

LATVIJAS UNIVERSITĀTES
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

**METODES IZSTRĀDE POLICIKLISKO AROMĀTISKO
OĢĻŪDENRAŽU NOTEIKŠANAI**

Promocijas darbs

AGNESE KUKĀRE

Zinātniskie vadītāji:

Dr.ķīm., prof. Arturs Vīksna

Dr.ķīm. Vadims Bartkevičs

Rīga

2012

Promocijas darbs izstrādāts Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskajā institūtā "BIOR" un Latvijas Universitātes Ķīmijas fakultātē no 2007.gada līdz 2011.gadam.



Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu projektā «Atbalsts doktora studijām Latvijas Universitātē».

Recenzenti:

Dr.ķīm.prof., A.Zicmanis, Latvijas Universitāte

Dr.ķīm.asoc.prof., M.Drille, Rīgas Tehniskā universitāte

Dr.ķīm.prof., V.Kreicbergs, Latvijas Lauksaimniecības universitāte

Darba aizstāvēšana paredzēta Latvijas Universitātes Ķīmijas nozares promocijas padomes atklātā sēdē

2012.gada 1.martā plkst. 14:00

Latvijas Universitātes Ķīmijas fakultātē

Kr.Valdemāra ielā 48

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties Latvijas Universitātes bibliotēkā, Kalpaka bulvārī 4.

SATURS

SAĪSINĀJUMI	6
IEVADS	9
1. LITERATŪRAS APSKATS	12
1.1. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu raksturojums	12
1.2. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu toksiskās īpašības	15
1.3. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu pieļaujamās normas pārtikas produktos	20
1.4. Piesārņojums ar policikliskajiem aromātiskajiem ogļūdeņražiem pārtikas produktos	24
1.5. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu satura samazināšanas veidi	28
1.6. Pārtikas paraugu sagatavošana analīzēm	30
1.7. Ekstrakcijas un paraugu attīrīšanas metodes	33
1.7.1. Soksleta ekstrakcija	36
1.7.2. Ultraskaņas ekstrakcija	37
1.7.3. Paātrinātā šķidrums ekstrakcija	37
1.7.4. Superkritiskā un subkritiskā šķidrums ekstrakcija	38
1.7.5. Mikroviļņu ekstrakcija	39
1.7.6. Eksklūzijas hromatogrāfija	40
1.7.7. Cietfāžu ekstrakcija	42
1.8. <i>QuEChERS</i> metode	46
1.9. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu detektēšanas metodes	47
1.9.1. Gāzu hromatogrāfija – masspektrometrija	50
1.9.2. Gāzu hromatogrāfija – augstas izšķirtspējas masspektrometrija	54
1.9.3. AEŠH-MS-MS un UEŠH-MS-MS	57
1.10. Marķiera izvēle policikliskajiem aromātiskajiem ogļūdeņražiem	60
2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA	62
2.1. Izmantotie reaģenti un materiāli	62
2.2. Standartšķīdumi	63
2.3. Aparatūra un trauki	64
2.4. Lietotās statistiskās un rezultātu salīdzināšanas metodes	65
2.5. „BIOR” laboratorijas akreditētā metode PAO noteikšanai	65
2.5.1. Pārtikas produktu analīzes gaita	66
2.5.2. Eļļas analīzes gaita	66
2.6. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanas metodes	67

2.7. Gāzu hromatogrāfa – masspektrometra analīzes apstākļi.....	74
2.8. Gāzu hromatogrāfa – augstas izšķiršanas spējas masspektrometra analīzes apstākļi	77
2.9. UEŠH-MS-MS analīzes apstākļi.....	79
2.10. Validācijas prasības policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanai eļļās	81
3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS	84
3.1. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu veidošanās dažādu tehnoloģisko procesu ietekmē.....	84
3.1.1. PAO izmaiņas atkarībā no krāsns tīrīšanas	84
3.1.2. PAO satura izmaiņas kūpinātos zivju pusfabrikātos atkarībā no izvietojuma tunelī.....	87
3.1.3. PAO izmaiņas eļļā – pirms un pēc sterilizēšanas	90
3.1.4. PAO izmaiņas zivju pusfabrikātos, izmantojot kūpināšanu ar un bez ūdens filtra	90
3.1.5. PAO izmaiņas zivju pusfabrikātos atkarībā no skaidu mitruma.....	91
3.1.6. PAO izmaiņas zivju pusfabrikātos tehnoloģisko procesu gaitā.....	91
3.1.7. PAO izmaiņas zivju pusfabrikātos atkarībā no kūpināšanas ilguma	92
3.2. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu samazināšanas iespējas kūpinātā gaļā	92
3.3. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu veidošanās dažādos ražošanas posmos.....	96
3.4. Ultravioletā starojuma ietekme	97
3.5. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu satura izmaiņas eļļā	99
3.6. PAO satura izmaiņas eļļā atkarībā no uzglabāšanas apstākļiem.....	101
3.7. Cepšanas apstākļu pētījums	102
3.8. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu saturs Latvijas tirgū pieejamos produktos.....	103
3.9. Pētījums par policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanas metodēm eļļā.....	104
3.9.1. „BIOR” eļļas analīzes laboratorijas metode.....	104
3.9.2. GH-MS eļļas analīzes metodes atkarībā no paraugu pagatavošanas veida	105
3.9.3. Pētīto analīzes metožu izmaksas.....	116
3.9.4. <i>QuEChERS</i> modificētā metode.....	119
3.10. Dažādu cietfāzes ekstrakcijas kolonnu sorbentu salīdzinājums.....	120
3.10.1. PAO samazināšanas iespējas atkarībā no lietoto kolonnu sorbentiem	120
3.10.2. Eļļas sorbcija atkarībā no izmantotajiem sorbentiem	121
3.11. GH-AIMS metodes izstrāde PAO noteikšanai un tās validācija	123
3.11.1. Selektivitāte	124
3.11.2. Linearitāte.....	125
3.11.3. Kvalitatīvās un kvantitatīvās noteikšanas robežas.....	126
3.11.4. Metodes un iekārtas precizitāte	128
3.11.5. Atgūstamība.....	131

3.11.6. Prasmes pārbaudes un starplaboratoriju testēšana.....	132
3.12. UEŠH-MS-MS metodes izveide PAO noteikšanai	133
3.13. Marķiera izvēle policikliskajiem aromātiskajiem ogļūdeņražiem	140
3.13.1. Marķiera izvēle pēc korelācijas koeficienta.....	140
3.13.2. Marķiera izvēle pēc policiklisko aromātisko ogļūdeņražu summas	143
SECINĀJUMI.....	145
LITERATŪRAS SARAKSTS	146
PIELIKUMI.....	158
PUBLIKĀCIJU SARAKSTS	169

SAĪSINĀJUMI

5-MCHR	5-metilkrizēns
AEŠH	augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija
AEŠH-FLD	augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija – fluorescences detektors
AEŠH-MS	augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija – masspektrometrija
AEŠH-MS-MS	augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija – tandēma masspektrometrija
AEŠH-NL-MS	augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija – nolidojuma laika masspektrometrija
AEŠH-UV	augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija – ultravioletā starojuma detektors
BaA	benzo(a)antracēns
BaP	benzo(a)pirēns
BbF	benzo(b)fluorantēns
BghiP	benzo(g,h,i)perilēns
BjF	benzo(j)fluorantēns
BkF	benzo(k)fluorantēns
CFE	cietfāzes ekstrakcija
CHR	krizēns
CONTAM	speciālistu grupa par piesārņotājiem pārtikas aprītē (angļu val. <i>the panel on contaminants in the food chain</i>)
CPP	ciklopenta(c,d)pirēns
DahA	dibenzo(a,h)antracēns
DaeP	dibenzo(a,e)pirēns
DahP	dibenzo(a,h)pirēns
DaiP	dibenzo(a,i)pirēns
DalP	dibenzo(a,l)pirēns
DI	drošības intervāls
DMF	dimetilformamīds
DMSO	dimetilsulfoksīds
EFSA	Eiropas Pārtikas drošības pārvalde (angļu val. <i>European Food Safety Authority</i>)
ESI	elektronizmidzināšanas jonizācija
FJAS	fotjonizācija atmosfēras spiedienā (angļu val. <i>atmospheric-pressure photo ionization (APPI)</i>)

FLD	fluorescences detektors
GH	gāzu hromatogrāfija
GH-AIMS	gāzu hromatogrāfija – augstas izšķiršanas spējas masspektrometrija
GH-LJD	gāzu hromatogrāfija – liesmas jonizācijas detektors
GH-MS	gāzu hromatogrāfija – masspektrometrija
GH-MS-MS	gāzu hromatogrāfija – tandēma masspektrometrija
IcdP	indeno(1,2,3-c,d)pirēns
JECFA	kopīgā Apvienoto Nāciju pārtikas un lauksaimniecības organizācijas un Pasaules Veselības organizācijas ekspertu komiteja par pārtikas piedevām (angļu val. <i>Joint the food and agriculture organization of the United Nations and world health organization Experts Committee on Food Additives</i>)
ĶJAS	ķīmiskā jonizācija atmosfēras spiedienā (angļu val. <i>atmospheric-pressure chemical ionization (APCI)</i>)
LD ₅₀	letālā deva, 50 %
LOD	detektēšanas robeža (angļu val. <i>limit of detection</i>)
LOQ	kvantificēšanas robeža (angļu val. <i>limit of quantitation</i>)
ME	mikroviļņu ekstrakcija
MPL	maksimāli pieļaujamais līmenis
MS	masspektrometrija
NADFH	nikotīnamīda – adenīna dinuklotīda fosfāts
NRL	nacionālā references laboratorija
PAO	policikliskie aromātiskie ogļūdeņraži
PAO2	benzo(a)pirēna, krizēna summa
PAO4	benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna, benzo(b)fluorantēna summa
PAO8	benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna, benzo(b)fluorantēna, benzo(k)fluorantēna, benzo(g,h,i)perilēna, dibenzo(a,h)antracēna, indeno(1,2,3-c,d)pirēna summa
PP	polipropilēns
PSA	primārie sekundārie amīni
PŠE	paātrinātā šķīdinātāju ekstrakcija
PTFE	politetrafluoretilēns
QuEChERS	ātra, vienkārša, lēta, efektīva, atkārtojama un droša metode (saīsinājums no angļ.val. <i>Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe</i>)
Sn	standartnovirze

Sn,r	relatīvā standartnovirze
TEF	toksiskuma ekvivalentais faktors
TEQ	toksiskuma ekvivalences lielums (angļu val. <i>toxicity equivalent quantity</i>)
UEŠH-FJAS-MS	ultraefektīvā šķidrums hromatogrāfija – fotojonizācija atmosfēras spiedienā - masspektrometrija
UEŠH-ĶJAS-MS	ultraefektīvā šķidrums hromatogrāfija – ķīmiskā jonizācija atmosfēras spiedienā - masspektrometrija
UEŠH-ĶJAS-NL-MS	ultraefektīvā šķidrums hromatogrāfija – ķīmiskā jonizācija atmosfēras spiedienā – nolidojuma laika masspektrometrija
UEŠH-MS-MS	ultraefektīvā šķidrums hromatogrāfija – tandēma masspektrometrija
US-EPA	Amerikas Savienoto Valstu Vides aizsardzības aģentūra (angļu val. <i>United States Environmental Protection Agency</i>)

IEVADS

Policikliskie aromātiskie ogļūdeņraži (PAO) ir liela nepolāro organisko savienojumu grupa. Dūmu sastāvā var identificēt līdz 200 dažādu savienojumu no šīs grupas. PAO ir viena no lielākajām organisko savienojumu klasēm, kas pazīstami kā kancerogēni savienojumi. PAO ir atrasti ūdenī, gaisā, augsnē, kā arī pārtikā. To izcelsmes avoti ir dažādi, piemēram, tabakas dūmu, izplūdes gāzu, naftas produktu, akmeņogļu un citu vielu sadegšanas laikā radušās vielas. Pārtikas piesārņošana ar PAO var notikt gan pārtikas produktu apstrādes laikā (karsēšana, grilēšana, kūpināšana, žāvēšana u.c.), gan arī uzņemot PAO no apkārtējās vides. Jāpiemin arī tādi pārtikas piesārņojuma avoti kā PAO piesārņotas pārtikas piedevas un PAO migrācija no iepakojuma.

Tēmas aktualitāte. Pārtikas produktu piesārņojums ar benzo(a)pirēnu (BaP) ir aktuāla problēma Latvijas produktu tirgum, tāpēc ir nepieciešami pētījumi par to, kā varētu samazināt PAO saturu pārtikas produktos un kāda ir dažādu tehnoloģisko procesu ietekme uz PAO veidošanos pārtikas produktos. Šobrīd visā ES aktuāli ir pētījumi par marķiera izvēli, jo tiek apšaubīts, ka BaP var būt piemērots marķieris visiem 15 prioritārajiem PAO. Tāpēc, pamatojoties uz to, ir nepieciešama jutīgākas noteikšanas analīzes izveide. Pēdējo gadu laikā rit diskusijas, ka par PAO marķieri vajadzētu izvēlēties PAO4 summu (benzo(a)antracēna, krizēna, benzo(a)pirēna, benzo(b)fluorantēna). Uz doto brīdi jau ir izstrādāts dokuments ar jaunajām pieļaujamajām normām pārtikas produktos, un šis dokuments tiks pieņemts 2012.gadā.

Darba mērķis. Promocijas darba mērķis ir izstrādāt policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanas metodi, kas spētu uzlabot metodes selektivitāti un jutību, kā arī palielinātu laboratorijas kapacitāti, ietaupot izmantotos reaģentus un paraugu sagatavošanas laiku.

Darba mērķa sasniegšanai ir izvirzīti vairāki **uzdevumi**.

- Izstrādāt metodi PAO noteikšanai ar gāzu hromatogrāfiju – augstas izšķiršanas spējas masspektrometru (GH-AIMS) un ultraefektīvo šķidrums hromatogrāfiju – tandēma masspektrometru (UEŠH-MS-MS).
- Uzlabot benzo(b)fluorantēna, benzo(j)fluorantēna, benzo(k)fluorantēna hromatogrāfisko atdalīšanu analīzei ar gāzu hromatogrāfiju – masspektrometriju (GH-MS).
- Saīsināt PAO paraugu sagatavošanas procedūras laiku, izmantojot dažādus cietfāzes ekstrakcijas sorbentus.
- Veikt modificēto paraugu sagatavošanas metožu pārbaudi, veicot metodes validāciju.
- Izvērtēt policiklisko aromātisko ogļūdeņražu indikatora izvēli pārtikas paraugos.

- Lietojot izstrādāto paraugu sagatavošanas metodi un labākos atrastos PAO indikatorus, izvērtēt, kā dažādi tehnoloģiskie procesi ietekmē policiklisko aromātisko ogļūdeņražu daudzumu pārtikas produktos.

Zinātniskā novitāte

- Izstrādāta jauna efektīvāka analītiskā metode PAO noteikšanai pārtikas produktos, detektēšanai izmantojot UEŠH-MS-MS un GH-AIMS.
- Ir izpētīta paraugu sagatavošanas metožu ietekme uz PAO kvantificēšanu ar GH-MS.
- Atrasti piemērotākie marķieri, kas varētu būt noderīgi kā marķieri pārtikas produktos visiem 15 prioritārajiem PAO. Veikti plaši pētījumi par PAO analītisko izpēti kūpinātos pārtikas produktos (kūpinātā gaļas produkcija, kūpinātās zivis un konservi „šprotes eļļā”).

Darba praktiskā nozīme. Pētījuma rezultāti atļauj analizēt 15 policikliskos aromātiskos ogļūdeņražus (ciklopenta(c,d)pirēnu, benzo(a)antracēnu, krizēnu, 5-metilhrizēnu, benzo(b)fluorantēnu, benzo(j)fluorantēnu, benzo(k)fluorantēnu, benzo(a)pirēnu, indeno(1,2,3-c,d)pirēnu, dibenzo(a,h)antracēnu, benzo(g,h,i)perilēnu, dibenzo(a,l)pirēnu, dibenzo(a,e)pirēnu, dibenzo(a,i)pirēnu, dibenzo(a,h)pirēnu) dažādos pārtikas produktos, izmantojot gāzu hromatogrāfijas – augstas izšķiršanas spējas masspektrometru, kas ļauj vienlaicīgi noteikt visus mūs interesējošos savienojumus. Ņemot vērā masspektrometriskās metodes augsto selektivitāti, ir izstrādāta metode, kas ļauj kvantificēt PAO ar augstāku precizitāti un pareizību. Līdz šim literatūrā nav aprakstīta PAO noteikšana pārtikas produktos ar GH-AIMS un UEŠH-MS-MS. Laboratorijai nepieciešams robusta, droša metode PAO noteikšanai un kvantificēšanai. Galvenokārt uzmanība tiek vērsta uz jaunas metodes izstrādāšanu rutīnas analīzēm ar labu atdalīšanu, zemu detektēšanas un kvantificēšanas robežu.

Pēdējā laikā daudz tiek diskutēts par pārtikas pieļaujamajām normām attiecībā uz BaP un PAO. Tā kā tuvākajā laikā tiks pieņemta maksimāli pieļaujamā norma PAO4 (benzo(a)pirēns, krizēns, benzo(a)antracēns, benzo(b)fluorantēns), tad tika izstrādāta UEŠH-MS-MS metode, kas ļauj analizēt daudz lielāku paraugu skaitu, jo tiek saīsināts paraugu pagatavošanas laiks un analīzes laiks. Sekmīgi izpildīta izstrādātās metodes validācija. Validācijas mērķis ir novērtēt analīzes metodes piemērotību policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanai pārtikas produktos. Validācijas plāns sastādīts, ņemot vērā Eiropas Komisijas direktīvas 2005/10/EC un Eiropas Padomes direktīvas 98/83/EC prasības. PAO noteikšanas metodes validācijas procesā ir veikta selektivitātes, noteikšanas robežas, linearitātes, atgūstamības, precizitātes un pareizības parametru pārbaude.

Pētījuma rezultātu publikācija. Pētījumu rezultāti apkopoti un publicēti vispāratzītos recenzējamajos zinātniskos izdevumos 9 publikācijās. Par rezultātiem ziņots 14 starptautiskās zinātniskās un zinātniski praktiskās konferencēs Latvijā, Serbijā, Slovākijā, Čehijā, Bulgārijā un Francijā.

Pateicība. Atzīstot darba nozīmību un veicot doktorantūras studijas Latvijas Universitātē, tai finansiālu atbalstu sniedzis Eiropas sociālais fonds (līgums Nr.2009/0138/1DP/1.1.2.1/09/IPIA/VIAA/004), par ko autore izsaka pateicību finansētājiem. Autore izsaka pateicību Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskajam institūtam "BIOR" par iespējām izmantot tā analītiskās iekārtas un materiālus studiju laikā, kā arī izsaku pateicību V.Bartkevičam, I.Stumpei-Vīksnai, K.Kļaviņam, Dz.Začam, E.Eglītei, I.Rozentālei, I.Pugajevai un LU Ķīmijas fakultātes darbiniekiem par veiksmīgu sadarbību darba izstrādes laikā.

LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu raksturojums

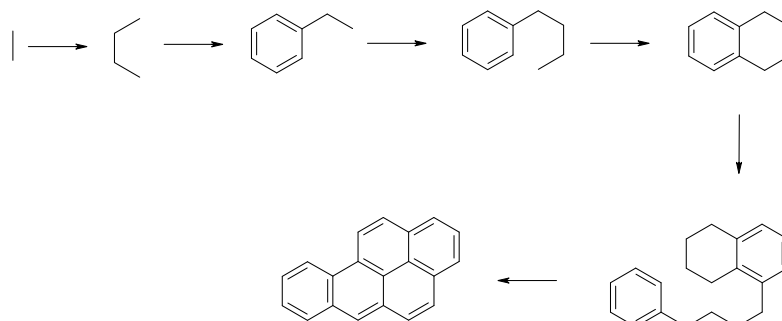
Policikliskie aromātiskie ogļūdeņraži pieder lielai organisko savienojumu klasei, kas sastāv no diviem vai vairāk kondensētiem aromātiskajiem gredzeniem. Policikliskie aromātiskie ogļūdeņraži ir tipiskas vidi piesārņojošas vielas, kuras ietekmē gaisa kvalitāti pilsētvidē un cilvēka dzīves un darba vidē [1]. PAO, kas sastāv tikai no oglekļa un ūdeņraža, ir visuresoši apkārtējās vides piesārņotāji, un tie ir zināmi kā toksiski, mutagēni un kancerogēni [2]. Simtiem dažādu PAO veidojas oglekli saturošajiem materiāliem nepilnīgi sadegot un organisko vielu pirolīzē, industriālo procesu ietekmē, kā arī cepšanas un pārtikas apstrādes procesos. Vairāk kā 100 PAO ir identificēti atmosfēras matērijas daļiņās un izmešos no kurtuvēm, kur tiek dedzinātas akmeņogles [3]. Daudz PAO atmosfērā nonāk arī no spēkstacijām un atkritumu dedzināšanas krāsnīm, no tankkuģiem, fabrikām utt. [4]. PAO visbiežāk gaisā nonāk no vulkānu izvirdumiem, mežu ugunsgrēkiem, akmeņogļu dedzināšanas un automobiļu izplūdes gāzēm [5]. Ja sadegšana notiek zemākā temperatūrā, tad izmešu gāzēs ir paaugstināta šo vielu koncentrācija. Ir novērots, ka daudz PAO rodas, automašīnu motoriem strādājot tukšgaitā vai pārvietojoties ar mazu ātrumu [6]. Šie savienojumi ir gan atmosfērā, ūdenī, augsnē, pārtikā, gan arī tabakas dūmos [7, 8]. Kancerogenitātes dēļ, PAO ir ietverti Eiropas Savienības un ASV Apkārtējās Vides Aizsardzības Aģentūras prioritārajā piesārņotāju sarakstā [8]. PAO piemīt augstas lipofīlas īpašības, tādēļ tie viegli piesārņo eļļas un taukus [9]. PAO dažādie raksturlielumi ir apkopoti 1. pielikumā.

Apkārtējā vidē PAO var pastāvēt vairāk kā 100 dažādās kombinācijās. Dūmu sastāvā var identificēt līdz 200 dažādu šīs grupas savienojumu. Tomēr tikai atsevišķiem savienojumiem ir raksturīgas izteiktas kancerogēnās īpašības. Visaugstākais toksiskums piemīt BaP, kura deva $5,6 \times 10^{-5}$ mmol rada aknu bojājumus un izraisa teratogēnu iedarbību pelēm [1]. Jāatceras arī tas, ka no divām tā izplatītākajām modifikācijām kaitīgs ir tikai benzo(a)pirēns, bet benzo(e)pirēnam toksiskās īpašības nav raksturīgas [10].

PAO mūsdienās atrod praktiski visā mūsu vidē, tātad arī augsnē. Pārsvarā PAO ir hidrofobas vielas ar augstām viršanās un kušanas temperatūrām, un tiem ir zema šķīdība ūdenī un zema elektroķīmiskā stabilitāte, tādēļ tie var akumulēties un eksistēt augsnē ilgā laika periodā [2]. BaP pussabrukšanas periods gaisā ir 170 h, ūdenī 1700 h, augsnē 17000 h, sedimentos 55000 h un veģetācijā 900 h [11]. PAO pussabrukšanas periods gaisā ir dažas stundas līdz vienai dienai, augsnē šis pussabrukšanas periods ir daži mēneši līdz pat vairākiem gadiem [12]. Ja organisko savienojumu

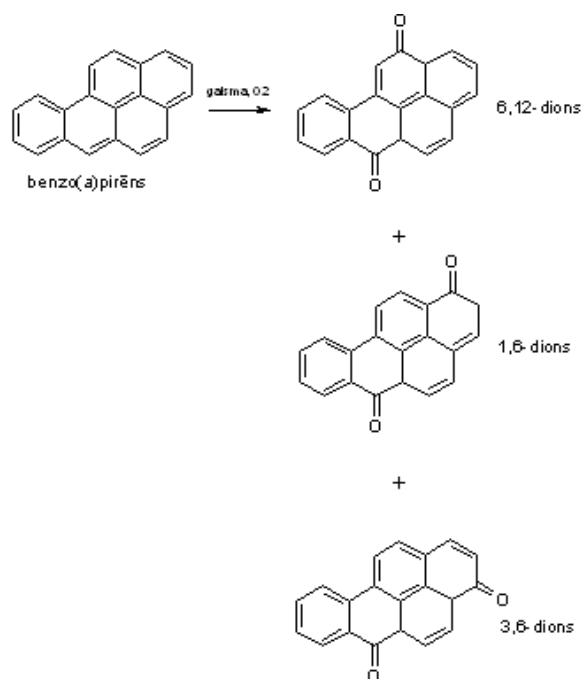
pussabrukšanas periods ir lielāks par 100 dienām, tie uzskatāmi kā stabili, ja 15 – 100 dienas – vidēji stabili, līdz 15 dienām – mazstabili savienojumi [6]. Augi var uzņemt šos savienojumus no augsnes. PAO neakumulējas augu audos, kas satur lielus ūdens daudzumus un pārvietošanās no piesārņotas augsnes uz auga sakni ir ierobežota [13]. PAO bieži parādās arī virszemes ūdeņos, kaut arī šie savienojumi ir ūdenī nešķīstoši. To parādīšanās acīmredzot izskaidrojama ar micellu veidošanos ar virsmas aktīvām vielām [14]. PAO sorbējas uz cietām daļiņām un nosēžas upju un ezeru dibenā. Augsnē parasti PAO ir piesaistījušies cietākām daļiņām, bet arī ir zināms, ka PAO iziet caur augsnes slāni un piesārņo pazemes ūdeņus. Augi un dzīvnieki var saturēt lielāku PAO daudzumu nekā tas ir augsnē vai ūdenī, kur tie aug un dzīvo [5]. Augos PAO var nokļūt caur saknēm vai arī to virszemes daļām. Uz auga virsmas PAO var nokļūt ar nokrišņiem vai iztvaikojot no augsnes virskārtas. Sakarā ar to, ka augsnē šie savienojumi nav mobili, caur saknēm augos tie nokļūst nelielā daudzumā [6].

Policikliskie aromātiskie ogļūdeņraži labi šķīst organiskajos šķīdinātājos un organiskajās skābēs, lipīdos, tāpēc tie ātri uzsūcas zīdītāju zarnu traktā. Neraugoties uz ievērojamo šķīdību lipīdos, PAO nespēj bioakumulēties mugurkaulnieku taukus saturošajos audos, jo tie ātri metabolizējas [15]. Ņemot vērā PAO augsto toksiskumu, tie efektīvi bioakumulējas barības virknēs, kā arī orgānos, kuros var notikt metaboliska pārvēršanās, piemēram, aknās [1]. PAO uzkrājas aknās, nierēs un taukos, bet pēc dažām dienām daļa PAO tiek izvadīti no ķermeņa ar izkārnījumiem un urīnu. Pētījumi ar dzīvniekiem ir pierādījuši PAO kancerogenitāti; tos pakļaujot PAO iedarbībai, tiek ietekmēti daudzveidīgi audi, ko ietver plaušas, āda, aknas, nieres, asinis, un tie var negatīvi iedarboties uz nervu sistēmu [6, 16]. Zivju spēja metabolizēt PAO izskaidro, kāpēc BaP dažreiz netiek detektēts vai tiek atrasts zivīs ļoti zemās koncentrācijās, kaut gan tās dzīvojušas ļoti piesārņotos ūdeņos [17]. BaP iespējamais veidošanās mehānisms pirolīzes procesā aplūkojams 1.1. attēlā [18].



1.1. att. Benzo(a)pirēna veidošanās pirolīzes procesā

Policikliskie aromātiskie ogļūdeņraži ir relatīvi inerti savienojumi, un tiem raksturīgas tipiskās aizvietošanas reakcijas. Pieaugot kondensēto ciklu skaitam, palielinās to reaģētspēja, bet pieaug stabilitāte termiskās pārvērtības procesos un samazinās šķīdība ūdenī [1, 19]. Galvenās īpašības šai savienojumu klasei ir augsts kušanas un viršanās punkts, zems iztvaicēšanas spiediens un ļoti vāja šķīdība ūdenī. PAO reaģē ar slāpekļa oksīdu un slāpekļskābi, sēra oksīdu, sērskābi. PAO ir ķīmiski stabilas vielas un ļoti slikti hidrolizējas. Gaismas ietekmē PAO ir jutīgi, tie var oksidēties, un notiek fotodegradācija (1.2. att.) [3, 12, 131]. PAO šķīst organiskajos šķīdinātājos (piem., benzolā, toluolā, cikloheksānā, acetonā, dimetilformamīdā (DMF) un dimetilsulfoksīdā (DMSO)). PAO var sagraut oksidēšanas reakcijā ar kālija permanganātu sērskābes šķīdumā vai reakcijā ar koncentrētu sērskābi. PAO pēc šīm reakcijām vairs nevar noteikt, jo tiek sagrauti 99 % no savienojumu kopējā daudzuma [20, 21].



1.2. att. Benzo(a)pirēna fotolīzes produkti

Istabas temperatūrā visi PAO ir cietas vielas. Kā tīras ķīmiskas vielas, PAO ir bezkrāsainas, baltas vai gaiši dzeltenzaļas cietas vielas. Tiem var būt vāja, bet patīkama smarža. Tos var arī konstatēt tādās vielās kā neapstrādātā eļļā, akmeņoglēs, akmeņogļu darvas piķī un jumta seguma darvā. PAO ir sastopami arī citās vietās, kur tiek izmantota nafta, naftas produkti, akmeņogles, celulozes vai kur tiek dedzināta labība (kukurūza) vai eļļa [22]. PAO izmanto krāsu, plastmasas un pesticīdu ražošanā. Dažus PAO izmanto arī medicīnā.

PAO sastāv no pieciem vai vairāk aromātiskajiem gredzeniem, atmosfērā tie sorbējas uz gaisā esošajām cietajām daļiņām, pārsvarā uz smalkajām (< 2,5 μm) daļiņām, piemēram, uz lidojošiem

pelniem, putekļiem un kvēpiem. Parasti to koncentrāciju līmeņi gaisā ir zemi, bet piesārņotā vidē to koncentrācijas var ievērojami pieaugt. PAO sadalīšanās gaisā notiek, tiem reaģējot ar hidroksiradikāļiem un degradējoties radikāļu reakcijās [1]. Kopējais PAO līmenis gaisā ziemā ir augstāks nekā vasarā, jo notiek emisija no apkures sistēmām [23]. Augi ar lielām lapām spēj uzņemt šīs smalkās daļiņas no piesārņotas zāles un augsnes. Augļu un dārzeņu vaskainais slānītis spēj koncentrēt zem molekūlāros PAO galvenokārt caur virsmu, absorbējot tos [3]. PAO var sabrukt saules gaismas iedarbībā un reakcijās ar citām ķīmiskajām vielām, kas ir gaisā. Sabrukšanas periods varētu būt no vienas dienas līdz pat nedēļai. Mikroorganismi var sadalīt PAO augsnē un ūdenī pēc nedēļas līdz mēnesim [5]. Rūpīga augļu, dārzeņu nomazgāšana var samazināt līdz pat 50 % no kopējā PAO satura [12]. Pieaugušam cilvēkam, kas nesmēķē, vidējais dienā uzņemtais PAO daudzums ir apkopots 1.1. tabulā.

1.1. tabula

Vidējais dienā uzņemtais PAO daudzums pieaugušam cilvēkam nesmēķētājam [3]

PAO	Vidējais uzņemtais daudzums (ng/cilvēkam vienā dienā)		
	Pārtika	Dzeramais ūdens	Gaiss
Benzo(a)antracēns	20 - 410	0,2 - 10	20
Benzo(a)pirēns	50 - 290	0,2 - 2	20
Benzo(b)fluorantēns	5 - 360	0,1 - 2	20
Benzo(j)fluorantēns	30	0,02 - 0,2	-
Benzo(k)fluorantēns	40 - 140	0,02 - 2	20
Benzo(g,h,i)perilēns	120 - 360	0,2 - 2	20
Krizēns	200 - 1530	200	20
Dibenzo(a,h)antracēns	10 - 80	-	2
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	20 - 460	0,2 - 2	20

PAO piesārņojuma aprēķinos jāņem vērā reģionālās uztura patēriņa īpatnības. Pilsētās dzīvojošie noteikti uzņems daudz vairāk PAO ar gaisu nekā, piemēram, laukos dzīvojošie, kur gaiss ir daudz tīrāks un nepiesārņotāks.

1.2. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu toksiskās īpašības

No simtiem PAO visvairāk pētītais savienojums ir BaP, kas līdz šim tiek izmantots par PAO marķieri apkārtējā gaisā un pārtikas produktos [13]. PAO iedarbību uz dzīvajiem organismiem

vispirms nosaka tas, ka šīs vielas ir spēcīgi kancerogēni [24]. Laboratorijās žurkām pēc lielas BaP devas tika konstatēts kuņģa un plaušu vēzis. Eiropas Zinātnes komiteja secināja, ka BaP vidējais patēriņš cilvēkiem ir četrkārt zemāks par koncentrāciju, kas izsauc toksiskās parādības. Tomēr tika atzīts, ka pašlaik nav zināms tas BaP līmenis, kas ir pilnīgi nekaitīgs cilvēku veselībai. Tieši tāpēc ir ieteicams veikt dažādus pasākumus, kas samazina BaP līmeni pārtikas produktos [10].

Saskaņā ar pētījumiem 185 no 200 testētajiem PAO ir iespējami kancerogēni (skat. 1.2. tabulu). Starp tiem 25 % ir audzēju izraisoši un 30 % no šiem PAO noteiktā kancerogenitāte LD₅₀ ir 24 µg/kg [19]. Kaut arī grūti izdalīt toksiskuma atšķirības dzīvniekiem un cilvēkiem, 15 PAO iedarbojas uz cilvēku genotoksiski un kancerogēni (1.2. tabula) [9].

1.2. tabula

Policiklisko aromātisko ogleņdeņražu toksicitāte [19]

Savienojums	Kancerogenitātes potenciāls	Bioaktivitāte	Genotoksicitāte	Kancerogenitāte
Ciklopenta(c,d)pirēns			+	+
Benzo(a)antracēns	+	TI	+	+
Krizēns	+	TI	+	+
5-Metilkrizēns			+	+
Benzo(b)fluorantēns	++	C, TI	+	+
Benzo(k)fluorantēns	0	0	+	+
Benzo(a)pirēns	+++	C, TI	+	+
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	+	TI	+	+
Dibenzo(a,h)antracēns	+++	C, TI	+	+
Benzo(g,h,i)perilēns	0	CC	+	-

Piezīmes: + līdz +++ aktīvs, CC = kancerogēns ar BaP, TI = Vēzi izraisošs, C = absolūti kancerogēns, 0 = neaktīvs. "+" pozitīvs, "-" negatīvs

Pēc 1.2. tabulas datiem redzam, ka BaP un DahA uzrāda vienādi augstu kancerogenitātes potenciālu, un tas varētu izraisīt diskusijas par to, vai tiešam BaP ir piemērotākais marķieris PAO. Grūti ir izvērtēt marķieri visiem PAO pārtikas produktos, jo ne visi 15 PAO ir pietiekami izpētīti, piemēram, par 5-MCHR un CPP nav datu par to kancerogenitātes potenciālu, bioaktivitāti. Trūkst arī datu par dibenzopirēniem un B₁F, kas arī nav mazsvarīgi savienojumi, veicot pētījumus par marķiera izvēli.

PAO kancerogenitāte ir atkarīga no to struktūras. To kancerogēnā ietekme uz zīdītāju šūnu makromolekulām, sevišķi DNS, ir saistīta ar metabolītiski aktivēto PAO kovalento saišu iedarbību uz nukleofiliem centriem, kā rezultātā tiek izmainīta DNS secība. Šo savienojumu klase tiek

klasificēta kā kancerogēna, galvenokārt tāpēc, ka tie aknās metabolizējas no dihidrodiola par ogļūdeņražu hidroksilāzēm. Dihidrodiols un tā epoksīdu atvasinājumi saista DNS un proteīnus, tādejādi sākas mutagēns process šūnās. PAO iedarbības rezultātā var tikt bojāts DNS un var veidoties hromosomu mutācijas, un tas bērniem palielina risku saslimt ar leukēmiju [25].

Ir daudz dažādu faktoru, kas nosaka, vai PAO var radīt risku veselībai vai nē, piemēram, to doza un laiks, ar kuru cilvēks bijis saskarē, veids, kādā ir nonākusi saskarsme ar PAO (ieelpojot, ieēdot, saskarē ar ādu), citas ķīmiskās vielas, kurām ir pakļauts organisms, kā arī vairāki individuālie faktori, tādi kā vecums, ģimenes raksturīgās īpatnības, dzīves stils un veselības stāvoklis [22].

Dažādos rakstos piešķirtās PAO toksiskuma ekvivalences faktora (TEF) vērtības ir ļoti atšķirīgas. Eiropas Savienības Pārtikas drošības uzraudzības aģentūras (EFSA) ekspertu grupa ir pētījusi, vai TEF var piemērot pārtikas produktu PAO piesārņojuma riska raksturošanai [26, 27]. Viņi secināja, ka TEF piemērošana nav zinātniski pamatota, jo trūkst kancerogenitātes pētījumu datu par atsevišķiem PAO, par to dažādo iedarbību uz PAO maisījumiem, balstoties uz pašreiz ierosinātajām TEF vērtībām (1.3. tabula).

1.3. tabula

Toksiskuma ekvivalences faktora lielumi [28, 29, 30, 31]

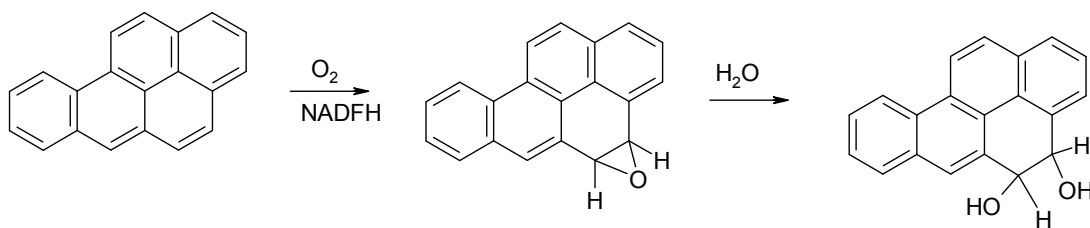
Viela	TEF lielums
Dibenzo(a,l)pirēns	100
Dibenzo(a,h)pirēns	10
Dibenzo(a,i)pirēns	10
Dibenzo(a,h)antracēns	5
Dibenzo(a,e)pirēns	1
Benzo(a)pirēns	1
Benzo(a)antracēns	0,1
Benzo(b)fluorantēns	0,1
Benzo(k)fluorantēns	0,1
Benzo(j)fluorantēns	0,1
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	0,1
Ciklopenta(c,d)pirēns	0,1
Krizēns	0,01
Benzo(g,h,i)perilēns	0,01
5-Metilkrizēns	-

Toksiskuma ekvivalences kvantitatīvais lielums (TEQ) ir izteikts kā ekvivalenta koncentrācija vistoksiskākajam dioksīnu rindas savienojumam 2,3,7,8-tetrahlordibenzo-*p*-dioksīnam (TCDD) un attiecas uz toksicitātes faktoru. Dioksīni un tiem radniecīgie savienojumi saistās tieši ar receptoriem bez biotransformēšanās, un šī saistīšanās tiek uzskatīta par toksicitāti. Salīdzinājumā ar dioksīniem, PAO nevar skaidri noteikt to kancerogenitātes potenciālu, kamēr tie nav metabolizējušies tādā formā, kas spēj saistīties ar DNS [4]. Toksiskuma ekvivalences lielums tiek aprēķināts, ņemot vērā toksicitāti $TEQ = \sum(TEQ_i) = \sum(C_{PAO_i} \times TEF_{PAO_i})$, kur C_{PAO_i} ir PAO koncentrācija un TEF_{PAO_i} – PAO toksiskuma ekvivalences faktors [29].

Dibenzo(a,l)pirēns (DalP) uzrāda aptuveni 100 reizes lielāku potenciālo kancerogenitāti nekā BaP. Dibenzo(a,h)antracēns ir 10 reizes kancerogēnāks nekā benzo(a)pirēns, bet dati par to klātbūtni un veidošanos apkārtējā vidē ir ierobežotā daudzumā [32]. Toksikoloģijas pētījumi ar grauzējiem norāda, ka DalP ir spēcīgākais kancerogēns starp visiem PAO [33].

PAO ir taukos labi šķīstoši, un tie absorbējas plaušās un zīdītāju zarnās. PAO spēj iespieties bronhu epitēlijšūnās un veidot metabolītus. BaP metabolizējas aptuveni 20 primārajos un sekundārajos metabolītos. Daži no tiem spēj izraisīt mutācijas, kas pārveido šūnu, un/vai saistīt šūnveida makromolekulas [19].

Mūsdienās ir noskaidrots, ka organismā PAO tiek fermentatīvi hidroksilēti (1.3. att.), pie kam vispirms oksidāze izsauc epoksīdu rašanos. Tālāk tos sašķeļ hidrolāzes, un tad jau hidroksilētais savienojums veido saites ar sulfātiem vai glukuronātiem un tiek izdalīts ar izkārnījumiem. Savukārt epoksīds darbojas kā audzēju izraisītājs.



1.3. att. Aromātisko ogļūdeņražu hidroksilēšana

Lielāko ietekmi uz cilvēka organismu PAO izraisa, ja tos injicē vai ieelpo, bet iedarbībai caur ādu negatīvās sekas ir mazas. Līdzīgi kā citi taukos šķīstošie savienojumi, PAO organismā labi absorbējas (barības traktā absorbcija ir > 50 %), taču ķermenī uzkrājas tikai neliels daudzums, galvenokārt, nierēs, aknās un liesā. Lielākā daļa no absorbētās dozas koncentrējas žultī un tiek izvadīta ar izkārnījumiem, mazākā mērā ar urīnu [34]. PAO ātri biotransformējas par hidroksilātu metabolītiem, kas savukārt tālāk transformējas par glukuronīdu vai sulfāta konjugātiem, kas palielina to polaritāti un sekmē izdalīšanos ar urīnu [35].

PAO var absorbēties caur elpošanas traktu, ādu un gremošanas traktu. Noteicošais faktors absorbcijai caur gremošanas traktu ir šķīdība ūdenī un lipofilitāte. Elektrofilie PAO metabolīti var saistīt tādas makromolekulas kā proteīni vai DNS. Starptautiskā ķīmikāliju drošības programma (IPCS – angļu val.) aprēķināja individuālu orālo vidējo letālo dozu (LD_{50}) pelēm un žurkām tādiem savienojumiem kā antracēns, BaP, fluorantēns un fenantrēns robežās no 700 – 18000 mg kg^{-1} . BaP genotoksiski iedarbojas uz dīgļšūnām. Daži PAO un/vai to metabolīti spēj pāriet uz placentu savas lipofilitātes dēļ, un tiek uzskatīts, ka vairums PAO, iespējams, pāriet uz embriju un augli.

Saskaņā ar pētījumu, kas veikts sešās Eiropas Savienības valstīs, pieauguša cilvēka vidējais BaP patēriņš dienā ir diapazonā no 0,05 μg līdz 0,29 μg . Dažos reģionos šis patēriņš ir lielāks. Dienviditālijā tas sasniedz 0,32 μg dienā, un dažas iedzīvotāju grupas Austrijā uzņem 0,36 μg BaP dienā. Pētījumā Holandē tika izveidots cilvēka “uztura grozs”, kurā tika iekļauti visi tie produkti, kurus vidēji patērē valsts iedzīvotāji. BaP koncentrācija šajā grozā ir 0,15 $\mu g kg^{-1}$. Vācijā ir veikts pētījums, kur ir aprēķināts, ka Vācijā cilvēks dzīves laikā kopumā uzņem 24 – 85 mg BaP [10]. BaP uzņemtais daudzums ar ēdienu ir aptuveni 6 – 8 ng kg^{-1} ķermeņa svara/dienā personai, kas sver 70 kg [36].

Latvijas iedzīvotāju apdraudējums ar pārtiku uzņemtā BaP piesārņojuma gadījumā ir 4,4 nanogrami uz vienu kilogramu ķermeņa svara dienā sievietēm, bet vīriešiem – 6,6 nanogrami uz vienu kilogramu ķermeņa svara dienā. Iegūtā ar pārtiku uzņemtā BaP piesārņojuma skaitliskā vērtība vīriešu gadījumā nedaudz pārsniedz EFSA rekomendēto augstāko BaP patēriņa robežvērtību. Līdzīgi kā EFSA apkopotajos datos par BaP riska grupas pārtikas produktu patēriņu Eiropā, lielāko apdraudējumu patērētājiem attiecībā uz ar pārtiku uzņemto BaP īpatsvaru sniedz graudaugi un to produkti, kā arī jūras produkti. Pētījuma dati atklāj, ka Latvijas iedzīvotāju pārtikas grozā maize un tās izstrādājumi ieņem vislielāko daļu – 26 %, seko graudaugi un to ēdieni – 18 %. Lasis un citi jūras produkti, kā arī zivju konservi Latvijas iedzīvotāju pārtikas grozā veido vien 2 % katrā grupā [37].

Profesionālā pakļaušana PAO iedarbībai ir nopietna mūsdienu problēma. Par profesijām, kas saistītas ar augstu risku uzņemt PAO, uzskata darbu pie koksa krāsnīm, darvas gazifikāciju, rafinēšanu, darbu dzelzs un tērauda lietuvēs, asfalta pārkraušanu un darbu ar jumta segumiem, alumīnija ražošanu, koku piesūcināšanu un kreozota pārkraušanu, asfalta un bruģa darbus, darbu, kur izmanto minerāleļļas, un darbu, kas saistīts ar dīzeļdzinēju izplūdēm. Profesijas risks, uzņemot PAO, ir saistīts ar vēža veidošanos elpošanas traktā un urīnvados, kā arī ir palielināts risks saslimt ar kuņģa vēzi, ādas vēzi un leukēmiju [3].

Ievērojams BaP daudzums tiek uzņemts, smēķējot cigaretes. Pētījumos Lielbritānijā noskaidrots, ka papildus BaP patēriņš cilvēkam, kas izsmēķē 20 cigaretes dienā, ir 0,21 μg .

Salīdzinājumam var norādīt, ka tas atbilst tam BaP daudzumam, ko cilvēks saņem dienā ar pārtiku [10]. Kopš ir kļuvis zināms, ka pārmērīga smēķēšana un jo īpaši dūmu ievilkšana ir riska faktori sirds un asinsvadu slimībām un plaušu vēzim, pieliktas lielas pūles, lai pēc iespējas vairāk atbrīvotos no dūmu kaitīgajām sastāvdaļām. Pie pēdējām pieskaitāms nikotīns, kancerogēnie PAO (skat. 1.4. tabulu), nitrozoamīni, oglekļa monoksīds un darvas kondensāts. Tā, piemēram, cenšas piedāvāt tabakas, kurās ir maz nikotīna, bet kurām ir bagātīgs aromāts un kas pirolīzē pēc iespējas mazāk izdala oglekļa monoksīdu. Kondensātu atdalīšanai izmanto filtru [14].

1.4. tabula

PAO saturs tabakas dūmos ($\mu\text{g}/100$ cigaretēs) [14]

Vielā	Antracēns	Krizēns	5-Metilkrizēns	Benzo(a)pirēns	Pirēns	Karbazols
Daudzums	2–23	0,5–9	0,06	0,5–8	5–27	100

Pēdējā laikā arī Latvijas sabiedrībai ir pieejamas elektroniskās cigaretes, kas rada tvaikveidīgus dūmus, kas ir daudz mazāk kaitīgi. Elektroniskā cigarete nesatur tabaku un tajā nav degšanas procesa, kā rezultātā izdalās kaitīgas vielas, tai skaitā arī mums interesējošie PAO [38]. Elektroniskā cigarete ir Eiropā un ASV ļoti atzīta, jo ir nekaitīga arī pret apkārtējo vidi.

Pastāv hipotēze, ka PAO no cigarešu dūmiem vai sadegšanas produktiem ir par iemeslu endoteliālajiem bojājumiem un gludo muskuļu šūnu izmaiņām, kas var veicināt aterosklerozes attīstību [3]. Jaunākie toksikoloģijas un epidemioloģijas pētījumi liecina, ka PAO negatīvi ietekmē zīdāini vēl pirms dzemdībām un tas jaundzimušajiem var atstāt sekas uz reproduktīvo attīstību [39]. Kreozots satur PAO un tie var kaitēt nedzimušam bērnam, var izraisīt vēzi, tie nonāk barības ķēdē, kā arī var izraisīt ģenētiskus defektus un pasliktināt auglību [40]. PAO uzkrājas taukus saturošajās šūnās un var izdalīties ar mātes pienu, tādejādi apdraudot mazuļa veselību [41].

1.3. Policiklisko aromātisko oglekļa ražu pieļaujamās normas pārtikas produktos

Pārtikas kvalitāte un drošība ir ļoti svarīga patērētājiem, jo tie vēlas iegādāties pārtikas produktus, kas ir ar augstu uzturvērtību un bez ķīmikālijām. Rezultātā tiek paaugstinātas prasības pēc dabiskiem pārtikas produktiem [42]. Izņemot smēķētājus un cilvēkus, kas pakļauti PAO ietekmei darba vietā, visbiežāk individuāli cilvēki tiek pakļauti PAO ietekmei tieši ar pārtikas produktiem [43].

Pārtikas zinātniskā komiteja savā 2002. gada 4. decembra atzinumā [22] secināja, ka PAO ir genotoksiski kancerogēni. Laboratorijas pētījumos noteiktie līmeņi, kas izraisa izmēģinājuma audzējus, bija vairākas reizes augstāki nekā tie, kas varētu būt pārtikas produktos un ko patērē. Lai

ievērotu genotoksisko vielu ietekmes pieļaujamās robežas, PAO līmeņi pārtikas produktos jāsamazina iespējami zemi. Saskaņā ar Pārtikas zinātniskās komitejas atzinumu BaP var izmantot kā marķieri, lai noteiktu kancerogēno PAO klātbūtni un ietekmi uz pārtikas produktiem, tostarp arī benzoantracēna, benzo(b)fluorantēna, benzo(j)fluorantēna, benzo(k)fluorantēna, benzo(g,h,i)perilēna, krizēna, ciklopenta(c,d)pirēna, dibenzo(a,h)antracēna, dibenzo(a,e)pirēna, dibenzo(a,h)pirēna, dibenzo(a,i)pirēna, dibenzo(a,l)pirēna, indeno(1,2,3-c,d)pirēna un 5-metilkrizēna klātbūtni [44]. Šobrīd noris diskusijas par to, vai BaP ir pietiekoši labs marķieris visiem 15 prioritārajiem PAO.

Cilvēks 88 – 98 % tiek pakļauts PAO iedarbībai tieši saskarē ar pārtikas produktiem. Veģetācija spēlē ļoti svarīgu lomu PAO globālajā ciklā, bet citkārt dažādie akumulācijas, migrācijas un transformācijas PAO procesi līdz galam nav saprasti [45].

1.5. tabula

Benzo(a)pirēna un PAO4 summas (BaP, BaA, CHR un BbF summas) maksimāli pieļaujamais līmenis (MPL) Eiropas Savienībā [44, 149, 150]

Produkts	MPL ($\mu\text{g kg}^{-1}$ mitra svara)	
	BaP	PAO4 summa
Eļļas un tauki, kas paredzēti tiešam patēriņam pārtikā vai izmantošanai kā sastāvdaļu pārtikas produktos (izņemot kakao sviestu un kokosriekstu eļļu)	2,0	10,0
Kakao pupiņas un to produkti	5,0 no 01.04.2013.	35,0 no 01.04.2013. līdz 31.03.2015. 30,0 no 01.04.2015.
Kokosriekstu eļļa	2,0	20,0
Kūpināta gaļa un kūpinātas gaļas produkti	5,0 līdz 31.08.2014. 2,0 no 01.09.2014.	30,0 no 01.09.2012 līdz 31.08.2013. 12,0 no 01.09.2014.
Kūpinātu zivju muskuļu gaļa un kūpināti zivsaimniecības produkti	5,0 līdz 31.08.2014. 2,0 no 01.09.2014.	30,0 no 01.09.2012 līdz 31.08.2014. 12,0 no 01.09.2014.
Kūpinātas šprotes un konservi šprotes eļļā, divvārstu moluski (svaigi, saldēti vai atdzēsēti)	5,0	30,0
Kūpināti divvārstu moluski	6,0	35,0
Zīdaiņiem un maziem bērniem paredzēta apstrādātu graudaugu pārtika Mātes piena aizstājējs zīdaiņiem un piebarošanas pārtika, arī piens zīdaiņiem un piena maisījumi piebarošanai Īpašiem medicīniskiem nolūkiem paredzēti diētiski pārtikas produkti, kas īpaši paredzēti zīdaiņiem	1,0	1,0
Graudaugi	1,0	5,0
Dārzeni	1,0	5,0

Lai aizsargātu sabiedrības veselību, ES 2005. gada 4. februāra pieņemtajā direktīvā 208/2005 ir noteikta BaP maksimāli pieļaujamā koncentrācija atsevišķos pārtikas produktos, kuri satur taukus un eļļas, un pārtikas produktos, kuros kūpināšanas vai žāvēšanas process var izraisīt augstu piesārņojuma līmeni (skat. 1.5. tabulu). Atsevišķi zemāki maksimāli pieļaujamie līmeņi ir noteikti attiecībā uz zīdaiņiem paredzēto pārtiku, kurus var noteikt, stingri kontrolējot mātes piena aizstājēju zīdaiņiem un maziem bērniem, bērniem paredzētās pārtikas un graudaugu pārtikas zīdaiņiem un maziem bērniem ražošanu un iepakojšanu. Maksimālos pieļaujamos līmeņus nepieciešams noteikt arī zivīs un zivju produktos, jo vides piesārņojums, piemēram, kuģu naftas noplūdes, var izraisīt augstu piesārņojuma līmeni [41, 46].

Krievijā kādu laiku BaP pieļaujamā norma bija $1,0 \mu\text{g kg}^{-1}$, bet šobrīd tā ir $5 \mu\text{g kg}^{-1}$. Vācijā, Austrijā, Itālijā, Slovākijā un Šveicē BaP pieļaujamā norma kūpinātā produkcijā ir $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ [47].

Dažās valstīs (Spānijā, Itālijā, Portugālē, Grieķijā) ir noteikta norma sekojošiem astoņiem PAO: BaA, BeP, BbF, BkF, BaP, DahA, BghiP un IP. Maksimālā robeža katram individuāli ir $2 \mu\text{g kg}^{-1}$, un $5 \mu\text{g kg}^{-1}$ summa visiem šiem astoņiem PAO [48]. Varētu piebilst, ka šī norma astoņiem PAO, manuprāt, nav īsti korekta, jo literatūrā tiek uzsvērts tas, ka benzo(e)pirēns nav kancerogēns un to nav nepieciešams kontrolēt.

Eiropas Komisijas regulā (2005/108/EC) uzsver, ka, ja kāds pārtikas produkts ir ar augstu PAO saturu, tad nepieciešams pētīt ražošanas metodi un procesu, izvērtējot iemeslus šim augstajam saturam. Komisija iesaka izmantot aktīvo ogli eļļas rafinēšanas procesā, kaut gan pats rafinēšanas process jau samazina PAO saturu [49].

Latvijai ir izdevies pārliecināt Eiropas Komisiju un pārējo dalībvalstu ekspertus par kūpināto šprotu tradicionālajām un vienlaikus specifiskajām īpašībām, kas neļauj kūpinātās šprotes ietvert tai pašā grupā, kurā ir pārējie kūpinātie zivju produkti. Ministriju mērķis ir panākt atļauju Latvijas zivju pārstrādes uzņēmumiem turpināt ražot kūpinātās šprotes ar tradicionālo tehnoloģiju pēc vairāk nekā simts gadu tradīcijām, saglabājot patērētāju iecienītās kūpināto šprotu tradicionālās garšas, krāsas un smaržas īpašības, vienlaikus nodrošinot arī pienācīgu patērētāju veselības aizsardzību.

Pašreizējais Eiropas Komisijas projekts paredz, ka arī pēc 2014. gada 1. janvāra BaP pieļaujamā norma šprotēs paliks līdzšinējā līmenī, kas ir $5 \mu\text{g kg}^{-1}$, bet pārējiem kūpinātu zivju produktiem tā tiks samazināta vairāk nekā divas reizes, t.i., līdz $2 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Kopš BaP tiek uzskatīts par nepiemērotu marķieri citiem PAO (1.6. tabula), kas ir ar mazāku molekulu masu, un, tā kā daudzi no PAO ir audzēju veicinātāji, ir nepieciešama papildu informācija, lai izvērtētu, vai šīs vielas var darboties kā audzēju veicinātājs pēc orālas lietošanas [50].

15 prioritāro PAO ķīmiskās struktūras un to saīsinājumi [26]

Savienojums	Saīsinājums	Formula
Benzo(a)antracēns	BaA	
Krizēns	CHR	
Benzo(k)fluorantēns	BkF	
Benzo(b)fluorantēns	BbF	
Benzo(a)pirēns	BaP	
Dibenzo(a,h)antracēns	DahA	
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	IcdP	
Benzo(g,h,i)perilēns	BghiP	
5-Metilkrizēns	5-MCHR	
Ciklopenta(c,d)pirēns	CPP	
Benzo(j)fluorantēns	BjF	
Dibenzo(a,e)pirēns	DaeP	
Dibenzo(a,h)pirēns	DahP	
Dibenzo(a,l)pirēns	DalP	
Dibenzo(a,i)pirēns	DaiP	

Kopš 2005. gada vienotā FAO/WHO ekspertu komiteja pārtikas piedevu jautājumos (JECFA) uzskata, ka benzo(c)fluorēnu arī vajag iekļaut prioritāro PAO sarakstā, jo tas tiek uzskatīts par genotoksisku [51], un tad šī PAO grupa pazīstama kā 15+1 ES prioritārie PAO. Daudzās publikācijās benzo(c)fluorēns tiek pieminēts kā sešpadsmitais prioritārais PAO, un to būtu jāiekļauj visu valstu monitoringa programmās.

1.4. Piesārņojums ar policikliskajiem aromātiskajiem ogļūdeņražiem pārtikas produktos

Pārtikas produkti var tikt piesārņoti no apkārtējās vides PAO, kas ir gaisā, augsnē vai ūdenī, no rūpnieciskās pārtikas pārstrādes procesiem, no ēdiena gatavošanas procesiem mājās [52]. PAO var veidoties arī dabīgā procesā, piemēram, karbonizēšanās procesā [13].

PAO var rasties pārtikas produktu termiskajā apstrādē (skat. 1.7. tabulu). Pētījumos ar taukiem un ogļhidrātiem ir pierādīts, ka optimālās temperatūras šo savienojumu veidošanai ir 500 – 700 °C. PAO rodas, žāvētavu dūmiem nonākot uz kūpināto produktu virsmas. Produktu kūpināšana ir viens no vecākajiem produktu sagatavošanas tehnoloģijas veidiem, kuru cilvēce ir izmantojusi vismaz 90 000 gadus. Kopš tiem laikiem kūpināšana tiek plaši lietota ne tikai garšas uzlabošanai, bet arī, lai samazinātu enzīmu un mikroorganismu iedarbību [53]. Sākotnējais iemesls kūpināšanai bija pasargāt pārtikas produktus, daļēji no izžūšanas un daļēji no antimikrobioloģisko sastāvdaļu pievienošanas. Šobrīd kūpināšanu izmanto, lai uzlabotu garšu [54].

1.7. tabula

Kūpināšanas temperatūras ietekme uz BaP saturu produktā [52]

Kūpināšanas metode	Paraugu skaits	Benzo(a)pirēna masas koncentrācija, $\mu\text{g kg}^{-1}$			
		Mediāna	Vidējā	Percentīle ₉₅	Maksimālā
Aukstā kūpināšana (<35 °C)	176	0,05	0,14	0,51	1,6
Siltā kūpināšana (35 – 50 °C)	63	0,10	0,27	1,20	1,7
Karstā kūpināšana (>50 °C)	340	0,10	0,47	1,40	15,0

Mediāna ir vidējais punkts sadalījumam, kur puse rādītāji ir virs un puse ir zem vidējā punkta. Percentīle ir vērtība, zem kuras 95 % vērtību ir ārpus robežām.

Temperatūras paaugstināšana kūpināšanā būtiski ietekmē BaP saturu. 1.7. tabulā redzams, ka, izmantojot karsto kūpināšanu, gan vidējā, gan maksimālā BaP koncentrācija ir ievērojami augstāka.

Mūsdienās kūpināšanas tehnoloģijās gaļas produktu aromatizācijai lielākoties izmanto speciālas dažādas aktīvu komponentu piedevas. Novērots, ka, izmantojot karstās kūpināšanas tehnoloģijas, veidojas daudz augstāks PAO saturs nekā izmantojot auksto kūpināšanu. PAO augstākais saturs novērots kūpinātos pārtikas produktos tūlīt pēc kūpināšanas beigām, un tas

nedaudz samazinās, PAO sadaloties un mijiedarbojoties ar klātesošajiem komponentiem. Tomēr PAO iekļūst dziļāk pārtikas produktos, kur tie ir aizsargāti no gaismas un skābekļa, un pēc kāda laika to saturs nostabilizējas līdz noteiktam lielumam. Samērā jauna alternatīva metode tradicionālajai kūpināšanai ir kūpināšanas šķīdumu izmantošana. Mūsdienās kūpināšanas šķīdumi tiek plaši ražoti un izmantoti ar neskaitāmām garšas un smaržas variācijām cietā un šķidrā veidā. Tie iegūti dažādos veidos, bet pamatbāze dažādām modifikācijām ir identiska – koksnes pirolīzes produktu izmantošana [53].

Modernās krāsns dūmus laiž caur atdalīšanas kamerām, tos attīrot ar dažādiem paņēmieniem, piemēram, ar elektrostatiskajiem filtriem, dūmu mazgāšanu (1.8. tabula). Kontrolējot svarīgākos parametrus (temperatūru, mitrumu un dūmu koncentrāciju, cirkulācijas ātrumu), var samazināt PAO veidošanos [55].

