



# BIOR

PĀRTIKAS DROŠĪBAS, DZĪVNIĒKU VESELĪBAS  
UN VIDES ZINĀTNISKAIS INSTITŪTS

## INSTITŪTA “BIOR”

### ATSKAITE

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

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

**RĪGA 2020**

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. 20-00-SOINV05-000024

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

**GALA ATSKAITE**

Rīga  
2020

## Saturs

Ievads .....	4
1. Literatūras apskats par ZnO pārtikas piedevu .....	5
2. Literatūras apskats par SiO <sub>2</sub> pārtikas piedevu .....	10
3. Metodes apstākļi nano-ZnO un SiO <sub>2</sub> noteikšanai pārtikā .....	15
3.1. nano- ZnO analīzes .....	17
3.2. nano-SiO <sub>2</sub> analīzes .....	18
3.3. Metodes verifikācija ar Au nanodaļiņām .....	19
4. Nano-ZnO saturs Latvijā izplatītajā pārtikā.....	22
4.1. nano-ZnO saturs pārtikas produktos.....	22
5. Nano-SiO <sub>2</sub> saturs Latvijā izplatītajā pārtikā .....	29
6. Diskusija par konstatēto nanomateriālu apdraudējuma novērtējumu Latvijas patērētājiem .....	31
7. Pētnieku grupas eksperti.....	34
Secinājumi un rekomendācijas.....	36
Izmantotā literatūra .....	37

## Ievads

Dokuments ietver pētījuma projekta ietvaros apkopoto informāciju par cinka oksīda (ZnO) un silīcija dioksīda (SiO<sub>2</sub>) nano izmēru daļiņu īpašībām, pielietojumu un izplatību pārtikas kontakta materiālos un pārtikā, kā arī to kaitīguma novērtējumu pārtikas patērētājiem. Šī posma aktivitāšu mērķis bija, pamatojoties uz uzkrātajām zināšanām, izvērtēt ZnO un SiO<sub>2</sub> nanodaļiņu izplatību pārtikā un raksturot Latvijas pētnieku grupu dažādu nanodaļiņu kvantitatīvā un kvalitatīvā satura novērtējumam pārtikā un iepakojuma materiālos. Pārskata periodā sasniegti sekojoši plānotie rezultāti:

- apkopota informācija par ZnO un SiO<sub>2</sub> nanodaļiņu izplatību pārtikas iepakojumos, migrāciju un potenciālo bīstamību;
- izstrādātas instrumentālās metodes nano-ZnO un nano-SiO<sub>2</sub> satura noteikšanai pārtikā, pielietojot iepriekš izstrādāto un institūtā ieviesto iekšlaboratorijas induktīvi saistītās plazmas - kvadrupola masspektrometrijas metodi vienas daļiņas (single particle: sp-ICP-MS) mērīšanas režīmā titāna oksīda nanodaļiņu noteikšanai, kas optimizēta, lai noteiktu nano-ZnO un nano-SiO<sub>2</sub> nanodaļiņu skaitu dažādos pārtikas produktos. Metožu piemērotība pārbaudīta ar 60 nm zelta (Au) standartu un metodes pielietotas ievākto paraugu raksturošanai.
- Apzināta materiāli tehniskās bāzes pieejamība un Latvijas zinātnieku grupa, kuru laboratorijas potenciāli spēj nodrošināt materiāli tehnisko bāzi nanodaļiņu noteikšanai un raksturošanai pārtikas produktos un pārtikas iepakojuma materiālos.

Projekta ietvaros ir apzināta biežāk sastopamo pārtikas piedevu nanofrakciju izplatība Latvijas patērētājiem pieejamā pārtikā, kā arī ieviestas jaunas metodes. Pamatojoties uz literatūras analīzi un eksperimentālo darbu, var uzskatīt, ka nanodaļiņu klātbūtne nerada būtisku apdraudējumu Latvijas patērētājiem, vienlaikus projekta ietvaros izveidotā grupa un uzkrātās pētnieciskās atziņas ir nozīmīgas pārtikas kontrolei, tai skaitā nodrošinot potenciālas iespējas nanodaļiņu novērtējumam Latvijas pārtikas produktos un iepakojuma materiālos.

Ziņojuma pirmajās divās nodaļās apkopotas jaunākās atziņas par ZnO un SiO<sub>2</sub> īpašībām, izplatību pārtikā un pārtikas kontakta materiālos, tai skaitā apkopotas Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestādes (EFSA), Eiropas Komisijas (EK) un citu starptautisko institūciju atziņas par nano-ZnO un nano-SiO<sub>2</sub> toksisko īpašību novērtējumu un ekspozīcijas riskiem patērētājiem.

Trešajā nodaļā raksturota aprobētā institūtā BIOR izstrādātā iekšlaboratorijas metode nanodaļiņu noteikšanai pārtikā, kas optimizēta un pielietota nano-ZnO un nano-SiO<sub>2</sub> noteikšanai pārtikas produktos.

Ceturtajā nodaļā aprakstīti rezultāti, pielietojot Latvijas produktu parbaudēs: novērtēts ZnO saturs divdesmit piecos pārtikas paraugos, kas ietvēra maizi, sierus, burkānus, kā arī SiO<sub>2</sub> nanodaļiņu saturs divdesmit piecās dažādās sauso produktu matricās (kafijas krējumi, sojas piena pulveris, ātri pagatavojamās nūdeles, garšvielas un citi sausie produkti, no kuriem dažiem bija norādes par E551 klātbūtni).

Piektajā nodaļā raksturota Latvijas pētnieku kapacitāte nanodaļiņu novērtējumam pārtikā un pārtikas iepakojumos.

Pamatojoties uz iegūtajiem rezultātiem, sagatavoti secinājumi un rekomendācijas.

## 1. Literatūras apskats par ZnO pārtikas piedevu

Mikrobioloģiskais piesārņojums ir viens no pārtikas piesārņojuma veidiem, kas, nokļūstot uz pārtikas produktu virsmas, var vairoties un vielmaiņas procesos radīt toksīnus, tādējādi kļūstot par cilvēku saindēšanās iemeslu.

Pārtikas ražošanas uzņēmumi ir ieinteresēti, lai pārtikas ražošanas, pārstrādes, pārvadāšanas un uzglabāšanas jomā mikroorganismi strauji nevaikotos un patērētājam piegādātā prece būtu kvalitatīva.

Iepakojumam ir svarīga loma pārtikas kvalitātes saglabāšanā. Tiek izstrādāti inovatīvi iepakojuma veidi ar antibakteriālām īpašībām. Šādi kontaktmateriāli aizkavē mikroorganismu vairošanos uz pārtikas produktu virsmas, līdz ar to ļauj izvairīties no augstu konservantu līmeņu pievienošanas pārtikas produktu sagatavošanas procesā, kā arī ļauj pagarināt pārtikas glabāšanas laiku (Soares et al., 2009). Iepakojuma materiālus ar antibakteriālām īpašībām iesaka izmantot arī pārtikas produktu grupām, kuras termiski neapstrādā (Espitia et al., 2016).

Pētījumos ir noskaidrots, ka nano daļiņu izmēra metāliem, metālu oksīdiem kā sudrabam, vara (I) un (II) oksīdiem, titāna (IV) oksīdam un cinka oksīdam piemīt antibakteriālās īpašības, kas kavē mikroorganismu vairošanos (Bradley et al., 2011; Chaudhry et al., 2008; Cioffi et al., 2005). Šiem neorganiskajiem savienojumiem nano izmērā piemīt antibakteriālās īpašības jau zemās koncentrācijās to lielā virsmas laukuma dēļ. Šīs nano izmēra daļiņas generē aktīvās skābekļa formas (ROS), izraisot šūnu bojājumus. Nanostrukturētajiem materiāliem piemīt lielāka virsmas pret tilpumu attiecība, līdz ar to lielu daļu sistēmas veido virsmas atomi, kas var piedalīties virsmas reakcijās (Rai et al., 2009).

Cinku (Zn) dažādu savienojumu veidā izmanto uztura bagātinātāju sastāvā, jo tas ir būtisks mikroelements, kas nepieciešams cilvēku veselības un labsajūtas uzturēšanai (Ameta et al., 2020). Nepieciešamo cinka līmeni organismā uzņem kopā ar uzturu no dabīgiem pārtikas avotiem cinka oksīda formā. Zn piemīt antivirālā un antimikrobiālā iedarbība, tas veicina imunitāti, piedalās olbaltumvielu sintēzē, paātrina brūču dzīšanas un uzlabo asins recēšanas procesus. Zn ir organisma fermentu sistēmas regulētājs. Zn ir būtisks elements, kas nepieciešams vairāk nekā 300 enzīmu darbībai (SCF, 2003).

**ZnO** var kristalizēties trīs kristālrežģa struktūru veidos – vurcīta, cinka spīdes (sfalerīts) un akmens sāls (Özgür et al., 2005). Termodinamiski visstabilākā ir vurcīta kristālrežģa struktūra. Zn oksīdam ir daudzpusīgs pielietojums, to lieto kosmētikā, biomedicīnā (piem., zāļu piegādē), sensoru izgatavošanā, tā nanostrukturās – optoelektronikā, nanoelektronikā u.c.; ZnO ir bagāta nanostrukturū daudzveidība, to var sintezēt nanopavedienu, nanostieņu, nanocauruļu, nanoadatu, nanogredzenu u.c. veidos (Oprea et al., 2014).

**Nano-ZnO daļiņu antimikrobiskā iedarbība.** Literatūrā aprakstītie pētījumi *in vitro* parāda, ka *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (Adams et al., 2006; Gordon et al., 2011; Reddy et al., 2007), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni* (Brayner et al., 2006; Ohira et al., 2008; Premanathan et al., 2011; Sawai, 2003), un *Lactobacillus plantarum* (Emamifar et al., 2010) ir jutīgi pret ZnO nanodaļiņām.

Saskaņā ar He et al. (2011), *Botrytis cinerea* un *Penicillium expansum* ir jutīgs pret ZnO nanodaļiņām. Pretmikrobu aktivitātes testā tika noskaidrots, ka *P. expansum* bija jutīgāks par *B. cinerea* pret šo nanodaļiņu aktivitāti.

**Nano-ZnO pielietojums pārtikas iepakojuma materiālos.** Nano izmēra ZnO pievienošana polimēra matricās uzlabo iepakojuma materiāla iesaiņojuma īpašības, piem., mehānisko stiprību, stabilitāti (Espitia et al., 2016). Šāda veida iepakojumu izmanto ne tikai, lai kavētu mikroorganismu vairošanos uz pārtikas produktu virsmas, bet arī, lai aizsargātu pārtikas produktus no ultravioletā starojuma iedarbības, ja pārtika ir pret to sensitīva (Ameta et al., 2020). Turklāt UV starojuma ietekmē ZnO veido ūdeņraža peroksīdu, kas baktēriju šūnās var izraisīt oksidatīvo stresu (Chaudhary et al., 2020).

Salīdzinājumā ar citām nano izmēra daļiņām, piemēram, sudrabu, titāna (IV) oksīdu, ZnO ir ievērojami lētāks savienojums (*Polat et al., 2018*), un līdz ar to tam pievērsta daudz lielāka uzmanība iepakojuma materiālu industrijas nozarē.

Nano izmēra ZnO tiek iestrādāts dažāda veida iepakojuma materiālos, piemēram, zema blīvuma polietilēnā (LDPE), polipropilēnā (PP), poliuretānā (PU), polivinilhlorīdā (PVH), kā arī dabiskos polimēros – celulozē, želatīnā, hitozānā, cietē.

1. tabulā ir apkopota informācija par dažādiem iepakojuma polimēra nanokompozītmateriāliem svaigu augļu, gaļas, zivs produktu ilgākai uzglabāšanai (*Kim et al., 2020*). Šajos pētījumos tiek novērtēta pārtikas produkta kvalitāte, uzglabājot tos konkrētos apstākļos. ZnO koncentrācija iepakojuma materiālā galvenokārt svārstās robežās no 0,5 līdz 5%.

**1. tabula**

**Dažādi iepakojuma polimēra nanokompozītmateriāli pārtikas uzglabāšanai.**

Iepakojuma nanokompozītmateriāls ar pretmikrobu darbību	Nano izmērs ZnO, morfoloģija	ZnO koncentrācija, %	Pārtikas produkts	Literatūras avots
<b>Dabisko polimēru iepakojuma veids</b>				
Želatīns/ ZnO	30 nm	5	Vistas fileja un siers	<i>Amjadi et al., 2019</i>
Želatīns/ZnO	<100 nm stieņveida struktūra	2	Garneles	<i>Ejaz et al., 2018</i>
Karboksimetilceluloze /ZnO	25-55 nm nano stieņi	20	Hurma, tomāti	<i>Saekow et al., 2019</i>
Karboksimetilceluloze / hitozāns / ZnO		2; 4; 8	Mīkstais siers	<i>Youssef et al., 2016</i>
Hitozāns-karboksimetilceluloze / ZnO	<25 nm	0,5; 1; 2;	Maize	<i>Noshirvani et al., 2017</i>
Hitozāns / celulozes acetāta ftalāts / ZnO	30 nm	2,5; 5; 7,5	Melnās vīnogas	<i>Indumathi et al., 2019</i>
Polibutilēna sukcināts / ZnO	100 nm	2-10	-	<i>Petchwattana et al., 2016</i>
Poli (pienskābe) / ZnO	-	0,5; 1; 1,5	Zivs	<i>Heydari-Majd et al., 2019</i>
Agars / poli (pienskābe) / ZnO	24,75±0,78 nm	2; 4	Zaļās vīnogas	<i>Kumar et al., 2019</i>
Manna / ZnO / Kaolīns	Divdimensiju stieņa ZnO (d:50-100 nm, g: 0,5-2 μm)	1; 3; 5	Mozzarellas siers	<i>Jafarzadeh et al., 2019</i>
<b>Naftas pārstrādes produktu iepakojuma veids</b>				
Zema blīvuma polietilēns / ZnO	<10 nm	1; 3; 5	Zemenes	<i>Emamifar et al., 2015</i>
Polipropilēns / ZnO un polipropilēns / Ag	70 nm	0,5; 1; 3; 5	Svaigi spiesta citronu sula	<i>Polat et al., 2018</i>
Poliuretāns / hitozāns / ZnO	30 nm	1; 3; 5	Burkāni	<i>Indumathi et al., 2019b</i>

Literatūrā ir aprakstīti dažādi nanokompozītmateriālu (nano izmēra ZnO/ polimērs) iepakojumu veidi pretmikrobu darbības novērtēšanai. Piemēram, papīrs, kas pārklāts ar ZnO nanodaļiņām (20 nm), uzrāda pretmikrobu iedarbību pret *E. Coli* (*Ghule et al., 2006*).

Savukārt citā pētījumā ir apliecināts, ka PU plēves, apstrādātas ar ZnO (27 nm), veicina antimikrobiālo iedarbību pret *E. coli* un *B. subtilis*.

*E. coli* ir jutīgāki pret izstrādāto nanokompozītmateriālu (*Li et al., 2009*). Līdzīgus rezultātus ieguva *Applerot et al. (2009)* pētnieku grupa, demonstrējot, ka stikls, kas pārklāts ar

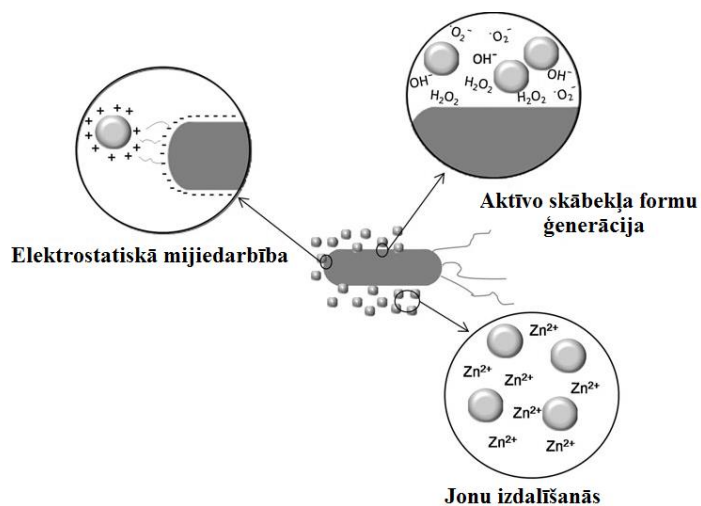
ZnO nanodaļiņām (300 nm), ir efektīvs iedarbībai pret *E. coli*, samazinot to daudzumu par 89%. Hitozāna un polivinilspirta (PVS) plēves, kas apstrādātas ar ZnO nanodaļiņām (25-30 nm), uzrādīja antibakteriālu iedarbību pret *S. aureus* (Vicentini et al., 2010). Uz stikla virsmas deponētie ZnO nanostieņi (30 nm diametrā un 500 nm garumā) uzrādīja pretsēnišu iedarbību pret *Candida albicans* (Eskandari et al., 2011).

