

Novi materijali i tehnologije u kontroli zaštite životne sredine i zdravlja čoveka

New materials and technologies in the control of environmental protection and human health

Aleksandra Tasić^{1*}, Ksenija Nešić², Ivan Pavlović³

^{1,2,3}Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Auto put br. 3, 11 000 Beograd, Republika Srbija / Scientific Veterinary Institute of Serbia, Auto put 3, 11 000 Belgrade, Republic of Serbia

*Autor za prepisku / Corresponding author

Rad primljen / Received: 28.04.2021, Rad prihvaćen / Accepted: 19.05.2021.

Sažetak: Pesticidi su sveprisutni u našem okruženju. Primjenjuju se za sprečavanje, uništavanje ili suzbijanje velikog broja različitih štetočina, od insekata do korova. Na tržištu postoji više od hiljadu različitih pesticida koji imaju različitu primenu. Međutim, značajne količine ostataka pesticida takođe mogu završiti u hrani, vodi i zemljištu. Priprema i analiza uzoraka na prisustvo pesticida u svim matriksima životne sredine uvek je bila izazov. U današnjem društvu, potreba za širenjem proizvodnje hrane za prehranu sve većeg broja stanovništva dovela je do povećane upotrebe mnoštva toksičnih pesticida u svim zemljama sveta. Analitičari su morali ići u korak sa tehnikama za merenje niskih nivoa ovih pesticida, koji se ponekad koriste neselektivno za širok spektar useva, uključujući i one kojima nisu namenjene. Zbog toga je velika pažnja posvećena metodama za analizu tragova pesticida, posebno fazama adekvatne pripreme, za koje je najvažnije da budu brze, jednostavne i efikasne. Revolucionarna *QuEChERS* metoda uvedena je 2003. godine za analizu ostataka pesticida u voću i povrću od strane Michelangela Anastassiadesa. Tehnika *QuEChERS* (brza, laka, jeftina, efikasna, robusna i sigurna) postala je jedan od glavnih izazova i osnova za modifikacije i usavršavanja multirezidualne i više klasne analize pesticida. Različiti novi materijali za pomenuti moderni način pripreme koji se svakodnevno usavršavaju omogućavaju veliku pouzdanost u određivanju pesticida.

Ključne reči: rezidui pesticida, priprema uzoraka, *QuEChERS* metoda, novi materijali.

Abstract: Pesticides are omnipresent in our environment. They are applied to prevent, destroy or control a large variety of pests ranging from insects to weeds. There are more than a thousand different pesticides on the market that have different applications. However, significant amounts of pesticide residues can also end up in food, water and soil. Preparation and analysis of samples for the presence of pesticides in all environmental matrices has always been a challenge. In today's society, the need to expand food production to feed an increasing number of the population has led to the increased use of a multitude of toxic pesticides in all countries of the world. Analysts have had to keep up with techniques to measure low levels of these pesticides, sometimes used indiscriminately for a wide variety of crops, including those for which they were not intended. Therefore, great attention has been paid to the methods for the analysis of pesticide traces, especially to the stages of adequate preparation, for which the most important thing is to be fast, simple and efficient. The revolutionary *QuEChERS* method was introduced in 2003 for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables by Michelangelo Anastassiades. The technique of *QuEChERS* (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) has become one of the main challenges and the basis for modifications and improvements of multiresidual, multiclass pesticide analysis. Various new materials for the mentioned modern method of preparation, which are being improved every day, enable great reliability in the determination of pesticides.

Keywords: pesticide residues, sample preparation, *QuEChERS* method, new materials.

