

**УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ ШТИП**

**ЗЕМЈОДЕЛСКИ ФАКУЛТЕТ**



**М-р Везирка Јанкулоска**

**ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА РЕЗИДУИ ОД ПЕСТИЦИДИ ВО ЈАБОЛКА ОД  
РЕСЕНСКИОТ РЕГИОН**

**ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА**

**Штип, 2018 г.**

<b>Интерен ментор:</b>	<b>проф. д-р Илија Каров</b> редовен професор - Земјоделски факултет Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип
<b>Екстерен ментор:</b>	<b>проф. д-р Горица Павловска</b> редовен професор - Технолошко-технички факултет - Велес, Универзитет „Св. Климент Охридски“ - Битола
<b>Членови на комисија за оценка и одбрана:</b>	
<b>Претседател:</b>	<b>проф. д-р Рубин Гулабоски</b> редовен професор - Факултет за медицински науки Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип
<b>Член:</b>	<b>проф. д-р Душан Спасов</b> редовен професор - Земјоделски факултет Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип
<b>Член:</b>	<b>проф. д-р Виолета Димовска</b> вонреден професор- Земјоделски факултет Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип
<b>Научно подрачје:</b>	<b>Биотехнички науки</b>
<b>Датум на одбрана:</b>	<b>16.07.2018</b>
<b>Датум на промоција:</b>	

## Рецензирани и објавени трудови од истражувањето

**Jankuloska, V.,** Karov, I., Pavlovska, G., Buzlevski, I. (2017). Determination of chlorpyrifos in apple from the Resen region. Journal Food and Environment Safety, Ștefan cel Mare University of Suceava, Romania. University Publishing House of Suceava, 16(1), 34-39.

**Jankuloska, V.,** Karov, I., Pavlovska, G. (2017). Analysis of trifloxystrobin in Golden delicious and Idared by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Journal of Hygienic Engineering and Design, 20, 20-24.

**Jankuloska, V.,** Karov, I., Pavlovska, G., Kalevska, T. (2017). Determination of fenbuconazole in apples (Golden delicious) from different location. Booklet of the 56<sup>th</sup> Science Conference of Ruse University, Razgrad, Bulgaria. FRI-LB-P-1-BFT (R)-06, 400-401.

**Jankuloska, V.,** Karov, I., Pavlovska, G., Kalevska, T. (2017). Determination of fenbuconazole in apples (Golden delicious) from different location. 56<sup>th</sup> Science Conference of Ruse University, "Angel Kanchev" University of Ruse Razgrad, Bulgaria. Reports Awarded with "Best Paper" Crystal Prize. FRI-LB-P-1-BFT(R)-06, 215-218.

**Jankuloska, V.,** Karov, I., Pavlovska, G. (2018). Residue analysis of difenoconazole in apple fruits grown in Republic of Macedonia. Agricultural Science and Technology, 10(1), 63-66.

## БЛАГОДАРНОСТ

*Најтопло и најискрено се заблагодарувам на менторот, проф. д-р Илија Каров што ми овозможи да истражувам во оваа област, за неговиот несебичен ангажман при изработката, одличната соработка и стручните совети кои придонесоа за квалитет на овој труд.*

*Бескрајна благодарност изразувам за проф. д-р Горица Павловска за нејзините стручни совети и поддршка - секогаш кога ми биле потребни. Вистинско задоволство е да се учи од ваков голем научник и професионалец.*

*Огромна благодарност упатувам до проф. д-р Рубин Гулабоски за неговите стручни сугестии и за неговиот голем научен придонес во изработката на оваа дисертација.*

*Најискрена благодарност упатувам до проф. д-р Виолета Димовска за нејзината поддршка и стручни совети при реализација на ова дело.*

*Голема благодарност за проф. д-р Душан Спасов кој даде голем придонес за реализација на оваа докторска дисертација.*

*Најголема благодарност за проф. д-р Виолета Иванова Петропулос за нејзините стручни совети, насоки и поддршка при изработката на ова дело.*

*Изразувам најискрена благодарност до вработените во Државна фитосанитарна лабораторија при Министерството за земјоделство, шумарство и водостопанство во Република Македонија.*

*Најтопла и неизмерна благодарност до моите родители Цветан и Виолета за нивната секојдневна помош, верба, поддршка и разбирање како и благодарност за нивниот совет да продолжам да дејствувам во полето на науката. Без Вас немаше да успеам!*

*Благодарност упатувам кон моите сестри, Бети и Маја, за нивната верба во мене и поддршка. Вистинско богатство е што Ве имам.*

*На мојата душа Викторија, моето сонце што секој ден ме грее, најдлабока и најтопла благодарност за нејзината љубов и топлина и за сè што е Таа. Горда сум што си ми ќерка! Извини за секој миг што сум го пропуштила да бидам со тебе додека ја работев докторската дисертација.*

*И за крај, сега пред самата одбрана на дисертацијата, додека ја пишувам оваа благодарност, ми се чини дека сите овие зборови не се доволно силни во споредба со она што го чувствувам, затоа, ова сфатете го како белешка и дозволете ми својата благодарност да ја изразам на вистинскиот начин во годините што доаѓаат.*

*Ова дело го посветувам на мојата душа Викторија.*

*Биди силна и верувај во Себе!*

# ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА РЕЗИДУИ ОД ПЕСТИЦИДИ ВО ЈАБОЛКА ОД РЕСЕНСКИОТ РЕГИОН

## КРАТОК ИЗВАДОК

Јаболкото е значајна култура која е извор на голем број витамини, минерали и биолошко активни компоненти и е застапена во исхраната на луѓето. Освен во свежа состојба јаболката се користат и како суровина за производство на различни производи. Во Република Македонија јаболкото е значаен овошен водечки вид и најмногу е застапен во Ресенскиот Регион.

При одгледувањето на јаболка, производителите се соочуваат со разни болести и штетници кои им прават штети и од таа причина потребно е да се преземат мерки за нивна заштита вклучувајќи ги и пестицидите. Остатоците (резидуи) од пестициди или нивни метаболити можат да се потенцијална опасност по здравјето на човекот, затоа, приоритетна цел е да се одреди нивното присуство со цел да се избегне можниот ризик за човековото здравје и потребно е да се следат препораките од овластени институции за нивната максимална дозволена концентрација (МДК).

Со примена на најсофистицирани сепарациони техники: ултратечна високо ефикасна хроматографија поврзана со масен детектор (UPLC-TQ/MS) и гасна хроматографија поврзана со масен детектор (GC-MS/MS), по претходна екстракција на резидуите со примена на QuEChERS метода, согласно стандардот МКС EN 15662:2011, се вршеше анализа на резидуите од пестициди во јаболката. Во ова истражување се анализираа две сорти јаболка, ајдаред и златен делишес од пет различни локации од Ресенскиот Регион: (Евла, Кривени, Дрмени, Јанковец и Лавци). Двете сорти на јаболка од Евла и Крвени се анализираа во четири развојни фази на јаболката (јаболко со големина на лешник, јаболко со големина на орев, почеток на зреење на јаболката и јаболка после бербата).

Анализата на јаболката покажа дека постои разлика во детектираните пестициди во двете сорти јаболка одгледувани на две локации (Евла и Кривени) анализирани во развојни фази, но исто така постои и разлика во концентрацијата на резидуите од пестициди во јаболката од различните

локации. Следејќи ја концентрацијата на детектираните пестициди во јаболката се забележува намалување на нивната концентрација што покажува на нивна деградација со текот на времето. Во ова истражување се докажа дека дел од анализираните јаболка се безбедни за јадење, но дел од нив не се безбедни бидејќи содржат резидуи од хлорпирифос, карбендазим (азол), цимоксанил, ометоат и диметоат застапени со неколку пати повисока концентрација од максимално дозволената.

Со цел потрошувачите да се обезбедат со безбедна храна која не содржи резидуи од пестициди со концентрација над максимално дозволената, потребен е мониторинг и контрола на производите. Потребна е едукација на земјоделските производители за да се намали примената на пестициди, а да се зголеми примената на други мерки за заштита како што е интегралната заштита.

**Клучни зборови:** *ајдаред, златен делишес, фунгициди, инсектициди, UPLC-TQ/MS, GC-MS/MS, QuEChERS*

# **DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN THE APPLE IN THE RESEN REGION**

## **ABSTRACT**

Apples, being an integral part of human nutrition, are an important fruit cultivar which is a source of a great deal of vitamins, minerals and biologically active components. As well as being consumed as fresh fruit, apples are also used as a raw material which is processed in the production of a variety of products. In the Republic of Macedonia, apples represent the main fruit species and are mostly cultivated in the Resen region.

In Apple cultivation producers face various diseases and pests that cause damage to apples which necessitates the introduction of preventive measures that include the use of pesticides. As pesticide residues and their metabolites may be a potential hazard to human health, the primary concern is to determine their presence in order to avoid the potential risk to human health. It is of vital importance to follow guidelines and recommendations by authorized institutions for their maximum residue limit (MRL).

