

LATVIJAS UNIVERSITĀTE  
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

**SMAGO METĀLU NOTEIKŠANA ŠOKOLĀDĒ,  
IZMANTOJOT INDUKTĪVI SAISTĪTĀS PLAZMAS  
MASSPEKTROMETRIJAS METODI**

BAKALaura DARBS

Autors: **Jūlija Puncule**

Studenta apliecības Nr.: jp15024

Darba vadītājs: Asoc. Prof., Dr. sc. ing. Kristīna Tihomirova  
(RTU, ZI “Bior”)

RĪGA

2018

## ANOTĀCIJA

**Smago metālu noteikšana šokolādē, izmantojot induktīvi saistītās plazmas masspektrometrijas metodi.** Puncule J., zinātniskais vadītājs Dr. sc. ing., asoc. prof. Tihomirova K. Bakalaura darbs, 45 lappuses, 16 attēli, 11 tabulas, 59 literatūras avoti, 1 pielikums. Latviešu valodā.

Darbā tiek veikta šokolādes paraugu sagatavošana un analizēšana. Smago metālu (Cd, Pb, As, Sb, Cr, Zn) koncentrācijas noteikšanai paraugos tiek lietots induktīvi saistītās plazmas masspektrometrs. Paraugu sagatavošanai tiek izmantota slapjā mineralizācija mikroviļņos.

ŠOKOLĀDES ANALĪZE, SMĀGIE METĀLI, INDUKTĪVI SAISTĪTĀS PLAZMAS MASSPEKTROMETRS, ICP-MS.

## **ABSTRACT**

**Determination of heavy metals in chocolate by inductively coupled plasma mass spectrometry.** Puncule J., supervisor Assoc. prof. Dr. sc. ing. Tihomirova K. Bachelor thesis, 45 pages, 16 images, 11 tables , 59 literature sources, 1 appendice. In Latvian.

The work involves the preparation and analysis of chocolate. The Determination of heavy metals (Cd, Pb, As, Sb, Cr, Zn) was performed by inductively coupled plasma mass spectrometry. Microwave digestion is used for sample preparation.

CHOCOLATE ANALYSIS, HEAVY METALS, INDUCTIVELY COUPLED PLASMA MASS SPECTROMETRY, ICP-MS.

# SATURA RĀDĪTĀJS

Anotācija.....	1
Abstract.....	2
Satura rādītājs.....	3
Darbā izmantotie apzīmējumi .....	4
Ievads.....	5
1. Literatūras apstats.....	6
1.1. Šokolāde.....	6
1.2. Vides piesārņojums ar smagiem metāliem .....	8
1.2.1. Smagie metāli šokolādē .....	10
1.2.2. Ar ICP-MS nosakāmo šokolādē metālu apraksts .....	11
1.3. Slapjās mineralizācijas izmantošana paraugu sagatavošanā .....	14
1.3.1. Mikroviļņu enerģijas lietošana slapjā mineralizācijā .....	14
1.3.2. Slapjā mineralizācija slēgtos traukos.....	15
1.4. Smago metālu noteikšanas metodes .....	17
1.4.1. Induktīvi saistītas plazmas masspektrometrija .....	19
2. Eksperimentālā daļa.....	26
2.1. Reaģenti un šķīdumi .....	26
2.2. Trauki un aparatūra.....	26
2.3. Paraugu pagatavošana.....	26
2.4. Šķīdumu pagatavošana .....	28
2.5. Analīžu veikšana .....	29
3. Rezultāti un to izvērtējums .....	31
Secinājumi .....	39
Literatūras apskats.....	40
1. pielikums.....	45

## DARBĀ IZMANTOTIE APZĪMĒJUMI

ICP-MS – ar induktīvi saistītas plazmas masspektrometrija

EFSA – Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestāde

PSRS – Padomju Sociālistisko Republiku Savienība

PVC – polivinilhlorīds

WHO – Pasaules Veselības organizācija

ZBLH - zema blīvuma lipoproteīnu holesterīns

ABLH – augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns

DNS – dezoksiribonukleīnskābe

PFA – perfluoroēters

FAAS – liesmas atomabsorbcijas spektrometrija

ETAAS – elektrotermālās atomabsorbcijas spektrometrija

ICP-OES – ar induktīvi saistītas plazmas optiskās emisijas spektrometrija

HGAAS – hidrīdu ģenerēšanas atomabsorbcijas spektrometrija

## IEVADS

Šokolāde ir kakao pupiņu izstrādājums kuras sastāvā ir daudz ogļhidrātu, tāpēc tas ir bagātīgs enerģijas avots. Bet paaugstinātas smago metālu koncentrācijas šokolādē un citu kakao bāzes produktos ir problēma, kura ir attīstījusies ar laiku un visu šo laiku nezaudē savu aktualitāti. Mūsdienās šokolādi izmanto dažādās jomās, tā ir nozīmīga kulinārijas sastāvdaļa, to izmanto skaistumkopšanā (šokolādes SPA procedūras, šokolādes masāžas un maskas) to lieto noguruma mazināšanai un garastāvokļa uzlabošanai. Šokolādes patēriņš tiek mērīts globālā mērogā [1]. Kotdivuārā 2012. gadā bija saražots 1 448 992 tonnu kakao apjoms, bet jau 2015. gadā šis daudzums bija līdzvērtīgs 1 648 992 tonnu lielai masai [2].

Ilgstoša saskare ar smagajiem metāliem nelielās devās var izraisīt daudz dažādas nevēlamas sekas, īpaši bērniem (ņemot vērā, ka toksiskiem metāliem ir tendence uzkrāties organismā), jo viņi ir daudz jutīgāki smago metālu iedarbībai uz organismu.

Lai noteiktu smago metālu koncentrāciju pārtikas paraugos bieži izmanto induktīvi saistītās plazmas masspektroskopiju (ICP-MS).

**Darba mērķis:** noteikt smago metālu koncentrāciju šokolādes paraugos.

### **Uzdevumi:**

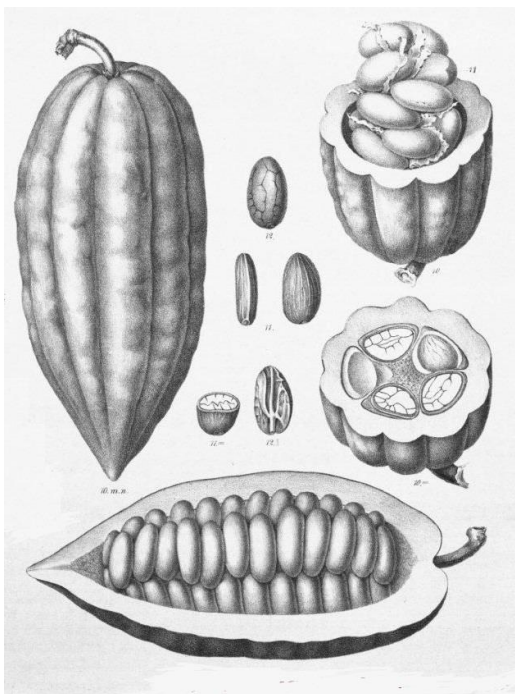
- Izpētīt literatūru par smago metālu noteikšanas metodēm;
- Apgūt ar ICP-MS smago metālu noteikšanas metodi un pārtikas paraugu sagatavošanas metodi;
- Veikt šokolādes paraugu sagatavošanu;
- Veikt šokolādes paraugu analīzi ar ICP-MS;
- Novērtēt iegūtos rezultātus un salīdzināt tos.

# 1. LITERATŪRAS APSKATS

## 1.1. Šokolāde

Šokolāde ir ļoti populārs produkts, viens no iecienītākajiem konditorejas izstrādājumiem. Šokolādes galvenās izejvielas ir kakao masa, kakao sviests un cukurs. Ir četri šokolādes veidi, kuri atšķirās gan pēc garšas, gan pēc sastāva: rūgtā šokolāde, tumšā šokolāde, piena un baltā. Rūgtā šokolādē kakao masas un kakao sviesta kopējais saturs ir parasti ne mazāks par 70%-90%. Tumšā šokolādē kakao saturs ir mazāks, vidēji tas ir 40% - 60%. Piena šokolādes sastāvā ir ne tikai kakao masa, kakao sviests un cukurs, bet arī piena pulveris. Piena šokolāde ir izņēmums, jo piena šokolādes sastāvā nav kakao masas, tikai kakao sviests, piens un cukurs [3].

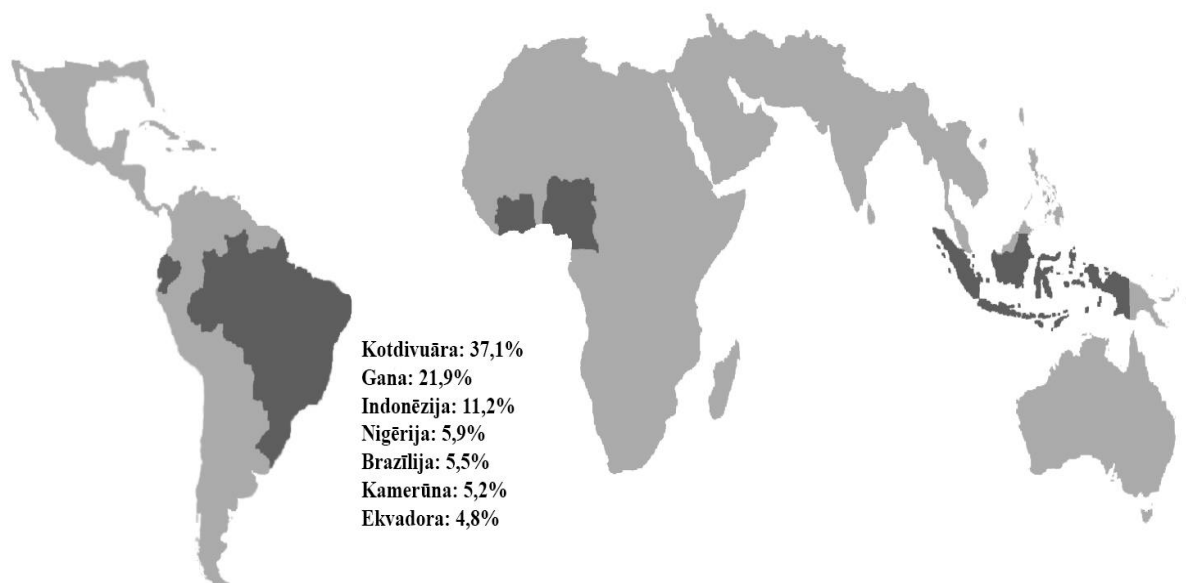
Šokolāde ir produkts, kas prasa sarežģītas ražošanas procedūras. Process ietver kakao pupiņu (*Theobroma cacao*) piegādi rūpnīcā, tīrīšanai no cietajām apvalka daļiņām.



1.1. att. Kakao pupiņas (*Theobroma cacao*) [4]

Šīs kakao pupiņas tiek importētas vai eksportētas uz citām valstīm. Kakao pupiņas nāk no Amerikas, Āfrikas un Āzijas. Pašlaik lielākās kakao ražotājvalstis ir Kotdivuāra un Gana. No šīm valstīm tiek novāktas apmēram 50% no pasaules kakao produkcijas. Pēc Kotdivuāras un Ganas seko Indonēzija, Nigērija, Kamerūna, Brazīlija un Ekvadora.

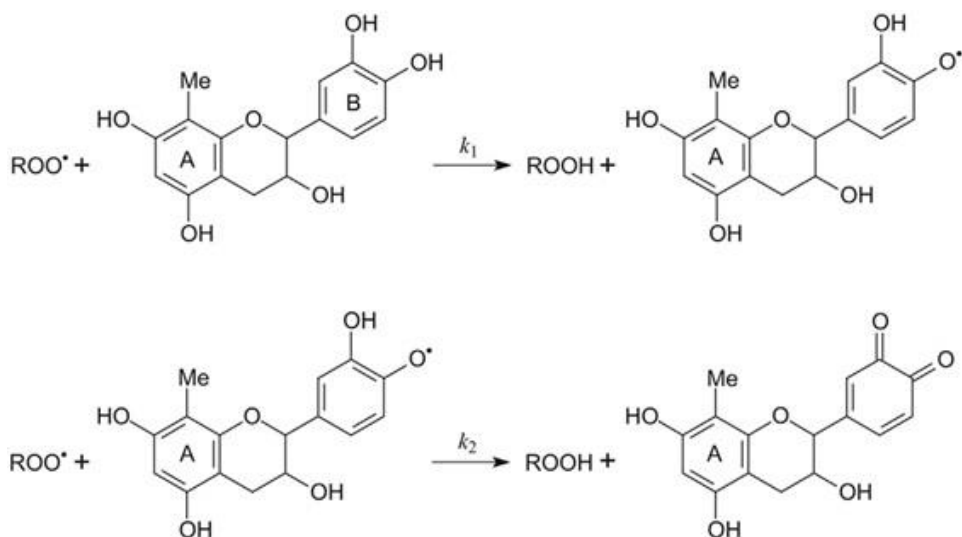
Pēc izžāvēšanas atlikušo kakao pupiņu lielāko daļu nosūta uz Eiropu un Ameriku, kur tās izlaiž caur drupinātāju. Pēc tam sadrupinātās kakao pupiņas apgrauzdē un smalki samaļ, lai iegūtu produktu, kuru dēvē par kakao masu, kuru pēc tam presē, un pagatavo kakao sviestu. Kakao sviestu izmanto, lai samazinātu iegūtās šokolādes viskozitāti. Pēc presēšanas no kakao masas iegūst aptuveni 55% kakao sviestu un 45% kakao pulveri [5, 6].



1.2. att. Pasaules kopējais kakao produkcijas daudzums dažādos apgabalos [6]

Šokolādes sastāvā ir daudz komponentu, kas uzlabo garastāvokli un dod mums enerģiju. Šokolāde satur taukus, oglehidrātus, olbaltumvielas, tanīnus, un tādus alkaloīdus kā kofeīns un teobromīns. Kofeīna un teobromīna saturs šokolādē var sasniegt 1 %-1,5 %. Kofeīns un teobromīns aktivizē centrālo nervu sistēmu, samazina nogurumu [7].