¹orcid.org/0000-0002-8361-5697, e-mail: alekstasic79@gmail.com

²orcid.org/0000-0001-9255-3187, e-mail: ksenija.nesic@gmail.com

³orcid.org/0000-0003-4751-6760, e-mail: dripavlovic58@gmail.com

UVOD / INTRODUCTION

U nastojanju da se povećaju prinosi korisnih biljnih kultura i sačuvaju proizvedene količine namirnica od propadanja, koriste se hemijske supstance poznate pod nazivom pesticidi. Pesticidi i njihove formulacije se koriste protiv prouzrokovaca biljnih bolesti, štetnih insekata, nematoda, glodara, ptica, za suzbijanje korova ili za regulisanje rasta biljaka (Mirić i Šobajić, 2002). Kao posledica primena pesticida usled svakodnevnog povećana potrošnje prirodnih resursa dolazi do povećanog rizika štetnog uticaja na životnu sredinu i ljudsko zdravlje (Ivanović et al. 2016). Zbog primene u celom svetu, pesticidi su najčešći zagađivači životne sredine pre svega zbog njihove stabilnosti, mobilnosti i dugoročno nepovoljnog efekta na žive organizme i zdravlje ljudi. Iz ovih razloga je neophodno pratiti i kontrolisati prisustvo pesticida u svim sferama životne sredine. Kontrola prisustva i sadržaja pesticida u životnoj sredini poseduje i puno poteškoća prilikom analize, pre svega zbog potrebe razmatranja specifičnih uzoraka čija priprema zahteva veliki broj koraka u određivanju i detekciji. Faze pripreme određivanja pesticida zasnovane su na procesima ekstrakcije i prečišćavanja koje zahtevaju uklanjanje interferirajućih supstanci da bi dovele do jednostavnijeg načina određivanja uz primenu sofisticiranih tehnika. Tako da se prilikom analize pesticida u svakoj fazi analitičkog postupka mogu javiti teškoće prilikom određivanja. Voće i povrće je glavni izvor ostataka pesticida zbog direktne primene pesticida, odnosno upotrebe tokom cvetanja i rasta ploda za uklanjanje različitih vrsta štetočina. Takođe, do kontaminacije može doći i odlivanjem vode tokom poplava ili iz zagađenog zemljišta ili vode (Tankiewicz, 2019). Evropsko zakonodavstvo sa kojim se usklađuje i regulativa Republike Srbije usklađuje i pojednostavljuje maksimalno dozvoljene količine (takozvane MDK vrednosti) za pesticide i postavlja zajedničku šemu procene za poljoprivredne proizvode i stočnu hranu. MDK vrednosti se primenjuju na 315 svežih proizvoda i na iste proizvode nakon obrade, prilagođene da uzimaju u obzir razblaženje ili koncentraciju tokom procesa. Opšta zadata vrednost za maksimalno dozvoljene vrednosti prisustva pesticida je 0,01 mg/kg i primenjuje se za pesticide koji nisu posebno pomenuti i mešoviti hranu.

Niski nivoi određivanja koje zahtevaju regulatorna tela i složena priroda matriksa koji se ispituje na prisustvo pesticida zahtevaju efikasnu pripremu i identifikaciju tragova pesticida na nivou maksimalno dozvoljenih vrednosti. Razvoj multirezidualne metode je težak, zbog činjenice da su pesticidi različite polarnosti, rastvoljivosti, isparljivosti i imaju različite pKa vrednosti (Biziuk i Stocka, 2015). Važni aspekti na stabilnost ostataka pesticida u hrani i uzorcima

životne sredine su način transporta i skladištenje. Tokom vremena količina prisutnih pesticida se može promeniti zbog fizičko-hemijskih svojstva pesticida i faktora životne sredine. Na taj način, pomenuti faktori mogu uticati na eksperimentalne podatke i procenu bezbednosti, a takođe i na registraciju i uspostavljanje maskimalno dozvoljenih granica pesticida. Na tok analize mogu uticati i degradacione reakcije, koje obuhvataju hemijske reakcije, pre svega reakcije hidrolize, oksido-redukcije, jonizacije i fotodegradacije, kao i mikrobiološka degradacija (Ariffin i Rahman, 2020). Na stabilnost pesticida može uticati tip matriksa, odnosno njegov sastav, prisustvo organske materije, pH vrednost i sadržaj vode (Bian et al., 2018). Životna sredina uključuje i ishranu i način življenja. Rizici životne sredine izuzetno su se uvećali u poslednjih trideset godina. Veliki broj pesticida je u svakodnevnoj komercijalnoj upotrebi, naročito u poljoprivredi, šumarstvu, hemijskoj i farmaceutskoj industriji. Veliki broj novih pesticida se pojavi svake godine. Većina ovih pesticida nije ispitana da bi se videli njihovi štetni efekti, a ipak oni su u našoj hrani, vodi, vazduhu, kućama i na radnom mestu. Rizici koji dolaze iz životne sredine danas su toliko rašireni da ih niko u potpunosti ne može izbeći. Čak i u snegu na Antarktiku ima tragova polihlorobifenila (PCB) i dihlordifeniltrihloroetana (DDT). Kratkotrajna izloženost pesticidima nema značajan štetni efekat, dok dugotrajna izloženost može dovesti do razvoja raznih alergija, zloćudnih oboljenja, kardiovaskularnih bolesti i oštećenja vitalnih organa.