Apkopojot informāciju redzams, ka nanokompozītmateriāliem, kuros ir iestrādātas nano izmēra ZnO, ir inhibējoša iedarbība pret *E. coli*.

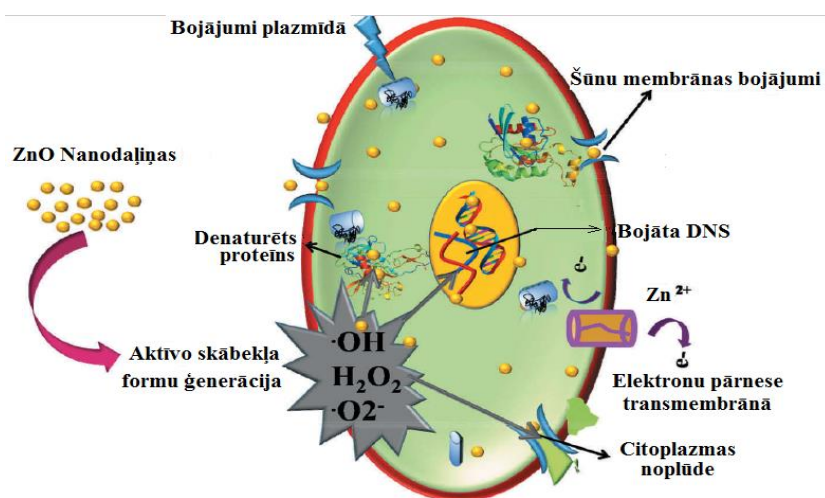
Precīzs ZnO nanodaļiņu darbības mehānisms joprojām nav zināms. Tomēr šo nanodaļiņu pretmikrobu aktivitāte tiek attiecināta uz vairākiem iespējamiem mehānismiem (skat. 1. att.):

- jonu izdalīšanos (Kasemets et al., 2009);
- nanodaļiņu mijiedarbību ar mikroorganismiem (Zhang et al., 2008);
- aktīvo skābekļa formu (ROS) veidošanos gaismas starojuma ietekmē (Jalal et al., 2010).

Darbības mehānisms ir atkarīgs no mikrobu veida. 2. attēlā parādīts ZnO nanodaļiņu iedarbības mehānisms uz baktērijām.  $Zn^{2+}$  jonu absorbcijas gadījumā, rodas baktēriju šūnu membrānas, DNS un mitohondriju bojājumi, kā arī aktīvo skābekļa formu ģenerācija izraisa oksidatīvo stresu un šūnu bojājumus (Kim et al., 2020).



1. attēls. Dažādi ZnO nanodaļiņu pretmikrobu darbības mehānismi (Espitia et al., 2012).



2. attēls. ZnO nanodaļiņu iedarbības mehānisms uz baktērijām (Kim et al., 2020).

**Literatūras dati par drošību patērētājam.** Nano izmēra daļiņām var būt atšķirīgas fizikālās, ķīmiskās un bioloģiskās īpašības salīdzinājumā ar makro izmēra daļiņām, jo tām piemīt lielāka virsmas pret tilpuma attiecība (*Espitia, 2016*)

Nano izmēra daļiņu/jonu migrāciju no iepakojuma materiāliem pārtikas produktos var ietekmēt daudz dažādi faktori: nanokompozīta īpašības (koncentrācija, forma, dispersija), vides faktori (mehāniskā spriedze, temperatūra utt.), pārtikas produkts (pH un sastāva), polimēra īpašības (viskozitāte un struktūra) un kontakta ilguma.

Drošības apsvērumu dēļ ir jākontrolē migrācija no iepakojuma materiāliem pārtikas produktos, tādējādi nodrošinot iesaiņotā produkta kvalitāti.

Eiropas Savienības Komisijas Regulā 2016/1416 (*Komisijas Regula, 2016*) par plastmasas materiāliem un izstrādājumiem, kas paredzēti saskarei ar pārtiku noteikts, ka plastmasas materiāli un izstrādājumi nedrīkst izdalīt cinku daudzumos, kas pārsniedz īpatnējās migrācijas robežu 5 mg/kg pārtikas vai pārtikas aizstājēja. Šāds lēmums tika pieņemts saistībā ar Pārtikas zinātniskās komitejas pausto 2002. gadā (*SCF, 2003*), kas nosaka maksimālo pieļaujamo cinka devu pieaugušajiem 25 mg dienā.

Ņemot vērā Pārtikas Zinātniskās Komisijas ieteikumus, Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestāde (*EFSA, 2018*) ir izveidojusi pārskatu par pieļaujamo maksimālo uzņemšanas devu, lai nekaitētu cilvēka veselībai (Zn šajā gadījumā ir kā minerālviela) (skat. 2. tabulu).

**2.tabula**

**Pieļaujamā maksimālā cinka uzņemšanas deva cilvēka organismā (mg/dienā)**

Vecums (gadi)	Pieļaujamā maksimālā cinka uzņemšanas deva, mg/dienā
1-3	7
4-6	10
7-10	13
11-14	18
15-17	22
Pieaugušie	25

Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestāde (*EFSA, 2014*) ir izstrādājusi pārskatu par ieteicamo dienas devu cinkam (skat. 3. tabulu).

**3. tabula**

**Vidējā cinka uzņemšanas deva organismā (mg/dienā)**

Vecums (gadi)	Vidējais daudzums, mg/dienā
1-3	3,6
4-6	4,6
7-10	6,2
11-14	8,9
15-17 (Vīriešiem)	11,8
15-17 (Sievietēm)	9,9

Literatūrā aprakstītie toksikoloģiskie pētījumi ir veikti, tieši pievienojot ZnO nanodaļiņas mērķa šūnām. *Oprea et al. (2014)* ziņoja, ka ZnO nanodaļiņas rada minimālu iedarbību uz šūnām cilvēka organismā, tai pašā laikā tās ir selektīvi toksiskas baktērijām. Ir veikti pētījumi, kuros norādīts, ka nano izmēra ZnO ir aktīvs attiecībā uz resnās zarnas karcinomas šūnām (*De Berardis et al., 2010*), hepatokarcinomas šūnām (*Zhang et al., 2011*). Pretstatā iepriekš minētajam ir pierādīts, ka ZnO nanodaļiņas ir toksiskas bronhu epitēlija šūnām (*Heng et al., 2010*), plaušu epitēlija šūnām (*Hsiao and Huang, 2011; Huang et al., 2010*) un nieru šūnām (*Pujalté et al., 2011*). Nepieciešami turpmāki papildus toksikoloģiskie pētījumi, lai izprastu, kā



nanodaļiņas darbojas cilvēka organismā, lai labāk izprastu to absorbciju, biotransformāciju un eliminācijas veidus.

## 2. Literatūras apskats par SiO<sub>2</sub> pārtikas piedevu

Plaša nanotehnoloģiju ieviešana dažādās nozarēs, piem., pārtikas tehnoloģijā, ķīmijā, farmācijā, kosmētikā, biomedicīnā, informāciju tehnoloģijā u.c., rada dzīves kvalitātes uzlabojumus, to ieviešanai ir nozīmīga ekonomiskā loma. Pārtikas rūpniecībā nanodaļiņu saturošos ķīmiskos savienojumus galvenokārt izmanto kā pārtikas piedevas, uzlabojot produktu struktūru, garšu, tekstūru, krāsu, vai arī iestrādā pārtikas iepakojumu materiālā, nodrošinot produktu aizsardzību pret ārējās vides faktoru ietekmi (UV starojuma iedarbība, krāsas temperatūras maiņas u.c.), ķīmisko un mikrobioloģisko piesārņojumu (*Baranowska Wójcik et al., 2019; Bouwmeester et al., 2014*).

Paplašinoties nanomateriālu izmantošanai pārtikas tehnoloģijā, svarīgi ir pārzināt šo nanoizmēra materiālu īpašības un raksturlielumus un noskaidrot, vai tie nevar radīt potenciālus veselības apdraudējumus. Saskaņā ar Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestādes rekomendācijām (*EFSA, 2019*) noteikts, ka prioritāte nanomateriālu izvērtēšanā ir šādām pārtikas piedevām – silīcija dioksīdam, SiO<sub>2</sub> (E 551) un titāna dioksīdam, TiO<sub>2</sub> (E 171). Šīs neorganiskās vielas, kuras satur arī nanoizmēra daļiņas, jau ilgstoši tiek izmantotas kā pārtikas piedevas. SiO<sub>2</sub> (E 551) kā pārtikas piedevu izmanto, lai palielinātu pulverveida pārtikas birstamību, lai izvairītos no sabiezēšanas.

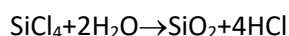
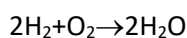
**SiO<sub>2</sub> raksturojums.** Saskaņā ar *Fruijtjer-Poelloth, 2012* - ir trīs galvenās SiO<sub>2</sub> formas: i) kristālisks silīcija dioksīds, ii) amorfs silīcija dioksīds (dabiski sastopams vai kā blakusprodukts kausētā silīcija dioksīda veidā) un (iii) sintētisks amorfs silīcija dioksīds (SAS) dažādos veidos – silikagels, nogulsnēts silīcija dioksīds, pirogēnais (kūpinātais) silīcija dioksīds un koloidālais silīcija dioksīds.

Tikai sintētisko amorfo silīcija dioksīdu (SAS) var izmantot kā pārtikas piedevu (E 551) silikagela, nogulsnētā silīcija dioksīda, pirogēnā silīcija dioksīda formā. Koloidālo silīcija dioksīdu izmantot nav atļauts (*EFSA, 2018*).

SAS ir balta pulverveida viela, pēc taustes mīksts pulveris vai granulas, higroskopisks.

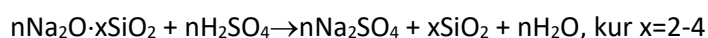
Saskaņā ar *Komisijas Regulu (ES) Nr. 231/2012* pārtikas piedevu silīcija dioksīdu (E 551) definē kā “amorfu vielu, ko ražo sintētiski vai nu hidrolīzes procesā tvaika fāzē, iegūstot kūpināto silīcija dioksīdu, vai arī slapjajā procesā, iegūstot izgulsnēto silīcija dioksīdu, silikagelu vai silīcijskābi. Kūpināto silīcija dioksīdu ražo bezūdens stāvoklī, bet slapjā procesa produktus iegūst kā hidratētus vai tie satur ar virsmu absorbētu ūdeni”.

**Sintētiskā amorfā silīcija dioksīda ražošanas tehnoloģijas.** Termiskās ražošanas procesā, notiek gaistošo hlorosilānu (piemēram, tetrahlorosilāna) hidrolīze skābekļa (gaisa) / ūdeņraža gāzes liesmā (liesmas temperatūra > 1000°C) sekojošās ķīmiskās reakcijās:



Ir noteikts, ka SiO<sub>2</sub> daļiņu lielums reaktorā mainās robežās no 5 līdz 50 nm, temperatūras gradienta ietekmē reaktorā veidojas lielākas agregētas daļiņas ar izmēru ~100 nm un pēc tam veidojas aglomerāti ar daļiņu izmēru 1–250 μm.

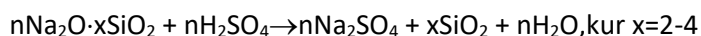
Slapjā procesā nogulsnēto amorfo silīcija dioksīdu ražo, sārmu metālu silikātu šķīdumu reakcijā ar skābi (*EFSA, 2018*):



Iegūtās nogulsnes filtrē, mazgā, dehidrē, samāļ. Pēc žāvēšanas nogulsnēto silīcija dioksīdu var samalt, lai iegūtu daļiņas ar noteiktu izmēru.

2 stundu laikā veidojas želejveida nogulsnes, daļiņu lielums ir aptuveni 500–600 μm (ECETOC, 2006; EFSA, 2018).

Saskaņā ar (EFSA, 2018) dokumentāciju silikagelu iegūst, neitralizējot sārmu metālu silikātu šķīdumu ar skābi, saskaņā ar sekojošo ķīmisko reakciju:

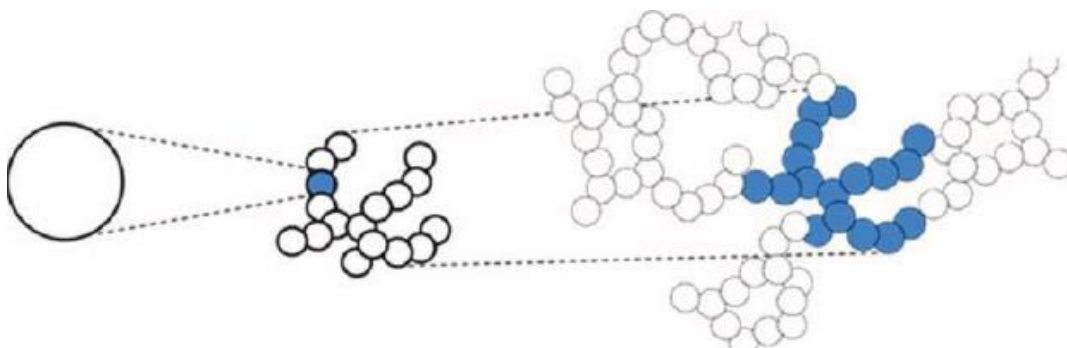


Pirmajā posmā veidojas hidrosols, ko iegūst, sajaucot nātrija silikāta šķīdumu ar atšķaidītu minerālskābi (parasti sērskābi, bet var izmantot arī citas skābes). Šķīduma pārveidošanos gēlā raksturo viskozitātes palielināšanās un iekšējās struktūras pārveidošanās lielākos agregātos, līdz viss materiāls pārveidojas cietā agregātstāvoklī. Kontrolējot mazgāšanas, žāvēšanas apstākļus, vielas fizikālie parametri (t.i., porainība, poru lielums, daļiņu lieluma sadalījums, agregācijas un/vai aglomerācijas pakāpe, virsmas laukumi) tiek koriģēti, iegūstot dažādu silikagela produktu klāstu. Pēc žāvēšanas silikagelu samal, lai iegūtu noteiktu daļiņu lieluma sadalījumu.

Savstarpēji salīdzinot SAS veidus, silikagelam parasti ir šaurākas poras nekā nogulsnētajam silīcija dioksīdam.

**Silīcija dioksīda daļiņu izmērs (E 551).** Saskaņā ar EFSA, 2018 informāciju, lai veiktu savu funkciju kā pretsalīpes viela, kas mazina pārtikas produktu daļiņu salīpšanu, silīcija dioksīda (E 551) daļiņu izmēriem ir jābūt lielākiem par 100 nm, bet viennozīmīgi tās satur arī primārās daļiņas.

Primārās daļiņas saplūstot kopā, veido agregātus (skat. 4. att.), kas, izmantojot ūdeņraža saišu mijiedarbību, veido aglomerātus. Agregātu izmēra lielums parasti ir >100 nm. Primārām daļiņām ir grūti atbrīvoties no agregātiem. Aglomerātus "oriģinālajos" agregātos var atdalīt ar spēcīgu atšķaidīšanu un dispersiju (piemēram, ūdens vai organiskos šķīdinātājos, izmantojot maisītājus un / vai ar ultraskaņas palīdzību). Sintētiskā pulvera veida amorfā silīcija dioksīda vidējais daļiņu izmērs parasti ir mikrometru diapazonā.



**3.attēls. Pirogēnā silīcija dioksīda struktūras attīstības secība – primārās daļiņas; agregāts, aglomerāts. (Peters et al., 2012).**

Agregātu daļiņu grupa veidojas spēcīgu pievilksanās spēku - kovalento vai metālisko saišu dēļ. Savukārt vājāku van der Vālsa, elektrostātiskās pievilksanās spēku dēļ, veidojas aglomerātu daļiņu grupa.

