

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

**OGLEKĻA UN SLĀPEKĻA IZOTOPU ATTIECĪBU
PĒTĪŠANA DAŽĀDAS ŠĶIRNES ĀBOLOS**

MAGISTRA DARBS

Autors: Sintija Zīriņa

Studenta apliecības Nr.: sz17014

Darba vadītājs: Dr. chem., Prof. Arturs Vīksna

Konsultante: Mg. Chem., Lauma Buša

RĪGA

2019

Saturs

Lietotie saīsinājumi	3
ANOTĀCIJA.....	4
Ievads.....	5
1. LITERATŪRAS APSKATS.....	7
1.1. Izotopu izplatība dabā un sadalījums.....	8
1.2. Izotopu attiecības raksturlielums - Delta vienādojums.....	9
1.3. Izotopu attiecības masspektrometrija.....	10
1.4. GC–C–IRMS darbības princips	11
1.5. IRMS pielietojumi dažādu pārtikas produktu analīzē.....	13
2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA.....	24
2.1. Izmantotie materiāli	24
2.2. Izmantotās iekārtas un piederumi	24
2.3. Paraugu sagatavošana analīzēm.....	24
2.4. Analizējamo paraugu apraksts	24
2.5. Paraugu analīze ar izotopu attiecības masspektrometru	25
3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS.....	29
SECINĀJUMI	46
LITERATŪRA.....	47
Pateicības	52
Pielikumi.....	53

Lietotie saīsinājumi

Mt	Metriskā tonna
C ₃	Fotosintēzes cikls, kur CO ₂ fiksācijas rezultātā izveidojas organiskais savienojums ar 3 C atomiem – fosfoglicerīnskābe. Pazīstams kā Kalvina cikls.
C ₄	Fotosintēzes cikls, kur pirms iesaistīšanās Kalvina ciklā CO ₂ vispirms tiek fiksēts alternatīvā veidā, kā fotosintēzes primārajam produktam izveidojoties C 4 savienojumam.
CAM	Fotosintēzes cikls, kur nakts laikā, kad atvārsnītes atveras, augi uzņem CO ₂ un iekļauj to dažādu organisko skābju sastāvā
IRMS	Izotopu attiecības masspektrometrija
GC-C-IRMS	Gāzu hromatogrāfija – sadedzināšanas krāsns – izotopu attiecības masspektrometrija
V-SMOW	Primārais ūdens standarts, kas definē izotopisko sastāvu ūdenī (<i>Vienna Standard mean Ocean Water</i>)
V-PDB	Primārais standarts, pret kuru nosaka oglekļa izotopu daudzumu (<i>Vienna Pee Dee belemnite</i>)

ANOTĀCIJA

Oglekļa un slāpekļa izotopu attiecību pētīšana dažādas šķirnes ābolos. Zīriņa S., zinātniskais vadītājs Dr. ķīm., prof. Vīksna A. Maģistra darbs, 61 lappuses, 28 attēli, 7 tabulas, 5 pielikumi, 44 literatūras avoti. Latviešu valodā.

Darbā ir veikta literatūras izpēte par izotopu attiecības masspektrometriju un tā pielietojumiem dažādu augļu izcelsmes noteikšanai. Tika analizēts paraugu sagatavošanas process, kā arī izmantotās analīzes metodes. Pēc tam tika izstrādāta paraugu sagatavošanas metode un ar izotopu attiecības masspektrometru tika analizēti āboli no dažādām valstīm un iegūtie rezultāti savā starpā salīdzināti.

PĀRTIKA, SLĀPEKĻA SKĀBEKĻA UN OGLEKĻA IZOTOPU ATTIECĪBAS MASSPEKTROMETRS, PĀRTIKAS IZCELSME, ĀBOLI

ABSTRACT

Determination of carbon and nitrogen isotope ratio in different apple cultivars. Zīriņa S., supervisor Doc. chem., prof. Vīksna A. Master's thesis, 61 pages, 28 figures, 7 tables, 5 attachments, 44 literature references. In Latvian.

A literature analysis was performed about isotope ratio masspectrometry and the application of it to determine different fruit origin. Sample preparation processes and analytical methods were analyzed. Afterwards a sample preparation method was developed and with isotope masspectrometry apples from different countries were analyzed. Obtained results were compared with each other.

FOOD, NITROGEN OXYGEN AND CARBON ISOTOPE RATIO MASSPECTROMETRY, FOOD ORIGIN, APPLES

Ievads

Patērētāji visā pasaulē vēlas saprast un būt informēti par to, ko viņi ēd, no kurienes ir nācis pārtikas produkts, kā tas ticis iegūts. Šobrīd pasaulē pieaug informācijas plūsma par veselīgu uzturu, produktu tipiem, vai produkts ir iegūts bioloģiskā veidā vai konvencionālā lauksaimniecībā, kā arī par pārtikas pārstrādes veidiem. Pārtikas produkti, kas satur tādu nosaukumu kā “ekoloģiski/bioloģiski audzēts” vai ir autentiska izcelsmes vieta bieži vien pārtikas tirgū nosaka salīdzinoši augstas cenas salīdzinot par pārtikas produktiem, kuru sastāvā ir minēta ģenētiski modificēto organismu vai E vielu esamība. Tādējādi ir nepieciešams pārbaudīt šos produktus, vai to saturs ir patiess (sastāvs, izcelsmes vieta utt.), kā arī vai tie ir droši un nekaitīgi.

Runājot par pārtikas drošību un nekaitīgumu patērētājiem šis ir kritiski svarīgs aspekts. Iegādājoties pārtikas precis patērētājam jābūt drošam, ka iegādātais produkts nav veselībai kaitīgs un tas nenodarīs ļaunumu. Pārtikas nekaitīgumu Eiropas Savienībā nodrošina kopējā pārtikas likuma regula, kas nosaka, ka tikai droši produkti var tikt tirgoti Eiropas savienībā un izmantoti lopkopībā. Šī regula arī nodrošina pamata kritērijus, lai noteiktu vai pārtika ir droša un nekaitīga. Pārtikas izsekojamība ir ļoti nozīmīga patērētājiem, jo tā nodrošina viņiem aizsardzību, it īpaši, ja pārtikas produkts izrādās kaitīgs. Izsekojamība ir svarīga, jo tā atvieglo nedrošas pārtikas izņemšanu no tirgus, nodrošina patērētājiem konkrētu un specifisku informāciju par pārtikas produktu, kā arī pārbauda visu pārtikas sektoru un piespiež pārtikas importētājiem norādīt pārtikas izcelsmi [1].

Tieši izotopu attiecības masspektrometrija ir metode, kas ļauj pārbaudīt plaša spektra pārtikas produktus, dzērienus un sastāvdaļas, noteikt vai nav notikusi produkta viltošana, aizsargājot gan patērētājus, gan veicinot godīgas konkurences pamatprincipus. Lai gan šī metode sniedzas atpakaļ uz pašiem masspektrometrijas sākumiem, to ir iespējams izmantot arī mūsdienās, lietojot precīzi kalibrētus instrumentus un pievēršot lielu uzmanību parauga sagatavošanai.

Eiropā vieni no visvairāk patērētajiem un populārākajiem augļiem ir tieši āboli. Āboli ierindojas ceturtajā vietā pēc citrusa augļiem, vīnogām un banāniem. To ražošanas apjomi Eiropas savienībā 2016. gadā sasniedza 11779 Mt, no tiem svarīgākās šķirnes ir “*Golden delicious*” (2406 Mt), “*Gala*” (1314 Mt) un “*Idared*” (965 Mt) [2]. Tie pārsvarā tiek kultivēti subtropu un tropu klimata joslās. Āboli popularitāti iemantojuši veselīgā uzturā to bagātīgā un noderīgā sastāva dēļ. Tajos ūdens saturs ir vairāk nekā 80%, tie satur cukuru (fruktoze > glikoze > saharoze), organiskās skābes (0.2-0.8%), vitamīnus (lielākoties vitamīns C, 2,3-31,1 mg/100 g), minerālvielas (0,34-

1,23%) un šķiedrvielas (2-3%). Āboli sastāvā ir liels antioksidantu – polifenolu – daudzums, kas padara tos par vienu no svarīgākajiem augļiem, ko lietot uzturā [3]. To izcelsme raksturo to kvalitāti – garšu, tekstūru, smaržu, saldumu, skābumu, sastāvu, izskatu – tādējādi patērētājiem ir svarīgs šī produkta autentiskums salīdzinot tos ar citām pieejamām alternatīvām.

Darba mērķis ir izpētīt ābolu paraugu sagatavošanas metodi oglekļa un slāpekļa izotopu attiecību noteikšanai un izvērtēt iegūto rezultātu piemērotību parauga izcelsmes raksturošanai.

Mērķi var sasniegt izpildot sekojošus uzdevumus:

1. Balstoties uz literatūru izanalizēt paraugu sagatavošanas un analīzes metodi;
2. Izpētīt ābolu sagatavošanas metodi;
3. Veikt izotopu pētījumus dažādu šķirņu āboliem ar zināmu izcelsmi;
4. Izvērtēt un salīdzināt savā starpā iegūtos rezultātus.

1. LITERATŪRAS APSKATS

Globāli palielinoties pārtikas industrijai, pieaug arī patērētāju interese un uzmanība par pārtikas produktu problēmām. To var raksturot kā pastiprinātu produktu marķēšanu, pieaugoša uzmanība ģenētiski modificētiem organismiem un slimībām, kas ir cieši saistītas ar pārtiku, piemēram, putnu un cūku gripa. Liela uzmanība tiek arī pievērsta ekoloģiski iegūtiem produktiem, produktu izcelsmes reģioniem un kvalitātei. Pārtiku raksturo 2 atslēgas vārdi – autentiskums un izsekojamība. Palielinoties pārtikas tirgum pieaug arī bīstama un noziedzīga pārtikas prakse, tādējādi ir nepieciešami regulējumi un iespējas kā pārbaudīt šīs aktivitātes. Pārtikas produkti tiek viltoti, tiem tiek doti nepatiesi vai maldīgi marķējumi, tiek pievienotas dažādas smaržas un garšas, kas uzlabo produktu par lētāku cenu, tiek pievienotas aizliegtas piedevas un tamlīdzīgi. Produkta izcelsme dod patērētājam noteiktu lielumu caurspīdīguma par to, ka iegādātais produkts nav piesārņots un tā saturs nav mainīts.

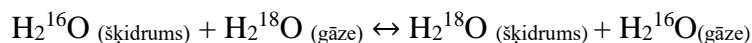
Šajā brīdī analītiskās metodes, lai noteiktu pārtikas produktu izcelsmi un vai tie nav viltoti ir:

- Atdalīšanas tehnikas kā, piemēram, gāzu hromatogrāfija (GC) un augstefektīvā hromatogrāfija (HPLC);
- Strukturālā analīze kā, piemēram, masspektrometrija (MS), augstas izšķirtspējas kodolmagnētiskā rezonanses spektrometrija (HR-NMR) un infrasarkanā spektrometrija (IR);
- Stabilo izotopu analīze kā, piemēram, izotopu attiecības masspektrometrija (IRMS);
- Elementu analīze, piemēram, induktīvi saistītā plazmas masspektroskopija (ICP-MS)
- Bioanalītiskās metodes kā DNS profilēšana.

Tieši izotopu attiecības masspektrometrija tiek izmantota visplašāk tā augstās precizitātes un mazā parauga daudzuma dēļ. Metodes mīnuss ir, ka pētot produktu, masspektrometrs analizē absolūti visu ķīmisko vielu nosakāmo vieglo stabilo elementu izotopu attiecības, ko produkts satur, kas var sasniegt vairākus simtus dažādu vielu un tāpēc ir grūti izpētīt parauga saturu, tādēļ IRMS tiek sajūgts kopā ar gāzu hromatogrāfu, kas dod iespēju atdalīt vielas, kā prioritāti uzstādot tieši izotopu monitoringu. GC sajūgšana ar IRMS var notikt ar sadedzināšanas (C) vai pirolīzes (P) krāsni, dodot informāciju par dažādu vieglo elementu stabilo izotopu attiecībām noteiktā savienojumu frakcijā.

1.1. Izotopu izplatība dabā un sadalījums

Elementu izotopiem ir tā pati elektronu struktūra un tādējādi tā pati ķīmiskā aktivitāte. Bet katram elementam izotopu izplatība ir dažāda, to var raksturot caur procesiem ko sauc par frakcionēšanos. Frakcionēšanas rezultātā tiek vai nu palielināta vai samazināta izotopa dabīgā esamība no parastā vidējā daudzuma. Piemēram, tā kā $H_2^{18}O$ ir smagāks nekā $H_2^{16}O$, tad ūdens iztvaikošana no Zemes okeāniem rezultēsies ar to ka $H_2^{16}O$ būs vairāk atmosfērā un tādējādi atmosfērā samazināsies $H_2^{18}O$ relatīvā attiecība. Šo līdzsvaru var raksturot ar vienādojumu, kurš redzams 1.1. attēlā. [4].



1.1. att. Ūdens iztvaikošanas vienādojums

Līdzsvaru var izteikt ar frakcionēšanās faktoru, izmantojot formulu 1.1 [5].

$$\alpha = \frac{(^{18}O/^{16}O)_{šķidrums}}{(^{18}O/^{16}O)_{gāze}} = 1,0098 \quad (1.1.)$$

kur α – frakcionēšanās faktors

Izotopu vidējā dabīgā sastopamība dabā ir redzama 1.1 tabulā. Ir redzams, ka viegliem elementiem H, C, N, O un S dabā eksistē 2 vai vairāk stabili izotopi.

1.1. tabula

Vieglo stabilo izotopu izplatība dabā

Ūdeņradis	Ogleklis	Slāpeklis	Skābeklis	Sērs
1H 99,99%	^{12}C 98,89%	^{14}N 99,63%	^{16}O 99,76%	^{32}S 95,00%
2H (D) 0,01%	^{13}C 1,11%	^{15}N 0,37%	^{17}O 0,04%	^{33}S 0,76%
			^{18}O 0,20%	^{34}S 4,22%
				^{36}S 0,02%

Frakcionēšanās procesi ir saistīti ar kinētiskajiem un termodinamiskajiem efektiem un tie mainās izotopu fizikālo un ķīmisko īpašību dēļ, kas bieži vien ir proporcionāla to masu dažādībai, kas var ietekmēt procesu ātrumu vai sistēmas enerģijas daudzumu [6]. Tādējādi frakcionēšanās procesi, kas notiek pārtikas komponentu biosintēzes laikā, var tikt izmantoti kā autentiskuma un

izsekojamības vadlīnijas Maza izotopu $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ un/vai $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ attiecības maiņa var dot “pirksta nospiedumu”, kas ir unikāls instruments, kas dod iespēju noteikt konkrētā produkta izcelsmi [7].

Runājot par $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ attiecību dabā, tā ir atkarīga no dažādiem procesiem, kā, piemēram, pa kuru fotosintēzes ciklu (C_3 , C_4 vai CAM) notiek CO_2 pārvērtības un tādējādi arī oglekļa izotopu frakcionēšanās. Šo izotopu attiecību ietekmē arī dažādi faktori kā temperatūra, ūdens pieejamība, gaisa mitrums, CO_2 koncentrācija, mēslojums, sāļums, gaismas intensitāte un fotorespirācijas procesi [8, 9]. Augi, kuri izmanto metabolisma C_3 ciklu, to $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ attiecības vērtība svārstās no $-34 < \delta^{13}\text{C} < -24\text{‰}$, bet augi, kas izmanto C_4 ciklu $-17 < \delta^{13}\text{C} < -10\text{‰}$ [10]. Ja produkta viltošana notiek ar komponentiem no augiem, kam ir cits fotosintēzes cikls, tad šo viltojumu ir viegli noteikt, bet, ja viltošana notiek ar tāda paša cikla komponentu kā produkts, tad ir nepieciešams izmantot references standartu ar zināmu izcelsmi [11].

Slāpekļa izotopu $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ attiecības maiņa dabā ir nedaudz sarežģītāka nekā $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ attiecība. Frakcionēšanos ietekmē dažādi faktori, piemēram, augsnes mineralizācija, nitrifikācija, nitrātu samazināšana, iztvaicēšana, mēslojums utt. [12]. Slāpekļa izotopu attiecības pētīšana vairāk noder, lai pārbaudītu, vai ir izmantots sintētisks vai organisks mēslojums [13].

1.2. Izotopu attiecības raksturlielums - Delta vienādojums

Izotopu attiecība dabā parasti tiek apzīmēta ar delta vienībām (δ). Tās tiek tālāk aprakstītas ar promilēm (‰). Delta vienības tiek aprēķinātas izmantojot formulas 1.2. un 1.3. [14]:

$$R = \frac{\text{smagākā elementa izplatība}}{\text{vieglākā elementa izplatība}} \quad (1.2.)$$

kur R – izotopu attiecība.

$$\delta = \frac{1000(R_{\text{paraugs}} - R_{\text{standarts}})}{R_{\text{standarts}}} \quad (1.3.)$$

kur δ – izotopu izplatība dabā, ‰;

R_{paraugs} – smagā un vieglā izotopa attiecība paraugā;

$R_{\text{standarts}}$ – smagā un vieglā izotopa attiecība standartā.

Izotopu attiecības mērījumi tiek veikti pret laboratorijas references materiālu jeb pārbaudītu darba standartu. Šis standarts atkal ir kalibrēts pret starptautiski pieņemtu standartu [14, 15].

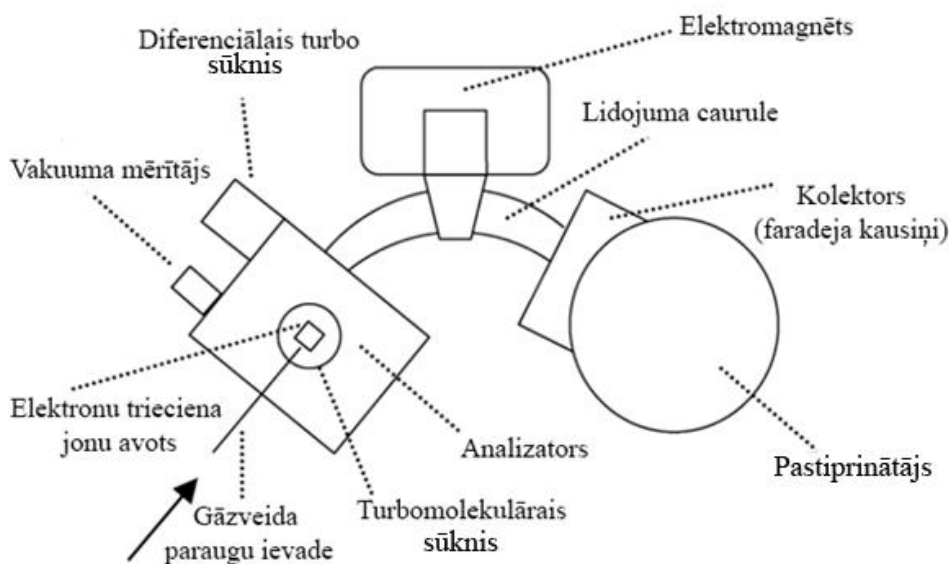
Dabā sastopamo izotopu analīzē uzsvars tiek likts uz relatīvajām atšķirībām starp paraugiem, kas tiek analizēti vienādos apstākļos pretstatā to iegūtajām precīzajām vērtībām. Viena no priekšrocībām veicot relatīvos mērījumus ir precizitāte. Kļūdu skaits relatīvajos mērījumos ir ievērojami mazāks, jo relatīvajiem mērījumiem ir mazāk kļūdu avoti salīdzinot ar absolūtajiem mērījumiem [16].

Vispārīgi, delta vienības tiek relatīvi apzīmētas pret starptautiski pieņemtu standartu, kas ir pieņemts par 0‰ [14]. Negatīvs δ daudzums norāda ka paraugs ir izotopiski “viegls” jeb iegūtā smago izotopu frakcija ir relatīvi maza salīdzinot ar iegūto vieglo izotopu frakciju, kas pēc tam tiek salīdzināts attiecībā pret standartu. Pozitīvs δ daudzums norāda, ka paraugs ir izotopiski “smags” jeb iegūtā vieglo izotopu frakcija ir relatīvi maza salīdzinot ar iegūto smago izotopu frakciju, kas pēc tam tiek salīdzināts attiecībā pret standartu [17].

1.3. Izotopu attiecības masspektrometrija

Izotopu attiecības masspektrometrs ir specializēts masspektrometrs ar kuru var veikt precīzus un patiesus mērījumus. Ar šo iekārtu dažādās variācijās tiek mērīta vieglo izotopu daudzums. IRMS (izotopu attiecības masspektrometrijas) instrumenti atšķiras no konvencionālajiem organisko vielu pētīšanas masspektrometriem t.i. tie neskenē raksturīgos jonus masas diapazonā, lai sniegtu informāciju par analizēto paraugu. Paraugs vispirms parasti tiek sadedzināts un pēc tam iznākošā gāze tiek sadalīta hromatogrāfiskā kolonnā un aizvadīta uz izotopu attiecības masspektrometru [10].

Parasti šo elementu izotopi tiek mērīti ar IRMS instrumentu: ogleklis (izotopi: ^{13}C un ^{12}C , bet ne ^{14}C), skābeklis (izotopi: ^{16}O , ^{17}O un ^{18}O), ūdeņradis (izotopi: ^1H , ^2H , bet ne ^3H), slāpeklis (izotopi: ^{14}N un ^{15}N), kā arī sērs (izotopi: ^{32}S , ^{33}S , ^{34}S un ^{36}S). Retāk tiek pētīti tādi elementi kā hlors, silīcijs un selēns. Masspektrometri, kas tiek izmantoti izotopiskajai analīzei parasti sastāv no 3 posmiem: jonu avots, masas analizators un jonu kolektors (skat. 1.2. attēlu) [14].



1.2. att. Izotopu attiecības masspektrometra shēma

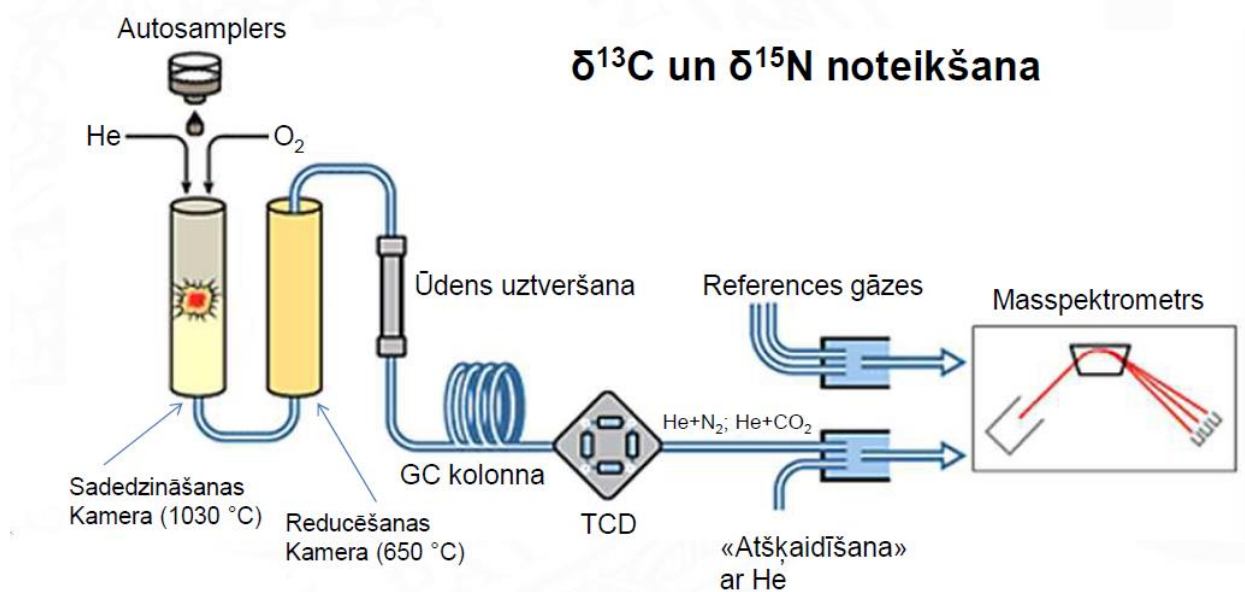
Gāzveida paraugi tiek ievadīti masspektrometra jonizācijas šūnā. Paraugs vakuumā sadurās ar fokusētu elektronu kūli, kā rezultātā molekulas zaudē elektronus un tiek radīti pozitīvi joni. Šie joni tiek izvadīti no jonizācijas šūnas un magnētiskajā laukā tiek sadalīti atkarībā no to masas/lādiņa (m/z) attiecības. Šie joni tiek sakopoti kolektorā, kas sastāv no trīs (dažreiz līdz pat astoņām) Faradeja kausiņiem. Pēc tam analītiskais signāls tiek pastiprināts, izmantojot sprieguma – frekvences pārveidotāju un novadīti uz datoru. Datorā smailes tiek integrētas un izrēķināti attiecīgās izotopu attiecības [18, 19].