With the use of the most sophisticated separation techniques: ultra performance liquid chromatography with a triple quadruple mass spectrometry (UPLC-TQ/MS) and gas chromatography with a tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) after pre-extraction of residues using the QuEChERS method and in accordance with MKC EN 15662:2011 standard, an analysis of pesticide residues in apples was carried out.

In this research, two sorts of apples, Idared and Golden Delicious were analyzed from five different locations in the Resen region (Evla, Kriveni, Drmeni, Jankovec and Lavci). The two sorts of apples from Evla and Krveni were analyzed in four development stages of apples (hazelnut-sized apple, walnut-sized apple, apples at the beginning of ripening and postharvest apples).

The analysis of the apples showed that there is a difference in detected pesticides in two sorts of apples cultivated in two locations (Evla and Kriveni) which were analyzed in developmental stages, but there is also a difference in the concentration of pesticide residues in apples from different locations. In the



observation of the concentration of pesticides detected in the apples, a decrease in their concentration is noticeable which indicates their degradation over time. This study proved that some of the apples analyzed are safe to eat, whereas some are not safe due to the fact that they contain residues of chlorpyrifos, carbendazim (azole), cymoxanil, omethoate and dimethoate with several times higher concentration than the maximum allowed.

In order to ensure that consumers are provided with safe food which does not contain residues of pesticides with a concentration above the maximum permissible, monitoring and control of products are necessary. Education of agricultural producers is needed to reduce the use of pesticides and increase the use of other protective measures such as integrated protection.

**Key words:** *Idared, Golden delicious, fungicides, insecticides, UPLC-TQ/MS, GC-MS/MS, QuEChERS*

## СОДРЖИНА

1. ВОВЕД .....	4
2. ТЕОРЕТСКИ ДЕЛ.....	8
2.1 Општи карактеристики на јаболката .....	8
2.2 Мерки за заштита на растенија.....	11
2.3 Остатоци (резидуи) од пестициди и техники за екстракција .....	14
2.4 Сепарациони техники за определување на резидуи од пестициди.....	20
2.4.1 Хроматографски методи.....	22
2.4.2 Поими, принципи на хроматографија и анализа на хроматограм .....	22
2.4.3 Течна хроматографија (LC) .....	30
2.4.4 Течна хроматографија со високи перформанси (HPLC) .....	30
2.4.5 Течна хроматографија со масена спектроскопија (LC-MS) .....	33
2.4.6 Ултра ефикасна течна хроматографија (UPLC) .....	37
2.4.7 Гасна хроматографија (GC).....	42
2.4.8 Гасна хроматографија со масена спектроскопија (GC-MS).....	51
3. ПРЕДГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА.....	55
3.1 Преглед на досегашни истражувања за екстракција и анализа на резидуи од пестициди .....	55
4. ЦЕЛ НА ИСТРАЖУВАЊЕ .....	75
5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ НА РАБОТА .....	77
5.1 Материјал на истражувањето.....	77
5.2 Методи на истражување .....	83
6. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....	86
6.1 Резултати од пестициди во јаболка анализирани во развојни фази, 2016 година... 91	
6.1.1 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - прва фаза, 2016.....	91
6.1.2 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - втора фаза, 2016.....	92
6.1.3 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - трета фаза, 2016.....	93
6.1.4 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - четврта фаза, 2016.....	95
6.1.5 Дијаграм на застапеност на пестициди во јаболката ајдаред, 2016 година.....	96

6.1.6 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - прва фаза, 2016.....	98
6.1.7 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - втора фаза, 2016.....	99
6.1.8 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - трета фаза, 2016.....	101
6.1.9 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - четврта фаза, 2016.....	102
6.1.10 Дијаграм на застапеност на пестициди во јаболката златен делишес, 2016 година.....	103
6.2 Резултати од пестициди во готов производ (јаболка за пазар), 2016 година .....	106
6.2.1 Ајдаред од локации Дрмени, Јанковец и Лавци, 2016 .....	106
6.2.2 Златен делишес од локации Дрмени, Јанковец и Лавци, 2016 .....	107
6.3 Резултати од пестициди во јаболка анализирани во развојни фази, 2017 година. ....	110
6.3.1 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - прва фаза, 2017.....	110
6.3.2 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - втора фаза, 2017.....	111
6.3.3 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - трета фаза, 2017 .....	112
6.3.4 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - четврта фаза, 2017.....	114
6.3.5 Дијаграм на застапеност на пестициди во јаболката ајдаред, 2017 година.....	115
6.3.6 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - прва фаза, 2017.....	117
6.3.7 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - втора фаза, 2017.....	119
6.3.8 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - трета фаза, 2017 .....	120
6.3.9 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - четврта фаза, 2017.....	121
6.3.10 Дијаграм на застапеност на пестициди во јаболката златен делишес, 2017 година.....	122
6.4 Резултати од пестициди во готов производ (јаболка за пазар), 2017 година .....	125
6.4.1 Ајдаред од локациите Дрмени, Јанковец и Лавци, 2017 .....	125
6.4.2 Златен делишес од локациите Дрмени, Јанковец и Лавци, 2017 .....	126
6.5 Споредба на концентрацијата на резидуи од пестициди во јаболката со МДК, 2016 година.....	128
6.5.1 Ајдаред од л. Евла и споредба со МДК, 2016 .....	128
6.5.2 Ајдаред од л. Кривени и споредба со МДК, 2016.....	129
6.5.3 Ајдаред од л. Дрмени и споредба со МДК, 2016 .....	130
6.5.4 Ајдаред од л. Јанковец и споредба со МДК, 2016 .....	131
6.5.5 Ајдаред од л. Лавци и споредба со МДК, 2016.....	132
6.5.6 Златен делишес од л. Евла и споредба со МДК, 2016 .....	133
6.5.7 Златен делишес од л. Кривени и споредба со МДК, 2016.....	134
6.5.8 Златен делишес од л. Дрмени и споредба со МДК, 2016 .....	135
6.5.9 Златен делишес од л. Јанковец и споредба со МДК, 2016 .....	136

6.5.10 Златен делишес од л. Лавци и споредба со МДК 2016 .....	137
6.6 Споредба на концентрацијата на резидуи од пестициди во јаболката со МДК, 2017 година.....	139
6.6.1 Ајдаред од л. Кривени и споредба со МДК, 2017 .....	139
6.6.2 Ајдаред од л. Евла и споредба со МДК, 2017 .....	140
6.6.3 Ајдаред од л. Дрмени и споредба со МДК .....	141
6.6.4 Ајдаред од л. Јанковец и споредба со МДК, 2017 .....	142
6.6.5 Ајдаред од л. Лавци и споредба со МДК, 2017 .....	143
6.6.6 Златен делишес од л. Кривени и споредба со МДК, 2017 .....	144
6.6.7 Златен делишес од л. Евла и споредба со МДК, 2017 .....	146
6.6.8 Златен делишес од л. Дрмени и споредба со МДК, 2017 .....	147
6.6.9 Златен делишес од л. Јанковец и споредба со МДК, 2017 .....	148
6.6.10 Златен делишес од л. Лавци и споредба со МДК, 2017 .....	149
6.7 Токсиколошки ефекти на пестициди во јаболката кои се над МДК .....	150
6.8 Статистичка обработка на податоците .....	153
6.9 Најзастапени пестициди во јаболката од различни локации .....	159
6.9.1 Најзастапени пестициди во ајдаред од различни локации.....	159
6.9.2 Најзастапени пестициди во златен делишес од различни локации.....	162
7. ЗАКЛУЧОЦИ .....	168
8. ПРИЛОГ .....	172
9. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА .....	178

## 1. ВОВЕД

Јаболката се извор на јаглехидрати, витамини, минерали, антиоксиданси и други биолошко-активни супстанции (Łozowicka et al., 2013). Поради добрите здравствени придобивки што ги даваат, јаболката се консумираат во текот на целата година. Јаболковите плодови можат да се користат за смрзнување и добивање на различни видови преработки (сок, концентрати, јаболкова киселина, сушени производи итн.) (Nikolić et al., 2009). Поради ова, побарувачката на пазарот на јаболка трае преку целата година. За да се исполни големата побарувачка на јаболка, се одгледуваат различни сорти во различни сезони на берба (од рани до доцни периоди во годината) и притоа, одредена сорта може да е застапена во текот на целата година (пр. златен делишес) (Џексон, 2009).

Според Организација на обединети нации за храна и земјоделие (FAO, 2017) производството на јаболка за 2014 година во Кина е 40 924 797 тони и Кина е главен производител на јаболка во светот, потоа се САД со 5 185 078 тони, Полска со 3 195 299 тони, Турција со 2 480 444 тони јаболка итн.

