

ODREĐIVANJE OSTATAKA ORGANOKLORNIH PESTICIDA U TJESTENINI

Brnabić, Porin

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:683768>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-31**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Porin Brnabić

ODREĐIVANJE OSTATAKA ORGANOKLORNIH PESTICIDA U TJESTENINI

Diplomski rad

Rijeka, 2021.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Porin Brnabić

ODREĐIVANJE OSTATAKA ORGANOKLORNIH PESTICIDA U TJESTENINI

Diplomski rad

Rijeka, 2021.

Mentor rada: doc. dr. sc. Igor Dubrović, dipl. sanit. ing.

Diplomski rad obranjen je dana _____ u/na _____

_____, pred povjerenstvom u sastavu:

1. _____

2. _____

3. _____

Rad ima: _____ stranica, _____ slika, _____ tablice, _____ literaturnih navoda.

Sadržaj:

1. UVOD	1
1.1. Proizvodnja tjestenine	1
1.1.1. Sirovine za proizvodnju tjestenine	1
1.1.1.1. Krupica durum pšenice.....	1
1.1.1.2. Voda	3
1.1.1.3. Dodatne sirovine	4
1.1.2. Proces proizvodnje tjestenine.....	4
1.2. Organoklorni pesticidi.....	6
1.2.1. Pesticidi	6
1.2.2. Insekticid	8
1.2.2.1. Organoklorni pesticidi.....	9
1.2.2.2. Organoklorni pesticidi u hrani.....	10
1.2.2.3. Određivanje ostataka organokolornih pesticida	11
1.2.2.4. Zakonska regulativa organoklornih pesticida u Europskoj uniji i Republici Hrvatskoj	14
2. CILJ RADA.....	17
3. MATERIJALI I METODE	18
3.1. Materijali	18
3.1.1. Uzorci za analizu	18
3.1.2. Kemikalije	18
3.1.3. Pribor i oprema.....	18
3.2. Metode.....	21
3.2.1. Izračunavanje rezultata.....	23
4. REZULTATI.....	24
4.1. Validacija mjernog postupka.....	31
4.2. Mjerna nesigurnost rezultata ispitivanja	38
4.3. Međulaboratorijsko uporedno ispitivanje (interkalibracija).....	42

5. RASPRAVA.....	44
6. ZAKLJUČAK	46
7. LITERATURA.....	47
8. ŽIVOTOPIS	54

SAŽETAK:

Tjestenina se dobiva miješanjem pšenične krupice s vodom, može biti oblikovana u razne oblike i mora biti podvrgnuta termičkoj obradi sušenja. Tjestenina se na tržište stavlja pod slijedećim nazivima: tjestenina od durum pšenice, tjestenina od durum pšenice i krušne pšenice, tjestenina od krupne pšenice i durum pšenice, tjestenina od krupne pšenice. Udio vode u tjestenini ne smije biti veći od 13 %. Proces proizvodnje tjestenine se sastoji od nekoliko koraka. Prvi korak je priprema sirovine. Nakon pripreme sirovine slijede koraci: miješanje ili zamjesivanje tjestenine, prešanje i oblikovanje tjestenine, sušenje tjestenine i na kraju pakiranje tjestenine. pesticidi mogu biti proizvodi koji su biološkog porijekla i kemijski proizvodi namijenjeni u: suzbijanju ili sprječavanju napada na štetnike i uzročnike bolesti, uništavanju vrsta korova i biljaka koje su nepoželjne, djelovanju na životne tokove biljki na način različiti od sredstava za ishranu bilja, poboljšavanju u samom djelovanju pesticida. Organoklorni pesticidi se ubrajaju u skupinu perzistentnih organskih onečišćivača (POO) iz razloga jer imaju dug period razgradnje. Najpoznatiji predstavnik je diklordifeniltrikloretan (DDT), Analitičke metode s kojima se mogu odrediti ostaci pesticida su: plinska kromatografija sa spektrometrom masa (GC – MS i GC – MS/MS), plinska kromatografija s detektorom zahvata elektrona (GC – ECD), tekućinska kromatografija sa spektrometrom masa (LC – MS/MS). Cilj ovog istraživačkog rada je bio odrediti ostatak organoklornih pesticida u suhoj tjestenini, zapravo sadrži li suha tjestenina organoklorne pesticide. U eksperimentalnom dijelu rada korišteni su brašno durum pšenice, jaja u prahu i suha tjestenina, točnije suha tjestenina oblika školjkice, suha tjestenina oblika fidelini, suha tjestenina oblika rezane rice, suha tjestenina oblika slova s dodatkom jaja u prahu i suha tjestenina oblika školjkice s dodatkom jaja u prahu. Svi uzorci su analizirani u akreditiranom laboratoriju Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo Primorsko goranske županije u Rijeci. Uz ove uzorke u istraživanje su uneseni uzorci suhe tjestenine od Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo Primorsko goranske županije u Rijeci kroz desetogodišnje razdoblje (2011. – 2020. godine) kojih je bilo sveukupno 110 uzoraka. Svi uzorci su sadržavali ostatke organoklornih pesticida ispod razine granice kvantifikacije i maksimalno dopuštene koncentracije. Zaključak ovog istraživanje je da analizirana suha tjestenina ne sadrži ostatke organoklornih pesticida.

ključne riječi: tjestenina, proizvodnja tjestenine, organoklorni pesticidi, kromatografija,

ABSTRACT:

Pasta is a product obtained by mixing wheat semolina with water, shaped into various shapes and subjected to heat treatment of drying. Pasta is placed on the market under the following names: durum wheat pasta, durum wheat and bread wheat pasta, coarse wheat and durum wheat pasta, coarse wheat pasta. The water content of the pasta should not exceed 13%. The pasta production process consists of several steps. The first step is to prepare the raw material. After preparing the raw material, the following steps include mixing or kneading the pasta, pressing and shaping the pasta, drying the pasta and finally packing the pasta. Pesticides are chemical products or products of biological origin intended for: suppression or prevention of attacks by pests and pathogens, destruction of unwanted plant species and weeds, operating on plant life processes in a way different than plant nutrition products and improvement of the action of these pesticides. Organochlorine pesticides belong to the group of persistent organic pollutants (POPs) because of their long decomposition period. The best known representative is dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). Analytical methods that can be used to determine pesticide residues are: gas chromatography with mass spectrometer (GC - MS and GC - MS / MS), gas chromatography with electron capture detector (GC - ECD), liquid chromatography with a mass spectrometer (LC - MS / MS). The aim of this research was to determine the amount of the residue of organochlorine pesticides in dry pasta and to see whether dry pasta actually contains organochlorine pesticides. Durum wheat flour, powdered eggs and dry pasta, more precisely shell-shaped dry pasta, fidelini-shaped dry pasta, cut rice-shaped pasta, letter-shaped dry pasta with the addition of egg powder and dried pasta-shaped pasta also with the addition of powdered eggs were used in the experimental part of the paper. All samples were analyzed in the accredited laboratory of the Teaching Institute of Public Health of the Primorsko-Goranska County in Rijeka. In addition to these samples, samples of dry pasta from the Teaching Institute of Public Health of the Primorsko-Goranska County in Rijeka over a ten-year period (2011-2020) were also introduced into the research and they make a total of 110 samples. All samples contained residues of organochlorine pesticides below the level of the limit of quantification and the maximum allowable concentration. The conclusion of this study is that the analyzed dry pasta does not contain residues of organochlorine pesticides.

Keywords: pasta, pasta production, organochlorine pesticides, chromatography

ZAHVALE:

1. UVOD

1.1. Proizvodnja tjestenine

1.1.1. Sirovine za proizvodnju tjestenine

Prema Pravilniku o žitaricama i proizvodima od žitarica, tjestenina se dobiva miješanjem pšenične krupice s vodom, može biti oblikovana u razne oblike i mora biti podvrgnuta termičkoj obradi sušenja. Tjestenina se na tržište stavlja pod slijedećim nazivima:

- tjestenina od durum pšenice
- tjestenina od durum pšenice i krušne pšenice
- tjestenina od krupne pšenice i durum pšenice
- tjestenina od krupne pšenice

Udio vode u tjestenini prema ovom Pravilniku ne smije biti veći od 13 % [1].

Tjestenina se proizvodi od dvije osnovne sirovine, a to su mlinski proizvodi (krupica, brašno) i voda. Uz osnovne sirovine mogu se koristiti i dodatne sirovine kao što su: jaja, mlijeko, voće, povrće, biljne masti, minerali, začini i mnogi drugi.

1.1.1.1. Krupica durum pšenice

Latinski naziv za tvrdu pšenicu je durum triticum [2]. Tjestenina je zajednički naziv za namirnice koje se proizvode od semoline koja se dobije mljevenjem tvrde pšenice (triticum durum). Semolina je žuto, zrnasto brašno koje se melje od tvrde pšenice. Riječ je izvedena iz latinskog naziva "simil", što znači fino bijelo brašno. Semolina se radi od endosperma durum pšenice te ima visok udio proteina. Iako se može koristiti u raznim pekarskim proizvodima, semolina se uglavnom koristi za izradu tjestenine [3]. Triticum durum ima tvrdi endosperm koji daje jantarno žutu boju tijekom mljevenja pšenice [4]. Endosperm zrna pšenice sadrži karotenoid koji tjestenini daje žutu boju. Durum pšenica ima tvrdoću od 100 % i sadrži 13 % do 15 % proteina [5].

Pšenica koja je namijenjena u proizvodnji suhe tjestenine mora imati određene tehnološke vrijednosti, a to se očituje u boji, tijekom mljevenja koliko je iskorištenje, od čega je zrno građeno, kako se ponaša tijekom izrade tjestenine i na kraju kako tjestenina izgleda prilikom samog kuhanja. Iskorištenje prilikom mljevenja je vrlo značajan ekonomski pokazatelj. To je količina krupice, koja se može dobiti od 100 kg pšenice pogodne za proizvodnju tjestenine. Kod kvalitetnih durum pšenica prinos krupice se kreće čak do 70 %, dok se kod meke pšenice s staklastim izgledom prinos krupice kreće oko 30 %. Prinos ovisi o strukturi i mehaničkim

karakteristikama endosperma, odnosno o staklavosti, veličini, obliku i ujednačenosti zrna te o zdravstvenom stanju i sadržaju primjesa. Pokazatelji kvalitete krupice za tjesteninu su:

- udio tamnih čestica
- boja
- udio i kvaliteta proteina
- granulacijski sastav
- udio vode (vlažnost)
- enzimska aktivnost
- zdravstvena i higijenska ispravnost [6].

Prisutnost tamnih čestica je od posebnog značaja u proizvodnji jer one kvare izgled tjestenine. Zbog toga je kao pokazatelj čistoće uveden broj tamnih čestica na jedinicu površine rasute krupice.

Mogu se razlikovati dva tipa tamnih čestica: crne i smeđe. Crne su lako uočljive, kako u krupici, tako i u tjestenini. Rezultat su loše kakvoće pšenice, a uzrok tome su uglavnom brojne gljivice *Alternaria Altenate* i *Helminthosporium sativum*. Smeđe su mnogo brojnije i teže uočljive, a rezultat su nepravilnog čišćenja pšenice i loše postavljenog procesa mljevenja. Njihova prisutnost ovisi o udjelu omotača u krupici, odnosno o udjelu mineralnih tvari. Iskorištenje procesa mljevenja je obrnuto proporcionalno sa svjetlinom tjestenine. Krupice koje se proizvode od tvrdih pšenica su s većim udjelom mineralnih tvari od krupica koje potječu od mekih pšenica iste čistoće, odnosno s istim udjelom endosperma [6].

Boja ovisi o više faktora, a to su: udio žutih pigmenata u endospermu, udio usitnjenih čestica omotača, veličina čestica (granulacija) te prisutnost enzima lipooksigenaze i polifenoloksidaze [6]. Za odabir kvalitetne durum pšenice bitna je razina pigmentacije kao čimbenik koji utječe na odobravanje od strane potrošača [7.]. Osnovni karotenoidni pigmenti u tjestenini su: ksantofili, esteri ksantofila i karoten. Njihov odnos ovisi od vrste, sorte i uvjeta uzgoja pšenice. U prosjeku ksantofila ima oko 90%, a estera ksantofila i karotena po 5 % u odnosu na ukupni udio karotenoida u brašnu. Smatra se da karotenoidi u proizvodnji tjestenine ima samo estetsku ulogu dajući proizvodima privlačnu žućkastu boju. Žućkasta boja može se postići i dodatkom riboflavina, ekstrakta beta karotena ili biljnih proizvoda sa žutom bojom. Molekule karotenoida sadrže nestabilne dvostruke veze što predstavlja jedan od uzroka za laku oksidaciju i gubitak boje. Pri procesu proizvodnje tjestenine ne dolazi do razgradnje. Karotenoidi stvaraju s proteinima brašna čvrsto vezane komplekse te štite karotenoidne pigmente od razgradnje, ne

samo pod djelovanjem enzima već i pod djelovanjem svjetlosti. Tjestenina napravljena od durum krupice ne može izgubiti žutu boju ni pri skladištenju na svijetlu, iako je upakirana u ambalažu koja je prozirna prozračnu [6].

Boja krupice ovisi i o stupnju usitnjenosti. To je optički efekt koji proizlazi iz zakona odbijanja svjetlosti gdje je rasipanje kod krupnih granulata mnogo veće nego kod sitnih, pa vizualno izgleda da su krupniji granulati tamniji [6].

Presudan utjecaj na kvalitetu tjestenine ima udio proteina u krupici. Gluten tjestenini daje određena fizička i kulinarska svojstva kao što su: mehanička otpornost, staklast izgled i nizak stupanj raskuhavanja i sljepljivanja. U oblikovanju tjestenine, gluten stvara prostornu strukturu u koju su uklopljena škrobna zrnca. Sušenjem struktura stvrdnjava i postaje prozirna i mehanički vrlo otporna. Praksa je pokazala da veći utjecaj na kvalitetu tjestenine ima količina glutena od njegovih osobina [6].

Najpogodnija krupica je sa česticama veličine 200 do 300 μm , iako se po mnogim standardima koriste krupice i drugih granulacija. Ukoliko je udio krupnih čestica visok one se ne mogu potpuno hidratizirati pri zamjesu te zamjes mora trajati duže, a postoji opasnost da se na površini tjestenine pojave bijele točke koje kvare izgled i mehanička svojstva tjestenine. Ukoliko je previsok udio sitnijih čestica zbog povećane površine, povećava se apsorpcijska moć i količina vode potrebne za zamjes pa je time otežano sušenje te nastaju deformacije na osušenoj tjestenini. Granulacijom od 200 do 300 μm postižu se optimalna reološka svojstva u fazi zamjesa i formiranja tjestenine kao i najbolji rezultati u sušenju [6].

Vlažnost krupice je od velikog značaja u prvom redu zbog mogućnosti čuvanja u vremenu od proizvodnje do prerade. S povećanom vlažnošću intenziviraju se svi štetni procesi u krupici koji se manifestiraju u povećanju kiselosti, razvoju insekata i mikroorganizama kao i pogoršanju organoleptičkih svojstava krupice (miris i okus) [6].

1.1.1.2. Voda

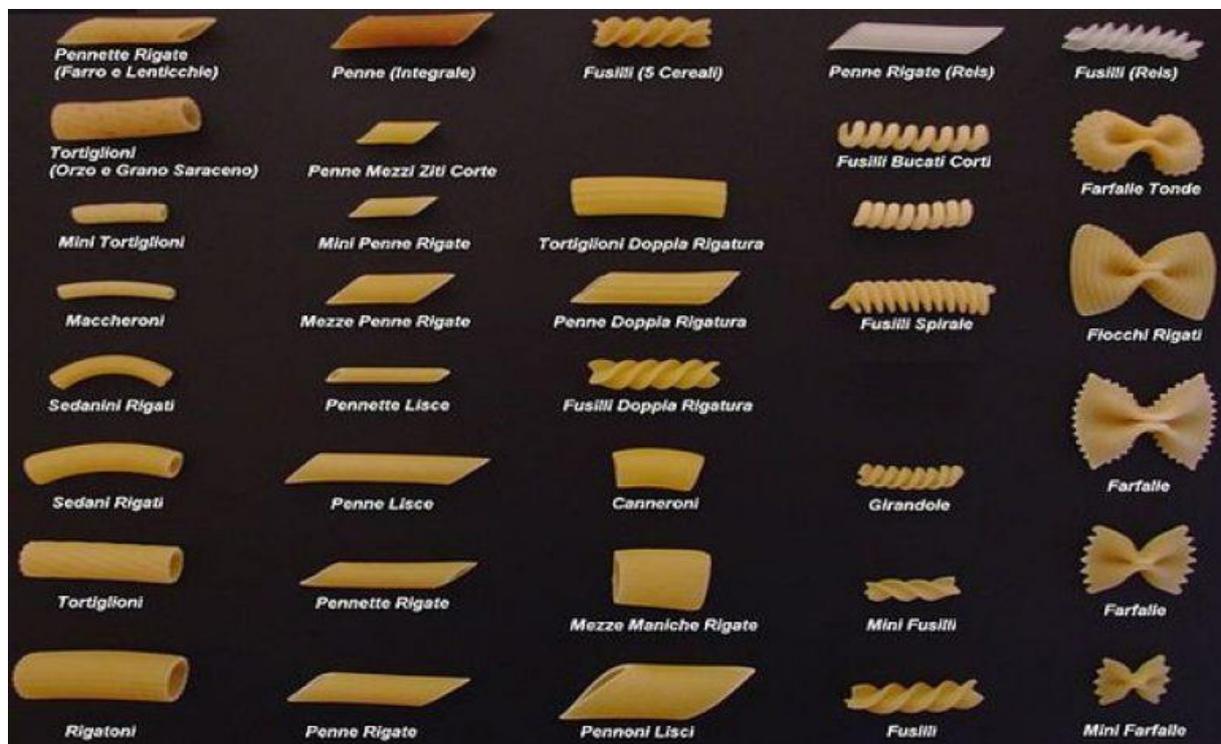
Smatra se da voda za tehnološke potrebe, osim što mora biti zdravstveno ispravna, ne smije imati tvrdoću veću od 30 francuskih stupnjeva ($1^\circ = 1 \text{ mg CaCO}_3/100 \text{ ml H}_2\text{O}$). Također je poželjan nizak udio iona natrija, magnezija, željeza i kalcija jer oni mogu tjestenini dati nepoželjnu boju [6].

