

Ostaci pesticida u uzorcima voća i povrća

Puž, Andrea

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:184:663039>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-30**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ SANITARNOG INŽENJERSTVA

Andrea Puž

OSTACI PESTICIDA U UZORCIMA VOĆA I POVRĆA

Diplomski rad

Rijeka, 2022. godina

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ SANITARNOG INŽENJERSTVA

Andrea Puž

OSTACI PESTICIDA U UZORCIMA VOĆA I POVRĆA

Diplomski rad

Rijeka, 2022. godina

Mentor rada: Doc.dr.sc Dijana Tomić Linšak, dipl.sanit.ing

Diplomski rad obranjen je dana 5.9.2022. na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

1. Izv.prof.dr.sc. Sandra Pavičić Žeželj
2. Izv.prof.dr.sc. Dalibor Broznić
3. Doc.dr.sc. Dijana Tomić Linšak

Rad ima 44 stranice, 25 slika i 53 literaturnih navoda.

ZAHVALA

Zahvaljujem se svojoj mentorici doc.dr.sc.Dijani Tomić Linšak, dipl.san.ing na nesebičnoj pomoći, ukazanom povjerenju te konstruktivnim kritikama i savjetima te na iznimnoj ljubaznosti i strpljenu.

Veliko hvala i svim profesorima Medicinskog fakulteta u Rijeci, a posebno se želim zahvaliti izv.prof.dr.sc. Daliboru Brozniću koji mi je pomogao u realizaciji ovog diplomskog rada i motivirao me da uspješno završim ovo poglavlje života.

Također, želim se zahvaliti svim svojim prijateljima koji su me pratili na ovom putu i bili uz mene i kada nije bilo lako i na taj način učinili ovu pustolovinu ljepšom i zabavnijom.

Najveća zahvala pripada mojim roditeljima i bratu koji su bili uz mene kroz sve godine studiranja i vjerovali u mene, bez Vas ne bi uspjela.

Sažetak

Ostatke pesticida možemo pronaći u namirnicama koje konzumiramo: u hrani, voću i povrću, u vodi te zraku, a kao rezultat mogu nastati negativne posljedice na ljudsko zdravlje. Hrana koja dopijeva na tržište važno je da bude sigurna, a eventualno prisutni ostaci pesticida moraju biti unutar maksimalno dopuštenih koncentracija što u Republici Hrvatskoj regulira Uredba br. 396/2005 Europskog parlamenta i Vijeća od 23. veljače 2005. godine o maksimalnim razinama ostataka pesticida u hrani te hrani za životinje biljnog i životinjskog porijekla.

Cilj ovog diplomskog rada bio je utvrditi prisutnost pesticida u uzorcima voća i povrća koji se nalaze na tržištu Republike Hrvatske. Koncentracija pesticida u voću i povrću određena je instrumentalnim tehnikama plinske kromatografije sa spektrometrom masa, plinske kromatografije s detektorom zahvata elektrona i tekućinske kromatografije sa spektrometrom masa.

Od ukupno 142 analizirana uzorka voća i povrća, u 8 uzoraka detektirani su ostaci pesticida iznad maksimalno dopuštenih koncentracija. Takvi uzorci nisu predstavljali rizik za zdravlje ljudi. S obzirom da se voće i povrće koristi svakodnevno u prehrani, sigurnost tih proizvoda je od javnozdravstvenog značaja. Neophodno je provoditi redovite kontrole nad pesticidima u voću i povrću.

Ključne riječi: pesticid, voće, povrće.

Abstract

Pesticide residues can be found in the foods we consume in food, fruit, and vegetables, in water and air, and as a result, negative consequences for human health can occur. It is important for food that reaches the market to be safe, and any pesticide residues that may be present must be within the maximum permitted concentrations, which is regulated in the Republic of Croatia by Regulation no. 396/2005 of the European Parliament and the Council of February 23, 2005, on maximum levels of pesticide residues in food and animal feed of plant and animal origin.

The aim of this thesis was to determine the presence of pesticides in fruit and vegetable samples found on the market of the Republic of Croatia. The concentration of pesticides in fruits and vegetables was determined by the instrumental techniques of gas chromatography with a mass spectrometer, gas chromatography with an electron capture detector, and liquid chromatography with a mass spectrometer.

Out of a total of 142 analysed fruit and vegetable samples, pesticide residues above the maximum allowed concentrations were detected in 8 samples. Such samples did not pose a risk to human health. Given that fruits and vegetables are used daily in the diet, the safety of these products is of public health importance. It is necessary to carry out regular controls over pesticides in fruits and vegetables.

Key words: pesticide, fruits, vegetables.

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Povijest pesticida, njihov razvoj i primjena.....	1
1.2. Podjela pesticida	3
1.3. Ostaci pesticida u voću i povrću.....	5
1.4. Najčešće prisutni pesticidi u uzorcima voća i povrća.....	5
1.4.1. Klorpirifos	5
1.4.2. Etion	6
1.4.3. Imazalil.....	6
1.5. Određivanje ostataka pesticida u voću i povrću	7
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	11
3. MATERIJALI I METODE	12
3.1. Materijali	12
3.1.1. Uzorci za analizu	12
3.1.2. Kemikalije	12
3.1.3. Pribor i oprema	12
3.2. Metode	15
3.2.1. Priprema uzorka za GC-MS.....	15
3.2.2. Priprema uzorka za LC-MS/MS	16
3.2.3. Statistička analiza podataka.....	16
4. REZULTATI	17
5. RASPRAVA	28
6. ZAKLJUČCI	31
7. LITERATURA	32
8. ŽIVOTOPIS	37

1. UVOD

Riječ „pesticid“, (latinski: *pestis* – kuga i *occidere* – ubiti) je općeniti naziv za tvar koja je namijenjena za suzbijanje i uništavanje životinjskih i biljnih organizama u poljoprivredi, uključujući vektore zaraznih bolesti. (1) Drugim riječima pesticid je kemikalija koja se upotrebljava kao sredstvo za sprječavanje preranog otpadanja plodova, sredstvo za sušenje, regulator rasta, defolijant te kao tvar koja se koristi na usjevima prije ili nakon berbe za sprječavanje propadanja plodova tijekom skladištenja i transporta. (2)

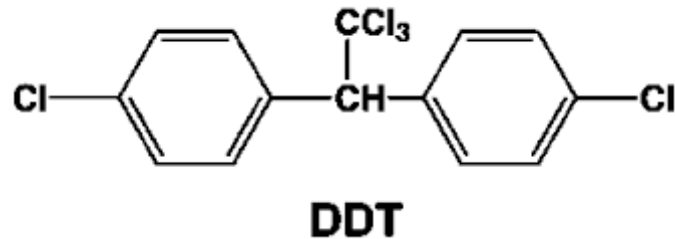
Pesticidi koji se nalaze na tržištu i upotrebljavaju se u poljoprivredi i kućanstvu sastoje se od dvije komponente: aktivne i interne. Aktivnu komponentu čini tvar koja je odgovorna za toksični učinak po organizme, dok internu komponentu čini tvar koja služi za djelovanje aktivne komponente čineći ju topljivom u vodi i olakšava njezin ulazak u organizam i time pojačava njezin toksični učinak. (3) Popis aktivne komponente koja se koristi u sredstvu za zaštitu bilja u Republici Hrvatskoj usklađuje se s pojavom nove komponente s obzirom na listu aktivne komponente koja se upotrebljava u Europskoj Uniji. (4)

1.1. Povijest pesticida, njihov razvoj i primjena

Povijest korištenja pesticida u poljoprivredi datira još od početka razvoja same poljoprivrede kao najstarije ljudske djelatnosti. Korištenje pesticida ima vrlo štetan učinak na ekosustav jer nepravilnim korištenjem, osim nepoželjnih nametnika mogu suzbiti i korisne organizme. Stoga, temelj održive poljoprivrede i ideja održivog razvoja je upravo smanjenje uporabe pesticida (5). Nadalje, već u antičkom dobu zabilježena je uporaba sumpora, duhana i dima u intenciji da zaštite biljke od nametnika. Međutim, korištenje suvremenih pesticida u javnom zdravstvu i poljoprivredi započelo je u 19. stoljeću. Godine 1860-ih započeta je primjena prve generacije pesticida odnosno spojeva koji su bili visokotoksični poput arsena, fumiganta cijanovodika korištenih u svrhu kontrole štetočina poput bakterija, gljiva i insekata. Osim toga, u to vrijeme korišteni su i drugi spojevi poput „Bordoške juhe“ odnosno smjesa bakrovog(II) sulfata pentahidrata, vapna i vode, ali između ostalog koristio se i sumpor. Njihova upotreba je napuštena zbog njihove toksičnosti i neučinkovitosti.

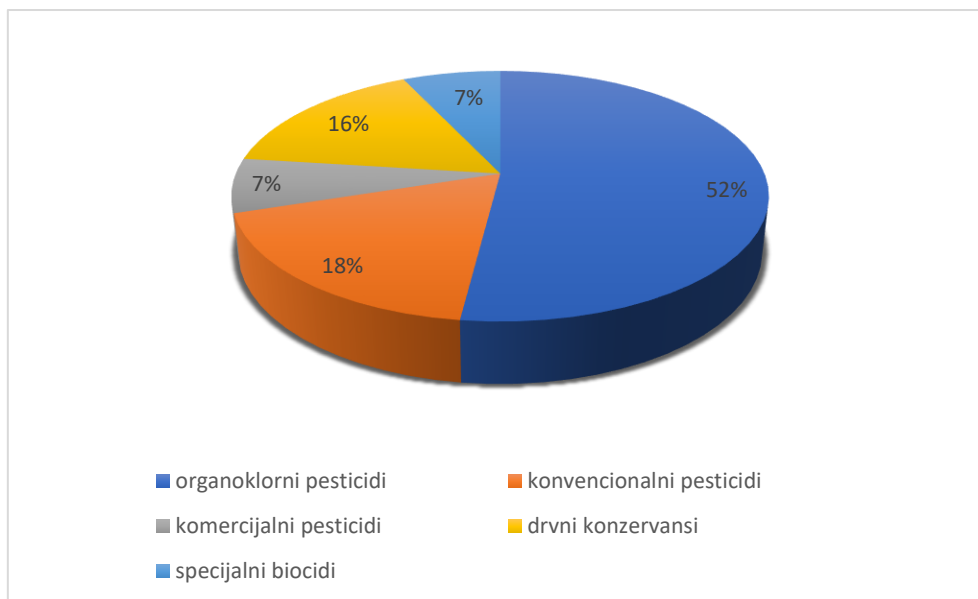
Druga generacija pesticida uključivala je korištenje sintetskih organskih spojeva. DDT (diklor-difenil-trikloretan) sintetiziran je kao prvi suvremeni insekticid, od strane znanstvenika Othmara Zeidlera još davnih 1870-ih godina. Dok je DDT-ov insekticidni učinak otkrio švicarski kemičar Paul Hermann Müller 1939. godine, tražeći spojeve koji su učinkoviti protiv

moljaca te je otkrio upravo DDT, a nakon toga dobio je i Nobelovu nagradu za njegovo otkriće. DDT je zbog svog širokog spektra djelovanja, postojanosti, netopljivosti i lake primjene bio vrlo primjenjivan insekticid. (6)



Slika 1. Strukturna formula diklor-difenil-trikloretan (DDT) (7)

Nadalje, DDT koristio se i u nepoljoprivredne svrhe tijekom Drugog svjetskog rata u borbi protiv malarije, tifusa, uši i drugih ljudskih bolesti koje su prenosili insekti među vojnim i civilnim stanovništvom. (8) Nakon otkrića DDT-a sintetizirani su mnogi drugi kemijski spojevi u to doba. Pod nazivom „zelena revolucija“ nastao je svjetski poljoprivredni pokret koji je započeo u Meksiku 1944. godine, a njime je započela intenzivna uporaba pesticida u poljoprivredi. Glavni cilj bio je povećati prinos žitarica na poljima u svijetu zbog problema s opskrbom hrane kako bi zadovoljilo potrebe tada sve brže rastuće ljudske populacije. Nakon što je zelena revolucija zaživjela u Meksiku, proširila se potom svijetom. Suzbijanje nametnika koji se hrane endospermom zrna i klicom što rezultira smanjenom nutritivnom vrijednošću zrna i kvaliteta krajnje uporabe zrna bio je primarni cilj u poljoprivredi, ali zelena revolucija je dozvoljavala veći unos pesticida u odnosu na tradicionalnu poljoprivredu. (9) Osim DDT-a pojavili su se i drugi spojevi odnosno klorirani insekticidi. Drugom polovicom 20. stoljeća DDT se zabranio, kao i ostali klorirani insekticidi u razvijem zemljama. DDT je zabranjen zbog akumulacije u masnome tkivu, okolišu te prehrambenom lancu. Nažalost DDT se još uvijek koristi u državama poput Indije i Kine prvenstveno zbog jeftine proizvodnje. U svrhu zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda od štetočina za impregnaciju površina spremnika za skladištenje koristili su se i organofosforni insekticidi kao što su malation, klorpirifos-metil te piretroidni deltametrin. (10)



Slika 2. Udio pojedinih pesticida u svakodnevnoj upotrebi (11)

Danas na svijetu postoji oko 1500 aktivnih komponenata s pesticidnim učinkom. (11)
Organoklorni pesticidi još uvijek se upotrebljavaju u najvećoj mjeri (slika 2.).

