

Pesticidi i polutanti životne sredine u organskom medu prema njihovoj raznolikosti u proizvodnim područjima u cilju zaštite zdravlja ljudi

Pesticides and environmental pollutants in organic honeys according to their diversity of production areas in order to protect human health

Aleksandra Tasić^{1}, Ivan Pavlović², Tatjana Šolević Knudsen³, Dušan Nikolić⁴*

^{1,2}Naučni Institut za veterinarstvo Srbije, Janisa Janulisa 14, 11107, Beograd, Srbija /
Scientific Institute of Veterinary Medicine of Serbia, Janisa Janulisa 14, 11107, Belgrade, Serbia

³Univerzitet u Beogradu, Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju - Centar za hemiju, Nemanjina 12, 11000 Beograd, Srbija /
University of Belgrade, Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy - Center for Chemistry, Nemanjina 12, 11000 Belgrade, Serbia

⁴Univerzitet u Beogradu, Institut za multidisciplinarna istraživanja, Katedra za biologiju i zaštitu unutrašnjih voda, Kneza Višeslava 1, 11030 Beograd, Srbija /
University of Belgrade, Institute for Multidisciplinary Research, Department of Inland Water Biology and Protection, Kneza Višeslava 1, 11030 Belgrade, Serbia

*Autor za prepisku / Corresponding author

Rad primljen / Received: 18.03.2023, Rad prihvaćen / Accepted: 09.05.2023.

Sažetak: U poslednjoj deceniji trend potrošnje meda je drastično porastao u svetu. Razlog je sve veći akcenat na konzumaciji meda zbog njegovih pozitivnih efekata na zdravlje zbog antibakterijskih i antioksidativnih svojstava meda. S druge strane, pesticidi, posebno insekticidi i akaricidi, su glavni uzročnici koji mogu da kontaminiraju med i ugroze njegov kvalitet. Iz tog razloga je određivanje ovih polutanata neophodno i važno, budući da je upotreba pesticida svake godine sve veća zbog potrebe proizvodnje hrane, a mnogi od njih se nakon upotrebe dugo nalaze u životnoj sredini. Na ovaj način pčele i med se mogu svrstati u ekološke indikatore. Savremene tehnike, kao što je gasna hromatografija sa masenom detekcijom, imaju mogućnost da detektuju veliki broj pesticida istovremeno na nivou tragova. Ekstrakcija pesticida iz meda je veliki analitički izazov zbog složenosti matriksa koji sadrži oko 300 hemijskih jedinjenja iz različitih grupa kao što su šećeri (monosaharidi i oligosaharidi), organske kiseline, aminokiseline, enzimi, hormoni, flavonoidi, vitamini, eterična ulja i steroli. Različiti pristupi zasnovani na novim sorbentima u fazi prečišćavanja tokom postupka pripreme nedavno su evaluirani kako bi se dobili zadovoljavajući parametri validacije metode. Brza metoda prečišćavanja korišćenjem disperzivne ekstrakcije čvrste faze obezbeđuje način da se dobiju čisti ekstrakti sa odličnim rezultatima za spajk. Poslednjih godina je veliki broj naučnih publikacija koje su razvile osetljivu i tačnu metodu za određivanje rezidua pesticida u uzorcima meda. Fokus istraživanja bio je na validaciji metode za određivanje organohlornih pesticida, amitraza i 2,4 dimetilnilina u medu proizvedenom u Srbiji. Cilj je bio da se validira metoda kako bi se pronašao najpouzdaniji odgovor na pitanje o bezbednosti meda na teritoriji Republike Srbije i odgovor na pitanje o prisustvu rezidua pesticida u medu. Rezultati istraživanja su rezultati dobijenih analiza o prisustvu pesticida u različitim vrstama meda iz Srbije. Dalje je prikazan pregled rezultata drugih autora, kako o najnovijim rezultatima ispitivanog meda, tako i o prisustvu polutanata u zemljama u okruženju.

Ključne reči: polutanti, organski med, gasna hromatografija, pesticidi.

