 mL koncentrētā ūdeņraža peroksīda, un iztur vismaz 10 minūtes.
- 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.
- Uzmanīgi atver traukus, izvadot uzkrātās gāzes pa tam paredzēto caurumu vākā, paraugu filtrē, izmantojot ātras filtrēšanas filtrpapīru, nomazgājot paraugu no trauka sienām ar dejonizēto ūdeni.
- Filtrēto paraugu pārlej 50 mL mērkolbā un uzpilda mērkolbu līdz zīmei ar dejonizēto ūdeni.
- Iegūtos šķīdumus pārlej 50 mL plastmasas kolbās.
- Ja iegūtajā šķīdumā ir saskatāmas neizšķīdušas daļiņas, filtrēšanu atkārto, izmantojot lēnas filtrēšanas filtrpapīru.

Mikroviļņu krāsns trauku mazgāšana

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

- Trauku, iekšējo un ārējo vāciņu mazgāšanu veic - nomazgājot tos ar siltu ziepju ūdeni un novācot nogulsnes no trauku dibena un sienām ar birsti un noskalojot ar krāna vai destilēto ūdeni.

- Mazgāšanu atkārtoti divas reizes, bet, ja nepieciešams, vairākas reizes, ja nelīdz, traukus atstāj uz nakti iemērtus ziepju ūdenī.
- Traukus noskalo 2 reizes ar destilēto ūdeni un tad 2 reizes ar dejonizētu ūdeni.
- Traukos iepilda 10 mL koncentrētas slāpekļskābes (ACS vai tīrākas) un traukus hermētiski aizver ar vākiem un ieliek karsēties mikroviļņu krāsnī, karsēšanas laiks 15 minūtes līdz 150 °C, izturēšanas laiks 10 minūtes. Pēc tam traukus atdzesē līdz temperatūrai ≤50 °C.
- Skābi izlej. Lai nebojātu kanalizācijas tīklu, koncentrētu skābi, pirms tās izliešanas vairākkārtīgi jāatšķaida. Traukus noskalo 2 reizes ar destilēto ūdeni un tad 2 reizes ar dejonizētu ūdeni.
- Traukus un vāciņus žāvē žāvējamā skapī uz tīriem papīra dvieļiem pie temperatūras 80-90 °C. Tīros traukus atdzesē un nogādā glabāšanas vietā.

Papildus jāseko līdzi mikroviļņu krāsns, karuseļa un trauku čaulu tīrībai, ja nepieciešams tos nomazgā siltā ziepju ūdenī, noskalo ar destilēto ūdeni un nosusina papīra dvieļi.

Hg paraugu pagatavošana

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

- Paraugu sasmalcina.
- Izmantojot analītiskos svarus, mikroviļņu krāsns traukos nosver ≥0,3 g parauga, pēc tam ar dispenseru vai automātisko pipeti pievieno 4 mL dejonizēta ūdens, 5 mL koncentrētas slāpekļskābes un 1 mL koncentrētā ūdeņraža peroksīda, un iztur vismaz 10 minūtes.
- Pēc paraugu izturēšanas mikroviļņu krāsns traukus hermētiski aizver ar vākiem un ieliek sildīties mikroviļņu krāsnī, sildīšanas laiks 60 minūtes līdz 200 °C, izturēšanas laiks 25 minūtes. Pēc tam traukus atdzesē līdz temperatūrai ≤50 °C.
- Uzmanīgi atver traukus, izvadot uzkrātās gāzes pa tam paredzēto caurumu vākā, lai stabilizētu Hg, nekavējoties paraugu nomazgā no trauka sienam ar 0,5% sālsskābes ūdens šķīdumu, paraugu pārlej 50 mL mērkolbā pievieno 0,25 mL 1 mg/L Pt standartu (ISTD) un uzpilda mērkolbu līdz zīmei ar 0,5% sālsskābes ūdens šķīdumu.
- Iegūtos šķīdumus pārlej 50 mL plastmasas kolbās.
- Ja iegūtajā šķīdumā ir saskatāmas neizšķīdušas daļiņas, paraugu filtrē, izmantojot filtrēšanas filtrpapīru.

ICP-MS analīze

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 auto kalibrēšana.

Testēšanas 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 w tiek uzdotas proporcionāli paraugā sākotnējai masai, to aprēķina pēc formulas:

$$W = \frac{\rho * V}{m}, \text{ kur}$$

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

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

V - sagatavotā parauga tilpums, mL;

m – parauga masa, pagatavojot paraugu, mg.