1.2. Podjela pesticida

Pesticidi se mogu podijeliti na tri glavne podjele: na temelju načina djelovanja, na temelju ciljane vrste štetnika i na temelju kemijskog sastava pesticida. (12)

1) Podjela pesticida prema načinu djelovanja

Pesticidi prema načinu djelovanju s obzirom na željeni učinak dijele se na nesistemske (kontaktne) i sistemske pesticide. Nesistemski pesticidi ne prodiru značajno u biljna tkiva, a željeni učinak će postići samo u slučaju direktnog kontakta s štetnikom- kontaktne pesticidi. Dok, sistemski pesticidi prodiru u biljna tkiva i na taj način postižu željenu učinak. (13)

2) Podjela pesticida prema ciljanom organizmu

- Zoocidi koji se koriste za suzbijanje ciljanih štetnih organizama, dijele se na:
 - Insekticidi – pripravci za uništavanje štetnih kukaca
 - Akaricidi – pripravci za uništavanje paukova i grinja
 - Nematocidi – pripravci za uništavanje nematoda
 - Rodenticidi – pripravci za uništavanje glodavaca
 - Limacidi – pripravci za uništavanje puževa
 - Korvicidi – pripravci koji služe za eliminiranje štetnih ptica

- Herbicidi – pripravci koji se koriste za zaštitu bilja namijenjeni uništavanju rasta neželjenih biljaka odnosno korova
- Fungicidi – pripravci namijenjeni sprječavanju uzročnika biljne bolesti poput gljiva, bakterija
- Baktericidi – pripravci za uništavanje bakterija
- Virocidi – pripravci za uništavanje virusa
- Algicidi – pripravci za uništavanje algi
- Homocidi – bojni otrovi. (14)

3) Podjela pesticida na temelju kemijskog sastava

Pesticidi prema kemijskom sastavu dijele se na: neorganske tvari (biljke, gljive, bakterije) i organske tvari gdje spadaju organoklorni pesticidi, organofosforni pesticidi, piretroidi, derivati fenoksi-ugljične kiseline, karbamati, tiazini, neonicotinoidi. (15)

4) Podjela ostalih pesticida

- Vrsta pripravka
 - Koncentrati za emulziju (EC)
 - Koncentrati za suspenziju (SC)
 - Močiva prašiva (WP)
 - Koncentrati za otopinu (SL)
 - Samodispergirajuće mikrogranule (WG). (16)
- Stupanj toksičnosti

Podjela pesticida prema mogućim zdravstvenim rizicima:

- Skupina Ia – iznimno opasno
- Skupina Ib – vrlo opasno
- Skupina II – umjereno opasno
- Skupina III – blago opasno
- Skupina IV – proizvod koji će malo vjerojatno predstavljati akutnu opasnost pri normalnoj uporabi. (17)

1.3. Ostaci pesticida u voću i povrću

Danas se gotovo svo voće i povrće tretira s pesticidima. Prvenstveno zbog rasta broja stanovništva čime je i potražnja za hranom veća. Ostacima pesticida izloženi smo putem zraka, putem hrane te putem vode, a kao rezultat je pojava negativnih posljedica koje štete ljudskom zdravlju. (18) Temelj svake dobre proizvodne prakse je uporaba pesticida jedino kada je to nužno.

Maksimalna razina ostataka pesticida (MDK) je najviša zakonski dopuštena koncentracija pesticida u ili na hrani, izražena u mg/kg uzorka. (19) Do prekoračenja MDK vrijednosti dolazi zbog nepoštivanja dobre poljoprivredne prakse, odnosno propisane karence (vrijeme koje mora proći od zadnjeg tretiranja kulture do berbe). (20) MDK za pesticide koji su dopušteni u proizvodima životinjskog i biljnog podrijetla za ljudsku i životinjsku konzumaciju doneseni su zakonskom regulativom. (21)

Nadalje, ADI (eng. Acceptable Daily Intake) je oznaka za prihvatljiv dnevni unos odnosno toksikološka sigurnosna granica za količinu tvari u hrani koja će moći biti unesena svakodnevno tijekom cijeloga života bez negativnih posljedica za ljudsko zdravlje.

ARfD (eng. Acute Reference dose) je akutna referentna doza koja predstavlja količinu tvari u hrani koja može biti unesena u jednom danu bez negativnog učinka na čovjeka.

Dok, NOAEL (eng. No Observed Adverse Effect Level) je najviša razina izloženosti koja nema negativan učinak.

1.4. Najčešće prisutni pesticidi u uzorcima voća i povrća

1.4.1. Klorpirifos

Klorpirifos je organofosforni insekticid. Primjenjivao se u kućanstvu i poljoprivredi. Najčešće se koristio za zaštitu usjeva, voća i povrća, ali i za uništavanje štetnih kukaca. (22) Od 2022. godine istekla je tolerancija na klorpirifos te je njegova primjena na prehranbenim proizvodima zabranjena. (23)

Ljudi i životinje mogu biti izloženi klorpirifosu preko njegovih ostataka u okolišu. Glavni putevi unosa su oralno, dermalno i inhalacijom. (24) Simptomi trovanja klorpirifosom su glavobolja, vrtoglavica, opća slabost, nemir, drhtavica pa čak i oticanje pluća i koma. Izloženost klorpirifosu kod djece može biti izuzetno opasno te uzrokuje poremećaj u rastu i razvoju,

smanjen kvocijent inteligencije, veću incidenciju poremećaja hiperaktivnosti i deficit pažnje (ADHD). (25)

Mehanizam djelovanja klorpirifosa je inhibicija enzima acetilkolinesteraze, ključnog enzima za hidrolizu acetilkolina. Inhibicijom acetilkolinesteraze dolazi do nakupljanja acetilkolina i prekomjerne stimulacije kolinergičkih receptora i poremećaja neuroloških aktivnosti u organizmu. (26)

Za štakore akutna oralna smrtna doza pri kojoj ugiba 50% životinja (LD_{50}) iznosi između 95 i 270 mg/kg tjelesne mase, dok razina pri kojoj ne dolazi do štetnog učinka (NOAEL) iznosi 0,1 mg/kg tjelesne mase. (27)

1.4.2. Etion

Etion je organofosforni insekticid i akaricid. Krajem 1950-ih godina registriran je kao insekticid u Sjedinjenim Američkim Državama. Etion se koristi u poljoprivredi, za suzbijanje insekata na citrusima, pamuku, povrću te orašastim plodovima.

Organoklorni pesticidi nakon njihove zabrane ili ograničenja uporabe zamijenjeni su s organofosfatnim pesticidima zbog njihove široke primjene, manje postojanosti te se lakšeg metaboliziranja u sustavu. (28) Točna doza koja će izazvati štetne učinke kod ljudi nije poznata jer je mali broj ljudi bio izložen s dovoljnom koncentracijom etiona koja je potrebna da izazove simptome trovanja. No, ipak ako dođe do trovanja neki od simptoma su mučnina, tjeskoba i nemir. (29)

Mehanizam djelovanja ovog insekticida identičan je kod insekata i ljudi koji se temelji na inhibiciji aktivnosti enzima što rezultira blokadom prijenosa živčanih impulsa i dovodi do smrti. (30)

Za štakore oralni LD_{50} iznosi od 21 do 191 mg/kg tjelesne mase.

1.4.3. Imazalil

Imazalil je fungicid koji se koristi u zaštiti bilja protiv gljivičnih bolesti kao što su plijesni. U Europskoj Uniji dopušten je za tretiranje citrusa, banana, sjemena žitarica nakon berbe kako bi se spriječilo truljenje proizvoda za vrijeme skladištenja. Počeo se koristiti kao fungicid 1983. godine i od tada se primjenjuje na usjevima i sjemenju prije i nakon žetve. (31) Imazalil se smatra štetnim ako se unese oralnim putem i inhalacijom. Neki od simptoma su nadražaj očiju

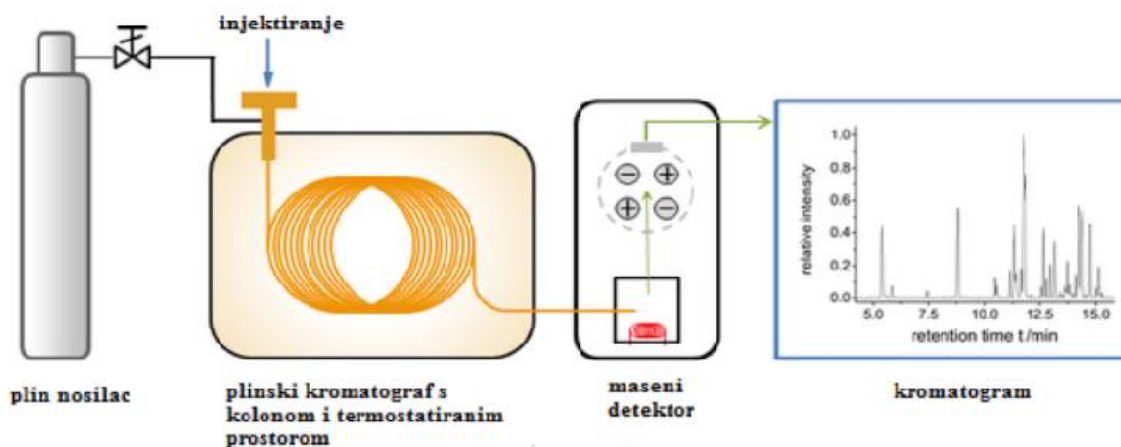
te oštećenje jetre prilikom oralnog izlaganja. Nakon pranja i odstranjivanja kore s citrusa koja je bila tretirana imazalilom ne predstavlja rizik za zdravlje ljudi.

Oralni LD₅₀ za štakore iznosi između 227 i 343 mg/kg tjelesne mase.

1.5. Određivanje ostataka pesticida u voću i povrću

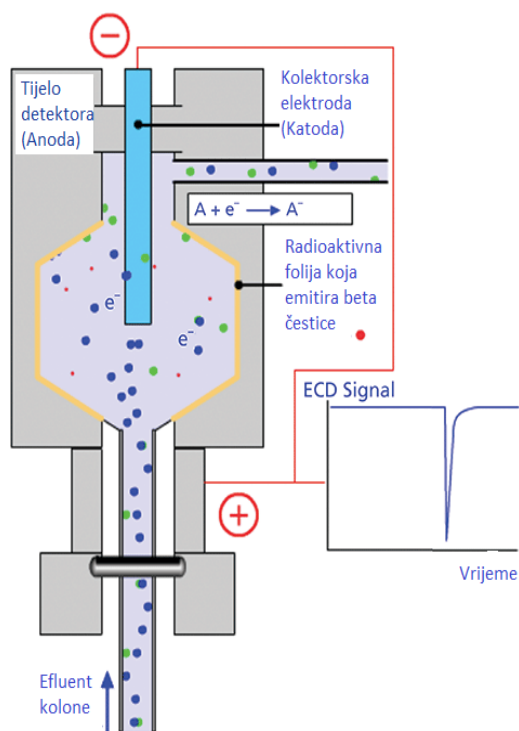
Za određivanje pesticida u voću i povrću koriste se slijedeće analitičke tehnike: plinska kromatografija sa spektrometrom masa (GC – MS i GC – MS/MS), plinska kromatografija s detektorom zahvata elektrona (GC – ECD), tekućinska kromatografija sa spektrometrom masa (LC – MS/MS).