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

²orcid.org/0000-0003-4751-6760, e-mail: dripavlovic58@gmail.com

³orcid.org/0000-0002-2419-153X, e-mail: tsolevic@chem.bg.ac.rs

⁴orcid.org/0000-0003-2004-1662, e-mail: dusan@imsi.rs

Abstract: In the last decade, the consumption trend of honey has increased dramatically in the world. The reason is the growing emphasis on the consumption of honey due to its positive effects on health due to the antibacterial and antioxidant properties of honey. On the other hand, pesticides, especially insecticides and acaricides, are the main causes that can contaminate honey and compromise its quality. For that reason, the determination of these pollutants is necessary and important, since the use of pesticides is increasing every year due to the need to produce food, and many of them are in the environment for a long time after use. In this way, bees and honey can be classified as environmental indicators. Modern techniques, such as gas chromatography with mass detection, have the ability to detect a large number of pesticides simultaneously at the trace level. Extraction of pesticides from honey is a great analytical challenge due to the complexity of the matrix containing about 300 chemical compounds from different groups such as sugars (monosaccharides and oligosaccharides), organic acids, amino acids, enzymes, hormones, flavonoids, vitamins, essential oils and sterols. Different approaches based on novel sorbents for clean-up step in preparation procedure have been recently evaluated in order to obtain satisfactory method validation parameters. A quick purification method using dispersive solid phase extraction provides a way to obtain pure extracts with excellent recovery results. In recent years, a large number of scientific publications have developed a sensitive and accurate method for pesticide residue determination in honey samples. The focus of the research was on the validation of the method for the determination of organochlorine pesticides, amitraz and 2, 4 dimethylaniline in honey produced in Serbia. The aim was to validate the method in order to find the most reliable answer to the question about the safety of honey in the territory of the Republic of Serbia and the answer to the question about the presence of pesticide residues in honey. The results of the research are the results of the obtained analyzes on the presence of pesticides in different types of honey from Serbia. Further it gives an overview of the results of other authors, as about the latest results of the examined honey and the presence of contaminants in the surrounding countries.

Keywords: pollutants, organic honey, gas chromatography, pesticides.

UVOD / INTRODUCTION

Med je kompleksan matriks koji sadrži preko 300 hemijskih jedinjenja iz različitih grupa kao što su šećeri (fruktoza, glukoza, zbirno u najvećem procentu, između 60 i 75%), organske kiseline, aminokiseline, enzimi, hormoni, flavonoidi, vitamini, eterična ulja, steroli i fosfolipidi (Gaweł i dr., 2019; Marghitas i dr., 2010). Značaj meda ogleda se u prijatnom ukusu, ali i sve većoj primeni i preporuci za upotrebu u medicinske svrhe, pre svega za povećanje imuniteta organizma, posebno u toku COVID pandemije. Lekovita svojstva meda potiču zbog različitih fizičkih i hemijskih svojstava, odnosno komponenti koje imaju antibakterijska, ali i antioksidativna svojstva (Džugan i dr., 2020). Zbog toga sve veći problem predstavlja med koji može biti kontaminiran pesticidima koji u medu potiču iz poljoprivredne prakse i zagađene životne sredine (Mrzlikar i dr., 2019). Takođe, korišćenje veterinarskih lekova (akaricida) od strane pčelara direktno u košnici u cilju kontrole grinja *Varoa destructor* je primarni izvor pesticida u medu. Za povećanje prinosa i produžavanje veka pri skladištenju useva upotrebljava se širok spektar pesticida. Korišćenje različitih pesticida dovelo je do kontaminacije životne sredine i useva i na taj način dovodi do potencijalnog rizika po zdravlje ljudi, ali i pčela (Kuchheuser, Birringer, 2021). Tako da je kvaliteta meda i pčelinjih proizvoda ozbiljno ugrožen i sve češće je pitanje o bezbednosti meda i mogućeg prisustva pesticida. Pre svega zbog voćara koji imaju konvencionalno razumevanje poljoprivrede i nedostatak tehničkog razumevanja pesticida, njihove

upotrebe i bezbednosnih aspekata na pčele. Sa druge strane, pesticidi, njihove aktivne materije, njihovi metaboliti ili proizvodi razgradnje mogu imati štetni uticaj na zdravlje ljudi. Stoga je neophodno upoznati potrošače o potencijalnom riziku zbog unosa pesticida redovnom ishranom i ako je potrebno umanjiti zabrinutost. Razni izveštaji ukazuju na rizik zbog prisustva različitih pesticida u hrani sa različitim načinima delovanja.

Iz toga razloga, poslednjih decenija se velika pažnja prosvećuje razvoju tehnikama za ekstrakciju i detekciju pesticida, odnosno određivanju pesticida u svima matriksima životne sredine i hrane. Posebno se daje značaju razvoju multirezidualnog određivanja, odnosno paralelnog određivanja velikog broja pesticida istovremeno. Određivanje pesticida može biti sprovedeno korišćenjem gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom. Takođe, detekcija može biti sprovedena selektivnim i osetljivim detektorima kao što su plameno fotometrijski (FPD), pulsni plameno fotometrijski (PFPD), azot-fosfor (NPD) i detektor sa zahvatom elektrona (ECD). Poslednjih godina upotreba masene spektrometrije je skoro nazamenjiva i nezaobilazna. Masena spektrometrija je vrlo osetljiva i selektivna tehnika za određivanje organskih jedinjenja i identifikaciju na nivou tragova. Skeniranje u MS sistemu može biti u potpunom režimu i izabranom pojedinačnom jon-skom monitoringu, adekvatnim izborom odgovarajućih target jona za svaki analit što daje veliku selektivnost metode. Uslov za određivanje pesticida korišćenjem gasne hromatografije je da ispitivani analit bude isparljiv i termički stabilan.

