Određivanje ostataka pesticida u brašnu

Brajković, Marija

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:012444

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

ODREĐIVANJE OSTATAKA PESTICIDA U BRAŠNU

ZAVRŠNI RAD

MARIJA BRAJKOVIĆ

Matični broj: 383

Split, rujan 2020.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE

ODREĐIVANJE OSTATAKA PESTICIDA U BRAŠNU

ZAVRŠNI RAD

MARIJA BRAJKOVIĆ

Matični broj: 383

Split, rujan 2020.

UNIVERSITY OF SPLIT

FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMISTRY

DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN FLOUR

BACHELOR THESIS

MARIJA BRAJKOVIĆ

Parent number: 383

Split, September 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij kemije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Kemija
Tema rada je prihvaćena na 20. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta

Mentor: prof. dr.sc. Josipa Giljanović

ODREĐIVANJE OSTATAKA PESTICIDA U BRAŠNU

Marija Brajković, 383

Sažetak:

Upotreba pesticida seže još do davnih dana kada su korišteni razni jednostavni anorganski spojevi, spojevi sadržani u biljkama i pripravljeni biljni preparati u svrhu zaštite usjeva od štetnika. Do preokreta dolazi otkrićem insekticidnog djelovanja diklordinitrofeniltrikloretana (DDT). Primjenom pesticida dolazi do otpornosti štetnika na te pojedine pesticide, što dovodi do pojačane proizvodnje novih. Zbog njihove široke primjene i njihovih negativnih učinaka (toksičnost, zagađenje vode i okoliša) doneseni su strogi zakoni i provode se detaljna istraživanja ostataka pesticida u hrani. U radu je opisana podjela pesticida i njihovi glavni predstavnici s naglaskom na insekticide, fungicide,herbicide i rodenticide kao i metode njihovog određivanja u brašnu.

Ključne riječi: pesticidi, insekticidi, herbicidi, HPLC, MS
Rad sadrži: 24 stranica, 14 slika, 3 tablice, 22 literaturna navoda.
Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. izv.prof.dr.sc. Ante Prkić - predsjednik
2. prof.dr.sc. Marija Bralić - član
3. prof.dr.sc. Josipa Giljanović - član-mentor

Datum obrane: 23. rujna 2020.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Undergraduate study of chemistry

Scientific area: Natural sciences
Scientific field: Chemistry
Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no.20
Mentor: Full prof. PhD - Josipa Giljanović

DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN FLOUR

Marija Brajković, 383

Abstract:

The use of pesticides dates back to ancient times when various simple inorganic compounds, compounds contained in plants and prepared herbal preparations were used for the purpose of protecting crops from pests. The reversal occurs with the discovery of the insecticidal action of dichlorodinitrophenyltrichloroethane (DDT). The application of pesticides leads to the resistance of pests to these individual pesticides, which leads to increased production of new ones. Due to their wide application and their negative effects (toxicity, water and environmental pollution) strict laws have been passed and detailed research of pesticide residues in food is being carried out. The paper describes the division of pesticides and their main representatives with emphasis on insecticides, fungicides, herbicides and rodenticides as well as methods of their determination in flour.

Keywords: pesticides, insecticides, herbicides, HPLC, MS
Thesis contains: 24 pages, 14 pictures, 3 tables, 22 literary references.
Original in: Croatian.

Defence committee:

1. Associate prof. PhD Ante Prkić, chair person
2. Full prof. PhD Marija Bralić - member
3. Full prof. PhD - Josipa Giljanović, supervisor

Defence date: September 23 rd 2020.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposed in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, RuđeraBoškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za analitičku kemiju, Kemijsko- tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom prof. dr. sc. Josipe Giljanović tijekom mjeseca kolovoza, 2020. godine.

Zahvaljujem se menotorici prof. dr. sc. Josipi Giljanović na pomoći i korisnim savjetima za izradu završnog rada.

Zahvaljujem se i svojim prijateljima na strpljenju i podršci.

Najveće hvala mojoj obitelji na bezuvjetnoj ljubavi i podršci tijekom dosadašnjeg školovanja.

Marija Brajković

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

Zadatak ovog završnog rada bio je prikazati osnovnu podjelu i primjenu pesticida i navesti njihove predstavnike, objasniti zakonsku regulativu pesticida i opisati tehnike određivanja ostataka pesticida u brašnu.

SAŽETAK

Upotreba pesticida seže još do davnih dana kada su korišteni razni jednostavni anorganski spojevi, spojevi sadržani u biljkama i pripravljeni biljni preparati u svrhu zaštite usjeva od štetnika. Do preokreta dolazi otkrićem insekticidnog djelovanja diklordinitrofeniltrikloretana (DDT). Primjenom pesticida dolazi do otpornosti štetnika na te pojedine pesticide, što dovodi do pojačane proizvodnje novih. Zbog njihove široke primjene i njihovih negativnih učinaka (toksičnost, zagađenje vode i okoliša) doneseni su strogi zakoni i provode se detaljna istraživanja ostataka pesticida u hrani. U radu je opisana podjela pesticida i njihovi glavni predstavnici s naglaskom na insekticide, fungicide, herbicide i rodenticide kao i metode njihovog određivanja u brašnu.

Ključne riječi: pesticidi, insekticidi, herbicidi, HPLC, MS

SUMMARY

The use of pesticides dates back to ancient times when various simple inorganic compounds, compounds contained in plants and prepared herbal preparations were used for the purpose of protecting crops from pests. The reversal occurs with the discovery of the insecticidal action of dichlorodinitrophenyltrichloroethane (DDT). The application of pesticides leads to the resistance of pests to these individual pesticides, which leads to increased production of new ones. Due to their wide application and their negative effects (toxicity, water and environmental pollution) strict laws have been passed and detailed research of pesticide residues in food is being carried out. The paper describes the division of pesticides and their main representatives with emphasis on insecticides, fungicides, herbicides and rodenticides as well as methods of their determination in flour.