Plinska kromatografija sa spektrometrom masa ubraja se u osnovne tehnike za kvantitativnu i kvalitativnu analizu pesticida. Plinska kromatografija koristi se za odvajanje sastojaka i kvantifikaciju, dok se spektrometrija masa koristi za analiziranje pojedinih sastojaka u kvalitativnoj analizi. (30) Plinski kromatograf sastoji se od injektorskog sustava, kromatografske kolone i detektora, prikazano shematski na slici 3. Kod plinske kromatografije analit se razdjeljuje između dvije faze. Prva faza je pokretna (mobilna) koju čini plin najčešće je to helij, ali može biti dušik, vodik ili argon. Druga faza je nepokretna (stacionarna) koja je čvrsta (dijatomejska zemlja), ali može biti i tekuća koju čine ugljikovodici, viši alkoholi, esteri. Nakon unošenja uzorka u kolonu dolazi do razdvajanja između dviju faza. Ova tehnika koristi se isključivo za spojeve koji se mogu prevesti u plinovito stanje pri temperaturi od 400 °C, a da se pri tome sami ne razore. Komponente nakon što su se razdvojile dolaze do detektora, a to vrijeme koje je bilo potrebno za razdvajanje naziva se vrijeme zadržavanja (retencijsko vrijeme), također komponente se razdvajaju s obzirom na brzinu gibanja komponenata koje su nošene pokretnom fazom s obzirom na različit afinitet prema nepokretnoj fazi. Nakon što su se komponente razdvojile kreću se kroz maseni spektrometar gdje se uzorak ionizira i nastaju naelektrizirani fragmenti koji potom dolaze do magnetskog analizatora u kojem će se fragmenti razdvojiti s obzirom na temelju njihovog odnosa naboja i mase. (32) Nastale komponente se detektiraju, a ioni analiziraju te kao konačan rezultat nastaje kromatogram. Na kromatogramu nalazi se vrijeme zadržavanja određenog spoja koji je razdvojen na koloni, a signal je prikazan kao pik čija površina je proporcionalna količini nekog spoja. (33)



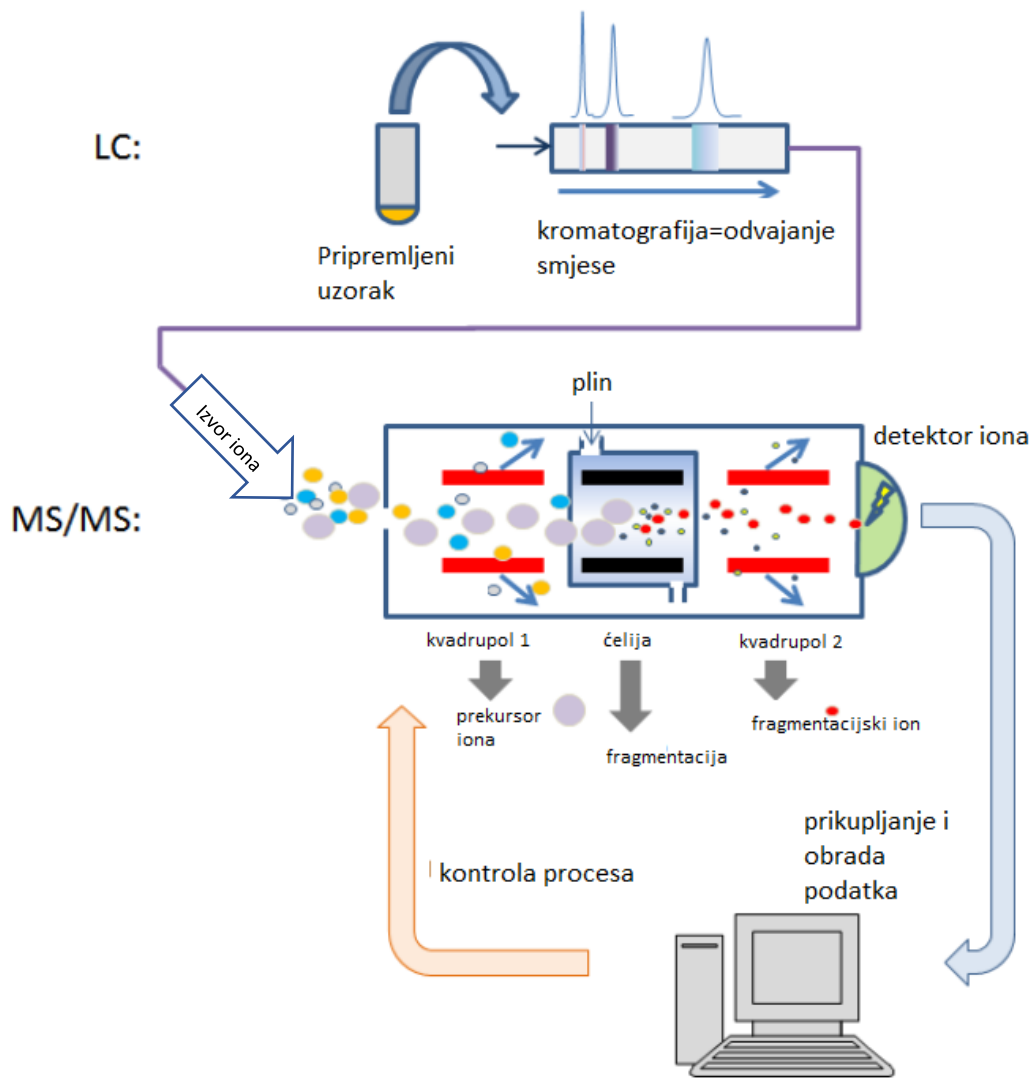
Slika 3. Pojednostavljeni shematski prikaz (GC – MS) (32)

Plinska kromatografija s detektorom zahvata elektrona (GC – ECD) je tehnika za analizu visoko elektronegativnih spojeva posebice halogenih spojeva. ECD detektor za hvatanje elektrona koristi beta čestice koje emitira radioizotop nikla (^{63}Ni) za ionizaciju plina nosača (slika 4). Plin nosač je dušik. Prednost dušika je u maloj potrebi energije za izdvajanje elektrona iz plina. Beta čestice se sudaraju s molekulama plina te ionizacijom nastaju slobodni elektroni koji se sporo kreću i stvaraju mjerljivu i konstantnu struju. Kroz detektor mora proći plin nosač da bi se uspostavio protok struje. Plin nosač ima ulogu da nosi uzorak i smanjuje protok struje i kao rezultat toga nastaje signal.



Slika 4. Shema ECD detektora kod GC-a (34)

Tekućinska kromatografija sa spektrometrom masa (LC – MS/MS) je analitička tehnika s kombinacijom tekućinske kromatografije i masenog spektrometra. (35) LC – MS/MS temelji se na razdvajanju analita s obzirom na određena kemijska ili fizikalna svojstva (veličina, afinitet molekula, naboj) kao rezultat različitog afiniteta prema pokretnoj i nepokretnoj fazi. Ova tehnika služi za analizu analita koji su termički nestabilni te polarnih i nepolarnih molekula. (36) LC sustav se sastoji od polarno nepokretne faze (voda, trietil glikol) i nepolarno pokretne faze (hesan, izipropileter) te nepolarno nepokretne faze (ugljikovodici) i polarno pokretne faze (voda, metanol). U masenom spektrometru LC – MS/MS-a odvija se ionizacija molekula, prikazano na slici 5. Kroz analizator prolaze ioni koji se odvajaju na temelju mase i naboja.



Slika 5. Shema LC – MS/MS (37)

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja je odrediti prisutnost ostatka pesticida u uzorcima voća i povrća koji su dostupni na tržištu u Republici Hrvatskoj. Dio uzoraka voća i povrća koji dolaze na analizu je uvozom iz „zemalja trećeg svijeta“ te dolaze na analizu nalogom državnog inspektorata tj. granične sanitarne inspekcije ili provedbom Županijskog programa javnozdravstvenih mjera zaštite zdravlja od štetnih čimbenika. Analize su provedene u periodu od 2017.-2020.godine.

Cilj je bio i ovladati tehnikama plinske kromatografije sa spektrometrom masa (GC – MS/MS), plinske kromatografije s detektorom zahvata elektrona (GC – ECD) te tekućinske kromatografije sa spektrometrom masa (LC – MS/MS), koje su se provodile za identifikaciju i kvantifikaciju pesticida u uzorcima voća i povrća. Statističkom obradom podataka pokušat će se utvrditi odstupaju li ostaci pesticida na voću i povrću od maksimalno dopuštenih koncentracija.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Materijali

3.1.1. Uzorci za analizu

Za potrebe izrade eksperimentalnog dijela diplomskog rada upotrijebljeno je svježe voće i povrće podrijetlom iz Republike Hrvatske ali i u uzorci uvezeni iz inozemstva. Uzorci voća i povrća dolaze na analizu nalogom granične sanitarne inspekcije ili provedbom Županijskog programa praćenja pesticida u namirnicama. Sukladno navedenom analiziraju se uzorci s tržišta ili po osobnom zahtjevu privatnih uzgajivača kultura voća i povrća. Zdravstvena ispravnost voća i povrća provjerava se prije stavljanja u promet. Uzorci za analizu dostavljeni su u vrećici od umjetne mase s podacima: naziv, podrijetlo, lot broj, neto količina.

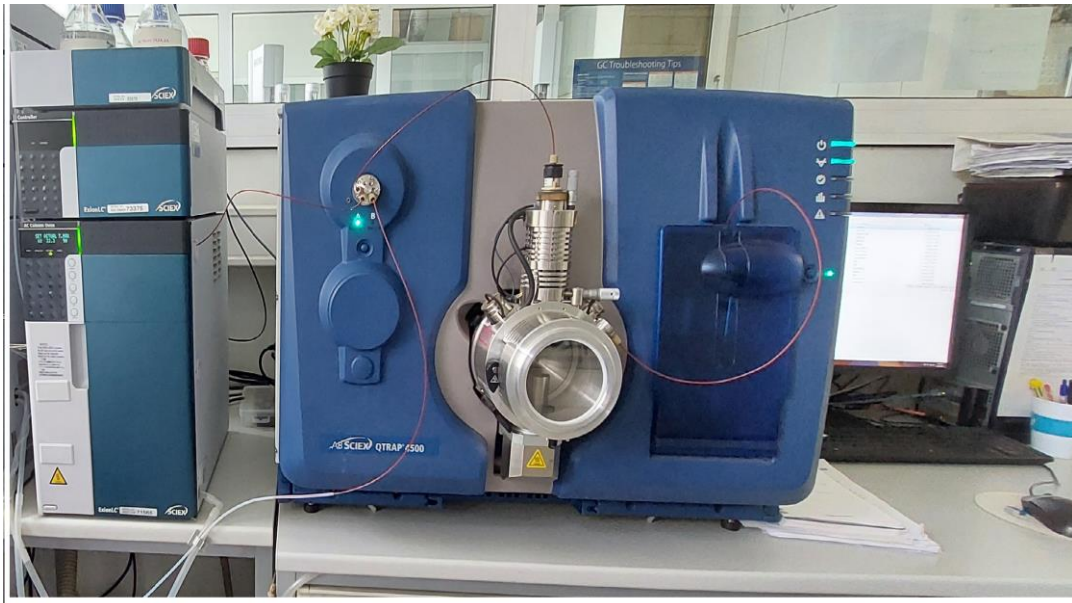
3.1.2. Kemikalije

- Acetonitril, Supelco, Njemačka
- Bezvodni natrijev sulfat, GRAM-MOL d.o.o., Hrvatska
- Petroleter, EMPROVE ESSENTIAL, Njemačka
- Diklormetan, Supelco, Njemačka
- n – Heksan, Honeywell, Francuska

3.1.3. Pribor i oprema

- vaga
- mikser za usitnjavanje
- vakumski uparivač
- staklene bočice s plastičnim čepom i vialke od 2 mL
- staklene bočice s metalnim čepom i vialke od 10 mL
- Erlenmeyerove tikvice, pipete, menzure
- GC-MS/MS Agilent 7000 Triple Quad, Sjedinjene Američke Države
- GC-MS Shimadzu, GCMS-QP 2020 NX, Japan
- GC-ECD SCION 436-GC, Ujedinjeno Kraljevstvo
- GPLC (Gel Permeation Liquid Chromatograf) , Varian, ProStar, Ujedinjeno Kraljevstvo; sakupljač frakcija koji služi za pročišćavanje ekstrakta tijekom određivanja kloriranih pesticida

- LC-MS/MS QTRAP 4500, Sjedinjene Američke Države



Slika 11. Prikaz instrumenta za tekućinsku kromatografiju sa spektrometrom masa; LC/MS-MS (QTRAP 4500, Sjedinjene Američke Države); izvor: vlastita fotografija



Slika 12. Prikaz instrumenta za plinsku kromatografiju sa spektrometrom masa; GC-MS-MS (Agilent 7000 Triple Quad, Sjedinjene Američke Države); izvor: vlastita fotografija



Slika 13. Prikaz instrumenta za plinsku kromatografiju s detektorom zahvata elektrona; GC-ECD (SCION 436-GC, Ujedinjeno Kraljevstvo); izvor: vlastita fotografija



Slika 14. Prikaz instrumenta za gel permeacijsku tekućinsku kromatografiju; GPC (Varian, ProStar, Ujedinjeno Kraljevstvo); izvor: vlastita fotografija

3.2. Metode

Laboratorijska analiza uzoraka provedena je u laboratoriju Zdravstveno-ekološkog odjela Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko – goranske županije.

Ostaci pesticida u uzorcima svježeg voća i povrća provode se temeljem nekoliko normi.