Pesticidi u medu i proizvodima od meda mogu biti određeni metodama gasne ili tečne hromatografije spregnute sa detektorima masene spektrometrije. Pomenute tehnike su ekstremno moćne i u isto vreme visoko sofisticirane tehnike (Tette i dr., 2016). Većina pesticida može biti detektovana korišćenjem obe tehnike ispitivanja, jer obe tehnike imaju mogućnost uspostavljanja niskih nivoa kvantifikacije. Važan aspekt za stabilnost pesticida u medu je hemijski sastav svakog pesticida. Tokom vremena količina prisutnih pesticida se može promeniti zbog fizičko-hemijskih svojstva pesticida i klimatskih uslova. Na taj način, pomenuti faktori mogu uticati na eksperimentalne podatke i procenu bezbednosti. Na tok analize mogu uticati i degradacione reakcije, kao što su reakcije hidrolize, oksido-redukcije, jonizacije i fotodegradacije, ali i mikrobiološke degradacije (Ariffin, Rahman, 2020). Na stabilnost pesticida može uticati tip matriksa, odnosno njegov sastav, prisustvo organske materije, pH vrednost i sadržaj vode (Bian i dr., 2018). Pesticidi se klasifikuju na osnovu hemijske strukture, porekla i ciljnih organizama. Biopesticidi potiču iz prirodnih izvora - biljaka i bakterija i preporuka su za organsku proizvodnju. Sintetički pesticidi se klasifikuju kao: insekticidi, herbicidi, fungicidi, rodenticidi i akaricidi. Pored toga, pesticidi su grupisani u četiri glavne grupe: organohlorini, organofosfati, karbamati i piretroidi.

Ovaj pregledni rad obuhvata kratak prikaz tehnika korišćenih za određivanje pesticida, prikaz dobijenih podataka analize prisustva pesticida u organskom medu, kao i posledica dosadašnjih kontaminacija pčelinjih proizvoda pesticidima i njihovoj toksičnosti. Cilj rad je da prvenstveno sumira napredak u istraživanju prisustva pesticida u medu i sagledaju dosadašnjih rezultata istraživanja. Prisustvo pesticida u organski proizvedenom medu je svojevrsan biomarker za monitoring stanja i zagađenja životne sredine.

1. MATERIJALI I METODE / MATERIALS AND METHODS

Standardi pesticida su bili visoke čistoće od proizvođača Dr. Ehrenshorfer (LGC, Nemačka), pripremljeni u smeši aceton : heksan (v : v, 1:1) i čuvani u tamnim vijalama na temperaturi od -20°C. Za ekstrakciju i analizu pesticida korišćeni su rastvarači acetonitril i heksan proizvođača PanReacAppliChem (ITW Reagents, Milano, Italija). Ekstrakcioni kitovi, odnosno QuEChERS kitovi su bila proizvođača Phenomenex (Nemačka). Kalibracioni rastvori za kalibraciju linearnih krivih pripremljeni su u heksanu i matriksu blank uzorka meda (0,01; 0,02; 0,03; 0,05 i 0,1 mg/kg). Za recovery eksperimente korišćeni su blank uzorci meda i standardi pesticida (0,01

i 0,02 mg/kg). Spajk je dodat u blank uzorake meda i priprema je sprovedena kao i svakog analiziranog meda. Uzorci meda su bili sa područja Republike Srbije izabrani od najpoznatijih pčelara iz okoline Požarevca (Braničevski okrug), okoline Beograda (Batajnica) i okoline Arilja.

Ispitano je 40 uzoraka organskog meda (15 livadskog i 25 bagremovog meda) sa pomenutih područja. Uzorci su bili u staklenoj ambalaži u količini od 1 kg i čuvani na sobnoj temperaturi. Za analizu je korišćeno 5 g homogenizovanog uzorka meda i dodato je 15 ml vode i 15 ml acetonitrila. Za homogenizaciju faza tokom ekstrakcije korišćena je vorteks mešalica u trajanju od 3 minuta. Za prvu fazu ekstrakcije korišćen je QuEChERS ekstrakcioni kit sastavljen od soli anhidrovanog magnezijum sulfata (6,0 g) i natrijum acetata (1,5 g). Centrifugiranje je sprovedeno brzinom od 4000 rpm u trajanju od 5 minuta. Za prečišćavanje ekstrakta u drugoj fazi korišćen je ekstrakcioni kit koji se sastoji od 1,0 g primarnog sekundarnog amina (PSA), 0,50 g sorbenta C18 i 1,5 g anhidrovanog magnezijum sulfata. Kvantifikacija pesticida je sprovedena na gasnom hromatografu sa masenom spektrometrijskom detekcijom (GC-MS), proizvođača Perkin Elmer. Razdvajanje pesticida je sprovedeno na kapilarnoj koloni Elite-5MS (30 x 0.25 mm ID x 0.25 µm df. Injektovana je zapremina od 2 µl uzorka za analizu na GC-MS sistemu.