Според Министерство за земјоделство, шумарство и водостопанство, јаболкото е водечки овошен вид во Република Македонија и е застапен со 62%. Потоа следуваат: сливи со 13%, вишни со 7%, праски со 7%, трпезно грозје со 7% и други овошни видови (крушки, кајсии, бадеми, ореви и др.) со околу 4%. Според статистичките податоци, домашната потрошувачка на јаболка по жител изнесува 12 kg. Вкупната домашна потрошувачка на јаболка се проценува на околу 24748 тони што е околу 20% од домашното производство, додека за индустриска преработка се откупуваат околу 21500 тони. Се проценува дека околу 25% од вкупното производство на јаболка се пласира на домашен пазар додека 75% се преработува или продава на странските пазари (Министерство за земјоделство, шумарство и водостопанство, 2010). Потрошувачката на јаболка, по жител, на годишно ниво во Европа е 160 kg, што претставува најзначајно овошје во Европа (Łozowicka et al., 2013). Производството и потрошувачката на јаболка во однос на вкупното производство и потрошувачка, се наоѓа на трето место веднаш после бананите и цитрусот. Може да се потенцира дека јаболкото е мерка за развиеност на овоштарството во секоја земја, бидејќи со зголемување на бројот на стебла со јаболка се зголемува

интензитетот за овоштарското производство во глобала и обратно (Miletić et al., 2005).

Во Република Македонија, вкупната површина на овоштарниците во 2013 година изнесува 17 336 хектари и во однос на 2007 година бележи зголемување на површините. Од вкупната површина на овоштарници во Република Македонија, 44,7 % припаѓаат на јаболка, а најмала површина отпаѓа на кајсиите со 2,2 % и бобинкаво овошје со 0,4 % (Државен завод за статистика, 2013).

Извозот на овошје и зеленчук за 2014 година изнесува 209,1 милиони долари. Според бројките, извозот на овошје и зеленчук, што е најголема ставка во вкупниот извоз на храна во државата, во 2014 година е за 15 милиони долари, вредносно, поголем споредено со претходната 2013 година, кога се продадени производи на странските пазари во вредност од 193,2 милиони долари. Во 2012 година, извозот на овошје и зеленчук изнесувал 175,4 милиони долари, во 2011 година 197,1 милиони долари, а во 2010 година 181, 1 милиони долари. Податоците покажуваат дека Република Македонија е земја која произведува квалитетни земјоделски производи со препознатлив вкус. Увозот на овошје и зеленчук за 2015 година е 86,9 милиони долари додека за 2016 година е 91,9 милиони долари (Народна банка на Република Македонија, 2017).

Поддршката на овоштарскиот сектор, особено субвенциите за подигање нови овошни насади со употреба на сертифицирани садници, во голем дел го стимулираа производството и извозот на квалитетно овошје (Министерство за земјоделство, шумарство и водостопанство, 2010). Извозот на свежи јаболка од Република Македонија за 2015 година изнесува 82 137 тони, а за увоз на свежи јаболка нема податоци (Државен завод за статистика, 2016).

Следејќи ги официјалните податоци од Државниот завод за статистика од 2011 до 2015 година, годишното производство на јаболка се зголемува односно за 2011 е 124 552 тони, за 2012 година е 127 171 тони, за 2013 година е 112 929 тони, за 2014 година е 95 864 тони, додека за 2015 година е 136 931 тони. Се зголемува и бројот на килограми јаболка по стебло, ако во 2011 година просечно се добиваа 29 kg јаболка, во 2015 година се добиваат 36 kg јаболка (Државен завод за статистика, 2016).

Бројот на овошни стебла во Ресен е 2 458 300, од кои родни стебла се 2 256 800, додека производството на јаболка е 90 450 тони јаболка, односно 40 kg јаболка по стебло. Ова ни покажува дека јаболката како овошен вид најмногу се застапени во Ресен (Државен завод за статистика на Република Македонија, 2015).

Од повеќето сорти на јаболка, во Ресен најмногу се одгледуваат: ајдаред, златен делишес, мутцу, црвен делишес, јонаголд, грени смит, фуџи, гала, рубистар (Општина Ресен, 2016).

Производителите на јаболка се соочуваат со разни болести и штетници кои ги напаѓаат јаболката. Овие болести им причинуваат и економски штети на производителите на јаболка. За да се заштитат јаболката од штетници се применуваат разни заштитни мерки, но најмногу се применуваат хемиски мерки (примена на пестициди). Пестицидите се користат за заштита на плодот од широка палета на штетници при производството на овошје, зеленчук и житарки (Poulsen et al., 2009).

Остатоците од активните материи и нивни метаболити, продукти од нивното разградување како и продукти од реакција помеѓу различните активни материи се познати како резидуи на пестициди (Службен весник на Република Македонија, 156, 2013).

Присуството на овие резидуи и нивните метаболити можат да се потенцијална опасност по здравјето на човекот, затоа, приоритетна цел е да се одреди нивното присуство во храна со цел да се избегне можниот ризик за човековото здравје. Заради оваа причина, Европската комисија има донесено листа за максимална дозволена концентрација (МДК) за резидуи од пестициди што се користат во производството на храна и добиточна храна, регулирани со Регулатива ЕС 396/2005 (Official Journal of the European Union, 2005).

„Максимално дозволени концентрации“ (МДК) е горна дозволена граница за концентрација на резидуи од пестициди во или врз храната, определена врз основа на добра земјоделска пракса и најниска изложеност на потрошувачите, со цел да се заштитат чувствителните популациони групи од потрошувачите, - регулирано во Правилник. Во Република Македонија, максимално дозволените концентрации (МДК) на пестициди се регулирани во Правилник за општи барања за безбедност на храната во однос на максимално дозволените нивоа

на резидуи од пестициди во или врз храната (Службен весник на Република Македонија, 156, 2013).

До скоро време на прво место беше заштитата на овошјето со хемиски средства, додека денес предност има интегралната заштита и биолошките мерки, односно примена на биопрепарати. Бројот на третирања за заштита на културите беше од 10 до 15 пати, додека денеска се тежнее овој број да се намали на 6 до 8 пати, со настојување и понатаму да се намалува (Šovljanski et al., 2008).



## 2. ТЕОРЕТСКИ ДЕЛ

### 2.1 Општи карактеристики на јаболката

Јаболката како едно од најважните листопадни овошја припаѓаат на фамилијата *Rosaceae* и потсемејството *Pomoideae* (Phipps, 1990). Освен јаболката, во оваа фамилија спаѓаат и крушите. Сите овошја што спаѓаат во ова потсемејство имаат мешовити цветни пупки, ливчиња, зачетоци на цветови, јајчник и прашници и два до пет пестици. Цветовите се актиноморфни, содржат по пет сепали и цветни ливчиња, поголем број на прашници и толчник кој може да биде сложен но, и многу едноставен.

Јаболковиот цвет има по пет венечни и чашкини ливчиња. Тој содржи дваесет прашници во три спирали и толчник кој се дели во пет видови соединети во основата (Џексон, 2009).

Јаболковите плодови се јаболчести, содржат јадро со месеста срж и кора. Јаболката кои денес се одгледуваат содржат фиданка која може да биде накалемена или зачната на стебленце, подлога за калемење и меѓустебленце. На пазарот, овие јаболкови фиданки се познати како *Malus X domestica Borkh* (Korban et al., 1984; Lacey et al., 1987) настанати како резултат на хибридизација помеѓу повеќе видови.

Како резултат на хибридизација, денес постојат многу сорти на јаболка кои се одгледуваат ширум светот од кои најпознати се: златен делишес, црвен делишес, ајдаред, фуџи, јонаголд, јонатан, макинтош, гала, грени смит итн. Нивното одгледување зависи од регионот, од климатските и географските услови, од количината на сончевото зрачење, од сувите лета и острите зими, од врнежливите региони итн. проследено со различната отпорност на сортите јаболка кон штетници и болести.

Јаболкото е вкусно овошје, лесно за обработка, содржи ниско ниво на калории. Извор е на витамини и минерали: витамин А и Ц, калциум, фосфор, железо, калиум, растворливи и нерастворливи диетални влакна (Chen et al., 2014). Скоро половина од количеството на витамин Ц се наоѓа под кората на јаболкото, а во кората се наоѓаат нерастворливи растителни влакна. Од растворливите влакна во јаболката присутен е пектинот, кој има голема улога во намалувањето на холестеролот и превенира од атеросклероза и срцеви

болести. Нерастворливите влакна што се присутни во јаболката, влегуваат во гастроинтестиналниот тракт и излегуваат непроменети, ја апсорбираат водата и исфрлајќи ја храната низ дигестивниот систем го заштитуваат телото од задржување на токсични материи и од болести.

Консумацијата на јаболка и нивните здравствени ефекти против канцер, кардиоваскуларни болести, астма и дијабетес е истражувано и од авторите Boyer & Liu (2004). Исхраната богата со овошје и зеленчук кај возрасните и децата помага во одржување и намалување на телесната тежина (United States Department of Agriculture, 2017).

Разни сорти на јаболка имаат и различен хемиски состав. Според истражувањето на авторот Aziz и соработниците (2013), постои разлика во хемискиот состав (влага, пепел, масти, пектини, влакна, протеини, вкупен шеќер, калциум, натриум, калиум, фосфор, магнезиум, железо и витамини растворливи во масло и вода) помеѓу *Malus sylvestris* и *Malus domestica*. *Malus domestica* има предност пред *Malus sylvestris*.