Key words: pesticides, insecticides, herbicides, HPLC, MS

SADRŽAJ

UVOD 1
1. OPĆI DIO 2
1.1. Pesticidi 2
1.2. Povijest pesticida 2
2.PODJELA I PRIMJENA PESTICIDA 3
2.1. Insekticidi 5
2.2.Herbicidi 10
2.3. Rodenticidi 11
2.4.Fungicidi 13
3.ZAKONSKA REGULATIVA 15
4.UZORKOVANJE I OBRADA UZORKA 16
4.1. Ekstrakcija na čvrstoj fazi (SPE) 17
5.TEHNIKE ANALIZE 18
5.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) 18
5.3. Tekućinska kromatografija/ Masena spektrometrija (LC / MS) 20
6. RASPRAVA 21
7. ZAKLJUČAK 22
8. LITERATURA 23

UVOD

Žitarice imaju veliku prehrambenu i ekonomsku važnost jer zauzimaju više od 60% ukupnih svjetskih usjeva. Pšenica pokriva većinu zemljišta namijenjenih poljoprivredi nego bilo kojoj drugoj kulturi. Vrijedan je izvor hranjivih sastojaka, vitamina, minerala i složenih ugljikohidrata. Međutim, žitarice mogu biti značajan izvor dnevne izloženosti pesticidima.[1]

Pesticidi se široko koriste u suzbijanju ili prevenciji bolesti korova i usjeva. Na plantažama pšenice posebno se šire insekticidi, fungicidi, herbicidi i regulatori rasta biljaka. Ostaci mogu biti štetni za sigurnost hrane. Kontrola se temelji na tolerancijama na hranu definiranim kao maksimalne granične vrijednosti ostataka (MRL, engl. maximum residue limits), utvrđene od strane Europske unije (EU) i drugih organizacija. Ipak, pojavljivanje ostataka u prerađenim proizvodima ponekad se zanemaruje. U nekim slučajevima, postupak prerade može povećati koncentraciju ostataka pesticida u industrijskim proizvodima.[1]

Granice detekcije danas su sve niže zbog razvoja moćnih strojeva i aparatura. Niska koncentracija velikog broja pesticida može se lako i brzo utvrditi. Za određivanje pesticida u biljnom materijalu, u ovom slučaju brašna, tj. meljave pšenice, koriste se analitičke tehnike kao što su tekućinska kromatografija, spektrometrija masa. Kromatografija, bilo tekućinska ili plinska, često se uparuje s masenom sprektrometrijom zbog njihove selektivnosti i osjetljivosti. Takvom tehnikom analize moguće je u isto vrijeme odrediti nekoliko stotina vrsta pesticida ovisno o njihovoj namjeni i kemijskoj skupini.

Dugotrajna izloženost pesticidima može dovesti do mnogih bolesti i alergija pa je važno da se konstantno kontrolira njihova prisutnost u raznovrsnim uzorcima hrane.

1. OPĆI DIO

1.1.Pesticidi

Pesticidi su kemijska sredstva za uništavanje štetočina i nametnika (naziv prema latinskom *pestis*- kuga i *occidere*- ubiti). Pod tim se pojmom u prvom redu razumijevaju kemijski preparati za zaštitu bilja od štetočina, tj. od životinjskih i biljnih organizama koji oštećuju ili uništavaju korisne biljke i njihov urod u toku rasta ili nakon žetve.[2]

Organizacija za hranu i poljoprivredu (FAO) definirala je pesticid kao:

bilo koja tvar ili smjesa tvari namijenjenih sprečavanju, uništavanju ili suzbijanju bilo kojeg štetnika, uključujući vektore bolesti ljudi ili životinja, neželjenih vrsta biljaka ili životinja, uzrokujući štetu tijekom ili na bilo koji drugi način ometajući proizvodnju, preradu, skladištenje, transport ili stavljanje na tržište hranu, poljoprivredne proizvode, drvo i proizvode od drva ili stočnu hranu, ili tvari koje se mogu davati životinjama za suzbijanje insekata, paučnjaka ili drugih štetnika u ili na njihovim tijelima.[3]

1.2.Povijest pesticida

Mnoge drevne civilizacije koristile su pesticide kako bi zaštitile svoje usjeve od insekata i štetočina. Drevni Sumerani koristili su elementarni sumpor kako bi zaštitili svoje usjeve od insekata. Srednjovjekovni poljoprivrednici su eksperimentirali s kemikalijama koristeći arsen i olovo na uobičajenim usjevima. Kinezi su koristili spojeve arsena i žive za kontrolu tjelesnih ušiju i drugih štetočina. Grci i Rimljani koristili su ulje, pepeo i sumpor kako bi zaštitili sebe, svoju stoku i usjeve od raznih štetnika. U međuvremenu, u devetnaestom stoljeću istraživači su se više usredotočili na prirodne tehnike koje uključuju spojeve izrađene od korijenja tropskog povrća i krizantema. Velika prekretnica u primjeni insekticida bila je 1940. godina, kada je otkriveno vrlo jako insekticidno djelovanje diklordifeniltrikloretana, nazvanog di-di-ti (DDT).[2,3]

Sredstva protiv štetočina dobivena od duhana upotrebljavala su se u obliku samljevenog lišća ili ekstrakta. Među prirodne insekticide ubraja se i piretrum sadržan u cvijetu buhača. Intenzivna upotreba buhača počinje 1840. godine u Dalmaciji, koja je bila njegov glavni proizvođač sve do prvoga svjetskog rata. Fungicidna svojstva sumpora poznata su odavno, a djelovanje spojeva bakra, sumpora i žive također je odavno znano. Živinim kloridom zaštićivalo se drvo, Pariško zelenilo (bakrov(II) acetoarsenit) počeo se upotrebljavati kao sredstvo za borbu protiv krumpirove zlatice, a zatim se pojavilo i tzv. londonsko crvenilo (smjesa kalcijeva arsenita i kalcijeva arsenata). To su krajem 19. st. bili najrašireniji insekticidi. Insekticidna smjesa sumpora s vapnom služila je za zaštitu voćnjaka, a kerozin se upotrebljavao za zaštitu narančinih stabala od insekata. Godine 1892. po prvi put se kao insekticid primijenio jedan sintetsti organski spoj, kalijeva sol dinitro-orto-krezola.[2]

Važno otkriće u primjeni fungicida bila je smjesa vapna i bakarova sulfata, kojom je A. Millardet 1882. godine zaštitio vinovu lozu od peronospore. Ta smjesa je nazvana bordoškom juhom i upotrebljava se sve do danas.[2]

2.PODJELA I PRIMJENA PESTICIDA

Pesticidi se zbog mnogih fizikalnih i kemijskih svojstava koje posjeduju svrstavaju u skupine prema kojima se daljnje proučavaju. Neki od načina klasifikacije pesticida su: prema njihovoj namjeni, tj. prema vrstama organizama za suzbijanje kojih se koriste, prema razini toksičnosti i dr.