2. REZULTATI I DISKUSIJA / RESULTS AND DISCUSSION

Validacija metode je izvedena u cilju izračunavanja tačnosti (recovery), preciznosti, linearnosti, limita kvantifikacije, uticaja matriks efekta u skladu sa smernicama dokumenta Evropske komisije SANTE/11312/2021, odnosno priručnika za analitičku kontrolu kvaliteta i procedure validacije metode za analizu ostataka pesticida u hrani i hrani za životinje (European commission, 2022). Za praćenje i validaciju su ispitani sledeći rezidui organohlorinih pesticida: aldrin, hlordan cis i trans, p,p'- DDT; p,p'- DDE; p,p'- TDE (DDD), dieldrin, endosulfan alfa, endosulfan beta, endosulfan sulfat, endrin, heptahlor, heptahlor epoksid, alfa, beta i delta izomeri heksahlorocikloheksana (HCH), lindan, kao akaracidi amitraz i njegov metabolit 2,4 dimetilniline. Izabrani pesticidi pripadaju grupi perzistentnih organskih polutanata, dok pesticid amitraz može biti korišćen protiv grinja *Varoa destructor*.

Recovery i preciznost su određeni kao srednja vrednost koncentracije od 6 replikata spajkovanog blank uzorka meda na dva koncentraciona nivoa od 0,01 i 0,1 mg/kg. Dobijene vrednosti za recovery su bile u opsegu od 70,0 do 120,0%. Linearnost je

postignuta iz dobijene površine signala na osnovu odgovora ciljanih analita i zadate koncentracije standarda pesticida. Za sve ispitivane pesticide je koeficijent korelacije (R^2) bio veći od 0,99. Matriks efekat procenjen je poređenjem nagiba kalibracije u matriksu i u rastvaraču, tako da je RSD kod svih kalibracija za ispitivane pesticide bila manji od 20 %. Za vrednost limit kvantifikacije (LOQ) dobijena je vrednost od 0,01 mg/kg. Od ispitivanih 40 uzoraka meda u 32 uzoraka (10 livadskog i 22 bagremovog meda) nisu detektovani ispitivani pesticidi. U 5 ispitivanih uzoraka livadskog meda sa područja Arilja detektovani su sledeći pesticidi: amitraz ($0,02 \pm 0,02$ mg/kg), i dieldrin ($0,01 \pm 0,01$ mg/kg). U 3 analizirana bagremova meda iz okoline Beograda detektovani su sledeći pesticidi: amitraz ($0,03 \pm 0,02$ mg/kg) i pp'-DDT ($0,01 \pm 0,01$ mg/kg). Za sve kvantifikovane pesticide maksimalno dozvoljene vrednosti su regulisane Pravilnikom Republike Srbije ("Sl. glasnik RS", br. 91/2022) i Evropskom Regulativom (EC) No 396/2005. Za većinu maksimalno dozvoljena vrednost iznosi 0,05 mg/kg, a za organski proizvedene proizvode 0,01 mg/kg, pa su rezultati prihvatljivi kada se u obzir uzme razmatranje rezultata sa proširenom mernom nesigurnošću. Tako da su dobijene vrednosti za kvantifikovane pesticide u ispitivanim uzorcima meda manje od propisane maksimalne dozvoljene vrednosti i u skladu sa propisanom Zakonskom regulativom. Ove vrednosti nisu zabrinjavajuće, izuzev vrednost dobijena za amitraz, koji ne bi smeo da se koristiti kada je u pitanju organska proizvodnja meda.

Glavni korak u određivanju pesticida je ekstrakcija i prečišćavanje analita iz matriksa meda, kao i uklanjanje interferirajućih supstanci koje mogu ometati kvantifikaciju pesticida. Ekstrakcija pesticida zavisi od njihove polarnosti i tipa matriksa, odnosno prisutnih jedinjenja u matriksu meda. 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 podpomognuta ekstrakcija (Zheng i dr., 2018). 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. Ekstrakcione tehnike prečišćavanja su najčešće: ekstrakcija u čvrstoj fazi, mikroekstrakcija u čvrstoj fazi, ekstrakcija rastvaračem pomoću mešalice i gel permeabilna hromatografija.