Revolucionarna *QuEChERS* metoda za pripremu uzoraka uvedena je 2003. godine za ubranu i efikasnu analizu ostataka pesticida u voća i povrća od strane Michelangela Anastassiadesa (Anastassiades i Lehotay, 2003). Primarni izazov savremene *QuEChERS* analize je simultano određivanje velikog broja pesticida, kao i mogućnost modifikovanja metode i prilagođavanja načina pripreme za ispitivanje konkretnih pesticida u različitim matriksima. Dakle, pomeniti savremeni metod pripreme uzorka je nakon manje od dve decenije postao osnovni i neprikosnoveni način pripreme. Upotreba novih *QuEChERS* materijala za pripremu uzoraka za analizu pesticida se sa godinama proširila na masnu hranu, odnosno proizvode životinjskog porekla (meso, jaja, mleko itd.), med, ali i uzorake iz životne sredine, poput zemljišta, sedimenta i vode. *QuEChERS* materijali su postali osnova nove tehnologije ispitivanja prisustva pesticida i najtraženiji materijali u laboratorijima za praćenje stanja zagađenosti životne sredine i zdravlja čoveka. Novi materijali se u svetu proizvode od različitih proizvođača kao što su: Restek, Agilent, Phenomenex i mnogih drugi, a tehnologija njihovog

korišćenja se svakodnevno usavršava i što više specifikira za ispitivani matriks.

Iz tog razloga, ovaj pregledni rad ukazuje na značaj novih *QuEChERS* materijala za modifikacije *QuEChERS* ekstrakcija i tehnika prečišćavanja za analizu pesticida u prehrambenim proizvodima i uzorcima životne sredine. Cilj rada da se prezentuje pregled skorašnjeg napredka u tehnikama pripreme uzoraka koje se razvijaju u analizi pesticida i metode hromatografskog određivanja. Takođe, biće istaknute različite metode pripreme i njihove aplikacije kroz različite matrikse pripreme.

1. MATERIJALI I METODE / MATERIALS AND METHODS

Glavni korak u određivanju pesticida je ekstrakcija i prečišćavanje analita iz primarnog matriksa, kao i uklanjanje interferirajućih supstanci koje mogu ometati kvantifikaciju pesticida. Ekstrakcija pesticida zavisi od njihove polarnosti i tipa matriksa. Uobičajene tehnike koje se koriste za ekstrakciju pesticida su: tečno-tečno ekstrakcija, čvrsto-tečno ekstrakcija, ekstrakcija tečnosti pomoću pritiska, tečno-tečno mikroekstrakcija pesticida, ekstrakcija dejstvom mikrotalasa i ultrazvučno potpomognuta ekstrakcija (Vilchez et al., 2001). Tečno-tečna ekstrakcija je tradicionalan metod u pripremi za analizu pesticida, ali je njen najveći nedostatak dugotrajnost ekstrakcije, korišćenje velikih količina rastvarača koji su skupi i nastajanje velike količine otpada. Iz tog razloga je tečno-čvrsta ekstrakcija novi pristup koji se upotrebom *QuEChERS* ekstrakcionih kitova usavršio i pomerio granice u određivanja pesticida. Optimizacijom tečno fazne mikroekstrakcije (SPME), Vilchez i saradnici su uspešno odredili prisustvo fipronila u uzorcima vode i zemljišta iz životne sredine. Ekstrakcione tehnike prečišćavanja se najčešće dele na: ekstrakcija u čvrstoj fazi, mikroekstrakcija u čvrstoj fazi, ekstrakcija rastvaračem pomoću mešalice i gel permeabilna hromatografija. Gel permeabilna hromatografija je visoko efikasna post ekstrakciona metoda prečišćavanja koja uklanja interferirajuće supstance sa visokom molekulskom masom (npr. lipide, proteine i pigmente) pre analize gasnom ili tečnom hromatografijom. Takav način prečišćavanja povećava analitičku preciznost i tačnost, a takođe i produžava život kolone i instrumenta (Zanella et al., 2012).

Ekstrakcija čvrstom fazom (SPE) je trenutno najpopularnija ekstrakciona tehnika prečišćavanja, popularno nazvana *QuEChERS* ekstrakciona metoda. Mnogi objavljeni radovi za određivanje pesticida svežeg voća, povrća i njihovim proizvodima koriste kao metodu kombinaciju dve ili više komercijalno dostupnih SPE kolone za prečišćavanje (Lawal et

al., 2018). Tečno-čvrsta ekstrakcija je tehnika razvijena iz tečno-tečne ekstrakcije koja koristi različite vrste sorbent materijala, velike količine rastvarača i poroznog uljenika. Za standardnu metodu SRPS EN 1528 korišćena je i velika količina florisil adsorbenta koji je pre svega skup, zahteva sušenje i aktivaciju, i time produžava i poskupljuje analizu. Novom tehnologijom i *QuEChERS* materijalima, koriste se slabi anjonski izmenjivački sorbenti kao što je primarni sekundarni amin (PSA), aminopropil (NH₂) ili dietilaminopropil (DEA) i modifikovani silicijum dioksid koji se često koristi za prečišćavanje uzoraka hrane zajedno sa jakim sorbentima za razmenu anjona (SAX, QMA). Magnezijum sulfat ima funkciju da razdvaja vodu od organskog rastvarača, adsorbent primarni sekundarni amin uklanja šećere i masne kiseline, dok C18 pakovanja u *QuEChERS* tubama imaju funkciju uklanjanja nepolarnih interferirajućih supstanci kao što su masti.