Šokolāde ir produkts, kurā ir atrodami dabiskie antioksidanti – flavonoīdi: katehīni, epikatehīni un procianidīni. Piemēram, kopējais flavonoīdu un procianidīnu saturs ir 1400,0 mg uz 100 grami tumšās šokolādes, bet baltā šokolādē ir tikai 70,0 mg uz 100 gramiem. Šokolādes ir kā stiprs antioksidants kas paaugstina cilvēka rezistenci pret insulīnu, kas nozīme ka šokolāde ar lielu kakao masas saturu var samazināt cukura diabēta risku (īpaši šokolāde ar saldīnātājiem). Kakao aizsargā nervu sistēmu, aizsargā ādu no UV starojuma oksidatīviem bojājumiem, kakao labvēlīgi ietekmē sāta sajūtu, kognitīvo funkciju un garastāvokli [8].



### 1.3. att. Katehīna antioksidanta iedarbība [9]

Bet šokolādes lietošanai uzturā varētu būt arī negatīvas sekas. Vispirms, produktiem no šokolādes vienmēr ir liela kaloritāte, kas nozīmē, ka bieža šokolādes lietošana var izraisīt aptaukošanu. Cukurs, kas ir viens no šokolādes sastāvdaļām var izraisīt zobu bojāšanos un kariesu. Ar šokolādi jābūt uzmanīgiem tiem cilvēkiem, kuriem ir iedzimta vielmaiņas slimība fenilketonūrija, jo šokolādes sastāvā ir tāda neizstājama aminoskābe kā fenilalanīns [10]. Viens no šokolādes ēšanas riskiem ir saindēšanas ar smagiem metāliem. Ņemot vērā to, ka šokolādes un kakao produktu patēriņš turpina pieaugt visā pasaulē, kakao produktu kvalitātes kontrole un produktu pārbaudes uz smago metālu klātbūtni ir nepieciešamas darbības. Jebkurš smago metālu daudzums ir bīstams bērnu veselībai, jo bērni ir īpaši jutīgi pret smago metālu iedarbību.

### 1.2. Vides piesārņojums ar smagiem metāliem

Valstīs ar augsti attīstītu rūpniecību vides piesārņojums ar smagiem metāliem ir kļuvis par nozīmīgu sabiedrisko problēmu. Smagie metāli ir metāli un metalloīdi ar atommasu lielāku par 50, tie ir Be, Co, Ni, Cu, Zn, Sn, As, Se, Te, Rb, Ag, Cd, Au, Hg, Pb, Sb, Bi, Pt, Cr. Pārmērīgi liels smago metālu daudzums vidē un pārtikā nav vēlams. Galvenie vides piesārņotāji no smago metālu grupas ir Pb, Cd, As, Zn, jo to izmantošanas tendence tehnisko progresu dēļ palielinās. Pārmērīga smago metālu uzņemšana traucē dzīvo organismu darbību, rada problēmas ar vielmaiņu, kavē augšanu un attīstību. Cilvēka vai dzīvnieka organismā smagie metāli uzkrājas un to ievadīšana no organisma ir laikietilpīgs process.

Piesārņojumam ar smagajiem metāliem tiek pakļauta gan zemes virsma, gan atmosfēra. Atmosfērā smagie metāli pastāv jonu formā vai aerosolu sastāvā un to daudzums tehnogēnisko emisiju dēļ pakāpeniski palielinās. Dažos pētījumos ir pierādīts, ka augsnes piesārņojums rūpniecisko uzņēmumu un fabriku dēļ ir novērojams lielā attālumā no metālu emisiju avota, 10–12 km attālumā un vairāk.

Tādai smago metālu grupai kā Cd, Pb, Zn, Cu, Ni skābā vidē ir ievērojama mobilitāte augsnē, bet sārmainā vidē tie kļūst inerti. Bet hromam dabiskos apstākļos nav raksturīga mobilitāte vai tā ir ievērojami mazāka.

Tehnogēna augsnes piesārņojuma avoti ir galvenokārt metalurģijas uzņēmumi, polimetālu rūdas atradnes, termoelektrostacijas, autotransports. Piesārņojumam ir visvairāk pakļauta augsne 1–3 km rādiusā no raktuvēm un termoelektrostacijām, 4–5 km no krāsaino metālu uzņēmumiem un 50–100 m no autoceļa.

Smagiem metāliem ir tendence uzkrāties augsnes virsmas slānī 0–20 cm, kur tie pastāv jonu formā humusvielas, karbonātu, Al, Fe un Mn oksīdu sastāvā. Šķīstošu smago metālu formu īpatsvars ūdenī ir neliels, bet ļoti stipra piesārņojuma gadījumā ūdenī šķīstošs smago metālu daudzums kļūst par ekoloģiski bīstamo faktoru.

Augsnes smago metālu daudzuma pieauguma dēļ palielinās to koncentrācija augos. Tāpēc augu izcelsmes pārtikas produktu kvalitātes jautājums pašlaik ir ļoti aktuāls. Smago metālu uzkrāšanās cilvēka ķermenī galvenokārt ir saistīta ar pārtiku un mazāk ar ūdeni un gaisu.

Daudzos pētījumos ir pierādīta augu spēja pasargāt sevi no smago metālu pārpalikuma. Auga sakņu sistēmai ir ļoti svarīga loma tas aizsardzībā. Uz sakņu spēju uzkrāt lieko metāla jonu daudzumu ir pievērsta daudzu pētnieku uzmanība. PSRS zinātnieks Jevgeņijs Ratners 1950. gadā bija viens no pirmajiem, kurš pētīja šī aizsargfunkcijas izpausmi. Saknes aiztur smago metālu jonus, no kā kaitīgo metālu koncentrācija citās augu daļās būtiski nepalielinās. Piemēram, pēc mākslīgas augsnes bagātināšanās ar kadmiju, tomātu saknes uzkrāj ievērojami lielāku smago metālu daudzumu (20–30 reizes), nekā tomātu augļi (sk. 1.1. tabulu) [11].

**Kadmija daudzums tomāta saknēs un augļos, mg/100 g sausas masas**

Kadmija daudzums augu laistīšanas šķīdumā, mg/L	Kadmija daudzums tomāta saknēs	Kadmija daudzums tomāta augļos
0	0,3 – 0,5	0 – 0,7
1,5	160 – 180	5 – 7
3	300 – 320	7 – 9
7,5	480 – 510	14 – 23
15	700 – 780	21 – 39
22,5	850 – 950	18 – 32

Pēc datiem, kas ir apkopotie 1.1. tabulā var redzēt ka, neskatoties uz auga spēju uzkrāt smagos metālus, noteikts metālu daudzums uzkrājas arī auga augļos. Tāpēc, ņemot vērā, ka kakao pupiņas cilvēki izmanto pārtikā, ir svarīgs nepārtraukta gatavas produkcijas kvalitātes kontrole.

### 1.2.1. Smagie metāli šokolādē

Galvenais smago metālu avots šokolādē ir kakao. Pastāv korelācija starp kakao saturu šokolādē un smago metālu koncentrāciju. No tā izriet ka smago metālu koncentrācija būs lielāka šokolādes izstrādājumos ar lielu kakao saturu, nekā konfektēm uz cukura bāzes vai baltā šokolādē [12].

Kakao augi aug pārsvarā tur, kur ir liels nokrišņu daudzums un liels mitrums, kas ir tipisks tropu klimatam. Tāds klimats palielina nepieciešamību lietot pesticīdus, lai aizsargātu augu no kaitēkļiem, parazītiem, nezālēm. Savukārt, pesticīdu un mēslošanas līdzekļu izmantošana var palielināt augsnes piesārņojumu ar smagiem metāliem, un palielināt šo metālu uzkrāšanos kakao pupiņās, no kurām tiek gatavota šokolāde. Smago metālu daudzumu augos ietekmē daudzi faktori:

- Pilsētas vai valsts iedzīvotāju blīvums un radītājs atkritumu daudzums;
- Ražošanas rūpnīcu un fabriku daudzums;
- Fungicīdu (ķīmiskās vielas, kas lieto lai aizsargātu augu vai koku no parazītiskajām sēnēm) un mēslošanas līdzekļu sastāvs;
- Atmosfēras piesārņojuma gāzu emisijas;
- Ģeogrāfiskā atrašanās vieta (temperatūra, klimats, tektoniskā struktūra);
- Augsnes sastāvs (pH, makro un mikroelementu daudzums) [13, 14].

## 1.2.2. Ar ICP-MS nosākamo šokolādē metālu apraksts

**Kadmiji.** Dabas piesārņošanu ar kadmiju izraisa galvenokārt cilvēku darbība. Kadmija uzkrāšanas augsnē notiek antropogēnu darbību rezultātā. Kadmija uzkrāšanas augsnē izraisa nopietnus draudus gan cilvēkiem, gan dzīvniekiem [15].

Kadmiji cilvēkam ir toksisks pat ļoti zemās koncentrācijās. Šis metāls var ietekmēt visa ķermeņa darbību. Tas var ietekmēt asinsspiedienu, izraisīt kaulu un nieru bojājumus, aizkuņģa dziedzera vēzi [16]. Kadmiji ļoti kaitīgi ietekmē centrālo nervu sistēmu, mazina smadzeņu asinsriti. Tas izraisa neironu bojājumu un līdz ar to samazina uzmanības līmeni, pasliktina atmiņu un koncentrācijas spējas, kā arī augstās koncentrācijās var radīt dezorientāciju [17].

2009. gadā EFSA (European Food Safety Authority) ekspertu grupa konstatēja, ka kadmija pieļaujamu nedēļas devu jāsamazina līdz 2,5 µg/kg ķermeņa svara [18]. Komisijas Regula (EK) Nr. 488/2014 noteica ierobežojumus (kas būs spēkā no 2019. gada janvāra) kadmija koncentrācijai šokolādes produktos: piena šokolādē ar kakao saturu mazāku par 30% kadmija maksimāli pieļaujama koncentrācija ir 0,10 mg/kg, šokolādē ar kakao saturu līdz 50% (vai piena šokolādē virs 30%) kadmija norma ir līdz 0,30 mg/kg. Bet šokolādē ar kakao saturu virs, vai vienādu ar 50% kadmija koncentrācijai aizliegts būt lielākai par 0,80 mg/kg [19].

Kadmija avoti:

- Ķīmiskie strāvas avoti (kadmija elektrodi: Ni-Cd un Ni-Ag akumulatori);
- Pigmenti (stikla, plastika un keramikas pigmenti);
- Polivinilhlorīda (PVC) stabilizatori;
- Tērauda un citu metālu pārklājumi;
- Saules baterijas un elektroierīces;
- Fungicīdi un mēslošanas līdzekļi [15].

**Svins.** Parasti svins nokļūst organismā caur gastrointestinālo traktu vai caur elpošanas sistēmu. Jā cilvēkam ir dzelzs, kalcija vai cinka deficīts, tad absorbētais svina daudzums varētu palielināties. Svins uzkrājas galvenokārt smadzenēs, nierēs, aknās un kaulos. Palielinoties kaulu metabolismam, piemēram, grūtniecības laikā, svins no kauliem iekļūst asinsrites sistēmā, radot draudus bērna veselībai. Tā kā svinam piemīt tieksme uzkrāties organismā, tas var kļūt par brīvo radikāļu avotu, kas palielina risku vēža saslimšanai [20].

Svinam piemīt neirotoksiska iedarbība uz centrālo un perifēro nervu sistēmu, īpaši ietekmējot smadzeņu garozu, hipokampu un smadzenītes, var izraisīt perifēro neiropātiju [21]. Daži pētījumi pierāda, ka svins negatīvi ietekmē imūnsistēmu, pasliktina limfocītu

funkcionēšanu un samazina citokīnu producēšanu [22]. Bērni ir īpaši jutīgi pret svina toksisko iedarbību. Pat niecīgs svina daudzums izraisa nelabvēlīgas sekas. Svins visvairāk ietekmē nervu sistēmu, izraisot uzvedības un mācīšanas problēmas, krampjus, komu un nāvi [23].

WHO (World Health Organization) noteica bērniem pieļaujamu nedēļas svina devu, kas ir 25 µg/kg ķermeņa svara [24].

Svina avoti:

- Ķīmiskie strāvas avoti;
- Lodes;
- Krāsvielas;
- Rotaļlietas;
- Svina ūdens caurules (ūdens);
- Dekoratīvā kosmētika;
- Automašīnu emisijas [20].

**Arsēns.** Arsēns palielina onkoloģisko slimību attīstības risku, kā arī tam piemīt cita veida toksiska iedarbība. Arsēns izraisa ādas bojājumus, glikozes metabolisma pārmaiņas, kā rezultātā var rasties cukura diabēts. Šī metāla koncentrācijas pieaugums organismā ir viens no kardiovaskulāriem riska faktoriem, kas izraisa asinsvadu iekaisumu, sirds un asinsvadu slimības, paaugstina asinsspiedienu. Raksturīgas arī neiroloģiskas problēmas un attīstības traucējumi. Ļoti bīstama ir grūtnieču ekspozīcija palielinātam arsēna daudzumam, jo tas spēj šķērsot placentu un izgulsnēties augļa audos. Pēc dzimšanas šādiem bērniem raksturīgi neiroloģiskās sistēmas defekti, intelektuālās un fiziskās attīstības traucējumi.

Divos dažādos pētījumos noteikta maksimāli pieļaujama arsēna diennakts deva svārstās no 0,50 līdz 2,66 µg/kg ķermeņa svara [25].

Arsēna avoti:

- Arsēna savienojumi, kas lietoti stomatoloģijā;
- Pigmenti, krāsvielas;
- Pesticīdi, insekticīdi;
- Pusvadītāju materiāli;
- Svina sakausējumu legēšana [26, 27, 28, 29].

**Cinks.** Tāds smags metāls kā cinks piedalās bioloģiskajos procesos un noteiktos daudzumos nepieciešams cilvēka organismam. Bet no otras puses vairāki pētījumi pierāda, ka cinkam piemīt negatīva ietekme uz cilvēka organismu. Cinka toksiskas izpausmes: galvassāpēs, vēdera krampji, slikta dūša, vemšana.

Relatīvi zemas cinka devas, bet kas ir lielākas par diennakts nepieciešamo cinka daudzumu ( 100-300 mg cinka pret cilvēkam nepieciešamo 15 mg diennakts devu), var

izraisīt vara deficītu organismā, kuras blaknes ir anēmija, neitropēnija, imūnsistēmas funkcionēšanās pasliktināšana. Subjektiem, kuri saņem ~300 mg cinka diennakts devu, ir novērojams ZBLH līmeņa paaugstināšana un ABLH līmeņa pazemināšana, kas palielina aterosklerozes saslimšanas risku [30].

Cinka avoti:

- Tērauda un citu metālu pārklājumi (cinkošana);
- Ķīmiskie strāvas avoti;
- Krāsvielas un pigmenti;
- Kosmētika;
- Elektroiekārtas;
- Metālu sakausējumi;
- Riepas [31].