Organohlorni pesticidi su najčešće korišćeni pesticidi koji imaju visoku toksičnost i moć bioakumulacije. Za organohlorne pesticide je utvrđeno da su kancerogeni i otporni na procese degradacije u životnoj sredini, sa poluživotom od 10 do 30 godina. Iako je upotreba organohlornih pesticida zabranjena dugi niz godina, njihovo prisustvo se i dalje može detektovati. Organofosfatni i karbamatni pesticidi su jedinjenja koja se trenutno koriste u velikoj meri zbog pristupačne cene, niske postojanosti u uslovima sredine i njihove sposobnosti da ubijaju veliki broj štetočina. Ovi pesticidi inhibiraju enzim acetilholinesterazu u centralnom nervnom sistemu ljudi i insekata, što dovodi do poremećaja u normalnom funkcionisanju centralnog nervnog sistema. Izloženost pesticidima putem hrane dovodi do nakupljanja u ljudskom tkivu i uticaja na zdravlje ljudi, izazivajući slabost mišića, endokrine poremećaje, respiratorni poremećaj, paralizu, a nakon dužeg izlaganja dovode do kancerogenih oboljenja (Zubairi i dr., 2021).

Dobijeni rezultati ispitivanja meda sa različitih područja su u skladu sa rezultatima drugih autora objavljenih u mnogim naučnim časopisima u našoj zemlji i inostranstvu. Od ukupno 155 analiziranih uzoraka meda iz Poljske prikupljenih u periodu od 2015. do 2017. godine, 132 uzorka sadržala su najmanje jedan ostatak pesticida iznad LOQ, što predstavlja 85% svih analiziranih uzoraka. Uzoraka koji sadrže ostatak samo jednog pesticida je bilo 17% svih. Više od četiri pesticida je bilo u 17% uzoraka. Ukupno je pronađen 21 pesticid: tiaklopid, acetamiprid, karbendazim, DMF, DMPF, azoksistrobin, tebukonazol, dimetoat, kumafos, ciprokonazol, boskalid, flutriafol, tau-fluvalinat, tetrakonazol, diazinon, dimoksistrobin, p,p'-DDD, difenokonazol, lindan, propikonazol i protiokonazol destio. Treba istaći da je u EU dozvoljeno korišćenje pesticida koji su detektovani u uzorcima meda. Utvrđeni nivoi koncentracija ostataka pesticida su generalno niski. Među otkrivenim pesticidima nalaze se i veterinarski lekovi kao npr. metaboliti amitraza (DMF, DMPF) i kumafos. DMF i DMPF su ostaci nakon tretmana pčela protiv parazitske bolesti varoe. Amitraz je nestabilan u okruženju košnice, podleže veoma brzo biotransformacijama. Metaboliti amitraza su otkriveni u 35% svih testiranih uzoraka meda. Jedan uzorak je imao količinu amitraza od 0.60 mg/kg, iznad vrednosti MRL, dok je kumafos kvantifikovan u 6% testiranih uzoraka meda (Gawel i dr., 2019).

Pesticidi i veterinarski lekovi su jedan od faktora stresa koji utiču na zdravlje i smrtnost pčela. Istraživanje koncentracije i rizika od toksičnosti za pčele na 294 rezidua od pesticida obavljeno je na 182 uzorka sa Belgijskih teritorija, tokom 2016. Rizik od toksičnosti za pčele izražen regresionim modelom i

modelom zasnovanim na riziku korišćen za predviđanje mortaliteta pčelinjeg društva ukazuje na značajan uticaj hlorfenvinfosu na mortalitet pčela. Ukupno 54 različitih pesticida i veterinarskih lekova pronađena su u četiri vrste pčelinjeg voska. Rezidui sa većom verovatnoćom koji se zadržavaju u pčelinjem vosku primenjuju se u košnici ili sa visokom lipofilnom prirodom. Ovo nacionalno istraživanje o kontaminaciji pčelinjeg voska ukazuje na neophodnost uvođenja maksimalnih nivoa rezidua (Agrebi i dr., 2020). Praćenje prisutva pesticida u medu ima za cilj praćenje rizika po ljudsko zdravlje, jer je med prirodni proizvod koji se široko konzumira u svim starosnim grupama. Ispitivanjem 98 uzoraka organskog meda tokom 2019. i 2020. godine iz različitih oblasti u južnoj Italiji nije utvrđeno prisustvo PCB, polihlorovanih i organofosfatnih pesticida, osim kumafos čija je koncentracija bila od 0,87 do 1,64 ng/g (Panseri i dr., 2020). Ovaj akaricid, koji se poslednjih decenija intenzivno koristi protiv grinja *Varoa destructor*, pokazao je sličan procenat otkrivanja u svim ispitivanim geografskim oblastima. Mnoge studije su objavile da je kumafos postojan u vosku i da se može biti prisutan i u drugim pčelinjim proizvodima, kao što je med. Štaviše, kumafos je jedinjenje koje može da izdrži temperaturu topljenja voska, tako da može da se akumulira godinama. Upotreba kumafosa u pčelinjem društvu protiv parazitske bolesti može da dovede do akumulacije njegovih ostataka ili ostataka njegovih metabolita u medu i drugim pčelinjim proizvodima. Kumafos je stabilan kada je pH sredine kisela, a nestabilan je u baznoj sredini. U Evropskoj Uniji nalaženje kumafosa je definisano regulativom (Reg. (EU) 2017/623) i maksimalna dozvoljena koncentracija (MRL) kumafosa u medu 0,1 mg/kg. U visokim dozama je kumafos veoma otrovan i izaziva neurtoksične efekte zbog blokiranja acetilholinesteraze dolazi do poremećaja u delovanju nervno mišićne sinapse i posledično do paralize mišića. Osim u medu, sve više se značaja daje i ispitivanjima prisutva pesticida u samim pčelama. Analizom 40 uzoraka pčela iz 4 regije Varaždinske županije na sadržaj pesticida dobijeno je od 0,035 do 295 µg pesticida/pčeli (Jurak i sar., 2021). Od 78 ispitanih pesticida, kvantifikovano je njih 15, od kojih su najzastupljeniji imazalil, imidacloprid i paration. Zatrovanost pčela pesticidima utiče na prisustvo pesticida u medu i na taj način na kvalitet, ali i bezbednost meda. Poznato je veliko trovanje pčela u Kikindi 2019. godine, kada su stradale pčele u 1668 košnica zbog velike količine pesticida fipronila (Mihajlović, 2019).