1.1.1.3. Dodatne sirovine

Jaja su najznačajnija dodatna sirovina u proizvodnji tjestenine. S dodatkom jaja pored poboljšanja hranjive vrijednosti znatno se poboljšavaju i kulinarska, odnosno organoleptička svojstva tjestenine, što se očituje u smanjenom raskuhavanju, boljem okusu i ljepšoj boji što je posebno vidljivo kod tjestenine od meke pšenice. Jaja se koriste u različitim oblicima. U industrijskoj proizvodnji tjestenine koriste se smrznuti melanž ili jaja u prahu, dok se u manjim pogonima zanatskog tipa koriste i svježja jaja. Za proizvodnju tjestenine isključivo se koriste kokošja jaja. Jaja se čuvaju na temperaturi od 1 do 2 °C. U takvim uvjetima jaja se mogu čuvati do 30 dana. Dodatkom povrća značajno se mijenja okus i boja tjestenine. Povrće se dodaje uglavnom u praškastom obliku kao fino samljeveni prah s česticama ispod 250 µm. Boja ovih dodataka je jaka pa je dovoljno dodati 2 % špinata ili 4 % rajčice da bi se postigla željena promjena boje tjestenine [6].

1.1.2. Proces proizvodnje tjestenine

Proces proizvodnje tjestenine se sastoji od nekoliko koraka. Prvi korak je priprema sirovine. Nakon pripreme sirovine slijede koraci: miješanje ili zamjesivanje tjestenine, prešanje i oblikovanje tjestenine, sušenje tjestenine i na kraju pakiranje tjestenine.



Slika 1. Oblici tjestenine

Izvor:<https://ap37.ru/hr/cabbage/macaroni-of-different-forms-types-and-varieties-ofpasta.html>

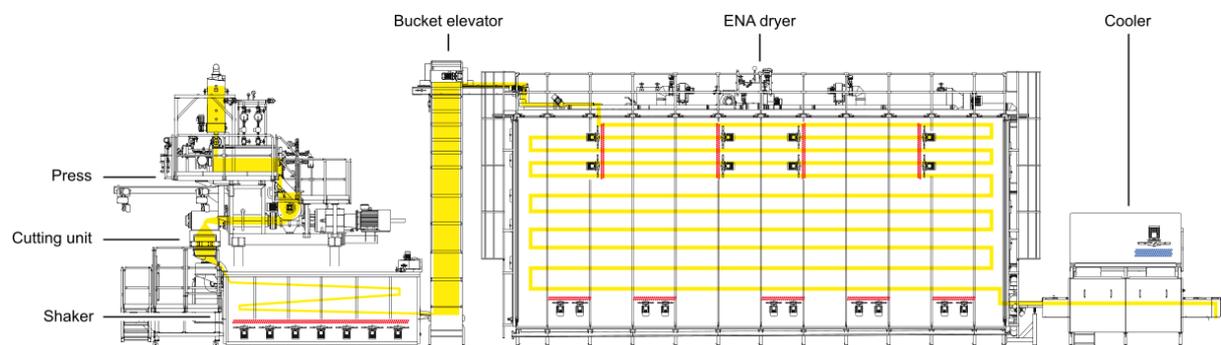
U prvom koraku priprema sirovine, tvrda pšenica se melje u semolinu pomoću mlinova za valjanje. Semolina se miješa s vodom i ostalim neobaveznim sastojcima poput jaja. [8.]

Miješanje tjestenine se obavlja u sustavu u kojem se nalazi preša. Uz prešu u istom sustavu se nalaze dozatori, miješalica, nož koji služi za rezanje tjestenine, ventilator i drugi uređaji. Prvo se doziraju sve sirovine u određenom odnosu prema predviđenom receptu. Izgled prijeloma tjestenine, vanjski izgled, boja i ostale osobine ovise o vlažnosti tijesta pri zamjesu, ali ovisi i o temperaturi tijesta. Temperatura tijesta ovisi o temperaturi vode koja se dozirala u zamjes tijesta. Postoje dva načina miješanja, a to su kontinuirani i diskontinuirani. Pri zamjesu tijesta dodaje se količinski malo vode nego što je mogućnost apsorpcije vode korištenog brašna. Prema vlažnosti zamjesa postoje meki, srednji i tvrdi zamjes. Kod veće količine vode pri zamjesu čestice brašna su ravnomjernije i brže se kvase. Također, tjestenina se lakše oblikuje i ona ima sjajnu i glatku površinu. Kod nedostatka veće količine vode, tjestenina se lijepi i lakše se gubi oblik. Kad tjestenina ima manju količinu vode, onda nije podložna lijepljenju i ne gubi oblik. Manja količina vode u tjestenini ima nedostatke, nedostatak je takav da se tjestenina teže oblikuje, duže vrijeme se mora miješati i tlakovi pri prešanju moraju biti veći. Na gotov proizvod utječe temperatura zamjesa tijesta. Zbog toga voda ili krupica mora imati određenu temperaturu. Obzirom na temperaturu vode postoje hladni zamjes (30 °C), topli zamjes (60 °C), vrući zamjes (80 °C). Najčešće se koristi hladni zamjes. Vrući i topli zamjes proizvodi tjesteninu koja ima sjajnu i glatku površinu, ali takav zamjes kod gotovog proizvoda ima lošija svojstva kod samog kuhanja tjestenine. Idealna temperatura zamjesa je između 35 i 40 °C [8].

Postoje dva načina prešanja tjestenine, a to su stanjivanje koje se koristi u domaćinstvu i manjoj industrijskoj proizvodnji te ekstrudiranje koji se koristi u industrijskoj proizvodnji s većim kapacitetom. Postupak ekstruzije je kada je tijesto zamiješano i ono se za vrijeme zamjesa pušta u cilindar preše ili ekstruder. Ekstruder ima cilindar i u njemu se okreće puž koji uzima sirovinu na početnom dijelu te prenosi, tlači, miješa, gnječi i na svršetku preša kroz otvore, a tijesto dobiva oblik otvora kroz koji prolazi [8].

Na kraju preše se nalazi nož koji sa svojim okretajima na kraju ekstruzije regulira dužinu tjestenine koja izlazi iz preše. Tjestenina se prema obliku može razlikovati po dužini i presjeku. Prema dužini se dijeli na dugu i kratku tjesteninu, a prema presjeku na punu i cjevastu. Nakon rezanja tjestenine dolazi postupak sušenja. Na glavi preše je ugrađen ventilator koji puše zrak na tjesteninu koja izlazi iz preše i suši njenu površinu. S tim postupkom se sprječava međusobno sljepljivanje tjestenine. Tjestenina koja ima udio vlage viši od 30 % je vrlo pogodna za

razvijanje mikroorganizama i za odvijanje različitih biokemijskih procesa. Sušenje se odvija u nekoliko faza da ne bi došlo do deformacija tjestenine. Tjestenina se mora brzo osušiti da bi se zaustavili svi neželjeni procesi. Pucanje tjestenine dolazi kod prebrzog sušenja, a tjestenina se ukiseli, deformira i lijepi kod presporog sušenja. Razlikuju se tri osnovne faze procesa sušenja, a to su: preosušenje, glavno sušenje i stabilizacija. Preosušenjem tjestenina gubi površinsku vodu, glavnim sušenjem tjestenina poprima čvrsti oblik, a stabilizacija se koristi da se tjestenina ohladi i zaostala voda pravilno raspodjeli po cjelokupnoj masi. Duga i kratka tjestenina se na različite načine suše i njihove sušare su drukčije dimenzionirane. Duga tjestenina u fazi preosušenja ostvaruje intenzivno isparavanje vode konstantnim dovodjenjem topline i odvođenje pare, a u fazi sušenja se provodi naizmjenično zagrijavanje i sušenje tjestenine koje se ostvaruje kretanjem tjestenine kroz cijelu sušaru. Faza stabilizacije za dugu tjesteninu se provodi na način da se osušena tjestenina sprema u određeni prostor na način da je što više stane u tom prostoru. Za kratku tjesteninu u fazi preosušenja koristi se uređaj koji ima vibrirajuće sito čime se sprječava sljepljivanje tjestenine. U fazi sušenja i stabilizacije tjestenina prolazi kroz sušaru u kojoj je tjestenina ravnomjerno raspoređena. Nakon što se cijeli postupak završi, tjestenina je spremna za skladištenje i pakiranje [8].



Slika 2. Prikaz linije za kratku tjesteninu

Izvor: <https://www.axor-italia.com/short-cut-pasta>

1.2. Organoklorni pesticidi

1.2.1. Pesticidi

Prema zakonu Republike Hrvatske, Zakonu o održivoj upotrebi pesticida (NN 14/14), pesticidi mogu biti proizvodi koji su biološkog porijekla i kemijski proizvodi namijenjeni u:

- suzbijanju ili sprječavanju napada na štetnike i uzročnike bolesti (fungicidi, insekticidi)
- uništavanju vrsta korova i biljaka koje su nepoželjne (herbicidi)

- djelovanju na životne tokove biljki na način različiti od sredstava za ishranu bilja (defolijanti, retardanti, desikanti)
- poboljšavanju u samom djelovanju pesticida [9].

Riječ pesticidi dolazi od latinske riječi pestis što u prijevodu znači kuga i riječi cedere, u prijevodu, ubiti [10]. Pesticidi mogu biti biološkog ili kemijskog podrijetla i imaju namjenu zaštititi biljke od korova, štetnih insekata, grinja, bolesti i ostalih patogenih organizama [11]. Pesticidi se dijele prema kemijskom sastavu, prema njihovoj namjeni, prema akutnoj toksičnosti i postojanosti u tlu.

Prema kemijskom sastavu pesticidi se dijele na: [11]

- organske sintetske tvari kao što su organoklorni pesticidi (DDT – diklor – difenil – trikloretan, dieldrin, PCB – poliklorirani bifenili, HCC lindan), organofosforni pesticidi, derivati fenoksi – ugljične kiseline, trialini, piretroidi i drugi
- neogranske tvari koje potječu od bakterija, gljiva i biljaka

Pesticidi se prema njihovoj namjeni dijele na: [12]

- insekticidi – za kontrolu insekata
- fungicidi – za kontrolu gljivica
- herbicidi – za kontrolu korova
- akaricidi – za kontrolu grinja
- korvifugi – za odbijanje napada ptica
- limacidi – za kontrolu puževa
- nematicidi – za kontrolu lista
- rodoenticidi – za kontrolu rasta glodavaca
- repulzivna sredstva za odbijanje životinja

Prema akutnoj toksičnosti pesticidi se dijele na: [11]

- neznatno opasne
- umjereno opasne
- znatno opasne
- krajnje opasne

1.2.2. Insekticid

Insekticidi se koriste za odbijanje ili suzbijanje kukaca, a mogu biti biološkog ili kemijskog podrijetla.

Prema stadiju kukca na kojeg djeluju insekticidi se dijele na: [13]

- adultacide – suzbijanje odraslih kukaca
- larvicidi – suzbijanje ličinki
- ovicidi – suzbijanje jaja

Prema načinu prodiranja u organizam insekticidi se dijele na: [13]

- repelente – odbijaju kukce
- regulatore rasta i razvoja – djeluju na metabolizam kukaca te dolazi do promjena u fiziološkim procesima
- inhalacijske – djeluju udisanjem para pripravaka
- kontaktni i kontaktno želučani – djeluju preko dodira i ishrane kukca tretiranim biljkama ili mamcima
- želučani – djeluju putem ishrane kukaca tretiranim mamcima ili biljkama
- kontaktni – djeluju u dodiru s kukcem

Insekticidi se dijele i prema načinu djelovanja na:

- sistemici – insekticid upija putem korijena biljke ili lista biljke i provodnim sustavom šalje u ostale organe biljke
- nesistemicima – sredstvo se ne upija nego ostaje na biljnim dijelovima koji su tretirani i tako stvaraju prevlaku da se kukac s tim dijelovima hrani i da se po njima kreće.

Uz sve ove podjele insekticidi se dijele i na:

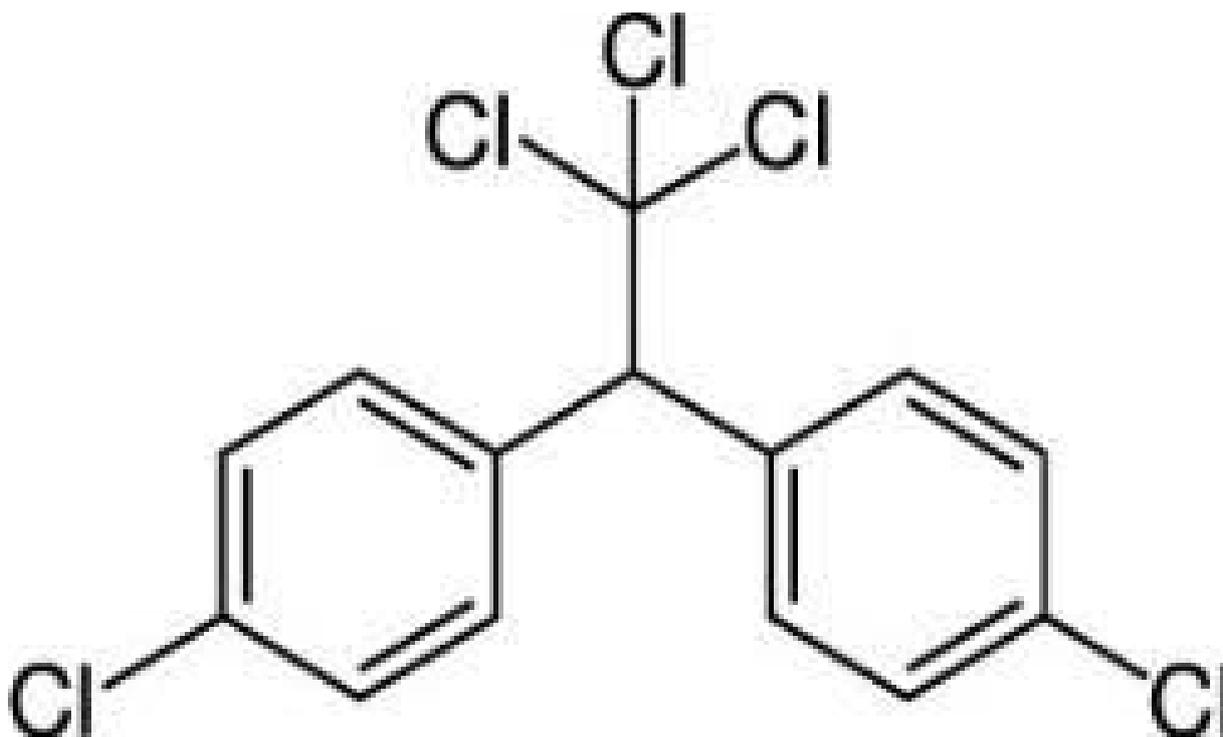
- karbamate
- organofosforne
- organoklorne
- insekticide biljnog podrijetla i sintetizirane homologe
- repelente
- fumigante
- kemosterilitante
- atraktante

1.2.2.1. Organoklorni pesticidi

Organoklorni pesticidi se ubrajaju u skupinu perzistentnih organskih onečišćivača (POO) iz razloga jer imaju dug period razgradnje. U organoklorne pesticide spadaju: aldrin, dieldrin, diklordifeniltrikloretan (DDT), heksaklorcikloheksan (HCH), heksaklorbenzen (HCB), heptaklor i poliklorirani bifenili i drugi, a 40 % svih pesticida pripada skupini organoklornih pesticida [14]. To su spojevi koji se uglavnom sastoje od vodika, ugljika i od jednog ili nekoliko atoma klora, a po strukturi mogu biti aromatski ciklički spojevi ili klorirani alifatski spojevi [15]. Organoklorni pesticidi su otporni na biološku, fizičku i kemijsku razgradnju i uz to su vrlo toksični na organizam [16]. Djeluju na životinjski i biljni organizam na način da uništavaju štetočine na njima ali 0,1 % djeluje na ciljani organizam, a ostatak ostaje u okolinu zagađujući zrak, tlo i vodu [17]. Toksični učinci koje mogu izazvati u ljudskom organizmu su: neplodnost, neurotoksičnost, imunotoksičnosti i imaju kancerogeni potencijal [18]. Osobe koje su na duži period izložene niskim koncentracijama, mogu dovesti do oštećenja perifernog i središnjeg živčanog sustava [19]. Kronično izlaganje organoklornim pesticidima mogu izazvati vrtoglavicu, nesvjesticu, glavobolju, mučninu, slabost, probleme u disanju, ali mogu izazvati i Parkinsonovu bolest [20]. Organoklorni pesticidi utječu na neplodnost na način da izazivaju promjene u hormonima – ovisnim organima (prostata, ovarij, testis, hipofizu i hipotalamus) i utječu na oogenezu, spermatogenezu i gonadotropni sustav povratne sprege tako da smanjuju plodnost i oštećuju kromosome [21]. Izloženost organoklornim pesticidima može izazvati nastanak karcinoma testisa, prostate, pluća, mozga, dojke [22].

Kroz povijest koristili su se prirodna sredstva poput duhana za suzbijanje štetnika ali jedan od najpoznatijih i prvih napravljenih sintetičkih insekticida je DDT. O. Zeidler je prvi sintetizirao DDT 1874. godine. Može se proizvesti pod djelovanjem sulfatne kiseline i kondenzacijom klorala i klorbenzena. DDT je krutog oblika, vodi bezbojnih i topivih kristala. On se pri temperaturi od 90 °C tali i na zraku i svjetlu je otporan pod utjecajem kiselina, ali ga lužine razgrade tako da nema svojstva insekticida. P. Muller je kemičar švicarskog podrijetla koji je utvrdio da DDT može djelovati kao insekticid [23]. Transformira se u svoje derivate diklor – difenil – dikloretan (DDD i DDE) koji su u tkivu stabilni [24]. DDT se najviše koristio tijekom Drugog svjetskog rata i jedno razdoblje poslije njega sve do sredine druge polovice 20. stoljeća kad je odredbama Stockholmske konvencije zabranjen u Europi radi svoje teške razgradnje, stabilnosti i velike toksičnosti. DDT se potpuno zabranio u cijelom svijetu 2001. godine. Također, Stockholmskom konvencijom je odobreno korištenje u posebnim slučajevima u borbi protiv epidemija ako to odobri Svjetska zdravstvena organizacija [25]. Ista konvencija sugerira

da ukoliko se u industrijskoj proizvodnji proizvede otpad koji sadrži većinu organoklornih pesticida, otpad se mora na pravilan način osigurati, odložiti ili uništiti. Prije njegove zabrane uočila su se izumiranja nekih vrsta ptica zbog korištenja ovog organoklornog pesticida, a to se primijetilo kod ptica. Ptice se nisu mogle izlegnuti zbog mase koja je sjedila na njima jer se ljuska jajeta omekšala [24]. Koristi se najviše u poljoprivredi i njegovo vrijeme polživota je između 2 i 15 godina [27].