**Antimons.** Antimona piesārņošana ir gan antropogēnu darbības rezultāts, gan dabisko procesu rezultāts (vulkāna izvirdumi, mežu ugunsgrēki, biogēnie avoti). Caur pārtikas produktiem iegūtais antimona daudzums (0,529 mg uz kilogramu ķermeņa svara) negatīvi ietekmē kuņģa-zarnu trakta sistēmu un var izraisīt vemšanu. Lielākas antimona devas, kas cilvēks var iegūt caur elpošanas sistēmu izraisa negatīvus sirds darbības efektus, caureju, vemšanu, čūlas. Sievietēm, kas strādā antimona metalurģijas rūpnīcās cieš no traucējumiem ar menstruālo ciklu un viņiem pastāv palielināts spontāna aborta risks. Diennakts pieļaujama antimona deva ir 6 μg/kg ķermeņa svara.

Antimona avoti:

- Ķīmiskie strāvas avoti;
- Šaujamočļi un lodes;
- Stikla un keramikas izstrādājumi;
- Krāsvielas un pigmenti;
- Ugunsizturīgie materiāli;
- Termoelektriskie sakausējumi.
- Pusvadītāji, infrasarkanu staru detektori, diodes;
- Tekstilizstrādājumi [32].

**Hroms.** Daudzas vides sistēmas ir piesārņotas ar hromu, tāpēc ka to ļoti plaši izmanto daudzos rūpnieciskos procesos. Hroms vidē pastāv dažādās formās, no Cr<sup>2+</sup> līdz Cr<sup>6+</sup>. Zemās koncentrācijās hroms ir nepieciešams cilvēka organismam. Šī elementa deficīta simptomi organismā ir traucēta glikozes tolerance, glikozūrija, paaugstināts insulīna līmenis, paaugstināts triglicerīdu daudzums un holesterīns.

Visbiežāk sastopamas ir  $\text{Cr}^{3+}$  un  $\text{Cr}^{6+}$  formas, kurām piemīt arī toksiskās, genotoksiskās un kancerogēnās īpašības, izraisot proteīnu, DNS bojājumus.  $\text{Cr}^{6+}$  joni ir daudz bīstamāki nekā  $\text{Cr}^{3+}$ , jo tas vieglāk iekļūst šūnās,  $\text{Cr}^{6+}$  ir mazāk stabili un ļoti reaģētspējīgi. Jau nonākot organismā  $\text{Cr}^{6+}$  reducējas par  $\text{Cr}^{5+}$  un  $\text{Cr}^{3+}$ .

Pārtikā galvenokārt ir sastopama  $\text{Cr}^{3+}$  forma, kurai ir mazāka absorbcija, tāpēc arī mazāks toksiskums. Bet trīsvalenta hroma pārmērīgai lietošanai arī ir iespējama nelabvēlīga ietekme.

Pētījumos ar cilvēkiem nebija pierādīts, ka  $\text{Cr}^{3+}$  savienojumi negatīvi ietekmē reproduktīvo sistēmu. Bet žurkām trīsvalentais hroms izraisa auglības samazināšanos. Cita nevēlama blakusparādība, kas bija konstatēta pētījumos pēc lielas hroma daudzuma lietošanas ir rābdomiolīze jeb muskuļu sabrukums, bet pētījumā nebija ņemti tādi faktori, kā smagas fiziskas aktivitātes, traumas, krampji. Cilvēki ar nieru vai aknu slimībām varētu būt īpaši jūtīgi pret nelabvēlīgu ietekmi uz organismu, ko izraisa liels uzņemtais hroma daudzums. Bet nebija atrasti pierādījumi, kas liecina par negatīvu ietekmi saistītu ar pārmērīgu hroma uzņemšanu no pārtikas.

Hroma avoti:

- Tērauda un citu metālu pārklājumi;
- Ugunsizturīgie materiāli;
- Metālu sakausējumi;
- Krāsvielas un pigmenti;
- Auduma kodināšanas līdzekļi;
- Koksnes antiseptiskie līdzekļi [33, 34].

### **1.3. Slapjās mineralizācijas izmantošana paraugu sagatavošanā**

Slapjā mineralizācija ir vispopulārākā metode smago metālu analīzei. Paraugu gatavošanai izmanto slapjo mineralizāciju atvērtos vai slēgtos traukos. Lai samazināt mineralizācijas laiku, visbiežāk izmanto termisko un mikroviļņu enerģijas avotus.

#### **1.3.1. Mikroviļņu enerģijas lietošana slapjā mineralizācijā.**

Mikroviļņi ir elektromagnētiska starojuma veids. Jonu vadāmības un dipolu rotācijas rezultātā ar mikroviļņu starojumu, nemainot molekulas struktūru, ir iespējama objekta karsēšana. Mikroviļņu starojuma frekvence atrodas parasti 300 – 300 000 MHz intervālā.

Traukiem, ko izmanto slapjā mineralizācijā ar mikroviļņu enerģijas avotu, jābūt izgatavotiem no materiāliem, kas nodrošina zemu enerģijas zudumus. Tāpēc ir svarīgi lai trauku sienīgas neabsorbē mikroviļņu starojumu, bet lai to cauri līdz pētāmajam šķīdumam. Materiāla spēju pārveidot mikroviļņu enerģiju siltumenerģijā raksturo zuduma tangenss, kura vērtības ir apkopotas zemāk (sk. 1.2. tabula).

1.2. tabula

**Materiālu zuduma tangensa vērtības**

Materiāls	Temperatūra, °C	tgδ, ·10 <sup>4</sup>
Kausēts kvarcs	25	0,6
Keramika F-66	25	5,5
Porcelāns Nr. 4462	25	11,0
Fosfāta stikls	25	46,0
Borsilikāta stikls	25	10,6
Stikls Nr. 0080	25	126,0
Organiskais stikls	25	57,0
Neilons 66	25	128,0
Polivinilhlorīds	25	55,0
Polietilēns	25	3,1
Polistirols	25	3,3
Teflons PFA	25	1,5

Teflons un polistirols ir materiāli, kas labi laiž cauri mikroviļņu starojumu. Kvarcs, stikls un plastmasas arī neabsorbē mikroviļņu starus un slikti pārnes siltumu. Visi materiāli ar tādām īpašībām ir piemēroti darbam ar mikroviļņu krāsni. Izvēloties trauku materiālus, tiek ņemtas vērā vēl divas pamatprasības: ķīmiskā un termiskā stabilitāte.

### 1.3.2. Slapjā mineralizācija slēgtos traukos.

Visizplātītākā paraugu sagatavošanas metode mikroviļņu režīmā ir slapjā mineralizācija slēgtos traukos. Tās priekšrocības:

- Tiek sasniegtas augstākās temperatūras, jo paaugstinot spiedienu, palielinās skābes viršanas temperatūra;
- Tiek novērsti gaistošu elementu zudumi;
- Tiek samazināts skābes patēriņš;
- Tiek samazināts skābes tvaiku kaitīgums, jo gāzveida vielas, kas rodas mineralizācijas procesā paliek slēgtā traukā;

- Tiek novērsts piesārņojums ar gaisa piemaisījumiem.

Izmantojot slapjās mineralizācijas metodi atvērtos traukos, reakcija notiek maisījuma viršanas temperatūrā. Bet slēgtās sistēmās temperatūra nav ierobežota un skābes viršanas temperatūru ir iespējams ievērojami palielināt. Slēgtajās sistēmas limitējošie parametri ir temperatūra un spiediens. Visplašāk izmantotu reaģentu viršanas temperatūras ir apkopotas 1.3. tabulā.

1.3. tabula

**Visbiežāk izmantotie reaģenti slapjā mineralizācijā [35]**

Reaģents	Formula	Molmasa, g/mol	Viršanas temperatūra, °C	Koncentrācija, mol/L
Slāpekļskābe	HNO <sub>3</sub>	63,01	121	16
Perhlorskābe	HClO <sub>4</sub>	100,46	203	12
Sērskābe	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	98,08	338	18
Sālsskābe	HCl	36,46	61	12
			109	6,5
Fluorūdeņražskābe	HF	20,01	112	29
			120	22
Ūdeņraža peroksīds	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	34,01	106	9,9

**Skābes.** Skābes maisījuma izvēles limitējošas īpašības ir katras skābes spēja efektīvi sadalīt nepieciešamas matricas sastāvdaļas. Parasti skābes veido šķīstošus sāļus ar nosakāmo metālu joniem. Slāpekļskābe ir visplašāk izmantota, jo tā ir spēcīgs oksidētājs. Tā kā slāpekļskābei ir zema viršanas temperatūra ( 121°C), tās izmantošana mineralizācijā atklātās sistēmas ir laikietilpīgs process. Organiskās matricas iznīcināšanai bieži ir nepieciešamas lielākas temperatūras vai spēcīgu oksidētāju pievienošana ( piem., ūdeņraža peroksīda vai perhlorskābes). Strādājot ar slāpekļskābi 5atm spiedienā ir iespējams panākt 176°C temperatūru, kas ir par 55°C lielāka par skābes viršanas temperatūru. Citas skābes izmantošanas iespējas slapjā mineralizācijā ir parādītas 1.4. tabulā [36].

## Slapjā mineralizācijā izmantojamās skābes.

Skābe	Izmantošanas iespējas
Sālsskābe	Sālsskābi parasti neizmanto organisko matricu sadalīšanai, jo sālsskābe nav oksidētājs. Bet sālsskābi var izmantot dažu metālu un metālu oksīdu šķīdināšanai. Sālsskābi iespējams izmantot darbā ar amīniem vai alkaloīdu ūdens šķīdumiem.
Fluorūdeņražskābe	Fluorūdeņražskābi izmanto silīciju saturošu materiālu šķīdināšanā. Silikāti tiek pārvērsti SiF <sub>4</sub> formā, atbrīvojot nosakāmus elementus.
Ortofosforskābe	Ortofosforskābe tiek plaši izmantota dzelzs sakausējumu sadalīšanas gadījumos, kad sālsskābi nedrīkst izmantot gaistošu savienojumu veidošanās dēļ.
Sērskābe	Koncentrēto sērskābi efektīvi izmanto darbā ar bioloģiskiem paraugiem, neorganiskiem oksīdiem, hidroksīdiem, sakausējumiem. Koncentrēta sērskābe palīdz pilnīgi atbrīvoties no gandrīz visiem organiskiem savienojumiem. Mineralizācijas laiku ir iespējams ievērojami saīsināt, ja palielināt darba temperatūru augstāk par skābes viršanas temperatūru.
Perhlorskābe	Karsta koncentrēta perhlorskābe ir spēcīgs oksidētājs, kuru lieto darbā ar metāliem, kuri nereaģē ar citām skābēm. Perhlorskābe palīdz pilnīgi atbrīvoties no organiskām vielām. Bet reakcijās ar organiskām vielām nav ieteicams lietot perhlorskābi, jo tās izmantošana augstā temperatūrā un augstā spiedienā ir potenciāli sprādzienbīstama.

## 1.4. Smago metālu noteikšanas metodes

Metālisko elementu analīzei var izmantot dažādas metodes, bet pārsvarā izmanto spektroskopiskās metodes. Metodes un iekārtas izvēle ir atkarīga no daudziem parametriem:

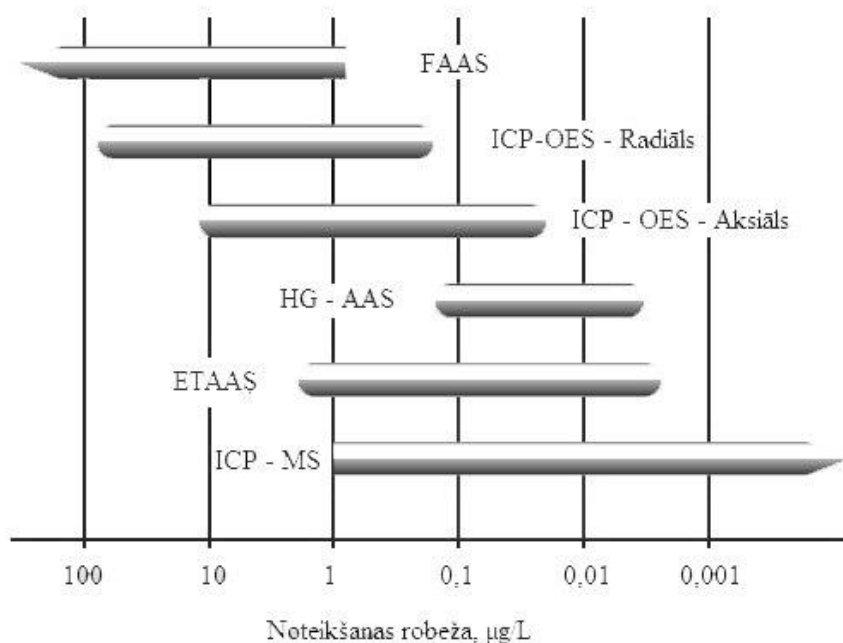
- Minimāla noteikšanas robeža;
- Analītiska darba diapazons;

- Noteikšanas datu kvalitāte;
- Izmaksas;
- Lietošanas ērtums.

Dažādas metodes priekšrocības, trūkumi un lietošanas principi ir apkopoti 1.5. tabulā, noteikšanas robežas ir redzamas 1.4. att.