Postupak pripreme uzoraka za analizu obuhvata nekoliko koraka. Na analitičnoj vagi odmeri se 10 grama uzoraka za analizu, koji je prethodno homogenizovan, dodaje se 10 ml acetonitrila i internog standarda, a po potrebi kod uzoraka sa malom sadržajem vode i dodaje se 10 ml vode pre dodavanja acetonitrila. Posle svake faze dodavanja koristi se vorteks mešalica u toku 2 minuta. Za prvu fazu ekstrakcije može se koristiti *QuEChERS* ekstrakcioni kit koji je napravljen od soli anhidrovanog magnezijum sulfata i natrijum hlorida ili smeše sledećih soli: magnezijum sulfata, natrijum hlorida, natrijum citrata i dinatrijum-citrat-seskvihidrata. Pomenute smeše soli mogu biti pakovane sa i bez keramičkih homogenizatora koji mogu povećati efikasnost homogenizacije i razdvajanja slojeva ekstrakta acetonitrila koja se koristi u drugoj fazi. Za prečišćavanje ekstrakta u drugoj fazi nakon centrifugiranja koriste se d-SPE ekstrakcioni kitovi od kojih se najčešće koriste pakovani sa primarnim sekundarnim aminom (PSA), sorbentom C18 i anhidrovanim magnezijum sulfatom. Konačni ekstrakti u acetonitrilu se nakon centrifugiranja uparavaju u stuji azota i rekonstituišu u etil acetatu, heksanu ili acetonitrilu. Odnos prisutvnih soli u prvoj fazi, a u drugoj odnos i sastav zavisi od načina izbora metode za validaciju, ispitivanog matriksa i analita, kao i osetljivosti instrumenta, što se potvrđuje kroz recovery. Različiti proizvođači u ponudi imaju ekstrakcione kitove različitih odnosa i sastava. A mnogi autori su testirali različite eksperimentalne uslove za ekstrakciju kao što su ugljen dioksid, temperatura, različite zapremine i pritisak u cilju optimizacije eksperimentalne metode.

Da bi se uklonile smetnje koje potiču od hlorofila, sterola i drugih pigmenata, preporučuje se upotreba

grafitnog crnog ugljenika (GCB), pre svega za određivanje obojenih uzoraka (Muhammad et al, 2017). Iako tradicionalni GCB efikasno uklanja molekule pigmenta, on takođe zadržava planarne pesticide kao rezultat π - π interakcija između grafitnog ugljenika i planarnih struktura pesticida. Da bi sprečili ovaj problem, proizvođači *QuEChERS* ekstrakcionih kitova predlažu ili upotrebu manje količine GCB u tubama za prečišćavanje ili dodavanje toluena u ekstraktu acetonitrila kako bi se smanjilo vezivanje planarnih pesticida za GCB. Drugi pristupi prečišćavanja SPE uključuju kombinaciju GCB (grafitnog crnog ugljenika) i PSA kolone, kombinacija C18, GCB i aminopropila i kombinacija GCB, PSA i SAX kolona.

Modifikacija SPE je disperzivna ekstrakcija čvrstom fazom (dSPE). Dispersive-SPE uključuje mešanje sorbenta sa ekstraktom u poletilenskoj tubi za centrifugu gde se zadržavaju interferencije koje potiču od matriksa, ali ne i analiti. Modifikacija SPE, takozvana mikroekstrakcija u čvrstoj fazi (SPME), uključuje adsorpcija analita na vlaknu presvučenom odgovarajućom čvrstom fazom koja se može izbaciti iz mikro šprica. Analit se zatim termički desorbuje i prebacuje u injektor gasnog ili tečnog hromatografskog sistema. Pomenuta metoda nije pogodna za slabo isparljiva ili termički nestabilna jedinjenja.