Slika 3. Prikaz molekule DDT-a

Izvor: <https://sh.wikipedia.org/wiki/DDT>

1.2.2.2. Organoklorni pesticidi u hrani

Pesticidi se mogu pronaći u hrani posredno prilikom zagađenja okoliša i neposredno prilikom tretiranja okoliša. Preradom, uklanjanjem kore i listova, pranjem hrane pesticidi se mogu u jednoj mjeri ukloniti iz hrane [28]. Na cjelokupni ekosustav pesticidi imaju štetno djelovanje. Uz okoliš pesticidi štetno djeluju i na ljude i životinje [29]. Organoklorni pesticidi mogu lako dospjeti u ekosustav zbog svojih fizikalno – kemijskih svojstava i također radi svoje otpornosti. Zbog spore biodegradacije ova vrsta pesticida se skuplja u masnom tkivu životinja [30]. Znanstvenici Ding i suradnici su u svojoj studiji 2019. godine dokazali da u uzorcima 46 riba i šest mora ima organoklornih pesticida, a u uzorcima je bilo najviše DDT-a [31]. Voće i povrće

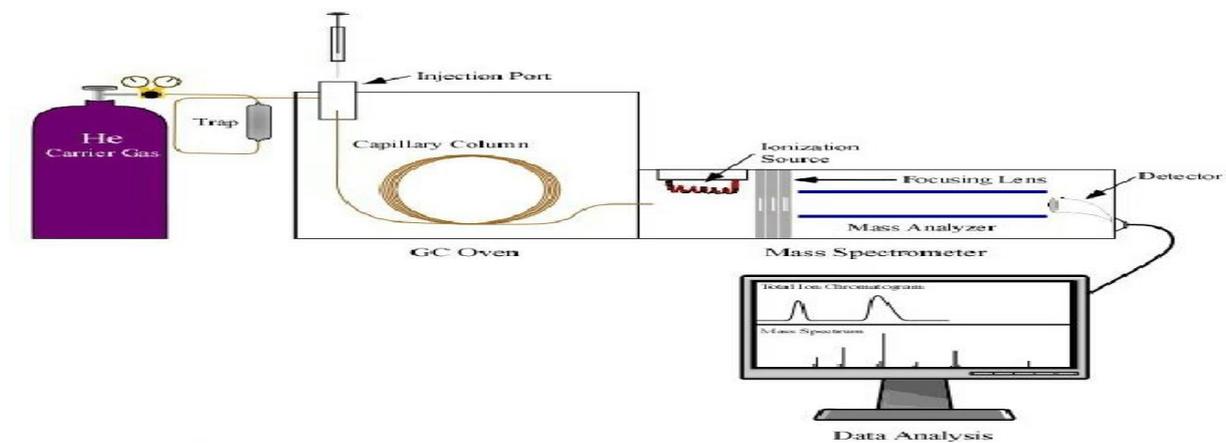
spada u jedne od najbitnijih namirnica u ljudskoj prehrani. Poljoprivreda je djelatnost u kojoj se najviše koriste pesticidi. Poljoprivrednici s pesticidima štite svoje usjeve od štetnika. Bempah i suradnici su u svom istraživanju „*Residues of organochlorine pesticides in vegetables marketed in Greater Accra Region of Ghana*“ 2012. godine dokazali da svaki od 240 uzoraka voća i povrća koje su analizirali u sebi ima organoklorne pesticide lindan, endrin, dieldrin, heptaklor i ostale [32]. Uz voće i povrće, meso ima bitnu ulogu u ljudskoj prehrani. Pesticidi se u akumuliraju u masnom tkivu životinja, a oni dospiju u životinjski organizam putem kontaminirane hrane. U znanstvenim istraživanjima u kojima su se uzimali uzorci iz raznih zemalja dokazalo se da je količina DDT-a i njegovih izomera iznad dopuštene količine kao što je bilo u studiji „*Evaluation of organochlorine pesticide (OCP) residues in meat and edible organs*“ u Iranu 2019. godine [33]. Od ostale hrane za ljudsku populaciju poput mlijeka i mliječnih proizvoda u mnogim istraživanjima je dokazano da organoklornih pesticida ima ispod maksimalnih dopuštenih granica. Organoklorni pesticidi se u nekim zemljama smiju upotrebljavati zbog epidemija raznih bolesti. Zbog toga se u tim zemljama pronašla veća količina DDT-a [34]. Organoklorni pesticidi mogu dospjeti u vodu, ako oni dospiju u vodu mogu imati negativne učinke na ekosustav i zdravlje ljudi. Znanstvenici su dokazali da rijeka Yangtze u Kini sadrži organoklorne pesticide, ali u količinama koje su manje od maksimalno dopuštenih koncentracija [35] kao i mnogim drugim istraživanjima poput jednog u Brazilu [36].

1.2.2.3. Određivanje ostataka organoklornih pesticida

Analitičke metode s kojima se mogu odrediti ostaci pesticida su: plinska kromatografija sa spektrometrom masa (GC – MS i GC – MS/MS), plinska kromatografija s detektorom zahvata elektrona (GC – ECD), tekućinska kromatografija sa spektrometrom masa (LC – MS/MS). Ostatak pesticida je aktivna tvar, metabolit ili razgradni produkt ili produkt reakcije aktivne tvari koja se koristi ili se koristila u sredstvu za zaštitu bilja [37].

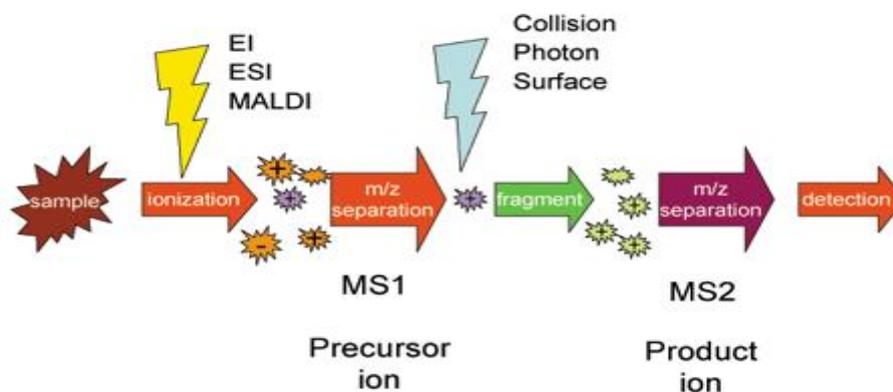
Plinska kromatografija sa spektrometrom masa (GC – MS i GC – MS/MS) je standard za kvalitativnu i kvantitativnu analizu. Plinska kromatografija se koristi za kvantifikaciju i odjeljivanje sastojaka, a spektrometrija masa služi za analizu pojedinih sastojaka za kvalitativna analizu [38]. Plinski kromatograf razdvaja komponente iz smjese različitih komponenata. Sastoji se od injektora, kromatografske kolone i detektora. Plinska kromatografija se sastoji od dvije faze. Mobilna faza je plin (najčešće helij, a može biti dušik i vodik), a stacionarna faza je čvrsta (silika gel ili polidimetilsiloksan), a može biti i tekuća (tekući ugljikovodici, esteri, viši alkoholi) [39]. Ona se koristi za analizu lako hlapljivih ili plinovitih tvari, a isparava na koloni koja ima temperaturu do 400 °C, ali tada ne dolazi do razgradnje. Komponente koje su se

razdvojile dolaze do detektora u različitim vremenima koje se zove retencijsko vrijeme, a komponente se razdvajaju na temelju različitih brzina gibanja komponenata nošenih mobilnom fazom i posljedica je različitog afiniteta prema stacionarnoj fazi [38]. Razdvojene komponente prolaze kroz maseni spektrometar u kojem se uzorak ionizira, potom nastaju nabijeni fragmenti, odnosno molekulski ioni te ulaze u magnetski analizator u kojem se komponente razdvajaju na temelju njihovog odnosa mase i naboja [40]. Komponente se detektiraju i analiziraju se ioni. Kromatogram na apcisi ima retencijsko vrijeme, što je vrijeme prolaska kemijskog spoja kroz kolonu, a ordinata ima signal u obliku vrška (pik). Pikovi komponenta se izražavaju kao omjer mase i naboja. Visina pika je proporcionalna količini odgovarajućeg spoja. Pouzdanost, selektivnost, mala količina, visoka osjetljivost i preciznost uzorka potrebna za analizu su prednosti GC – MS, a nedostaci su dugotrajan i skupi postupak pripreme uzorka [41].



Slika 4. Prikaz sheme GC – MS

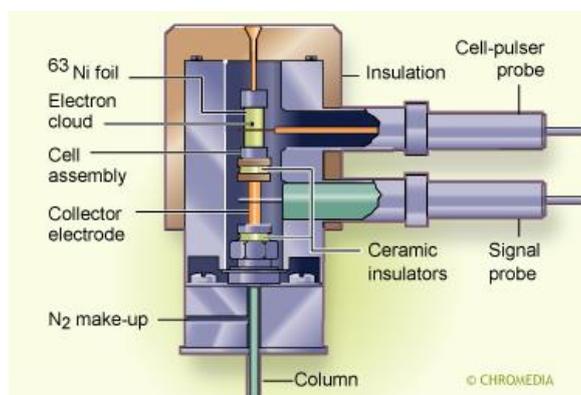
Izvor: https://www.researchgate.net/figure/Schematic-of-a-GC-MS-system_fig1_221927526



Slika 5. Prikaz sheme MS/MS

Izvor: <https://nationalmaglab.org/user-facilities/icr/techniques/tandem-ms>

Uz plinsku kromatografiju sa spektrometrom masa za određivanje ostataka pesticida koristi se plinska kromatografija s dvostrukim spektrometrom masa (GC – MS/MS) i plinska kromatografija s detektorom zahvata elektrona (GC – ECD) [42.]. GC – ECD se sastoji od plinskog kromatografa i detektora zahvata elektrona. To je specijalna vrsta detektora koji se koristi za detektiranje komponenti koje u sebi imaju atomske skupine ili atome s velikim afinitetom za elektrone, kao što su spojevi s halogenim elementima. ECD detektor je komora kroz koju prolazi plin nosač. Plin nosač uglavnom je dušik, a može biti argon koji se podvrgavaju ionizaciji. Radioizotop služi za ionizaciju, najčešće je to nikal (Ni^{63}). Za uspostavu standardnog protoka struje u detektoru mora proći plin nosač. Plin nosač nosi uzorak i smanjuje se protok struje i to smanjenje protoka struje se registrira kao signal [43].



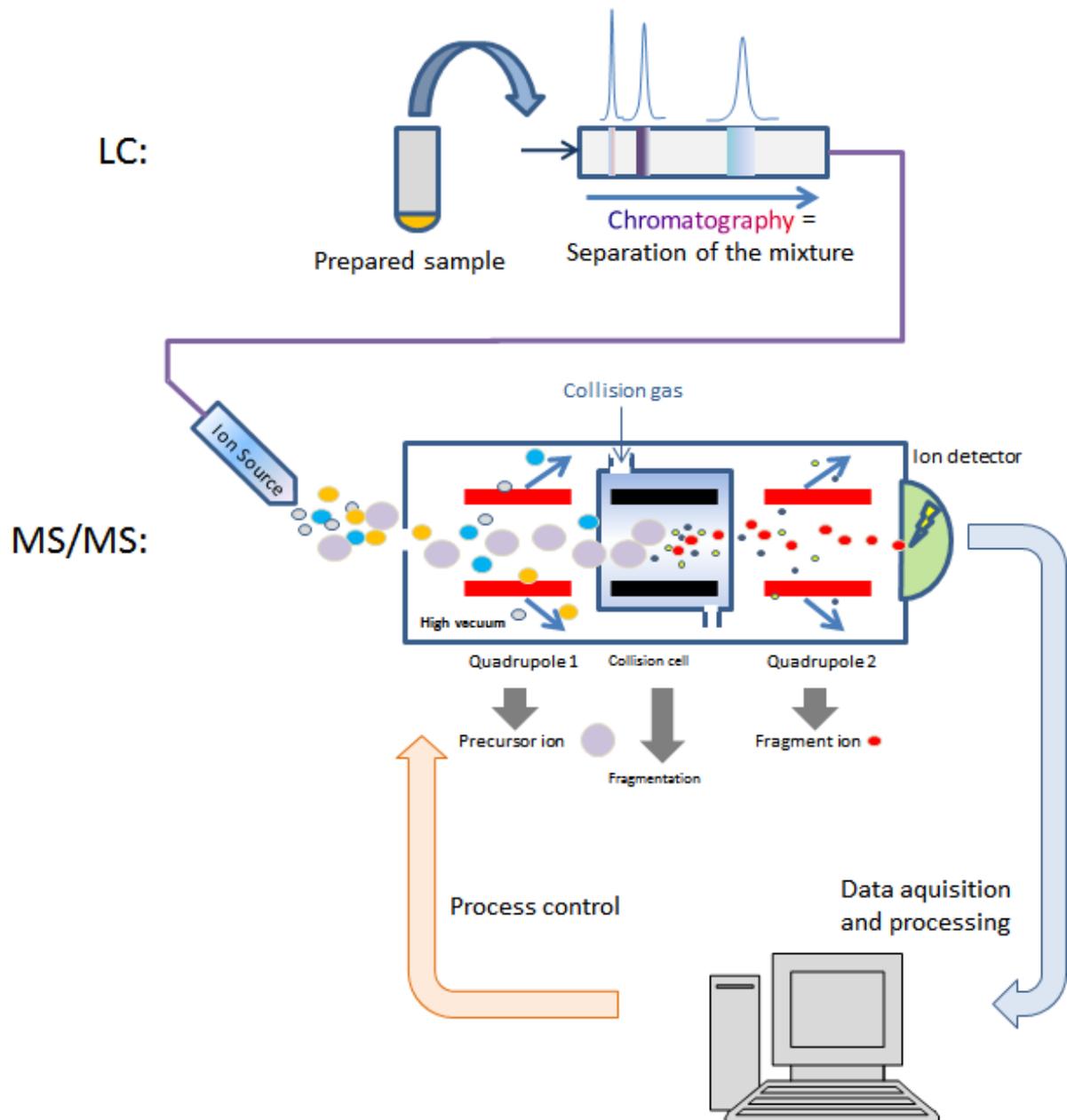
Slika. 6. ECD detektor

Izvor:

<http://www.chromedia.org/chromedia?waxtrapp=wbqucDsHqnOxmOIIEcCdCqBhBmB&subNav=qpbgcDsHqnOxmOIIEcCdCqBhBmBbC>

Tekućinska kromatografija sa spektrometrom masa (LC – MS/MS) se sastoji od tekućinskog kromatografa i masenog spektrometra. Tekućinski kromatograf ima sustav za otplinjavanje i dopremu pokretne faze, injektora, kolone i detektora te ona služi za separaciju otopljenih tvari koje stupaju u interakciju s tekućom i nepokretnom fazom i imaju različito vrijeme zadržavanja na koloni [44.]. Za razliku od plinske kromatografije, tekućinska kromatografija je pogodna za analizu analita koju su termički nestabilni i s njom se mogu analizirati mnoge polarne i nepolarne molekule [45]. Tekućinski kromatograf se sastoji od pumpi, degasera, termostata kolone, autosamplera i masenog detektora [46]. LC ima dva mehanizma odjeljivanja, razdjelnu kromatografiju koja ima polarnu nepokretnu fazu i nepolarnu pokretnu fazu (kloroform, heksan, diklormetan) i kromatografiju obrnutih faza gdje je nepokretna faza nepolarne (nepolarne

skupine vezane na silikagel) i pokretna faza je polarna (smjesa organskih otapala i vode) [45]. Tekućinski kromatograf i maseni spektrometar su spojeni dijelom koji ima funkciju ionizacije molekule. Ioni se provode kroz analizator u kojem se odvajaju na odnosu naboja i mase [44].



Slika 7. Prikaz sheme LC – MS/MS

Izvor: <https://healthcare-in-europe.com/en/news/a-brief-history-of-mass-spectrometry.html>

1.2.2.4. Zakonska regulativa organoklornih pesticida u Europskoj uniji i Republici Hrvatskoj Uredba o stavljanju sredstava za zaštitu bilja na tržište (EU) 1107/2009 također se primjenjuje u Republici Hrvatskoj. Ona regulira novi sustav zaštite podataka, paralelnu trgovinu, evidenciju o nabavi, proizvodnji, upotrebi, uvozu i izvozu sredstava za zaštitu bilja. Također, njom se žele

postrožiti standardi za uključivanje aktivnih tvari u registar odobrenih aktivnih tvari za korištenje u sredstvima za zaštitu bilja, registraciju dodatnih sredstava i sjemena koje je tretirano. Neke aktivne tvari ovom Uredbom su zabranjene jer ne zadovoljavaju toksikološke standarde, a neke su povučene [47]. Uredba o razvrstavanju, označavanju, obilježavanju i pakiranju opasnih kemikalija (EK) 1272/2008 osigurava zaštitu ljudskog zdravlja i zaštitu okoliša koja je vrlo visoka, prihvaćajući koncepte na slobodnom tržištu slobodnog i održiv razvoj [48]. Odredbe ove Uredbe su prenesene u zakonodavstvo Republike Hrvatske u Pravilniku o razvrstavanju, označavanju, obilježavanju i pakiranju opasnih kemikalija (NN 64/2011) [49].

Direktiva o održivoj upotrebi pesticida (2009/128/EK) kontrolira primjenu pesticida. Ovom Direktivom Europska komisija predviđa da bi sve članice Europske Unije trebale donijeti državne akcijske ciljeve u kojima određuju kvantitativne činjenice, mjere, vremenske planove i ciljeve za smanjene učinka i razine pesticida za ljudsko zdravlje i okolinu. Direktiva bi trebala potaknuti uvođenje i razvoj funkcionalnog očuvanja bilja i tehnike s kojima se smanjuje upotreba pesticida. Ona preporuča da se zamjene kemijska zaštitna sredstva s organskom proizvodnjom hrane i da se ljudska populacija educira o pesticidima i njihovoj primjeni. Također, nalaže se nadzor inspekcija nad odlaganjem otpada od pesticida i zaštita područja koja se nalaze blizu područja na kojima se tretira s pesticidima, a najvažnije zaštita vodotoka [50].