Lazarus i saradnici (2021) su objavili analizu rezultata 61 uzoraka meda iz Hrvatske u kojima nije detektovan nijedan od antibiotika i šest indikatorskih

PCB-a, dok su od ispitanih 121 pesticida jedino kvantifikovani amitraz (kao zbir matičnog jedinjenja i metabolita), amitraz metabolit N-(2,4-dimetilfenil)formamid, DMF i kumafos. Svetska zdravstvena organizacije (2020) je klasifikovala amitraz kao umereno opasno (klasa II), a kumafos kao visoko opasno (klasa Ib) jedinjenje. Kvantifikovani nivoi amitraza (zbir) i kumafosa u medu bili su ispod maksimalnih nivoa rezidua u EU (0,2 i 0,1 mg/kg, respektivno) utvrđenih Uredbom iz 2005. Upotreba amitraza i kumafosa protiv *varoe* u Hrvatskoj dozvoljena je u okviru konvencionalnih košnica. Košnice u organskoj proizvodnji mogu se tretirati samo sa homeopatskim i fitoterapijskim proizvodima (timol, mentol, eukaliptol, kamfor) i prirodnim kiselinama (mlečna, sirćetna, mravlja, oksalna) prema Uredbi Komisije, 2008.

Organska poljoprivreda je osmišljena da funkcioniše poput održive jedinice gde su uključene biljke, životinje, mikroorganizmi, insekti, organske i mineralne materije zemljišta, ali i ljudstvo u cilju proizvodnje hrane bez narušavanja kvaliteta vode i zemljišta, biodiverziteta i životinjske dobrobiti (Janković i dr., 2022). Studija analiza meda u Hrvatskoj potvrdila je prisustvo jednog ili dva sintetička akaricida u 12% ispitivanog organskog (2/16) i 80% (34/45) konvencionalnog meda.

Masovna smrtnost medonosnih pčela dogodila se u Francuskoj 1990-ih što je bilo u isto vreme kada su uvedena dva poljoprivredna insekticida, imidacloprid i fipronil. Simulacijom Holder-a i dr., (2018) potvrđeno je da je samo fipronil proizveo masovnu smrtnost medonosnih pčela. GC/MS analizom je određeno da je praktično sav fipronil koji pčela unese u jednom obroku bio prisutan 6 dana kasnije, što sugeriše da je bioakumulacija osnova vremenski pojačane toksičnosti u kontinuiranoj izloženosti ishrani, odnosno kontretno sirupu. U preglednom radu El-Nahhal-a iz 2020, godine obrađeni su sumirani rezultati ispitanih uzoraka meda iz 27 zemalja (2620 uzoraka meda) gde su pronađena 92 ostatka pesticida. Kada je med u Srbiji u pitanju, u objavljenim radovima je najviše podataka o autentičnosti, fenolnom profilu i antioksidativnom kapacitetu meda (Vasić i dr., 2018), dok podataka o prisustvu pesticida u medu gotovo da i nema.

Evropska agencija za bezbednost hrane (EFSA) veliku pažnju posvećuje pčelarstvu, posebno prisustvu pesticida u medu i drugim pčelarskim proizvodima. U 2018. godini je analizirano 762 uzorka meda i pčelinjih proizvoda (EFSA, 2018). U 601 analiziranih uzoraka (78,9%) nisu pronađeni ostaci pesticida koji se mogu kvantifikovati. U 152 uzorka meda i pčelinjih proizvoda (19,9%) identifikovani su pesticidi na ili iznad LOQ, ali ispod ili na MDK.