1.4. GC–C–IRMS darbības princips

GC–C–IRMS principi neatšķiras no parastajiem GC–MS, GC-FID instrumentiem. Parauga ievadīšana notiek atkarībā no tā, kāda veida paraugs tas ir – dalītā/nedalītā injekcija, kolonnas injekcija, cietās fāzes mikroekstrakcija utt. [20]. Svarīgākais aspekts ir garantēt analītu injekciju bez frakcionēšanās. Pēc parauga atdalīšanas kolonnā, eluents tiek sadalīts, kur maza daļa aiziet uz “standarta” detektoru, kā, piemēram, FID vai MS, bet otra porcija tie aizvadīta uz sadedzināšanas sistēmu. Eluenta sadedzināšana notiek 3 posmos: oksidēšana, reducēšana un ūdens aizvadīšana. Oksidēšana notiek augstās temperatūrās (800 – 1100 °C) un tiek izmantoti oksidējoši katalizatori, kā, piemēram, CuO/Pt vai CuO/NiO/Pt [10]. Galvenie elementi no organiskajiem savienojumiem – ogleklis, ūdeņradis un slāpekļis – tiek oksidēti uz gāzēm – CO₂, H₂O un NO_x, kas pēc tam tiek padoti tālāk uz reducēšanās cauruli, kur vara klātbūtnē 500 – 700 °C temperatūrā NO_x tiek reducēts

uz N₂ un atlikušais O₂ tiek aizvākts prom (skābeklis, kas ir veidojies no parauga, nevar tikt analizēts šajā IRMS sistēmā, jo atmosfēras skābeklis izmainītu izotopu attiecību). Pēc reducēšanas tiek aizvadīts ūdens no gāzes plūsmas. Šis solis ir svarīgs, jo ūdens var sākt reaģēt ar gāzēm, kas atrodas jonu avotā (IRMS sistēmā), veidojot dažādu kompozīciju jonus ar konfliktējošām masām attiecībā pret joniem, kas tiek mērīti (parādība pazīstama kā “izobārie traucējumi”) [20]. Piemēram, ūdens var protonēt ¹²CO₂ uz H¹²CO₂⁺ kam ir tāda pati m/z attiecība (45) kā ¹³C¹⁶O₂⁺ smailei. Ūdens aizvadīšana var notikt ar pretplūsmas žāvētāju, kas ir bāzēts uz NafionTM membrānas [21]. Ja tiek noteikts tikai slāpeklis, tad ir jāaizvada CO₂ no gāzes plūsmas, parasti to dara ar kriogēnisko slazdu [22], lai novērstu iespējamus izobāriskos traucējumus ar N₂ jonu avotā (no ¹²C¹⁶O veidošanās).

Pēc tam sausās gāzes no sadedzināšanas sistēmas tiek aizvadītas uz IRMS jonizācijas avotu, kur tās tiek pakļautas elektrontrieciena jonizācijai un detektētas to masas. 1.3. attēlā ir redzams oglekļa un slāpekļa noteikšanas pamatprincips.



1.3. att. Iekārtas shematiskais attēlojums δ¹³C un δ¹⁵N noteikšanai [23, 24]

Kā redzams 1.3. attēlā, sākumā paraugs ar autosamplera palīdzību nonāk sadedzināšanas kamerā, kuras temperatūra ir 1030°C. Šajā kvarca reaktorā notiek degšanas procesi O₂ atmosfērā. Kā aprakstīts iepriekš, degšanas procesā rodas dažādas gāzes – H₂O, CO₂ un NO_x. Tālāk šīs gāzes nokļūst uz reducēšanas kameru, kuras temperatūra ir 650°C. Notiek NO_x reducēšana uz N₂. Šīs reducēšanas reaktors ir pildīts ar ļoti tīru Cu. Izmantojot magnija perhlorātu, notiek ūdens

uztveršana un tas tiek atdalīts no plūstošajām paraugu gāzēm. Pēc tam šīs gāzes tiek ievadītas gāzu hromatogrāfijas kolonnā un atdalītas. Lai nepārslogotu detektoru šīs gāzes pēc iziešanas no kolonnas tiek atšķaidītas ar hēliju. Šādā veidā tiek iegūts līdzīgs signālu stiprums. Jāpiemin, ka vienu no abām gāzēm var arī neatšķaidīt, parasti neatšķaidā N_2 . Pēc tam šīs gāzes pa vienai tiek aizvadītas uz masspektrometru, kur tās tiek jonizētas un tālāk detektētas masas [25, 26].

1.5. IRMS pielietojumi dažādu pārtikas produktu analīzē

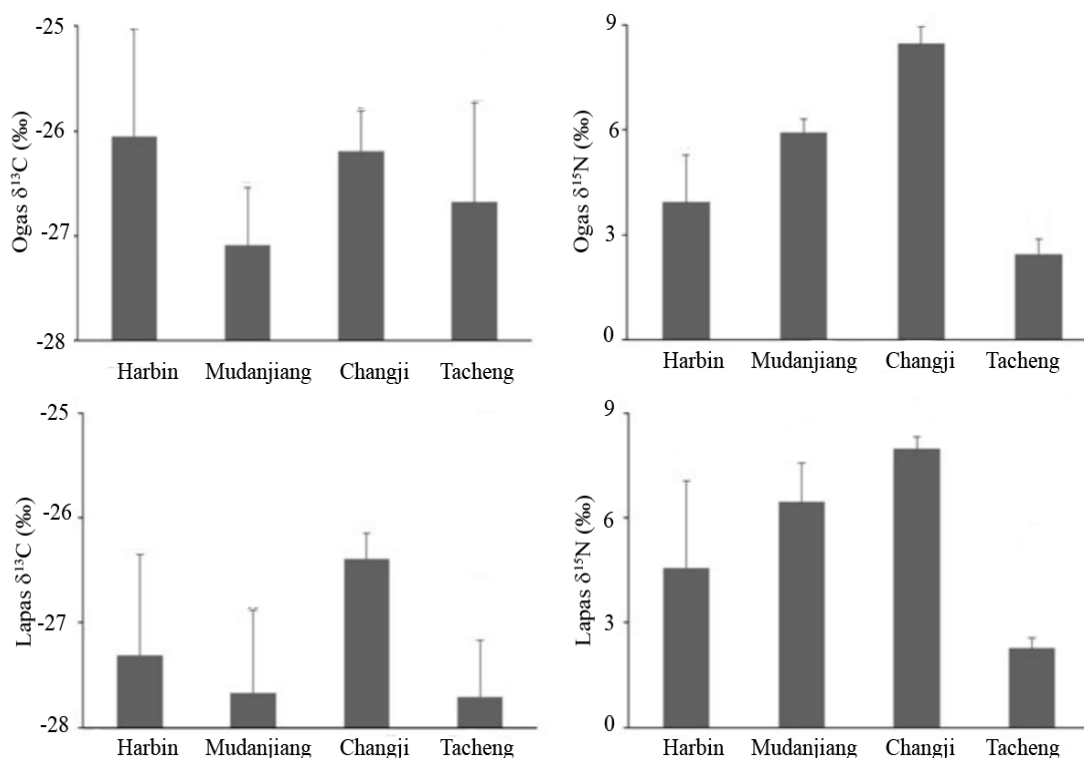
Izotopu attiecības masspektrometrija plaši tiek izmantota dažādu pārtikas produktu izcelsmes pētījumos, kā piemēru var minēt pētījumu, kur tika pārbaudīta upeņu (*Ribes nigrum L.*) izcelsme. Tika ievāktas upeņu ogas, to lapas, kā arī augsne no Ķīnas kultivācijas reģioniem, lai izanalizētu to oglekļa, slāpekļa, ūdeņraža un skābekļa izotopu sastāvu, rezultātā cenšoties iegūt ģeogrāfisko izsekojamību ogām un to sulu koncentrātiem, kā arī iegūtu informāciju par apstākļiem, kādos ir augušas šīs ogas [27].

Ievāktās lapas tika žāvētas žāvskapī ($60^{\circ}C$ temperatūrā) vismaz 48 stundas un tad ar piestu sasmalcinātas līdz pulverim oglekļa un slāpekļa izotopu analīzēm [27]. Ūdens no augsnes un ogām tika kriogēniski atdestilēts [28] un uzglabāts graduētās stikla pudelēs, lai testētu δ^2H un $\delta^{18}O$, kamēr atlikusī organiskā daļa pēc ekstrakcijas tika novirzīta uz $\delta^{13}C$ un $\delta^{15}N$ pētīšanu. Ir ticis pierādīts, ka atdalot ūdeni kriogēniskās destilācijas procesā no augiem un augsnes paraugiem nenotiek izotopu frakcionēšanās [29].

Izotopu mērījumi tika veikti ar IRMS, kas ir sajūgts kopā ar elementu analizatora krāsniņu, Oglekļa un slāpekļa izotopu attiecības tika mērītas ar elementu analizatoru ātrās sadegšanas procesā, kas ir sajūgts ar MS. Ūdens paraugi tika pirolizēti, lai iegūtu H_2 un CO un tad analizēti δ^2H un $\delta^{18}O$ [30]. Gāzes tika transportētas nepārtrauktā plūsmā ar hēliju no pirolīzes reakcijas punkta caur GC atdalīšanas kolonnu līdz jonizācijas avotam uz izotopu attiecības masspektrometru.

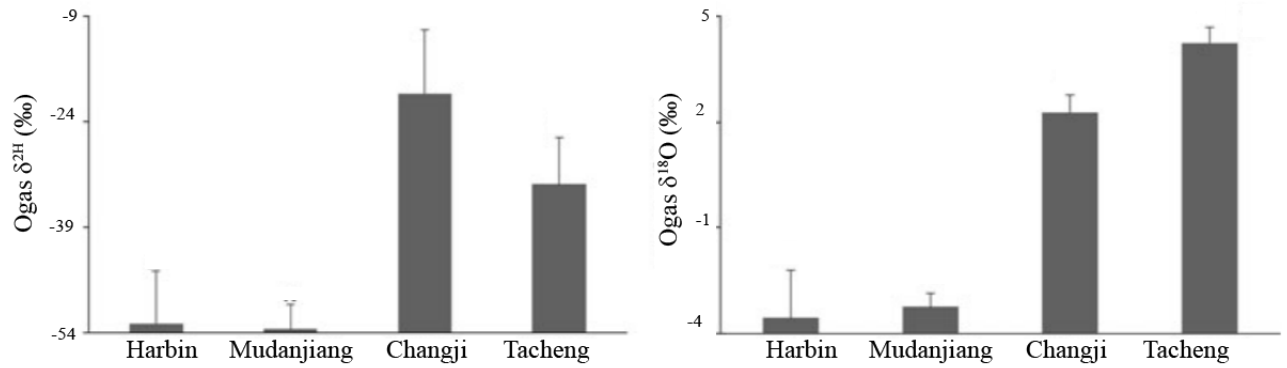
Rezultātā veiktais pētījums pierādīja, ka ir novērotas nozīmīgas slāpekļa izotopu atšķirības ogu organiskajā materiālā, lapās un augsnes virskārtā, kā arī tika novērotas ūdeņraža un skābekļa izotopu attiecības maiņa ūdenī no upenēm un augsnes virskārtas. Oglekļa izotopu attiecība šajā pētījumā nedeva rezultātus par upeņu ģeogrāfisko izcelsmi. Tika novērotas arī pozitīvas slāpekļa izotopa iezīmes korelācija starp upeņu ogām un lapām vai augsnes virskārtu, ņemot šo vērā, izotopu

kompozīcijas upeņu lapās un augsnes virskārtā var būt labi indikatori, lai novērtētu upeņu ogu izotopu kompozīciju, kad tiek pētītā potenciālā ģeogrāfiskā izcelsme upeņu sulu koncentrātiem vai to produktiem. Iegūtie oglekļa un slāpekļa izotopu rezultāti ir redzami 1.4. attēlā [27].



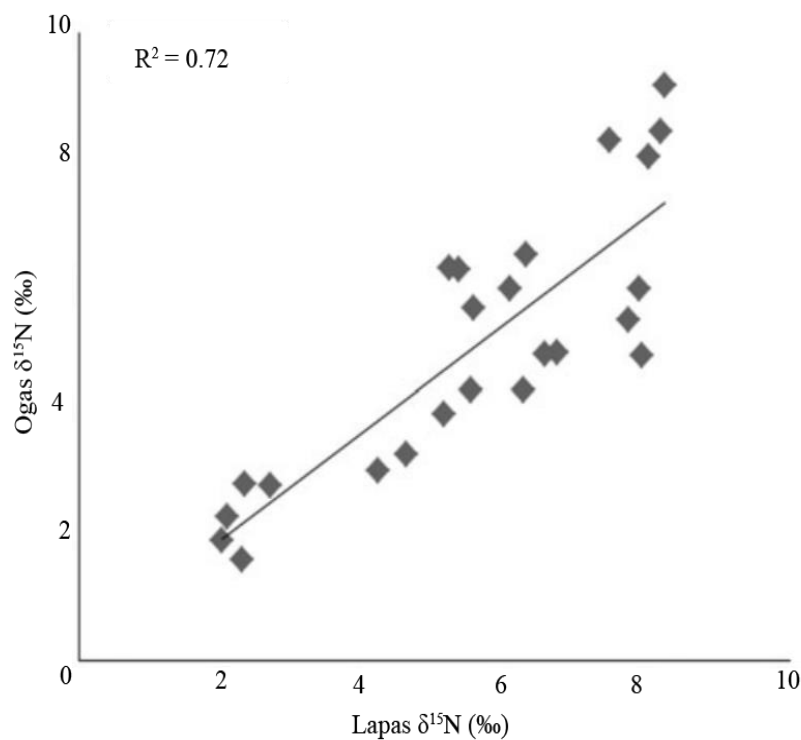
1.4. att. Oglekļa un slāpekļa izotopu iezīmes (vidējās vērtības un standartnovirzes) ogu organiskajā materiālā un lapās no četriem dažādiem Ķīnas reģioniem (p<0,05)

Kā redzams, pietiekami liela atšķirība pētot oglekļa izotopu attiecību upeņu ogās tika novērota starp *Harbin* un *Mudanjiang* reģioniem, kaut gan šie reģioni ir novietoti ļoti tuvu viens otram. Līdzīgi arī oglekļa izotopu attiecība upeņu lapās neatšķirās viena no otras izņemot *Mudanjiang* un *Tacheng* reģionu. Iegūtās ūdeņraža un skābekļa izotopu attiecības ūdenim, kas iegūts no upenēm ir redzamas 1.5. attēlā.



1.5. att. Ūdeņraža un skābekļa izotopu iezīmes (vidējās vērtības un standartnovirzes) ūdenim, kas iegūts no upenēm no četriem dažādiem Ķīnas reģioniem ($p < 0,05$)

Kā redzams 1.4. attēlā ir novērotas salīdzinoši lielas ūdeņraža un skābekļa izotopu savstarpējo attiecību iezīmju izmaiņas, kas ļāvušas pētniekiem no Ķīnas atšķirt upeņu izcelsmi. Slāpekļa izotopu vērtību korelācija ir redzama 1.6. attēlā.



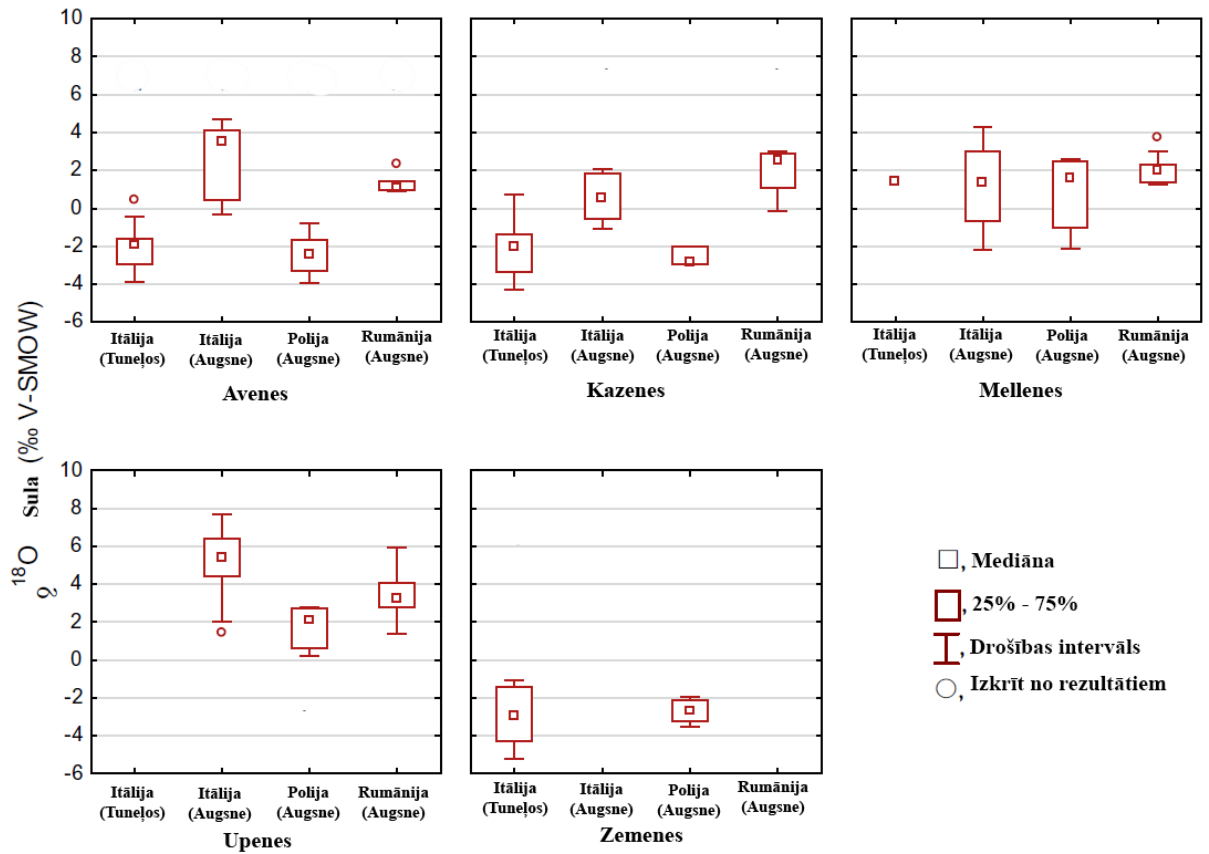
1.6.att. Slāpekļa izotopu korelācija starp upeņu ogām un lapām no četriem dažādiem Ķīnas reģioniem

Apskatot grafiku, kas redzams 1.5.attēlā apstiprinās zinātnieku veiktais secinājums, ka pētot upeņu lapās slāpekļa izotopu attiecību, to var izmantot, lai raksturotu upeņu ogu izotopu kompozīciju, kad tiek pētīta ģeogrāfiskā izcelsme upeņu sulu koncentrātiem vai to produktiem.

Kādā citā pētījumā tika veikti stabilo izotopu pētījumi dažādām no Eiropas nākušām avenēm, kazenēm, mellenēm, upenēm un zemenēm. Kopā tika savākti 190 dažādi šo ogu paraugi, kas ir kultivētas Itālijā, Polijā un Rumānijā. Katram paraugam tika analizēta $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ izotopu attiecība ogu sulas ūdenī, kā arī $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ un $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ izotopu analīze ogu mīkstumā. Noteiktam skaitam paraugu tika arī analizēta $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ izotopu attiecība skābju sāļu ekstraktam no sulas un cukura ekstraktam no sulas, kā arī $(\text{D}/\text{H})_{\text{I}}$, $(\text{D}/\text{H})_{\text{II}}$ un $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ etanolam, kas tika iegūts fermentācijas un destilācijas procesos [31].

Ogas tika samaltas un izspiesta to sula. Zemeņu sula tika nofiltrēta, lai atbrīvotos no sēkliņām. Pēc tam tika veikta centrifugēšana, lai atdalītu mīkstumu no sulas. Iegūtajai sulai tika pievienots 50% kalcija hlorīda šķīdums un pH noregulēts uz 8,5-9 ar 25% amonjaka ūdens šķīdumu [31]. Mīkstūra tika karsēta, līdz nogulsnējās organisko skābju sāļi un tie tika atdalīti ar centrifugēšanu. Nogulsnes tika mazgātas ar acetonu un žāvētas vakuumā pirms tiek ievadītas sadedzināšanas kamerā [32]. Sulas tika fermentētas ar *Saccaromices cerevisiae* raugu. Tika pievienots aptuveni 200 mL ūdens un tad veikta fermentācija stikla pudelēs ar plastmasas korķiem, lai būtu anaerobi apstākļi. Paraugi pēc tam tika destilēti, lai iegūtu etanolu, kas tālāk tika pārbaudīts ar SNIF–NMR analīzi. Pārējie paraugi tika analizēti ar IRMS.

Iegūtie rezultāti parādīja, ka visas ogas ietilpa vienā vai vairākos tipiskajos izotopu diapazona parametros, piemēram, paaugstināts $\delta^{18}\text{O}$ (skatīt 1.7. attēlu) un samazināta $\delta^{13}\text{C}$ vērtība upeņu mīkstumos vai arī samazināta $(\text{D}/\text{H})_{\text{I}}$ vērtība no zemenēm iegūtam etanolam (skatīt 1.8. attēlu) [31].



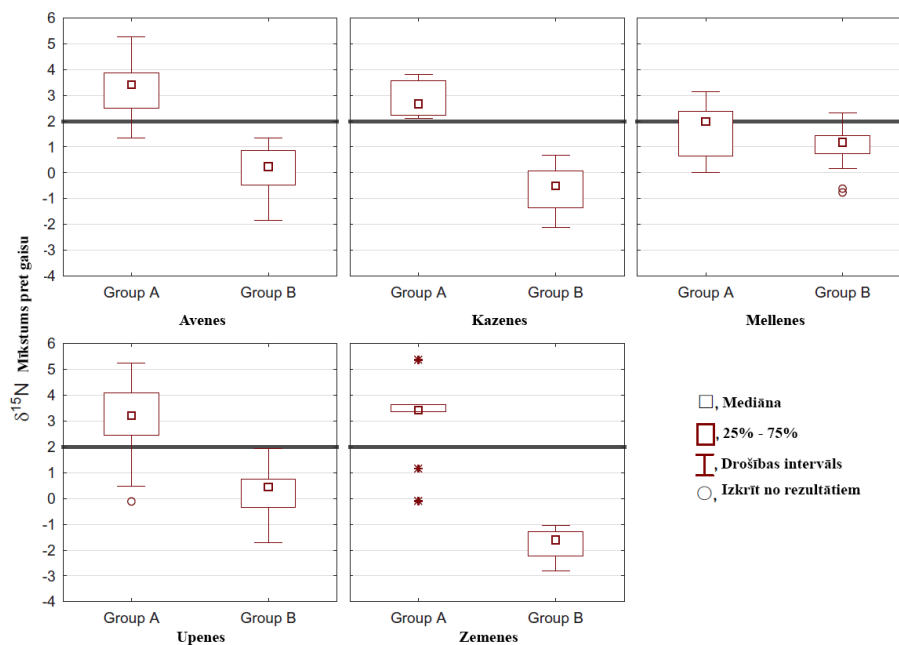
1.7. att. Skābekļa izotopa iezīmes ogu sulās attiecībā pret V-SMOW standartu

1.7. attēlā ir redzamas dažādas $\delta^{18}\text{O}$ kompozīcijas. Pētnieki ir salīdzinājuši ogas savā starpā arī pēc audzēšanas tehnikas, respektīvi, audzētas tuneļos vai augsnē, kas dod ievērojamas atšķirības ogām, kas nākušas no vienas un tās pašas valsts.