Сортата ајдаред е создадена во 1935 година, од страна на Лејф Вернер во Москоу, Ајдахо, по пат на хибридизација помеѓу сортите јонатан и вагенер. Во производни насади почнува да се одгледува од 1942 година. Ајдаред е диплоидна и средно бујна сорта која цвета многу рано. Плодовите се крупни со тркалезна форма (слика 1). Покожицата има зеленкасто-жолта боја која поминува кон црвена. Плодот е карактеристичен по неговата цврста и мазна поткожица. Месото е цврсто, крцкаво, сочно и благо, со убава структура. Претставува зимска сорта на јаболко. Се бере од крајот на септември до почетокот од ноември. Оваа сорта на јаболка е осетлива на пепелница (*Podosphaera leucotricha*), а толерантна на чадлива краставост (*Venturia inaequalis*) (Џексон, 2009). Заради отпорноста кон складишни болести, оваа сорта може да се складира релативно долго време. Во обични плодочувалишта на температура од 1°C се чува до крај на април, додека во ладилници со контролирана атмосфера на температура од 1,5°C се чува до крај на јуни (Петкоски, 2012).



Слика 1. Ајдаред  
Figure1. Idared

Сортата златен делишес, за прв пат е пронајдена во 1980 година во Западна Вирџинија, САД, како случајно засадено семе. Плодовите се средно големи, тркалезни, имаат зеленкасто-жолта површина и за време на зрелоста добиваат златно-жолта боја (слика 2). Оваа диплоидна, средно бујна сорта е осетлива на чадлива краставост (*Venturia inaequalis*) и толерантна кон пепелница (*Podosphaera leucotricha*) (Џексон, 2009). Доцна цвета и зрее од втората половина од септември, а може да се чува до крајот на мај. Може да се складира со одреден квалитет до 10 месеци, во зависност од условите на складирање. Во ладилници со контролирана атмосфера на температура од 0 до 2°C и релативна влажност на воздухот од 90 % може да се чува до јуни (Петковски, 2012).



Слика 2. Златен делишес  
Figure 2. Golden delicious

Најзастапени болести кај јаболката се: јаболкова пепелница (*Podosphaera leucotricha* (Ell. & Ev.) Salmon, бактериска пламеница (*Erwinia*

*amylovora*), чадлива краставост (*Venturia inaequalis*) (Holb et al., 2005; Poulsen et al., 2009). Најзначајни штетници кај јаболката се: јаболков црв (*Cydia pomonella*), свиткувачи на покожица на плодот (*Pandemis heparana*), јаболков цутојад (*Antonomus pomorum*), лисни минери (*Lithocolletis spp*), минер со тркалезни мини (шумски минер) (*Leucoptera scitella*), јаболкова зелена вошка (*Aphis pomi*), фитофагни пајачиња: црвен овошен пајак (*Panonychus ulmi*) и копривин пајак (двоточкасто пајаче) (*Tetranychus urticae*) (Miletić et al., 2009). Од складишните болести, авторот Xiao и соработниците (2009), ја потенцираат сината мувла предизвикана од *Penicillium expansum* на јаболкото *Malus domestica*. Дејството на флудиоксонил и пириметанил врз овој предизвикувач покажал одлична ефикасност и заштита на јаболката до 7 месеци после складирање.

## 2.2 Мерки за заштита на растенија

Мерките за заштита на растенија се делат на две основни мерки: индиректни и директни.

Индиректни мерки за заштита на растенија се: агротехнички и административни мерки.

Агротехнички мерки ги подразбираат сите операции кои се спроведуваат во производството како што се: обработка на почвата, нега на посевите, култивација на посевите, ѓубрење итн. На пример, кај чадливата краставост на јаболката (*Venturia inaequalis*) потребно е отпадните листови да се покријат со длабоко есенско орање. Во пролет, се врши плитко култивирање за да не дојде до откривање на новите извори за примарна инфекција. Доколку е испуштена есенската обработка, таа се врши рано во пролет, пред остварувањето на примарните инфекции (Baličević & Ravlić, 2013).

Административните мерки ги опфаќаат сите закони и правилници со кои се уредува здравјето на растенијата, мерки и обврски во врска со појава на штетни организми кај растенијата и растителни производи, превенција од нивно внесување и ширење, мерки за сузбивање како и строга контрола при увоз на садници (Службен весник на Република Македонија, Закон за здравје на растенија, 2011).

Директни заштитни мерки се: механички, физички, биолошки и хемиски мерки.

Механички мерки се можни на помали површини и имаат улога кон спречување на ширење на заразата. Како на пример, може да се наведат: уништување на растителни остатоци по прибирање на реколта, кои во најголем случај се главните зарази за наредната вегетација, како и отстранување на заболените растенија веднаш по нивното забележување (Пејчиновски & Митрев, 2007).

Физички мерки опфаќаат примена на ниски и високи температури во затворени простории. Со намалување на температурата се оневозможува развој на одреден штетник. Со зголемување на температурата се уништуваат штетниците во почвата или во стаклениците. Примената на инертни гасови е погодна за сузбивање на штетници во складиштата и другите објекти за чување на производи. Оваа метода има особена примена кај складишните болести и штетници, каде што опасноста од резидуи на пестициди значително ја ограничува примената на хемиски методи (Балтовски, 1981; Каров, 2012).

Биолошки мерки вклучуваат значајни природни непријатели кои имаат улога во сузбивање на штетниците. Биолошката борба е пример на природен циклус кој се развива сам по себе, создавајќи едно природно порамнување и постојано внимавајќи некој одреден вид штетник да не превлада. Оваа регулација на една популација може да биде предизвикана од природно рамнотежните паразити и вештачки внесените организми. Биопестицидите се всушност корисни микроорганизми или нивни продукти, билни екстракти и етерични масла кои се применуваат во заштита на растенијата т.е. тие се алтернатива на хемиските синтетички соединенија. Продукти од метаболизмот на микроорганизмите се: токсини, кристали, спори и антибиотици кои го штитат растението дејствувајќи антагонистички на предизвикувачите на болести, на штетните инсекти, нематодите, а се безопасни за луѓето и за животната средина. Истовремено, корисните микроорганизми можат да продуцираат и витамини, ензими и хормони кои можат да дејствуваат на имуниот систем зголемувајќи ја нивната отпорност (Grahovac et al., 2009). Предноста при примена на биолошките препарати се однесува на нивната ниска токсичност, тие не се штетни за околината, не оставаат токсични остатоци во почвата, имаат силно дејство во мали количини, брзо се разградуваат, се применуваат во органското производство, се селективни и имаат помала резистентност (отпорност) за разлика од синтетичките пестициди.

Хемиски мерки се спроведуваат со употреба на средства за заштита на растенија, со цел намалување на штетата која може да ја извршат штетните организми. Пред примената на хемиските мерки за заштита, мора да се разгледа и направи прогноза за појава на одреден штетник. Прогнозата се темели на следење на климатски услови, на преткултурата, следење на популацијата на штетните организми и следење на фенофазата за развој на одредена култура. Задолжителна е грижата за појава на резистентност на штетникот на поедини средства, времето на каренца, да се следат препораките на советодавната служба како и упатствата на производителот на средствата за заштита на растенија. Средствата за заштита на растенијата се посебни формулирани хемиски соединенија кои служат за заштита на растенијата од штетни организми во кои се вбројуваат габи, инсекти, плевели, птици, полжави, пајачиња, нематоди, бактерии и вируси (Chu et al., 2005). Според авторот Balaž и соработниците (2003) при сузбивање на штетниците и појавата на болести, најголема ефикасност покажале хемиските средства за заштита. На располагање има голем број на пестициди со различен механизам на дејствување. Примената на хемиски мерки против одредени предизвикувачи на болести (*Venturia inaequalis*, *Podosphaera leucotricha*) како неизоставна мерка во заштитата на јаболката, се заснова на одбирање на ефикасни, превентивни и куративни пестициди. Изборот на препаратот се врши во склад со максималниот број на третирања со исти соединенија, механизмот на дејствување и препорачаната количина на примена (Agris, 2008). Роковите на примена треба да бидат во согласност со фенологијата на патогенот и одгледување на растенијата во агроколошки услови.

Интегралната заштита на јаболката заради повеќето предности во последните години добива на значење. Овој вид на заштита подразбира користење на природни непријатели за сузбивање и користење на селективни инсектициди, со што се зачувува животната средина, а истовремено се придонесува за производство на здравствено безбедна храна (Miletić et al., 2009; Fenik et al., 2011).

### 2.3 Остатоци (резидуи) од пестициди и техники за екстракција

Современото земјоделско производство е незамисливо без употреба на пестициди. Уште во 1940 година, пестицидите имале големи бенефити врз квалитетот на земјоделското производство, имајќи го предвид фактот дека штетниците и болестите оштетуваат една третина од културите за време на растот, бербата или складирањето. Земјоделското производство претставува најважна гранка одговорна за обезбедување на потребните количини на храна. Но, сè поголемата употреба на пестициди како средства за заштита на растенијата, прави штети врз животната средина но и врз човековото здравје. Заради овие причини потребен е мониторинг на резидуи од пестициди со цел да се минимизираат потенцијалните штети врз здравјето на човекот (Chu et al., 2005). Остатоци од активни материи и нивни метаболити, продукти од нивно разградување како и продукти од реакција помеѓу различни активни материи кои се користат за заштита на растенија, се познати како резидуи од пестициди.