1.5. tabula

Metode	Priekšrocības	Trūkumi	Lietošana
FAAS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Viegla lietošana</li> <li>• Metodes izplatība</li> <li>• Zemas izmaksas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zema jutība</li> <li>• Nav iespējama daudzelementu analīze</li> <li>• Nav iespējams darbs bez operatora (viegli izliesmojošas gāzes lietošana)</li> </ul>	Labi piemērots lielu paraugu daudzumu ar ierobežotu analizējamu elementu skaitu noteikšanai. Lieto gadījumos, kad nosākamo elementu koncentrācija ir liela.
ETAAS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zemas noteikšanas robežas</li> <li>• Iespējams darbs bez operatora</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Samazināta produktivitāte</li> </ul>	Piemērots laboratorijām, kas analizē daudz dažādus elementus ar relatīvi zemām koncentrācijām
ICP-OES	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Daudzelementu analīze</li> <li>• Plašs analītiskais diapazons</li> <li>• Laba produktivitāte</li> <li>• Viegla izmantošana</li> <li>• Iespējams darbs bez operatora</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lielas izmaksas</li> </ul>	Piemērots gadījumos, kad ir nepieciešams analizēt vairākus elementus lielā paraugu skaitā
ICP-MS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Daudzelementu analīze</li> <li>• Izotopu analīzes veikšanas iespēja</li> <li>• Zemas noteikšanas robežas</li> <li>• Iespējams darbs bez operatora</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ļoti lielas izmaksas</li> <li>• Sarežģīta metodika</li> <li>• Analizējama parauga sastāva ierobežojums</li> </ul>	Ideāli piemērots daudzelementu analīzei, kad ir nepieciešams noteikt ļoti zemas elementu koncentrācijas [37]



1.4. att. **Metozu noteikšanas robežas [37]**

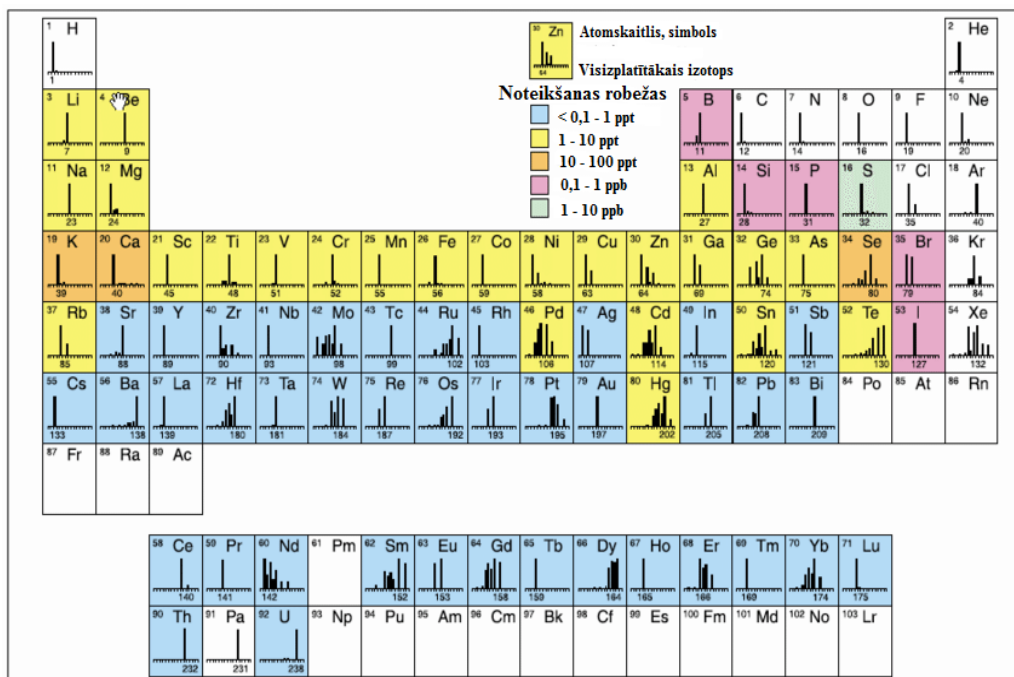
#### 1.4.1. Induktīvi saistītās plazmas masspektrometrija

Induktīvi saistītās plazmas masspektrometrija, jeb ICP-MS ir analītiskā metode, ko izmanto elementu noteikšanai. Induktīvi saistītā plazmas masas spektrometrija tiek regulāri izmantota daudzās dažādās pētniecības jomās un ietver vides, ģeoloģisko, bioloģisko, medicīnas, kodolmateriālu, metalurģijas (pusvadītāju rūpniecība) un uztura nozares.

ICP-MS ir daudz priekšrocību salīdzinājumā ar citām elementu analīzes metodēm. ICP-MS tiek izmantota kā analīzes metode augstas tīrības materiāla kvalitātes kontrolei, kur prasības ar laiku palielinās. Šo metodi izmanto toksisko elementu, smago metālu, mikroelementu analīzei.

ICP-MS priekšrocības:

- Augsta jutīguma analīze (zemākā noteikšanas robeža lielākajai daļai elementu ir ppt („parts per trillion” angļ.val.), jeb ng/kg);
- Iespējama vienlaicīga daudzelementu analīze;
- Elementus var noteikt gan kvalitatīvi, gan kvantitatīvi;
- Ir iespējama izotopu sastāva noteikšana [38];

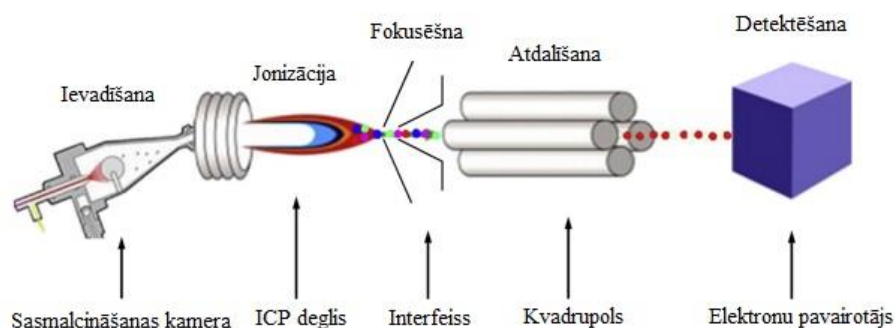


1.5. att. Ar ICP-MS elementu noteikšanas robežas [39]

ICP-MS četras galvenās sastāvdaļas:

- Parauga ievadišanas sistēma;
- Interfeiss (jonu ģenerēšana);
- Jonu optika (jonu fokusēšana);
- Masas analizators [38].

Īsumā ar ICP palīdzību parauga metālu atomi pārvēršas par joniem. Tad šie joni tiek atdalīti un analizēti ar masspektrometru, kas ir parādīts 1.6. attēlā [40].



1.6. att. ICP-MS sistēmas shēma [41]

Agilent 7700x ICP-MS sistēmas sastāvdaļas:

- Parauga ievadišanas sistēma ( izsmidzinātājs un sasmalcināšanas kamera);
- ICP deglis;

- Interfeiss;
- Jonu lēcas;
- Oktopola reakcijas sistēma;
- Kvadrupola masas analizators;
- Detektors [42].

**Parauga ievadišanas sistēma.** Paraugu ievadišanas sistēma sastāv no peristaltikas sūkņa, izsmidzinātāja un sasmalcināšanas kameras, lai veidotu ultradisperso aerosolu.

Šķidrums ievadišanas mehānismu plazmā var iedalīt divos neatkarīgos procesos:

- Aerosola veidošana ar izsmidzinātāju;
- Pilienu selekcija sasmalcināšanas kamerā [43].



1.7. att. Agilent 7700x parauga ievadišanās sistēma [42]

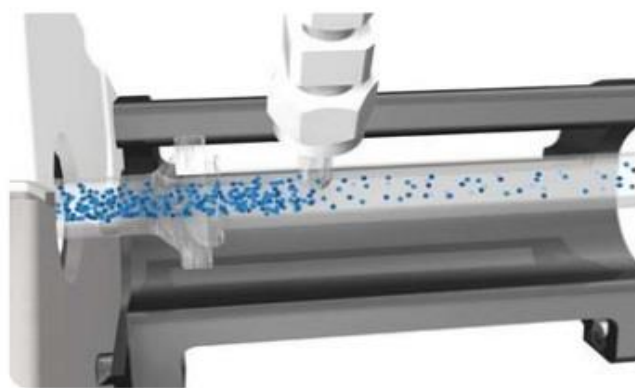
**Izsmidzinātāji.** Agilent 7700x paraugu ievadišanas sistēma ietver efektīvu, zemas plūsmas koncentrisko stikla izsmidzinātāju (7700x un 7700e ir stikls, 7700s PFA), smidzināšanas kameru ar temperatūras kontroli un augstas precizitātes 10 rotoru peristaltiskas sūkni [44].

Parauga ievadišanas ātrums variē no 0,01 līdz 3 mL/min. Agilent 7700x sistēmā ir izmantots standarta izsmidzinātājs, kas darbojas ar ātrumu ~0,2 mL/min. Šis ātrums dod spēju samazināt paraugu patēriņu un minimizēt matricas efektus [45].

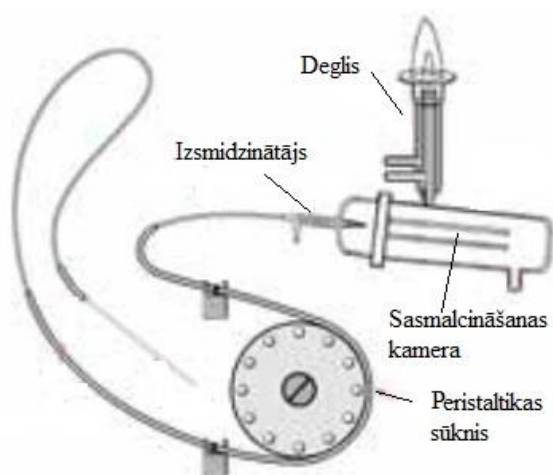
**Sasmalcināšanas kameras.** Sasmalcināšanas kameras galvenā funkcija ir noņemt aerosola pilienus, kas bija izveidoti ar izsmidzinātāja palīdzību un kuri ir lielāki par 8 μm diametrā. Lielākas par 8 μm daļiņas kondensējas un tiek izvadītas no sasmalcināšanas kameras. Agilent 7700x tiek izmantota maza tilpuma kvarca Skota tipa izsmidzināšanas

kamera, kas, salīdzinot ar cita tipa kamerām, nodrošina lielāku aerosola pilienu noņemšanu. Kontrolētās temperatūras diapazons ir no -5 °C līdz +20 °C [44].

**HMI (High Matrix Introduction) tehnoloģija.** HMI tehnoloģija palīdz samazināt aerosola slodzi uz plazmu. Tas ļauj paplašināt izšķīdušo cieto vielu (Total Dissolved Solids (TDS)) līmeni. HMI „atšķaida” parauga aerosolu, izmantojot tīru, sausu argona gāzi. Ar HMI var pilnībā novērst šķidrums atšķaidīšanas trūkumus, tādus kā laiks, reaģentu izmaksas, reaģenta piesārņojuma risku, kļūdas atšķaidīšanas procesā. HMI palielina matricas toleranci līdz 10 reizēm, kā arī uzlabo plazmas robustumu (stabilitāti, noturību), praktiski novēršot matricas supresiju [46].



1.8. att. Agilent 7700x HMI tehnoloģija [42]



1.9. att. Agilent 7700x parauga ievadīšanās shēma [44]

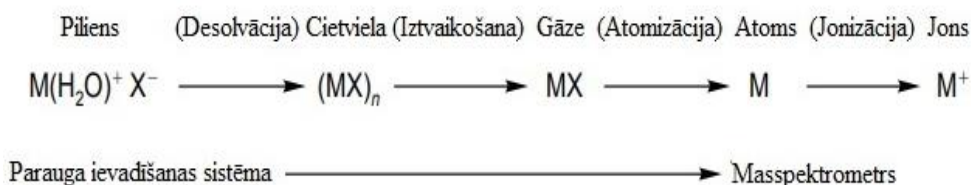
**ICP deglis.** Plazma ir gāze ar noteikto jonizēto molekulu procentu. Plazmas deglis sastāv no koncentriskām caurulēm, kuras parasti izgatavo no kvarca. Lai veidotu plazmu lieto argonu. Vara spole aptver apkārt degļa augšējo daļu un ir savienota ar radiofrekvenču (RF)

ģeneratoru. Kad argons plūst caur degli izmanto dzirksteli, lai ievadītu gāzes plūsmā brīvus elektronus. Brīvie elektroni mijiedarbojas ar indukcijas spoles radiofrekvenču magnētisko lauku un elektroni sākumā paātrinās viena virzienā, pēc tam otrā. Notiek sadursme starp paātrinātiem elektroniem un starp argona atomiem. Šīs sadursmes dēļ tiek izraisīta argona atoma atdalīšana no tā elektrona un veidojas plazma, kuras temperatūra var sasniegt līdz 10000K[47]:



Agilent 7700x 27 MHz radiofrekvences ģenerators ar jaudas diapazonu no 500 W līdz 1600 W nodrošina plazmas stabilitāti. Agilent 7700x kvarca deglis ar 2,5 mm iekšējo inžektora diametru ievērojami samazina traucējumus un samazina interfeisa tīrīšanas nepieciešamību[45].

Kad paraugs ir ievadīts, tad plazmā ekstremālas temperatūras dēļ notiek atomizācija, kad paraugs tiek sadalīts atsevišķos atomos. Tālāk plazma jonizē šos atomus lai tos būtu iespējams noteikt ar masspektrometru.



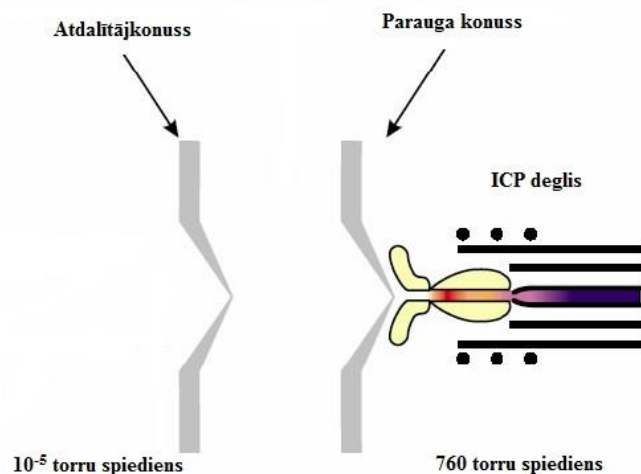
#### 1.10. att. Parauga piliena līdz jona pārvērtības mehānisms, kas notiek plazmā [47]

**Interfeiss.** Interfeisa galvenā funkcija ir efektīvi transportēt analizējamus jonus no plazmas, kur ir atmosfēras spiediens (~760 torr), līdz masspektrometra zemspiediena reģionam, kur spiediens ir  $10^{-5}$  torr. Interfeiss sastāv no diviem konusiem: paraugu ņemšanas konusa un atdalītāj konusa. Divi konusi ir metāla diski ar nelielu atveres diametru, parauga konusa atveres diametrs parasti ir 0,8–1,2 mm, bet atdalītāj konusa diametrs ir mazāks, tikai 0,4–0,8 mm. Ņemot vērā, ka konusu diametri ir mazi, tas rada ICP-MS lietošanas ierobežojumus attiecībā pret TDS (kopējo izšķīdušo cietvielu) diapazonu, kuram nevajadzētu būt lielākam nekā 0,2 % [48].

Pēc jonu veidošanās plazmā, tie tiek transportēti cauri parauga konusam, nonākot zema spiediena apgabalā. Pēc parauga konusa joni tuvojas otram – atdalītāj konusam. Atdalītāj konuss ir asāks nekā parauga konuss, ar mazāko atveres diametru. Abi konusi parasti ir izgatavoti no niķeļa, bet konusu izgatavošanā lieto arī citus materiālus, piemēram, lieto

platīnu, kas ir daudz izturīgāka pret koroziju nekā niķelis. Joni, kas izgājuši caur atdalītāj konusa, virzās caur jonu optiku uz masspektrometru.

