



BIOR

PĀRTIKAS DROŠĪBAS, DZĪVNIĒKU VESELĪBAS
UN VIDES ZINĀTNISKAIS INSTITŪTS

LATVIJAS IZCELSMES MEDUS AUTENTISKUMA, KVALITĀTES UN NEKAITĪGUMA NOVĒRTĒJUMS UN PRASMES PĀRBAUŽU ORGANIZĒŠANA

GALA ATSKAITE

Izpildītājs:

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

RĪGA
2019

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. 19-00-SOINV05-000011

**LATVIJAS IZCELSMES MEDUS AUTENTISKUMA, KVALITĀTES UN NEKAITĪGUMA
NOVĒRTĒJUMS UN PRASMES PĀRBAUŽU ORGANIZĒŠANA**

GALA ATSKAITE

Rīga

2019

SATURS

| | |
|--------------------------------------|----|
| IEVADS | 5 |
| LITERATŪRAS APSKATS | 7 |
| EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA | 12 |
| 3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS | 63 |
| SECINĀJUMI | 78 |
| IZMANTOTĀ LITERATŪRA | 79 |

APZĪMĒJUMI

| | |
|-------|---|
| EFSA | Eiropas pārtikas nekaitīguma iestāde |
| ES | Eiropas Savienība |
| GC | Gāzu hromatogrāfija |
| HMF | Hidrometilfurfuols |
| IRMS | Vieglo stabilo izotopu attiecību masspektrometrija |
| Kcal | Kilokalorijas |
| LC | Šķidrums hromatogrāfija |
| LOQ | Kvantificēšanas robeža (<i>no angļu val.-limit of quantification</i>) |
| MS | Masspektrometrija |
| RASFF | Ātrās brīdināšanas sistēma pārtikas un barības jomā |
| RI | Refraktometriskais detektors |
| SST | Starplaboratoriju salīdzinošā testēšana |
| TOF | Nolidojuma laika masspektrometrija |
| Q | Kvadupols |

IEVADS

Medus ir sarežģīta sastāva produkts, kas satur vairāk nekā 300 savienojumus no dažādām grupām, piemēram, cukurus (monosaharīdus un oligosaharīdus), organiskās skābes, aminoskābes, fermentus, flavonoīdus, vitamīnus, ēteriskās eļļas, sterīnus un fosfolipīdus. Medus ir svarīgs enerģijas avots, kas satur aptuveni 80g/100g ogļhidrātu un 20g/100g ūdens. Medū esošie flavonoīdi sastāv no flavanoniem, flavoniem un flavonoliem, bet fenola skābes ir aizvietotās kanēļskābes un benzoscābes. Šie savienojumi nosaka medus krāsu, garšu un aromātu.

Kā dabisks produkts ar salīdzinoši augstu cenu, medus jau ilgu laiku ir kļuvis par viltošanas objektu. Medus autentiskums ir ļoti svarīgs gan no komerciāliem, gan veselības aspektiem. Medus viltošanas atklāšana ir sarežģīta, jo šim produktram ir raksturīga dabiskā mainība atkarībā no augu sugas, vides, apstrādes un uzglabāšanas procedūrām. Medus viltošana var notikt, pievienojot neraksturīgas vielas, piemēram, melasi, cietes šķīdumu, glikozi, saharozi, ūdeni un invertētu cukuru, vai mainot fizikāli ķīmiskos parametrus. Pārmērīga siltuma izmantošana pasterizācijai un sašķidrināšanai var negatīvi ietekmēt medus kvalitāti, piem., izraisot gaistošo savienojumu zudumus un fermentu aktivitātes samazināšanos.

Medus var būt piesārņots ar pesticīdiem, kas produktā nonāk no lauksaimniecības darbībām, tāpēc ir nepieciešams uzraudzīt to atliekvielas. Papildus riska faktors ir veterinārās zāles (akaricīdi), ko biškopji izmanto, lai kontrolētu *Varroa* ērces invāziju. Literatūrā ir ziņas par tādu savienojumu kā tetraciklīni, streptomīcīns, sulfonamīdi, tilozīns, eritromicīns, linkomicīns, hloramfenikols, nitrofurāni, nitroimidazoli, fluorhinoloni un fumagilīns atliekvielām medus paraugos. Lai aizsargātu patērētāja veselību, Eiropas Savienībā tika noteikts maksimālais atlieku līmenis atsevišķiem pesticīdiem medū. Eiropas Komisija noteica maksimāli pieļaujamus atlieku daudzumus attiecībā uz savienojumiem, ko izmanto kā augu aizsardzības līdzekļus, kā arī veterinārajām zālēm.

Lai novērtētu konvencionāli iegūtā medus autentiskumu, kvalitāti un nekaitīgumu, kā arī lai identificētu Latvijas izcelsmes medus rakstulielumus, projekta ietvaros bija paredzēts veikt pētījumus vairāku ķīmisko komponentu noteikšanai. Medus autentiskuma noteikšana tiks veikta, veicot flavonoīdu noteikšanu, kā arī veicot nemērķēto skrīningu ar augstas izšķirtspējas masspektrometrijas metodi (LC-Orbitrap-MS). Bez tam paraugos tiks noteikti medus kvalitātes parametri, kā arī nodrošināts pesticīdu un veterināro zāļu atliekvielu izplatības.

Šobrīd Latvijā ir 29 kautuvju laboratorijas, kuras Pārtikas un Veterinārais dienests ir izraudzījis oficiālo *Trichinella* testu veikšanai, kurās 2018.gadā tika nokautas 98.8% no kopējā valstī nokautā cūku skaita. Prasmju pārbažu iztrūkuma gadījumā, netiktu izpildītas ES Regulas 2017/625 40. panta 1. punkta a) apakšpunkta prasības, kā rezultātā būtu jāpārtrauc šo 29 laboratoriju darbība, kas radītu nozīmīgus zaudējumus nozarei. Bez šīm laboratorijām, kautuvēm, lai nodrošinātu oficiālās kontroles prasības (obligāto cūku izmeklēšanu uz *Trichinella spp.*), paraugi izmeklēšanai būtu jānogādā uz Institūta "BIOR" laboratoriju, kas ir vienīgā pēc LATAK prasībām akreditētā laboratorija Latvijā. Šāda darbība kavētu cūku liemeņu realizāciju, kas samazinātu gaļas kvalitāti un radītu papildus izdevumu kautuvēm gan par paraugu nogādāšanu uz laboratoriju, gan izmeklējuma veikšanu, rezultātā radot būtiskus ekonomiskos zaudējumus gan kautuvēm individuāli, gan miesnieku un gaļas tirdzniecības nozarē kopumā.

Darba uzdevumi:

1. Medus autentiskuma noteikšana, nosakot flavonoīdus, kā arī veicot nemērķēto skrīningu ar augstas izšķirtspējas masspektrometrijas metodi. Pētījuma rezultātā tiks uzsākta datubāzes izveide, lai to turpmāk izmantotu Latvijas reģiona medus izcelsmes identificēšanai.
2. Medus kvalitātes parametru (HMF, cukuru saturs, elektrovadītspējas) noteikšana paraugos.
3. Pesticīdu un veterināro zāļu atliekvielu izplatības monitorings ar masspektrometrijas metodi.
4. Prasmju pārbažu organizēšana laboratorijām, kas nosaka *Trichinella* kāpurus gaļā, nodrošinot individuālus paraugus visiem testēšanā iesaistītajiem darbiniekiem

LITERATŪRAS APSKATS

Medus, tā raksturojums

Medus sastāva un uzturvērtības izvērtējums

Medus ir dabīga, salda viela, ko bites ražo no augu nektāra, augu dzīvo daļu sekrēta vai sūcējinspektu 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 sūcējinspektu 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 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 grami fruktozes, 30 g glikozes un tikai 0,7 grami saharozes. Vēl no izplatītākajiem ogļhidrātiem medū ir jāatzīmē monosaharīds galaktoze (aptuveni 3 g) un disaharīds maltose (1,4 grami) [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].

Medus ķīmiskais sastāvs

| | 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 | | 80,5 | |
| 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].

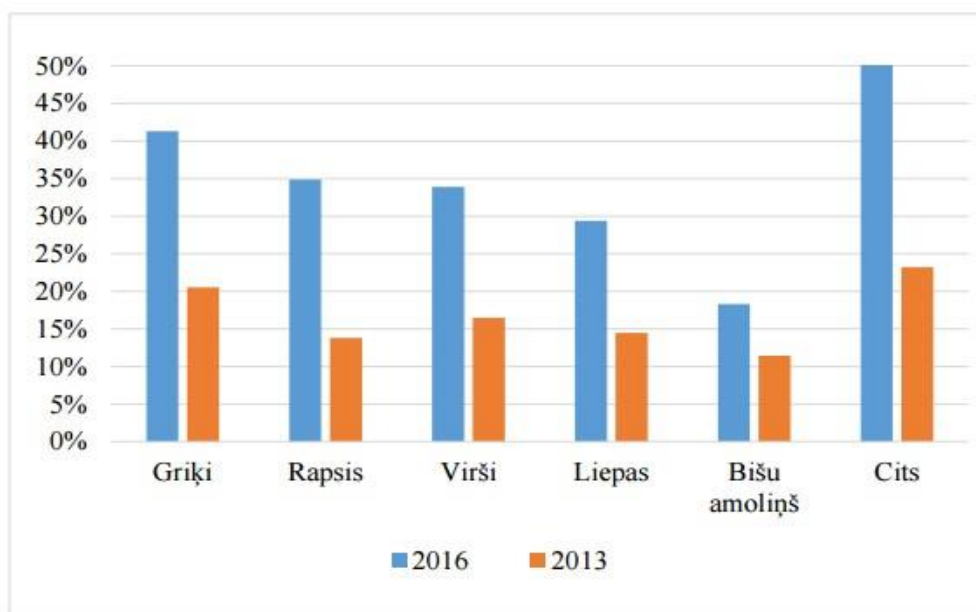
Polifenoli ir nozīmīga ķīmisko savienojumu grupa, jo tiem piemīt antioksidantu īpašības. Kopējais fenolu daudzums, kas variē dažāda veida medū ir no 56 līdz 500 mg/kg medus. Galvenokārt tie ir flavanoīdi (kvercētīns, luteolīns, apigenīns, galangīns, kaempferīds), fenolskābes un fenolskābju atvasinājumi. 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 analizēti 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 [6]. Ja daļu no ikdienā paterētājiem saldinātājiem aizvietotu ar medu, tas radītu antioksidantu pieaugumu cilvēku uzturā.

Medus patēriņš

Eiropa ir otrais lielākais medus ražotājs pasaulē, taču saražotais apjoms nespēj pilnībā nodrošināt pieprasījumu, tāpēc 40 % no kopējā apjoma veido importa medus. Visvairāk medus tiek importēts no Ķīnas un Meksikas [7].

Pēc Lauksaimniecības datu centra (LDC) sniegtās informācijas, 2018. gadā Latvijā ir reģistrēti 3160 biškopji ar 102782 bišu saimēm. Salīdzinājumā ar 2017. gadu ir palielinājies gan biškopju (par 7,2 %) skaits, gan bišu saimju (6,8 %) skaits. 2017. gadā tika saražotas 1639 tonnas, bet 2018. gadā – 1998 tonnas medus. Lielākā daļa saražotā medus gala patērētājam tiek pārdots tieši no ražotāja saimniecības, un otra daļa – nonāk tirgū un veikalos. Specializēto medus veikalu īpatsvars medus izplatīšanā ir zems.

Visvairāk Latvijā tiek saražots dažādu ziedu medus, bet arvien lielāku popularitāti gūst kāda viena konkrēta augs medus. Tradicionāli Latvijā populārākās monoflorā medus šķirnes ir griķu, viršu un rapša medus:



Bišu izvešana ganībās, atbilžu skaits (%) un rezultātu salīdzinājums, apkopojot 2013. gada aptaujas un 2016. gada aptaujas datus [8]

Medus patēriņš uz vienu iedzīvotāju Latvijā ir aptuveni 1,2 kg [8]. Taču ņemot vērā, ka mūsdienās patērētāji uzturā arvien vairāk izvēlas lietot dabiskas izcelsmes produktus, medus patēriņš nākotnē varētu pieaugt.

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 saldinātājiem, 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 [9].

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 pakalpinājums dabīgam medum, padarot šādu viltojumu grūtāk nosakāmu, izmantojot tautsaimniecības metodes un vienkāršākās laboratorijas metodes [10].

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 palmai 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 [11].

Dārgu medu mēdz viltot, pievienojot lētāku medu. Akācijas medus (*Robinia pseudoacacia*) ir dzeltenīgi caurspīdīgs 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 [12].

Tiek izmantotas dažādas metodes, kas ļauj izdarīt secinājumus par medus autentiskumu: vieglo stabilo izotopu attiecību masspektrometrija (IRMS), plānslāņa hromatogrāfija, gāzu hromatogrāfija (GC), augsti efektīvā šķīdumu hromatogrāfija, augstas izšķirtspējas anjonu apmaiņas hromatogrāfija, tuvā infrasarkanā spektra spektroskopija, kodolu magnētiskā rezonanse, Ramana spektroskopija, ultra augsti efektīvā šķīdumu hromatogrāfija tandēmā ar kvadrupola lidojuma laika masspektrometriju (Q-TOF-MS). 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 [13].

Medus piesārņojums ar antibiotiku atliekvielām

Medus sastāvs atspoguļo gan ģeogrāfiskās vietas floru, gan vides vispārējo kvalitāti, kā arī pesticīdu un antibiotiku lietošanu lauksaimniecībā. Tāpēc bites un to produkciju var uzskatīt par noteiktas teritorijas piesārņojuma indikatoru. Galvenie medus piesārņojuma veidi ir smagie metāli un organiskie savienojumi – polihlorbifenili, gaistošie ogļūdeņraži, pesticīdi un antibiotikas.

Medū sastopamas vairākas antibiotiku klases: tetraciklīni, amfenikoli, makrolīdi, beta-laktāmi un aminoglikozīdi. Atliekvielu avoti ir baktēriju izraisītu slimību apkarošana biškopībā, augkopībā un lopkopībā.

Eiropas Komisijas regulā Nr. 37/2010 par farmakoloģiski aktīvajām vielām un to klasifikāciju pēc to atlieku maksimāli pieļaujamā satura dzīvnieku izcelsmes pārtikas produktos norādītas tikai divu vielu – amitrāza un kumafosa – maksimāli pieļaujamās vērtības medū – 200 µg/kg un 100 µg/kg attiecīgi. Abas aktīvās vielas izmanto bišu slimības varrozes apkarošanā [14]. Amitrāzs un kumafoss ir nepolāri organiskie savienojumi, tāpēc galvenokārt tie atrodami bišu vaskā, kuram, salīdzinājumā ar medu, likumdošana pašlaik nenosaka atliekvielu maksimāli pieļaujamās vērtības [14]. Bišu vasku izmanto farmaceitiskos preparātos, pārtikas ražošanā un iepakojumā, kā arī kosmētikā. Praksē mēdz veikt bišu vaska pārkausēšanu un atkārtotu izmantošanu biškopībā, kas var izraisīt atliekvielu uzkrāšanos vaskā [15]. Kumafoss medū saglabājas vairāk nekā 30 dienas, bet bišu vaskā – vairāk nekā gadu pēc pretvarrozes līdzekļu lietošanas. Tā pussabrukšanas laiks medū ir 69 dienas, bet vaskā – no 115 līdz 346 dienām [16].