При консумирање на храна која содржи остатоци од резидуи потребно е да се обрне внимание на акутната референтна доза (ARfD). Акутна референтна доза е определено количество на супстанца во храната, изразена врз основа на телесната тежина, што може да се внесе за краток временски период (обично за време од еден ден) без забележлив ризик за потрошувачот, врз основа на податоци добиени преку соодветни студии, но имајќи ги предвид чувствителните групи од населението.

Акутните труења се манифестираат веднаш по прифаќањето и навлегувањето на отровот, додека хроничните труења се резултат на последователно земање на повеќе помали дози при подолг временски период. Овој начин на труење е особено важен за оние лица што се постојано вклучени во процесот на апликација, лица кои вршат прашење, плевење, берба на плодовите итн. (Šovljanski & Lazić, 2007).

Резидуи од пестициди не смеат да се присутни над максимално дозволени концентрации (МДК), пропишани со закон или правилник. Доколку се покаже дека се над МДК, таа култура, растителен производ или храна треба да се уништи или да се спречи нејзина употреба за исхрана на луѓето или животните. Во Република Македонија, максимално дозволено количество на резидуи од пестициди е пропишано во Правилник за општи барања за

безбедност на храната во однос на максимално дозволените нивоа на резидуи од пестициди во или врз храната (Службен весник, 156, 2013 година). Резидуите од пестициди над максимално дозволените концентрации во земјоделските продукти и храна, во овошје и зеленчук, месо, риба, млеко и млечни производи се резултат на несоодветна примена и апликација на пестицидите во земјоделската пракса и складирање (Bursić et al., 2013). Во таа насока потребно е да се обрне внимание на времето на каренца, односно најкраткиот временски период (изразен во денови) што мора да помине од примената на некое средство до времето на берба или жетва. Почитувањето на време на каренца е гаранција дека во земјоделските производи не се наоѓаат недозволените количества од средствата што се користеле за заштита на растенијата (Jackson, 2003; Cara et al., 2012; Каров, 2012). Толеранца е максимална дозволена концентрација од активната материја (и деградациски производи) од некој пестицид во производот во моментот на негово ставање во промет.

Пестициди кои се дозволени за употребува како средства за заштита во Република Македонија се пропишани во Листа на дозволени активни материји (Службен весник на Република Македонија, 105, 2013).

Анализата на резидуи од пестициди е дисциплина од огромно значење за заштита на здравјето на луѓето, производството и официјалните контроли кои се спроведуваат од страна на овластени институции. Досега, повеќе од 1400 активни материји, кои припаѓаат на различни хемиски соединенија се применуваат врз земјоделските култури со цел контрола од несакани болести, штетници и плевели (Poulsen et al., 2009). Присуството на овие резидуи и нивни метаболити, може да е потенцијална опасност по здравјето, затоа, приоритетна цел е да се одреди нивното присуство во храната со цел да се избегне можниот ризик за човековото здравје и да се произведе безбедна храна. Заради оваа причина, бројни прописи, закони и директиви на Европската Унија имаат поставено максимални граници на резидуи од пестициди и нивни релевантни метаболити во храна (Official Journal of the European Communities, 1998). Постојано има промени во повеќе европски директиви со тенденција да се намалат максимално дозволените концентрации (МДК), да се забранат одредени пестициди или токсични супстанции, но се појавуваат и нови пестициди кои бараат имплементација на специфична методологија (Morales et



al., 2011). Овие цели го поттикнуваат развојот на нови техники и методи за нивна анализа (Garcia-Reyes et al., 2007).

За да се анализираат резидуи од пестициди потребно е претходна подготовка на примерокот и нивна екстракција, а потоа нивна анализа со сепарациони техники. Најчесто, примероците за анализа се многу сложени и за да може да се преведат во форма погодна за анализа потребно е да се направи екстракција, односно концентрирање на примерокот. Кога се работи за примерок кој содржи повеќе компоненти, настануваат интерференции со анализата и тоа доведува до отежнување на анализата. Затоа, анализата треба да се одвои од останатиот дел на примерокот, кој се нарекува матрица. Ова разделување се вика екстракција и се врши со растворувач во кој анализата има поголема растворливост отколку растворувачот во примерокот, додека останатите компоненти не се раствораат во него (Павловска, 2010). Растворувачи кои може да предизвикаат неприфатлива токсичност треба да се избегнуваат и спаѓаат во прва класа. Во оваа група спаѓаат: бензен, јаглеродтетрахлорид, 1,2 - дихлоретан, 1,1 – дихлоретан и 1,1,1- трихлоретан. Растворувачи со помала сериозна токсичност кои ограничено се употребуваат и припаѓаат во втора класа се: ацетонитрил, хлороформ, хексан, метанол, пиридин, толуен, ксилен и др. Растворувачи со мала или незначителна токсичност за употреба се оние од трета класа, а тоа се: оцетна киселина, ацетон, бутанол, етанол, етил ацетат, етил етер, мравја киселина и др. (Кулеванова et al., 2012).

Употребата на различните растворувачи и нивното влијание врз животната средина и тенденцијата за нејзина заштита, придонесе за појава на различни техники на екстракции. Најчести техники за екстракција на резидуи од пестициди од овошје и зеленчук се: течно-течна екстракција (LLE) (кога анализата се извлекува од течен примерок со течен растворувач), течна екстракција под притисок (PLE), течно-течна микроекстракција (LLME), микробранова екстракција (MAE), ултрасонична екстракција (UAE), цврсто-фазна екстракција (SPE), цврсто-фазна микроекстракција (SPME) (Sanusi et al., 2004), матрикс цврсто фазна дисперзија (MSPD), суперкритична флуид екстракција (SFE) и најпознатата екстракција со помош на QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) метод (Baceiro-Gonzalez et al., 2012; Bursic et al., 2013).

Во цврсто-фазната екстракција (SPE), раздвојувањето на анализот се врши со помош на цврста стационарна фаза, силика гел или полимерен гел, а елуирањето на компонентите, најчесто се врши со органски растворувач (метанол или ацетонитрил). Органската компонента од цврстата подлога се поврзува со органскиот анализ од примерокот и на тој начин го екстрахира од него. Екстрахируваниот органски анализ од цврстата фаза се отстранува со елуирање и се преведува во раствор погоден за мерење. Елуирањето се врши со пропуштање на соодветен органски растворувач низ цврстата фаза. Овој растворувач го раствора анализот и не смее да предизвикува интерференции при мерењето кои би ја отежнале анализата (Павловска, 2010). Овој вид на екстракција се користи при анализа со: течна хроматографија (LC), високо-ефикасна течна хроматографија (HPLC) и течна хроматографија со масена спектроскопија (LC-MS) (Lambropoulou et al., 2007).

Модификација на цврсто-фазната екстракција е дисперзираната цврсто-фазна екстракција (dSPE). Овој тип екстракција вклучува мешавина од сорбенти со екстрактот во мини центрифугирана туба за да ги задржи интерференциите од матрицот (Stocska & Biziuk, 2015).

Кога примерокот бавно се екстрахира со мало количество на загреан растворувач и растворувачот се пушта под висок притисок низ материјалот поставен во специјална комора станува збор за течна екстракција под притисок (PLE). При ваквата екстракција се користат течни растворувачи загреани над нивната температура на вриење и под висок притисок, а притоа не ја променуваат нивната агрегатна состојба (Кулеванова et al., 2012). PLE е успешно применет при детерминација на пестициди во различни матрици од храна (Muccio et al., 2006).

Кај суперкритична течна екстракција (SFE) како растворувач се користи определен флуид (гас  $\text{CO}_2$ ) кој во услови на суперкритична температура и притисок преминува во течен  $\text{CO}_2$  (суперкритичен флуид). При овој тип на екстракција однесувањето на флуидот во субкритичната состојба може да се дефинира како мобилен флуид кој има моќ за брзо време да пенетрира низ цврстиот растителен материјал со можност да се намали времето на екстракција и можност за селективна сепарација на фракциите од екстрактот. Доколку екстракцијата се изведува на ниска температура се овозможува заштита на термолабилните и лесно испарливи компоненти. Предноста на оваа

екстракција е поврзана со еколошките работни услови (за разлика со други органски растворувачи), но и за тоа што се добиваат екстрахирани производи кои не содржат остатоци од растворувачот (Кулеванова et al., 2012).

Цврсто-фазна микроекстракција (SPME) е екстракција каде се употребуваат силиконски влакна долги неколку сантиметри и обложени со тенок слој полимер со афинитет кон некоја хемиска група. Вlakното директно се внесува во првичниот екстракт (поставен на мешалка) и откако ќе ги апсорбира посакуваните компоненти се вади и потоа со мало количество на друг растворувач се елуираат компонентите (Mariani et al., 2013). Доколку влакното се стави во добро затворен сад каде што се загрева на одредена температура и стои во просторот од екстрактот, ќе ги апсорбира само испарливите компоненти. Освен на ваков начин, влакното може директно да се внесе во гасен хроматограф, каде што апсорбираните компоненти се десорбираат за понатамошна анализа (Kataoka et al., 2000; Vas & Vekey, 2004; Кулеванова et al., 2012). Цврсто-фазна микроекстракција (SPME) комбинирана со гасна хроматографија со масена спектроскопија (GC-MS) е користена за детерминација на органофосфорни пестициди (хлорпирифос) во вода, почва и зелка. Екстракцијата била извршена со два типа на влакна: полидиметилсилоксан и полиакрил влакна. Вlakната биле ставени директно во примерокот и чувани 1 час. Авторите забележале дека екстракцијата со влакно од полидиметилсилоксан е поефикасна за 1,5 пати кај водата и 2 пати кај почвата, за разлика од влакното од полиакрил. Методот е изводлив и прецизен за детекција на хлорпирифос во почва, вода и зелка (Xie & Du, 2016).