- Norma HRN EN ISO 12393-1:2013, Hrana biljnog podrijetla – Multirezidualne metode za određivanje ostataka pesticida upotrebom GC ili LC-MS/MS - 1. dio: Opća razmatranja predstavlja europski standard u kojoj se nalaze opća razmatranja za određivanje pesticida u hrani biljnog podrijetla. (38)
- Norma HRN EN 12393-2:2013, Hrana biljnog podrijetla – Multirezidualne metode za određivanje ostataka pesticida upotrebom GC ili LC-MS/MS - 2.dio: Metode za ekstrakciju i pročišćavanje je europski standard kojim se utvrđuju metode za ekstrakciju i čišćenje uzoraka hrane biljnog podrijetla za kvantitativno određivanje ostataka pesticida. (39) Metoda koja se koristi za pročišćavanje uzorka je tekućinski kromatograf (GPC), a završno određivanje pomoću ECD ili MS/MS detektorom.
- Norma HRN EN ISO 12393-3:2013, Hrana biljnog podrijetla – Multirezidualne metode za određivanje ostataka pesticida upotrebom GC ili LC-MS/MS - 3.dio: Određivanje i potvrda ispitivanja je europska norma koja daje smjernice o nekim preporučenim tehnikama za određivanje ostataka pesticida u hrani biljnog podrijetla te o potvrđim testovima. (40)
- Norme HRN EN ISO 12393-1:2013, 12393-2:2013 i 12393-3:2013 koriste se za kvantifikaciju organoklornih i organofosfornih pesticida.
- Norma HRN EN ISO 15318:1999 služi za određivanje polikloriranih pesticida pomoću GC-ECD-a. Također, Nastavni zavod za javno zdravstvo u Rijeci prema Popisu ispitnih metoda u fleksibilnom području akreditacije HRN EN ISO/IEC 10725 dodatno je akreditiran za lisnato povrće, svježe začinsko bilje te koštunjicavo voće. (41)

3.2.1. Priprema uzoraka za GC-MS/MS

Uzorak je potrebno najprije homogenizirati u mikseru, potom odvagati 5 grama u Erlenmeyerovu tikvicu. Zatim, dodati bezvodni natrijev sulfat ovisno o vlažnosti uzorka. U Erlenmeyerovu tikvicu doda se 50 mL smjese organskih otapala i to petroleter:diklormetan (50:50, V/V) koji su potrebni za ekstrakciju pesticida. Nakon toga se Erlenmeyerova tikvica stavlja na električnu tresilicu kroz 1 sat. Slijedi filtracija preko filter papira te se uparavanje otapala na vakuum uparivaču do suhog ostatka. Ostaci pesticida otopi se u 10 mL diklormetana

i prenose se u vialku od 10 mL iz koje se odmjeri 2 mL uzorka i prebaci u vialku koja se injektira u GC-MS/MS, a ostatak uzorka ide na pročišćavanje u tekućinski kromatograf (GPC). Prate se frakcije od 11-17 minuta. Pročišćene frakcije u kojoj se nalaze ostaci pesticida prenose se u tikvicu i upare. U tikvicu s uzorkom doda se 2 mL n-heksana i prebaci se u vialku te potom slijedi analiza u GC-ECD-u ili u GC-MS/MS. Kada je koncentracija analiziranog pesticida na ECD detektoru veća od granice kvantifikacije ili od maksimalno dopuštene koncentracije tada je potrebno prisutnost te komponente dokazati na GC-MS/MS. Maksimalno dopuštene koncentracije ostataka pesticida u ili na hrani i hrani biljnog i životinjskog podrijetla mogu se provjeriti u Uredbi (EZ) br. 396/2005. (21)

3.2.2. Priprema uzorka za LC-MS/MS

Uzorak je bilo potrebno najprije homogenizirati u mikseru te potom odvagati 5 grama uzorka u Erlenmeyerovu tikvicu. Potom se dodaje 50 mL smjese acetononitrila i vode (50:50, V/V). Tikvica se zatim stavlja na električnu tresilicu kroz 1 sat. Uzorak se profiltrira te se odmjeri 2 mL uzorka i stavi u vialku. Analiza uzorka provodi se na LC-MS/MS-u koji služi za detekciju organofosfornih pesticida.

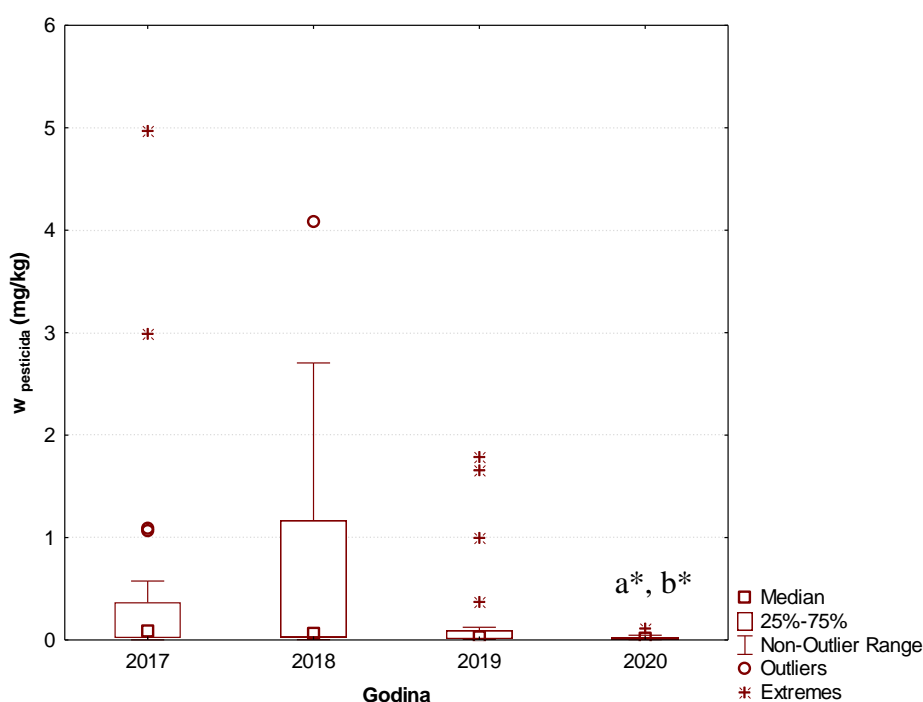
3.2.3. Statistička analiza podataka

Sve deskriptivne i statističke analize provedene su programskom podrškom Statistica® v. 14.0. (StatSoft, Inc, SAD). Eksperimentalni rezultati analize prikazani su kao medijan s pripadnim minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Razlike u ostacima pesticida u voću i povrću testirani su statističkim neparametrijskim testovima Mann-Whitney U test, Kruskal-Wallis ANOVA & Median test uz granicu pouzdanosti od 5% ($p < 0,05$).

4. REZULTATI

Analizirana su 142 uzorka voća i povrća s obzirom na različitu prisutnost pesticida tijekom četiri godine (2017.-2020.).

Na Slici 15. prikazani su udjeli analiziranih pesticida u voću ovisno o vremenskom periodu. Na osi apscise prikazane su godine (2017.-2020.), a na osi ordinate udjeli pesticida izraženi u mg/kg. Udjeli pesticida u 2017. godini kretali su se u rasponu od 0,001 mg/kg do maksimalne vrijednosti 4,96 mg/kg, što je bila i najviša vrijednost udjela pesticida unutar svih analiziranih godina. U 2018. godini raspon je bio od 0,003 mg/kg do 4,08 mg/kg, dok je u 2019. godini maksimalna vrijednost iznosila 1,78 mg/kg. Najniža vrijednost udjela analiziranih pesticida dobivena je u 2020. godini i iznosila je 0,11 mg/kg. Analizirajući vrijednosti udjela pesticida medijana najviša vrijednost postignuta je 2018. godine (0,05 mg/kg), dok je najniža bila u 2020. godini i iznosi je 0,003 mg/kg.

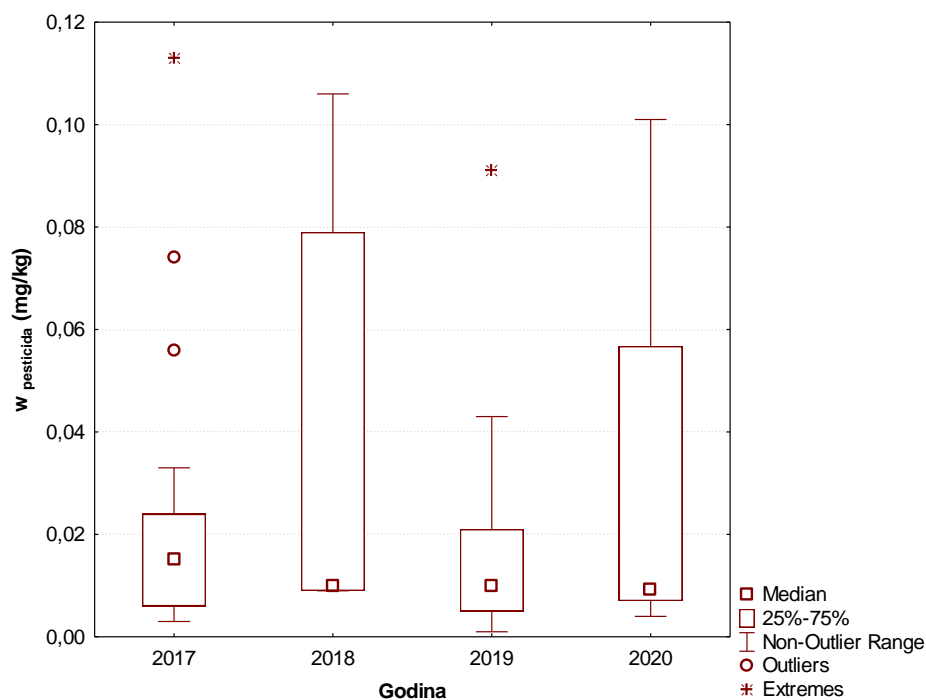


Slika 15. Udio svih analiziranih pesticida (mg/kg) u voću tijekom pratećeg razdoblja (2017.-2020.). Eksperimentalni rezultati prikazani su kao medijan s pripadnim minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Oznaka a* predstavlja statistički značajnu razliku udjela pesticida analiziranih perioda u odnosu na 2017. godinu, dok b* predstavlja statističku značajnu razliku u odnosu na 2018. godinu (Kruskal-Wallis test, $p < 0,05$).

Razlika udjela pesticida u voću tijekom pratećeg razdoblja od 2017. do 2020. analizirana je statističkim testom Kruskal-Wallis te je utvrđena statistički značajna razlika između 2017. i

2020. godine ($p = 0,004$) te 2018. i 2020. godine ($p = 0,002$) dok između ostalih godina nisu pronađene statističke značajne razlike (označeno na slici 15. s a* i b*).

Na slici 16. prikazani su udjeli svih analiziranih pesticida (mg/kg) u povrću tijekom pratećeg razdoblja (2017.-2020.). Udjeli pesticida u 2017. godini kretali su u rasponu od vrlo niskih 0,003 mg/kg do maksimalnih 0,11 mg/kg što je ujedno bila i najviša vrijednost udjela pesticida unutar analiziranih godina. Slične maksimalne vrijednosti udjela pesticida dobivene su i u 2018. godini (0,11 mg/kg), i u 2020. godini (0,10 mg/kg). Najniže vrijednosti udjela analiziranih pesticida uočene su u 2019. godini (0,001 mg/kg) i 2017. godini (0,003 mg/kg).

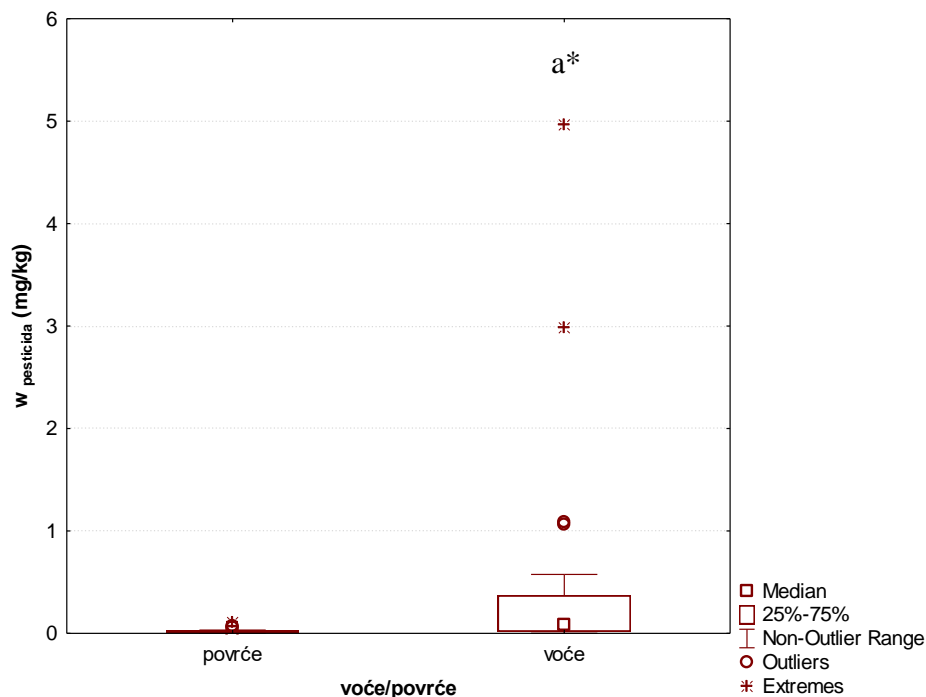


Slika 16. Udio svih analiziranih pesticida (mg/kg) u povrću tijekom pratećeg razdoblja (2017.-2020.). Eksperimentalni rezultati prikazani su kao medijan s pripadnim minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Statistička analiza razlike udjela pesticida između analiziranih godina provedena je Kruskal-Wallis testom pri $p < 0,05$.