1.8. tabula

BaP saturs atkarībā no dūmu rašanās veida [52]

Dūmu ģenerēšanas veids	Paraugu skaits	Benzo(a)pirēna masas koncentrācija, $\mu\text{g kg}^{-1}$			
		Mediāna	Vidējā	Percentile 95	Maksimālā
Sadegot zāģu skaidām	411	0,05	0,20	0,70	3,50
Sadegot malkai vai šķeldām	55	0,10	0,47	1,80	5,90
Kvēlojot	1	-	0,05	-	-
Izmantojot mitras zāģu skaidas	1	-	0,05	-	-
Kūpināšanas šķīdumu izmantošana	9	0,03	0,06	-	0,30
Kūpināšanas šķīdumu izsmidzināšana	2	-	0,22	-	0,38
Krāsns ar dabasgāzi, pievienojot dižskābārdi	5	-	0,15	-	0,22
Izmantojot pārkarsētu tvaiku	6	-	2,61	-	14,11

Kopā pētījumā [52] ir izvērtēti 490 paraugi. Kā redzams no 1.8. tabulas datiem, izmantojot karsētu tvaiku, ir novērojams augsts BaP saturs. Lielākais paraugu skaits kūpināts, izmantojot zāģu skaidas un malku vai šķeldas. Sadegot zāģu skaidām, BaP masa koncentrācija ir gandrīz uz pusi mazāka nekā tad, ja dūmi tiek iegūti, sadegot malkai vai šķeldām. Izmantojot pārkarsētu tvaiku, arī BaP saturs ir pietiekami augsts. Piemēram, izmantojot kūpināšanas šķīdumu, BaP saturs ir ievērojami zemāks. Eksperimentus, kur ir tikai viens mērījumu rezultāts, nevar izvērtēt, tam būtu nepieciešami papildus pētījumi.

Izmantojot klasisko kūpināšanas tehnoloģiju, dažādu fizikālo un ķīmisko procesu rezultātā dūmu sastāvā esošās vielas piesaistās kūpināmā produkta virsmai. Rezultātā kūpinātie produkti

iegūst raksturīgu garšu un smaržu. Tomēr dažām dūmu sastāvā esošajām ķīmiskām vielām (PAO, fenolam, formaldehīdam) piemīt toksiskas īpašības. Palielināts šo vielu saturs kūpinātajos produktos negatīvi ietekmē cilvēka veselību [10].

Kaut arī PAO veidošanās process ir ļoti sarežģīts, tā pamatā ir brīvo radikāļu reakcijas. Brīvie radikāļi, kas sastāv no viena vai vairākiem atomiem un kas veidojas, termiski sabrūkot ogļūdeņražu molekulām augstā temperatūrā, var visai viegli kombinēties, veidojot cikliskas struktūras, kuras raksturo augsta termodinamiska stabilitāte. Šo reakciju norisi pasivē skābekļa klātbūtne [18].

Cepšana uz pannas vai uz atklātas liesmas, grilēšana un grauздēšana nav nozīmīgs PAO piesārņotājs pārtikas produktos [36]. PAO saturs tika pārbaudīts dažādiem zivju un gaļas paraugiem, kas grilēti uz ģeometriski dažādām restēm. Izstrādājumos, kas sagatavoti uz horizontālā tipa restēm, PAO saturs bija 10 – 30 reizes augstāks nekā paraugos, kas sagatavoti uz vertikālā tipa restēm, jo nenotiek tauku pilēšana uz karsēšanas avota [3, 56]. Tāpēc pārtikas produktu grilēšanai ieteicams izmantot vertikālo grilu [50].

Eksperimentāli ir pierādīts, ka, grilējot gaļu virs kokogļēm, rodas gandrīz desmitkārt vairāk šo savienojumu nekā gatavojot to virs gāzes liesmas [18]. Cepot gaļu uz restēm, izmantojot kokogles un tām pievienojot zāģskaidas, būtiski palielinās BaP daudzums [36].

PAO veidošanos gaļā grilēšanas laikā ietekmē tas, kāds attālums ir starp pārtikas produktu un karstuma avotu, pagatavošanas ilgums un temperatūra, kā arī tauku saturs produktā. Nav īsti skaidra korelācija starp tauku saturu paraugā un PAO daudzumu pēc cepšanas uz restēm [36]. Vidējais PAO daudzums uz kokogles pagatavotajā gaļā, kas atradās 15 cm attālumā no karstuma avota, bija 3 – 10 reizes lielāks nekā tad, ja attālums ir 40 cm no karstuma avota [3, 12, 13].

Augu eļļas un tauki ir svarīgs PAO avots, ko mēs lietojam uzturā. Eļļas tiek lietotas arī margarīnu ražošanā, kas savukārt tiek pievienots, pagatavojot cepumus un kūkas [57].

Nozīmīgi PAO daudzumi atrasti daudzās augu eļļās, piemēram, saulespuķu, vīnogu sēklu, olīveļļās u.c. Augstākais PAO saturs ir spiedpalieku eļļām. To iespējamā rašanās ir spiedpalieku kaltēšanas procesā, gadījumā, ja šis produkts nonāk saskarsmē ar ķīmiskajām vielām, kas radušās sadegšanas rezultātā, un spiedpalieku pakļaušana piesārņošanai no apkārtējās vides ar smogu.

Augu eļļu piesārņojums ar PAO notiek dažādos tehnoloģijas procesos, kas ir saistīti ar eļļas izejvielu apžāvēšanu un eļļas spiešanu augstās temperatūrās [44, 50, 58, 59]. Piesārņojums ar PAO augu eļļās (ieskaitot arī olīvu spiedpalieku eļļu) bieži notiek tieši tehnoloģisko procesu laikā, kur sadegšanas produkti nonāk tiešā kontaktā ar eļļu sēklām vai eļļu [50].

Ir noskaidrots, ka augu eļļām galvenie piesārņojuma avoti ir:

- dabiskais piesārņojums no augiem, kas savukārt PAO uzņem no gaisa;
- augu materiālu žāvēšana ar dūmiem pirms eļļas izspiešanas.

Kā PAO piesārņojuma avoti tiek minēti arī redifūzija no otrreizējās pārstrādes polietilēna pudelēm, ko izmanto eļļu iepakojumā [60]. Nevar izslēgt arī PAO biosintētisko izcelsmi augos [61].

PAO saturu eļļās iespējams samazināt, piemēram, rafinēšanas procesa laikā, kā arī filtrēšanas procesā, izmantojot aktīvo ogli [62]. Dezodorēšanas process šķiet mazliet ietekmē augstmolekulāro PAO saturu un aizvāc lielākoties zemmolekulāros PAO [63]. Deodorizācija balstās uz destilāciju paaugstinātā temperatūrā. Tās laikā ir iespējams samazināt daļu „vieglo” PAO (naftalēnu, acenaftalēnu, acenapftēnu, fluorēnu, penantrēnu, antracēnu, fluorantēnu un pirēnu) pat vairāk kā par 90 %, jo tie ir viegli gaistoši, turpretim benzo(a)antracēns un krizēns samazinājās tikai par 50 % un „smagie” PAO (benzo(b)fluorantēns, benzo(k)fluorantēns, benzo(a)pirēns, dibenzo(a,h)antracēns, benzo(g,h,i)perilēns, indeno(1,2,3-c,d)pirēns palika praktiski neizmainītā līmenī [62].

Gadījumos, kad PAO ir konstatēti pārtikas produktos, jāanalizē to ražošanas un apstrādes metodes [59]. Pārtikas produkti var tikt piesārņoti no apkārtējās vides – gaisa (nogulsņējoties), augsnes (pārvietojoties) un ūdens (nogulsņējoties un pārvietojoties). PAO var pārvietoties pa gaisu arī tvaika fāzē un pielipt smalkajām daļiņām, ar kurām nogulsņējas uz labības, sevišķi uz labības, kas aug plašos laukos. Zivju un jūras bezmugurkaulnieku saindēšana ar PAO notiek, nogulsņējoties un pārvietojoties PAO. Augsts PAO saturs ir moluskos (gliemji un austeres), kas barojas, filtrējot lielus daudzumus ūdens. Zivis, kas barojas jūras dibenā, un bezmugurkaulnieki, kas barojas, caur sevi sūknējot ūdeni, ir sugas, kuras ļoti uzņēmīgas pret piesārņotājiem. Lai vai kā divvārstu moluski filtrē caur sevi lielus daudzumus ūdens un tiem ir zema metabolītu spēja pret PAO, tādā veidā šie savienojumi sliecas pastāvēt tieši bezmugurkaulniekos [64]. Pastāv iespēja, ka pārtikas produktu piesārņošana ar PAO notiek no iesaiņojamā materiāla migrācijas ceļā [65]. PAO var piesārņot pārtikas produktus karsēšanas un žāvēšanas procesu laikā, kad sadegšanas produkti var nonākt tiešā saskarē [44]. PAO saturs ceptas zivs ādā ir daudz lielāks nekā zivs gaļā, un tas liek domāt, ka zivs ādu var izmantot kā barjeru PAO migrēšanai uz audiem [23].

Pārtikas produktu izejvielas parasti satur ļoti zemas BaP koncentrācijas. Tieši pārtikas produktu pārstrādes process (žāvēšana, kūpināšana, grilēšana un cepšana) ir galvenais BaP rašanās avots. Kūpinātā gaļā un zivīs BaP saturs var sasniegt pat $200 \mu\text{g kg}^{-1}$. Turpretī neapstrādātos produktos jeb izejvielās BaP fona līmenis ir intervālā no 0,01 līdz $1 \mu\text{g kg}^{-1}$. Nepieciešams atzīmēt, ka arī vides piesārņojums dažkārt būtiski ietekmē PAO saturu pārtikas produktos. Benzo(a)pirēna saturs kviešos lauku rajonos ir konstatēts diapazonā no 0,19 līdz $0,34 \mu\text{g kg}^{-1}$, bet rūpnieciskajos rajonos tas sasniedz 0,72 līdz $3,5 \mu\text{g kg}^{-1}$. Līdzīga tendence ir vērojama arī dažādos augļos, kuros BaP saturs svārstās no 0,2 līdz $0,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ lauku rajonos līdz pat 30 – $60 \mu\text{g kg}^{-1}$ rūpnīcu tuvumā. Tiek uzskatīts, ka ar graudaugiem un eļļu cilvēks uzņem līdz 80 % no kopējā PAO daudzuma [58].

Augstākais PAO saturs ir konstatēts grilētā gaļā, kūpinātās zivīs, gliemežos no piesārņotiem

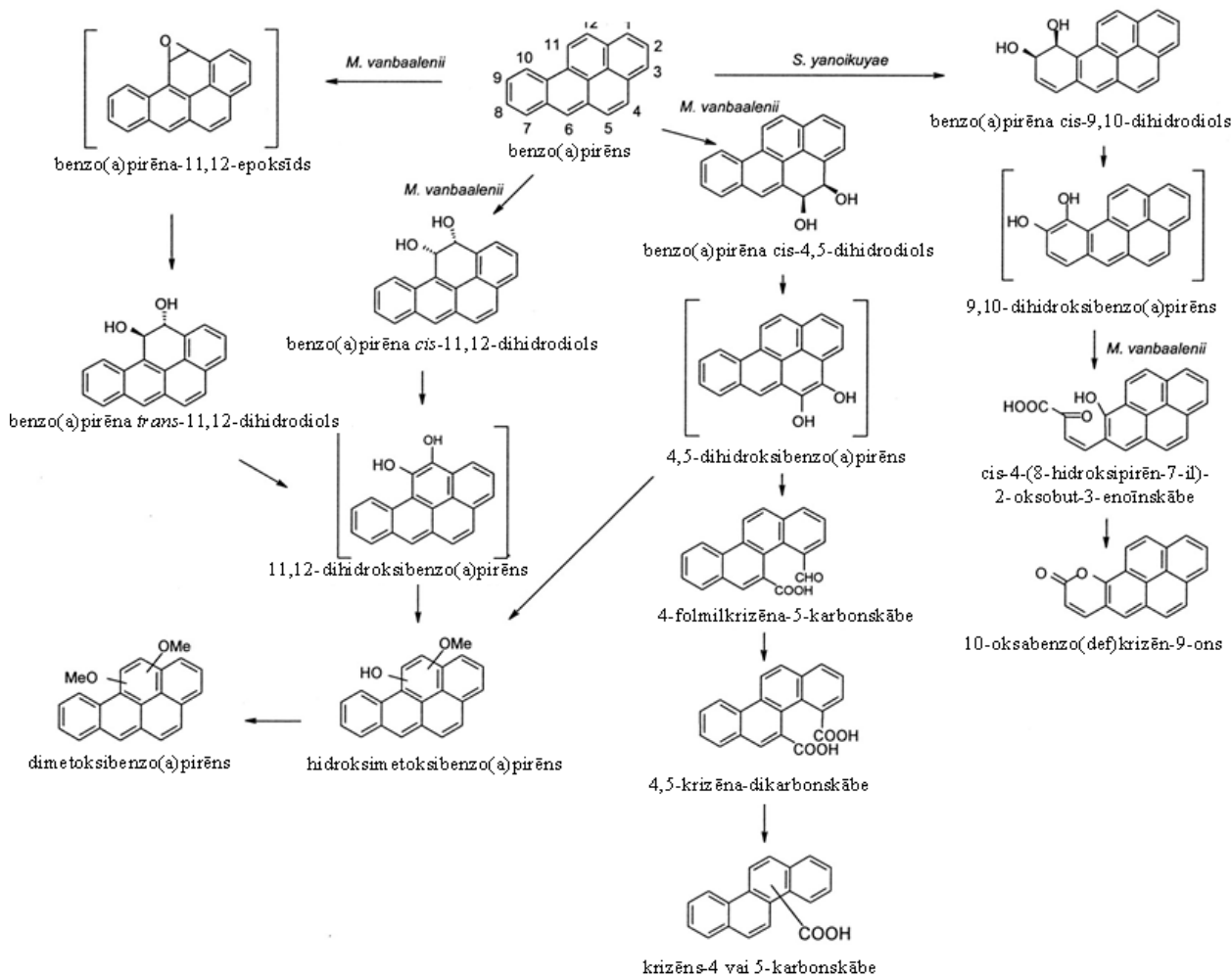
ūdeņiem un augos, kas auguši ļoti piesārņotos reģionos [66]. Gaļā, pienā, mājputnu gaļā un olās PAO saturs ir fona līmenī [13].

Literatūrā atrodama ļoti atšķirīga informācija par PAO saturu, kas daļēji izskaidrojams ar dažādu noteikšanas metožu izmantošanu. Tomēr galvenais atšķirību iemesls ir dažādas kūpināšanas tehnoloģijas:

- pārtikas sagatavošanas jeb apstrādes laiks;
- kūpināšanai izmantotās koksnes (skaidu) veids un sastāvs;
- attālums līdz karsēšanas avotam;
- pagatavošanas veids (grilēšana, karsēšana, kūpināšana);
- dūmu ģeneratora padeves veids;
- ģeneratora tips;
- skābekļa saturs kūpināšanas laikā;
- dūmu ģeneratora temperatūra [18, 56, 57].

1.5. Policiklisko aromātisko ogleņūdeņražu satura samazināšanas veidi

Fotolīze un mikrobiālā degradācija ir galvenie procesi PAO samazināšanā (1.4. attēls) [67, 68]. PAO sadalīšanos ietekmē arī sākotnējais PAO līmenis, vides pH, temperatūra, skābekļa daudzums un gaismas viļņa garums [69]. Svarīgi ir atzīmēt, ka BaP veidošanās temperatūrā, kas ir zemāka par 340 – 400 °C, ir nenozīmīga, kas arī tika pierādīts eksperimentāli. Tāpēc pārtikas produktu apstrāde, kas ir saistīta ar siltuma pārnesei (cepšana, apstrāde ar mikroviļņiem, elektriskā cepšana), neizsauc BaP veidošanos.



1.4. att. Benzo(a)pirēna mikrobiālā (*M.vanbaalenii* *PYR-1*) degradācija. Savienojumi iekavās ir hipotētiski starpprodukti

Lai samazinātu dažādu kaitīgo vielu klātbūtni, ir jānovērš pārtikas produktu tiešais kontakts ar dūmiem. Var minēt sekojošas metodes BaP daudzuma samazināšanai pārtikas produktos:

- dūmu veidošanās temperatūras uzturēšana zem 400 °C;
- filtru novietošana starp dūmu ģeneratoru un pārtikas produktiem ar mērķi aizkavēt cietās daļiņas;
- produktu ietīšana materiālā, kas aizkavē PAO nokļūšanu uz produkta virsmas;
- kūpināšanas ilguma samazināšana [10];
- izvairīšanās no tauku pilēšanas uz karstuma avota;
- palielināt distanci starp pārtikas produktu un karstuma avotu;
- samazināt pārtikas produkta kontaktu ar sadegšanas gāzēm;
- aizstāt tiešo kūpināšanu ar netiešo kūpināšanu;
- izvairīties no sēkļu žāvēšanas, meklējot kādu alternatīvāku žāvēšanas paņēmieni;

- nomazgājot un nomizojot dārzeņus un augļus pirms lietošanas uzturā [3]. Piemēram, mazgājot salātus ar ūdeni, būtiski samazinās BaP, BaA, BghiP no 68 % līdz 87 % [23].

Citu valstu pētījumos ir pierādīts, ka papeles skaidu izmantošana palielina BaP saturu kūpinājumos salīdzinājumā ar ozola, ķiršu vai bērza koksnes lietošanu. PAO daudzuma samazināšanās nolūkos kūpināšanai ieteicams izmantot cietākas koksnes šķirnes. Lietojot sausās skaidas, BaP koncentrācija produktā palielinās augstākas dūmu veidošanās temperatūras dēļ.

Iepriekšējos gados Latvijā veikto pētījumu rezultāti liecina, ka vairākiem ražotājiem nepieciešams rūpīgāk pievērsties kūpināšanas tehnoloģiju uzlabošanai. Ražošanas tehnoloģiju pilnveidošana un tehnoloģisko iekārtu modernizācija neapšaubāmi prasa lielus materiālo resursu ieguldījumus. Taču uzņēmumiem nepieciešams veikt attiecīgus pasākumus, kas ļautu samazināt BaP līmeni ražotajā produkcijā, tādējādi nodrošinot patērētājus ar pārtiku, kas satur minimālu BaP saturu. Arī lauku kūpinājumu ražotājiem, smēķētājiem un rūpniecisko preču ražotājiem jāveic viss iespējamais, lai pasargātu gan sevi, gan apkārtējos no šī piesārņojuma riska [10].

Eļļu atkrāsošanas process, kurā tiek izmantota aktīvā ogle un māli, būtiski samazina PAO līmeni eļļās [70]. Nav skaidrs, vai rafinēšanas procesa laikā efektīvi tiek atdalīti visi attiecīgie PAO [44].

Molusku skalošana ar tīru ūdeni ir maznozīmīga PAO satura samazināšanā [13].

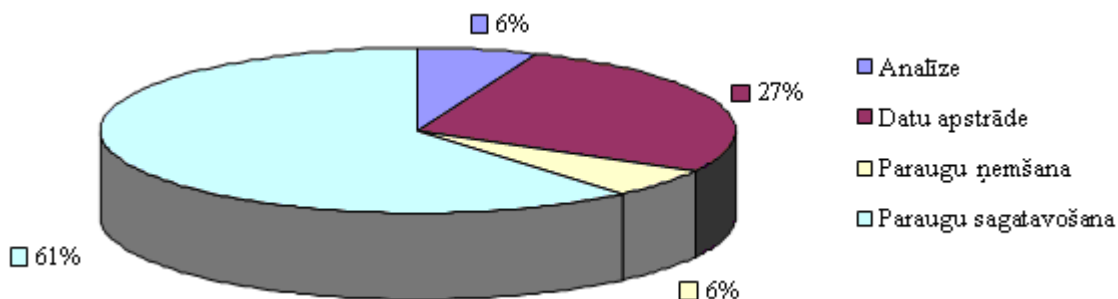
Tādas garšvielas kā ķiploks, rozmarīns un salvija ir dabīgie antioksidanti, kas bloķē PAO veidošanos cepšanas laikā. Cepšanai iesaka izmantot olīveļļu, jo fenola rindas savienojumiem, kas ir olīveļļā, arī piemīt antioksidatīvas īpašības [71].

1.6. Pārtikas paraugu sagatavošana analīzēm

Visas bioanalītiskās metodes ietver dažādus etapus. Vispirms alikvota parauga ņemšana, tālāk seko ekstrakcijas procedūras un parauga attīrīšana, hromatogrāfiskā analīze un detektēšana. Paraugu pagatavošana aizņem aptuveni 80 % no kopējā analīzes laika [72].

PAO noteikšanas metodi parasti izvēlas atkarībā no pieejamās aparatūras un references materiāliem. Parasti PAO saturs pārtikas produktos ir daži $\mu\text{g kg}^{-1}$, tāpēc paraugu sagatavošana analīzei ir sarežģīta. Nosakot PAO pārtikas produktos, ekstrakcijas un attīrīšanas metodes mainās atkarībā no parauga matricas. PAO no gaļas, zivīm un to produktiem ekstrahē, apstrādājot paraugu ar kālija hidroksīdu un metanolu vai etanolu. Tad veic šķidrums – šķidrums ekstrakciju ar nepolāriem šķīdinātājiem, atdalīšanu ar tādiem šķīdinātājiem kā DMF vai DMSO – ūdens, kam seko reekstrācija ar cikloheksānu. Augu eļļas un dzīvnieku taukus izšķīdina nepolārā šķīdinātājā, un atdalīšanu veic ar acetnitrilu, DMF vai DMSO. PAO graudaugos un plantāciju produktos, tas ir,

kafijā, tējā un šķīstošajā kafijā ekstrahē ar nepolāru šķīdinātāju, un ekstrakciju intensificē ar ultraskaņas palīdzību. Kafijas novārījumu un tējas uzlējumu atšķaida ar metanolu un koncentrē, tad attīra ar cietfāžu ekstrakcijas C18 kolonnām. PAO no lapu augiem, piemēram, salātiem, ekstrahē ar toluolu [3, 47].

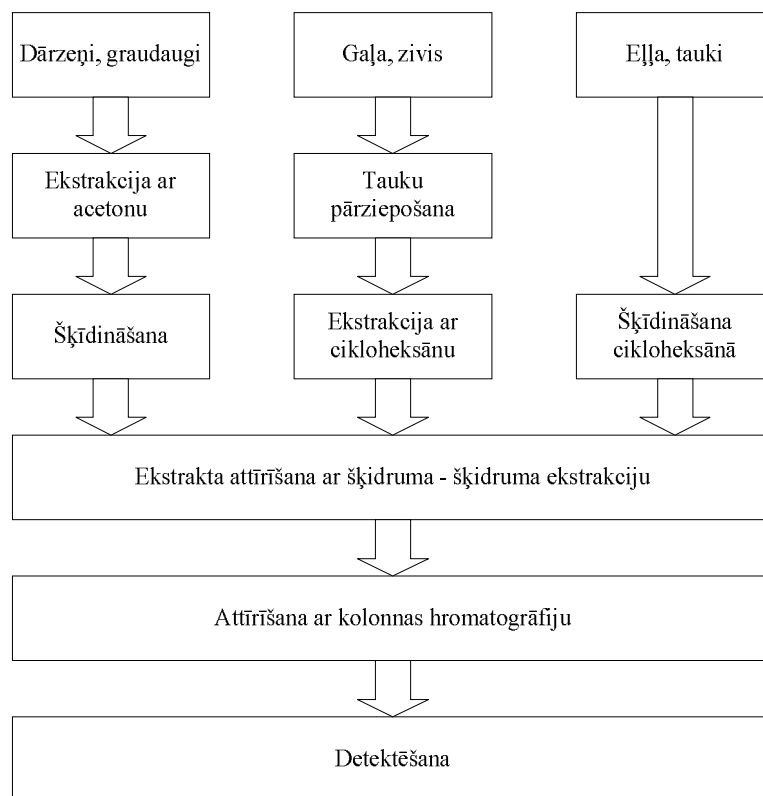


1.5.att. Relatīvās kļūdas iespējamība paraugu pagatavošanas procesā

1.5. attēls parāda relatīvās kļūdas katrā analītiskās metodes posmā. Paraugu sagatavošana uzrāda 61 % relatīvās kļūdas, tādēļ ir ļoti svarīgi kontrolēt etapus, kas ietver ekstrakciju un attīrīšanu. Metodes izvēle ir kompromisa rezultāts starp efektivitāti un ekstrakcijas reproducējamību, atvieglotu procedūru, domājot par izmaksām, laiku, automatizācijas līmeni un drošību [73].

PAO dabā atrodas sarežģītu maisījumu veidā, un to noteikšanai ir nepieciešams izmantot efektīvas sarežģītu maisījumu sadalīšanas metodes. Analīzes procesā ir nepieciešams veikt vairāku traucējošo vielu (tauku, augu un dzīvnieku sterīnu) atdalīšanu un PAO koncentrēšanu [10]. Lielākā daļa produktu nav homogēni, un tāpēc nepieciešams tos pirms analīzes homogenizēt [74].

Mūsdienās PAO noteikšanai tiek izmantotas daudzveidīgas analīzes metodei, un atšķirīgo matricu dēļ līdz ar to nepieciešama dažāda paraugu apstrāde, lai sasniegtu pēc iespējas augstāku selektivitāti. Vispārīgo paraugu sagatavošanas shēmu var aplūkot 1.6. attēlā.



1.6. att. Tradicionālā paraugu sagatavošanas shēma

Potenciālie PAO zudumi paraugu pagatavošanas gaitā var rasties homogenizācijas, ekstrakcijas un attīrīšanas procesā. Arī ilgstoša paraugu uzglabāšana pirms analīzēm nav ieteicama, jo daži PAO var reaģēt ar parauga matricu [52]. Jāizvairās no tādu plastmasu kā polipropilēna vai teflona (PTFE) lietošanas, jo PAO var adsorbēties uz šiem materiāliem [75].

Vairums analītisko metožu, kas aprakstītas literatūrā, sastāv no vairākiem posmiem, un tie ir ekstrakcija, hidrolīze, attīrīšana, koncentrēšana, identifikācija un kvantificēšana. Klasiskais variants, kā atdalīt PAO no taukainiem produktiem, ir pārziapošana ar sārmainu spirta šķīdumu. Nākamais paraugu sagatavošanas etaps ir PAO saturošo frakciju ekstrakcija un atdalīšana no lipīdiem un citām traucējošām vielām, kuras ir izšķīdušas tajā pašā šķīdinātājā, kurā šķīdināts PAO [74].

Zemo PAO līmeņu dēļ ekstrakcijas un attīrīšanas procesi ir kritiskie soļi paraugu sagatavošanā. Svarīgi, lai paraugi nebūtu saskarsmē ar tabakas dūmiem, tiešiem saules stariem, paaugstinātām temperatūrām to glabāšanas un sagatavošanas laikā, jo pārziapošanas laikā PAO var daļēji sadalīties. Iesaka homogenizēto paraugu sajaukt ar hloroformu un bezūdens Na_2SO_4 , lai atdalītu ūdeni no ekstrakta [12, 76]. Visu paraugu sagatavošanas mērķis ir atdalīt triglicerīdus vai citus traucējošos savienojumus, kas var ietekmēt turpmāko analīzi [65].

No analītiskā skatu punkta raugoties, gaļa un tās produkcija, kā arī zivju produkcija sagādā īpašas rūpes ar daudzu un dažādu traucējošo vielu klātbūtni. PAO identificēšanu sarežģī tādu

komponentu kā proteīnu, lipīdu un līdzīgu PAO savienojumu, piemēram, azarēnu, aminoazarēnu u.c., klātbūtne [74]. Lipīdu grupa sastāv no dažādiem lipīdiem – neitrāliem lipīdiem, brīvajām taukskābēm, fosfolipīdiem, keramīdiem u.c., kas aptver plašu polaritātes apgabalu. Lipīdi parasti nepastāv brīvā formā, bet gan iekļaujas matricā [77]. Šī iemesla dēļ pirmais analīzes solis ir detektējamo savienojumu veiksmīga atdalīšana no šīs matricas. Vairākums metožu parauga pārziapošanai izmanto sārma hidrolīzi, kas, atkarībā no parauga, parasti ilgst 2 – 4 h (liesi paraugi aizņem mazāk laika nekā taukus saturošie). KOH pievienošana tiek rekomendēta pirms PAO ekstrakcijas ar nepolāru šķīdinātāju, lai fenolus pārvērstu polārā, neekstrahējamā formā [78]. BaP saturošo lipīdu frakciju pārziapošanai un tauku ekstrakcijai no produktiem kā alternatīvu metodi sārma hidrolīzei piedāvā ekstrakciju mikroviļņu laukā [79]. Tauku pārziapošanas etaps var tikt izlaists tādām matricām kā, piemēram, eļļa un tauki. Šāda veida produkti tiek izšķīdināti organiskajā šķīdinātājā (BaP labi šķīst dihlormetānā, heksānā, pentānā, cikloheksānā un acetonā [80], tomēr visbiežāk tiek izmantots cikloheksāns), gaļas un zivju produkcija tiek šķīdināta pēc hidrolīzes sarmā. Tauku un eļļu ekstrakcijā par efektīvu daži autori atzinuši šķīdinātāju maisījumu, piemēram, hlороforms – metanols (2/1) [66].

Veicot ekstrakciju ar nepolāriem šķīdinātājiem (heksānu, ēteri vai CO₂), var atdalīt neitrālos lipīdus, piemēram, esterus, taukskābes un acilglicerīnu. Sarežģītākiem un vairāk polāriem lipīdiem nepieciešami polārāki šķīdinātāji kā, piemēram, metanols vai acetonitrils [77].

1.7. Ekstrakcijas un paraugu attīrīšanas metodes

Mūsdienās ir daudz dažādu ekstrakcijas veidu, no kuriem ir iespēja izvēlēties piemērotāko. Piemēram, 1.9. tabulā ir apkopoti ekstrakcijas veidi, ko var izmantot PAO noteikšanai.

Šķidrums – šķidrums ekstrakcijā visbiežāk tiek izmantots DMF vai DMSO ūdens šķīdums (9/1) [56]. PAO tiek ekstrahēti ūdens šķīdumā, tādā veidā atbrīvojoties no daudzām traucējošām vielām, kas paliek organiskajā šķīdinātājā. Pēc tam veic PAO ekstrakciju cikloheksānā, atšķaidot DMSO vai DMF ar ūdeni. Ekstrakcijai tiek izmantots arī kofeīna-skudrskābes maisījums PAO koncentrēšanai. Pēc ekstrakcijas kompleksu sadala ar 2 % NaCl ūdens šķīdumu, PAO ekstrahē ar cikloheksānu [62]. PAO koncentrēšanai lieto arī koncentrētu sērskābi, kuru pievieno heksāna šķīdumam, spēcīgi kratot. Atmet heksāna slāni, un sērskābes ekstraktu vēl divas reizes attīra ar heksānu. PAO ekstrakciju heksānā veic, sērskābei pievienojot 5 % Na₂SO₄ ūdens šķīdumu. Ir izpētīts, ka PAO koncentrētā sērskābē ir stabils ne vairāk kā pusstundu. Pirms ekstrakcijas veikšanas heksāna šķīdumam jābūt ledus aukstam [66].

Ekstrakcijas veidi policiklisko aromātisko ogļūdeņražu analīzēm [30; 73; 77; 81; 82; 83; 84; 85; 86; 87; 88; 89; 90]

Ekstrakcijas veids / Parametri	Parauga daudzums, g vai mL	Šķīdinātājs	Šķīdinātāja daudzums, mL	Temperatūra, °C	Spiediens, bar	Ekstrakcijas laiks, min	Matricas	Piezīmes
Cietfāžu ekstrakcija	50-250	heksāns/dihlormetāns; toluols/metanols; dihlormetāns	5-50	istabas	atmosfēras	30-120	ūdens	
Cietfāžu mikroekstrakcija	18			30-60	atmosfēras	6-70	ūdens	dažām ekstrakcijām pievienots NaCl; ātra, vienkārša un ērta, automatizēta
Šķidrās fāzes mikroekstrakcija	3 līdz 15	toluols; acetonitrils/ūdens 40/60	0,003		atmosfēras	20-30	ūdens	
Ultraskaņas ekstrakcija	10	dihlormetāns, cikloheksāns, dihlormetāns/metanols 2/1, acetons, 2-propanols, metanols, acetonitrils, 40% acetona šķīdums ūdenī	150-200	istabas	atmosfēras	30-60		
Klasiskā Soksleta ekstrakcija	10 - 100	dihlormetāns/cikloheksāns, dihlormetāns/acetons, heksāns, metanols	75-500			105-2880	zīvis, augsne, skujuas	liels organisko šķīdinātāju patēriņš; vienā sērijā var analizēt līdz 6 paraugiem; automatizēta
Modificētā (automatizētā) Soksleta ekstrakcija			50-100			60-240		
Šķidrums-šķidrums ekstrakcija	250-300	DMF, DMSO, dihlormetāns, heksāns	70-90	istabas	atmosfēras	10	ūdens	laikietilpīga
Paatrinātā šķīdinātāja ekstrakcija	1 līdz 7	dihlormetāns/acetons, heksāns, metanols, cikloheksāns/acetons 90/10 un 30/70, heksāns/acetons 90/10 un 40/60, cikloheksāns	5-200	20-250	50-250	5 līdz 18	augšne, skujuas	samazina ekstrakcijas laiku; patērē mazākus daudzumus šķīdinātāju; automatizēta
Gēlfiltrācijas ekstrakcija		cikloheksāns/etilacetāts	5 mL/min	istabas	atmosfēras	60		
Mikroviļņu ekstrakcija	1 līdz 12	heksāns, dihlormetāns, acetonitrils, acetons, heksāns/acetons 1/1	25-50	35-145	1 līdz 5	5-60		samazina ekstrakcijas laiku; patērē mazākus daudzumus šķīdinātāju; paredzēta dažādiem paraugiem
Superkritiskā un subkritiskā šķidrums ekstrakcija		šķidrums CO ₂ , cikloheksāns/acetons 1/1, heksāns/acetons 1/1, dihlormetāns, ūdens		31-372	74-405			CO ₂ izvēlēts, jo tam ir zemas kritiskās konstantes (31,1°C pie 7,38 Mpa), zemas izmaksas, netoksiskas dabas un viegli lietojams
Dispersīvā šķidrums-šķidrums ekstrakcija	5 līdz 10	disperseri - acetons, metanols, acetonitrils; ekstraktanti - hlorobenzols, oglekļa tetrahlorīds, tetrahloretilēns	0,008	istabas	atmosfēras	dažas sekundes	ūdens	nav nepieciešami lieli šķīdinātāju daudzumi, ātrs pagatavošanas laiks;
Jonu šķidrumu dispersīvā šķidrums-šķidrums ekstrakcija	10	[C ₈ mim][PF ₆]	0,05	istabas	atmosfēras	2	ūdens	izmanto jonu šķidrumu (1-oktil-3-metilimidazolija heksafluorofosātu)

Tradicionālajās ekstrakcijas metodēs, tādās kā Soksleta aparātā un ekstrakcijā ultraskaņas klātienē, izmanto dihlormetānu vai cikloheksānu. Pēdējos gados parādījušās jaunas ekstrakcijas metodes – superkritiskā šķīdinātāja ekstrakcija, subkritiskā ūdens ekstrakcija, mikroviļņu ekstrakcija un paātrinātā šķīdinātāja ekstrakcija [91]. Superkritiskajā šķīdinātāju ekstrakcijā izmanto šķidru oglekļa dioksīdu, ar ko var panākt selektīvāku ekstrakciju zemmolekulārajiem PAO no kūpinātām zivīm [3]. Aprakstīta ir Soksleta un ultraskaņas lietošanas ekstrakcija, bet paātrinātā šķīdinātāju ekstrakcija uz „Dionex” firmas iekārtas uzrāda labākas īpašības.

Lai koncentrētu organiskās vielas no ūdens šķīdumiem, plaši izmanto šķidrums-šķidrums ekstrakciju, cietfāžu ekstrakciju, membrānu ekstrakciju, elektroķīmisko nogulsnešanu un citas metodes. Viena no praktiskākajām metodēm ir cietfāžu ekstrakcija, tā neprasa īpašu aprīkojumu un tā nodrošina augstu koncentrēšanas efektivitāti [92]. Ir iespējami arī cietfāzes ekstrakcijas un cietfāzes mikroekstrakcijas veidi, nosakot PAO ūdens paraugos ar augsti efektīvās šķidrums hromatogrāfijas (AEŠH) un gāzu hromatogrāfijas (GH) metodēm [3]. Ekstrakts, kas iegūts ekstrakcijas posmā, satur vēl nelielus daudzumus matricas, kas var traucēt tālākajā analītiskajā noteikšanā. Šā iemesla dēļ tiek veiktas dažādas attīrīšanas procedūras, piemēram, cietfāžu ekstrakcija (CFE) vai gēlfiltrācijas hromatogrāfija [3, 93]. Visplašāk izmanto cietfāzes ekstrakciju kolonnu hromatogrāfiju [3]. Agrāk šāda veida ekstrakciju veica ar kolonnām, kas bija pildītas ar dažādiem materiāliem. Tā kā tas ir darbietilpīgs process, kolonnas tika aizvietotas ar dažādu sorbentu kārtidžiem, piemēram, C18, silikagels [94, 95], florisils, neitrāls alumīnija oksīds [96], XAD-2 [93], *Sephadex LH-20* [97] u.c. Bez tam, cietfāzes ekstrakcijas kolonnas ne tikai samazina analīzes laiku, bet arī samazina šķīdinātāju daudzumus. Attīrīšana ar cietfāzes ekstrakcijas kolonnām atšķiras atkarībā no to sorbenta un šķīdinātāja. Parasti cietfāzes ekstrakcijas kolonna tiek aktivēta ar šķīdinātāju, kurā ir izšķīdināti PAO. Tad caur kolonnu tiek izlaists pats paraugs, un kolonna vēl tiek papildus skalota ar šķīdinātāju [74]. Attiecībā uz tauku izdalīšanu un attīrīšanu, visbiežāk lietotā metode ir hromatogrāfiskā attīrīšana ar silikagela un/vai alumīnija oksīda stikla kolonnām. Tikpat daudz ir izmantota saliktā cietfāžu ekstrakcija (viens kārtidžs virs otra) ar silikagela, alumīnija oksīda vai magnija silikāta florisila kārtidžiem [25, 64].

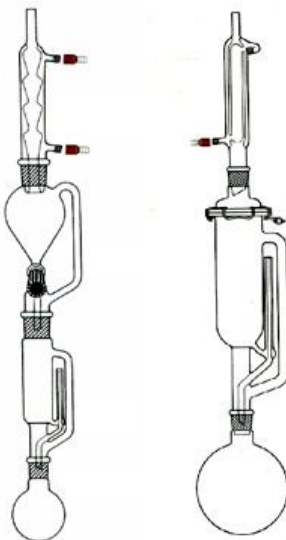
Aktīvā ogle tiek lietota daudzos sorbcijas procesos, lai atdalītu hidrofobos savienojumus no gāzēm un no šķidrās fāzes, pateicoties ogles lielajam virsmas laukumam un poru tilpumam. Aktīvā ogle ir lielisks selektīvs adsorbents, jo PAO ir ļoti hidrofobi savienojumi, salīdzinot ar nejonogēnām virsmas aktīvām vielām. Turklāt aktīvai oglei ir daudz poras ar dažādiem ieejas izmēriem, kas var selektīvi atdalīt virsmas aktīvo vielu monomērus. Mikroporas, kurām ir līdzīgi poru izmēri ar PAO izmēriem, var sorbēt tikai šos savienojumus [2, 98]. Aktīvā ogle tik labi sorbē PAO, ka tos neizdodas reekstrahēt no ogles.

Jaunākajām ekstrakcijas metodēm nepieciešams papildus aprīkojums un iekārtas, un, tā kā mūsu laboratorijā šādu iekārtu nav, tad pētījumiem izmantojām ekstrakcijas metodes, kas ir pieejamas „BIOR” laboratorijā (šķidruma – šķidruma ekstrakcija un CFE). Šķidruma ekstrakcija paaugstinātā spiedienā (angļu val. *pressurized liquid extraction (PLE)*) aizņem 40 min, ieskaitot visus ekstrakcijas etapus, savukārt Soksleta ekstrakcija aizņem 20 h [85].

Pārtikas analīzēs klasiskās paraugu sagatavošanas metodes ir laikietilpīgas, un tajās nepieciešami lieli daudzumi reaģentu, kas ir dārgi, rada ievērojamus atkritumu apjomus un var piesārņot paraugu. Šķidruma-šķidruma ekstrakcija ir īpaši laikietilpīga. Superkritiskā šķidruma ekstrakcija jau tiek lietota daudzus gadus gaistošo savienojumu ekstrakcijai. Metode ir līdzīga Soksleta ekstrakcijai, bet kā šķīdinātājs tiek lietots superkritiskais šķidrums, proti, viela, kas pārsniedz kritisko temperatūru un spiedienu, un šķidrums iegūst labākās gāzes un šķidruma īpašības: superkritiskais šķidrums difundē caur cietu vielu kā gāze, bet izšķīdina analizējamo vielu kā šķidrums [77].

1.7.1. Soksleta ekstrakcija

Soksleta ekstrakcijas pamatprincips ir tāds, ka cietu paraugu ievieto ekstrakcijas uzgalī, tad tiek veikta ekstrakcija ar attiecīgu šķīdinātāju, izmantojot atteces ciklu (1.7. attēls). Šķīdinātājs tiek uzvārīts, un tvaiks pārvietojas uz kondensatoru, kur tas kondensējas un pil atpakaļ uz šķīdinātāja kapsulu. Lielākais mīnuss šai ekstrakcijas metodei ir liels šķīdinātāju patēriņš, kā arī metodes laikietilpība un darbietilpība [86].



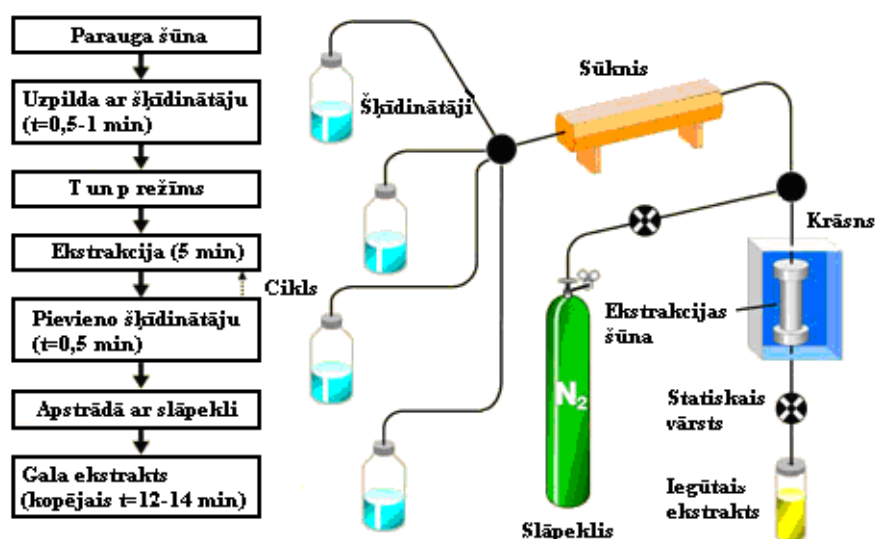
1.7. att. Soksleta aparātu shematisks attēlojums [99]

1.7.2. Ultraskaņas ekstrakcija

Ultraskaņas maisīšana jeb apstrāde ar ultraskaņu ir metode, kurā tiek izmantota ultraskaņas viļņu akustiskā enerģija ar minimālo biežumu 20 kHz šķīdumā, kas izraisa ātru saspiešanu un šķīdinātāja kustību, kā rezultātā rodas kavitācijas parādība, tas ir, notiek mikroburbulīšu veidošanās un sabrukšana. Paraugs tiek ievietots ultraskaņas vannā. Ultraskaņas ekstrakcija ir labāka par Soksleta ekstrakciju, jo tā nodrošina augstāku ekstrakcijas efektivitāti; tā ir arī daudz ekonomiskāka, un ar to ir vieglāk darboties. Ar jaudas amplitūdu un ultraskaņas apstrādes ilgumu jābūt uzmanīgam un jākontrolē šie parametri, jo PAO ekstrakcijas laikā var sadalīties [86].

1.7.3. Paātrinātā šķīdinātāja ekstrakcija

Paātrinātā šķīdinātāja ekstrakcija jeb šķīdinātāja spiediena ekstrakcija ir pilnīgi jauna tehnoloģija, kur paaugstina šķīduma temperatūru virs tā viršanās punkta un saglabā to šķidrā veidā paaugstinātā spiedienā. Augstais spiediens sekmē gaisa burbulīšu šķīšanu, tā pakļaujot paraugu ekstrakcijai ar šķīdinātāju, vienlaikus palielinot uzkarstētā šķīdinātāja jaudu, piešķirot labāku šķīdību. Ekstrakcijas laikā organiskais šķīdinātājs tiek sūknēts uz ekstrakcijas šūnu, kurā ir analizējamais paraugs, vienlaicīgi palielinot spiedienu un temperatūru līdz vajadzīgajām vērtībām (metodē izvēlētām, uzstādītām). Pēc tam, kad ekstrakcija ir pabeigta, šūna tiek izpūsta ar slāpekli, lai attīrītu šūnu no atlikušā šķīdinātāja (skat.1.8. att.) [86].



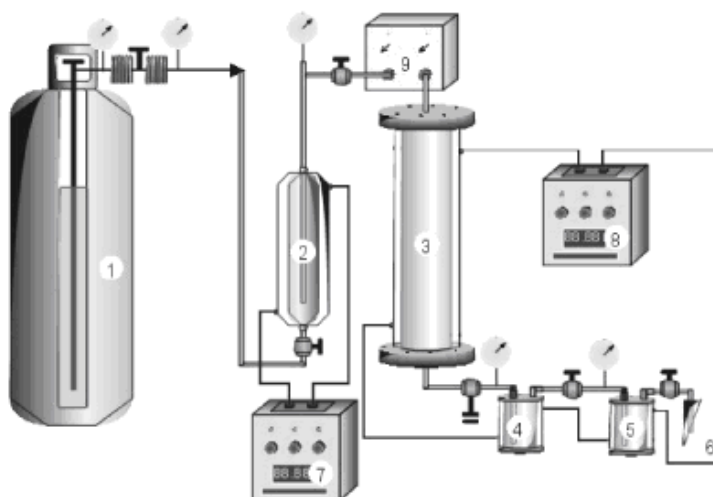
1.8. att. Paātrinātās šķīduma ekstrakcijas shēma

Paātrinātajā šķīdinātāja ekstrakcijā (PŠE) izmanto organiskos šķīdinātājus paaugstinātā temperatūrā (50 – 200 °C) un spiedienā (67 – 136 atm), ekstrahējot organiskos piesārņotājus no apkārtējās vides paraugiem. Šī attīrīšanas metode samazina ekstrakcijas ilgumu, un tiek patērēti

mazi daudzumi šķīdinātāja. Galvenie metodes maināmie parametri ir šķīdinātājs, temperatūra un laiks. Spiediens robežās no 67 – 136 atm nav tas kritiskākais metodes parametrs [64]. Palielinot spiedienu, šķīdinātāju viršanās temperatūra paaugstinās. Spiedienam palielinoties, šķīdinātājs var iekļūt dziļāk paraugā un tādējādi veicina analīta izdalīšanos no matricas porām. Palielinoties temperatūrai, analīta šķīdība palielinās un masas pārnese ir ātrāka. Paaugstinātās temperatūrās arī tiek vājinātas analīta parauga matricas saites: van der Valsa spēki, ūdeņraža saites un dipolu pievilkšanās. Papildus samazinās arī šķīdinātāja viskozitāte un virsmas spraigums. Lai arī šī metode ir daudzpusīga, tomēr tā pilnīgi nenodrošina gaistošo un daļēji gaistošo analītu zudumu riskus paraugu ekstrakcijas laikā [25, 64]. Paātrināto šķidrums ekstrakciju PAO noteikšanai var izmantot, lai aizvietotu Soksleta ekstrakciju, ultraskaņas ekstrakciju, vārīšanu jeb pārziemošanu un šķidrums – šķidrums ekstrakciju [89].

1.7.4. Superkritiskā un subkritiskā šķidrums ekstrakcija

Superkritiskā ekstrakcija eksponē nepārtraukti gan gāzveida, gan šķidrums fāzes īpašības. To fizikālās īpašības ietver šķidrums blīvumu, zemu viskozitāti, augstu difūziju un nulles virsmas spraigumu. Subkritiskā ūdens ekstrakcija vēl zināma kā karstā ūdens zemspiediena ekstrakcija. Ūdens viršanas temperatūra tiek paaugstināta no 100 °C uz 274 °C, palielinot spiedienu. Ūdeņraža saites ūdens molekulā tiek pavājinātas, kā rezultātā tiek samazināta dielektriskā konstante, un vienlaikus samazinās to polaritātes. Tādējādi starpstāvokļa ūdens kļūst vairāk hidrofobs un līdzīgāks organiskajiem šķīdinātājiem nekā parasts ūdens, un tas sekmē vieglo ogļūdeņražu šķīdību ūdenī. Atšķirībā no superkritiskās šķidrums ekstrakcijas, kur ekstrahē pārsvarā nepolārus organiskus savienojumus, ir pierādīts, ka subkritiskā šķidrums ekstrakcija ir piemērotāka polārākiem analītiem, tādējādi nodrošinot augstāku PAO ekstrakcijas efektivitāti. Subkritiskā šķidrums ekstrakcija oksidētāju klātienē (gaiss, skābeklis vai ūdeņraža peroksīds) nodrošina augstāku ekstrakcijas efektivitāti [86]. Iekārtu var aplūkot 1.9. attēlā.

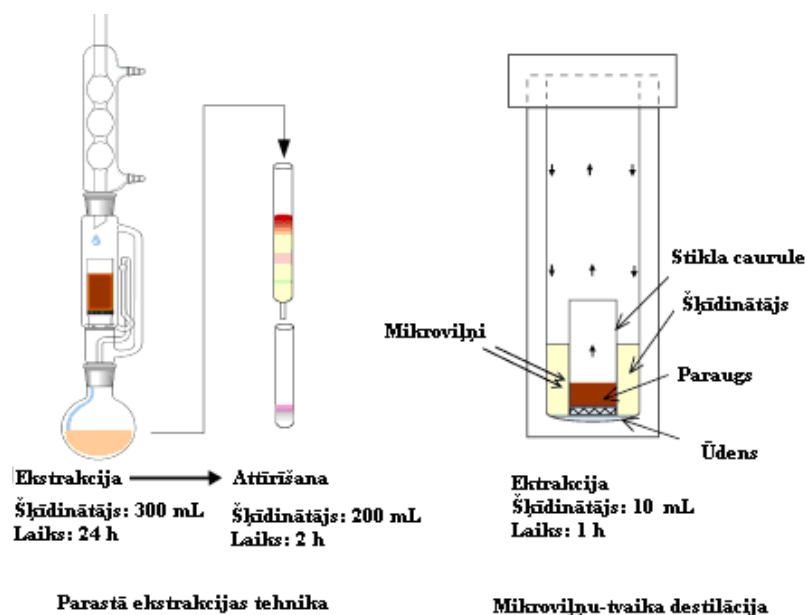


1.9. att. Superkritiskā un subkritiskā šķidruma ekstrakcijas iekārta.

1 – CO₂ balons; 2 – sajaukšanas tvertne; 3 – ekstraktors; 4,5 – atdalītāji; 6 – kolektors un gāzu savākšanas ierīce; 7,8 – termostatiskā vanna; 9 – izokrātiskais sūknis [100]

1.7.5. Mikroviļņu ekstrakcija

Mikroviļņu ekstrakcijas metodē gan šķīdinātājs, gan paraugs tiek pakļauti siltuma starojuma enerģijai, ko iegūst, izmantojot elektromagnētisko starojumu viļņu garuma diapazonā no 1 m līdz 1 mm, ar frekvencēm no 300 MHz līdz 300 GHz. Mikroviļņu starojumam ir dažas priekšrocības, salīdzinot ar citām karsēšanas metodēm, t.i., paraugi ātri uzsilst, ekstrakcijas ir viegli atkārtot un ir mazi enerģijas zudumi (1.10. att.). Galvenā priekšrocība mikroviļņu ekstrakcijai (ME) ir nelielais reaģentu un laika patēriņš. Salīdzinot ar superkritisko šķidruma ekstrakcija, arī izmaksas ir zemākas. Turklāt šis unikālais karsēšanas mehānisms sniedz selektīvu mijiedarbību starp polārām molekulām, kas ievērojami uzlabo PAO ekstrakcijas efektivitāti un ļauj izmantot kā polāros, tā nepolāros šķīdinātājus [86].



1.10. att. Mikroviļņu ekstrakcijas iekārtas salīdzinājums ar parasto ekstrakcijas metodi [101]

Mikroviļņu ekstrakcija ir piemērota tādu organisku savienojumu ekstrakcijai kā PAO, polihlorbifenili, pesticīdi un fenoli.

Pastāv divi mikroviļņu ekstrakcijas principi:

- Tiešā karsēšana, kur paraugs absorbē mikroviļņus, un tās procesā tiek pārnestas analizējamās vielas uz vēsu šķīdinātāju.
- Karsēšana ar polāru šķīdinātāju, līdz tiek sasniegta tā viršanas temperatūra, ekstrahējot analizējamās vielas uz karsto šķīdinātāju.

Ir pārbaudīta PAO stabilitāte mikroviļņu ekstrakcijas laikā, par šķīdinātāju izmantojot dihlorometānu, 30 W mikroviļņu jaudu, ekstrakcijas laiku 40 min. Degradācija un zudumi netika novēroti, un tas liecina, ka šo ekstrakcijas veidu droši var izmantot PAO noteikšanai [73].

1.7.6. Eksklūzijas hromatogrāfija

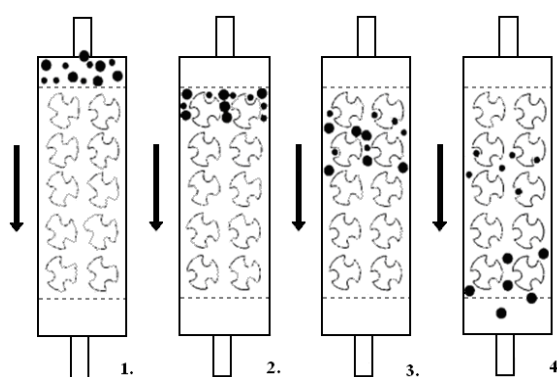
Eksklūzijas hromatogrāfija ir veids, ko sīkāk iedala:

- gēlcaurspiedības metodē, kur izmanto organiskos šķīdinātājus;
- gēlfiltrācijas metodē, kur izmanto ūdens šķīdumus.

Eksklūzijas hromatogrāfijā molekulas tiek atdalītas pēc to lieluma – atbilstoši molekulu masām. Lielākās molekulas izdalās agrāk, mazākās – vēlāk. Šī ir vislabākā metode tādu vielu atdalīšanai, kuru molekulu masas atšķiras vismaz par 10 % [102].

Eksklūzijas hromatogrāfijā polimērs tiek izšķīdināts atbilstošajā šķīdinātājā un iepildīts kolonnā, kurā ir ievietots porains materiāls ar noteiktu poru izmēru. Par eksklūzijas hromatogrāfijas

eluentu parasti izmanto to pašu šķīdinātāju, kurā ir izšķīdināts analizējamais paraugs. Tiklīdz paraugs sāk pārvietoties pa kolonnu, notiek tā sadalīšana frakcijās. Maza izmēra molekulas, kas var iekļūt stacionārās fāzes porās, izdalīsies no kolonnas vēlāk, kad poru un starpdaiņu šķīdinātāja tilpums izies caur kolonnu (~80 % no kolonnas tilpuma). Tajā pašā laikā liela izmēra molekulas, kuras nevar iekļūt dziļāk porās, „redz” tikai starpdaiņu tilpumu un kustas tikai pa to. Līdz ar to lielā izmēra molekulas eluēsies ātrāk nekā attiecīgais kustīgās fāzes tilpums (~35 % no kolonnas tilpuma) izies caur kolonnu. Līdz ar to eksklūzijas hromatogrāfijas princips ir tāds, ka daļiņas ar dažādu izmēru eluēsies no sistēmas dažādos laikos, bet viena izmēra daļiņas izdalīsies no kolonnas vienā laikā, ar nosacījumu, ka viss paraugs tiek uzņemts uz kolonnas vienlaicīgi (1.11. att.) [103, 104].



1.11. att. Eksklūzijas hromatogrāfijas princips: 1 – paraugs pirms ievadīšanas kolonnā; 2 – paraugs tiek ievests kolonnā; 3 – parauga sadalīšanas procesa sākums; 4 – parauga pilnīga sadalīšanās frakcijās

Katrā eksklūzijas hromatogrāfijas kolonnā var atdalīt tikai noteiktas masas molekulas. Eksklūzijas robežu nosaka augšējā molekulmasa, virs kuras molekulu izmēri jau ir tik lieli, ka tās nevar iekļūt stacionārajā fāzē. Iespējamās robežu nosaka minimālā molekulmasa, zem kuras molekulu izmēri ir tik mazi, ka tās vairs nesadalās pa frakcijām, bet visas kopā izdalās vienā laikā.

Metodes lielākā priekšrocība ir tāda, ka var labi atdalīt liela izmēra molekulas no mazām molekulām, izmantojot minimālu eluenta daudzumu, un vairums šķīdumu var tikt analizēti bez iepriekšējās filtrācijas. Metode bieži ir apvienota ar citām analīzes metodēm, kur pēc izmēra sadalītas molekulas analizē pēc citiem raksturlielumiem, piemēram, skābuma vai bāziskuma, lādiņa vai līdzības kādam noteiktam savienojumam. Izmantojot eksklūzijas hromatogrāfijas metodi, vielu izdalīšanas laiki ir īsi, turklāt hromatogrammā iegūst šauras joslas. Tā kā analizējamam paraugam nav mijiedarbības ar stacionāro fāzi, metodē nav parauga zudumu. Metodes trūkums ir tas, ka hromatogrammā var tikt pielāgots tikai ierobežots joslu daudzums [103].

1.7.7. Cietfāžu ekstrakcija

Cietfāžu ekstrakcija (CFE) ir viena no populārākajām paraugu priekšapstrādes metodēm, kas balstīta uz šķidrums hromatogrāfijas principiem [77]. Tā ir vielu atdalīšanas metode, ko izmanto atsevišķu vielu izdalīšanai no maisījuma, izmantojot to fizikālās un ķīmiskās īpašības. Analītiskajās laboratorijās cietfāzes ekstrakciju izmanto vielu koncentrēšanai un attīrīšanai. Cietfāzes ekstrakciju var izmantot, lai izolētu interesējošo vielu no plaša matricu spektra (piemēram, urīna, asinīm, dzērieniem, eļļas, augsnes u.c.) [105, 106, 107]. Mūsdienās CFE izmanto, pateicoties daudzām priekšrocībām: augsta atgūstamība, efektīva koncentrēšana, nepieciešami mazi daudzumi organisko šķīdinātāju, neveidojas emulsijas, ērti lietojama, lielākas automatizēšanas iespējas. CFE ir iespējams izmantot plašu sorbentu klāstu ar dažādām to īpašībām. Sorbenta izvēle ir galvenais faktors CFE, jo tādējādi var tikt kontrolēti tādi parametri kā selektivitāte un kapacitāte. Sorbenta izvēle ir atkarīga no pārtikas produkta matricas, no interesējošā analīta un no tās traucējošiem komponentiem. Alkilēts silikagels un polimēru apgrieztās fāzes sorbenti ir visplašāk lietotie sorbenti tieši CFE. Cits pielietojums ir izmantot dažādos CFE paraugu attīrīšanas principus, tostarp normālās fāzes un gēlfiltrāciju, afinitātes CFE, ierobežotas pieejamības sorbentus, jonu apmaiņas materiālus un jauktus sorbentus [77]. Rezultāti ir atkarīgi no parauga matricas un mijiedarbības starp sorbentu un analītu. CFE sorbenti ir diapazonā no ķīmiski saistīta silikagela ar C8 un C18 grupām līdz polimēru materiāliem, jauktie sorbentiem (satur nepolārus un stiprus katjonus vai anjonus), imunosorbentiem un monolītiem sorbentiem. Salīdzinot ar polimēru sorbentiem, silikagelam ir savi trūkumi. Tas ir nestabils plašā pH apgabalā un satur silanola grupas, kas var izraisīt neatgriezenisku dažādu grupu saistīšanos [72]. CFE metode ieteicama sarežģītiem polāriem un nepolāriem lipīdu komponentiem [77].

Neapstrādāts silikagels veiksmīgi tiek lietots kā nekustīgā fāze, pateicoties tam, ka tas spēj sorbēt taukus un citas traucējošas vielas un ļauj eluēt poliaromātisko frakciju ar dažiem mililitriem piemērotas kustīgās fāzes. Alkilsaistīta silikagela sorbenta īpašības atkarīgas no daudziem mainīgiem lielumiem, piemēram, virsmas laukuma, poru izmēra, poru struktūras un poru tilpuma. Pēdējā laikā tiek prezentēts specifiskāks sorbents, kas balstās uz selektīvāku mehānismu savstarpējās mijiedarbības laikā starp sorbenta π elektroniem un PAO, un to sauc par donora-akceptora komplekso hromatogrāfiju (DACC). PAO tiek sorbēti, pamatojoties uz spēcīgo π - π mijiedarbību, ja par mobilo fāzi tiek lietots π -elektronu nesaturošs šķīdinātājs. Pēc tam PAO eluē ar piemērotu šķīdinātāju, kas neitralizē π - π mijiedarbību [108].

Komerčiāli ir pieejamas dažāda izmēra kolonnas, un tās var saturēt dažādus sorbenta daudzumus (1.12. att.). Liela priekšrocība CFE metodei ir tāda, ka kolonnas ar nepieciešamajiem sorbentiem ir iespējams pagatavot pašiem, tādējādi ietaupot izmaksas.