Uredba o maksimalnim dopustivim koncentracijama pesticida u hrani i hrani za životinje 396/2005 kontrolira se ostataka pesticida u hrani i ostalim proizvodima te u okolišu. Također, odnosi se na javno zdravlje i dostojan je prikaz funkcioniranja unutrašnjeg tržišta Europske unije [51]. Uredba Komisije (EK) br. 839/2008 od 31. srpnja 2008. donijela je izmjene Uredbe (EZ) br. 396/2005 Europskog parlamenta i Vijeća u vezi s prilogima II., III. i IV. o maksimalnim razinama ostataka pesticida u određenim proizvodima ili na njima [52]. Uredba Komisije (EU) br. 36/2014, 16. siječnja 2014. donijela je izmjene Priloga II. i III. Uredbi (EZ) br. 396/2005 Europskog parlamenta i Vijeća u pogledu maksimalnih razina ostataka klorantraniliprola, aminopiralida, mepikvata, ciflufenamida, propamokarba, metalaksila-M, kinoksifena i piriofenona u ili na određenim proizvodima [53]. Implementacija Direktive o održivoj upotrebi pesticida (2009/128/EK) u zakonima je jedna od najvažnijih dijelova zakonodavstva o pesticidima Republike Hrvatske [54].

U Republici Hrvatskoj pesticidi su regulirani Pravilnikom o maksimalnim razinama ostataka pesticida u i na hrani i hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla radi osiguranja visoke

razine zaštite potrošača u skladu s općim načelima propisanim Zakonom o hrani (NN 46/07) i s odredbama na razini Zajednice koje se odnose na ostatke pesticida [55].

Stockholmska konvencija je međunarodni sporazum koji obuhvaća norme o sprječavanju, smanjenju ili ispuštanju dvanaest postojećih organskih onečišćujućih tvari (POO) u okolinu te jedna od potpisnica ove konvencije Republika Hrvatska jedna. Navedeni pesticidi u konvenciji su: aldrin, klordan, DDT, dieldrin, imreks, endrin, heptaklor, toksafen i heksaklorbenzen [56].

2. CILJ RADA

Navedena tema ovog diplomskog rada nije zastupljena u nacionalnom i međunarodnom kontekstu. Iz tog razloga je napravljeno ovo istraživanje u kojem je temeljna hipoteza da se neće pronaći ostaci organoklornih pesticida u tjestenini. Odabrani su organoklorni pesticidi jer oni nisu više u upotrebi na području Republike Hrvatske, stoga se nastojalo na primjeru tjestenine koja je jedna od zastupljenijih namirnica u ljudskoj prehrani ukazati kako zaista u toj namirnici nema ostataka organoklornih pesticida, to jest, da tjestenina nije štetna po zdravlje..

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Materijali

3.1.1. Uzorci za analizu

U izradi istraživačkog dijela rada korišteni su brašno durum pšenice, jaja u prahu i suha tjestenina, točnije suha tjestenina oblika školjkice, suha tjestenina oblika fidelini, suha tjestenina oblika rezane rice, suha tjestenina oblika slova s dodatkom jaja u prahu i suha tjestenina oblika školjkice s dodatkom jaja u prahu.

3.1.2. Kemikalije

- petroleter, ekstra pure
- diklormetan, za analizu ostataka pesticida
- n – heksan, LiChrosolv

3.1.3. Pribor i oprema

- mikser
- tehnička vaga
- vakumski uparivač
- staklene bočice s plastičnim čepom i PTFE septumom od 2 ml (vialke)
- staklene bočice s metalnim čepom i PTFE septumom od 10 ml (vialke)
- staklene posudice za skupljanje frakcija
- odmjerne tikvice, pipete, menzure, Erlenmayerove tikvice, tikvice s okruglim dnom, tarionik
- filter papir, crna vrpca
- filter papir, 0,45 nanom veličina pora
- GC-MS/MS Agilent 7000, GC/MS triple quad, GC 7890b
- GC-MS Shimadzu, GCMS-qp 2020 nx, GC GC-2030 nexis
- GC-ECD Scion-436-GC
- LC-MS/MS Ab sciex qtrap 4500, HPLC Sciex exion LC



Slika 8. GC-MS/MS Agilent 7000, GC/MS triple quad, GC 7890b

Izvor: osobna arhiva



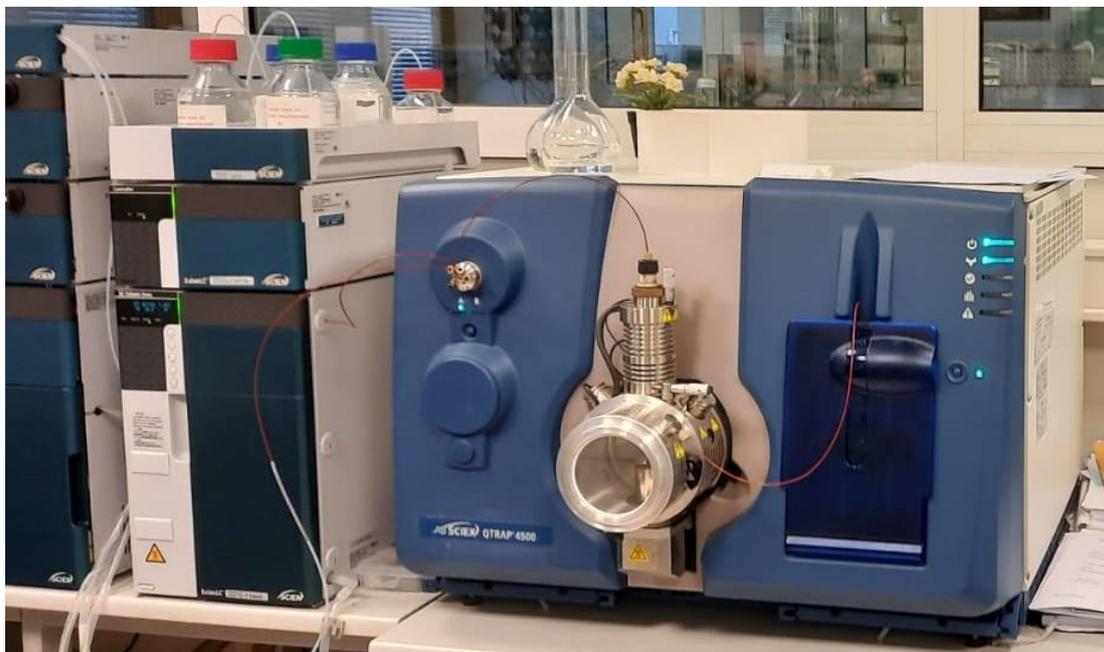
Slika 9. GC-MS Shimadzu, GCMS-qp 2020 nx, GC GC-2030 nexis

Izvor: osobna arhiva



Slika 10. GC-ECD Scion-436-GC

Izvor: osobna arhiva



Slika 11. LC-MS/MS Ab sciex qtrap 4500, HPLC Sciex exion LC

Izvor: osobna arhiva

3.2. Metode

Svi uzorci su analizirani u akreditiranom laboratoriju Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo Primorsko goranske županije u Rijeci.

U pripremi radnih standarda referentni materijal je smjesa kloriranih pesticida u koncentraciji od 8 - 80 µg/mL svaki. Standard kloriranih pesticida se razrijedi na 80 - 800 pg/µL. Tikvica od 50 mL se napuni n – heksanom i doda se 0,5 mL standarda. Dobiveno razrjeđenje je stock standard. Zatim se šest tikvica od 10 mL napuni s 5 mL i u svaku se redom dodaje po 1 mL, 0,75 mL, 0,5 mL i 0,25 mL stock standarda i tikvice se nadopune n – heksanom do oznake od 10 mL. Dobivena razrjeđenja su radni standardi od 8 pg/µL, 6 pg/µL, 4 pg/µL i 2 pg/µL. Potom se dodaje 2,5 mL radne standardne otopine kloriranih pesticida koncentracije 4 pg/µL u jednu, odnosno 2,5 mL radne standardne otopine kloriranih pesticida koncentracije 2 pg/µL u drugu preostalu tikvicu i nadopune n – heksanom do oznake. Dobivena razrjeđenja su radni standardi od 1 pg/µL i 0,5 pg/µL. Iz tako pripremljenih radnih standardnih otopina određuje se baždarna krivulja neposredno nakon pripreme.

Baždarna krivulja za završno određivanje radi se prema normi HRN EN 12393:2013, Hrana biljnog porijekla – multirezidualne metode za određivanje ostataka pesticida plinskom kromatografijom. Treći dio Određivanje i potvrđna ispitivanja (EN 12393-3:2013). Baždarna krivulja se izrađuje prilikom validacije metode, nakon promjene kromatografskog sustava. Za izradu baždarne krivulje analizira se najmanje šest radnih standardnih otopina različitih koncentracija.

Analiza uzoraka hrane na ostatke pesticida provodi se u nekoliko koraka: priprema uzoraka, završno određivanje, potvrda određene komponente. Za to se koristi norma HRN EN 12393-2:2013, Hrana biljnog porijekla – multirezidualne metode za određivanje ostataka pesticida plinskom kromatografijom. Drugi dio metode ekstrakcije i čišćenja (HRN EN 12393-2:2013), metoda za pročišćavanje uzoraka koristi se tekućinski kromatograf (GPC). Završno određivanje provodi se na plinskom kromatografu s ECD ili MS/MS detektorom.

Uzorak se homogenizira u mikseru i odvaži se 5 grama u Erlenmayerovu tikvicu od 250 mL. Zatim se u Erlenmayerovu tikvicu doda 50 mL smjese organskih otapala (petroleter: diklormetan 50:50 V/V) za ekstrakciju pesticida. Erlenmayerova tikvica se stavlja na električnu tresilicu 1 h. Smjesa se filtrira preko filter papira u tikvicu s okruglim dnom, te upari na vakuum uparivaču do suha. Ostaci pesticida se potom otope u 10 mL diklormetana (prethodno filtriranog) i prenose

u vialku od 10 mL za pročišćavanje na tekućinskom kromatografu. U tekućinski kromatograf se unosi 2 mL tako pripremljenog uzorka. Nakon pročišćavanja frakcije u kojoj se nalaze, pesticidi se prenose iz posudica za hvatanje frakcija u Erlenmayerovu tikvicu od 100 mL i upari do suha. Tako pripremljenom uzorku doda se 2 ml n - heksana i prenese u vialku od 2 mL. 1 μ L (za GC – ECD i GC – MS) ili 50 μ L (za GC – MS/MS) se unosi u plinskokromatografsku kolonu radi završnog određivanja. Ukoliko je koncentracija nekog od analiziranih pesticida na ECD detektoru veća granice kvantifikacije (GK) ili od maksimalno dopuštene koncentracije (MDK) potvrda prisutnosti te komponente provodi se analizom istog uzorka na GC – MS-u ili GC – MS/MS-u radi potvrde da li je to stvarno pesticid ili pik matriksa, odnosno uzorka. MDK za pojedine pesticide i vrstu hrane provjeravaju se u bazi podataka o najviše dopuštenim koncentracijama pesticida u hrani biljnog i životinjskog porijekla: „EU baza pesticida“ koja se zasniva na regulativi Europske komisije: Regulativa (EK) broj 396/2005.

Tablica 1. Pesticidi i koncentracijsko područje određivanja u akreditiranom laboratoriju Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo Primorsko goranske županije u Rijeci

	0,5-8 pg/ μ L	1-16 pg/ μ L	10-80 pg/ μ L
alfa-HCH	X		
beta-HCH	X		
Lindan	X		
delta-HCH	X		
Heptaklor	X		
Aldrin	X		
Heptaklorepoxid	X		
gama-klordan	X		
endosulfan I	X		
alfa-klordan	X		
4,4'-DDE		X	
Dieldrin		X	
Endrin		X	
endosulfan II		X	
4, 4'-DDD		X	
endrin aldehyd		X	
endosulfan sulfat		X	
4,4'-DDT		X	
endrin keton		X	
Metoksiklor			X

3.2.1. Izračunavanje rezultata

Koncentracija pojedine komponente izračunava se iz jednadžbe kalibracijskog pravca za tu komponentu:

$$A_{\text{komponent}} = a * C_{\text{komponente}}$$

$A_{\text{komponente}}$ = površina komponente iz kromatograma uzorka

a = nagib kalibracijskog pravca

$C_{\text{komponente}}$ = koncentracija komponente

Rezultati se prikazuju u mg/kg, na tri decimale.

4. REZULTATI

Za izradu eksperimentalnog dijela rada korišteni su brašno durum pšenice, jaja u prahu i suha tjestenina, točnije suha tjestenina oblika školjkice, suha tjestenina oblika fidelini, suha tjestenina oblika rezane rice, suha tjestenina oblika slova s dodatkom jaja u prahu i suha tjestenina oblika školjkice s dodatkom jaja u prahu. Ove vrste suhe tjestenine kao i brašno durum pšenice i jaja u prahu bili su nabavljeni od jedne tvornice tjestenine u Republici Hrvatskoj. Uz navedene uzorke u istraživanje su uneseni uzorci suhe tjestenine od Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo Primorsko goranske županije u Rijeci kroz desetogodišnje razdoblje (2011. – 2020. godine) kojih je bilo sveukupno 110 uzoraka. Uzorci brašna durum pšenice i jaja u prahu su bili ispod razine granice kvantifikacije, također i uzorci suhe tjestenine kao i svih ostalih 110 uzoraka je bilo ispod razine kvantifikacije. Za svih 110 uzoraka su se određivali ostaci organoklornih pesticida. Svi uzorci su se analizirali na GC – MS/MS i LC – MS/MS. Također, u gore navedenim vrstama suhe tjestenine, brašnu durum pšenice i jajima u prahu su se određivali ostaci organoklornih pesticida, ali su se i određivali ostaci organofosfornih pesticida (fluroksipir, piraklostrobin, azoksistrobin, prokloraz, tritikonazol, fludioksonil) jer su oni na Popisu registriranih sredstava za zaštitu bilja u Ministarstvu poljoprivrede Republike Hrvatske. [57.] Također, ti isti uzorci su bili ispod granice kvantifikacije i maksimalno dopuštene koncentracije. Rezultati su prikazani tablično. Prikazani su u tablicama 2., 3., 4., a njihove granice kvantifikacije i maksimalno dopuštene koncentracije prikazane su u tablicama 5., 6., 7..

Tablica 2. Broj uzoraka suhe tjestenine kroz desetogodišnje razdoblje (2011. – 2020.), analiza organoklornih pesticida (CIP), podaci Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo Primorsko goranske županije u Rijeci

broj uzoraka	godina analize	Sadržaj CIP
41	2011.	< GK
30	2012.	< GK
20	2013.	< GK
5	2014.	< GK
4	2015.	< GK
2	2016.	< GK
5	2017.	< GK
1	2018.	< GK

1	2019	< GK
2	2020.	< GK

Tablica 3. Rezultati eksperimentalnog dijela istraživanja uzoraka, analiza na organoklorne pesticide (CIP)

uzorak	sadržaj CIP
brašno durum pšenice	< GK
jaja u prahu	< GK
suha tjestenina oblik školjkice	< GK
suha tjestenina oblik fidelini	< GK
suha tjestenina oblik rezane rice	< GK
suha tjestenina oblik slova s jajima u prahu	< GK
suha tjest. oblik školjkice s jajima u prahu	< GK

Tablica 4. Rezultati eksperimentalnog dijela istraživanja uzoraka, analiza na organofosforne pesticide (OPP)

uzorak	sadržaj OPP
brašno durum pšenice	< GK
jaja u prahu	< GK
suha tjestenina oblik školjkice	< GK
suha tjestenina oblik fidelini	< GK
suha tjestenina oblik rezane rice	< GK
suha tjestenina oblik slova s jajima u prahu	< GK
suha tjest. oblik školjkice s jajima u prahu	< GK

Tablica 5. Klorirani pesticidi i pripadajuće granice kvantifikacije

	Granica kvantifikacije, mg/kg
HCB	0,001
alfa-HCH	0,001
beta-HCH	0,001
Lindan	0,001
delta-HCH	0,001
Heptaklor	0,001
Aldrin	0,001
Heptaklorepoksid	0,001
gama-klordan	0,001
endosulfan I	0,001
alfa-klordan	0,001
4,4'-DDE	0,002
Dieldrin	0,002
endrin + endrin aldehyd	0,002
endosulfan II	0,002
4,4'-DDD	0,002
endosulfan sulfat	0,002
4,4'-DDT	0,002
endrin keton	0,002
Metoksiklor	0,010

Granica kvantifikacije je minimalna količina analita u matriksu koja se može kvantificirati uz adekvatnu preciznost i točnost. Točnost je povezanost između srednje vrijednosti postignuta iz većeg broja rezultata testiranja i referentne vrijednosti koja je prihvaćena. Preciznost je kombiniranje unutar niza mjerenja izvedenih iz istog uzorka koji je homogen i propisan uvjetima. Granice detekcije predstavljaju najmanju količinu analita u uzorku koja se može detektirati, ali ne i kvantificirati sa odgovarajućom preciznošću i točnošću.

Tablica 6. MDK organoklornih pesticida u pšenici

organoklorni pesticid	MDK (mg/kg)
alfa – HCH	0,01
beta – HCH	0,01
lindan	0,01
heptaklor	0,01
aldrin	0,01
dieldrin	0,01
gama – klordan	0,01*
alfa – klordan	0,01*
4,4 – DDE	0,05
4,4 – DDT	0,05
4,4 – DDD	0,05
endosulfan	0,05

Izvor:<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/mrls/index.cfm?event=search.pr&p=240&v=1>

*Izvor: https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/maximum-residue-levels/eu-legislation-mrls_en

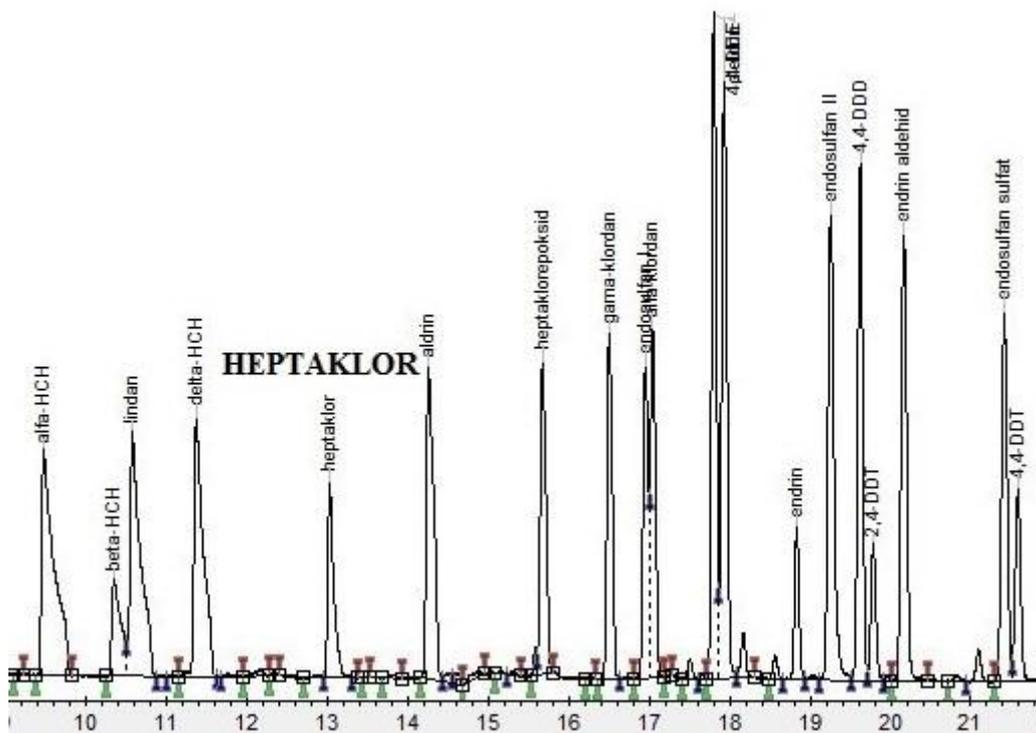
*u slučajevima kada za određeni pesticid nije određena MDK vrijednost uzima se MDK 0,01 mg/kg

U tablicama je prikazana MDK vrijednost za pšenicu jer je pšenica osnovna sirovina za proizvodnju tjestenine.