Ogu veids		$\delta^{13}\text{C}$ mīkstums (‰ pret V-PDB)	$\delta^{13}\text{C}$ cukurs (‰ pret V-PDB)	$\delta^{13}\text{C}$ skābe (‰ pret V-PDB)	(D/H) _I etanols (ppm)	(D/H) _{II} etanols (ppm)	$\delta^{13}\text{C}$ etanols (‰ pret V-PDB)
Zemenes	vidējā vērtība	-24.4	-25.1	-24.9	80.6	123.2	-26.8
	standartnovirze	0.9	1.3	0.9	27.9	1.5	0.9
	paraugu skaits	13	3	3	10	8	8
Avenes	vidējā vērtība	-24.7	-24.8	-24.6	94.6	125.8	-26.4
	standartnovirze	1.0	1.0	1.2	2.2	2.6	1.1
	paraugu skaits	41	14	12	11	11	14
Kazenes	vidējā vērtība	-25.1	-23.5	-23.2	95.0	125.8	-22.5
	standartnovirze	1.7	1.5	1.5	1.7	2.0	13.1
	paraugu skaits	36	12	8	17	17	16
Mellenes	vidējā vērtība	-24.5	-24.6	-24.2	96.3	123.1	-26.9
	standartnovirze	0.9	1.1	1.2	2.2	2.1	1.2
	paraugu skaits	23	12	10	13	13	15
Ērkšogas	vidējā vērtība	-26.9	-24.9	-25.1	97.7	126.4	-26.4
	standartnovirze	0.8	0.6	0.4	0.9	2.6	0.8
	paraugu skaits	18	10	10	11	11	14
Upenes	vidējā vērtība	-26.6	-25.2	-25.2	97.1	125.7	-26.6
	standartnovirze	0.6	0.4	0.6	1.1	2.3	0.7
	paraugu skaits	23	12	11	15	15	15
Jānogas	vidējā vērtība	-26.9	-24.4	-24.5	97.5	124.7	-26.0
	standartnovirze	1.2	1.1	1.3	1.5	2.5	1.1
	paraugu skaits	16	13	10	15	15	16

1.8. att. Eksperimentāli iegūtās vērtības un standartnovirzes izotopa $\delta^{13}\text{C}$ kompozīcijā ogu mīkstumā, no tām iegūtā cukurā, skābē un fermentācijas rezultātā iegūtajā etanolā

Atkarībā no pielietotā mēslojuma veida ir iespējams iegūt informāciju par $\delta^{15}\text{N}$ izotopu attiecību. 1.9. attēlā ir parādītas $\delta^{15}\text{N}$ vērtības divām grupām, kur A grupā tiek izmantots organiskais mēslojums (Polija, Rumānija un Itālija) un B grupa, kur tiek izmantots minerālmēslojums (Itālija). No šiem datiem var secināt par to, kādos apstākļos ir iegūtas ogas.



1.9. att. Iegūtie rezultāti par $\delta^{15}\text{N}$ vērtībām atkarībā no mēslojuma veida. Līnija pie 2‰ norāda uz zemāko robežvērtību organiskajam mēslojumam

Pētnieku grupa no Slovēnijas ir pētījuši izotopisko un elementu sastāvu slovēņu ābolu sulās. Šajā pētījumā tika izmantots IRMS kopā ar citām analīzes metodēm, kā elementu analīze, NMR un GC, kā arī ICP-MS (induktīvi saistītās plazmas masspektrometrija) un TXRF (pilnīgi atstarotā rentgenfluorescence), lai iegūtu informāciju par ģeogrāfisko izcelsmi šīm sulām [33].

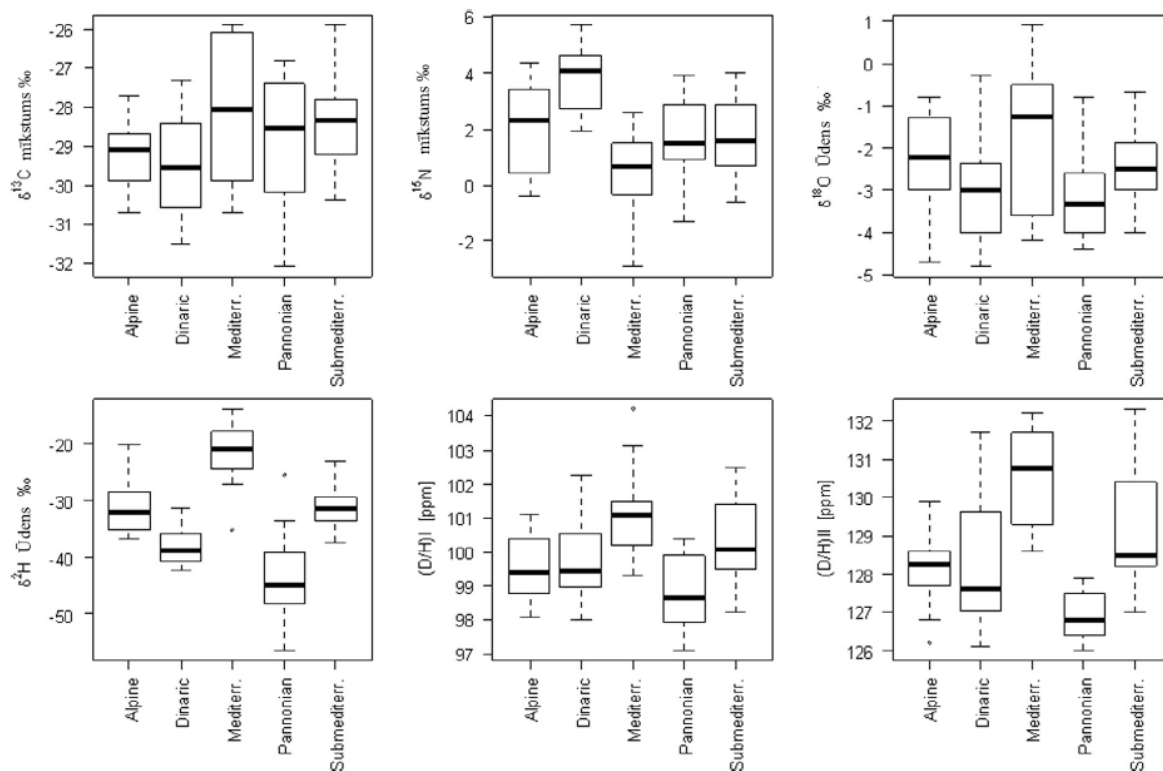
Tika ievāktas 3 dažādas ābolu šķirnes – *Idared*, *Golden Delicious* un *Topaz*. Pēc ābolu ievākšanas 3-4 āboli tika nomazgāti, nomizoti un izspiesta to sula izmantojot mājsaimniecībā pieejamu sulas spiedi, lai iegūtu svaigu ābolu sulu. Izotopu analīzes paraugi tika sagatavoti tieši pirms pašas analīzes, bet elementu analīzei paraugi tika sasaldēti līdz izmantošanas brīdim.

Oglekļa $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ izotopu attiecība tika mērīta mīkstumā, cukurā un etanolā un salīdzināti pret V-PDB, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ izotopi tika mērīti mīkstumā un salīdzināti pret gaisu, ūdeņraža $^2\text{H}/^1\text{H}$ un skābekļa $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ tika pētīti ābolu sulas ūdenim un salīdzināti pret VSMOW [33].

Tāpat, kā ar ogām aprakstīts iepriekš, ābolu paraugi tika sagatavoti ļoti līdzīgi. Analizējot $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ izotopu attiecības ābola mīkstumā un cukurā un $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ izotopu attiecības ābola mīkstumā, pats mīkstums no sulas tika atdalīts centrifugējot. Pēc tam atdalītais centrifugāts (mīkstums) tika mazgāts ar ūdeni un pēc tam ar acetonu un tad izžāvēts. Sausie paraugi tika homogenizēti un tad ievietoti alvas kapsulās, lai mērītu izotopu attiecības [34]. Cukurs tika atdalīts no centrifugāta kā aprakstīts metodē [35]. Cukura pārvēršana etanolā notika fermentācijas procesā izmantojot *Saccharomyces bayanus* raugu. Tāpat kā ogu gadījumā, tika ieregulēti anaerobi apstākļi. Paraugi tika glabāti stikla traukos ar plastmasas korķiem. Iegūtais šķīdums tika nodestilēts un iegūts etanols analīzēm [33].

Tika noskaidrots, ka $\delta^2\text{H}$ izotopu daudzumi korelējas ar attālumu no jūras, kur auguši āboli, respektīvi, palielinoties distancei no jūrās rezultātā samazinās $\delta^2\text{H}$ daudzumi, kas apstiprinās arī citos zinātnieku eksperimentos [36, 37]. Runājot par $\delta^{18}\text{O}$ daudzumiem, tika noskaidrots, ka laikapstākļi, ūdens pieejamība un ābolu novākšanas laiks kritiski ietekmē $\delta^{18}\text{O}$, kā arī $\delta^2\text{H}$ daudzumus ābolu sulā atrodamajam ūdenim, tādējādi bija iespēja atšķirt dažādu ābolu šķirņu izcelsmes vietas. Apskatot $(\text{D}/\text{H})_{\text{I}}$ un $(\text{D}/\text{H})_{\text{II}}$ daudzumus, šī pētnieku grupa tikai daļēji varēja nošķirt ābolu izcelsmes vietas. Izmantojot $\delta^{13}\text{C}$ daudzumu ābola mīkstumā bija iespējams noteikt izcelsmes vietas analizētajiem āboliem, kā arī pierādījās fakts, ka lielāki daudzumi $\delta^{13}\text{C}$ ir cukurā, kas iegūts no āboliem un vismazākais $\delta^{13}\text{C}$ daudzums bija augļa mīkstumā. Iegūtie $\delta^{15}\text{N}$ daudzumi nedeva rezultātus par ābolu izcelsmes vietu, kā arī sakombinējot datus par $\delta^{13}\text{C}$ un $\delta^{15}\text{N}$ tie savā

starpā pārklājās un nebija izmantojami, lai noteiktu ābolu augšanas reģionu. Grafiski iegūtie rezultāti ir redzami 1.10. attēlā. [33].



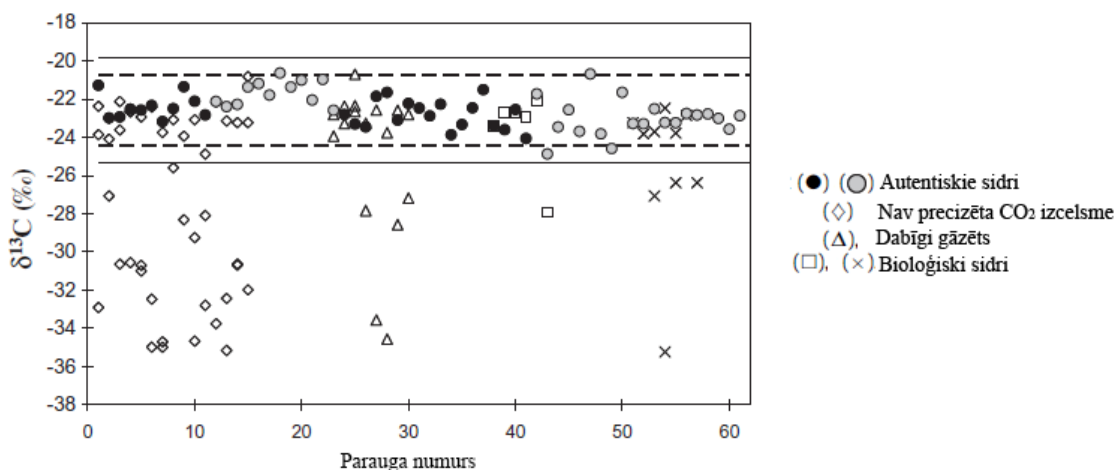
1.10. att. Izotopu parametri atkarībā no ābolu sulas kultivācijas reģiona

Izotopu attiecību var pētīt ne tikai tieši dažādos augļos vai ogās, bet arī no tiem ražotos produktos un dzērienos, piemēram, vīnā vai sidros. Kāda zinātnieku grupa no Francijas ir pētījuši CO_2 burbuļus dažādos franču izcelsmes ābolu sidros. Šis pētījums tika veikts ar mērķi, lai pārbaudītu, vai šajos sidros CO_2 burbulīši ir radušies *in situ* cukura fermentācijas procesā vai arī tie ir uzgāzēti eksogēni izmantojot saspiestu CO_2 . Dažos Francijas reģionos ir aizliegta eksogēna sidru uzgāzēšana izmantojot saspiestu CO_2 , kā arī ābolu sidri kuri tiek marķēti kā dabīgi gāzēti tiek asociēti ar augstāku kvalitāti un tādējādi arī ar augstāku cenu [38].

Šajā pētījumā tika izmantota *MultiFlow® - IRMS* sistēma. Tika analizēti 61 dažādi sidri, kas ir iegūti no fermentētām autentiskām ābolu sulām, kā arī 75 dažādi komerciāli pieejami sidri (10 bioloģiski, 23 dabīgi gāzēti, 42 bez specififikācijas). Sidru pudeles tika glabātas diennakti 4°C grādu temperatūrā, jo CO_2 šķīdība palielinās pazeminātās temperatūrās. Pēc pudeļu atvēršanas dzērienus var sadalīt mazos flakonos, kuri tiek hermētiski aiztaisīti, ja paraugi ir nepieciešami vēlākām analizēm. Pēc tam tiek paņemts 0,2 mL liels sidra daudzums un ieliets 3,7 mL flakonā, kas tiek

aiztaisīts ar Teflona vai silikona septes korķi. Šis flakons tiek 10 minūtes turēts istabas temperatūrā ultraskaņas vannā, lai notiktu piespiedu degazācija. Pēc tam šie flakoni tiek ievietoti *Multiflow*® traukā gāzu analīzei. Iekārta ir aprīkota ar automātisku paraugu paņemšanu, kur pēc tam paraugs tiek pārvietots uz GC. Iegūtā CO₂ gāzes plūsma aiziet uz *Nafion*® kolonnu, lai tā tiktu izžāvēta. No nevēlamajiem savienojumiem (lielākoties spirti) atbrīvojas, tos izvadot ārā no sistēmas. Šī sistēma pēc tam ir savienota ar IRMS, kur notiek izotopu analīze [38]. Zinot to, ka δ¹³C izotopu attiecība oglekļa dioksīda burbulīšos no C₃ augiem cukura fermentācijas rezultātā ir intervālā no -26‰ līdz -17‰ [39, 40] un oglekļa dioksīda izotopu attiecība, kas tiek izmantots eksogēnai uzgāzēšanai un kas nāk vai nu no karbonātu sedimentiem ir -14 < δ¹³C < +1 ‰ vai nu no dažādu dabīgu gāzu sadedzināšanas ir -75 < δ¹³C < -22‰ [10, 41, 42], šo informāciju var izmantot, lai konstatētu viltojumus dažādos ābolu sidros.

Pētījuma rezultātā tika iegūti dati (skat. 1.11. attēlu), kas liecināja, ka 6 no sidriem, kas tika marķēti kā dabīgi gāzēti, 4 sidri, kas marķēti kā organiski sidri un 21 sidrs, kas bija bez specifiskācijas izteikti izkrīt ārpus noteiktajām normām (kas atbilst dabīgi gāzētam sidram) un raisa aizdomas par eksogēnu uzgāzēšanu [38].



1.11. att. Oglekļa dioksīda ¹³C/¹²C izotopu attiecības dažādos autentiskos un komerciālos sidros

Visu apskatīto rezultātu kopsavilkums redzams 1.2. tabulā. Apkopotajos datos ir iekļauti tikai rezultāti par ogās un augļos atrodamajām izotopu kompozīcijām. Kā redzams tabulas datos, izotopu sastāvs dažādos augļos un ogās atšķiras no to kultivācijas vietas, kā arī kādā veidā tie tiek apstrādāti un audzēti. Liela nozīme ir arī paraugu sagatavošanai, lai iegūtu ticamus un drošus datus, kā arī izslēgtu frakcionēšanās nelabvēlīgās sekas uz pētāmajiem paraugiem.

Apskatīto rezultātu kopsavilkums

Paraugs	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^2\text{H}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)
Upenes (Ķīna, Harbin)	-26,1	4	-50	-3,8
Upenes (Ķīna, Mudanjiang)	-27,2	6	-53	-3,4
Upenes (Ķīna, Changji)	-26,3	8	-21	2
Upenes (Ķīna, Tacheng)	-26,6	2	-32	4
Avenes (Itālija, audzētas tuneļos)	-24,7 (mīkstumā)	3,5 (organiskais mēslojums)	x	-2,1
Avenes (Itālija, audzētas augsnē)			x	3,8
Avenes (Polija, audzētas augsnē)			x	-2,4
Avenes (Rumānija, audzētas augsnē)			x	1,7
Kazenes (Itālija, audzētas tuneļos)	-25,1 (mīkstumā)	2,5 (organiskais mēslojums)	x	-2
Kazenes (Itālija, audzētas augsnē)			x	0,9
Kazenes (Polija, audzētas augsnē)			x	-2,6
Kazenes (Rumānija, audzētas augsnē)			x	2,4
Mellenes (Itālija, audzētas tuneļos)	-24,5 (mīkstumā)	2,0 (organiskais mēslojums)	x	1,8
Mellenes (Itālija, audzētas augsnē)			x	1,7
Mellenes (Polija, audzētas augsnē)			x	1,8
Mellenes (Rumānija, audzētas augsnē)			x	2,0
Upenes (Itālija, audzētas augsnē)	-26,6 (mīkstumā)	3,2 (organiskais mēslojums)	x	5,7
Upenes (Polija, audzētas augsnē)			x	2,1
Upenes (Rumānija, audzētas augsnē)			x	3,3
Zemenes (Itālija, audzētas tuneļos)	-24,4 (mīkstumā)	3,3 (organiskais mēslojums)	x	-3,0

1.2. tabulas turpinājums

Paraugs	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^2\text{H}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)
Zemes (Polija, audzētas augsnē)	-24,4 (mīkstumā)	3,3 (organiskais mēslojums)	x	-2,9
Ābolu sula (Slovēnija, <i>Alpine</i>)	-29,1	2,2	-32	-2,2
Ābolu sula (Slovēnija, <i>Dinaric</i>)	-29,6	4,0	-39	-3,0
Ābolu sula (Slovēnija, <i>Mediterr.</i>)	-28,2	0,9	-22	-1,3
Ābolu sula (Slovēnija, <i>Pannonian</i>)	-28,5	1,3	-46	-3,4
Ābolu sula (Slovēnija, <i>Submediterr.</i>)	-28,4	1,3	-32	-2,6

x – šim izotopam analīzes netika veiktas

Šajā brīdī aktualizējoties pārtikas izsekojamības nozīmei vēl nav izstrādātas kopējas datu bāzes, kur tiek uzkrāta informācija par dažādas izcelsmes produktiem, bet tiek likti pamati to izveidei un popularizēšanai [43].

2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1. Izmantotie materiāli

- Laboratorijas standarts L-glutamīnskābe, 98,5-100,5%; Ražotājs: *Sigma-Aldrich*.
- O₂, instrumentu skābeklis. Izplatītājs: AGA.
- Nesējgāze He, 99,994%; Izplatītājs: AGA.
- References gāze N₂, 99,999%; Izplatītājs: AGA.
- References gāze CO₂, 99,999%; Izplatītājs: AGA.

2.2. Izmantotās iekārtas un piederumi

- Nepārtrauktās plūsmas IRMS *Nu Horizon*; Ražotājs: Nu Instruments, UK
- Elementanalizators *EuroEA3024*; Ražotājs: *EuroVector*.
- Datorprogramma: *Horizon Stable Gas Control Software*, versija 1.69.4.
- Alvas kapsulas 3,5x5 mm; Ražotājs: *EuroVector*.
- Analītiskie svāri *BOECO Germany*, ±0,01 mg. max 210 g.
- Žāvskapis. Ražotājs: Memmert. $t_{\max} = 220$ °C, precizitāte ±0,5 °C.

2.3. Paraugu sagatavošana analīzēm

- 1) Ābolus nomazgāja ar dejonizētu ūdeni.
- 2) Uzmanīgi nomizoja ābolu, pēc iespējas mazāk aizskarot mīkstumu.
- 3) Ābolu mīkstumu rūpīgi sagrieza mazos gabalos.
- 4) Ābolu sēklas tika atdalītas no pārējā ābola un nolobītas.
- 5) Visas ābolu komponentes tika uzliktas uz atsevišķiem petri trauciņiem un karsētas žāvskapī režīmā: 40°C 2 stundas, 50°C 24 stundas, 60°C 24 stundas. Daļa no ābolu komponentēm tika liofilizētas.
- 6) Pēc karsēšanas (vai izsaldēšanas) paraugi tika homogenizēti.

2.4. Analizējamo paraugu apraksts

Stabils vieglo izotopu analīzēm tika izmantoti vienas šķirnes āboli no dažādām valstīm. Pirmā šķirne ir *Royal Gala*, kur tika analizēti āboli no Itālijas (1. un 2. klase), Čīles un Polijas. Otrā šķirne ir *Golden Delicious*, kur tika analizēti āboli no Itālijas un Polijas. Tika ievākti arī

dažādu ābolu šķirņu paraugi no Latvijas, tajās ietilpa *Liberty* no Pūres dārziem, *Zarja Alatau* un *Antejs* no Ugāles (“Gāgas āboli”) un 11 dažādas šķirnes no Dobeles dārzkopības institūta, kurās ietilpa – *Zarja Alatau*, *Auksis*, *Alwa*, *Aļesja*, *Belorusskoje Maļinovoje*, *Ligol*, *Spartan*, *Diyament*, *Daina*, *Delbarestival* un *Angold*.