Na slici 16. prikazani su udjeli svih analiziranih pesticida (mg/kg) u povrću tijekom pratećeg razdoblja (2017.-2020.) Kako bi se ispitala razlika udjela između pesticida (mg/kg) u povrću kroz prateće četverogodišnje razdoblje korištena je također Kruskal-Wallis analiza pri čemu su

dobivene p -vrijednosti više od 0,05 što znači da između analiziranih uzoraka ne postoji statistički značajna razlika.

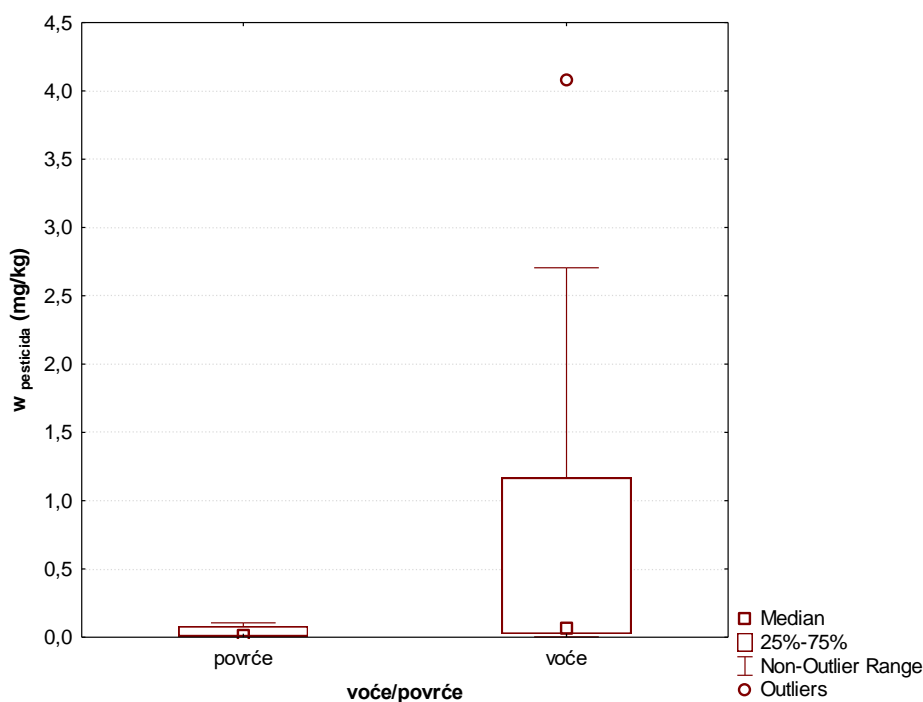
Udjeli pesticida detektirani u voću i povrću u 2017. godini prikazani su na slici 17. Udjeli analiziranih pesticida bili su znatno viših vrijednosti u voću do 4,96 mg/kg, dok su kod povrća postignute znatno niže vrijednosti od 0,11 mg/kg. Kod voća je postignuta i niža vrijednost udjela pesticida (0,001 mg/kg) u odnosu na prisutnost u povrću (0,003 mg/kg).



Slika 17. Udio pesticida (mg/kg) u voću i povrću tijekom 2017. godine. Eksperimentalni rezultati prikazani su kao medijan s pripadnim minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Statistička analiza razlike udjela pesticida između voća i povrća u 2017. godini provedena je Mann-Whitney testom pri $p < 0,05$, pri čemu oznaka a^* predstavlja statistički značajnu razliku udjela pesticida između voća i povrća u 2017. godinu.

Statističkim neparametrijskim Mann-Whitney testom utvrđena je statistički značajna razlika ($p = 0,0037$) između udjela analiziranih pesticida detektiranih u voću i povrću u 2017. godini (oznaka a^* predstavlja statistički značajnu razliku udjela pesticida između voća i povrća u 2017. godinu).

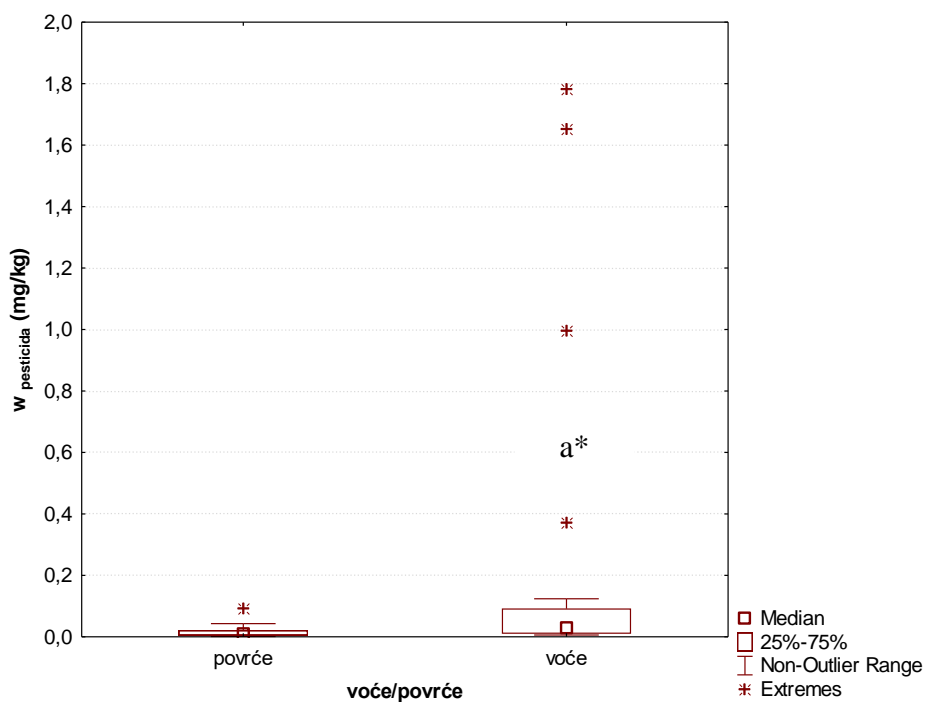
Slično ponašanje kao i u 2017. godini uočeno je i u 2018. godini gdje su udjeli analiziranih pesticida bili znatno viših vrijednosti (4,08 mg/kg) u voću u odnosu na povrće gdje su analizirane maksimalne vrijednosti od 0,11 mg/kg (slika 18.). Ujedno je i minimalna vrijednost udjela pesticida bila niža kod voća i iznosila je 0,003 mg/kg u odnosu na povrće s vrijednošću od 0,009 mg/kg.



Slika 18. Udio pesticida (mg/kg) u voću i povrću tijekom 2018. godine. Eksperimentalni rezultati prikazani su kao medijan s pripadnim minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Statistička analiza razlike udjela pesticida između voća i povrća u 2018. godini provedena je Mann-Whitney testom pri $p < 0,05$.

Provedenom statističkom analizom (Mann – Whitney test) utvrđena je da ne postoji statistički značajna razlika u udjelu analiziranih pesticida prisutnih u voću i povrću tijekom 2018. godine.

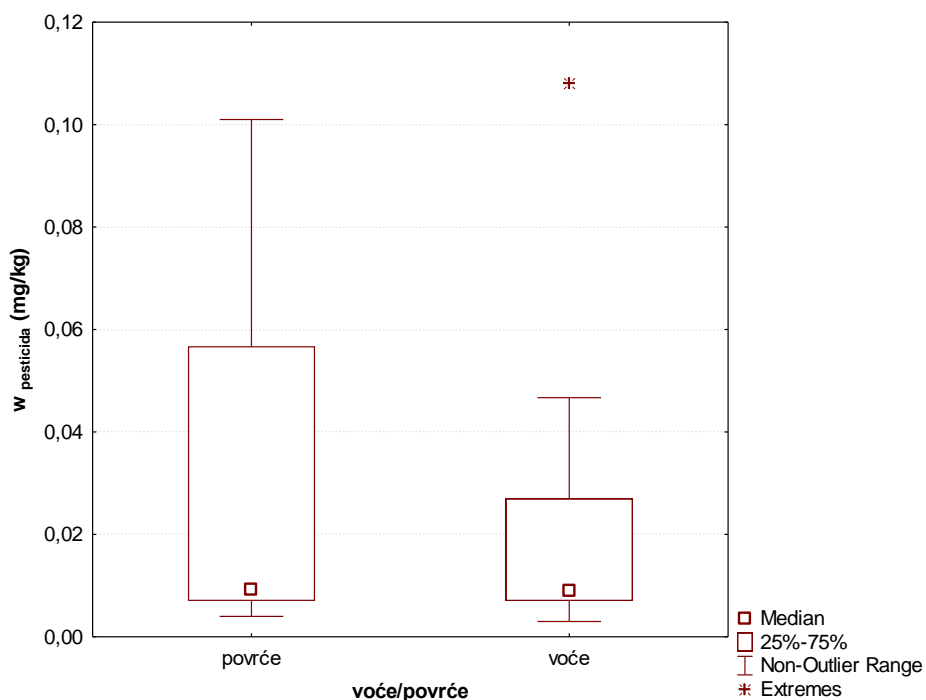
Na slici 19. prikazani su udjeli pesticida (mg/kg) u voću i povrću tijekom 2019. godine. Kao i u prethodnim analiziranim godinama udjeli pesticida u voću bili su znatno viših vrijednosti s maksimalnom vrijednošću od 1,78 mg/kg, dok su kod povrća te vrijednosti bile znatno niže i iznosila 0,091 mg/kg. Suprotno od prethodno navedenih analiziranih godina (2017.,2018.) najniže vrijednosti udjela pesticida utvrđene su kod povrća 0,001 mg/kg u odnosu na voće (0,006 mg/kg).



Slika 19. Udio pesticida (mg/kg) u voću i povrću tijekom 2019. godine. Eksperimentalni rezultati prikazani su kao medijan s pripadnim minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Statistička analiza razlike udjela pesticida između voća i povrća u 2019. godini provedena je Mann-Whitney testom pri $p < 0,05$, pri čemu oznaka a* predstavlja statistički značajnu razliku udjela pesticida između voća i povrća u 2019. godinu.

Analizirajući razlike u udjelu pesticida u 2019. godini utvrđene su statistički značajne razlike između skupine voća i povrća ($p = 0,004$) pri čemu oznaka a* predstavlja statistički značajnu razliku udjela pesticida između voća i povrća u 2019. godinu).

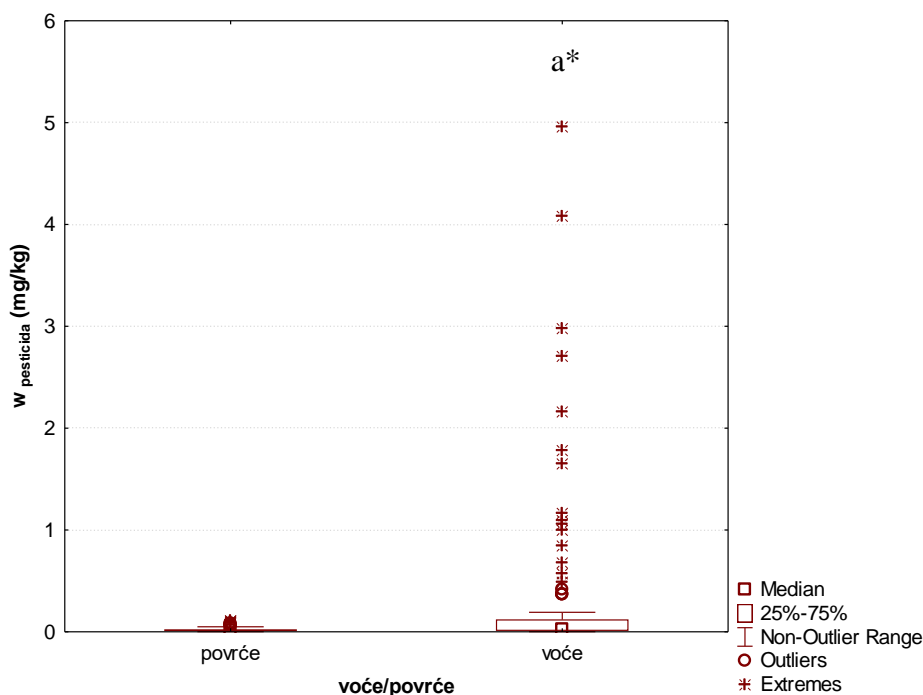
Na slici 20. prikazani su udjeli pesticida u voću i povrću detektiranih u 2020. godini. U navedenoj godini postignute su približno slične maksimalne vrijednosti udjela pesticida i u voću (0,11 mg/kg) i u povrću (0,10 mg/kg). Slično prethodno navedenom i minimalne vrijednosti udjela analiziranih pesticida bile su sličnih vrijednosti te su kod voća iznosile 0,003 mg/kg, a kod povrća 0,004 mg/kg.