Prema namjeni pesticidi se dijele na:

- insekticide (suzbijaju kukce)
- akaricide (suzbijaju grinje)
- nematocide (suzbijaju fitoparazitske nematode)
- limacide (suzbijaju puževe)
- korvifuge (odbijaju napad ptica – repelenti)
- rodenticide (suzbijaju glodavce)
- fungicide (suzbijaju fitopatogene gljive)
- herbicide (suzbijaju korove)
- regulatore rasta (utječu na životne procese bilja drukčije od hranjiva) [4]

Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) istaknula je samo akutnu toksičnost za klasifikaciju pesticida. Prema WHO-u, pesticidi se klasificiraju prema akutnoj oralnoj i akutnoj dermalnoj toksičnosti pomoću procijenjene odgovarajuće smrtonosne doze LD_{50} (doze pesticida koja je potrebna za ubijanje polovice testiranih životinja prilikom oralnog ili dermalnog ulaska u tijelo). Trenutno široko korištena „WHO-ova preporuka za klasifikaciju pesticida prema opasnosti“ predlaže raspodjelu pesticida u „određene klase opasnosti WHO-a”.[5]

SKUPINA	**LD_{50} za štakora (mg/kg tjelesne težine)**		
	ORALNO	**DERMALNO**	**PRIMJER**
I_a EKSTREMNO OPASNI	<5	<50	paration, dieldrin
I_b VRLO OPASNI	5 – 50	50 - 200	Aldrin
II UMJERENO OPASNI	50 - 2000	200 - 2000	DDT, klordan
III MALO OPASNI	više od 2000	više od 2000	malation

Tablica 1. Preporučena klasifikacija pesticida Svjetske zdravstvene organizacije

SREDNJA LETALNA DOZA (LD_{50}) – količina mg neke tvari na kg pokusne životinjekoja ubije 50 % tih životinja. Što je brojka veća sredstvo je manje otrovno

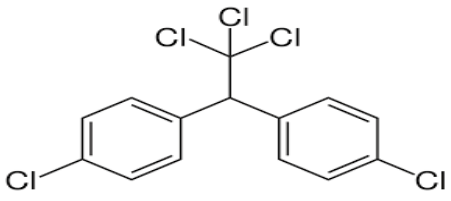
2.1. Insekticidi

Insekticidi su kemijski preparati namijenjeni suzbijanju i uništavanju štetnih insekata. Od svih vrsta pesticida upravo se insekticidi najviše i najšire primjenjuju jer uništavaju najbrojnije i najopasnije štetočine.[2]

Organoklorni pesticidi

Organoklorovi pesticidi su po svojoj strukturi klorirani alifatski ili aromatski ciklički spojevi. Neki od spojeva ove skupine su DDT, klordan, dieldrin, lindan, metoksiklor... Zbog slične strukture slična su i njihova fizikalno-kemijska svojstva. Karakterizira ih nedostatak reaktivnih intramolekulskih mjesta, nepolarnost, lipofilnost i kemijska stabilnost. Dugotrajna izloženost organoklornim pesticidima može oštetiti jetru, bubrege, središnji živčani sustav, štitnjača i mjehur. Mnogi od tih pesticida povezani su s povišenom stopom raka jetre ili bubrega u životinje.[8]

Najpoznatiji predstavnik ove skupine je **DDT (l,l-bis(4-klorfenil)-2,2,2-trikloretan)** Skraćeni naziv (di-di-ti) nastao je kao kratica nepotpunog kemijskog imena (diklordifeniltrikloretan). DDT pripada klasi difenil alifata, koji se sastoji od alifatskog lanca s dva fenilna prstena. Insekticidno djelovanje DDT-a ustanovio je 1939. godine švicarski kemičar P. Müller. DDT je prvi sintetizirao O. Zeidler još 1874. godine. Primjenom DDT najviše se uspjelo u borbi protiv prenosilaca zaraznih bolesti, u prvom redu malarije, pjegavog tifusa i žute groznice. DDT nije hlapljiv, pa djeluje kao kontaktni i digestivni otrov. U organizmu se sporo širi, a za razliku od organskih spojeva fosfora, napada izravno živčana vlakanca. DDT tehničke čistoće proizvodi se kondenzacijom klorbenzena i klorala pod djelovanjem sulfatne kiseline ili oleuma.[2,6]



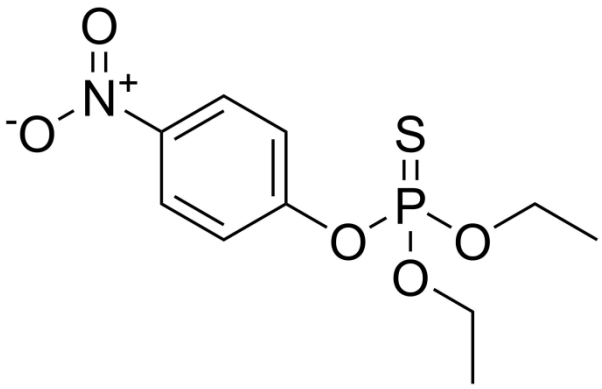
Slika 1. Strukturna formula DDT-a

Organofosfatni pesticidi

Organofosfatni pesticidi uvedeni su na tržište u razdoblju od 1945.–1955. da bi se zamijenili otrovni i postojani organoklorni insekticidi, uglavnom DDT. Svrstavaju se u različite skupine ovisno o njihovoj kemijskoj strukturi. Oni su esteri, amidi ili tioli koji općenito potječu od fosfornih ili fosfonskih kiselina, gdje je jedan ili više atoma vodika su supstituirani organskim skupinama. Većina organofosfata su insekticidi koji utječu na živčani sustav ometajući enzim koji regulira neurotransmiter. Pokazali su se vrlo djelotvornima u uništavanju insekata koji grizu dijelove biljke i sišu njene sokove. Njihova je odlika da brzo prodiru u biljno tkivo, lako se razgrađuju i ne stvaraju otrovne ostatke, a djeluju kao vrlo jaki kontaktni, digestivni i inhalacijski otrovi. Međutim, alkil-fosfati, aril-fosfati i tiofosfati ne djeluju otrovno samo na insekte, već i na toplokrvne životinje i na ljude. Njihovim se toksičnim djelovanjem blokira enzim acetilkolinesteraza, koji u organizmu katalizira hidrolizu acetilkolina i tako uspostavlja mehanizam prenošenja podražaja među živčanim vlakancima. Kad nema slobodnog enzima, acetilkolin se ne hidrolizira i prekida se prijenos podražaja, što ubrzo u organizmu uzrokuje smrt zbog paralize osnovnih životnih procesa.[2,6]

Jedan od spojeva koji spadaju u ovu skupinu pesticida je **PARATION (O,O-dietil-O-(4-nitrofenil)tiofosfat)**

Djeluje kontaktno i digestivno, a osim insekticidnog ima i akaricidno djelovanje.[2]