Најефикасен пристап за анализа на резидуи од пестициди е мултирезидуален метод (MPM) со кој се одредуваат различни хемиски групи на пестициди (органофосфорни, органохлорни, тиразини, карбамати итн.) кои имаат различна примена (инсектициди, фунгициди, хербициди итн.). Неговата употреба за прв пат била воведена во 1960 година за детерминација на неполарни органофосфорни пестициди во немасна храна (Mills et al., 1963). Овој метод се однесува на екстракција со ацетонитрил, растворање на екстрактот со вода и ре-екстракција на пестицидите во неполарни растворувачи. Во подоцнежните години мултирезидуалниот метод за анализа на пестициди и нивни метаболити е комбиниран со различни хроматографски методи (Jansson & Markides, 2004; Takatori et al., 2008; Muñoz et al., 2012).

Денес најчесто употребуван метод за екстракција на резидуи од пестициди е QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe). QuEChERS подразбира неколку едноставни аналитички чекори кои лесно се извршуваат и се малку чувствителни на грешки. Така, се обезбедува висок принос на екстракција на голем број аналити, а крајниот екстракт може директно да се анализира со гасна или течна хроматографија.

При QuEChERS методот се користи ацетонитрил (најдобра карактеристика за екстракција со широк опсег на пестициди со најмалку коекстракти), оцетна киселина (за регулирање на pH), пуфери (ја спречуваат деградацијата на аналитите осетливи на pH) и NaCl (ги редуцира поларните интерференции). Како реагенси за отстранување на интерференциите се користи MgSO<sub>4</sub> при што се одвојува водата од органската фаза (Bursić et al., 2103). QuEChERS методот опфаќа три фази: течна микроекстракција, цврсто-фазно пречистување и анализа на резидуите со течна или гасна хроматографија.

QuEChERS методот има предност над другите екстракциони методи бидејќи е брз и релативно евтин. Лабораториската ефикасност е подобрена не само во поглед на намалување на работата и потрошувачка на материјали, туку и во можноста да се анализираат голем број на примероци за кратко време. Исто така, при ваков тип екстракција се користи помал волумен на растворувач во однос на цврсто-фазна екстракција (SPE) и цврсто-фазна микроекстракција (SPME). Предноста на употребата на ацетонитрил за екстракција на резидуи од пестициди е во тоа што овој растворувач има способност да се одвои од водата после додавање на солта, без притоа да има потреба од додавање на неполарен растворувач (Sinha et al., 2012). Исто така, QuEChERS методот овозможува поедноставно пречистување на екстрактот (Anastassiades et al., 2003). Пречистувањето се прави со пренесување на дел од ацетонитрилниот екстракт во епрувета која содржи апсорбент за отстранување на несакани компоненти со што се намалува ефектот на матриксот и се придонесува до подобрување на робустноста на методот. Како апсорбент се користи комбинација од магнезиум сулфат, PSA (примарни и секундарни амини) и силициум диоксид.

## 2.4 Сепарациони техники за определување на резидуи од пестициди

Заради сè поголемата употреба на јаболката како овошје кое се консумира свежо од една страна, и поголемата употреба на пестициди како средства за заштита од друга страна, резидуите од пестицидите побудија голема загриженост за нивното влијание врз здравјето на човекот и затоа е потребна анализа и контрола (Singh et al., 2009).

Кога изведуваме анализа на одреден примерок очекуваме да добиеме хемиски или физички информации во врска со анализот што е во наш интерес.

При изборот на методот за анализа потребно е да се обрне внимание на одредени критериуми како што се: точност, прецизност, осетливост, селективност, робустност, погодност, ниво на работење, време на анализа, достапност на опрема и цена (Perihan et al., 2007; Харви, 2009).

Точност е мерка за тоа колку е блиску добиениот резултат со очекуваниот и се определува со споредба на резултати добиени со мерење на референтни стандарди. Колку резултатите добиени со мерење на испитуваниот примерок и резултатите добиени со мерење на референтни стандарди се послични, толку методот е поточен. Точноста на методот може да се определи и со додавање на точно определени концентрации од анализот кон испитуваниот примерок. Од односот на добиените вредности и теоретски пресметаните вредности се определува точноста на методот (Павловска, 2010).

Прецизност е мерка за способноста за повторување и добивање исти резултати, извршени од аналитичарот при употреба на ист инструмент и постапка. Колку е поблиску согласувањето на добиените резултати од анализите, толку попрецизен е резултатот.

Осетливост на методот често се заменува со граница на детекција на методот. Најмалата концентрација од анализот што може да се детектира но не и квантифицира се дефинира како граница на детекција (LOD). Меѓународната унија за чиста и применета хемија (IUPAC) ја дефинира границата на детекција како најмалата концентрација или апсолутно количество од анализот кое поседува сигнал кој е поголем од сигналот на слепата проба. Граница на детекција е вредност три пати поголема од односот помеѓу сигналот и шумот (S/N). Граница на квантификација или лимит на

квантификација (LQD) е најмалата концентрација што може точно да се определи. LQD е вредност десет пати поголема од односот сигнал/шум.

Селективност е мерка за способноста да се детектира и квантифицира специфична компонента во присуство на други слични компоненти.

Кога се работи со различни матрици се појавуваат одредени хемиски и физички интерференции што придонесуваат за несигурност на анализата. Методот што може да се примени за определување аналит во повеќе различни матрици и е независен од тие интерференции се смета за робустен метод.

Случајни промени во експерименталните услови доведуваат до несигурност. При различни експериментални услови (температура, киселост или време на реакција) може да дојде до значително различни резултати. Методот кој не е осетлив на тие експериментални услови и дава веродостојни резултати се смета за отпорен.

Репродуцибилност е мерка за способноста да се репродуцира еден инструментален одговор од аналитичар кој работи со ист инструмент и постапка, но во различни лаборатории.

Достапноста на методот е поврзана со вкупната цена на чинење на анализата што ги вклучува потрошените реагенси, употребената инструментација итн.

Време на анализа е времето што е неопходно за да се направат анализите на испитуваната компонента во примерокот за анализа.

Сензитивност е мерка за најниската концентрација на дадена компонента што може да се определи со дадена постапка.

Безбедност е мерка за употреба на реагенси што не се токсични или запаливи (Харви, 2009; Павловска, 2010; Петропулос & Гулабоски, 2014).

При изборот на методот влијание имаат: карактеристиките на примерокот односно составот, структурата и физичките својства на компонентите што се содржат во матрицата на примерокот за анализа.

И покрај официјалните методи за анализа на резидуи од пестициди, многу лаборатории развиваат и валидираат разни методи за анализа применувајќи различна опрема и техника. Покрај тоа што користат иста техника но различна опрема, наидуваат на разни проблеми и потешкотии за одреден метод да биде прифатен како универзален аналитички метод (Grimalt & Dehouck, 2016). Низ литературните податоци има објавено повеќе методи за

анализа на резидуи од пестициди но најмногу се споменуваат хроматографските методи.

#### **2.4.1 Хроматографски методи**

Историјата на хроматографијата започнува од 19 и 20 век, кога рускиот ботаничар Михаил Цвет (1872-1919) употребил колона наполнета со калциум карбонат како стационарна фаза за да раздвои обоени пигменти (ксантофил, хлорофил и каротеноиди) од растителни екстракти (Харви, 2009). Бидејќи калциум карбонатот има големи адсорпциони особини и не се раствора во петрол етер (растворувач што го користел Цвет) примерокот се нанесувал на врвот од колоната и бил носен низ стационарната фаза со петрол етер како мобилна фаза. Како што примерокот се движел низ колоната, пигментите во растителниот екстракт се раздвојувале во одвоени, обоени слоеви. Раздвојувањето се вршело како резултат на различна адсорпциона способност, при што двата пигмента се одделуваат и се формираат два различно обоени прстени во колоната (Павловска, 2010). Кога ќе завршело раздвојувањето на пигментите, калциум карбонатот се вадел од колоната и се делел на секции, а пигментите од секоја секција биле реекстрахирани. Во своите експерименти Цвет користел обоени соединенија и безбојни адсорбенти, при што во колоната добивал обоени прстени. Токму затоа оваа метода на разделување е наречена хроматографија, што доаѓа од грчкиот збор *hromo* - што значи боја и *graphein* - што значи пишува (Стефова, 2005; Ског и сор., 2009; Петропулос, 2013; Јокановиќ, 2014). Огромна е можноста на раздвојување на супстанците со хроматографски методи бидејќи може да се раздвојуваат и изолираат супстанции со многу блиска структура како и неоргански супстанции со многу слични особини.