2. REZULTATI I DISKUSIJA / RESULTS AND DISCUSSION

U potrazi za pristupom za određivanje pesticida novim materijalima uz pomoću kojih bi analiza bila brza, jednostavna, jeftina, efikasna i sigurna u potpunosti je usavršena *QuEChERS* metoda. *QuEChERS* je visoko efikasna tehnika pripreme uzoraka za istovremenu analizu velikog broja pesticida u različitim matriksima. Ova metoda se zasniva na isoljavanju ekstrakcijom sa rastvaračem (uglavnom acetonitri- lom) praćenom disperzivom ekstrakcija čvrste faze (d-SPE) koju je razvio M. Anastassiades. *QuEChERS* ekstrakcija i pristup podrazumeva pripremljene ekstrakcione soli, npr. anhidrovani magnezijum sulfat i primarni sekundarni amin (PSA) sorbent u ekstrakcione tube. Uzorci se homogenizuju u zamrznutom stanju (ili uz dodatak suvog leda) da bi se postigao najbolji recovery. Ekstrakcija se izvodi u organskom rastvaraču, acetonitri- lu puferisanom na pH 5-5,5 (Steinborn et al, 2017).

Posle centrifugiranja, organska faza se prečišćava disperzivnim SPE primenom primarnog sekundarnog amina (PSA) i grafitnog crnog ugljenika (GCB po potrebi). Anhidrovani magnezijum sulfat se dodaje da bi uklonio ostatak vode. Ekstrakt tretiran PSA zakiseljuje se mravljom kiselinom za povećanje stabilnosti pesticida osetljivih na baznu sredinu. Na

ovaj način pripremljen ekstrakt je spreman za analizu gasnom ili tečnom hromatografijom. Za uzorke sa malim sadržajem vode, manjim od 80% dodaje se dejonizovana voda pre početne ekstrakcije. Najveća prednost korišćenja *QuEChERS* metode je minimalna potrošnja toksičnih rastvarača. Primenom *QuEChERS* ekstrakcionih kitova za određivanje pesticida u voću i povrću, uticaji matriksa su smanjeni i omogućeno je određivanje velikog broja analita. Metoda može biti modifikovana u zavisnosti od vrste uzorka i ciljanih analiti. Da bi se pospešilo izdvajanje polarnih na baznu sredinu osetljivih pesticida, metoda je modifikovana upotrebom puferisanih soli, kojima se postiže vrednost pH 5. Kada su ispituju uzorci citrusnih voća, zaštita od voska može se ukloniti zamrzavanjem uzoraka najmanje jedan sat.

Sa stanovišta analize, tretiranje uzoraka ostaje izazov u određivanju i razvoju multirezidualnih metoda ispitivanja pesticida. Zbog upotrebe organskih rastvarača kao što je acetonitril, dobijeni ekstrakti tipično sadrže relativno velika količina koekstrahiranih masnih kiselina i triacilglicerida zajedno sa polarnim pigmentima. Shodno tome, postoji potreba za uključivanjem dodatnih koraka s ciljem prečišćavanja prisustnih masti u konačnom ekstraktu podvrgnutom hromatografiji spregnutog sa masenom spektrometrijom, a to već samo po sebi predstavlja izazov, pod uslovom da je široki spektar pesticida i njihova različita fizičko-hemijska svojstva koja treba razmotriti u ispitivanim metodama. Različiti pristupi zasnovani na novim sorbentima koji se koriste u režimu disperzivne ekstrakcije u čvrstoj fazi (dSPE) ocenjene se kroz praćenje recovery i stepena prečišćenosti ekstrakta. Nije samo važno kvantitativno izdvajanje pesticida, već i uticaj matriks efekta, posebno kada se koristi tečna hromatografija (tandemska) masena spektrometrija kao metoda detekcije. Uspešnost prečišćavanja kompleksnog matriksa potvrđena je korišćenjem PSA i određivanjem piretroida i organofosfatnih pesticida u uzorcima tkiva goveda, ovaca i koza (Hamadamin i Hassan, 2020).

Za uzorke sa visokim sadržajem karotenoida ili hlorofila, prečišćenje pomoću PSA nije zadovoljavajuće i postoji potreba da se koristi GCB koji je najbolji u rukovanju i efektu. Praktičniji način izvođenja metode disperzivne SPE je za ekstrakciju korišćenje pipete za jednokratnu upotrebu (DPX) propipeta. *QuEChERS* pristup je vrlo fleksibilan i služi kao polazna osnova za modifikacije. Postoje dva standarda u koja uključuju upotrebu dva različita pufera: američki standard (AOAC), koji uključuje upotreba acetatnog pufera i evropski standard EN 15662, koji uključuje upotrebu citratnog pufera.