1.12. att. Cietfāzes ekstrakcijas kolonnu daži piemēri

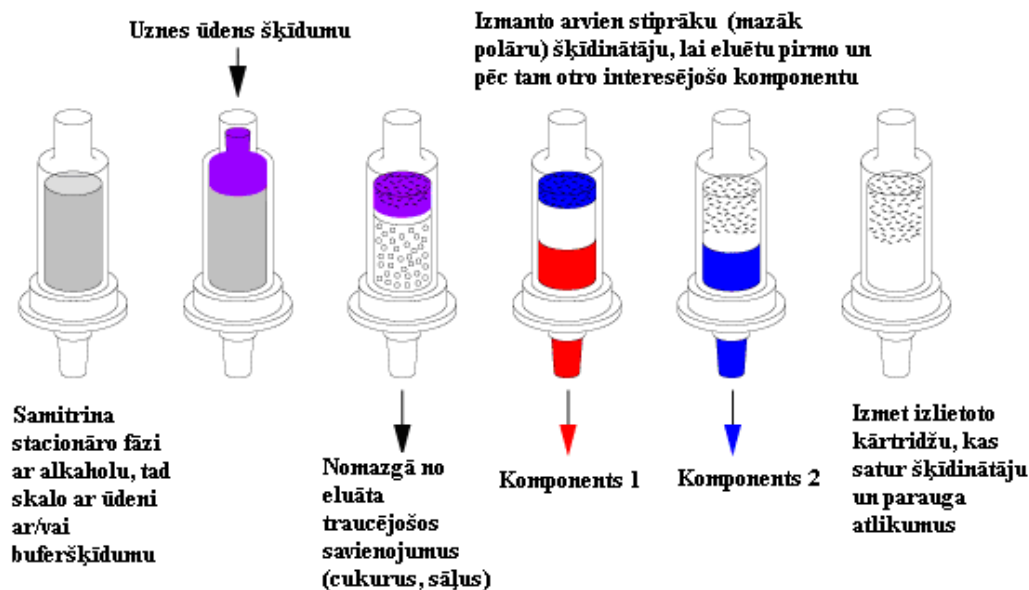
Kolonnas iestiprina speciālā paraugu turētājā – kolektorā (1.13. att.). Priekšrocība ir tāda, ka kolektorā var novietot uzreiz vairākas kolonnas un veikt vairāku paraugu analīzi vienlaikus. Daudzi CFE kolektori ir aprīkoti ar vakuuma uzturēšanas sistēmu [105, 106, 107].



1.13. att. Cietfāzes ekstrakcijas iekārta (kolektors)

Cietfāžu ekstrakcija ar silikagelu tiek veiksmīgi lietota pildīto hromatogrāfisko kolonnu vietā. Šī selektīvā metode ļauj izmantot plašu klāstu dažādu sorbentu un plaši izmantot dažādus ekstrakcijas nosacījumus, kas ļauj sasniegt vēlamu atdalīšanu. Turklāt CFE vajadzīgi mazi šķīdinātāju daudzumi un īsāks analīzes laiks. Pētījumi par PAO ekstrakciju no dažādām matricām, izmantojot C18 kārtidzūšus, rāda, ka šis sorbents ir efektīvs, attīrot ūdeni saturošus ekstraktus [47].

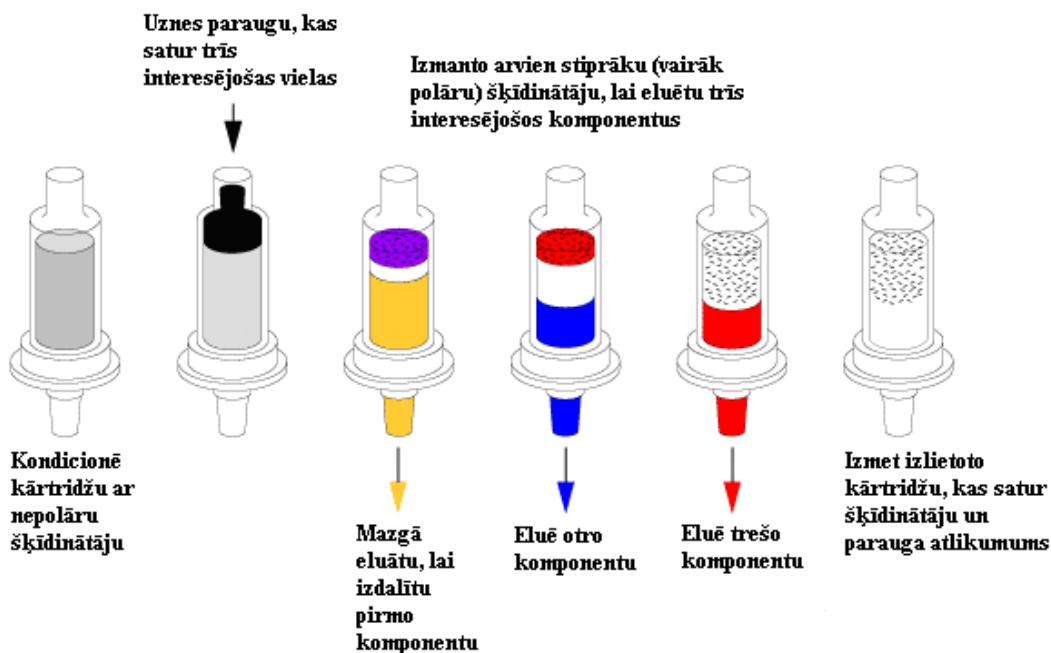
Apgrieztās fāzes (polāra šķidrā fāze, nepolāra cietā fāze) CFE analīti tiek atdalīti, balstoties uz to polaritāti. Apgrieztās fāzes CFE kolonnu stacionārā fāze tiek ražota, izmantojot materiālus ar oglekļa saistēm, kas sorbē vidēji polārus un vāji polārus savienojumus, pateicoties hidrofobajai mijiedarbībai. Analīti var tikt eluēti no kolonnas ar nepolāru šķīdinātāju, kas mazina analīta un nekustīgās fāzes mijiedarbību (1.14. att.).



1.14. att. Apgrieztās fāzes cietfāžu ekstrakcijas darbības princips [110]

Parasti izmanto silikagela stacionāro fāzi ar ogļūdeņražu fragmentiem kā funkcionālajām grupām. Tikai nepolāri vai vāji polāri savienojumi adsorbēsies uz sorbenta virsmas, balstoties uz nepolārām, hidrofobām mijiedarbībām (nepolārs-nepolārs mijiedarbība un van der Vālsa vai dispersijas spēki) [105, 111].

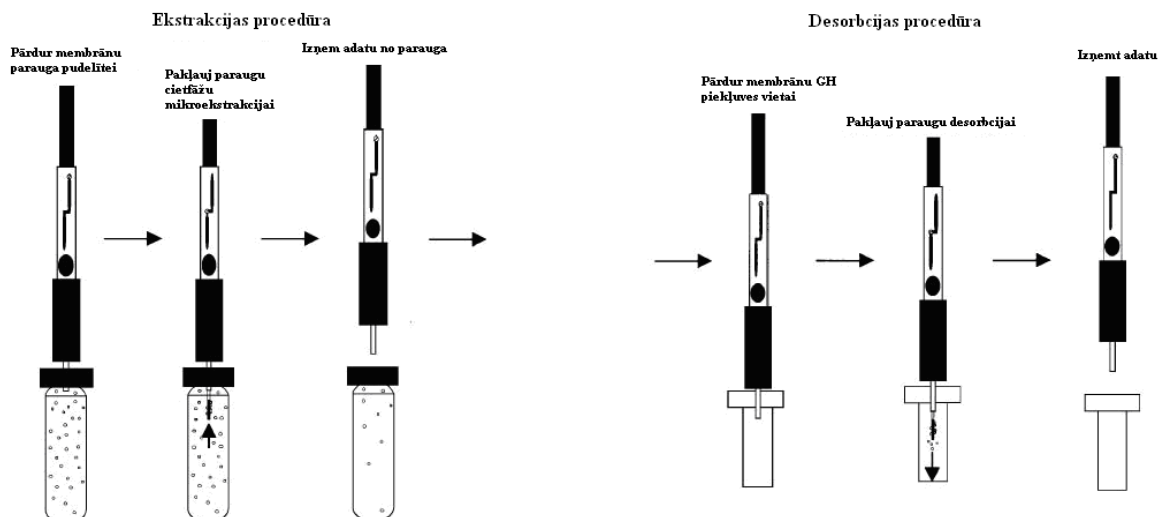
Tipiskā tiešās fāzes (nepolāra šķidrā fāze, polāra cietā fāze) CFE balstās uz četriem etapiem (1.15. att.). Pirmais etaps ir kolonnas aktivēšana ar nepolāro vai vāji polāro šķīdinātāju, kas samitrina sorbentu un aktivizē to. Nākamajā etapā caur kolonnu izlaiž analizējamā parauga šķīdinātāju, lai sagatavotu sorbenta virsmu analizējamajam paraugam, un tikai pēc tam uz kolonnas uznes analizējamo paraugu. Kamēr paraugs iziet caur stacionāro fāzi, analīti paraugā mijiedarbojas un sorbējas uz sorbenta, bet šķīdinātājs, sāļi un citi piemaisījumi iziet cauri kolonnai. Pēc tam, kad paraugs ir izlaists caur kolonnu, kolonnu mazgā ar parauga šķīdinātāju, lai izskalotu atlikušo daļu piemaisījumu. Analīti no kolonnas tiek eluēti ar atbilstošu nepolāro šķīdinātāju vai ar buferšķīdumu ar attiecīgo pH [105, 106].



1.15. att. Tiešās fāzes cietfāžu ekstrakcijas darbības princips [110]

Tiešās fāzes cietfāžu ekstrakcijas gadījumā hidroforās vienlaikus darbojas vairākas mijiedarbības – polārs-polārs iedarbība, ūdeņraža saites, π - π iedarbība, dipola-dipola iedarbība un dipola-inducētā dipola iedarbība.

Līdzīgi cietfāzes ekstrakcijai darbojas cietfāžu mikroekstrakcija, kas ir vienkārša, ātra, bez šķīdinātājiem un viegli automatizējama ekstrakcijas metode, lai ekstrahētu analītus no gāzes fāzes, šķidrums un cietām matricām. Cietfāžu mikroekstrakcija apvieno paraugu ņemšanu, ekstrakciju, koncentrēšanu un parauga ievadīšanu analītiskajā instrumentā vienā iekārtā (1.16. att.) [77]. Cietfāžu mikroekstrakciju izmanto vielu atdalīšanai gan gāzu hromatogrāfijā, gan šķidrums hromatogrāfijā. Gāzu hromatogrāfijai tiek izmantotas mazas šķiedru caurulītes, kas pārklātas ar sorbenta materiālu. Galvenokārt šī metode tiek lietota analītu ekstrakcijai, izmantojot termālo gāzes fāzes desorbciju, un šķidrās fāzes desorbcijai, šķidrums hromatogrāfijā vielu atdalīšanai. Cietfāžu mikroekstrakcija parasti tiek lietota gāzes fāzes un šķidrās fāzes ekstrakcijai.



1.16. att. Cietfāžu mikroekstrācija [109]

1.16. attēlā pa labi shematiski parādīts, kā tiek lietota mikroekstrākcijas metode šķidram paraugam. Savukārt kreisajā attēla pusē redzama procedūra parauga pārvešanai gāzes fāzē uz instrumentu. Šī metode ir vienkārša, viegli lietojama un tā samazina patērēto šķīdinātāju daudzumu.

Salīdzinot visas iepriekš aprakstītās ekstrākcijas un attīrīšanas metodes, par ērtāko un promocijas darba pētījumu veikšanai labāko tiek atzīta CFE, jo tā ir vienkārša, ar daudzām izmantošanas iespējām, atkarībā no sorbenta veida, un tai nav nepieciešamas sarežģītas iekārtas kā, piemēram, Soksleta ekstrākcijai un mikroviļņu ekstrākcijas metodei utt.

1.8. *QuEChERS* metode

QuEChERS metode (LVS EN 15662:2009 Augu izcelsmes pārtikas produkti. Pesticīdu atlikumu noteikšana ar GC/MS un/vai LC-MS/MS pēc to ekstrahēšanas/frakcionēšanas ar acetonitrilu un attīrīšanas ar dispersīvu SPE.), galvenokārt, tiek lietota pesticīdu noteikšanai pārtikas produktos, bet tā var tikt pielāgota arī citu savienojumu noteikšanai. *QuEChERS* ir vairāku vārdu saīsinājums, kas raksturo šo metodi (angļu val. *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe – QuEChERS*) [43]. Metode ir zināma kā ātra, vienkārša, lēta, efektīva, izturīga un droša. Metodei ir vairākas priekšrocības, salīdzinot ar tradicionālām pesticīdu analīzes metodēm. Tās ir:

1. metodes augstā atgūstamība (> 85 %) vairumam analizējamo pesticīdu;
2. metodes pareizība un precizitāte;
3. metode ir ātra, aptuveni 10 – 20 paraugi var tikt analizēti 30 – 40 min laikā;
4. mazi reaģentu un atkritumu daudzumi, kā arī netiek izmantoti hlorganiskie savienojumi, kas ir ļoti kaitīgi veselībai;

5. metodes veikšanai nav nepieciešama papildus apmācība;
6. nav nepieciešamas speciāli aprīkotas telpas analīzes veikšanai;
7. izmantotie reaģenti nav dārgi.

Metode ietver sevī analizējamā parauga ekstrakciju ar acetonitrilu, pievienojot kristālisku bezūdens (b/ū) magnija sulfātu un nātrija acetātu, kurai seko parauga attīrīšana ar dispersīvo cietfāzes ekstrakciju.

QuEChERS metode ir realizējama, sakratot 1 mL 1 % etiķskābes šķīduma acetonitrila, 0,4 g b/ū magnija sulfāta un 0,1 g b/ū nātrija acetāta uz 1 g mitra analizējamā parauga centrifūgas stobriņos. Tad analizējamo paraugu centrifugē un ekstrakta alikvota daļu pārnes plastmasas stobriņos, kas satur 50 mg primāro un sekundāro amīnu (PSA) maisījumu, 50 mg C18 sorbenta un 150 mg b/ū magnija sulfāta uz 1 mL ekstrakta (dispersīvā cietfāzes ekstrakcija). Paraugu stipri sakrata un centrifugē. Iegūtā ekstrakta daļu pārnes automātiskās parauga padeves pudeļu ieliktņos un veic gāzu hromatogrāfisko – masspektrometrisko analīzi [113].

Kopumā *QuEChERS* metodei ir divi galvenie etapi: ekstrakcija un dispersīvā CFE attīrīšana. Metodē izmanto vienkāršu buferēta acetonitrila ekstrakciju, bet vienlaikus saistot ūdeni no paraugiem ar bezūdens magnija sulfātu. Pēc alikvotas organiskā šķīduma daļas paņemšanas papildus attīrīšanai, dispersīvās CFE soli veic kombinācijā ar primārajiem un sekundārajiem amīniem (kas atdala organiskās skābes) un bezūdens magnija sulfātu (kas sorbē atlikušo ūdeni). Tiek izmantots arī tāds sorbents kā aktīvā ogle; to var lietot, lai atdalītu pigmentus un sterīnus. Var izmantot arī C18, lai atdalītu lipīdus un vaskus [114].

1.9. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu detektēšanas metodes

PAO kvantitatīvā analīze ir sarežģīts un ilgs process. PAO analītisko metožu pārskatu, kādas metodes tiek izmantotas, lai detektētu PAO zivju produkcijā, var apskatīt 2. pielikumā. Nav daudz literatūras par PAO noteikšanai lietotajām ekspresmetodēm. Viena no tām varētu būt superkritiskā šķīduma ekstrakcijas sistēma, kas savienota ar fluorescences detektoru. Šī metode ir attīstīta PAO noteikšanai augu eļļās. Vēl PAO selektīvi var ekstrahēt, izmantojot uzgali ar silikagelu, un attīrīt, pārejot uz savienoto C18 kolonnu. Kolonnu iztīra, atdalot oglekļa dioksīdu, un desorbētie PAO tiek analizēti ar fluorescences detektoru. Metode ļauj analizēt vairākus paraugus vienlaikus, un tā ir liela metodes priekšrocība.

BaP noteikšanai izmanto plānslāņa hromatogrāfiju. Tā ir lēta, analītiski ātri realizējama, bet tai ir zema atdalīšanas efektivitāte. Kvantificēšana šķīdumā tiek veikta ar spektrofotometriskajām vai spektrofluorometriskajām metodēm. Plānslāņa hromatogrāfijas – spektrofluorometrijas metodi

var salīdzināt ar augsti efektīvo šķidrums hromatogrāfijas (AEŠH) metodi, nosakot BaP. PAO analīzēm izmanto arī kapilāro superkritiskā šķīdinātāja hromatogrāfiju [3].

Senākās kvantitatīvās metodes balstās uz papīra hromatogrāfiju vai plānslāņa hromatogrāfiju [115]. Tām seko UV vai fluorescences spektrometrija, kuras pašlaik ir gandrīz pilnībā aizvietotas ar modernām metodēm: AEŠH-UV [94, 95], AEŠH-FLD [94, 95, 116, 117], GH-LJD, GH-MS [97], GH-MS-MS [70, 78, 115], GH-AIMS. Analītiskai noteikšanai parasti tiek izmantota augsti efektīvā šķidrums hromatogrāfija ar spektrofluorimetrisko detektoru vai gāzu hromatogrāfijas metode ar liesmas jonizācijas vai masspektrometrisko detektoru [58, 118, 119]. Tradicionālās paraugu sagatavošanas metodes policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanai ir sarežģītas un laikietilpīgas. Līdz ar to ir svarīgi atrast optimālu paraugu sagatavošanas metodi, ko varētu izmantot rutīnas analīzēs.

PAO mikroaudzumos var analizēt ar AEŠH, gāzu hromatogrāfiju (GH) un gāzu hromatogrāfiju – masspektrometriju (GH-MS). GH metode ietver liesmas jonizācijas detektoru un kausētās kapilārās silikagela kolonnas vai pildītās kolonnas, tādas kā 3 % *OV-17* vai *Chromosorb W-AW* vai ekvivalentas. Nešaubīgi PAO var sorbēties uz GH kolonnas. Šī problēma nav novērojama AEŠH apgrieztās fāzes kolonnas analīzēs, izmantojot UV un fluorescences detektorus [16]. Lai vai kā, acenaftilēns, kas ir viens no 16 PAO, kuri iekļauti EPA sarakstā, nefluorescē, un tāpēc vispiemērotākā metode tā noteikšanai ir GC-MS [120]. Katrai metodei ir savas priekšrocības un trūkumi. PAO noteikšanai izmantotās iekārtas un kolonnu parametri apkopoti 1.10. tabulā.

Izolējot, identificējot un kvantitatīvi nosakot PAO no sarežģītas matricas nākas saskarties ar trīs galvenajām problēmām:

- vairums PAO sastopami pārtikā mikro- vai ultramikroaudzumu līmenī, t.i., $\mu\text{g kg}^{-1}$ vai ng kg^{-1} līmenī, kas apgrūtina selektīvu atdalīšanu;
- daudzi citi organiskie savienojumi ekstrahējas kopā ar PAO un apgrūtina PAO hromatogrāfisko identifikāciju;
- PAO ir vielas ar līdzīgu struktūru, un tiem ir daudz izomēru, kas arī apgrūtina individuālo PAO identificēšanu [125].

PAO var noteikt, izmantojot vairākas hromatogrāfiskās metodes ar dažādiem detektoriem. To jutība, analīzes laiks, izšķirtspēja u.c. parametri ir ļoti atšķirīgi atkarība no izmantojamā detektora. Detektēšanas robeža variē no $0,2 \text{ ng kg}^{-1}$ līdz $1 \mu\text{g kg}^{-1}$. Īpaša problēma ar lielām LOD vērtībām pastāv ciklopenta(c,d)pirēnam [52]. Salīdzinot vairākas hromatogrāfijas metodes, kā ātrāko no tām var izmantot AEŠH-FLD, bet tai ir detektēšanas problēmas atsevišķiem PAO, kuri nav fluorescējoši (1.11. tabula).

PAO detektēšanas iekārtu biežāk lietotās kolonnas, kustīgās fāzes un analīzes laiki [48; 82; 87; 121; 122; 123; 124]

Parametri Iekārtas	Kolonnas	Kolonnas temperatūra, °C	Kustīgās fāzes	Analīzes laiks, min
GH-MS	<i>Agilent J&W DB-EUPAH</i> 20 m × 0,18 mm, 0,14 μm augstas efektivitātes GH kolonna; <i>HP-5</i> (5% fenil metil siloksāns), 30 m × 0,25 mm, slānītis 0,25 μm; <i>Rxi-17</i> kolonna 30 m × 0,25 mm, 0,25 μm; <i>VF-5</i> kapilārā kolonna 30 m × 0,25 mm, 0,25 μm; <i>Equity-5</i> 30 m × 0,25 mm, 0,5 μm; <i>Zebron ZB-50</i> 30 m × 0,25 mm × 0,25 μm.	280 - 325	hēlijs	28 min ar <i>DB-EUPAH</i>
GH-MS-MS	<i>Zebron ZB-50</i> 30 m × 0,25 mm × 0,25 μm.	250	hēlijs	
AEŠH-MS	<i>Zorbax Eclipse PAH</i> 150 mm × 4,6 mm, daļiņu izmērs 5 μm; <i>Rapid Resolution</i> kolonna <i>PN 959993-918</i> 100 mm × 4,6 mm, daļiņu izmērs 3,5 μm; <i>Rapid Resolution HT</i> kolonna <i>PN 959961-918</i> 50 mm × 2,1 mm, daļiņu izmērs 1,8 μm; <i>PAH 79925PA-583</i> 250 mm × 3,0 mm, daļiņu izmērs 5 μm.	25	ūdens/acetoniātrils	42
AEŠH-MS-MS	<i>Zorbax Eclipse PAH</i> 50 mm × 2,1 mm, daļiņu izmērs 1,8 μm.	20	ūdens/acetoniātrils	
AEŠH-UV	<i>Varian pursuit 3 PAH</i> 100 × 4,6 mm; <i>Grace Vydac 201TP54</i> , apgrieztā fāze C18, 250 × 4,6 mm, daļiņu izmērs 5 μm.	20	ūdens/acetoniātrils	
AEŠH-FLD	<i>Waters PAH C18</i> 250 mm × 4,6 mm, daļiņu izmērs 5 μm; <i>LiChroCART 250-4 LiChrosper PAH</i> 5 μm; <i>Restek Pinnacle II PAH</i> 4 μm 150 × 4,6 mm.	35	ūdens/acetoniātrils	30
AEŠH-NL-MS	C8 apgrieztās fāzes kolonna 100 mm × 2,1 mm, daļiņu izmērs 1,7 μm.	35	ūdens (0,01% NH ₄ OH)/metanols (0,01% NH ₄ OH)	15
UEŠH-MS-MS	C18 apgrieztās fāze kolonna 100 mm × 2,1 mm, daļiņu izmērs 1,7 μm.	20	acetoniātrils/5mM amonija acetāta šķīdums (15:85), 0,2 mL min ⁻¹	
UEŠH-ĶJAS-NL-MS	<i>Waters Acquity UPLC BEH-C18</i> 50 mm × 2,1 mm, daļiņu izmērs 5 μm.	30	metanols/ūdens (10 mmol L ⁻¹ skudrskābe)	
UEŠH-FJAS-MS	<i>Zorbax Eclipse PAH 600Bar</i> 2,1 mm × 50 mm, daļiņu izmērs 1,8 μm. Priekškolonna <i>Acquit VanGuard BEH C18</i> , 2,1 mm × 5 mm, daļiņu izmērs 1,7 μm.	15	ūdens/acetoniātrils 90:10/acetoniātrils	15
UEŠH-ĶJAS-MS	Apgrieztās fāzes C8-modificēta silikagela kolonna, 250 mm × 4,6 mm, daļiņu izmērs 3 μm.	20	0,5 % etiķskābe ūdenī/acetoniātrils, 8mL min ⁻¹	

Visbiežāk tiek izmantota GH-MS, jo tai ir augsta jutība un selektivitāte, analizējot PAO ar maziem vielu daudzumiem. Daži autori apgalvo, ka AEŠH-FLD ir daudz selektīvāka metode, jo tā var izšķirt fluorescējošos PAO izomērus, pretēji GH-MS, jo hromatogrammās daži PAO var dot vienu hromatogrāfisko smaili. Izmantojot AEŠH ar UV diodes detektoru, kas savienots ar fluorescences detektoru, tiek uzlabota noteikšanas robeža savienojumiem ar zemu fluorescences intensitāti, samazinot analīzes laiku. GH-AIMS ir ļoti jutīga metode ar augstu izšķirtspēju, kas ir ļoti būtiski, analizējot PAO un ņemot vērā to līdzīgās relatīvās molekulas un izdalīšanās laikus. Trūkums ir ļoti augstās iekārtas izmaksas un iekārtas sarežģītība [126, 127, 128].

1.11. tabula

PAO detektēšanas iekārtu priekšrocības un trūkumi

Iekārta	Priekšrocības	Trūkumi
GH-MS	MS noteikšanas iespējas (analīze 16 ES PAO). Augsta jutība. Izmantot <i>DB-EUPAH</i> kolonnu iesaka, ja nepieciešams atdalīt benzo(b,j,k)fluorantēna izomērus.	Atdalīšanas efektivitāte (starp PAO un blakus savienojumiem). Dažu savienojumu zemā gaistamība. Ar <i>DB-5MS</i> kolonnu nevar atdalīt benzo(b,j,k)fluorantēna izomērus. Dārgas deiterētās standartvielas.
GH-AIMS	Augsta jutība. Augsta izšķirtspēja.	Augstas iekārtas izmaksas. Nepieciešams ļoti kvalificēts operators.
AEŠH-MS	Izmantojot <i>Rapid Resolution</i> un <i>Rapid Resolution HT</i> kolonnas samazinās analīzes laiks, saglabājot izšķirtspēju.	Ne tik augsta atdalīšanas efektivitāte. Ilgs analīzes laiks.
AEŠH-FLD	Atdalīšanas efektivitāte. Augsta jutība. Minimāli traucējumi; daudz jutīgāks par AEŠH-UV.	Detektēšanas problēmas ar FLD (BjF, CPP). Sarežģītās matricās trokšņaina bāzes līnija.
UEŠH-MS-MS	Ātra hromatogrāfija. Augsta jutība.	Nepieciešamas specializētas kolonnas.

1.9.1. Gāzu hromatogrāfija - masspektrometrija

Divu metožu apvienošana ļauj atrisināt problēmas, kas ir raksturīgas atsevišķi GH un masspektrometrijai (MS). Izmantojot MS vielu analīzei sarežģītā matricā, bieži vien iegūst masspektu ar zemu smailu izšķiršanu, t.i., novēro analītisko signālu pārklāšanos. Šādi rezultāti ir ļoti grūti interpretējami. GH-MS ļauj sadalīt vielas un iegūt masspektu individuāli katram savienojumam.

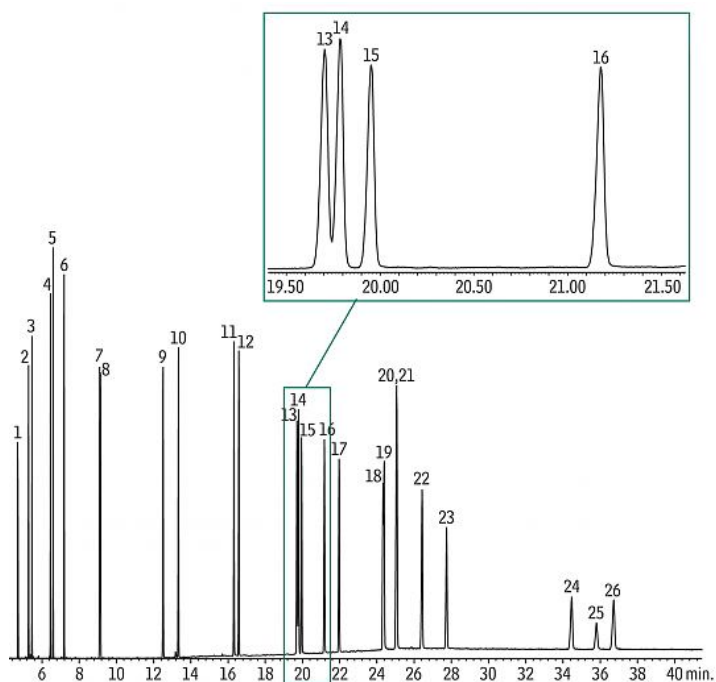
Ar gāzu hromatogrāfu paraugus iespējams analizēt gan kvalitatīvi, gan kvantitatīvi. Pēc parauga iztvaicēšanas atšķirīgi komponenti tiek sadalīti uz kolonnas un pēc tam nosūtīti uz

detektēšanas sistēmu. Salīdzinot standartparaugus ar sertificētām vērtībām, ir iespējams kvantificēt analizējamo paraugu. GH var izmantot gan kapilārās, gan pildītās kolonnas [129].

GH-MS ir apstiprināšanas metode individuālu komponentu identificēšanai, lai arī savienojumi uzdod vienādas raksturīgās masas. Savienojumus identificē pēc to raksturīgās masas un izdalīšanas laika [16]. GH-MS ir efektīva metode ar izcilu izšķirtspēju un spēju identificēt nezināmus savienojumus. Kvadrupola sistēma instrumentā paaugstina metodes jutību un palielina laboratorijas produktivitāti. Izmatojot MS bibliotēkas, savienojumu identifikācija ir viegla un ticama. Papildus standartmodelim ar elektronu jonizāciju ir iespējama arī ķīmiskā jonizācija (pozitīvā un negatīvā) [129]. Tomēr, pirms parauga analīzes ar GH-MS, tam nepieciešama priekšapstrāde. Parauga priekšapstrāde nepieciešama, lai novērstu traucējošo vielu nonākšanu gāzu hromatogrāfā. Priekšapstrāde arī samazina smaiļu daudzumu, kas parādās gāzu hromatogrāfā, un vienkāršo spektra interpretāciju. Tipiska paraugu priekšapstrāde gāzu hromatogrāfijas metodei ietver trīs etapus: analītu ekstrakcija, ekstraktu fracionēšana, izmantojot cietfāžu ekstrakciju vai šķidrums-šķidrums ekstrakciju, un, tā kā injekcijas tilpums GH-MS ir mazs (1 μL), nepieciešama koncentrēšana, ietvaicējot šķīdinātāju. Parasti paraugu priekšapstrāde notiek manuāli un ir laikietilpīga, tā ietver bieži vien lielus daudzumus kaitīgu šķīdinātāju, un tas var būt nopietns kļūdu iemesls. Kā alternatīvu iesaka kombinēt superkritisko šķidrums ekstrakciju ar AEŠH-GH-MS [130].

Masspektrometrijas metodes paaugstina selektivitāti, nosakot PAO, piemēram, tās nodrošina neatkarīgu savienojumu struktūras apstiprināšanu. Lietojot GH-MS, var tikt izmantotas deiterētas standartvielas, kas nodrošina PAO noteikšanas metodes precizitāti. Lielisku atdalīšanu iegūst, izmantojot tirdzniecībā pieejamo sakausētā silīcija dioksīda kapilārās kolonnas, ar kurām var analizēt ļoti sarežģītus maisījumus, kas satur pat simts PAO. 5 % difenil- 95 % dimetilpolisiloksāna stacionārā fāze ir visbiežāk izmantotā PAO noteikšanai, izmantojot GH (ar kolonnām *DB-5*, *DB-5 MS*, *HP-5*, *HP-5 MS*, *RTX-5 MS*). Šī nepolārā kolonna der 16 US-EPA PAO savienojumiem, bet rada problēmas 15+1 ES PAO trīs pāriem, nesadalot tos pa masām. Šie trīs pāri ir BaA-CPP-CHR, BbF-BkF-BjF un IP-DahA. Vēl problēmas sagādā četru dibenzopirēnu izomēri. Sakarā ar to lielo molmasu (302), šiem izomēriem ir slikta smailes forma. Plašas, astainas smailes apgrūtina ticamu kvantificēšanu un paaugstina spektra fona līmeni, kā rezultātā pasliktinās detektēšanas robeža. Ierobežojot analīta paaugstinātu sorbcijas laiku uz kolonnas un GH-MS interfeisā, var kompensēt nevēlamo hromatogrāfisko efektu. Īsāka kolonna ar plānāku apvalka kārtiņu un augstākām darba temperatūrām var uzlabot signālu smailes formas šiem savienojumiem [123]. Izmanto arī polimetilsiloksānu SE-54 (5 % fenil-, 1 % vinil-aizvietotājs), SE-52 (5 % fenil-aizvietotājs), SE-30, OV-1, OV-101, OV-17 (50 % fenil- aizvietotājs). *Rxi-17* spēj sadalīt PAO, arī grūti sadalošos izomērus (1.17. att.). Tai ir šķērssasaistīta 50 % difenil- 50 % dimetilpolisiloksāna

stacionārā fāze [114]. Kolonnas garums variē no 25 - 50 m, un iekšējais diametrs tai ir no 0,20 - 0,32 mm [3].



1.17. att. Kolonnas *Rxi-17* hromatogramma

13 – benzo(b)fluorantēns; 14 – benzo(k)fluorantēns; 15 – benzo(j)fluorantēns; 16 – benzo(a)pirēns

[131]

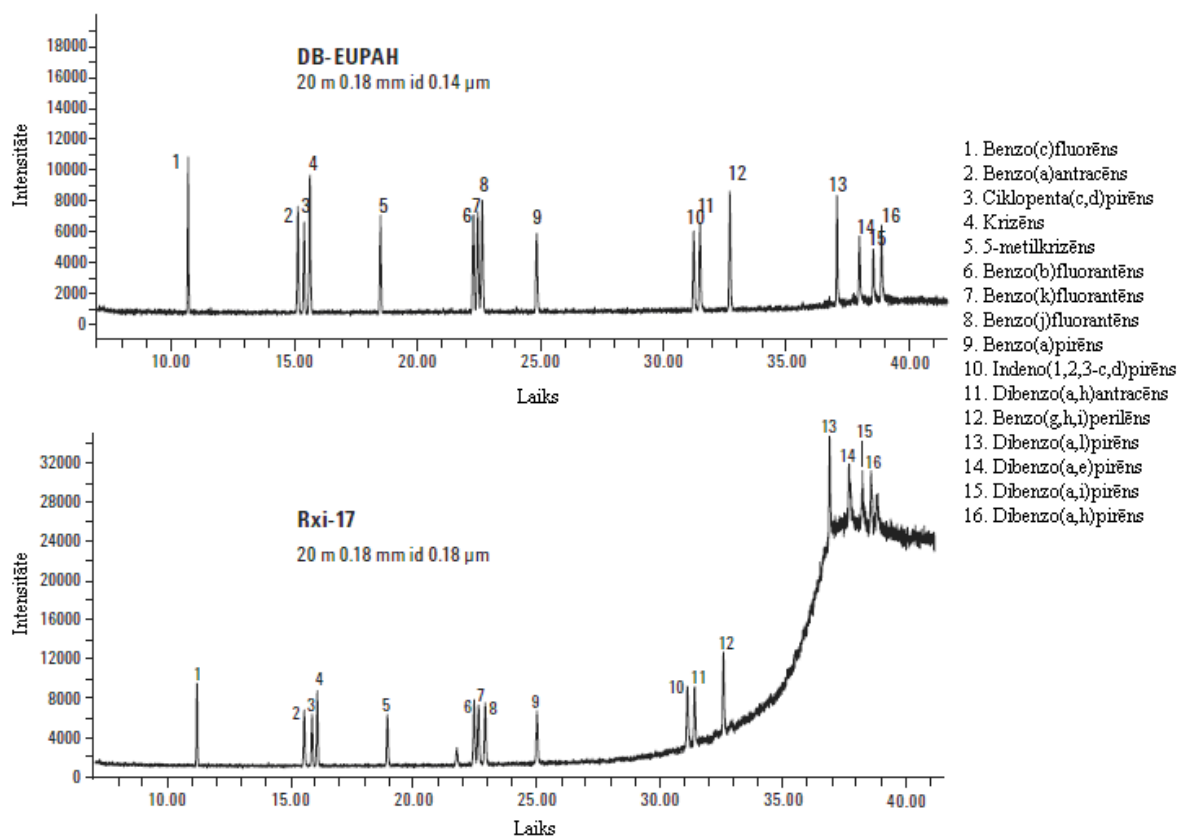
Lielā PAO skaita noteikšana paraugos iespējama, izmantojot kolonnas ar augstu efektivitāti. Lai atdalītu dažus kritiskos PAO, kā arī izomērus, sevišķi piemērotas ir kapilārās kolonnas (50 m × 0,3 – 0,5 mm), kuras var sasniegt 50000 – 70000 augstu teorētisko šķīvju ekvivalentu. Pakotajām kolonnām ir zemāks teorētisko šķīvju ekvivalents (20000 – 30000). Ļoti plaši kā stacionārās fāzes tiek izmantotas metilpolisiloksāna vai līdzīgas fāzes kā, piemēram, *AT-1*, *DB-17*, *DB-5*, *Ultra-1*, *SPB-1*. Uzmanība jāpievērš PAO izdalīšanas laikiem, jo daži PAO var veidot vienu kopēju hromatogrāfijas smaili. PAO saturoši paraugi ir sarežģīti, un bieži vien nav iespējams atdalīt PAO savienojumus ar tradicionālajām nepolārajām nekustīgajām fāzēm, tāpēc pēdējā laikā ļoti plaši tiek izmantoti masselektīvi detektori PAO identifikācijai. Liesmas jonizācijas detektori dažreiz nespēj precīzi noteikt PAO, it sevišķi izmantojot nepiemērotas attīrīšanas procedūras, kurās ir lieli zudumi, kā arī iespējama kļūdaina PAO identifikācija. GH-MS nodrošina augstu selektivitāti un jutību, kā arī strukturālo informāciju, tādu kā molekulu masa, funkcionālās grupas un elementu sastāvs. Lai pilnveidotu molekulu masas informāciju un uzlabotu selektivitāti, izmantojot modernus GH-MS, iespējams izvēlēties pozitīvo un negatīvo jonu ķīmisko jonizāciju [132].

Ciklisko savienojumu struktūras noteikšanā grūtības rodas tajos gadījumos, kad to sastāvā

ietilpst vairāki cikli, kuru destrukcija ir neliela funkcionālo grupu trūkuma dēļ. PAO veido stabilus molekulāros jonus un tāpēc ir viegli identificējami citu savienojumu klātbūtnē [74]. Dažreiz var rasties grūtības PAO izomēru identifikācijā to masspektru līdzības dēļ (1.18. att.).

Pēdējā laikā tiek pētīta arī PAO noteikšanas iespējas ar GH-MS-MS. Tādā veidā ir iespējams izolēt mūs interesējošos jonus un tos sadalīt radniecīgos jonus, un tādā veidā palielinās izšķirtspēja savienojumiem ar līdzīgu masas/lādiņa attiecību [78].

AĒŠH ar fluorescences detektoru ir augsta jutība, bet tam ir viens svarīgs trūkums: nezināmu smaiļu identificēšana ir apgrūtināta. GH-MS novērš šo trūkumu. Turklāt ar GH-MS ne vienmēr ir iespējams veikt pilnīgu PAO hromatogrāfisko atdalīšanu, dažos gadījumos savienojumi ir ar identisku vai ļoti līdzīgu spektru, piemēram, gadījumā ar BbF un BkF [133]. Problemātiski savienojumi ir arī dibenzopirēni – DaeP, DaiP, DahP, DalP, jo to molekulārais jons ir 302, un ir identificēti vēl aptuveni 20 izomēri ar šādiem joniem, piemēram, naftopirēni, naftofluorantēni un dibenzofluorantēni, kas visi apgrūtina dibenzopirēnu identifikāciju [30].



1.18. att. Kolonnas *DB-EUPAH* un *Rxi-17* salīdzinājums dibenzopirēnu noteikšanai [134]

Visbiežāk sastopamā problēma laboratorijās saistīta ar benzofluorantēnu izomēru atdalīšanu, izmantojot gāzu hromatogrāfiju. Viena laboratorija ir uzsvērusi jautājumu par krizēna un trifenilēna līdzsārmu, analizējot ar gāzu hromatogrāfa [135]. Arī dibenzo(a,h)antracēns un

dibenzo(a,c)antracēns var līdzeluēties un uzrāda kopēju hromatogrāfisko smaili [52].

Elektronu triecienu jonizācija ir visplašāk izplatītā metode, kas pamatojas uz parauga bombardēšanu ar elektronu plūsmu. Elektroni tiek emitēti no uzkarstēta volframa vai rēnija stienīša un tiek paātrināti līdz 70 eV enerģijai ar potenciālu starpību, kas pielikta starp elektronu avotu un anodu. Elektroni saskaras ar parauga molekulām un jonizē tos. Vairums masspektrometru darbojas ar 70 eV jonizējošo elektronu enerģiju, jo tad ir novērojams lielākais jonizācijas iznākums. Ja palielina jonizācijas enerģiju, tad tiek novērota intensīvāka fragmentācija un samazinās molekulārā jona intensitāte. Elektronu triecienu jonizācijas metodes raksturīga īpašība ir stipri izteikta fragmentācija, kas dažreiz izsauc pilnīgu molekulārā jona sadalīšanos [136].

1.9.2. Gāzu hromatogrāfija – augstas izšķirtspējas masspektrometrija

PAO pārtikas produktos atrodas sarežģītā maisījumu veidā, tāpēc ir nepieciešamas metodes ar augstāko iespējamo selektivitāti un joslu izšķirtspēju, ko vajadzētu panākt pēc iespējas īsākā laikā. Daži PAO, piemēram, BbF, BkF un BjF var veidot kopēju hromatogrāfisko smaili, tāpēc ir liela nozīme aparāta izšķirtspējai. Daudziem PAO relatīvās molekulmasas ir vienādas, tāpēc ir svarīga aparāta vienības izšķirtspēja. Izmantojot augstas izšķirtspējas masspektrometriskās metodes, zīmīgo ciparu skaits var būt četri un vairāk.

Masspektrometrijā pieņemti 3 vienības izšķirtspējas līmeņi:

1. Zemā izšķirtspēja nozīmē 1 vienības izšķiršanu interesējošā masu intervālā, piemēram, 100 – 1000 Da.
2. Vidēja lieluma izšķirtspēja nozīmē 1 vienības izšķiršanu masu intervālā 2000 – 10000 Da.
3. Augsta izšķirtspēja nozīmē izšķiršanu 10000 Da un vairāk.

Kvantificēšana notiek, izmantojot izotopu šķīdumu metodi, t.i., pievienojot marķētus izotopus pirms ekstrakcijas. Marķētos izotopus pievieno arī atgūstamības faktora noteikšanai visiem PAO [51].

AutoSpec Premier (1.19. attēlā) ir duāla GH saskarne, lai varētu izmantot divus GH injektorus ar divām GH kolonnām mainīgai vai duālai/vienlaicīgai ievadei. Duāla GH saskarne ļauj tiešu vizuāli redzamu GH kolonnas pieslēgšanu jonu avota blokam. *AutoSpec* ir pilnībā integrēts masspektrometrs, kas izmanto *MassLynx* sistēmu, papildinot automatizēto ātras skenēšanas un jutības masspektrometru.



1.19. att. Augstas izšķiršanas spējas masu selektīvs detektors (*AutoSpec Premier, Mycomass technologies*), kas savienots ar *Agilent Technologies* gāzu hromatogrāfu (*7683B Series*)

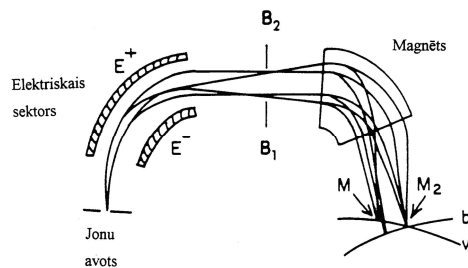
Var novērtēt gāzu hromatogrāfa mazos izmērus salīdzinot ar augstas izšķirtspējas masspektrometru, kurš atrodas attēla priekšplānā. Aparatūra aizņem lielu telpas platību.

Elektrostatiskā masas analizatorā, izmantojot speciāli veidotas lēcas, *AutoSpec* sasniedz augstu enerģijas koncentrēšanu visā masas apgabalā bez nepieciešamības mehāniski pārvietot magnētu, kā tas notiek tradicionālajos instrumentos. Šis faktors ir ļoti svarīgs precīziem masas mērījumiem.

Tiek lietota divkārsā fokusēšana, lai pārvarētu 2 veidu grūtības:

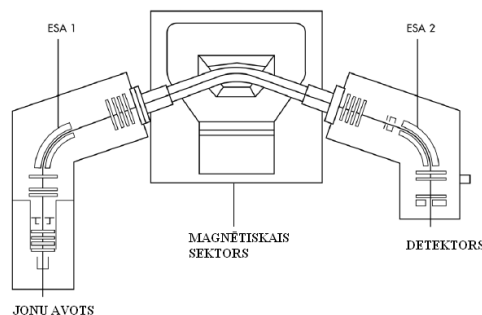
- panākt izšķiršanu, kas nepieciešama dažādu jonu atdalīšanai ar vienādu masu;
- fokusēt jonu kūļus tik šaurus, ka jonu precīzās masas varētu noteikt ar sešiem zīmīgiem cipariem.

Elektrostatiskais sektors atdala jonus ar atšķirīgajām enerģijām un fokusē tos, kuru enerģija ir tuva galvenajam kūlim. Enerģijas fokusēšanā katrs savācamais izomasas (vienādas m/z) jonu kūļa komponents ar dažādu enerģiju tiek pakļauts enerģijas izkliedei, šķērsojot radiālu elektrisko lauku. Diverģējošie izomasas joni ar dažādām enerģijām tiek pakļauti atšķirīgām, bet kompensējošām noliecēm. Kopējo jonu plūsmu var sadalīt atsevišķos jonu kūļos, no kuriem katram piemīt raksturīgs izliekuma rādiuss magnētiskā lauka apgabalā. Galvenā elektriskā lauka funkcija ir enerģijas izvēle (pārāk „noliekušos” jonus atšķir „enerģijas” sprauga), bet noteikta enerģijas fokusēšana iedarbojas uz joniem ar mazāku novirzi. Elektrostatiskā sektora, monoenerģētisko jonu atšķiršanas, kā arī magnētiskā sektora un jonu momenta noteikšanas darbības principu var apskatīt 1.20. attēlā.



1.20. att. Divkāršās fokusēšanas darbības princips

Masas analizatora sistēma sastāv no diviem elektrostatiskajiem masas analizatoriem un magnētiskā sektora, kas atbilst dubultās fokusēšanas ģeometrijai. Elektrostatiskais sektors novērš enerģijas izkliedi – iegūst enerģijas fokusēšanu. Kombinējot magnētisko sektoru ar elektrostatisko sektoru, panāk dubultās fokusēšanas sistēmu, jo ir gan virziena (leņķiskā), gan enerģijas fokusēšana. Dubultais masspektrometrs ir izveidots tā, lai joni ar dažādām enerģijām, bet vienādu masu, uz kolektora atkal apvienotos (skat. 1.21. att.).



1.21. att. Masspektrometra shematiskā uzbūve

Pirmajā elektrostatiskajā sektorā izmantotā optika nodrošina augstu dispersijas/attēla palielināšanas attiecību, tā ļaujot iegūt augstu izšķirtspēju un jutību pie platiem jonu avota atvērumiem. Var sasniegt 80 000 masas vienību izšķirtspēju ar smaiļu pārklāšanos 10 % no augstuma. Otrais elektrostatiskais sektors samazina trokšņu līmeni, uzlabo $m/(m \pm 1)$ jutību un automātiski novērš metastabilu jonu traucējošo ietekmi.

AutoSpec Premier magnēts ir pilnīgi laminēts ar tērauda plāksnēm, kam piemīt augsta caurlaidība un zema histerēze (magnētiskā histerēze – feromagnētiķa magnetizācijas atpalikšana no magnētiskā lauka). Magnētā iespējams izvietot plašāku nolidojuma kanālu, atļaujot lielāku pārnesi un samazinot piesārņojuma risku. Patentētā pēc paātrinājuma fotoelektronu daudzkārtotāja sistēma ļauj noteikt pozitīvos un negatīvos jonus bez dinodu sprieguma maiņas. Šī sistēma noteiktā momentā var analizēt vienu jonu. Fotoelektronu daudzkārtotāja dzīves laika stabilitātes priekšrocības garantē labu atkārtojamību ilgā laika posmā [126, 137, 138, 139].

1.9.3. AEŠH-MS-MS un UEŠH-MS-MS

Ar AEŠH sistēmu var kvalitatīvi un kvantitatīvi analizēt vielas dažādos maisījumos, atdalīt un detektēt interesējošās vielas. AEŠH iespējams komplektēt un variēt ar citām sistēmām, tādām kā:

- automatizētu paraugu priekšapstrādes sistēmu metabolītu atdalīšanai, kas ir farmaceitiskās vielās un bioloģiskos paraugos;
- priekšapstrādes sistēmu pesticīdu noteikšanai un atdalīšanai;
- sistēmu organisko skābju un aminoskābju noteikšanai.

Izmantojot AEŠH, plaši lieto kombinētos detektorus (piemēram, UV un fluorescences detektoru). Izmantojot UV diodes detektoru, kas savienots ar fluorescences detektoru, tiek uzlabotas noteikšanas robežas savienojumiem ar zemu fluorescences intensitāti [50]. AEŠH ar fluorescences detektoru ir ļoti plaši izmantota PAO noteikšanai pārtikas produktos. Ar AEŠH metodēm var noteikt PAO gaļā, gaļas produktos, dūmu garšas piedevās, pārtikā lietojamajās eļļās, taukos un arī alū [140]. Izmantojot AEŠH metodi, var noteikt arī augstmolekulāros PAO. Selektivitāti iespējams uzlabot, izmantojot dažādas kolonnas [143]. Par piemērotām PAO atdalīšanā tiek uzskatītas apgrieztās fāzes kolonnas, kas ir 15 līdz 30 cm garas, ar iekšējo diametru no 3,0 – 4,6 mm un ar daļiņu izmēru 5 vai 10 μm (*Vydac ODS, C18, Lichrosphere 100 RP-18, Lichrosorb RP 18, Symmetry 5 C18, Partisil 10 ODS*). Mobilā fāze sastāv no acetonitrila, ūdens un metanola maisījuma un ūdens, izmantojot gradienta režīmu. Tiek ražotas arī tieši PAO piemērotas kolonnas (*Supelcosil LC-PAH, Chrompack PAH, Nucleosil 5 C10 PAH, Wakosil-PAHs*). Izmantojot AEŠH, ir iespējama laba izomēru atdalīšana. Analīzes parasti tiek veiktas zemā temperatūrā, bez savienojuma termiskās sadalīšanas riska. Ir sasniegts labs fona signāls tādiem izomēriem, kā, piemēram, krizēna-trifenilēna un benzo(b)fluorantēna – benzo(k)fluorantēna maisījumi, pateicoties apgrieztās fāzes sorbenta materiāla selektivitātei. PAO analīzēm ūdenī tiek izmantota šķidrums hromatogrāfija – masspektrometrija ar elektronu izsmidzināšanas jonizāciju un sudraba nitrātu kā derivatizācijas reaģentu [141]. AEŠH ar amperometrisko detektēšanu tiek izmantota PAO noteikšanai arī ūdenī [3].

Daudzi pētnieki AEŠH ar UV un fluorescences detektoru atzinuši par selektīvāku metodi nekā gāzu hromatogrāfiju ar liesmas jonizācijas detektoru (GH-LJD). UV un fluorescences detektoru apvienošana vienā sistēmā ilustrē viļņu garuma atkarību no absorbcijas, kā arī fluorescences relatīvo jutību abām detektēšanas metodēm [121, 142]. Katra PAO fluorescences notiek atšķirīgos viļņu garumos, un emisijas programmu var piemērot katram individuālam PAO savienojumam. PAO galvenokārt absorbē gaismu 200 – 400 nm apgabālā un labi fluorescē [144]. Senāk tika izmantotas tādas stacionārās fāzes kā alumīnija oksīds un silikagels, vēlāk – arī apgrieztās fāzes. Šobrīd visplašāk tiek izmantotas apgrieztās fāzes C18 kolonnas [93]. Izmantojot UV fotodiožu

detektoru, ir iespējams apstiprināt smailes tīrību un identifikāciju. Izmantojot fluorescento detektoru, ir vairākas priekšrocības, piemēram, iespējama PAO noteikšana nefluorescējošo vielu klātbūtnē. Daudziem šāda veida detektoriem analīzes laikā ir iespējams mainīt ierosināšanas un emisijas viļņa garumus [145].

Trūkums pieminētajām metodēm ir tāds, ka nav iespējams noteikt visus 16 prioritāros PAO, jo acenaftilēns nav fluorescējošs. Piecas ES NRL ir saskārušās ar problēmu – korektu krizēna un benzo(a)antracēna identifikāciju, izmantojot šķidrums hromatogrāfiju [135]. AEŠH kritiska ir arī benzo(b)fluorantēna un perilēna, benzo(k)fluorantēna un dibenzo(a,c)antracēna, kā arī benzo(j)fluorantēna un benzo(e)pirēna atdalīšanā [52].

AEŠH-MS nodrošina precīzāku farmaceitisko, vides piesārņojošo vielu un citu piemaisījumu detektēšanu. Jaunākās skenēšanas tehnoloģijas sasniedz masspektrometra mērīšanas ātrumu līdz pat 15000 vienības sekundē nesamazinot jutību vai izšķirtspēju [129]. AEŠH-MS kā analītisko metodi izmanto savienojumus noteikšanai, kuri ir termiski nestabili vai negaistoši un kurus nevar analizēt ar GH vai GH-MS. Šādi savienojumi ir PAO, lipīdi, taukos šķīstošie vitamīni, steroīdi, polimēri, halogēnsavienojumi un citi savienojumi ar zemu protonu afinitāti. AEŠH-MS divi, plaši izmantojami, populāri jonizācijas avoti - elektronizmidzināšanas jonizācija (ESI) un ķīmiskā jonizācija atmosfēras spiedienā (KJAS). Fotojonizācija atmosfēras spiedienā (FJAS) sākotnēji tika izstrādāta, lai analizētu savienojumus, kas grūti jonizējami ar ESI un KJAS [121]. AEŠH-MS-MS piedāvā paaugstinātu jutību, analīzes ātrumu un masu selektivitāti.

ŠH metodēm ir dažas priekšrocības vielu atdalīšanai, salīdzinot ar GH metodēm. Tām nepieciešama mazāka paraugu attīrīšana, vieglāk analizēt termiski nestabilus savienojumus, parasti derivatizācija nav nepieciešama, var noteikt polārus un augstmolekulārus savienojumus. Veikt PAO analīzi ar ŠH-KJAS-MS nav viegli, jo savienojumi ir neitrāli šķīdumā, un ir nepieciešams veikt metodes apstākļu optimizāciju, lai iegūtu optimālo jonizāciju [87]. ŠH-MS-IT-NL - tā ir šķidrums hromatogrāfijas sistēma, kur jonu slazda masspektrometrs kombinēts ar nolidojuma laika masspektrometru. Jonu slazds papildina MS iespējas, un NL masspektrometrs nodrošina augstu izšķirtspēju un ļoti precīzu MS analīzi. Šo metožu apvienošana piedāvā daudzveidīgu analīzes informāciju, kas nepieciešama efektīvai struktūras analīzei tādās pētījumu jomās kā piemaisījumu analīze un biomarkieru atklāšanai.

Ultraātrā šķidrums hromatogrāfija (angļu val. *Ultra Fast Liquid Chromatography*) ir viena no jaunākajām metodēm. Šīs metodes iekārta ir risinājums ātrām analīzēm un augstai izšķirtspējai (1.22. att.) [129].



1.22. att. Ultraefektīvais šķidrums hromatogrāfs, kas savienots ar AB SCIEX Qtrap 5500 tandēma masspektrometru (UEŠH-MS-MS)

UEŠH-MS-MS sistēmā izmanto kolonnas, kas pildītas ar ļoti mazām daļiņām (piemēram, 1,7 μm), un tas nodrošina lielisku hromatogrāfisko atdalīšanu. Ar šo iekārtu paredzēts analizēt dažādas vielas, piemēram, farmaceutiskās vielas, jaunas ķīmiskas vielas, metabolītus, vitamīnus, uzturvielas, hormonus, aminoskābes, steroīdus, proteīnus, pesticīdus un citas organiskas un neorganiskas vielas. Izmantojamo matricu klāsts arī ir plašs – bioloģiskie paraugi (asinis, serums, plazma, urīns, audi, žults u.c.), uzturvielas (pārtika, ūdens, dzērieni u.c.), apkārtējās vides paraugi (ūdens, augsne, lauksaimniecības produkti, augi u.c.), kriminālistikas paraugi.

UEŠH-MS-MS sistēmas pielietojums:

- narkotisko vielu atklāšana (molmasas noteikšana, fragmentācijas jonu noteikšana);
- paraugu kvantitēšana;
- bioanalīzes;
- farmakokinētiskie pētījumi;
- metabolītu identifikācija;
- augstas caurlaidības skrīnings;
- peptīdu un proteīnu pētījumi [146].

Zinātnieki joprojām meklē veidus, kā uzlabot metodes produktivitāti un kādus uzlabojumus varētu ieteikt, lietojot AEŠH PAO noteikšana. Viens no variantiem ir lietot sorbentus ar mazāku daļiņu izmēriem, kā arī īsākas kolonnas izmantošana. Kolonnas izmēri (garums, iekšējais diametrs, daļiņu lielums) ir atslēga, lai panāktu vislabāko atdalīšanu atkarībā no parauga matricas [122].

Izvērtējot iekārtas, ar kurām var noteikt PAO, nonākam pie slēdziena, ka nav ideālas iekārtas visiem savienojumiem un visām pārtikas produktu matricām. Tālākiem pētījumiem izvēlējamies divas „BIOR” zinātniskā institūta iegādātās jaunākās iekārtas – GH-AIMS un UEŠH-MS-MS, kuru rezultāti tika salīdzināti ar GH-MS, kas PAO analīzēm tiek izmantots jau vairākus gadus.

1.10. Marķiera izvēle policikliskajiem aromātiskajiem ogļūdeņražiem

Lai vienkāršotu problēmas, kas saistītas ar PAO daudzveidību un satura dažādību, BaP akceptēja kā indikatoru, lai noteiktu PAO klātbūtni pārtikas produktos, neskatoties uz faktu, ka BaP sastāda tikai 1 – 20 % no kancerogēnajiem PAO [53]. Rutīnas analizēs novērojams tas, ka citu PAO saturs ir pat desmitiem reīžu lielākas nekā BaP saturs paraugā.

2007. un 2008. gadā tika apkopoti dati par PAO saturu dažādos pārtikas produktos, kas tika iegūti no 16 valstīm. Kopumā tika izvērtēti vairāk kā 7 tūkstoši paraugu, kurus var iedalīt 99 grupās. EFSA izvērtētajos datos BaP tika konstatēts 50 % paraugu. Turklāt 30 % paraugu tika konstatēti citi kancerogēni un genotoksiski PAO, neskatoties uz to, ka BaP šajos paraugos netika konstatēts. No individuālajiem PAO, krizēns visbiežāk tika konstatēts paraugos, kuros BaP netika detektēts [26]. Galvenais secinājums bija tāds, ka pieņēmums par BaP kā labu indikatoru visiem 15 PAO ir apšaubāms [36]. Pētījumā pierādījās, ka vidējais 16 PAO līmenis, ieskaitot BaP, ir 20 reizes augstāks nekā paša BaP līmenis. Krizēns ir viens no problemātiskajiem savienojumiem, jo tas uzrāda 22 % pozitīvu paraugu, kad BaP netika konstatēts. Tādu pašu problēmu var novērot ar benzo(c)fluorēnu [52]. EFSA nolēma, ka turpmāk BaP nevar tikt izmantots kā marķieris zemmmolekulārajiem PAO [13].

Lai pamatotu cita marķiera izvēli, tika vākti dati un izvērtētas dažādas PAO kombinācijas. EFSA izvēlētās PAO sistēmas, kas tika ieteiktas PAO marķiera novērtēšanai var aplūkot 1.12. tabulā.

1.12. tabula

ES rekomendētie policiklisko aromātisko ogļūdeņražu marķieri

PAO1	benzo(a)pirēns
PAO2	benzo(a)pirēns un krizēns
PAO4	benzo(a)pirēns, krizēns, benzo(a)antracēns un benzo(b)fluorantēns
PAO8	benzo(a)pirēns, krizēns, benzo(a)antracēns, benzo(b)fluorantēns, benzo(k)fluorantēns, benzo(g,h,i)perilēns, dibenzo(a,h)antracēns un indeno(1,2,3-c,d)pirēns

EFSA pētījumā par PAO korelācija starp PAO2 un PAO4 vai PAO8 ir 0,92 un starp PAO4 un PAO8 ir 0,99. Kopumā speciālistu grupa nolēma, ka PAO4 un PAO8 ir labāki indikatori PAO sastopamībai nekā PAO2. CONTAM speciālistu grupa nolēma, ka BaP nav piemērots marķieris PAO sastopamības novērtēšanai pārtikas produktos [26].

Pamatojoties uz šobrīd pieejamajiem datiem par PAO sastopamību pārtikas produktos un

PAO toksicitāti, tika secināts, ka PAO4 un sistēma PAO8 ir vairāk piemērotāki marķieri un ieteicami tālākai izpētei [27]. Balstoties uz šiem pētījumiem, tika nolemts veikt metodes izstrādi PAO4 noteikšanai, izmantojot UEŠH-MS-MS ĶJAS režīmā.

Tā kā pēdējo gadu laikā tika izskatītas BaP un PAO4 pieļaujamās normas, arī Latvijai kā ES dalībvalstij bija jādod savs pamatotais viedoklis. Eksperimentāli tika pierādīts, ka konserviem „šprotes eļļā”, pagatavojot tos pēc standarta kūpināšanas procesa kritērijiem, ir gandrīz neiespējami iekļauties normas robežās, lai BaP būtu $2 \mu\text{g kg}^{-1}$, kas tika pieņemts kūpinātām zivīm un to produkcijai. Sadarbojoties Zemkopības Ministrijai un zivju pārstrādes uzņēmumiem, Latvijai izdevās panākt, ka tieši konservos „šprotes eļļā” pieļaujamā norma paliek $5 \mu\text{g kg}^{-1}$.