#### **2.4.2 Поими, принципи на хроматографија и анализа на хроматограм**

Хроматографија е метод кој се користи за разделување, идентификација и определување на хемиски компоненти во сложени смеси. Нема друг метод кој е толку моќен и широко применлив како што е хроматографскиот метод (Ског и сор., 2009). Хроматографија претставува физички метод на разделување кој се постигнува со распределба на супстанците меѓу две фази, стационарна и мобилна (Петропулос & Гулабоски, 2014). Стационарна фаза е онаа фаза која е фиксирана во колона или на рамна површина. Мобилна фаза е онаа фаза

која се движи над или низ стационарната фаза носејќи ја со себе смесата од примерокот. Мобилната фаза може да биде гас, течност или суперкритичен флуид (Barry, 2004).

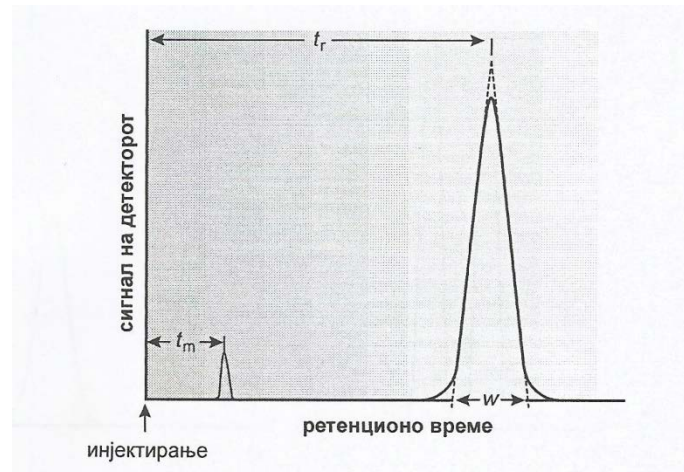
Компонентите од една смеса се пренесуваат низ стационарната фаза со проток на мобилната фаза, а разделувањата се засноваат на разлики во брзината на миграција на компонентите кои се во мобилната фаза. За мобилна фаза најчесто се користат хелиум, аргон и азот. Нивната предност е во тоа што тие се хемиски инертни и кон примерокот и кон стационарната фаза. За стационарни фази најчесто се користат сквален, полидиметил силоксан и др.

Главни критериуми при избор на стационарната фаза се таа да биде хемиски инертна, термички стабилна, тешко испарлива и со соодветна поларност за супстанциите што се разделуваат (Харви, 2009). Стационарната фаза може да биде цврста или течна, а мобилната фаза течна или гасовита. Компонентите на примерокот мора да се растворливи во мобилната фаза, но на некој начин мора да реагираат и со стационарната фаза (да се раствораат, адсорбираат или хемиски реагираат). Покрај овие особини, компонентите различно се распределуваат помеѓу двете фази бидејќи под влијание на мобилната фаза се движат со различна брзина низ стационарната фаза што предизвикува нивно хроматографско разделување. Практично, тоа значи дека примерокот се поставува на еден крај на стационарната фаза и континуирано се испира со свежа мобилна фаза која поминува низ стационарната фаза. Во зависност од видот и степенот на интеракција на компонентите во примерокот со мобилната фаза, доаѓа до нивно различно задржување на стационарната фаза.

Системот за хроматографско определување на компоненти е потребно да содржи детектор кој ќе детектира одреден сигнал за секоја компонента, чија големина ќе зависи од концентрацијата. Дијаграмот, односно графичкото претставување на одговорот од детекторот како функција од времето на елуирање или од волуменот се вика *хроматограм*. Тој најчесто претставува серија симетрични пикови на некоја функција од концентрацијата на растворената компонента која се нанесува на ординатата и времето на миграција кое се нанесува на апсцисата.



За да може да се протолкува еден пик кој се појавува во хроматограмот ги употребуваме ретенционото време ( $t_r$ ) и ширината на базната линија ( $w$ ) (Бужаровска & Арсов, 2010) (слика 3).



Слика 3. Хроматографски пик (Харви, 2009)  
Figure 3. Chromatographic peak (Harvi, 2009)

Поимот *ретенционо време* ( $t_r$ ) е време кое поминува од моментот на внесување на растворената супстанца до формирање на максимумот на пикот. Ретенционото време е константна величина за одредена компонента, при точно дефинирани услови на работа како што се: состав на мобилната фаза, стационарна фаза, температура и проток на мобилната фаза (Петропулос & Гулабоски, 2014). Доколку сакаме ретенционото време да го измериме индиректно го користиме волуменот на мобилната фаза ( $F_c$ ) употребен од моментот на внесувањето на растворената супстанца до појавата на максимумот на пикот од истата супстанца. Овој волумен се вика *ретенционен волумен*  $V_r$  (Харви, 2009).

$$V_r = t_r \cdot F_c$$

Ретенционото време ( $t_r$ ) може да се добие од односот на ретенциониот волумен ( $V_r$ ) и брзината на протекување на мобилната фаза ( $u$ ).

$$t_r = \frac{V_r}{u}$$

Освен ретенционото време, за карактеризација на пикот може да ја примениме *ширината* на хроматографскиот пик. *Ширината на базната линија* ( $w$ ) се определува од пресекот на базната линија со тангентни линии повлечени низ превојните точки на двете страни на хроматографскиот пик.

На сликата 3 се забележува и мал пик кој елуира набрзо по инјектирање на примерокот во мобилната фаза. Потеклото на малиот пик е од растворените супстанции кои се движат низ колоната со иста брзина како и мобилната фаза. Растворените супстанции не стапуваат во интеракција со стационарната фаза и се сметаат за незадржани. Времето или волуменот на мобилната фаза потребен за да се елуираат незадржаните компоненти се нарекува *мртво време* на колоната  $t_m$  или *мртов волумен*.

*Коефициентот на распределба* ( $K$ ) се определува од односот на концентрацијата на супстанцата во стационарната фаза ( $C_s$ ) и концентрацијата на супстанцата во мобилната фаза ( $C_m$ ).

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

Кога се работи за мали концентрации на супстанца имаме рамномерна распределба на супстанцата во двете фази, но кога супстанцата се наоѓа во големи концентрации има нерамномерна распределба и отстапување од линеарноста (Павловска, 2010). Доколку имаме две супстанции А и Б во смеса, неопходно е да постои разлика помеѓу коефициентите на распределба ( $K$ ) на двете компоненти  $K_A$  и  $K_B$ . Ако постои разлика помеѓу нив, односно ако  $K_A > K_B$  (или  $K_A < K_B$ ) тогаш ќе условува со разлики во брзината на движење на двете испитувани компоненти во хроматографската колона. Различните брзини на движење на компонентите во колоната ќе биде причина за формирање на хроматографски зони при што секоја компонента ќе излегува од хроматографската колона при различни времиња. Соодносот на овие коефициенти на распределба  $K_A/K_B$  се вика *фактор на разделување* од кој зависи и ефикасноста на колоната (Бужаровска & Арсов, 2010).

*Ретенциони фактори* ( $k_A$ ,  $k_B$ ) на компонентите А и В претставуваат мерка за нивно задржување во колоната. Тие се дадени со изразите:

$$k'_a = \frac{(t_r)_A - t_m}{t_m} \quad k'_b = \frac{(t_r)_B - t_m}{t_m}$$

каде  $(t_r)_A$  и  $(t_r)_B$  се времиња на задржување на компонентите А и В, а  $t_m$  е времето на задржување на компонентата која само минува низ колоната без задржување, најчесто растворувачот (Петропулос & Гулабоски, 2014).

$K'$ а лесно може да се определи затоа што вредностите за  $t_r$  и  $t_m$  може лесно да се отчитаат од хроматограмот. Кога  $K'$ а е многу помал од 1 тогаш задржувањето на анализот во стационарната фаза е многу кратко, односно елуирањето е многу брзо и  $t_r$  ќе биде многу кратко и тешко за определување. Кога  $K'$ а е поголем од 20 или 30 тогаш анализот се задржува многу долго во стационарната фаза и ретенционото време ќе биде многу долго, односно анализата ќе трае премногу долго. Идеален случај има кога  $K'$ а има вредност од 1 до 5 (Павловска, 2010).

Ако во примерокот се присутни два или повеќе аналити, хроматографската колона треба да биде селективна за секоја компонента. Мерка за селективноста на колоната претставува *селективниот фактор* ( $\alpha$ ). Ако се присутни два аналита А и В, тогаш селективниот фактор  $\alpha$  ќе биде однос од коефициентот на распределба за анализот кој е посилено задржан во стационарната фаза и коефициентот на распределба за послабо задржаниот аналит (Barry, 2004). Ако анализот В е посилено задржан од анализот А, тогаш селективниот фактор  $\alpha$  ќе биде однос од  $K_B$  и  $K_A$ , односно даден со следната равенка:

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A}$$

*Селективниот фактор* ( $\alpha$ ) може да се изрази и преку капацитативните фактори на двата аналита:

$$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A}$$

Ако во оваа формула капацитативните фактори се изразат преку ретенционите времиња, за  $\alpha$  ќе се добие следната формула:

$$\alpha = \frac{(t_r)_B - t_m}{(t_r)_A - t_m}$$

$(t_r)_B$  е ретенционо време за анализот B, а  $(t_r)_A$  ретенционо време за анализот A. Бидејќи ретенционите времиња лесно се отчитуваат од хроматограмот, тоа значи дека и селективниот фактор ( $\alpha$ ) може да се определи преку ретенционите времиња.