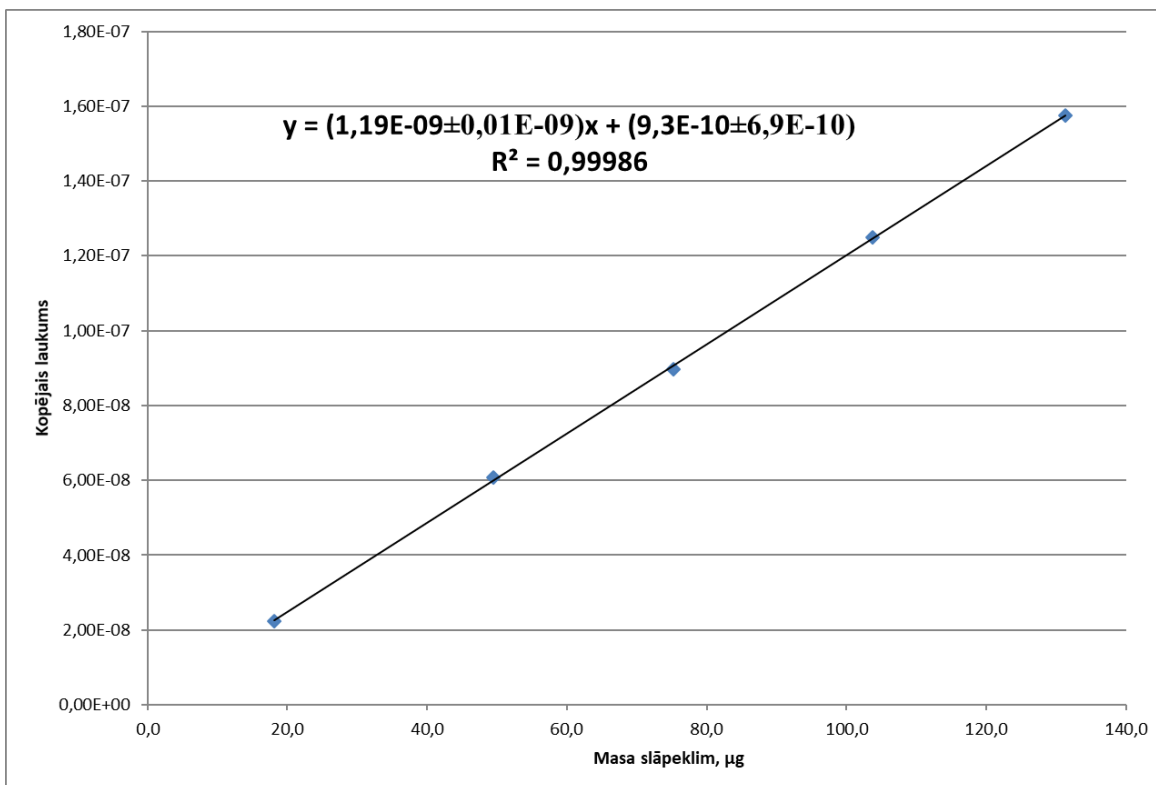
Ābolu izvēle analīzēm bija atkarīga no tirgū pieejamo šķirņu daudzveidības, popularitātes un valstu skaita.

2.5. Paraugu analīze ar izotopu attiecības masspektrometru

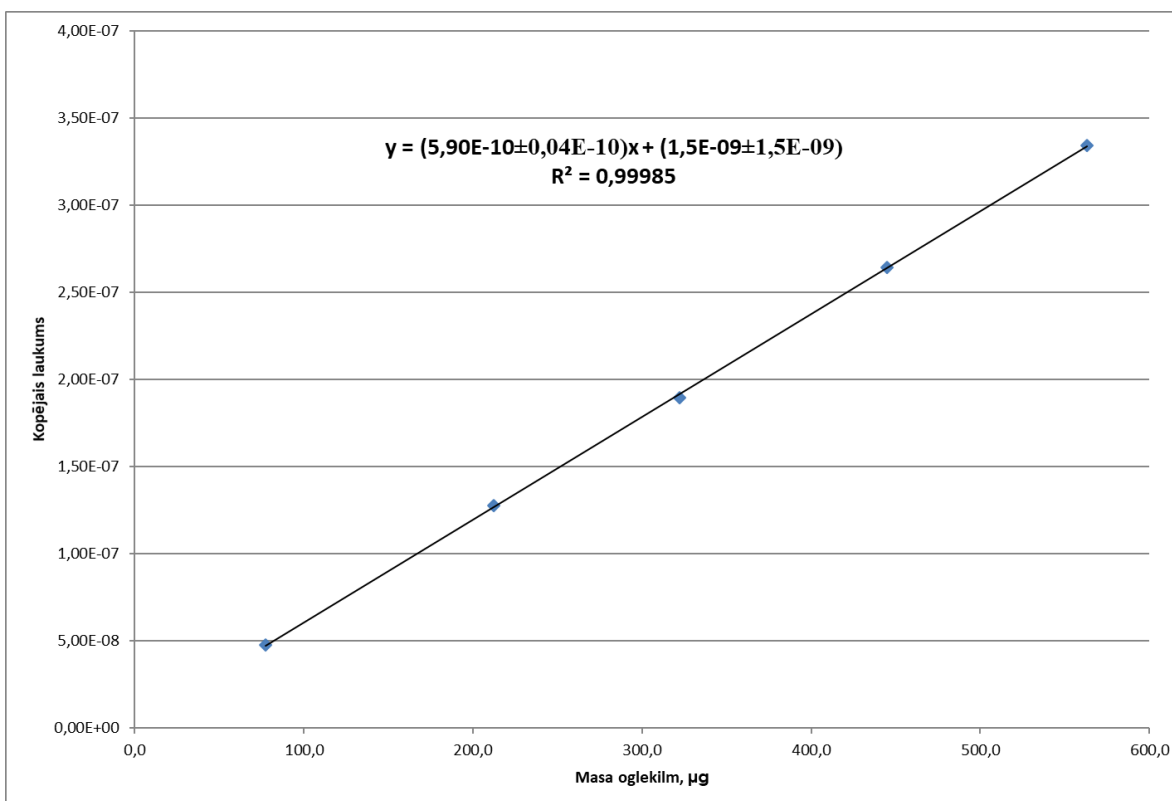
Pirms analīzes uzsākšanas tika sagatavoti 3 tukšie paraugi, tika sapresētas tukšas alvas kapsulas, veidojot nelielu lodīti. Pēc tam iesvēra laboratorijas iekšējo standartu L-glutamīnskābi 5 dažādos iesvaros, lai izveidotu kalibrēšanas līkni (paraugu masas aptuveni 0,150; 0,500; 0,800; 1,000 un 1,350 mg). Pēc tam katrs ābola paraugs tiek iesvērts alvas kapsulā (aptuveni 1,000 mg ar precizitāti $\pm 0,150$ mg). Lai iegūtu rezultātu ticamību tiek veikti 2 paralēli iesvari. Ik pēc 10 paraugiem tika veikta laboratorijas standarta analīze, lai pārliecinātos par iegūto rezultātu ticamību un atbilstību.

Paraugi tika ievadīti ar autosamplera palīdzību, kur tie nonāca sadedzināšanas kamerā, kuras temperatūra ir 1030°C, kur notika sadegšana skābekļa klātbūtnē. Tālāk izejošās gāzes nonāca reducēšanas krāsnī, kuras temperatūra ir 650°C. Radušās gāzes no slāpekļa (NO_x) tika reducētas līdz N_2 . Izmantojot $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ tika saistīts ūdens. Sausās gāzes ar nesējgāzi He (ātrums 115 mL/min) nonāca gāzu hromatogrāfijas kolonnā (125°C), kur tās tika atdalītas un aizvadītas uz masspektrometra jonizācijas kameru. Pirms gāzu ievadīšanas CO_2 tika atšķaidīts 5 reizes ar He, bet N_2 tika ievadīts bet atšķaidīšanas. Iegūtie rezultāti ogleklim tika izteikti pret V-PDB kā primāro standartu, bet slāpeklim pret atmosfēras gaisu.

Lai iegūtu informāciju par kopējo slāpekļa un oglekļa procentuālo saturu ābolu mizās, sēklās un mīkstumā tika uzņemtas kalibrēšanas taisnes, izmantojot glutamīnskābi kā standartu, kur slāpekļa kalibrēšanas taisne ir redzama 2.1. attēlā un oglekļa kalibrēšanas taisne ir redzama 2.2. attēlā. 2.1. tabulā ir redzami paraugi un to atšifrējumi, kas ir doti pielikumos.



2.1. att. Kalibrēšanas taisne kopējā oglekļa noteikšanai



2.2. att. Kalibrēšanas taisne kopējā oglekļa noteikšanai

Paraugi un to atšifrējumi

Paraugs	Atšifrējums
Glu-A, Glut-A, Glutamic	Glutamīnskābe
Saharoze	Saharoze
It1s1, It1s2	Royal gala, Itālija, 1.klase, sēklas
It1m1, It1m2	Royal gala, Itālija, 1.klase, miza
It1mk1, It1mk2	Royal gala, Itālija, 1.klase, mīkstums
It2s1, It2s2	Royal gala, Itālija, 2.klase, sēklas
It2m1, It2m2	Royal gala, Itālija, 2.klase, miza
It2mk1, It2mk2	Royal gala, Itālija, 2.klase, mīkstums
Pl1s1, Pl1s2, GalaPol sekla 1, Gala Pol sekla 2	Royal gala, Polija, sēklas
Pl1m1, Pl1m2	Royal gala, Polija, miza
Pl1mk1, Pl1mk2	Royal gala, Polija, mīkstums
C1s1, C1s2, Gala Chile 1, Gala Chile 2	Royal gala, Čīle, sēklas
C1m1, C1m2	Royal gala, Čīle, miza
C1mk1, C1mk2	Royal gala, Čīle, mīkstums
Golden Pol1, Golden Pol2, Golden Pol sekla 1, Golden Pol sekla 2	Golden delicious, Polija, sēklas
Golden Ita1, Golden Ita2	Golden delicious, Itālija, sēklas
Gala Ita 1, Gala Ita 2, Gala Ita sekla 1, Gala Ita sekla 2	Royal gala, Itālija, sēklas
Gala Pol 1, Gala Pol 2, Pol zav Gala 1, Pol zav Gala 2	Royal gala, Polija, sēklas
Liberty LV 1, Liberty LV 2, Liberty LV zav 1, Liberty LV zav 2	Liberty, Latvija, sēklas
Zarja Alatau, Dzelt LV zav 1, Dzelt LV zav 2	Zarja Alatau, Latvija, sēklas (" Gāgas āboli")
Antejs, LV zav sark 1, LV zav sark 2	Antejs, Latvija, sēklas (" Gāgas āboli")
12 spartan A 1, 12 spartan A 2, 12 spartan b 1, 12 spartan b2, 12 spartan c 1, 12 spartan c2	Spartan, Latvija, sēklas
11 diyament A 1, 11 diyament A2, 11 diyament b 1, 11 diyament b 2, 11 diyament c 1, 11 diyament c 2	Diyament, Latvija, sēklas
10 daina a 1, 10 daina a 2, 10 daina b, 10 daina c 1, 10 daina c 2	Daina, Latvija, sēklas
9 auksis a 1, 9 auksis a 2, 9 auksis b, 9 auksis c 1, 9 auksis c 2	Auksis, Latvija, sēklas
8 delbarestival a 1, 8 delbarestival a 2, 8 delbarestival b 1, 8 delbarestival b 2, 8 delbarestival c 1, 8 delbarestival c 2	Delbarestival, Latvija, sēklas
7 ligol a 1, 7 ligol a 2, 7 ligol b 1, 7 ligol b 2, 7 ligol c 1, 7 ligol c 2	Ligol, Latvija, sēklas
6-alesja a 1, 6-alesja a 2, 6-alesja b 1, 6-alesja b 2, 6-alesja c 1, 6-alesja c 2	Alesja, Latvija, sēklas
5 alwa a 1, 5 alwa a 2, 5 alwa b 1, 5 alwa b 2, 5 alwa c 1, 5 alwa c 2	Alwa, Latvija, sēklas

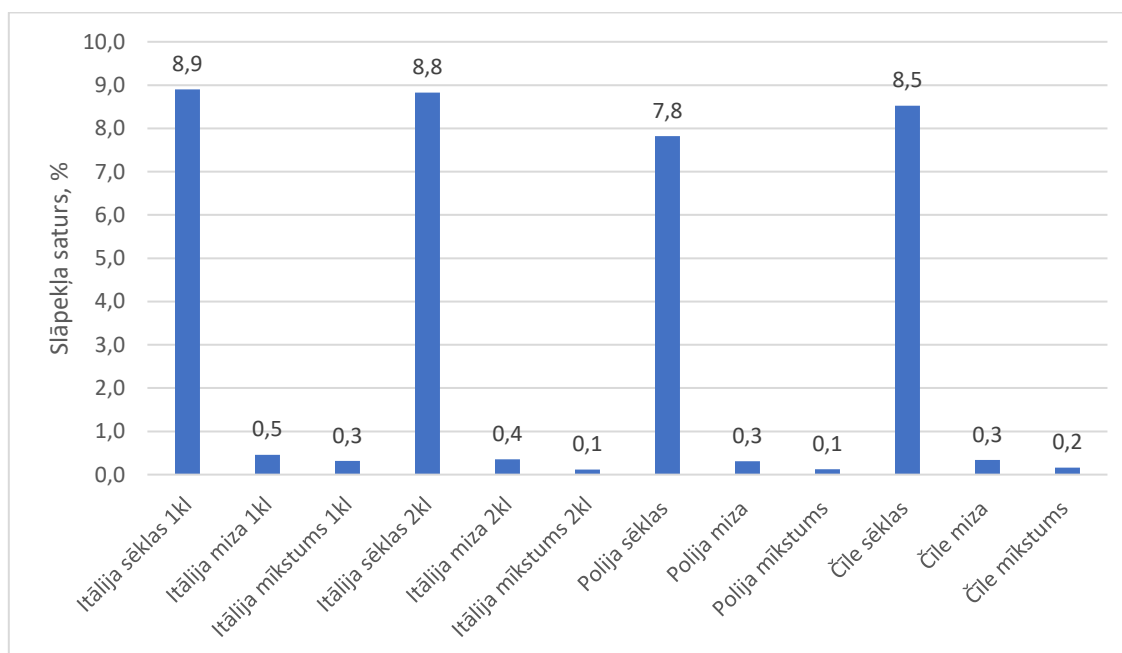
2.1. tabulas turpinājums

4 belmal a 1, 4 belmal a 2, 4 belmol b 1, 4 belmol b 2, 4 belmol c 1, 4 belmol c 2	<i>Beloruskoje Maļinovoje</i> , Latvija, sēklas
3 zarjaalatau a 1, 3 zarjaalatau a 2, 3 zarjaalatau b 1, 3 zarjaalatau b 2, 3 zarjaalatau c 1, 3 zarjaalatau c 2	<i>Zarja Alatau</i> , Latvija, sēklas
2 angold a 1, 2 angold a 2, 2 angold b 1, 2 angold b 2, 2 angold c	<i>Angold</i> , Latvija, sēklas

3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

Paraugi tika sagatavoti un analizēti pēc metodēm, kas aprakstītas eksperimentālajā sadaļā. Visi iegūtie izejošie dati par $\delta^{15}\text{N}$ un $\delta^{13}\text{C}$ ābolu šķirnes *Royal Gala* paraugiem ir redzami 1., 2. un 3. pielikumā. Izejošie dati par $\delta^{18}\text{O}$ ābolu šķirnēm *Royal Gala*, *Golden Delicious*, *Liberty*, *Antejs* (“Gāgas āboli”) un *Zarja Alatau* (“Gāgas āboli”) ir redzami 4.pielikumā.

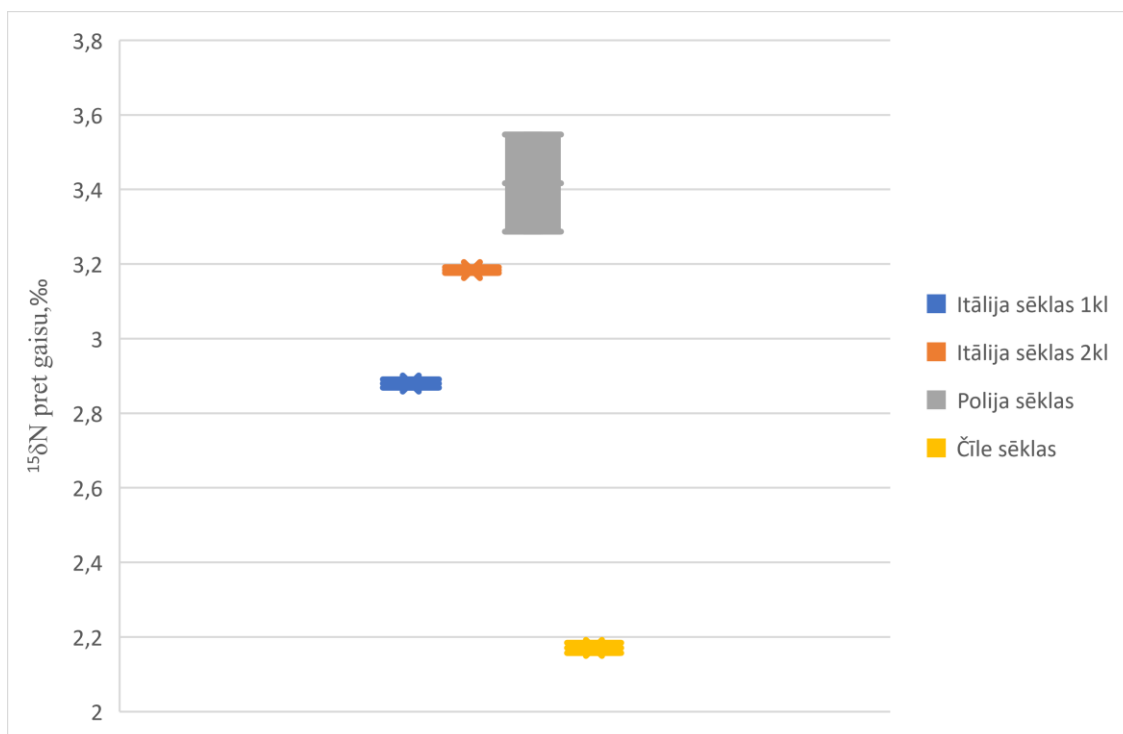
Attiecīgi no iegūtajiem kalibrēšanas vienādojumiem (2.1. un 2.2. att.) tika aprēķināts kopējais slāpekļa un oglekļa saturs katrā paraugā ābolu šķirnei *Royal Gala* (skat.3.pielikumu). Iegūtie rezultāti par kopējo slāpekļa saturu ābolos to sēklās, mīkstumā un mizā ir redzami 3.1. attēlā.



3.1. att. Kopējais vidējais procentuālais slāpekļa sastāvs ābolos no Itālijas (1. un 2.klase), Polijas un Čiles dažādās ābolu daļās (sēklas, miza un mīkstums), šķirne *Royal Gala*, n=2.

Kā redzams 3.1. attēlā, tad vislielākais slāpekļa daudzums ir atrodams tieši ābolu sēklās. Visbiežāk slāpekļa izotopa rezultāti tiek izmantoti, lai sniegtu informāciju par to kā ābols ir audzēts t.i. kāds mēslojums ir ticis izmantots to audzēšanā. Salīdzinot iegūtos slāpekļa sēklu rezultātus starp paraugiem no citām valstīm ir redzamas nelielas atšķirības. Slāpekļa daudzumi ābolu mizās un mīkstumos ir relatīvi zemi. Informāciju par slāpekļa daudzumu var izmantot tikai sēklu raksturošanai.

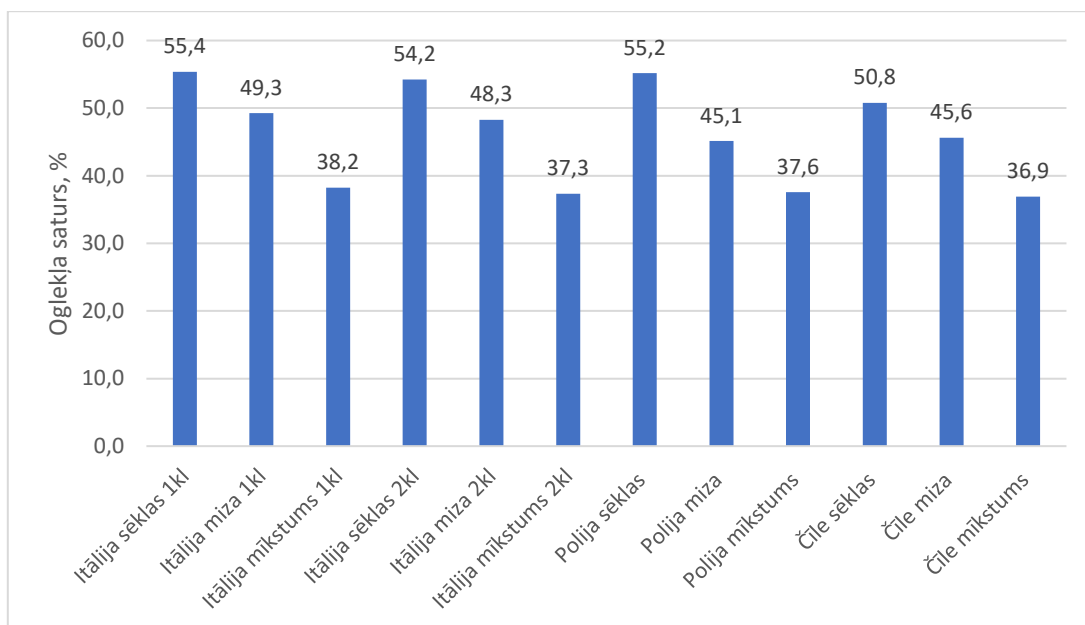
3.2. attēlā ir redzami iegūtie dati par $\delta^{15}\text{N}$ ābolu sēklās, kas arī ir redzami 1.pielikumā. Kā salīdzināmais standarts tika izmantots gaiss.



3.2. att. Iegūtie rezultāti par izotopa $\delta^{15}\text{N}$ attiecību ābolu sēklās, kā salīdzināmo standartu izmantojot gaisu, šķirne *Royal Gala*, n=2.

Kā jau tika secināts iepriekš slāpekļa izotopu attiecību var raksturot tikai ābolu sēklām. Apskatot 3.2. attēlu visas valstis savā starpā ir nodalāmas pēc to $\delta^{15}\text{N}$ attiecības pret gaisu, kas dod vērtīgu informāciju par ābolu augšanas apstākļiem. Ābolu paraugi pārklāj katrs savu reģionu, piemēram, ābolu sēklām no Čīles $\delta^{15}\text{N}$ attiecība pret gaisu ir 2,18‰ līdz 2,17‰.

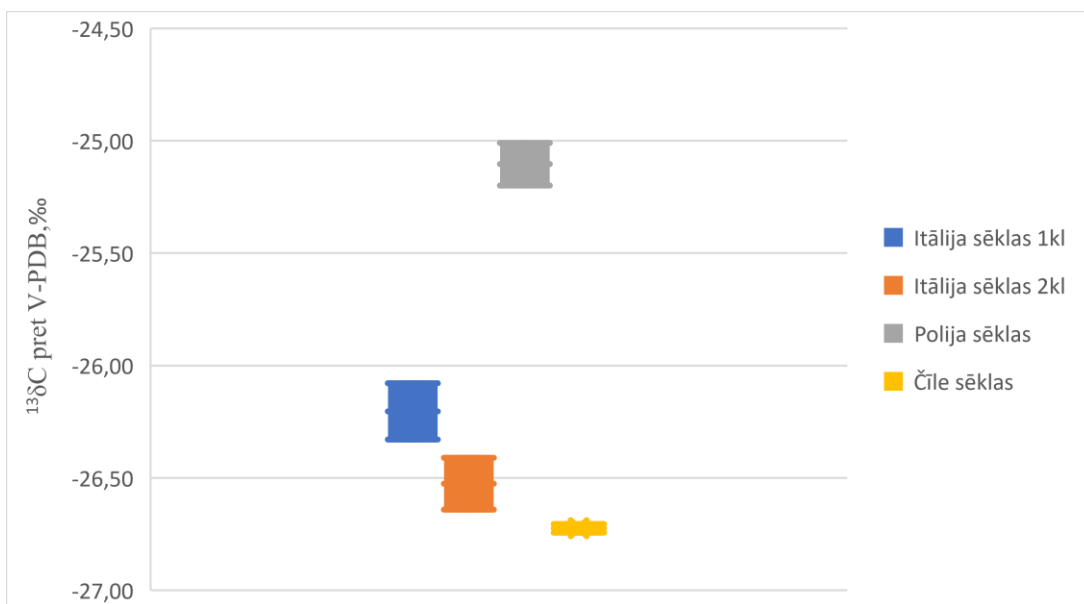
Iegūtie rezultāti par kopējo oglekļa saturu ābolos to sēklās, mīkstumā un mizā ir redzami 3.3. attēlā.