2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1. Izmantotie reaģenti un materiāli

Darbā tika lietoti sekojošie analītiski tīrie reaģenti:

- dejonizēts ūdens (*Millipor MilliQ academic* attīrīšanas sistēma, *Q-Gard*® 1, Lot.No. F0KA56286, *Millipak express* 0,22 μm Lot.No. F0HA99823);
- etanols, analītiski tīrs (ražots „*Jaunpagasts plus*”, atbilst EEK regulas Nr.110/2008 prasībām, alkohola saturs 96,3 tilpuma %);
- cikloheksāns (*Lab-Scan/Pestiscan*, tīrība 99,5 %, Batch No. 0735/10);
- dihlormetāns (*Lab-Scan/Pestiscan*, tīrība 99,8 %, Batch No. 1937/10);
- n-heksāns (*Lab-Scan/Pestiscan*, tīrība 95 %, Batch No. 0758/10);
- acetons (*Lab-Scan/Pestiscan*, tīrība 99,8 %, Batch No. 1492/9);
- metanols (*Lab-Scan/Super Gradient*, tīrība 99,9 %, Batch No. 3740/10);
- N,N-dimetilformamīds (*Lab-Scan/HPLC*, tīrība 99,8 %, Batch No. 3645/8);
- hlороforms (*Merck/SupraSolv*, Lot. I387432 740);
- acetonitrils (*Lab-Scan/Super Gradient*, tīrība 99,9 %, Batch No. 5211/10);
- sāļsskābe, analītiski tīra, 37 – 38 % (*Merck, pro analyse*, Lot. K34727417 523);
- petrolēteris (*Lab-Scan, 40 – 60 °C, HPLC*, Batch No. 0658/9);
- etilacetāts (*Lab-Scan/Pestiscan*, tīrība 99,8 %, Batch No. 1082/10);
- toluols (*Lab-Scan/Pestiscan*, tīrība 99,8 %, Batch No. 2580/10);
- nātrija hlorīds, granulēts, analītiski tīrs, 99,9 % (*Analytica*, Order No. SCH03702);
- kālija hidroksīds, tīrība 86,5 % (*Penta*, Batch No. 060508);
- bezūdens nātrija sulfāts, granulēts (*Scharlau Chemie/ACS/ISO*, Lot.No. 11776501);
- nātrija hidrogencitrāts seskvihidrāts, tīrība 99 % (*Aldrich Chemistry*, Lot.No. STBB8557V);
- nātrija citrāts, dihidrāts, analītiski tīrs, 99 % (*Penta*, Batch No. 1503150310);
- bezūdens magnija sulfāts, ≥ 97 % (*Sigma-Aldrich*, Lot.No. BCBD1235V);
- nātrija hidrogēnkarbonāts, analītiski tīrs (*Penta*, sēr. 1305210510F);
- gēlfiltrācijas kolonnas sorbents – *Bio-Beads, S-X3 (BIO RAD, 200-400 mesh*, Lot. L1522750);
- silikagels 60 (*Fluka Chemika*, 0,063 – 0,2 mm (70 – 230 mesh ASTM), Lot.No. 70600);

- alumīnija oksīds, aktivēts, bāzisks, kolonnu hromatogrāfijai, 50 – 200 μm (*Acros Organics*, Lot. A012675101);
- alumīnija oksīds 90, aktivēts, skābs, 0,063 – 0,200 mm (*Merck*, Lot. TA581378930);
- florisils (*Supelco*, 100/200A, Lot. 164841G);
- aktīvā ogle (*Merck*, Lot. K24245286743);
- *QuEChERS* ekstrakcijas kolonnas (*UCT/Enviro Clean Extraction Columns/900mg MgSO4, 300mgPSA, 150mg C18, ECMSC1815CT*);
- cietfāzes ekstrakcijas kolonnas *Florisil*, 6 mL, 1 g sorbenta (*Waters Sep-Pak Vac 6cc*, Lot. WAT043390);
- cietfāzes ekstrakcijas kolonnas *Silica*, 6 mL, 500 mg sorbenta (*Phenomenex Strata SI-1 Silica 55 μm, 70 A, Sorbent Lot. S212-47*);
- cietfāzes ekstrakcijas kolonnas *Silica* 6 mL, 1 g sorbenta (*Phenomenex Strata SI-1 Silica 55 μm, 70 A, Sorbent Lot. S212-39*);
- cietfāzes ekstrakcijas kolonnas C18 6 mL, 500 mg sorbenta (*Phenomenex Strata C18-E, 55 μm, 70 A, Sorbent Lot. S201-83*).

2.2. Standartšķidumi

Izejas standartšķidumi:

policiklisko aromātisko ogļūdeņražu standartvielu maisījums (PAO standartšķidums PAH MIX 170 ar koncentrāciju 10 mg L⁻¹, izšķīdināts acetnitrilā, *Dr.Ehrenstorfer*, Lot. 81216AL).

- Benzo(a)pirēns – d12 iekšējais standarts 1000 ng μL⁻¹, kas izšķīdināts cikloheksānā (*Dr.Ehrenstorfer*, Lot. 10330100CY).
- Benzo(a)antracēns – d12 (*Cambridge Isotope Laboratories, Inc.*, 100, mg 98 %, Lot. No. PR-18301).
- Krizēns – d12 (*Cambridge Isotope Laboratories, Inc.*, 100 mg, 98 %, Lot. No. PR-19587).
- Benzo(k)fluorantēns – d12 (*Cambridge Isotope Laboratories, Inc.*, 10 mg, 98 %, Lot. No. PR-18025).
- Dibenzo(a,i)pirēns – d14 (*Cambridge Isotope Laboratories, Inc.*, 200 μg mL⁻¹ toluolad8 šķīdumā, 98 %, Lot. No. SCIE-016).
- Indeno(1,2,3-c,d)pirēns – d12 (*Cambridge Isotope Laboratories, Inc.*, 200 μg mL⁻¹ izooktāna šķīdumā, 98 %, Lot. No. SCID-011).

- Benzo(g,h,i)perilēns – d12 (*Cambridge Isotope Laboratories, Inc.*, 10 mg, 98 %, Lot. No. PR-18783/08287BP1).
- Benzo(b)fluorantēns – d12 (*Cambridge Isotope Laboratories, Inc.*, 10 mg, 98 %, Lot. No. PR-16108/01255BB1).

Darba šķīdumi

- Izmantojot izejas standartšķīdumu, sagatavo darba standartšķīdumus cikloheksānā ar koncentrācijām no 1 līdz 10 ng μL^{-1} . Šķīdumus glabā + 4 °C temperatūrā līdz 3 mēnešiem.
- Standartpieejas pievienošanai izmanto PAO standartšķīdumus ar masas koncentrācijām 1 ng μL^{-1} un 10 ng μL^{-1} , ko pagatavo 10 mL mērkolbā, ņemot attiecīgo tilpumu standartšķīduma ar koncentrāciju 1000 ng μL^{-1} un atšķaidot ar cikloheksānu līdz atzīmei.

Lai novērtētu metodes atgūstamību, izmanto paraugus, kuriem pievieno noteiktu daudzumu standartšķīduma. Pēc iegūtā rezultāta novērtē zudumus, kuri parādās ekstrakcijas laikā.

2.3. Aparatūra un trauki

- mērkolbas 25 mL un 50 mL, A klase (“*Brand*”);
- atteces dzesinātājs;
- koniskās centrifūgas stikla mēģenes 10 mL (“*Alltech*”);
- vakuumkolbas 250 mL;
- stikla piltuves;
- piltuve ar stikla filtru (*Laborglas GmbH, Bistabil Lenz, Por.1*);
- dalāmās piltuves, 250 mL un 500 mL;
- apaļkolbas, 100, 250 un 500 mL;
- mērcilindri, 25, 50, 100 un 250 mL;
- stikla pudelītes, 1,5 mL (ar ieliktniem);
- polipropilēna (PP) centrifūgas stobriņi, 50 mL;
- automātiskās pipetes ar maināmo tilpumu 20, 50, 200, 1000 un 5000 μL (*Finnpipette*) tiek kalibrētas vienreiz gadā un verificētas reizi trīs mēnešos;
- laboratorijas svāri (*KERN GJ*), d = 0,01 g, maksimālā masa 610 g;
- analītiskie svāri *Kern 770* ar precizitāti 0,0001 g;

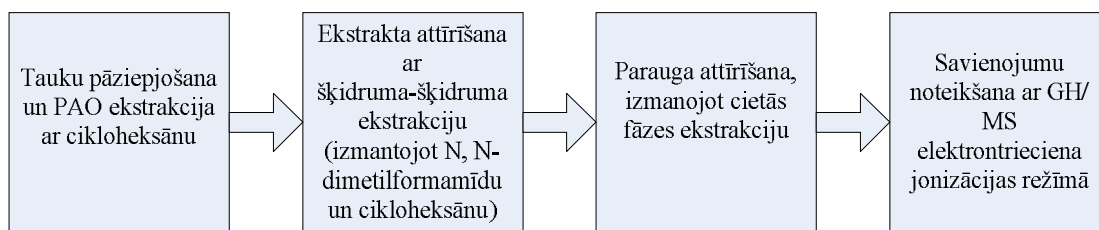
- saldētava -80 °C (*Heto Ultra Freeze*);
- elektriskā plītiņa – *Sunbim*;
- centrifūga (*Heraeus Labofuge 400R*, maksimālie apgriezieni 4500 apgr min⁻¹);
- vibromaisītājs (*Maxi MixII Type 37600*);
- horizontālais kratītājs (*Certomat SII, B.Braun Biotech International*);
- ultraskaņas vanna (*Cole-Parmer 8890*), 80 W, 47 kHz, 1,91 L;
- ūdens vanna (*BioSan WB4*), maksimālā t° = 100 °C, 2,5 L;
- slāpekļa ietvaicēšanas sistēma (pašgatavota);
- cietfāzes ekstrakcijas kolektors (*Alltech*), paraugu skaits 12;
- vakuumsūknis (*GAST, Model DOA-P104-BN*);
- rotācijas ietvaicētājs, kas sastāv no rotācijas sistēmas (*Büchi Rotavapor R-114*), ūdens vannas (*Büchi Waterbath B-480*), vakuuma kontroles sistēmas (*KNF Neuberger Vakuumcontroller*) un ūdens dzesēšanas iekārtas;
- gēlfiltrācijas hromatogrāfijas aparāts (*GPC AutoPrep 2000*), kas savienots ar iekārtu automātiskai parauga ievadīšanai (*O.J. Analytical Autosampler model 1096*). Gēlfiltrācijas kolonna (*O.I. Analytical GPC Prep Column*) sorbents – *Bio-Beads, S-X3*; *BIO RAD*.

2.4. Lietotās statistiskās un rezultātu salīdzināšanas metodes

Iegūto rezultātu salīdzināšanai un kontrolkaršu konstruēšanai, lai aprēķinātu nenoteiktību (skat. 3. pielikumu), tika izmantots Microsoft Office Excel 2003 integrētās statistiskās funkcijas. Datu novirzes aprēķinātas, izmantojot „STDEV” funkciju. Vidējā aritmētiskā aprēķināšana, veikta izmantojot funkciju „AVERAGE”. Mediānas aprēķināšanai izmantota funkcija „MEDIAN”.

2.5. „BIOR” laboratorijas akreditētā metode

PAO savienojumus izdala no pārtikas produktiem, veicot tauku pārziapošanu ar kālija hidroksīda šķīdumu etanolā un PAO ekstrakciju ar cikloheksānu. Ekstraktu attīra ar šķidrumsšķidrums ekstrakciju, izmantojot N,N-dimetilformamīdu un cikloheksānu. Parauga papildus attīrīšanu veic, izmantojot ekstrakciju ar silikagela cietfāzes kolonnu. Savienojumu detektēšanai izmanto gāzu hromatogrāfu ar masspektrometrisko detektoru. Shēma parādīta 2.1. attēlā.



2.1. att. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanas shēma

2.5.1. Pārtikas produktu analīzes gaita

25 g homogenizēta parauga ievieto apaļkolbā, pievieno 12 g kālija hidroksīda, 100 mL etanola un ievieto vārķermeņus. Pievieno 25 μL iekšējo standartu šķīduma maisījumu ar masas koncentrāciju $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Metodes atgūstamības aprēķināšanai vienam paraugam pievieno PAH MIX 170 $125 \mu\text{L}$ ($1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$). Iegūstam šķīdumu ar PAO masas koncentrāciju 5 ng g^{-1} . Kolbas saturu silda uz plītiņas 2 stundas. Kolbas saturu filtrē caur piltuvi ar stikla filtru un atdzesē. Dalāmajā piltuvē (500 mL) etanola šķīdumam pievieno 100 mL dejonizēta ūdens un 100 mL cikloheksāna. Veic PAO ekstrakciju, un cikloheksāna slāni pārnes 250 mL dalāmajā piltuvē. Atkārtu ekstrakciju ar 50 mL cikloheksāna, un ekstraktus apvieno. Cikloheksānu attīra divas reizes ar 50 mL dejonizēta ūdens un tad ar 50 mL metanola – ūdens šķīduma (4:1). Vēlreiz attīra divas reizes ar 50 mL dejonizēta ūdens. Cikloheksāna slānim pievieno 50 mL N,N-dimetilformamīda – ūdens šķīduma (9:1) un ekstrahē. Pēc tam N,N-dimetilformamīda – ūdens šķīduma slāni pārnes citā 250 mL dalāmajā piltuvē un pievieno 50 mL 1 % NaCl šķīduma ūdenī un ekstrahē PAO ar 75 mL cikloheksāna. Atdala cikloheksāna slāni, filtrē caur bezūdens nātrija sulfātu un ietvaicē ar rotācijas ietvaicētāju $40 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūrā, ieregulējot 235 mbar lielu spiedienu. Sausajam atlikumam vakuumbā pievieno 3 mL cikloheksāna. Kondicionē silikagela kolonnas ar 5 mL cikloheksāna, uznes paraugu (3 mL cikloheksāna no vakuumbā) un eluē PAO ar 6 mL ($2 \times 3 \text{ mL}$) cikloheksāna. 9 mL cikloheksāna ietvaicē līdz sausam slāpekļa plūsmā $40 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūrā un atlikumu izšķīdina 50 μL cikloheksāna. Cikloheksānu pārnes automātiskās parauga padeves pudeļu ieliktņos un izmanto noteikšanai ar GH-MS.

2.5.2. Eļļas analīzes gaita

Aptuveni 15,00 g eļļas izšķīdina 50 mL cikloheksāna. Pievieno 25 μL iekšējo standartu šķīduma maisījumu ar masas koncentrāciju $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Metodes atgūstamības aprēķināšanai vienam paraugam pievieno PAH MIX 170 $30 \mu\text{L}$ ($1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$). Iegūstam šķīdumu ar masas koncentrāciju 2

ng g⁻¹. Cikloheksānam pievieno 50 mL N,N-dimetilformamīda – ūdens šķīduma (9:1) un ekstrahē. Pēc tam N,N-dimetilformamīda – ūdens šķīduma slāni pārnes citā 250 mL dalāmajā piltuvē, pievieno 50 mL 1 % NaCl šķīduma ūdenī un ekstrahē PAO ar 75 mL cikloheksāna. Atdala cikloheksāna slāni, filtrē caur bezūdens nātrija sulfātu un ietvaicē ar rotācijas ietvaicētāju 40 °C temperatūrā, ieregulējot 235 mbar lielu spiedienu. Sausajam atlikumam vakuumbļā pievieno 3 mL cikloheksāna. Kondicionē silikagela kolonnas ar 5 mL cikloheksāna, uznes paraugu (3 mL cikloheksāna no vakuumbļas) un eluē PAO ar 6 mL (2×3 mL) cikloheksāna. 9 mL cikloheksāna ietvaicē līdz sausam slāpekļa plūsmā 40 °C temperatūrā un atlikumu izšķīdina 50 µL cikloheksāna. Cikloheksānu pārnes automātiskās parauga padeves pudeļu ieliktnos un izmanto noteikšanai ar GH-MS [47]. Benzo(a)pirēna noteikšanai ar AEŠH-MS-MS metodi sauso atlikumu izšķīdina 100 µL kustīgās fāzes.

Visi eksperimenti, kas veikti, lai izpētītu dažādu parametru ietekmi uz PAO veidošanos, ir veikti ar šo metodi, kas ir akreditēta LATAK akreditācijas birojā.

2.6. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanas metodes

Tā kā paraugu pagatavošana ar rutīnas metodi aizņem daudz laika un tiek patērēti lieli daudzumi organisko šķīdinātāju, tad tika nolemts veikt pētījumus, lai saīsinātu PAO noteikšanas metodi. Vispirms tika ievākta informācija par literatūrā pieejamajām PAO pagatavošanas metodēm. Kad tas bija izdarīts, tad tika veikta šo metožu aprobēšana un pielāgošana BIOR laboratorijas apstākļiem.

Šajā pētījumā izmantotais analizējamais paraugs ir saulespuķu eļļa, kas tika izvēlēta, jo tajā ir ievērojams PAO saturs un līdz ar to ir ērti salīdzināt darbā iegūtos rezultātus. Tā kā šī pētījuma uzdevums ir salīdzināt dažādas parauga sagatavošanas metodes, šai nolūkā tika izmantotas un izmēģinātas 15 dažādas paraugu sagatavošanas metodes, kas aprakstītas literatūrā un pielāgotas laboratorijas prasībām.

Metode Nr. 1

Stikla pudelītēs iesver pa $2,00 \pm 0,05$ g analizējamās eļļas. Pievieno pa 33 µL iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju $1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ un vienam paraugam pievieno 40 µL PAH MIX 170 ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Iegūtā beigu masas koncentrācija šķīdumā ir $2 \text{ ng } \text{g}^{-1}$. Pudelītēs pielej 10 mL 1 M kālija hidroksīda šķīduma etanolā. Pudelītes trīs stundas karsē ūdens vannā 80 °C temperatūrā. Pēc tam šķīdumus atdzesē līdz istabas temperatūrai, tad pievieno 10 mL ūdens un 15 mL cikloheksāna. Veic ekstrakciju un paraugus centrifugē 5 min ar ātrumu

3000 apgr min⁻¹. Augšējo slāni pārnes stikla mēģenēs, bet atlikušo šķīdumu vēlreiz ekstrahē ar 15 mL cikloheksāna. Iegūtos ekstraktus apvieno un filtrē caur bezūdens nātrija sulfātu. Filtrātus ietvaicē līdz sausam ar rotācijas ietvaicētāju. Atlikumam pievieno 3 mL cikloheksāna. Šķīdumus attīra ar cietfāzes ekstrakcijas metodi, izmantojot silikagela kolonnas. Vispirms kolonnas kondicionē ar 5 mL cikloheksāna, tad uznes paraugu, un beigās skalo kolbu divreiz ar 3 mL cikloheksāna, ko uznes uz silikagela kolonnas. Eluātu ietvaicē slāpekļa plūsmā ūdens vannā līdz sausam. Sauso atlikumu šķīdina 50 µL cikloheksāna un veic analīzi ar GH-MS [118].

Metode Nr. 2

Stikla pudelītēs iesver pa $2,00 \pm 0,05$ g analizējamās eļļas. Pievieno pa 33 µL iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju $1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ un vienam paraugam pievieno 40 µL PAH MIX 170 ar koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir 2 ng g^{-1} . Pievieno 42 mL hloroforma/etanola/0,7 % nātrija hlorīda maisījuma (2:1:0,5) un veic ekstrakciju. Apakšējo slāni pārnes citā pudelītē, bet augšējo slāni vēlreiz attīra ar 24 mL hloroforma. Ekstraktus apvieno un attīra ar 100 mL 0,7 % nātrija hlorīda šķīduma. Augšējo slāni filtrē caur bezūdens nātrija sulfātu un filtrātu ietvaicē ar rotācijas ietvaicētāju. Pēc ietvaicēšanas paliek eļļa. Nosver alikvotu daļu (1,6 g) un atšķaida ar cikloheksānu līdz 8 mL tilpumam. Iegūto šķīdumu attīra, izmantojot gēlfiltrācijas hromatogrāfu. Attīrīto frakciju ietvaicē ar rotācijas ietvaicētāju līdz 5 mL tilpumam. Atlikušo šķīdumu pārnes stikla mēģenēs un divas reizes skalo ar 3 mL cikloheksāna, pēc tam ietvaicē slāpekļa plūsmā ūdens vannā līdz sausam. Sauso atlikumu šķīdina 50 µL cikloheksāna un veic gāzu hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS [34].

Metode Nr. 3

Stikla pudelītēs iesver pa $2,00 \pm 0,05$ g analizējamās eļļas, tad pievieno pa 33 µL iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju $1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ un atgūstamības aprēķināšanai vienam paraugam pievieno 40 µL PAH MIX 170 ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir 2 ng g^{-1} . Paraugam pievieno 10 mL 2 M kālija hidroksīda šķīduma metanolā, 4 mL cikloheksāna un 10 mL ūdens. Samaisa un centrifugē 5 min ar ātrumu $3000 \text{ apgr min}^{-1}$. Atdala augšējo slāni (pārnes citā pudelītē), atkārti ekstrakciju ar 5 mL cikloheksāna un centrifugē 5 min ar ātrumu $3000 \text{ apgr min}^{-1}$. Ekstraktus apvieno un filtrē caur bezūdens nātrija sulfātu. Iegūtos filtrātus ietvaicē $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ūdens vannā slāpekļa plūsmā. Atlikumam pievieno 3 mL cikloheksāna un attīra, izmantojot cietfāzes ekstrakciju. Silikagela kolonnas kondicionē ar 5 mL cikloheksāna, tad uznes paraugu un divreiz attīra ar 3 mL cikloheksāna. Iegūtos šķīdumus ietvaicē ūdens vannā slāpekļa plūsmā. Atlikušo šķīdumu vēlreiz attīra, izmantojot cietfāzes ekstrakcijas kolonnas ar lielāku

silikagela daudzumu (1 g sorbenta) un iegūtos šķīdumus ietvaicē ūdens vannā slāpekļa plūsmā. Sauso atlikumu izšķīdina 50 µL cikloheksāna un veic hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS [119].

Visam šķīdumam vajadzētu iztvaikot slāpekļa plūsmā, bet tā nenotika. Paliek aptuveni 0,5 mL eļļaina šķīduma, tāpēc tālāko analīzi ar GH-MS neveic, jo eļļas fāze nav piemērota gāzu hromatogrāfijas analīzēm.

Metode Nr. 4

Stikla pudelītēs iesver pa $2,00 \pm 0,05$ g analizējamās eļļas, pievieno pa 33 µL iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju $1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ un vienam paraugam pievieno 40 µL PAH MIX 170 maisījuma ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir 2 ng g^{-1} . Paraugiem pievieno 10 mL dihlormetāna, samaisa un šķīdumus filtrē caur bezūdens nātrija sulfātu. Iegūtos filtrātus attīra, izmantojot florisila cietfāzes ekstrakcijas kolonnas. Sākumā tās kondicionē ar 4 mL dihlormetāna un tad ar 4 mL heksāna un dihlormetāna maisījuma (1:1). Pēc tam uz kolonnas uznes paraugu, ko eluē ar 4 mL heksāna dihlormetāna maisījuma (1:1). Iegūtos šķīdumus ietvaicē ūdens vannā slāpekļa plūsmā līdz sausam. Sauso atlikumu šķīdina 50 µL cikloheksāna. Pārnes automātiskās parauga padeves pudeļu ieliktnos un izmanto tālākai hromatogrāfiskai analīzei ar GH-MS [120].

Ar slāpekļa plūsmu neizdevās ietvaicēt visu šķīdumu paliek aptuveni 1 mL eļļaina šķīduma, tāpēc tālāko analīzi ar GH-MS neveic, metodes nepiemērotības dēļ.

Metode Nr. 5

Stikla pudelītēs iesver pa $2,00 \pm 0,05$ g analizējamās eļļas, pievieno pa 33 µL iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju $1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ un vienam paraugam pievieno 40 µL PAH MIX 170 ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir 2 ng g^{-1} . Pudelītēs pielej 20 mL metanola un uz 30 minūtēm ieliek ultraskaņas vannā. Iegūtajos šķīdumos izsaldē taukus, ieliekot šķīdumus uz 10 min saldētavā $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūrā. Iegūtos šķīdumus filtrē aukstus un filtrātus ietvaicē sausus ar rotācijas ietvaicētāju. Pievieno 3 mL heksāna un iegūtos šķīdumus attīra izmantojot cietfāzes ekstrakciju. Florisila kolonnas kondicionē ar 10 mL heksāna, tad ar 10 mL heksāna un acetona maisījuma (1:1). Uz kolonnas uznes paraugu, ko attīra ar 10 mL heksāna un eluē ar 10 mL heksāna un acetona maisījuma (1:1). Iegūtos šķīdumus ietvaicē ūdens vannā slāpekļa plūsmā. Atlikumam pievieno 3 mL cikloheksāna un attīra, izmantojot silikagela kolonnas. Sākumā kolonnas kondicionē ar 5 mL cikloheksāna, uznes paraugus, ko eluē divreiz ar 3 mL cikloheksāna. Iegūto šķīdumu ietvaicē ūdens vannā slāpekļa plūsmā līdz sausam. Sauso atlikumu šķīdina 50 µL cikloheksāna un veic hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS [121].

Metode Nr.6

Divpadsmit stikla pudelītēs iesver pa $1,00 \pm 0,05$ g analizējamās eļļas, pievieno pa $16,5 \mu\text{L}$ iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju $1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ un četriem paraugiem pievieno $20 \mu\text{L}$ PAH MIX 170 šķīduma ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir $2 \text{ ng } \text{g}^{-1}$. Paraugiem pievieno 4 mL 1 M kālija hidroksīda šķīduma etanolā un 10 mL heksāna. Iegūtos šķīdumus 17 min karsē žāvēšanas skapī $129 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūrā. Pēc tam tos atdzesē līdz istabas temperatūrai un pielej heksānu visās pudelītēs līdz vienādam tilpumam, bet pēc tam pievieno 5 mL ūdens. Šķīdumus centrifugē 5 min ar ātrumu $1500 \text{ apgr } \text{min}^{-1}$ un augšējo slāni pārnes stikla mēģenēs. Iegūtos šķīdumus ietvaicē ūdens vannā slāpekļa plūsmā līdz sausam, tad izšķīdina 3 mL heksāna un attīra ar cietfāzes ekstrakciju, izmantojot silikagela kolonnas. Kolonnas vispirms kondicionē ar 4 mL dihlormetāna un pēc tam ar 4 mL heksāna un dihlormetāna maisījuma (1:1), tad uznes paraugus un eluē stikla mēģenēs ar 4 mL heksāna un dihlormetāna maisījuma (1:1). Iegūtos šķīdumus ietvaicē ūdens vannā slāpekļa plūsmā līdz sausam. Sauso atlikumu izšķīdina $50 \mu\text{L}$ cikloheksāna un veic hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS [17].

Pēc pirmās tvaicēšanas slāpekļa plūsmā visās stikla mēģenēs izveidojās trīs slāņi, pie tam vidējais slānis ir želejveidīgs, līdz ar to tālāko analīzi neveic, jo neizdevās iegūt homogēnu šķīdinātāja slāni.

Metode Nr. 7

50 mL koniskajās kolbās iesver pa $2,00 \pm 0,05$ g eļļas un pievieno pa $33 \mu\text{L}$ iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju $1 \text{ ng } \text{g}^{-1}$ un vienam paraugam pievieno $40 \mu\text{L}$ PAH MIX 170 ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir $2 \text{ ng } \text{g}^{-1}$. Visās kolbās pievieno 20 mL heksāna un kolbas saturu pārnes 100 mL dalāmās piltuvēs, kur šķīdumu ekstrahē ar 20 mL N,N-dimetilformamīda. Ekstraktam pievieno 20 mL dejonizētā ūdens un 25 mL heksāna. Organisko slāni filtrē caur bezūdens nātrija sulfātu un ietvaicē ar rotācijas ietvaicētāju līdz sausam. Kolbas saturu izšķīdina 3 mL heksāna un attīra, izmantojot florisila cietfāzes ekstrakcijas kolonnas. Kolonnas kondicionē ar 5 mL heksāna, tad uznes paraugu, ko eluē ar 5 mL heksāna un 10 mL heksāna un dihlormetāna maisījuma (1:1). Iegūtos šķīdumus ietvaicē līdz sausam $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ūdens vannā slāpekļa plūsmā. Sauso atlikumu šķīdina $50 \mu\text{L}$ cikloheksāna un veic hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS [122].

Ar slāpekļa plūsmu neizdevās ietvaicēt visu šķīdumu, paliek aptuveni $0,5 \text{ mL}$ eļļaina šķīduma, un tāpēc tālāko analīzi neveic.

Metode Nr. 8 (*QuEChERS* nemodificētā metode)

50 mL polipropilēna (PP) centrifūgas stobriņos iesver pa $2,00 \pm 0,05$ g eļļas un pievieno pa 33 μL iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju 1 ng g^{-1} un vienam paraugam pievieno 40 μL PAH MIX 170 maisījuma ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir 2 ng g^{-1} . Paraugiem pievieno 10 mL acetonitrila, samaisa un ļauj pastāvēt 30 min. Pēc 30 min paraugiem pievieno kristālisko vielu maisījumu, kas sastāv no 4 g bezūdens magnija sulfāta, 1 g nātrija hlorīda, 1 g trinātrija citrāta dihidrāta un 0,5 g dinātrija hidrogēncitrāta seskvihidrāta, labi sakrata un centrifugē 5 min ātrumu $3000 \text{ apgr min}^{-1}$. Augšējo slāni pārnes citos PP centrifūgas stobriņos un izsaldē taukus $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūrā. Aukstus paraugus centrifugē $-4 \text{ }^\circ\text{C}$ 5 min ar ātrumu $3000 \text{ apgr min}^{-1}$ un 6 mL no augšējā slāņa ekstrahē ar *QuEChERS* ekstrakcijas kolonnām (900 mg MgSO_4 , 300 mg PSA, 150 mg C18). Paraugus centrifugē un visu augšējo slāni pārnes stikla mēģenēs, to ietvaicē līdz sausam ūdens vannā slāpekļa plūsmā. Sauso atlikumu šķīdina 50 μL cikloheksāna un veic hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS [39].

Metode Nr. 9

100 mL koniskajās kolbās iesver pa $2,00 \pm 0,05$ g eļļas un pievieno pa 33 μL iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju 1 ng g^{-1} un vienam paraugam pievieno 40 μL PAH MIX 170 maisījuma ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir 2 ng g^{-1} . Paraugiem veic hidrolīzi, pievienojot 42 mL koncentrētās sālsskābes un atstāj tos uz 12 stundām. Pēc 12 stundām kolbu saturam pievieno 40 mL dihlormetāna un heksāna maisījuma (1:3) un maisa 45 min, tad šķīdumu filtrē caur 4 g nātrija sulfāta un nātrija hidrogēnkarbonāta maisījuma (1:1). 30 mL filtrāta ietvaicē ar rotācijas ietvaicētāju. Visās kolbās paliek eļļa. Stikla mēģenēs iesver alikvotu daudzumu (1,6 g) eļļas un atšķaida ar cikloheksāna un etilacetāta maisījumu (1:1) līdz 8 mL tilpumam, bet pēc tam attīra ar gēlfiltrācijas hromatogrāfiju. Paraugus ietvaicē ar rotācijas ietvaicētāju, pielej 50 μL cikloheksāna un veic hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS [50].

Metode Nr. 10

Stikla pudelītēs iesver pa $2,00 \pm 0,05$ g eļļas un pievieno pa 33 μL iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju 1 ng g^{-1} un vienam paraugam pievieno 40 μL PAH MIX 170 maisījuma ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir 2 ng g^{-1} . Pievieno 10 mL heksāna, samaisa un divas reizes ekstrahē ar 10 mL dimetilformamīda un ūdens maisījuma (9:1). Kombinētos ekstraktus atšķaida ar ūdeni līdz 1:1 tilpumam un attīra, izmantojot cietfāzes ekstrakciju. C18 kolonnas kondicionē ar 5 mL metanola un 5 mL dimetilformamīda un ūdens

maisījuma (1:1). Uznes paraugu un attīra ar 10 mL dimetilformamīda ūdens maisījuma (1:1) un ar 10 mL ūdens (uzturot vakuumu). PAO eluē ar 4 mL heksāna. Eluātu ietvaicē slāpekļa plūsmā līdz sausam. Sauso atlikumu šķīdina 50 µL cikloheksāna un veic hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS [123].

Metode Nr. 11

Piecpadsmīt stikla pudelītēs iesver pa $2,00 \pm 0,05$ g analizējamās eļļas un pievieno pa 6 mL heksāna. Paraugiem pievieno 33 µL iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju 1 ng g^{-1} un pieciem paraugiem pievieno 40 µL PAH MIX 170 maisījuma ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir 2 ng g^{-1} . Divus paraugus bez un vienu paraugu ar standartpiedevu attīra caur kolonnu, kas piepildīta ar 6 g $130 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūrā izkarsēta florisila. Divas citas pudelītes ar eļļu un vienu paraugu ar standartpiedevu attīra caur kolonnu, kas piepildīta ar 6 g izkarsēta silikagela. Divas pudelītes ar paraugu un vienu paraugu ar standartpiedevu attīra caur kolonnu, kas piepildīta ar 6 g bāziska alumīnija oksīda. Vēl divus paraugus un vienu paraugu ar standartpiedevu attīra caur kolonnu, kas piepildīta ar 6 g skāba alumīnija oksīda. Divus paraugus bez un vienu paraugu ar standartpiedevu attīra caur kolonnu, kas piepildīta ar sorbentu maisījumu – 2 g florisila, 2 g silikagela un 2 g bāziska alumīnija oksīda. Visas kolonnas pirms izmantošanas kondicionē ar 15 mL heksāna, tikai tad uznes paraugus un ļauj tiem pastāvēt 5 min. Pirmo frakciju, ko savāc, pievienojot kolonnām 15 mL heksāna, atmet, bet otrās frakcijas, ko savāc, pievienojot 40 mL heksāna, savāc apaļkolbās. Eluātu ietvaicē ar rotācijas ietvaicētāju līdz 3 mL tilpumam. Visus paraugus tālāk attīra, izmantojot cietfāzes ekstrakciju. Silikagela kolonnas (500 mg sorbenta) kondicionē ar 5 mL cikloheksāna, tad uznes paraugu, ko divas reizes eluē ar 3 mL cikloheksāna. Iegūtus šķīdumus ietvaicē slāpekļa plūsmā. Veic analīzi ar GH-MS [124].

Visās stikla mēģenēs paliek eļļains šķīdums, vienīgi paraugs, ko attīrīja ar skābo alumīnija oksīdu, ir pilnībā iztvaikojis, tāpēc to šķīdina 50 µL cikloheksāna un veic hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS, bet pārējos ekstraktus neizmanto tālākajām analīzēm ar GH-MS.

Metode Nr. 12

Divpadsmīt stikla pudelītēs iesver pa $2,00 \pm 0,05$ g analizējamās eļļas un pievieno pa 33 µL iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju 1 ng g^{-1} , četriem paraugiem pievieno 40 µL PAH MIX 170 maisījuma ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir 2 ng g^{-1} . Visās pudelītēs pielej 10 mL 1 M kālija hidroksīda šķīduma etanolā. Pudelītes trīs stundas karsē ūdens vannā $80 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūrā. Pēc trim stundām šķīdumus atdzesē līdz istabas temperatūrai un pielej 10 mL ūdens, bet pēc tam 15 mL cikloheksāna. Iegūtus šķīdumus 5 min centrifugē ar ātrumu

3000 apgr min⁻¹. Augšējo slāni pārnes stikla mēģenēs, bet atlikušo šķīdumu vēlreiz ekstrahē ar 15 mL cikloheksāna. Iegūtos ekstraktus apvieno tālākai filtrēšanai caur bezūdens nātrija sulfātu. Filtrātus ietvaicē ar rotācijas ietvaicētāju. Divus analizējamus paraugus un vienu paraugu ar standartpiedevu atšķaida ar 3 mL heksāna un attīra, izmantojot cietfāzes ekstrakciju. Silikagela kolonnas vispirms kondicionē ar 4 mL dihlormetāna un pēc tam ar 4 mL heksāna dihlormetāna maisījuma (1:1), tad uznes paraugu, ko eluē stikla mēģenēs ar 4 mL heksāna dihlormetāna maisījuma (1:1). Nākamais divus paraugus un vienu paraugu ar standartpiedevu izšķīdina 3 mL heksāna un attīra, izmantojot cietfāzes ekstrakciju. Florisila kolonnas kondicionē vispirms ar 4 mL dihlormetāna un pēc tam ar 4 mL heksāna dihlormetāna maisījuma (1:1), tad uznes paraugus, ko eluē stikla mēģenēs ar 4 mL heksāna dihlormetāna maisījuma (1:1). Divus citus paraugus un vienu paraugu ar standartpiedevu izšķīdina 3 mL acetonitrila un attīra, izmantojot cietfāzes ekstrakciju. Silikagela kolonnas kondicionē ar 5 mL acetonitrila, tad uznes paraugus, ko eluē stikla mēģenēs ar 5 mL acetonitrila. Pēdējos divus paraugus un paraugu ar standartpiedevu izšķīdina 3 mL acetonitrila un attīra, izmantojot cietfāzes ekstrakciju. Florisila kolonnas kondicionē ar 5 mL acetonitrila, tad uznes paraugus un eluē tos stikla mēģenēs ar 5 mL acetonitrila. Visas stikla mēģenes ar eluēto šķīdumu ietvaicē sausas, pievieno 50 µL cikloheksāna un veic hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS [17, 118].

Paraugus stikla mēģenēs neizdevās ietvaicēt līdz sausam atlikumam, tāpēc tālāko analīzi ar GH-MS neveic.

Metode Nr. 13

Stikla pudelītēs iesver pa $2,00 \pm 0,05$ g eļļas un pievieno pa 33 µL iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju 1 ng g^{-1} un vienam paraugam pievieno 40 µL PAH MIX 170 ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir 2 ng g^{-1} . Pievieno katrai 10 mL petrolētera. Pudelīšu saturu uznes uz kolonnām, kas pildītas ar 10 g aktivēta silikagela (karsēts 16 stundas $130 \text{ }^\circ\text{C}$ un atdzesēts 10 min pirms lietošanas) un 10 g bezūdens nātrija sulfāta. PAO eluē no kolonnām ar 100 mL toluola un petrolētera maisījuma (2:1) un alikvotu daļu eluāta ietvaicē ar rotācijas ietvaicētāju līdz sausam, bet atlikumu izšķīdina 50 µL cikloheksāna. Tālāk veic hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS [2].

Ar rotācijas ietvaicētāju neizdevās paraugu ietvaicēt sausu, paliek liels eļļas daudzums, tāpēc tālāk PAO noteikšanu neveic.

Metode Nr. 14

Stikla mēģenēs iesver pa $1,60 \pm 0,05$ g eļļas un pievieno pa 33 µL iekšējo standartšķīdumu

maisījuma ar masas koncentrāciju 1 ng g^{-1} un vienam paraugam pievieno $40 \text{ }\mu\text{L}$ PAH MIX 170 ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng }\mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir 2 ng g^{-1} . Visās mēģenēs pievieno cikloheksāna un etilacetāta maisījumu (1:1) līdz 8 mL tilpumam un attīra, izmantojot gēlfiltrācijas hromatogrāfiju. Iegūtos šķīdumus kvantitatīvi pārnes apaļkolbās un ietvaicē sausus ar rotācijas ietvaicētāju. Tad PAO izšķīdina $50 \text{ }\mu\text{L}$ cikloheksāna un veic hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS.

Metode Nr. 15

Četrās stikla pudelītēs iesver pa $2,00 \pm 0,05 \text{ g}$ analizējamās eļļas un pievieno pa $33 \text{ }\mu\text{L}$ iekšējo standartšķīdumu maisījuma ar masas koncentrāciju 1 ng g^{-1} , bet vienam paraugam pievieno $40 \text{ }\mu\text{L}$ PAH MIX 170 ar masas koncentrāciju $0,1 \text{ ng }\mu\text{L}^{-1}$. Beigu masas koncentrācija ir 2 ng g^{-1} . Visās pudelītēs pievieno pa 10 mL acetonitrila un acetona maisījuma (3:2), samaisa un centrifugē 10 min ar ātrumu $5000 \text{ apgr min}^{-1}$. Organisko slāni atdala un ekstrakciju atkārtο vēl divas reizes. Visus ekstraktus apvieno un ietvaicē ūdens vannā slāpekļa plūsmā līdz 2 mL . Veic cietfāzes ekstrakciju, izmantojot 6 mL C18 (500 mg) kolonnas. Kolonnas piecas reizes kondicionē ar 3 mL metanola un acetonitrila maisījuma (1:1), pēc tam piecas reizes ar 3 mL acetonitrila un acetona maisījuma (3:2). Uz kolonnām uznes 2 mL parauga, ko eluē trīs reizes ar 4 mL acetonitrila acetona maisījuma (3:2). Eluātus ietvaicē ūdens vannā slāpekļa plūsmā līdz 1 mL un veic cietfāzes ekstrakciju ar 6 mL florisila (1000 mg) kolonnām. Sākumā kolonnas kondicionē piecas reizes ar $2,5 \text{ mL}$ heksāna un dihlormetāna maisījuma (3:1), tad uznes paraugus, ko eluē četras reizes ar $2,5 \text{ mL}$ heksāna un dihlormetāna maisījuma (3:1). Iegūtos eluātus ietvaicē ūdens vannā slāpekļa plūsmā līdz sausam, tad sauso atlikumu šķīdina $50 \text{ }\mu\text{L}$ cikloheksāna, un iegūto šķīdumu pārnes automātiskās parauga padeves pudeļu ieliktņos. Veic hromatogrāfisko analīzi ar GH-MS [125].

2.7. Gāzu hromatogrāfijas - masspektrometrijas analīzes apstākļi

Kolonnas: $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm}$ AT – 5 ar sorbenta slāni $0,25 \text{ }\mu\text{m}$ un *Zebron ZB-50* $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm}$ ar sorbenta slāni $0,25 \text{ }\mu\text{m}$ (ID Nr. 16090).

Injekcijas tilpums: $1 \text{ }\mu\text{L}$.

Temperatūra: GH-MS pārejā – $280 \text{ }^\circ\text{C}$;

Injektorā – $280 \text{ }^\circ\text{C}$ (plūsmas dalīšana 1:5).

Nēsējgāze: hēlijs ar plūsmas ātrumu $1,2 \text{ mL min}^{-1}$.

Masspektrometrs: elektronu enerģija – 70 eV , spriegums uz elektroda – 1940 V .

2.1. tabula

Gāzu hromatogrāfa temperatūras programma (lietojot AT-5 kolonnu)

Sākuma temp., °C	Beigu temp., °C	Izvērses ātrums, °C min ⁻¹	Izturēšanas laiks, min	Kopējais laiks, min
120	120	-	1	1
120	250	15	13	22,67
250	280	20	1	25,17
280	300	35	20	45,74

2.2. tabula

Gāzu hromatogrāfa temperatūras programma (lietojot Zebron ZB-50 kolonnu)

Sākuma temp., °C	Beigu temp., °C	Izvērses ātrums, °C min ⁻¹	Izturēšanas laiks, min	Kopējais laiks, min
80	265	15	0	12,33
265	290	5	5	22,33
290	330	20	15	39,33

Kā redzams no 2.1 tabulas un 2.2. tabulas datiem, ar otro kolonnu PAO analīzes laiks ir nedaudz īsāks, un būtiska priekšrocība tai ir tāda, ka tiek atdalīti trīs benzo fluorantēni, kas nebija iespējams pirmās kolonnas gadījumā. Rutīnas analīzēm šobrīd „BIOR” laboratorijā tiek izmantota tikai *Zebron ZB-50* kolonna.

Pētījumu sākumā un arī rutīnas analīzēm tika izmantoti tikai benzo(a)pirēna un krizēna deiterētie iekšējie standartšķīdumi, bet, lai uzlabotu PAO noteikšanas precizitāti, tika iegādāti vēl citi pieejamie deiterētie standartšķīdumi. No 2.3. un 2.4. tabulām redzams, ka, izmantojot *Zebron ZB-50* kolonnu, ir palielinājies skenējamo jonu daudzums un līdz ar to arī detektēšanas intervāls.

2.3. tabula

Masspektrometra parametri, lietojot elektronu triecienu jonizācijas detektoru (lietojot AT-5 kolonnu)

Detektēšanas intervāls, min	Joni skenēšanai SIM režīmā, Da
6 – 20,00	216, 226, 228, 240, 242
20,01 – 32,00	250, 252, 264, 276, 278
sākot ar 32,01	302

2.4. tabula

Masspektrometra parametri, lietojot elektronu triecienu jonizācijas detektoru (lietojot *Zebron ZB-50* kolonnu)

Detektēšanas intervāls, min	Joni skenēšanai SIM režīmā, Da
6,00 – 16,59	216, 226, 228, 240
16,60 – 17,59	242
18,00 – 22,59	250, 252, 264
23,00 – 27,59	276, 278, 288
sākot ar 28,00	302, 316

2.5. un 2.6. tabulās var redzēt katra savienojuma izdalīšanas laiku. Salīdzinot nosakāmo komponentu skaitu, *AT-5* kolonnas gadījumā benzo(b)fluorantēns un benzo(j)fluorantēns detektējams kā viena smaile, bet *Zebron-50* kolonna jau spēj atdalīt šos savienojumus. Redzam arī to, ka ir papildinājies deiterēto savienojumu klāsts *Zebron-50* kolonnas gadījumā.

2.5. tabula

Savienojumu masspektrometriskie raksturlielumi (lietojot *AT-5* kolonnu)

Savienojums	Masspektra bāzes smaile, Da	Izdalīšanas laiks, min
Krizēns – d12	240	14,94
Ciklopenta(c,d)pirēns	226	14,93
Benzo(a)antracēns	228	14,94
Krizēns	228	15,10
5-Metilkrizēns	242	17,51
Benzo(b+j)fluorantēns	252	21,98
Benzo(k)fluorantēns	252	22,16
Benzo(a)pirēns – d12	264	24,16
Benzo(a)pirēns	252	24,27
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	276	28,73
Dibenzo(a,h)antracēns	278	28,85
Benzo(g,h,i)perilēns	276	29,80
Dibenzo(a,l)pirēns	302	35,66
Dibenzo(a,e)pirēns	302	38,26
Dibenzo(a,i)pirēns	302	39,35
Dibenzo(a,h)pirēns	302	39,89

Savienojumu masspektrometriskie raksturlielumi (lietojot Zebron ZB-50 kolonnu)

Savienojums	Masspektra bāzes smaile, Da	Izdalīšanas laiks, min
Benzo(a)antracēns – d12	240	15,68
Ciklopenta(c,d)pirēns	226	15,75
Benzo(a)antracēns	228	15,75
Krizēns – d12	240	15,88
Krizēns	228	15,96
5-Metilkrizēns	242	17,18
Benzo(b)fluorantēns – d12	264	19,17
Benzo(b)fluorantēns	252	19,27
Benzo(j)fluorantēns	252	19,36
Benzo(k)fluorantēns – d12	264	19,27
Benzo(k)fluorantēns	252	19,46
Benzo(a)pirēns – d12	264	20,91
Benzo(a)pirēns	252	21,04
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns – d12	288	25,10
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	276	25,17
Dibenzo(a,h)antracēns	278	25,16
Benzo(g,h,i)perilēns – d12	288	26,07
Benzo(g,h,i)perilēns	276	26,16
Dibenzo(a,i)pirēns – d14	316	32,59
Dibenzo(a,l)pirēns	302	30,40
Dibenzo(a,e)pirēns	302	31,96
Dibenzo(a,i)pirēns	302	32,81
Dibenzo(a,h)pirēns	302	33,32

2.8. Gāzu hromatogrāfa – augstas izšķirtspējas masspektrometra analīzes apstākļi

Pētījumā tika lietots augstas izšķiršanas spējas masu selektīvs detektors (*AutoSpec Premier, Mycromass technologies*), kas savienots ar *Agilent Technologies* gāzu hromatogrāfu (*7683B Series*).

Gāzu hromatogrāfijas kolonna: *RxiTM-17* 30 m × 0,25 mm fāzes slānis 0,25 μm.

Injekcijas tilpums: 1 μL.

Temperatūra: Injektorā – 300 °C (bez plūsmas dalīšanas).

Nesējgāze: hēlijs, ar plūsmas ātrumu 1 mL min⁻¹.

Kopējais analīzes laiks: 44 min.

Izmantojot šo iekārtu, tika lietots arī cits temperatūras gradients (skat. 2.7. tabulu).

2.7. tabula

Gāzu hromatogrāfa – augstas izšķirtspējas masspektrometra temperatūras programma

Sākuma temp., °C	Beigu temp., °C	Izvērzes ātrums, °C min ⁻¹	Izturēšanas laiks, min
90	90	-	1
90	215	25	0,5
215	235	4	0
235	280	15	0
280	320	4	20

Augstas izšķirtspējas masspektrometrijā tika uzdotas precīzākas molekulasmasas jonu skanēšanai (2.8. tabula).

2.8. tabula

Augstas izšķirtspējas masspektrometra parametri

Detektēšanas intervāls, min	Joni skanēšanai SIM režīmā, Da
15,00 – 19,00	204,99 – 242,11
19,01 – 23,00	242,99 – 264,17
23,01 – 30,00	268,98 – 288,17
30,01 – 40,00	292,98 – 330,98

2.9. tabulā redzams, ka masspektra bāzes smaile ir uzdots ar četriem zīmīgajiem cipariem.

Masspektrometriskie raksturlielumi GH-AIMS metodei PAO detektēšanai

Savienojums	Masspektra bāzes smaile, Da	Izdalīšanas laiks, min
Benzo(a)antracēns – d12	240,1692	16,06
Ciklopenta(c,d)pirēns	226,0783	16,14
Benzo(a)antracēns	228,0939	16,13
Krizēns – d12	240,1692	16,31
Krizēns	228,0939	16,40
5-Metilkrizēns	242,1096	17,67
Benzo(b)fluorantēns – d12	264,1692	19,42
Benzo(b)fluorantēns	252,0939	19,52
Benzo(k)fluorantēns – d12	264,1692	19,53
Benzo(k)fluorantēns	252,0939	19,60
Benzo(j)fluorantēns	252,0939	19,75
Benzo(a)pirēns – d12	264,1692	20,89
Benzo(a)pirēns	252,0939	20,99
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns – d12	288,1692	24,78
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	276,0939	24,88
Dibenzo(a,h)antracēns	278,1096	24,92
Benzo(g,h,i)perilēns – d12	288,1692	26,14
Benzo(g,h,i)perilēns	276,0939	26,25
Dibenzo(a,i)pirēns – d14	310,1598	35,47
Dibenzo(a,l)pirēns	302,1096	32,45
Dibenzo(a,e)pirēns	302,1096	34,36
Dibenzo(a,i)pirēns	302,1096	35,74
Dibenzo(a,h)pirēns	302,1096	36,64

2.9. UEŠH-MS-MS analīzes apstākļi

PAO pētījumiem tika lietots ultraefektīvais šķidrums hromatogrāfs *Waters Acquity Ultra Performance LC*, kas savienots ar *AB Applied Biosystems MDS Analytical Technologies AB Sciex Qtrap 5500*.

Pētījumos izmantotās kolonnas:

- *Phenomenex, Kinetex C18 50 mm × 3 mm*, daļiņu izmērs 1,7 μm;
- *Phenomenex, Kinetex C18 100 mm × 4,6 mm*, daļiņu izmērs 2,6 μm;

- *Phenomenex, Luna Phenyl-Hexyl* 150 mm × 4,6 mm, daļiņu izmērs 5 μm.
- Kustīgās fāzes: A: ūdens un B: acetonitrils gradienta režīmā (2.10. tabula).

2.10. tabula

**Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanā
izmantotais gradienta režīms**

Laiks, min	Kustīgā fāze A, %	Kustīgā fāze B, %
0	50	50
5	30	70
8	40	60
10	0	100
15	50	50

Eluenta plūsmas ātrums: 1,0 mL min⁻¹.

Parauga injekcijas tilpums: 10 μL.

Kopējais analīzes laiks: 15 minūtes.

MS apstākļi:

Jonu avots: KJAS, pozitīvajā polaritātē, lineārais jonu slazds.

Izsmidzināšanas strāva: 2,0 μA.

Jonu avota temperatūra: 450 °C.

Jonu avota gāzes spiediens: 60 psi (4,14 bar).

Aizsarggāzes spiediens: 45 psi (3,10 bar).

Ieejas potenciāls: 10 V.

Masspektrometrijas apstākļi PAO4 noteikšanai ar UEŠH-MS-MS

Savienojums	Jonu pārejas	Deklāsterēšanas potenciāls, V	Sadursmju enerģija, V	Sadursmju šūnas ieejas potenciāls, V
Benzo(a)antracēns	228>226 228>202	50	55	16
Krizēns	228>226 228>202	50	55	16
Benzo(a)pirēns	252>250 252>226	50	60	16
Benzo(b)fluorantēns	252>250 252>226	50	60	16
Benzo(a)pirēns – d12	264>260	50	65	16
Benzo(b)fluorantēns – d12	264>260	50	65	16
Benzo(a)antracēns – d12	240>236	50	60	16
Krizēns – d12	240>236	50	60	16

2.10. Validācijas prasības policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanai eļļās

Jebkurā laboratorijā ir jāpierāda, ka metode darbojas kvalitātes sistēmas ietvaros, ir tehniski kompetenta un ir spējīga dot tehniski pamatotus rezultātus. ISO/IEC 17025 standarta trīs galvenie pamatakmeņi ir metodiku validēšana, rezultātu izsekojamība un rezultātu nenoteiktība. Jādod arī precizitātes jeb atkārtojamības raksturojums. Metožu validācijas principi palīdz efektīvāk laboratorijā adaptēt jau izstrādātās standartmetodes, kā arī jaunizstrādātās metodes. Validēšana ir metodes veiktspējas pārbaude. Šajā pārbaudē noskaidro, vai apstākļos, kādos metode tiks lietota, iegūs pareizus rezultātus vai ne. Validēšanu veic, analizējot maisījumu, kura sastāvs ir tāds pats vai arī pēc iespējas tuvāks tā maisījuma sastāvam, kas būs jāanalizē, lietojot pārbaudāmo noteikšanas metodi. Metodes validēšanā svarīgi ir iekļaut visu matricas veidu un visa koncentrācijas diapazona validēšanu.

Validēšanas procesā izmanto references materiālus, kā arī tukšos mērījumus. Validēšanai lietojamo maisījumu pagatavošanai izmanto nosakāmās savienojumu standartvielas vai standartparaugus [147]. Validēšanas procesā iesaka lietot nenoteiktības novērtēšanu, mērījumus ar sertificētu references materiālu un piedalīšanos starptautiskajās laboratoriju rezultātu salīdzināšanas

programmās.

Pilnīga metodes validācija prasa dziļas zināšanas par testēšanas metodi, tās principu, fizikālajiem un ķīmiskajiem procesiem, kas notiek analīzes gaitā, vides faktoru ietekmi, kā arī līdzekļus un laiku. Vislielākos resursus, kvalifikāciju un laiku prasa dažādu matricas efektu novērtēšana, jo jāveic liels skaits eksperimentu, kas īpaši aktuāli ir komplicētām metodēm ar lielu skaitu operāciju. Katras metodes validācijas gaitā rodas problēmas, tomēr pārsvarā grūtākais posms ir matricas un traucējošo vielu ietekmes novērtēšana.

Pārbaudes kritēriji validēšanas procesā (metodes validācija veikta atbilstoši prasībām, nosakot šādus metodes raksturlielumus) – selektivitāte, specifiskums, lineāritāte, detektēšanas robeža, noteikšanas robeža, jutība, atgūstamība, atkārtojamība, robustums (matricas un ārējo faktoru ietekme), reproducējamība, nenoteiktība, izsekojamība, precizitāte, patiesums, pareizība.

2.12. tabula

Validācijas kritēriji benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna analīzes metožu izpildes kritēriji noteikšanai eļļā [75]

Validācijas parametrs	Validācijas prasības
Selektivitāte	PAO hromatogrāfiskās smailes nedrīkst pārklāties ar matricas sastāvdaļu smailēm
Linearitāte	Korelācijas koeficientiem (R^2) visu savienojumu kalibrēšanas grafikiem ir jābūt $> 0,996$
Kvalitatīvās un kvantitatīvās noteikšanas robeža	PAO kvalitatīvās noteikšanas robežai pārtikas produktu testēšanā jābūt zem $0,30 \mu\text{g kg}^{-1}$, kvantitatīvās noteikšanas robežai $< 0,90 \mu\text{g kg}^{-1}$
Atgūstamība	50 – 120 %
Precizitāte	$\pm 20 \%$; HORRATr vai HORRATR vērtības, kas mazākas par 2
Pareizība	Starplaboratoriju testēšanas programmas rezultātu z - kritērijam jābūt < 2

$\text{HORRATr} = \text{novērotā RSDr vērtība, dalīta ar RSDr vērtību, kas aprēķināta no Horvica vienādojuma, izmantojot pieņēmumu } r = 0,66R. \text{ Horvica vienādojums } \sigma_H = 0,02c^{0,8495}. \text{ HORRATR} = \text{novērotā RSDR vērtība, dalīta ar RSDR vērtību, kas aprēķināta no Horvica vienādojuma [148].$

Detektēšanas sistēmas lineāritāte tika pārbaudīta, izmantojot standartšķidrumus ar 5 dažādām koncentrācijām.

Selektivitātes pārbaudei tika analizēts katras matricas tukšais paraugs.

Jutība ir svarīgākais šīs analītiskās metodes raksturlielums. Noteikšanas metodes jutība tika

aprēķināta no standartpiedevas hromatogrammas, izmantojot signāla attiecību pret troksni 3:1.

Reproducējamības pārbaudei katrs savienojums tika pievienots matricai trīs dažādos līmeņos un analizēts trīs dažādās dienās pa sešiem paralēliem atkārtojumiem. Rezultāti iegūti, izmantojot attiecīgās savienojumu grupas iekšējo standartpiedevu.

Atgūstamības parametra pārbaudei tika salīdzināta piedevas iegūtā koncentrācija ar kalibrēšanu uz matricas un standartvielām, un izteikta procentos.

Plašu atgūstamības intervālu var izskaidrot ar diviem faktoriem:

1. Analizējamo savienojumu zudumi paraugu sagatavošanas procesā (zem 100 %).
2. Matricas efekts, kas pastiprina savienojumu analītisko signālu (virs 100 %).

3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

3.1. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu veidošanās dažādu tehnoloģisko procesu ietekmē

Pētījuma ietvaros tika skatīti kūpināšanas tehnoloģiskie parametri – kūpināšanas ilgums, kūpinātās zivju produkcijas PAO izmaiņas nedēļas laikā pēc krāsns tīrīšanas, kūpinātās zivju produkcijas PAO izmaiņas atkarībā no novietojuma uz rāmja, PAO izmaiņas kūpināšanas procesā, izmantojot ūdens filtru, un kā PAO saturu ietekmē skaidu mitrums. Nosakot PAO koncentrāciju dažādos pārtikas paraugos, tika apkopoti rezultāti par 5 zivju pārstrādes uzņēmumiem.

3.1.1. PAO izmaiņas pa dienām pēc krāsns tīrīšanas

Tā kā uzņēmums Nr.1 nestrādā piecas darba dienas nedēļā, pētījumā par PAO satura izmaiņām nedēļas laikā pēc krāsns tīrīšanas tika ieviesta korekcija – 3 paralēli paraugi tika ņemti četrās dienās. Tie tika ņemti no viena rāmja, no vienas vietas, bet dažādos laikos (skat. 3.1. tabulu).

3.1. tabula

PAO izmaiņas nedēļas laikā kūpinātās zivīs (n=3) (uzņēmums Nr.1)

Diena pēc krāsns tīrīšanas	Vidējais BaP saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$	PAO4 summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	15 PAO summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$
1.diena	$3,4 \pm 0,7$	$26,1 \pm 5,2$	$45,3 \pm 9,1$
2.diena	$9,8 \pm 1,7$	$70,6 \pm 14,1$	$124,9 \pm 25,0$
3.diena	$9,2 \pm 1,8$	$66,9 \pm 13,4$	$121,0 \pm 24,2$
4.diena	$22,0 \pm 4,4$	$132,9 \pm 26,6$	$241,5 \pm 48,3$

PAO4 summa - benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna summa

Atšķirībā no citiem uzņēmumiem, šeit nav novērojamas PAO satura svārstības četru dienu laikā pēc krāsns tīrīšanas, bet gan ir novērojama tendence PAO saturam palielināties.

Uzņēmums Nr.2 kūpināšanu veic nepārtrauktas darbības tuneļtipa krāsniņos trijos etapos: apžāvēšana, vārīšana un apdūmošana. Dūmu ražošanai izmanto alkšņu malkas šķeldu. Tiek pievadīts papildus tvaiks, zivju ādiņas elastībai. Paraugu atlase notika katru dienu nedēļas laikā vienā un tajā pašā laikā un no vienas un tās pašas vietas tunelī.

Vispirms tika analizēti zivju pusfabrikāti, lai izvērtētu, kā notiek PAO satura izmaiņas nedēļas laikā pēc krāsns tīrīšanas; iegūtos rezultātus var aplūkot 3.2. tabulā.

3.2. tabula

**PAO izmaiņas nedēļas laikā kūpinātās zivīs (n=3)(uzņēmums Nr.2);
kūpināšanas temperatūra no 100 – 120 °C, laiks 5 minūtes, tvaika
spiediens 0,3 atm, mitrums gatavajam produktam 60 – 67 %**

Diena pēc krāsns tīrīšanas	Vidējais BaP saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$	PAO4 summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	15 PAO summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$
1.diena	5,6 ± 1,1	31,0 ± 6,2	52,7 ± 10,5
2.diena	8,5 ± 1,7	47,2 ± 9,4	92,3 ± 18,5
3.diena	8,5 ± 1,7	47,9 ± 9,6	85,7 ± 17,1
4.diena	7,3 ± 1,5	46,0 ± 9,2	83,3 ± 16,7
5.diena	5,9 ± 1,2	33,4 ± 6,7	59,1 ± 11,82

PAO4 summa - benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna summa

No iegūtajiem rezultātiem redzams, ka nedēļas laikā notiek PAO satura svārstības. Pirmajā un piektajā dienā BaP saturs ir līdzīgs, un pieaugums novērojams tieši nedēļas vidū.

Uzņēmumā Nr.3 paraugi tika ņemti piecas dienas pēc krāsns tīrīšanas, katru dienu trīs paralēli paraugi no vienas un tās pašas vietas, bet atšķirīgos laikos, t.i., dienas laikā (skat. 3.3. tabulu).

3.3. tabula

**PAO izmaiņas nedēļas laikā kūpinātās zivīs (n=3) (uzņēmums Nr.3);
kūpināšanas režīms 330 – 425 sekundes, temperatūra no 119 – 133 °C**

Diena pēc krāsns tīrīšanas	Vidējais BaP saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$	PAO4 summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	15 PAO summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$
1.diena	4,3 ± 0,9	45,9 ± 9,2	82,2 ± 16,4
2.diena	6,1 ± 1,2	52,2 ± 10,4	93,3 ± 18,7
3.diena	3,3 ± 0,7	26,0 ± 5,2	46,0 ± 9,2
4.diena	4,6 ± 0,9	39,8 ± 8,0	74,3 ± 14,9
5.diena	3,0 ± 0,6	23,7 ± 4,7	41,9 ± 8,4

PAO4 summa - benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna summa

Arī šajā uzņēmumā, tāpat kā uzņēmumā Nr.2, novērojamas PAO satura svārstības nedēļas laikā. Šajā gadījumā visaugstākais BaP saturs ir otrajā dienā pēc krāsns tīrīšanas.