Saskaņā ar Komisijas lēmumu 2011/696/ ES11 - nanomateriāls ir "dabisks, kā blakusprodukts radies vai rūpnieciski ražots materiāls, kas satur nesaistītas, aglomerācijās vai sakopojumos esošas daļiņas, ja ģeometrisko izmēru skaitliskajā sadalījumā vismaz 50 % daļiņu kāds no izmēriem ir diapazonā no 1nm līdz 100nm".

Saskaņā ar Regulu (ES) 2015/2283 par jauniem pārtikas produktiem – ar inženierijas paņēmieniem iegūts nanomateriāls ir ar nolūku izgatavots materiāls, kam viens vai vairāki izmēri ir 100 nm vai mazāk, vai kas iekšpusē vai virsmas līmenī sastāv no smalkām funkcionālām daļām, no kurām daudzām viens vai vairāki izmēri ir 100 nm vai mazāk, tostarp struktūras,

aglomerāti vai sakopojumi, kuru izmērs var būt virs 100 nm, bet kuri saglabā nanoizmēram raksturīgās īpašības.

EFSA, 2018 ekspertu grupa uzskata, ka pārtikas piedeva silīcija dioksīds (E 551) ir nanoizmēra materiāls, kuru veido agregētas primārās daļiņas. Agregātu un / vai aglomerātu struktūru izmēri parasti ir lielāki par 100nm. Tomēr materiāla īpatnības un / vai ražošanas process var ietekmēt agregātu izmēru, tas var būt mazāks par 100nm.

Ir pieejamas vairākas analītiskās metodes nanomateriālu daļiņu izmēra noteikšanai, t.i., dinamiskās gaismas izkliedes metode (DLS), lāzera difrakcijas metode (LD), transmisijas elektronu mikroskopija (TEM), skenējošā elektronu mikroskopija (SEM). Katra no šīm metodēm mēra atšķirīgus daļiņu raksturlielumus, kas atspoguļojas dažādās iegūtajās skaitliskajās lieluma vērtībās.

**Silīcija dioksīda daļiņu izmēra analīze pārtikas produktos.** Apkopojot zinātniskos rakstos (skat. 4. tabulu) ievietoto informāciju, ir iegūti sekojoši secinājumi - silīcija dioksīda procentuālais daudzums (%) nanoformā pārtikas produktos var mainīties robežās no <4% līdz aptuveni 40%, savukārt nanodaļiņu izmērs parasti ir robežās no 50-200 nm.

Pētījuma (*Dekkers et al., 2011*) ziņojumā publiskota informācija par silīcija dioksīda nanodaļiņu (50–200 nm) klātbūtni 11 pārtikas produktos. Pētījumā tika izmantots hromatogrāfs savienots kopā ar induktīvi saistītās plazmas masspektrometru (HDC-ICP-MS). Silīcija dioksīda procentuālais daudzums (%) nanoformā pankūku miltos bija 4% savukārt spārgeļu zupā 33%.

Saskaņā ar *Peters et al., 2012* pētnieku grupas ziņojumu, nanosilīcija dioksīda procentuālais daudzums pankūkās ir 4% (līdzīgi kā iepriekš aprakstītajā pētījumā), melnajā kafijā - 29%. Analīzes metode – HDC-ICP-MS.

Saskaņā ar *Athinarayanan et al., 2015* ziņojumu, SiO<sub>2</sub> tika noteikts divos pārtikas produktos – “nulle kaloriju” saldinātājā un vaniļas aromāta pulverī, izmantojot TEM analīzes metodi. Tika konstatēts, ka primāro daļiņu izmērs variē robežās no 20 līdz 50 nm. DLS analīzē tika noteikts, ka primārās daļiņas veido agregātus aptuveni 160 nm izmērā.

Nano-SiO<sub>2</sub> daļiņu izmērs pārtikas produktos

Paraugs	Parauga raksturojums	Literatūras avots
32 pārtikas produkti	11 produktos tika konstatēts SiO <sub>2</sub> nanodaļiņu izmērā (50 – 200 nm). Silīcija dioksīda daudzums (%) nanoformā svārstās <4% pankūku maisījumā 33% sparģeļu zupā 19% kafijas krēmā	<i>Dekkers et al., 2011</i>
3 pārtikas produkti (melnā kafija, zupa, pankūkas)	Silīcija dioksīda (5–200 nm) procentuālais daudzums attiecībā pret kopējo silīcija dioksīda daudzumu pārtikas produktos ūdenī 5% pankūkās (E 551 piedeva) 13% zupā (E 551 piedeva) 29% melnajā kafijā (E 551 piedeva)	<i>Peters et al., 2012</i>
1 pārtikas produkts (kafijas krēms)	11% no visa silīcija daļiņu izmērs variē robežās no 1 līdz 100 nm	<i>Heroult et al., 2014</i>
2 pārtikas produkti (saldinātājs un vaniļas aromāta pulveris)	Primāro SiO <sub>2</sub> daļiņu izmērs robežās no 20 līdz 50 nm.	<i>Athinarayanan et al., 2015</i>

Nosakot pārtikas piedevu lietošanu un maksimālo daudzumu, ir jāņem vērā attiecīgās pārtikas piedevas uzņemšana no citiem avotiem un tās izmantošana pārtikā, ko lieto īpašas patērētāju grupas (piemēram, alergiski patērētāji).

Pašlaik SiO<sub>2</sub> (E 551) ir atļauta pārtikas piedeva ES divdesmit divās pārtikas produktu kategorijās (skat. 5. un 6. tabulu) intervālā no 2000 līdz 30 000 mg/kg, citos gadījumos *quantum satis* (QS). Silīcija dioksīdu (E 551) ir atļauts lietot kopā ar silikātiem (E 552, E 553a un E 553b).

Pārtikas produkti, kuri var saturēt silīcija dioksīdu (E 551), un maksimāli pieļaujamais daudzums, atbilstoši *Regulai (EK) Nr. 1129/2011*

Kategorijas Nr.	Pārtikas produktu grupa	E numurs/ grupa	Nosaukums	Ierobežojumi/ izņēmumi	Maksimālais daudzums (mg/L vai mg/kg)
0	Pārtikas piedevas, kuras atļautas visās pārtikas kategorijās	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti	Tikai sausa pulverveida pārtika (t. i., pārtika, kura tiek žāvēta ražošanas procesā, un tās maisījumi)	10 000
0	Pārtikas piedevas, kuras atļautas visās pārtikas kategorijās	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti	Tikai pārtika tablešu un apvalkotu tablešu veidā	QS
01.7.2	Nogatavināts siers	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti	Tikai šķēlēs sagrieztā vai rīvētā cietajā vai puscietajā sierā	10 000
01.7.5	Pārstrādāts siers	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti		10 000
01.7.6	Siera produkti (izņemot 16. kategorijas produktus)	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti	Tikai šķēlēs sagrieztos vai rīvētos cietos un pusciertos produktos	10 000
01.8.	Piena produktu analogi, tostarp dzērienu baltinātāji	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti	Tikai šķēlēs sagriezta vai rīvēta siera analogos un pārstrādāta siera analogos; dzērienu baltinātājos	10 000
02.2.2.	Citi tauku un eļļas emulsiju veidi, tostarp pastas, kā noteikts Regulā (EK) Nr. 1234/2007, un šķidrās emulsijas	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti	Tikai produktos alvotu trauku virsmas apstrādei	30 000
02.3.	Izsmidzināma augu eļļa	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti	Tikai produktos alvotu trauku virsmas apstrādei	30 000
05.2.	Citi konditorejas izstrādājumi, tostarp elpu atsvaidzinoši mikrosaldumi	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti	Tikai virsmas apstrādei	QS
05.3.	Košļājamā gumija	E 551	Silīcija dioksīds	Tikai virsmas apstrādei	QS
05.4.	Rotājumi, glazūras un pildījumi, izņemot uz augļiem bāzētus pildījumus, uz kuriem attiecas 4.2.4. kategorija	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti	Tikai virsmas apstrādei	QS
11.1.	Cukuri un sīrupi, kā noteikts Direktīvā 2001/111/EK	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti	Tikai pārtikā tablešu un apvalkotu tablešu veidā	QS
11.1.	Cukuri un sīrupi, kā noteikts Direktīvā 2001/111/EK	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti	Tikai pārtikā, kas ir sausa pulvera veidā	10 000
11.4.2.	Galda saldīnātāji pulvera veidā	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti		10 000
11.4.3.	Galda saldīnātāji tablešu veidā	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti		QS
12.1.1.	Sāls	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti		10 000
12.1.2.	Sāls aizstājēji	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti		20 000
12.2.2.	Pikantās garšvielas (seasonings) un garšu pastiprinošas garšvielas (condiments)	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti	Tikai pikantajās garšvielās (seasonings)	30 000

13.1.3.	Pārstrādāta graudaugu pārtika un bērnu pārtika zīdaiņiem un maziem bērniem, kā noteikts Direktīvā 2006/125/EK	E 551	Silīcija dioksīds	Tikai sausajos graudaugos	2 000
17.1.	Uztura bagātinātāji cietā veidā, tostarp kapsulās, tabletēs un citos līdzīgos veidos, izņemot košļājamus produktus	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti		QS
17.2.	Uztura bagātinātāji šķidrā veidā	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti		QS
17.3.	Uztura bagātinātāji sirupa vai košļājamā veidā	E 551-553	Silīcija dioksīds-silikāti		QS

6. tabula

**Pārtikas produkti, kuri var saturēt silīcija dioksīdu (E 551), un maksimāli pieļaujamais daudzums, atbilstoši *Regulai (EK) Nr. 1130/2011***

<b>I daļa. Nesējvielas pārtikas piedevās</b>		
<b>Nesējvielas nosaukums/ E Nr.</b>	<b>Maksimālais daudzums</b>	<b>Pārtikas piedevas, kurām var pievienot nesējvielu</b>
Silīcija dioksīds, E 551	QS	Emulgatoru un krāsvielas
<b>II. daļa. Pārtikas piedevas, izņemot nesējvielas, pārtikas piedevās</b>		
<b>Pievienotās pārtikas piedevas E Nr. un nosaukums</b>	<b>Maksimālais daudzums</b>	<b>Pārtikas piedevu preparāti, kuriem attiecīgo pārtikas piedevu var pievienot</b>
Silīcija dioksīds, E 551	50 000 mg/kg preparātā	Sausi pulverveida krāsvielu, emulgatoru preparāti
Silīcija dioksīds, E 551	10 000 mg/kg preparātā	E 508 kālija hlorīds un E 412 guāra sveķu preparāti
<b>III. daļa. Pārtikas piedevas, tostarp nesējvielas, pārtikas fermentos</b>		
<b>Pievienotās pārtikas piedevas E Nr. un nosaukums</b>	<b>Maksimālais daudzums fermentu preparātā</b>	<b>Minimālais daudzums pārtikas galaproduktā, izņemot dzērienus/Maksimālais daudzums dzērienos</b>
Silīcija dioksīds, E 551	50 000 mg/kg sausā pulverveida preparātā	QS/QS
<b>IV. daļa. Pārtikas piedevas, tostarp nesējvielas, pārtikas aromatizētājos</b>		
<b>Piedevas E Nr., nosaukums</b>	<b>Maksimālais daudzums</b>	<b>Aromatizētāju kategorijas, kuriem attiecīgo pārtikas piedevu var pievienot</b>
Silīcija dioksīds, E 551	50000 mg/kg aromatizētājos	Visi aromatizētāji
<b>V. daļa. A. Pārtikas piedevas uzturvielās</b>		
<b>Pārtikas piedevas E Nr., nosaukums</b>	<b>Maksimālais daudzums</b>	<b>Uzturviela, kam attiecīgo pārtikas piedevu var pievienot</b>
Silīcija dioksīds, E 551	50000 mg/kg sausā pulverveida preparātā	Visu uzturvielu sausos pulverveida preparātos, izņemot preparātos, kuri paredzēti pārtikā zīdaiņiem un maziem bērniem
Kalcija silikāts E 552	(atsevišķi vai kopā)	
Silīcija dioksīds, E 551	10000 mg/kg preparātos	Kālija hlorīda preparātos, kurus izmanto kā sāls aizstājējus
<b>V. daļa B. Pārtikas piedevas, kas pievienotas uzturvielām, kas paredzētas lietošanai zīdaiņu un mazu bērnu pārtikā</b>		
Silīcija dioksīds, E 551	10000 mg/kg uzturvielu preparātos	Sausi pulverveida uzturvielu preparāti/ Pārtika zīdaiņiem un maziem bērniem

**Literatūras dati par drošību patērētājam.** Ir maz datu par SAS absorbcijas apstākļiem cilvēku organismā pēc norīšanas; tomēr silīcija dioksīds (nezināmas izcelsmes) dažkārt ir atrasts cilvēka organismā – aknās un liesas audos. Dažos pētījumos ziņots, ka mazāk nekā 0,5% silīcija, kas iekšķīgi lietots kā silīcija dioksīds (1250mg), tika izdalīts ar urīnu, bet silīcija daudzums urīnā vienmēr bija normas robežās (*Degussa, 1966 citēts EFSA, 2018; Lang, 1966 citēts EFSA, 2018; Langendorf and Lang, 1967*).

Subhroniskās toksicitātes pētījumos ziņots, ka žurkām, kuras barotas ar barību, kas satur līdz 8% izgulsnētā SiO<sub>2</sub> (4000 mg/kg ķermeņa svara dienā) - netika novērota negatīva ietekme uz organismu 13 nedēļu laika periodā (*Degussa, 1981 citēts EFSA, 2018; Til et al., 1981 citēts EFSA, 2018*). Citā pētījumā žurku mātītes tika barotas 6 mēnešus ar silikagelu (deva līdz 8980mg/kg ķermeņa masas dienā), rezultātā netika novērota negatīva ietekme uz to organismu (*Grace, 1975 citēts EFSA, 2018*). Vēl citā subhroniskās toksicitātes pētījumā žurku uzturā 90 dienas tika izmantots kūpināts silīcija dioksīds (deva līdz 3500 mg/kg ķermeņa svara dienā), rezultātā tika konstatēta zema toksicitāte (pieejamā informācija ierobežota) (*Cabot, 1958 citēts EFSA, 2018*).

Kopumā ir pierādījumi par ļoti zemu toksicitāti pēc atkārtotas iekšķīgas SAS ievadīšanas organismā; netika atklāta nelabvēlīga ietekme pat pie lielām devām līdz 9000 mg/kg ķermeņa svara dienā (*EFSA, 2018*).

Pieejamie *in vitro* un *in vivo* pētījumu rezultāti liecina, ka nav konstatēta genotoksicitāte. Bija dažas norādes par strukturālu un /vai skaitlisku hromosomu aberāciju *in vitro*, ko ierosināja amorfa SiO<sub>2</sub>. Amorfo SiO<sub>2</sub> neizmanto kā pārtikas piedevu un nelieto ne kosmētikā, ne farmācijā. Šos rezultātus EFSA komisija neuzskata par nozīmīgiem silīcija dioksīda (E 551) atkārtotā izvērtēšanā, jo šo materiālu neizmanto kā pārtikas piedevu. Tomēr komisija atzīmēja, ka jāprecizē E 551 specifikācija (*EFSA, 2018*).

Pētījumā ar žurkām un pelēm netika novēroti hiperplastiski vai neoplastiski nelabvēlīgi bojājumi, lietojot uzturā 1,25%, 2,5% vai 5% SiO<sub>2</sub> amorfā formā, silikagela veidā (Syloid 244) ilgstošākā laika periodā - 24 mēnešos (*Takizawa et al., 1988*). Šie pētījumi uz pelēm un žurkām liecināja, ka SiO<sub>2</sub> nav kancerogēns; tomēr precīzi nebija aprakstīti testa materiāla raksturlielumi, jo īpaši primāro daļiņu lieluma apraksts.

Citā pētījumā žurkām pēc barošanas ar amorfo SiO<sub>2</sub> netika novērota reproduktīvā toksicitāte; tomēr šo rezultātu ticamība ir ierobežota, jo tika pārbaudīta tikai viena deva 500 mg/kg ķermeņa svara dienā un grūsnu žurku grupas skaits bija mazs (n = 4–5) (*Leuschner, 1963 citēts EFSA, 2018*).