3.3. att. Kopējais vidējais oglekļa saturs ābolos no Itālijas (1. un 2.klase), Polijas un Čīles un sīkākā to sadalījums pa komponentēm (sēklas, miza un mīkstums), šķirne *Royal Gala*, n=2.

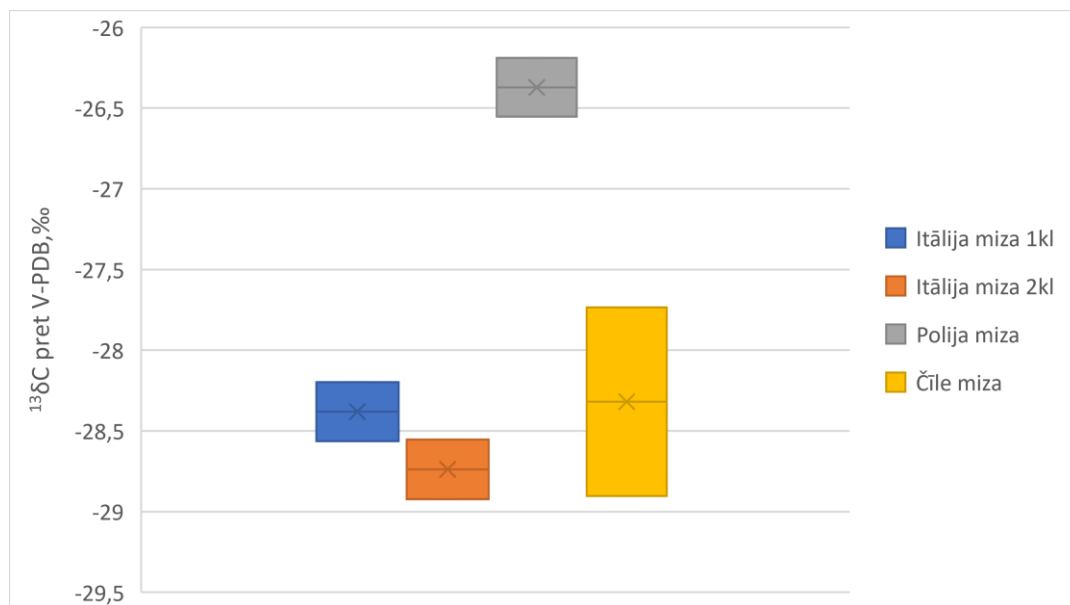
Kopējā oglekļa daudzumos ābolos ir novērojama tendence, ka visvairāk tā ir sēklās, pēc tam mizā un vismazāk ābola mīkstumā. Abiem ābolu paraugiem no Itālijas ir iegūtas līdzīgas %C vērtības visās ābolu komponentēs. Ābola paraugam no Čīles šie daudzumi ir nedaudz mazāki nekā paraugiem no Itālijas. Jāpiemin, ka šajos rezultātos uzrādās pilnībā visi oglekļa savienojumi, tajā skaitā arī cukuri, kas ietekmē iegūtos datus.

3.4., 3.5. un 3.6. attēlos ir redzami iegūtie dati par $\delta^{13}\text{C}$ ābolu sēklās, mizā un mīkstumā, kas arī ir redzami 2.pielikumā. Kā references standarts tika izmantots V-PDB.



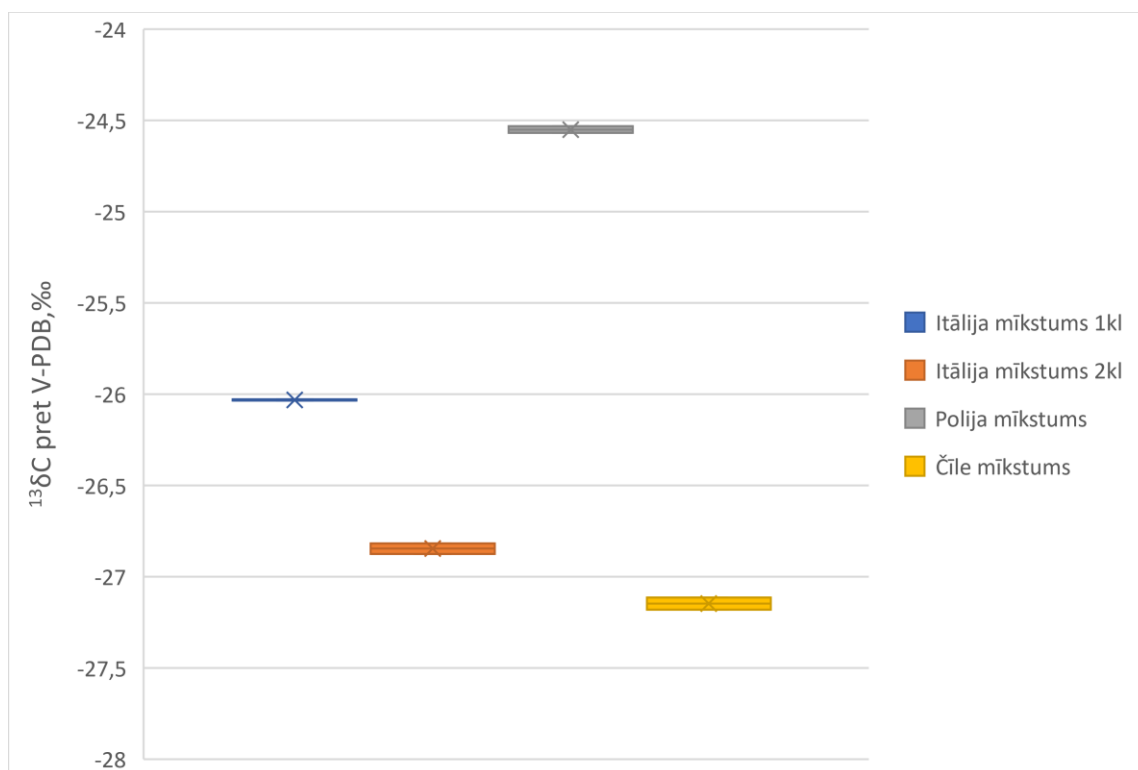
3.4. att. Iegūtie rezultāti par izotopa $\delta^{13}\text{C}$ attiecību ābolu (*Royal Gala*) sēklās atkarībā no izcelsmes vietas, n=2.

Kā redzams 3.4. attēlā, apskatot izotopu $\delta^{13}\text{C}$ attiecības pret V-PDB ir iespējams nodalīt ābolu paraugus pa valstīm. Ābolu sēklas no Itālijas pārklāj reģionu no -26,08 ‰ līdz -26,64 ‰, no Čīles -26,70‰ līdz -26,72 ‰ un no Polijas -25,01‰ līdz -25,20‰.



3.5. att. Iegūtie rezultāti par izotopa $\delta^{13}\text{C}$ attiecību ābolu (*Royal Gala*) mizā, kā salīdzināmo standartu izmantojot PDB, n=2.

Apskatot 3.5. attēlu, kur ir redzami rezultāti par izotopu $\delta^{13}\text{C}$ attiecību ābolu mizā ir iespējams nošķirt tikai iegūtos rezultātus ābolu paraugiem no Polijas salīdzinot pret citām valstīm. Iegūtie rezultāti paraugiem no Itālijas un Čīles savā starpā izteikti pārklājas. Ir jāuzsver, ka paraugu sagatavošanas laikā nebija pilnībā iespējams nodalīt mizu no mīkstuma, tādējādi rezultāti var tikt ietekmēti no tā cik daudz ābola mīkstuma ir palicis uz ābolu mizas pirms analīzēm.



3.6. att. Iegūtie vidējie $\delta^{13}\text{C}$ analīžu rezultāti ābolu (*Royal Gala*) mīkstumā, kā salīdzināmo standartu izmantojot PDB, n=2.

Apskatot iegūtos rezultātus par izotopa $\delta^{13}\text{C}$ attiecību ābolu mīkstumos, visus rezultātus ir iespējams savā starpā nodalīt pa valstīm, bet jāuzsver ka šajos rezultātos arī parādās cukuri, ko satur ābolu mīkstums, kas spēj radīt neprecizitātes un novirzes iegūtajos datos.

Kopumā apskatot visus datus, āboliem no Polijas izotopu svars ($\delta^{13}\text{C}$ un $\delta^{15}\text{N}$) ir lielāks nekā āboliem no Itālijas vai Čīles, respektīvi āboliem no Polijas smago izotopu frakcija ir relatīvi lielāka salīdzinot ar vieglo izotopu frakciju ābolā. Pēc tam seko āboli no Itālijas un tad Čīles, kur tās ābolos iztopi ir visvieglākie (vismazākās ‰). Lai gan literatūrā iegūtie dati ābolu sulām no Slovēnijas ir salīdzināti pret tādiem pašiem standartiem [33] kā veiktajos eksperimentos, šos datus savā starpā nav iespējams salīdzināt, jo literatūrā ir veiktas analīzes tikai ābolu sulām, no kurām ir atdalīti cukuri.

3.1. tabulā ir redzams kopsavilkums par procentuālajiem slāpekļa un oglekļa daudzumiem ābolu komponentēs un 3.2. tabulā rezultāti par izotopu attiecību daudzumiem.

3.1. tabula

Kopsavilkums par kopējā C un N saturu *Royal Gala* ābolos (n=2)

	C, %						N, %					
	Sēklas		Miza		Mīkstums		Sēklas		Miza		Mīkstums	
Itālija 1.klase	56,04	55,37±	49,50	49,28±	37,58	38,24±	8,95	8,90±	0,44	0,46±	0,21	0,31±
	54,70	0,94	49,05	0,32	38,90	0,94	8,85	0,07	0,48	0,03	0,41	0,13
Itālija 2.klase	54,18	54,24±	48,31	48,25±	37,29	37,32±	8,83	8,82±	0,37	0,35±	0,13	0,12±
	54,29	0,08	48,19	0,08	37,35	0,04	8,82	0,01	0,33	0,03	0,10	0,02
Polija	55,09	55,17±	45,84	45,12±	37,83	37,58±	7,43	7,82±	0,34	0,31±	0,12	0,13±
	55,26	0,12	44,40	1,02	37,34	0,35	8,20	0,54	0,28	0,04	0,13	0,02
Čīle	50,75	50,79±	45,49	45,64±	36,37	36,91±	8,42	8,53±	0,33	0,34±	0,15	0,16±
	50,83	0,06	45,78	0,21	37,44	0,76	8,63	0,14	0,34	0,02	0,18	0,02

Ābolu sēklas satur polifenolus, nepiesātinātas taukskābes, amigdalīnu (vitamīns B17), daudz minerālvielas, piemēram, kāliju, fosforu, kalciju, dzelzi un magniju [44]. Tādēļ, atkarībā no šī sastāva variācijas ir novērojamas izmaiņas izotopos.

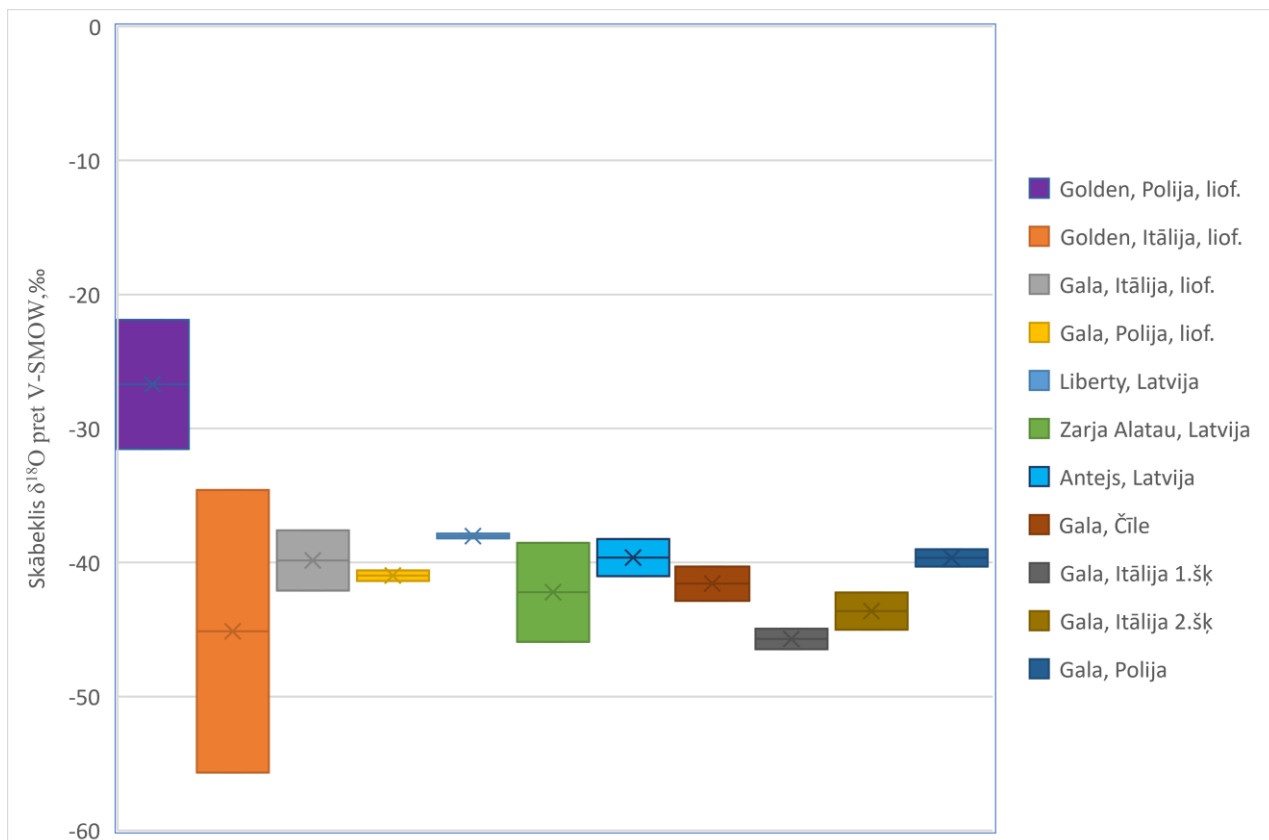
3.2. tabula

Kopsavilkums par izotopu attiecību $\delta^{15}\text{N}$ un $\delta^{13}\text{C}$ saturu *Royal Gala* ābolos (n=2)

	$\delta^{15}\text{N}$ ‰ sēklas		$\delta^{13}\text{C}$ ‰ sēklas		$\delta^{13}\text{C}$ ‰ miza		$\delta^{13}\text{C}$ ‰ mīkstums	
	Itālija 1.klase	2,89	2,88±0,02	-26,33	-26,20±0,18	-28,20	-28,38±0,26	-26,03
2,87		-26,08		-28,56		-26,04		
Itālija 2.klase	3,19	3,18±0,02	-26,64	-26,53±0,16	-28,92	-28,74±0,26	-26,88	-26,85±0,04
	3,18		-26,41		-28,55		-26,82	
Polija	3,55	3,42±0,18	-25,20	-25,10±0,13	-26,55	-26,37±0,26	-24,57	-24,55±0,03
	3,29		-25,01		-26,19		-24,53	
Čīle	2,18	2,17±0,02	-26,74	-26,72±0,03	-27,73	-28,32±0,83	-27,11	-27,15±0,05
	2,16		-26,70		-28,90		-27,18	

Nemot vērā iegūtos rezultātus par $\delta^{13}\text{C}$ un $\delta^{15}\text{N}$ analizēm dažādās ābolu komponentēs, tiek secināts, ka visperspektīvākie rezultāti tiek iegūti tieši ābolu sēklām, tādēļ ābolu šķirņu *Royal Gala*,

Golden Delicious, *Liberty*, *Antejs* (“Gāgas āboli”) un *Zarja Alatau* (“Gāgas āboli”) sēklām tika veiktas $\delta^{18}\text{O}$ analīzes, kur iegūtie rezultāti ir apkopoti 3.7. attēlā.



3.7. att. Izotopu $\delta^{18}\text{O}$ attiecības dažādās vietās un šķirnēs audzētu ābolu sēklās, $n=2$

Analizētie paraugi tika sagatavoti pēc 2 dažādām metodēm, kā aprakstīts eksperimentālajā daļā, respektīvi, daļa paraugu tika liofilizēti, lai noskaidrotu, vai citādāka paraugu sagatavošanas metode ietekmē rezultātus. Kā redzams 3.7. attēlā šķirne *Golden Delicious*, kas ir tikusi liofilizēta pārklāj lielus rezultātu laukumus, bet savā starpā starp valstīm ir nodalāma. Salīdzinot šķirni *Royal Gala*, kur paraugi no Polijas un Itālijas tika gan liofilizēti, gan sagatavoti izžāvējot žāvskapī nozīmīgas iegūto rezultātu atšķirības nesniedz. Iegūtās izotopu $\delta^{18}\text{O}$ attiecības āboliem no Latvijas ir tuvas viena otrai, kā arī praktiski sakrīt ar iegūtajiem rezultātiem *Royal Gala* āboliem no Polijas.

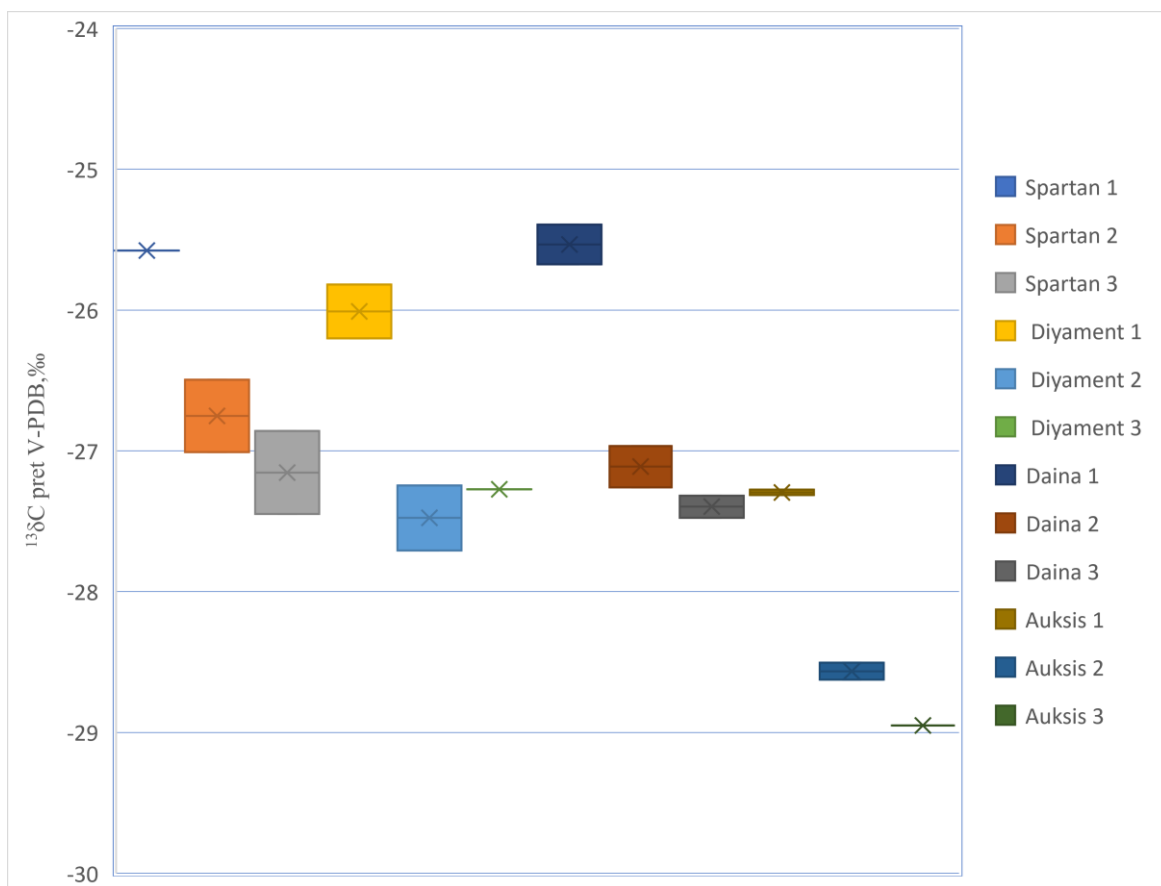
Kopumā savā starpā iegūtie rezultāti par izotopa $\delta^{18}\text{O}$ daudzumu ir grūti nodalāmi, jo notiek rezultātu pārklāšanās un no tiem nevar spriest par ābolu izcelsmes valsti. 3.3. tabulā ir redzams kopsavilkums par $\delta^{18}\text{O}$ izotopa daudzumiem.