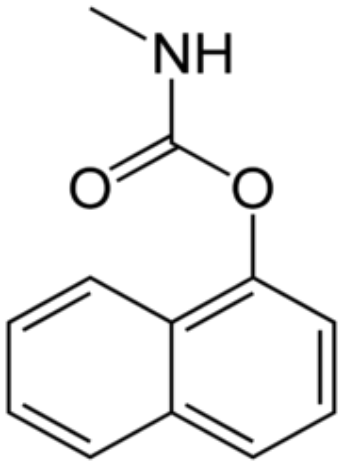
Slika 2. Strukturna formula paration

Karbamati

Karbamati su po strukturi kemijski slični organofosfatima. Organofosfati su derivati fosforne kiseline, a karbamati su derivati nestabilne karbaminske kiseline. Karbamati također predstavljaju relativno visok rizik za trovanje ljudi. Pokazalo se da karbamati djeluju fiziološki jednako kao i organski spojevi fosfora, tj. da se vežu na acetilkolinesterazu i tako blokiraju taj vrlo važan enzim, što paralizira neuroendokrini sustav i ubrzo uzrokuje smrt. Karbamati su razvijeni s namjerom da se pronađe zamjena za do tada mnogo upotrebljavane klorirane ugljikovodike, koji su zbog svoje toksičnosti i zagađivanja okoliša bili vrlo neprikladni insekticidi. Osim toga, s karbamatima se postigao vrlo dobar rezultat u borbi protiv štetočina i nametnika koji su postali otporni na djelovanje ostalih vrsta insekticida. Primjenjuju se u zaštiti bilja i materijala, u higijeni i u zaštiti zdravlja životinja. Osim što su djelotvorni kao insekticidi, obično su djelotvorni i u borbi protiv nematoda, puževa, grinja i gljivica.[2,3,9]

Jedan od najpoznatijih insekticida iz ove skupine je ***KARBARIL (1-naftil-metilkarbamat)***

Karbaril je prvi karbamatni insekticid. Inhibitor je acetilkolinesteraze i toksičan je za ljude. Američka agencija za zaštitu okoliša (EPA) klasificira ga kao vjerojatni karcinogen za ljude. Karbaril se može dobiti koristeći metil izocijanat (MIC) kao posrednik. Curenje MIC-a korištenog u proizvodnji karbarila uzrokovalo je katastrofu u Bhopalu (Indija) 1984. godine, najsmrtonosniju industrijsku nesreću u povijesti.[10]



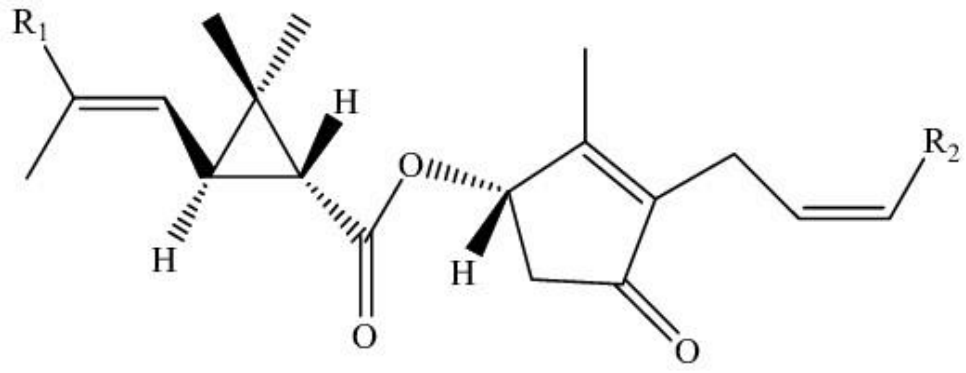
Slika 3. Strukturna formula karbarila



Slika 4. Katastrofa u Bhopalu (Indija), 1984.

Piretrini i piretroidi

Piretrini su prirodni insekticidni spojevi pronađeni u ekstraktu cvjetova buhača. Piretrini su esteri (+)-trans-krizantemske kiseline i (+)-trans-piretrinske kiseline (s općom formulom prikazanoj na slici 5.) koji se razlikuju po sastavu supstituenta R_1 i R_2. Piretroidi su sintetski proizvedene molekule koje su kemijski slične piretrinima. Piretroidi nisu postojani. Kod brzina primijenjenih za kontrolu vektora, oni se brzo raspadaju na sunčevoj svjetlosti i rijetko su prisutni nakon samo nekoliko dana. Insekticidi koji sadrže piretrine neurotoksični su za gotovo sve insekte. Štetni su za ribe, ali su mnogo manje toksični za sisavce i ptice od mnogih sintetičkih insekticida. Iako je njihova toksičnost na toplokrvne organizme malena vrlo brzo obaraju insekte koji lete, ali ih teško ubijaju. Taj se nedostatak uklanja dodatkom tvari sa sinergističkim djelovanjem kao što je npr. 2-(2-butoksietoksi)etil 6-propilpiperonil eter (piperonil butoksid/PBO). To su tvari koje same nisu otrovi, ali povećavaju otrovnu moć insekticida tako što sprečavaju enzimsku razgradnju otrova u organizmu. Smatraju se jednim od najsigurnijih insekticida za upotrebu oko hrane. Zbog male otrovnosti prema ljudima piretrini se najviše upotrebljavaju za uništavanje insekata u kućanstvu i u staklenicima.[2,6,9]



Slika 5. Opća formula piretrina

ESTER	SUPSTITUENT	
	R_1	**R_2**
Piretrin I	CH_3	$CH{=}CH_2$
Piretrin II	$COOCH_3$	$CH{=}CH_2$
Cinerin I	CH_3	CH_3
Cinerin II	$COOCH_3$	CH_3
Jasmolin I	CH_3	CH_2CH_3
Jasmolin II	$COOCH_3$	CH_2CH_3

Tablica 2. Sastav supstituenata u esterima krizantemske i piretrinske kiseline

2.2.Herbicidi

Herbicidi su sintetski organski spojevi koji se koriste za suzbijanje neželjene vegetacije ili korova. Primjena može biti direktno za biljke ili tlo za kontrolu neželjene vegetacije.[6]

Herbicidi u biljci mogu utjecati na više procesa. Proces koji je najviše pod utjecajem herbicida predstavlja njegovo primarno djelovanje. Ako molekule herbicida remete i neki drugi proces, ali ne u tolikoj mjeri, učinak na taj proces predstavlja sekundarno djelovanje.

Prema mehanizmu djelovanja herbicide možemo svrstati u četiri osnovne skupine:

- inhibitore fotosinteze

- inhibitore biljnog rasta

- inhibitore biosintetičkih procesa

- herbicidi nepoznatog mehanizma djelovanja

Inhibirajući fiziološke procese u biljci, herbicidi dovode do njezina odumiranja.[11]

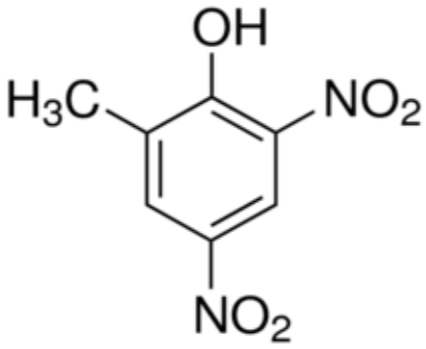
Prema rasponu djelovanja herbicidi se dijele na neselektivne i selektivne. Neselektivni herbicidi potpuno uništavaju vegetaciju u tlu pa se primjenjuju kada je potrebno imati zemljište bez raslinja ili npr.za čišćenje zemljišta prije sjetve. U poljoprivredi bitni su selektivni herbicidi, tj. kemijska sredstva koja uništavaju nepoželjnu vegetaciju, dok istodobno tek zanemarivo oštećuju korisne biljke. Selektivno djelovanje nekog herbicida rezultat je utjecaja različitih faktora. Tako npr. kultivirana biljka, za razliku od korova, može herbicid metabolizirati i učiniti ga neškodljivim.