Tablica 7. MDK organofosfornih pesticida u pšenici

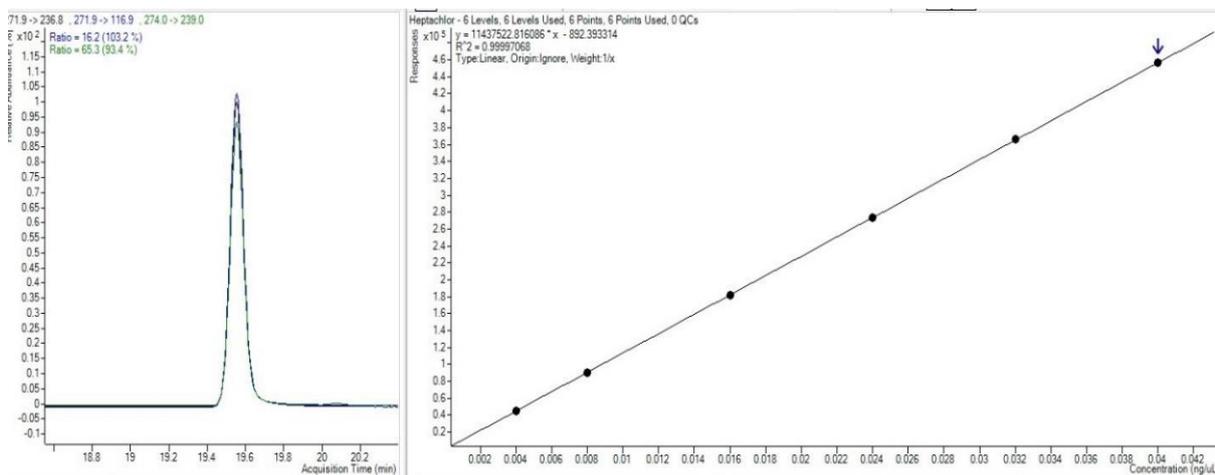
organofosforni pesticidi	MDK (mg/kg)
fluroksipir	0,1
piraklostrobin	0,2
azoksistrobin	0,5
prokloraz	0,2
tritikonazol	0,01
fludioksonil	0,01

Izvor:<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/mrls/index.cfm?event=search.pr&p=240&v=1>



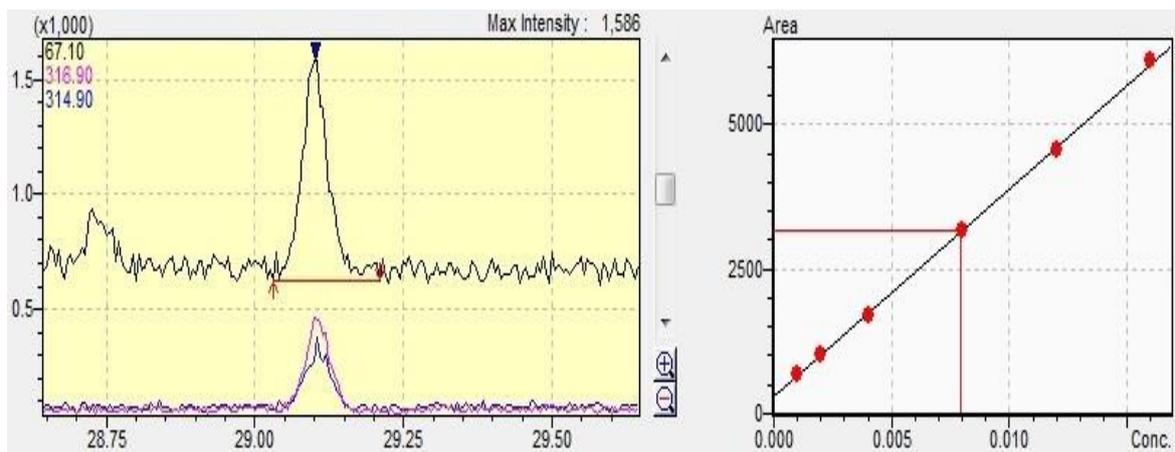
Slika 12. Heptaklor GC – ECD

Izvor: osobna arhiva



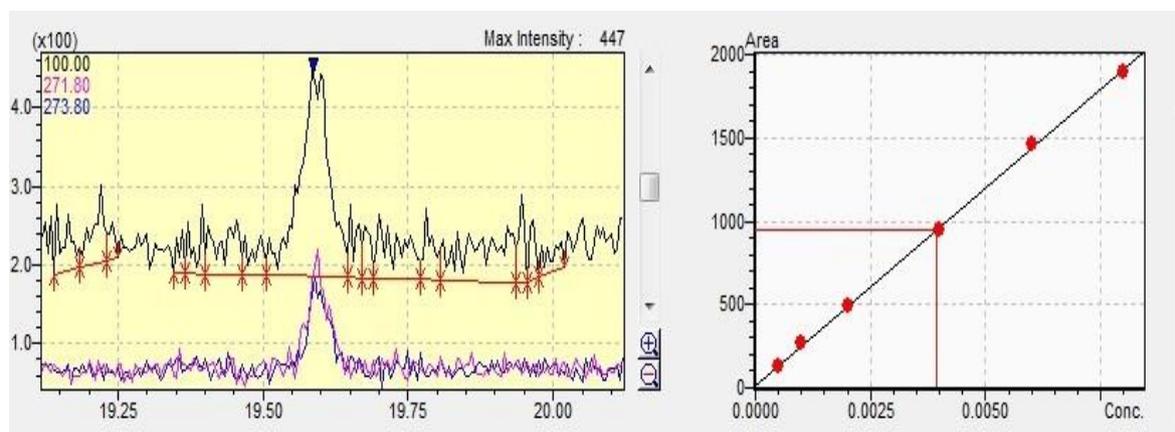
Slika 13. Heptaklor GC – MS/MS

Izvor: osobna arhiva



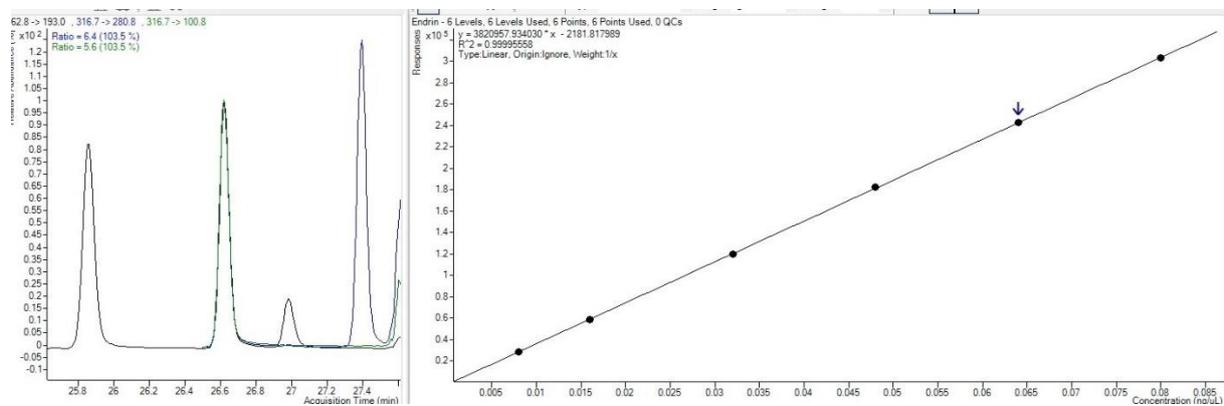
Slika 14. Endrin keton GC – MS

Izvor: osobna arhiva



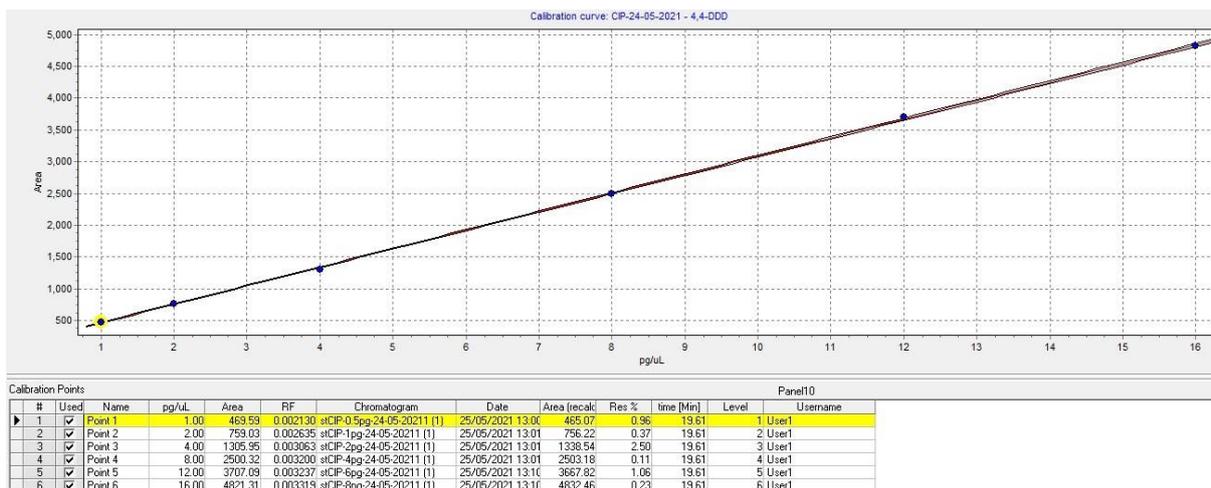
Slika 15. Heptaklor GC – MS

Izvor: osobna arhiva



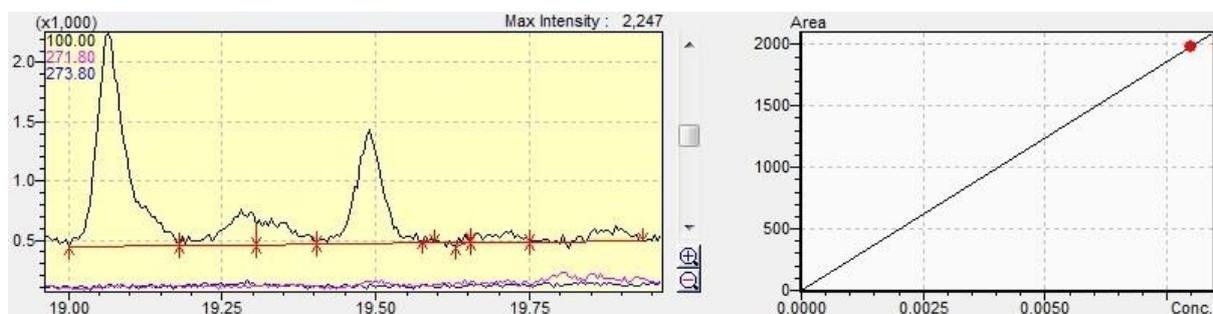
Slika 16. Endrin GC – MS/MS

Izvor: osobna arhiva



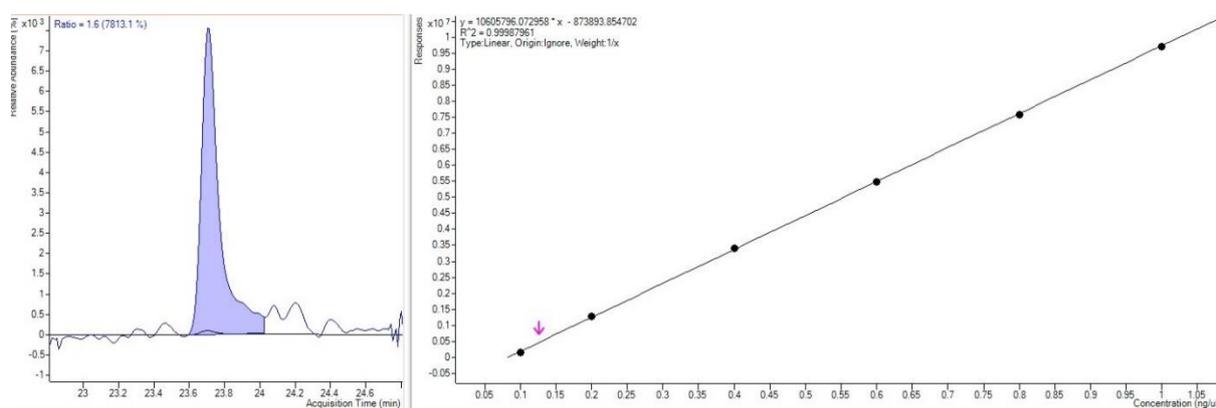
Slika 17. Kalibracija na GC -ECD

Izvor: osobna arhiva



Slika 18. Izgled kromatograma kad nije heptaklor na GC – MS

Izvor: osobna arhiva



Slika 19. Izgled kromatograma kad nije kaptan na GC – MS/MS

Izvor: osobna arhiva

4.1. Validacija mjernog postupka

Validacija je proces određivanja pogodnosti mjernog postupka za dobivanje analitičkih podataka. Validacijom se prikazuje svrha mjernog postupka za namijenjenu zadaću. Preciznost i točnost mjerenja se omogućuju validacijom tijekom dužeg korištenja metode. Validacija također služi za utvrđivanje mogućih problema za vrijeme provedbe metode i tako se dostiže da metoda bude visoke pouzdanosti. Također, validacijom se potvrđuju kriteriji prihvatljivosti pojedinih parametara određivanja kao što su: linearnost, ponovljivost pripreme uzoraka i iskorištenje, granica kvantifikacije i detekcije, točnost i preciznost.

Tablica 8. Određivanje granica detekcije i kvantifikacije za heptaklor

Mjerenje	Nagib pravca	Odsječak na y-osi
K1	188,7	18,1
K2	191,6	15,9
K3	177,8	34,2
K4	181,8	30,2
K5	182,9	32,0
K6	193,5	5,8
	Srednja vrijednost	Standardna devijacija
	186,1	11,2
LD	0,2 pg/ μ L	
LQ	0,6 pg/ μ L	

U određivanju granica detekcije i granica kvantifikacije. šest puta se ponavlja ubacivanje jedne točke. Od tih šest točaka i šest izraza od nagiba pravca (a) grafički se računa granica detekcije i granica kvantifikacije. To se potvrđuje s ubacivanjem šest standarada, također sa šest puta pripremom naciepljivanja uzorka te koncentracije.

Granice detekcije za svaki pojedini sastojak izračunavaju se prema jednadžbi:

$$LD = 3.3 * \sigma / S$$

Granica kvantifikacije za svaki pojedini sastojak izračunavaju se prema jednadžbi:

$$LQ = 10 * \sigma / S$$

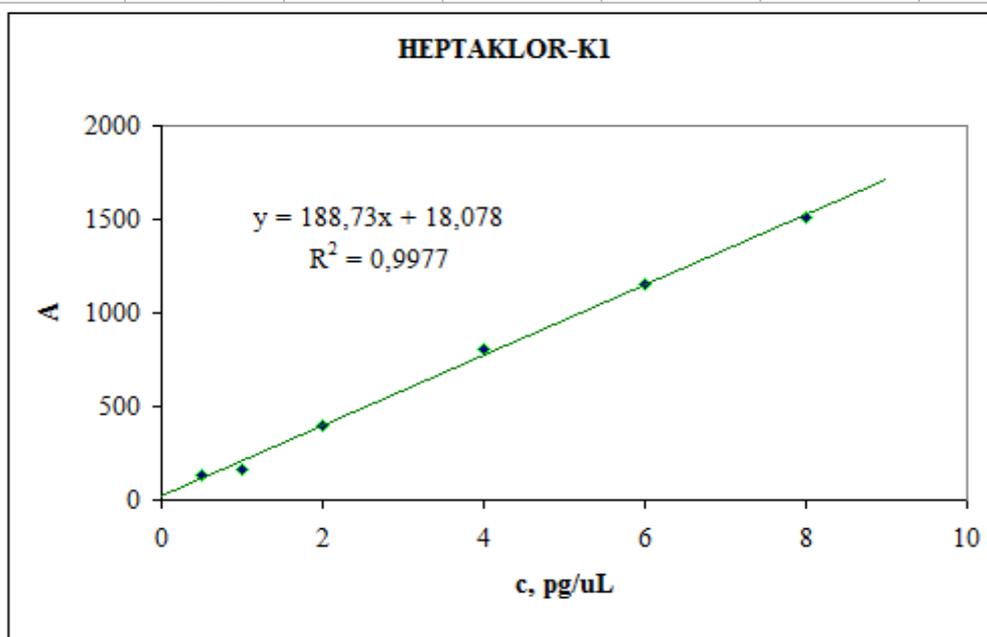
σ = standardna devijacija odsječaka na y osi,

S = srednja vrijednost nagiba kalibracijskih pravaca

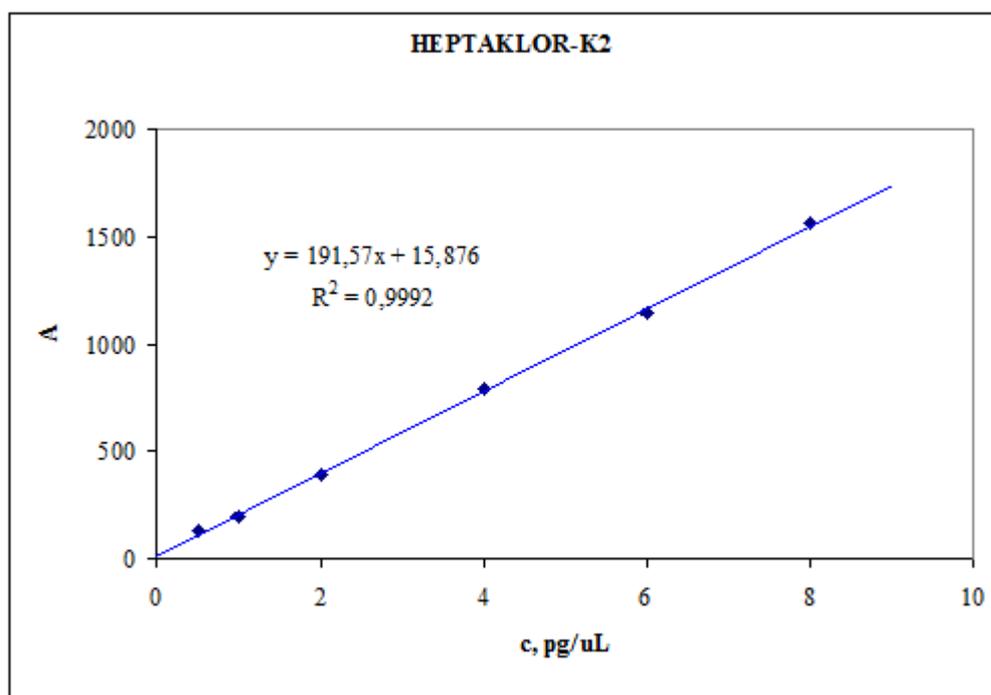
Kalibracijski pravac sadrži jednu točku za pojedinu koncentracijsku razinu i kroz ishodište ne prolaze. Ovako izračunate granice kvantifikacije se odnose na odziv instrumenta kod ubacivanja radnih standardnih otopina. Ipak kao prava granica kvantifikacije odabire se

najmanja koncentracija u uzorku za koju su postignuti zahtjevi za točnost (70 - 120 %) i ponovljivost (RSD < 20 %) određivanja, a koja se utvrđuje validacijom metode i to za svaku grupu namirnica.