Izotopu $\delta^{18}\text{O}$ attiecību rezultātu kopsavilkums

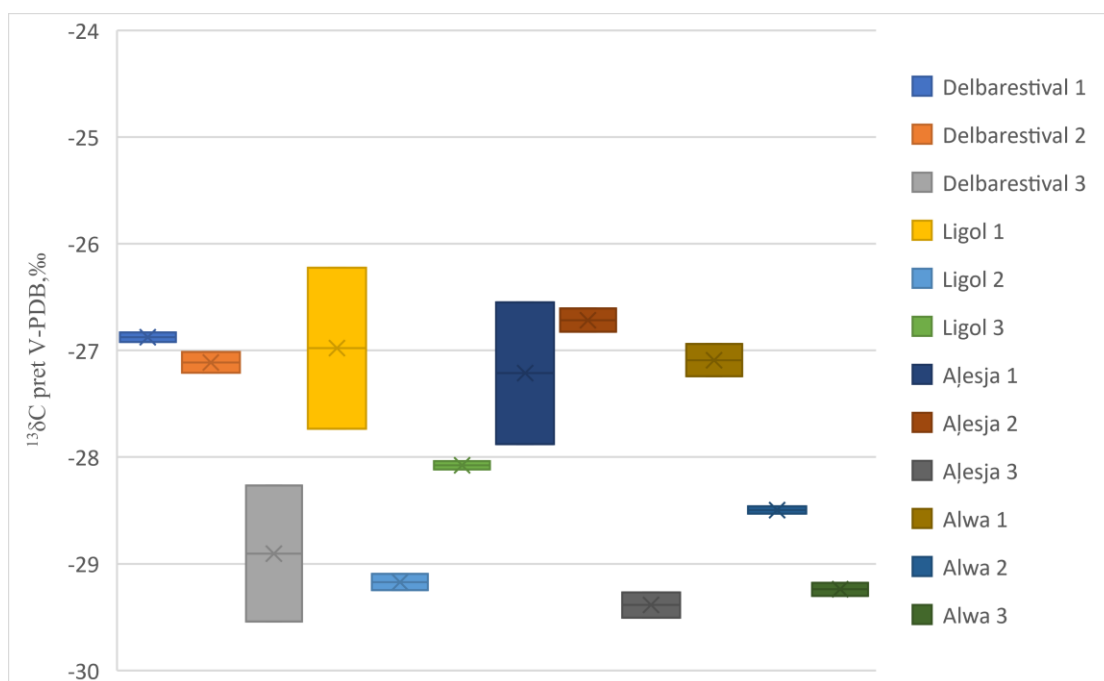
Valsts	Šķirne	Rezultāts, ‰		Paraugu sagatavošana
Polija	<i>Golden delicious</i>	-21,9	-26,7±6,8	liofilizācija
		-31,5		
	<i>Royal Gala</i>	-40,6	-41,0±0,6	liofilizācija
		-41,4		
	<i>Royal Gala</i>	-40,3	-39,7±0,9	žāvēšana
		-39,0		
Itālija	<i>Golden delicious</i>	-55,7	-45,1±14,9	liofilizācija
		-34,6		
	<i>Royal Gala</i>	-42,1	-39,9±3,2	liofilizācija
		-37,6		
	<i>Royal Gala (1.klase)</i>	-46,5	-45,7±1,1	žāvēšana
		-44,9		
	<i>Royal Gala (2.klase)</i>	-42,2	-43,6±2,0	žāvēšana
		-45,0		
Čīle	<i>Royal Gala</i>	-40,3	-41,6±1,8	žāvēšana
		-42,9		
Latvija	<i>Liberty</i>	-38,2	-38,0±0,3	žāvēšana
		-37,8		
	<i>Zarja Alatau</i>	-38,5	-42,2±5,2	žāvēšana
		-45,9		
	<i>Antejs</i>	-41,0	-39,6±2,0	žāvēšana
		-38,2		

Tālāk tika veikti pētījumi, lai noskaidrotu, vai ābolu šķirnes savā starpā var nodalīt, ja tās ir nākušas no vienas un tās pašas valsts, un precīzāk – no viena un tā paša reģiona. Sadarbojoties ar Dobeles dārzkopības institūtu, tika iegūtas dažādas ābolu šķirnes, kurās ietilpa tādas šķirnes kā *Zarja Alatau*, *Auksis*, *Alwa*, *Aļesja*, *Belorusskoje Maļinovoje*, *Ligol*, *Spartan*, *Diyament*, *Daina*,

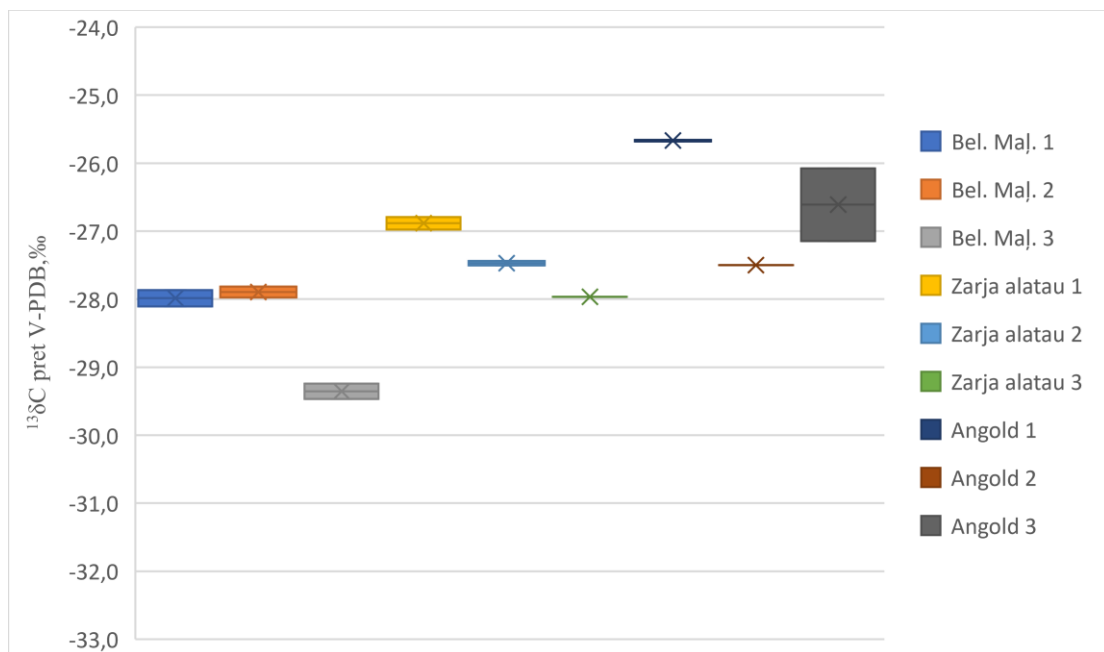
Delbarestival un *Angold*. No katras šķirnes āboliem tika ievākti paraugi no 3 dažādiem kokiem. Kā sēklu žāvēšanas metode tika izvēlēta izkarsēšana žāvskapī, jo kā iepriekš secināts, rezultāti starp liofilizētiem paraugiem un žāvētiem žāvskapī praktiski neatšķiras. Visi iegūtie izejas dati ir redzami 5.pielikumā. 3.8. attēlā ir redzami izotopu attiecību $\delta^{13}\text{C}$ rezultāti šķirnēm *Spartan*, *Diyament*, *Daina* un *Auksis*, 3.9. attēlā izotopa $\delta^{13}\text{C}$ izotopu attiecību rezultāti šķirnēm *Delbarestival*, *Ligol*, *Aļesja* un *Alwa* un 3.10. attēlā izotopu attiecības $\delta^{13}\text{C}$ šķirnēm *Belorusskoje*, *Maļinovoje*, *Zarja Alatau* un *Angold*.



3.8. att. Iegūtie rezultāti par izotopu $\delta^{13}\text{C}$ attiecību sēklās Latvijā audzētu ābolu šķirnēm *Spartan*, *Diyament*, *Daina* un *Auksis*, n=2.



3.9. att. Iegūtie rezultāti par izotopu $\delta^{13}\text{C}$ attiecību sēklās Latvijā audzētu ābolu šķirnēm *Delbarestival*, *Ligol*, *Aļesja* un *Alwa*, n=2.

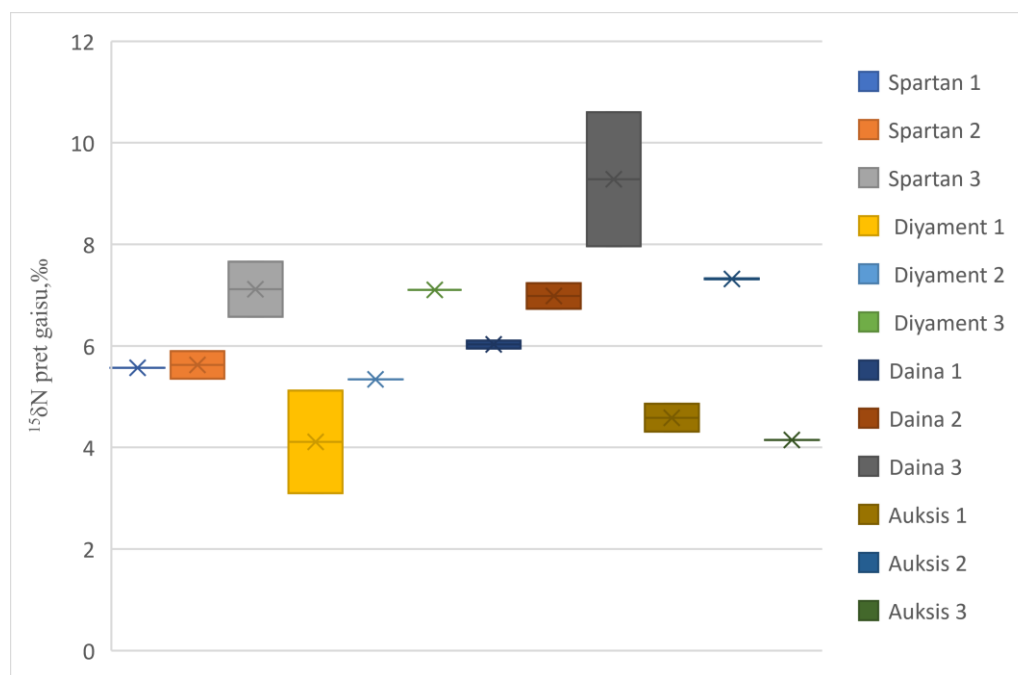


3.10. att. Iegūtie rezultāti par izotopu $\delta^{13}\text{C}$ attiecību sēklās Latvijā audzētu ābolu šķirnēm, *Belorusskoje Maļinovoje*, *Zarja Alatau* un *Angold*, n=2.

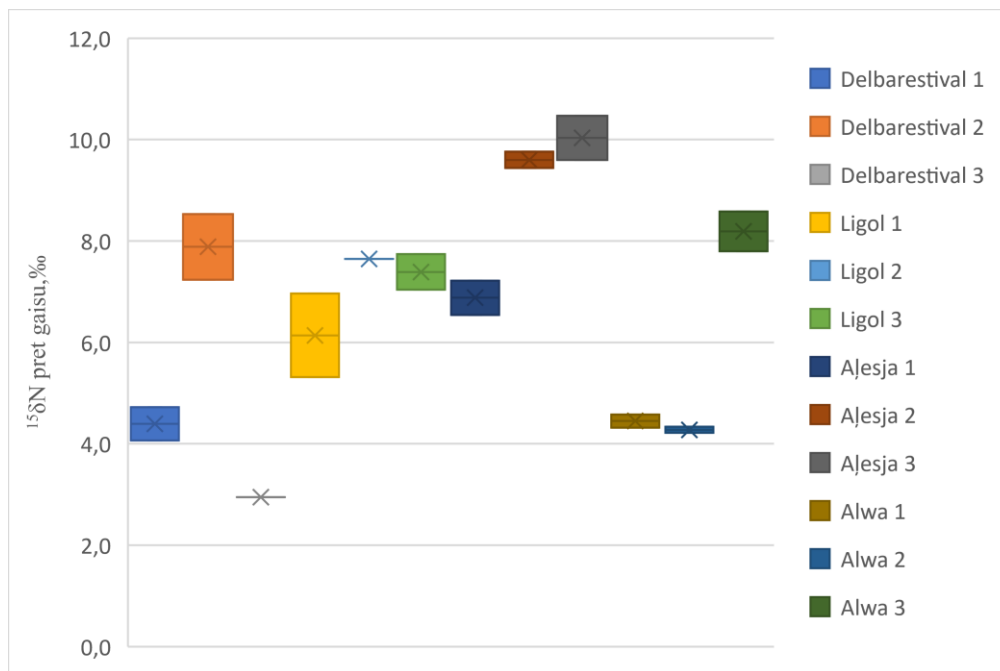
Apskatot 3.8., 3.9. un 3.10. attēlus kopsakarības vai tendences neredz. Visi rezultāti ir intervālā no -25.5‰ līdz -31.9‰. Analizējot vienas un tās pašas šķirnes ābolu sēklas, kas ievāktas

no dažādām ābelēm dod atšķirīgus rezultātus. Šos rezultātus savā starpā var nodalīt, bet vispārīgi atrodas ļoti tuvu viens otram, ko var ietekmēt dažādi faktori, sākot ar iekārtas precizitāti, ābolu ievākšanas laiku, ābeļu augšanas vietu un sēklu izvēli. Šos faktoros izteikti var novērot tajos rezultātos, kur ir milzīga rezultātu izkliede. Ņemot vērā, ka ābeles ir augušas vienā un tajā pašā reģionā un tiek pakļautas vieniem un tiem pašiem vides apstākļiem, tad arī iegūtie rezultāti norāda, ka ir notikuši vieni un tie paši frakcionēšanās procesi. Izvērtējot rezultātus tiek secināts, ka ābolu šķirnes savā starpā pēc izotopa $\delta^{13}\text{C}$ analīzēm nav iespējams nodalīt un paraugu ievākšana no vienas un tās pašas šķirnes dažādām ābelēm, dod ļoti līdzīgus rezultātus.

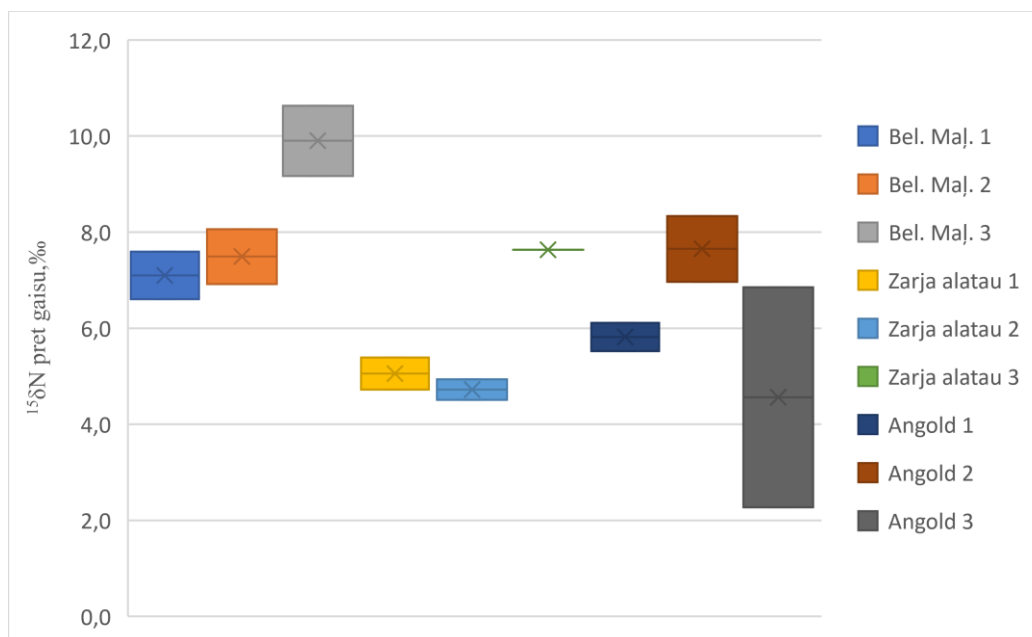
Lai gūtu priekšstatu par izotopa $\delta^{15}\text{N}$ daudzumu, šīm pašām 11 Latvijas ābolu šķirnēm tika veiktas analīzes ābolu sēklām no 3 dažādām ābelēm. 3.11. attēlā ir redzami izotopu $\delta^{15}\text{N}$ attiecību rezultāti šķirnēm *Spartan*, *Diyament*, *Daina* un *Auksis*, 3.12. attēlā izotopu $\delta^{15}\text{N}$ attiecību rezultāti šķirnēm *Delbarestival*, *Ligol*, *Aļesja* un *Alwa* un 3.13. attēlā izotopu attiecības $\delta^{15}\text{N}$ šķirnēm *Belorusskoje Maļinovoje*, *Zarja Alatau* un *Angold*.



3.11. att. Iegūtie rezultāti par izotopu $\delta^{15}\text{N}$ attiecību sēklās Latvijā audzētu ābolu šķirnēm *Spartan*, *Diyament*, *Daina* un *Auksis*, n=2.



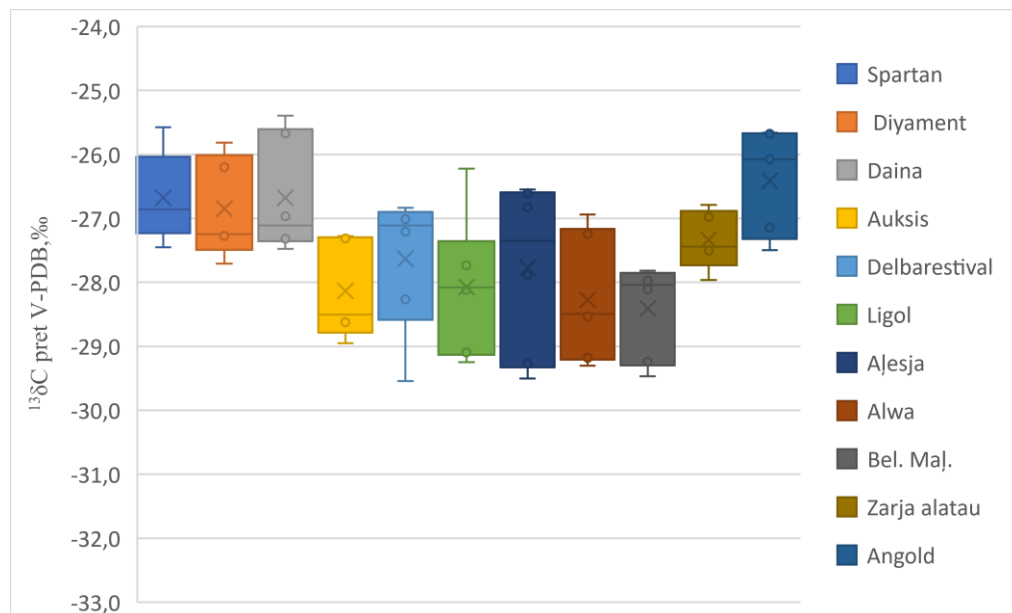
3.12. att. Iegūtie rezultāti par izotopu $\delta^{15}\text{N}$ attiecību sēklās Latvijā audzētu ābolu šķirnēm *Delbarestival*, *Ligol*, *Aļesja* un *Alwa*, $n=2$.



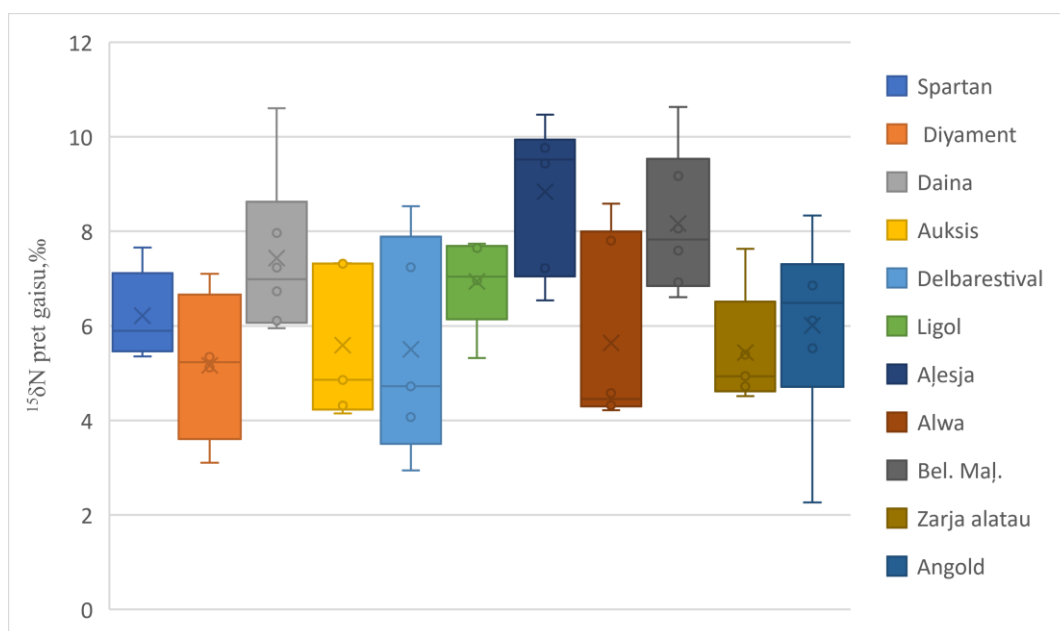
3.13. att. Iegūtie rezultāti par izotopu $\delta^{15}\text{N}$ attiecību sēklās Latvijā audzētu ābolu šķirnēm, *Belorusskoje Maļinovoje*, *Zarja Alatau* un *Angold*, $n=2$.

Arī iegūtajos rezultātos par izotopa $\delta^{15}\text{N}$ attiecībām vienas un tās pašas šķirnes ābolu sēklās, kas iegūtas no dažādām ābelēm sniedz līdzīgus secinājumus, kā par izotopa $\delta^{13}\text{C}$ attiecībām. Nav novērojamas konkrētas sakarības vai tendences, tikai tas, ka katrai ābelei ir savi atšķirīgie rezultāti. Daļa no iegūtajiem rezultātiem tika atmesti, jo tika novērots paaugstināts fons analizējamā iekārtā, kas saistīts ar bojātu GC kolonnu, kuras rezultātā notiek pastiprināta tās degradēšanās, kā rezultātā masspektrometrā nonāca tās degradācijas produkti, kur viens no tiem ir elilgrupa (C_2H_5), kuras masa ir 29 un līdz ar to iegūtās $\delta^{15}\text{N}$ vērtības ir paaugstinātas un ar lielāku izkliedi. Kopumā iegūtie rezultāti par izotopa $\delta^{15}\text{N}$ attiecību vienas un tās pašas šķirnes ābolu sēklās nedod informāciju, lai spētu nošķirt dažādas šķirnes ābolus, kas auguši vienā un tajā pašā vietā.

3.14. un 3.15. attēlos ir apkopotas $\delta^{13}\text{C}$ un $\delta^{15}\text{N}$ izotopu attiecības pa šķirnēm ņemot vērā visus iegūtos rezultātus starp 3 dažādām ābelēm.



3.14. att. Iegūtie rezultāti par izotopu $\delta^{13}\text{C}$ attiecībām sēklās Latvijā audzētu ābolu šķirnēm, n=4-6.



3.15. att. Iegūtie rezultāti par izotopu $\delta^{15}\text{N}$ attiecībām sēklās Latvijā audzētu ābolu šķirnēm, $n=4-6$.

Kā redzams no apvienotajiem rezultātiem, gan izotopa $\delta^{13}\text{C}$, gan $\delta^{15}\text{N}$ attiecību vērtības pārklājās ābolu šķirnēm, tās visas ir aptuveni vienā un tajā pašā rezultātu reģionā, kas kā iepriekš minēts nozīmē, ka visas ābeles ir pakļautas vienas un tās pašas frakcionēšanās procesiem. Gan skatoties no fotosintēzes ciklu puses, kur veidojas izotops $\delta^{13}\text{C}$, gan no mēslošanas veida, kur veidojas izotops $\delta^{15}\text{N}$. Ābolu šķirnes, kas augušas Latvijā no vienas un tās pašas vietas, izmantojot iegūtos datus par izotopa $\delta^{13}\text{C}$ un $\delta^{15}\text{N}$ attiecībām, nedod informāciju par tās specifisko šķirni. Tātad šķirnes veids neietekmē iegūtos rezultātus, kas tiek iegūti no ābolu sēklām. 3.4. tabulā ir redzams kopsavilkums par $\delta^{13}\text{C}$ un $\delta^{15}\text{N}$ izotopu attiecībām bez atmestajiem rezultātiem.

3.4. tabula

Rezultātu kopsavilkums ābolu šķirnēm no Latvijas

Šķirne	$\delta^{15}\text{N}$ ‰ sēklas		$\delta^{13}\text{C}$ ‰ sēklas	
<i>Spartan</i>	5,6	6 ± 1	-25,6	-27 ± 1
	5,4		-27,0	
	5,9		-26,5	
	6,6		-26,9	
	7,7		-27,4	

3.4. tabulas turpinājums

Šķirne	$\delta^{15}\text{N}$ ‰ sēklas		$\delta^{13}\text{C}$ ‰ sēklas	
<i>Diyament</i>	5,1	5 ± 2	-26,2	-27 ± 1
	3,1		-25,8	
	5,3		-27,2	
	7,1		-27,7	
			-27,3	
<i>Daina</i>	5,9	7 ± 2	-25,4	-27 ± 1
	6,1		-25,7	
	7,2		-27,0	
	6,7		-27,3	
	8,0		-27,3	
	10,6		-27,5	
<i>Auksis</i>	4,3	6 ± 2	-27,3	-28 ± 1
	4,9		-27,3	
	7,3		-28,5	
	7,3		-28,6	
	4,1		-28,9	
<i>Delbarestival</i>	4,7	6 ± 2	-26,9	-28 ± 1
	4,1		-26,8	
	8,5		-27,0	
	7,2		-27,2	
			-29,5	
	2,9		-28,3	
<i>Ligol</i>	7,0	7 ± 1	-26,2	-28 ± 1
	5,3		-27,7	
	7,6		-29,2	
	7,7		-29,1	
			-28,1	
	7,0		-28,0	

3.4. tabulas turpinājums

Šķirne	$\delta^{15}\text{N}$ ‰ sēklas		$\delta^{13}\text{C}$ ‰ sēklas	
<i>Aļesja</i>	7,2	9 ± 2	-27,9	-28 ± 1
	6,5		-26,5	
	9,4		-26,8	
	9,8		-26,6	
	10,5		-29,5	
	9,6		-29,3	
<i>Alwa</i>	4,6	6 ± 2	-26,9	-28 ± 1
	4,3		-27,2	
	4,2		-28,5	
	4,3		-28,5	
	8,6		-29,2	
	7,8		-29,3	
<i>Beloruskoje Maļinovoje</i>	7,6	8 ± 2	-28,1	-28 ± 1
	6,6		-27,9	
	8,1		-27,8	
	6,9		-28,0	
	10,6		-29,2	
	9,2		-29,5	
<i>Zarja Alatau</i>	4,7	5 ± 1	-27,0	-27 ± 1
	5,4		-26,8	
	4,9		-27,5	
	4,5		-27,4	
	7,6		-28,0	
<i>Angold</i>	6,1	6 ± 2	-25,7	-26 ± 1
	5,5		-25,7	
	8,3		-27,5	
	7,0		-27,1	
	2,3		-27,1	
	6,9		-26,1	

Salīdzinot iegūtos rezultātus sēklām no Latvijas ar rezultātiem, kas iegūti citām valstīm (skat. 3.5. tabulu), tad āboliem no Latvijas $\delta^{15}\text{N}$ smago izotopu frakcijas ir relatīvi lielākas salīdzinot ar vieglo izotopu frakcijām ābolos, kamēr izotopu $\delta^{13}\text{C}$ frakcijām situācija ir otrādāk, smago izotopu frakcijas ir mazākas salīdzinot ar vieglajām.