Kopumā aprakstītajos bioloģiskajos un toksikoloģiskajos pētījumos, SiO<sub>2</sub> atšķiras pēc fizikāli ķīmiskajām īpašībām (piemēram, daļiņu izmēra sadalījuma). Turklāt eksperimentos izmantoto testa materiālu īpašības ne vienmēr tiek aprakstītas pietiekami sīki. Pašreizējās ES specifikācijās nav informācijas par silīcija dioksīda daļiņu lieluma sadalījumu, kurā varētu pilnībā raksturot pārtikas piedevu E 551.

Toksikoloģiskajos pētījumos, kuros izmantoja SiO<sub>2</sub> amorfās formas, kuras lieto kā pārtikas piedevu E 551, nelabvēlības ietekmes cilvēka organismā netika novērotas. Lai arī nav konstatēti negatīvie efekti, ilgtermiņa pētījumi, kuros labi raksturota pārtikas piedeva, nav veikti, līdz ar to nenoteiktība saglabājas (*EFSA, 2018*).

Tā kā pārtikas piedevā E 551 atrodas silīcija dioksīda nano izmēra daļiņas, ir veikti toksicitāti pētījumi ar sintezētu nanosilīcija dioksīdu. SAS nano izmēra daļiņu absorbcija var būt atkarīga no mijiedarbības ar biomolekulām, kuras atrodas pārtikas matricās, kā rezultātā var veidoties aglomerācija.

Subhroniskās toksicitātes pētījumos tika novērota dažu orgānu, galvenokārt aknu un plaušu, absolūtā un relatīvā svara palielināšanās dzīvnieku organismos, bet histopatoloģiskās izmaiņas orgānos netika novērotas, lietojot devas līdz 2000 mg/kg dienā (*EFSA, 2018*).

Reproduktīvās toksicitātes pētījumā Wistar žurkas tika barotas ar nano–izgulsnēto SAS. Reproduktīvā toksicitāte vai ietekme uz pēcnācēju augšanu un attīstību netika novērota lietojot devas līdz 1000 mg/kg ķermeņa svara dienā (*Wolterbeek et al., 2015*).



Atsevišķi pētījumi liecina, ka jebkāda veida nanodaļiņu perorāla iedarbība var izraisīt toksikoloģiskas reakcijas *in vivo* (Cao *et al.*, 2016). Tomēr lielākajā daļā toksikoloģisko pētījumu netika ņemta vērā iespējamā nanodaļiņu un pārtikas sastāvdaļu sinerģiskas mijiedarbības ietekme. Pēc autoru Cao *et al.*, 2016; Go *et al.*, 2017 domām, pētījumos ir jānovērtē nanodaļiņu sinerģētiskā iedarbība sarežģītā sistēmā, apsverot nanodaļiņu nekaitīgumu pārtikā (perorālās iedarbības gadījums).

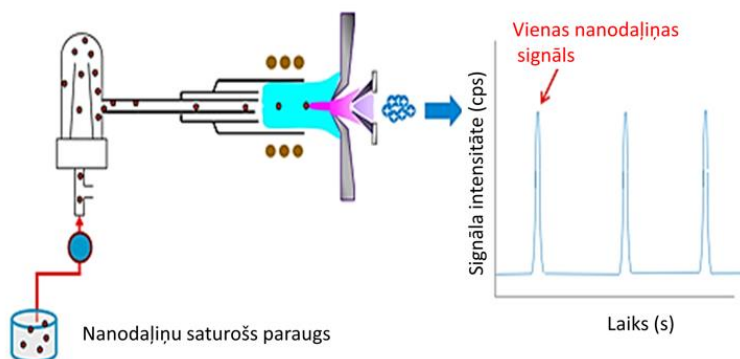
Neraugoties uz visiem iepriekšminētajiem apsvērumiem un izvērtējumiem, EFSA ekspertu grupa uzskata, ka līdz šim nano-SAS nav novērota negatīva ietekme *in vivo* pieejamajos perorālās toksicitātes pētījumos (EFSA, 2018).

EFSA ekspertu komisija secināja, ka ES specifikācija, lai raksturotu silīcija dioksīdu (E 551) kā pārtikas piedevu, nav pietiekama. Specifikācijā jāiekļauj daļiņu izmēra sadalījuma raksturojums, kā arī daļiņu procentuālais sastāvs (ar vismaz vienu izmēru <100 nm) (EFSA, 2018).

EFSA diētisko produktu, uztura un alerģiju ekspertu padome (NDA) nav spējusi noteikt pieļaujamo augšējo uzņemšanas līmeni (UL), taču, rekomendē, ka uztura patēriņš 20–50 mg silīcija dienā (ekvivalents 0,3–0,8 mg / kg ķermeņa svara / dienā 60 kg smagam cilvēkam) maz ticams, ka izraisīs nelabvēlīgas sekas (EFSA, 2009).

### 3. Metodes apstākļi nano-ZnO un SiO<sub>2</sub> noteikšanai pārtikā

Projekta “Nanomateriālu saturs un iespējamo risku novērtējums Latvijas teritorijā izplatītajā pārtikā un pārtikas iepakojumā” otrā posma ietvaros institūta BIOR Ķīmijas laboratorijā tika izstrādātā iekšlaboratorijas sp-ICP-MS analītiskā metode Nr. BIOR-T-012-199-2019 “Titāna(IV)oksīda nanodaļiņu noteikšana ar induktīvi saistītās plazmas masspektrometriju”, kas, optimizējot apstākļus, tika pielietota arī, lai noteiktu citu nanodaļiņu klātbūtni pārtikas paraugos. Metodes pamatā ir sp-ICP-MS instrumentālā iekārta, kas dod iespēju mērīt nanodaļiņu koncentrāciju, diametru un daļiņu lieluma sadalījumu ar ICP-MS analīzes metodi, kur viena smaile atbilst vienai nanodaļiņai (4. att.)



4. attēls. sp-ICP-MS metodes shematisks raksturojums.

Sp-ICP-MS analīzei ir divas galvenās prasības:

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

Pielietojot šo metodi, praktiski var izmantot jebkuru šķidruma paraugu ievadīšanas sistēmu, dažas no tām ir daudz efektīvākas daļiņu transportēšanai un jonizēšanai nekā citas. Daļiņu suspensiju parasti atšķaida līdz koncentrācijai 10<sup>5</sup> daļiņas/ml, atkarībā no MS aparātūras konfigurācijas. Kad daļiņu skaits paraugā ir pietiekami mazs, ICP vienlaikus ienāks tikai viena daļiņa. Pēc nonākšanas plazmā daļiņa tiek iztvaicēta, atomizēta un jonizēta, veidojot elementāru jonu mākonī. Izveidotie joni tiek novirzīti no ICP uz masas analizatoru caur spiediena samazināšanas saskarni, kas saskaņo spiediena starpību starp atmosfēras spiediena ICP un zema spiediena (piemēram, 10<sup>-6</sup> mbar) masas analizatoru. Jonu optika tiek izmantota, lai efektīvi pārsūtītu jonus uz masas analizatoru. Masas analizators izmanto elektriskos un / vai magnētiskos laukus, lai jonus atdalītu pēc to masas un lādiņa attiecības (m/z), pirms tie iekļūst MS detektorā, kur identificē parāda jonu skaitu, kas reģistrēts katrā m/z. M/z var izmantot, lai noteiktu jonu elementāro identitāti, un jonu skaitu, lai noteiktu elementa koncentrāciju. Elementāro jonu mākonis, kas izveidots no vienas daļiņas ICP avotā, ģenerēs ļoti ātru pārejošu signālu (signāla smaile) ar kopējo ilgumu milisekundēs. Tāpēc masas analizatoram jāspēj ļoti ātri veikt mērījumus, lai noteiktu šos jonus. 7. tabulā raksturoti metožu izstrādē izmantotie trauki un iekārtas. Detalizētāk metožu apstākļi nano-ZnO un nano-SiO<sub>2</sub> daļiņu noteikšanai raksturoti atsevišķās apakšnodalās.

Metodes izstrādē sākotnēji tika noanalizēts nanodaļiņu standarts (60nm Au ar zināmu daļiņu skaitu). Pielietojot standartu, tika izstrādāti metodes apstākļi, kas ļāva tālāk detektēt impulsus arī citām nanodaļiņām, kuru izmērs un sadalījums atbilda optimizētiem apstākļiem,

novērtējot Zn un Si joniem atbilstošos impulsus, pielietojot kalibrēšanas grafikus standartšķīdumiem.

Tālākos pētījumos tika detektētas daļiņas ar izmēriem atbilstoši >60 nm, pielietojot sp-ICP-MS metodi. ZnO un SiO<sub>2</sub> koncentrācijas tika pārrēķinātas, ņemot vērā jonu ar nanoizmēra formu koncentrācijas un pārrēķina koeficientus no oksīdu molekulas / element atommasu attiecībām.

**7. tabula**

**Trauki, reaģenti un iekārtas ZnO un SiO<sub>2</sub> nanodaļiņu noteikšanai pārtikā**

Ultraskaņas vanna	
Analītiskie svāri <i>Kern GJ</i>	Precizitāte: 0,01 g
ICP-MS iekārta (sp-mode)	THERMO SCIENTIFIC ICAP™ RQ
Mērcilindrs	50 mL
Automātiskās pipetes	Tilpums: 10, 50, 300, 1000 un 5000 µL
PP stobriņi	Tilpums: 15 un 50 mL
Zelta (Au) nanodaļiņas metodes pārbaudei	Au nanodaļiņu (60 nm diametrs, O.D. 1) suspensija citrāta buferšķīdumā (25 mL, Aldrich)
Si standarts ICP	1013 mg/L ± 4 mg/l Zn standartšķīdums (Sigma-Aldrich)
Zn standarts ICP	9991 mg/L ± 20 mg/l Zn standartšķīdums (Sigma-Aldrich)
Dejonizēts ūdens	(18.2 MΩ × cm), ģenerēts ar Milli-Q iekārtu (Millipore, Billerica, ASV).

**Paraugu sagatavošana** ietvēra sekojošas stadijas:

- 500 mg homogenizēta parauga iesvēra 15 mL PP stobriņā. Pievienoja 10 mL dejonizēta ūdens un stobriņu ievietoja uz 10 min ultraskaņas vannā un pēc tam 10 min uz mehāniskā maisītāja. SiO<sub>2</sub> noteikšanas gadījumā bija jāņem vērā, ka dejonizētā ūdens rezervuārs nedrīkst būt no stikla!
- No iegūtā paraugu ekstrakta pagatavoja atšķaidījumu A, pārnesot 100 mikrolitrus ekstrakta uz jaunu 15 mL PP stobriņu un pievienojot 9.9 mL dejonizēta ūdens, pēc tam ekstraktu samaisot.
- No A atšķaidījuma tālāk pagatavoja B atšķaidījumu: 500 mikrolitrus A atšķaidījuma pārnesa uz 50 mL PP stobriņu un atšķaidīja ar 49.5 mL dejonizēta ūdens.
- B atšķaidījumu analizēja ar sp-ICP-MS sistēmu. Pirms B atšķaidījuma ievadīšanas instrumentā to 5 min ievietoja ultraskaņas vannā un analīzi veica 1h laikā.

8. tabulā raksturoti instrumentālie parametri, kas tika lietoti visu nanodaļiņu noteikšanai un neatšķirās no izstrādātās metodes titāna oksīda nanodaļiņu analīzei:

**8. tabula**

**Trauki, reaģenti un iekārtas ZnO un SiO<sub>2</sub> nanodaļiņu noteikšanai pārtikā**

Plazmas jauda	1550 W		
Nebilizējošās gāzes plūsma	1,0463L/min		
Analizējama parauga plūsma	53 rpm		
Analīta izotops	Aiztures laiks (s)	Kanāls	Mērījuma solis (u)
<sup>28</sup> Si, <sup>66</sup> Zn, <sup>197</sup> Au	0,1	1	0,1

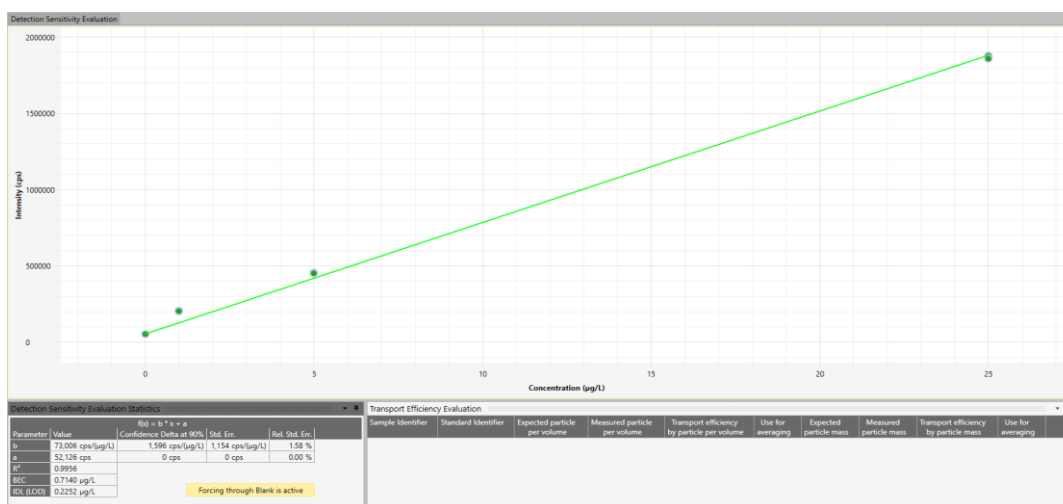
### 3.1. nano- ZnO analīzes

Metode tikai optimizēta ZnO noteikšanai maizes, siuru un burkānu u.c. pārtikas produktu paraugos pamatojoties uz literatūras izpētes datiem, kā šādu pārtikas produktu kontakta materiālos ir bieži sastopamas nano-ZnO daļiņas, kuru iespējama migrācija ir saistīta ar dažādiem procesiem pārtikas uzglabāšanas laikā, kas aprakstīti pirmajā nodaļā (1. tabula).

Metodes izstrādē tika izmantots Zn (II) jonu standartšķīdums (Sigma Aldrich), aprēķinos ņemot vērā Zn un ZnO molmasas  $M(\text{ZnO})/M(\text{Zn}) = 81,4/64,4 = 1,26$ . Zn (II) jonu standartšķīdumus pagatavoja līdz koncentrācijām 1, 5, un 25  $\mu\text{g/L}$ .

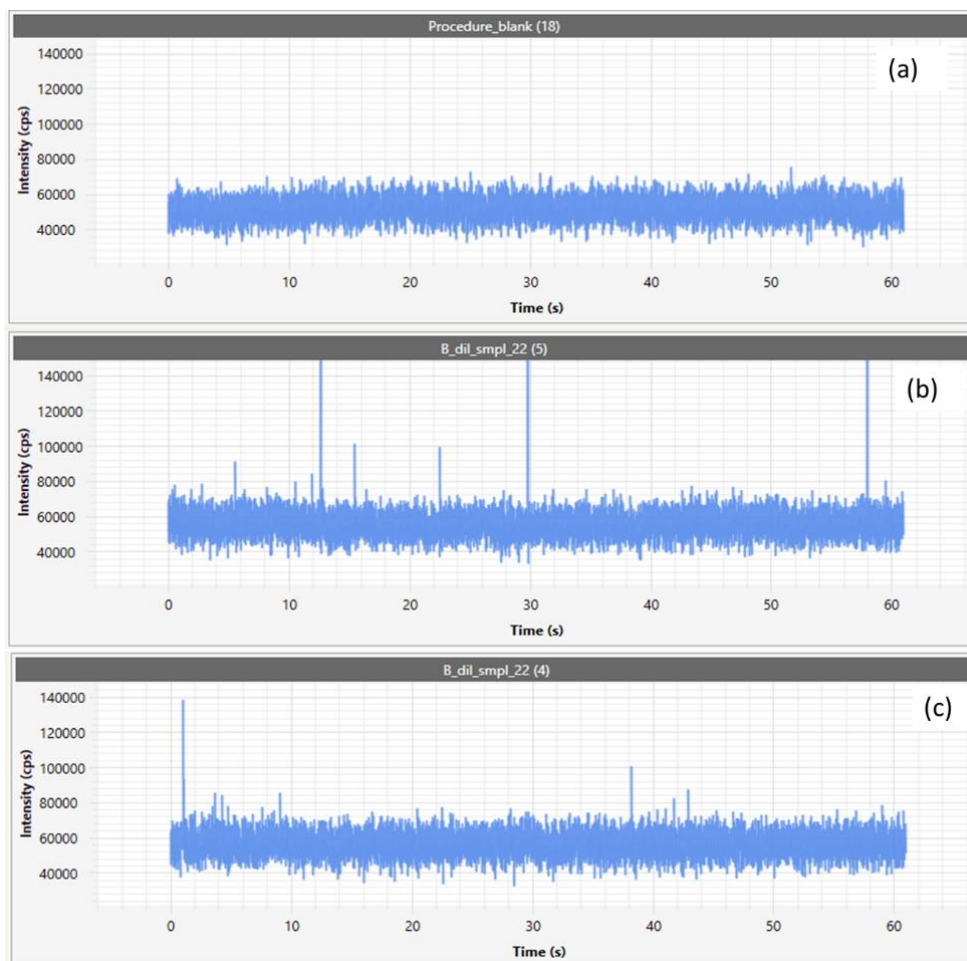
No Kalibrācijas grafika (5. attēls), kas raksturo Zn jonu skaitu kā funkciju no Zn jonu standartšķīduma koncentrācijas, noteikta:

- Zn jonu ietekme uz  $\mu\text{g/L}$  koncentrāciju: 73005 cps
- Transporta efektivitāte pēc daļiņu skaita aprēķina: 7,15 %



5. attēls. Zn (II) kalibrācijas grafiks.