Vrednosti sa prekoračenim maksimalno dozvoljenim koncentracijama pesticida su prijavljene u 9 uzoraka (1,2%), najmanje za jedan od analiziranih ostataka. Analizirano je ukupno 667 različitih pesticida. Iznad limita kvantifikacije bili su sledeći pesticidi: tiakloprid (106 uzoraka), amitraz (25 uzoraka), acetamiprid (24 uzorci) i dimoksistrobin (14 uzoraka). MDK su prekoračene za sledeće supstance: glifosat (5 uzoraka), acetamiprid (2 uzorka), boskalid (2 uzorka) i dimoksistrobin (2 uzorka). Zaključak EFSA je da med ima mali doprinos izloženosti ostataka pesticida u ishrani. Stoga, EFSA preporučuje da države članice analiziraju uzorke meda u okviru svojih nacionalnih programa, zadržavajući što širi analitički obim. Sledeće pesticide bi trebalo uključiti kao obavezne: acetamiprid, amitraz, boskalid, dimoksistrobin, glifosat i tiakloprid. Izveštaj EFSA iz 2019 je obradio sledeće podatke: od 1301 analiziranih uzoraka meda i drugih pčelinjih proizvoda, u 1024 uzorka (78,7%) nije pronađeno merljivih ostataka pesticida. U 265 uzoraka (20,4%) pesticida je bilo na ili iznad LOQ, i ispod ili na nivoima MDK su identifikovani. Pesticidi koji su najčešće prijavljeni iznad LOQ su: tiakloprid (173 uzorka), acetamiprid (49 uzoraka), amitraz (37 uzoraka), dimoksistrobin (29 uzoraka), azoksistrobin (27 uzoraka), glifosat (17 uzoraka), kumafos (10 uzoraka) i flonikamid (10 uzoraka). Prekoračenja MDK prijavljena su u 12 uzoraka (0,9%) od kojih je u pet utvrđeno da uzorci (0,4%) nisu usklađeni (EFSA, 2019). Identifikovani su neonicotinoidi (npr. tiakloprid, acetamiprid) i ostaci veterinarskih lekova (npr. amitraz, kumafos).

ZAKLJUČAK / CONCLUSION

Procena izloženosti i rizika od prisustva pesticida obično se zasnivaju na podacima dobijenim praćenjem, odnosno kontrolom pesticida u hrani. Da bi se obezbedila zdrava i sigurna hrana, neophodna je nezagađena životna sredina. Posebno je važna kontrola kvaliteta meda, jer pčele i njihov med predstavljaju prave indikatore životne sredine. Sve veća upotreba pesticida dovodi do zagađenja svakog segmenta životne sredine, a na taj način se ugrožava i zdravlje pčela i ljudi. Ipak, utvrđivanje prisustva perzistentih organskih polutanata je od velikog značaja za sagledavanje stanja životne sredine. Zato je za analizu korišćen upravo organski proizveden med. Ovo je preliminarna studija koja je analizirala prisustvo i koncentraciju pesticida u organskom medu sakupljenom iz pčelinjih društava koja se nalaze u blizini gradova, a poljoprivredna praksa je zasnovana na organskoj proizvodnji. Ovaj način kontrole jeste brz i jednostavan put do pouzdanog određivanja prisustva pesticida u organskom medu i istovremeno važna informacija o stanju zagađenosti životne sredine i uticaju na zdravlje

čoveka. Pesticidi, iako štetni u visokim koncentracijama, imaju i svoje velike prednosti korišćenja. Bez pesticida ne bi se uništile mnoge štetočine i parazitske bolesti. Bitan segment u iskorenjivanju *Varoe* su briga za zdrave pčelinje proizvode, koji se uključuju u lanac ishrane čoveka, briga za zdravu životnu sredinu i briga za razvoj pčelinjega legla. Tako da je pravilno korišćenje pesticida i od strane poljoprivrednika i od strane pčelara, jedini put ka zdravoj hrani i sigurnoj budućnosti.

Zahvalnica / Acknowledgments

Studiju je finansiralo Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Ugovor br. 451-03-47/2023-01/200030).

LITERATURA / REFERENCES

- [1] Agrebi, N., Traynor, K., Wilmart, O., Tosi, S., Leinartz, L., Danneels, E., Graaf, D., Saegerman, C. (2020). Pesticide and veterinary drug residues in Belgian beeswax: Occurrence, toxicity, and risk to honey bees. *Sci. Total Environ.* 745, 141036.
- [2] Ariffin, F., Rahman, S. A. (2020). Biodegradation of Carbofuran; A Review. *JEMAT*, 8 (1), 50-57.
- [3] Bian, Y., Liu, F., Chen, F., Sun, P. (2018). Storage stability of three organophosphorus pesticides on cucumber samples for analysis. *Food Chemistry*, 250, 230-235.
- [4] Džugan, M., Grabek-Lejko, D., Swacha, S., Tomczyk, M., Bednarska, S., Kapusta, I. (2020). Physicochemical quality parameters, antibacterial properties and cellular antioxidant activity of Polish buckwheat honey. *Food Bioscience*, 34, 100538
- [5] EFSA, (2018). The 2018 European Union report on pesticide residues in food, *EFSA Journal*, doi: 10.2903/j.efsa.2020.6057
- [6] EFSA, (2019). The 2019 European Union report on pesticide residues in food, *EFSA Journal*, doi: 10.2903/j.efsa.2021.6491, www.efsa.europa.eu/efsajournal
- [7] El-Nahhal, Y. (2020). Pesticide residues in honey and their potential reproductive toxicity. *Sci. Total Environ.*, 741, 139953
- [8] European commission, (2022). SANTE 11312/2021 Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed
- [9] Gawel, M., Kiljanek, T., Niewiadowska, A., Semeńniuk, S., Goliszek, M., Burek, O., Posyniak, A. (2019). Determination of neonicotinoids and 199 other pesticide residues in honey by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry, *Food Chemistry*, 282, 36-47.