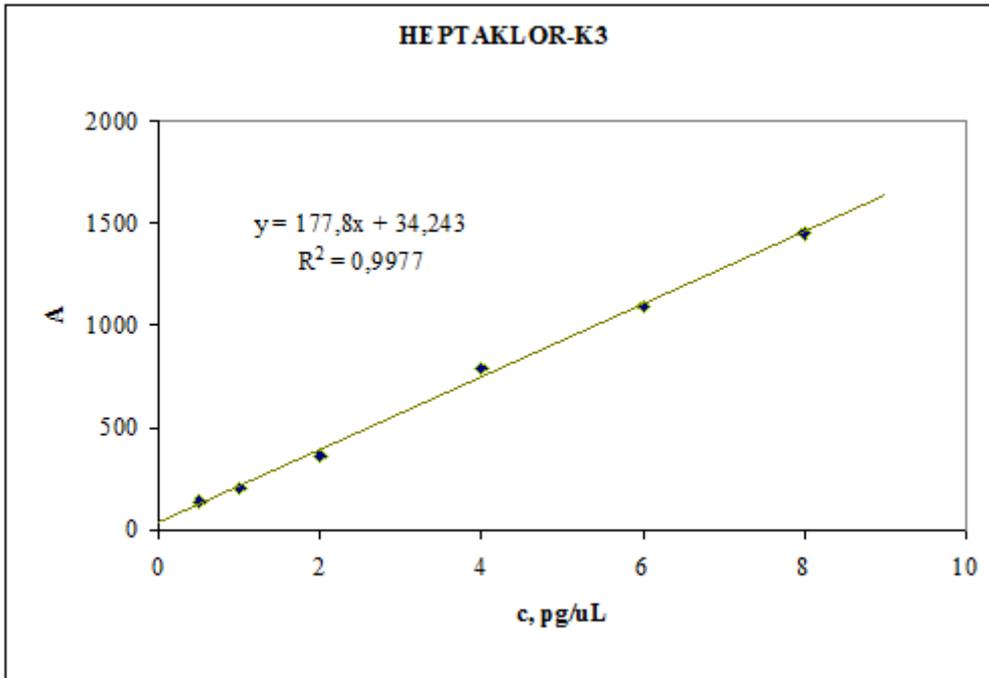
c, pg/uL	0,5	1	2	4	6	8
A	128,2	164,5	400,3	809,9	1151,4	1511,9



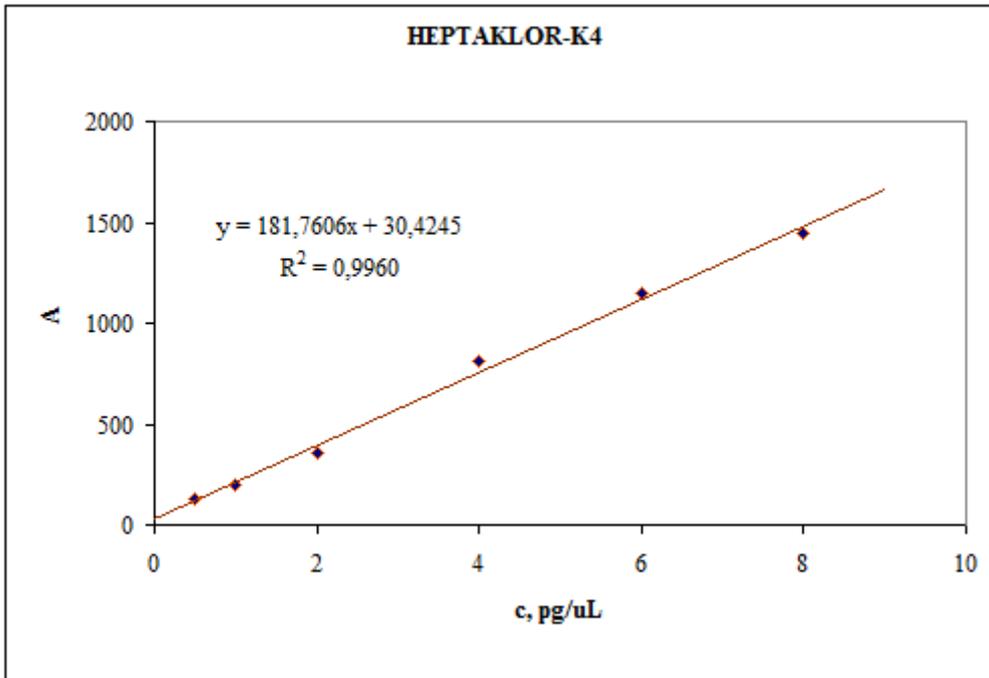
c, pg/uL	0,5	1	2	4	6	8
A	132,4	196,3	388,9	788,3	1144,7	1563,5



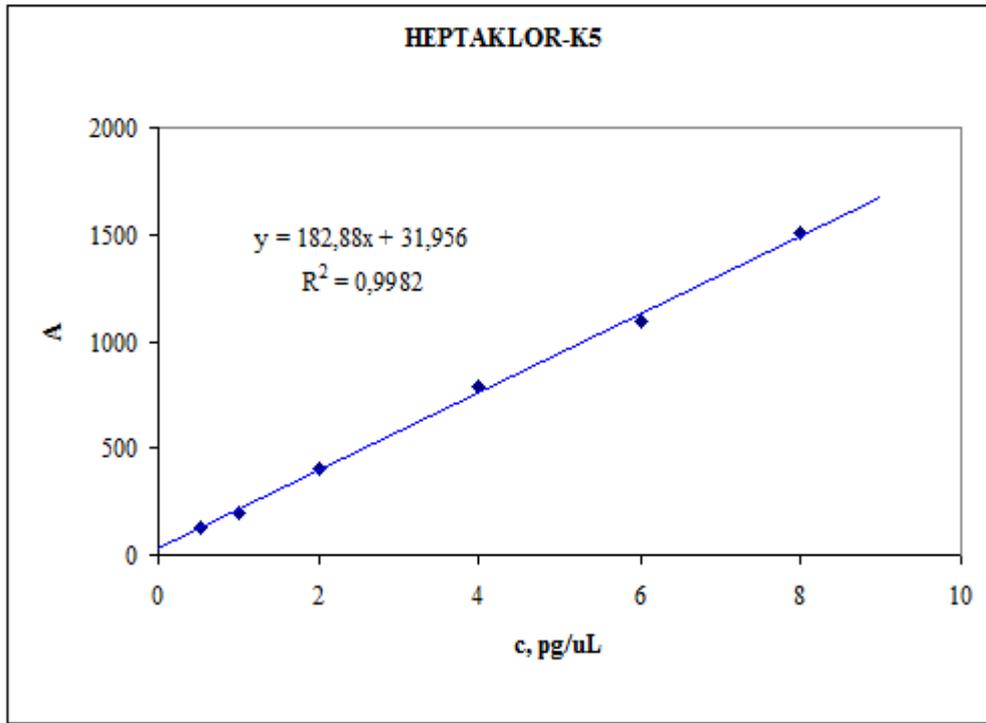
c, pg/uL	0,5	1	2	4	6	8
A	137,3	199,7	361,0	788,7	1091,1	1450,3



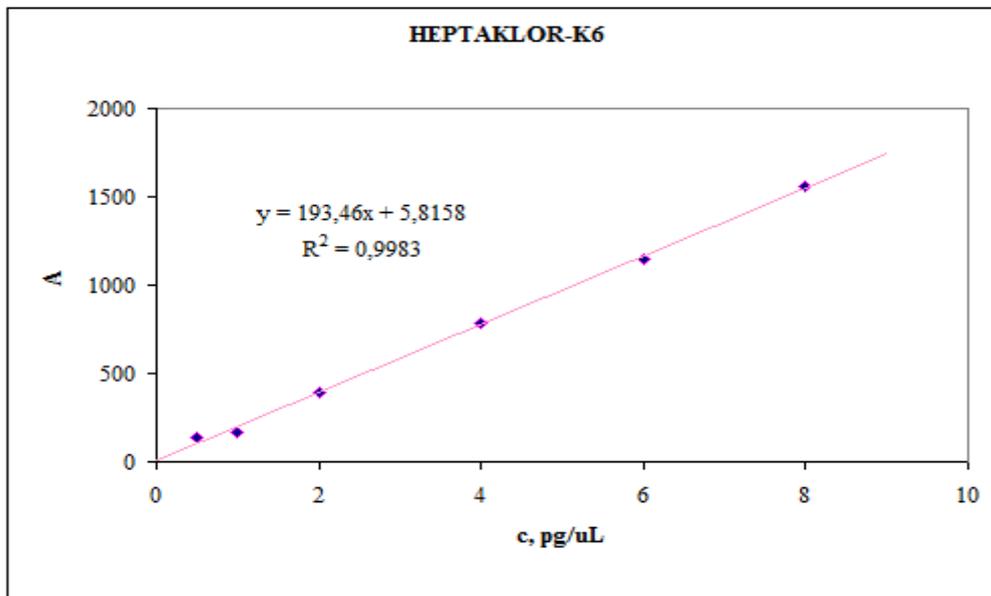
c, pg/uL	0,5	1	2	4	6	8
A	128,2	196,3	361,0	809,9	1144,7	1450,3



c, pg/uL	0,5	1	2	4	6	8
A	132,4	199,7	400,3	788,3	1091,1	1511,9



c, pg/uL	0,5	1	2	4	6	8
A	137,3	164,5	388,9	788,7	1151,4	1563,5



Tablica 9. Rezultati ispitivanja linearnosti

	0,5 pg/ μ L	1 pg/ μ L	2 pg/ μ L	4 pg/ μ L	6 pg/ μ L	8 pg/ μ L
heptaklor	0,67	0,87	2,11	4,26	6,06	7,95
	0,70	1,03	2,05	4,15	6,02	8,23
	0,72	1,05	1,90	4,15	5,74	7,63
Faktor korelacije, k	0,9960					
Jednadžba pravca	A=1906,06*c					

Tablica 10. Rezultati ispitivanja ponovljivosti mjerenja instrumenta

	0,5 pg/ μ L	1 pg/ μ L	2 pg/ μ L	4 pg/ μ L	6 pg/ μ L	8 pg/ μ L
heptaklor	0,67	0,87	2,11	4,26	6,06	7,95
	0,70	1,03	2,05	4,15	6,02	8,23
	0,72	1,05	1,90	4,15	5,74	7,63
sr. vrijednost, pg/ μ L	0,70	0,98	2,02	4,19	5,94	7,94
RSD, %	3,4	10,4	5,3	1,5	2,9	3,8
sr. RSD, %	4,6					

Linearnost je maksimalno odstupanje podataka od kalibracijskog pravca, a ponovljivost mjerenja je preciznost pod uvjetima ponovljivosti što znači da je isti analitičar, mjerni sustav, uzorak, radni uvjeti i vremensko razdoblje koje je kratko. Linearnost i ponovljivost mjerenja instrumenta se izračunavaju na temelju mjerenja otopina radnih standarda. Ponovljivost pripreme uzoraka i iskorištenje treba napraviti na barem jednoj vrsti namirnice iz svake grupe namirnica prema Prilogu 1. Pravilnika o izmjenama i dopunama pravilnika o maksimalnim razinama ostataka pesticida u i na hrani i hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla. [58.] Linearnost mjerenja ispituje se za svaku komponentu u koncentracijskom području prema tablici 4. Ponovljivost mjerenja instrumenta izračunava se na temelju podataka dobivenih mjerenjem linearnosti.

Tablica 11. Rezultati ispitivanja ponovljivosti pripreme i iskorištenja tjestenine za heptaklor

Komponenta	Izmjerena koncentracija, pg/ μ L		Dodano, pg/ μ L	Iskorištenje, %	
	T-GK	T-MDK		T-GK	T-MDK
Heptaklor	1,30	8,71	1,00 za GK	130,0	108,9
	0,79	8,90		79,2	111,3
	1,06	9,23		105,9	115,3
	1,07	8,52	8,00 za MDK	106,9	106,5
	1,02	9,80		101,8	122,5
	Sr. vrijed.	1,05	9,03	Sr. isk.	104,7
St. odst.	0,18	0,50			
RSD, %	17,2	5,5			

Tablica 12. Ponovljivost pripreme uzorka na MDK i GK i iskorištenje dobiveni u eksperimentu s kukuruznom krupicom za heptaklor

Pesticid	Iskorištenje, %		Ponovljivost, %	
	GK	MDK	GK	MDK
Heptaklor	105,9	103,2	5,0	6,5

Ponovljivost pripreme uzorka izračunava se na temelju podataka dobivenih u dva eksperimenta. U prvom eksperimentu pet puta uzastopno je pripremljen uzorak u kojem nema prisutnih ostataka kloriranih pesticida i u koji je dodan stock standard kloriranih pesticida tako da očekivana koncentracija bude u blizini maksimalno dopuštene koncentracije. Drugi eksperiment se provodi na isti način kao prvi samo se doda stock standarda toliko da očekivana koncentracija bude na granici kvantifikacije. Granica kvantifikacije je potvrđena s ponovljivosti pripreme uzoraka.

Intermedijarna ponovljivost računa se podacima dobivenih iz tri pokusa u kojima se pet puta pripremaju tri različita uzorka kao kod ponovljivosti pripreme uzorka. Na bazi dobivenih podataka mjerenjem, računa se iskorištenje. Retencijskim vremenima prikazuje se selektivnost pojedinih sastojaka u radnoj standardnoj otopini.

Slijedeće tablice prikazuju parametre validacije, kriterije prihvatljivosti kao i ponovljivost pripreme uzorka na MDK i GK i iskorištenje. Također, prikazuju retencijska vremena, granice detekcije i granice kvantifikacije za heptaklor.

Tablica 13. Odabrani parametri validacije i kriteriji prihvatljivosti

Parametar		Kriterij prihvatljivosti
Selektivnost		Informacija iz kataloga proizvođača kolone
Iskorištenje (točnost)	na MDK	70 - 120 %
	na GK	
Ponovljivost (preciznost)	Ponovljivost pripreme uzorka (MDK)	RSD ≤ 20 % RSD ≤ 20 % RSD ≤ 20 %
	Ponovljivost pripreme uzorka (GK)	
	Ponovljivost mjerenja instrumenta	
Linearnost		$k \geq 0,99$
Granica detekcije, mg/kg		$LD=3.3*\sigma/S$
Granica kvantifikacije, mg/kg		Najniža koncentracija na kojoj su postignuti kriteriji za točnost i ponovljivost

Tablica 14. Ponovljivost pripreme uzorka na MDK i GK i iskorištenje prikazani u sljedećim tablicama su dobiveni u eksperimentu s tjesteninom za heptaklor

Parametar		Rezultat	Kriterij prihvatljivosti
Selektivnost		6,04 min.	Informacija iz kataloga proizvođača kolone
Iskorištenje (točnost)	na MDK	112,9 %	70 ± 120 %
	na GK	104,7 %	
Ponovljivost (preciznost)	Ponovljivost pripreme uzorka (MDK)	RSD = 5,5 %	RSD ≤ 20 %
	Ponovljivost pripreme uzorka (GK)	RSD = 17,2 %	RSD ≤ 20 %
	Ponovljivost mjerenja instrumenta	MAX RSD = 10,4 %	RSD ≤ 20 %
Linearnost		k = 0,9960	k ≥ 0,99
Granica detekcije		0,0004 mg/kg	≤ 0,002 mg/kg
Granica kvantifikacije		0,002 mg/kg	≤ 0,005 mg/kg

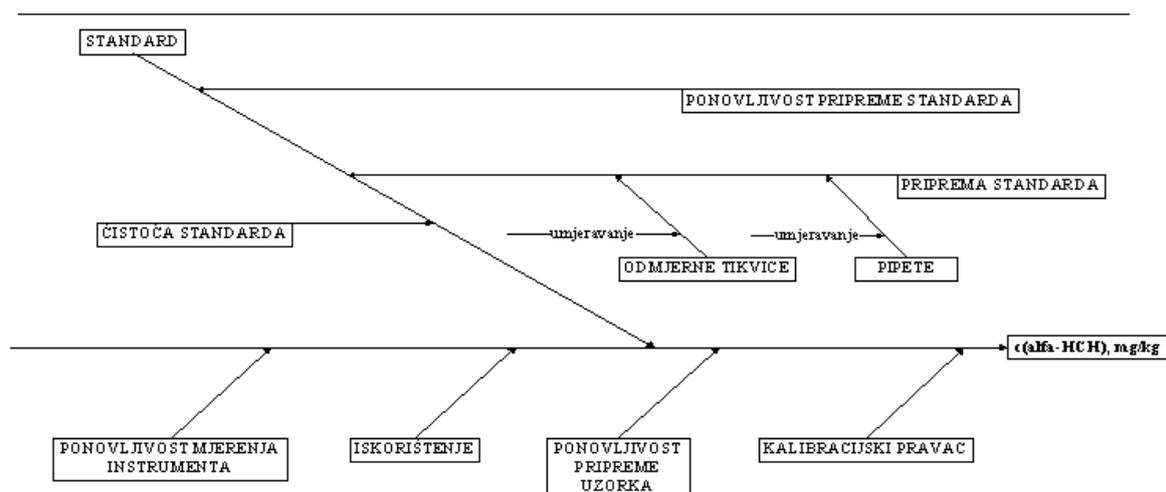
Tablica 15. Retencijska vremena, granice detekcije i granice kvantifikacije

Komponenta	RT (min)	granica detekcije		granica kvantifikacije			
		pg/μL	mg/kg	pg/μL		mg/kg	
Heptaklor	6,04	0,2	0,0004	0,6	1,0	0,0012	0,002

4.2. Mjerna nesigurnost rezultata ispitivanja

Mjerna nesigurnost je ne - negativan parametar koji karakterizira rasipanje vrijednosti koje bi se razumno mogle pripisati mjernoj veličini, prema informacijama koje se upotrebljavaju, uz određenu vjerojatnost. Izvori nesigurnosti su čistoća standarda, odmjerne tikvice i pipete, to su podaci preuzeti iz smjernica i certifikata. Ostali izvori mjernih nesigurnosti su podaci dobiveni statističkom obradom rezultata laboratorijskog ispitivanja: validacija metode: ponovljivost pripreme uzorka, ponovljivost mjerenja instrumenta, iskorištenje i linearnost (nesigurnost kalibracijskog pravca) i dugoročno praćenje rezultata ispitivanja (uzeti će se u obzir nakon što se skupi dovoljno podataka)

**PREPOZNAVANJE I ANALIZA IZVORA NESIGURNOSTI
DIJAGRAM**



Slika 20. Prikaz prepoznavanja i analiza izvora nesigurnosti

Izvor: osobna arhiva

Za ponovljivost pripreme standarda iz stock standardne otopine CIP-a koncentracije 80-800 pg/ μ L tri puta su pripremljene radne standardne otopine koncentracija 0,5; 1; 2; 4; 6 i 8 pg/ μ L i svaka je izmjerena po jedanput.