Atbilstoši novērtētas nanofrakcijas Zn jonu saturošām daļiņām, kuru izmēri un koncentrācija tālāk tika aprēķināti, attiecinot uz ZnO.



**6. attēls.** Tukšā parauga hromatogramma (a) un sp-ICP-MS hromatogrammas (b un c) ar detektētu nano-ZnO rīvētu burkānu paraugā (paraugs Nr 22: daļiņu izmērs  $75 \pm 22$  nm, nano-ZnO koncentrācija 50.9 ng/g).

No bāzes līnijas spektriem var spriest par trokšņa ietekmi, ko būtiski ietekmē produktu matrica un iespējami zems ZnO saturs, kas radies, migrējot daļiņām no iepakojuma, jo visdrīzāk migrācija ir attiecināma uz tālāku aglomerizāciju. Metode ļauj izdalīt daļiņas ar noteiktu izmēru diapazonu, kas noteikts, pielietojot nanodaļiņu references (Au), tika novērtētas nano-ZnO detektēšanas robežas (daļiņu izmērs  $>60$  nm). Noteiktas robežas daļiņu skaita identificēšanai paraugā ( $<9000000$  N/g) un nano-ZnO detektēšanas robeža (12.7 ng/g).

### 3.2. nano-SiO<sub>2</sub> analīzes

Metode tikai arī optimizēta SiO<sub>2</sub> nanodaļiņu noteikšanai birstošos pulverveida pārtikas produktos, kur šīs daļiņas var kalpot kā pretsalīpes viela, analīzei. noteikšanai birstošos produktos produktu paraugos, pamatojoties uz literatūras izpētes datiem (4. un 5. tabulas).

Metodes izstrādē tika izmantots Si (IV) jonu standartšķīdums (Sigma Aldrich), aprēķinos ņemot vērā Si un SiO<sub>2</sub> molmasas ( $M(\text{SiO}_2)/M(\text{Si}) = 60,1/28,1=2,14$ ).

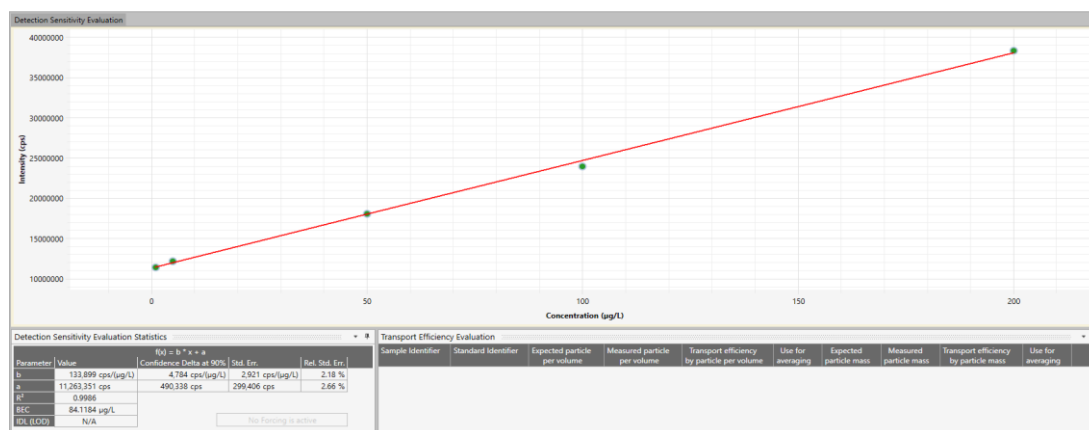
Si (IV) jonu standartšķīdumus pagatavoja līdz koncentrācijām 1, 5,50, 100, 200 ug/L. Ņemot vērā lielākas iespējamās koncentrācijas pārtikā, jo Si formas var iekļūt ne caur iepakojumu, bet būt kā pretsalīpes un citas funkcijas nodrošinošas piedevas jau pārtikā.

Kalibrācijas grafiks SiO<sub>2</sub> nanodaļiņu noteikšanas metodei raksturo Si jonu skaitu kā funkciju no Si jonu standartšķīduma koncentrācijas.

No standartšķīdumu grafika (5. attēls) novērtēti noteikšanas parametri:

- Si jonu ietekme uz ug/L koncentrāciju: 133899 cps

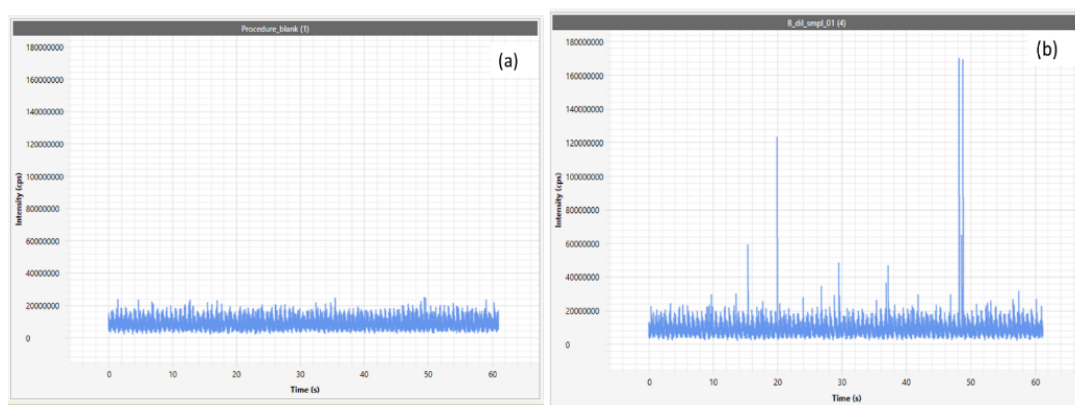
- Transporta efektivitāte pēc daļiņu skaita aprēķina: 7,15 %



7. attēls. Si (IV) jonu standartšķidumu kalibrēšanas grafiks.

Tālāk, pielietojot kalibrēšanas grafiku, var tālāk novērtēt daļiņu skaitu un atbilstoši izmēru sadalījumam, noteikt daļiņas ar izmēru >60 nm pārtikas paraugos.

8. attēlā parādīti dati garšvielu paraugam, kura sastāvā konstatētas daļiņas ar izmēru mikro/nano līmenī (>500 nm SiO<sub>2</sub>). No attēla var redzēt, ka bāzes līnija ir samērā taisna un šo daļiņu noteikšanai ir daudz zemāks trokšņa līmenis. Noteikts, ka robežas daļiņu skaita identificēšanai paraugā ir 80000000 N/g un nano- SiO<sub>2</sub> detektēšanas robeža ir 20.1ng/g.

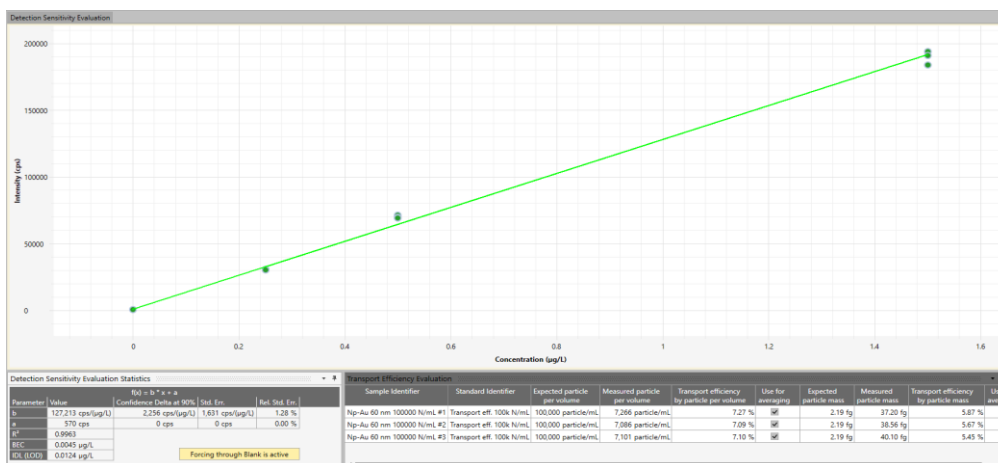


8. attēls. Tukšā parauga hromatogramma (a) un sp-ICP-MS hromatogrammas (b un c) ar detektētu nano-SiO<sub>2</sub> garšvielu paraugā (paraugs Nr 1: daļiņu izmērs 599±105 nm, nano- SiO<sub>2</sub> koncentrācija 50.9 ng/g).

### 3.3. Metodes verifikācija ar Au nanodaļiņām

Metodes verifikācija tika veikta ar Au nanodaļiņu standartu, lai pārbaudītu metodes limitus (nosakāmais nanodaļiņu izmērs, daļiņu skaits, koncentrācijas līmeņu noteikšana).

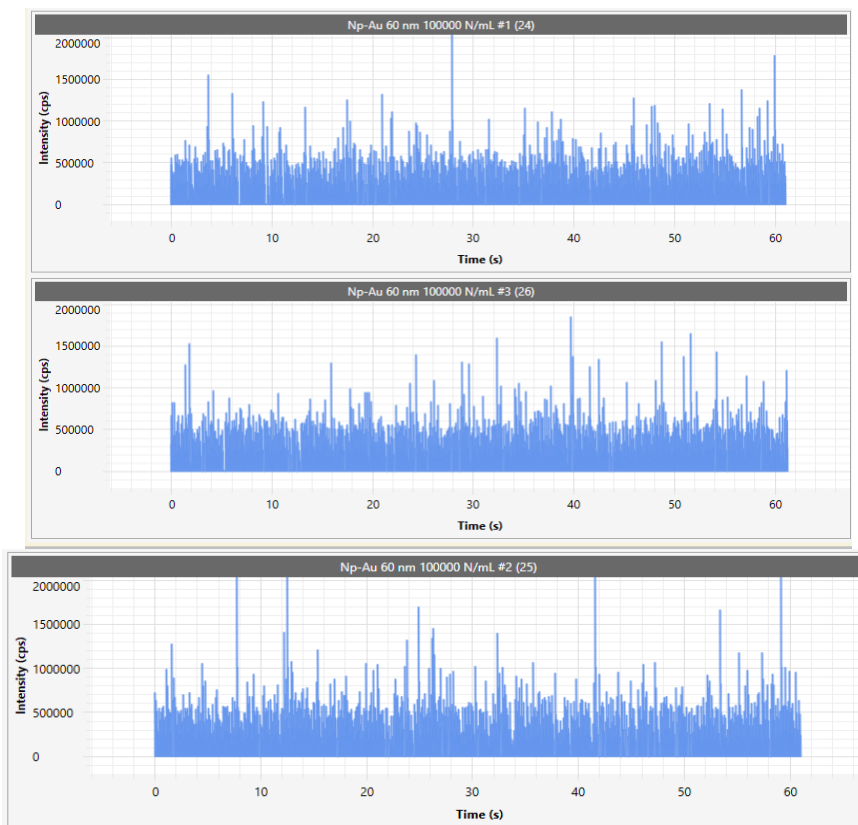
Sākotnēji tika sagatavoti vairāki standartšķidumi, izšķīdinot dejonizētā ūdenī zelta nanodaļiņas (koncentrācijas: 0,25; 0,50 un 1,50 µg/L, kur katrs standartšķīdums atkārtots trīs reizes). 9. attēlā parādīts Au nanodaļiņu standartšķīdumu kalibrācijas grafiks, novērtējot nanodaļiņu skaitu kā funkciju no koncentrācijas līmeņa.



9. attēls. Au (60 nm) daļiņu standartšķidumu kalibrācijas grafiks.

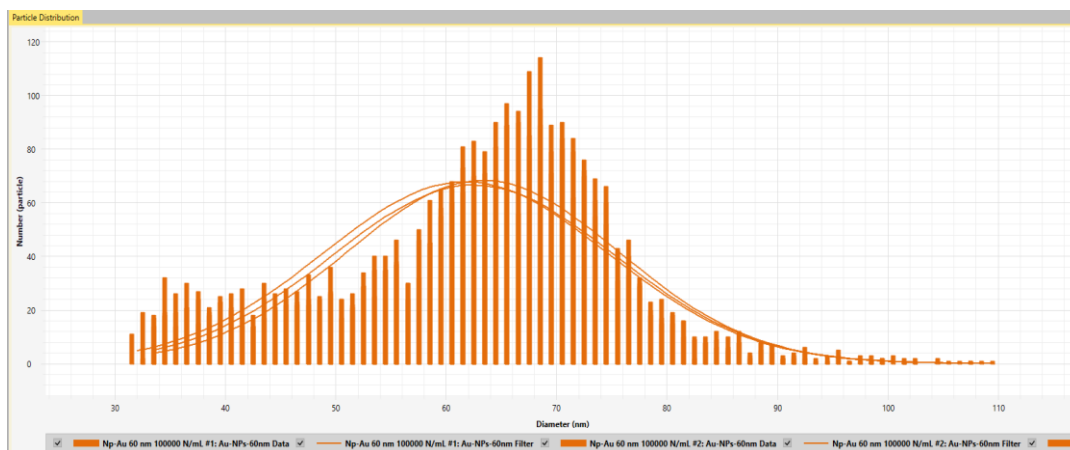
Noteikts, ka transporta efektivitāte pēc daļiņu masas ir vidēji  $5,66 \pm 0,21\%$  un pēc daļiņu skaita aprēķina attiecīgi  $7,15 \pm 0,10\%$ , kas liecina, ka metodes apstākļi nodrošina labu atkārtotamību mērījumiem, novērtējot gan daudzumu, gan daļiņu skaitu.

10. attēlā parādītas sp-ICP-MS hromatogrammas (3 atkārtojumi), kas apstiprina dažādu izmēru nanodaļiņu klātbūtni Au (60 nm) standartšķidumā ar daļiņu sadalījumu



10. attēls. Au nanodaļiņu standartšķiduma hromatogrammas (3 atkārtojumi)

Tālākā pētījumu gaitā, pielietojot sp-ICP-MS, tika konstruēts sadalījuma grafiks Au nanodaļiņām tika novērtēts nanodaļiņu sadalījums standartšķidumā ar daļiņu skaitu 100000 N/ml (11. attēls).