Slika 20. Udio pesticida (mg/kg) u voću i povrću tijekom 2020. godine. Eksperimentalni rezultati prikazani su kao medijan s pripadnim minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Statistička analiza razlike udjela pesticida između voća i povrća u 2020. godini provedena je Mann-Whitney testom pri $p < 0,05$.

Statističkim Mann – Whitney testom dobivena je p -vrijednost viša od 0,05 što znači da ne postoji statistički značajna razlika u vrijednosti udjela analiziranih pesticida prisutnih u voću i povrću tijekom 2020. godine.

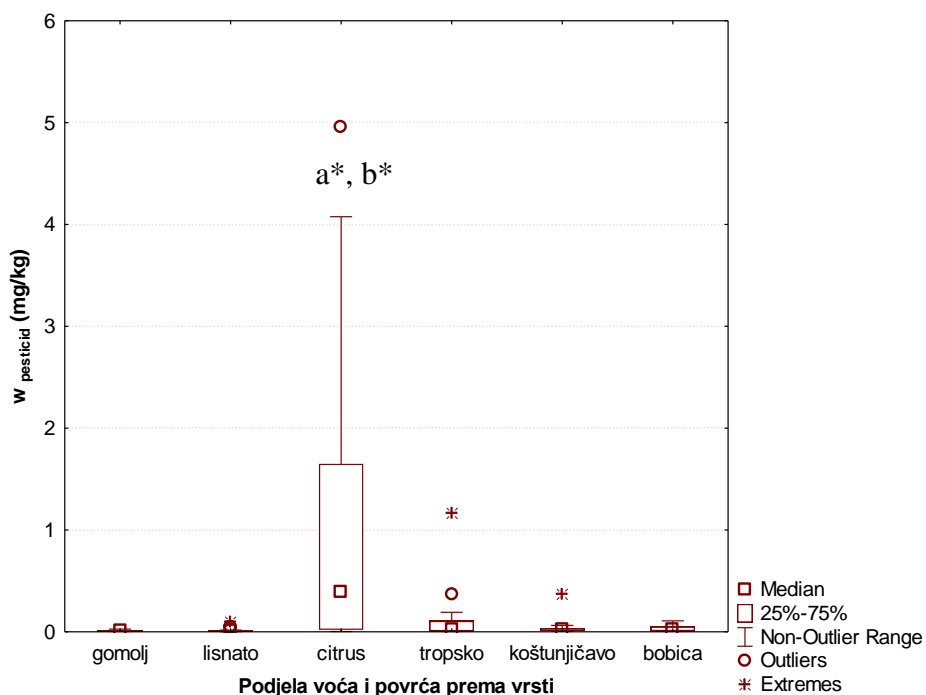
Nakon općenite analize udjela pesticida (mg/kg) prisutnih u voću i povrću tijekom analiziranog perioda (2017.-2020.), provedena je analiza udjela pesticida voća i povrća u podvrsta voća i povrća: gomoljasto, lisnato, citrusno, tropsko, koštunjicavo i bobičasto. Rezultati analize prikazani su na slikama 21. i 22. Na slici 21. prikazani su udjeli pesticida u voću i povrću u razmatranom periodu te prema prethodno navedenoj podijeli. Na slici se uočava puno viši udjeli analiziranih pesticida u voću s maksimalnim vrijednostima do 4,96 mg/kg, dok su kod povrća detektirane mnogo niži udjeli do maksimalno 0,1 mg/kg.



Slika 21. Udio pesticida (mg/kg) u voću i povrću tijekom pratećeg razdoblja (2017.-2020.) između podvrsta voća i povrća kao što je gomoljasto, lisnato, citrusno, tropsko, koštunjičavo i bobičasto. Eksperimentalni rezultati prikazani su kao medijan s pripadnim minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Statistička analiza razlike udjela pesticida između voća i povrća unutar pratećeg razdoblja provedena je Mann-Whitney testom pri $p < 0,05$.

Razlike u udjelima analiziranih pesticida (mg/kg) između voća i povrća unutar njihove podvrste kao što je gomoljasto, lisnato, citrusno, tropsko, koštunjičavo i bobičasto analizirane statističkim Mann – Whitney testom ukazuju da postoji statistički značajna razlika između analiziranih skupina ($p = 0,0007$).

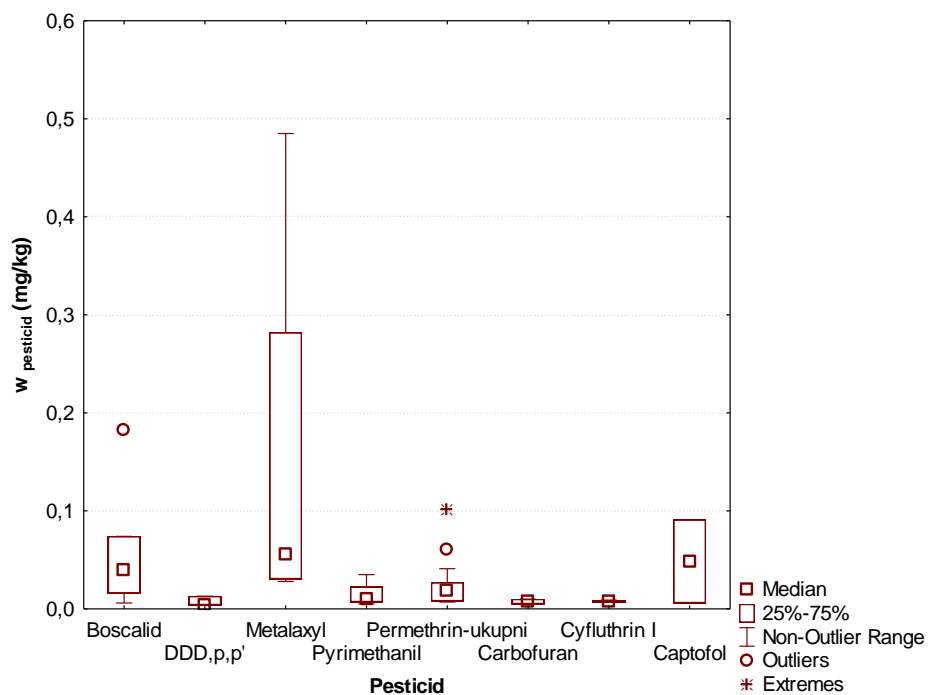
Na slici 22. prikazani su udjeli pesticida (mg/kg) u gomoljastom, lisnatom, citrusnom, tropskom, koštunjičavom i bobičastom voću i povrću tijekom pratećeg razdoblja (2017.-2020.). Daleko najviši udjeli analiziranih pesticida dobiveni su kod citrusa s maksimalnih 4,96 mg/kg. Maksimalan udio pesticida u tropskom voću bio je znatno niži s vrijednošću od 1,17 mg/kg. Nadalje, kod koštunjičavog i bobičastog voća pronađene su također još niži udjeli u iznosu od 0,37 mg/kg odnosno 0,11 mg/kg. Kod lisnatog povrća maksimalni udjeli pesticida bili su identični kao i kod bobičastog voća s iznosom od 0,10 mg/kg. Kod gomoljastog povrća nađeni su najniži udjeli pesticida u odnosu na udjele preostalog voća i povrća s vrijednošću od 0,027 mg/kg.



Slika 22. Udio pesticida (mg/kg) u gomoljastom, lisnatom, citrusnom, tropskom, koštunjičavom i bobičastom voću i povrću tijekom pratećeg razdoblja (2017.-2020.). Eksperimentalni rezultati prikazani su kao medijan s pripadnim minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Oznaka a* predstavlja statistički značajnu razliku udjela pesticida između citrusa i gomolja, dok b* predstavlja statističku značajnu između citrusa i lisnatog povrća (Kruskal-Wallis test, $p < 0,05$).

Razlike u udjelima pesticida između gomoljastog, lisnatog, citrusnog, tropskog, koštunjičavog i bobičastog voća i povrća testirane su statističkim Kruskal-Wallis testom pri čemu su utvrđene statistički značajne razlike između citrusa i gomoljastog povrća ($p = 0,009$) i između citrusa i lisnatog povrća ($p = 0,005$). Statističke značajke označene su na slici 22. s a* i b*.

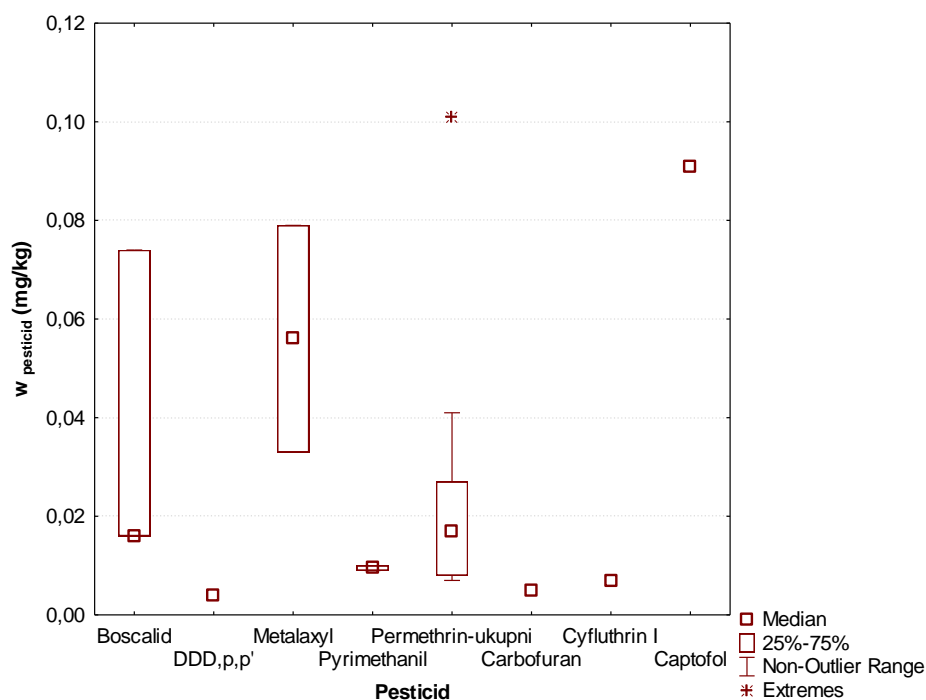
Nakon podjele voća i povrća na gomoljasto, lisnato, citrusno, tropsko, koštunjičavo i bobičasto provedena je analiza najviše zastupljenih pesticida u voću i povrću u pratećem razdoblju od 2017. do 2020. godine, što je prikazano na slikama 23., 24., i 25. Na slici 23. koja prikazuje najčešće zastupljene pesticide u voću i povrću uočeno je da najviši udio pesticida u voću i povrću zauzima Metalaxyl s maksimalnom vrijednošću od 0,49 mg/kg. Evidentan je također i udio Boscalida i Permethrina u iznosima od 0,18 mg/kg odnosno 0,10 mg/kg. Maksimalne vrijednosti preostalih pesticida bile ispod 0,10 mg/kg.



Slika 23. Udio najčešće zastupljenih pesticida (mg/kg) u voću i povrću kroz prateće razdoblje (2017.-2020.). Eksperimentalni rezultati prikazani su kao medijan s pripadnim minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Statistička analiza razlike udjela pesticida između voća i povrća unutar pratećeg razdoblja provedena je Kruskal-Wallis testom pri $p < 0,05$.

Kruskal-Wallis statističkim testom testirane su razlike u udjelima najčešće zastupljenih pesticida (Boscalid, DDD,p,p', Metalaxyl, Pyrimethanil, Permethrin-ukupni, Carbofuran, Cyfluthrin I i Captofol) u voću i povrću pri čemu su utvrđene p -vrijednost više od 0,05 što ukazuje da ne postoje statistički značajne razlike između analiziranih pesticida u voću i povrću kroz četverogodišnje razdoblje (2017.-2020.).