Paraugi uzņēmumā Nr.4 ņemti piecas dienas pēc krāsns tīrīšanas, katru dienu trīs paralēli paraugi no vienas un tās pašas vietas (skat. 3.4. tabulu).

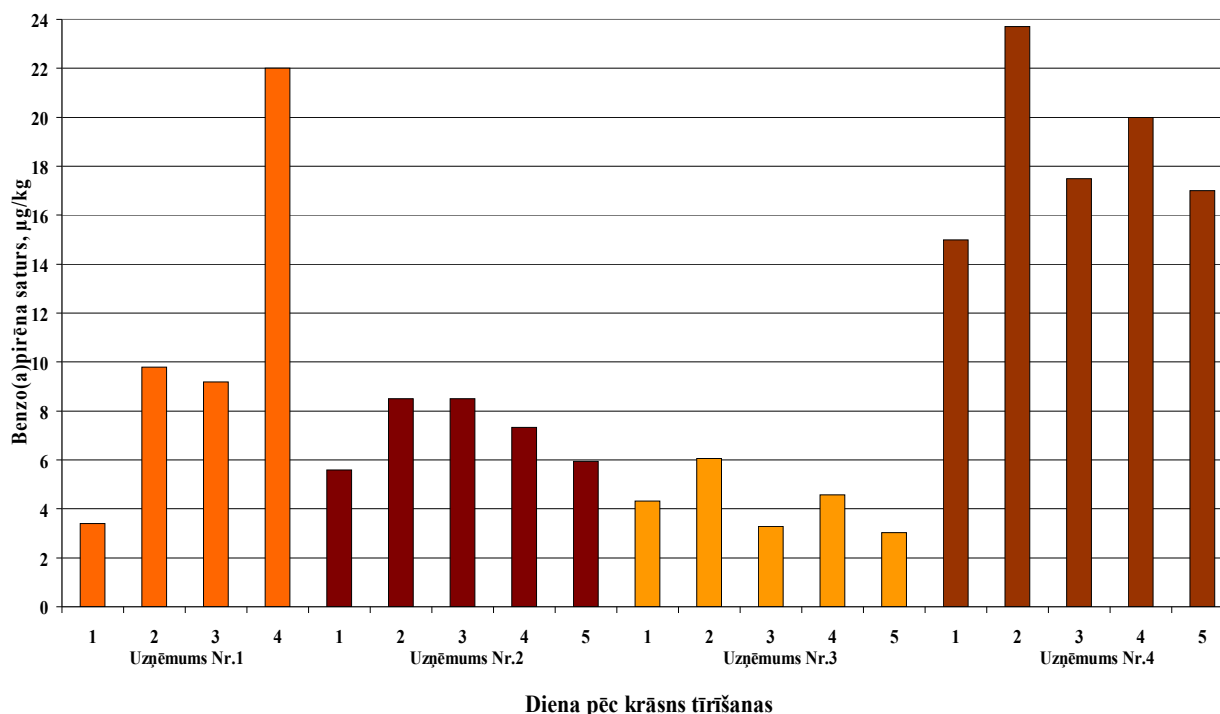
PAO izmaiņas nedēļas laikā kūpinātās zivīs (n=3) (uzņēmums Nr.4)

Diena pēc krāsns tīrīšanas	Vidējais BaP saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$	PAO4 summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	15 PAO summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$
1.diena	15,0 \pm 3,0	92,2 \pm 18,4	161,1 \pm 32,2
2.diena	23,7 \pm 4,7	137,8 \pm 27,6	229,9 \pm 46,0
3.diena	17,5 \pm 3,5	123,1 \pm 24,6	203,0 \pm 40,6
4.diena	20,0 \pm 4,0	128,8 \pm 25,8	214,9 \pm 43,0
5.diena	17,0 \pm 3,4	136,2 \pm 27,2	227,5 \pm 45,5

PAO4 summa - benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna summa

No 3.4. tabulā iegūtajiem datiem redzams, ka benzo(a)pirēna saturs kūpinātajā produkcijā ir daudz augstāks nekā citos uzņēmumos. Arī šajā gadījumā otrajā dienā pēc krāsns tīrīšanas novērots visaugstākais BaP saturs. Līdzīgi kā iepriekšējos gadījumos, arī šeit vērojamas PAO saturs svārstības nedēļas laikā.

Visu četru zivju pārstrādes uzņēmumu BaP saturs zivju pusfabrikātos ir shematiski attēlots 3.1. attēlā.



3.1. att. Benzo(a)pirēna izmaiņas pa dienām pēc krāsns tīrīšanas četros dažādos zivju pārstrādes uzņēmumos

Veikto pētījumu rezultāti liecina, ka viszemākās PAO koncentrācijas kūpinātu zivju pusfabrikātos ir pirmajā dienā pēc krāsns tīrīšanas. Tomēr tikai vienā uzņēmumā no četriem ir novērojama izteikta BaP satura palielināšanās nedēļas laikā pēc krāsns tīrīšanas.

3.1.2. PAO satura izmaiņas kūpinātos zivju pusfabrikātos atkarībā no izvietojuma tunelī

Otrs pētījums sadarbībā ar uzņēmumu Nr.2 ir veikts par PAO satura izmaiņām kūpinātās zivīs atkarībā no zivju novietojuma uz truļa, ņemot paraugus vienā reizē – no augšējā rāmja, no vidējā rāmja un no apakšējā rāmja (skat. 3.5. tabulu).

3.5. tabula

PAO izmaiņas kūpinātās zivīs (n=3) atkarībā no novietojuma uz truļa (uzņēmums Nr.2); kūpināšanas temperatūra no 125 – 145 °C, laiks 6 minūtes, tvaika spiediens 0,2 atm

Novietojums uz truļa	Vidējais BaP saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$	PAO4 summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	15 PAO summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$
augšējais rāmjs	8,3 ± 1,7	71,9 ± 14,4	121,6 ± 24,3
vidējais rāmjs	4,6 ± 0,9	51,2 ± 10,2	81,7 ± 16,3
apakšējais rāmjs	6,3 ± 1,3	66,9 ± 13,4	108,5 ± 21,7

PAO4 summa - benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna summa

Tā kā dūmu padeve šajā uzņēmumā ir no truļa augšpusē, tad arī vislielākais PAO saturs tika novērots uz augšējā rāmja novietotajās zivīs. Vismazākais PAO saturs ir zivīs, kas novietotas uz vidējā rāmja. To varētu izskaidrot ar kūpināšanas iekārtas konstrukcijas īpatnību, ka dūmi kamerā nāk no augšas un virzās uz leju un tad atkal uz augšu un uz leju utt.

Uzņēmuma Nr.1 pētījuma rezultāti par PAO izmaiņām kūpinātās zivīs atkarībā no zivju novietojuma uz truļa ir apkopoti 3.6. tabulā. Šajā uzņēmumā paraugi tika ņemti dažādos rāmjos vienā līmenī – no labās malas, pa vidu un no kreisās malas. Dūmu padeve krāsni nāk no augšpusē no trešās dūmu izejas.

3.6.tabula

PAO izmaiņas kūpinātās zivīs (n=3) atkarībā no novietojuma uz rāmja (uzņēmums Nr.1)

Novietojums uz rāmja	Vidējais BaP saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$	PAO4 summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	15 PAO summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$
1.mala	2,8 ± 0,6	21,4 ± 4,3	40,2 ± 8,0
vidus	3,8 ± 0,8	25,8 ± 5,2	47,4 ± 9,5
2.mala	5,1 ± 1,0	27,2 ± 5,4	49,4 ± 9,9

PAO4 summa - benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna summa

Iegūtie rezultāti norāda uz PAO satura palielināšanos no vienas malas uz otru, t.i., vienā malā PAO saturs ir zemāks nekā otrā malā. Šo novērojumu varētu izskaidrot ar to, ka dūmu padeve nāk pa vienu no trim dūmu atverēm, un tieši tur, kur dūmi ieiet tunelī, zivju pusfabrikātos ir augstāks PAO saturs.

Uzņēmums Nr.4 piedāvāja iespēju veikt pētījumu par PAO satura izmaiņām atkarībā no novietojuma uz rāmja, salīdzinot divu tuneļu kūpinājumu atšķirības (3.7. tabula). Dūmu padeve šajā uzņēmumā ir no truļa augšpusē.

3.7. tabula

PAO izmaiņas kūpinātās zivīs (n=3) atkarībā no novietojuma uz rāmja (uzņēmums Nr.4)

Novietojums uz rāmja	Vidējais BaP saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$		PAO4 summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$		15 PAO summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	
	1. Tunelis	2. Tunelis	1. Tunelis	2. Tunelis	1. Tunelis	2. Tunelis
augšā	24,3 ± 4,9	24,2 ± 4,8	139 ± 28	185 ± 37	236 ± 47	327 ± 65
vidū	17,5 ± 3,5	16,1 ± 3,2	121 ± 24	126 ± 25	207 ± 41	218 ± 44
apakšā	14,7 ± 2,9	15,1 ± 3,0	105 ± 21	118 ± 24	178 ± 36	208 ± 42

PAO4 summa - benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna summa

PAO saturs ir mazāks paraugos, kas atrodas uz apakšējā rāmja, bet visaugstākais PAO saturs sastopams paraugos, kas ņemti no augšējā rāmja. Šajā uzņēmumā, atšķirībā no uzņēmuma Nr.1, viszemākais PAO saturs bija paraugos, kas ņemti no apakšējā rāmja. Salīdzinot abus tuneļus, BaP saturs ir līdzīgs, savukārt PAO summa nedaudz lielāka ir otrajā tunelī kūpinātajiem pusfabrikātiem.

Uzņēmumā Nr.5 arī tika veikta paraugu ņemšana PAO satura izvērtēšanai kūpinātā zivju produkcijā atkarībā no novietojuma uz rāmja. Zivju pusfabrikāts tika kūpināts krāsnī 33 min un apžāvēts 10 minūtes (skat. 3.8. tabulu). Šis uzņēmums izmanto krāsni, kas paredzēta gaļas

kūpināšanai, bet ir pielāgota zivju kūpināšanai. Dūmi nāk no truļa augšpuses ar intervālu 1 – 2 min.

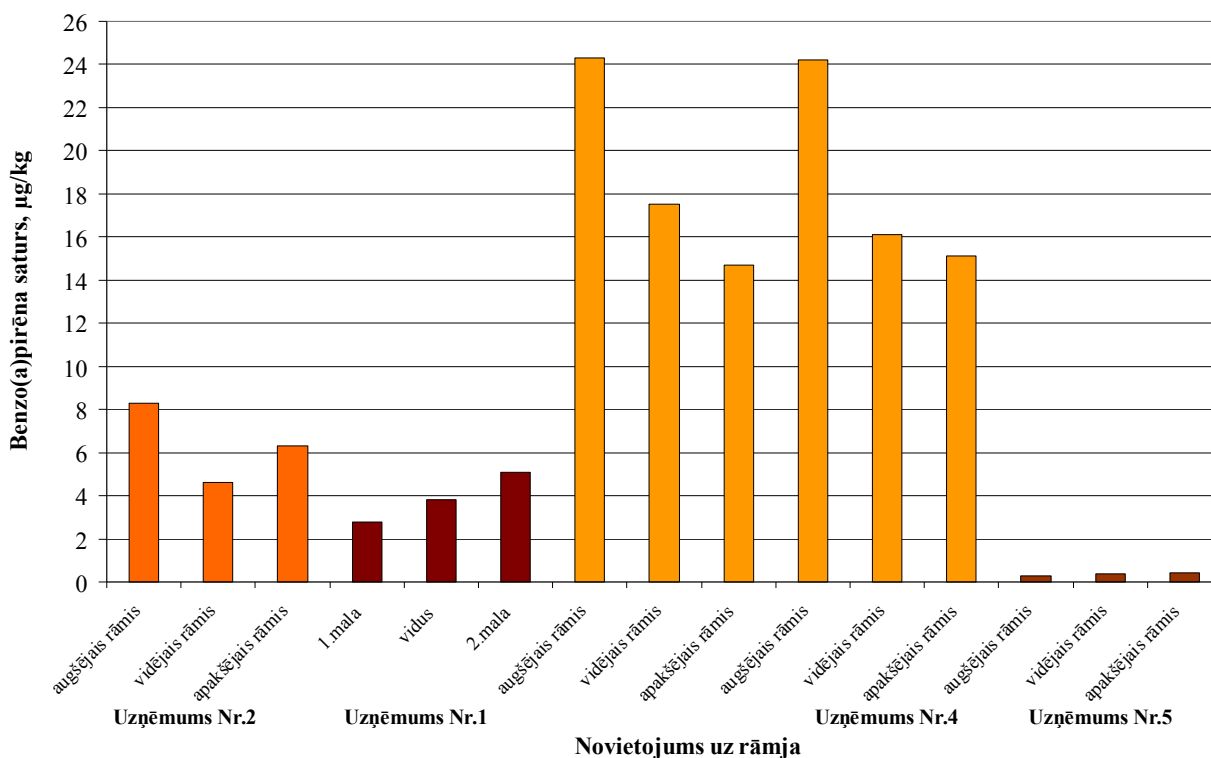
3.8. tabula

PAO satura izmaiņas kūpinātā zivju produkcijā (n=3) atkarībā no novietojuma uz rāmja (uzņēmums Nr.5)

Novietojums truļī	Vidējais BaP saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$	PAO4 summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	15 PAO summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$
augšējais rāmis	$0,26 \pm 0,05$	$2,93 \pm 0,59$	$4,75 \pm 0,95$
vidējais rāmis	$0,37 \pm 0,07$	$3,64 \pm 0,73$	$5,99 \pm 1,20$
apakšējais rāmis	$0,44 \pm 0,09$	$4,85 \pm 0,97$	$7,80 \pm 1,56$

PAO4 summa - benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna summa

Salīdzinot ar uzņēmumu Nr.2 un Nr.4, šeit BaP un citu PAO saturs ir vismazākais tieši uz augšējā rāmja, bet vislielākais uz apakšējā rāmja, kaut gan dūmi nāk no truļa augšas.



3.2. att. Benzo(a)pirēna izmaiņas kūpinātos zivju pusfabrikātos atkarībā no izvietojuma tunelī

3.2. attēlā var redzēt, ka uzņēmumā Nr.4 PAO masas koncentrācijas ir daudz lielākas, nekā citos uzņēmumos. PAO saturu ietekmē daudzi faktori, piemēram, krāsns tips, dūmu rašanās veids. Savukārt uzņēmumā Nr.5 PAO masas koncentrācijas ir zemas.

3.1.3. PAO izmaiņas eļļā – pirms un pēc sterilizēšanas

Sadarbojoties ar uzņēmumu Nr.1, tika veikts pētījums, kā PAO saturu ietekmē eļļas sterilizēšana metāla kārbās. Izvērtējot iegūtos rezultātus, būtiska atšķirība netika novērota. Pirms karsēšanas BaP vidējā koncentrācija eļļā bija $0,20 \pm 0,04 \mu\text{g kg}^{-1}$, savukārt pēc karsēšanas BaP koncentrācija – $0,19 \pm 0,04 \mu\text{g kg}^{-1}$. Varam apgalvot, ka eļļas sterilizēšana nepaaugstina PAO saturu eļļā.

3.1.4. PAO izmaiņas zivju pusfabrikātos, izmantojot kūpināšanu ar un bez ūdens filtra

Uzņēmumam Nr.1 un Nr.3 ir iespēja kūpināt zivju pusfabrikātus, izmantojot dūmu attīrīšanu ar ūdens filtru, tāpēc tika izmantota iespēja izvērtēt, kā šis process ietekmē PAO saturu zivju pusfabrikātos (skat. 3.9. tabulu). PAO koncentrācijas būtiski nemainās atkarībā no izvietošanas uz rāmja. Otrs uzņēmums, kuram ir iespēja kūpināt zivju pusfabrikātus, izmantojot ūdens filtru, ir uzņēmums Nr.3. Kūpināšanas režīms 345 sekundes, temperatūra 125 – 136 °C. Paralēli trīs paraugi ņemti vienā dienā.

3.9. tabula

Benzo(a)pirēna izmaiņas zivju pusfabrikātos (n=3) kūpināšanā, izmantojot dūmu attīrīšanu ar un bez ūdens filtra

Uzņēmums	Tehnoloģiskās izmaiņas	Novietojums uz rāmja	BaP saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$	PAO4 summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	15 PAO summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$
1	Ar ūdens filtru	vidus	$7,1 \pm 1,4$	$61,8 \pm 12,4$	$113,5 \pm 22,7$
		mala	$6,8 \pm 1,4$	$59,0 \pm 11,8$	$109,1 \pm 21,8$
	Bez ūdens filtra	vidus	$4,2 \pm 0,8$	$36,3 \pm 7,3$	$65,8 \pm 13,1$
		mala	$4,5 \pm 0,9$	$39,9 \pm 8,0$	$71,6 \pm 14,3$
3	Ar ūdens filtru		$18,4 \pm 3,7$	$107,1 \pm 21,4$	$180,6 \pm 36,1$
	Bez ūdens filtra		$17,9 \pm 3,6$	$111,3 \pm 22,3$	$182,1 \pm 36,2$

PAO4 summa - benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna summa

Valda uzskats, ka, izmantojot ūdens filtru, PAO saturs samazinās, tomēr iegūtie rezultāti liecina par citu tendenci. Izmantojot ūdens filtru, kūpināšanas procesā abos uzņēmumos BaP koncentrācijas zivju pusfabrikātos nedaudz, bet palielinās. 15 PAO summa uzņēmumā Nr.1, izmantojot filtru, palielinās, bet uzņēmumā Nr.3 paliek tai pašā līmenī. To varētu izskaidrot ar atšķirīgo ūdens filtrācijas iekārtu ietekmi. Līdz ar to ūdens filtra izmantošana ražošanas tehnoloģijas uzlabošanā nedod gaidītos rezultātus.

3.1.5. PAO izmaiņas zivju pusfabrikātos atkarībā no skaidu mitruma

Pētījums tika veikts uzņēmumā Nr.3, kurā analizētas PAO satura izmaiņas kūpinātās brētliņās, ņemot vērā skaidu mitrumu (skat. 3.10. tabulu). Paraugi tika ņemti vienā dienā, dažādos laikos.

3.10. tabula

PAO satura izmaiņas kūpinātās brētliņās (n=3), ņemot vērā skaidu mitrumu (kūpināšanas cikls ~ 5,4 min, temperatūra 119 – 134 °C)

Tehnoloģiskās izmaiņas	Vidējais BaP saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$	PAO4 summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	15 PAO summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$
Skaidas bez papildus ūdens	$7,8 \pm 1,6$	$64,1 \pm 12,8$	$102,5 \pm 20,5$
Skaidas apslapinātas ar ūdeni	$7,9 \pm 1,6$	$53,5 \pm 10,7$	$87,2 \pm 17,4$

PAO4 summa - benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna summa

Izvērtējot 3.10. tabulā iegūtos datus, grūti izdarīt secinājumus nepietiekamu datu dēļ. Tomēr redzams, ka skaidu mitrums praktiski neietekmē BaP, bet visu 15 PAO kopējais saturs nedaudz samazinās, līdz ar to skaidu mitrināšana ir izmantojama ražošanas tehnoloģiju uzlabošanā. Lai varētu skaidu mitrināšanu ražotājiem ieteikt kā uzlabojumu, būtu nepieciešami plašāki pētījumi.

3.1.6. PAO izmaiņas zivju pusfabrikātos tehnoloģisko procesu gaitā

Uzņēmumā Nr.5 tika piedāvāta iespēja izvērtēt PAO satura izmaiņas tehnoloģisko procesu gaitā. Rezultāti apkopoti 3.11. tabulā.

3.11. tabula

PAO satura izmaiņas zivju pusfabrikātos (n=3) tehnoloģisko procesu laikā (uzņēmums Nr.5); kūpināšanas cikls krāsnī ir 50 min

Tehnoloģiskie procesi	Vidējais BaP saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$	PAO4 summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	15 PAO summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$
brētliņas pēc apžāvēšanas	$1,5 \pm 0,3$	$11,4 \pm 2,3$	$18,5 \pm 3,7$
brētliņas pēc izvārīšanas	$6,0 \pm 1,2$	$45,6 \pm 9,1$	$72,9 \pm 14,6$
brētliņas pēc kūpināšanas	$6,5 \pm 1,3$	$54,2 \pm 10,8$	$86,0 \pm 17,2$
reņģes pēc kūpināšanas	$5,8 \pm 1,2$	$37,5 \pm 7,5$	$61,4 \pm 12,3$

PAO4 summa - benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna summa

Pēc 3.11. tabulas datiem varam spriest, ka ir atšķirība, vai kūpina brētliņas vai reņģes, jo kūpinātās brētliņās BaP un citu PAO saturs ir lielāks nekā kūpinātās reņģēs. To varētu izskaidrot ar zivju virsmas attiecību pret masu. Jo mazāka zivs, jo lielāks PAO saturs. Pētījuma rezultātā tika novērots, ka brētliņu vārīšanas procesā būtiski palielinās BaP un citu PAO saturs zivju pusfabrikātā,

bet kūpināšanas procesā PAO saturs pieaug nedaudz.

3.1.7. PAO izmaiņas zivju pusfabrikātos atkarībā no kūpināšanas ilguma

Uzņēmuma Nr.5 vienā no pētījumiem krāsnī tika kūpinātas svaigas brētliņas. Iegūtos rezultātus var aplūkot 3.12. tabulā.

3.12. tabula

PAO satura izmaiņas kūpinātās brētliņās (n=3) atkarībā no kūpināšanas ilguma (dūmu temperatūra 70 – 85 °C)

Temperatūra kamerā, °C	Tehnoloģiskais process, laiks (min)	Vidējais BaP saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$	PAO4 summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	15 PAO summa, $\mu\text{g kg}^{-1}$
45 – 65	apžāvēšana 60 min	0,16 ± 0,03	1,73 ± 0,35	2,78 ± 0,56
70 – 75	kūpināšana 5 min, apžāvēšana 3 min	0,19 ± 0,04	2,27 ± 0,45	3,83 ± 0,77
80 – 85	kūpināšana 5 min, apžāvēšana 3 min	0,40 ± 0,08	3,80 ± 0,76	7,98 ± 1,60
90 – 95	kūpināšana 5 min, apžāvēšana 3 min	0,46 ± 0,09	5,01 ± 1,00	8,01 ± 1,60
97	kūpināšana 5 min, apžāvēšana 3 min	0,56 ± 0,11	6,05 ± 1,21	9,61 ± 1,92

PAO4 summa - benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna summa

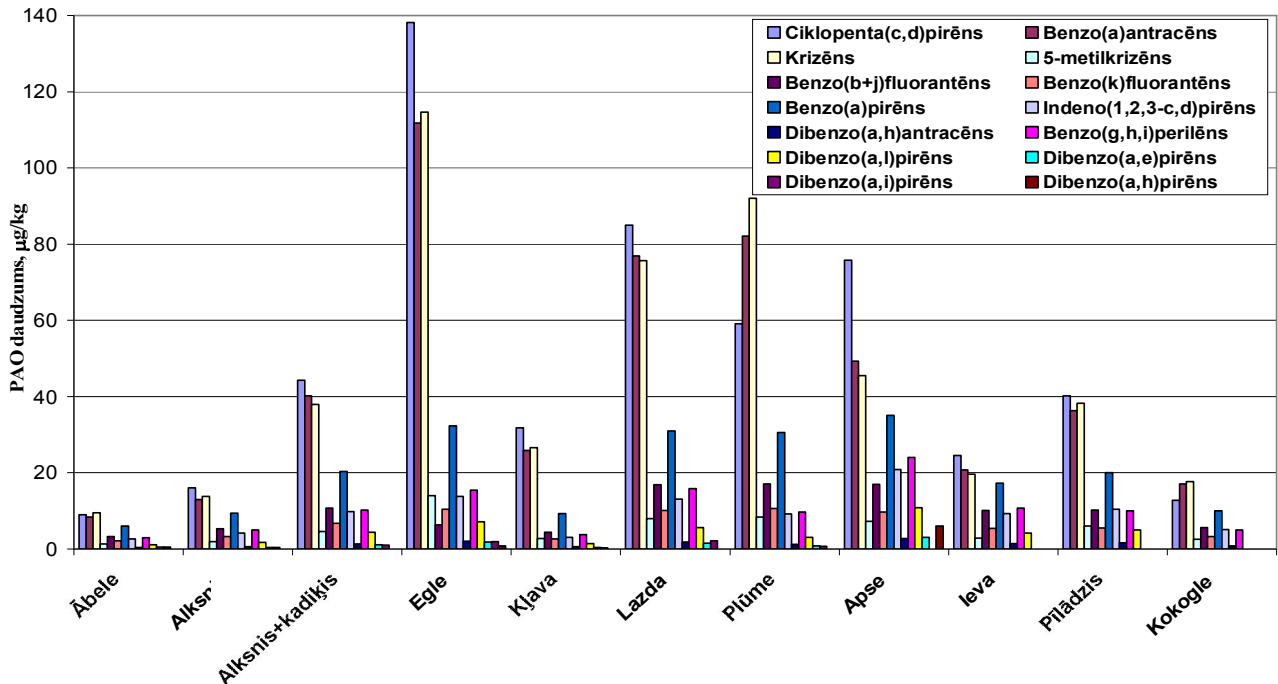
Izvērtējot iegūtos rezultātus, var apgalvot, ka, pieaugot kameras temperatūrai, pieaug BaP un citu PAO saturs. Optimālais režīms zivju pusfabrikātus kūpināšanai ir 70 – 75 °C temperatūra ar kūpināšanas laiku līdz 5 minūtēm. Ieteikums uzņēmumam būtiskai PAO samazināšanai gala produktā būtu samazināt kūpināšanas temperatūru.

3.2. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu samazināšanas iespējas kūpinātā gaļā

Pētījums veikts sadarbībā ar Latvijas Lauksaimniecības universitātes doktoranti. Ilzes Stumpes-Vīksnas promocijas darbs „Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu saturs pārtikas produktos un tā izmaiņa ražošanas tehnoloģiju ietekmē” aizstāvēts 2009. gadā. Tas izstrādāts laika posmā no 2004. – 2008. gadam Latvijas Lauksaimniecības universitātes Pārtikas tehnoloģijas fakultātē un Pārtikas un veterinārā dienesta Nacionālā diagnostikas centra Pārtikas un vides izmeklējumu laboratorijā (tagadējā zinātniskajā institūtā „BIOR”).

Kūpināšanā parasti izmanto tādu lapu koku malku kā alksnis, ābele, plūme, ķirsis, ozols, lazda, bērzs (bez mizas), kļava, osis, retāk kastanis, ieva, papele. Pagalītes tika sazāģētas, lai to vidējais izmērs būtu no 3 – 4 cm diametrā un 5 – 8 cm garumā. Par vislabāko kūpināšanai izmantojamo kurināmo tiek uzskatīta cietās koksnes malka. Tomēr pētījumā tika pārbaudīta arī skuju koku (egles, kadiķa) kurināmā ietekme uz PAO saturu kūpinātā gaļā. Pētījumā tika izmantota karstās kūpināšanas tehnoloģija (temperatūra kūpināšanas kamerā tika uzturēta 80 °C) mājas apstākļos, kūpinot gaļu 5 stundas. Latvijas laukos bieži satopamas pašgatavotas kūpinātavas, kas tiek izmantotas ģimenes vajadzībām. Izmantojot šāda tipa kūpinātavas, gandrīz vienmēr kūpinātajos produktos tiek atrastas paaugstinātas BaP koncentrācijas. Kvantitatīvais dūmu sastāvs atkarīgs ne tikai no izmantotā malkas tipa, dūmu rašanās temperatūras un skābekļa daudzuma, bet arī no dūmu attīrīšanas procedūrām, kas izmantotas tūlīt pēc dūmu ģenerēšanas (Šimko, 2005). Arī šajā pētījumā tika iegūtas augstas BaP koncentrācijas, kas pārsniedz Eiropas Savienībā noteiktās maksimāli pieļaujamās koncentrācijas. Bet šo kūpināšanas eksperimentu mērķis bija noteikt kūpināšanā izmantotā kurināmā ietekmi uz PAO saturu gaļā, nemainot kūpināšanas apstākļus.

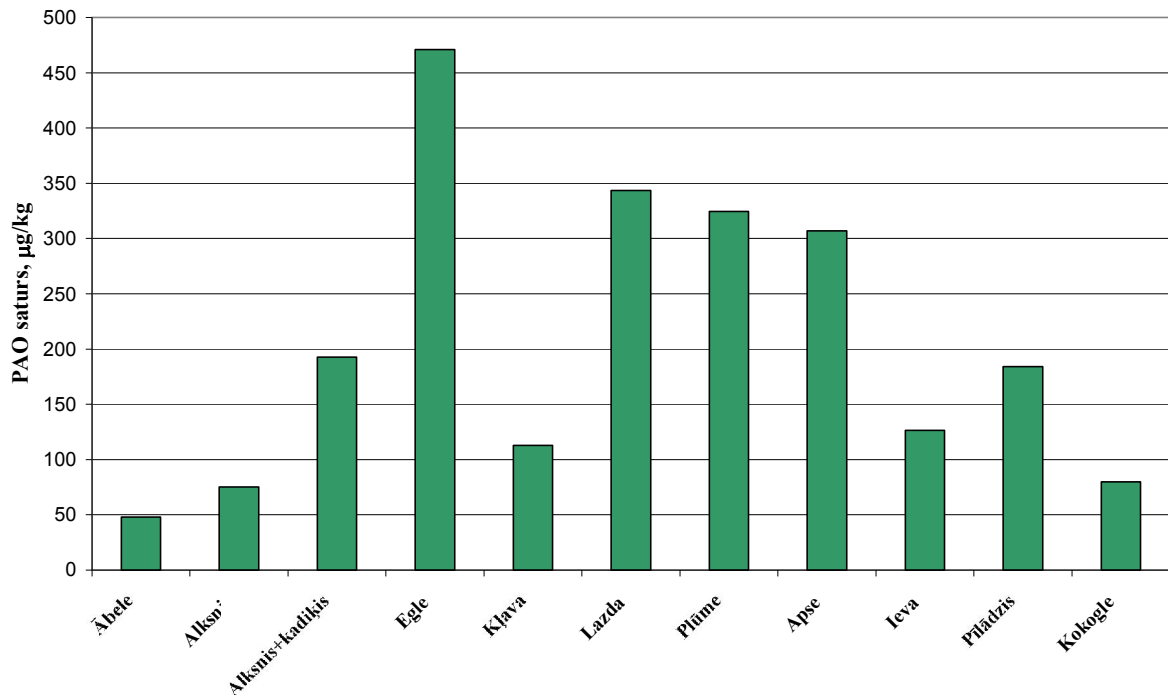
Lielākās PAO koncentrācijas ir novērojamas, kūpināšanai izmantojot egli, lazdu, plūmi un apsi. PAO koncentrāciju gaļā var samazināt, kūpināšanai lietojot ābeli, alksni un kļavu. Vismazākais BaP un arī kopējais PAO saturs tika iegūts, kūpinot ar ābeles malku, tam seko alkšņa un kļavas malka (skat. 4. pielikumu un 3.3. att.). Kaut arī BaP saturs, kūpinot ar kļavu, ir līdzīgs kā ar alksni, kopējais PAO saturs ir ievērojami lielāks. PAO pieaugums galvenokārt ir tāpēc, ka, šādi kūpinot, tika atrasts daudz augstāks ciklopenta(c,d)pirēna, benzo(a)antracēna un krizēna saturs.



3.3. att. PAO saturs kūpinātā gaļā atkarībā no izmantotās malkas veida

Sadzīvē kokogles ir ideāls kurināmais griliem, kamīniem un bārbekjū, jo nav nepieciešams sagatavot kurināmo pašiem, turklāt dažkārt tās tiek uzskatītas par mazāk kaitīgu kurināmo. Pateicoties zemaļam dūmu līmenim un augstai siltumspējai, šis kurināmais ir ideāls risinājums ēdienu gatavošanai uz atklātas uguns. Pētījumā tika pārbaudīta kokogļu ietekme (Dr. Millers SIA "Kamene") uz PAO saturu, izmantojot tās kūpināšanā. Šādi kūpinātā gaļā piesārņojums ar BaP bija līdzvērtīgs tam, ko novēro, izmantojot alkšņa malku.

Lai uzlabotu dūmu tehnoloģiskās īpašības, kūpinājumu aromātu un garšu, iesaka kūpināšanā izmantotajam kurināmajam pievienot kadiķi. Veicot šādu eksperimentu, alkšnim pievienojot kadiķa zariņus, BaP, kā arī kopējais PAO saturs palielinājās vairāk nekā 2 reizes (skat. 3.4. attēlā).



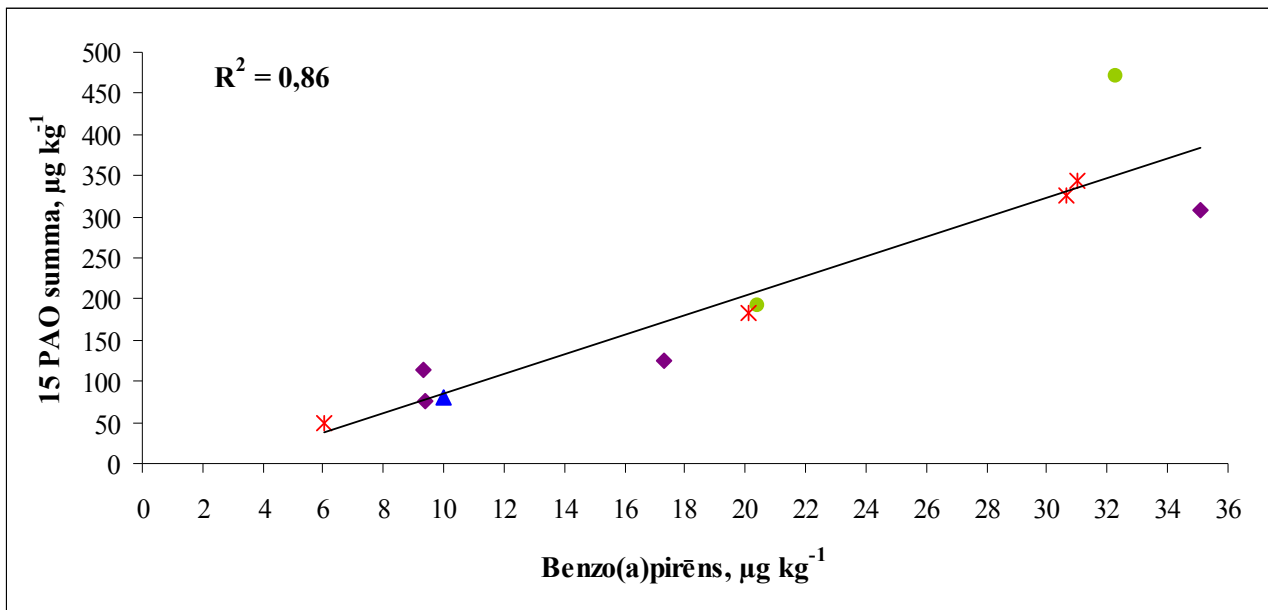
3.4. att. Kopējais PAO saturs kūpinātā gaļā atkarībā no izmantotā kurināmā

Skuju kokus nebūtu ieteicams izmantot kūpināšanā, jo produktu virskārta piesārņojas ar sodrējiem, tādējādi iegūtot tumšu krāsu un rūgtenu piegaršu, kā arī palielinās PAO saturs kūpinātajā produktā.

BaP saturs gaļā, kas kūpināta ar egli, ir 5 reizes lielāks nekā kūpinot ar ābeli. Bez tam, procentuālais BaP saturs šādi kūpinātā gaļā bija mazāks nekā izmantojot cita veida kurināmo, un tika atrasti ievērojami daudzumi citu PAO, sasniedzot 10 reizes lielāku summāro PAO piesārņojumu, kūpinot ar egli, nekā kūpināšanā izmantojot ābeli. Viens no iemesliem, kāpēc skuju kokus nevar izmantot kūpināšanā, ir sveķu veidošanās, kas varētu būt par iemeslu arī augstām PAO koncentrācijām šādi kūpinātos produktos. Iespējams, šī iemesla dēļ tika atrasts paaugstināts BaP un arī citu PAO daudzums ar plūmes malku kūpinātā gaļā, jo uz plūmes stumbra mēdz veidoties sveķi. Līdz ar to, kaut arī plūme ir lapu koks ar cietu koksni, pētījumi rāda, ka plūmi nevajadzētu izmantot kūpināšanā.

Kūpināšanā nebūtu ieteicams izmantot lazdas, plūmes, apses un egles malku, kā arī pievienot kadīķi, lai iegūtu dažādas smaržas un garšas variācijas kūpinājumiem, jo materiāli, kas satur sveķus, var veicināt intensīvu kvēpu rašanos, un līdz ar to kūpināšanas produkti piesārņojas ar PAO.

Apkopojot PAO rezultātus, lietojot dažādus malkas veidus kūpināšanai, tika novērota korelācija ($R^2 = 0,87$) starp benzo(a)pirēnu un policiklisko aromātisko ogļūdeņražu summu kūpinātā gaļā (3.5. attēls).



3.5. att. Benzo(a)pirēna un PAO summas satura korelācija kūpinātā gaļā, lietojot dažādus malkas veidus kūpināšanai (zaļie punkti – skuju koki; sarkanie krustiņi – augļkoki; zilais trīsstūris – kokogle; violetie rombi – lapu koki)

3.3. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu veidošanās dažādos ražošanas posmos

Konservos „šprotes eļļā” daļa uz zivs ādas esošā BaP pēc sterilizācijas un konservu glabāšanas laikā pāriet eļļā (skat. 3.13. tabulu, izvērsto tabulu var skatīt 5. pielikumā), līdz ar to var pieņemt, ka patērētājs faktiski ar zivīm uzņem mazāku BaP daudzumu nekā produktā kopumā. Lai to apstiprinātu, tika veikti padziļināti pētījumi.

Analizējamie paraugi atspoguļo šādus konservu ražošanas posmus:

1. izejvielas – brētliņas un reņģes;
2. kūpināts šprotu pusfabrikāts;
3. augu eļļa pirms lietošanas šprotu ražošanā;
4. šprotes eļļā – homogenizēts paraugs;
5. šprotes eļļā – eļļas frakcija;
6. šprotes eļļā – zivju frakcija.

PAO ($\mu\text{g kg}^{-1}$) saturs dažādās konservu „šprotas eļļā” frakcijās

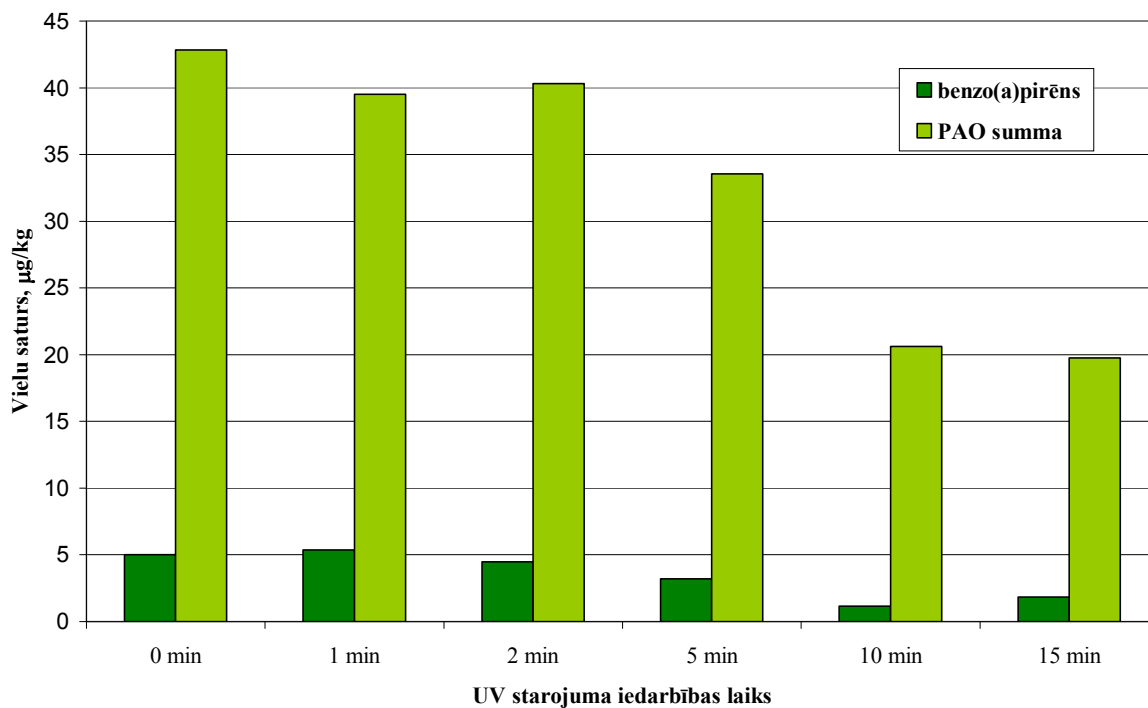
	BaA	CHR	BbF+BjF	BaP	Σ 15 PAO
svaigas zivis	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
kūpinātas zivis	2,3 \pm 0,5	1,9 \pm 0,4	1,0 \pm 0,2	1,5 \pm 0,3	11,0 \pm 2,2
šprotas eļļā	3,6 \pm 0,7	3,6 \pm 0,7	3,0 \pm 0,6	5,6 \pm 1,1	25,4 \pm 5,1
zivju frakcija	1,7 \pm 0,3	1,9 \pm 0,4	1,4 \pm 0,3	2,4 \pm 0,5	13,3 \pm 2,7
augu eļļa	0,1 \pm 0,02	0,2 \pm 0,1	n.d.	0,2 \pm 0,1	0,8 \pm 0,2
eļļas frakcija	14,9 \pm 3,0	14,6 \pm 2,9	8,3 \pm 1,7	21,0 \pm 4,2	97,6 \pm 19,5
rapšu eļļa	0,3 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	1,2 \pm 0,2	1,9 \pm 0,4	7,6 \pm 1,5
eļļas frakcija	38,3 \pm 7,7	30,8 \pm 6,2	10,4 \pm 2,1	25,0 \pm 5,0	200,5 \pm 40,1

n.d. – nav detektēts ($< 0,1 \mu\text{g kg}^{-1}$)

No iegūtajiem datiem var redzēt, ka konservu „šprotas eļļā” izejvielās PAO saturs ir mazs, bet dažādu tehnoloģisko procesu ietekmē tas palielinās vairākas reizes. BaP līmeņa paaugstināšanos gatavā produktā palielina BaP fona līmenis eļļā un BaP rašanās tehnoloģiskā procesa laikā apžāvēšanas ciklā. Patērētājiem neieteiktu izmantot uzturā eļļas frakciju konservos „šprotas eļļā”.

3.4. Ultravioletā starojuma ietekme

Sadarbojoties ar LLU doktoranti Ilzi Stumpi-Vīksnu, ir veikts pētījums par iespēju samazināt BaP saturu kūpinājumos, lietojot apstrādi ar UV starojumu. Zivis tika ievietotas UV kamerā (DRT 400, 400W) un apstarotas pie 254 nm (30 cm attālumā no UV avota) 0 – 15 min. Rezultāti rāda, ka UV starojums spēj ievērojami (līdz pat 23 % no sākuma koncentrācijas) samazināt BaP saturu kūpinājumos. Lai pārbaudītu alternatīvās BaP samazināšanas iespējas, tika pārbaudīta arī UV starojuma iedarbība uz BaP saturu. Pētījumā, kas tika veikts sadarbībā ar SIA „Gamma-A” speciālistiem, kūpinātais šprotu pusfabrikāts tika pakļauts UV starojuma iedarbībai laika intervālā no 1 līdz 15 minūtēm (skat. 3.6. att.).



3.6. att. PAO satura izmaiņas UV starojuma iedarbības rezultātā

Pētījuma rezultāti liecina, ka UV starojums spēj būtiski (no $5,0 \pm 1,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ sākumā līdz $1,2 \pm 0,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ pēc 10 minūšu apstrādes) samazināt benzo(a)pirēna un policiklisko aromātisko ogļūdeņražu daudzumu kūpinājumos.

3.14. tabula

PAO saturs ($\mu\text{g kg}^{-1}$) šprotu pusfabrikātos atkarībā no apstrādes laika (t_{UV}) UV starojumā un parauga novietojuma konteinerā

t_{UV} , min	BaA	CHR	BbF+BjF	BaP	Σ 15 PAO
0	$3,7 \pm 0,7$	$4,0 \pm 0,8$	$3,3 \pm 0,7$	$6,3 \pm 1,3$	$28,4 \pm 5,7$
5	$3,0 \pm 0,6$	$2,9 \pm 0,6$	$2,2 \pm 0,4$	$4,2 \pm 0,8$	$22,0 \pm 4,4$
15 (vidus)	$3,3 \pm 0,7$	$3,3 \pm 0,7$	$2,9 \pm 0,6$	$4,7 \pm 0,9$	$24,3 \pm 4,9$
15 (mala)	$2,6 \pm 0,5$	$2,5 \pm 0,5$	$2,8 \pm 0,6$	$4,8 \pm 1,0$	$22,0 \pm 4,4$
20	$3,3 \pm 0,7$	$3,4 \pm 0,7$	$2,9 \pm 0,6$	$4,5 \pm 0,9$	$24,2 \pm 4,8$

Otrajā pētījumā, kas apkopoti 3.14. tabulā (izvērsto tabulu skatīt 6. pielikumā), PAO izmaiņas nav tik krasas, bet samazinājums tomēr ir novērojams, un, kā redzams, apstarošanas laiks neietekmē PAO būtiskāku samazināšanos. Lai novērotu sakarību, kā apstarošanas ilgums ietekmē BaP daudzumu, tika veikts eksperiments, UV starojumam pakļaujot BaP standartvielas šķīdumu (skat. 3.15. tabulu). BaP standartšķīdums ar koncentrāciju $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ tika uzņemts uz Petri trauciņa, ievietots UV kamerā un apstarots 0 – 30 min.

3.15. tabula

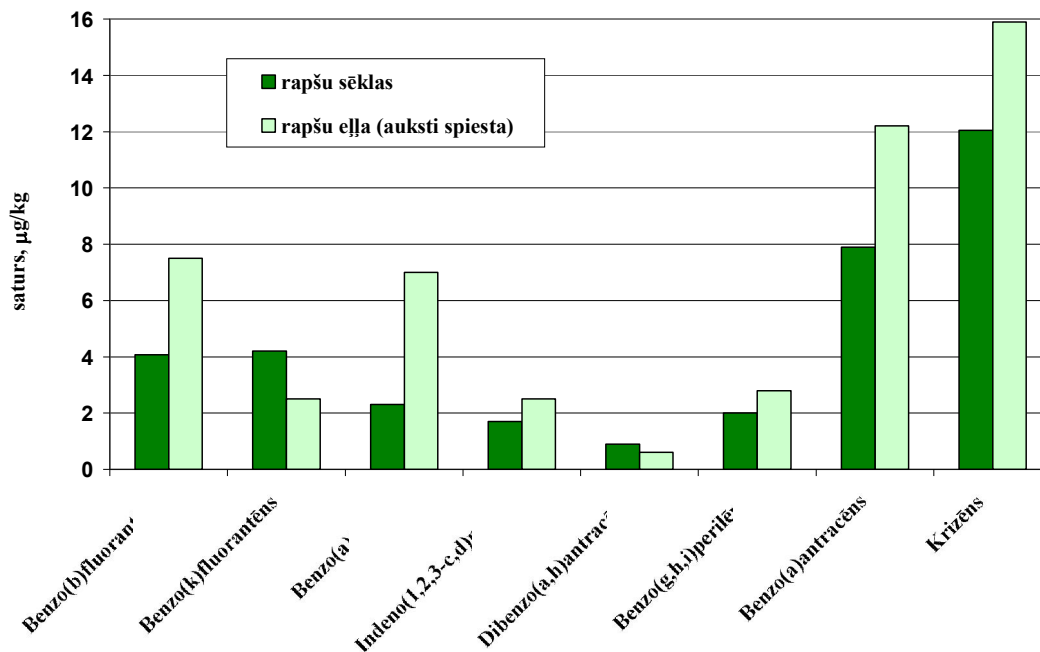
**BaP standartšķīduma apstarošana
ar UV starojumu**

Apstarošanas laiks	Smailes laukums
0 min	561498
10 min	531745
10 min	536720
20 min	468179
20 min	472559
30 min	374295
30 min	405685

No iegūtajiem rezultātiem var spriest, ka BaP daudzums samazinās, palielinot apstarošanas laiku. Tomēr nav zināms, kā vēl UV iedarbojas uz apstarotajiem paraugiem. Iespējams, ka apstarošanas rezultātā rodas vēl citi, daudz kaitīgāki metabolīti, tāpēc šo PAO samazināšanas metodi nevajadzētu ieviest, pirms nav veikti papildus pētījumi.

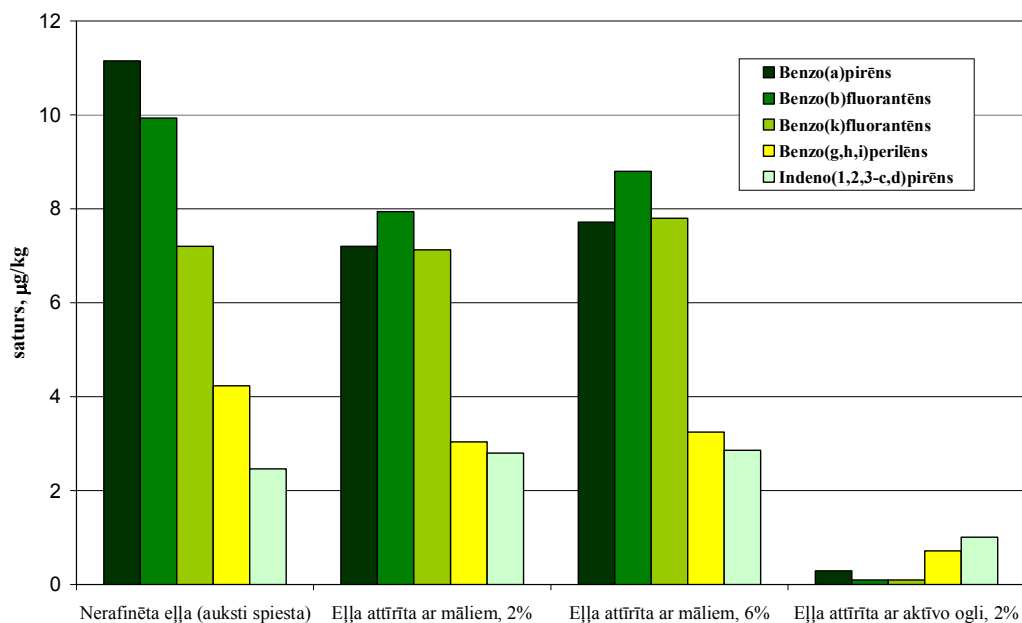
3.5. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu satura izmaiņas eļļā

Arī šīs nodaļas eksperimenti veikti sadarbībā ar LLU doktoranti Ilzi Stumpi-Vīksnu. Latvijā sastopamo eļļu analīze liecina, ka vislielākās policiklisko aromātisko ogļūdeņražu koncentrācijas ir raksturīgas nerafinētai rapšu eļļai. Analizējot rapšu sēklas un eļļu, iegūtie rezultāti norāda uz to, ka, ja rapša sēklu žāvēšanas procesā ir iegūtas augstas PAO koncentrācijas, tad tās vēl pieaug, spiežot eļļu arī zemās temperatūrās (skat. 3.7. att.).



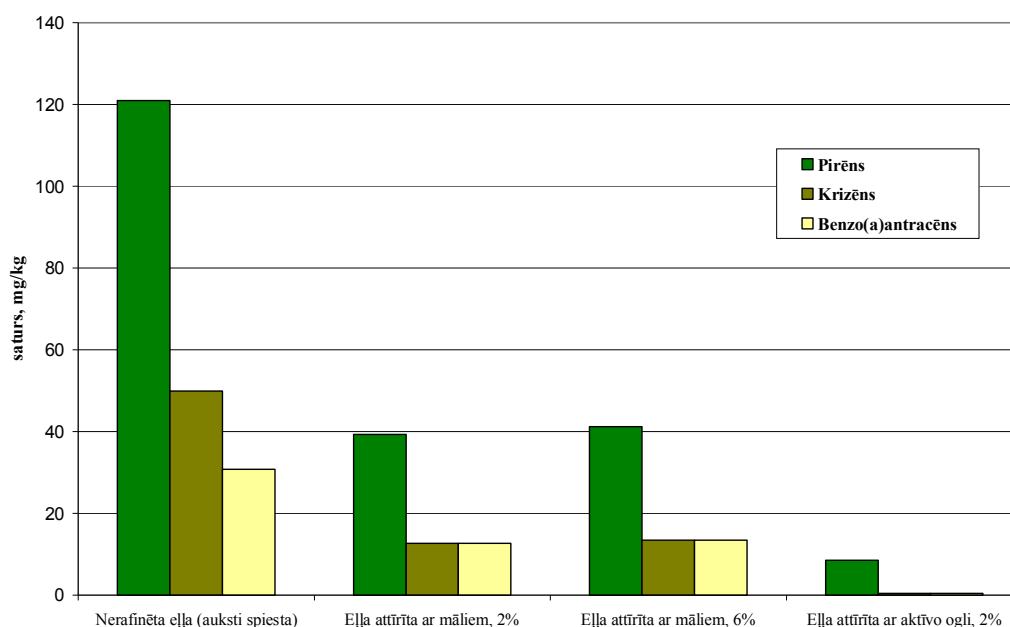
3.7. att. PAO saturs rapšu sēklās un eļļā

Šajā darbā tika veikts pētījums par to, kā, lietojot dažādas attīrīšanas metodes, ir iespējams samazināt BaP saturu. Analizējamie paraugi sagatavoti, 100 mL saulespuķu eļļai pievienojot aktīvo ogli un mālus, maisot 30 min istabas temperatūrā un nofiltrējot. Izmantojot aktīvo ogli, ir iespējama eļļas attīrīšana no BaP un citiem PAO. Eļļas attīrīšana ar māliem nav īpaši efektīva, jo tikai nedaudz samazinās BaP saturs, bet pārējie PAO saglabājas tādās pašās koncentrācijās kā pirms apstrādes (skat. 3.8. att.).



3.8. att. „Smago” PAO saturs rapšu eļļā pirms un pēc attīrīšanas

Eksperimentu rezultāti parāda, ka attīrīšana ar māliem der zemmolekulāro PAO samazināšanai rapšu eļļā. Zemmolekulāros PAO var samazināt arī, apstrādājot eļļu ar aktīvo ogli (skat. 3.9. att.).



3.9. att. „Vieglo” PAO saturs rapšu eļļā pirms un pēc attīrīšanas

Tomēr ražotājiem tiek ieteikts izmantot tādas ražošanas un pārstrādes metodes, kuras nepieļauj sākotnējo eļļas piesārņošanu ar PAO, jo līdz galam nav skaidrs, vai rafinēšanas procesā tiek atdalīti visi attiecīgie PAO, un nepieciešamas turpmākas analīzes PAO relatīvā īpatsvara noteikšanai.

3.6. PAO satura izmaiņas eļļā atkarībā no uzglabāšanas apstākļiem

Šīs nodaļas eksperimenti veikti sadarbībā ar LLU doktoranti Ilzi Stumpi-Vīksnu. Lai izvērtētu, kā PAO saturu eļļās ietekmē parauga uzglabāšana, tika veikti eksperimenti, eļļu izturot 24 h tumsā un gaismā, atšķirīgos traukos – stikla pudelē, tumša stikla pudelē un polietilēna stobriņā. Pētījuma rezultāti ir apkopoti 3.16. tabulā (izvērstu tabulu skatīt 7. pielikumā).

PAO ($\mu\text{g kg}^{-1}$) izmaiņas eļļās to uzglabāšanas laikā dažādos apstākļos

	BaA	CHR	BbF+BjF	BaP	Σ PAO
eļļa nr.1	17,7 \pm 3,5	17,7 \pm 3,5	7,1 \pm 1,4	18,6 \pm 3,7	208 \pm 42
eļļa nr.2	12,9 \pm 2,6	12,9 \pm 2,6	17,1 \pm 3,4	18,8 \pm 3,8	206 \pm 41
Tumsā, PE 24 h	6,52 \pm 1,3	6,7 \pm 1,3	13,0 \pm 2,6	17,1 \pm 3,4	161 \pm 32
Tumsā SP 24 h	10,8 \pm 2,2	11,8 \pm 2,4	14,4 \pm 2,9	18,8 \pm 3,8	182 \pm 36
Tumsā, TSP 24 h	14,6 \pm 2,9	14,9 \pm 3,0	13,4 \pm 2,7	16,8 \pm 3,4	187 \pm 37
Gaismā, PE 24 h	10,9 \pm 2,2	11,3 \pm 2,3	15,3 \pm 3,1	16,0 \pm 3,2	169 \pm 34
Gaismā SP 24 h	10,5 \pm 2,1	11,6 \pm 2,3	14,0 \pm 2,8	11,2 \pm 2,2	137 \pm 27
Gaismā TSP 24 h	11,6 \pm 2,3	12,4 \pm 2,5	16,2 \pm 3,2	20,1 \pm 4,0	206 \pm 41

PE – polietilēns, SP – stikla pudele, TSP – tumša stikla pudele

No iegūtajiem rezultātiem secinām, ka eļļas uzglabāšanas apstākļi būtiski neietekmē PAO saturu eļļās. Vienīgi gadījumā, kad eļļa tika glabāta spilgtā gaismā stikla pudelē 24 stundas, ir novērojamas ne tikai BaP izmaiņas, bet arī citu PAO samazināšanās. To varētu izskaidrot ar iespēju, ka PAO spilgtā gaismā degradējas.

3.7. Cepšanas apstākļu pētījumi

Literatūrā reizēm tiek pieminēts, ka PAO eļļās varētu rasties karsēšanas rezultātā, tāpēc tika veikti eksperimenti, lai pārlicinātos, vai tas atbilst patiesībai. Rezultāti ir apkopoti 3.17. tabulā.

BaP izmaiņas eļļā cepšanas rezultātā

Paraugs	BaP, $\mu\text{g kg}^{-1}$
eļļa	$2,0 \pm 0,4$
eļļā ceptas olas	$1,6 \pm 0,3$
eļļā cepta taukaina gaļa	$1,6 \pm 0,3$
eļļā cepta liesa gaļa	$2,0 \pm 0,4$
eļļā cepta paprika	$2,0 \pm 0,4$
eļļā cepti kartupeļi	$1,9 \pm 0,4$

No tabulā apkopotajiem rezultātiem redzams, ka eļļas karsēšana un dažādu pārtikas produktu cepšana nepalielina BaP saturu eļļā. BaP noteikšanas rezultātu svārstības var izskaidrot ar BaP sorbciju pārtikas paraugā.

3.8. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu saturs Latvijas tirgū pieejamajos produktos

Pārtikas produktu analīzes tika veiktas ar mērķi izpētīt PAO izplatību Latvijā ražotajos produktos. Metode ir pilnībā apgūta Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta „BIOR” laboratorijā. Tika pārbaudīti metodes kvalitātes parametri. Izstrādātā metode tika lietota Latvijā ražoto produktu pārbaudēm. PAO saturs tika noteikts 14 eļļas, 15 gaļas un 124 zivju paraugos.

No 15 gaļas paraugiem tikai divos tika pārsniegta Latvijā un Eiropas Savienībā pieļaujamā BaP norma. Ir arī tādi paraugi, kuros BaP saturs ir $< 0,1 \mu\text{g kg}^{-1}$, un no tā var secināt to, ka ir iespējams nokūpināt gaļu, nepārsniedzot pieļaujamo normu.

Parasti dūmu iegūšanai izmanto tikai alkšņu koka šķeldu. Latvijā šī koksne ir ļoti izplatīta un tradicionāli lietota, jo no vietējām citām pieejamām koksnēm satur vismazāk darvas un citu kaitīgo vielu, tai skaitā arī PAO, kuri rodas koksnes sadegšanas rezultātā.

Bet, lai konservi „šprotes eļļā” atbilstu tradicionālā produkta specifiskām garšas, aromāta un izskata īpašībām, nav pieļaujams zivis neapdūmot vai krasi samazināt apdūmošanas laiku vai dūmu daudzumu, jo šādā režīmā ražoti konservi neatbilst „šprotes eļļā” vispārpieņemtam atzinumam. Tradicionāli (vairāk kā 100 gadus) produkts „šprotes eļļā” ir atpazīstams, pieņemts un patērētāju pieprasīts kā dabīgās koksnes sadegšanas rezultātā radītu dūmu kūpinātu zivju produkts. Eksperimentu rezultāti Latvijā un citās valstīs ir pierādījuši, ka līdzvērtīgu produktu nav iespējams

iegūt, izmantojot kūpināšanas šķidrumu, izsmidzinātu aerosolu veidā, vai lietojot aromatizēto (dūmu) augu eļļu. Kūpinātas zivs šprotēm tradicionālo un standartā (LVS 27:1999) noteikto krāsu no gaiši zeltainas līdz tumši zeltainas ir vispārpieņemts uzskatīt par pareizas kūpināšanas procesa kritēriju. Pēc patērētāju viedokļa, skaista un pievilcīga kūpinājuma krāsa ir saistīta ar šī specifiskā produkta augstām garšas īpašībām.

No apkopotajiem rezultātiem varam secināt, ka BaP samazināšanas iespējas ir nepieciešamas, jo no 124 rezultātiem 37 pārsniedz ES pieļaujamo normu, un tā ir nopietna problēma zivju pārstrādes uzņēmumiem. Rezultāti rāda, ka maksimāli pieļaujamā BaP norma ir pārsniegta 3 eļļās, kas liecina par nepieciešamību veikt izmaiņas ražošanas tehnoloģijās, piemēram, attīrot eļļu ar aktīvo ogli.

3.9. Pētījums par policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanu eļļā

3.9.1. „BIOR” eļļas analīzes laboratorijas metode

Šī eksperimenta iegūtie dati tika izmantoti LU Ķīmijas fakultātes studentes Irinas Rozentāles bakalaura darbam 2010. gadā.