Prema mjestu svog djelovanja razlikuju se kontaktni herbicidi (razaraju vanjsko biljno tkivo na mjestu dodira) i translocirani herbicidi (apsorbiraju se i raznose po cijeloj biljci). Primijeniti se mogu nanošenjem na lišće ili na tlo (zemljišni herbicidi) pa tada djeluju kroz korijen.[2]

Prvi organski herbicid bio je **DNOC (dinitro-orto-krezol ili 6-metil-2,4-dinitrofenol)**

DNOC se prvenstveno koristio za zaštitu voćaka i ostalih prehrambenih usjeva od oštećenja insekata. Otrovan je za ljude, pogotovo ako je primijenjen u ulju, jer ono olakšava njegovo prodiranje kroz kožu.

1930-ih DNOC se koristio u tabletama za smanjenje težine. Više se ne koristi u tu svrhu zbog loših učinakana zdravlje.[12]



Slika 6. Strukturna formula dinitro-orto-krezola

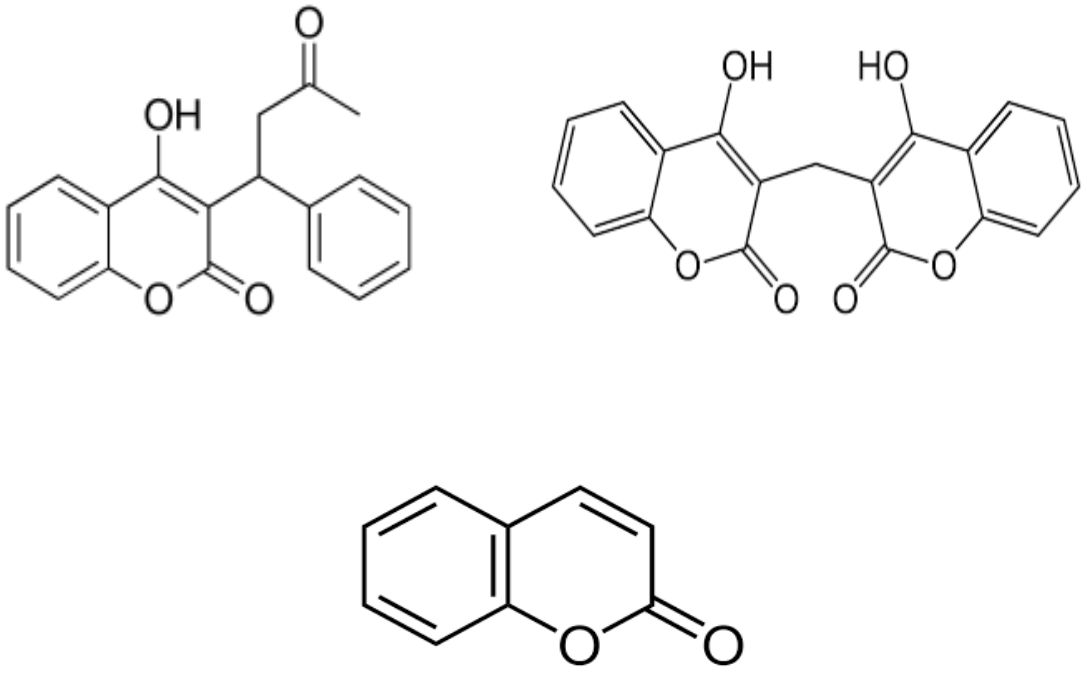
2.3. Rodenticidi

Rodenticidi su pesticidi namijenjeni uništavanju glodavaca, najčešće štakora i miševa, koji su nastanjeni u blizini ljudi npr. u dvorištima, štalama. Nanose štetu ako se nastane u prostorijama u kojima je pohranjena hrana s polja, kontaminirajući ju svojim izmetom istvarajući tako velike gubitke poljprivrednicima. Veliki problem predstavlja i to što grizući beton, mekane metale i žice mogu napraviti štetu i na električnim instalacijama. Najveći razlog zašto trebaju biti dalje od ljudi je što prenose brojne zarazne bolesti.[2]

Dijele se prema načinu na koji djeluju, tj. na antikoagulante i one koji to nisu. Antikoagulanti sprječavaju rad enzima u jetri koji tijelu omogućuje recikliranje vitamina K potrebnog za zgrušavanje krvi pa dolazi do unutarnjeg krvarenja. Većina antikoagulantnih rodenticida su prema kemijskoj strukturi supstituirani hidroksikumarini.[13]

U skupinu antikoagulantnih rodenticida spadaju varfarin, bromadiolon, klorofacinon...

VARFARIN je prvi antikoagulantni rodenticid. Sintetiziran je iz prirodnog antikoagulanta dikumarola koji se oksidacijom stvara iz kumarina u velikoj djetelini. Ime mu je sastavljeno od akronima organizacije koja je financirala njegovo sintetiziranje (**WARF** – **W**isconsin **A**lumni **R**esearch **F**oundation) i zadnjih slova imena spoja iz kojeg je sintetiziran (KUM**ARIN**). U 50-im godinama 20. stoljeća počeo se koristiti kao za liječenje ljudi i danas se koristi kao oralni antikoagulans. Ranije je najčešće korišten kao rodenticid dok se danas sve manje koristi jer su glodavci postali otporni na njega.[14]



Slika 7. Strukturne formule (redom) varfarina, dikumarola i kumarina

2.4.Fungicidi

Fungicidi su kemijski spojevi koji se koriste za suzbijanje gljivica koje uzrokuju štete na usjevima i biljkama te ugrožavaju zdravlje ljudi i životinja. Parazitske gljive se fungicidima ubijaju na način da remete njihove stanične procese. Mnogi se fungicidi vežu sa specifičnim enzimima kako bi prekinuli metaboličke putove koji su povezani sa staničnim disanjem. U fungicide spadaju i sredstva koja ne ubijaju izravno gljivice nego sprječavaju njihovo klijanje, daljnje širenje i rast. Poljoprivredni se fungicidi najčešće koriste u obliku spreja ili prašine. Ranije su se upotrebljavali samo fungicidi s površinskim djelovanjem koji se se nanosili prskanjem, a uloga im je bila površinska zaštita biljke od klijanja gljivica. Danas se češće koriste sistematski fungicidi koji se apsorbiraju u biljsku kroz list ili korijen i raspodjeljuju po čitavoj biljci. Prednost sistematskih fungicida pred fungicidima s površinskim djelovanjem je neovisnost o vanjskim utjecajima, primjena u manjim količinama i zaštita teže dostupnih dijelova biljke.[2,15]

Mnogi se kemijski spojevi koriste kao tvari u fungicidnim djelovanjem.