Agilent 7700x sistēmā abi konusi ir izgatavoti no niķeļa, kur parauga konusa atveres diametrs ir 1 mm, bet atdalītāj konusa ir 0,4 mm. Neliela atdalītāj konusa atvere samazina matricas piesārņošanu augstā vakuuma apgabalā [45].



1.11. att. Interfeisa konusu shēma [48]

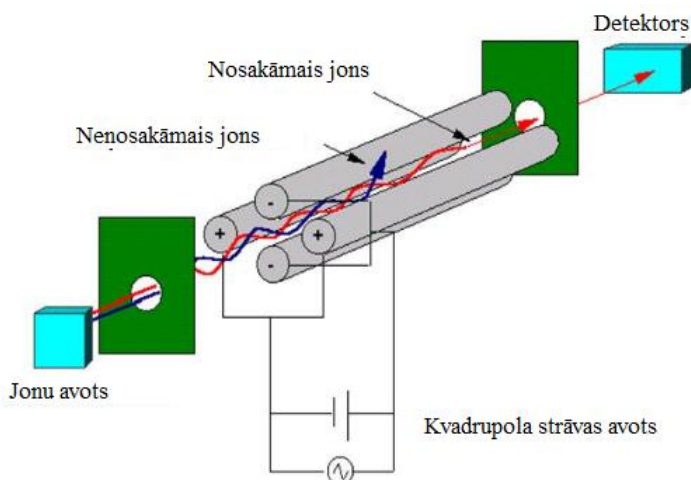
**Jonu lēcas.** Jonu lēcas galvenā funkcija ir atdalīt jonus no UV fotoniem, no enerģētiski neitrālām daļiņām un no cietām daļiņām, kas bija ienesti no ICP [49].

Agilent 7700x jonu lēcas sistēma aizsargā oktopola reakcijas sistēmas šūnu un augsta vakuuma apgabalu no piesārņošanas un samazina trokšņa fonu [45].

**Oktopola reakcijas sistēma.** Oktopola reakcijas sistēma (ORS<sup>3</sup>) atrodas starp jonu lēcām un kvadrupola analizatoru. ORS<sup>3</sup> sastāv no termiski stabilizētas, maza tilpuma šūnas. Agilent 7700x ORS<sup>3</sup> sistēmā izmanto hēliju lai samazināt poliatomāro jonu traucējošo ietekmi. Mazās hēlija molekulas saskārās ar lieliem poliatomārajiem joniem (kuru klātbūtne ir nevēlama), kas veidojas plazmā un sadala tos jonus, kurus būs iespējams atdalīt kvadrupola masas analizatorā. Tā kā hēlijs ir inerts, tā lietošanas laikā netiek radīti jauni traucējumi. Hēlija gāzes režīms ir piemērots visiem analītiem un to var izmantot arī nezināmām parauga matricām.

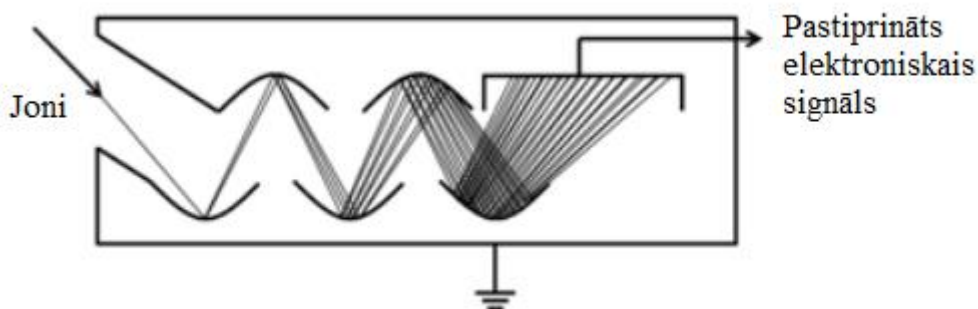
**Kvadrupola masas analizators.** Kvadrupola masas analizators ir visizplatītākais ICP-MS masas analizatoru veids. ICP-MS Agilent 7700x tiek izmantots augstas frekvences (~3MHz) kvadrupols. Kvadrupola masas analizators šķiro jonus pēc masas un lādiņa attiecības ( $m/z$ ). Analizators sastāv no četriem pretēji lādētiem cilindriskiem stieņiem, kas biežāk ir izgatavoti no keramikas ar zelta pārklājumu, vai no molibdēna. Masas filtrā rodas elektromagnētiskais lauks, izmantojot vienlaikus maiņstrāvu un augstfrekvences līdzstrāvu.

Kad joni nokļūst kvadrupola masas analizatorā, tie sāk oscilēt. Joni ar lielāku oscilāciju amplitūdu neitralizējas, saskaroties ar elektrodiem. Detektoru sasniedz tikai joni ar stabilu amplitūdu, joni kuru  $m/z$  vērtības atbilst fiksētai  $U/V$  vērtībai. ( $U$  ir nemainīgs līdzstrāvas potenciāls;  $V$  ir mainīgais RF (maiņstrāvas potenciāls) [50, 51, 52].



1.12. att. Kvadrupola masas analizatora darbības princips [53]

**Detektors.** Agilent 7700x kā detektoru izmanto elektronu pavairotāju. Elektronu pavairotājs ir visbiežāk izmantotais jonu detektors masspektrometros. Tas sastāv no vairākiem elektrodiem (dinodiem). Kā dinoda parklājumu izmanto svina oksīdu. Kad joni saskārās ar pirmo dinodu, tas izraisa elektronu izdalīšanu. Izdalītie elektroni paātrinās un saskarās ar otro dinodu kas izraisa vēl vairāku elektronu izdalīšanu. Šis process atkārtojas vairākas reizes un rezultātā veidojas liels elektronu skaits (elektronu kaskāde). Paātrinātie elektroni nonāk līdz detektora, kur elektriskais signāls tiek mērīts strāvas veidā. Tas ir svarīgi, jo bieži vien saņemtie signāli ir pārāk vāji un elektronu reizinātājs pastiprina šo signāla intensitāti [54, 55, 56].



1.13. att. Signāla pastiprināšanas shēmatisks attēlojums ar elektronu pavairotāju detektoru [57]

## 2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

Cd, Pb, As, Sb, Zn un Cr elementu noteikšanai pārtikas produktos tiek izmantota ICP-MS metode. Veicot kalibrēšanu, ir iespējama kvantitatīva analīze, jo starp elementu koncentrāciju un jonu signālu intensitāti pastāv lineāra sakarība.

### 2.1. Reāģenti un šķīdumi

- Ultratīrs ūdens (no sistēmas Milli-Q), pretestība  $\sim 18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ ;
- Destilēts ūdens;
- Koncentrētā slāpekļskābe  $\geq 69,0\%$ , augstās tīrības pakāpes (Honeywell Fluka);
- Koncentrēts ūdeņraža peroksīds  $\geq 30\%$ , augstās tīrības pakāpes (Sigma-Aldrich);
- ICP multielementu standartšķīdums IV, 1000 mg/L (Ag, Al, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr, Tl, Zn) (Certipur);
- As elementa standartšķīdums 1000 mg/mL (Sigma-Aldrich);
- Sb elementa standartšķīdums 1000 mg/mL (Sigma-Aldrich).

### 2.2. Trauki un aparatūra

- Plastmasas mērtراuki 50 mL;
- Mērkolbas 25 mL (precizitāte  $\pm 0,03 \text{ mL}$ );
- Automātiska pipete 1-5 mL (Finnpipette);
- Automātiska pipete 100-1000  $\mu\text{L}$  (Transferpette);
- Analītiskie svāri Precisa XB 220 A, Nr. 98405 (46R), Max 220g, d = 0,0001g;
- Bezpelnu celulozes ātras filtrēšanas filtrpapīrs, poru izmērs 22  $\mu\text{m}$ , diametrs 110 mm (Whatman);
- Mikroviļņu krāsns CEM Mars 6 ar traukiem MARSXpress Plus;
- ICP-MS Agilent 7700x.

### 2.3. Paraugu pagatavošana

Smāgo metālu noteikšanai sagatavoja 10 šokolādes paraugus (5 piena šokolādes paraugi un 5 tumšās un rūgtās šokolādes). Informācija par šokolādes paraugiem ir apkopota 2.1. tabulā.

## Vispārīga informācija par analizējamiem paraugiem

Paraugs	Šokolādes tirdzniecības marka	Šokolādes veids	Kakao saturs	Ražotājvalsts
1.	Krasny Oktyabr	Piena šokolāde	≥32%	Krievija
2.	Continente	Piena šokolāde	≥30%	Portugāle
3.	Laima	Tumšā šokolāde	≥52%	Latvija
4.	Torras	Rūgtā šokolāde	≥72%	Spānija
5.	Kommunarka	Rūgtā šokolāde	≥68%	Baltkrievija
6.	Cemoi	Rūgtā šokolāde	≥82%	Francija
7.	Meltez Royaller	Piena šokolāde	≥30%	Polija
8.	Milka	Piena šokolāde	≥30%	Vācija
9.	Alpia	Tumšā šokolāde	≥50%	Vācija
10.	Pergale	Piena šokolāde	≥30%	Lietuva

Paraugu sagatavošanai izmantoja paraugu mineralizāciju, izmantojot mikroviļņu krāsni CEM Mars 6 ar traukiem MARSXpress Plus (skat. 2.1. att.). Lai nepieļautu kļūdas un sekotu mērījumu kvalitātei, katru paraugu gatavoja dubultā, taisot divus paralēlus iesvarus.



2.1. att. Mikroviļņu krāsns CEM Mars 6

Lai izvairīties no analizējamā parauga piesārņošanas ar metāliem, paraugu sasmalcināšanai izmantoja plastmasas rīvi. Paraugi tika sasmalcināti, lai daļiņas nebūtu lielākas par 5mm. Pēc sasmalcināšanas paraugu glabāja vēsā vietā, lai izvairītos no šokolādes izkausēšanas.

Ar analītiskiem svāriem mikroviļņu krāsns traukos nosvēra apmēram 0,3 g šokolādes parauga. Tālāk ar automātisko pipeti pievienoja 2 mL ultra tīrā ūdens, 5mL koncentrētas slāpekļskābes, 3 mL koncentrētā ūdeņraža peroksīda un izturēja ar daļēji aizvērtiem vākiem vismaz 30 minūtes. Pēc ~30 minūtēm mikroviļņu traukus hermētiski aizvēra un ievietoja mikroviļņu krāsnī. Sildīšanas režīmā bija izmantoti divi posmi ar dažādiem laikiem un temperatūrām, kas ir parādīts 2.2. tabulā.

2.2. tabula

**Mikroviļņu krāsns sildīšanas režīms**

Posms	Sildīšanas laiks, min	Izturēšanas laiks, min	Temperatūra, °C	Jauda, W
1.	15	15	150	800
2.	10	20	180	800

Pēc sildīšanas traukus atdzēsēja, atvēra, un ar ātras filtrēšanas filtrpapīru paraugus filtrēja. Filtrētos paraugus pārlēja 25mL mērkolbās un uzpildīja līdz atzīmei ar ultra tīro ūdeni, kurus pārlēja 50mL plastmasas mērtraukos.

#### 2.4. Šķīdumu pagatavošana

No ICP multielementu standartšķīduma IV, kur Cd, Cr, Pb un Zn elementu koncentrācija ir 1000 mg/L pagatavoja 10 mg/L šķīdumu, no kura tika gatavota kalibrēšanas šķīdumu sērija. Šķīduma pagatavošanai nepieciešamo standartšķīduma tilpumu aprēķināja pēc formulas:

$$V_2 = \frac{V_{kolb} \times C_1}{C_2}, \quad (2.1.)$$

kur:

$C_2$  ir izejas šķīduma koncentrācija,  $\mu\text{g/L}$ ;

$C_1$  ir nepieciešama koncentrācija,  $\mu\text{g/L}$ ;

$V_2$  ir nepieciešamais tilpums, mL;

$V_{kolb}$  ir kolbas tilpums, mL.

Aprēķina piemērs:

$$V_1 = \frac{50\text{mL} \times 1000\mu\text{g/L}}{10000\mu\text{g/L}} = 5\text{ mL}$$

Kalibrēšanas šķīdumu sēriju pagatavošanas shēma ir apkopota 2.3. tabulā.

**Kalibrēšanas šķīdumu pagatavošanas shēma**

Izejas šķīduma koncentrācija, µg/L	Nepieciešamā koncentrācija, µg/L	Nepieciešamais tilpums, mL	Kolbas tilpums, mL
10000	1000	5	50
10000	500	2,5	
10000	100	0,5	
500	50	5	
500	10	1	
500	5	0,5	
500	2	0,2	
500	1	0,1	

Kopumā no 10 mg/L koncentrācijas šķīdumiem tika pagatavoti 8 kalibrēšanas multielementu šķīdumi ar Cd, Cr, Pb un Zn elementiem. Atsevišķi no 500 µg/L koncentrācijas As un Sb standartšķīdumiem tika pagatavota kalibrēšanas šķīdumu sērija ar koncentrācijām 50 µg/L, 10 µg/L, 5 µg/L, 2 µg/L un 1 µg/L. Tukšo paraugu pagatavoja, izmantojot ultra tīro ūdeni.

Visos pagatavotos šķīdumos ar automātisko pipeti pievienoja 0,25 mL koncentrētas slāpekļskābes. Lai nodrošinātu kvalitātes kontroli, katrā paraugu sērijā iekļāva tukšos paraugus un pagatavotos šķīdumus ar elementu koncentrācijām 2 µg/L un 50 µg/L.

**2.5. Analīžu veikšana**

Analizējamo paraugu mērījumus veica pēc ICP-MS Agilent 7700x ražotāja instrukcijas. Darbā izmantotie parametri ir apkopoti 2.4. tabulā.