Eļļas analīzei tika izmantota metode, ko ikdienā lieto Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskajā institūtā „BIOR”, lai noteiktu PAO saturu eļļās. Pēc eļļas analīzes tika iegūti rezultāti, kas apkopoti 3.18. tabulā. Analīžu rezultāti uzdoti ar paplašināto nenoteiktību U_x , kas ir aptuveni $\pm 20\%$ no iegūtajiem rezultātiem.

„BIOR” laboratorijas metodes analīzes rezultāti (n=3) eļļā, standartnovirze (S_n), relatīvā standartnovirze (S_{n,r}) un vidējā vērtība (γ_{vid}) ar nenoteiktību U_x

Savienojums	γ ₁ , μg kg ⁻¹	γ ₂ , μg kg ⁻¹	γ ₃ , μg kg ⁻¹	S _n	S _r , %	γ _{vid} ± U _x , μg kg ⁻¹
Ciklopenta (c,d)pirēns	8,27	7,20	7,77	0,54	6,91	7,8 ± 1,6
Benzo(a)antracēns	8,22	7,24	7,76	0,49	6,33	7,7 ± 1,5
Krizēns	11,41	10,68	11,05	0,37	3,30	11,1 ± 2,2
5-Metilkrizēns	0,49	0,35	0,01	0,25	87,12	0,28 ± 0,06
Benzo(b)fluorantēns	12,52	9,22	9,97	1,73	16,37	10,6 ± 2,1
Benzo(j)fluorantēns	4,74	4,34	4,60	0,20	4,45	4,6 ± 0,9
Benzo(k)fluorantēns	6,46	4,91	5,43	0,79	14,09	5,6 ± 1,1
Benzo(a)pirēns	8,96	7,00	7,19	1,08	14,01	7,7 ± 1,5
Indeno(1,2,3 - c,d)pirēns	10,20	7,50	7,47	1,57	18,68	8,4 ± 1,7
Dibenzo(a,h)antracēns	2,06	1,54	1,25	0,41	25,39	1,6 ± 0,3
Benzo(g,h,i)perilēns	8,99	5,94	6,51	1,62	22,69	7,2 ± 1,4
Dibenzo(a,l)pirēns	1,09	0,57	0,61	0,29	38,24	0,76 ± 0,15
Dibenzo(a,e)pirēns	3,54	2,06	2,18	0,82	31,70	2,6 ± 0,5
Dibenzo(a,i)pirēns	1,53	1,03	1,01	0,29	24,76	1,2 ± 0,2
Dibenzo(a,h)pirēns	0,33	0,22	0,22	0,06	24,74	0,26 ± 0,05

Iegūtā atgūstamība „BIOR” laboratorijas metodei ir 55 – 119 %. BaP atgūstamība ir 88 %. Visi iegūtie rezultāti tālāk tika izmantoti apskatīto metožu salīdzināšanai ar „BIOR” laboratorijas metodi kā laboratorijas references metodi. „BIOR” laboratorijas metodei, kā arī visām pārējām metodēm tika aprēķinātas atgūstamības (aprēķinu formulas skatīt 8. pielikumā).

3.9.2. GH-MS eļļas analīzes metode atkarībā no paraugu pagatavošanas veida

Veicot eļļas analīzi ar 15 dažādām paraugu sagatavošanas metodēm, dažas metodes tika atzītas par nepiemērotām – PAO neizdevās pilnīgi izdalīt no pārtikas produkta matricas. Par nepiemērotām tika uzskatītas 3., 4., 6., 7., 11. (1., 2. un 3. sorbenti), 12. un 13. metodes, jo pēc tvaicēšanas slāpekļa plūsmā visās analizējamajiem paraugiem mēģenēs palika no 0,5 mL līdz 1,5 mL eļļaina šķīduma (t.i., 20 – 60 % no sākotnējā eļļas iesvara), tāpēc analīzi ar GH-MS neveica, jo eļļas

fāze nav piemērota masspektrometriskajām analizēm. Visām pārējām metodēm tika veikta GH-MS analīze un tika noteiktas PAO masas koncentrācijas. Ierobežotu līdzekļu dēļ, katrai metodei tika veikti divi līdz trīs mērījumi. Iegūtie dati ir apkopoti 3.19. – 3.27. tabulās.

Dibenzopirēnu rezultāti 3.19. – 3.27. tabulās netika ņemti vērā, salīdzinot iegūtos rezultātus, jo šo savienojumu izdalīšana no matricas ir problemātiska un lielākā daļa iegūtās vērtības ir zem LOQ.

3.19. tabula

Metodes Nr. 1 analīzes rezultāti (n=2) eļļā, standartnovirze (S_n), relatīvā standartnovirze (S_{nr},r) un vidējā vērtība (γ_{vid}) ar nenoteiktību U_x

Savienojums	γ ₁ , μg kg ⁻¹	γ ₂ , μg kg ⁻¹	S _n	S _{nr} , %	γ _{vid} ± U _x , μg kg ⁻¹
Ciklopenta (c,d)pirēns	5,70	3,82	1,33	27,93	4,8 ± 11,9
Benzo(a)antracēns	4,40	2,58	1,29	36,87	3,5 ± 11,6
Krizēns	16,06	7,41	6,12	52,12	11,7 ± 54,9
5-Metilkrizēns	5,63	0,20	3,84	131,72	2,9 ± 34,5
Benzo(b)fluorantēns	18,88	9,58	6,58	46,21	14,2 ± 59,1
Benzo(j)fluorantēns	17,02	10,54	4,58	33,25	13,8 ± 41,2
Benzo(k)fluorantēns	9,79	4,23	3,93	56,08	7,0 ± 35,3
Benzo(a)pirēns	12,04	10,32	1,22	10,88	11,2 ± 10,9
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	10,63	5,12	3,90	49,48	7,9 ± 35,0
Dibenzo(a,h)antracēns	2,30	0,51	1,27	90,09	1,4 ± 11,4
Benzo(g,h,i)perilēns	11,85	5,77	4,30	48,80	8,8 ± 38,6
Dibenzo(a,l)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,e)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,i)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,h)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—

n. d. – nav detektēts (< 0,1 μg kg⁻¹)

Iegūtās PAO atgūstamības ir no 30 līdz 433 %, bet BaP atgūstamība ir 102 %. PAO, kas iekļaujas atgūstamības robežās (50 – 120 %), ir CPP, BaA, CHR, BaP, IcdP un DahA. Metode tika uzskatīta par nepiemērotu, jo iegūtie rezultāti stipri atšķiras no rezultātiem, kas iegūti, izmantojot „BIOR” laboratorijas metodi. Piemēram, ciklopenta(c,d)pirēna un benzo(a)antracēna noteiktās masas koncentrācijas ir aptuveni divreiz mazākas nekā tām vajadzētu būt, bet fluorantēnu masas

koncentrācijas ir palielinātas. Paralēlo paraugu masas koncentrāciju izklīdes savā starpā arī ir lielas. To varētu izskaidrot ar faktu, ka literatūrā šī metode tiek ieteikta BaP satura noteikšanai sierā, un līdz ar to nav piemērota PAO noteikšanai augu eļļās. Literatūrā norādītā BaP atgūstamība ir 84 – 89 %.

3.20. tabula

Metodes Nr. 2 analīzes rezultāti (n=2) eļļā, standartnovirze (S_n), relatīvā standartnovirze (S_r) un vidējā vērtība (γ_{vid}) ar nenoteiktību U_x

Savienojums	γ ₁ , μg kg ⁻¹	γ ₂ , μg kg ⁻¹	S _n	S _r , %	γ _{vid} ± U _x , μg kg ⁻¹
Ciklopenta (c,d)pirēns	7,53	14,43	4,88	44,44	11,0 ± 43,8
Benzo(a)antracēns	7,22	7,99	0,54	7,16	7,6 ± 4,9
Krizēns	1,41	6,76	3,78	92,61	4,1 ± 34,0
5-Metilkrizēns	0,55	3,39	2,01	101,94	2,0 ± 18,1
Benzo(b)fluorantēns	14,82	n.d.	10,48	141,42	7,4 ± 94,1
Benzo(j)fluorantēns	5,26	n.d.	3,72	141,42	2,6 ± 33,4
Benzo(k)fluorantēns	10,41	n.d.	7,36	141,42	5,2 ± 66,1
Benzo(a)pirēns	268,32	25,86	171,45	116,56	147,1 ± 1539,7
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	69,36	n.d.	49,04	141,42	34,7 ± 440,4
Dibenzo(a,h)antracēns	41,37	n.d.	29,25	141,42	20,7 ± 262,7
Benzo(g,h,i)perilēns	4,32	n.d.	3,05	141,42	2,2 ± 27,4
Dibenzo(a,l)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,e)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,i)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,h)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—

n. d. – nav detektēts (< 0,1 μg kg⁻¹)

Iegūtās PAO atgūstamības ir no 0 līdz 567 %, bet BaP atgūstamība ir 466 %. Neviens no 15 noteiktajiem PAO neietilpst atgūstamības robežās. Tas ir izskaidrojams ar faktu, ka literatūrā šī metode tika ieteikta PAO satura noteikšanai pienā un līdz ar to nav piemērota PAO satura noteikšanai augu eļļās. Metode tiek uzskatīta par nepiemērotu arī tāpēc, ka PAO, un it īpaši BaP, masas koncentrācijas nevar būt tik lielas, kā tika noteiktas metodē. Tik ļoti paaugstinātus rezultātus varētu izskaidrot ar iekšējo standartu zudumiem, jo tādējādi iegūtās masas koncentrācijas netiek pareizi aprēķinātas. Tā kā paralēlie mērījumi savā starpā ir tik atšķirīgi, standartnovirzes un drošības

intervāli arī kļūst neatbilstoši lieli.

3.21. tabula

Metodes Nr. 5 analīzes rezultāti (n=2) eļļā, standartnovirze (S_n), relatīvā standartnovirze (S_r,%) un vidējā vērtība (γ_{vid}) ar nenoteiktību U_x

Savienojums	γ ₁ , μg kg ⁻¹	γ ₂ , μg kg ⁻¹	S _n	S _r , %	γ _{vid} ± U _x , μg kg ⁻¹
Ciklopenta (c,d)pirēns	7,14	7,12	0,01	0,20	7,1 ± 0,1
Benzo(a)antracēns	7,06	6,76	0,21	3,07	6,9 ± 1,9
Krizēns	9,90	9,20	0,49	5,18	9,6 ± 4,4
5-Metilkrizēns	0,38	0,37	0,01	1,89	0,38 ± 0,09
Benzo(b)fluorantēns	7,88	7,69	0,13	1,73	7,8 ± 1,2
Benzo(j)fluorantēns	4,15	4,18	0,02	0,51	4,2 ± 0,2
Benzo(k)fluorantēns	4,14	4,09	0,04	0,86	4,1 ± 0,4
Benzo(a)pirēns	7,55	6,50	0,74	10,57	7,0 ± 6,7
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	5,15	5,26	0,08	1,49	5,2 ± 0,7
Dibenzo(a,h)antracēns	1,61	1,66	0,04	2,16	1,6 ± 0,4
Benzo(g,h,i)perilēns	5,63	5,59	0,03	0,50	5,6 ± 0,3
Dibenzo(a,l)pirēns	0,82	5,11	3,03	102,31	3,0 ± 27,2
Dibenzo(a,e)pirēns	1,64	7,03	3,81	87,92	4,3 ± 34,2
Dibenzo(a,i)pirēns	1,78	7,86	4,30	89,20	4,8 ± 38,6
Dibenzo(a,h)pirēns	0,96	8,20	5,12	111,78	4,6 ± 46,0

Iegūtās PAO atgūstamības ir robežās no 55 līdz 119 %, bet BaP atgūstamība ir 115 %. Visi 15 noteiktie PAO ietilpst noteiktajās atgūstamības robežās. Literatūrā šī metode tiek ieteikta PAO satura noteikšanai zivīs, un tur norādītās atgūstamības ir 70 – 120 %. Metode tika uzskatīta par piemērotu, visi iegūtie rezultāti atbilst „BIOR” laboratorijas metodē iegūtajiem rezultātiem. Turklāt izdevās diezgan precīzi noteikt arī dibenzopirēnus. Jāuzsver, ka šajā metodē PAO no eļļas matricas tika atdalīta, taukus izsaldējot –80 °C temperatūrā.

Metodes Nr. 8 (*QuEChERS* nemodificētās metodes) analīzes rezultāti (n=2) eļļā, standartnovirze (S_n), relatīvā standartnovirze ($S_{n,r}$) un vidējā vērtība (γ_{vid}) ar nenoteiktību U_x

Savienojums	γ_1 , $\mu\text{g kg}^{-1}$	γ_2 , $\mu\text{g kg}^{-1}$	S_n	$S_{n,r}$, %	$\gamma_{vid} \pm U_x$, $\mu\text{g kg}^{-1}$
Ciklopenta (c,d)pirēns	8,19	7,71	0,34	4,27	$8,0 \pm 3,1$
Benzo(a)antracēns	8,12	7,62	0,35	4,49	$7,9 \pm 3,1$
Krizēns	12,37	11,19	0,83	7,08	$11,8 \pm 7,5$
5-Metilkrizēns	0,10	0,71	0,43	106,50	$0,4 \pm 3,8$
Benzo(b)fluorantēns	8,69	8,54	0,11	1,23	$8,6 \pm 1,0$
Benzo(j)fluorantēns	3,85	3,87	0,01	0,37	$3,9 \pm 0,1$
Benzo(k)fluorantēns	4,46	4,24	0,16	3,58	$4,4 \pm 1,4$
Benzo(a)pirēns	8,96	9,21	0,18	1,95	$9,1 \pm 1,6$
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	7,61	7,10	0,36	4,90	$7,4 \pm 3,2$
Dibenzo(a,h)antracēns	2,07	2,09	0,01	0,68	$2,1 \pm 0,1$
Benzo(g,h,i)perilēns	6,68	5,95	0,52	8,17	$6,3 \pm 4,7$
Dibenzo(a,l)pirēns	0,84	0,30	0,38	66,99	$0,6 \pm 3,4$
Dibenzo(a,e)pirēns	1,19	1,10	0,06	5,56	$1,2 \pm 0,5$
Dibenzo(a,i)pirēns	3,59	3,65	0,04	1,17	$3,6 \pm 0,4$
Dibenzo(a,h)pirēns	0,40	47,66	33,42	139,07	24 ± 300

Iegūtās PAO atgūstamības ir robežās no 51 līdz 109 %, bet BaP atgūstamība ir 106 %. Visi 15 noteiktie PAO (izņemot DahP) ietilpst prasībām atbilstošajās atgūstamības robežās. Literatūrā šī metode tiek ieteikta PAO satura noteikšanai zivīs, un tur norādītās atgūstamības ir 63 – 110 %. Metode tiek uzskatīta par piemērotu, un visi rezultāti ir salīdzināmi ar „BIOR” laboratorijas metodes rezultātiem. *QuEChERS* metodes izmantošana izrādījās laba ne tikai zivju analīzēs, bet arī PAO noteikšanai augu eļļās.

3.23. tabula

Metodes Nr. 9 analīzes rezultāti (n=2) eļļā, standartnovirze (S_n), relatīvā standartnovirze (S_{n,r}) un vidējā vērtība (γ_{vid}) ar nenoteiktību U_x

Savienojums	γ ₁ , μg kg ⁻¹	γ ₂ , μg kg ⁻¹	S _n	S _r , %	γ _{vid} ± U _x , μg kg ⁻¹
Ciklopenta (c,d)pirēns	10,31	7,98	1,65	18,02	9,2 ± 14,8
Benzo(a)antracēns	7,66	6,42	0,88	12,45	7,0 ± 7,9
Krizēns	1,25	1,47	0,16	11,44	1,4 ± 1,4
5-Metilkrizēns	2,61	7,89	3,73	71,11	5,3 ± 33,5
Benzo(b)fluorantēns	10,36	8,22	1,51	16,29	9,3 ± 13,6
Benzo(j)fluorantēns	4,78	2,76	1,43	37,89	3,8 ± 12,8
Benzo(k)fluorantēns	32,85	21,15	8,27	30,64	27,0 ± 74,3
Benzo(a)pirēns	37,10	18,90	12,87	45,96	28,0 ± 115,6
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	2,00	1,83	0,12	6,28	1,9 ± 1,1
Dibenzo(a,h)antracēns	4,07	4,97	0,64	14,08	4,5 ± 5,8
Benzo(g,h,i)perilēns	1,80	1,59	0,15	8,76	1,7 ± 1,4
Dibenzo(a,l)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,e)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,i)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,h)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—

n. d. – nav detektēts (< 0,1 μg kg⁻¹)

Iegūtās PAO atgūstamības ir robežās no 0 līdz 163 %, bet BaP atgūstamība ir 418 %. No visiem noteiktajiem PAO noteiktajās atgūstamības robežās ietilpst tikai CPP, BaA, 5-MCHR un BbF. Literatūrā šī metode tiek ieteikta PAO satura noteikšanai kūpinātā zivīs, un norādītās atgūstamības ir 75 %. Metode tiek uzskatīta par nepiemērotu. Tā ir jau otrā metode, kur izmanto gēlfiltrācijas metodi un abas šīs metodes (2. un 9.) ir nesekmīgas. To varētu izskaidrot ar faktu, ka gēlfiltrācijas iekārta nav kalibrēta PAO noteikšanai un, veicot praktisko darbu, daļa no iekšējiem standartiem varēja pazust vai netika atdalīti no eļļas matricas, līdz ar to iegūtie rezultāti netiek pareizi aprēķināti.

3.24. tabula

Metodes Nr. 10 analīzes rezultāti (n=2) eļļā, standartnovirze (S_n), relatīvā standartnovirze ($S_{n,r}$) un vidējā vērtība (γ_{vid}) ar nenoteiktību U_x

Savienojums	γ_1 , $\mu\text{g kg}^{-1}$	γ_2 , $\mu\text{g kg}^{-1}$	S_n	$S_{r, \%}$	$\gamma_{vid} \pm U_x$, $\mu\text{g kg}^{-1}$
Ciklopenta (c,d)pirēns	9,79	8,23	1,10	12,24	$9,0 \pm 9,9$
Benzo(a)antracēns	9,38	7,92	1,03	11,93	$8,7 \pm 9,3$
Krizēns	11,72	10,15	1,11	10,15	$11,0 \pm 10,0$
5-Metilkrizēns	0,82	0,02	0,57	134,69	$0,42 \pm 5,12$
Benzo(b)fluorantēns	8,80	9,15	0,25	2,76	$9,0 \pm 2,3$
Benzo(j)fluorantēns	3,78	3,60	0,13	3,45	$3,7 \pm 1,2$
Benzo(k)fluorantēns	4,00	4,54	0,38	8,94	$4,3 \pm 3,4$
Benzo(a)pirēns	8,83	8,28	0,39	4,55	$8,6 \pm 3,5$
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	6,32	5,90	0,30	4,86	$6,1 \pm 2,7$
Dibenzo(a,h)antracēns	1,70	1,56	0,10	6,07	$1,6 \pm 0,9$
Benzo(g,h,i)perilēns	6,93	6,43	0,35	5,29	$6,7 \pm 3,1$
Dibenzo(a,l)pirēns	0,65	0,88	0,16	21,26	$0,77 \pm 1,44$
Dibenzo(a,e)pirēns	1,19	1,07	0,08	7,51	$1,1 \pm 0,7$
Dibenzo(a,i)pirēns	1,52	1,32	0,14	9,96	$1,4 \pm 1,3$
Dibenzo(a,h)pirēns	0,37	0,41	0,03	7,25	$0,39 \pm 0,27$

Iegūtās PAO atgūstamības ir robežās no 62 līdz 118 %, un BaP atgūstamība ir 96 %. Visi 15 noteiktie PAO ietilpst noteiktajās atgūstamības robežās. Literatūrā šī metode tiek ieteikta PAO satura noteikšanai eļļās, un tur norādītās atgūstamības ir 51 – 102 %. Metode tika uzskatīta par piemērotu turpmākajiem pētījumiem. Atšķirība no citām metodēm ir tāda, ka šajā metodē izmanto C18 cietfāzes ekstrakcijas kolonnas.

3.25. tabula

Metodes Nr. 11 (sorbents – skābais alumīnija oksīds) analīzes rezultāti (n=2) eļļā, standartnovirze (S_n), relatīvā standartnovirze (S_r,r) un vidējā vērtība (γ_{vid}) ar nenoteiktību U_x

Savienojums	γ ₁ , μg kg ⁻¹	γ ₂ , μg kg ⁻¹	S _n	S _r , %	γ _{vid} ± U _x , μg kg ⁻¹
Ciklopenta (c,d)pirēns	7,64	8,16	0,37	4,65	7,9 ± 3,3
Benzo(a)antracēns	5,62	5,40	0,16	2,82	5,5 ± 1,4
Krizēns	7,97	7,75	0,16	1,98	7,9 ± 1,4
5-Metilkrizēns	0,20	0,18	0,01	7,44	0,19 ± 0,09
Benzo(b)fluorantēns	7,68	7,21	0,33	4,46	7,5 ± 3,0
Benzo(j)fluorantēns	3,05	3,10	0,04	1,15	3,1 ± 0,4
Benzo(k)fluorantēns	4,13	4,17	0,03	0,68	4,2 ± 0,3
Benzo(a)pirēns	6,09	6,21	0,08	1,38	6,2 ± 0,7
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	5,48	5,32	0,11	2,10	5,4 ± 1,0
Dibenzo(a,h)antracēns	1,29	1,25	0,03	2,23	1,3 ± 0,3
Benzo(g,h,i)perilēns	5,85	5,66	0,13	2,33	5,8 ± 1,2
Dibenzo(a,l)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,e)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,i)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,h)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—

n. d. – nav detektēts (< 0,1 μg kg⁻¹)

Iegūtās PAO atgūstamības ir robežās no 29 līdz 258 %, BaP atgūstamība ir 92 %. PAO, kas iekļaujas noteiktajās atgūstamības robežās, ir BaA, BkF, BaP, IcdP, un DahA. Literatūrā šī metode tika izmantota mono- līdz oktahlorobifenilu kvantitatīvai noteikšanai zivju eļļās, un metodes atgūstamības ir 89 – 129 %. Metode tika uzskatīta par nepiemērotu, jo visas iegūtās masas koncentrācijas bija pazeminātas. To varētu izskaidrot ar faktu, ka izmantotais sorbents ir skābais alumīnija oksīds, bet vairums PAO ir nestabili skābā vidē.

3.26. tabula

Metodes Nr. 14 analīzes rezultāti (n=2) eļļā, standartnovirze (S_n), relatīvā standartnovirze (S_{n,r}) un vidējā vērtība (γ_{vid}) ar nenoteiktību U_x

Savienojums	γ ₁ , μg kg ⁻¹	γ ₂ , μg kg ⁻¹	S _n	S _r , %	γ _{vid} ± U _x , μg kg ⁻¹
Ciklopenta (c,d)pirēns	5,60	5,80	0,14	2,48	5,7 ± 1,3
Benzo(a)antracēns	5,21	5,02	0,13	2,63	5,1 ± 1,2
Krizēns	0,71	1,62	0,64	55,23	1,2 ± 5,8
5-Metilkrizēns	0,24	0,57	0,23	57,62	0,41 ± 2,07
Benzo(b)fluorantēns	3,21	4,63	1,00	25,61	3,9 ± 9,0
Benzo(j)fluorantēns	1,74	1,76	0,01	0,81	1,8 ± 0,1
Benzo(k)fluorantēns	5,03	4,76	0,19	3,90	4,9 ± 1,7
Benzo(a)pirēns	61,37	8,56	37,34	106,80	35,0 ± 335,3
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	17,84	17,17	0,47	2,71	17,5 ± 4,2
Dibenzo(a,h)antracēns	1,22	1,04	0,13	11,26	1,1 ± 1,2
Benzo(g,h,i)perilēns	4,69	4,18	0,36	8,13	4,4 ± 3,2
Dibenzo(a,l)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,e)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,i)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—
Dibenzo(a,h)pirēns	n. d.	n. d.	—	—	—

n. d. – nav detektēts (< 0,1 μg kg⁻¹)

Iegūtās PAO atgūstamības ir no 0 līdz 3147 %, BaP atgūstamība ir 1827 %. No 15 noteiktajiem PAO noteiktajās atgūstamības robežās ietilpst tikai BkF un IcdP. Izmantotā metode netiek aprakstīta literatūrā, bet tika izlemts pārbaudīt, vai ir iespējams izdalīt PAO no eļļas matricas, izmantojot vienīgi gēlfiltrācijas metodi. Rezultātā metode tika uzskatīta par nepiemērotu, jo iegūtie rezultāti uzrāda, ka gēlfiltrācijas metode neder PAO analīzēm un to, ka ir nepieciešama iepriekšēja analizējamā parauga sagatavošana.

Metodes Nr. 15 analīzes rezultāti (n=3) eļļā, standartnovirze (S_n), relatīvā standartnovirze (S_{n,r}) un vidējā vērtība (γ_{vid}) ar nenoteiktību U_x

Savienojums	γ ₁ , μg kg ⁻¹	γ ₂ , μg kg ⁻¹	γ ₃ , μg kg ⁻¹	S _n	S _{n,r} , %	γ _{vid} ± U _x , μg kg ⁻¹
Ciklopenta (c,d)pirēns	7,35	8,40	7,51	0,57	7,30	7,8 ± 1,4
Benzo(a)antracēns	7,88	8,61	7,91	0,41	5,08	8,1 ± 1,0
Krizēns	10,60	11,63	10,68	0,57	5,22	11,0 ± 1,4
5-Metilkrizēns	0,42	0,16	0,26	0,13	46,84	0,28 ± 0,33
Benzo(b)fluorantēns	8,89	8,60	8,39	0,25	2,91	8,6 ± 0,6
Benzo(j)fluorantēns	3,43	3,72	3,06	0,33	9,72	3,4 ± 0,8
Benzo(k)fluorantēns	4,62	4,22	5,18	0,48	10,32	4,7 ± 1,2
Benzo(a)pirēns	12,76	13,79	16,34	1,84	12,89	14,3 ± 4,6
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	8,28	9,54	10,12	0,94	10,10	9,3 ± 2,3
Dibenzo(a,h)antracēns	2,09	2,91	2,69	0,42	16,56	2,6 ± 1,1
Benzo(g,h,i)perilēns	5,83	5,58	6,47	0,46	7,70	6,0 ± 1,1
Dibenzo(a,l)pirēns	1,08	0,55	0,34	0,38	58,07	0,66 ± 0,95
Dibenzo(a,e)pirēns	1,22	1,17	0,72	0,28	26,56	1,0 ± 0,7
Dibenzo(a,i)pirēns	3,77	3,25	1,29	1,31	47,21	2,8 ± 3,3
Dibenzo(a,h)pirēns	21,23	69,05	49,64	24,05	51,57	46,6 ± 59,8

Iegūtās PAO atgūstamības ir robežās no 70 līdz 118 %, BaP atgūstamība ir 65 %. No 15 PAO noteiktajās atgūstamības robežās ietilpst visi PAO, izņemot DahP. Literatūrā šī metode tiek izmantota PAO satura noteikšanai pārtikas eļļās, bet iegūtās atgūstamības netiek norādītas. Metode tika uzskatīta par piemērotu, un visi iegūtie rezultāti atbilst „BIOR” laboratorijas metodē iegūtajiem rezultātiem. Metodē tiek izmantotas vairākas ekstrakcijas, tai skaitā cietfāzes ekstrakcija, izmantojot C18 un silikagela kolonnas.

Salīdzinot visus iegūtos rezultātus ar tiem rezultātiem, kas tika iegūti ar „BIOR” laboratorijas metodi, redzams, ka 1., 2., 9., 11. (sorbents – skābais alumīnija oksīds) un 14. metodes ir nepiemērotas, jo iegūtie rezultāti stipri atšķiras no patiesajiem. Līdz ar to, par piemērotām PAO satura noteikšanai tiek uzskatītas 5., 8., 10. un 15. metodes, jo visi iegūtie dati ir saderīgi ar „BIOR” laboratorijas metodes rezultātiem un atbilst metodes uzstādītajām prasībām.

Salīdzinot piemēroto un nepiemēroto metožu analīzes apstākļus, nonākam pie atzinuma, ka silikagela CFE kolonnas analizējamās paraugus attīra labāk nekā florisila CFE kolonnas, jo vairumā

metožu, kurās tika izmantotas tikai florisila CFE kolonnas, tā arī neizdevās pilnībā izdalīt PAO no matricas. Tomēr, ja metodē tiek izmantotas gan florisila, gan silikagela kolonnas (metode Nr. 5), atdalīšana notiek pilnībā, un metodē iegūtie rezultāti ir salīdzināmi ar „BIOR” laboratorijas metodē iegūtajiem rezultātiem.

11. metodē tiek salīdzināti CFE kolonnu sorbenti. Izvēlētie sorbenti - silikagels, florisils, alumīnija oksīdi (bāzisks un skābs) un visu šo četru sorbentu maisījums. Izrādās, ka PAO izdalīt no eļļas matricas var tikai ar skābo alumīniju oksīdu. Visu pārējo sorbentu daudzumi bija nepietiekami (no 2 g eļļas paraugos palika no 0,2 mL līdz 1 mL eļļas, t.i., 20 – 60 %). Toties skābā alumīnija oksīda iedarbībā vairums PAO tiek zaudēti (sadalās vai pārvēršas citos savienojumos) paraugu sagatavošanas etapā un tiek iegūti slikti rezultāti.

Pēc tam, kad tika atkārtotas visas 15 metodes, tika secināts, ka vislabāk PAO izdalīt no eļļas var, kombinējot dažādas CFE kolonnas – paraugu attīra caur silikagela kolonnām un florisila kolonnām vai arī izmantojot C18 kolonnas, kā arī, izsaldējot taukus un pēc tam attīrot ar CFE kolonnām. Ļoti labi rezultāti tika iegūti metodē, kurā tiek izmantotas *QuEChERS* ekstrakcijas kolonnas. *QuEChERS* metode ir ātra, ar mazu etapu skaitu. Eļļas parauga sagatavošana GH-MS analīzei aizņem mazāk laika, un tai nav nepieciešami lieli reaģentu daudzumi, toties rezultātu pareizība ir augsta.

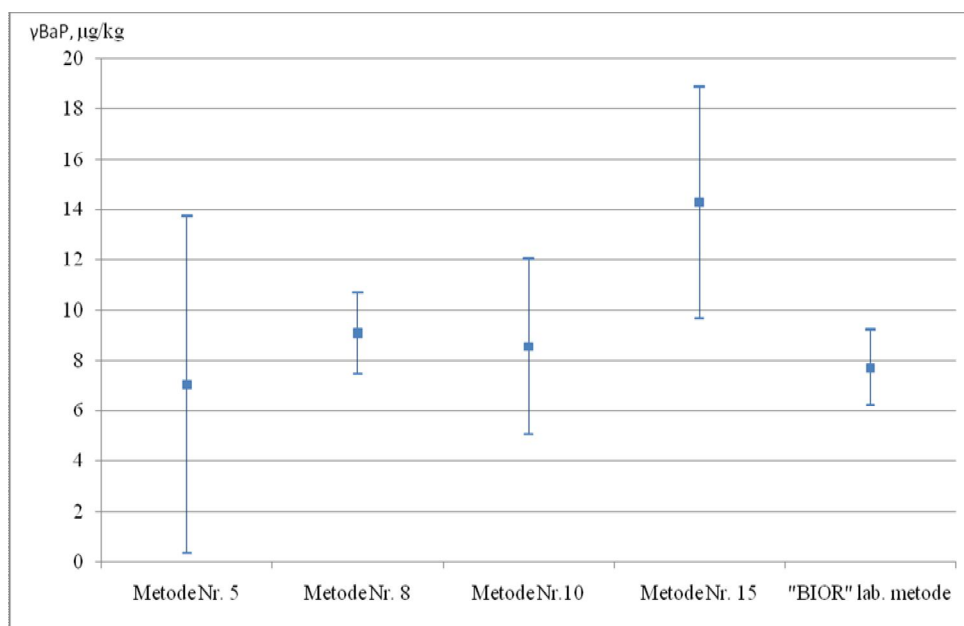
Ja salīdzina piemērotākās PAO kvantitatīvā satura noteikšanas metodes pēc analīzes laika (3.28. tabula), tad visātrākās ir 8. un 10. metodes, jo gan vienu, gan otru metodi var veikt aptuveni divu stundu laikā, tādējādi palielinot laboratorijas kapacitāti. Tā ir liela priekšrocība salīdzinājumā ar ikdienā lietoto metodi, jo pēdējās paraugu sagatavošana aizņem līdz pat 24 stundām. Ekstrakcija parasti notiek lēni, un šķīduma atdalīšanās var ilgt vairākas stundas. Kaut arī 15. metodē iegūtie rezultāti ir ļoti labi, metodei galvenais trūkums ir tās laikietilpība. Sākumā ir jāveic vairākas ekstrakcijas, un tad paraugu nepieciešams vēl papildus attīrīt, izmantojot CFE kolonnas.

3.28. tabula

Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu kvantitatīvā satura noteikšanas metožu analīzes laika salīdzinājums

Metodes Nr.	Paraugu sagatavošanas laiks analīzēm, h
5.	3,5
8.	2
10.	2
15.	5
„BIOR” metode	24

Pētījuma rezultātā piemērotāko metožu savstarpējā iegūto BaP masas koncentrāciju salīdzināšana eļļas paraugos ir attēlota 3.10. attēlā.



3.10. att. Piemērotāko metožu pareizības un precizitātes novērtēšana benzo(a)pirēna kvantitatīvai noteikšanai eļļas paraugos

Izvērtējot iegūto attēlu, var novērtēt metožu pareizību un precizitāti salīdzinājumā ar „BIOR” laboratorijas metodi. Izmantojot doto pētījumu rezultātus, tālāk tika turpināti mērķtiecīgi pētījumi paraugu sagatavošanas metodes etapu un analīzes laika samazināšanai.

3.9.3. Pētīto analīzes metožu izmaksas

Izslēdzot visas nepiemērotās metodes – par sekmīgām tiek uzskatītas 5., 8., 10. un 15. metodes. Visām šīm metodēm un arī „BIOR” laboratorijas metodei tika aprēķinātas aptuvenās izmaksas. Tam nolūkam, nepieciešams zināt izmantoto reaģentu cenas, kas ir apkopotas 3.29. tabulā.

Metožu izmaksu aprēķināšanai izmantoto reaģentu aptuvenas cenas [45, 46]

Reaģenti	Cena par litru, €
Metanols	22,80
Heksāns	58,20
Acetons	19,92
Cikloheksāns	44,30
N,N-dimetilformamīds	93,30
Acetonitrils	106,04
Dihlorometāns	40,00
	Cena par kg, €
Magnija sulfāts, bezūdens	124,50
Nātrija hlorīds	80,50
Nātrija sulfāts, bezūdens	30,76
Trinātrija citrāta dihidrāts	59,30
Dinātrija hidrogēncitrāta seskvihidrāts	52,10
	Cena par gab., €
<i>QuEChERS</i> dispersīvās CFE kolonnas (900 mg magnija sulfāta, 300 mg PSA, 150 mg C18)	3,50
C18 (6 mL, 500 mg) kolonna	3,13
Silikagela (6 mL, 500 mg) kolonna	1,93
Florisila (6 mL, 1000 mg) kolonna	3,00

Zinot izmantoto reaģentu cenas, var viegli aprēķināt katras metodes izmaksas. Aprēķinātās izmaksas, kā arī nepieciešamo reaģentu daudzumi un to aptuvenās cenas, ir apkopotas 3.30. tabulā. Kopējajā cenā šeit nav iekļautas izmantoto standartvielu un deiterēto standartvielu izmaksas, kā arī GH-MS ekspluatācijas izdevumi, tāpēc to nevar uzskatīt par galīgo analīzes lētuma vai dārguma novērtējumu. Cenā netika iekļautas arī elektrības, ūdens, darbaspēka u.c. izmaksas.

Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanai piemēroto metožu un „BIOR” laboratorijas metodes salīdzinošās aptuvenās izmaksas vienam paraugam

Metodes Nr.	Izmantotie reaģenti un to daudzums	Cena, €	Cena vienam paraugam, €	Cena vienam paraugam, Ls
5.	Metanols - 20 mL	0,46	8,13	5,71
	Heksāns - 33 mL	1,92		
	Acetons - 10 mL	0,20		
	Cikloheksāns - 14 mL	0,62		
	Florisila kolonna - 1 gab.	3,00		
	Silikagela kolonna - 1 gab.	1,93		
8.	Acetonitrils - 10 mL	1,06	5,22	3,67
	Magnija sulfāts - 4 g	0,50		
	Nātrija hlorīds - 1 g	0,08		
	Trinātrija citrāta dihidrāts - 1 g	0,06		
	Dinātrija hidrogēncitrāta seskvihidrāts - 0,5 g	0,03		
	QuEChERS dispersīvās CFE kolonna - 1 gab.	3,50		
10.	Heksāns - 14 mL	0,81	6,44	4,52
	Metanols - 5 mL	0,11		
	N,N-dimetilformamīds - 25,5 mL	2,38		
	C18 kolonna - 1 gab.	3,13		
15.	Acetonitrils - 42 mL	4,45	12,37	8,69
	Acetons - 23 mL	0,46		
	Metanols - 7,5 mL	0,17		
	Heksāns - 15 mL	0,87		
	Dihlormetāns - 7 mL	0,28		
	C18 kolonna - 1 gab.	3,13		
	Florisila kolonna - 1 gab.	3,00		
„BIOR” metode	Cikloheksāns - 139 mL	6,16	12,36	8,68
	N,N-dimetilformamīds - 45 mL	4,20		
	Nātrija hlorīds - 0,5 g	0,04		
	Nātrija sulfāts - 1 g	0,03		
	Silikagela kolonna - 1 gab.	1,93		

Latos summa ir aprēķināta atbilstoši valūtas kursam uz 08.04.2010 (1 € = 0,702804 Ls).

No 3.30. tabulas iegūtajiem aprēķiniem var secināt, ka „BIOR” laboratorijas metode ir gandrīz viena no dārgākajām eļļas analīzes metodēm, salīdzinot izmantoto reaģentu cenas un daudzumus, bet vislētākā ir 8. metode, kas izmaksā aptuveni 2,5 reizes lētāk, un tajā iegūtie PAO analīžu rezultāti ir līdzvērtīgi. Gan 5., gan 10. metodes ir lētākas par „BIOR” laboratorijas metodi, un tajās iegūtie rezultāti arī ir apmierinoši. Līdz ar to nākas atzīt, ka laboratorijā izmantotā ikdienas eļļas analīzes metode nav tā lētākā PAO satura noteikšanai, kā arī metode ir diezgan laikietilpīga un tā prasa pietiekami lielas reaģentu izmaksas, kamēr 8. metode izrādās ne tikai visātrākā, bet arī vislētākā.

3.9.4. *QuEChERS* modificētā metode

QuEChERS metode jau tika aprakstīta 2.6. nodaļā (metode Nr.8). Šī metode ir paredzēta pesticīdu noteikšanai, bet, veicot PAO noteikšanas metožu izpēti, tika nolemts izmēģināt arī *QuEChERS* metodi, un tika iegūti pozitīvi rezultāti. Eļļa ir sarežģīta matrica, jo tajā ir daudz lipīdu, kas apgrūtina PAO noteikšanu ar vienkāršāku metodi, kā to var izdarīt, ja analizējamā matrica ir, piemēram, ūdens. Tāpēc tika veikti tālāki pētījumi *QuEChERS* metodes modificēšanai, lai varētu panākt labāku PAO izdalīšanu no matricas.

Veiktās modifikācijas:

1. tika palielināts PSA daudzums uz 1 mL ekstrakta dispersīvajā hromatogrāfijā;
2. četru sāļu vietā tika izmantots NaCl un MgSO₄;
3. eļļai pievienojot ūdeni, ekstrakcija tika veikta ar etilacetātu, nevis acetonitrilu (beigās ietvaicējot ekstraktu paliek eļļa, kurai veic papildus attīrīšanu ar silikagela CFE kolonnām);
4. dispersīvās kolonnas vietā tika izmantots C18 sorbenta un MgSO₄ maisījums bez PSA;
5. tika veikta eļļas pirmapstrāde, eļļu izšķīdinot heksānā un pēc tam no šķīduma izsaldējot taukus -80 °C temperatūrā;
6. tika veikta eļļas pirmapstrāde, eļļu izšķīdinot heksānā un pievienojot koncentrētu sērskābi (PAO 30 min sērskābē ir stabili), un tālāk paraugs tika attīrīts divas reizes ar heksānu, beigās PAO tika ekstrahēti uz ledusaukstu heksānu, kam pievienots 5 % NaSO₄ šķīdums.

Dažos gadījumos, iztvaicējot iegūto ekstraktu, tomēr palika eļļains šķīdums, kā arī metodes raksturlielumi PAO noteikšanai eļļā bija sliktāki, salīdzinot ar akreditēto laboratorijas metodi. Pēc eksperimentu rezultātu apkopošanas un izvērtēšanas turpmākajos pētījumos tika izmantota pirmā un otrā metodes modifikācija.

3.10. Dažādu cietfāzes ekstrakcijas kolonnu sorbentu salīdzinājums

3.10.1. PAO samazināšanas iespējas atkarībā no lietoto kolonnu sorbentiem

Viena no policiklisko aromātisko ogļūdeņražu samazināšanas iespējām varētu būt augu eļļu apstrāde ar sorbentiem ražošanas procesā. Tika veikts pētījums par PAO samazināšanas iespējām, izmantojot šādus sorbentus: florisilu, neitrālu un skābu alumīnija oksīdu, silikagelu un aktīvo ogli. Pētījumā tika izmantota saulespuķu eļļa, kurā BaP saturs ir $5,9 \mu\text{g kg}^{-1}$. 30 g eļļas tika pievienots 0,6 g sorbenta (t.i., 2 %). Pēc veiktajiem pētījumiem tika secināts, ka PAO samazināšana ir iespējama tikai aktīvās ogles izmantošanas gadījumā (skat. 3.31. tabulu).

3.31. tabula

Eļļas attīrīšana ar aktivēto ogli ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

Savienojums	Nerāfinēta saulespuķu eļļa	Nerāfinēta saulespuķu eļļa, attīrīta ar 2 % aktīvās ogles
CPP	$2,9 \pm 0,6$	n.d.
BaA	$6,9 \pm 1,4$	n.d.
CHR	$7,4 \pm 1,5$	n.d.
5-MCHR	$0,6 \pm 0,1$	n.d.
BbF+BjF	$5,2 \pm 1,0$	n.d.
BkF	$3,6 \pm 0,7$	n.d.
BaP	$5,9 \pm 1,2$	n.d.
IcdP	$6,1 \pm 1,2$	n.d.
DahA	$1,5 \pm 0,3$	n.d.
BghiP	$4,7 \pm 0,9$	n.d.
DalP	$2,4 \pm 0,5$	n.d.
DaeP	$1,2 \pm 0,2$	n.d.
DaiP	$0,6 \pm 0,1$	n.d.
DahP	$0,1 \pm 0,02$	n.d.

n.d. – nav detektēts ($< 0,1 \mu\text{g kg}^{-1}$)

Eksperimentā tika panākts PAO satura samazinājums vismaz 220 reizes salīdzinājumā ar sākotnējo koncentrāciju. Citu sorbentu izmantošanas gadījumā PAO satura samazināšanas efekts ir nenozīmīgs. Pētījumā tika pierādīts, ka aktīvā ogle ir labs PAO sorbents un to varētu izmantot, lai attīrītu eļļas no PAO. Tādējādi patērētāji varētu būt droši, ka ar eļļu netiks uzņemti PAO, bet nav pierādīts, vai, attīrot eļļu ar ogli, nemainās tās organoleptiskās īpašības.

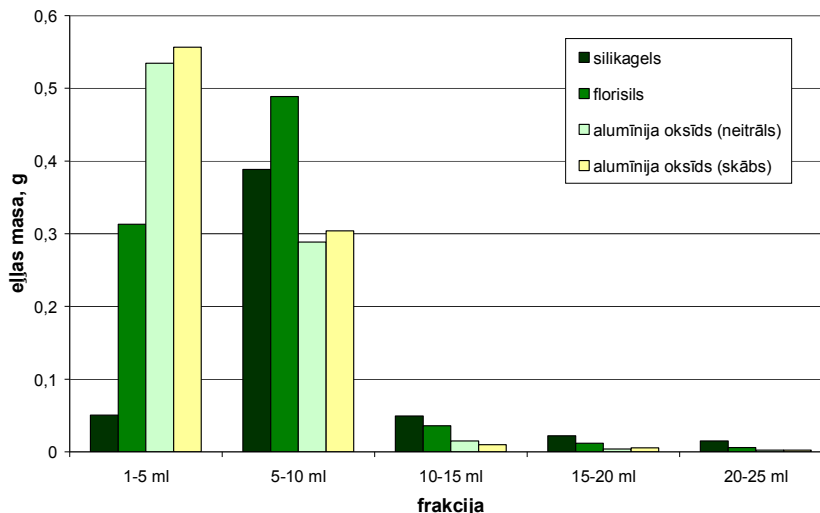
3.10.2. Eļļas sorbcija atkarībā no izmantotajiem sorbentiem

Šīs nodaļas eksperimenti veikti sadarbībā ar LLU doktoranti Ilzi Stumpi-Vīksnu. Nosakot dažādu sorbentu piemērotību BaP analizē, tika pārbaudīta eļļas sorbcija uz četriem sorbentiem – silikagela, florisila, neitrāla un skāba alumīnija oksīda. Tika nosvērts 1 g rapšu eļļas (ar precizitāti $\pm 0,01$ g), un paraugs tika izšķīdināts 5 mL cikloheksāna. Paraugs tika uzņemts uz 2 g sorbenta. Eluējot ar cikloheksānu, tika savāktas piecas frakcijas, katra pa 5 mL ekstrakta. Frakcijas tika ietvaicētas, un sausais atlikums noteikts gravimetriski. Kā redzams, visiem izmantotajiem sorbentiem, pirmajās divās frakcijās vislielākais eļļas daudzums eluējās ar pirmajiem 10 mL šķīdinātāja. Vislabākā lipīdu sorbcija piemīt tieši silikagelam. Iegūtie rezultāti ir apkopoti sekojošā 3.32. tabulā un prezentēti 3.11. attēlā.

3.32. tabula

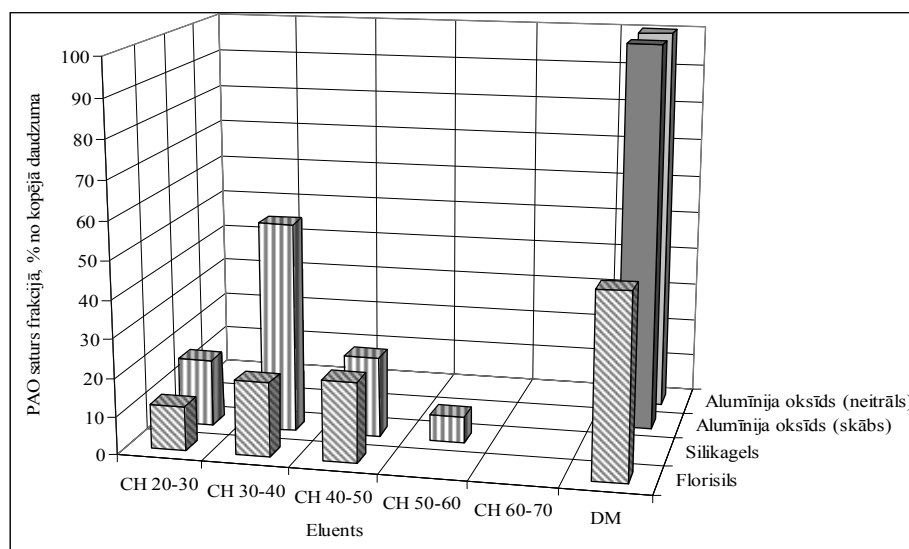
Eļļas saturs (g) dažādās cikloheksāna frakcijās

Frakcija	Silikagels	Florisils	Alumīnija oksīds (neitrāls)	Alumīnija oksīds (skābs)
1 – 5 mL	0,0506	0,3130	0,5345	0,5565
5 – 10 mL	0,3886	0,4887	0,2885	0,3041
10 – 15 mL	0,0495	0,0358	0,0150	0,0098
15 – 20 mL	0,0223	0,0118	0,0038	0,0055
20 – 25 mL	0,0150	0,0059	0,0023	0,0024
kopā	0,5260	0,8552	0,8441	0,8783
Eļļas sorbcija, %	47	15	16	12



3.11. att. Eļļas saturs (g) dažādās šķīdinātāja frakcijās

Turklāt, lai izvērtētu sorbentu piemērotību PAO analīzei un parauga attīrīšanai no traucējošām vielām, tika pārbaudīta arī PAO sorbcija uz šiem sorbentiem. Standartšķīdums tika uzņemts uz sorbenta, eluēts ar cikloheksānu un pēc tam ar dihlorometānu. Izmantojot alumīnija oksīdu (skābu un neitrālu), PAO eluējās tikai ar dihlorometāna frakciju (skat. 3.12. att.).



3.12. att. PAO sorbcija uz dažādiem sorbentiem (eluēts ar cikloheksānu (CH) un pēc tam ar dihlorometānu (DM))

Uz florisila un silikagela PAO sorbcija nav liela, un tie eluējās jau ar pirmajiem cikloheksāna mililitriem. Apkopojot šī eksperimenta rezultātus, turpmākiem pētījumiem tika izvēlēts silikagels, kas efektīvi sorbē PAO noteikšanai traucējošās vielas. Alumīnija oksīda un florisila izmantošanu kavē neliela lipīdu sorbcija uz šiem sorbentiem.

3.11. GH-AIMS metodes izstrāde PAO noteikšanai un tās validācija

Validācijas mērķis ir novērtēt GH-AIMS metodes piemērotību policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanai pārtikas eļļās. Validācijas plāns tika sastādīts, ņemot vērā Eiropas Komisijas direktīvas 2005/10/EC un Eiropas Padomes direktīvas 98/93/EC prasības. Lai novērtētu izstrādātās metodes validācijas parametrus, GH-AIMS tika salīdzināta ar GH-MS, kas laboratorijā ikdienā tiek izmantota PAO savienojumu noteikšanai. GH-MS metode ir validēta un akreditēta Latvijas Nacionālajā akreditācijas birojā.

Lai veiktu validācijas parametru pārbaudi, tika pagatavots PAO standartšķīdums ar masas koncentrāciju 0,150 ng mL⁻¹. Precizitāte tika novērtēta, veicot sešus paralēlus mērījumus, izmantojot GH-AIMS. Iegūtie dati apkopoti 3.33. tabulā.

3.33. tabula

Standartnovirzes, relatīvās standartnovirzes, atgūstamību, signāls/troksnis attiecības, LOD un LOQ vērtības PAO standartšķīdumam ar masas koncentrāciju 0,150 ng mL⁻¹

Savienojums	S _n , ng mL ⁻¹	S _{n,r} , %	Atgūstamība, %	S/N	LOD, ng mL ⁻¹	LOQ, ng mL ⁻¹
Ciklopenta(c,d)pirēns	0,00468	3,2	98,2	8300	0,00008	0,00023
Benzo(a)antracēns	0,00453	3,1	96,6	18929	0,00004	0,00010
Krizēns	0,00443	3,0	98,8	19410	0,00004	0,00010
5-Metilkrizēns	0,00793	5,6	95,0	37008	0,00002	0,00005
Benzo(b)fluorantēns	0,00355	2,5	94,9	40845	0,00002	0,00005
Benzo(k)fluorantēns	0,00606	4,2	95,3	51832	0,00002	0,00004
Benzo(j)fluorantēns	0,00451	3,2	94,8	44692	0,00002	0,00005
Benzo(a)pirēns	0,00511	3,5	97,3	44713	0,00002	0,00005
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	0,00465	3,2	95,8	36507	0,00002	0,00005
Dibenzo(a,h)antracēns	0,00342	2,3	98,6	46203	0,00002	0,00005
Benzo(g,h,i)perilēns	0,00559	4,0	92,4	34354	0,00002	0,00006
Dibenzo(a,l)pirēns	0,00326	2,0	111,1	6921	0,00011	0,00028
Dibenzo(a,e)pirēns	0,00363	2,6	91,3	5760	0,00008	0,00022
Dibenzo(a,i)pirēns	0,00627	3,6	115,7	5605	0,00011	0,00028
Dibenzo(a,h)pirēns	0,00522	2,8	124,2	4095	0,00015	0,00041

Atgūstamība iekļaujas robežās no 50 - 120 %, izņemot DahP. Signāla/troksņa attiecība (S/N) parāda, cik augsta ir iekārtas jutība un fona troksņa ietekme uz analīzi. Ja S/N attiecība ir lielāka par 10, tad mērījumu rezultāti ir apmierinoši. Šajā gadījumā attiecība S/N ir vairākas kārtas augstāka.

3.11.1. Selektivitāte

Veicot pētījumu par policiklisko aromātisko ogļūdeņražu saturu pārtikas produktos, PAO masas koncentrācijas tika noteiktas olīveļļas paraugam „*Oilio*” *Extra Virgin*, kas ražota Itālijā un ir pieejama Latvijas veikalos (skat. 3.34. tabulu).

3.34. tabula

Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu saturs tukšajā paraugā, analīzei izvēlētajā olīveļļā un fona ietekmes novērtējums uz matricu

Savienojums	Tukšais paraugs, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Olīveļļa, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Fona ietekme uz matricas, %
Ciklopenta(c,d)pirēns	0,006	0,611	0,98
Benzo(a)antracēns	0,007	0,758	0,92
Krizēns	0,007	1,466	0,48
5-Metilkrizēns	0,002	0,960	0,21
Benzo(b)fluorantēns	0,008	0,344	2,30
Benzo(k)fluorantēns	0,006	0,220	2,70
Benzo(j)fluorantēns	0,007	0,237	3,00
Benzo(a)pirēns	0,006	0,237	2,50
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	0,008	0,204	3,90
Dibenzo(a,h)antracēns	0,001	0,102	0,98
Benzo(g,h,i)perilēns	0,080	0,395	20,0
Dibenzo(a,l)pirēns	0,001	0,115	0,87
Dibenzo(a,e)pirēns	0,001	0,115	0,87
Dibenzo(a,i)pirēns	0,001	0,120	0,83
Dibenzo(a,h)pirēns	0,001	0,158	0,63

No rezultātiem var secināt, ka visvairāk olīveļļā ir krizēna ($1,466 \mu\text{g kg}^{-1}$), bet līdzīga koncentrācija ir dibenzo(a,l)pirēnam, dibenzo(a,e)pirēnam, dibenzo(a,i)pirēnam un dibenzo(a,h)pirēnam (no $0,115 - 0,158 \mu\text{g kg}^{-1}$). Lielākā toksicitāte no tiem piemīt DaIP, kura ekvivalentajai pieļaujamai vērtībai jāatbilst $0,02 \mu\text{g kg}^{-1}$, bet tā koncentrācija konkrētajā paraugā ir aptuveni 6 reizes lielāka, kas var radīt kancerogēno ietekmi uz cilvēka veselību. BaP saturs olīveļļā nepārsniedz maksimāli pieļaujamo daudzumu $2 \mu\text{g kg}^{-1}$, kas ir marķieris pārtikas produktos.

Olīveļļa „*Oilio*” *Extra Virgin* ir nerafinēta pirmā spieduma eļļa, kurā PAO masas koncentrācijas ir mazākas, salīdzinot ar rafinēto eļļu, jo tā netiek pakļauta rafinēšanas procesiem (piemēram, deodorācijai, balināšanai), kas ir PAO rašanās avoti. PAO nerafinētās eļļās galvenokārt nonāk ar atmosfēras piesārņojumu vai piesārņošanu tās ražošanas procesā. Viens no galvenajiem

eļļu piesārņojuma avotiem ražošanas procesā ir sēkļu žāvēšana, kad tās nonāk saskarē ar kurināmā sadegšanas produktiem. Spiežot eļļu pat zemās temperatūrās, PAO koncentrācijas pieaug, jo PAO ir koncentrējušies sēkļu lipīdu daļā, kā arī notiek to ekstrahēšana ar eļļu no izspiedām.

Metodes selektivitāte ir pārbaudīta, veicot tukšā parauga analīzi, kas nesatur PAO. Tukšā parauga sagatavošana pilnībā atbilst eļļas paraugu sagatavošanai, kurā netiek pievienota eļļa. Tukšo paraugu salīdzinot ar olīveļļas paraugu, tika aprēķināta fona ietekme uz matricas (skat. 3.34. tabulu) sekojošā veidā:

$$\text{Fona ietekme} = (\text{tukšais paraugs/olīveļļa}) \times 100$$

Fona ietekme ir minimāla, un tā būtiski neietekmē analīzes rezultātus. Lielākā fona ietekme ir novērojama benzo(g,h,i)perilēnam, un tā ir 20 % liela.

3.11.2. Linearitāte

Linearitāte ir pārbaudīta, analizējot ar GH-AIMS PAO standartšķīdumus ar masas koncentrācijām 0,02; 0,10; 0,50; 2,00 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Šajā analīzē integrē hromatogrāfiskās smailes un konstruē kalibrēšanas grafiku katram PAO atsevišķi. Otrs kalibrēšanas grafiks ir konstruēts uz matricas, pievienojot iekšējos deiterētos standartus un standartpiedevas noteiktās masas koncentrācijas diapazonā no 0,02 – 2,00 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (skat. 3.35. tabulu).

Korelācijas koeficienti policikliskajiem aromātiskajiem ogleņražiem, detektēšanai izmantojot GH-AIMS

Savienojums	R^2 standartšķīdums	R^2 standartšķīdums ar matricu
Ciklopenta(c,d)pirēns	0,998	0,9992
Benzo(a)antracēns	0,998	0,997
Krizēns	0,998	0,997
5-Metilkrizēns	0,9997	0,9997
Benzo(b)fluorantēns	0,9996	0,997
Benzo(k)fluorantēns	1,0000	0,9990
Benzo(j)fluorantēns	0,9997	0,9991
Benzo(a)pirēns	0,9998	0,998
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	0,9999	0,9994
Dibenzo(a,h)antracēns	0,9999	0,9997
Benzo(g,h,i)perilēns	0,9999	0,9990
Dibenzo(a,l)pirēns	0,9989	0,998
Dibenzo(a,e)pirēns	0,9990	0,9990
Dibenzo(a,i)pirēns	0,9992	0,9991
Dibenzo(a,h)pirēns	0,9992	0,9991

Rezultāti liecina, ka GH-AIMS metodei piemīt laba korelācija starp analītisko signālu un PAO savienojumu masas koncentrāciju. Atbilstība prasībām ir izpildīta, jo korelācija koeficienti (R^2) visu savienojumu kalibrēšanas grafikiem ir lielāki par 0,995. Rezultāti liecina, ka matrica ir piemērota GH-AIMS metodei un tā neietekmē rezultātus.

3.11.3. Kvalitatīvās un kvantitatīvās noteikšanas robeža

Metodes noteikšanas robeža tika pārbaudīta, veicot parauga analīzi ar PAO standartpiedevu un nosakot signāla/trokšņa intensitāti. Kvalitatīvās noteikšanas novērtēšanai izmantoja attiecību $S/N = 3$, bet kvantitatīvās noteikšanas robežas novērtēšanai – $S/N = 10$. 3.36. tabulā ir aprēķinātas kvalitatīvās un kvantitatīvās robežas paraugam ar standartpiedevas koncentrāciju $2,00 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Detektēšanas un kvantitēšanas robežas policikliskajiem aromātiskajiem ogļūdeņražiem

Savienojums	GH-AIMS			GH-MS		
	LOD, $\mu\text{g kg}^{-1}$	LOQ, $\mu\text{g kg}^{-1}$	S/N	LOD, $\mu\text{g kg}^{-1}$	LOQ, $\mu\text{g kg}^{-1}$	S/N
Ciklopenta(c,d)pirēns	0,0012	0,0043	4833	0,035	0,118	170
Benzo(a)antracēns	0,0007	0,0026	7678	0,038	0,125	160
Krizēns	0,0006	0,0022	9279	0,021	0,071	282
5-Metilkrizēns	0,0017	0,0058	3462	0,049	0,164	122
Benzo(b)fluorantēns	0,0011	0,0037	5341	0,038	0,125	160
Benzo(k)fluorantēns	0,0013	0,0044	4512	0,050	0,167	120
Benzo(j)fluorantēns	0,0012	0,0042	4794	0,038	0,127	158
Benzo(a)pirēns	0,0012	0,0041	4933	0,025	0,084	238
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	0,0012	0,0039	5176	0,060	0,200	100
Dibenzo(a,h)antracēns	0,0013	0,0043	4664	0,050	0,165	121
Benzo(g,h,i)perilēns	0,0010	0,0033	6128	0,044	0,148	135
Dibenzo(a,l)pirēns	0,0061	0,020	998	0,090	0,299	67
Dibenzo(a,e)pirēns	0,0077	0,025	784	0,105	0,351	57
Dibenzo(a,i)pirēns	0,0073	0,024	824	0,083	0,278	72
Dibenzo(a,h)pirēns	0,0084	0,028	715	0,125	0,417	48

LOD- kvalitatīvā noteikšanas robeža

LOQ- kvantitatīvā noteikšanas robeža

PAO kvalitatīvās noteikšanas robežai pārtikas produktu testēšanā jābūt mazākai par $0,30 \mu\text{g kg}^{-1}$, bet kvantitatīvās noteikšanas robežai zem – $0,90 \mu\text{g kg}^{-1}$. GH-AIMS BaP kvalitatīvās noteikšanas robeža tika atrasta $0,0012 \mu\text{g kg}^{-1}$, bet kvantitatīvās noteikšanas robeža $0,0041 \mu\text{g kg}^{-1}$, kas atbilst EK direktīvas 2005/10/EK noteiktajiem kritērijiem BaP analīzes metodēm. Signāla un trokšņa attiecība ir ļoti laba, kas pierāda iekārtas augsto jutību un minimālu trokšņu ietekmi uz analīzi. Lielāka S/N attiecība ir novērojama krizēnam, jo tā masas koncentrācija olīveļļā atbilstoši ir lielākā no visiem analizētajiem 15 PAO.

Gāzu hromatogrāfa – masspektrometra S/N attiecība ir noteikta, izmantojot *ChemStation* programmu, lietojot standartpiedevu metodi (masas koncentrācija $2 \mu\text{g kg}^{-1}$). Arī GH-MS analīžu rezultāti atbilst likumdošanas 2005/10/EK direktīvas noteiktajiem BaP validācijas kritērijiem. Signāla un trokšņa attiecība GH-MS ir laba, bet, salīdzinot ar GH-AIMS metodi, ir lielāka trokšņa ietekme uz analīzes rezultātiem.