**11. attēls. Au nanodaļiņu sadalījums standartšķīdumā**

Veicot metodes pārbaudi trijos atkārtojumos Au nanodaļiņām ar izmēru 60 nm, un teorētisko daļiņu skaitu 10000 N/ml, tika novērtēti detektēšanas parametri, kas tālāk ļāva salīdzināt metodes pareizību nano-ZnO un nano-SiO<sub>2</sub> analīžu noteikšanā

**9. tabula**

**Sp-ICP-MS verifikācija Au-60 nm nanodaļiņu (teorētiskais daļiņu skaits 100000 N/mL) noteikšanai**

Paraugs	Analīts	Vidējais izmērītais diametrs±SN (nm)	Detektēto daļiņu skaits (N)	Daļiņu skaits paraugā (N/mL)	Koncentrācija (ug/L)	Vidējā daļiņu masa (fg)	Detektēšanas robeža (nm)
#1	Au-NPs-60nm	61.8±12.9	2208	113400	0.27	2.38	15.95
#2	Au-NPs-60nm	62.5±12.8	2154	110599	0.27	2.47	15.94
#3	Au-NPs-60nm	63.3±12.4	2165	110836	0.28	2.57	15.9
<b>Ekspimentāla vērtība</b>		<b>63.3±12.4</b>	<b>2165</b>	<b>110836</b>	<b>0.28</b>	<b>2.6</b>	<b>15.9</b>
Kļūda, salīdzinot ar standartu		6%					



## 4. Nano-ZnO saturs Latvijā izplatītajā pārtikā

### 4.1. nano-ZnO saturs pārtikas produktos

Pamatojoties uz veikto literatūras izpēti, tika apzinātas trīs biežāk patērētās pārtikas produktu grupas, kuru iepakojuma materiāli var saturēt vidēji zemas nano-ZnO daļiņu frakcijas: maizes paraugi, dažādi sieri, kā arī burkāni (skatīt 1. tabulu)

Tika iegādāti 25 raksturīgie pārtikas produkti, kuru iepakojums (pamatā polietilēns, atbilstoši ražotāju specifikācijai par otreizējo pārstrādi) varētu saturēt ZnO. Neviens no iegādātajiem pārtikas paraugiem nesaturēja informāciju par kontaktmateriālu sastāvā pielietotu nano-ZnO, tādēļ tika izvērtēts nano-ZnO daļiņu saturs tikai pārtikas produktos, neanalizējot kontaktmateriālus. Tika pieņemts, ka maizes, dažādu piena produktu (cietais siers, mīksta siers, biezpiena deserts) un burkānu produkti ļauj spriest par raksturīgo nano-ZnO migrāciju no iepakojuma, jo šīs trīs matricas raksturo ne tikai bieži lietotus ikdienas produktus, bet atšķirīgus matricas tipus.

10. tabulā raksturoti mērījumu rezultāti, novērtējot nano-ZnO daļiņu saturu triju veidu testētajās pārtikas produktu grupās. Pētījumā tika iekļauti 10 maizes paraugi, 11 piena produkti un 4 burkānu paraugi.

Noteikts, ka visās pārtikas grupās varēja atrast nano-ZnO saturošus paraugus: astoņos no kopā 25 testētajiem paraugiem tika identificētas ZnO daļiņas ar izmēru robežās no  $66\pm 4$  nm līdz  $91\pm 18$  nm.

Vislielākais nanodaļiņu izmērs tika identificēts rudzumaizes paraugā, kurā detektētas nano-ZnO daļiņas ar izmēru  $83\pm 5$  nm (daļiņu koncentrācija:  $54,2$  ng/g) un baltmaizes paraugā ar nano-ZnO  $91\pm 18$  nm ( $102,0$  ng/g).

Visbiežāk nanodaļiņas konstatētas tieši mīksto sieru paraugos: nanoZnO daļiņu izmēri svārstījās starp  $66-77$  nm un daļiņu koncentrācija robežās no  $23.4$  līdz  $74.5$  ng/g (vidējā detektēto nano-znO daļiņu koncentrācija siera paraugos bija  $46.8$  ng/g).

Salīdzinot ar literatūru, var skaidrot, ka siera paraugu gadījumā mitrums un vides pH var labāk veicināt ZnO nanodaļiņu nokļūšanu pārtikā. Jāatzīmē, ka visdrīzāk tālāka Zn jonu migrācija būs saistīta ar daļiņu aglomerizāciju, tādējādi samazinoties nanoizmēru frakcijas īpatsvaram.

Novērtējot burkānu paraugus, divos arī pārsteidzoši konstatētas nano-ZnO daļiņas, turklāt rīvētu burkānu paraugos nanodaļiņu ar vidējo izmēru  $>75$  nm sasniedza  $107.0$  ng/g, salīdzinot ar divreiz mazāku nano-ZnO daļiņu saturu nerīvētu burkānu paraugā ( $50.9$  ng/g).

Paraugos noteiktais nano-ZnO saturs un daļiņu raksturojums (ND -nav detektēts, STD – standartnenoteiktība)

Nr.	Produktu grupa	Raksturojums	Ražotājs	Nano-ZnO konc. (ng/g)	Daļiņu skaits paraugā (N/g)	Vid. diametrs ± STD (nm)	Vid. daļiņu m (fg)	Detektēšanas robeža (nm)
1	Maize	Rudzu maize "Dabīgā ierauga "	Fazer	54,2	32247068	83±5	1,67	78,4
2	Maize	Baltmaize "Kungu"	Hanzas maiznīca	102,0	46055963	91±18	2,22	71,6
3	Maize	Baltmaize "Brokastu"	Hanzas maiznīca	<12,7	<9.00	ND	ND	ND
4	Maize	Rudzu maize "Spēkavota"	Druva	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
5	Maize	Baltmaize "Kefira"	Fazer	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
6	Maize	Baltmaize "Īsta, ar pienu un sviestu"	Lāči	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
7	Maize	Rudzu Sēklu/graudu"	Latvijas maiznieks	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
8	Maize	"Rudzu rupjā maize"	Ķelmēni	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
9	Maize	Rudzu "īsta rudzu saldskābmaize"	Lāči	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
10	Lavašs	Lavašs "Oriental"	Prima Foods	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
11	Siers	Cietais siers "Džiugas 12 lactose free"	Žemaitijos pienas	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
12	Siers	"Mozzarella Grattugiata"	Galbani	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
13	Siers	"Mozzarella"	Formagia	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
14	Siers	"Krievijas siers"	Cesvaines piens	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
15	Siers	Cietais siers (Veģetārisks)	Granarolo	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
16	Biezpiena deserts	Deserts ar želejas gabaliņiem ("Magija")	Žemaitijos pienas	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
17	Siers	"Irish White Cheddar"	Truly Irish	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
18	Siers	Mīkstais siers "Salad cheese"	Grikios	74,5	68964574	72±11	1,08	61,8
19	Siers	Siers arn10% tauku saturu	Siera nams	62,2	45924318	77±4	1,36	71,6
20	Siers	Zottarella (ar baziliku)	Zott	27,1	27601729	69±3	0,98	61,4
21	Siers	"Scamorza bianca"	Granarolo	23,4	27545926	66±4	0,85	59,3
22	Burkāni	"Rīvēti"	Ezerkauliņi	107,0	82839383	75±22	1,29	54,9
23	Burkāni	"Kraukšķīgie"	Suncrisp	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
24	Burkāni	"Kraukšķīgie mazie"	Suncrisp	<12,7	<9000000	ND	ND	ND
25	Burkāni	"Kraukšķīgie Jumbo"	Suncrisp	50,9	27574559	86±19	1,84	52,9

## 5. Nano-SiO<sub>2</sub> saturs Latvijā izplatītajā pārtikā

Projekta ietvaros, turpinot eksperimentus, tika iegādāti 25 dažādi pārtikas paraugi, kas varētu saturēt SiO<sub>2</sub>: garšvielu maisījumi, kuru sastāvā norādīta E 551 klātbūtne, sausā piena pulveri (vienā sojas piena un kafijas maisījuma paraugos arī bija iepakojumā norādes par šīs E vielas saturu), kā arī citi produkti - galvenokārt sausi paraugi, par kuriem literatūrā minēts, ka to sastāvā iespējama silīcija dioksīda, vai citu silīcija savienojumu klātbūtne, kas nodrošina pretsalīpes īpašības un pretmikrobu aizsardzību.

Mērījumu rezultāti apkopoti 11. tabulā un no tiem var spriest, ka nano-SiO<sub>2</sub> daļiņas pārtikas produktos galvenokārt atrodamas aglomerātu veidā, kuru izmēri ir daudz lielāki par 100 nm. Eksperimentāli noteiktā daļiņu izmēru detektēšanas robeža bija vidēji 250 nm. Konstatēts, ka astoņos pārtikas produktos bija detektējamas nano-SiO<sub>2</sub> daļiņas, tai skatā trijos no četriem garšvielu maisījumiem ar norādītu E551 (paraugi Nr. 1,2, 7 un 8) vidēji silīcija dioksīda daļiņu izmēri svārstījās robežās starp 500 un 700 nm. Tas nozīmē, ka faktiski silīcija dioksīds kā pretsalīpes viela pārtikas produktos galvenokārt nav nanoizmēros, bet vairāk mikrodaļiņu veidā.

Vislielākā silīcija dioksīda koncentrācija tika konstatēta sojas pulverī, kur 605±67 nm SiO<sub>2</sub> koncentrācija noteikta 102 ng/g.

Rezultāti parāda, ka garšvielu maisījumos ar norādēm par E551 SiO<sub>2</sub> koncentrācija svārstījās robežās no 28 līdz 69 ng/g. Citos pārtikas produktos ar detektētu SiO<sub>2</sub> saturu vidēji šo daļiņu koncentrācija bija 40 ng/g.

Lai gan zinātniskajā literatūrā varēja atrast atsauces uz SiO<sub>2</sub> nanodaļiņu klātbūtni ātri pagatavojamās nūdelēs, tikai vienā no paraugiem tika identificēta 25 ng/g 593±32 nm SiO<sub>2</sub>. Tas iespējams ir saistīts ar SiO<sub>2</sub> lietojumu nūdeļu garšvielu maisījuma paciņā, kas parasti kopā ar eļļas paciņu ir pievienotas nūdelēm.

Paraugos noteiktais nano- SiO<sub>2</sub> saturs un daļiņu raksturojums (ND -nav detektēts, STD – standartnenoteiktība).

Nr.	Parauga matrica	Ražotājs	SiO <sub>2</sub> konc. (ng/g)	Daļiņu skaits paraugā ( N/g)	Vidējais diametrs±SD (nm)	Vidējā daļiņu masa ( fg)	Detektēšanas robeža (nm)
1	Garšviela (Taco)	Santa Maria	69	232662512	599±105	296	234
2	Garšviela (Fajita)	Santa Maria	28	88859075	614±112	320	226
3	Vaniļas cukurs (Basic)	Rimi	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
4	Baltais cukurs ( )	Rimi	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
5	Garšviela (Enchilada)	Ica	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
6	Garšviela (Vego taco)	Ica	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
7	Garšviela (Buritto)	Santa Maria	35	113506742	605±89	304	237
8	Garšviela (Melnie pipari)	Santa Maria	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
9	Garšviela (Ķiploku sāls)	Santa Maria	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
10	Pudings (Šokolades)	Dr.Oetker	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
11	Pudings (Vaniļas)	Dr.Oetker	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
12	Sojas piens (Pulveris)	Alska-sinta	102	333839798	605±67	306	245
13	Ķīselis (Pulveris)	Alojas	40	135203406	599±51	296	248
14	Sāls ( )	LSTK	41	137734282	600±63	298	243
15	Milti (Rudzu)	Herkules	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
16	Milti (Kviešu)	Herkules	42	140982793	601±70	300	259
17	Šķīstošā kafija ( )	Aroma Gold	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
18	Šķīstošā kafija ( )	Cela corona	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
19	Cukura aizvietotājs ( )	Rimi	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
20	Kafijas krējums ( )	Siera Nams	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
21	Nūdeles (Ar liellopu garšu)	Rimi	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
22	Nūdeles (Ar vistas garšu)	Maggi	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
23	Nūdeles (Ar vistas garšu)	Rollton	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
24	Nūdeles (Ar tomātu garšu)	Knorr	<20.1	<80000000	ND	ND	ND
25	Nūdeles (Ar vistas garšu)	BigBon	25	85896853	593±32	288	259

## 6. Diskusija par konstatēto nanomateriālu apdraudējuma novērtējumu Latvijas patērētājiem

Literatūras izpētes gaitā tika konstatēts, ka trūkst viennozīmīgu datu un norādes par nano-ZnO un E551, un nano- SiO<sub>2</sub> daļiņu kaitējumu, tieši uzņemot caur pārtiku. EFSA dati liecina par to, ka Zn jonu migrācija, kas veicina tālāku izšķīšanu, vai neizšķīdušo daļiņu aglomerācija SiO<sub>2</sub> gadījumā neļauj spriest par būtisku kaitējumu pārtikas patērētājiem.

Tomēr, lai novērtētu potenciālo apdraudējumu, projekta ietvaros BIOR pētnieki novērtēja datus par konstatēto nano-ZnO un SiO<sub>2</sub> saturu analizētajos pārtikas produktos (10. un 11. abulas).

Lai novērtētu riskus, sākotnēji tika ievākti jaunākie Veselības ministrijas un Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta "BIOR" pētījuma dati par sāls un joda patēriņu Latvijas pieaugušo iedzīvotāju populācijā (Siksna, 2020). Pētījumā tika iekļauta informācija par pārtikas produktu, sāls patēriņu Latvijā, bet nebija pieejami detalizēti dati par specifiskām grupām.

Risku novērtējuma modelī ir iekļauts sliktākais scenārija gadījums, pieņemot, ka dažādu populācijas grupu vidējā patēriņa novērtējums nanodaļiņām ietver maksimālu noteikto vidējo koncentrāciju uzņemšanu, neņemot vērā patiesos datus par atsevišķu produktu ekspozīciju.

12. tabula

Pārtikas produktu patēriņš vidēji gramos dienā pa vecuma grupām.

Produkts	Vīrieši, vecuma grupa (g)				Sievietes, vecuma grupa (g)			
	19-34	35-49	50-64	Visi	19-34	35-49	50-64	Visas
Rudzu maize	33	39.8	55	43.5	25	33.8	37.5	33
Kviešu maize	47.1	47.2	44.6	46.2	27.5	30.1	23.7	26.6
Mīkstais siers	0.5	1.6	1.4	1.2	0.9	0.9	2.6	1.6
Burkāni	180.9	212.6	219	205.1	173.6	191.4	208.2	193.8
Garšvielas	26.1	23.3	25	25	28	25	25	25
Soja (Pulveris)	28.1	16.1	22.8	29	27.6	22.5	22	28.7
Sāls	12.9	12.1	13.4	12.8	8.3	8.1	9.8	8.9
Nūdeles (Ar vistas garšu)	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5	62.5

Tabulā 12. iekļautie dati ietver vidējo maizes patēriņu dažādās vecuma grupās vīriešiem un sievietēm. Dati par mīksto sieru ietver plašāku grupu, bet ir pieņemti, izvērtējot vidējo nano-ZnO ekspozīciju.

Tāpat dati par burkāniem faktiski ietver vidējo dārzena patēriņu, taču pieņemot, ka vienas mazo burkānu paciņas (ikdienā grauzamā piedeva) svars ir 200 g, sliktākā scenārija gadījumā pieņemts, ka 12. tabulas dati raksturo maksimālo nano-ZnO ekspozīciju no burkāniem.

Tasds pats attiecināms uz soju, jo faktiski šie populācijas dati raksturo apakšgrupu soju, rieksti un pākšaugi, bet šeit ir izvēlēts kā piemērs, ņemot vērā to, ka šo sojas pulveri paredzēts lietot arī ikdienas maltītēs (vegānu pārtikas sastāvdaļa) kā gaļas aizvietošanu. Dati par nūdelēm nav iegūti no Siksna et al. (2020) pētījuma, bet ietver vidējo daudzumu nūdelēm, nosverot visus analizētois paraugus, novērtējot vienas porcijas uzņemto daudzumu.

Lai novērtētu uzņemto daudzumu, 12. tabulā minētās vidējās patēriņa vērtības tika normētas uz vidējo populācijas grupu pieņemto svaru (60 kg).

13. tabula

Pārtikas produktu patēriņš vidēji gramos, aprēķinot uz vidējo ķermeņa svaru.