Komisijas 2018. gada 21. marta īstenošanas regula (ES) 2018/470 par sīki izstrādātiem noteikumiem par maksimāli pieļaujamo atlieku daudzumu, kuru ņem vērā, lai pārbaudītu pārtikas produktus, kas iegūti no dzīvniekiem, kuri Eiropas Savienībā apstrādāti saskaņā ar Direktīvas 2001/82/EK 11. pantu nosaka rīcību, kā pārbaudes nolūkos piemērot farmakoloģiski aktīvām vielām noteiktos maksimāli pieļaujamo daudzumus matricām un sugām, kurās tas nav norādīts. Regulas 2. pants nosaka, ka bišu ārstēšana ir pieļauta un 3. panta c) punkts nosaka, ka biškopības produktiem atliekvielu uzraudzībā piemēro mazāko noteikto maksimāli pieļaujamo daudzumu, kas noteikts Regulas 37/2010 1. pielikumā citām matricām.

EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

I Pētījumam par Latvijas izcelsmes medus autentiskuma, kvalitātes un nekaitīguma novērtumu pielietotās analītiskās metodes

| Nr.p.k. | Metodes nosaukums |
|--|--|
| Medus kvalitātes parametru noteikšanas metodes: | |
| 1 | Fruktozes, glikozes un saharozes noteikšana ar augsti efektīvo šķidrums hromatogrāfiju (§ 64 LFGB L 40.00-7) |
| 2 | Mitruma noteikšana ar refraktometrisko metodi (IHC 1:2009) |
| 3 | Elektrovadītspējas noteikšana (IHC 2:2009) |
| 4 | pH un brīvā skābuma noteikšana ar titrēšanu līdz pH 8,3 (IHC 4.1:2009) |
| 5 | Diastāzes aktivitātes (skaitļa) noteikšana pēc Phadebas (IHC 6.2:2009) |
| 6 | Ūdenī nešķīstošo vielu noteikšana (IHC 8:2009) |
| 7 | 5-(Hidroksimetil)furfurola (HMF) noteikšana medū ar šķidrums hromatogrāfiju (BIOR-T-012-184-2016) |
| Pesticīdu un veterināro zāļu atliekvielu izplatības monitorings: | |
| 8 | Hloramfenikola noteikšanas metode dzīvnieku izcelsmes produktos ar šķidrums hromatogrāfiju – tandēma masspektrometriju (BIOR-T-012-025-2008) |
| 9 | Nitroimidazolu noteikšanas metode dzīvnieku izcelsmes objektos un produktos ar šķidrums hromatogrāfiju-tandēma masspektrometriju (BIOR-T-012-186-2017) |
| 10 | Antibiotiku atliekvielu noteikšanas metode pārtikas produktos un dzīvnieku barībā ar šķidrums hromatogrāfiju-masspektrometriju (BIOR-T-012-109-2009) |
| 11 | Glifosāta noteikšanas metode augu un dzīvnieku izcelsmes produktos ar šķidrums hromatogrāfiju – tandēma masspektrometriju (BIOR-T-012-145-2013) |
| 12 | Pesticīdu noteikšana ar AEŠH-MS un GH-MS. QuEChERS metode. (LVS EN 15662:2018) |
| Medus autentiskuma noteikšanas metodes: | |
| 13 | Flavonoīdu, fenolo skābju un vitamīnu noteikšanas metode |

1. Fruktozes, glikozes un saharozes noteikšana ar augsti efektīvo šķidruma 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 šķidruma hromatogrāfu (AEŠH), kas savienots ar refraktometrisko (RI) detektoru.

Reaģenti 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.

Standartšķidumu pagatavošana

Pamatšķidumus pagatavo paraugu analīzes dienā. Pagatavojot pamatšķidumus, 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 | legūtā koncentrācija, % | legūtā 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 šķīduma hromatogrāfā.

AEŠH-RI analīzes parametri

Šķīduma 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.

- Žāvskapis;
- 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 satūra noteikšanu.
- Ja medus kristālus nesatur, paraugu homogenizē samaisot un tālāk veic mitruma satūra 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.

Reaģenti

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.

Reaģenti

- 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 miliekivalentos 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.

Reāģenti

- 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 (kontrollei).
- 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 kontrollei, 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:

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

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

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 svāri ar precizitāti līdz 0,0001 g;
- filtrtīģelis ar poru izmēru no 15-40 mikroni;
- žāvskapis 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 žāvskapī un atdzesē līdz istabas temperatūrai eksikatorā.
- Izšķīdināto medus paraugu filtrē caur filtrtīģelī un mazgā ar siltu ūdeni, līdz tas nesatur cukurus (pārbauda ar 1 % florglucinola šķ. etilspirtā. To piepilina mēģenē ielietam filtrātam un gar mēģenes sieniņām piepilina pāris pilienus konc. sērskābi, ja filtrāts satur cukurus, veidojas krāsa).
- Žāvē filtrtīģeli vienu stundu žāvskapī pie 135 °C, atdzesē un nosver.
- Filtrtīģeli ievieto vēlreiz žāvē žāvskapī pie 135 °C 30 minūtes, atdzesē un nosver.
- Žāvēšanu turpina, līdz filtrtīģelis 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);
- acetnitrils (AEŠH tīrības pakāpe);
- dejonizēts ūdens (1. tīrības pakāpe, ūdens pretestība $> 18 M\Omega\text{-cm}$);
- 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) – acetonitrils.* 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

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

| UV detektora parametri | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|--|-------------|------|-------|----|-------|------|------|------|-------|------|----|---|----|---|------|----|---|----|---|------|----|----|---|---|------|----|----|---|---|------|----|---|----|---|------|----|---|----|---|------|------|-------------|----|----|----|----|----|----|
| Režīms | 2D datu vākšana | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Frekvenču joslas platums | 1,2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Iztveršanas frekvence | 2,0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Viļņa garums (λ) | 284 nm | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AEŠH parametri | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Kolonna | <i>Luna C18</i> – 100 mm x 2,0 mm, daļiņu izmērs 3 μ m (piem., <i>Phenomenex</i>) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Plūsmas ātrums | 0,20 mL/min (gradienta režīms) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Injekcijas tilpums | 7,5 μ L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Analīzes laiks | 25 min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Kolonnas temp. | 30 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Gradienta programmas | <ul style="list-style-type: none"> • Kustīgā fāze "A": dejonizēts ūdens • Kustīgā fāze "B": acetnitrils • Kustīgā fāze "D": metanols <p>Sekvences uzsākšanas režīms (iekļauj sekvences sākumā, 60 min)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>A, %</th> <th>D, %</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>90</td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table> <p>Analīzes režīms (ievadīto paraugu šķīdumu analīzei, gradienta režīms)</p> <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> <p>Kolonnas skalošanas režīms (iekļauj sekvences beigās)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>A, %</th> <th>D, %</th> <th>Ilgums, min</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>10</td> <td>90</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>50</td> <td>50</td> <td>60</td> </tr> </tbody> </table> | A, % | D, % | 90 | 10 | 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 | A, % | D, % | Ilgums, min | 10 | 90 | 60 | 50 | 50 | 60 |
| A, % | D, % | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 90 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 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 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 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. Hloramfenikola noteikšanas metode dzīvnieku izcelsmes produktos ar šķīduma hromatogrāfiju – tandēma masspektrometriju (BIOR-T-012-025-2008)

Analīzes princips un pielietojuma sfēra

Metode paredzēta hloramfenikola noteikšanai dzīvnieku izcelsmes produktos. Metode ietver parauga homogenizēšanu, ekstrakciju ar etilacetātu, šķīduma-šķīduma ekstrakciju, cietfāžu ekstrakciju un savienojumu detektēšanu izmantojot AEŠH-MS/MS.

Reaģenti un materiāli

- Etilacetāts (*Organisko vielu not. analīzēm – piemaisījumu saturs < 5 ng/L*);
- acetonitrils (*AEŠH tīrības pakāpe*);
- metanols (*AEŠH tīrības pakāpe*);
- hloroforms (> 99%, *ACS tīrības pakāpes*);
- dejonizēts ūdens (*1. tīrības pakāpe, ūdens pretestība > 18 MΩ-cm*);
- nātrija hlorīds (*ACS tīrības pakāpes*);
- cietfāžu ekstrakcijas kolonnas C18 500 mg/6 mL (piem., *Phenomenex*).

Aparatūra un trauki

- Analītiskie svāri ar precizitāte 0,0001 g;
- laboratorijas svāri ar precizitāti vismaz 0,01g;
- laboratorijas centrifūga;
- homogenizators (piem., *Ultra Turrax, Vortex*);
- maisītājs (piem., *BioSan*);
- sildīšanas iekārtas un slāpekļa ietvaicēšanas sistēma;
- centrifūgas polipropilēna mēģenes 15 mL, 50 mL;
- automātiskās pipetes ar maināmo tilpumu.

Darba šķīdumi

- *4% NaCl ūdens šķīdums*. 4 g NaCl izšķīdina 96 ml ūdens.
- *Acetonitrils/ūdens šķīdums (5/95)*. 5 ml acetonitrila pievieno 95 ml ūdens un šķīdumu samaisa.
- *Acetonitrils/ūdens šķīdums (50/50)*. 50 ml acetonitrila pievieno 50 ml ūdens un šķīdumu samaisa.
- *Acetonitrils/ūdens šķīdums (20/80)*. 20 ml acetonitrila pievieno 80 ml ūdens un šķīdumu samaisa.

Standartvielas un standartšķīdumi

Hloramfenikols un hloramfenikols-d5 (piem., *Dr.Ehrenstorfer*).

Standartšķīdumi ar koncentrāciju lielāku par 10 ng/μL derīgi 2 gadu, glabājot 4 °C tumšā vietā.

Pagatavo hloramfenikola darba standartšķīdumu metanolā ar beigu koncentrāciju 0,1 ng/μL.

Šķīdums derīgs 6 mēnešus, glabājot 4 °C tumšā vietā. Pagatavo iekšējā standarta hloramfenikola-d5 darba standartšķīdumu metanolā ar beigu koncentrāciju 0,1 ng/μL. Šķīdums derīgs 6 mēnešus, glabājot 4 °C tumšā vietā.

Darba gaita

- 5 g homogenizētam paraugam pievieno 50 μL iekšējā standarta šķīduma ar koncentrāciju 0,1 ng/ μL (iekšējā standarta koncentrācija paraugā 1,0 ng/g).
- Pievieno 5 ml 4% NaCl ūdens šķīduma.
- Homogenizē ar *Ultra-Turrax*.
- Pievieno 10 mL etilacetāta un sajauc 10 min uz maisītāja.
- Kontrolparaugiem pievieno 15 μL (piens) un 7,5 μL (pārējās matricas) hloramfenikola standartšķīdumu ar koncentrāciju 0,1 ng/ μL (vielas koncentrācija paraugā - 0,15 ng/g).
- Paraugu maisa 10 min.
- Centrifugē 10 min pie 3500 apgr/min.
- Augšējo etilacetāta slāni pārnes 15 mL PP centrifūgas mēģenēs un ietvaicē slāpekļa plūsmā 40 °C temperatūrā līdz sausam atlikumam.
- Sausajam atlikumam pievieno 3 mL heksāna un 3 mL acetonitrila/ūdens (5:95) šķīduma.
- Maisa 2 min uz *Vortex*.
- Centrifugē 10 min 3500 apgr/min un atdala augšējo heksāna slāni.
- Veic cietfāzes ekstrakciju (C18, 500mg, 6 mL):
 - kolonnu kondicionē ar 5 mL metanola, 5 mL hloroforma, 5 mL metanola un 10 mL dejonizēta ūdens;
 - uznes 3 mL parauga ekstrakta;
 - kolonnu skalo ar 5 mL acetonitrila/ūdens šķīdumu (5:95);
 - eluē ar 3 mL acetonitrila/ūdens šķīduma (50:50).
- Pievieno 5 mL etilacetāta, maisa 1 min ar *Vortex* un centrifugē 10 min 3500 apgr/min.
- Augšējo etilacetāta slāni pārnes 15 mL PP mēģenē un ietvaicē slāpekļa plūsmā 40 °C temperatūrā līdz sausam.
- Pievieno 150 μL acetonitrila/ūdens šķīdumu (20:80).

Instrumentālā analīze

Šķidrums hromatogrāfs *Waters Alliance 2695* ar tandēma maselektīvo detektoru *Micromass Quatro Micro*.

| Šķidrums hromatogrāfa parametri | | | |
|---|---|-------------------------|------------------------|
| Kolonna | Phenomenex Luna C 18, 2 x 150 mm daļiņu izmērs 3 μm vai analoga | | |
| Temperatūra kolonnai | 40 °C | | |
| Kustīgā fāze A | dejonizēts ūdens | | |
| Kustīgā fāze B | Acetonitrils | | |
| Injekcijas tilpums | 50 μL | | |
| Gradianta programma | | | |
| Laiks, min | A, % | B, % | Plūsmas ātrums, mL/min |
| 0 | 80 | 20 | 0,3 |
| 1,0 | 80 | 20 | 0,3 |
| 5,0 | 20 | 80 | 0,3 |
| 7,0 | 40 | 60 | 0,3 |
| 10,0 | 80 | 20 | 0,3 |
| 20,0 | 80 | 20 | 0,3 |
| Masspektrometra parametri | | | |
| Jonizācijas veids | Elektroizsmidzināšanas interfeiss negatīvajā jonizācijas režīmā | | |
| Spriegums uz kapilāra | 3,50 kV | | |
| Konusa gāzes plūsma | 40 L/Hr | | |
| Desolvatācijas gāzes plūsma | 600 L/Hr | | |
| Spriegums uz konusa | 25 V | | |
| Avota temperatūra: | 150 °C | | |
| Desolvatācijas temperatūra | 350 °C | | |
| Argona ar spiedienu | 3 x 10 ⁻³ mbar | | |
| Skenēšanas režīms | pāreju reakciju monitorings (MRM) | | |
| Vielu skenēšanas pārejas un sadursmju enerģijas | | | |
| Savienojums | Jonu pārejas (Da) | Kolīzijas enerģija (eV) | |
| Hloramfenikols | 321 > 152 | 18 | Hloramfenikols-d5 |
| | 321 > 257 | 12 | |
| Hloramfenikols-d5 | 326 > 157 | 18 | |

Testēšanas iekārtu kalibrēšana un rezultātu izvērtēšana

Testēšanas iekārtas kalibrēšanu veic un vielas saturu paraugā aprēķina, izmantojot paraugu ar attiecīgo standartvielu piedevu. Rezultātu izvērtēšanu veic atbilstoši Komisijas Lēmuma 2002/657/EC prasībām.

9. Nitroimidazolu noteikšanas metode dzīvnieku izcelsmes objektos un produktos ar šķidrums hromatogrāfiju-tandēma masspektrometriju (BIOR-T-012-186-2017)

Metodes princips un pielietošanas sfēra

Metode paredzēta nitroimidazolu noteikšanai dzīvnieku izcelsmes produktos. Metode ietver parauga homogenizēšanu, ekstrakta attīrīšanu ar sāļu maisījumu, filtrēšanu caur cietfāžu ekstrakcijas kolonnām un savienojumu detektēšanu, izmantojot šķidrums hromatogrāfiju – tandēma masspektrometriju.

Reaģenti un materiāli

- Metanols (*AEŠH tīrības pakāpe*);
- heksāns (*Organisko vielu not. analīzēm – piem., saturs < 5ng/l*);
- acetonitrils (*AEŠH tīrības pakāpe*);
- dejonizēts ūdens (*1. tīrības pakāpe, ūdens pretestība > 18 MΩ-cm*);
- skudrskābe (*ACS tīrības pakāpes*);
- nātrija hlorīds (*ACS tīrības pakāpes*);
- magnija sulfāts (*ACS tīrības pakāpes*);
- cietfāzes ekstrakcijas kolonnas *Phree Phospholipid Removal 1 mL* (piem, *Phenomenex vai analogas*);
- centrifūgas filtri ar poru izmēru 0,22 – 0,45 μm.