Spojevi bakra su najstariji i najviše upotrebljivani pesticidi. Bakar (II) ioni u gljivičnim sporama blokiraju enzimske reakcije i sprječava njihovo klijanje. Kao fungicidi su registrirani bakrov hidroksid, bakrov oksiklorid, bakrov sulfat i smjese tih spojeva sa cinkom, cinkovim sulfidom i cinebom (organski fungicid: cink-etilen-bis-(ditiokarbamat)-kompleks).[2]

Jedan od najranijih fungicida bila je, tzv. **BORDOŠKA JUHA**.

Bordoška juha je tekuća smjesa modre galice i vapna. Koristi se za suzbijanje peronospore vinove loze, a osim u vinogradarstvu upotrebljava se i za tretiranje voćnjaka i povrtnjaka.



Slika 8. Zaštita vinograda prskanjem bordoške juhe



Slika 9. Peronospora vinove loze

Osim bakrovih spojeva, kao fungicidi se koriste sumpor i sumporni spojevi za suzbijanje pepelnice. Zbog toksičnosti i opasnosti od zagađenja okoliša, primjena organometalnih fungicida se ograničava ili čak zabranjuje. Služe za suzbijanje pjegavosti lišća uzrokovane štetnim gljivicama. Anorganske soli nekih drugih elemenata npr. žive, kadmija, cinka, kroma, nikla, arsena također pokazuju fungicidna svojstva, ali se zbog toksičnosti prema toplokrvnim organizmima ili biljkama u te svrhe ne primjenjuju.[2]

3.ZAKONSKA REGULATIVA

Dopuštene količine pesticida u hrani određene su raznim zakonima i odredbama donesenih od strane državnih i svjetskih institucija kao što su Svjetska zdravstvena organizacija, Europska unija, Ministarstvo poljoprivrede, Ministarstvo zdravstva, itd. Donešenim zakonima određuju se vrijednosti sljedećih pojmova kojih se strogo treba predržavati da ne bi došlo do trovanja organizma i teških bolesti:

Maksimalna razina ostataka pesticida (MDK) je najviša zakonski dopuštena razina koncentracije ostatka pesticida u ili na hrani ili hrani za životinje uspostavljena sukladno ovom Pravilniku, na temelju dobre poljoprivredne prakse i najmanje potrebne izloženosti potrošača u svrhu zaštite osjetljive populacije potrošača.[16]

Akutna referentna doza (ARfD) je procjena količine tvari u hrani, izražena na osnovi tjelesne težine, koja može biti unešena tijekom kratkog vremenskog perioda, obično tijekom jednog dana, bez značajnog rizika za potrošače, na osnovi podataka iz odgovarajućih studija i uzimajući u obzir osjetljive grupe unutar populacije (npr. djecu i neroñenu djecu).[16]

Prihvatljiv dnevni unos (ADI) je procjena količine tvari u hrani izražena na osnovi tjelesne težine, koja može biti unošena dnevno tijekom cijelog života bez značajnog rizika za bilo kojeg potrošača na osnovi svih poznatih činjenica u vrijeme procjene, uzimajući u obzir osjetljive grupe unutar populacije (npr. djecu i neroñenu djecu).[16]

Razina ostataka pesticida ovisi o količini primijenjenog sredstva za zaštitu bilja, vrsti kulture na koju se primjenjuje te karenci.

Karenca je vrijeme u danima koje mora proteći nakon posljednje primjene sredstva za zaštitu bilja do žetve ili berbe. Potrebna je da se primijenjeno sredstvo za zaštitu bilja razgradi, da se ne prekorače propisane vrijednosti MDK. Propisana je za svaku biljku odvojeno i zato je karenca istog sredstva primjenjenog na različitim biljkama različita.[17]

Pravilnikom Ministarstva zdravstva određene su sljedeće dopuštene vrijednosti ostataka pesticida u brašnu:

	Kemijski spoj	Maksimalna dopuštena količina (mg/kg)
BRAŠNO	CIJANOVODIK	6
	DELTAMETRIN	0,3
	DIKLORVOS	0,5
	PIPERONIL BUTOKSID	0,5

Tablica 3. Maksimalne vrijednosti ostataka pesticida u brašnu

4.UZORKOVANJE I OBRADA UZORKA

Prvi korak u analizi je uzorkovanje. Uzorak brašna uzima se sondom za uzorkovanje iz nekoliko različitih vreća, tj. pakiranja kako bi se zbog heterogenosti uzorka dobio reprezentativan uzorak. Uzorkovanje treba provesti oprezno da ne bi došlo do kontaminacije uzorka. Analizirati se mogu razne vrste brašna: pšenično, raženo, kukuruzno jer je razina ostataka pesticida različita ovisno o kulturama na koje je pesticid primjenjen.



Slika 10. Sonda za uzorkovanje

4.1. Ekstrakcija na čvrstoj fazi (SPE)

Ekstrakcija čvrstom fazom (engl. solid phase extraction, SPE) je metoda razdvajanja spojeva koji su otopljeni ili suspendirani u tekućoj smjesi na temelju različitih fizikalnih i kemijskih svojstava. Prije primjene SPE uzorak mora biti homogeniziran i čist. Razdvajanje se temelji na razlikama u naboju, pH-vrijednosti ili polarnosti. Uobičajeno se koristi za dobivanje pročišćenog i koncentriranog tekućeg ekstrakta.

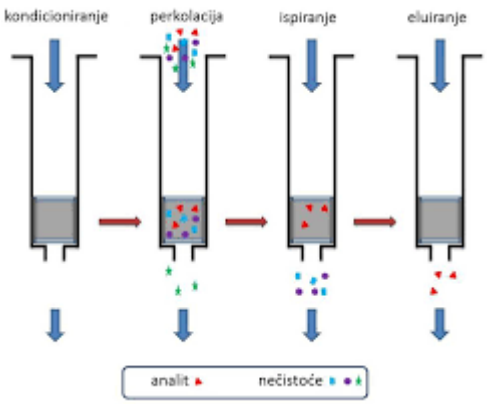
SPE se sastoji od četiri osnovna koraka:

1. ***Kondicioniranje***, tj. solvatacija sorbensa pri čemu se kolona ispire odgovarajućim otapalom i priprema za interakciju s analitom

2. ***Zadržavanje***- propuštanje uzorka kroz sorbens u namjeri da se zadži, tj. veže analit na površini sorbensa

3. ***Ispiranje*** –sorbens se ispire odgovarajućim otapalom, analit je vezan za čvrstu fazu,a interferencije se ispiru

4. ***Eluiranje analita*** odgovarajućim eluensom,tj. desorpcija analiza [18, 19]