Tablica 16. Ponovljivost pripreme standarda za alfa – HCH

Pripremljena koncentracija, pg/ μ L	0,5	1	2	4	6	8
Izmjerena koncentracija, pg/ μ L	0,64	1,16	2,48	4,14	5,98	7,82
	0,59	1,11	1,96	4,94	6,67	8,71
	0,55	1,04	2,14	4,30	6,46	8,30
Sr. Vrijednost	0,59	1,10	2,19	4,46	6,37	8,28
St. Odstupanje	0,04	0,06	0,27	0,42	0,35	0,45
Srednje st. odstupanje, u_{pps}	0,27					
$u_{pps,r}$	0,07					

Mjerna nesigurnost uslijed ponovljivosti pripreme standarda za alfa - HCH je:

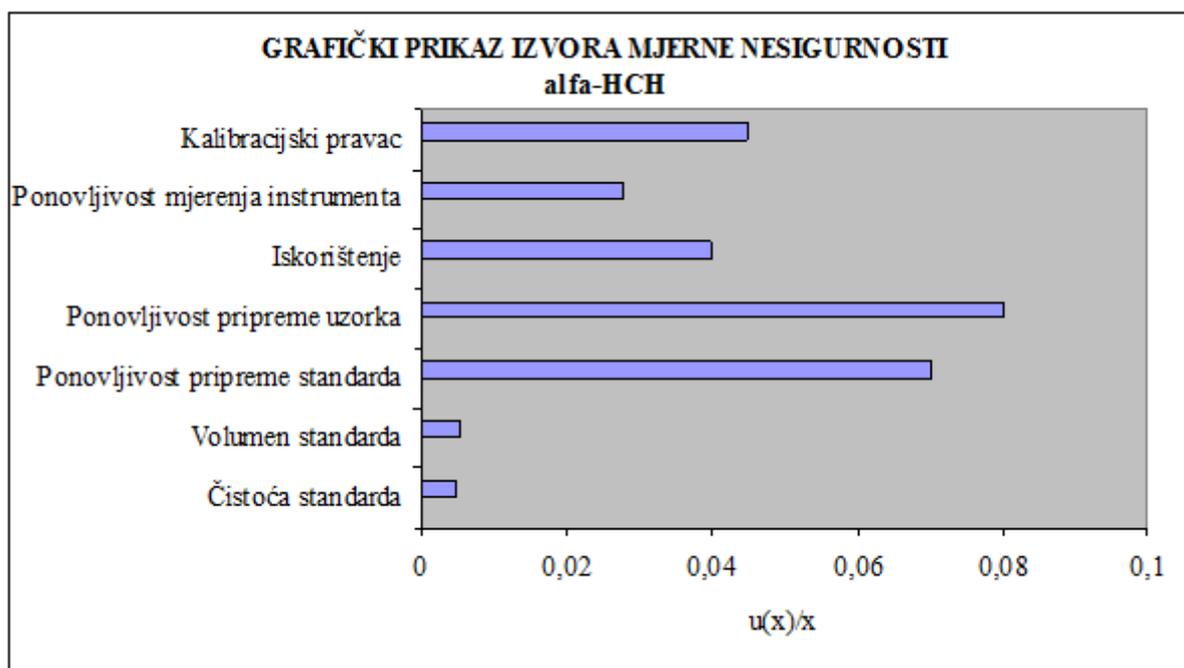
$$u_{pps} = \frac{\text{srednje_st. odstupanje}}{\sqrt{\text{br. mjerenja_radnog_st}}} = \frac{0,27}{\sqrt{1}} = 0,27 \text{ pg}/\mu\text{L}$$

$$u_{pps,r} = \frac{u_{pps}}{c_{st}} = \frac{0,27 \text{ pg}/\mu\text{L}}{3,58 \text{ pg}/\mu\text{L}} = 0,07$$

c_{st} - srednja koncentracija radnih standardnih otopina

Tablica 17. Prikaz mjerne nesigurnosti za alfa – HCH

Izvor mjerne nesigurnosti	Vrijednost, x	Standardna nesigurnost, u(x)	Relativna standardna nesigurnost, u(x)/x	Kvadrirana relativna standardna nesigurnost, (u(x)/x) ²
Čistoća standarda	100 %	0,46 %	$4,6 \cdot 10^{-3}$	$2,1 \cdot 10^{-5}$
Volumen standarda	10 mL	$5,3 \cdot 10^{-2}$ mL	$5,3 \cdot 10^{-3}$	$2,8 \cdot 10^{-5}$
Ponovljivost pripreme standarda	3,58 pg/μL	0,27	0,07	$4,9 \cdot 10^{-3}$
Ponovljivost pripreme uzorka	4,00 pg/μL	0,50	0,125	$1,56 \cdot 10^{-2}$
Iskorištenje	4,00 pg/μL	0,252	0,063	$4,0 \cdot 10^{-3}$
Ponovljivost mjerenja instrumenta	4,00 pg/μL	0,13	0,032	$1,0 \cdot 10^{-3}$
Kalibracijski pravac	4,00 pg/μL	0,115	0,029	$8,4 \cdot 10^{-4}$



Slika 20. Grafički prikaz mjerne nesigurnosti za alfa – HCH

Izvor: osobna arhiva

Grafički prikaz izvora mjerne nesigurnosti za alfa – HCH prikazuje da ponovljivost pripreme uzorka, ponovljivost pripreme standarda imaju najveći doprinos mjernoj nesigurnosti, a volumen standarda i čistoća standarda imaju neznatni doprinos mjernoj nesigurnosti.

Tablica 18. Računanje sastavljene i proširene mjerne nesigurnosti

Komponenta	Sastavljena mjerna nesigurnost	Proširena mjerna nesigurnost, $k = 2$	Rezultat $\text{pg}/\mu\text{L}$	Mjerna nesigurnost, $\text{pg}/\mu\text{L}$	Rezultat mg/kg	Mjerna nesigurnost, mg/kg
alfa-HCH	0,126	0,251	4,00	1,00	0,008	0,0020

Računanje sastavljene i proširene mjerne nesigurnosti:

Sastavljena mjerna nesigurnost za alfa – HCH:

$$u = \sqrt{\sum_i \left[\frac{u(x_i)}{x_i} \right]^2}$$

$$u = \sqrt{u_{\check{c},r}^2 + u_{\text{prs},r}^2 + u_{\text{pps},r}^2 + u_{\text{pmi},r}^2 + u_{\text{ppu},r}^2 + u_{i,\text{rk}}^2 + u_{\text{co}}^2}$$

$$u = \sqrt{(4,6 \cdot 10^{-3})^2 + (5,3 \cdot 10^{-3})^2 + 0,07^2 + 0,028^2 + 0,08^2 + 0,04^2 + 0,045^2} = 0,126$$

$u_{\check{c},r}$ = mjerna nesigurnost za čistoću standarda

$u_{\text{prs},r}$ = mjerna nesigurnost pripreme (volumena) radnih standardnih otopina

$u_{\text{pps},r}$ = mjerna nesigurnost uslijed ponovljivosti pripreme standarda

$u_{\text{ppu},r}$ = mjerna nesigurnost uslijed ponovljivosti pripreme

$u_{i,\text{rk}}$ = nesigurnost iskorištenja

u_{co} = nesigurnost kalibracijskog pravca

Proširena mjerna nesigurnost za alfa – HCH:

$$U = k \cdot u$$

$$U = 2 \cdot 0,126 = 0,251$$

Za prevođenje proširene mjerne nesigurnosti u mjerne jedinice, množi se proširena mjerna nesigurnost s rezultatom mjerenja.

$$4,00 \text{ pg}/\mu\text{L} \cdot 0,251 = 1,0 \text{ pg}/\mu\text{L}$$

Rezultat se iskazuje: (0,008 +/- 0,002) mg alfa-HCH/kg uzorka uz obuhvatni faktor $k = 2$

Ukoliko je potrebno na ovaj način se prikazuje mjerna nesigurnost dobivenog rezultata.

4.3. Međulaboratorijsko uporedno ispitivanje (interkalibracija)

Svrha interkalibracije se odnosi na provedbu vanjskog neovisnog vrednovanja analiza čime bi se kroz vanjsko vrednovanje utvrdila točnost laboratorija. Dobije se uzorak u kojem se nalazi određeni broj pesticida u određenoj količini koji su prethodno bili prijavljeni s liste pesticida koje se u akreditiranom laboratoriju analiziraju. Nakon analiziranja, slijedi čekanje izvješća gdje je navedeno jesu li naprimjer prisutni lažno pozitivni ili lažno negativni pesticidi i definiranje odstupanja u odnosu na pravu vrijednost što se računa statistički putem opcije z – skor. Z - skor opisuje položaj neobrađenog rezultata u smislu njegove udaljenosti od srednje vrijednosti, mjereno u jedinicama standardne devijacije. Z - skor je pozitivan ako vrijednost leži iznad srednje vrijednosti, a negativan ako leži ispod srednje vrijednosti.

Formula za izračun z-skor:

$$z = (x - \mu) / \sigma,$$

gdje je x neobrađeni rezultat, μ je srednja vrijednost, a σ standardna devijacija [59]. Ukoliko je izračun u skladu s unaprijed definiranim kriterijima, onda laboratorij postaje ovlašten za analizu pesticida u hrani i akreditiran za analiziranje kloriranih pesticida u žitaricama i proizvodima od pšenice to jest tjestenine.

Kriterij prihvatljivosti interkalibracije: - dobro - z – skor ≤ 121

- upitno – z – skor < 131

- neprihvatljivo ≥ 131

Proces interkalibracije je jedan od uvjeta uz validiranu metodu da navedeni laboratorij postane akreditirani laboratorij i potvrda ispravnog određivanja organoklornih pesticida. Isto tako svake godine navedeni laboratorij mora pristupiti interkalibraciji Europske agencije za pesticide u hrani i hrani za životinje (EURL EU Reference Laboratories for residues of Pesticides) da bi ostao jedan od osam ovlaštenih laboratorija u RH za pesticide u hrani.

Tablica 19. Prikaz predane i prave vrijednosti, te z – skor u svrhu interkalibracije

oznaka interkalibracije	godina interkalibracije	matriks	Pesticid	predana vrijednost (mg/kg)	prava vrijednost (mg/kg)	z – skor
sanco eupt cf 14	2020.	riža	Pimetrozin	0,012	0,010	0,9
sanco eupt cf 14	2020.	riža	DDE, p,p	0,043	0,035	0,9
sanco eupt fv 22	2020.	Luk	Dimetomorf	0,370	0,275	1,4
sanco eupt fv 22	2020.	Luk	Fenamidon	0,273	0,185	1,9
sanco eupt cf 15	2021.	kolač od repičinih sjemenki	Aldrin	0,009	0,013	-1,2
sanco eupt cf 15	2021.	kolač od repičinih sjemenki	Tefultrin	0,010	0,012	-0,6
sanco eupt cf 15	2021.	patlidžan	Dimetoat	0,088	0,079	0,4
sanco eupt cf 15	2021.	patlidžan	Diazinon	0,581	0,755	-0,9

5. RASPRAVA

Razvojem poljoprivrede počeli su se koristiti pesticidi koji mogu imati toksičan učinak na okoliš. Tjestenina je jedan od svakodnevnijih namirnica u ljudskoj prehrani. Zbog toga takva hrana kao i svaka druga mora biti zdravstveno ispravna. Na međunarodnoj i nacionalnoj razini ne postoji istraživanje u kojem se istražuje ima li u tjestenini ostataka organoklornih pesticida. Također, ne postoji istraživanje u kojem se dokazuju ostaci organoklornih pesticida u brašnu durum pšenice od koje se proizvodi tjestenina. Upotreba organoklornih pesticida u Republici Hrvatskoj je zabranjena. Ovim istraživanjem se željelo dokazati ima li u tjestenini ostataka organoklornih pesticida. Dokazano je da su svih 110 uzoraka iz desetogodišnjeg razdoblja ispod razine granice kvantifikacije. Rezultati su prikazani u tablicama 2., 3., 4. U ostalim uzorcima suhe tjestenine, brašna durum krupice i jaja u prahu se također dokazalo da su svi rezultati ispod granice kvantifikacije. Brašno durum krupice i jaja u prahu su sirovine od kojih se proizvodi tjestenina. Konačni proizvod i sirovine su nabavljene od iste tvornice u kojoj se proizvodi suha tjestenina na području Republike Hrvatske. Dokazalo se da ukoliko sirovina nema u sebi ostatke organoklornih pesticida, ni konačni proizvod ih ne može imati. Ovim istraživanjem se može zaista dokazati da je u Republici Hrvatskoj s aspekta organoklornih pesticida, tjestenina zdravstveno ispravna kao i brašno durum pšenice i jaja u prahu. Razlog tome su konstantne kontrole tržišta i sama zabrana korištenja organoklornih pesticida u Republici Hrvatskoj.

Kako na nacionalnoj i međunarodnoj razini nema zastupljenih istraživanja na ovu tematiku, uspoređivao sam svoje istraživanje sa sličnim istraživanjem u kojem se dokazivali ostaci organoklornih pesticida u pšenici. Durum pšenica nije jedina pšenica s kojom se tjestenina može proizvoditi, ona se može proizvoditi i s ostalim vrstama pšenice ali će konačni proizvod biti lošije kvalitete. Stoga sam svoje istraživanje uspoređivao s istraživanjem „*Organochlorine pesticide residues in wheat from Konya region, Turkey*“ istraživača G. O. Guler i suradnika iz 2009. godine. Cilj tog istraživanja je bio okarakterizirati organoklorne pesticide u pšenici s područja Turske. U tom istraživanju je dokazano da od 36 uzoraka njih 8 su imali koncentraciju preko maksimalno dopuštene koncentracije. Svi uzorci su također bili analizirani na GC – ECD kromatografu. Smatra se da je pšenica kontaminirana radi poljoprivrednika koji su koristili organoklorne pesticide [60].

U istraživanju „*Organochlorine pesticide residues in wheat and drinking water samples from Jaipur*“ istraživača Bakore N. i suradnika iz 2004. godine. U ovom istraživanju željelo se dokazati u kojoj je razini brašno iz pšenice i voda kontaminirana s organoklornim pesticidima. Dokazano je da organoklornih pesticida aldrina i heptaklora ima iznad maksimalno dopuštene

granice u pšenici. Također se smatra da je okoliš zagađen upotrebom organoklornih pesticida, a najviše korištenjem od strane poljoprivrednika [61].

Toteja G.S., i suradnici u istraživanju iz 2006. godine „*Residues of DDT and HCH in wheat samples collected from different states of India and their dietary exposure: a multicentre study*“ dokazali su da od 1080 uzoraka pšenice ili brašna njih 19 je bilo kontaminirano iznad maksimalno dopuštenih granica za organoklorne pesticide DDT i HCH. Ostaci DDT -a i HCH -a pronađeni u pšenici su pripisane njihovoj neselektivnoj uporabi kao sredstvo za zaštitu pšenice i tijekom skladištenja [62].