- [10] Holder, P.J., Jones, A., Tyler, C.R., Cresswell, J.E. (2018). Fipronil pesticide as a suspect in historical mass mortalities of honey bees. *PNAS*, 115(51), 13033-13038.
- [11] Janković, M., Bogdanović, A.J., Gajdobranski, A., Miljković, Lj. (2022). Organska poljoprivreda i klimatske promene. *Ecologica*, 29(106), 193-200.
- [12] Jurak, G., Bosnir, J., Racz, A., Brkic, D., Prskalo, I., Kis, D., Ozimec, S., Kalambura, S. (2021). Bio-indicator Detection of Pesticides Residues in the Environment Using Honey Bees. *J. Environ. Prot. Ecol.*, 22(2), 458-466.
- [13] Kuchheuser, P., Birringer, M. (2021). Pesticide residues in food in the European Union: Analysis of notifications in the European Rapid Alert System for Food and Feed from 2002 to 2020. *Food Control*, 133, 108575.
- [14] Lazarus, M., Lovaković, B.T., Orct, T., Sekovanić, A., Bilandžić, N., Đokić, M., Kolanović, B.S., Varenina, I., Jurič, A., Lugomer, M.D., Bubalo, D. (2021). Difference in pesticides, trace metal(loid)s and drug residues between certified organic and conventional honeys from Croatia. *Chemosphere*, 266, 128954.
- [15] Marghitas, L.A., Dezmirean, D.S., Pocol, C.B., Ilea, M., Bobis, O., Gergen, I. (2010). The Development of a Biochemical Profile of Acacia Honey by Identifying Biochemical Determinants of its Quality. *Not. Bot. Horti Agrobot.*, 38(2), 84-90.
- [16] Mihajlović, A. (2019). <https://www.poljoprivrednik.net/poljoprivreda/pcelarstvo/4686-pomor-pcela-u-kikindi>
- [17] Mrzlikar, M., Heath, D., Heath, E., Markelj, J., Borovšak, A.K., Prosen, H. (2019). Investigation of neonicotinoid pesticides in Slovenian honey by LC-MS/MS. *LWT - Food Sci. Technol.*, 104, 45-52.
- [18] Panseri, S., Bonerba, E., Nobile, M., Cesare, F., Mosconi, G., Cecati, F., Arioli, F., Tantillo, G., Chiesa, L. (2020). Pesticides and Environmental Contaminants in Organic Honeys According to Their Different Productive Areas toward Food Safety Protection. *Foods*, 9, 1863.
- [19] Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama ostataka sredstava za zaštitu bilja u hrani i hrani za životinje i hrana i hrana za životinje, *Sl. glasnik RS*, br. 91/2022.
- [20] Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC. *Official Journal of the European Union*, 70, 1-16.
- [21] Tette, P.A.S., Guidi, L.R., Glória, M.B.A., Fernandes, C. (2016). Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. *Talanta*, 149, 124-141.
- [22] Vasić, V., Gašić, U., Stanković, D., Lušić, D., Vukić-Lušić, D., Milojković-Opsenica, D., Tešić, Ž., Trifković, J. (2018). Towards better quality criteria of European honeydew honey: phenolic profile and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 274, 629-341.
- [23] Zheng, W., Park, J.A., El-Aty, A., Kim, S.K., Cho, S.H., Choi, J., Yi, H., Cho, S.M., Ramadan, A., Jeong, J.H., Shim, J.H., Shin, H.C. (2018). Development and validation of modified QuEChERS method coupled with LC-MS/MS for simultaneous determination of cymiazole, fipronil, coumaphos, fluvalinate, amitraz, and its metabolite in various types of honey and royal jelly. *J. Chromatogr. B*, 1072, 60-69.
- [24] Zubairi, A., Takaijudin, H., Yusof, K. W. (2021). A Review on the Mechanism Removal of Pesticides and Heavy Metal from Agricultural Runoff in Treatment Train. *International Journal of Environmental and Ecological Engineering*, 15(2). 75-86.