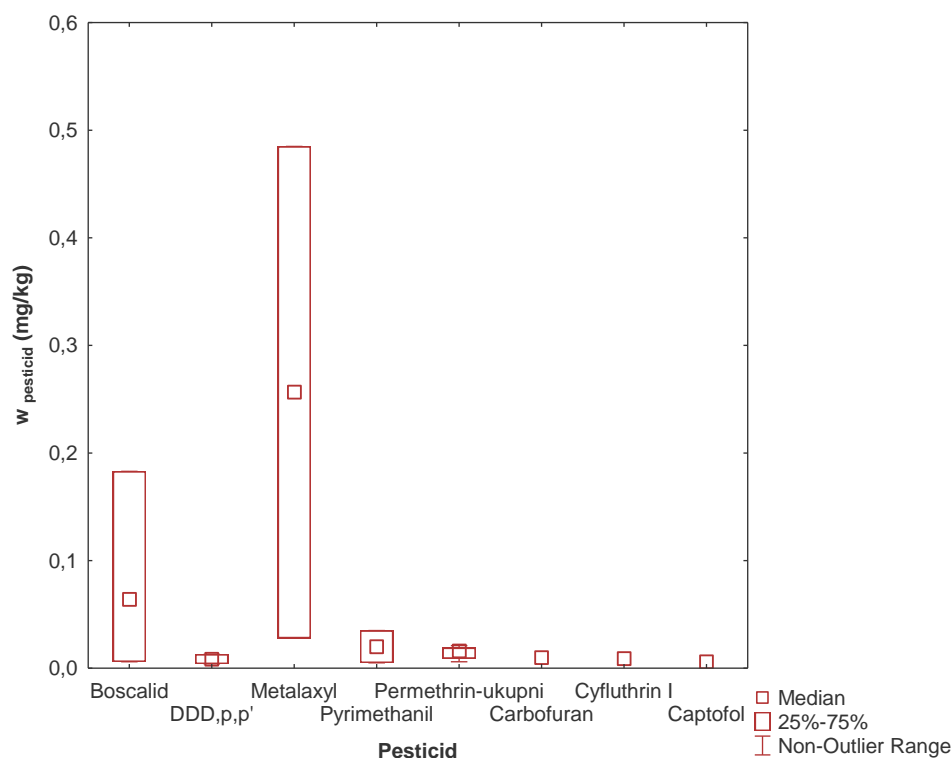
Na slici 24. prikazan je udio najčešće zastupljenih pesticida u povrću kroz prateće razdoblje od 2017. do 2020. Uočavaju se najviši udjeli Permethrina u iznosu od 0,10 mg/kg i Captofola u iznosu od 0,09 mg/kg.



Slika 24. Udio najčešće zastupljenih pesticida (mg/kg) u povrću kroz prateće razdoblje (2017.-2020.). Eksperimentalni rezultati prikazani su kao medijan s pripadnim minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Statistička analiza razlike udjela pesticida između voća i povrća unutar pratećeg razdoblja provedena je Kruskal-Wallis testom pri $p < 0,05$.

Statističkom analizom usporedbe razlika udjela analiziranih pesticida prisutnih u povrću uz primjenu Kruskal-Wallis testa dobivene su p -vrijednosti više od 0,05 što znači da nije utvrđena statistički značajna razlika između analiziranih pesticida (Boscalid, DDD,p,p', Metalaxyl, Pyrimethanil, Permethrin-ukupni, Carbofuran, Cyfluthrin I i Captofol) kroz prateće razdoblje (2017.-2020.).

Udjeli najčešće zastupljenih pesticida u voću kroz analizirano razdoblje od 2017. do 2020. prikazani su na slici 25. Pronađen je u voću najviši udio Metalaxyla u iznosu od 0,49 mg/kg. Nadalje, kao i kod povrća pronađeni su udjeli Boscalida međutim u nešto višem udjelu u iznosu od 0,18 mg/kg.



Slika 25. Udio najčešće zastupljenih pesticida (mg/kg) u voću kroz prateće razdoblje (2017.-2020.). Eksperimentalni rezultati prikazani su kao medijan s pripadnim minimalnim i maksimalnim vrijednostima. Statistička analiza razlike udjela pesticida između voća i povrća unutar pratećeg razdoblja provedena je Kruskal-Wallis testom pri $p < 0,05$.

Statističkom analizom uz primjenu Kruskal-Wallis testa nisu utvrđene statistički značajne razlike između najčešće zastupljenih pesticida (Boscalid, DDD,p,p', Metalaxyl, Pyrimethanil, Permethrin-ukupni, Carbofuran, Cyfluthrin I i Captofol), pri čemu je p -vrijednost bila viša od 0,05 u voću od 2017. do 2020. godine.

5. RASPRAVA

Pesticidi su najčešće korištene kemikalije u poljoprivredi za povećanje prinosa voća i povrća. (42,43) Svima je poznato da je voće i povrće sastavi dio zdrave prehrane, ali također može biti izvor štetnih i otrovnih tvari – pesticida. (44) Prisutnost ostataka pesticida koja se nalazi na voću i povrću izravna je posljedica uporabe pesticida na usjevima. U ovom radu je ukupno analizirano 142 uzorka voća i povrća, a od toga je 8 uzoraka (5,6%) sadržavalo ostatke pesticida iznad maksimalno dopuštenih koncentracija (MDK).

Vrijednosti udjela pesticida u voću tijekom pratećeg razdoblja (2017.-2020.) iznosile su od 0,001 do 4,960 mg/kg. Najniži udjel u svim uzorcima iznosio je 0,001 mg/kg u 2017. godini. Najviši udio pronađen je u naranči i iznosio je 4,960 mg/kg također, u 2017. godini, a riječ je o pesticidu imazalilu (slika 15.). Hrnjkaš i suradnici (2021.) dokazali su prisutnost aktivne tvari imazalila na 13 analiziranih uzoraka naranči. Na kori naranče dokazana je prisutnost imazalila s udjelom od 3,48 mg/kg i kao takav ne predstavlja rizik za zdravlje konzumenta. (45) Utvrđeni udio imazalila dobiven ovim istraživanjem ne predstavlja rizik za zdravlje ljudi jer je njegova vrijednost ispod MDK.

Udio imazalila koji na slici 17. odstupaju su 2,981 i 4,960 mg/kg, a odnose se na voće naranče. U 2017. godini analizirana su dva uzorka grožđa na kojima je pronađen pesticid klorpirifos čiji su udjeli iznad maksimalno dopuštenih vrijednosti. Udjeli uzoraka su iznosili 0,063 mg/kg i 0,058 mg/kg klorpirifosa. Uzorci grožđa su hrvatskog podrijetla. Prema Uredbi dopušteni udio klorpirifosa na grožđu je 0,01 mg/kg. (21) Foong i suradnici (2020.) izvijestili su da klorpirifos predstavlja rizik za zdravlje ljudi. Uzrokuje genotoksične i neuroendokrine učinke i to posebno tijekom fetalnog razvoja. (46)

Udio koji odstupaju u voću vidljivo na slici 18. iznosi 4,076 mg/kg, a radi se o pesticidu imazalilu pronađenog na limunu. U istraživanju iz 2021. godine Hrnjkaš i Racz navode da se česta prisutnost imazalila može objasniti činjenicom da se upravo njegova aktivna tvar najčešće koristi za usporavanje truljenja ploda tijekom skladištenja i transporta. (45) Tijekom 2018. godine u Nastavnom Zavodu za javno zdravstvo Primorsko – goranske županije analizirana su tri uzorka naranči koja prelaze maksimalno dopuštene koncentracije pesticida. Svi uzorci su bili podrijetlom iz Egipta. U jednom uzorku pronađen je pesticid klorpirifos čiji je udio iznosio 0,035 mg/kg. U druga dva uzorka detektiran je pesticid etion, čiji su udjeli iznosili 2,155 mg/kg i 0,120 mg/kg. U Europskoj Uniji dopuštena MDK za klorpirifos na naranči je 0,01 mg/kg (21), dok MDK za etion na naranči iznosi 0,01 mg/kg. (21) Prema gore već navedenom istraživanju

iz 2021. godine analiziran je klorpirfos na 11 uzoraka naranči u zemljama Europske Unije. Potvrđena je prisutnost na kori naranče na svim uzorcima, a na dva uzorka pronađena je vrijednost od 0,03 mg/kg što je vrlo slična vrijednost kao u ovom istraživanju.

U 2019. godini u dva uzorka detektirani su pesticidi čiji udjeli prelaze maksimalno dopuštene koncentracije. Radi se o uzorku paprike, hrvatskog podrijetla u kojoj je pronađen pesticid kaptofol (slika 19.). U uzorcima grožđa hrvatskog podrijetla, detektirana su dva pesticida, klorpirfos i iprodion čiji su udjeli iznosili 0,056 mg/kg i 0,094 mg/kg. Poulsen i suradnici su u svom istraživanju kojeg su proveli 2007. godine dokazali da udio iprodiona koji iznosi 0,094 mg/kg kao i u našoj studiji ne predstavlja rizik za zdravlje ljudi. Razlog je što se polovica ostataka pesticida koji se nalaze na grožđu bude uklonjeno ispiranjem s vodom iz slavine. (47)

Tijekom 2020. godine u jednom uzorku detektiran je udio pesticida iznad maksimalno dopuštene koncentracije. Radi se uzorku kupusa na kojem je pronađen pesticid permetrin-trans, udjela 0,101 mg/kg. Na slici 20. prikazane su udjeli pesticida u voću i povrću tijekom 2020. godine gdje se može vidjeti da kod voća odstupa jedan udio. Riječ je o uzorku grožđa, u kojem je detektiran pesticid deltametrin, udjela 0,108 mg/kg. U istraživanju iz 2017. godine Jallow i suradnici detektirali su deltametrin na grožđu iz Kuvajta. Udjeli pesticida kretali su se između 0,032 i 0,38 mg/kg. (48) Sve vrijednosti ispod 0,2 mg/kg prema Uredbi o maksimalnim razinama ostataka pesticida u i na hrani i hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla ne predstavljaju rizik za zdravlje potrošača. (21, 49) Pitzer i suradnici (2021.) izvijestili su da povećana izloženost deltametrinu tijekom razvoja djece povezana s neurobiheviornalnim poremećajima, što ujedno dovodi do zabrinutosti oko primjene i sigurnosti ovog pesticida. (50)

U voću raspon kretanja udjela pesticida bio je između 0,003 i 4,960 mg/kg (slika 21.). Najveća vrijednost pronađena je u podvrsti voća i to u citrusima i iznosi 4,960 mg/kg, a riječ je o pesticidu imazalilu. Fernandez i suradnici su u istraživanju iz 2001. godine detektirali imazalil u uzorcima voća i to u citrusnom voću u rasponu od 0,29 do 3,17 mg/kg. (51) Niti jedan od njih ne prelazi granicu MDK koja iznosi 5 mg/kg za ovu vrstu namirnica.

Iz prikaza sa slike 22. na kojoj su prikazani udjeli pesticida u gomoljastom, i lisnatom povrću te, u citrusnom, tropskom, koštunjičavom i bobičastom voću upravo kod tropskog voća uočava se jedan udjel pesticida sa značajnim odstupanjem. Radi se o pesticidu imazalilu, čija je vrijednost 1,167 mg/kg. Almutairi i suradnici (2021.) su u bananama uzgajanim na plantažama na području ekvatora pronašli imazalil čiji udio je iznosio 0,162 mg/kg. (52)

Golge i suradnici, 2018. godine detektirali su ostatke pesticida karbendazima na uzorcima turskog grožđa. (53) Riječ je o pesticidu koji nije više odobren za primjenu na voću i povrću u Europskoj Uniji nakon 2014 godine. Detekcija ovog fungicida na grožđu predstavlja problem iz razloga što je endokrini disruptor s genotoksičnim djelovanjem. Također, može uzrokovati štetne učinke na jetri i reproduktivnom sustavu čovjeka.

Čak i male količine pesticida na voću i povrću mogu štetno djelovati na ljudski organizam konzumirajući tretirano voće i povrće kroz dulji vremenski period. Zakonski je regulirano kolika je dopuštena količina pesticida na voću i povrću, a ona se određuje prema vrijednostima koje ne predstavljaju štetu za ljudsko zdravlje.

6. ZAKLJUČCI

Ovim istraživanjem dokazano je:

- da postoji statistički značajna razlika udjela analiziranih pesticida između 2017. i 2020. godine te 2018. i 2020. godine u uzorcima voća i povrća;
- da postoji statistički značajna razlika udjela analiziranih pesticida u 2017. godini između uzoraka voća i povrća;
- da u 2019. godini postoji statistički značajna razlika udjela analiziranih pesticida između uzoraka voća i povrća;
- da postoji statistički značajna razlika udjela pesticida tijekom analiziranih godina (2017.-2020.) unutar podjele voća i povrća na gomoljasto, lisnato, citrusno, tropsko, koštunjčavo i bobičasto;
- da postoji statistički značajna razlika u udjelu pesticida prisutnih u citrusima i gomoljastom povrću i u udjelu citrusa i lisnatog povrća tijekom pratećeg razdoblja (2017.-2020.)
- da je ukupno kroz sve četiri analizirane godine bilo osam uzoraka koje su bile iznad maksimalno dopuštenih koncentracija (MDK); u 2017. godini bila dva uzorka grožđa, u 2018. godini bila su tri uzorka naranči, u 2019. godini bio je jedan uzorak paprike i jedan uzorak grožđa te u 2020. godini bio je jedan uzorak svježeg kupusa

Pesticidi su važni kemijski spojevi jer sprječavaju različite bolesti uzrokovane štetnicima te je njihova uporaba postala u današnje vrijeme neizbježna. Međutim, ne smije se zaboraviti niti njihov štetan učinak na okoliš i na zdravlje ljudi te ih treba koristiti na pravilan način. Stoga je važno poštivati zakonsku regulativu kojom je propisana prihvatljiva doza pesticida na voću i povrću.