Produkts	Vīrieši, vecuma grupa (g)				Sievietes, vecuma grupa (g)			
	19-34	35-49	50-64	Visi	19-34	35-49	50-64	Visas
Rudzu maize	0.55	0.66	0.92	0.73	0.42	0.56	0.63	0.55
Kviešu maize	0.79	0.79	0.74	0.77	0.46	0.50	0.40	0.44
Mīkstais/svaigais/nenogatavināts siers	0.01	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.04	0.03
Burkāni	3.02	3.54	3.65	3.42	2.89	3.19	3.47	3.23
Garšvielas	0.44	0.39	0.42	0.42	0.47	0.42	0.42	0.42
Sojas piens (Pulveris)	0.47	0.27	0.38	0.48	0.46	0.38	0.37	0.48
Sāls	0.22	0.20	0.22	0.21	0.14	0.14	0.16	0.15
Nūdeles (Ar vistas garšu)	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04	1.04

Pārrēķinot identificēto nano-ZnO un silīcija dioksīda daļiņu vidējos koncentrācijas līmeņus, iekļaujot datus tabulā 13, tika novērtēts vidējais nanodaļiņu patēriņš (skat. 14. tabulu). Šie dati parāda sliktākā scenārija gadījumā vidējo patēriņu ug (mikrogrami) uz ķermeņa svaru dienā.

14. tabula

ZnO un SiO<sub>2</sub> nanodaļiņu ar noteikto koncentrāciju un daļiņu izmēriem patēriņš dienā (ug / kg bw dienā).

Produkts	Vīrieši, vecuma grupa (g)				Sievietes, vecuma grupa (g)				Vid.noteiktā nanodaļiņu konc.	
	19-34	35-49	50-64	Visi	19-34	35-49	50-64	Visas	nano-ZnO (ug/kg)	nano-SiO <sub>2</sub> (ug/kg)
Rudzu maize	0.030	0.036	0.050	0.039	0.023	0.031	0.034	0.030	54.2	n/a
Kviešu maize	0.080	0.080	0.076	0.079	0.047	0.051	0.040	0.045	102.0	n/a
Mīkstais/svaigais/nenogatavināts siers	0.000	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	46.8	n/a
Burkāni	0.238	0.280	0.288	0.270	0.228	0.252	0.274	0.255	78.9	n/a
Garšvielas	0.019	0.017	0.018	0.018	0.021	0.018	0.018	0.018	n/a	44
Sojas piens (Pulveris)	0.048	0.027	0.039	0.049	0.047	0.038	0.037	0.049	n/a	102
Sāls	0.009	0.008	0.009	0.009	0.006	0.006	0.007	0.006	n/a	42
Nūdeles (Ar vistas garšu)	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	n/a	25

Jāatzīmē, ka EFSA norādēs nav tieši atrodama informācija par tolerances līmeņiem, pieņemot, ka, pašreizējo zināšanu ietvaros, uzskatāms, ka nav pierādījuma poitenciālam akūtas ekspozīcijas apdraudējumam.

Tādēļ risku novērtējumam šajā pētījumā tika izmantotas Dānijas 2015. g. pētījumā ieteiktās DNEL vērtības (Consumer risk assessment for nanoproducts on the Danish market Environmental project No. 1730, 2015).

Iekšīgi lietots DNEL ir 1,0 mg nano-ZnO / kg / dienā (1000 ug/kg bw dienā), pamatojoties uz 90 dienu pētījumu ar šķīstošajiem Zn joniem, kas minēts ES riska novērtējuma ziņojumā (EFSA, 2004) unSCCS atzinumā par nano-ZnO novērtēšanu saulēšanās līdzekļos.

Pētījuma ietvaros, novērtējot sejas pulveri, šī pētījuma autori atsaucās uz SiO<sub>2</sub> daļiņu orālā toksiskuma novērtējumu no datiem, kur žurkām iekšīgi nano-silīcija dioksīdu (10-25 nm) dozēja 84 dienas eksperimentālais pētījums. Šajā pētījumā kā aknas konstatēja LOAEL 1000 mg nano-silīcija dioksīda / kg ķermeņa masas dienā - pie šīs devas līmeņa tika novērota fibroze. Šajā pētījumā DNEL bija 1,67 mg / kg ķermeņa masas dienā ko nosaka no LOAEL, izmantojot kopējo novērtējuma koeficientu 600.

Tādēļ, 14. tabulas dati tika dalīti ar DNEL vērtībām, aprēķinot procentuāli, vai netiek pārsniegtas šīs vērtības:

- ZnO gadījumā dati salīdzināti ar DNEL = 1000 ug/kg bw dienā.
- SiO<sub>2</sub> gadījumā 14. tabulas dati tika salīdzināti ar DNEL = 1670 ug/kg bw dienā.

**15 tabula**

**ZnO un SiO<sub>2</sub> nanodaļiņu ar noteikto koncentrāciju ekspozīcijas risku novērtējums**

Produkts	Vīrieši, vecuma grupa (g)				Sievietes, vecuma grupa (g)			
	19-34	35-49	50-64	Visi	19-34	35-49	50-64	Visas
Rudzu maize	3.0E-03	3.6E-03	5.0E-03	3.9E-03	2.3E-03	3.1E-03	3.4E-03	3.0E-03
Kviešu maize	8.0E-03	8.0E-03	7.6E-03	7.9E-03	4.7E-03	5.1E-03	4.0E-03	4.5E-03
Mīkstais/svaigais/nenogatavināts siers	3.9E-05	1.2E-04	1.1E-04	9.4E-05	7.0E-05	7.0E-05	2.0E-04	1.2E-04
Burkāni	2.4E-02	2.8E-02	2.9E-02	2.7E-02	2.3E-02	2.5E-02	2.7E-02	2.5E-02
Garšvielas	1.1E-03	1.0E-03	1.1E-03	1.1E-03	1.2E-03	1.1E-03	1.1E-03	1.1E-03
Sojas piens (Pulveris)	2.9E-03	1.6E-03	2.3E-03	3.0E-03	2.8E-03	2.3E-03	2.2E-03	2.9E-03
Sāls	5.4E-04	5.1E-04	5.6E-04	5.4E-04	3.5E-04	3.4E-04	4.1E-04	3.7E-04
Nūdeles (Ar vistas garšu)	1.6E-03	1.6E-03	1.6E-03	1.6E-03	1.6E-03	1.6E-03	1.6E-03	1.6E-03

No tabulas datiem un faktiski var ļoti skaidri redzēt, ka nanodaļiņu ekspozīcijas līmeņi ir 100 un 1000 daļu robežās, pat nesasniedzot 0,1% no pieļautajām DNEL vērtībām nano-ZnO un nano-SiO<sub>2</sub>, kas parāda, ka nanodaļiņu līmeņi nerada apdraudējumu Latvijas patērētājiem un analizētie produkti ir droši uzņemšanai pārtikā.

## 7. Pētnieku grupas eksperti

Pamatojoties uz projekta "Nanomateriālu satura un iespējamo risku novērtējums Latvijas teritorijā izplatītajā pārtikā un pārtikas iepakojumā" pirmajā posmā veikto zinātniskās literatūras apkopošanu un analīzi, tika apzinātas titāna (IV) oksīda ( $\text{TiO}_2$ ), sudraba (Ag) un citu elementu un to savienojumu nanodaļiņu pārtikas piedevu un / vai pārtikas iepakojumā izmantojamo nanomateriālu identificēšanas un kvantificēšanas metodes, kā arī aprakstīta provizoriskā pētnieku grupa Latvijā, kas varētu piedāvāt pakalpojumus un kompetenci tālākos pētījumos, šādu materiālu analizēšanai un raksturošanai, pielietojot kvantitatīvās analīzes metodes, kā arī nedestruktīvas mikroskopijas, spektroskopijas u.c. fizikāliķīmiskās un analītiskās metodes. Projekta ietvaros zinātniskajā institūtā BIOR tika izstrādātas instrumentālās metodes dažādu metālisko elementu kopējā satura (Ti, Ag, Zn) un  $\text{TiO}_2$ , Ag, ZnO un  $\text{SiO}_2$  nanofrakciju satura noteikšanai pārtikas paraugos. Tika veikts skrīnings, apzinoties galvenās pārtikas produktu grupas, kurās būtu iespējama šādu daļiņu klātbūtne. Veicot analīzes, tika konstatēti samērā zemi  $\text{TiO}_2$ , Ag un ciutu daļiņu nanofrakcijas līmeņi, kas, uzņemot pārtikas produktus normas robežās, neizraisa būtisku akūtu apdraudējumu pieaugušiem cilvēkiem, taču tika secināts, ka piesardzība jānodrošina bērniem, kas var patērēt ievērojami lielākus glazētu saldumu, košļājamo gumiju daudzumus, salīdzinot ar pieaugušajiem un vecāka gadu gājuma cilvēkiem. Pētījumos netika konstatēta nanodaļiņu migrāciju no iepakojuma materiāliem pārtikas produktos, taču šāda iespējamība ir jāņem vērā. Lai varētu rezultātus pilnvērtīgāk izvērtēt, jāpielieto citas metodes, kas piemērotas daļiņu izmēru, aglomerātu veida, virsmas īpašību, kristāliskās fāzes, piemēram  $\text{TiO}_2$  gadījumā.

Apzinoties galvenās pārtikas produktu grupas, kas var saturēt noteiktas nanodaļiņas un iespējamu migrāciju no iepakojuma materiāliem, izvērtēta Latvijas ekspertu loma nanodaļiņu identificēšanā un raksturošanā. Šajā aprakstā raksturotas galvenās pielietojamās metodes nanodaļiņu identificēšanai un raksturošanai pārtikas paraugos, kā arī Latvijas institūcijas, kuras piedāvā šādas analīzes. Aprakstā, materiāliem netika konstatēta kuru glazūras satur  $\text{TiO}_2$  var būt konstatētas samērā zemas koncentrācijas. Pārtikas un pārtikas sastāvā atrodamo neorganisko un organiski saistīto (iekapsulēto) nanodaļiņu veidi, formas, izmēri un migrācijas potenciāls nosaka nepieciešamu multi-disciplināru zinātniski tehnisko bāzi, kas jānodrošina, lai šādas maza izmēra daļiņas izdalītu, identificētu un pēc iespējas pilnīgāk raksturotu to potenciālo apdraudējumu patērētājam.

Materiāli tehniskās bāzes pieejamību nodrošinās vadošie pētnieki, zinātnieki, kuru vadītajās laboratorijās strādājošais personāls ir apguvis metožu pielietojumu un spēj nestandarta situācijās piemeklēt labāko risinājumu paraugu sagatavošanai un nanodaļiņu izolēšanai, lai veikto to kvalitatīvo, kvantitatīvo vai raksturojošo analīzi.



16. tabula

## Poltenciālā darba grupa nanodaļiņu izpētei pārtikas iepakojumā un migrācijai pārtikas produktos.

Institūcija	Kontaktpersona	Iekārtas	Pielietojums
BIOR	Dr.chem. PVIL vadītājs Vadims Bartkevics (Lejupe iela 3, Rīga, <a href="mailto:Vadims.Bartkevics@bior.lv">Vadims.Bartkevics@bior.lv</a> )	1) ICP-MS 2) SP-ICP-MS	1) Ti, Ag, Zn u.c. elementu katra elementa kopējā satura noteikšana pārtikas / pārtikas iepakojumu matricās. 2) TiO <sub>2</sub> , Ag, ZnO, SiO <sub>2</sub> u.c. daļiņu nm izmēru sadalījuma novērtējums single sample analīzes režīmā
Latvijas Universitāte (Ķīmijas fakultāte)	Prof. Andris Actiņš (Jelgavas iela 1, Rīga, <a href="mailto:Andris.Actins@lu.lv">Andris.Actins@lu.lv</a> )	Nedestruktīvās metodes: 1) XRD 2) XRF	1) Titāna oksīda kristāliskās formas (anatāzs, rutilis, brukīts) un sudraba identificēšana un struktūras parametru raksturošana 2) Ti, Ag kvalitatīvā / kvantitatīvā satura novērtēšana iepakojuma materiālos vai arī pārtikas produktos (puskvantitatīva nedestruktīva un lēta metode)
Latvijas Universitāte (Ķīmiskās fizikas institūts)	Direktors Donāts Erts (Jelgavas iela 1, Rīga, <a href="mailto:Donats.Erts@lu.lv">Donats.Erts@lu.lv</a> )	1) SEM/EDX 2) AFM	1) TiO <sub>2</sub> , Ti, Ag daļiņu izmēra, elementsastāva novērtējums 2) Nano daļiņu formas, izmēru novērtējums
Latvijas Universitātes Cietvielu Fizikas Institūts	Dr. Andris Fedotovs (Ķengaraga iela 8, Latgales priekšpilsēta, Rīga, <a href="mailto:andris.fedotovs@cfi.lu.lv">andris.fedotovs@cfi.lu.lv</a> )	1) TEM/EDX 2) Raman spektroskopija	1) TiO <sub>2</sub> , Ti, Ag daļiņu izmēra, elementsastāva novērtējums. 2) TiO <sub>2</sub> , Ag formas identificēšana iepakojuma materiālā,
Rīgas Tehniskā Universitāte (Polimērmateriālu institūts)	Direktors Dr.sc.ing. Jānis Zicāns ( Rīga, Paula Valdena iela 3, Telefons: +371- 67089252. E-pasts: <a href="mailto:zicans@ktf.rtu.lv">zicans@ktf.rtu.lv</a> )	1) FTIR vai FTIR-TGA 2) DSC 3) Zeta potenciāls	1) Polimērmateriālu un nanodaļiņu satura identificēšana (pieejamas datubāzes) 2) polimērmateriālu identificēšana (pieejamas datubāzes) 3) Nanodaļiņu izmēra raksturošana

## Secinājumi un rekomendācijas

1. Izstrādāti metodes apstākļi nano-SiO<sub>2</sub> un nano-ZnO noteikšanai, pielietojot izstrādāto sp-ICP-MS metodi nanodaļiņu noteikšanai pārtikas paraugos.
2. Pētījuma rezultātā tika novērtētas nano-SiO<sub>2</sub> un nano-ZnO koncentrācijas un daļiņu izmēri piecdesmit pārtikas paraugos, kas var būt saskarē ar nanodaļiņām.
3. Ir ļoti maza iespējamība pārtikā uzņemt ZnO – galvenais potenciālais izcelsmes avots ir maize un siera produkti. Salīdzinot ar DNEL orālās ekspozīcijas līmeņiem, nanodaļiņas nerada bīstamību Latvijas patērētājiem.
4. Var secināt, ka nanodaļiņu saturs nerada būtisku apdraudējumu patērētājiem. Nano-SiO<sub>2</sub> saturs pārtikā ir ievērojami mazāks, salīdzinot ar zobu pastās un citos sadzīves produktos sastopamo, kas minēts citu valstu veiktajos risku novērtējumos (DEPA, 2015).
5. Izveidota pētnieku grupa, nodrošinot nepieciešamības gadījumā tālāku nanodaļiņu novērtējumu pārtikā

## Izmantotā literatūra

- Adams, L.K., Lyon, D.Y., Alvarez, P.J.J. (2006). Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and ZnO water suspensions. *Water Research*, 40, 3527–3532.
- Ameta, S.K., Rai, A.K., Hiran, D., Ameta, R., Ameta, S., C. (2020). Use of Nanomaterials in Food Science. In M. Ghorbanpour et al. (Eds.), *Biogenic Nano-Particles and their Use in Agroecosystems* (pp. 457-488). Singapore, Springer.
- Amjadi, S., Emaminia, S., Nazari, M., Davudian, S.H., Roufegarinejad, L., Hamishehkar, H. (2019). Application of Reinforced ZnO Nanoparticle-Incorporated Gelatin Bionanocomposite Film with Chitosan Nanofiber for Packaging of Chicken Fillet and Cheese as Food Models. *Food Bioprocess Technology*, 1–15.
- Applerot, G., Perkas, N., Amirian, G., Girshevitz, O., Gedanken, A. (2009). Coating of glass with ZnO via ultrasonic irradiation and a study of its antibacterial properties. *Applied Surface Science*, 256 (3), S3–S8.
- Athinarayanan, J., Alshatwi, A.A., Periasamy, V.S., Al-Warthan, A.A. (2015). Identification of nanoscale ingredients in commercial food products and their induction of mitochondrially mediated cytotoxic effects on human mesenchymal stem cells. *Journal of Food Science*, 80, 459-464.
- Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., Oleszczuk, P., Winiarska-Mieczan, A. (2019). Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles Exposure on Human Health—a Review. *Biological trace element research*, 1-12.
- Bouwmeester, H., Brandhoff, P.N., Marvin, H.J.P., Weigel, S., Peters, R.J.B. (2014). State of the safety assessment and current use of nanomaterials in food and food production. *Trends in food science & technology*, 40(2), 200-210.
- Bradley, E.L., Castle, L., Chaudhry, Q. (2011). Applications of nanomaterial in food packaging with a consideration of opportunities for developing countries. *Trends in Food Science & Technology*, 22 (11), 604-610.
- Brayner, R., Ferrari-Iliou, R., Brivois, N., Djediat, S., Benedetti, M.F., Fiévet, F. (2006). Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *Nano Letters*, 6, 866–870.
- Cao, Y., Li, J., Liu, F., Li, X., Jiang, Q., Cheng, S., Gu, Y. (2016). Consideration of interaction between nanoparticles and food components for the safety assessment of nanoparticles following oral exposure: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 46, 206–210.
- Chaudhary, P., Fatima, F., Kumar, A. (2020). Relevance of Nanomaterials in Food Packaging and its Advanced Future Prospects. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, doi.org/10.1007/s10904-020-01674-8
- Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L., Aitken, R., & Watkins, R. (2008). Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 25(3), 241–258.
- Cioffi, N., Torsi, L., Ditaranto, N., Tantillo, G., Ghibelli, L., Sabbatini, L., Bleve-Zacheo, T., D'Alessio, M., Zambonin, P.G., Traversa, E. (2005). Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties. *Chemistry of Materials*, 17(21), 5255–5262.
- Danish Environmental Protection Agency. 2015. Consumer risk assessment for nanoproducts on the Danish market Environmental project No. 1730, 2015. Project report <https://www2.mst.dk/Udgiv/publications/2015/07/978-87-93352-48-3.pdf>
- De Berardis, B., Civitelli, G., Condello, M., Lista, P., Pozzi, R., Arancia, G., Meschini, S. (2010). Exposure to ZnO nanoparticles induces oxidative stress and cytotoxicity in human colon carcinoma cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 246, 116–127.