Aparatūra

- Analītiskie svāri ar precizitāti 0,0001g;
- elektroniskie svāri ar precizitāti 0,1g;
- laboratorijas centrifūga;
- automātiskās pipetes ar maināmo tilpumu;
- homogenizators (piem., *Vortex*);
- mehāniskais kratītājs (piem., *BioSan*);
- ultraskaņas vanna;
- polipropilēna stobriņi 15 un 50 mL.

Darba šķīdumi

- *Kustīgā fāze A - 0,1% skudrskābes šķīdums ūdenī.* 1000 mL dejonizēta ūdens pievieno 1000 µL skudrskābes. Degazē 10 min ultraskaņas vannā.
- *Kustīgā fāze B - 0,1% skudrskābes šķīdums metanolā.* 1000 mL metanola pievieno 1000 µL skudrskābes. Degazē 10 min ultraskaņas vannā.

Standartvielas un standartšķīdumi

Analīzēm tiek izmantotas analītiski tīras standartvielas (piem., no *Sigma-Aldrich, TRC, dr. Ehrenstorfer, Witega* u.c.).~10 mg katras standartvielas izšķīdina metanolā 10 mL mērkolbā (c~ 1000 ng/µl). Pamatšķīduma precīzo koncentrāciju aprēķina, ņemot vērā vielas tīrību, gan veidu, kādā savienojums atrodas standartvielā. Šķīdumi derīgi 2 gadus, glabājot -20 °C. Pagatavo darba standartšķīdumus metanolā ar beigu koncentrāciju 0,1 ng/µL. Šķīdums derīgs 1 mēnesi, glabājot 4 °C tumšā vietā. Pagatavo darba iekšējos standartšķīdumus metanolā ar beigu koncentrāciju 1 ng/µL. Šķīdums derīgs 1 mēnesi, glabājot 4 °C tumšā vietā.

Darba gaita

- Homogenizētu parauga iesvaru 5,0 g ievieto 50 mL polipropilēna stobriņā.
- Paraugiem pievieno 100 µL darba iekšējā standarta šķīdumu ar koncentrāciju 1 ng/µL (C = 20 µg/kg).
- Kontrolparaugam pievieno 50 µL darba standartšķīdumu ar koncentrāciju 0,1 ng/µL (C = 1,0 µg/kg).
- Pievieno 10 mL ACN un maisa 20 min ar mehānisko kratītāju.
- Centrifugē 15 min pie 3500 apgr/min 10 °C temperatūrā.
- ACN slāni pārnes jaunos 15 mL PP stobriņos un paraugus izsaldē 20 min -70 °C temperatūrā.
- Centrifugē 15 min pie 3000 apgr/min 15 °C temperatūrā
- Augšējo slāni pārnes jaunos 15 mL PP stobriņos un ietvaicē līdz sausam 50 °C temperatūrā slāpekļa plūsmā
- Sauso atlikumu izšķīdina 300 µL kustīgo fāžu „A” un „B” maisījumā 9:1.
- Paraugus nepieciešamības gadījumā filtrē caur centrifūgas filtriem.

Instrumentālā analīze

Šķidrums hromatogrāfs *Ultimate 3000, Thermo SCIENTIFIC* ar tandēma masselektīvo detektoru *TSQ Quantiva, Thermo SCIENTIFIC*.

| <i>Šķidrums hromatogrāfa parametri</i> | | | |
|--|--|-------------------------|------------------------|
| Kolonna | <i>Hypersil GOLD 50 x 2,1 mm ar poru izmēru 1,9 μm vai analoga</i> | | |
| Temperatūra kolonnai | 30 °C | | |
| Temperatūra autosamplērī | 10 °C | | |
| Mobilā fāze A | 0,1 % skudrskābes šķīdums ūdenī | | |
| Mobilā fāze B | 0,1 % skudrskābes šķīdums metanolā | | |
| Injekcijas tilpums | 10 μL | | |
| Gradients programma | | | |
| Laiks, min | A, % | B, % | Plūsmas ātrums, mL/min |
| 0 | 90 | 10 | 0,3 |
| 3 | 90 | 10 | 0,3 |
| 6 | 10 | 90 | 0,3 |
| 8 | 10 | 90 | 0,3 |
| 9 | 90 | 10 | 0,3 |
| 15 | 90 | 10 | 0,3 |
| <i>Masspektrometra parametri</i> | | | |
| Jonizācijas veids | Turboizsmidzināšanas interfeiss pozitīvajā jonizācijas režīmā | | |
| Spriegums | 4000 V | | |
| Sheat Gas | 40 (arb) | | |
| Aux Gas | 15 (arb) | | |
| Sweep Gas | 5 (arb) | | |
| Jonu pārnesšanas caurules temp. | 280 °C (Ion Transfer Tube Temp) | | |
| Iztvaicēšanas temp. | 350 °C | | |
| Skenēšanas režīms | pāreju reakciju monitorings (MRM) | | |
| <i>Vielu skenēšanas pārejas un sadursmju enerģijas</i> | | | |
| Savienojums | Jonu pārejas (Da) | Kolīzijas enerģija (eV) | |
| Karnidazols (CNZ) | 245>75 | 30 | - |
| | 245>118 | 15 | |
| Dimetridazols (DMZ) | 142>81 | 25 | DMZ-d3 |
| | 142>96 | 25 | |
| 2-OH-metil-metil nitroimidazols (HMMNI) | 158>55 | 25 | HMMNI-d3 |
| | 158>140 | 20 | |
| Ipronidazole (IPZ) | 170>109 | 35 | IPZ-d3 |
| | 170>124 | 20 | |
| Metil-2-OH-izopropil-nitroimidazols (IPZ-OH) | 186>122 | 30 | IPZ-OH-d3 |
| | 186>168 | 10 | |
| Metronidazols (MNZ) | 172>82 | 15 | MNZ-13C2-15N2 |
| | 172>128 | 10 | |
| 2-OH-etil-2-OH-metil-nitroimidazols (MNZ-OH) | 188>126 | 20 | MNZ-OH-d3 |
| | 188>144 | 20 | |

| <i>Vielu skenēšanas pārejas un sadursmju enerģijas</i> | | | |
|--|-------------------|-------------------------|--------|
| Savienojums | Jonu pārejas (Da) | Kolīzijas enerģija (eV) | |
| Ronidazols (RNZ) | 201>55 | 25 | RNZ-d3 |
| | 201>140 | 15 | |
| Tinidazols (TNZ) | 248>82 | 40 | RNZ-d3 |
| | 248>121 | 15 | |
| DMZ-d3 | 145>99 | 20 | |
| HMMNI-d3 | 161>143 | 10 | |
| IPZ-d3 | 173>127 | 15 | |
| IPZ-OH-d3 | 189>171 | 15 | |
| MNZ-13C2-15N2 | 176>132 | 20 | |
| MNZ-OH-d3 | 190>128 | 20 | |
| RNZ-d3 | 204>143 | 15 | |

Testēšanas iekārtu kalibrēšana un rezultātu izvērtēšana

Testēšanas iekārtas kalibrēšanu veic un vielas saturu paraugā aprēķina, izmantojot paraugu ar attiecīgo standartvielu piedevu. Rezultātu izvērtēšanu veic atbilstoši Komisijas Lēmuma 2002/657/EC prasībām.

10. Antibiotiku atliekvielu noteikšanas metode pārtikas produktos un dzīvnieku barībā ar šķidrums hromatogrāfiju-masspektrometriju (BIOR-T-012-109-2009)

Metodes princips un pielietošanas sfēra

Metode paredzēta antibiotiku atliekvielu noteikšanai pārtikas produktos un dzīvnieku barībā. Metode ietver savienojumu ekstrakciju ar acetonitrilu, ekstrakta attīrīšanu ar fosfolipīdu cietfāzes kolonnām un detektēšanu ar šķidrums hromatogrāfiju – tandēma masspektrometriju.

Reaģenti un materiāli

- Acetonitrils (*AEŠH tīrības pakāpe*);
- metanols (*AEŠH tīrības pakāpe*);
- dejonizēts ūdens (*1. tīrības pakāpe, ūdens pretestība > 18 MΩ-cm*);
- skudrskābe 99% (*ACS tīrības pakāpe*);
- cietfāzes ekstrakcijas kolonnas *Phree Phospholipid Removal 1 mL* (piem, *Phenomenex vai analogas*).

Aparatūra un trauki

- Analītiskie svāri *Kern 770* ar precizitāti 0,0001 g;
- termostatējama centrifūga;
- saldētava -80 °C;
- sildīšanas iekārtas un slāpekļa ietvaicēšanas sistēma;
- mērkolbas 1000 mL un 10 mL, A klase;
- centrifūgas polipropilēna mēģenes 15 mL;
- automātiskās pipetes ar maināmo tilpumu;
- centrifūgas filtri ar poru izmēru 0,22 μm;
- mehāniskais kratītājs, piem., *BioSan un Vortex*.

Darba šķīdumi

- *Kustīgā fāze „A”*: 0,1% skudrskābes ūdens šķīdums. 1 mL skudrskābes atšķaida ar 1000 mL dejonizēta ūdens un sajauc. Degazē 10 min ultraskaņas vannā.
- *Kustīgā fāze „B”*: 0,1% skudrskābes metanola šķīdums. 1 mL skudrskābes atšķaida ar 1000 mL metanola un sajauc. Degazē 10 min ultraskaņas vannā.
- *10% metanola šķīdums ūdenī*. 10 mL metanola sajauc ar 90 mL dejonizētā ūdens

Pamatšķīdumu pagatavošana

Standartvielas iesvaru, kas ir nepieciešams, lai sagatavotu 10 mL standartšķīduma ar koncentrāciju 1000 ng/μL, ņemot vērā vielas tīrību, aprēķina pēc sekojošas formulas:

$$m_{vielas}(mg) = \frac{C_{st}(1000 \text{ ng}/\mu\text{L}) \times 10 \text{ mL} \times 100\%}{1000 \times \text{Vielas tīrība, \%}}$$

Šķīdums derīgs 1 gadu, glabājot -20 °C temperatūrā. Pamatšķīdumus ar koncentrāciju 100 ng/μL pagatavo, atšķaidot 1 mL pamatšķīdumu ar koncentrāciju 1000 ng/μL 10 mL mērkolbā ar acetonitrilu līdz atzīmei.

Darba gaita

- Iesver 2 g medus parauga 50 mL polipropilēna centrifūgas stobriņā.
- Kontrolparaugiem pievieno 20 μL darba standartšķīduma ar koncentrāciju 1 ng/μL (beigu konc. 10 ng/g) medum, bacitracīna standartšķīdumu ar koncentrāciju 2 ng/μL 50 μL (beigu konc. 50 ng/g).
- Pievieno 10 mL acetonitrila, ievieto ultraskaņas vanna 50 °C temperatūrā uz 15-20 min.

- Maisa 15 minūtes ar *BioSan*.
- Acetonitrila pārnes jaunus centrifūgas stobriņos.
- Paraugus ievieto saldētāvā -70 °C temperatūra uz 30 minūtēm.
- Centrifugē 10 minūtes 3500 apgr/min.
- 8 mL acetonitrila pārnes jaunus centrifūgas stobriņos, un ekstraktu ietvaicē līdz sausam 50 °C slāpekļa plūsmā.
- Sauso atlikumu izšķīdina 500 µL kustīgas fāzes A un B maisījumā (9:1, v/v) un sajauc ar *Vortex*.
- Nepieciešamības gadījumā paraugu filtrē, izmantojot centrifūgas filtrus ar poru izmēru 0,22 µm.

Instrumentālā analīze

Parauga detektēšanai tiek izmantots AEŠH, kas savienots ar tandēma masspektrometru (*piem., AEŠH - Ultimate 3000, Thermo SCIENTIFIC; tandēma masspektrometrs - TSQ Quantiva, Thermo SCIENTIFIC*)

Šķidrums hromatogrāfa parametri:

- injekcijas tilpums: 10 µL;
- temperatūra kolonnai: 30 °C;
- temperatūra paraugu nodalījumā: 10 °C;
- plūsmas ātrums: 0,3 mL/min;
- kustīgā fāzes A: 0,1% skudrskābe ūdenī;
- kustīgā fāze B: 0,1% skudrskābe metanolā;
- kolonna: Hypersil GOLD 50 x 2,1 mm ar poru izmēru 1,9 µm vai analoga.
- Gradienta režīms pēc programmas

| Laiks, min | „A”, % | „B”, % |
|------------|--------|--------|
| 0,00 | 90,0 | 10,0 |
| 4,00 | 70,0 | 30,0 |
| 5,00 | 70,0 | 30,0 |
| 8,00 | 5,0 | 95,0 |
| 10,50 | 5,0 | 95,0 |
| 11,00 | 90,0 | 10,0 |
| 15,00 | 90,0 | 10,0 |

Masspekrometra parametri

- Lieto elektroizsmidzināšanas (*HESI*) interfeisu pozitīvajā jonizācijas režīmā;
- Spriegums - 5000 V;
- *sheath Gas* - 35 (*arb*);
- *aux Gas* - 15 (*arb*);
- *sweep Gas* - 2 (*arb*);
- jonu pārvešanas caurules temp. (*Ion Transfer Tube Temp*) - 320 °C;
- iztvaicētāja temp. (*Vaporizer Temp*) - 280 °C.
- Vielu skenēšanas pārejas un sadursmju enerģijas:

| Nosaukums | Q1, m/z | Q3, m/z | Sadursmju enerģija (ev) |
|-------------------|---------|---------|-------------------------|
| Amoksilīns | 366 | 114 | 22 |
| | 366 | 349 | 11 |
| Ampicilīns | 350 | 106 | 20 |
| | 350 | 160 | 15 |
| Cinka Bacitracīns | 475.2 | 199.1 | 25 |
| | 712.1 | 199.1 | 35 |
| Cefacetrīls | 357.1 | 156 | 20 |
| | 357.1 | 280 | 13 |
| Cefaleksīns | 380.1 | 106.1 | 18 |
| | 380.1 | 198 | 18 |
| Cefoperazons | 646 | 143 | 40 |
| | 646 | 530 | 20 |
| Cefkvinoms | 265.3 | 134.2 | 15 |
| | 529.3 | 134.2 | 15 |
| Ceftiofūrs | 524.3 | 210 | 25 |
| | 524.3 | 241.1 | 20 |
| Hlortetraciklīns | 479 | 444 | 21 |
| | 479 | 462 | 20 |
| Ciprofloksacīns | 332 | 288 | 22 |
| | 332 | 314 | 15 |
| Kloksacilīns | 468 | 160 | 25 |
| | 468 | 436 | 20 |
| Danafloksacīns | 358.1 | 255 | 42 |
| | 358.1 | 340 | 20 |
| Dikloksacilīns | 470 | 160 | 25 |
| | 470 | 311 | 20 |
| Difloksacīns | 400 | 356 | 20 |
| | 400 | 382 | 23 |
| Doksiciklīns | 445 | 321 | 45 |
| | 445 | 428 | 20 |

| Nosaukums | Q1, m/z | Q3, m/z | Sadursmju enerģija (ev) |
|---------------------|---------|---------|-------------------------|
| Enrofloksacīns | 360.1 | 245 | 26 |
| | 360.1 | 316 | 19 |
| Eritromicīns | 734.4 | 158 | 33 |
| | 734.4 | 576 | 20 |
| Flumekvīns | 262 | 202 | 10 |
| | 262 | 244 | 20 |
| Josamicīns | 828.4 | 109.1 | 34 |
| | 828.4 | 174 | 30 |
| Kitasamicīns | 805 | 109 | 45 |
| | 805 | 174 | 40 |
| Linkomicīns | 407 | 126 | 28 |
| | 407 | 359 | 17 |
| Marbofloksacīns | 363 | 276 | 14 |
| | 363 | 320 | 14 |
| Nalidiksskābe | 233 | 187 | 26 |
| | 233 | 215 | 16 |
| Norfloksacīns | 320 | 276 | 17 |
| | 320 | 302 | 15 |
| Novobiocīns | 613.4 | 189 | 25 |
| | 635.4 | 418.2 | 20 |
| Orbifloksacīns | 396 | 295.2 | 25 |
| | 396 | 352.2 | 20 |
| Oksacilīns | 402 | 160 | 20 |
| | 402 | 243 | 15 |
| Oksitetracilīns | 461 | 426 | 30 |
| | 461 | 443 | 20 |
| Penicilīns G | 335 | 128 | 32 |
| | 335 | 176 | 16 |
| Rifaksimīns | 786.5 | 754.4 | 22 |
| | 787.5 | 755.4 | 22 |
| Sarafloksacīns | 386.1 | 299 | 28 |
| | 386.1 | 342 | 22 |
| Spiramicīns | 422.2 | 174.1 | 30 |
| | 422.2 | 350.5 | 12 |
| Sulfahlorpiridazīns | 285 | 92 | 30 |
| | 285 | 156 | 16 |
| Sulfadimetoksīns | 311 | 108 | 33 |
| | 311 | 156 | 25 |
| Sulfadimidīns | 279.1 | 124 | 23 |
| | 279.1 | 186 | 19 |
| Sulfametiazols | 271 | 92 | 28 |
| | 271 | 156 | 14 |

| Nosaukums | Q1, m/z | Q3, m/z | Sadursmju enerģija (ev) |
|---------------|---------|---------|-------------------------|
| Sulfatiazols | 256 | 92 | 30 |
| | 256 | 156 | 15 |
| Tetraciklīns | 445.1 | 154 | 30 |
| | 445.1 | 410 | 25 |
| Tiamulīns | 494.1 | 119.2 | 35 |
| | 494.1 | 192 | 20 |
| Tilmikozīns | 435.5 | 99.2 | 25 |
| | 435.5 | 695.5 | 20 |
| Trimetoprimis | 291 | 110 | 30 |
| | 291 | 123 | 30 |
| Tilozīns | 916.5 | 174 | 35 |
| | 916.5 | 772.6 | 26 |

Testēšanas iekārtu kalibrēšana un rezultātu izvērtēšana

Testēšanas iekārtas kalibrēšanu veic un vielas saturu paraugā aprēķina, izmantojot paraugu ar attiecīgo standartvielu piedevu. Rezultātu izvērtēšanu veic atbilstoši Komisijas Lēmuma 2002/657/EC prasībām.