Izmantojot GH-MS iekārtu, nevar noteikt dibenzo(a,l)pirēna ekvivalento maksimāli pieļaujamo koncentrāciju, kas ir $0,02 \mu\text{g kg}^{-1}$, jo zemākā kvantitatīvā noteikšanas robeža ir $0,30 \mu\text{g kg}^{-1}$. GH-AIMS ir piemērotāka metode dibenzo(a,l)pirēnam, jo tās LOQ ir $0,020 \mu\text{g kg}^{-1}$. Citu PAO GH-AIMS metodes kvantitatīvās noteikšanas robežas ir par vienu vai divām kārtām augstākas, salīdzinot ar GH-MS metodi.

3.11.4. Metodes un iekārtas precizitāte

Metodes validācija tika veikta 3 dienas. Katru dienu tika pagatavoti 6 paralēlie paraugi katram koncentrācijas līmenim $0,02 \mu\text{g kg}^{-1}$, $0,10 \mu\text{g kg}^{-1}$, $0,50 \mu\text{g kg}^{-1}$, $2,00 \mu\text{g kg}^{-1}$. Tabulās uzrādītas tikai zemākās un augstākās koncentrācijas rezultāti (3.37. – 3.39. tabula). Paralēļajiem mērījumiem tika aprēķināta vidējā vērtība, vidējā vērtības standartnovirze S_n un relatīvā standartnovirze $S_{n,r}$.

3.37. tabula

PAO trīs dienu validācijas vidējās masas koncentrācijas

Savienojums	Standartpiedevas koncentrācija $0,02 \mu\text{g kg}^{-1}$			Standartpiedevas koncentrācija $2,00 \mu\text{g kg}^{-1}$		
	1.diena	2.diena	3.diena	1.diena	2.diena	3.diena
Ciklopenta(c,d)pirēns	0,018	0,034	0,018	1,848	1,439	1,759
Benzo(a)antracēns	0,022	0,034	0,016	1,899	2,012	2,345
Krizēns	0,019	0,017	0,017	1,798	1,599	1,979
5-Metilkrizēns	0,029	0,028	0,031	2,093	1,794	2,133
Benzo(b)fluorantēns	0,021	0,021	0,018	2,060	2,282	2,042
Benzo(k)fluorantēns	0,024	0,014	0,018	1,903	1,845	2,090
Benzo(j)fluorantēns	0,036	0,019	0,019	1,734	2,394	2,061
Benzo(a)pirēns	0,022	0,017	0,027	1,559	2,081	1,877
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	0,029	0,014	0,020	1,829	1,592	2,071
Dibenzo(a,h)antracēns	0,032	0,032	0,019	1,999	1,695	2,184
Benzo(g,h,i)perilēns	0,035	0,026	0,026	1,991	2,251	2,045
Dibenzo(a,l)pirēns	0,025	0,035	0,014	2,004	1,858	2,114
Dibenzo(a,e)pirēns	0,028	0,024	0,015	2,099	1,786	2,224
Dibenzo(a,i)pirēns	0,026	0,018	0,012	1,739	2,026	2,006
Dibenzo(a,h)pirēns	0,026	0,023	0,013	2,229	2,193	2,154

Izvērtējot vidējās vērtības rezultātus trīs dienu validācijā, redzams, ka masas koncentrācijas starp dienām nedaudz mainās. Nav novērojama sakarība starp dienām, piemēram, ka pirmajā dienā

būtu lielākas visas PAO koncentrācijas nekā otrajā dienā, tātad novērojamai izkliedei ir nejaušs raksturs.

3.38. tabula

PAO trīs dienu validācijas vidējās vērtības standartnovirzes S_n

Savienojums	Standartpiedevas koncentrācija 0,02 $\mu\text{g kg}^{-1}$			Standartpiedevas koncentrācija 2,00 $\mu\text{g kg}^{-1}$		
	1.diena	2.diena	3.diena	1.diena	2.diena	3.diena
Ciklopenta(c,d)pirēns	0,011	0,016	0,007	0,485	0,987	0,450
Benzo(a)antracēns	0,009	0,008	0,002	0,458	0,084	0,188
Krizēns	0,009	0,006	0,002	0,612	0,392	0,016
5-Metilkrizēns	0,019	0,011	0,013	0,197	0,320	0,007
Benzo(b)fluorantēns	0,010	0,002	0,006	0,548	0,061	0,021
Benzo(k)fluorantēns	0,015	0,003	0,001	0,355	0,237	0,015
Benzo(j)fluorantēns	0,013	0,008	0,003	0,604	0,020	0,004
Benzo(a)pirēns	0,004	0,003	0,003	0,109	0,153	0,345
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	0,014	0,005	0,005	0,232	0,044	0,044
Dibenzo(a,h)antracēns	0,019	0,007	0,007	0,252	0,048	0,004
Benzo(g,h,i)perilēns	0,015	0,002	0,002	0,298	0,124	0,054
Dibenzo(a,l)pirēns	0,009	0,007	0,004	0,228	0,308	0,033
Dibenzo(a,e)pirēns	0,010	0,005	0,004	0,475	0,071	0,057
Dibenzo(a,i)pirēns	0,005	0,005	0,003	0,104	0,200	0,024
Dibenzo(a,h)pirēns	0,012	0,007	0,003	0,166	0,035	0,261

Izvērtējot standartnoviržu analīzes datus, redzams, ka, palielinoties standartpiedevas masas koncentrācijai, rezultātu izkliede starp dienām palielinās un vērtējama kā ievērojama.

PAO trīs dienu validācijas vidējās vērtības relatīvās standartnovirzes $S_{n,r}$

Savienojums	Standartpiedevu koncentrācija $0,02 \mu\text{g kg}^{-1}$			Standartpiedevu koncentrācija $2,00 \mu\text{g kg}^{-1}$		
	1.diena	2.diena	3.diena	1.diena	2.diena	3.diena
Ciklopenta(c,d)pirēns	61,1	47,1	38,9	26,2	68,6	25,6
Benzo(a)antracēns	40,9	23,5	12,5	24,1	4,2	8,0
Krizēns	47,4	35,3	11,8	34,0	24,5	0,8
5-Metilkrizēns	65,5	39,3	41,9	9,4	17,8	0,3
Benzo(b)fluorantēns	47,6	9,5	33,3	26,6	2,7	1,0
Benzo(k)fluorantēns	62,5	21,4	5,6	18,7	12,8	0,7
Benzo(j)fluorantēns	36,1	42,1	15,8	34,8	0,8	0,2
Benzo(a)pirēns	18,2	17,6	11,1	7,0	7,4	18,4
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	48,3	35,7	25,0	12,7	2,8	2,1
Dibenzo(a,h)antracēns	59,4	21,9	36,8	12,6	2,8	0,2
Benzo(g,h,i)perilēns	42,9	7,7	7,7	15,0	5,5	2,6
Dibenzo(a,l)pirēns	36,0	20,0	28,6	11,4	16,6	1,6
Dibenzo(a,e)pirēns	35,7	20,8	26,7	22,6	4,0	2,6
Dibenzo(a,i)pirēns	19,2	27,8	25,0	6,0	9,9	1,2
Dibenzo(a,h)pirēns	46,2	30,4	23,1	7,4	1,6	12,1

Metodes relatīvā standartnovirze pārtikas produktu testēšanā nedrīkst pārsniegt 20 %. Izvērtējot iegūtos rezultātus, visos gadījumos tas nav izpildījies, apmierinoša relatīvā standartnovirze ir novērojama koncentrāciju diapazonā no $0,50 - 2,00 \mu\text{g kg}^{-1}$. Parauga sagatavošana sastāv no vairākām stadijām, tādēļ paraugiem ar mazākām standartpiedevas koncentrācijām ir novērojamas lielākas rezultātu relatīvās novirzes. Otrajā dienā labākas $S_{n,r}$ vērtības ir pie lielākām koncentrācijām, bet pie mazākām standartpiedevu koncentrācijām $0,02 \mu\text{g kg}^{-1}$ un $0,10 \mu\text{g kg}^{-1}$ ir vērojama lielāka gadījuma kļūdas ietekme. Trešās dienas analīzes rezultātos $S_{n,r}$ vērtības ir labas visā standartpiedevu diapazonā, ar dažām izteiktām novirzēm, ko varētu skaidrot ar matricas sastāvdaļu ietekmi uz rezultātiem.

Izvērtējot triju dienu iegūtos datus, rezultātu novirzes varētu skaidrot ar cilvēciskā faktora ietekmi paraugu sagatavošanas procesā. Lai uzlabotu rezultātu precizitāti, būtu ieteicams metodi automatizēt, piemēram, izmantojot superkritisko šķidrums ekstrahciju. Tā ir selektīva ekstrakcija, un nav nepieciešamas tālākās parauga sagatavošanas procedūras. Ir izstrādātas selektīvas

superkritisko šķidrums ekstrakcijas metodes, kurās PAO detektēšanai izmanto GH-MS, GH-AIMS, un tās varētu uzlabot metodes atgūstamību, bet kopumā metode tiktu būtiski sadārdzināta.

Iekārtas precizitāte ir noteikta kā atkārtotu mērījumu (n=6) relatīvā standartnovirze. Tika izvēlēts eļļas paraugs ar standartpiedevu $0,50 \mu\text{g kg}^{-1}$, kas tika injicēts sešas reizes. Iegūtie rezultāti apkopoti 3.40. tabulā.

3.40. tabula

GH-AIMS iekārtas precizitātes mērījumu rezultāti ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

PAO savienojums	1.	2.	3.	4.	5.	6.	γ_{vids}	S_n	$S_{n,r}, \%$
Ciklopenta(c,d)pirēns	0,266	0,224	0,223	0,225	0,233	0,223	0,226	0,004	1,67
Benzo(a)antracēns	0,650	0,644	0,640	0,646	0,641	0,639	0,643	0,004	0,65
Krizēns	0,645	0,646	0,637	0,643	0,637	0,645	0,642	0,004	0,64
5-Metilkrizēns	0,426	0,423	0,415	0,419	0,412	0,414	0,418	0,005	1,31
Benzo(b)fluorantēns	0,609	0,616	0,619	0,623	0,612	0,629	0,618	0,007	1,18
Benzo(k)fluorantēns	0,666	0,664	0,661	0,667	0,679	0,664	0,667	0,006	0,95
Benzo(j)fluorantēns	0,545	0,554	0,552	0,554	0,556	0,552	0,552	0,004	0,69
Benzo(a)pirēns	0,526	0,526	0,529	0,531	0,530	0,534	0,529	0,003	0,58
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	0,763	0,762	0,765	0,766	0,770	0,777	0,767	0,006	0,73
Dibenzo(a,h)antracēns	0,528	0,530	0,528	0,531	0,510	0,531	0,526	0,008	1,54
Benzo(g,h,i)perilēns	0,773	0,778	0,780	0,783	0,785	0,783	0,780	0,004	0,56
Dibenzo(a,l)pirēns	33,458	32,045	32,711	33,455	33,269	35,187	33,354	1,050	3,15
Dibenzo(a,e)pirēns	63,612	60,420	60,057	62,452	62,690	63,559	62,132	1,541	2,48
Dibenzo(a,i)pirēns	23,510	22,569	21,814	23,425	22,364	23,430	22,852	0,706	3,09
Dibenzo(a,h)pirēns	16,727	16,131	16,257	17,209	16,378	17,027	16,622	0,437	2,63

Iekārtas precizitāte nepārsniedz $\pm 20 \%$ nevienā PAO mērījumā. Lielākās relatīvās standartnovirzes ir novērojamas DalP, DaeP, DaiP un DahP no 2,5 % līdz 3,2 %, jo šo savienojumu koncentrācijas paraugā ir mazas, pie kam S/N attiecība arī samazinās, kamēr palielinās trokšņu ieguldījums.

3.11.5. Atgūstamība

Metodes atgūstamība ir novērtēta, pievienojot olīveļļai PAO standartpiedevas koncentrāciju diapazonā no $0,02 \mu\text{g kg}^{-1}$ līdz $2,00 \mu\text{g kg}^{-1}$. Iegūtās atgūstamības apkopotas 3.41. tabulā.

GH-AIMS metodes atgūstamība eļļai

PAO savienojums	Atgūstamība, %
Ciklopenta(c,d)pirēns	103 – 137
Benzo(a)antracēns	95 – 124
Krizēns	97 – 107
5-Metilkrizēns	80 – 90
Benzo(b)fluorantēns	65 – 109
Benzo(k)fluorantēns	77 – 116
Benzo(j)fluorantēns	88 – 115
Benzo(a)pirēns	96 – 105
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	83 – 110
Dibenzo(a,h)antracēns	88 – 106
Benzo(g,h,i)perilēns	85 – 113
Dibenzo(a,l)pirēns	65 – 98
Dibenzo(a,e)pirēns	57 – 94
Dibenzo(a,i)pirēns	61 – 77
Dibenzo(a,h)pirēns	61 – 78

Metodes atgūstamībai jābūt intervālā 50 – 120 %. Plašo atgūstamības intervālu var izskaidrot ar analizējamo savienojumu zudumiem parauga sagatavošanas procesā un matricas efektu, kas pastiprina savienojumu analītisko signālu. BaP atgūstamības intervāls ir 88 – 115 %. Visu PAO savienojumu atgūstamības intervāli atbilst likumdošanas 2005/10/EK direktīvas noteiktajiem BaP validācijas kritērijiem.

3.11.6. Prasmes pārbaudes un starplaboratoriju testēšana

“BIOR” laboratorijas metodes pareizība 2005. un 2007. gadā veiksmīgi tika pārbaudīta salīdzinošajā testēšanā olīveļļu paraugos. 2010. gadā veiksmīgs starplaboratoriju salīdzināšanas tests ir bijis palmu eļļā un bērnu pārtikā, kur visi Z-kritēriji atradās zem 2. Laboratorijā references materiāli nav pieejami, tāpēc dalība starptautiskajās salīdzināšanas testēšanā ir nepieciešama, lai novērtētu rutīnas analīzes metožu pareizību un precizitāti.

3.12. UEŠH-MS-MS metodes izveide PAO noteikšanai

Metodes izstrādes mērķis ir izveidot praktisku metodi, kas būtu ātra, droša, lēta, specifiska, pareiza, reproducējama un lai tā vienlaikus atbilstu normatīvajām prasībām.

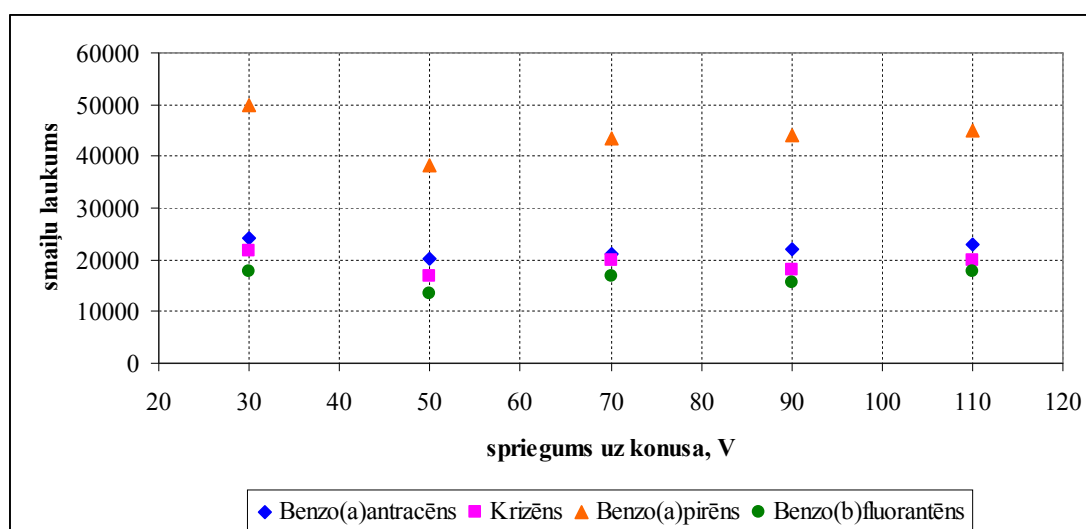
Pirmais metodes izstrādes etaps ir stabilu molekulāro jonu iegūšana PAO4 (benzo(a)pirēna, krizēna, benzo(a)antracēna un benzo(b)fluorantēna) identifikācijai un kvantitatīvai noteikšanai. Vispirms katram PAO molekulas jonizācija tika pārbaudīta MS skenēšanas režīmā, atmosfēras spiediena ķīmiskā jonizācijā un elektronizsmidzināšanas jonizācijā, pozitīvajos un negatīvajos režīmos dažādos konusa spriegumos (3.42. tabula un 3.13. attēls). Pēc tam tika izvēlēts optimālais konusa spriegums, kurā veidojas intensīvākais molekulārais jons, tika veikta izvēlēta jona fragmentācija pie dažādām fragmentācijas enerģijās vērtībām un no tiem izvēlējās optimālākos parametrus turpmākām analīzēm.

3.42. tabula

Jonizācijas režīmi un to parametru izvēle 4 PAO detektēšanai

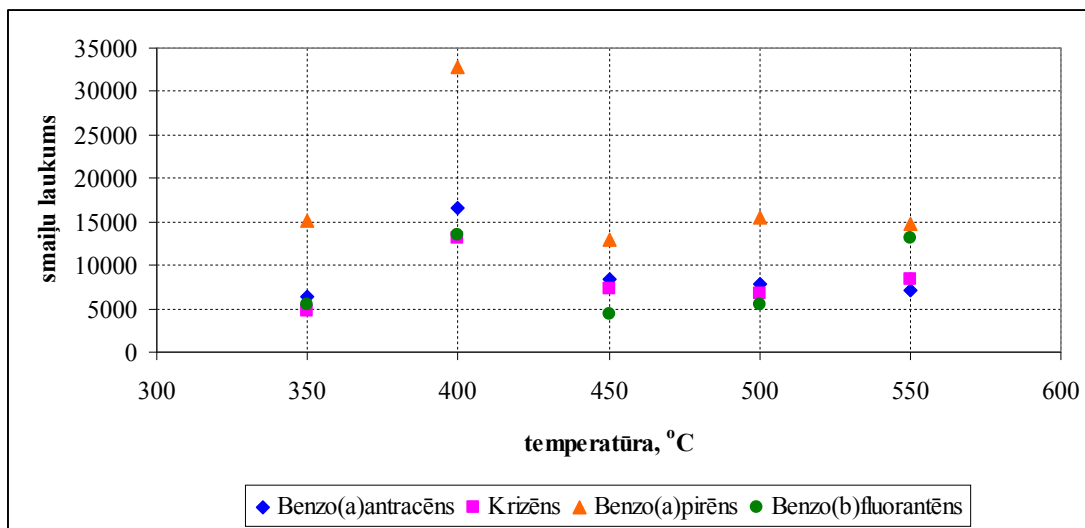
Jonizācijas veids	Spriegums uz konusa, V	Fragmentācijas enerģija, eV
ASPĶJ	30; 50; 70; 90; 110	30; 35; 45; 50; 60; 90; 100
ASNĶJ	30; 50; 70; 90; 110	-
EIPJ	30; 50; 70; 90; 110	-
EINP	-60	5; 10; 15; 20; 25; 30; 40; 50

Atmosfēras spiediena pozitīvā ķīmiskā jonizācija (ASPĶJ); Atmosfēras spiediena negatīvā ķīmiskā jonizācija (ASNĶJ); Elektronizsmidzināšanas pozitīvā jonizācija (EIPJ); Elektronizsmidzināšanas negatīvā jonizācija (EINJ)

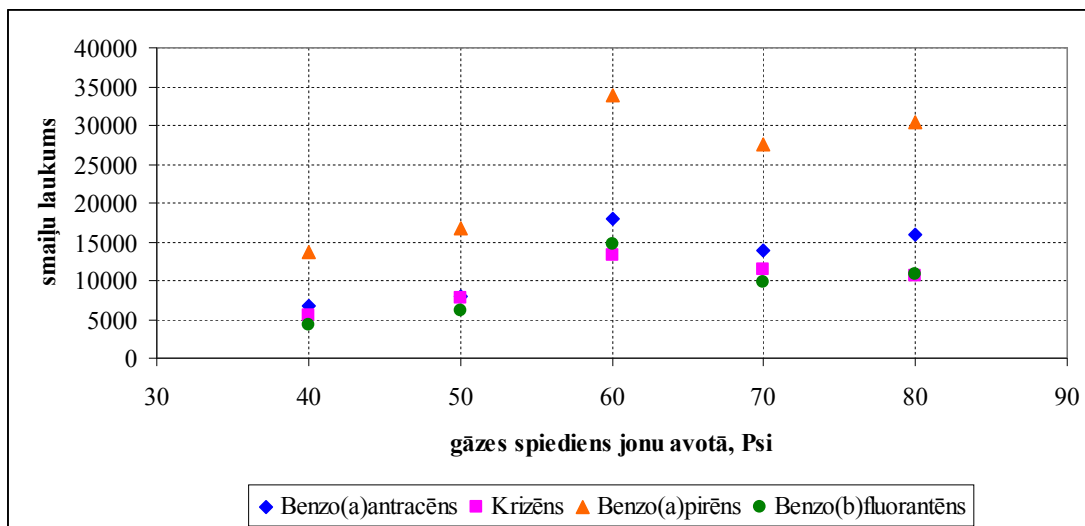


3.13. att. PAO4 smaiju laukumu atkarība no sprieguma potenciāla

Jonizācijas efektivitāti masspektrometrijā var uzlabot, mainot jonu avota temperatūru (3.14. att.) un izsmidzināšanas gāzes spiedienu jonu avotā (3.15. att.).



3.14. att. PAO4 smaīļu laukumu atkarība no temperatūras maiņas



3.15. att. PAO4 smaīļu laukumu atkarība no gāzes spiediena uz jonu avotu

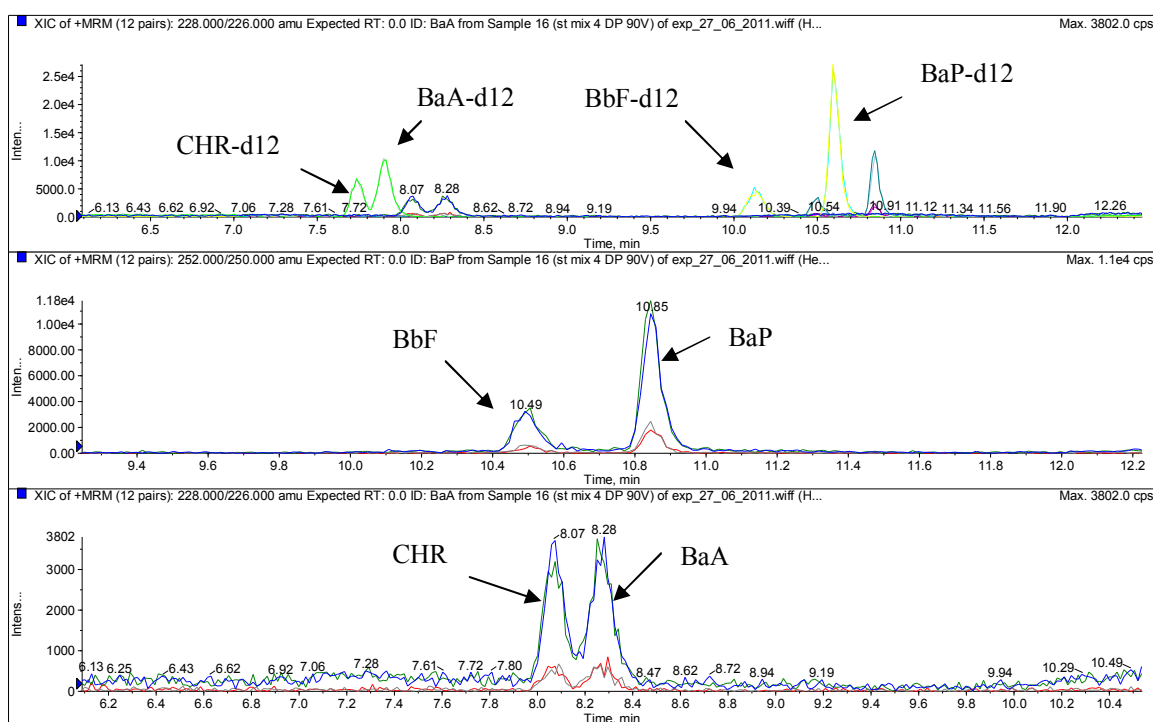
Nākamais etaps ir izdalīšanas laiku optimizēšana, izmantojot trīs dažādas hromatogrāfijas kolonnas:

- *Phenomenex, Kinetex C18* 50 mm × 3 mm, daļiņu izmērs 1,7 μm;
- *Phenomenex, Kinetex C18* 100 mm × 4,6 mm, daļiņu izmērs 2,6 μm;
- *Phenomenex, Luna Phenyl-Hexyl* 150 mm × 4,6 mm, daļiņu izmērs 5 μm.

Izdalīšanas laiku hromatogrāfijā var regulēt, mainot kustīgās fāzes gradientu un plūsmas ātrumu. Šajā gadījumā tika mainīta acetonitrila un ūdens maisījuma attiecība. Papildus tika mainīts

kustīgās fāzes pH ar 0,1% skudrskābes ūdens šķīdumu, kā arī tika izmantots amonija formiāta buferšķīdums. Skudrskābi izmanto, jo tā spēj uzlabot jonizāciju, un tā darbojas kā protonu donors. Trifluoretiķskābi hromatogrāfijā izmanto kā jonu pāru reaģentu. Šajā gadījumā trifluoretiķskābe jonizāciju nomāca, jo tā darbojās kā jonu slāpētājs, t.i., jonizācija notiek mazāk efektīvi. Tā kā CHR un BaA savienojumu molmasas ir 228, bet BaP un BbF molmasas ir 252, tas apgrūtina šo smaiļu atdalīšanu ar mums pieejamajām kolonnām.

Pēc iepriekšminēto masspektrometra parametru optimizēšanas 4 PAO standartšķīdumu ($2 \mu\text{g kg}^{-1}$) injicēja UEŠH-MS-MS sistēmā. PAO4 standartšķīduma hromatogramma redzama 3.16. attēlā.



3.16. att. PAO4 standartšķīduma ($2 \mu\text{g kg}^{-1}$) hromatogramma

Pēc tam, kad detektēšanas metode uz UEŠH-MS-MS tika pilnveidota ar standartšķīdumiem un iegūtais rezultāts tika novērtēts kā apmierinošs, tad nākamais solis bija, reālu paraugu analīze ar šo iekārtu. Vispirms tika analizēti eļļas un konservu paraugi, kas pagatavoti ar akreditēto laboratorijas metodi, un pirms tam PAO4 saturs tajos noteikts, izmantojot GH-MS (3.43. – 3.44. tabula). Lai pārlicinātos par analītiskās metodes pareizību, tika salīdzinātas laboratorijas akreditētā metode ar modificēto *QuEChERS* metodi, kā arī tika savstarpēji salīdzinātas detektēšanas iekārtas.

3.43. tabula

PAO4 satura ($\mu\text{g kg}^{-1}$) salīdzinājums olīveļļā (n=5), kvantificējot ar divām atšķirīgām metodēm un iekārtām

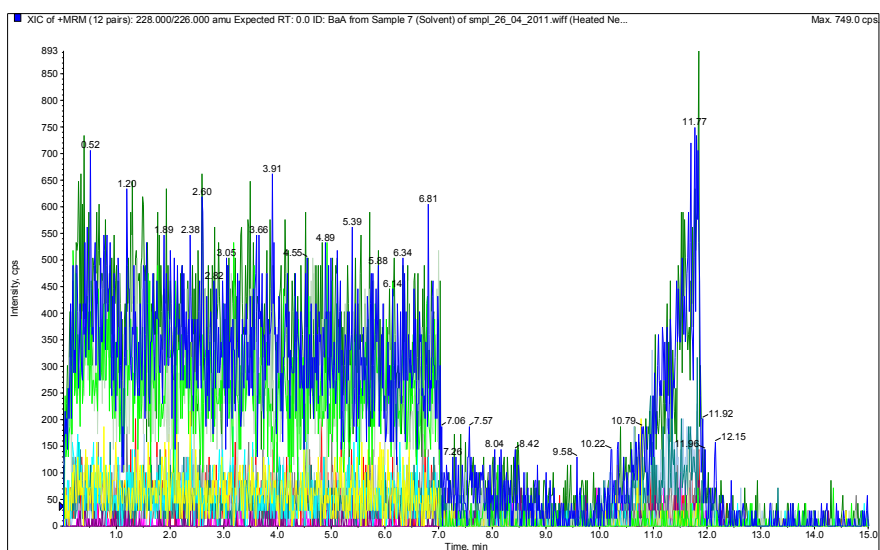
Iekārta	Akreditētā metode			
	BaA	CHR	BbF	BaP
GH-MS	1,37 ± 0,23	4,68 ± 0,61	1,50 ± 0,27	0,26 ± 0,05
UEŠH-MS-MS	1,19 ± 0,19	4,38 ± 0,66	1,73 ± 0,29	0,21 ± 0,04
Iekārta	Modificētā <i>QuEChERS</i> metode			
	BaA	CHR	BbF	BaP
GH-MS	1,04 ± 0,21	4,95 ± 0,99	1,40 ± 0,28	0,33 ± 0,07
UEŠH-MS-MS	1,23 ± 0,25	4,43 ± 0,89	1,84 ± 0,37	0,23 ± 0,05

3.44. tabula

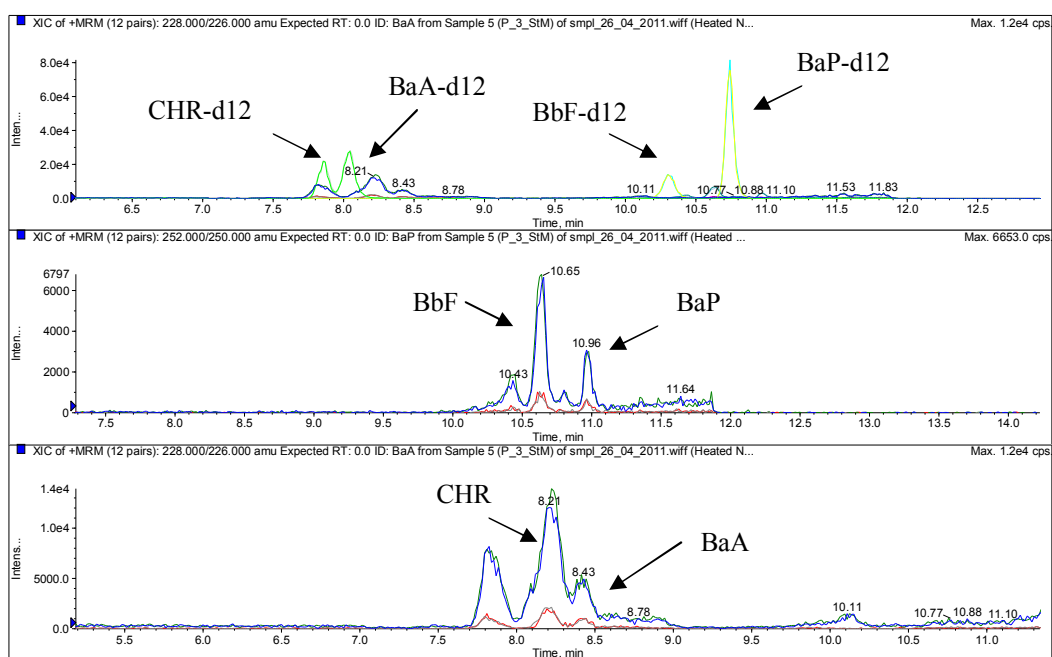
PAO4 satura ($\mu\text{g kg}^{-1}$) salīdzinājums konservos šprotes eļļā nr. 6784 (n=5), kvantificējot ar divām atšķirīgām metodēm un iekārtām

Iekārta	Akreditētā metode			
	BaA	CHR	BbF	BaP
GH-MS	8,48 ± 1,44	8,69 ± 1,13	2,55 ± 0,46	2,58 ± 0,49
UEŠH-MS-MS	8,65 ± 1,47	8,43 ± 1,10	2,41 ± 0,43	2,66 ± 0,51
Iekārta	Modificētā <i>QuEChERS</i> metode			
	BaA	CHR	BbF	BaP
GH-MS	8,45 ± 1,69	8,78 ± 1,76	2,79 ± 0,56	2,86 ± 0,57
UEŠH-MS-MS	8,69 ± 1,74	8,80 ± 1,76	2,86 ± 0,57	2,45 ± 0,49

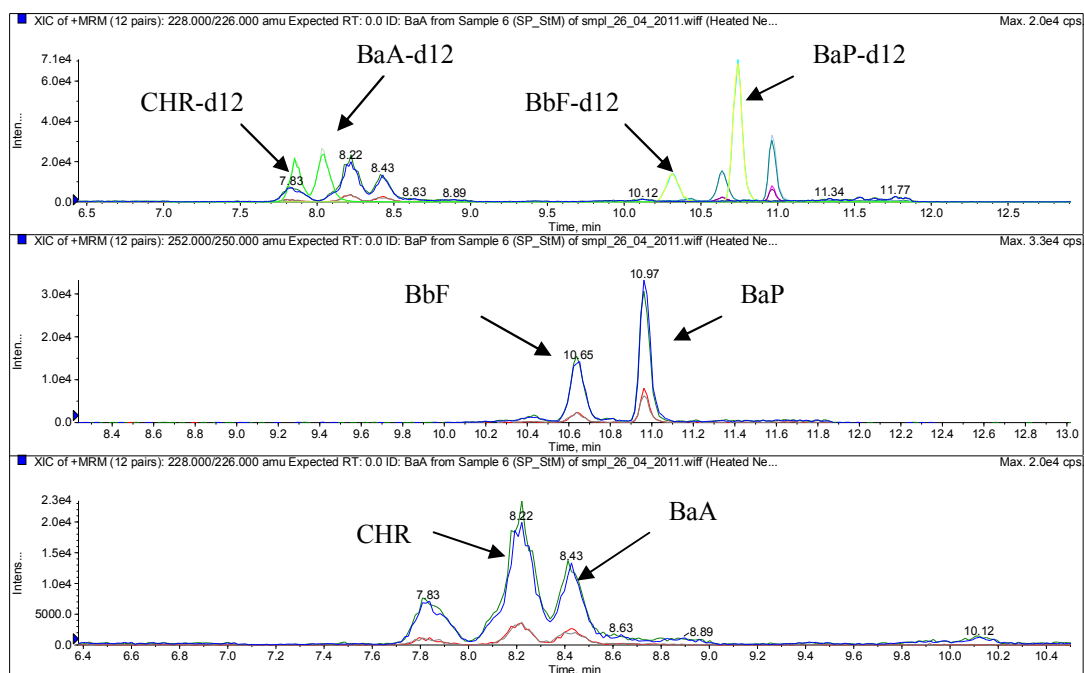
Apkopojot izstrādātās analītiskās metodes validācijas rezultātus, var secināt, ka UEŠH-MS-MS metode ir selektīva, jo analizējamo vielu signāli nepārklājas ar citu vielu smailēm. Šķīdinātāja, dabīgi kontaminēta eļļas parauga un eļļas parauga hromatogrammas ar standartpiedevu $2 \mu\text{g kg}^{-1}$ redzamas 3.17., 3.18. un 3.19. attēlos.



3.17. att. Šķīdinātāja hromatogramma PAO4 analizēm, izmantojot UEŠH-MS-MS



3.18. att. Dabīgi kontaminēta eļļas parauga hromatogramma



3.19. att. Dabīgi kontaminēta eļļas parauga hromatogramma ar standartpiedevu $2 \mu\text{g kg}^{-1}$

Tika aprēķināta metodes zemākā noteikšanas robeža (LOD) un zemākā kvantitēšanas robeža (LOQ) katram savienojumam (skat. 3.45. tabulu). Kvalitatīvās noteikšanas novērtēšanai izmanto attiecību $S/N = 3$, bet kvantitatīvās noteikšanas robežas novērtēšanai – $S/N = 10$.

3.45. tabula

PAO4 signāls pret troksni, zemākā noteikšanas robeža un zemākā kvantitēšanas robeža pie koncentrācijas $0,5 \mu\text{g kg}^{-1}$

Savienojums	S/N	LOD	LOQ
Benzo(a)antracēns	220	0,007	0,023
Krizēns	293	0,005	0,017
Benzo(a)pirēns	312	0,005	0,016
Benzo(b)fluorantēns	229	0,007	0,022

Matricas efekta dēļ kalibrēšanu veica uz matricas, tai pievienojot standartpiedevas. Eļļas matricai kalibrēšanai tika izmantots lineārais diapazons no $0,5$ līdz $7 \mu\text{g kg}^{-1}$. Korelācijas koeficienti standartšķīdumos bija $R^2 > 0,995$, un kalibrējot uz matricas $R^2 > 0,985$. Kā redzams no korelācijas

koeficientiem, matricas efekta dēļ ir būtiska atšķirība starp kalibrēšanu ar standartšķīdumiem un kalibrēšanu uz matricas. Tāpēc PAO noteikšanai kalibrēšanu ieteicams veikt uz matricas.

3.46. tabula

PAO4 atgūstamība un atkārtojamība olīveļļā ar standartpiedevām (n=5)

PAO	Pievienotais daudzums, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Noteiktais daudzums, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Vidējā atgūstamība, %	S_n	$S_{n,r}$, %
Benzo(a)antracēns	1,00	1,09	109,2	0,172	15,42
	7,00	6,69	98,9	0,877	12,67
Krizēns	1,00	0,96	96,3	0,034	3,52
	7,00	6,66	95,2	0,118	1,77
Benzo(a)pirēns	1,00	1,07	106,8	0,050	4,69
	7,00	6,91	98,6	0,254	3,68
Benzo(b)fluorantēns	1,00	0,90	90,1	0,043	4,74
	7,00	6,81	97,3	0,541	7,94

PAO atgūstamība eļļas matricai ir pietiekama (3.46. tabula), tā ir robežās no 90 % līdz 109 %. Relatīvā standartnovirze liecina, ka metodes precizitāte ir pietiekama (2 – 16 %).

Metodes validācija tika veikta saskaņā ar Eiropas Komisijas Regulas (EK) Nr. 333/2007 rekomendācijām. Obligātie validācijas parametri ir atkārtojamība, atgūstamība un reproducējamība. Validācijas laikā noteikti sekojoši parametri (skat. 3.47. tabulu): selektivitāte, metodes lineāritāte, zemākā noteikšanas robeža, zemākā kvantificēšanas robeža, atgūstamība un precizitāte.

3.47. tabula

4 PAO validācijas kritēriji un atbilstība tiem

Parametrs	Atbilstības kritērijs	Iegūtais rezultāts	Atbilstība
Selektivitāte	Matricas smailes nedrīkst pārklāties ar nosakāmo komponentu smailēm	Matricas smailes nepārklājas ar nosakāmo komponentu smailēm	atbilst
Linearitāte	> 0,9	> 0,985	atbilst
Linearitātes apgabals	0,5 – 12,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$	0,5 – 7,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$	atbilst
LOD	< 0,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$	0,005 – 0,007 $\mu\text{g kg}^{-1}$	atbilst
LOQ	< 0,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$	0,016 – 0,023 $\mu\text{g kg}^{-1}$	atbilst
Atkārtojamība	< 15 %	< 15 %	atbilst
Precizitāte	< 20 %	2 – 16 %	atbilst
Atgūstamība	50 – 120 %	90 – 109 %	atbilst

3.14. Marķiera izvēle policikliskajiem aromātiskajiem ogleņūdeņražiem

3.14.1. Marķiera izvēle pēc korelācijas koeficienta

Pētījuma mērķis ir atrast labāko marķieri policikliskajiem aromātiskajiem ogleņūdeņražiem. Tā kā paraugos PAO parasti atrodas vairāki kopā, ir svarīgi izvērtēt kombinēto PAO toksicitāti. Uzdevums bija analizēt PAO relatīvās attiecības un korelācijas, kā arī izvērtēt, vai BaP ir piemērotākais marķieris policikliskajiem aromātiskajiem ogleņūdeņražiem.

BaP ir visvairāk pētītais savienojums no visiem 16 PAO. Citi PAO arī uzrāda iespējamu kancerogenitāti un genotoksicitāti. Rutīnas analīzēs citu savienojumu koncentrācijas reizēm ir pat divas reizes lielākas nekā paša BaP.

Šajā pētījumā tika izanalizēti 110 zivju produkti un 23 eļļas paraugi. Izvērtējot iegūtos rezultātus, redzams, ka 10 eļļas paraugos no 23 tiek pārsniegts BaP pieļaujamais līmenis, kas ir $2 \mu\text{g kg}^{-1}$. BaP tika detektēts visos zivju un eļļas paraugos.

3.48. tabulā ir apkopotas izvērtētās korelācijas starp individuālajiem PAO un 15 PAO summu, kā arī maksimālās un vidējās masas koncentrācijas analizētajos eļļas paraugos. Visi dati tika apstrādāti, izmantojot *Microsoft Office Excel 2003 software*.

3.48. tabula

Korelācijas koeficienti (R^2) starp individuālajiem policikliskajiem aromātiskajiem ogleņūdeņražiem (PAO) un to summu (15PAO); analizēto eļļu ($n=23$) maksimālās un vidējās masas koncentrācijas (ng g^{-1})

Savienojums	R^2 , PAO/15PAO	γ_{max}	γ_{vid}
Ciklopenta(c,d)pirēns	0,77	7,34	2,14
Benzo(a)antracēns	0,77	9,68	2,82
Krizēns	0,58	11,49	3,81
5-Metilkrizēns	0,03	2,01	0,37
Benzo(b+j)fluorantēns	0,70	9,21	2,41
Benzo(k)fluorantēns	0,50	4,72	1,28
Benzo(a)pirēns	0,96	8,13	2,44
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	0,81	6,62	1,73
Dibenzo(a,h)antracēns	0,46	1,67	0,38
Benzo(g,h,i)perilēns	0,95	8,57	2,05

Pētītajos eļļu paraugos lielākas koncentrācijas ir krizēnam un benzo(a)antracēnam, un tās būtiski pārsniedz BaP atrasto koncentrāciju. Korelācijas koeficients labāks ir BaP un benzo(g,h,i)perilēnam, un no tā mēs varam apgalvot, ka eļļām labākie potenciālie marķieri būtu tieši BaP un benzo(g,h,i)perilēns.

Vidējās krizēna un benzo(a)antracēna koncentrācijas eļļās ir lielākas nekā BaP koncentrācijas. Saskaņā ar mūsu apkopotajiem datiem, līdzīga tendence tika novērota arī zivju paraugos (skat. 3.48. tabulu). No tā mēs varam secināt, ka BaP nav piemērots marķieris krizēnam un benzo(a)antracēnam. Tas varētu būt izskaidrojums, kāpēc krizēns varētu būt vairāk piemērotāks marķieris PAO piesārņojuma novērtēšanai eļļu un zivju produktos.

Novērtējot korelāciju (skat. 3.49. tabulu) starp divu PAO summu un 15 PAO summu eļļas paraugos, tika izveidota tabula, kurā atkopoti labākie korelācijas koeficienti.

3.49. tabula

Korelācijas koeficienti starp 2 PAO summu un 15 PAO summu eļļās (n=23)

Savienojumi	R ²
Benzo(a)antracēns + Benzo(g,h,i)perilēns	0,97
Krizēns + Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	0,95
Krizēns + Benzo(a)pirēns	0,95
Krizēns + Benzo(g,h,i)perilēns	0,94
Krizēns + Benzo(b+j)fluorantēns	0,94

No 3.49. tabulas datiem varam redzēt, ka apmierinoši korelācijas koeficienti starp 2 PAO summu un 15 PAO summu ir tikai piecos gadījumos. Eksperimentāli tika novērtētas visas 2 PAO summu un 15 PAO summu kombinācijas. No šīs tabulas datiem varam spriest, ka vispiemērotākie marķieri eļļas izvērtēšanai varētu būt krizēns, benzo(a)antracēns un indeno(1,2,3-c,d)pirēns.

Pētījuma rezultāti liecina, ka no 110 zivju produkcijas paraugiem 10 paraugi ir pārsnieguši maksimāli pieļaujamo līmeni (5 µg kg⁻¹). Korelācijas koeficienti starp individuālajiem PAO un 15 PAO summu zivju produkcijā ir apkopoti 3.50. tabulā.

3.50. tabula

Korelācijas koeficienti starp individuālajiem PAO un to summu (15 PAO); analizētās zivju produkcijas (n=110) maksimālās un vidējās masas koncentrācijas (ng g⁻¹)

Savienojums	R ² , PAO/15 PAO	γ _{max}	γ _{vid}
Ciklopenta(c,d)pirēns	0,93	37,73	4,70
Benzo(a)antracēns	0,986	33,85	4,12
Krizēns	0,95	36,94	406
5-Metilkrizēns	0,75	3,64	0,64
Benzo(b+j)fluorantēns	0,97	12,89	1,25
Benzo(k)fluorantēns	0,87	9,01	0,76
Benzo(a)pirēns	0,97	16,08	1,56
Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	0,88	10,30	0,59
Dibenzo(a,h)antracēns	0,48	1,24	<0,10
Benzo(g,h,i)perilēns	0,86	10,99	0,61

PAO augstākās koncentrācijas zivju produkcijas paraugos ir novērotas krizēnam, benzo(a)antracēnam un ciklopenta(c,d)pirēnam. Labākais korelācijas koeficients ($R^2 = 0,98$) ir benzo(a)antracēnam, bet arī benzo(a)pirēns, ciklopenta(c,d)pirēns, krizēns un benzo(b+j)fluorantēns uzrāda labus korelācijas koeficientus.

Novērtējot korelāciju starp divu PAO summu un 15 PAO summu zivju produkcijas paraugos tika izveidota 3.51. tabula, kurā apkopoti labākie korelācijas koeficienti.

3.51. tabula

Korelācijas koeficienti starp 2 PAO summu un 15 PAO summu zivju produkcijas paraugos (n=110)

Savienojumi	R ²
Benzo(a)antracēns + Benzo(a)pirēns	0,993
Benzo(a)antracēns + Benzo(b+j)fluorantēns	0,992
Benzo(a)antracēns + Benzo(k)fluorantēns	0,991
Benzo(a)antracēns + Indeno(1,2,3-c,d)pirēns	0,991
Benzo(a)antracēns + Benzo(g,h,i)perilēns	0,990

3.51. tabulā ir parādīti pieci labākie korelācijas koeficienti starp 2 PAO summu un 15 PAO summu. Varam apgalvot, ka benzo(a)antracēns zivju produktos ir stabils marķieris, bet arī

benzo(a)pirēns, benzo(b+j)fluorantēns, benzo(k)fluorantēns, indeno (1,2,3-c,d)pirēns un benzo(g,h,i)perilēns var būt lietojami kā marķieri.

3.14.2. Marķiera izvēle pēc PAO summas

Šajā pētījumā visi analizētie pārtikas produkti tika sadalīti trīs grupās – gaļas produkti (n=15), zivju produkti (n=104) un eļļas (n=29). Lai atrastu vislabāko marķieri visiem 15 PAO, tika novērtēta korelācija starp BaP un 15 PAO summu, krizēnu un 15 PAO summu, kā arī tika novērtēti jauno potenciālo indikatoru korelācijas PAO2, PAO4, PAO8 (skat. 1.10. tabulu). Rezultāti apkopoti 3.52. tabulā.

3.52. tabula

Korelācijas koeficientu novērtējums starp individuālajiem PAO, jaunajiem potenciālajiem indikatoriem PAO2, PAO4, PAO8 un kopējo PAO summu dažādās pārtikas grupās

Paraugu grupa (paraugu skaits)	Korelācijas koeficienti				
	BaP	CHR	PAO2	PAO4	PAO8
Eļļa (29)	0,94	0,97	0,994	0,9989	0,990
Gaļa (15)	0,98	0,95	0,98	0,989	0,995
Zivis (104)	0,96	0,95	0,97	0,984	0,981
“šprotes eļļa” (70)*	0,96	0,96	0,98	0,989	0,985

* no kopējā zivju paraugu skaita

PAO2, PAO4 un PAO8 ir augstāki korelācijas koeficienti nekā individuālajiem marķieriem – krizēnam un BaP. Benzo(a)pirēns, kas ilgāku laiku tika izmantots kā marķieris 15 PAO, var tikt aizstāts ar PAO4 vai PAO8. PAO2 ir nedaudz zemāki korelācijas koeficienti nekā PAO4 un PAO8. Kā marķieri PAO4 un PAO8 ir līdzīgi, taču nedaudz labāki korelācijas koeficienti ir PAO4 tieši eļļām un zivīm. Ir jāpiemin arī tas, ka PAO8 gadījumā benzo(b)fluorantēns un benzo(j)fluorantēns tika rēķināts kā šo divu savienojumu summa, jo hromatogrāfiski tos neizdevās atdalīt.

Visi PAO4 iegūtie dati dažādās pārtikas grupās ir apkopoti 3.53. tabulā.

PAO4 kā marķiera visiem PAO analīzes rezultāti (vidējā vērtība, mediāna, maksimālā vērtība un percentīle) dažādās pārtikas grupās

Paraugu grupa (paraugu skaits)	Koncentrācijas, $\mu\text{g kg}^{-1}$			95% percentīle
	Vidējā vērtība, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Mediāna, $\mu\text{g kg}^{-1}$	Maksimālā vērtība, $\mu\text{g kg}^{-1}$	
Eļļa (29)	6,22	2,20	43,7	31,0
Gaļa (15)	10,6	2,03	59,7	37,3
Zivis (104)	10,3	4,13	79,8	35,0
“Šprotes eļļa” (70)*	10,7	3,95	79,8	69,7

* no kopējā zivju paraugu skaita

Izmantojot PAO4 kā indikatoru, augstākais kopējais PAO saturs tika novērots zivīs, kas ir $79,8 \mu\text{g kg}^{-1}$, gaļā un eļļās šī vērtība ir zemāka. Mediānas koncentrācijas gaļas un eļļas paraugos ir līdzīgas, bet zivju produktos tās ir divreiz lielākas.

Izvērtējot percentīles datus, varam spriest, ka PAO4 pieļaujamā koncentrācija eļļās varētu būt $30 \mu\text{g kg}^{-1}$, bet kūpinātā gaļā un kūpinātās zivīs – $35 \mu\text{g kg}^{-1}$. Konservī “šprotes eļļa” satur augstākas PAO koncentrācijas, un mūsu piedāvātā maksimāli pieļaujamā koncentrācija PAO4 pēc šiem datiem būtu $70 \mu\text{g kg}^{-1}$.

SECINĀJUMI

1. Promocijas darbā izstrādātā GH-AIMS metode 15 PAO noteikšanai ir jutīgāka par vairākām kārtām, bet precizitātes un pareizības ziņā tā dod līdzvērtīgus rezultātus, salīdzinot ar GH-MS. Izstrādātās metodes jutība ļauj analizēt savienojumus ar vienādām molmasām.
2. Izstrādātās UEŠH-MS-MS PAO4 analīzes validācijas rezultāti demonstrē, ka tā ir labākā metode no šobrīd literatūrā pieejamajām un ļauj ietaupīt reaģentus un laiku.
3. Uzlabotā *QuEChERS* metode ir piemērota eļļas un konservu analīzēm, jo samazina paraugu sagatavošanas laiku un izmaksas, kas tādejādi kļūst mazākas nekā ikdienā lietotai „BIOR” laboratorijas metodei.
4. Dibenzo(a,l)pirēna saturs olīveļļā „*Oilio*” *Extra Virgin* sešas reizes pārsniedz koncentrāciju $0,02 \mu\text{g kg}^{-1}$, kas būtu ekvivalenta pieļaujamajai BaP koncentrācijai $2 \mu\text{g kg}^{-1}$, ņemot vērā, ka DalP ir 100 reizes toksiskāks par BaP. Tas varētu radīt kancerogēnu ietekmi cilvēkiem, uzturā lietojot konkrēto olīveļļu, bet trūkst zinātnisko pētījumu, kas pilnībā apliecinātu DalP kaitīgumu uz cilvēka veselību. Pašreizējie dati liecina, ka toksicitātes pētījumi ir ļoti aktuāli un ir nepieciešams vairāk zinātnisko pētījumu.
5. Izpētot vairākus individuālos PAO, var secināt, ka tie ir vairāk piemēroti kā marķieri pa vienam vai dažādās kombinācijās ar citiem PAO, salīdzinot ar BaP kā šobrīd lietoto marķieri. Kā visperspektīvākie individuālie marķieri ir piemērojami: krizēns, benzo(a)antracēns un ciklopenta(c,d)pirēns, bet kombinācijās ar citiem PAO vispiemērotākais marķieris ir benzo(a)antracēns. Perspektīvāki toksicitātes pētījumos ir tieši kombinētie marķieri. PAO4 ir perspektīvs marķieris dažādās pārtikas grupās.
6. PAO satura izmaiņas atkarībā no novietojuma trulī katrā uzņēmumā uzrāda atšķirīgus rezultātus. Tā kā vislielākās PAO koncentrācijas ir zivīs, kas novietotas uz augšējā rāmja, tad ieteicams izmantot filtrus, kas samazina PAO koncentrācijas dūmos pirms tie nonāk kūpināšanas kamerā. Ūdens filtru izmantošana nesniedz būtiskus uzlabojumus. Krāsns tīrīšana būtu nepieciešama katru dienu, jo novērots, ka BaP saturs zivju pusfabrikātos viszemākais ir pirmajā dienā pēc krāsns tīrīšanas.

LITERATŪRAS SARAKSTS

1. **Kļaviņš M., Zaļoksnis J.** Ekotoksikoloģija, Rīga, LU, 2005, 185.-188.
2. **Gong Z., Alef K., Wilke B.M., Li P.** Activated carbon adsorption of PAHs from vegetable oil used in soil remediation. *Journal of Hazardous Materials*, 2007, **143**, 372-378.
3. FAO food and nutrition paper 82. WHO food additives series: 55. Safety evaluation of certain contaminant in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations 2006. WHO, Geneva, 2006, 563 – 743.
4. **Law R.J., Kelly C., Baker K., Jones J., McIntosh A.D., Moffat C.F.** Toxic equivalency factors for PAH and their applicability in shellfish pollution monitoring studies. *Journal of Environmental Monitoring*, 2002, **4**, 383-388.
5. Agency for Toxic Substances & Disease Registry. ToxFAQs™ for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). September 1996. Pieejams internetā (skatīts 12.09.2010.): <http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts69.html>.
6. **Vucāns A., Gemste I., Karss Ģ.** Pārskats par pētījumu: “Noturīgo organisko piesārņotāju koncentrācijas un to izmaiņas komunālo notekūdeņu dūņās”. Projekts “PHB saturošu iekārtu savākšana un utilizācija videi draudzīgā veidā”. Pasūtītājs: ANO attīstības programma / Pasaules vides fonds, 2009, Rīga, 54.lpp. Pieejams internetā (skatīts 02.02.2010.): http://www.vidm.gov.lv/files/text/NOP_limeni_notekudenu_dunas_Latvija.pdf
7. **Capelo J.L., Galesio M.M., Felisbert G.M., Vaz C., Costa Pessoa J.** Micro-focused ultrasonic solid-liquid extraction (μ FUSLE) combined with HPLC and fluorescence detection for PAHs determination in sediments: optimization and linking with the analytical minimalism concept. *Talanta*, 2005, **66**, 1272-1280
8. **Garcia-Falcon M.S., Cancho-Grande B., Simal-Gandara J.** Minimal clean-up and rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in instant coffee. *Food Chemistry*, 2005, **90**, 643-647.
9. **Diletti G., Scortichini G., Scarpone R., Gatti G., Torreti L., Migliorati G.** Isotope dilution determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in olive pomace oil by gas chromatography – mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2005, **1062**, 247-254.
10. **Bartkevičs V.** Latvijas Zivsaimniecības gadagrāmata. Zivju produkcija un benzo(a)pirēns. Zivju fonds, 2004, 322 lpp.
11. **Prevedourd K., Palm-Cousins A., Gustafsson Ö., Cousins I.T.** Development of a black carbon-inclusive multi-media model: Application for PAHs in Stockholm. *Chemosphere*, 2008, **70**, 607-615.

12. European Commission Health and Consumer Protection Directory, Scientific Committee on Food, SCF/CS/CNTM/PAH/29 ADD1 Final, Annex. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons – Occurrence in foods, dietary exposure and health effects, 2002.
13. European Commission Health and Consumer Protection Directorate-General. Scientific Committee on Food SCF/CS/CNTM/PAH/29 Final. Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food, 4 December 2002, 84.
14. **Baltess V.** Pārtikas ķīmija. Rīga, Latvijas Universitāte, 1998, 478.
15. **Kenneth M., Brooks Ph.D.** Literature Review, Computer Model and Assessment of the Potential Environmental Impacts Associated With Creosote Treated Pilings Used in Aquatic Environments, Western Wood Preservers Institute, 1997, 95.
16. **Patnaik P.** A Comprehensive guide to the Hazardous properties of chemical substances. Third edition, A John Wiley and sons, inc., publication, USA, 2007, 525-534.
17. **Pena T., Pensado L., Casais C., Mejuto C., Phan-Tan-Luu R., Cela R.** Optimization of a microwave-assisted extraction method for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons from fish samples. *Journal of Chromatography A*, 2006, **1121**, Issue **2**, 163-169.
18. **Kļaviņš M., Roska A.** Toksiskās vielas vidē. Rīga, Latvijas Universitāte, 1998, 71-75.
19. Central Pollution Control Board Ministry of Environmental & Forests <http://www.cpcb.nic.in/News%20Letters/Archives/PAHs/ch3-PAHs.html>.
20. **Nagpal N.K.** Ministry of Environment, Lands and Parks Province of British Columbia. Ambient Water Quality Criteria For Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. 1993. Pieejams internetā (skatīts 09.05.2011.): <http://www.env.gov.bc.ca/wat/wq/BCguidelines/pahs/pahs-02.htm>.
21. **Lunn G., Sansone E.B.** Destruction of Hazardous Chemicals in the Laboratory. A Wiley-Interscience publication, New Yourk, 1990, 272.
22. Eiropas noteikumi 1513/2001/EC, kas papildina 136/66/EC un 1638/98/EC. Materiāls par benzopirēnu olīvaugļu spiedpalieku eļļā. Latvijas Pārtikas centrs, Rīga, [atsauce 20.10.2004.]. Pieejams Internetā: http://www.lpc.gov.lv/download/benzopirens_olivella.htm.
23. **Eisler R.** Polycyclic aromatic hydrocarbon hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report **85 (1.11)**, 1987, 55.
24. **Kļaviņš M., Zicmanis A.** Ūdeņu ķīmija. Rīga, Latvijas Universitāte, 1998, 192.
25. **Liguori L., Heggstad K., Hove H.T., Julshamn K.** An automated approach for isolation of 24 polyaromatic hydrocarbons (PAHs) from various marine matrixes. *Analytica Chimica Acta*, 2006, **573-574**, 181-188.
26. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. *The EFSA Journal*, 2008, 742.

27. **Eskola M.** European Commission Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements. Belgium, Geel. 4th CRL/NRL Workshop on PAH's. Oral presentation, 24.03.2009.
28. **Traag W., Hoogenboom L.A.P., Baars A.J., Schouten T.** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in animal feed, animal fats, vegetable oils/fats, fatty acids. State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT), Project number: 71.513.01, Report 2001.006, Netherlands, 2001, 31.
29. **Zuin V.G., Montero L., Bauer C., Popp P.** Stir bar sorptive extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1091, 2-10.
30. **Seidel A.** Analysis of PAHs in food. AOAC Europe Section, International workshop "Foods to Dye for – Contaminants sampling, analysis, legal limits" November 6-7, 2006, Limassol, Cyprus.
31. **Tsai W.T., Mi H.H., Chang Y.M., Yang S.Y., Chang J.H.** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in bio-crudes from induction-heating pyrolysis of biomass wastes. *Bioresourcs Technology*, 2007, **98**, 1133-1137.
32. **Okona-Mensah K.B., Battershill J., Boobis A., Fielder R.** An approach to investigating the importance of high potency polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the induction of lung cancer by air pollution. *Food and Chemical Toxicology*, 2005, **43**, 1103-1116.
33. **Schober W., Luch A., Soballa V.J., Raab G., Stegeman J.J., Doehmer J., Jacob J., Seidel A.** On the species – specific biotransformation of dibenzo(a,l)pyrene. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, **161**, Issue 1, 37-48.
34. **Holoubek I., Kočan A., a.o.,** Persistent Bioaccumulative and Toxic Chemicals in Central and Eastern European Countries – State-of-the-art. Brno, Czech Republic, TOCOEN Report No.150, 1999, 155.
35. **Romanoff L.C., Li Z., Young K.J., Blakely III N.C., Patterson Jr.D.G., Sandau C.D.** Automated solid-phase extraction method for measuring urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in human biomonitoring using isotope-dilution gas chromatography high-resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 2006, **835**, 47-54.
36. **Fabiansson S.** Data Collection Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. Data Collection and Exposure. European Food Safety Authority (EFSA). 5th EFSA Anniversary. Presentation, 29.
37. Ziņu aģentūra LETA, Pētījums: Ar pārtiku uzņemtā dioksīna daudzums pārsniedz pieļaujamo normu bērniem, 2009. Pieejams internetā (skatīts 01.07.2010): <http://zinas.nra.lv/latvija/veselibu/9761-petijums-ar-partiku-uznemta-dioksina-daudzums-parsniedz-pielaujamo-normu-berniem.htm>.
38. **Laugesen M.** Safety Report on the Ruyan® e-cigarette Cartridge and Inhaled Aerosol. Health New Zealand Ltd, 2008, 22. Pieejams internetā (skatīts 26.08.2009): www.healthnz.co.nz.