**ICP-MS Agilent 7700x parametri**

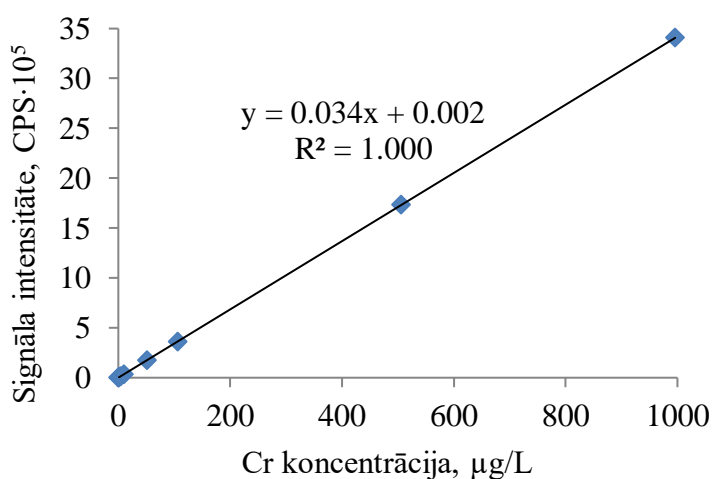
Plazmas režīms	Normālais, robustais
RF jauda, W	1300
Parauga ņemšanas dziļums, mm	8,0
Nesējgāzes plūsma, L/min	0,6
Atšķaidīšanas gāzes plūsma, L/min	0,4

Izsmidzināšanas kameras temperatūra, °C	2
Ekstrakcijas lēca 1, V	0
Kinētiskās enerģijas diskriminācija, V	3

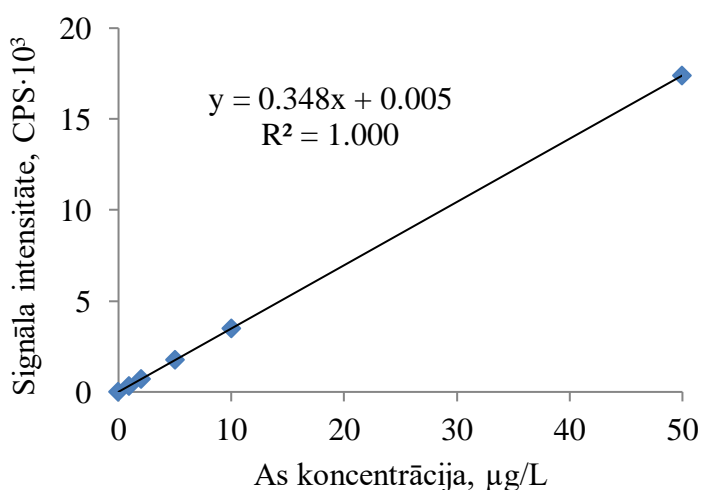
### 3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

Ar ICP-MS tika analizēti desmit šokolādes paraugi, kur 5 paraugi ir piena šokolādes, 3 rūgtās un 2 tumšās šokolādes paraugi. Visi analizētie paraugi ir dažādu ražotāju šokolādes: Continente, Pergale, Meltez Royaller, Milka, Krasny Oktyabr, Alpia, Laima, Kommunarka, Torras, Cemoi.

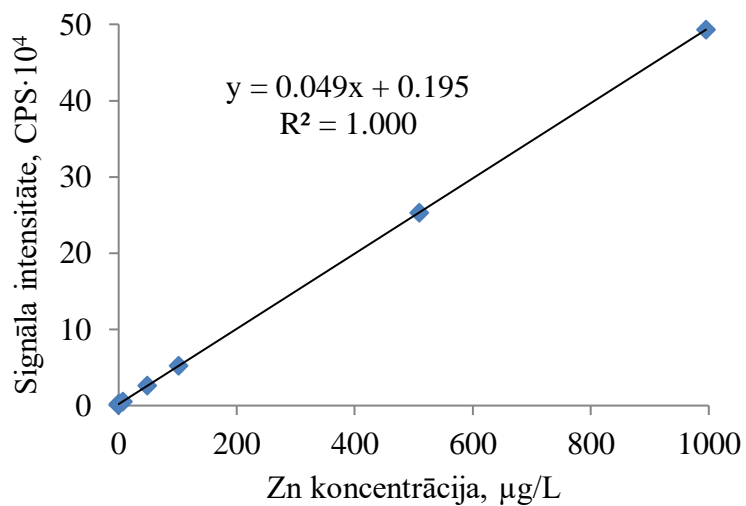
Šokolādes paraugu analizēšanai tika uztaisītas kalibrēšanas šķīdumu sērijas. Kalibrēšanas rezultāti parādīti grafiska veidā. Visos sešos grafikos  $R^2$  vērtība bija lielāka par 0,99999, kas liecina par linearitātes augstu precizitāti.



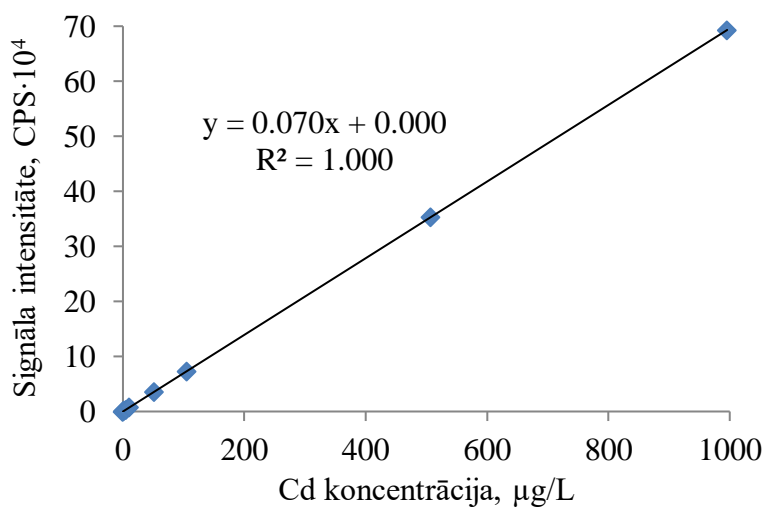
A



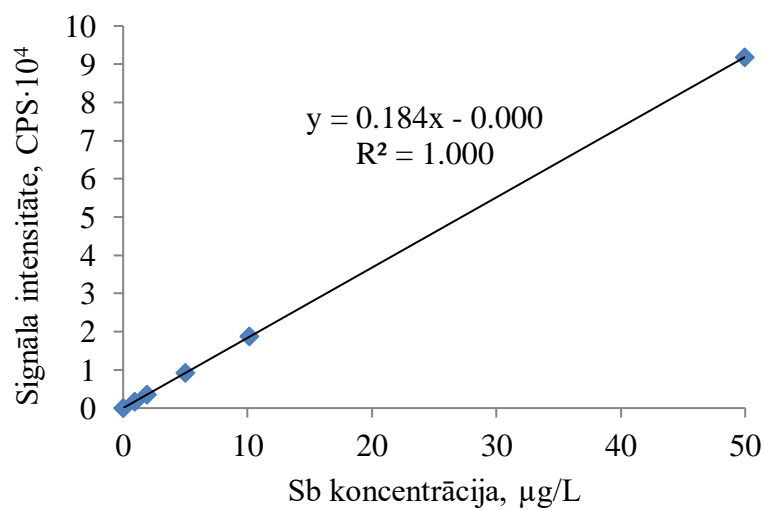
B



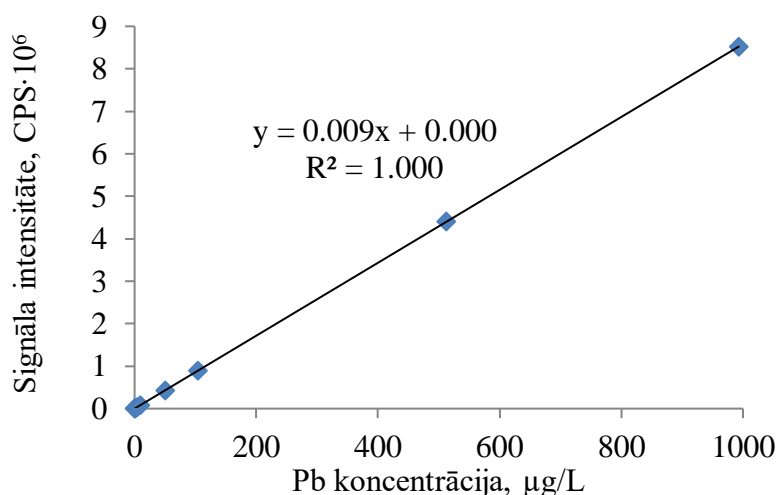
C



D



E



F

3.1. att. Pētījumā iekļautu elementu jonu signāla intensitātes atkarība no to koncentrācijas: A – hroms (Cr), B – arsēns (As), C – zinks (Zn), D – kadmijs (Cd), E – antimons (Sb), F – svins (Pb)

Šokolādes paraugos tika noteikta sešu smago metālu (Cd, Cr, Pb, Zn, As un Sb) koncentrācija. Rezultāti ir parādīti 3.1. tabulā.

3.1. tabula

**Ar ICP-MS noteiktās smago metālu koncentrācijas analizējamajos šokolādes šķīduma paraugos**

Nr. p. k.	Šokolādes tirdzniecības marka	m <sub>iesv.</sub> g	Elementu koncentrācija, µg/L					
			<sup>52</sup> Cr	<sup>66</sup> Zn	<sup>75</sup> As	<sup>111</sup> Cd	<sup>121</sup> Sb	<sup>52</sup> Cr
1.	Krasny Oktyabr	0,3808	5,865	197,249	0,049	0,196	0,025	0,136
		0,4344	6,485	250,158	0,067	0,241	0,060	0,085
2.	Continente	0,3076	2,930	189,040	0,020	0,218	0,013	0,000
		0,3108	3,546	219,405	0,026	0,197	0,000	0,066
3.	Laima	0,3031	9,277	258,404	0,377	0,737	0,025	0,139
		0,3323	10,975	274,098	0,380	0,628	0,062	0,139
4.	Torras	0,3081	28,331	350,638	0,308	1,290	0,071	0,872
		0,3157	27,934	362,603	0,325	1,461	0,051	0,882
5.	Kommunarka	0,3056	21,074	369,806	0,238	0,752	0,065	0,457
		0,3089	21,537	366,337	0,224	0,718	0,085	0,465
6.	Cemoi	0,2902	43,691	527,066	0,711	1,956	0,076	0,828
		0,2915	42,514	515,234	0,638	1,842	0,047	0,684
7.	Meltez Royaller	0,2941	5,435	100,638	0,087	0,199	0,021	0,174

		0,3038	6,131	100,849	0,075	0,219	0,028	0,163
8.	Milka	0,3692	1,844	174,678	0,052	0,176	0,004	0,000
		0,3725	2,150	177,542	0,046	0,160	0,015	0,000
9.	Alpia	0,2913	21,985	287,245	0,177	1,101	0,021	0,369
		0,3124	24,130	329,203	0,311	1,299	0,034	0,421
10.	Pergale	0,2994	6,618	148,130	0,064	0,151	0,053	0,015
		0,3180	7,284	152,207	0,081	0,164	0,060	0,020

Ar ICP-MS ir iespējams noteikt elementu koncentrāciju ( $\mu\text{g/L}$ ). Elementu koncentrāciju pret masas vienību ir iespējams noteikt, ņemot vērā parauga sākotnējo masu un parauga šķīduma tilpumu. Elementu masas koncentrāciju aprēķina pēc formulas:

$$W = p \times \frac{V}{M}, \quad (3.1.)$$

kur:

$p$  ir noteiktā elementa koncentrācija,  $\mu\text{g/L}$ ;

$V$  ir satagavota parauga tilpums, mL

$M$  ir parauga masa, pagatavojot paraugu, mg.

Aprēķināšanas piemērs:

$$W = 5,865 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \times \frac{25\text{mL}}{380,8\text{mg}} = 0,386 \text{ mg/kg}$$

3.2. tabula

### Ar ICP-MS noteiktā smago metālu koncentrācija šokolādes paraugos

Nr. p. k.	Šokolādes tirdzniecības marka	Kakao saturs	$\gamma\text{Cr}$ , mg/kg	$\gamma\text{Zn}$ , mg/kg	$\gamma\text{As}$ , mg/kg	$\gamma\text{Cd}$ , mg/kg	$\gamma\text{Sb}$ , mg/kg	$\gamma\text{Pb}$ , mg/kg
1.	Continente	$\geq 30\%$	0,262	16,506	$< 0,005$	0,017	$< 0,500$	$< 0,010$
2.	Pergale	$\geq 30\%$	0,563	12,167	0,006	0,013	$< 0,500$	$< 0,010$
3.	Meltez Royaller	$\geq 30\%$	0,483	8,427	0,007	0,017	$< 0,500$	0,014
4.	Milka	$\geq 30\%$	0,135	11,872	$< 0,005$	0,011	$< 0,500$	$< 0,010$
5.	Krasny Oktyabr	$\geq 32\%$	0,379	13,673	$< 0,005$	0,013	$< 0,500$	$< 0,010$
6.	Alpia	$\geq 50\%$	1,909	25,498	0,020	0,099	$< 0,500$	0,033
7.	Laima	$\geq 52\%$	0,795	20,967	0,030	0,054	$< 0,500$	0,011
8.	Kommunarka	$\geq 68\%$	1,734	29,950	0,019	0,060	$< 0,500$	0,038
9.	Torras	$\geq 72\%$	2,255	28,583	0,025	0,110	$< 0,500$	0,070
10.	Cemoi	$\geq 82\%$	3,705	44,797	0,058	0,163	$< 0,500$	0,065

\*MDL(mg/kg): Cd $<0,005$ , Pb $<0,010$ , Zn $<2$ , As $<0,005$ , Cr $<0,010$ , Sb $<0,500$ .

Tā kā katram elementam ir sava minimāla noteikšanas robeža, dažos paraugos elementi netika noteikti. Nevienā paraugā nebija noteikts antimons, jo tā koncentrācija visos paraugos bija mazāka par 0,500 mg/kg. Ņemot vērā, ka antimonam piemīt īpašība akumulēties augsnē, var secināt, ka augsne, kur bija audzēti kakao koki, nebija izteikts antimona piesārņojums.

Trīs paraugos nebija noteikts arsēns. Tie ir piena šokolādes paraugi (Cintinente, Milka un Krasny Oktyabr), ar kopējo kakao saturu mazāku vai vienādu par 32%. Svins netika detektēts četros piena šokolādes paraugos, tas ir Continente, Pergale, Milka un Krasny Oktyabr šokolādes. Tikai vienā piena šokolādē no Polijas svina koncentrācija pārsniedz minimālo noteikšanas robežu.

Tā kā tikai kadmijam pastāv norma par to daudzumu šokolādē, smago metālu daudzumu izvērtēšanai tiek ņemts vērā vidējais šokolādes patēriņš Eiropā (200 g šokolādes nedēļā) un vidējais pieaugušo cilvēka svars, kas ir 70,8 kg [58, 59].