Dekkers, S., Krystek, P., Peters, R.J., Lankveld D.P., Bokkers, B.G., van Hoeven-Arentzen, P.H., Bouwmeester, H., Oomen, A.G. (2011). Presence and risks of nanosilica in food products. *Nanotoxicology*, 5, 393–405.

ECETOC (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals), 2006. Synthetic amorphous silica. ECETOC Joint Assessment of Commodity Chemicals, JACC no. 51.

EFSA, 2009. Calcium silicate and silicon dioxide/silicic acid gel added for nutritional purposes to food supplements. *EFSA Journal*, 1132, 1-24.

EFSA, 2014. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for zinc. *EFSA journal*, 12(10), 3844.

EFSA, 2018. Re-evaluation of silicon dioxide (E 551) as a food additive. *EFSA Journal*, 16(1), 5088.

EFSA, 2018. Summary of Tolerable Upper Intake Levels – version 4. Overview on Tolerable Upper Intake Levels as derived by the Scientific Committee on Food (SCF) and the EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA).

EFSA, 2019. Nanomaterials in FOOD – Prioritisation and Assessment. *EFSA Journal*, 17(S2):el 170909.

Ejaz, M., Arfat, Y.A., Mulla, M., Ahmed, J. (2018). Zinc Oxide Nanorods/clove Essential Oil Incorporated Type B Gelatin Composite Films and Its Applicability for Shrimp Packaging. *Food Packaging Shelf Life*, 15, 113–121.

Emamifar, A., Kadivar, M., Shahedi, M., Soleimani-Zad, S. (2010). Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on shelf life of fresh orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 742–748.

Emamifar, A., Mohammadzadeh, M. (2015). Preparation and Application of LDPE/ZnO Nanocomposites for Extending Shelf Life of Fresh Strawberries. *Food Technology Biotechnology*, 53(4), 488–495.

ES, 2015. Eiropas Parlamenta un Padomes Regula (ES) 2015/2283 par jauniem pārtikas produktiem un ar ko groza Eiropas Parlamenta un Padomes Regulu (ES) Nr. 1169/2011 un atceļ Eiropas Parlamenta un Padomes Regulu (EK) Nr. 258/97 un Komisijas Regulu (EK) Nr. 1852/2001.

Eskandari, M., Haghghi, N., Ahmadi, V., Haghghi, F., Mohammadi, S.R. (2011). Growth and investigation of antifungal properties of ZnO nanorod arrays on the glass. *Physica B: Condensed Matter*, 406, 112–114.

Espitia P.J.P., Soares N.F.F., Coimbra, J.S.R., Andrade, N.J., Cruz, R.S., Medeiros, E.A.A. (2012). Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Antimicrobial Activity and Food Packaging Applications. *Food Bioprocess Technology*, 5, 1447–1464.

Espitia, P.J.P., Otoni, C.G., Soares, N.F.F. (2016). Zinc Oxide Nanoparticles for Food Packaging Applications. In Jorge Barros-Velazquez (Eds.), *Antimicrobial Food Packaging* (pp. 425-431), Academic Press.

Fruijtjer-Poelloth, C. (2012). The toxicological mode of action and the safety of synthetic amorphous silica – a nanostructured material. *Toxicology*, 294, 61–79.

Ghule, K., Ghule, A.V., Chen, B.J., Ling, Y.C. (2006). Preparation and characterization of ZnO nanoparticles coated paper and its antibacterial activity study. *Green Chemistry*, 8, 1034–1041.

Go, M.R., Bae, S.H., Kim, H.J., Yu, J., Choi, S.J. (2017). Interactions between food additive silica nanoparticles and food matrices. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1013.

Gordon, T., Perlstein, B., Houbara, O., Felner, I., Banin, E., Margel, S. (2011). Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 374, 1–8.

He, L., Liu, Y., Mustapha, A., & Lin, M. (2011). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological Research*, 166(3), 207–215.

Heydari-Majd, M., Ghanbarzadeh, B., Shahidi-Noghabi, M., Najafi, M. A., Hosseini, M.A. (2019). New Active Nanocomposite Film Based on PLA/ZnO Nanoparticle/essential Oils for the Preservation of Refrigerated *Otolithes ruber* Fillets. *Food Packaging Shelf Life*, 19, 94–103.

Heng, B.C., Zhao, X., Xiong, S., Woei Ng, K., Yin-Chiang Boey, F., Say-Chye Loo, J. (2010). Toxicity of zinc oxide (ZnO) nanoparticles on human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) is accentuated by oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1762–1766.

Heroult, J., Nischwitz, V., Bartczak, D., Goenaga-Infante, H., 2014. The potential of asymmetric flow field-flow fractionation hyphenated to multiple detectors for the quantification and size estimation of silica nanoparticles in a food matrix. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406, 3919–3927.

Hsiao, I.L., Huang, Y.J. (2011). Effects of various physicochemical characteristics on the toxicities of ZnO and TiO<sub>2</sub> nanoparticles toward human lung epithelial cells. *Science of Total Environment*, 409, 1219–1228.

Huang, C.C., Aronstam, R.S., Chen, D.R., Huang, Y.W. (2010). Oxidative stress, calcium homeostasis, and altered gene expression in human lung epithelial cells exposed to ZnO nanoparticles. *Toxicology In Vitro*, 24, 45–55.

Indumathi, M.P., Rajarajeswari, G.R. (2019b). Mahua Oil-based Polyurethane/chitosan/nano ZnO Composite Films for Biodegradable Food Packaging Applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 163–174.

Indumathi, M.P., Sarojini, K.S., Rajarajeswari, G.R. (2019). Antimicrobial and Biodegradable Chitosan/cellulose Acetate phthalate/ZnO Nano Composite Films with Optimal Oxygen Permeability and Hydrophobicity for Extending the Shelf Life of Black Grape Fruits. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 1112–1120.

Inese Sikсна, Ilva Lazda, Māris Goldmanis. Veselības ministrija Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts “BIOR”. Pētījums par sāls un joda patēriņu Latvijas pieaugušo iedzīvotāju populācijā. Gala ziņojums. 2020. 143. lpp. Pieejams: [http://petijumi.mk.gov.lv/sites/default/files/title\\_file/Petijuma\\_gala\\_zinojums.pdf](http://petijumi.mk.gov.lv/sites/default/files/title_file/Petijuma_gala_zinojums.pdf).

Youssef, A.M., El-Sayed, S.M., El-Sayed, H.S., Salama, H.H., Dufresne, A. (2016). Enhancement of Egyptian Soft White Cheese Shelf Life Using a Novel Chitosan/carboxymethyl Cellulose/zinc Oxide Bionanocomposite Film. *Carbohydrate Polymers*, 151, 9–19.

Jafarzadeh, S., Rhim, J.W., Alias, A.K., Ariffin, F., Mahmud, S. (2019). Application of Antimicrobial Active Packaging Film Made of Semolina Flour, Nano Zinc Oxide and Nano-kaolin to Maintain the Quality of Low-moisture Mozzarella Cheese during Low-temperature Storage. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 99(6), 2716–2725.

Jalal, R., Goharshadi, E. K., Abareishi, M., Moosavi, M., Yousefi, A., Nancarrow, P. (2010). ZnO nanofluids: green synthesis, characterization, and antibacterial activity. *Materials Chemistry and Physics*, 121(1–2), 198–201.

Kasemets, K., Ivask, A., Dubourguier, H.-C., Kahru, A. (2009). Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Toxicology In Vitro*, 23(6), 1116–1122.

Kim, I., Viswanathan, K., Kasi, G., Thanakkasaranee, S., Sadeghi, K., Seo, J. (2020). ZnO Nanostructures in Active Antibacterial Food Packaging: Preparation Methods, Antimicrobial Mechanisms, Safety Issues, Future Prospects, and Challenges. *Food Reviews International*, 1525-6103.

Komisijas Ieteikums, 2011. Komisijas Ieteikums 2011/696/ES par nanomateriālu definīciju.

Komisijas regula (ES) 2016/1416, ar kuru groza un labo Regulu (ES) Nr. 10/2011 par plastmasas materiāliem un izstrādājumiem, kas paredzēti saskarei ar pārtiku.

Komisijas Regula (ES), 2012. Komisijas Regula (ES) Nr. 231/2012, ar ko nosaka Eiropas Parlamenta un Padomes Regulas (ES) Nr. 1333/2008 II un III pielikumā uzskaitīto pārtikas piedevu specifikācijas.

Komisijas Regula, 2011. Komisijas Regula (ES) Nr. 1129/2011 ar ko groza Eiropas Parlamenta un Padomes Regulas (EK) Nr. 1333/2008 II pielikumu, izveidojot Eiropas Savienības atļauto pārtikas piedevu sarakstu.

Komisijas Regula, 2011. Komisijas Regula (ES) Nr. 1130/2011, ar ko groza III pielikumu Eiropas Parlamenta un Padomes Regulā (EK) Nr. 1333/2008 par pārtikas piedevām, izveidojot Savienības atļauto pārtikas piedevu sarakstu lietošanai pārtikas piedevās, pārtikas fermentos, pārtikas aromatizētājos un uzturvielās.

Kumar, S., Boro, J.C., Ray, D., Mukherjee, A., Dutta, J. (2019). Bionanocomposite Films of Agar Incorporated with ZnO Nanoparticles as an Active Packaging Material for Shelf Life Extension of Green Grape. *Heliyon*, 5(6), 01867.

Langendorf, H., Lang, K. (1967). Der Einfluss polymerer Kieselsäuren auf die renale SiO<sub>2</sub>-Ausscheidung beim Menschen. *Zeitschrift Ernährungs-wissenschaft*, 8, 27–32.

Li, J.H., Hong, R.Y., Li, M.Y., Li, H.Z., Zheng, Y., Ding, J. (2009). Effects of ZnO nanoparticles on the mechanical and antibacterial properties of polyurethane coatings. *Progress in Organic Coatings*, 64, 504–509.

Noshirvani, N., Ghanbarzadeh, B., Mokarram, R.R., Hashemi, M. (2017). Novel Active Packaging Based on Carboxymethyl cellulose-chitosan-ZnO NPs Nanocomposite for Increasing the Shelf Life of Bread. *Food Packaging Shelf Life*, 11, 106–114.

Ohira, T., Yamamoto, O., Iida, Y., Nakagawa, Z. (2008). Antibacterial activity of ZnO powder with crystallographic orientation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19, 1407–1412.

Oprea, O., Andronescu, E., Ficai, D., Ficai, A., Oktar, F.N., Yetmez, M. (2014). ZnO applications and challenges. *Current Organic Chemistry*, 12, 192–203.

Özgür, Ü., Alivov, Y.I., Liu, C., Teke, A., Reshchikov, M.A., Doğan, S., Avrutin, V., Cho, S.-J., Morkoç, H. (2005). A comprehensive review of ZnO materials and devices. *Journal of Applied Physics*, 98, 041301.

Petchwattana, N., Covavisaruch, S., Wibooranawong, S., Naknaen, P. (2016). Antimicrobial Food Packaging Prepared from Poly (Butylene Succinate) and Zinc Oxide. *Measurement*, 93, 442–448.

Peters, R., Kramer, E., Oomen, A.G., Rivera, Z.E., Oegema, G., Tromp, P.C., Fokkink, R., Rietveld, A., Marvin, H.J., Weigel, S., Peijnenburg, A.A, Bouwmeester, H. (2012). Presence of nanosized silica during in vitro digestion of foods containing silica as a food additive. *ACS Nano*, 6, 2441–2451.

Polat, S., Fenercioglu, H., UnalTurhan, E., Guclu, M. (2018). Effects of Nanoparticle Ratio on Structural, Migration Properties of Polypropylene Films and Preservation Quality of Lemon Juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(4), 13541.

Premanathan, M., Karthikeyan, K., Jeyasubramanian, K., Manivannan, G. (2011). Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 7, 184–192.

Pujalté, I., Passagne, I., Brouillaud, B., Tréguer, M., Durand, E., Ohayon-Courtès, C., L'azou, B. (2011). Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. *Part Fibre Toxicology*, 8, 1–16.

Rai, M., Yadav, A., Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27(1), 76–83.

Reddy, K.M., Feris, K., Bell, J., Wingett, D.G., Hanley, C., Punnoose, A. (2007). Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. *Applied Physics Letters*, 90, 213902.

Saekow, M., Naradisorn, M., Tongdeesoontorn, W., Hamauzu, Y. (2019). Effect of Carboxymethyl Cellulose Coating Containing ZnO-nanoparticles for Prolonging Shelf Life of Persimmon and Tomato Fruit. *Journal of Food Science and Agricultural Technology*, 5, 41–48.

Sawai, J. (2003). Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay. *Journal of Microbiological Methods*, 54, 177–182.

SCF/CS/NUT/UPPLEV/62 Final, [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out177\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out177_en.pdf). (2003)

Soares, N.F.F., Silva, C.A.S., Santiago-Silva, P., Espitia, P.J.P., Goncalves, M.P.J.C., Lopez, M.J.G., Miltz, J., Cerqueira, M.A., Vicente, A.A., Teixeira, J., Silva, W.A., Botrel, D.A. (2009). Active and intelligent packaging for milk and milk products. In J.S.R. Coimbra and J.A. Teixeira (Eds.), *Engineering aspects of milk and dairy products* (pp. 155–174). New York, USA: CRC Press Taylor and Francis Group.

Takizawa, Y., Hirasawa, F., Noritomi, E., Aida, M., Tsunoda, H., Uesugi, S. (1988). Oral ingestion of syloid to mice and rats and its chronic toxicity and carcinogenicity. *Acta Medica et Biologica*, 36, 27–56.

Vicentini, D.S., Smania Jr., A., Laranjeira, M.C.M. (2010). Chitosan/poly (vinyl alcohol) films containing ZnO nanoparticles and plasticizers. *Materials Science and Engineering, C* 30, 503–508.

Wolterbeek, A., Oosterwijk, T., Schneider, S., Landsiedel, R., de Groot, D., van Ee, R., Wouters, M van de Sandt, H. (2015). Oral two-generation reproduction toxicity study with NM-200 synthetic amorphous silica in Wistar rats. *Reproductive Toxicology*, 56, 147–154.

Zhang, H., Chen, B., Jiang, H., Wang, C., Wang, H., Wang, X. (2011). A strategy for ZnO nanorod mediated multi-mode cancer treatment. *Biomaterials*, 32, 1906–1914.

Zhang, L., Ding, Y., Povey, M., York, D. (2008). ZnO nanofluids—a potential antibacterial agent. *Progress in Natural Science*, 18(8), 939–944.