39. **Zanieri L., Galvan P., Checchini L., Cincinelli A., Lepri L., Donzelli G.P., Del Bubba M.** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human milk from Italian women: Influence of cigarette smoking and residential area. *Chemosphere*, 2007, **67**, 1265-1274.
40. Baltic Hazardous Substances report. Baltic Environmental FORUM, 2003, Jelgavas tipogrāfija, Latvia.
41. **Kishikawa N., Wada M., Kuroda N., Akiyama S., Nakashima K.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in milk samples by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*, 2003, **789**, 257-264.
42. **Zohair A., Salim A.B., Soyibo A.A., Beck A.J.** Residues of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides in organically-farmed vegetables. *Chemosphere*, 2006, **63**, 541-553.
43. **Ramalhosa M.J., Paíga P., Morais S., Delerue-Matos C., Prior Pinto Oliveira M.B.** Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish: evaluating of a quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction method. *Journal of Separation Science*, **32**, 2009, 3529-3538.
44. Eiropas Kopienu Komisija. Eiropas Savienības Oficiālais Vēstnesis. 04.02.2005. Komisijas regula (EK) Nr.208/2005, ar ko groza Regulu (EK) Nr.466/2001 par policikliskajiem aromātiskajiem ogļūdeņražiem.
45. **Rey-Salgueiro L., Martínez-Carballo E., García-Falcón M.S., Simal-Gándara J.** Effects of a chemical company fire on the occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in plant foods. *Food Chemistry*, 2008, **108**, 347-353.
46. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, *Official Journal of the European Union*, L 364/5-24.
47. **Barranco A., Alonso-Salces R.M., Bakkali A., Berrueta L.A., Gallo B., Vicente F., Sarobe M.** Solid-phase clean-up in the liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oil. *Journal of Chromatography A*, 2003, **988**, 33-40.
48. **Hossain M.A., Salehuddin S.M.** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in edible oils by gas chromatography coupled with mass spectroscopy. *Arabian Journal of Chemistry*, 2011, Article in Press.
49. **Kyprianou M.** Commission Recommendation of 4 February 2005 on the further investigation into the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in certain foods (2005/108/EC), 3.
50. Summary and conclusions of the sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Rome: 8-17 February. 2005, 47.
51. **Speer K., Ziegenhals K., Jira W., Huebschmann H.J.** Thermo Scientific. Application Note: 30126. Fast GC/HRMS Quantification of 16 EC Priority PAH Components, 2007.

52. European Food Safety Authority (EFSA). EFSA/DATEX/002. A report from Unit of Data Collection and Exposure on a Request from the European Commission. Findings of the EFSA Data Collection on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. Issued on 29 June 2007, 54.
53. **Simko P.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and smoke flavouring food additives. *Journal of Chromatography*. 2002, **770**, 3-18.
54. **Ciecierska M., Obiedziński M.** Canned fish products contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Acta Scientiarum Polonorum, Technol. Aliment.*, 2007, **6 (2)**, 19-28.
55. **Yurchenko S., Mölder U.** The determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish by gas chromatography mass spectrometry with positive-ion chemical ionization. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2005, **18**, 857-869.
56. **Saint-Aubert B., Cooper J.F., Astre C., Spiliotis J., Joyeux H.** Evaluation of the induction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by cooking on two geometrically different types of barbecue. *Journal of Food Composition Analysis*, 1992, **5**, 257-263.
57. Statement included in the minutes of the Scientific Committee on Food in relation to the contamination of pomace oils (olive residue oils) with polycyclic aromatic hydrocarbons (adopted during the SCF plenary meeting of 10/11 July 2001), 51.
58. **Del Buuba M., Zanieri L., Galvan P., Donzelli G.P., Checchini L., Lepri L.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and total fats in human milk. *Ann. Chim.*, 2005, **95 (9-10)**, 629-641.
59. Eiropas Kopienū Komisija. Eiropas Savienības Oficiālais Vēstnesis. 08.02.2005. Komisijas ieteikums (2005. gada 4. februāris) par turpmāko izmeklēšanu saistībā ar policiklisko aromātisko ogļūdeņražu līmeņiem dažādos pārtikas produktos (izziņots ar dokumenta numuru K(2005)256), Brisele, 12.
60. **Moreda W., Pérez-Camino M. C., Cert A.** Gas and liquid chromatography of hydrocarbons in edible vegetable oils. *Journal of Chromatography A*, 2001, **936**, Issues 1-2, 159-171.
61. **Moret S., Conte L.S.** Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. *Journal of Chromatography A*, 2000, **882**, Issues 1-2, 245-253.
62. Food and Veterinary Office Directorate. Final report of a mission carried out in France from 21st to 30th October 2002 in order to assess the control measures in place for vegetable oil production and in particular for the assessment of controls on PAH contamination of such oils. DG(SANCO)/8688/2002-MR final, 7-8.
63. **Lage Yusty M.A., Cortizo Daviña J.L.** Supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection method for polycyclic aromatic hydrocarbons investigation in vegetable oil. *Food Control*, 2005, **16**, 59-64.

64. **Yusa V., Pardo O., Marti P., Pastor A.** Application of accelerated solvent extraction followed by gel performance chromatography and high-performance liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in mussel tissue. *Food Additives and Contaminants*, 2005, **22** (5), 482-489.
65. **Panagiotopoulou P.M., Tsimidou M.** Solid Phase Extraction: Applications to the Chromatographic Analysis of Vegetable Oils and Fats. *Grasas y Aceites*, 2002, **53**, Fasc.1, 84-95.
66. **Capjec K., Hajšlova J., Kocourek V., Tomaniova M., Čmolik J.** Evaluation of analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products by liquid chromatography. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1996, **44**, No. 8, 2244-2251.
67. **Moody J.D., Freeman J.P., Fu P.P., Cerniglia C.E.** Degradation of Benzo[*a*]pyrene by *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, **70**, No. 1, 340-345.
68. **Guieysse B., Viklund G., Toes A.C., Mattiasson B.** Combined UV-biological degradation of PAHs. *Chemosphere*, 2004, **55**, Issue 11, 1493-1499.
69. **Miller J.S., Olejnik D.** Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Water Research*, 2001, **35**, Issue 1, 233-243.
70. **Ballesteros E., Garcia Sanchez A., Ramos Martos N.** Simultaneous multidetermination of residues of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in olive and olive-pomace oils by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2006, **1111**, 89-96.
71. **Wong C.** 5 Ways to Reduce Carcinogens in Well-Done Meat. Atsauce 24.04.2010. Pieejams internetā: <http://altmedicine.about.com/od/healthykitchenrecipes/a/meatcarcinogens.htm>.
72. **Nováková L., Vlčková H.** A review current trends and advances in modern bio-analytical methods: Chromatography and sample preparation. *Analytical Chimica Acta*, 2009, **656**, 8-35.
73. **Letellier M., Budzinski H.** Microwave assisted extraction of organic compounds. *Analysis*, 1999, **27**, 259-271.
74. **Робертс Дж., Касерио М.** Основы органической химии. Издательство Мир, Т2, Москва, 1981, 651.
75. Komisijas Regula (EK) Nr. 333/2007 (2007. gada 28. marts), ar ko nosaka paraugu ņemšanas un analīzes metodes svina, kadmija, dzīvsudraba, neorganiskās alvas, 3-MHPD un benzopirēna koncentrācijas oficiālajai kontrolei pārtikas produktos. Pieejams internetā (skatīts 03.02.2010.): <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:088:0029:0038:LV:PDF>.
76. **Potthast K.** Einfluss der Räuchertechnologie auf die vollständige Zusammensetzung der polycyclischen Kohlenwasserstoffe in geräucherten Fleischwaren, in Rauchkondensaten und in den Abgasen von Räucheranlagen. *Die Fleischwirtschaft*, Band **59**, Nr. **10**, 1515-1523.

77. **Toldra F., Nollet L.M.L.** Sampling Procedures with Special Focus on Automatization., *Advances in Food Diagnostics*, Hoboken, NJ, USA, Wiley-Blackwell, 2008, 277.
78. **Nam J.J., Lee S. H.** GC-MS/MS Analysis of Benzo(a)pyrene by Ion Trap Tandem Mass Spectrometry. *Bull. Korean Chemistry Soc.*, 2002, **23(8)**, 1097-1102.
79. **Garcia-Falcon M.S., Sigma-Gandara J., Garri-Gonzalez-Barros S.T.** Analysis of benzo(a)pyrene in spiked fatty foods by second derivative synchronous spectrofluorimetry after microwave-assisted treatment of samples. *Food Addition of Contamination*, 2000, No **17(12)**, 957-964.
80. **Armour M.A.** Hazardous Laboratory Chemicals Disposal Guide. CRC Press., Boca Raton, 1991, 494.
81. **Pena T., Casais C., Mejuto C., Cela R.** Development of an ionic liquid based dispersive liquid-liquid microextraction method for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Journal of Chromatography A*, 2009, **1216**, 6356-6364.
82. **Mirivel G., Riffault V., Gallo J.C.** Simultaneous determination by ultra-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization time-of-flight mass spectrometry of nitrated and oxygenated PAHs found in air and soot particles. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, **397**, 243-256.
83. **Crisp G.T., Williamson N.M.** Separation of Polyaromatic Hydrocarbons Using 2-Dimensional Thin-Layer Chromatography. *Journal of Chemical Education*, 1999, **76**, No.12, 1691-1692.
84. **Hawthorne S.B., Miller D.J.** Direct comparison of Soxhlet and Low- and High- Temperature Supercritical CO₂ Extraction Efficiencies of Organics from Environmental Solids. *Analytical Chemistry*, 1994, **66**, No.22, 4005-4012.
85. **Md Saleh N., Sanagi M.M.** Comparison of pressurized liquid extraction with Soxhlet extraction in the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2009, **13**, No.1, 141-145.
86. **Lau E.V., Gan S., Ng H.K.** Extraction Techniques for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils. *International Journal of Analytical Chemistry*, Vol. 2010, Article ID 398381, 9 pages, 2010. doi:10.1155/2010/398381.
87. **Perez S., Barcelo D.** Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Sewage Reference Sludge by Liquid Chromatography-Atmospheric-Pressure Chemical-Ionization Mass Spectrometry. *Chromatographia*, 2001, **53**, 475-480.
88. **Hubert A., Popp P., Wenzel K.D., Engewald W.** One-step cleanup for PAH residue analysis plant matrices using size-exclusion chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003, **376**, 53-60.

89. Extraction of Ginsenosides from Ginseng. Pieejams internetā (skatīts 09.05.2011.): <http://www.dionex.com/en-us/markets/food-beverage/dietary-herbal-supplements/ginsenosides-ginseng/lp-80093.html>.
90. Accelerated Solvent Extraction. Dionex. Passion. Power. Productivity. p.8. Pieejams internetā (skatīts 27.09.2010): <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/4035-Bro-ASE-Systems-14july09-LPN2012-03.pdf>.
91. **Domeño C., Blasco M., Sánchez C., Nerín C.** A fast extraction technique for extracting polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from lichens samples used as biomonitors of air pollution: Dynamic sonication versus other methods. *Analytica Chimica Acta*, 2006, **569**,103-112.
92. **Oliferova L., Statkus M., Tsysin G., Shpigun O., Zolotov Y.** Online solid-phase extraction and HPLC determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water using fluorocarbon polymer sorbents. *Analytica Chimica Acta*, 2005, **538**, 35-40.
93. **Luther W., Win T., Vaessen H.A.M.G., van de Kamp C.G., Jekel A.A., Jacob J., Boenke A.** The certification of the mass fractions of pyrene, chrysene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, benzo(ghi)perylene and indeno(1,2,3-cd)pyrene in two coconut oil reference materials (CRM 458 & CRM 459). Commission of European Communities information reference materials, 1997, Report EUR 17545 EN, 61.
94. **Maureen J.** HPLC Detector Options for the Determination of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. LC Varian Application Note, Number 7, LC7:1291.
95. **Warzecka L., Janoszka.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, azaarenes, and aminoazaarenes in meat samples by solid-phase extraction (SPE) and HPLC. *Acta Chromatographica*, 2002, No **12**, 104-121.
96. **Joe F.L. Jr., Roseboro E.L., Fazio T.** High pressure chromatographic method for determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in beer. *Journal Association of Official Analytical Chemistry*, 1981, **64(3)**, 641-646.
97. **Lawrence J.F., Das B.S.** Determination of nanogram/kilogram levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in foods by HPLC with Fluorescence detection. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1986, **24(2)**, 113-131.
98. **Ahn C.K., Kim Y.M., Woo S.H., Park J.M.** Selective adsorption of phenanthrene dissolved in surfactant solution using activated carbon. *Chemosphere*, 2007, **69**, 1681-1688.
99. Manufacturer's of Scientific & Coulometric Karl Fischer Glassware. Pieejams internetā (skatīts 13.05.2011): <http://www.amglassware.com/soxhletextractionsetup1.htm>.
100. **Sarmiento C. M. P., Ferreira S. R. S., Hense H.** Supercritical fluid extraction (SFE) of rice bran oil to obtain fractions enriched with tocopherols and tocotrienols. *Brazilian Journal of Chemical*

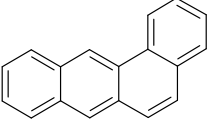
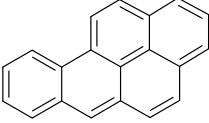
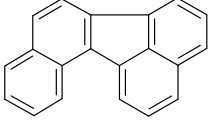
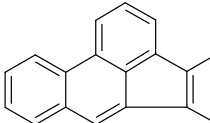
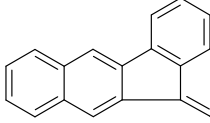
- Engineering*, 2006, **23**, No **2**. Pieejams internetā (skatīts 13.05.2011): http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-66322006000200012.
101. **Numata M.** Extraction Technique for Simple Determination of PCBs and Pesticides. Metrology Institute of Japan. *Advanced Industrial Science and Technology (AIST)*, AIST Today, 2003, **3**, No. **7**. Pieejams internetā (skatīts 13.05.2011): http://www.aist.go.jp/aist_e/aist_today/2003_10/hot_line/hot_line_31.html.
 102. **Morozovs A., Jākobsone I., Mekšs P.** *Pārtikas ķīmija*. Rīga, LU Akadēmiskais apgāds, 2008, 208.
 103. **Skoog D. A., Crouch S. R., Holler F. J.** *Principles of Instrumental Analysis*, 6th Edition. Belmont, CA, Thomson Brooks/Cole, 2006, 1056.
 104. **Wu C.** *Handbook of Size Exclusion Chromatography and Related Techniques*, 2nd Edition, Revised and Expanded. New York, Marcel Dekker Inc., 2004, 716.
 105. **Dean J. R.** *Methods for Environmental Trace Analysis*. West Sussex, John Wiley & Sons Ltd., 2003, 259.
 106. **Kellner R., Mermet J. – M., Otto M., Valcarcel M., Widmer H. M.** *Analytical Chemistry*, 2nd Edition. Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2004, 1181.
 107. **Skoog D. A., West D. M., Holler F. J., Crouch S. R.** *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8th Edition. Belmont, CA, Thomson Brooks/Cole, 2004, 1051.
 108. **Barranco A., Alonso-Salces R.M., Corta E., Berrueta L.A., Gallo B., Vicente F., Sarobe M.** Comparison of donor-acceptor and alumina columns for the clean-up of polycyclic aromatic hydrocarbons from edible oil. *Food Chemistry*, 2004, **86**, 465-474.
 109. **Ormsby M.** Analysis of laminated documents using solid-phase microextraction. *Journal of the American Institute for Conservation*, 2005, **44**, Number **1**, Article **2**, 13-26. Pieejams internetā (skatīts 23.03.2011): <http://cool.conservation-us.org/jaic/articles/jaic44-01-002.html>.
 110. Waters. The science of what's possible. SPE Method Development. Pieejams internetā (skatīts 14.04.2011): http://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=10083845&locale=en_LV.
 111. **Zhang C.** *Fundamentals of Environmental Sampling and Analysis*. Hoboken, New Jersey, John Wiley & Sons, Inc., 2007, 436.
 112. **Mortada I.** Chromatography. Part 7, Hight Performance Liquid Chromatography, 2009. Pieejams internetā (skatīts 12.02.2011): <http://pharamcytimes.wordpress.com/category/instrumental-analysis-studies/chromatography/>.
 113. **Lehotay S. J.** Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe Approach for Determining Pesticide Residues. *Pesticide Protocols*, 2005, **19(3)**, 239-261.

114. **Pule B.O., Mmualefe L.C., Torto N.** Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Fish with Agilent SampliQ QuEChERS AOAC Kit and HPLC-FLD. Department of Chemistry., Rhodes University, South Africa. Agilent Technologies. Application note. Food.
115. **Abdulkadar A.H., Kunhi A.A., Jassim A.J., Abdulla A.A.** Determination of benzo(a)pyrene by GC/MS/MS in retail olive oil samples available in Qatar. *Food Addition of Contamination*, 2003, **20** (12), 1164-1169.
116. **Pupin A.M., Toledo M.C.** Benzo(a)pyrene in Brazilian vegetable oils. *Food Addition of Contamination*, 1996, **13** (6), 639-645.
117. **Garcia Falcon M.S., Gonzalez Amigo S., Lage Yusty M.A., Lopez de Alda Villaizan M.J., Simal Lozano J.** Enrichment of benzo(a)pyrene in smoked food products and determination by high-performance liquid chromatography – fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, **753** (2), 1996, 207-215.
118. **Simon R., Palme S., Anklam E.** Single-laboratory validation of gas chromatography – mass spectrometry method for quantitation of 15 European priority polycyclic aromatic hydrocarbons in spiked smoke flavourings. *Journal of Chromatography A*, 2006, **1103** (2), 307-313.
119. **Moret S., Conte L.S., Guardiola F., Navas J.A., Purcaro G.** Polycyclic aromatic hydrocarbons in frying oils and snacks. *Journal of Food Protection*, 2006, **69** (1), 199-204.
120. **Aguinaga N., Campillo N., Viñas P., Hernández-Córboda M.** Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in milk and related products using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 2007, **596**, 285-290.
121. **Cai S.S., Syage J.A., Hanold K.A., Balogh M.P.** Ultra Performance Liquid Chromatography – Atmospheric Pressure Photoionization – Tandem Mass Spectrometry for High-Sensitivity and High-Throughput Analysis of U.S. Environmental Protection Agency 16 Priority Pollutants Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. *Analytical Chemistry*, 2009, **81**, No.6, 2123-2128.
122. **Henderson J.W., Woodward C.** ZORBAX Eclipse PAH Columns: Speed, Resolution and Long Life for PAH Analysis. *Chromatography Online*. 2007, 3.
123. **Lynam K.** PAH Analyses with High Efficiency GC Columns: Column Selection and Best Practices. Agilent Technologies, Wilmington. Application note. Food Quality and Environmental. 5.
124. **Bouchard M., Normandin L., Gagnon F., Viau C., Dumas P., Gaudreau E., Tremblay C.** Repeated Measures of Validated and Novel Biomarkers of Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Individuals Living Near an Aluminum Plant in Quebec, Canada. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 2009, **72**, 1534-1549.

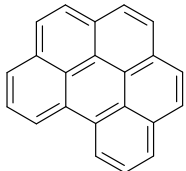
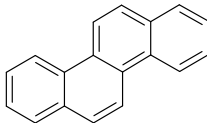
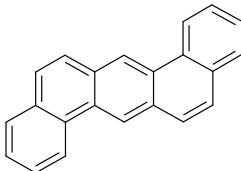
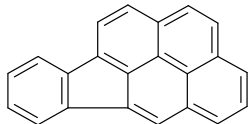
125. **Janoszka B., Warzecha L., Blaszczyk U., Bodzek D.** Organic compounds formed in thermally treated high-protein food. Part I: polycyclic aromatic hydrocarbons. *Acta Chromatographica*, 2004, **14**, 115-128.
126. **Kūka P.** Pārtikas produktu analīžu fizikāli ķīmiskās metodes / Pēteris Kūka; Latvijas Lauksaimniecības universitāte. LLU, Jelgava, 2008, 174.
127. **Richardson M.** Environmental Xenobiotics, London, 1996, 336 -337.
128. Direct Insertion/Desorption Chemical Ionization Probes. Waters [atsauce 02.05.2010]. Pieejams internetā: <http://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=10081499>.
129. Shimadzu Analytical & Measuring instruments. Pocket Reference. Pieejams internetā: www.shimadzu.com.
130. **Shimmo M., Adler H., Hyötyläinen T., Hartonen K., Kulmala M., Riekkola M.L.** Analysis of particulate polycyclic aromatic hydrocarbons by on-line coupled supercritical fluid extraction-liquid chromatography-gas chromatography-mass spectrometry. *Atmospheric Environment*, 2002, **36**, 2985-2995.
131. **Freeman R.** Resolving the Benzo(j)fluoranthene Challenge. Separate New PAHs Quickly Using the Rxi-17 GC Column. Restek. www.restek.com.
132. **Liem A.K.D., Bauman R.A., Van der Velde J.A.P.J.M., van Yoonen P.** Analysis of organic micropollutants in the lipid fraction of foodstuffs. *Journal of Chromatography*, 1992, **624**, 317-339.
133. **Quintás G., Lendl B., Pastor A., de la Guardia M.** First-order derivative resolution of overlapped PAH peaks with common mass spectra in gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta*, 2008, **74**, Issue 4, 747-752.
134. <http://cp.literature.agilent.com/litweb/pdf/5990-4883EN.pdf>.
135. European Commission Joint Research Centre. Institute for reference materials and measurements. Community reference laboratory for polycyclic aromatic hydrocarbons. Method performance criteria for the determination of benzo(a)pyrene, benzo(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene and chrysene in food. Geel, 13.10.2009., 7.
136. **Watson J.Th.** Introduction to Mass Spectrometry. Lippincott-Raven publishers: Philadelphia, 1997, 496.
137. AutoSpec WWCA Group. Waters Massspectrometry Systems. AutoSpec Service and Training. Manual. Volume 1. 137.
138. **Mekšs P.** Masspektrometrijas un hromatogrāfijas lekcijas LU studentiem. 2009. gada pavasaris – rudens.
139. **Jürgen H Gross.** Mass spectrometry: a textbook. Springer, 2006, 133 – 136.

140. **Joe F.L., Roseboro E.L., Fazio T.** High Pressure Liquid Chromatographic Method for Determination of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Beer. *Journal Association of Official Analytical Chemistry*, 1981, **64**, No.3, 641-646.
141. **Takino M., Daishima S., Yamaguchi K., Nakahara T.** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry using silver nitrate as a post-column reagent. *Journal of Chromatography A*, 2001, **928**, 53-61.
142. **Wingen L.M., Low J.C., Finlayson-Pitts B.J.** Chromatography, Absorption, and Fluorescence: A New Instrumental Analysis Experiment on the Measurement of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Cigarette Smoke. *Journal of Chemical Education*, 1998, **75**, No. **12**, 1599-1603.
143. **Wise S.A., May W.E.** Effect of C₁₈ surface coverage on selectivity in reversed-phase liquid chromatography of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Analytical Chemistry*, 1983, **55**, 1479-1485.
144. **Rivera-Figueroa A.M., Ramazan K.A., Finlayson-Pitts B.J.** Fluorescence, Absorption and Excitation Spectra of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons as a Tool for Quantitative Analysis. *Journal of Chemical Education*, 2004, **81.**, No. **2**, 242-245.
145. **Karimov M.A., Sarsebekov E.K., Kostenko L.D.** Benzo(a)pyrene in tea. *Voprosi pitanija*, 1986, **2**, 72-74. (in Russian).
146. **Bell S.** Mass Spectrometry Facility. Faculty of Pharmaceutical Sciences. UPLC/MS/MS System. Pieejams internetā (atsauce 04.02.2011): <http://www.pharmacy.ubc.ca/services/massspec/uplcmsms.php>.
147. **Jansons E., Meija J.** Kļūdas kvantitatīvajās noteikšanās. Apgāds "Rasa ABC", Rīga, 2002, 155.
148. **Thompson M.** Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentration in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. *Analyst*, 2000, **125**, 385-386.
149. **Dalli J.** European Commission. Brussels, C(2009) SANCO/101616/2009 rev. 3 (18.10.2010). Amendment of Regulation (EC) No.1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards polycyclic aromatic hydrocarbons.
150. Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs, *Official Journal of the European Union*, L 215/4-8.

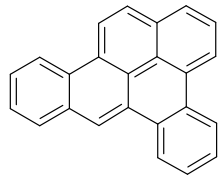
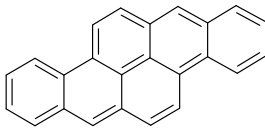
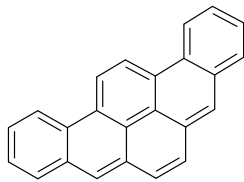
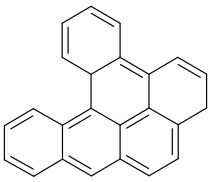
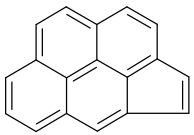
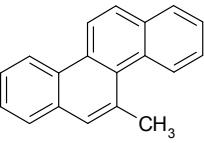
Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu raksturlielumi [16, 23, 31, 70, 96]

Raksturlielums	Benzo(a)antracēns	Benzo(a)pirēns	Benzo(j)fluorantēns	Benzo(b)fluorantēns	Benzo(k)fluorantēns
Molekulārā formula	C ₁₈ H ₁₂ 	C ₂₀ H ₁₂ 	C ₂₀ H ₁₂ 	C ₂₀ H ₁₂ 	C ₂₀ H ₁₂ 
Sinonīmi	BaA; 2,3-benzphenanthrene; benz(a)anthracene; 1,2-benzoanthracene; 1,2-benzathracene; naphthanthracene; benzo(a)phenanthrene; tetraphene	Benzo(d,e,f)chrysene; 3,4-benzopyrene; 3,4-benzpyrene; 3,4-benzylpyrene; 3,4-benzo(a)pyrene; 3,4-bp; 6,7-benzopyrene; benzpyrene; benz(a)pyrene; BP; B(a)P; benzo(alpha)pyrene; BaP	BjF; 10,11-benzofluoranthene; benz(j)fluoranthene	BbF; benzo(e)fluoranthene; 3,4-benzofluoranthene; benz(e)acephenanthrylene; 2,3-benzfluoranthene	BkF; 11,12-benzofluoranthene; 8,9-benzofluoranthene; 2,3,1',8'-binaphthylene
Molmasa g mol ⁻¹	228,2879	252,3093	252,3093	252,3093	252,3093
Log K _{ow} ; Log K _{oc}	5,61 5,30	6,06 6,74	6,12 -	6,04 5,74	5,16 5,30
Blīvums, g cm ⁻³	1,274 pie 20 °C	1,351 pie 20 °C	1,286 pie 25 °C	1,286 pie 25 °C	1,286 pie 25 °C
Šķīdība ūdenī, mg L ⁻¹	0,010 pie 20 °C	2,3x10 ⁻³ pie 20 °C	2,5x10 ⁻³ pie 25 °C	0,0012 pie 25 °C	2,3x10 ⁻³ pie 20 °C
Kušanas temperatūra, °C	158-162	177-179,3	165,4	168,3	215,7
Viršanas temperatūra, °C	400 ; 435 sublimējas	310-312 pie 10 mm Hg ; 495	480	-	480
Šķīdinātāji	Nedaudz šķīst etiķskābē un karstā metanolā, acetonā un dietilēterī, labi šķīst benzolā	Mēreni šķīst etanolā un metanolā, labi šķīst benzolā, toluolā, ksilolā un ēterī	Nedaudz šķīst etanolā un etiķskābē, karsējot šķīst sērūdeņradī	Nedaudz šķīst benzolā, acetonā	Nedaudz šķīst etanolā un metanolā, labi šķīst benzolā, toluolā, ksilolā un ēterī
Fizikālais stāvoklis	Cietviela (plāksnītes vai adatiņas)	Cietviela (plāksņveida vai pārkristalizētas no benzola/ligroīna)	Cietviela (plāksņveida vai adatveida)	Cietviela (adatiņu veidā)	Cietviela (adatiņu veidā)
Krāsa, aromāts	Dzeltena, zila - fluorescenta	Gaiši dzeltena. Vāja aromātiska smarža.	Dzeltena	Bezkrāsaina	Gaiši dzeltena

1. PIELIKUMA turpinājums

Raksturlielums	Benzo(g,h,i)perilēns	Krizēns	Dibenzo(a,h)antracēns	Indeno(1,2,3-c,d)pirēns
Molekulārā formula	 C ₂₂ H ₁₂	 C ₁₈ H ₁₂	 C ₂₂ H ₁₄	 C ₂₂ H ₁₂
Sinonīmi	BghiP; BgP; 1,12-benzoperylene; Benzo-1,12-erylene; 1,12-Benzperylene	CHR; 1,2-benzophenanthrene; benz(a)phenanthrene; 1,2,5,6-dibenzonaphthalene	DahA; DhA; 1,2:5,6-dibenzanthracene; 1,2:5,6-dibenzoanthracene;	IcdP; IcP; o-phenylenepyrene; 2,3-phenylenepyrene; 1,10-(o-phenylene)pyrene; 1,10-(1,2-phenylene)pyrene
Molmasa, g mol ⁻¹	276,3307	228,2879	278,3466	276,3372
Log K _{ow} , Log K _{oc}	6,04 5,74	5,16 5,30	6,84 6,52	6,58 6,20
Blīvums, g cm ⁻³ pie 25 °C	1,378	1,274	1,287	1,378
Šķīdība ūdenī mg L ⁻¹	1,2x10 ⁻³	2,8x10 ⁻³	5,0x10 ⁻⁴	0,062
Kušanas temperatūra, °C	222-273	254-256	262 - 266	163,6
Viršanas temperatūra, °C	550	448	524	530
Šķīdinātāji	Slikti šķīst benzolā, acetona	Nedaudz šķīst acetona, oglekļa disulfīdā, dietilēterī, etanolā, etiķskābē, toluolā, ksilolā, labi šķīst benzolā	Slikti šķīst etilspirtā, labi šķīst acetona, etiķskābē, benzolā, toluolā un ksilolā	Labi šķīst organiskajos šķīdinātājos
Fizikālais stāvoklis	Cietviela (plākšņveida)	Cietviela (plākšņveida)	Cietviela (plākšņveida)	Cietviela (plāksnītes vai adatiņas)
Krāsa	Gaiši dzeltenzaļa	Bezkrāsaina, ar zilu vai sarkanīgi zilu fluorescenci	Bezkrāsaina	Dzeltenas plāksnītes vai dzeltenzaļas adatiņas

1. PIELIKUMA turpinājums

Raksturlielums	Dibenzo(a,e)pirēns	Dibenzo(a,h)pirēns	Dibenzo(a,i)pirēns	Dibenzo(a,l)pirēns	Ciklopenta(c,d)pirēns	5-metilkrizēns
Molekulārā formula	C ₂₄ H ₁₄ 	C ₂₄ H ₁₄ 	C ₂₄ H ₁₄ 	C ₂₄ H ₁₄ 	C ₁₈ H ₁₀ 	C ₁₉ H ₁₄ 
Sinonīmi	DaeP; DeP	DahP; DhP	DaiP; DiP	DalP; DIP	CPP	5-MCHR; 5MC
Molmasa, g mol ⁻¹	302,1096	302,1096	302,1096	302,1096	228,0783	242,1096
Log K _{ow}	-	-	7,30	-	-	6,12
Blīvums, g cm ⁻³ pie 25 °C	1,313	1,313	1,313	1,313	1,357	-
Šķīdība ūdenī mg L ⁻¹	5,4x10 ⁻³ pie 25 °C	-	1,7x10 ⁻⁴ pie 25 °C	-	-	-
Kušanas temperatūra, °C	244,4	317	282	282	170	117.1
Viršanas temperatūra, °C	552,3	552,3	552,3	594	438,3	481
Fizikālais stāvoklis	Cietviela (plākšņveida)	Cietviela (plākšņveida)	-	Plākšņveida	-	Bezkrāsains
Krāsa	Gaiši dzeltena	Dzeltena	Dzeltenzaļa	Gaiši dzeltena	Oranža	-

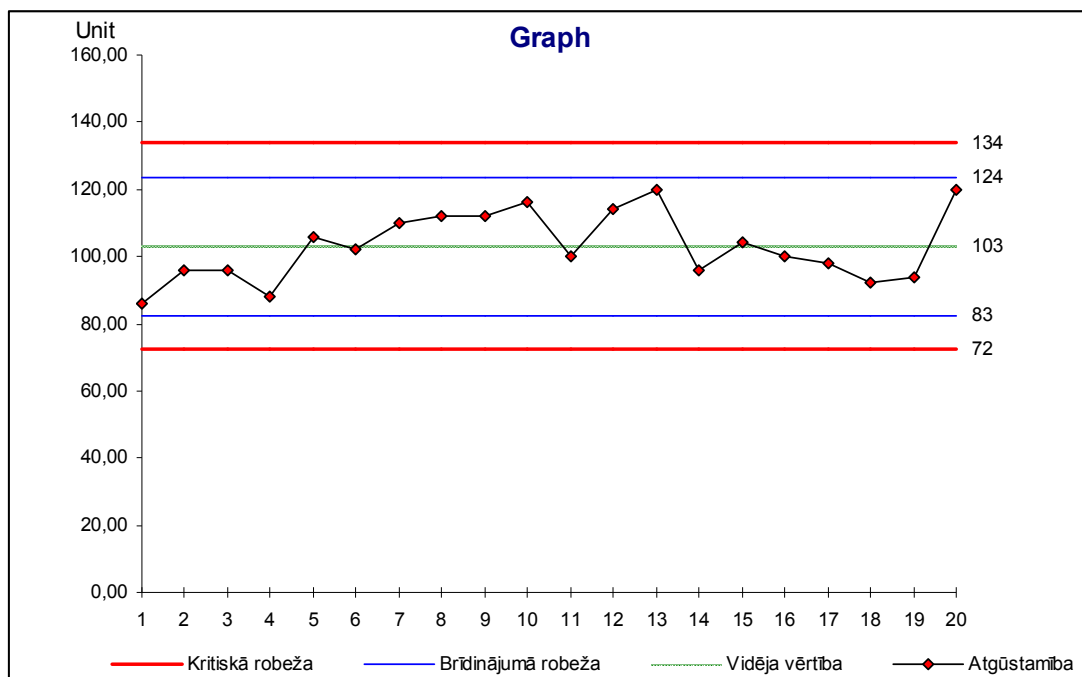
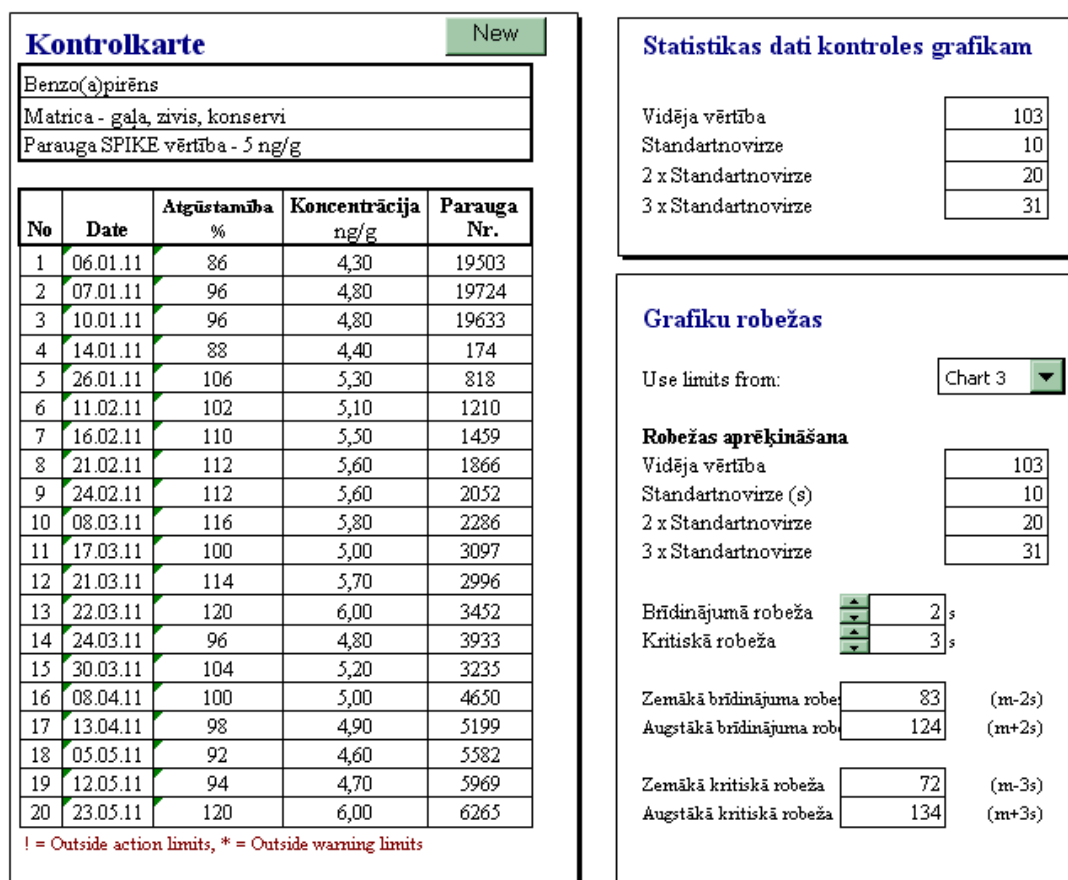
Analītisko metožu pārskats, ko izmanto policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanai zivju produkcijā [64]

Paraugi	Ekstrakcija	Attīrīšana	Atdalīšana	Detektēšana
Zivis	Metanola KOH šķīdums/cikloheksāns	Silikagels/Sephadex LH 20	Dimetilformamīds-ūdens	GH-LJD
Konservēti gliemji, austeres, zivis, kūpināta gaļa	Metanola KOH šķīdums/cikloheksāns	Florisils/toluols	Dimetilsulfoksīds, heksāns	AEŠH-FD/GH-MS
Kūpinātas zivis, gaļa, siers	Ultraskaņa/heksāns	Silikagels/heksāns; C18/heksāns	Dimetilsulfoksīds	AEŠH-FD
Kūpinātas zivis	Metanola KOH šķīdums/cikloheksāns	Silikagels/cikloheksāns	Kofeīns, skudrskābe	AEŠH-FD
Zivis, vēžveidīgie	Etanola KOH šķīdums/2,2,4- trimetilpentāns	Florisils/toluols	Dimetilsulfoksīds, 2,2,4- trimetilpentāns	AEŠH-FD
Divvāku gliemji, zivis	Soksleta ekstrakcija ar heksānu, acetonu un dietilēteri. Metanola KOH šķīdums/cikloheksāns	Cikloheksāns	Dimetilsulfoksīds	GH-MS
Divvāku gliemji	Soksleta ekstrakcija ar metanolu un dihlormetānu; heksāns	Silikagels – alumīnija oksīds	-	AEŠH-FD
Divvāku gliemji	Etanola KOH šķīdums/pentāns	Alumīnija oksīds (AEŠH)/dihlormetāns, pentāns; Silikagels (AEŠH)/dihlormetāns, pentāns	-	GH-MS
Zivis	Metanola KOH šķīdums/heksāns	-	-	GC-FI
Krabis	Metanola KOH šķīdums/pentāns	Silikagels/dihlormetāns	-	GH-MS
Proteīniem vai taukiem bagāta pārtika	Ultraskaņa/hloroforms	Bio-Beads S-X ₃ /hloroforms (GPC)	-	AEŠH-FD

2. PIELIKUMA turpinājums

Paraugi	Ekstrakcija	Attīrīšana	Atdalīšana	Detektēšana
Zivis	Metanola KOH šķīdums/cikloheksāns	Silikagels/cikloheksāns; Sephadex LH-20/izopropāns	Dimetilformamīds, ūdens	AEŠH-FD; GH-MS
Zivis	Soksleta ekstrakcija ar dihlormetānu	Florisils/heksāns	-	GH-MS
Zivis, vēžveidīgie	Etanola KOH šķīdums/n-heksāns	Silikagels/etil ēter-n-heksāns	-	AEŠH-FD
Kūpināta gaļa, speķis, zivis	Metanola KOH šķīdums/cikloheksāns	BioBeads S-X ₃ /cikloheksāns- etilacetāts (GPC)	Dimetilformamīds, ūdens	GH-MS
Zivis	Soksleta ekstrakcija ar dihlormetānu	BioBeads S-X ₃ /dihlormetāns- heksāns; florisils/heksāns	-	GH-MS
Zivis	Metanola KOH šķīdums/pentāns	Silikagels/dihlormetāns	-	GH-MS
Zivis, gaļa	Metanola KOH šķīdums/cikloheksāns	Cietfāžu ekstrakcija, ODS/acetoniitrils	-	AEŠH-FD
Divvāku gliemji	Soksleta ekstrakcija ar heksānu/acetonu	Cietfāžu ekstrakcija (aminopropilsilāns)/dihlormetāns - heksāns	-	AEŠH-FD
Jūras veltes	Metanola KOH šķīdums/n-heksāns	Alumīnija oksīds – silikagels/toluols	-	GH-LJD
Zivis, gaļa	Metanola KOH šķīdums/izooktāns	Silikagels/izooktāns	Dimetilformamīds, ūdens	AEŠH-FD
Zivis, vēžveidīgie	Ekstrakcija ar dihlormetānu	Silikagels/cikloheksāns	-	AEŠH-UV
Vēžveidīgie	Etanola KOH šķīdums/2,2,4-trimetilpentāns	BioBeads S-X ₃ /dihlormetāns- cikloheksāns	-	AEŠH-FD

BaP kontrolkarte (n=20) nenoteiktības aprēķināšanai (2 x standartnovirze)



4. PIELIKUMS

PAO saturs ($\mu\text{g kg}^{-1}$) kūpinātā gaļā, atkarībā no izmantotā kurināmā

	CPP	BaA	CHR	5-MCHR	BjF+BbF	BkF	BaP	IcdP	DahA	BghiP	DaIP	DaeP	DaiP	DahP	Σ PAO
Ābele	9,0 ± 1,8	8,4 ± 1,7	9,5 ± 1,9	1,3 ± 0,3	3,3 ± 0,7	2,1 ± 0,4	6,0 ± 1,2	2,6 ± 0,5	0,4 ± 0,1	3,0 ± 0,6	1,1 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	n.d.	48 ± 10
Alksnis (A)	16,1 ± 3,2	13,0 ± 2,6	13,8 ± 2,8	2,0 ± 0,4	5,3 ± 1,1	3,2 ± 0,6	9,4 ± 1,9	4,2 ± 0,8	0,6 ± 0,1	5,0 ± 1,0	1,7 ± 0,3	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1	n.d.	75 ± 15
A+kadiķis	44,3 ± 8,9	40,1 ± 8,0	37,9 ± 7,6	4,6 ± 0,9	10,8 ± 2,2	6,8 ± 1,4	20,4 ± 4,1	9,8 ± 2,0	1,4 ± 0,3	10,2 ± 2,0	4,4 ± 0,9	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,2	n.d.	193 ± 39
Egle	138,2 ± 27,6	111,8 ± 22,4	114,7 ± 22,9	14,1 ± 2,8	6,3 ± 1,3	10,5 ± 2,1	32,3 ± 6,5	13,8 ± 2,8	2,1 ± 0,6	15,4 ± 3,1	7,1 ± 1,4	1,9 ± 0,4	2,0 ± 0,4	0,8 ± 0,2	471 ± 94
Kļava	31,8 ± 6,4	25,8 ± 5,2	26,6 ± 4,5	2,7 ± 0,5	4,4 ± 0,9	2,6 ± 0,5	9,3 ± 1,9	3,1 ± 0,6	0,6 ± 0,1	3,8 ± 0,8	1,5 ± 0,3	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	n.d.	113 ± 23
Lazda	85,0 ± 17,0	76,9 ± 15,4	75,7 ± 15,1	8,0 ± 1,6	16,9 ± 3,4	10,1 ± 2,0	31,0 ± 6,2	13,1 ± 2,6	1,8 ± 0,4	15,9 ± 3,2	5,6 ± 1,1	1,6 ± 0,3	2,1 ± 0,4	n.d.	344 ± 69
Plūme	59,1 ± 11,8	82,1 ± 16,4	92,1 ± 18,4	8,4 ± 1,7	17,0 ± 3,4	10,6 ± 2,1	30,6 ± 6,1	9,2 ± 1,8	1,2 ± 0,2	9,7 ± 1,9	3,1 ± 0,6	0,9 ± 0,2	0,7 ± 0,1	n.d.	325 ± 65
Apse	75,8 ± 15,2	49,3 ± 9,9	45,5 ± 9,1	7,2 ± 1,4	17,0 ± 3,4	9,7 ± 1,9	35,1 ± 7,0	20,9 ± 4,2	2,8 ± 0,6	24,0 ± 4,8	10,9 ± 2,2	3,0 ± 0,6	n.d.	6,0 ± 1,2	307 ± 61
Ieva	24,5 ± 4,9	20,8 ± 4,2	19,7 ± 3,9	2,9 ± 0,6	10,1 ± 2,0	5,4 ± 1,1	17,3 ± 3,5	9,3 ± 1,9	1,4 ± 0,3	10,7 ± 2,1	4,2 ± 0,8	n.d.	n.d.	n.d.	126 ± 25
Pīlādzis	40,2 ± 8,0	36,4 ± 7,3	38,3 ± 7,7	6,1 ± 1,2	10,3 ± 2,1	5,6 ± 1,1	20,1 ± 4,0	10,4 ± 2,1	1,7 ± 0,3	10,1 ± 2,0	5,0 ± 1,0	n.d.	n.d.	n.d.	184 ± 37
Kokogle	12,8 ± 2,6	17,1 ± 3,4	17,7 ± 3,5	2,5 ± 0,5	5,7 ± 1,1	3,3 ± 0,7	10,0 ± 2,0	5,1 ± 1,0	0,8 ± 0,2	5,0 ± 1,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	80 ± 16

n.d. – nav detektēts ($< 0,1 \mu\text{g kg}^{-1}$)

PAO ($\mu\text{g kg}^{-1}$) saturs dažādās konservu “šprotas eļļā” frakcijās

	CPP	BaA	CHR	5-MCHR	BbF+BjF	BkF	BaP	IcdP	DahA	BghiP	DaIP	DaeP	DaiP	DahP
svaigas zivis	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
kūpinātas zivis	1,4 ± 0,3	2,3 ± 0,5	1,9 ± 0,4	0,5 ± 0,1	1,0 ± 0,2	1,6 ± 0,3	1,5 ± 0,3	0,4 ± 0,1	n.d.	0,4 ± 0,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
šprotas eļļā	2,9 ± 0,6	3,6 ± 0,7	3,6 ± 0,7	0,6 ± 0,1	3,0 ± 0,6	1,8 ± 0,4	5,6 ± 1,1	1,7 ± 0,3	0,2 ± 0,1	2,1 ± 0,4	0,3 ± 0,1	n.d.	n.d.	n.d.
zivju frakcija	1,4 ± 0,3	1,7 ± 0,3	1,9 ± 0,4	0,3 ± 0,1	1,4 ± 0,3	2,3 ± 0,5	2,4 ± 0,5	0,7 ± 0,1	0,1 ± 0,02	0,9 ± 0,2	0,2 ± 0,1	n.d.	n.d.	n.d.
augu eļļa	n.d.	0,1 ± 0,02	0,2 ± 0,1	n.d.	n.d.	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
eļļas frakcija	17,6 ± 3,5	14,9 ± 3,0	14,6 ± 2,9	1,0 ± 0,2	8,3 ± 1,7	5,3 ± 1,1	21,0 ± 4,2	6,1 ± 1,2	0,8 ± 0,2	6,3 ± 1,3	1,1 ± 0,2	n.d.	0,6 ± 0,1	n.d.
rapšu eļļa	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	n.d.	1,2 ± 0,2	2,1 ± 0,4	1,9 ± 0,4	1,4 ± 0,3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,1 ± 0,02	n.d.
eļļas frakcija	63,1 ± 12,6	38,3 ± 7,7	30,8 ± 6,2	1,4 ± 0,3	10,4 ± 2,1	6,5 ± 1,3	25,0 ± 5,0	9,1 ± 1,8	1,4 ± 0,3	8,9 ± 1,8	3,0 ± 0,6	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,2	0,4 ± 0,1

n.d. – nav detektēts ($< 0,1 \mu\text{g kg}^{-1}$)

PAO saturs ($\mu\text{g kg}^{-1}$) šprotu pusfabrikātos atkarībā no apstrādes laika (t_{UV}) UV starojumā un parauga novietojuma konteinerā

t_{UV} , min	CPP	BaA	CHR	5-MCHR	BbF+BjF	BkF	BaP	IcdP	DahA	BghiP	DaP	DaeP	DaiP	DahP
0	$4,3 \pm 0,9$	$3,7 \pm 0,7$	$4,0 \pm 0,8$	$0,8 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,7$	$2,0 \pm 0,4$	$6,3 \pm 1,3$	$1,8 \pm 0,4$	n.d.	$2,2 \pm 0,4$	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
5	$4,0 \pm 0,8$	$3,0 \pm 0,6$	$2,9 \pm 0,6$	$0,7 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,4$	$1,3 \pm 0,3$	$4,2 \pm 0,8$	$1,6 \pm 0,3$	n.d.	$2,1 \pm 0,4$	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
15 (vidus)	$4,2 \pm 0,8$	$3,3 \pm 0,7$	$3,3 \pm 0,7$	$0,7 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,6$	$1,8 \pm 0,4$	$4,7 \pm 0,9$	$1,6 \pm 0,3$	n.d.	$1,8 \pm 0,4$	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
15 (mala)	$3,9 \pm 0,8$	$2,6 \pm 0,5$	$2,5 \pm 0,5$	$0,4 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,6$	$1,8 \pm 0,4$	$4,8 \pm 1,0$	$1,5 \pm 0,3$	n.d.	$1,7 \pm 0,3$	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
20	$4,2 \pm 0,8$	$3,3 \pm 0,7$	$3,4 \pm 0,7$	$0,7 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,6$	$1,8 \pm 0,4$	$4,5 \pm 0,9$	$1,6 \pm 0,3$	n.d.	$1,8 \pm 0,4$	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. – nav detektēts ($< 0,1 \mu\text{g kg}^{-1}$)

PAO ($\mu\text{g kg}^{-1}$) izmaiņas eļļās to uzglabāšanas laikā dažādos apstākļos

	CPP	BaA	CHR	5-MCHR	BbF+BjF	BkF	BaP	IcdP	DahA	BghiP	DalP	DacP	DaiP	DahP	Σ PAO
eļļa nr.1	11,9 ± 2,4	17,7 ± 3,5	17,7 ± 3,5	8,5 ± 1,7	7,1 ± 1,4	11,3 ± 2,3	18,6 ± 3,7	4,6 ± 0,9	15,9 ± 3,2	19,0 ± 3,8	22,5 ± 4,5	20,8 ± 4,2	19,5 ± 3,9	13,4 ± 2,7	208 ± 42
eļļa nr.2	8,8 ± 1,8	12,9 ± 2,6	12,9 ± 2,6	6,1 ± 1,2	17,1 ± 3,4	14,2 ± 2,8	18,8 ± 3,8	4,7 ± 1,0	16,2 ± 3,2	19,6 ± 3,9	21,7 ± 4,3	21,0 ± 4,2	19,5 ± 3,9	12,5 ± 2,5	206 ± 41
Tumsā, PE 24 h	4,4 ± 0,9	6,52 ± 1,3	6,7 ± 1,3	3,1 ± 0,6	13,0 ± 2,6	11,7 ± 2,3	17,1 ± 3,4	14,5 ± 2,9	11,7 ± 2,3	16,0 ± 3,2	17,7 ± 3,5	14,9 ± 3,0	12,5 ± 2,5	10,7 ± 2,1	161 ± 32
Tumsā, SP 24 h	7,4 ± 1,5	10,8 ± 2,2	11,8 ± 2,4	5,2 ± 1,0	14,4 ± 2,9	12,8 ± 2,6	18,8 ± 3,8	16,2 ± 3,2	13,8 ± 2,8	16,3 ± 3,3	18,4 ± 3,7	14,3 ± 2,9	11,8 ± 2,4	10,3 ± 2,1	182 ± 36
Tumsā, TSP 24 h	9,8 ± 2,0	14,6 ± 2,9	14,9 ± 3,0	5,8 ± 1,2	13,4 ± 2,7	11,2 ± 2,2	16,8 ± 3,4	15,7 ± 3,1	12,7 ± 2,5	15,9 ± 3,2	17,8 ± 3,6	15,0 ± 3,0	12,3 ± 2,5	10,8 ± 2,2	187 ± 37
Gaismā, PE 24 h	5,8 ± 1,2	10,9 ± 2,2	11,3 ± 2,3	5,4 ± 1,1	15,3 ± 3,1	11,2 ± 2,2	16,0 ± 3,2	18,6 ± 3,7	15,2 ± 3,0	17,5 ± 3,5	6,5 ± 1,3	18,4 ± 3,7	11,1 ± 2,2	5,9 ± 1,2	169 ± 34
Gaismā, SP 24 h	4,9 ± 1,0	10,5 ± 2,1	11,6 ± 2,3	6,5 ± 1,3	14,0 ± 2,8	8,3 ± 1,7	11,2 ± 2,2	14,8 ± 3,0	12,8 ± 2,6	14,3 ± 2,9	4,4 ± 0,9	12,8 ± 2,6	6,2 ± 1,2	4,7 ± 0,9	137 ± 27
Gaismā, TSP 24 h	7,7 ± 1,5	11,6 ± 2,3	12,4 ± 2,5	5,8 ± 1,2	16,2 ± 3,2	14,1 ± 2,8	20,1 ± 4,0	18,0 ± 3,6	14,8 ± 3,0	18,8 ± 3,8	20,7 ± 4,1	17,8 ± 3,6	15,4 ± 3,1	12,7 ± 2,5	206 ± 41

PE – polietilēns, SP – stikla pudele, TSP – tumša stikla pudele

Atgūstamības skaitliskās vērtības aprēķina pēc 3.1.formulas:

$$A = \frac{\gamma_{sp} - \gamma_{par}}{\gamma_{st}} \cdot 100\% \quad (3.1.)$$

kur A - atgūstamība, %

γ_{sp} - masas koncentrācija paraugam ar standartpiedevu, ng g⁻¹

γ_{par} - masas koncentrācija paraugā, ng g⁻¹

γ_{st} - standartšķīduma beigu masas koncentrācija, ng g⁻¹

Atgūstamības vērtības uzskata par pieļaujamām, ja tās ir robežās no 50 % līdz 120 %.

Standartnovirzi (S_n) aprēķina pēc formulas (3.2.):

$$S_n = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} (c_i - c_{vid})^2}{n-1}} \quad (3.2.)$$

kur: n – mērījumu skaits

γ_i – vielas masas koncentrācija vienam noteiktam mērījumam, ng g⁻¹

γ_{vid} - vidējā vielas masas koncentrācija analizējamā paraugā, ng g⁻¹

Relatīvo standartnovirzi (S_r , %) aprēķina pēc formulas (3.3.):

$$S_r = \frac{S_n}{\gamma_{vid}} \cdot 100\% \quad (3.3.)$$

Drošības intervālu nosaka pēc formulas (3.4.):

$$DI = \frac{t_{p;n} S_n}{\sqrt{n}} \quad (3.4.)$$

kur: $t_{p;n}$ – Stjudenta koeficients (pie varbūtības $p = 0,95$ un noteikšanas skaita $n = 3$ ir 4,303, bet pie $p = 0,95$ un $n = 2$ ir vienāds ar 12,7)

Visus rezultātus, ko iegūst no augstāk apskatītiem vienādojumiem, skatīt 3.18. tabulā; tos tālāk izmanto iegūto datu salīdzināšanai.

PUBLIKĀCIJU SARAKSTS

PUBLIKĀCIJAS, RAKSTI:

1. **A.Kukare**, V.Bartkevics, A.Viksna. The influence of different smoking technologies on the content of polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. Bulletin of Veterinary Institute in Pulawy, p.6. Iesniegts 2011.gada augustā.
2. **A.Kukāre**, V.Bartkevičs, A.Viksna. Development of methodology for the control of polycyclic aromatic hydrocarbons in food. Latvijas ķīmijas žurnāls, 2010, Nr.1, 54.-65.lpp.
3. I.Stumpe-Vīksna, **A.Kukāre**, V.Bartkevičs, A.Morozovs. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu saturs eļļās. LLU raksti 21 (315), 2008, 30.-41.lpp.
4. I.Stumpe-Vīksna, **A.Kukāre**, V.Bartkevičs, A.Morozovs. Levels of benzo(a)pyrene in fish, smoked according to different procedures. LLU raksti 21 (315), 2008, 24.-29.lpp.
5. I.Stumpe-Vīksna, **A.Kukāre**, V.Bartkevičs. Dažādu tehnoloģisko procesu ietekme uz policiklisko aromātisko ogļūdeņražu saturu desās. Rīgas Tehniskās universitātes Zinātniskie raksti. Materiālzinātne un lietišķā ķīmija, 16 sējums, 2008, 113-119.lpp.
6. I.Stumpe-Vīksna, **A.Kukare**, V.Bartkevich, A.Morozovs – Polycyclic aromatic hydrocarbons in meat smoked with different types of wood. Food Chemistry, 2008, Vol.110, Issue 3, pp. 794-797.
7. I.Stumpe-Vīksna, **A.Kukāre**, V.Bartkevičs. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšana pārtikas produktos ar masspektrometrijas metodēm. Latvijas ķīmijas žurnāls, 2007, Nr.2, 138.-146.lpp.
8. I.Stumpe-Vīksna, **A.Kukāre**, V.Bartkevičs, A.Morozovs. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food products. International Scientific Conference Proceedings. Research for rural development. LLU, Jelgava, Latvia, pp.79.-86.
9. I.Stumpe-Vīksna, **A.Kukāre**, V.Bartkevičs, M.Strēle, R.Seržāne, A.Morozovs, M.Jure – Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu satura izmaiņas pārtikas produktos dažādu tehnoloģisko procesu ietekmē. – Rīgas Tehniskās Universitātes Zinātniskie raksti. Materiālzinātne un lietišķā ķīmija, 10 sējums, 2005, 127-132.lpp.

POPULĀRZINĀTNISKIE RAKSTI:

1. **A.Kukāre**. Policikliskie aromātiskie ogļūdeņraži. Žurnāls "Saimnieks.LV", 2010.gada janvāris, Nr.12 (66), 68.-69.lpp.

KONFERENCES:

1. **A.Kukare**, K.Klavins, I.Pugajeva, A.Viksna, V.Bartkevics. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons using ultra performance liquid chromatograph QTrap tandem mass spectrometer (stenda referāts / poster presentation). Serbija, Belgrada, 2011.gada 11.-15.septembris. EUROanalysis 16, European Conference on Analytical Chemistry.
2. **A.Kukare**, V.Bartkevics, A.Viksna. Influence of different smoking Technologies on polycyclic aromatic hydrocarbons content in foodstuffs (stenda referāts / poster presentation). Slovākija, Bratislava, 2010.gada 19.-22.maijs. 5th Central European Congress on Food.
3. **A.Kukāre**, V.Bartkevičs, Dz.Začs, A.Vīksna. Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu noteikšanas metodes izstrāde uz gāzu hromatogrāfa – augstas izšķiršanas spējas

- masspektrometra (referāts/oral presentation). Latvijas Universitāte, Ķīmijas fakultāte, 2010.gada 12.februāris. 68.LU Zinātniskā konference.
4. **A.Kukare**, V.Bartkevics, A.Viksna. Factors influencing content of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish products. Latvia, Riga, August the 27th – 28th, 2009. 2nd International Veterinary Laboratory Scientific and Applied Conference. Laboratory diagnostics today and its future challenges.
 5. **A.Kukare**, V.Bartkevics, A.Viksna. Development of methods for detection of polycyclic aromatic hydrocarbons. Latvia, Riga, August the 28th – 29th, 2008. International Veterinary Laboratory Scientific and Applied Conference. Laboratory diagnostics today and its future challenges.
 6. **A.Kukāre**, I.Stumpe-Vīksna, V.Bartkevičs, A.Vīksna. Optimālā modeļa izveide policiklisko aromātisko ogļūdeņražu satura raksturošanai pārtikas produktos (stenda referāts / poster presentation).. Slovākija, Vyhne, 2008.gada 28.-30.aprīlis. Earth in a Trap? 2008.
 7. **A.Kukāre**, I.Stumpe-Vīksna, V.Bartkevičs, A.Vīksna. Optimālā modeļa izveide policiklisko aromātisko ogļūdeņražu satura raksturošanai pārtikas produktos (referāts/oral presentation). Latvijas Universitāte, Ķīmijas fakultāte, 2008.gada 8.februāris. 66.LU Zinātniskā konference.
 8. I.Stumpe-Vīksna, **A.Kukāre**, V.Bartkevičs. Dažādu tehnoloģisko procesu ietekme uz policiklisko aromātisko ogļūdeņražu saturu desās (stenda referāts / poster presentation). Latvija, Rīga, Rīgas Tehniskā universitāte, 2007.gada 11.-13.oktobris. Rīgas Tehniskās universitātes 48. Starptautiskā zinātniskā konference.
 9. I.Stumpe-Vīksna, **A.Kukāre**, V.Bartkevičs, A.Morozovs. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food products. International Scientific Conference Proceedings Research for rural development. LLU, Jelgava 2007, Latvia, pp.79.-86.
 10. **A.Kukāre**, V. Bartkevičs, I.Stumpe-Vīksna, I.Jākobsone. Polycyclic aromatic hydrocarbons in meat smoked with different types of wood (stenda referāts / poster presentation). Francija, Parīze, 2007.gada 29.-31.augusts. Euro Food Chem XIV. Food quality, an issue of molecule based science. Proceedings, Volume 2.
 11. I.Stumpe-Vīksna, **A.Kukāre**, V.Bartkevičs, A.Morozovs. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food products (stenda referāts / poster presentation). Latvia University of Agriculture. Jelgava 2007. Research for rural development 2007. International scientific conference proceedings.
 12. I.Jākobsone, **A.Kukāre**, V. Bartkevičs, I.Stumpe-Vīksna (Latvian University, Latvian Diagnostic Centre, Latvian University of Agriculture). Impact of different technological processes on content of polycyclic aromatic hydrocarbons in food products (stenda referāts / poster presentation). Bulgārija, Sofija, 2006.gada 22.-24.maijs. 3rd Central European Congress on Food.
 13. I.Stumpe-Vīksna, **A.Kukāre**, G.Cepurnieks, V.Bartkevics. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in oils and smoked fish by massspectrometric methods (stenda referāts / poster presentation). Čehija, Prāga, 2005.gada 2.-4. novembris. 2nd International Symposium on recent advantages in food analysis.
 14. I.Stumpe-Vīksna, **A.Kukāre**, M.Jure, M.Strēle, R.Seržāne, A.Morozovs (LLU, RTU, Latvija). Policiklisko aromātisko ogļūdeņražu satura izmaiņas pārtikas produktos dažādu tehnoloģisko procesu ietekmē (stenda referāts / poster presentation). Latvija, Rīga, 2005. gada 13.-15.oktobris. Rīgas Tehniskās Universitātes 46. Starptautiskā zinātniskā konference.