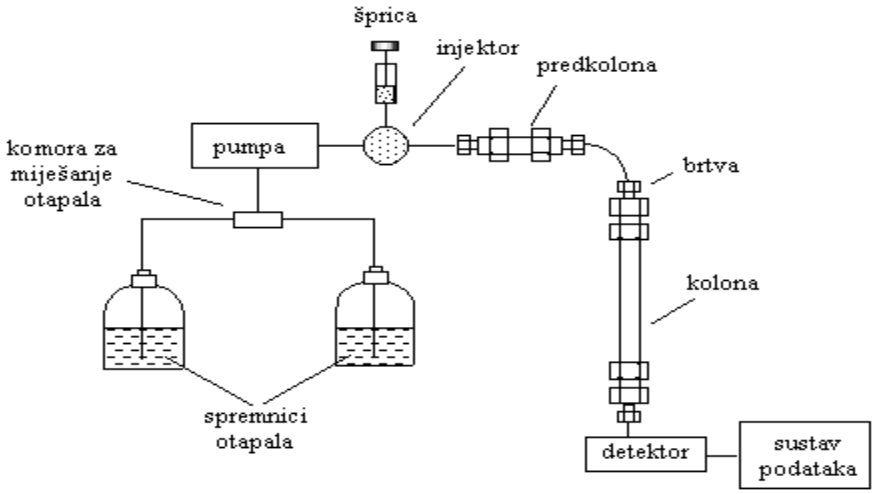
Slika 11. Ekstrakcija čvrstom fazom

5.TEHNIKE ANALIZE

Nakon predobrade ekstrakcijom na čvrstoj fazi dobiveni ekstrakt se na prisutnost pesticida dalje analizira kromatografskim tehnikama.
Komponente uzorka se primjenom kromatografije odjeljuju na temelju različite raspodjele komponenata između nepokretne (stacionarne) i pokretne (mobilne) faze.

5.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC)

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. High Performance Liquid Chromatography, HPLC) je nakorištenija i jedna od najučinkovitijih tehnika za odjeljivanje komponenata uzorka.
Analiza uzorka kreće kada se uzorak injektira u tekuću mobilnu fazu koja nosi uzorak kroz kromatografsku kolonu.Komponente se odjeljuju na temelju različite raspodjele između mobilne i stacionarne faze. Volumeni uzorka kreću se od 0,5 μL do 5,0 mL.
Primjenjuju se vrlo osjetljivi detektori zbog kojih je dovoljna mala količina uzorka i omogućeno je visoko razlučivanje komponenata smjese, što znači da se ova tehnika odlikuje visokom preciznošći i točnošću rezultata analize.[18,19]



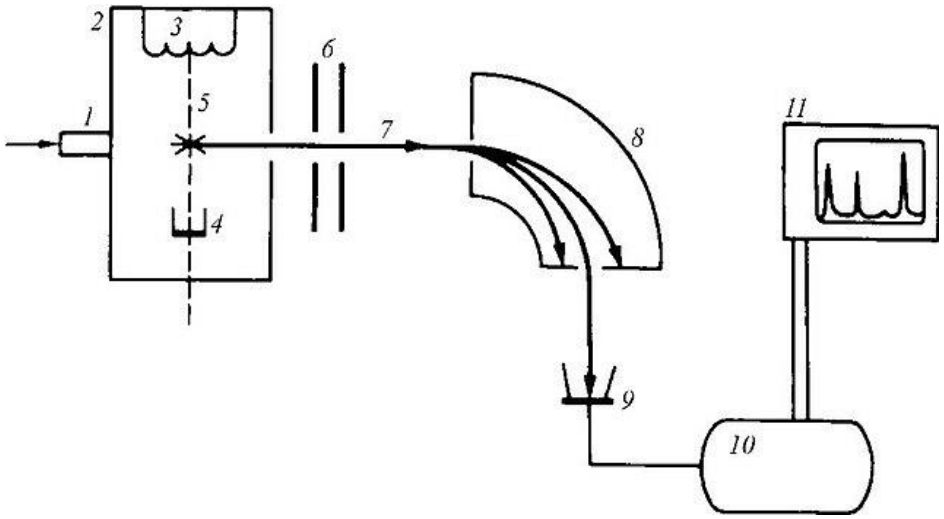
Slika 12. Shematski prikaz HPLC

5.2. Masena spektrometrija (MS)

Masena spektrometrija je moćna analitička tehnika za dobivanje informacija o identitetu nepoznatog spoja, njegovoj molekularnoj masi, elementnom sastavu i kemijskoj strukturi. Atomskom masenom spektrometrijom mogu se kvantitativno odrediti gotovo svi elementi u periodnom sustavu.. Molekularna masena spektrometrija je može dati informacije o strukturama anorganskih, organskih i bioloških molekula te o kvalitativnom i kvantitativnom sastavu složenih smjesa.

Maseni spektrometar se sastoji od ionskog izvora u kojem se ioniziraju molekule, analizatora masa koji razdvaja ione na temelju omjera mase i naboja, detektora i sustava za obradu podataka (računala).

U masenom spektrometru molekule analita pretvaraju se u ione primjenom energije, tj. dolazi do ionizacije. Ioni se razdvajaju na temelju njihovog odnosa mase i naboja (m/z) i usmjerravaju na pretvarač koji pretvara broj iona u električni signal. Kao rezultat analize dobiva se spektar masa koji predstavlja ovisnost relativnog intenziteta iona o omjeru njihove mase i naboja.[19]

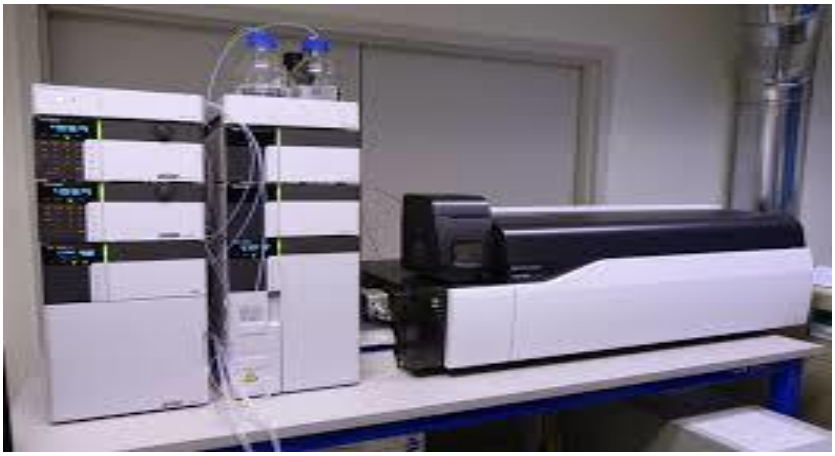


Slika 13. Shematski prikaz masenog spektrometra

5.3. Tekućinska kromatografija/ Masena spektrometrija (LC/MS)

Kombinirana tehnika između MS i HPLC obično je poznata kao LC/MS. Kombinacijom se smanjuje eksperimentalna pogreška i vrijeme analize te poboljšava točnost. Primjena LC/MS vrlo je korisna u situacijama koje uključuju ogroman broj spojeva.