11. Glifosāta noteikšanas metode augu un dzīvnieku izcelsmes produktos ar šķidrums 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.

Reaģenti 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 strobriņi 50 mL.

Darba šķīdumi

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

Standartvielas un sandartšķīdumi

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.

Standartpiedevas 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 acetnitrila.
- 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

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

| <i>Šķidrums 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.

12. 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 standartpiedevas 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 $5,0 \pm 0,1$ 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 standartšķidrumu līdz pesticīdu koncentrācijai paraugā 10 ng/g (standartšķidruma daudzumu pārrēķina uz beigu acetonitrila 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 standartšķidrumu līdz pesticīdu koncentrācijai paraugā 10 ng/g (standartšķidruma daudzumu pārrēķina uz beigu acetonitrila 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
- Izvaicētāja 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 |

| Pesticīds | Molekulārais jons, Da | Meitas jons, Da | Sadursmju enerģija, eV |
|------------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|
| 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 |

| Pesticīds | Molekulārais jons, Da | Meitas jons, Da | Sadursmju enerģija, eV |
|------------------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|
| 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 |

| Pesticīds | Molekulārais jons, Da | Meitas jons, Da | Sadursmju enerģija, eV |
|--------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|
| 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 |
| Flutriafols | 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 oksjons | 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 |
| Imidakloprīds | 256.1 | 175.1 | 20 |
| | 256.1 | 209.1 | 18 |
| Iprovalikarbs | 321.1 | 119.0 | 20 |
| | 321.1 | 203.0 | 10 |

| Pesticīds | Molekulārais jons, Da | Meitas jons, Da | Sadursmju enerģija, eV |
|------------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|
| 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 |
| Krezoksīm-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 |
| Malatīons | 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 |
| Metidatīons | 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 |

| Pesticīds | Molekulārais jons, Da | Meitas jons, Da | Sadursmju enerģija, eV |
|-------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|
| Metoksifenoziāds | 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 |
| Pirioksifēns | 322.2 | 96.0 | 16 |
| | 322.2 | 185.3 | 27 |
| Prochlorazs | 376.0 | 266.0 | 18 |
| | 376.0 | 308.0 | 14 |

| Pesticīds | Molekulārais jons, Da | Meitas jons, Da | Sadursmju enerģija, eV |
|-----------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|
| 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 |

| Pesticīds | Molekulārais jons, Da | Meitas jons, Da | Sadursmju enerģija, eV |
|-------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|
| 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 |
| Diēdrīns | 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 |

| Pesticīds | Molekulārais jons, Da | Meitas jons, Da | Sadursmju enerģija, eV |
|--------------------------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|
| Fenpropatrīns | 181.0 | 152.0 | 23 |
| | 265.1 | 89.0 | 10 |
| Fenpropimorfs | 128.1 | 110.0 | 15 |
| | 303.2 | 128.1 | 15 |
| Fentions sulfons | 125.0 | 79.0 | 10 |
| | 310.0 | 246.0 | 10 |
| Fenvalerāts | 167.0 | 125.0 | 10 |
| | 225.0 | 119.0 | 10 |
| Fipronila desulfīnīls | 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 |
| Heptahlori | 269.8 | 234.8 | 12 |
| | 271.8 | 236.8 | 15 |
| Heptahlorā 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 |
| Hlorfenapīrs | 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 |

| Pesticīds | Molekulārais jons, Da | Meitas jons, Da | Sadursmju enerģija, eV |
|--------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|
| 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 |
| 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 |

| Pesticīds | Molekulārais jons, Da | Meitas jons, Da | Sadursmju enerģija, eV |
|------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|
| 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/11813/2017 prasībām.

13. Flavonoīdu, fenolo skābju un vitamīnu noteikšanas metode

Mērķis un darbības joma

Metode paredzēta dažādu mērķa un nemērķēta fenolo savienojumu noteikšanai medus paraugos. Metode ietver minimizētu paraugu sagatavošanu, iekļaujot ekstrakciju ūdens vidē, parauga attīrīšanu centrifugējot augstos apgriezīnos un atšķaidīšanu, apvienojumā ar augsti efektīvo šķidrums hromatogrāfiju – augstas izšķirtspējas masspektrometriju (AEŠH-AIMS).

Reaģenti

- Acetonitrils (*AEŠH tīrības pakāpe*);
- dimetilsulfoksīds (*Augstas tīrības organiskie šķīdinātāji*);
- dejonizēts ūdens (1. tīrības pakāpe, ūdens pretestība > 18 MΩ-cm);
- skudrskābe (*ACS tīrības pakāpes*).

Aparatūra un trauki

- Analītiskie svāri ar precizitāti 0,0001 g;
- mērkolbas un mērcilindri, A klase;
- automātiskās pipetes ar maināmo tilpumu;
- eppendorfa stobriņi 2 mL;
- hromatogrāfijas stikla 2mL mikropudeles ar ieliktniem;
- kratītājs (*piem., BioSan, Vortex*);
- termostatējama centrifūga;
- centrifūgas filtri ar poru izmēru 0,22 μm (*piem., Ultrafree, Millipore*).

Šķīdumi

0,1% skudrskābes ūdens (kustīgā fāze A) un acetonitrila (kustīgā fāze B) šķīdums. 1 L mērkolbā ielej 800 mL dejonizēta ūdens vai acetonitrila un pievieno 1 mL skudrskābes.

Paraugu atšķaidīšanas šķīdums – 0,1% skudrskābes šķīdums dejonizētā ūdenī un acetonitrilā (98:2 tilpuma attiecībā). 50 mL mērkolbā pievieno 48 mL ūdens kustīgās fāzes (0,1% skudrskābe dejonizētā ūdenī) un atšķaida līdz atzīmei ar acetonitrila kustīgo fāzi (0,1% skudrskābe acetonitrilā).

Standarti

Analīzēm tiek izmantoti analītiski tīras standartvielas (no *LGC Standards*, *Santa Cruz Biotechnology*, *SigmaAldrich*). Standartu pamatšķīdumi tika pagatavoti uz svara bāzes, acetonitrilā vai dimetilsulfoksīdā (DMSO), koncentrāciju līmeņos ~1000 ng/μL. Standartiem sāļu veidā, tika pievienots ūdens. 10 mL mērkolbā iesver ~10 mg standartvielas un atšķaida ar acetonitrilu vai DMSO līdz atzīmei. Pamatšķīduma precīzo koncentrāciju aprēķina, ņemot vērā vielas tīrību un veidu, kādā savienojums atrodas standartvielā. Šķīdumus glabā -18 °C, tumšos stikla traukos.

Tika pagatavoti divi standartu darba šķīdumi koncentrāciju līmenī 10 ng/μL, acetonitrilā atšķaidot standartu pamatšķīdumus. Viens darba šķīdumus saturēja savienojumus, kuru izšķīdināšanai tikai izmantots tīrs organisks šķīdinātājs, bet otrs – ūdeni saturošos pamatšķīdumus. Darba šķīdumi tika izmantoti standartpieejas pievienošanai un kalibrācijas veidošanai. Darba šķīdumi tika uzglabāti 4 °C.

Darba gaita

- Izmantojot pieejamos paraugus un tos sajaucot līdzīgos daudzumos, izveido kontroles paraugu, kurš tiek izmantots matricas kalibrācijai un kvalitātes kontrolei;
- Homogenizētu parauga iesvaru $0,500 \pm 0,01$ g ievieto eppendorfa stobriņā;
- Kontrolparaugiem un kalibrācijas paraugiem pievieno darba standartšķīdumu nepieciešamajā koncentrāciju līmenī;
- Pievieno 0,5 mL ūdens;
- Paraugus maisa uz vertikālā maisītāja 10 min;
- Paraugi tiek centrifugēti 15 min 15000 apgr./min istabas temperatūrā;
- 100 μL ekstrakta pārnes jaunā eppendorfa stobriņā un atšķaida ar 900 μL paraugu atšķaidīšanas šķīdumu (98:2 H₂O:MeCN + 0,1% skudrskābe);
- Ekstraktus samaisa un filtrē, izmantojot 0,22 μm PTFE centrifūgas membrānfiltrus;
- Pārnes autosamplera pudelītēs un veic analīzi ar AEŠH-AIMS;

- Sagatavo papildu kalibrāciju bez matricas klātbūtnes, autosamplera pudelītēs. Analītisko vielu koncentrācijas pārrēķinātas uz parauga daudzumu.

AEŠH-AIMS metode

Pesticīdu analīzei izmanto šķidrums hromatogrāfu *UltiMate 3000* ar augstas izšķīstspējas masspektrometru *Q Exactive (Thermo Scientific)*.

Šķidrums hromatogrāfa parametri

- Kolonna: *Kinetex PFP 1,7u 100A, 100 x 3,00 mm* vai analoga
- Injekcijas tilpums: 5 µL
- Temperatūra kolonnai: 40 °C
- Parauga temperatūra: 10 °C
- Plūsmas ātrums: 0,450 mL/min
- Plūsma novirzīta uz masspektrometru pēc 2 min
- Gradients režīms pēc programmas

| Laiks, min | A, % | B, % | Slīpums |
|--------------------|------|------|---------|
| -4 (līdzsvarošana) | 98 | 2 | 5 |
| 0 | 98 | 2 | 5 |
| 3 | 95 | 5 | 5 |
| 9 | 2 | 98 | 5 |
| 13 | 2 | 98 | 5 |
| 14 | 98 | 2 | 5 |

Tandēma masspektrometra parametri

- Lieto apsildīto elektroizsmidzināšanas (H-ESI) interfeisu pozitīvajā un negatīvajā jonizācijas režīmā, izmantojot polaritātes pārslēgšanas metodi.
- IS: (-) 2500 V
- IS: (+) 3500 V
- *Sheath gas (Arb)*: 45
- *Aux gas (Arb)*: 20
- *Sweep gas (Arb)*: 4
- Jonu pārneses caurules temperatūra: 280 °C
- Iztaicētāja temperatūra: 450 °C

- Datu iegūšanas metode: pilnā masu diapazona skenēšana apvienojumā ar no datiem atkarīgo molekulu fragmentāciju (*Full scan – ddMS²*)
- Masu diapazons (*Full scan*): 80 – 1200 *m/z*
- Masu izšķirtspēja: 35000 (*Full scan*) un 17500 (*ddMS²*) FWHM.
- Prekursoru izolācijas logs *ddMS²* režīmā: 1 *m/z*
- Trīs intensīvākie prekursori tika fragmentēti katrā skenēšanas ciklā *ddMS²* režīmā (Top 3 metode), katrā jonizācijas režīmā.
- Prekursori fragmentēti ar pakāpenisko normalizēto kolīzijas enerģiju (NCE) 10, 20, 30%.
- Monoizotopās masas joni savienojumu kvantificēšanai izolēti ar 5 ppm lielu masas precizitāti.
- Informācija par analizētajiem mērķa savienojumiem un to hromatogrāfiskās un masspektrometriskās detektēšanas parametriem ir apkopota sekojošajā tabulā. Treknrakstā ir iezīmēti kvantificēšanas joni.

| Savienojumu klase | Savienojums | Atsālotā molekulformula | [M+H] ⁺ jons, <i>m/z</i> | [M-H] ⁻ jons, <i>m/z</i> | Izdalīšanās laiks min |
|--------------------------|------------------------------|-------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------|
| Fenolās skābes | Benzoskābe | C7H6O2 | 123,0441 | 121,0295 | 7,7 |
| | Ferolskābe (trans-) | C10H10O4 | 195,0652 | 193,0506 | 7,5 |
| | Kanēļskābe (trans-) | C9H8O2 | 149,0597 | 147,0452 | 8,2 |
| | o-Kumarīnskābe | C9H8O3 | 165,0546 | 163,0401 | 7,7 |
| | p-Kumarīnskābe | C9H8O3 | 165,0546 | 163,0401 | 7,3 |
| | Kofeīnskābe | C9H8O4 | 181,0495 | 179,035 | 6,9 |
| | p-Hidroksi benzoskābe | C7H6O3 | 139,039 | 137,0244 | 6,4 |
| | Vanilīnskābe | C8H8O4 | 169,0495 | 167,035 | 6,9 |
| | Gallskābes 3,5-dimetilēteris | C9H10O5 | 199,0601 | 197,0455 | 7,1 |
| | Fenilacetskābe | C8H8O2 | 137,0597 | 135,0452 | 8,2 |
| | Sinapīnskābe | C11H12O5 | 225,0757 | 223,0612 | 7,5 |
| | Hlorgēnskābe | C16H18O9 | 355,1024 | 353,0878 | 6,8 |
| 3,4-Dihidroksibenzoskābe | C7H6O4 | 155,0339 | 153,0193 | 4,8 | |
| Flavonoli | Kvercetiņš | C15H10O7 | 303,0499 | 301,0354 | 8,2 |
| | Epikatehīns | C15H14O6 | 291,0863 | 289,0718 | 6,9 |
| | 5,7-Dihidroksiflavons | C15H10O4 | 255,0652 | 253,0506 | 9,1 |
| | Apigenīns | C15H10O5 | 271,0601 | 269,0455 | 8,5 |
| | Luteolīns | C15H10O6 | 287,055 | 285,0405 | 8,2 |
| | Galangīns | C15H10O5 | 271,0601 | 269,0455 | 9,1 |
| | Kaempferols | C15H10O6 | 287,055 | 285,0405 | 8,5 |
| | Rutiņš | C27H30O16 | 611,1607 | 609,1461 | 7,2 |
| Vitamīni | Folskābe | C19H19N7O6 | 442,147 | 440,1324 | 6,6 |
| | Biotīns | C10H16N2O3S | 245,0954 | 243,0809 | 6,8 |

Testēšanas iekārtu kalibrēšana un rezultātu izvērtēšana

Testēšanas iekārtas kalibrēšanu un fenolo savienojumu satura aprēķinu veic, veicot kalibrāciju gan izmantojot standartus pievienotus matricas paraugiem, gan standartus bez matricas klātbūtnes.