7. LITERATURA

1. Dronjak D., Pesticidi-utjecaj i posljedice [Internet]; završni rad; Sveučilište u Zagrebu (2016.). Dostupno na:
<https://repozitorij.fkit.unizg.hr/islandora/object/fkit%3A360/datastream/PDF/view>
2. Stoytcheva M. Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides. U: Stoytcheva M, ur. Pesticides in the modern world – Trends in pesticides analysis IntechWeb.org; 2011, str.3-11.
3. Cox C, Surgan M (2006) Unidentified Inert Ingredients in Pesticides: Implications for Human and Environmental Health Environmental Health Perspectives 114: 1803–1806.
4. Zakon o sredstvima za zaštitu bilja (nn.hr); URL: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2005_06_70_1371.html
5. Matijas Martinić; Opasnost primjene pesticida [Internet]; Završni rad; Veleučilište u Karlovcu (2015.) [pristupljeno 26.04.2022.]. Dostupno na:
file:///C:/Users/andre/Downloads/martinic_matijas_vuka_2015_zavrs_struc.pdf
6. Keneth, M. The DDT Story, The British Crop Protection Council, London, UK, (1992)
7. Malaria Foundation International [Internet]; FAQ'Is DDT still effective and needed in malaria control? [pristupljeno 26.04.2022.]. Dostupno na:
<http://www.malaria.org/DDTcosts.html>
8. EPA; DDT- A Brief History and Status [Internet]. Dostupno na:
<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/ddt-brief-history-and-status>
9. Vocke, G., The Green Revolution for Wheat in Developing Countries [Internet], US Department of Agriculture (1986.), USA [pristupljeno 26.04.2022.]. Dostupno na:
<https://agris.fao.org>
10. McFarlane, J. A. (1989). Guidelines for Pest Management Research to Reduce Stored Food Losses Caused by Insects and Mites [Internet], Overseas Development and Natural Institute Bulletin No. 22, Chatham, Kent, UK [pristupljeno 26.04.2022.]. Dostupno na: <http://gala.ac.uk/10727>
11. Đokić, M., Bilandžić, N., Briški, F. (2012): Postupci uklanjanja pesticida iz okoliša, Kem. Ind. 61 (7-8) 341–348, <https://hrcak.srce.hr/f0ile/124889>
12. Hassaan, M. A., & El Nembr, A. (2020). Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. The Egyptian Journal of Aquatic Research, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1687428520300625>

13. Šarkanj B., Kipčić D., Vasić-Rački Đ., Delaš F., Galić K., Katalenić M., Dimitrov N., Klapac T., (2010.) Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani, Osijek str. 8
14. Jozić Filip, Sredstva za zaštitu bilja-zoocidi [Internet]; završni rad; Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2016. Dostupno na:
<https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:428342>
15. Torsen T. Utjecaj pesticida na ekosustav; završni rad; Veleučilište u Karlovcu, 2017. Dostupno na: <https://reozitorij.vuka.hr>
16. Horvat A., Utvrđivanje prisutnosti pesticida u odabranom citrusnom voću; Sveučilište u Zagrebu; Farmaceutsko-biokemijski fakultet; Specijalistički rad Zagreb, 2019. Dostupno na: <https://repositorij.pharma.unizg.hr>
17. Stoytcheva M. Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides. U: Stoytcheva M, ur. Pesticides in the modern world – Trends in pesticides analysis. IntechWeb.org; 2011; str.3-12
18. Gilbert, E. P. K., & Edwin, L., A Review on Prediction Models for Pesticide Use, Transmission, and Its Impacts. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology [Internet]. 2021. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>
19. Šarkanj B., Kipčić D., Vasić-Rački Đ., Delaš F., Galić K., Katalenić M., Dimitrov N., Klapac T., (2010.) Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani, Osijek str. 88
20. Šarkanj B., Kipčić D., Vasić-Rački Đ., Delaš F., Galić K., Katalenić M., Dimitrov N., Klapac T., (2010.) Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani, Osijek str. 109
21. Uredba o maksimalnim razinama ostataka pesticida u i na hrani i hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla. Europski parlament i Vijeće Europske unije 2005; 396: 133-35, URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R0396&from=LV>
22. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Interaction profiles for: chlorpyrifos, lead, mercury, and methylmercury [Internet]. Public Health Service, 2006. [pristupljeno 01.05.2022.]. Dostupno na:
<https://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/ip11.html>
23. United States Environmental Protection Agency (EPA) [Internet]. Dostupno na:
<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/chlorpyrifos>
24. Eaton, D.L., Daroff, R.B., Autrup, H., Bridges, J., Buffler, P., Costa, L.G., Coyle, J., McKhann, G., Mobley, W.C., Nadel, L., Neubert, D., Hermann, R.S., Spencer, P.S., 2008. Review of the toxicology of chlorpyrifos with an emphasis on human exposure and neurodevelopment. Crit. Rev. Toxicol. 38, 1-125.

25. Rauh V, Arunajadai S, Horton M, Perera F, Hoepner L, Barr DB, Whyatt R
SevenYear Neurodevelopmental Scores and Prenatal Exposure to Chlorpyrifos, a
Common Agricultural Pesticide (2011). *Environmental Health Perspectives* 119:
1196–1201.
26. Stepić Sandra, Promjene toksičnih učinaka smjesa pesticida na molekularne markere
izloženosti kompostne gujavice (*Eisenia andrei*) [Internet]; Doktorski rad; Sveučilište
Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i Institut Ruđer Bošković Zagreb; Osijek, 2010.
[pristupljeno 01.05.2022.]. Dostupno na: <https://www.bib.irb.hr/498664>
27. FAO, WHO, IPCS, Pesticide residues in food Toxicological evaluations: Chlorpyrifos
(1999.), [Internet], [pristupljeno 05.05.2022.]. Dostupno na:
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/42262>
28. Nag, S. K., Pesticides, veterinary residues and other contaminants in milk. Improving
the Safety and Quality of Milk, Indian Grassland and Forder Ressarch Institute, India
(2010.); 113–145.
29. Agencija za registar otrovnih tvari i bolesti (ATSDR), Toksikološki profil za Etion
[Internet], Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, (2000.)
[pristupljeno 01.06.2022.]. Dostupno na: <I:\set 12 tps\arsenic-set12.wpd> (cdc.gov)
30. Singh, A., Raj, P., Kaur, N., & Singh, N., Detoxification and Sensing of
Organophosphate-Based Pesticides and Preservatives in Beverages [Internet],
Preservatives and Preservation Approaches in Beverages; (2019.) [pristupljeno
09.06.2022.], 467–510. Dostupno na: <https://sci-hub.se/10.1016/b978-0-12-816685-7.00014-8>
31. US EPA, Pesticides-EPA R.E.D Facts: Imazalil, [Internet], United States Prevention
Environmental Protection Agency; Prevention, Pesticides And Toxic Substances
[pristupljeno 19.06.2022.]; (2005.). Dostupno na:
<https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/2325fact.pdf>
32. Pine SH. Organska kemija. Zagreb: Školska knjiga; 1994,1130-32
33. Sutlović D. Kriminalističko istraživanje, zapljena i analiza sredstva ovisnosti. Osnove
forenzične toksikologije. Split: Redak; 103-118, 2011
34. J.E. Lovelock, J. Chromatogr. 1 [Internet], 35, (1958.), [pristupljeno 19.06.2022.].
Dostupno na: <https://www.chromatographyonline.com/view/electron-capture-detectors>
35. EAG Laboratories, Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry (LC – MS
– MS) [Internet]; [pristupljeno 20.06.2022.]. Dostupno na:
<https://www.eag.com/techniques/mass-spec/lc-ms-ms/>

36. 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] [pristupljeno 20.06.2022.], 2012; 567-584. Dostupno na: <https://chemistlibrary.files.wordpress.com/2015/07/food-analysis-by-hplc-2ed-nollet.pdf>
37. Depner Walter, A brief history of mass spectrometry [Internet], (2017.), [pristupljeno 20.06.2022.]. Dostupno na: <https://healthcare-in-europe.com/en/news/a-brief-history-of-mass-spectrometry.html>
38. Hrana biljnog podrijetla -- Multirezidualne metode za određivanje ostataka pesticida upotrebom GC ili LC-MS/MS -- 1. dio: Opća razmatranja (EN 12393-1:2013); URL: <https://repozitorij.hzn.hr/norm/HRN+EN+12393-1%3A2013>
39. Hrana biljnog podrijetla -- Multirezidualne metode za određivanje ostataka pesticida upotrebom GC ili LC-MS/MS -- 2. dio: Metode za ekstrakciju i pročišćavanje (EN 12393-2:2013); URL: <https://repozitorij.hzn.hr/norm/HRN+EN+12393-2%3A2013>
40. Hrana biljnog podrijetla -- Multirezidualne metode za određivanje ostataka pesticida upotrebom GC ili LC-MS/MS -- 3. dio: Određivanje i potvrdna ispitivanja (EN 12393-3:2013); URL: <https://repozitorij.hzn.hr/norm/HRN+EN+12393-3%3A2013>
41. NZZJZ PGŽ, Popis ispitnih metoda u fleksibilnom području akreditacije; (2021); URL: <https://zzjzpgz.hr/wp-content/uploads/2022/05/Tablica-fleksibilno-podrucje-2021.pdf>
42. Obopile M, Munthali DC, Matilo B. 2008. Farmers' knowledge, perceptions and management of vegetable pests and diseases in Botswana. Crop Prot.(2008.), 27(8):1220–1224
43. Abang A, Kouame C, Abang M, Hannah R, Fotso A, Author C. Vegetable growers perception of pesticide use practices, cost, and health effects in the tropical region of Cameroon. Int J Agron Plant Prod. (2103.), 4(5):873–883
44. Knežević, Z., & Serdar, M. Screening of fresh fruit and vegetables for pesticide residues on Croatian market. Food Control,(2009.), 20(4), 419 422.
45. Hrnjkaš Lj. i sur. Raspodjela ostataka pesticida između kore i pulpe naranče. J. appl. health sci. 2021; 7(2): 181-190
46. Foong, S. Y., Ma, N. L., Lam, S. S., Peng, W., Low, F., Lee, B. H. K., Sonne, C. A recent global review of hazardous chlorpyrifos pesticide in fruit and vegetables: Prevalence, remediation and actions needed. Journal of Hazardous Materials (2020.), 123006

47. Poulsen, M. E., Hansen, H. K., Sloth, J. J., Christensen, H. B., & Andersen, J. H. Survey of pesticide residues in table grapes: Determination of processing factors, intake and risk assessment. *Food Additives and Contaminants* (2007.), 24(8), 886–895
48. Jallow, M., Awadh, D., Albaho, M., Devi, V., & Ahmad, N., Monitoring of Pesticide Residues in Commonly Used Fruits and Vegetables in Kuwait. *International Journal of Environmental Research and Public Health* (2017.), 14(8)
49. Uredba komisije (EU) 2018/832 od 5. lipnja 2018. o izmjeni priloga II., III. i V. Uredbi (EZ) br. 396/2005 Europskog parlamenta i Vijeća u pogledu maksimalnih razina ostataka za cijantraniliprol, cimoksanil, deltametrin, difenokonazol, fenamidon, flubendiamid, fluopikolid, folpet, fosetil, mandestrobin, mepikvat, metazaklor, propamokarb, propargit, pirimetanil, sulfoksaflor i trifloksistrobin u ili na određenim proizvodima; URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX:32018R0832>
50. Pitzer, E. M., Williams, M. T., & Vorhees, C. V., Effects of pyrethroids on brain development and behavior [Internet], Deltamethrin. *Neurotoxicology and Teratology* (2021.) [pristupljeno 01.07.2022.], 87, 106983. Dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0892036221000374>
51. Fernández, M., PicÓ, Y., & MaÑes, J., Pesticide residues in oranges from Valencia (Spain). *Food Additives and Contaminants* (2001.), 18(7), 615–624
52. Almutairi, M., Alsaleem, T., Al Herbish, H., Al Sayari, A. A., & Alowaifeer, A. M., LC-MS/MS and GC-MS/MS analysis of pesticide residues in Ecuadorian and Filipino Cavendish bananas imported into Saudi Arabia. *Food Additives & Contaminants* (2021.): Part A, 38(8), 1376–1385.
53. Golge, O., & Kabak, B., Pesticide and Exposure in Table Grapes and Exposure Assessment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (2018.), 66(7), 1701-1713

8. ŽIVOTOPIS

Moje ime je Andrea Puž, rođena sam 08.11.1996 godine u Rijeci. Svoje školovanje započela 2003. godine u Osnovnoj školi Rikard Katalinić Jeretov u Opatiji. Zatim, 2011. godine upisujem Gimnaziju Eugena Kumičića, opći smjer također u Opatiji. Potom svoje školovanje nastavljam upisom na Preddiplomski sveučilišni studij Sanitarnog inženjerstva na Medicinskom fakultetu u Rijeci, gdje stječem zvanje prvostupnika (baccalaureus) sanitarnog inženjerstva (bacc. sanit. ing.). Svoje obrazovanje nastavljam 2020.godine upisom na Diplomski sveučilišni studij Sanitarnog inženjerstva na istom fakultetu. Tijekom studiranja radila sam studentske poslove u Mülleru u Rijeci te bila član organizacijskog odbora u studentskom kongresu zaštite zdravlja – „Sanitas“.