LC/MS uključuje razdvajanje smjesa u skladu s njihovim fizikalnim i kemijskim svojstvima,a zatim identificiranje komponenata i otkrivanje na temelju njihovog masenog spektra.[20]



Slika 14. LC/MS instrumentacija

6. RASPRAVA

Dio pesticida koji se koriste za zaštitu biljaka od raznih štetočina ostaje apsorbiran unutar biljke. U analizi ostataka pesticida koriste se moćne aparature, kao što je spektrometar masa, kojima se brzo i efikasno analizira velik broj različitih pesticida prisutnih u niskim koncentracijama.

Prekomjernom upotrebom pesticida dolazi do povećane koncentracije pesticida prisutnih u biljkama, tj. visoke razine ostataka pesticida. Zakonom su određene vrijednosti MDK (maksimalne dopuštene vrijednosti ostataka pesticida) koje se moraju strogo poštivati jer u protivnom dugotrajnom konzumacijom proizvoda s prekoračenim MDK može doći do raznih bolesti i kancerogenog učinka aktivnih tvari pojedinih pesticida. U svrhu zaštite zdravlja ljudi provodi se godišnje praćenje ostataka pesticida u hrani kojim se utvrđuje količina pesticidnih ostataka i odgovara li ona vrijednosti propisane MDK. Utvrđivanjem prekoračene MDK vrijednosti proizvod se povlači s tržišta.

Ministarstvo poljoprivrede donosi godišnje izvješće o provedbi nacionalnog programa praćenja ostataka pesticida u i na proizvodima biljnog podrijetla. U provedenoj analizi analizirano je pšenično brašno,pšenica i raž. U uzorcima brašna nisu pronađeni ostaci pesticida. U uzorku pšenice i raži detektirani su ostaci pesticida klorpirifosa i pirimifos metila, ali u dozvoljenim granicama, tj. ispod razine MDK. Detektirana koncentracija klorpirifosa iznosi 0,04 (MDK 0,05 mg/kg) i pirimifos metila 0,02 (MDK 5 mg/kg). Prerada tih uzoraka je dopuštena te će preradom dobiveno brašno biti moguće konzumirati.[21]

S obzirom na to da su pronađene vrijednosti ispod maksimalne dopuštene količine, nije bilo potrebe za povlačenjem proizvoda s tržišta.

U 2019. godini na ostatke pesticida analizirana su 4354 uzorka hrane billjnog i životinjskog podrijetla. 2,8 % ukupnog broja uzoraka ocijenjeno je nesukladnima prema Uredbi (EZ) br. 396/2005, Uredbi (EZ) br. 834/2007, 889/2008 i Pravilniku o ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji (NN 19/2016). Od 26 nesukladno ocijenjenih uzoraka (približno 3%) bilo je 6 uzoraka žitarica. Ti uzorci se povlače s tržišta te im se, ako se uvoze, zabranjuje uvoz.[22]

7. ZAKLJUČAK

Pesticidi su nam neophodni za zaštitu hrane od štetnika, tj. u sprječavanju raznih bolesti koje štetnici (npr. štakori) prenose. Trebamo biti oprezni u rukovanju s njima i poštivati strogo određenu zakonsku regulativu koja propise najviše dopuštene doze pesticida u hrani te vršiti istraživanja u svrhu prevencije bolesti koje nastaju unosom prekomjerne količine pesticida u organizam. Za brašno su Pravilnikom Ministarstva zdravstva određene ove MDK vrijednosti (u mg/mL): cijanovodik (6), deltametrin (0,3), diklorvos (0,5), piperonil butoksid (0,5).

8. LITERATURA

[1]https://www.researchgate.net/publication/303600997_Determination_of_Pesticide_Residues_in_Whole_Wheat_Flour_Using_Modified_QuEChERS_and_LC-MSMS (pristupljeno 28.8.2020.)

[2] Požar H.,*Tehnička enciklopedija*, Miroslav Krleža, Zagreb,1986., 237.-249.str

[3] https://byjus.com/chemistry/pesticides/ (pristupljeno 28.8.2020.)

[4] https://gov.hr/moja-uprava/poslovanje/poljoprivreda/koristenje-pesticida/1841 (pristupljeno 29.8.2020.)

[5]https://www.researchgate.net/publication/327536516_CLASSIFICATION_OF_PESTICIDES_A_REVIEW (pristupljeno 28.8.2020.)

[6] *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory, and Instrumentation*, Wilay, edited by R.A.Meyers , 6384.- 6420.str., 6420.-6250.str

[7] https://hrcak.srce.hr/136294 (pristupljeno 29.8.2020.)

[8] https://dhss.delaware.gov/DHSS/DPH/files/organochlorpestfaq.pdf (pristupljeno 29.8.2020.)

[9] http://westnile.ca.gov/special/category_a/?page=Chapter2.htm (pristupljeno 30.8.2020.)

[10] https://en.wikipedia.org/wiki/Carbaryl (pristupljeno 30.8.2020.)

[11] https://hrcak.srce.hr/164083 (pristupljeno 30.8.2020.)

[12] https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp63-c1.pdf (pristupljeno 1.9.2020.)

[13] http://npic.orst.edu/factsheets/rodenticides.pdf (pristupljeno 1.9.2020.)

[14]https://www.skolskiportal.hr/sadrzaj/iz-skolskog-svijeta/varfarin-od-otrova-za-stakore-do-mocnog-lijeka/ (pristupljeno 1.9.2020.)

[15] https://www.britannica.com/science/fungicide (pristupljeno 1.9.2020.)

[16] https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008_12_148_4076.html (pristupljeno 3.9.2020.)

[17] https://www.vup.hr/_Data/Files/prirucnikszb.pdf (pristupljeno 5.9.2020.)

[18] Prof. dr. sc. Njegomir Radić, doc. dr. sc. Lea Kukoč Modun *Uvod u analitičku kemiju*, Zagreb; 2016., 622.-624., 655.-657.str.

[19] Skoog D A, West D M, Holler J. *Osnove analitičke kemije*. Zagreb, Hrvatska: Školska knjiga; 1999.,856.-858.,912.-921.,802.-818.str.

[20] https://www.chemyx.com/support/knowledge-base/applications/basic-principles-hplc-ms-lc-ms/ (pristupljeno 8.9.2020.)
[21] Godišnje izvješće o provedbi nacionalnog programa praćenja (monitoringa) ostataka pesticida u i na proizvodima bičjnog podrijetla u 2011., 2012.,2013. godini http://fisportal.mps.hr/hr/sve/izvjestaji/ (pristupljeno 15.9.2020.)
[22] https://hrcak.srce.hr/237214 (pristupljeno 15.9.2020.)