Augstākā noteiktā arsēna koncentrācija ir  $0,058 \pm 0,006$  mg/kg, kas ir rūgtajā šokolādē ar lielāko kakao procentuālo saturu ( $\geq 82\%$ ) no analizējamiem paraugiem. Tas nozīmē, ka no 100 gramiem tādas šokolādes cilvēks iegūst ap 5,8  $\mu$ g arsēna. Ņemot vērā, ka arsēna maksimāli pieļaujama diennakts deva svārstās no 0,50  $\mu$ g līdz 2,66  $\mu$ g uz vienu kilogramu ķermeņa svara, var secināt, ka arsēna noteiktais daudzums šokolādē ir nepietiekoši liels lai būtu bīstams cilvēkam.

Maksimālā noteiktā svina masas koncentrācija ir  $0,070 \pm 0,007$  mg/kg šokolādē Torras no Spānijas ar kakao saturu  $\geq 72\%$ . Pēc Eiropas regulām nepastāv normas par svina daudzumu šokolādes produktos. Bet WHO (World Health Organization) noteica pieļaujamu svina nedēļas devu bērniem, kas ir 25  $\mu$ g uz kilogramu svara, kas vienāds ar 3,6  $\mu$ g uz vienu ķermeņa kilogramu dienā. Pieaugušajiem šī vērtība ir divas reizes lielāka un ir vienāda ar 50  $\mu$ g/kg ķermeņa masas. Vienā šokolādē ar masu 100 g un svina koncentrāciju 0,070 mg/kg ir atrodams 7  $\mu$ g svina daudzums. Kaut arī šis daudzums nepārsniedz noteikto normu, bērni ir jutīgi pret svina iedarbību un pat neliels svina daudzums ilgtermiņā izraisa nelabvēlīgas sekas, ietekmējot nervu sistēmu un imūnsistēmu. Ir ieteicams samazināt šokolādes (īpaši šokolādes ar lielo kakao saturu) patēriņu bērniem un grūtniecēm.

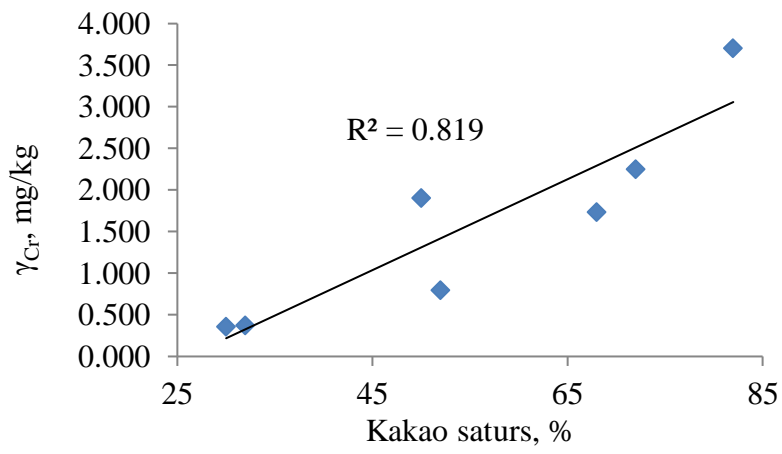
Mazākā noteikta kadmija koncentrācija piena šokolādē ir  $0,011 \pm 0,001$  mg/kg, bet lielākā ir  $0,017 \pm 0,002$  mg/kg. Pēc Komisijas Regulas (EK) Nr. 488/2014 kur noteica maksimāli pieļaujamo kadmija daudzumu pārtikas produktos, noteiktas koncentrācijas piena šokolādē nepārsniedz normu. Pieļaujams kadmija daudzums variē atkarībā no kakao satura šokolādē. Šokolādē, kurā kopējais kakao saturs ir vienāds vai lielāks par 50 %, maksimāli pieļaujama kadmija koncentrācija ir astoņas reizes lielākā nekā piena šokolādei ar kakao

saturu mazāko par 30 % un šī vērtība ir vienāda ar 0,8 mg/kg. Lielāka noteikta kadmija koncentrācija ir  $0,163 \pm 0,016$  mg/kg Cemoi šokolādē, kas ir apmēram piecas reizes mazāka par maksimāli pieļaujamo. Pieļaujama kadmija nedēļas deva pēc EFSA ir 2,5 µg/kg ķermeņa svara. Ņemot vērā kā vienā šokolādē Cemoi ar masu 100g un kakao saturu lielāku vai vienādu ar 82 % ir atrodams 16,3 µg kadmija, tad nedēļas kadmija deva 70,8 kg cilvēkam no divas tādas šokolādes būs 0,46 µg/kg. Šis lielums nepārsniedz pieļaujamo nedēļas devu, bet bieža tumšās vai rūgtās šokolādes lietošana var ievērojami palielināt uzkrāto kadmiju daudzumu organismā, kas var radīt nelabvēlīgas sekas, jo kadmijijs ir toksisks mūsu organismam un šis elements ļoti labi akumulējas cilvēka ķermenī.

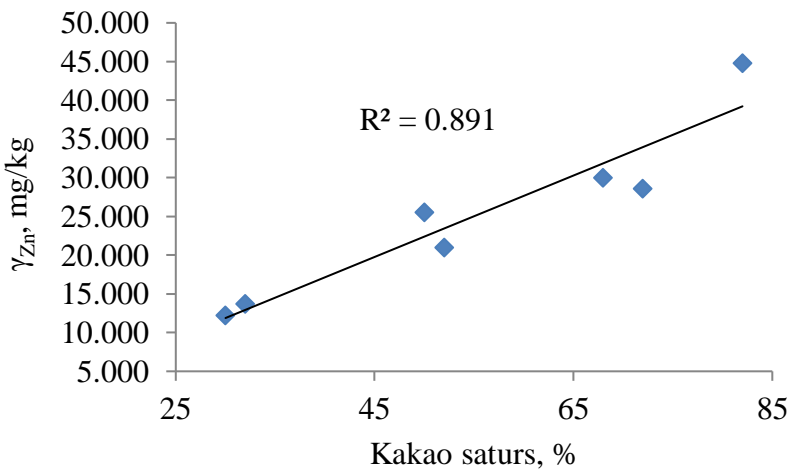
Salīdzinot cinka koncentrāciju ar citiem metāliem, tā daudzums ir ievērojami lielāks. Šo koncentrācijas pieaugumu varētu izskaidrot fakts, ka cinks noteiktos daudzumos ir nepieciešams augu normālai funkcionēšanai. Jā augsnē nav pietiekams cinka daudzums, parasti tiek lietoti cinku saturošie mēslošanas līdzekļi. 3.2. tabulā ir redzams ka cinka koncentrācija šokolādē ir vairāk atkarīga no kakao satura. Bet arī ir redzams, ka metāla daudzums produktā ir atkarīgs no ražotāja. Piena šokolādē ar vienādu kakao saturu tas atšķirās divās reizes (8,427 mg/kg Meltez Royaller paraugā un 16,506 mg/kg Continente šokolādes paraugā). Mazākā noteikta cinka koncentrācija ir  $8,427 \pm 0,084$  mg/kg, bet lielākā ir 44,797 mg/kg Cemoi šokolādē. No tā var secināt, ka cinka daudzums, ko cilvēks saņem no šokolādes porcijas ar masu 100g nav kaitīgs veselībai.

Hroma daudzums tapāt kā cinka daudzums ir atkarīgs gan no ražotāja, gan no kakao satura. Pieaugot kakao daudzumam pieaug arī hroma koncentrācija. Bet vienādā kakao satura gadījumā hroma daudzums atšķirās gandrīz četrās reizēs. Ņemot vērā, ka pārtikā hroms nepastāv  $Cr^{6+}$  veidā, kas ir īpaši toksisks, saņemtam hroma daudzumam no šokolādes dotajos paraugos, nav negatīvas ietekmes uz cilvēka organismu.

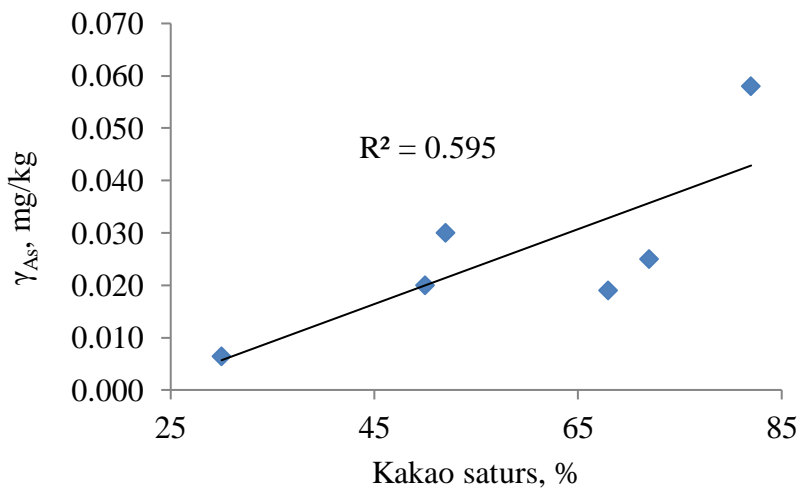
Lai pārbaudītu korelāciju starp smago metālu daudzumu šokolādē un kakao saturu, tika izmantota grafika analīzes un noteikts korelācijas koeficients.



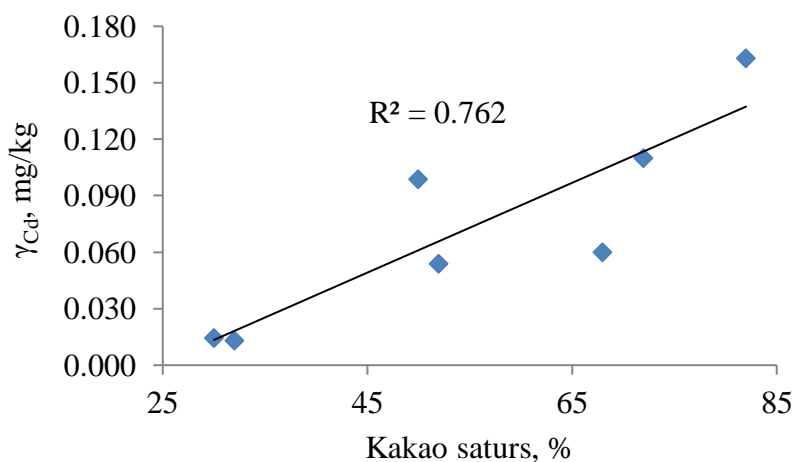
A



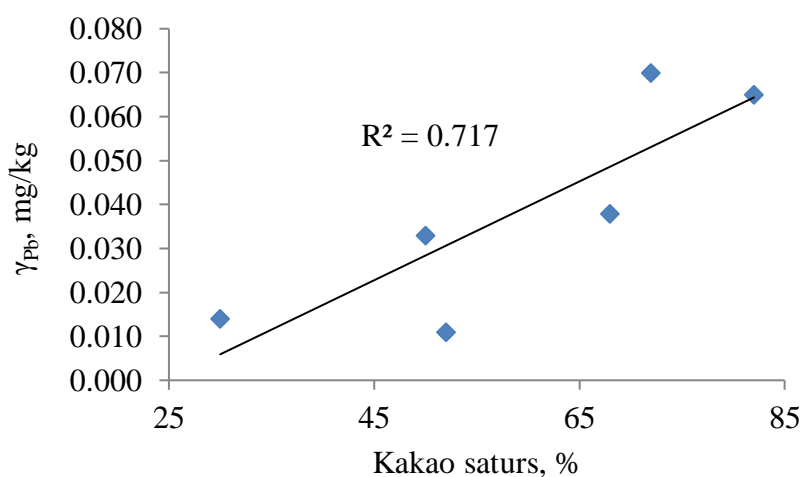
B



C



D



E

3.2. att. Elementu koncentrācijas atkarība no šokolādes kakao satura daudzumu (%): A – hroms (Cr), B – cinks (Cn), C – arsēns (As), D – kadmijs (Cd), E – svins (Pb)

Tā kā  $R^2$  sākot no 0,60 vērtības liecina par ciešu korelāciju, tad var secināt, ka iegūtie grafiki pierāda, ka smago metālu daudzums šokolādē ir atkarīgs no kakao satura daudzumu. Tas nozīmē, jo vairāk kakao šokolādē, jo lielāka ir smago metālu deva. Visstingrākā sakarība starp metālu daudzumu un kakao saturu ir cinka gadījumā kur korelācijas koeficients ir 0,891. Vājākā  $R^2$  vērtība ir arsēna gadījumā un tas ir vienāda ar 0,595, kas varētu būt saistīts ar to, ka trīs paraugos arsēns nebija noteikts.

## SECINĀJUMI

1. Darbā tika veikta smago metālu noteikšana šokolādē ar ICP-MS metodi, paraugu sagatavošanai izmantojot slapjo mineralizāciju mikroviļņos. Rezultāti parādīja, ka dominējoši elementi ir hroms un cinks;
2. Ar ICP-MS kadmija noteiktās koncentrācijas vērtības šokolādē ir no  $0,013 \pm 0,001$  mg/kg līdz  $0,163 \pm 0,016$  mg/kg. Visos gadījumos tās nepārsniedz komisijas regulā (ES) Nr. 488/2014 pieļaujamās koncentrācijas;
3. Arsēna vislielākā noteikta koncentrācija ir  $0,058 \pm 0,006$  mg/kg, svina gadījumā tās vērtība ir vienāda ar  $0,070 \pm 0,007$  mg/kg, cinka lielāka koncentrācija ir  $44,797 \pm 4,480$  mg/kg, bet hroma gadījumā tā ir  $3,705 \pm 0,371$  mg/kg;
4. Ņemot vērā ka Eiropā vidējais pieauguša cilvēka svars ir 70,8 kg un vidējais šokolādes patēriņš ir 200 g, var secināt, ka no šokolādes iegūtais smago metālu daudzums nepārsniedz maksimāli pieļaujamo.
5. Rezultātu grafiskā analīzes parādīja ciešu korelāciju starp kakao saturu un smago metālu koncentrāciju šokolādē. Visstingrākā sakarība konstatēta cinka gadījumā (korelācijas koeficients ir 0,891), bet vājāka – arsēna gadījumā (0,595).

## LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Lo Dico, G. M.; Galvano, F.; Dugo, G.; D'ascenzi, C.; Macaluso, A; Vella, A.; Giangrosso, G.; Cammilleri, G.; Ferrantelli, V. Toxic metal levels in cocoa powder and chocolate by ICP-MS method after microwave-assisted digestion. *Food chem.* **2017**, *245*, 1163-1168.
2. Slavova, G. Global and domestic bulgarian production of cocoa and chocolate articles for the period 2013-2016. *Trakia Journal of Science* **2017**, *15*, 10-17.
3. Par Laimu: piecas patiesības par šokolādi: <http://www.laima.lv/jaunumi/piecas-patiesibas-par-sokoladi/> (skatīts 15.04.2018.)
4. Tropolab exporter medicinal plants, tinctures, infusions, herbs: <http://www.tropolab.com/cacao.html> (skatīts 15.05.2018.)
5. Skrīveru saldumi, viss par šokolādi: <https://skriverusalidumi.lv/lv/viss-par-sokoladi> (skatīts 02.04.2018.)
6. Make Chocolate Fair! European Campaign for Fair Chocolate: <https://lv.makechocolatefair.org/temas/isuma-par-kakao-razosanu> (skatīts 15.05.2017)
7. Орлин, Н. А. Наличие теобромину в шоколадных изделиях. *Фундаментальные исследования*, **2009**, *5*, 58-60
8. Katz, D. L.; Doughty, K.; Ali, A. Cocoa and Chocolate in Human Health and Disease, *Antioxid. Redox. Signal* **2011**, *15*, 2779-2811
9. Fedorova, G. F.; Menshov, V. A.; Kancheva, V. D.; Yablonskaya, O. I.; Naumov, V. V.; Vasil'ev, R. F.; Veprintsev, T. L.; Trofimov, A. V.; Tsaplev, Y. B.; *Exogenous and Endogenous Mediators of Oxygen Metabolism: Alternatives for Chemical and Biological Activity*. In: Studies in Natural Products Chemistry, Rahman, A., Ed.; Elsevier Science Publishers BV: Amsterdam, 2016; pp 357-385
10. A List of Phenylalanine to Protein Ratios for Common Foods: <https://docs.lib.purdue.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1459&context=ecetr> (skatīts 15.03.2018)
11. Ильин, В. Б. *Тяжёлые металлы в системе почва – растение*; Наука: Новосибирск, 1991; с. 3-104
12. Abr, E.; Fong, S. J.; Gray, P.; Robin, L. P. Cadmium and lead in cocoa powder and chocolate products in the US Market. *Food Addit. Contam. Part B Surveill.* **2018**, *11*, 92-102

13. Heavy Metals in Cocoa: <https://www.icco.org/sites/sps/documents/Cadmium%20Workshop/CABI.pdf> (skatīts 15.03.2018)
14. Ministerie van Economische Zaken, Landbouw ne Innovate. HEAVY METALS IN COCOA: <http://www.cococonnect.org/sites/default/files/documents/57%20-%20HEAVY%20METALS%20IN%20COCOA%20-%20FINAL%20EDIT.pdf> (skatīts 15.03.2017)
15. Chunhabundit, R. Cadmium Exposure and Potential Risk from Foods in Contaminated Area, Thailand. *Toxicol. Res.* **2016**, *32*, 65-72
16. Qu, W.; Tokar, E. J.; Kim, A. J.; Bell, M. W.; Waalkes, M. P. Chronic cadmium exposure in vitro causes acquisition of multiple tumor cell characteristics in human pancreatic epithelial cells. *Environ. Health Perspect.* **2012**, *120*, 1265-1271
17. Pacini, S.; Fiore, M. G.; Magherini, S.; Morucci, G.; Branca, J. J.; Gulisano, M.; Ruggiero, M. Could cadmium be responsible for some of the neurological signs and symptoms of Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. *Med. Hypotheses* **2012**, *79*, 403-407
18. FSA Panel on Contaminants in the Food Chain (2011). Scientific Opinion: Statement on tolerable weekly intake for cadmium. EFSA J. Available from: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1975> (skatīts 15.03.2018.)
19. COMMISSION REGULATION (EU) No 488/2014 of 12 May 2014 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in foodstuffs: [https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Reg488\\_2014.pdf](https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Reg488_2014.pdf) (skatīts 15.03.2018.)
20. Wani, A. W.; Ara, A.; Usmani, J. A. Lead toxicity. *Interdisp Toxicol.* **2015**, *8*, 55-64
21. Manto, M. Toxic agents causing cerebellar ataxias. *Handb. Clin. Neurol.* **2012**, *103*, 201-2013
22. García-Lestón, J.; Roma-Torres, J.; Mayan, O.; Schroecksadel, S.; Fuchs, D.; Moreira, A. O.; Pásaro, E.; Méndez, J.; Teixeira, J. P.; Laffon, B. Assessment of immunotoxicity parameters in individual occupationally exposed lead. *J Toxicol Environ. Health A.* **2012**, *75*, 807-818
23. CDC. Children's blood lead levels in the United States. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC: <http://web.archive.org/web/20080526204553/http://www.cdc.gov/nceh/lead/research/kidsBLL.htm> (skatīts 25.03.2017.)

24. Rankin, C. W.; Nriagu, J. O.; Aggarwal, J. K.; Arowolo, T. A.; Adebayo, K.; Flegal. A. R. Lead Contamination in Cocoa and Cocoa products: Isotopic Evidence of Global Contamination. *Environ. Health Perspect.* **2005**, *113*, 1344-1348
25. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. Scientific Opinion on Arsenic in Food: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2009.1351> (skatīts 25.03.2018)
26. Hughes, M. F.; Beck, B. D.; Chen, Y.; Lewis, A. S.; Thomas, D. J. Arsenic Exposure and Toxicology: A Historical Perspective. *Toxicol. Sci.* **2011**, *123*, 305-332
27. Abhyankar, L. N.; Jones, M. R.; Guallar, E.; Navas-Acien, A. Arsenic exposure and hypertension: a systematic review. *Environ. Health Perspect.* **2012**, *120*, 494-500
28. Wu, F.; Jasmine, F.; Kibriya, M. G.; Liu, M.; Wojcik, O.; Parvez, F.; Rahaman, R.; Roy, S.; Paul-Brutus, R.; Segers, S.; Slavkovich, V.; Islam, T.; Levy, D.; Mey, J. L.; van Geen, A.; Graziano, J. H.; Ahsan, H.; Chen, Y. Association between arsenic exposure from drinking water and plazma levels of cardiovascular markers. *Am. J. Epidemiol.* **2012**, *175*, 1252-1261
29. McDermott, S.; Bao, W.; Marjorie, A. C.; Cai, B.; Lawson, A. When are fetuses and young children most susceptible to soil metal concentrations of arsenic, lead and mercury? *Spat. Spatiotemporal Epidemiol.* **2012**, *3*, 265-272
30. Fosmire, G. J. Zinc toxicity. *Am. J. Clin. Nutr.* **1990**, *51*, 225-227
31. Uses of zinc: <https://geology.com/usgs/uses-of-zinc/> (skatīts 04.04.2018.)
32. Sundar, S.; Chakravarty, J. Antimony Toxicity. *Int. J. Res. Public. Health.* **2010**, *7*, 4267-4277
33. Cohen, M. D.; Kargacin, B.; Klein, C. B.; Costa, M. Mechanisms of chromium carcinogenicity and toxicity. *Critical Reviews in Toxicology* **1993**, *23*, 255-281
34. Jaishankar, M.; Tseten, T.; Anbalagan, N.; Mathew, B. B.; Beeregowda, K. N. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisp. Toxicol.* **2014**, *7*, 60-72
35. Barnes, R. M.; Junior, D. S.; Krug, F. J. Comments on Conventional Open and Closed Systems for Sample Preparation. In: *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*; Flores E. M. M., Ed.; Universidade Federal de Santa Maria: Santa Maria, 2014; pp 51
36. Джесси, Л. Б.; Кингстон, Г. М.; Низ, Э. Д.; Коллинз, М. Дж.; Мэттес, С. А.; Уайт, Р. Т.; Блек, С. С.; Бэбо, Д. М.; Стир, П. А.; Паттерсон, К. И.; Вейллон, К.; Закариа-Михэн, З.; Стеркен, Э. Ф.; Флойд, Т. С.; Манчестер, Д. П.; Лабрек, Дж. М. *Пробоподготовка в микроволновых печах: Теория и практика*; Пер. с англ.

- Кубакова И. В.; Под ред. Кингстона Г. М.; Джесси Л. Б.; М.: Мир, 1991, стр. 23-188
37. Atomic Spectroscopy – A Guide to Selecting the Appropriate Technique and System: [https://www.perkinelmer.com/PDFs/Downloads/BRO\\_WorldLeaderAAICPMSICPM\\_S.pdf](https://www.perkinelmer.com/PDFs/Downloads/BRO_WorldLeaderAAICPMSICPM_S.pdf) (skatīts 20.05.2018.)
  38. Hitachi High-Technologies. Principle of ICP Mass Spectrometry: <https://www.hitachi-hightech.com/global/products/science/tech/ana/icp/descriptions/icp-ms.html> (skatīts 25.03.2018.)
  39. Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. The detection capabilities of ICP-MS: <https://icp-ms.wikispaces.com/> (skatīts 25.03.2018.)
  40. High Performance Radio Frequency Generator Technology for the Thermo Scientific iCAP 7000 Plus Series ICP-OES: <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/TN-43334-ICP-OES-RF-Generator-iCAP-7000-Plus-Series-TN43334-EN.pdf> (skatīts 25.03.2018.)
  41. Aceto, M. The Use of ICP-MS in Food Traceability. In: *Advances in Food Traceability Techniques and Technologies*; Espineira, M.; Santaclara, F. J., Ed.; Woodhead Publishing Limited: Sawston, 2016; pp 138
  42. Agilent Technologies. Agilent 7700 Series ICP-MS: <http://www.team-cag.com/products/icp/7700%20Series%20ICP-MS%20brochure.pdf> (skatīts 26.03.2018.)
  43. Рассеянные элементы, микроэлементы и тяжёлые металлы в организме человека и в окружающей среде. Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой: [http://tracelement.blogspot.com/p/blog-page\\_04.html](http://tracelement.blogspot.com/p/blog-page_04.html) (skatīts 25.03.2018.)
  44. Sample Introduction for ICP-MS and ICP-OES: <https://www.inorganicventures.com/sites/default/files/sample-introduccion-for-icp-ms-and-icp-oes.pdf> (skatīts 25.03.2018.)
  45. Agilent 7700 Series ICP-MS Hardware and Performance Specifications: [http://hpst.cz/sites/default/files/uploaded\\_files/5990-4177en\\_7700\\_series\\_icp-ms\\_specifications.pdf](http://hpst.cz/sites/default/files/uploaded_files/5990-4177en_7700_series_icp-ms_specifications.pdf) (skatīts 25.03.2018.)
  46. ICP-MS High Matrix Introduction Accessory: [https://www.agilent.com/en/products/icp-ms/icp-ms-accessories/icp-ms-high-matrix-introduction-\(hmi\)-accessory](https://www.agilent.com/en/products/icp-ms/icp-ms-accessories/icp-ms-high-matrix-introduction-(hmi)-accessory) (skatīts 25.03.2018.)
  47. A Beginner's Guide to ICP-MS. The Plasma Source: [http://alfresco.ubm-us.net/alfresco\\_images/pharma/2014/08/26/b76f37e6-9268-485c-9470-0057b2d4ce21/article-1096.pdf](http://alfresco.ubm-us.net/alfresco_images/pharma/2014/08/26/b76f37e6-9268-485c-9470-0057b2d4ce21/article-1096.pdf) (skatīts 25.03.2018.)

48. Crustal Geophysics and Geochemistry Science Center. What is ICP-MS: <https://crustal.usgs.gov/laboratories/icpms/intro.html> (skatīts 25.03.2018.)
49. A Beginner's Guide to ICP-MS. The Ion Focusing System: [https://www.uam.es/personal\\_pas/txrf/imagenes/tutorial5.pdf](https://www.uam.es/personal_pas/txrf/imagenes/tutorial5.pdf) (skatīts 25.03.2018.)
50. Масс-спектрометр – принцип работы и применение масс-спектрометров: <http://vakuumtest.ru/mass-spektrometr/> (skatīts 25.03.2018.)
51. Quadrupole ICP-MS Lab: <http://www.jsg.utexas.edu/icp-ms/icp-ms/> (skatīts 25.03.2018.)
52. The Easy Guide to Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry: <http://www.jsg.utexas.edu/icp-ms/icp-ms/> (skatīts 25.03.2018.)
53. Chromservis. Scheme of quadrupole analyzer: <https://www.chromservis.eu/c/gc-ms-tof> (skatīts 25.03.2018.)
54. School of Chemistry, Mass Spectrometry Facility. Ion Detectors: <http://www.chm.bris.ac.uk/ms/detectors.xhtml> (skatīts 30.03.2018.)
55. Huygens Probe, Gas Chromatograph Mass Spectrometer. Mass Spectrometer, Detector: [https://attic.gsfc.nasa.gov/huygensgcms/MS\\_Detector\\_1.htm](https://attic.gsfc.nasa.gov/huygensgcms/MS_Detector_1.htm) (skatīts 30.03.2018.)
56. Organic Spectroscopy. Detectors in mass spectrometer, electron multiplier: <http://orgchemguide.blogspot.com/2012/03/detectors-in-mass-spectrometer-electron.html> (skatīts 30.03.2018.)
57. Spectroscopic Techniques: <http://nptel.ac.in/courses/102103044/module2/lec12/7.html> (skatīts 30.03.2018.)
58. Walpole, S. C.; Prieto-Merino, D.; Edwards, P.; Cleland, J.; Stevens, G.; Roberts, I. The weight of nations: an estimation of adult human biomass. *BMC Public Health* **2012**, *12*, 439
59. The Statistics Portal. Per capita consumption of chocolate in leading countries in Europe in 2015: <https://www.statista.com/statistics/625408/leading-consumers-of-chocolate-europe/> (skatīts 30.03.2018.)

Bakalaura darbs „Smago metālu noteikšana šokolādē, izmantojot induktīvi saistītās plazmas masspektrometrijas metodi.” izstrādāts ZI „BIOR”.

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

Vadītāja profesore, Dr. sc. ing. Kristīna Tihomirova: \_\_\_\_\_  
(personiskais paraksts) (datums)

Recenzents lektore, maģ. ķīm. Ruta Gigele: \_\_\_\_\_  
(personiskais paraksts) (datums)

Darbs iesniegts Ķīmijas fakultātē: \_\_\_\_\_ (datums)

Dekāna pilnvarotā persona, metodiķe: \_\_\_\_\_ Vija Gutāne  
(personiskais paraksts)

Darbs aizstāvēts bakalaura gala pārbaudījuma komisijas sēdē:

\_\_\_\_\_ protokols Nr. \_\_\_\_\_ (ieraksta sekretārs)  
(datums) (protokola Nr.)

Komisijas sekretāre, lektore: \_\_\_\_\_  
(personiskais paraksts) (paraksta atšifrējums)