II Starplaboratoriju salīdzinošā testēšanas procedūra *Trichinella* konstatēšanai

Starplaboratoriju salīdzinošās testēšanas organizēšanas biežumu nosaka Eiropas Parazitoloģijas references laboratorijas izstrādātās kvalitātes sistēmas vadlīnijas, kur SST biežums noteikts vienu reizi gadā. Latvijas Nacionālā akreditācijas biroja (turpmāk – LATAK) prasība par laboratorijas vai inspekcijas piedalīšanos prasmes pārbaudes programmās nosaka vismaz vienu aktivitāti saistībā ar laboratorijas vai inspekcijas akreditācijas perioda laikā (LATAK-D.007-09/09.2017) un akreditācijas periods ir 4 gadi (LATAK-D.009-08/07.2013). Institūts “BIOR”, kas pilda Nacionālās Parazitoloģijas References laboratorijas funkcijas, iepriekšējo SST oficiālajām laboratorijām rīkoja 2015. gadā, attiecīgi 2019. gadā tika organizēts SST, lai nodrošinātu prasīto regularitāti.

Šobrīd Latvijā ir 29 kautuvju laboratorijas, kuras Pārtikas un veterinārais dienests ir izraudzījis oficiālo *Trichinella* testu veikšanai. Tajās 2018. gadā tika nokauti 98,8% no kopējā valstī nokauto cūku skaita. Šīm laboratorijām piedaloties organizētajos SST tiek izpildītas ES Regulas 2017/625 40. panta 1. punkta a) apakšpunkta prasības.

Metode

SST paraugi sagatavoti no augstākā labuma maltas cūkgaļas, tādu, kas nesatur taukus, cīpslas un citus piejaukumus. Gaļa pirms paraugu gatavošanas testēta un konstatēts, ka tā nesatur *Trichinella* kāpurus.

Trichinella spiralis kāpuri iegūti no laboratorijas apstākļos audzētas peles muskulatūras, izmantojot Eiropas references Parazitoloģijas laboratorijas izstrādātās vadlīnijas.

Viena SST parauga iesvars ir 50 g un katrā paraugā ievietots noteikts skaits (0; 3 un 10) dzīvi *Trichinella spiralis* kāpuri. Paraugi iepakoti sterilā vakuuma iepakojumā, marķēti ar unikālu kodu un izsniegti dalībniekiem pēc nejaušības principa. Katrs dalībnieks saņēma trīs paraugus – divus paraugus, kuros ievietoti kāpuri (pozitīvie paraugi) un vienu paraugu, kurā nav ievietoti kāpuri (negatīvais paraugs). Dalībnieku anonimitāte nodrošināta, dalībniekiem piešķirot unikālu identifikācijas kodu.

Paraugi analizējami ar vienu no noteikšanas metodēm pēc Komisijas Regulas (EK) Nr. 2015/1375: 1) Koppauga hidrolīze ar magnētisko maisītāju (1. pielikums 1. nodaļa); 2) Mehāniski veikta koppaugu hidrolīzes metode/sedimentācijas tehnoloģijas (1. pielikuma 2. nodaļa); 3) Mehāniska koppaugu hidrolīzes metode/ izolācijas tehnoloģijas uz filtra (1. pielikums 3. nodaļa); 4) Automātiskā hidrolīzes metode koppaugiem līdz 35 g (1. pielikums 4. nodaļa); 5 – cita metode.

SST organizēts un laboratorijas rezultāti novērtēti atbilstoši LVS EN ISO/IEC 17043:2015 "Atbilstības novērtēšana. Vispārīgās prasības prasmes pārbaudēm." Prasībām un pēc Eiropas Savienības Parazitoloģijas References laboratorijas ieteikumiem. Rezultāti tiks vērtēti kvalitatīvi – ir vai nav konstatēti kāpuri paraugā. Dalībnieks nav nokārtojis SST, ja viena parauga testēšanas rezultāts ir neapmierinošs, respektīvi, paraugā, kurā ir ievietoti kāpuri, dalībnieki nav konstatējuši kāpuru klātbūtni, un otrādi.

3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

Fizikāli-ķīmisko parametru izvērtējums medus paraugos

Pētījuma gaitā tika izvērtēti sekojoši medus kvalitātes rādītāji: pH, elektrovadītspēja, mitrums, brīvās skābes, diastāzes skaitlis, hidroksimetilfurfuols, ūdenī nešķīstošās vielas un cukuru saturs. Iegūtie dati tika apkopoti sekojošā tabulā:

Medus sastāva rādītāju apkopojums

| Parametrs | pH | Mitrums | Diastāzes skaitlis | Saharozs | Reducējošie cukuri | Brīvais skābums | Hidroksi- metilfurfuols | Elektro- vadītspēja | Ūdenī nešķīstošās vielas |
|------------------------------------|-----|---------|------------------------------|----------|--------------------|-----------------|----------------------------|------------------------|--------------------------------|
| Mērvienība | - | % | Schade skalās vienības | % | % | mekv/kg | mg/kg | mS/cm | g/100g |
| <i>N</i> | 69 | 353 | 344 | 210 | 163 | 111 | 266 | 96 | 35 |
| <i>N < LOQ</i> | - | - | - | 202 | - | - | 68 | - | - |
| <i>Maksimālais</i> | 6,7 | 24 | 77 | 4,8 | 83 | 39 | 94 | 0,99 | 0,15 |
| <i>Minimālais</i> | 3,6 | 6,5 | 9,9 | 1,1 | 63 | 5,1 | 1 | 0,18 | 0,0040 |
| <i>Vidējais lielums</i> | 4,4 | 16 | 31 | 1,9 | 73 | 21 | 3,9 | 0,39 | 0,027 |
| <i>Mediāna</i> | 4,1 | 17 | 30 | 1,6 | 73 | 21 | 2,1 | 0,37 | 0,016 |
| <i>Norma</i> | - | < 20 | > 8 | < 5 | > 60 | < 80 | < 40 | < 0,8 | < 0,1 |
| <i>Neatbilstošo paraugu skaits</i> | - | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |

Medus atbilstības izvērtēšanai kvalitātes rādītājiem, kas norādīti MK noteikumos Nr. 251 "Kvalitātes, klasifikācijas un papildu marķējuma prasības medum", tika apkopoti dati medus paraugiem, kuri tika nodoti testēšanai ZI "BIOR" laika posmā no 2019. gada 27. jūnija līdz 1. novembrim. Tika secināts, ka 7 medus paraugi neatbilst noteiktajām prasībām, pārsniedzot mitruma daudzumu četros paraugos un trijos dažādos medus paraugos pārsniedzot HMF saturu, elektrovadītspēju un ūdenī nešķīstošo vielu daudzumu.

Analizētajos medus paraugos tika konstatēts vidēji 16-17% ūdens daudzums, minimālais mitruma rādītājs ir 6,5% un maksimālais – 24%. Pēc MK noteikumiem Nr. 251 noteiktajām prasībām par pieļaujamo ūdens saturu medū, tika secināts, ka 4 paraugi neatbilst normai, kas ir 20%. Ūdens daudzums, kas pārsniedz norādīto, veicina medus rūgšanu.

Diastāze ir viens no medus fermentiem, ko medus pagatavošanas procesā nektāram pievieno bites. Diastāze skaitlis ir mazs, ja bites barotas ar cukursīrupu, medus ir pārkarsēts vai ilgi glabāts. Medu

uzglabājot, pēc 3-4 gadiem tā fermentu aktivitāte samainās apmēram divas reizes. Fermentu aktivitāte kalpo kā medus svaiguma rādītājs un pārkarsēšanas indikators. Pētījumā analizēto medu raksturo plaša diapazona diastāzes skaitlis – no 9,9 līdz pat 77 *Schade* jeb *Gotes* vienībām ar vidējo rādītāju 31, kas iekļaujas noteiktajās prasībās, norādot uz medus svaigumu u dabīgumu.

Saharoze ir disaharīds, kura daudzums dažādās medus šķirnēs var būt atšķirīgs, līdz pat 5% dabiskā medū, vai arī var nebūt nemaz. No 210 pētītajiem paraugiem 202 paraugos saharozes saturs bija zemāks par 1% un astoņos medus paraugos tā saturs variēja no 1,1 līdz 4,8% gandrīz sasniedzot MK noteikumos Nr. 251 noteikto prasību par saharozes daudzumu mazāk par 5%.

Bišu siekalu dziedzera 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 65-75% reducējošo cukuru. Uzglabājot saharozes daudzums medū var samazināties pašinversijas rezultātā, ko veic medū esošie fermenti un organiskās skābes. Testētajos medus paraugos reducējošo cukuri tika konstatēti no 63 līdz 83%, vidējā vērtība 73% , kas atbilst laba medus kritērijam un 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 5,1 līdz 39 mekv/kg ar vidējo vērtību 21 mekv/kg. Visi paraugi atbilst MR noteikumiem Nr. 251 prasībām.

Hidroksimetilfurfuols jeb HMF ir cukuru termiskās šķelšanās produkts. HMF daudzums medū ir medus svaiguma un dabiskuma rādītājs. Tiko 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 8,9 mg/kg. Vienā medus paraugā tika konstatēts izteikti liels HMF saturs 94 mg/kg, kas arī pārsniedza MK noteikumos Nr. 251 noteikto prasību HMF saturam ne vairāk par 40 mg/kg.

Medus elektrovadītspēju nosaka medū esošo minerālvielu koncentrācija. Pieļaujamā elektrovadītspēja ir līdz 0,8mS/cm. Pētījumā testētajos medu paraugos elektrovadītspēja ir no 0,18 līdz 0,99 mS/cm, vidējā vērtība 0,39 mS/cm. Viena medus parauga elektrovadītspēja pārsniedz MK

noteikumos Nr. 251 noteikto prasību. Augsta elektrovadītspēja norāda, ka medus uzskatāms par lapu vai izvīdumu medu.

Viens no 35 testētajiem medus paraugiem uzrādīja paaugstinātu ūdenī nešķīstošo vielu saturu, kurš pēc MK noteiktumiem Nr. 251 nedrīkst pārsniegt 0,1g/100g.

Veterināro zāļu un pesticīdu atliekvielu sastopamība Latvijas izcelsmes medus paraugos

Divdesmit dažādu ražotāju Latvijas izcelsmes medus paraugi tika iepirkti Latvijas galvaspilsētas lielveikalos (*Rimi, Maxima, Stockmann*). Medus paraugos tika testēti atļauto un aizliegtu antibakteriālo līdzekļu un pesticīdu atliekvielu klātbūtne un daudzumi.

Aizliegtu farmakoloģiski aktīvo vielu iespējamai lietošanas pārbaudei tika testēti hloramfenikola un nitroimidazolu klātbūtne. Nevienā no analizētajiem medus paraugiem netika konstatētas aizliegtās farmakoloģiski aktīvās vielas virs analītiskās metodes noteikšanas robežas (*LOQ*), kas ir 0,14 µg/kg hloramfenikolam un no 0,59 līdz 1,1 µg/kg nitroimidazoliem.

Sekojošo antibakteriālo līdzekļu klātbūtne tika izpētīta minētajos medus paraugos: amoksicilīns, ampilīns, cinka bacitracīns, cefacetrils, cefaleksīns, cefaloniums, cefapirīms, cefazolīns, cefoperazons, cefkvīnoms, ceftiofūrs hlortetraciklīns, ciprofloksacīns, kloksacilīns, danafloksacīns, dikloksacilīns, difloksacīns, doksiciklīns, enrofloksacīns, eritromicīns, florenikols, flumekvīns, josamicīns, kitasamicīns, linkomicīns, marbofloksacīns, nafcilīns, nalidiksskābe, neospiramicīns, norfloksacīns, novobiocīns, orbifloksacīns, oksacilīns, oksitetraciklīns, penicilīns G, pirlimicīns, rifaksimīns, sarafloksacīns, spiramicīns, sulfahlorpiridazīns, sulfadimetoksīns, sulfadimidīns, sulfametiazols, sulfadoksīns, sulfanilamīds, sulfamonometoksāms, sulfatiazols, tetraciklīns, tiamfenikols, tiamulīns, tilmikozīns, trimetoprims, tulatromicīns, tilozīns, tilvalozīns, valnemulīns. Nevienā no analizētajiem medus paraugiem netika konstatēti augstāk minētās antibiotikas virs *LOQ* (10 µg/kg).

Pesticīdu atliekvielu noteikšanai tika pielietotas trīs analītiskās metodes. Vienatlieku pesticīdu noteikšanas metode glifosāta noteikšanai un divas multi-atliekvielu metodes, kuras ietver vairākus pesticīdus (skat.eksperimentālo daļu).

Analizējot darbīgās vielas medus paraugos *LOQ* vērtība bija 0,01 mg/kg, izņemot neonikotinoīdu grupas pesticīdiem (imidakloprīds, klotianidīns un tiametoksāms) un citiem pētījumā konstatētajiem pesticīdiem – boskalīds, tebukonalozs un tiakloprīds, kuriem *LOQ* vērtība bija 0,001 mg/kg.

No 20 testētajiem medus paraugiem 16 paraugos tika konstatētas pesticīdu atliekvielas. Vienā medus paraugā tika konstatētas četru pesticīdu atliekvielas, trijos paraugos divu pesticīdu atliekvielas un 12 paraugos pa vienam pesticīdam. Konstatētie pesticīdi pēc iedarbības veida pieder pie fungicīdiem, herbicīdiem un insekticīdiem. Nevienā medus paraugā pesticīda daudzums nepārsniedz Eiropas Komisijas normas medum, kas ir 0.2 mg/kg tiakloprīdam (Regula (EU) 2019/50) un 0,05 mg/kg boskalīdam (Regula (EU) 2016/156), tebucanozolam (Regula (EU) 2018/1514), tiametoksāmam (Regula (EU) 2017/671) un glifosātam (Regula (EU) 293/2013). Zemāk tabulā ir apkopota informācija par medus paraugiem un atrastajām pesticīdu koncentrācijām.