6. ZAKLJUČAK

Cilj ovog istraživačkog rada je bio odrediti ostatak organoklornih pesticida u suhoj tjestenine ispitati sadrži li suha tjestenina organoklorne pesticide. Ovim istraživanjem je dokazano i utvrđeno da suha tjestenina ne sadrži ostatke organoklornih pesticida što znači da je analizirana suha tjestenina zdrava za ljudsku prehranu i ne može naštetiti ljudskom zdravlju. Suha tjestenina ne sadrži ostatke organoklornih pesticida iz nekoliko razloga. Smatram da je prvi razlog zabrana korištenja organoklornih pesticida u Republici Hrvatskoj i smanjeno korištenje istih kroz vrijeme kada su oni bili dopušteni. Nadalje, suha tjestenina je proizvod koji se dobiva iz prerade durum pšenice u durum krupicu, a zatim određenim procesima proizvodnje nastaje gotov proizvod što bi značilo da tok prerade iz pšenice u brašno, a zatim proizvodnja može dovesti do povećanja koncentracije organoklornih pesticida jer su oni termostabilni. Smatram, analizirana suha tjestenina ne sadrži ostatke organoklornih pesticida se odnosi na to da u Republici Hrvatskoj grana poljoprivrede kroz svoju povijest nije u velikim količinama koristila organoklorne pesticide pa se na temelju toga zaključuje kako je hrvatska zemlja nezagađena te da organoklorne pesticide ne predstavljaju prijetnju za prehrambene proizvode, a pritom i na ljudsko zdravlje. Također, dobra proizvođačka praksa ima utjecaj u određivanju ostataka organoklornih pesticida. Zdravstveno ispravna sirovina, sirovina uzgajan po pravilima struke, poštivanje karence pesticida, znači da ako u samoj sirovini nema ostataka organoklornih pesticida, onda nema ostataka ni u konačnom proizvodu. HACCP sustav također ima utjecaj da suha tjestenina nema ostatke organoklornih pesticida je je to sustav koji poduzima sve mjere da bi se proizvela zdravstveno ispravna hrana. Preporuke za daljnja istraživanja su sljedeće:

- analiziranje i utvrđivanje količine ostataka organoklornih pesticida u durum pšenici budući da je to prvotna sirovina iz koje se proizvodi suha tjestenina te detaljno provođenje analize zemlje na kojoj se ista uzgaja
- istraživanje na koji način prerada durum pšenice utječe na preradu durum brašna
- detaljno provođenje istraživanja samog procesa proizvodnje tjestenine na ostatke organoklornih pesticida te
- ispitivanje (ne)postojećih ostataka organoklornih pesticida u suhoj tjestenini ne samo na području Primorsko-goranske županije već i u ostalim dijelovima Republike Hrvatske s ciljem donošenja sustavnijih nalaza navedenog područja koje je trenutno zapostavljeno u nacionalnim istraživačkim krugovima

7. LITERATURA

1. Narodne novine [Internet]. Pravilnik o žitaricama i proizvodima od žitarica (NN 81/2016) [citirano: 1.6.2021.] Dostupno na: https://narodnenovine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2016_09_81_1823.html
2. Koleda [Internet]. Durum tjestenina [citirano: 1.6.2021.] Dostupno na: <http://www.koleda.hr/index.php/koleda/24-durum-tjestenina>
3. Prepared by medical and nutrition experts from Mayo Clinic, University of California Los Angeles, and Dole Food Company, Inc. [Internet] Encyclopedia of foods a guide to healthy nutrition; 2002. [citirano: 1.6.2021.] Dostupno na: <http://154.68.126.6/library/Food%20Science%20books/batch1/Encyclopedia%20of%20Foods.pdf>
4. Kurt A. Rosentrater and A. D. Evers, author, Bandeira N. R., editor. Kent's Technology of Cereals, [Internet] 5th Edition; Woodhead Publishing [citirano 1.6.2021.] Dostupno na: <https://pdfroom.com/books/kents-technology-of-cereals-fifth-edition-an-introduction-for-students-of-food-science-and-agriculture/JzydDDynd14>
5. Kill, R. Turnbull, K. author, Osney Mead, Oxford, editor, Pasta and semolina technology, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey., 2008. [citirano: 1.6.2021.] Dostupno na: <https://download.e-bookshelf.de/download/0000/5830/41/L-G-0000583041-0002360954.pdf>
6. Lorenz, K.J. Kulp, K. author, Handbook of cereal science and technology, 1991. [citirano: 1.6.1991.] Dostupno na: https://www.academia.edu/40508013/Title_Breakfast_Cereals_Handbook_of_Cereal_Science_and_Technology
7. Delcour J. A. Hosney R. C. Principles of Cereal Science and Technology, 3. izd., Taylor & Francis, London., 2010. [citirano: 1.6.2021.] Dostupno na: <https://issuu.com/scisoc/docs/27632>
8. D. E. Walsh and K. A. Gilles., author, N. W. Desrosier, editor "Pasta Technology", Elements Of Food Technology, 1977. [citirano: 1.6.2021.] Dostupno na: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US19790364816>
9. Narodne novine [Internet], Zakon o održivoj uporabi pesticida NN14/14 [citirano: 1.6.2021.] Dostupno na: https://narodnenovine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2014_02_14_269.html

10. Hrvatska enciklopedija [Internet], Pesticidi [citirano: 1.6.2021.] Dostupno na: <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=47818>
11. Sutlović D. Toksikologija hrane. Split, Hrvatska: Redak; 2011.
12. Gruzdyev G. S., The Chemical Protection of Plants, 2nd Ed. Moscow, Russia:Mir Publishers; 1988.
13. Raspudić, E., Brmež, M., Majić, I., Sarajlić, A., Insekticidi u zaštiti bilja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek, 2014. [Internet] [citirano: 1.6.2021.] Dostupno na: http://www.agroekologija.com/agricontocleen/wpcontent/uploads/2015/03/Insekticidi_u_zastiti_bilja.pdf
14. Gupta A., Pesticide residue in food commodities: Advances in Analysis, Evaluation, and Management, With Particular Reference to India, Agrobios (India), Jodhpur, [Internet], [citirano: 1.6.2021.] 2006. Dostupno na: https://content.kopykitab.com/ebooks/2016/05/7060/sample/sample_7060.pdf
15. Deshpande S. S. Handbook of Food Toxicology, Marcel Dekker, Inc., 1st ed. New York/Basel., 2002. [citirano: 1.6.2021.]
16. Fontcuberta M Argues J. F Villalbi J. R. Martinez M, Centrich F Serrahima E Pineda L, Duran J, Casas C. 2008. Chlorinated organic pesticides in market food. Science of the Total Environment [Internet] [citirano: 1.6.2021.] 2008; 389:52-57. Dostupno na: <https://scihub.se/10.1016/j.scitotenv.2007.08.043>
17. Pimentel D. Levitan L. Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. Journal of Agricultural and Environmental Ethics 8, 17-29., 1995. [citirano: 2.6.2021.] Dostupno na: <https://r.jordan.im/download/environmentalism/pimentel1995.pdf>
18. Kamel F. Hoppin J. A. Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. Environmental Health Perspective [Internet] [citirano: 2.6.2021.] 2004; 112, 950-958. Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1289/ehp.7135>
19. Kamel F. Engel L. S. Gladen B. C. Hoppin J. A. Alavanja M. C. R., Sandler D. P. Neurologic symptoms in licensed private pesticide applicators in the agricultural health study. Environmental Health Perspective [Internet] [citirano: 2.6.2021.] 2005; 113, 877-882. Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1289/ehp.7645>
20. McCauley L. A. Anger W. K. Keifer M., Langley R., Robson M. G., Rohlman, D. Studying health outcomes in farmworker populations exposed to pesticides. Environmental Health Perspectives [Internet] [citirano: 2.6.2021.] 2006; 114, 953-960. Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1289/ehp.8526>

21. Sultan C., Balaguer P., Terouanne B., Georget V., Paris F., Jeandel C., Lumbroso S., Nicolas J. Environmental xenoestrogens, antiandrogens and disorders of male sexual differentiation. *Molecular and Cellular Endocrinology* [Internet] [citirano: 2.6.2021.] 2001; 178, 99-105. Dostupno na: [https://sci-hub.se/10.1016/s0303-7207\(01\)00430-0](https://sci-hub.se/10.1016/s0303-7207(01)00430-0)
22. Dich J., Zahm S. H., Hanberg A., Adami H. O. Pesticides and cancer. *Cancer Causes & Control* [Internet] [citirano: 2.6.2021.] 1997; 8, 420-443. Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1023/a:1018413522959>
23. Požar, H. Tehnička enciklopedija, Miroslav Krleža, Zagreb, 1986., str. 237-249.
24. Springer, O. P. Springer, D. Otrovní modrozeleni planet, Priručnik iz ekologije, ekotoksikologije i zaštite prirode i okoliš, Meridijan, Zagreb, 2008., str. 115-126
25. Igrc Barčić, J. Maceljčki M. (2001.): Ekološki prihvatljiva zaštita bilja od štetnika. Zrinski d.d.
26. Lallas P. L. The Stockholm convention on persistent organic pollutants. *The American Journal of International Law* [Internet] [citirano: 2.6.2021.] 2012; 95: 692 – 708. Dostupno na: https://www.pops-gmp.org/res/file/UNEP-POPS-COP_5-INF-27.pdf
27. Mansouri A. Cregut M. Abbes C., Durand M. J. Landoulsi A. Thouand G. The environmental issues of DDT pollution and bioremediation: a multidisciplinary review. *Applied Biochemistry and Biotechnology* [Internet] [citirano: 2.6.2021.] 2015; 181 (1): 309–339. Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1007/s12010-016-2214-5>
28. Sutlović D. Toksikologija hrane. Split, Hrvatska: Redak; 2011.
29. Pleadin J, Bogdanović T. Murati T, Kmetič I. Kemijska onečišćivala iz okoliša i njihovi ostaci u hrani životinjskog podrijetla. *Food Technol Biotechnol.* [Internet] [citirano: 2.6.2021.] 2017;12(1-2),19-29. Dostupno na: file:///C:/Users/Porin/AppData/Local/Temp/03_HDPBN_1_2_2017.pdf
30. Fatin S. H. Kamel E. A. Gaafar-Rehab A. M. Shaheen A. A. Effect of grilling on pesticides residues in *O. niloticus* muscles. *Benha Veterinary Medical Journal* [Internet] [citirano: 2.6.2021.] 2016; 30: 348 – 357. Dostupno na: https://bvmj.journals.ekb.eg/article_31405_332ef9545c921ce12ff157973fa6d79f.pdf
31. Ding Y. Wu Z. Zhang R. Yu K. Wang Y., Zou Q. Zeng W. Han M. Organochlorines in fish from the coastal coral reefs of Weizhou Island, south China sea: levels, sources, and bioaccumulation. *Chemosphere* [Internet] [citirano: 2.6.2021.] 2019; 232: 1-8. Dostupno na: https://shj.gxu.edu.cn/__local/7/BA/92/E5F29D9010D7AECE1921FC0E613_3CBFB5C_1A2F89.pdf

32. Bempah C. K. Buah - Kwofie A. Enimil E. Blewu B. Agyei-Martey G. Residues of organochlorine pesticides in vegetables marketed in Greater Accra Region of Ghana. *Food Control* [Internet] [citirano: 2.6.2021.] 2012;25: 537-542. Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1016/j.foodcont.2011.11.035>
33. Naseri K. Miri M., Zeinali M., Zeinali T. Evaluation of organochlorine pesticide (OCP) residues in meat and edible organs, Iran. *Environmental Science and Pollution Research* [Internet] [citirano: 3.6.2021.] 2019; 26: 30980 – 30987. Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1007/s11356-019-06235-2>
34. Vasconcelos Rêgo I. C., dos Santos G. N. V. Simões Ribeiro J., Bessa Lopes R., dos Santos S. B., de Sousa A., de Alcântara Mendes R., Fernandes Taketomi A. T., Vasconcelos A. A., Taube P. S. Organochlorine pesticides residues in commercial milk: a systematic review. *Acta Agronómica* [Internet] [citirano: 3.6.2021.] 2019; 68 (2): 99–107. Dostupno na: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28122019000200099
35. Tang Z. Yang Z. Shen Z. Residues of organochlorine pesticides in water and suspended particulate matter from the Yangtze River catchment of Wuhan, China. *Environmental Monitoring and Assessment* [Internet] [citirano: 3.6.2021.] 2008; 137: 427 Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1007/s10661-007-9778-z>
36. Do Carmo S. N. Mendes L. D. Corazza G. Comelli H. Merib J., Carasek E. (2020) Determination of pesticides of different chemical classes in drinking water of the state of Santa Catarina (Brazil) using solid-phase microextraction coupled to chromatographic determinations. *Environmental Science and Pollution Research*. [Internet] [citirano: 3.6.2021.] 2020; 35:43870-43883 Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1007/s11356-020-10287-0>
37. Crolab [Internet] Analitika ostataka pesticida u hrani [citirano:3.6.2021.] Dostupno na: https://www.crolab.hr/userfiles/file/KAL/Sabljak_Grubelic_Analitika_pesticida_u_hrani.pdf
38. Sutlović D. Potvrđna analitička metoda, plinska kromatografija-spektrometrija masa. *Osnove forenzične toksikologije*. Split: Redak; 2011; 394-395.
39. Delaš, I. Kromatografske metode, u: Priručnik za vježbe iz medicinske kemije i biokemije za studente medicine, Medicinska naklada, Zagreb, pp. 2012; 13–21
40. Pine SH. *Organska kemija*. Zagreb: Školska knjiga; 1994,1130-2.
41. Sutlović D. Kriminalističko istraživanje, zapljena i analiza sredstva ovisnosti. *Osnove forenzične toksikologije*. Split: Redak; 103-118, 2011.

42. Tong H, Tong Y, Xue J, Liu D, Wu X. Multi-residual Pesticide Monitoring in Commercial Chinese Herbal Medicines by Gas Chromatography–Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry. Food Analytical Methods [Internet] [citirano: 3.6.2021.], 2014;7:136. Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1007/s12161-013-9609-5>
43. Peak scientific [Internet] Peak scientific [citirano:3.6.2021.]Dostupno na: <https://www.peakscientific.com/discover/news/hydrogen-or-nitrogen-for-electron-capture-detector-eed/>
44. Skoog D.A. West D. M. Holler F. J. Crouch S. R.. Fundamentals of Analytical Chemistry. Cengage Learning, 2013.
45. Leo M. L. Nollet F. T. Food analysis by HPLC. U: Antimicrobial residues, 3. izd.[online] (Rath, S., Orlando, R.M. ured.), Taylor & Francis Group, London/New York, [Internet] [citirano: 3.6.2021.], 2012; 567-584. Dostupno na: <https://chemistlibrary.files.wordpress.com/2015/07/food-analysis-by-hplc-2ed-nollet.pdf>
46. Blašković N. B., Specijalistički rad, Primjena koncepta kakvoće utemeljenje kroz dizajn u životnome ciklusu metoda tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti, 2016; Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko–biokemijski fakultet. [Internet] [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: <https://repositorij.pharma.unizg.hr/islandora/object/pharma%3A464/datastream/PDF/view>
47. Eur – lex [Internet] Uredba o stavljanju sredstava za zaštitu bilja na tržište (EU) 1107/2009 [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/hr/LSU/?uri=CELEX%3A32009R1107>
48. Eur – lex [Internet] Uredba o razvrstavanju, označavanju, obilježavanju i pakiranju opasnih kemikalija (EC) 1272/2008 [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=celex%3A32008R1272>
49. Narodne novine [Internet] Pravilnik o razvrstavanju, označavanju, obilježavanju i pakiranju opasnih kemikalija [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2011_06_64_1423.html
50. Eur – lex [Internet] Direktiva o održivoj upotrebi pesticida (2009/128/EC) [citirano:3.6.2021.] Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=celex:32009L0128>

51. Eur – lex [Internet] Uredba o maksimalnim dopustivim koncentracijama pesticida u hrani i hrani za životinje 396/2005 [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX%3A32005R0396>
52. Eur – lex [Internet] Uredba Komisije (EZ) 839/2008 [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX%3A32008R0839>
53. Eur – lex [Internet] Uredba Komisije (EZ) 839/2008 [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/ALL/?uri=CELEX:32014R0036>
54. Eur – lex [Internet] Direktive o održivoj upotrebi pesticida (2009/128/EK) [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2009/128/oj>
55. Narodne novine [Internet] Zakonom o hrani (NN 46/07) [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008_12_148_4076.html
56. Eur – lex [Internet] Stockholmska konvencija [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: [https://eurlex.europa.eu/legalcontent/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:22006A0731\(01\)&from=CS](https://eurlex.europa.eu/legalcontent/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:22006A0731(01)&from=CS)
57. Ministarstvo poljoprivrede [Internet] Popis registriranih sredstava za zaštitu bilja na dan [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: <https://fis.mps.hr/trazilicaszb/>
58. Narodne novine [Internet] Pravilnik o izmjenama i dopunama pravilnika o maksimalnim razinama ostataka pesticida u i na hrani i hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla. (NN 70/05) [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2011_03_26_554.html
59. Statistics how to [Internet], [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: <https://www.statisticshowto.com/probability-and-statistics/z-score/>
60. G. O. Guler Y. S. Cakmak Z. Dagli A. Aktumsek, H. Ozparlak, Organochlorine pesticide residues in wheat from Konya region, Turkey, 2009. [Internet] [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1016/j.fct.2010.02.013>
61. Bakore, N. John, P.J. Bhatnagar, P. Organochlorine pesticide residues in wheat and drinking water samples from Jaipur, Rajasthan, India. Environ. Monit. Assess. 2004. 98, 381–389. [Internet] [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1023/b:emas.0000038197.76047.83>
62. Toteja, G.S., Diwakar, S., Mukherjee, A., Singh, P., Saxena, B.N., Kalra, R.L., Kapoor, S.K., Kaur, H., Raizada, R.B., Singh, V., Vaidya, R.C., Chakraborty, S., Shirolkar, S.B., Regupathy, A., Douressamy, 2006. Residues of DDT and HCH in wheat samples collected from different states of India and their dietary exposure: a multicentre study.

Food Addit. Contam. 2006. 23, 281–288. [Internet] [citirano: 3.6.2021.] Dostupno na:
<https://sci-hub.se/10.1080/02652030500401181>

8. ŽIVOTOPIS

Zovem se Porin Brnabić. Rođen sam 18. lipnja 1994. godine u Rijeci. Osnovnoškolsko i srednjoškolsko obrazovanje završio sam u Rijeci. Završio sam Salezijansku klasičnu gimnaziju u Rijeci, klasični smjer. Uz pohađanje redovite srednje škole završio sam i Srednju glazbenu školu I. M. Ronjgova u Rijeci, smjer klarinetist. Uz sviranje mog osnovnog instrumenta klarineta, sviram klavir i saksofon. Kao klarinetist nastupao sam s limenom glazbom i raznim srednjoškolskim puhaćim orkestrima. U djetinjstvu sam trenirao rekreativno i profesionalno veslanje, a bio sam najbolji kadet u VK Jadran Rijeka u svojoj generaciji u sezoni 2007./2008. godina. Veći su mi uspjesi u toj sezoni bili osvajanje 5. mjesta na Državnom Prvenstvu Hrvatske u veslanju za kadete i taj sam uspjeh ostvario u dvojcu na pariće i iste sezone sam nastupio za selekciju Istre i Kvarnera na šesteromeču u austrijskom mjestu Ottensheim u četvercu na pariće. Veslanje sam trenirao šest godina. Medicinski fakultet Rijeka, smjer preddiplomskog studija sanitarno inženjerstvo sam upisao 2013.godine. Za vrijeme studiranja obavljao sam studentske poslove u tvrtkama: Kaufland, Spar, Interspar, Muller, Liburnia Riviera, Valamar, Ipsos, a trenutno radim u KD Čistoća na poslu opremanja posuda za otpad. Trenutno kao student radim na Nastavnom Zavodu za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije u Rijeci.