3.5. tabula

Analizēto sēkļu apkopotie rezultāti

Valsts	$\delta^{13}\text{C}$ diapazons sēklām, ‰	$\delta^{15}\text{N}$ diapazons sēklām, ‰
Latvija	-29,5 – -25,4	3,9 – 10,6
Polija	-25,0 – -25,2	3,3 – 3,6
Itālija	-26,6 – -26,1	2,9 – 3,2
Čīle	-26,7 – -26,8	2,1 – 2,2

Starp visiem iegūtajiem rezultātiem, ābolus no Latvijas var identificēt un nodalīt no āboliem, kas ir ievesti un audzēti citās valstīs. Lai varētu precīzāk novērtēt, kā $\delta^{15}\text{N}$ izotopi ābolu sēklās tiek ietekmēti (vai vispār tiek ietekmēti) ir nepieciešams veikt eksperimentus ar dažādām mēslošanas metodēm un paveidiem, kā arī ir nepieciešams noteikt kvalitatīvo un kvantitatīvo sastāvu ābolu sēklām.

Runājot par $\delta^{13}\text{C}$ frakcijām tās tiek ietekmētas no fotosintēzes cikliem, kā arī kā iepriekš minēts literatūras apskatā to ietekmē arī tādi faktori kā temperatūra, ūdens pieejamība, gaisa mitrums, CO_2 koncentrācija, mēslojums, sāļums, gaismas intensitāte un fotorespirācijas procesi.

Izotopu pētījumi ābolu sēklās ir jauns un inovatīvs virziens, kas spēj sniegt vērtīgu informāciju par ābolu izcelsmi. Nākamais virziens varētu būt izotopu pētījumi ābolu sēkļu mizās, jo arī tie varētu slēpt vērtīgu informāciju un iespējams, pat precīzāk paskaidrot par ābola izcelsmi.

SECINĀJUMI

1. Slāpekļa izotopu $\delta^{15}\text{N}$ analīzēm ir piemērotākas ābolu sēklas, jo slāpekļa saturs ābolu sēklās ir gandrīz 10 reizes lielāks nekā ābolu mīkstumā un mizā, kā arī tās ir piemērotas oglekļa izotopu $\delta^{13}\text{C}$ vienlaicīgai analīzei.
2. Oglekļa izotopa $\delta^{13}\text{C}$ pētīšanu nav piemērots lietot ābolu mizu analīzē, jo paraugu sagatavošanas laikā nav iespējams pilnībā nodalīt ābola mizu no tā mīkstuma un nepilnīga mīkstuma atdalīšana var ietekmēt analīžu rezultātus.
3. Ābola šķirnes īpatnības netika novērotas izotopu fracionēšanās procesos ābolu sēklās, ja šie āboli ir auguši vienā un tajā pašā reģionā (Dobeles dārzkopības institūts) un vides apstākļos.
4. Ābolu šķirni *Royal Gala*, kas ir nākusi no dažādām valstīm ir iespējams nošķirt izmantojot IRMS analīzes, analizējot gan $\delta^{15}\text{N}$, gan $\delta^{13}\text{C}$.
5. Izotopu attiecību pētījumi ir perspektīvi ābolu izcelsmes raksturošanai, bet ir nepieciešams veikt papildus pētījumus gan ar hromatogrāfisko analīžu metodēm, gan paraugu sagatavošanas metodēm, kas saistās ar sēklu ievākšanu un augsnes raksturošanu.

LITERATŪRA

1. Food Law General Requirements in Europe Union. https://ec.europa.eu/food/safety/general_food_law/general_requirements_en (skatīts 15.06.2018)
2. European Apple and Pear crop forecast, August 2017. <http://polandfruits.pl/news/622/european-apple-and-pear-crop-forecast-august-2017> (skatīts 15.06.2018.).
3. Musacchi, S.; Serra, S. Apple fruit quality: Overview on pre-harvest factors. *Sci. Hortic.* **2018**, *234*, 409-430.
4. Craig, H.; Gordon, L. Deuterium and oxygen 18 variations in the ocean and marine atmosphere. In: *Stable isotopes in oceanographic studies and paleotemperatures*; Tongiogi, E., Ed.; Spoleto: Pisa, 1965; pp 9-130.
5. Horita, J.; Wesolowski, D. Liquid-vapor fractionation of oxygen and hydrogen isotopes of water from the freezing to the critical temperature. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1994**, *58*, 3425-3437.
6. Galimov, E. *The biological fractionation of isotopes*; Academic Press: Orlando, 1985; pp 1-15.
7. Lamprecht, G.; un K. Blochberger. Protocol for isolation of vanillin from ice cream and yoghurt to confirm the vanilla beans origin by ¹³C-EA-IRMS. *Food Chem.*, **2009**, *114*, 1130-1134.
8. Scheidegger, Y.; Saurer, M.; Bahn, M.; Siegwolf, R. Linking stable oxygen and carbon isotopes with stomatal conductance and photosynthetic capacity: a conceptual model. *Oecologia*, **2000**, *125*, 350-357.
9. Albertino, A.; Barge, A.; Cravotto, G.; Genzini, L.; Gobetto, R.; Vincenti, M. Natural origin of ascorbic acid: Validation by ¹³C NMR and IRMS. *Food Chem.*, **2009**, *112*, 715-720.

10. Meier-Augenstein, W. Applied gas chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.*, **1999**, *842*, 351-371.
11. Abbas, O.; Zadavec, M.; Baeten, V.; Mikuš, T.; Lešic, T.; Vulic, A.; Prpic, J.; Jemeresic, L.; Pleadin, J. Analytical methods used for the authentication of food of animal origin. *Food chem.*, **2018**, *246*, 6-17.
12. Tang, F.; Maggi, F. The effect of ^{15}N to ^{14}N ratio on nitrification, denitrification and dissimilatory nitrate reduction. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2012**, *26*, 430-442.
13. Kobayashi, K.; Tanaka, M.; Tanabe, S.; Yatsukawa, Y.; Tanaka, M.; Suzuki, T. Distinguishing glutamic acid in foodstuffs and monosodium glutamate used as seasoning by stable carbon and nitrogen isotope ratios. *Heliyon*, **2018**, *4*, e00800.
14. Barrie, A.; Posser, S. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope mass spectrometry. In: *Mass Spectrometry of Soils*; Boutton, T.W.; Yamasaki, S., Ed.; Marcel Dekker Inc.: New York, 1996, pp 1-46.
15. Simsek, A.; Bilsel, M.; Goren, A. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ pattern of honey from Turkey and determination of adulteration in commercially available honey samples using EA-IRMS. *Food chem.*, **2012**, *130*, 1115-1121.
16. Werner, R.; Brand, W. Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2001**, *15*, 501-519.
17. Peters, K.; Moldowan, J. *The Biomarker Guide Interpreting Molecular Fossils in Petroleum and Ancient Sediments*; Prentice Hall: New Jersey, 1993; pp 1-25.
18. Brand, W. High precision isotope ratio monitoring techniques in mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, **1996**, *31*, 225-235.
19. Muccio, Z.; Jackson, G.P. Isotope ration mass spectrometry. *Analyst*, **2009**, *134*, 213-222.
20. Leeuwen, K.A.; Prenzler, P.D.; Camin, F. Gas Chromatography - Combustion - Isotope Ratio Mass Spectrometry for Traceability and Authenticity in Foods and Beverages. *Compr.Rev.Food Sci. Food Saf.*, **2014**, *13*, 814-837.

21. Leckrone, K.; Hayes, J. Water-induced errors in continuous-flow carbon isotope ratio mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **1998**, *70*, 2737-2744.
22. Merrit, D.; Brand, W.; Hayes, J. Isotope-ratio-monitoring gas chromatography-mass spectrometry: methods for isotopic calibration. *Org. Geochem.*, **1994**, *21*, 573-583.
23. Buša, L. *Vieglo izotopu attiecības masspektrometrija* [tiešsaiste]. Modernās analīzes metodes e-kurss LU, Rīga, 2017 . <https://estudijas.lu.lv/course/view.php?id=1651> [skatīts 10.01.2019.].
24. Analytical method for EA-IRMS. http://www.scinco.com/kor/letter/news_100531/sub09_2.html. (skatīts 10.01.2019).
25. Carter, J. F., Barwick, V. J. (Eds) *Good Practice Guide for Isotope Ratio Mass Spectrometry First Edition*. FIRMS: 2011.
26. Schipilliti, L.; Dugo, P.; Bonaccrosi, I.; Mondello, L. Authenticity control on lemon essential oils employing Gas Chromatography–Combustion-Isotope Ratio Mass Spectrometry (GC–C-IRMS). *Food Chem.*, **2012**, *131*, 1523-1530.
27. Li, Q.; Chen, L.; Ding, Q. The stable isotope signatures of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) in main cultivation regions of China: implications for tracing geographic origin. *Eur. Food Res. Technol.*, **2013**, *237*, 109-116.
28. Lin, G.; Phillips, S.; Ehleringer, J. Monsoonal precipitation responses of shrubs in a cold desert community on the Colorado Plateau. *Oecologia*, **1996**, *106*, 8-17.
29. Ehleringer, J.R.; Phillips, S.L.; Schuster, W.S.F.; Sandquist, D.R. Differential utilization of summer rains by desert plants. *Oecologia*, **1991**, *88*, 430-434.
30. Gehre, M.; Geilmann, H.; Richter, J.; Werner, R.; Brand, W. Continuous flow 2H/1H and 18O/16O analysis of water samples with dual inlet precision. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2004**, *18*, 2650-2660.

31. Perini, M.; Giongo, L.; Grisenti, M.; Bontempo, L.; Camin, F. Stable isotope ratio analysis of different European raspberries, blackberries, blueberries, currants and strawberries. *Food Chem.*, **2018**, *239*, 48-55.
32. Simpkins, W.; Patel, G.; Harrison, M.; Goldberg, D. Stable carbon isotope ratio analysis of Australian orange juices. *Food Chem.*, **2000**, *70*, 385-390.
33. Bat, K.; Eler, K.; Mazej, D.; Vodopivec, B.; Mulič, I.; Kump, P.; Ogrinc, N. Isotopic and elemental characterisation of Slovenian apple juice according to geographical origin: Preliminary results. *Food Chem.*, **2016**, *203*, 86-94.
34. Bat, K.; Vidrih, R.; Nečemer, M.; Vodopivec, B.; Mulič, I.; Kump, P.; Ogrinc, N. Characterization of Slovenian Apples with Respect to Their Botanical and Geographical Origin and Agricultural Production Practice. *Food Technol. Biotechnol.*, **2012**, *50*, 107-116.
35. Koziat, J.; Rossmann, A.; Martin, G.; Ashurst, P. Determination of carbon-13 content of sugars of fruit and vegetable juices: A European inter-laboratory comparison. *Anal.Chim.Acta*, **1993**, *271*, 31-38.
36. Breas, O.; Reniero, F.; Serrini, G. Isotope ratio mass spectrometry: Analysis. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **1994**, *8*, 967-970.
37. Rossman, A.; Reneiro, F.; Moussa, I.; Schmidt, H.; Versini, G.; Merle, M. Stable oxygen isotope content of water of EU data-bank wines from. *Eur. Food Res. Technol.*, **1999**, *208*, 400-407.
38. Gaillard, L.; Guyon, F.; Salagoity, M.; Medina, B. Authenticity of carbon dioxide bubbles in French ciders through multiflow-isotope ratio mass spectrometry measurements *Food Chem.*, **2013**, *141*, 2103-2107.
39. Dunbar, J. Use of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for studying the origin of CO_2 in sparkling wines. *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **1982**, *311*, 578-580.
40. Gonzalez-Martin, I.; Gonzalez-Perez, C.; Marques-Macias, E. Contribution to the study of the origin of CO_2 in Spanish sparkling wines by determination of the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio. *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, *45*, 1149-1151.

41. Boner, M.; Forstel, H. *Examination of the 13 C/ 12 C Isotopes in sparkling and semi-sparkling wine with the aid of simple on-line sampling* [tiešsaiste]. Isoprime, United Kingdom, 2002. https://www.researchgate.net/publication/267230658_Examination_of_the_13_C_12_C_Isotopes_in_sparkling_and_semi-sparkling_wine_with_the_aid_of_simple_on-line_sampling [skatīts 03.12.2018.].
42. Winkler, F. *Chromatography and mass spectrometry in nutrition science and food safety*. Frigerio, A., Milon, H., Ed.; Elsevier: Amsterdam, 1984, pp 173-190.
43. Eftimov, T.; Ispirova, G.; Potočnik, D.; Ogrinc, N.; Seljak, B.K. ISO-FOOD ontology: A formal representation of the knowledge within the domain of isotopes for food science. *Food Chem.*, **2019**, *277*, 382-390.
44. Xu, Y.; Fan, M.; Ran, J.; Zhang, T.; Sun, H.; Dong, M.; Zhang, Z.; Zheng, H. Variation in phenolic compounds and antioxidant activity in apple seeds of seven cultivars. *Saudi J. Biol. Sci.*, **2016**, *23*, 379-388.

Pateicības

Paldies Mārim Bērtiņam un Laumai Bušai par palīdzību un konsultēšanu izotopu attiecību mērījumu veikšanā!

Pielikumi

1.pielikums

No	Type	Name	Weight	Sam Area(28)	Sam Area(29)	Sam Ht(28)	Sam Ht(29)	Ref Ht(28)	Ref Ht(29)	Sam Ratio(29)	Ref Ratio(29)	Raw Delta(29)	Delta(15) wrt Air
1	Sam	20181109	1	2,98E-08	2,19E-10	1,58E-09	1,16E-11	1,45E-08	1,07E-10	7,34E-03	7,39E-03	-6,97E+00	-8,2976
2	Sam	empty	1	2,01E-09	1,47E-11	1,13E-10	8,26E-13	1,45E-08	1,07E-10	7,28E-03	7,39E-03	-1,51E+01	-16,448
3	Sam	empty	1	4,86E-10	3,32E-12	2,36E-11	1,69E-13	1,44E-08	1,07E-10	6,84E-03	7,39E-03	-7,44E+01	-75,603
4	Ref	Glutamic /	190	2,22E-08	1,64E-10	1,95E-09	1,44E-11	1,44E-08	1,07E-10	7,37E-03	7,39E-03	-3,37E+00	-4,706
5	Ref	Glutamic /	520	6,02E-08	4,44E-10	5,39E-09	3,98E-11	1,45E-08	1,07E-10	7,37E-03	7,39E-03	-2,94E+00	-4,2733
6	Ref	Glutamic /	790	8,89E-08	6,55E-10	8,07E-09	5,95E-11	1,44E-08	1,07E-10	7,37E-03	7,39E-03	-2,94E+00	-4,2801
7	Ref	Glutamic /	1090	1,24E-07	9,13E-10	1,14E-08	8,39E-11	1,44E-08	1,07E-10	7,37E-03	7,39E-03	-2,91E+00	-4,2488
8	Ref	Glutamic /	1380	1,56E-07	1,15E-09	1,45E-08	1,07E-10	1,44E-08	1,07E-10	7,37E-03	7,39E-03	-2,92E+00	-4,2609
9	Sam	It1s 1	1060	1,13E-07	8,40E-10	1,05E-08	7,82E-11	1,44E-08	1,07E-10	7,42E-03	7,39E-03	4,24E+00	2,8905
10	Sam	It1s 2	1080	1,14E-07	8,46E-10	1,06E-08	7,89E-11	1,45E-08	1,07E-10	7,42E-03	7,39E-03	4,21E+00	2,8683
11	Sam	It1m 1	1090	6,55E-09	4,84E-11	5,83E-10	4,31E-12	1,44E-08	1,07E-10	7,38E-03	7,39E-03	-7,80E-01	-2,1191
12	Sam	It1m 2	1030	6,75E-09	4,99E-11	6,01E-10	4,45E-12	1,45E-08	1,07E-10	7,39E-03	7,39E-03	3,49E-01	-0,99118
13	Sam	It1mk 1	930	3,37E-09	2,48E-11	2,83E-10	2,09E-12	1,45E-08	1,07E-10	7,36E-03	7,39E-03	-3,61E+00	-4,9498
14	Sam	It1mk 2	900	5,25E-09	3,87E-11	4,04E-10	2,99E-12	1,44E-08	1,07E-10	7,38E-03	7,39E-03	-1,77E+00	-3,1094
15	Sam	It2s 1	980	1,03E-07	7,66E-10	9,58E-09	7,12E-11	1,44E-08	1,07E-10	7,42E-03	7,39E-03	4,54E+00	3,1915
16	Sam	It2s 2	870	9,17E-08	6,81E-10	8,46E-09	6,28E-11	1,44E-08	1,06E-10	7,43E-03	7,39E-03	4,52E+00	3,1758
17	Sam	It2m 1	960	5,12E-09	3,78E-11	4,51E-10	3,33E-12	1,44E-08	1,07E-10	7,38E-03	7,39E-03	-1,48E+00	-2,8186
18	Sam	It2m 2	900	4,48E-09	3,30E-11	3,92E-10	2,90E-12	1,44E-08	1,06E-10	7,38E-03	7,39E-03	-2,02E+00	-3,3561
19	Sam	Glut-A	1140	1,32E-07	9,70E-10	1,22E-08	8,98E-11	1,44E-08	1,06E-10	7,37E-03	7,39E-03	-3,02E+00	-4,3576
20	Sam	It2mk 1	1090	2,58E-09	1,90E-11	2,16E-10	1,60E-12	1,44E-08	1,07E-10	7,34E-03	7,39E-03	-6,94E+00	-8,2674
21	Sam	It2mk 2	980	2,11E-09	1,54E-11	1,71E-10	1,27E-12	1,44E-08	1,06E-10	7,33E-03	7,39E-03	-8,84E+00	-10,171
22	Sam	Pl1s 1	920	8,18E-08	6,08E-10	7,58E-09	5,63E-11	1,44E-08	1,06E-10	7,43E-03	7,39E-03	4,89E+00	3,547
23	Sam	Pl1s 2	940	5,20E-08	3,86E-10	4,71E-09	3,50E-11	1,44E-08	1,06E-10	7,43E-03	7,39E-03	4,63E+00	3,2867
24	Sam	Pl1m 1	990	4,88E-09	3,61E-11	4,27E-10	3,16E-12	1,44E-08	1,06E-10	7,39E-03	7,39E-03	-4,12E-01	-1,7517
25	Sam	Pl1m 2	920	3,93E-09	2,90E-11	3,39E-10	2,51E-12	1,44E-08	1,06E-10	7,37E-03	7,39E-03	-2,87E+00	-4,208
26	Sam	Pl1mk 1	930	2,26E-09	1,66E-11	1,84E-10	1,36E-12	1,44E-08	1,06E-10	7,34E-03	7,39E-03	-7,58E+00	-8,9085
27	Sam	Pl1mk 2	890	2,28E-09	1,68E-11	1,85E-10	1,38E-12	1,44E-08	1,06E-10	7,34E-03	7,39E-03	-6,99E+00	-8,3196
28	Sam	C1s 1	850	8,56E-08	6,35E-10	7,79E-09	5,78E-11	1,44E-08	1,06E-10	7,42E-03	7,39E-03	3,53E+00	2,1842
29	Sam	C1s 2	930	9,58E-08	7,11E-10	8,73E-09	6,48E-11	1,44E-08	1,06E-10	7,42E-03	7,39E-03	3,50E+00	2,1566
30	Sam	Glu-A	1010	1,14E-07	8,38E-10	1,03E-08	7,59E-11	1,44E-08	1,06E-10	7,37E-03	7,39E-03	-2,94E+00	-4,2747
31	Sam	C1m 1	840	4,17E-09	3,08E-11	3,55E-10	2,64E-12	1,43E-08	1,06E-10	7,37E-03	7,39E-03	-2,98E+00	-4,3198
32	Sam	C1m 2	910	4,63E-09	3,41E-11	3,97E-10	2,95E-12	1,43E-08	1,06E-10	7,38E-03	7,39E-03	-1,59E+00	-2,9235
33	Sam	C1mk 1	1120	2,95E-09	2,17E-11	2,46E-10	1,82E-12	1,44E-08	1,06E-10	7,35E-03	7,39E-03	-5,63E+00	-6,9643
34	Sam	C1mk 2	1090	3,18E-09	2,34E-11	2,67E-10	1,97E-12	1,44E-08	1,06E-10	7,35E-03	7,39E-03	-4,88E+00	-6,218