Primena ekstrakcije zemljišta u prvoj fazi citratnim puferom, a u drugoj fazi uz korišćenje C18 ili

GCB kita uz magnezijum sulfat i PSA, dokazan je znatno veći recovery korišćenjem kombinacije sa C18, razlog je zadržavanje nekih planarnih pesticida za GCB adsorbent (Lozowicka et al., 2017). Acetonitril se koristi kao rastvarač za ekstrakciju jer je njegova najveća sposobnost velika rastvorljivost pesticida, a mala rastvorljivost ulja i pigmenata, kao i lako izolovanje iz vode. Paralelnim korišćenjem različitih kombinacija ekstrakcionih sredstva za prečišćavanja hrane životinjskog porekla, odnosno mleka, jaja, svinjskog i pilećeg mesa pokazano je da kombinacija PSA i magnezijum sulfat daje najbolji efekat prečišćavanja i najmanji uticaj na recovery. Takođe, ispitivanjem uticaja različitih odnosa i masa pokazalo je da količina od 150 mg magnezijum sulfata i 50 mg PSA najefikasnije adsorbuje nečistoće, a da je poželjno pri prečišćavanju mleka koristiti i C19 ketridže jer zbog prisustva veće količine nepolarnih supstanci se uspešno adsorbuju vitamini, steroli, esencijalna ulja i lipidi. Dok je pri ekstrakciji jaja, zbog slabo bazne sredine i pH vrednosti blizu 8 poželjno dodati mravlju kiselinu u acetonitrili, da bi se smanjio gubitak pesticida, povećala stabilnost pesticida u acetonitrili, i dobile zadovoljavajuće vrednosti za recovery i relativnu standardnu devijaciju u zadatom opsegu od 70-120% (Qin et al., 2018).

QuEChERS pristup koristi prednosti širokog analitičkog opsega i visok stepen selektivnosti i osetljivosti koju se dopunjava detekcijom gasnom i tačnom hromatografijom (GC i LC) spregnutom sa masenom spektrometrijom (MS). Ova metoda je jednostavna, brza i zahteva malu potrošnju rastvarača, što je u eri zelene hemije, predstavlja značajnu prednost. Stoga je ova tehnologija od velikog interesa zbog povoljnih toksikoloških, ekoloških i ekonomskih aspekata. Poslednja faza analitičkog postupka je identifikacija i kvantifikacija jedinjenja korišćenjem odgovarajuće analitičke tehnike. Za multirezidualna određivanja pomoću gasne hromatografije detekcija može biti selektivnim i osetljivim detektorima kao što je plameno fotometrijski (FPD), pulsni plameno fotometrijski (PFPD), azot-fosfor (NPD), detektori sa zahvatom elektrona (ECD) ili detektor masene spektrometrije (GC-MSD).

U današnje vreme upotreba masene spektrometrije je skoro nazamenjiva i nezaobilazna. Masena spektrometrija je vrlo osetljiva i selektivna tehnika za određivanje organskih jedinjenja i identifikacija na nivou traga širokog spektra. Skeniranje u MS sistemu može biti u potpunom režimu i izabranom pojedinačnom jonskom monitoringu (SIM), izborom target jona za odgovarajuće analite što daje veliku selektivnost metode. Uslov za određivanje pesticida korišćenjem gasne hromatografije je da bude isparljiv i termički stabilan.

Analizator vremena leta (TOF) koristi električno polje za ubrzanje jona kroz isto potencijal, a zatim meri vreme koje im je potrebno da dostignu detektor. Ako sve čestice imaju isti naboj, kinetički energije će biti identične, a njihove brzine će zavistiti od njihovih masa. LC, odnosno tečna hromatografija je pre svega idealna za analizu polarnih jedinjenja. LC može biti povezan za konvencionalni detektor poput foto diodnog niza i fluorescencentnog detektora. Međutim, masena spektrometrija (MS) je preferirana jer pruža potvrđne dokaze identiteta jedinjenja. Tečna hromatografija uparena sa masenom spektrometrijom (LC/MS) ili sa tandemskom spektrometrijom masa (LC-MS-MS) ili sa vremenom leta (LC-TOF-MS) je u poslednje vreme postala moćna analitička tehnika za identifikaciju i kvantifikaciju ostataka pesticida u svim prehrambenim proizvodima. Takođe, jednako se koristi u analizi životne sredine i hrane zbog visokog osetljivost koja se postiže pomoću odabranog praćenja reakcija (SRM) režim akvizicije.