Konstatēto pesticīdu apkopojums medus paraugos

| Nr.p.k. | Medus veids | Ievākšanas vieta | Bioprodukta marķējumi | Pesticīdi |
|---------|--------------------|-------------------|-----------------------|---|
| 1 | Ziedu medus | Stopiņu novads | | Boskolīds 0,010 ± 0,005 mg/kg Tiakloprīds 0,0036 ± 0,0018 mg/kg Tiametoksāms 0,0011 ± 0,0006 mg/kg Glifosāts 0,020 ± 0,010 mg/kg |
| 2 | Meža ziedu medus | Lielvārdes novads | | Tiakloprīds 0,0048 ± 0,0024 mg/kg Tiametoksāms 0,0018 ± 0,0009 mg/kg |
| 3 | Meža ziedumedus | Amatas novads | LV-BIO-02 | Tiakloprīds 0,0024 ± 0,0012 mg/kg |
| 4 | Vasaras Medus | Ikšķiles novads | LV-BIO-01 | Glifosāts 0,019 ± 0,010 mg/kg |
| 5 | Viršu medus | Iecavas novads | LV-BIO-01 | |
| 6 | Meža medus | Brocēnu novads | | |
| 7 | Dažādu ziedu medus | Cesvaines novads | | Glifosāts 0,024 ± 0,012 mg/kg |
| 8 | Dažādu ziedu medus | Talsu novads | | |
| 9 | Medus | Preiļu rajons | LV-BIO-01 | Tiakloprīds 0,0026 ± 0,0013 mg/kg |
| 10 | Meža ziedu medus | Saldus novads | | Tiakloprīds 0,036 ± 0,018 mg/kg |
| 11 | Dažādu ziedu medus | Tukuma novads | | Tiakloprīds 0,0053 ± 0,0027 mg/kg Glifosāts 0,016 ± 0,008 mg/kg |
| 12 | Dāžādu ziedu medus | Ērgļu novads | | Tiakloprīds 0,0016 ± 0,0008 mg/kg |
| 13 | Dāžādu ziedu medus | Daugavpils novads | LV-BIO-01 | Tiakloprīds 0,031 ± 0,016 mg/kg Glifosāts 0,040 ± 0,020 mg/kg |
| 14 | Liepu medus | Kuldīgas novads | | Tiakloprīds 0,013 ± 0,007 mg/kg |
| 15 | Dāžādu ziedu medus | Talsu novads | LV-BIO-01 | Tebukonazols 0,0012 ± 0,0006 mg/kg |
| 16 | Dāžādu ziedu medus | Rīgas rajons | | Tiakloprīds 0,021 ± 0,011 mg/kg |
| 17 | Dāžādu ziedu medus | Salas novads | | |

| Nr.p.k. | Medus veids | Ievākšanas vieta | Bioprodukta marķējumi | Pesticīdi |
|---------|--------------------|------------------|-----------------------|------------------------------------|
| 18 | Medus | Iecavas novads | | Boskalīds 0,0031 ± 0,0016 mg/kg |
| 19 | Dāžādu ziedu medus | Rūjienas novads | | Tebukonazols 0,0010 ± 0,0005 mg/kg |
| 20 | Meža ziedu medus | Naukšēnu novads | | Tiakloprīds 0,012 ± 0,006 mg/kg |

Sešiem paraugiem bija bioloģiskās saimniecības marķējums (LV-BIO-01 (biedrība „Vides kvalitāte”) vai LV-BIO-02 (SIA „Sertifikācijas un testēšanas centrs”)) un piecos no šiem medus paraugiem tika konstatētas pesticīdu atliekvielas. Būtisks priekšnoteikums bioloģiskajā lauksaimniecībā ir atbilstošas agrotehnoloģijas izmantošana. Tā lieliski palīdz arī cīņā pret nezālēm. Ja konvencionālie ražotāji nezāļu iznīcināšanai visbiežāk izvēlas herbicīdus, tad bioloģiskie ražotāji nezāles apkaro mehāniski. Bioloģiskajā lauksaimniecībā ir aizliegta jebkāda mākslīgo un ķīmiski sintezēto pesticīdu lietošana. Tas pats attiecas arī uz mēslošanas līdzekļiem - ir skaidri noteiktas prasības, kuras jāievēro. Ir tikai atsevišķi mēslošanas un augu aizsardzības līdzekļi, kurus atļauts lietot (EK regula Nr. 889/2008).

Pētījumā konstatēto darbīgo vielu raksturojums:

Tebukonazols ir plaša spektra triazolu grupas fungicīds, kas raksturojas kā bioķīmisks sterolu demetilācijas inhibitors (DMI) ar aizsargājošu, ārstējošu un attīrošu iedarbību. Tas ir īpaši populārs cīņā pret sēnītēm, kas var kaitēt vīnogām, ķiršiem, mandelēm, graudaugiem, kā arī rapšu sēklām vai rapsi.

Boskalīds ir jauns fungicīds, ko izmanto, lai kontrolētu virkni augu patogēnu platlapu un dārzeņu kultūrās.

Glifosāts ir sistēmisks plaša spektra herbicīds, kas iedarbojas, bloķējot fermentu, ko augi izmanto olbaltumvielu sintēzē. Augu aizsardzības līdzekļi, kuri satur darbīgo vielu glifosātu, ir vispārējas un sistēmas iedarbības herbicīdi. Augi glifosātu uzņem caur visām zaļajām daļām, un tas pārvietojas no veģetatīvajām augu daļām uz sakņu sistēmu, sakneņiem vai stoloniem.

Tiakloprīds ir neonikotinoīdu klases insekticīds. Tās darbības mehānisms ir līdzīgs citiem neonikotinoīdiem un ietver kukaiņu nervu sistēmas traucējumus, stimulējot nikotīna acetilholīna receptorus. Tiakloprīdu izstrādāja *Bayer CropScience*, lai to izmantotu lauksaimniecības kultūrās, lai kontrolētu dažādus nepieredzējus un košļājamos kukaiņus, galvenokārt lepnus un balti.

Tiametoksams ir plaša spektra insekticīds. Tiametoksams ir otrās paaudzes neonikotinoīdu savienojums, kas pieder pie tianikotinilu ķīmiskās apakšklases. Sakarā ar to, Eiropas Komisija bija lūgusi Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestādi izvērtēt 2012. gadā publicēto jauno zinātnisko informāciju par darbīgo vielu – tiametoksama, imidakloprīda un klotianidīna, kuras pieder neonikotinoīdu ķīmiskajai grupai, ietekmi uz bitēm un konstatējot, ka saistībā ar apstrādātajām sēklām risku bitēm radīja vairāku kultūru putekšņos un nektārā esošo darbīgo vielu atliekvielas, no 2013. gada 30. novembra stājās spēkā aizliegums augu aizsardzības līdzekļus, kas satur klotianidīnu, tiametoksamu vai imidakloprīdu, izmantot sēklu apstrādei, augsnes apstrādei, kā arī kultūraugu apsmidzināšanai, izņemot izmantošanu siltumnīcās vai augu apsmidzināšanai pēc noziedēšanas, sakarā ar risku bitēm. Tiametoksāms tika konstatēts divos medus paraugos.

Medus autentiskuma noteikšana, nosakot flavonoīdus, kā arī veicot nemērķēto skrīningu ar augstas izšķirtspējas masspektrometrijas metodi.

Pētījuma rezultātā ir uzsākta datubāzes izveide, lai to turpmāk izmantotu Latvijas reģiona medus izcelsmes identificēšanai. Sākotnējai datubāzes izveidošanai tika analizēti 36 paraugi, kuros tika noteiktas dažādas fenolās skābes, flavonoīdi un atsevišķi vitamīni. No analizētajiem paraugiem 20 bija monofloras (viena veida augu) izcelsmes un 16 – jaukta medus paraugi (apvienoti pēcapstrādes procesā). Informācija par florālo izcelsmi paraugiem ir iegūta tiešā veidā no ražotājiem, ar anketu palīdzību. Papildus florālās izcelsmes rādītājiem ir ievākta arī informācija par ģeogrāfisko izcelsmi (novads, pagasts, pilsēta, saimniecības veids u.c.), biotopu (pļava, mežs, lauksaimniecības zeme u.c.) un medus ievākšanas periodu (gads, gadalaiks).

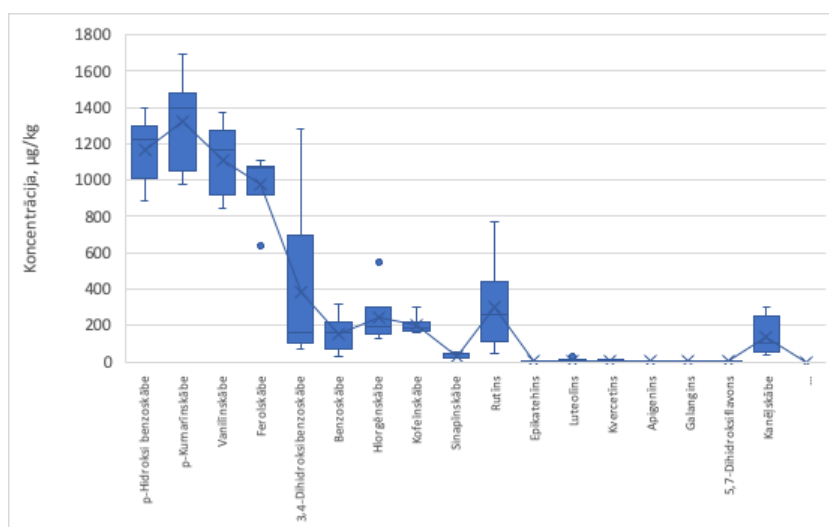
Atsevišķais un kopējais fenolo savienojumu daudzums ir sumārizēts attēlos 1. un 2. Datubāze par fenolo savienojumu saturu individuālajos paraugos (BIOR paraugu numerācija), kuri analizēti projekta ietvaros, ir pievienota pielikumā. Individuālo savienojumu koncentrācijas ir norādītas µg/kg medus. Sekojot noteikšanas metodes optimizēšanai, laika gaitā tiks palielināts nosakāmo analītu daudzums, kā arī analizēto paraugu skaits.

Kopējās savienojumu koncentrācijas bija robežās no 3033 līdz 23427 µg/kg, vidējā koncentrācija – 7265 µg/kg. Vislielākās koncentrācijas tika konstatētas p-hidroksi benzoskābei un bija robežās no 509 līdz 17080 µg/kg, vidējā koncentrācija – 2537 µg/kg. Nākamā lielākajos koncentrāciju līmeņos sekoja p-kumārskābe: 712 – 4043 µg/kg (vidēji 1605 µg/kg) un vanilīnskābe koncentrāciju līmeņos 369 – 2327 µg/kg (vidēji 882 µg/kg). Flavanoīdi saturēja mazu daļu no

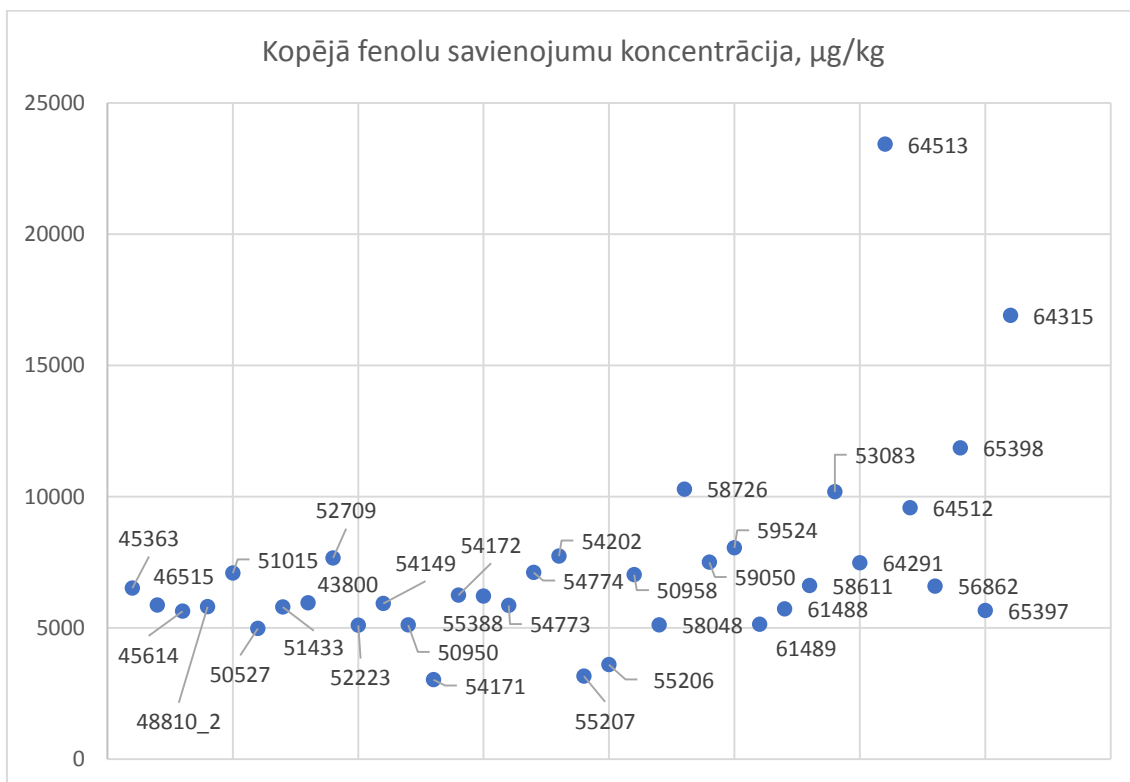
detektēto fenolu savienojumu daļas, jo tiem tika novērotas zemas koncentrācijas. Lielākās koncentrācijas tika noteiktas rutīnam koncentrāciju līmeņos 23 – 2909 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (vidēji 313 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Daudzos paraugos netika detektēti atsevišķi flavonoīdi un tas ir izskaidrojams ar to specifiskumu un piederēšanu konkrētām florālās izcelsmes grupām.

Veicot salīdzinājumu ar zinātnisko literatūru, ir novērojami līdzīgi novērojumi. Salīdzinājumā ar Grieķijā iegūtu medu [17] ir novērojami augstāki līmeņi p-hidroksi benzoskābei (timiāna medus satur vidēji 1252 $\mu\text{g}/\text{kg}$, Latvijas – 2537 $\mu\text{g}/\text{kg}$), kofeīnskābei (citrusaugļu medus satur vidēji 116 $\mu\text{g}/\text{kg}$, Latvijas – 199 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Atsevišķiem savienojumiem, piemēram, 3,4-dihidroksibenzoskābei līmeņi ir zemāki (timiāna medus satur 437 $\mu\text{g}/\text{kg}$, Latvijā vidēji – 281 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Vidējās vērtības jebkurā gadījumā var būt ļoti mainīgas un ne vienmēr ir objektīvas mazās paraugu kopās. Salīdzinājumā ar unikāliem monoflorā medus veidiem, bieži noteikti fenolo savienojumu līmeņi var būt par vairākām koncentrāciju kārtām zemāki [18].

Attēls 1. Fenolu savienojumu noteiktās koncentrācijas savienojumu ietvaros; nav norādīti izlecošie datu punkti.



Attēls 2. Kopējā fenolu savienojumu koncentrācija individuālajos paraugos (BIOR piešķirtais identifikācijas numurs).



Nemērķēts skrīnings

Nemērķēta skrīninga rezultātā, izmantojot UHPLC-AIMS, tiek iegūts parauga profils, kuru apraksta dažādas intensitātes hromatogrāfiskās joslas un masspektrometriskie spektri. Datu apstrādei ir pieejama programmatūra, kas spēj atsevišķos savienojumu spektrus un hromatogrāfijas joslas identificēt un asociēt ar paraugu grupām. Ar nosacījumu, ka ir pietiekoši liels paraugu skaits ar zināmu izcelsmi (florālo, ģeogrāfisko u.c.) ir iespējams izveidot statistiski nozīmīgas asociāciju grupas, un ir iespējams klasificēt paraugus ar nezināmu izcelsmi.

Lai veiktu patiešām precīzu medus autentiskuma noteikšanu, ir nepieciešams analizēt vairāk paraugus, lai precīzāk identificētu savienojumus un tās koncentrācijas, kuras atbilst konkrēta augu medus veidam. Iegūstot vairāk datus, būs iespējams izveidot matemātiskos un statistiskos modeļus jeb pielietot tā saucamos “mašīnmācīšanās” algoritmus, kas spēs klasificēt medus veidus, balstoties uz jau esošajiem datiem.

Izveidojot pietiekoši lielu sākotnējo datu matricu, ir iespējams izvērtēt atšķirības paraugu kopās un identificēt ķīmiskos savienojumus, kas diskriminē šīs kopas. Sākotnēji datu daudzumu ir nepieciešams samazināt, izmantojot nepārraudzītas datu samazināšanas metodes (piemēram, principālo komponentu analīze jeb PCA). Daudzos pētījumos interesējošie (diskriminējošie)

savienojumi pirms analīzes veikšanas nav zināmi. Tādos gadījumos PCA analīze ir viens no populārākajiem veidiem, kā samazināt datu daudzumu un noskaidrot tās datu kopas dimensijas jeb diskriminējošos savienojumus, kuri ir atbildīgi par variāciju un lielākajām izmaiņām datu kopā.