No	Type	Name	Weight	Sam Area(44)	Sam Area(Sam Area(44	Sam HT(44	Sam HT(45	Sam HT(46	Ref HT(44)	Ref HT(45)	Ref HT(46)	Sam	Ref	Ref	Ratio(45/4	Ratio(46/4	Ratio(45/4	Ratio(46/44)	Raw Delta	Delta(13)	Delta(18)
1	Sam	20181109	1	5,91E-10	7,02E-12	4,18E-11	5,00E-13	1,82E-13	1,30E-08	1,53E-10	5,68E-11	1,19E-02	4,20E-03	1,17E-02	4,37E-03	1,23E+01	1,23E+01	1,37E+01	-21,762	-5,87E+01	
2	Sam	empty	1	1,50E-10	1,80E-12	6,20E-13	1,43E-11	1,72E-13	5,89E-14	1,30E-08	1,52E-10	5,67E-11	1,20E-02	4,14E-03	1,17E-02	4,37E-03	2,33E+01	2,33E+01	5,13E+01	-9,94138	-7,22E+01
3	Sam	empty	1	5,37E-10	6,34E-12	2,23E-12	4,09E-11	4,83E-13	1,73E-13	1,30E-08	1,52E-10	5,67E-11	1,18E-02	4,16E-03	1,17E-02	4,37E-03	7,10E+00	7,10E+00	4,83E+01	-26,7716	-6,92E+01
4	Ref	Glutamic,	190	4,67E-08	5,59E-10	1,98E-10	2,87E-09	3,43E-11	1,21E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,67E-11	1,20E-02	4,23E-03	1,17E-02	4,37E-03	1,99E+01	1,99E+01	3,05E+01	-14,1095	-5,19E+01
5	Ref	Glutamic,	520	1,26E-07	1,51E-09	5,34E-10	7,66E-09	9,18E-11	3,25E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,67E-11	1,20E-02	4,24E-03	1,17E-02	4,37E-03	2,03E+01	2,03E+01	2,87E+01	-13,8152	-5,01E+01
6	Ref	Glutamic,	790	1,86E-07	2,23E-09	7,95E-10	1,13E-08	1,36E-10	4,81E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,66E-11	1,20E-02	4,26E-03	1,17E-02	4,37E-03	2,05E+01	2,05E+01	2,31E+01	-13,821	-4,46E+01
7	Ref	Glutamic,	1090	2,60E-07	3,11E-09	1,11E-09	1,56E-08	1,88E-10	6,67E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,67E-11	1,20E-02	4,27E-03	1,17E-02	4,37E-03	2,05E+01	2,05E+01	2,19E+01	-13,8268	-4,34E+01
8	Ref	Glutamic,	1380	3,29E-07	3,94E-09	1,41E-09	1,96E-08	2,36E-10	8,38E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,67E-11	1,20E-02	4,27E-03	1,17E-02	4,37E-03	2,05E+01	2,05E+01	2,17E+01	-13,7888	-4,33E+01
9	Sam	It1s 1	1060	3,47E-07	4,10E-09	1,48E-09	2,06E-08	2,45E-10	8,81E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,66E-11	1,18E-02	4,27E-03	1,17E-02	4,37E-03	8,39E+00	8,39E+00	2,13E+01	-26,33	-4,28E+01
10	Sam	It1s 2	1080	3,45E-07	4,08E-09	1,47E-09	2,05E-08	2,44E-10	8,77E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,67E-11	1,18E-02	4,27E-03	1,17E-02	4,37E-03	8,64E+00	8,64E+00	2,09E+01	-26,0787	-4,24E+01
11	Sam	It1m 1	1090	3,15E-07	3,72E-09	1,35E-09	1,88E-08	2,23E-10	8,05E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,67E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	6,60E+00	6,60E+00	2,03E+01	-28,1991	-4,19E+01
12	Sam	It1m 2	1030	2,95E-07	3,48E-09	1,26E-09	1,77E-08	2,10E-10	7,57E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,67E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	6,26E+00	6,26E+00	1,99E+01	-28,5647	-4,15E+01
13	Sam	It1mk 1	930	2,05E-07	2,42E-09	8,76E-10	1,24E-08	1,47E-10	5,29E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,67E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	8,76E+00	8,76E+00	1,88E+01	-26,0275	-4,04E+01
14	Sam	It1mk 2	900	2,05E-07	2,42E-09	8,74E-10	1,24E-08	1,47E-10	5,28E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,67E-11	1,18E-02	4,26E-03	1,17E-02	4,37E-03	8,61E+00	8,61E+00	2,34E+01	-26,0353	-4,49E+01
15	Sam	It2s 1	980	3,10E-07	3,67E-09	1,32E-09	1,86E-08	2,20E-10	7,92E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,66E-11	1,18E-02	4,26E-03	1,17E-02	4,37E-03	8,02E+00	8,02E+00	2,32E+01	-26,6417	-4,47E+01
16	Sam	It2s 2	870	2,76E-07	3,26E-09	1,18E-09	1,66E-08	1,97E-10	7,09E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,66E-11	1,18E-02	4,27E-03	1,17E-02	4,37E-03	8,31E+00	8,31E+00	2,13E+01	-26,4101	-4,28E+01
17	Sam	It2m 1	960	2,71E-07	3,20E-09	1,16E-09	1,63E-08	1,93E-10	6,97E-11	1,30E-08	1,52E-10	5,66E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	5,90E+00	5,90E+00	2,05E+01	-28,9228	-4,20E+01
18	Sam	It2m 2	900	2,53E-07	2,99E-09	1,08E-09	1,53E-08	1,81E-10	6,55E-11	1,29E-08	1,52E-10	5,65E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	6,28E+00	6,28E+00	1,98E+01	-28,5537	-4,13E+01
19	Sam	Glut-A	1140	2,78E-07	3,33E-09	1,19E-09	1,67E-08	2,01E-10	7,16E-11	1,29E-08	1,52E-10	5,65E-11	1,20E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	2,06E+01	2,06E+01	1,99E+01	-13,8044	-4,15E+01
20	Sam	It2mk 1	1090	2,38E-07	2,81E-09	1,02E-09	1,44E-08	1,70E-10	6,14E-11	1,29E-08	1,52E-10	5,65E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	7,93E+00	7,93E+00	1,90E+01	-26,8754	-4,06E+01
21	Sam	It2mk 2	980	2,14E-07	2,53E-09	9,17E-10	1,30E-08	1,54E-10	5,55E-11	1,29E-08	1,52E-10	5,65E-11	1,18E-02	4,29E-03	1,17E-02	4,37E-03	8,01E+00	8,01E+00	1,84E+01	-26,818	-4,00E+01
22	Sam	Pl1s 1	920	2,96E-07	3,50E-09	1,27E-09	1,79E-08	2,13E-10	7,65E-11	1,29E-08	1,52E-10	5,65E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	9,53E+00	9,53E+00	1,98E+01	-25,199	-4,14E+01
23	Sam	Pl1s 2	940	1,81E-07	2,14E-09	7,75E-10	1,10E-08	1,31E-10	4,71E-11	1,29E-08	1,52E-10	5,65E-11	1,18E-02	4,29E-03	1,17E-02	4,37E-03	9,78E+00	9,78E+00	1,78E+01	-25,0094	-3,94E+01
24	Sam	Pl1m 1	990	2,65E-07	3,14E-09	1,13E-09	1,59E-08	1,89E-10	6,81E-11	1,29E-08	1,52E-10	5,65E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	8,23E+00	8,23E+00	1,95E+01	-26,5522	-4,10E+01
25	Sam	Pl1m 2	920	2,39E-07	2,82E-09	1,02E-09	1,44E-08	1,70E-10	6,15E-11	1,29E-08	1,52E-10	5,64E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	8,60E+00	8,60E+00	1,88E+01	-26,1898	-4,04E+01
26	Sam	Pl1mk 1	930	2,06E-07	2,44E-09	8,82E-10	1,24E-08	1,47E-10	5,31E-11	1,29E-08	1,52E-10	5,64E-11	1,18E-02	4,29E-03	1,17E-02	4,37E-03	1,02E+01	1,02E+01	1,83E+01	-24,5694	-3,99E+01
27	Sam	Pl1mk 2	890	1,94E-07	2,30E-09	8,34E-10	1,17E-08	1,39E-10	5,02E-11	1,29E-08	1,52E-10	5,64E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	8,06E+00	8,06E+00	1,90E+01	-26,7436	-4,06E+01
28	Sam	C1s 1	850	2,52E-07	2,98E-09	1,08E-09	1,51E-08	1,79E-10	6,46E-11	1,29E-08	1,51E-10	5,64E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	8,06E+00	8,06E+00	1,90E+01	-26,7049	-4,10E+01
29	Sam	C1s 2	930	2,76E-07	3,26E-09	1,18E-09	1,65E-08	1,95E-10	7,04E-11	1,29E-08	1,51E-10	5,64E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	8,08E+00	8,08E+00	1,94E+01	-26,7049	-4,10E+01
30	Sam	Glut-A	1010	2,36E-07	2,83E-09	1,01E-09	1,41E-08	1,70E-10	6,05E-11	1,29E-08	1,51E-10	5,64E-11	1,20E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	2,06E+01	2,06E+01	1,85E+01	-27,7345	-4,01E+01
31	Sam	C1m 1	840	2,23E-07	2,64E-09	9,58E-10	1,33E-08	1,58E-10	5,71E-11	1,29E-08	1,51E-10	5,64E-11	1,18E-02	4,29E-03	1,17E-02	4,37E-03	7,11E+00	7,11E+00	1,85E+01	-28,904	-4,04E+01
32	Sam	C1m 2	910	2,44E-07	2,87E-09	1,04E-09	1,45E-08	1,72E-10	6,22E-11	1,29E-08	1,51E-10	5,64E-11	1,18E-02	4,28E-03	1,17E-02	4,37E-03	5,97E+00	5,97E+00	1,88E+01	-27,1136	-4,01E+01
33	Sam	C1mk 1	1120	2,38E-07	2,81E-09	1,02E-09	1,42E-08	1,69E-10	6,10E-11	1,29E-08	1,51E-10	5,64E-11	1,18E-02	4,29E-03	1,17E-02	4,37E-03	7,71E+00	7,71E+00	1,86E+01	-27,1136	-4,01E+01
34	Sam	C1mk 2	1090	2,39E-07	2,82E-09	1,02E-09	1,43E-08	1,69E-10	6,10E-11	1,29E-08	1,51E-10	5,63E-11	1,18E-02	4,29E-03	1,17E-02	4,37E-03	7,66E+00	7,66E+00	1,82E+01	-27,1807	-3,98E+01

No	Type	Name	Weight	(%) N	(%) C
1	Sam	20181109	1		
2	Sam	empty	1		
3	Sam	empty	1		
4	Ref	Glutamic /	190	9,47	41,03
5	Ref	Glutamic /	520	9,64	41,18
6	Ref	Glutamic /	790	9,42	40,29
7	Ref	Glutamic /	1090	9,54	40,86
8	Ref	Glutamic /	1380	9,53	40,87
9	Sam	lt1s 1	1060	8,95	56,04
10	Sam	lt1s 2	1080	8,85	54,70
11	Sam	lt1m 1	1090	0,44	49,50
12	Sam	lt1m 2	1030	0,48	49,05
13	Sam	lt1mk 1	930	0,22	37,58
14	Sam	lt1mk 2	900	0,41	38,90
15	Sam	lt2s 1	980	8,83	54,18
16	Sam	lt2s 2	870	8,82	54,29
17	Sam	lt2m 1	960	0,37	48,31
18	Sam	lt2m 2	900	0,33	48,19
19	Sam	Glut-A	1140	9,70	41,81
20	Sam	lt2mk 1	1090	0,13	37,29
21	Sam	lt2mk 2	980	0,10	37,35
22	Sam	Pl1s 1	920	7,43	55,09
23	Sam	Pl1s 2	940	4,59	32,85
24	Sam	Pl1m 1	990	0,34	45,84
25	Sam	Pl1m 2	920	0,28	44,40
26	Sam	Pl1mk 1	930	0,12	37,83
27	Sam	Pl1mk 2	890	0,13	37,34
28	Sam	C1s 1	850	8,42	50,75
29	Sam	C1s 2	930	8,63	50,83
30	Sam	Glu-A	1010	9,44	39,98
31	Sam	C1m 1	840	0,33	45,49
32	Sam	C1m 2	910	0,34	45,78
33	Sam	C1mk 1	1120	0,15	36,37
34	Sam	C1mk 2	1090	0,18	37,44

5.pielikums

No	Type	Name	Weight	Sam Area(28)	Delta(15) wrt Air	Sam Area(44)	Delta(13) wrt PDB
1	Sam	empty	0				
2	Sam	empty	0				
3	Sam	empty	0				
4	Sam	Glu-A	860	9,843E-08	-4,08	2,3776E-07	-13,9328
5	Sam	Glu-A	1130	1,3198E-07	-4,4704	3,2162E-07	-14,0265
6	Sam	Glu-A	1060	1,2612E-07	-4,2122	3,0534E-07	-13,962
7	Sam	empty	0				
8	Sam	Glu-A	200	2,8744E-08	0,8078	6,5237E-08	-12,1611
9	Sam	Glu-A	500	6,2353E-08	-2,3711	1,4511E-07	-13,2445
10	Sam	Glu-A	800	9,649E-08	-3,6862	2,2602E-07	-13,6294
11	Sam	Glu-A	1100	1,3714E-07	-4,1227	3,1555E-07	-13,8838
12	Sam	Glu-A	1400	1,7489E-07	-5,0824	4,0124E-07	-13,9158
13	Sam	USGS42	880	1,1124E-07	47,594	2,5345E-07	36,69549
14	Sam	USGS42	1010				
15	Sam	USGS42	1200	2,7841E-07	46,836	6,4132E-07	36,21057
16	Sam	USGS42	1040	1,3226E-07	47,338	2,9829E-07	36,16391
17	Sam	USGS42	1040	1,2768E-07	47,545	2,8769E-07	36,29806
18	Sam	USGS40	1110	1,3386E-07	-4,2391	3,0153E-07	-26,3932
19	Sam	USGS40	1240	1,5278E-07	-4,5197	3,4254E-07	-26,4245
20	Sam	USGS40	990	1,2304E-07	-3,9328	2,7529E-07	-26,3016
21	Sam	USGS40	1160	1,3861E-07	-4,3691	3,1009E-07	-26,4053
22	Sam	USGS40	810	1,0281E-07	-3,7911	2,2606E-07	-26,219
23	Sam	Golden Pol mikst 1	880	3,9448E-09	80,145	2,4672E-07	-23,9537
24	Sam	Golden Pol mikst 2	1010	3,8283E-09	88,296	2,5986E-07	-23,9694
25	Sam	Golden Ita seklas 1	980	1,0093E-07	3,6	3,5523E-07	-28,6879
26	Sam	Golden Ita seklas 2	920	9,1778E-08	3,7566	3,1741E-07	-28,6386
27	Sam	Golden Pol seklas 1	890	8,8578E-08	4,2617	3,0403E-07	-24,2135
28	Sam	Golden Pol seklas 2	920	9,279E-08	4,2575	3,1906E-07	-24,2487
29	Sam	GalaPol seklas 1	980				
30	Sam	GalaPol seklas 2	990	2,1747E-07	3,522	6,4582E-07	-27,378
31	Sam	Gala Ita seklas 1	1010	1,3153E-07	4,0461	3,8946E-07	-25,3737

32	Sam	Gala Ita seklas 2	940	1,073E-07	4,7248	3,4863E-07	-25,5544
33	Sam	Gala Pol mikst 1	920	4,4209E-09	71,995	2,3992E-07	-27,4573
34	Sam	Gala Pol mikst 2	900	4,46E-09	73,169	2,3717E-07	-27,4807
35	Sam	Golden Ita mikst 1	990	5,1286E-09	71,356	2,5168E-07	-28,2272
36	Sam	Golden Ita mikst 2	1010	5,1786E-09	75,887	2,5501E-07	-28,2269
37	Sam	Gala Ita mikst 1	970	3,2149E-09	177,75	2,4516E-07	-25,5254
38	Sam	Gala Ita mikst 2	1090	3,4119E-09	196,72	2,7862E-07	-25,6289
39	Sam	Glu-A	1010	1,2602E-07	-1,7125	2,6176E-07	-13,9935
40	Sam	Liberty LV zav 1	1120	1,1465E-07	5,9412	3,9998E-07	-28,8976
41	Sam	Liberty LV zav 2	1150	1,1647E-07	5,8967	4,1803E-07	-29,2524
42	Sam	Dzelt LV zav 1	900	1,2277E-07	6,2848	2,8273E-07	-27,319
43	Sam	Dzelt LV zav 2	1100	1,4658E-07	5,3243	3,4611E-07	-27,7262
44	Sam	Pol zav Gala 1	1040	1,0493E-07	8,0131	3,6237E-07	-24,8585
45	Sam	Pol zav Gala 2	1210	1,2458E-07	6,9565	4,2603E-07	-24,7308
46	Sam	LV zav sark 1	970	1,0586E-07	8,791	3,2976E-07	-27,1105
47	Sam	LV zav sark 2	1070				
48	Sam	Glu-A	960	2,4202E-07	0,99455	6,2309E-07	-21,9283
49	Sam	12 spartan A 1	910	9,9709E-08	5,5714	3,1361E-07	-25,5771
50	Sam	12 spartan A 2	1020				
51	Sam	11 diyament A 1	940	1,0781E-07	5,1228	3,4701E-07	-26,2017
52	Sam	11 diyament A 2	850	1,7035E-07	3,1018	6,3348E-07	-25,8184
53	Sam	10 daina a 1	1010	1,1485E-07	5,9488	3,5311E-07	-25,3941
54	Sam	10 daina a 2	970	1,1202E-07	6,1079	3,4316E-07	-25,676
55	Sam	9 auksis a 1	1100	1,1952E-07	4,3143	3,8365E-07	-27,3132
56	Sam	9 auksis a 2	1160	1,258E-07	4,8585	4,0154E-07	-27,2764
57	Sam	8 delbarestival a 1	1140	1,1782E-07	4,7209	3,9114E-07	-26,9218
58	Sam	8 delbarestival a 1	1140				
59	Sam	8 delbarestival a 2	1160	1,3081E-07	4,0685	3,9409E-07	-26,8323
60	Sam	7 ligol a 1	980	9,0388E-08	6,9634	3,0692E-07	-26,2234
61	Sam	7 ligol a 2	1170	1,2672E-07	5,317	4,2676E-07	-27,7334
62	Sam	Glu-A	990	1,2664E-07	-0,5639	2,6264E-07	-13,4268
63	Sam	6-alesja a 1	1110	1,2754E-07	7,2191	4,0194E-07	-27,8798
64	Sam	6-alesja a 2	1170	1,2914E-07	6,5411	4,1206E-07	-26,5477

65	Sam	5 alwa a 1	970	1,1588E-07	4,5755	3,4517E-07	-26,9398
66	Sam	5 alwa a 2	1140	1,2546E-07	4,3207	3,8911E-07	-27,2423
67	Sam	4 belmal a 1	950	1,0664E-07	7,5931	3,3191E-07	-28,1072
68	Sam	4 belmal a 2	1000	1,1724E-07	6,6057	3,479E-07	-27,865
69	Sam	3 zarjaalatau a 1	1020	1,3789E-07	4,7219	3,3096E-07	-26,9782
70	Sam	3 zarjaalatau a 2	920	1,2484E-07	5,3923	2,9365E-07	-26,7908
71	Sam	2 angold a 1	1010	1,1444E-07	6,1125	3,5053E-07	-25,6802
72	Sam	2 angold a 2	1050	1,2172E-07	5,5248	3,6831E-07	-25,6589
73	Sam	Glu-A	1160	1,518E-07	-0,77213	3,1482E-07	-13,7983
74	Sam	12 spartan b 1	980	1,1957E-07	5,3562	3,7582E-07	-27,0091
75	Sam	12 spartan b 2	970	1,1053E-07	5,8967	3,3653E-07	-26,4952
76	Sam	11 diyament b 1	1120	1,1806E-07	-14,723	3,9186E-07	-27,2457
77	Sam	11 diyament b 2	1180	1,2941E-07	5,3416	4,0918E-07	-27,7077
78	Sam	10 daina b	1090	1,2064E-07	7,2354	3,7977E-07	-26,9653
79	Sam	10 daina b	1120	1,3036E-07	6,7321	3,9818E-07	-27,2585
80	Sam	9 auksis b	950	1,0309E-07	7,3279	3,2699E-07	-28,5053
81	Sam	9 auksis b	920	1,0448E-07	7,3126	3,1857E-07	-28,6243
82	Sam	8 delbarestival b 1	1000	1,0643E-07	8,5299	3,5308E-07	-27,0153
83	Sam	8 delbarestival b 2	1000	1,083E-07	7,2377	3,6409E-07	-27,2108
84	Sam	7 ligol b 1	920	9,9308E-08	7,6456	3,2713E-07	-29,2474
85	Sam	7 ligol b 2	960	1,1123E-07	12,35	3,4067E-07	-29,096
86	Sam	Glu-A	1100	1,3748E-07	0,40896	2,8369E-07	-13,8498
87	Sam	6 alesja b 1	1010	1,1788E-07	9,4376	3,4645E-07	-26,8258
88	Sam	6 alesja b 2	940	1,1471E-07	9,764	3,3454E-07	-26,6072
89	Sam	5 alwa b 1	1230	1,4702E-07	4,2153	4,1284E-07	-28,4603
90	Sam	5 alwa b 2	1240	1,4835E-07	4,3354	4,3568E-07	-28,5312
91	Sam	4 belmol b 1	1040	1,1749E-07	8,0611	3,5288E-07	-27,8172
92	Sam	4 belmol b 2	1140	1,3195E-07	6,9193	3,8791E-07	-27,9739
93	Sam	3 zarjaalatau b 1	1090	1,4798E-07	4,9355	3,4901E-07	-27,5041
94	Sam	3 zarjaalatau b 2	1160	1,638E-07	4,5107	3,7644E-07	-27,4399
95	Sam	2 angold b 1	910	1,0384E-07	8,3342	2,6504E-07	-31,8358
96	Sam	2 angold b 2	1090	1,1929E-07	6,9652	3,7744E-07	-27,4973
97	Sam	Glu-A	1230	1,5978E-07	-0,07104	3,3057E-07	-14,1583

98	Sam	12 spartan c 1	1090	1,2459E-07	6,575	3,8325E-07	-26,8593
99	Sam	12 spartan c 2	940	1,0988E-07	7,6597	3,3807E-07	-27,4495
100	Sam	11 diyament c 1	1180	1,2259E-07	7,1014	4,2349E-07	-27,2721
101	Sam	11 diyament c 2	1140				
102	Sam	10 daina c 1	880	1,1531E-07	7,9641	4,0451E-07	-27,3181
103	Sam	10 daina c 2	1180	9,6793E-08	10,601	2,9892E-07	-27,4761
104	Sam	9 auksis c 1	870	2,1854E-07	4,1497	7,0044E-07	-28,9498
105	Sam	9 auksis c 2	1170				
106	Sam	8 delbarestival c 1	830	2,2977E-07	2,9448	6,8261E-07	-29,5428
107	Sam	8 delbarestival c 2	950	1,0381E-07	9,2276	3,1562E-07	-28,2653
108	Sam	7 ligol c 1	1110	1,235E-07	7,7401	3,8494E-07	-28,1168
109	Sam	7 ligol c 2	1240	1,3328E-07	7,0398	4,4475E-07	-28,039
110	Sam	Glu-A	1180	1,3257E-07	-0,74336	3,2795E-07	-14,3202
111	Sam	6 alesja c 1	1000	1,2593E-07	10,469	3,3736E-07	-29,5048
112	Sam	6 alesja c 2	1050	1,2023E-07	9,5959	3,6579E-07	-29,268
113	Sam	5 alwa c 1	920	1,0285E-07	8,5819	3,1423E-07	-29,1782
114	Sam	5 alwa c 2	1010	1,1387E-07	7,8015	3,4985E-07	-29,3017
115	Sam	4 belmol c	980	1,0732E-07	10,631	3,3335E-07	-29,2411
116	Sam	4 belmol c	1160	1,2156E-07	9,1692	3,9605E-07	-29,4665
117	Sam	3 zarjaalatau c 1	1100	1,2723E-07	7,6293	3,6618E-07	-27,9652
118	Sam	3 zarjaalatau c 2	1150				
119	Sam	2 angold c	860	2,512E-07	2,2683	6,8639E-07	-27,1443
120	Sam	2 angold c	1130	1,3344E-07	6,8544	4,0139E-07	-26,0764
121	Sam	Glu-A	1080	1,4068E-07	1,8243	2,8889E-07	-14,0796

Maģistra darbs „Oglekļa un slāpekļa izotopu attiecību pētīšana dažādas šķirnes ābolos” izstrādāts LU Ķīmijas fakultātē.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors: _____
(personiskais paraksts) (paraksta atšifrējums)

Rekomendēju/nerekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs profesors, Dr. chem. Arturs Vīksna: _____
(personiskais paraksts) (datums)

Recenzents asociētais profesors, Dr.chem. Vadims Bartkēvičs

(personiskais paraksts) (datums)

Darbs iesniegts Ķīmijas fakultātē _____ (datums)

Dekāna pilnvarotā persona, metodiķe _____ Vija Gutāne
(personiskais paraksts)

Darbs aizstāvēts maģistra gala pārbaudījuma komisijas sēdē:

_____ protokols Nr. _____ (ieraksta sekretārs)
(datums) (protokola Nr.)

Komisijas sekretāre, lektore: _____
(personiskais paraksts) (paraksta atšifrējums)