U izveštaju Evropske Unije o ostacima pesticida prisutnim u hrani za 2015. godinu (EFSA, 2017) od strane Evropske agencije za sigurnost hrane (EFSA) koji su ispitivani prema Uredbi (EZ) br. 396/2005 o maksimalnim nivoima ostataka pesticida, dati su podaci ispitanih preko 5 hiljada različitih organskih proizvoda. Pregled i poređenje uzoraka organske hrane prema konvencionalnoj hrani ukazuje na znatno manju kontaminaciju u uzorcima organske hrane gde je stopa prekoračenja MDK vrednosti 0,7% u organskoj u odnosu na 2,9% za konvencionalnu hranu. U organskim proizvodima kvantifikovano je 140 različitih pesticida, što se odnosi na rezultate sa koncentracijama na ili iznad LOQ.

Ovakvo jednostavna i brza metoda koja zahteva malu količinu rastvarača u pogledu zelene hemije ima značajnu prednost za određivanje prisustva pesticida u masnoj hrani koja predstavlja jedan od najsloženijih matriksa ispitivanja (Tasić et al, 2019). Zbog toga je ova tehnologija od velikog značaja jer su zahvaljujući ovoj ekstrakciji i ispitivanju povoljni toksikološki i životni uslovi, kao i ekonomski aspekti. Uspešno uklanjanje nepolarnih smetnji od lipada i masti postignuto je prečišćavanjem uz pomoć sorbenta C18 odlične sposobnosti, kao što je potvrđeno i pri ispitivanju drugih uzoraka. Takođe, još bolje i efikasnije prečišćavanje postiže se upotrebom novih sorbentnih materijala Agilent uz obavezno uklanjanje masti u matriksu takozvanim EMR-lipid sredstvima za prečišćavanje kojima se postiže bolji recovery kod više od 83 % od ispitivanih 213 pesticida u matriksima kao što su maslinovo i suncokretovo ulje (Vazquez et al., 2016). Dobijene količine pesticida u organskom mleku, potvrđuju

značaj organske proizvodnje i zelene hemije, kao i sve zastupljenijeg korišćenja biohemijskih pesticida. Takođe, i u drugim organskim proizvodima istraživanja ukazuju na prisustvo pojedinačnih pesticida u organskim proizvodima, npr. jagodama, gde je ispitivanim uzorcima potvrđeno prisustvo pesticida azoksistrobina, lambda-cihalotrina i tiametoksamina ispod MDK vrednosti (Kobi et al, 2018).

Zbog tendencije opstanka pesticida duže vreme u životnoj sredini i prelaska u lanac ishrane, organska proizvodnja zahteva upotrebu biofertilizera i biopesticida. Biopesticidi potiču od prirodne supstance ili materijala kao što su životinje, biljke, bakterije i minerali. Odnosno, biohemijske pesticide predstavljaju feromni insekta, biljni ekstrakti i ulja, regulatori rasta biljaka i regulatori rasta insekata dok mikrobiološke pesticide obuhvataju bakterije, virusi i gljivice. Prednost korišćenja biopesticida je manja toksičnost, brza biorazgradivost, ciljanost na specifične štetočine, kao i uspostavljanje ekološke ravnoteže. Sve veći broj naučnika usmerava rad na pronalasku insekticida biljnog porekla, među kojima je jedan od vodećih azadirachtin, supstanca izolovana iz biljke *Azadirachta indica*, poznata kao Nim drvo. Azadirachtin smanjuje brojnost lisnih vaši, krompirove zlatice i komaraca, njegovo delovanje je sporo, a veće doze oponašaju efekte hlortpirifosa (Grahovac et al, 2009). Biopesticidni proizvodi sada su dostupni komercijalno za suzbijanje štetočina i bolesti, a njihova uporeba jedan je dokaza prisustva pesticida u količinama ispod MDK vrednosti ili u većem procentu potpunog odsustva pesticida.

Procena izloženosti i rizika pesticidima obično se zasniva na podacima o ostacima iz podataka o praćenju i potrošnji hrane. Ljudski biomonitoring je alternativna opcija za procenu izloženosti i može doneti dodatnu vrednost za procenu hemijskog rizika jer može smanjiti potrebne pretpostavke u vezi sa stopama potrošnje i potencijalne dodatne izvore iz životne sredine.