PCA analīze ir piemērota sākotnējiem eksperimentiem, lai ieraudzītu datu sakarības paraugu kopā, bet var tikt viegli iespaidota ar dažādām novirzēm (*outliers*). Noviržu rezultātā paraugu grupu sadalījums ir sliktāks un datu punkti jeb paraugi saplūst kopā.

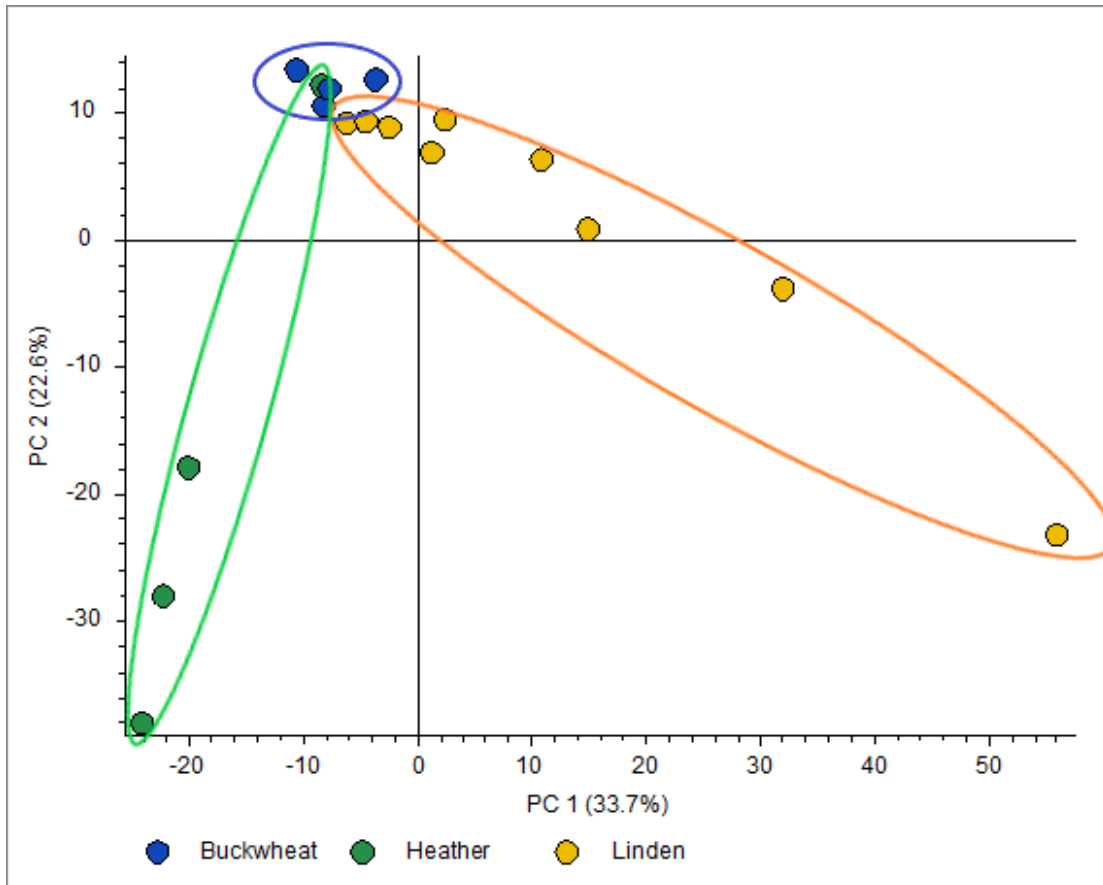
PCA analīzes rezultātā var vizuāli novērot atšķirības starp paraugiem, jo veidojas paraugu grupas. Lai identificētu konkrētos datu punktus jeb savienojumus, kuri ir atbildīgi par paraugu grupu radīšanu, var pielietot daļēji mazāko kvadrātu diskriminējošo analīzi (*partial least squares discriminant analysis* jeb PLS-DA).

Tālāk ir apskatīti sākotnējie PCA un PLS-DA analīzes rezultāti. Rezultāti ir apstrādāti, izmantojot Compound Discoverer 2.1 (Thermo Scientific) programmatūru.

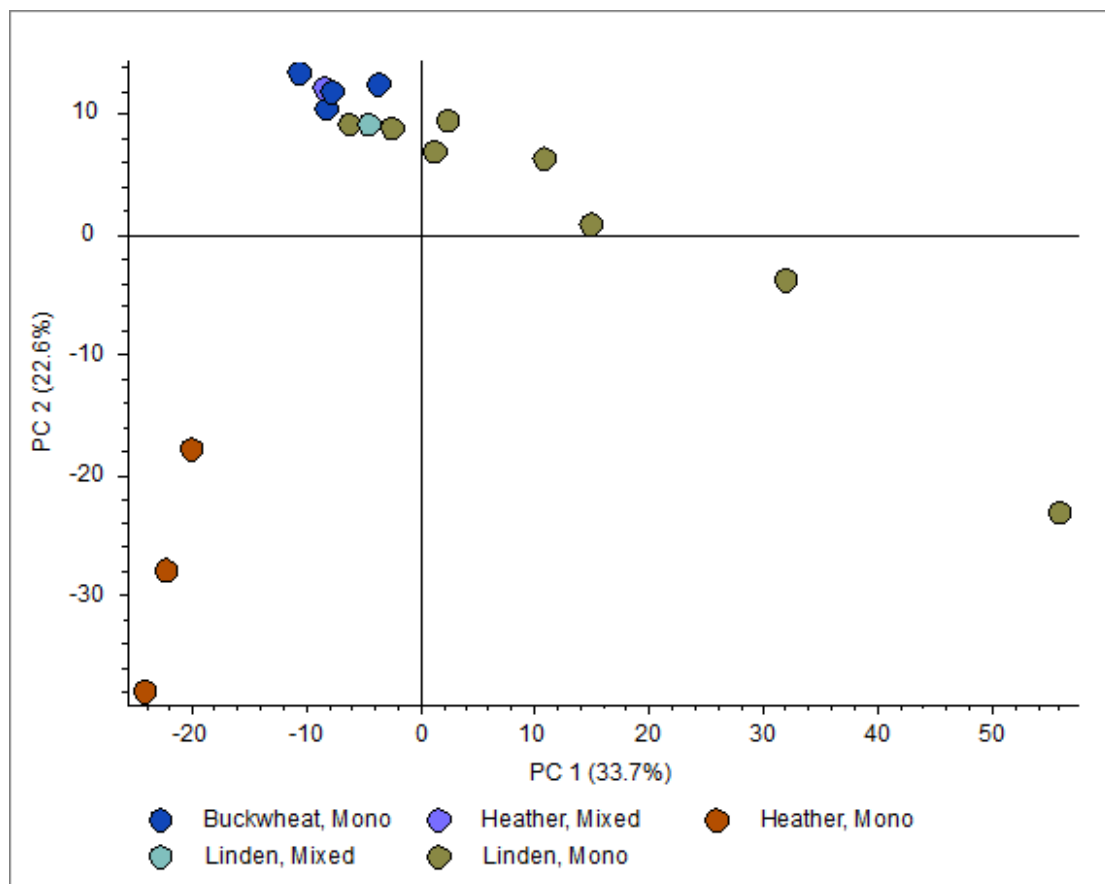
PCA analīzes rezultāti:

Projekta laikā (līdz oktobra beigām) ir iegūts salīdzinoši mazs skaits monoflorās izcelsmes paraugu. Pirmajā PCA grafikā ir aplūkojama atšķirība starp trīs veidu medus paraugiem – griķu, viršu un liepziedu. Ir novērojama grupu veidošanās, bet grupas nav izteiktas, jo atsevišķi paraugi ir jauktas florālās izcelsmes. Piemēram, viršu medus paraugs PCA grafikā 1., kurš pārklājas ar griķu izcelsmes medus grupu ir jauktas izcelsmes medus paraugs, kā tas ir ilustrēts PCA grafikā 2. Līdzīga sakarība ir novērojama arī liepziedu izcelsmes medus grupā (PCA grafiks 1.), jo viens paraugs ir bijis norādīts kā jaukts liepziedu medus (PCA grafiks 2.). Divi liepziedu medus paraugi ir novērojami ļoti tuvu griķu medus paraugu grupai, kas liecina par to, ka šie paraugi, visticamāk, ir jauktas izcelsmes, nevis tīri liepziedu medus paraugi. Griķu medus paraugi pieder polifloras (dažādu veidu augu) medus izcelsmes paraugu grupai (dati nav parādīti), bet, ņemot vērā tikai monofloras izcelsmes medu, tie veido atsevišķu grupu.

PCA grafiks 1.



PCA grafiks 2.

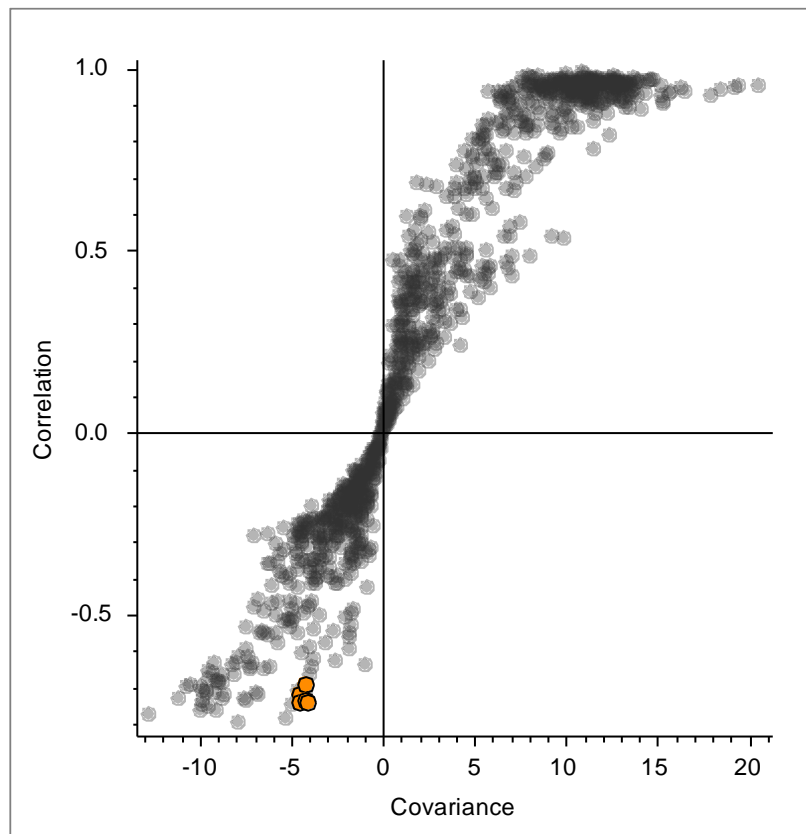


PLS-DA rezultāti:

Pēc sākotnējās PCA analīzes ir veikta PLS-DA analīze, kura palīdz identificēt savienojumus, kuri diskriminē savienojumu grupas. Tālāk seko piemēri atsevišķām, statistiski nozīmīgām PLS-DA komponentēm. Komponentes ir limitētas līdz 5 diskriminējošajiem savienojumiem. Pēc līdzīga piemēra tiek meklēti marķieri katram individuālajam florālās izcelsmes medum.

Sekojošā PLS-DA analīzei ir nepieciešama atsevišķa metodoloģija, kas ļautu identificēt šos savienojumus, balstoties uz vielu hromatogrāfiskajiem izdalīšanās laikiem, molekulu fragmentācijas spektru salīdzinājumu ar spektrālajām bibliotēkām un fragmentācijas paredzēšanu, izmantojot specializētu programmatūru.

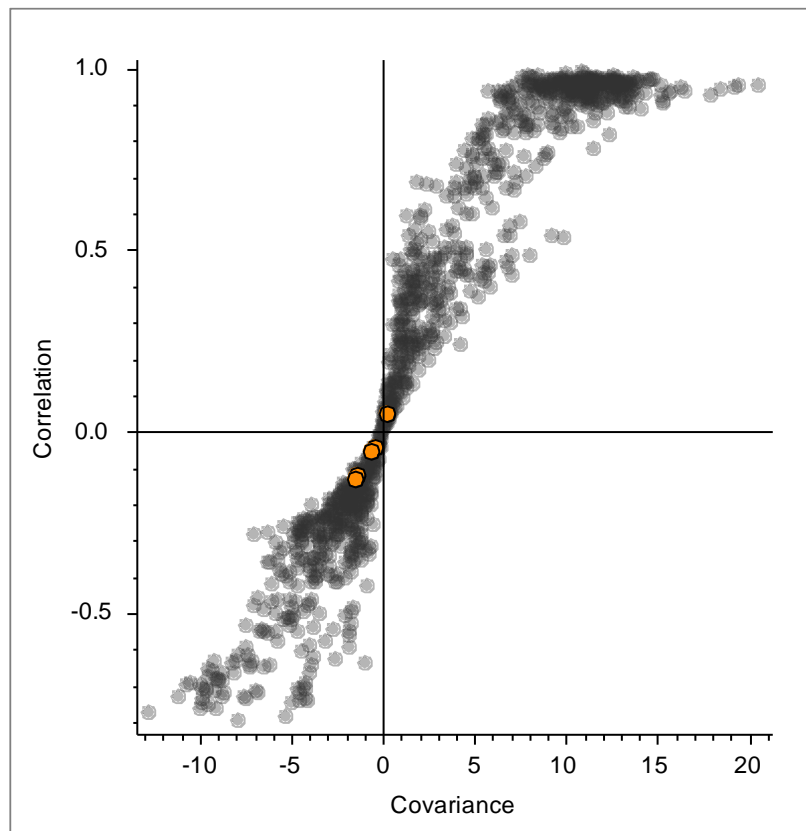
PLS-DA komponente 1:



Identificēts viens savienojums (molekulformula $C_{18}H_{24}N_4O_5$), kas ir atbilstošs monoflorā liepziedu un meža medus marķieris.

| Formula | Molecular We | RT [min] | Area (Max.) | Group Areas | | | | | | | | | | | |
|------------------|--------------|----------|-------------|---------------------|--------------|-------------------------|---------------|---------------------|--------------|-------------------|--------------|---------------|-----------------|----------------|---------------|
| | | | | Field mixed, Mixed* | Linden, Mono | Field and forest, Mixed | Linden, Mixed | Clover - amol, Mono | Clover, Mono | Field mixed, Mono | Forest, Mono | Forest, Mixed | Buckwheat, Mono | Heather, Mixed | Heather, Mono |
| C9 H14 O4 | 186.08913 | 8.283 | 43240 | 3.40e3 | 7.07e3 | 2.51e3 | 7.35e3 | 8.88e3 | 6.62e3 | 2.12e4 | 1.26e4 | 4.29e4 | 3.23e4 | 4.32e4 | 2.33e4 |
| C10 H16 O5 | 216.09973 | 8.283 | 32310 | 2.39e3 | 5.22e3 | 3.32e3 | 3.19e3 | 7.46e3 | 5.42e3 | 1.80e4 | 8.79e3 | 3.23e4 | 2.11e4 | 3.00e4 | 1.85e4 |
| C18 H24 N4 O5 | 376.17315 | 8.281 | 1120919 | 9.38e4 | 1.48e5 | 5.09e4 | 1.35e5 | 2.42e5 | 1.81e5 | 6.02e5 | 2.65e5 | 1.12e6 | 7.07e5 | 9.88e5 | 6.62e5 |
| C17 H31 N O9 | 393.19995 | 8.283 | 209794 | 2.11e4 | 3.09e4 | 1.04e4 | 2.56e4 | 4.97e4 | 3.76e4 | 1.23e5 | 4.77e4 | 2.08e5 | 1.47e5 | 2.09e5 | 1.57e5 |
| C14 H19 F2 N9 O3 | 399.15962 | 8.280 | 104147 | 8.53e3 | 1.68e4 | 6.00e3 | 1.39e4 | 2.65e4 | 1.98e4 | 5.24e4 | 2.24e4 | 1.04e5 | 7.86e4 | 1.04e5 | 7.08e4 |