ZAKLJUČAK / CONCLUSION

Da bi se osiguralo zdravlje i sigurnost hrane i hrane za životinje u svetu i kod nas svakodnevno se sprovodi kontrola i monitoring gde se u ispitivanjima prate smernice o maksimalno dozvoljenim količinama rezidua pesticida. Posebno je važno te stroge kriterijume koristiti i tokom kontrole organskih proizvoda, jer za njihovu proizvodnju nije dozvoljeno primenjivati sintetičke pesticide. Trend ka upotrebi novih, bržih i jednostavnijih materijala s minimumom čišćenja može olakšati određivanje pesticida i smanjiti cenu analize, s druge strane ekstrakti sa visokim koncentracijama koekstrahovanih supstanci neizbežno vode bržoj kontaminaciji analitičkih sistema. Sve veća

osetljivost masenih spektrometara omogućava razblaženje ekstrakata, a samim tim i koekstrahovane supstance iz matriksa, što za određene tipove uzoraka može umanjiti stopu kontaminacije. Upotreba novih *QuEChERS* materijala je jednostavan put do brzog i pouzdanog određivanja prisustva pesticida u odgovarajućem matriksu i istovremeno važna informacija o stanju zagađenosti životne sredine i uticaju na zdravlje čoveka. Ostaje nada da će se posvetiti više pažnje organskoj proizvodnji i smanjiti uporeba pesticida i na taj način sačuvati zdrava životna sredina. Zahvaljujući novim materijalima, kakva je moderna *QuEChERS* priprema i sofisticiranim instrumentalnim tehnikama analiza pesticida postaje pouzdana i značajna. Značaj ispitivanja i monitoringa vodi nas razmišljanju i o budućim generacijama koji ostaju iza nas, a kojima nekontroliranom upotrebom pesticida narušavamo i ugrožavamo životnu sredinu i ljudsko zdravlje.

Zahvalnica / Acknowledgement

Priznanje prema Ministarstvu prosvete, nauke i tehnološkog razvoja (Ugovor broj 451-03-68/2020-14/200030).

LITERATURA / REFERENCES

- [1] Ananstasiades, M., Lehotay, S. (2003), *Journal of AOAC International* 86 (2), 412-431.
- [2] Ariffin, F., Rahman, S. A. (2020), *JEMAT*, 8(1), 50-57.
- [3] Bian, Y., Liu, F., Chen, F., Sun, P. (2018), *Food Chemistry*, 250, 230-235.
- [4] Biziuk, M., Stocka, J. (2015), *International Journal of Environmental Science and Development*, 6 (1), 18-22.
- [5] *EFSA Journal*, 15(4), (2017), 4791. www.efsa.europa.eu/efsajournal
- [6] Grahovac, M., Inđić, D., Lazić S., Vuković, S. (2009), *Pesticidi i fitomedicina*, 24, 245-258.
- [7] Hamadamin, A. Y., Hassan, K. I. (2020), *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27, 887-893.
- [8] Ivanović, V., Gašić, M., Perić, G., Krulj Mladeno-
vić, M. (2016), *Ecologica*, 23 (84), 790-794.
- [9] Kobi, H.B., Martins, M.C., Silva, P.I., Souza, J.L.,
Carneiro, J.C.S., Heleno, F., Queiroz, M.E.L.R.,
Costa, N.M.B. (2018), *Fruits* 73, 39-47.
- [10] Lawal, A., Wong, R., Tan, G. H., Abdulrauf, L. B.,
Alsharif, A. M. A. (2018), *Journal of Chromatographic Science*, 56 (7), 656-669.
- [11] Lozowicka, B., Rutkowska, E., Jankowska, M. (2017), *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 7124-7138.

- [12] Mirić, M., Šobajić, S. (2002), *Zdravstvena ispravnost namirnica*, Naučna knjiga, Beograd, 45 str.
- [13] Muhammad, M., Jan, M. R., Shah, J., Ara, B., Akhtar, S., Rahman, H. (2017), *Journal of Analytical Science and Technology*, 8(12), 1-10.
- [14] Qin, X., Zhao, L., Huang, Q., Liu, Y., Xu, Y., Qin, D., Liu, Y. (2018), *Food Analytical Methods*, 11, 1493-1500.
- [15] Steinborn, A., Alder, L., Spitzke, M., Dörk, D., Anastassiades, M. (2017), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 1296-1305.
- [16] Tankiewicz, M. (2019), *Molecules*, 24, 417; doi: 10.3390/molecules24030417.
- [17] Tasić, A., Nešić, K., Pavlović, M., Mitrović, T., Ignjatović, Lj. (2019), *Ecologica*, 26 (94), 253-258.
- [18] Vazquez, P., Ucles, H., Cutillas, M., Galera, M., Mughari, A.R., Alba, F. (2016), *Journal of Chromatography A*, 1463, 20-31.
- [19] Vilchez, J.L., Prieto, A., Araujo, L., Navalon, A. (2001), *Journal of Chromatography A*, 919, 215-221.
- [20] Zanella, R., Prestes, O. D., Friggi, C., Martins, M., Adaime, M.B. (2012), An Overview About Recent Advances in sample Preparation Techniques for Pesticide Residues Analysis in Cereals and Feedstuffs, doi: 10.5772/48752.