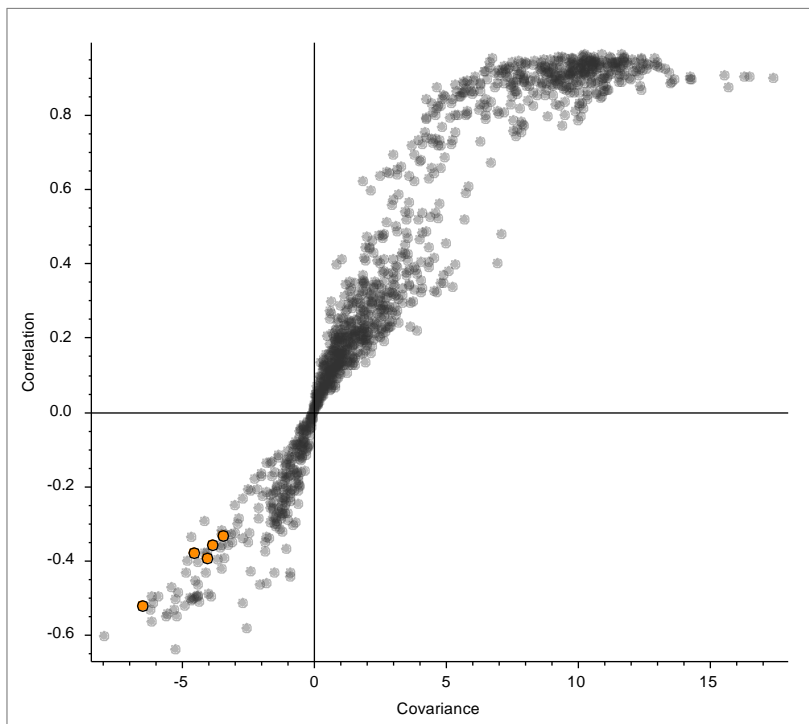
PLS-DA komponente 2:



Identificēts vairāki savienojumi ($C_{13}H_{18}O_2$, $C_{10}H_{12}O_2$, $C_{10}H_{14}O_5$), kas ir atbilstoši monoflorā viršu un meža medus marķieri.

| Formula | Molecular We | RT [min] | Area (Max.) | Group Areas | | | | | | | | | | | |
|-----------------|--------------|----------|-------------|----------------------|--------------|-------------------------|---------------|---------------------|--------------|-------------------|--------------|---------------|-----------------|----------------|---------------|
| | | | | Field mixed, Mixed * | Linden, Mono | Field and forest, Mixed | Linden, Mixed | Clover - amol, Mono | Clover, Mono | Field mixed, Mono | Forest, Mono | Forest, Mixed | Buckwheat, Mono | Heather, Mixed | Heather, Mono |
| C11 H14 O6 | 242.07866 | 7.179 | 78240 | 7.55e2 | 9.30e2 | 7.58e2 | 7.35e2 | 8.87e2 | 7.29e2 | 9.34e2 | 9.14e2 | 2.31e4 | 5.14e2 | 5.31e2 | 3.25e4 |
| C13 H18 O2 | 206.13052 | 6.862 | 342883 | 8.60e3 | 9.47e3 | 6.76e3 | 8.43e3 | 7.61e3 | 4.61e3 | 7.28e3 | 7.43e3 | 1.86e5 | 4.26e3 | 3.46e3 | 2.51e5 |
| C10 H12 O2 | 164.08368 | 7.566 | 237411 | 4.21e4 | 4.04e4 | 5.66e4 | 5.44e4 | 3.17e4 | 3.69e4 | 3.69e4 | 3.19e4 | 1.70e5 | 2.65e4 | 2.96e4 | 2.05e5 |
| C10 H14 O5 | 214.08340 | 5.259 | 164339 | 9.56e2 | 1.68e3 | 1.12e3 | 1.38e3 | 1.90e3 | 1.38e3 | 9.77e2 | 1.56e3 | 6.11e4 | 9.32e2 | 1.05e3 | 1.02e5 |
| C16 H29 F O3 P2 | 350.15794 | 6.516 | 43787 | 3.35e2 | 3.67e2 | 2.16e2 | 2.55e2 | 3.98e2 | 1.65e3 | 2.88e2 | 2.87e2 | 1.34e4 | 1.99e2 | 3.14e2 | 2.19e4 |

PLS-DA komponente 3:



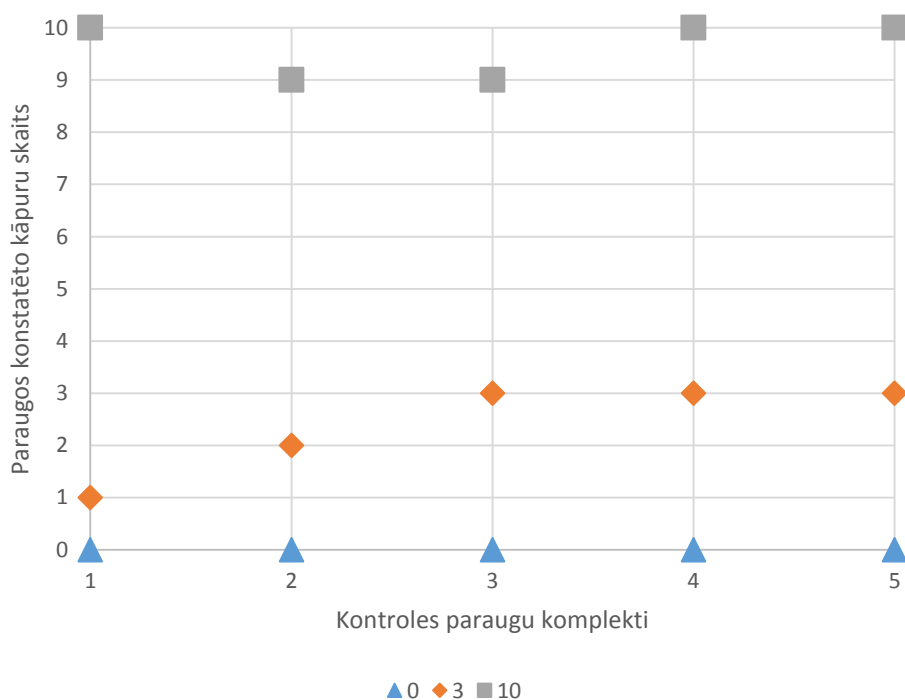
Identificēts viens savienojums (molekulformula $C_{10}H_8N_2O$), kas ir atbilstošs kopīgais griķu un viršu medus marķieris.

| Formula | Molecular Weight | RT [min] | Area (Mz) | Group Areas | | | | | | | | | | | |
|----------------------|------------------|----------|-----------|----------------------|--------------|-------------------------|---------------|---------------------|--------------|-------------------|--------------|---------------|-----------------|----------------|---------------|
| | | | | Field mixed, Mixed * | Linden, Mono | Field and forest, Mixed | Linden, Mixed | Clover - amol, Mono | Clover, Mono | Field mixed, Mono | Forest, Mono | Forest, Mixed | Buckwheat, Mono | Heather, Mixed | Heather, Mono |
| $C_{10}H_8N_2O$ | 172.06370 | 6.659 | 3374289 | 2.26e5 | 8.08e4 | 2.49e4 | 2.23e4 | 6.64e4 | 1.47e4 | 8.62e4 | 3.24e4 | 2.54e5 | 1.89e6 | 1.06e6 | 1.66e5 |
| $C_{10}H_8N_2O_2$ | 188.05856 | 7.278 | 260651 | 3.46e3 | 1.43e3 | 1.26e3 | 6.58e2 | 1.35e3 | 3.47e2 | 6.66e3 | 4.39e2 | 1.53e4 | 1.01e5 | 7.11e4 | 8.15e3 |
| $C_{16}H_{20}N_2O_7$ | 352.12724 | 5.327 | 214539 | 9.80e3 | 3.31e3 | 7.39e2 | 7.26e2 | 2.59e3 | 5.45e2 | 3.20e3 | 8.05e2 | 1.18e4 | 7.07e4 | 6.12e4 | 4.65e3 |
| $C_{17}H_{22}N_2O_9$ | 398.13273 | 5.327 | 151994 | 7.01e3 | 2.03e3 | 5.09e2 | 4.95e2 | 1.89e3 | 4.03e2 | 2.21e3 | 4.71e2 | 7.84e3 | 5.20e4 | 4.67e4 | 3.70e3 |
| $C_{10}H_8N_2O$ | 172.06384 | 6.222 | 127662 | 7.73e3 | 3.59e3 | 4.15e2 | 4.92e2 | 1.71e3 | 4.49e2 | 3.04e3 | 5.98e2 | 9.58e3 | 6.22e4 | 3.92e4 | 5.04e3 |

Trichinella noteikšanas starplaboratoriju salīdzinošās testēšanas rezultāti

Organizētajā SST piedalījās 27 laboratorijas. Kopumā 69 dalībniekiem nosūtīti 207 paraugi. SST piedalījās gan ZI "BIOR" Mikrobioloģijas un patoloģijas laboratorijas Parazitoloģijas grupas darbinieki, gan Pārtikas un veterinārā dienesta darbinieki. SST piedalījās visi iepriekš pieteiktie dalībnieki. SST laikā trīs papildus paraugi nosūtīti diviem dalībniekiem – pirmreizējie paraugi tika bojāti transportēšanas vai testēšanas laikā. Rezultātus noteiktajā laikā iesūtīja visi dalībnieki. Rezultātu izvērtēšana ir procesā.

Kvalitātes nodrošināšanai sagatavoti pieci kontroles paraugu komplekti – kopumā 15 paraugi. Pieci negatīvi paraugi, pieci paraugi ar trīs *T. spiralis* kāpuriem un pieci paraugi ar desmit *T. spiralis* kāpuriem. Kontroles paraugi testēti 1., 4., 8., 11. un 15. dienā pēc paraugu sagatavošanas, izmantojot Komisijas Regulas (EK) Nr. 2015/1375 1. pielikumā 1. nodaļā aprakstītās metodes – kopparauga hidrolīze ar magnētisko maisītāju.



Pieci kontroles paraugu komplektu testēšanas rezultāti - pieci negatīvi paraugi, pieci paraugi ar trīs *T. spiralis* kāpuriem un pieci paraugi ar desmit *T. spiralis* kāpuriem.

Kopumā kontroles paraugos ievietoti 65 *T. spiralis* kāpuri no kuriem testēšanas laikā netika atrasti 5 kāpuri (7,7%; CI 95% 2,9-17,2). Visi izmeklētie kontroles komplekti izturēja kvalitatīvo rezultātu pārbaudi. Konstatēts, ka *T. spiralis* kāpuri konstatējami arī 16 dienas pēc to ievietošanas paraugos.

SECINĀJUMI

1. Veicot 1647 kvalitātes rādītāju noteikšanu Latvijas izcelsmes medus paraugiem, projekta gaitā tika secināts, ka 7 rādītāji neatbilst noteiktajām prasībām, pārsniedzot mitruma daudzumu četros paraugos un trijos dažādos medus paraugos pārsniedzot HMF saturu, elektrovadītspēju un ūdenī nešķīstošo vielu daudzumu. Kopumā neatbilstību skaits (0,42%) ir neliels.
2. 20 paraugiem, kuri tika iegādāti veikalos, veikta pesticīdu un antibiotiku noteikšana. Antibiotiku atliekvielas paraugos netika konstatētas. No 20 testētajiem medus paraugiem 16 paraugos tika kvantificētas pesticīdu atliekvielas līmeņos, kas nepārsniedz Eiropas Komisijas noteiktos maksimāli pieļaujamus daudzumus. Vienā medus paraugā tika konstatētas četru pesticīdu atliekvielas, trijos paraugos divu pesticīdu atliekvielas un 12 paraugos pa vienam pesticīdam. Konstatētie pesticīdi pēc iedarbības veida pieder pie fungicīdiem, herbicīdiem un insekticīdiem. Divos paraugos tika detektēts neonicotinoīdu grupas pesticīds - tiametoksāms, kura lietošana ir stingri ierobežota saistībā ar palielinātu risku bitēm.
3. Pētījuma rezultātā ir uzsākta datubāzes izveide, lai to turpmāk izmantotu Latvijas reģiona medus izcelsmes identificēšanai. Sākotnējai datubāzes izveidošanai tika analizēti 36 paraugi, kuros tika noteiktas dažādas fenolās skābes, flavonoīdi un atsevišķi vitamīni. Pielietojot augstas izšķirtspējas masspektrometrijas metodi, bija iespējams identificēt klāsterus, kas pārstāv dažādas medus florālās izcelsmes. 2020.gadā datubāze tiks papildināta ar informāciju par C12/C13 izotopu attiecību paraugos, kā arī tiks ievadīti dati par papildus medus paraugu ķīmisko sastāvu.
4. Starplaboratoriju salīdzinošās testēšanas organizēšana *Trichinella* spp. kāpuru konstatēšanai ar piemērotām metodēm ir būtisks kvalitātes kontroles process, kurā iesaistās Latvijas teritorijā esošās sertificētās laboratorijas. Sagatavotajos starplaboratoriju salīdzinošās testēšanas kontroles paraugos, *Trichinella spiralis* kāpuri tika konstatēti arī 15 dienas pēc paraugu sagatavošanas

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: 04.11.2019.]
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. 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: 04.11.2019]
8. Latvijas biškopības programma 2017.–2019. gadam. Pieejams: https://www.zm.gov.lv/public/files/CMS_Static_Page_Doc/00/00/00/84/38/LV_Biskopibas_programma_2017_2019_gadam_ISAMM.pdf [skatīts: 04.11.2019.]
9. Amiry, S.; Esmaili, M.; Alizadeh, M.; Classification of adulterated honeys by multivariate analysis. *Food Chemistry.* **2017**, *224*, 390-397
10. 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
11. Ruiz-Matute, A.I.; Soria, A. C.; Sanz, M. L.; Martinez-Castro, I.; Characterization of traditional Spanish edible plant syrups based on carbohydrate GC-MS analysis. *Journal of Food Composition and Analysis.* **2010**, *23*, 260-263

12. 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
13. 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
14. Latvijas biškopības biedrība. Varrozes invāzijas ierobežošana dravā. Pieejams: <http://www.strops.lv/attachments/article/66/varroze.pdf> [skatīts: 04.11.2019.]
15. Wilmart, O.; Legreve, A. Residues in Beeswax: A Health risk for the Consumers of Honey and Beeswax? *J. Agric. Food Chem.*, **2016**, *64*, 8425–8434.
16. Martel, A. C.; Zeggane, S.; Auries, C.; et al. Acaricide residues in honey and wax after treatment of honey bee colonies with Apivar or Asuntol®50, *Apidologie*, 2007, *38*, 534–544.
17. E. Spilioti, M. Jaakkola, T. Tolonen, M. Lipponen, V. Virtanen, I. Chinou, E. Kassi, S. Karabournioti, P. Moutsatsou, Phenolic acid composition, antiatherogenic and anticancer potential of honeys derived from various regions in Greece, *PLoS One*. 9 (2014) 1–10.
18. J.M. Sousa, E.L. de Souza, G. Marques, B. Meireles, Â.T. de Magalhães Cordeiro, B. Gullón, M.M. Pintado, M. Magnani, Polyphenolic profile and antioxidant and antibacterial activities of monofloral honeys produced by Meliponini in the Brazilian semiarid region, *Food Res. Int.* **84** (2016) 61–68.