*Ефикасност на хроматографската колона* претставува способност на колоната целосно да ги раздвои компонентите од испитуваниот примерок. Таа се изразува преку бројот на теоретски подови (N) и висина на подовите (H) (Павловска, 2010; Петропулос & Гулабоски, 2014).

*Теоретски под* претставува најмалиот замислен дел (елемент) од хроматографската колона во кој може да се изврши рамнотежа помеѓу стационарната и мобилната фаза. Висината на подовите понекогаш се означува како висина еквивалентна на теориските подови. Постои поврзаност помеѓу теоретските подови, висината на подовите и должината на колоната (L) и е претставена со следната равенка:

$$N = \frac{L}{H}$$

Колоната е ефикасна кога H е мала, а N е голем. Колку висината на подот е помала, толку бројот на подовите ќе биде поголем во иста должина од колоната. Значи, за да биде колоната поефикасна, потребно е да се избере полнител кој има пониски теоретски подови, а поголем број подови. Колку е поголем бројот на рамнотежни процеси помеѓу стационарната и мобилна фаза, толку раздвојувањето на компонентите ќе биде поголемо, односно ефикасноста на колоната поголема. Тоа значи дека подолга колона ќе биде поефикасна од пократка колона со исти полнења (Павловска, 2010).

Бројот на теоретските подови (N) е мерка за ефикасноста на колоната и е определен со димензијата на честичките (dp), должината на колоната (L) и протокот (F) на мобилната фаза во mL/min. Се пресметува со изразот:

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_r}{w}\right)^2$$

каде што  $t_r$  е ретенционо време и  $w$  е ширина на пикот во основата.

*Резолуција ( $R_s$ )* на колоната претставува способност за разделување која ја поседува колоната. Кога пиковите од два анализа се раздвоени, велиме дека е постигната добра резолуција и раздвојувањето на анализите е добро. Може да се каже дека резолуцијата се подобрува со зголемување на должината на колоната. Резолуцијата се пресметува од ретенционите времиња на двете компоненти ( $t_{rB}$ ) и ( $t_{rA}$ ) и ширината на нивните пикови ( $W_A + W_B$ ).

$$R_s = 2 \frac{(t_r)_B - (t_r)_A}{w_A + w_B}$$

Во литературата постојат повеќе прифатени поделби на хроматографските методи кои се темелат на физичката состојба на мобилната (подвижна) и стационарна (неподвижна) фаза но и поделба според механизмот на разделување.

Според механизмот на разделување на компонентите во смеса, хроматографските методи се делат на:

- Атсорпциона хроматографија;
- Распределбена хроматографија;
- Јонско-изменувачка хроматографија;
- Гелна хроматографија.

Кај атсорпционата хроматографија, подвижната фаза може да биде гас или течност додека стационарната фаза е секогаш цврста фаза (атсорбенс) (Бужаровска & Арсов, 2010). Растворениот анализ од примерокот при внесувањето во колоната се адсорбира на површината од стационарната фаза. По внесување на мобилната фаза, настанува распределба на анализот помеѓу стационарната фаза и мобилната фаза и настанува рамнотежа помеѓу двете фази (Павловска, 2010).

Во распределбената хроматографија, стационарната фаза е течност која формира тенок филм на површината од цврстиот носач (стационарна фаза).

При оваа метода, настанува распределба на анализот помеѓу течната стационарна и течната мобилна фаза.

Стационарната фаза во јоноизменувачката хроматографија е цврста супстанца на кој се имобилизирани јони, а мобилната фаза е течност. Разделувањето настанува како резултат на електростатските интеракции помеѓу јоните од мобилната фаза и јоните од стационарната фаза.

Според начинот на сместување на неподвижната фаза, хроматографските методи се поделени во две групи:

- Хроматографија во колона;
- Хроматографија на рамна површина или планарна хроматографија.

Во хроматографијата во колона неподвижната фаза е сместена во тесна колона низ која се движи мобилна фаза под дејство на гравитација или под притисок. Неподвижната фаза (стационарна фаза) е или цврста супстанца или тенок течен филм со кој се обложени честичките со кои е исполнета колоната или самиот ѕид на колоната.

Во планарната хроматографија, неподвижната фаза е нанесена на рамна стаклена, метална или пластична плоча и е сместена во комора за развивање. Резервоарот со мобилна фаза се доведува во контакт со неподвижната (стационарна) фаза, каде мобилната фаза се движи под дејство на капиларна активност (Харви, 2009). Ако носителот на стационарната фаза е лента или лист од хартија, тогаш се работи за хроматографија на хартија. Ако носителот на стационарната фаза е тенок слој од ситнозрнест прашкаст материјал нанесен на стаклена плоча, пластична или метална фолија, станува збор за тенкослојна хроматографија.

Според физичката состојба на подвижната фаза тие се делат на:

- Течна хроматографија (LC);
- Гасна хроматографија (GC)

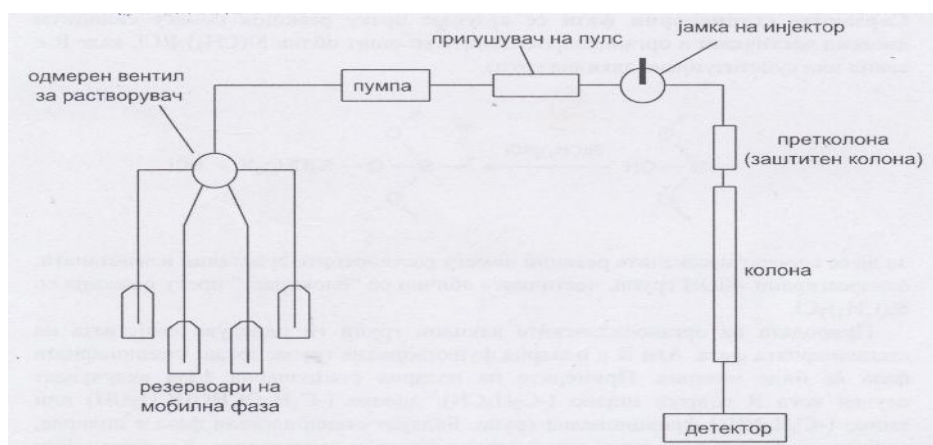
### 2.4.3 Течна хроматографија (LC)

Течна хроматографија е хроматографска метода за раздвојување на супстанции на основа на нивната распределба помеѓу цврста стационарна и течна мобилна фаза. Се дели на класична течна хроматографија (LC) и течна хроматографија со високи перформанси (HPLC). Во последниве години се повеќе застапена е и ултра ефикасна течна хроматографија (UPLC).

Првите анализи што се направиле со хроматографски методи биле со течна мобилна фаза. Но тие анализи се изведувале во колони со должина од 50 до 500 cm, со дијаметар од 1 до 5 cm и големина на честиците на стационарната фаза од 150 до 200  $\mu\text{m}$  под атмосферски притисок. Ваквите услови придонесувале анализите да траат многу долго време. Со цел да се зголеми ефикасноста и времето на анализа да биде пократко, биле воведени течни мобилни фази во колони под висок притисок. Ваквата хроматографија е позната како високо ефикасна течна хроматографија (HPLC).

### 2.4.4 Течна хроматографија со високи перформанси (HPLC)

Кај течната хроматографија со високи перформанси (HPLC), се применува течна мобилна фаза и со помош на оваа фаза примерокот растворен во соодветен растворувач се носи низ хроматографската колона. Кај течната хроматографија се применува следнава апаратура: резервоари за растворувачи, пумпа, инјектор за внесување на пробата, колона, детектор, резервоар за отпад, систем за прикажување на хроматограмите и компјутерска обработка на податоците (слика 4) (Петропулос & Гулабовски, 2014).



Слика 4. Шема на HPLC систем (Харви, 2009)  
Figure 4. Shema on HPLC system (Harvi, 2009)

Кај оваа хроматографија се користат резервоари за растворувачи, кои можат да бидат составени од само еден резервоар или два или повеќе во зависност за какво елуирање станува збор (изократско или градиентно).

Пумпите може да бидат: шприц пумпа со елиса, алтернативна пумпа и пневматска пумпа со константен притисок. Пумпите мора да создаваат притисок до 6000 psi, излез без пулсови, протоци од 0,1 до 10 mL/min, да се отпорни на корозија и да даваат репродукцибилност на протокот најмалку од 0,5 %.

Најчесто користен инјектор за внесување на пробата е познат како јамка-инјектор (sample loop) кој претставува интегриран дел од целата апаратура за хроматографија. Примерокот се внесува во кратка цевка и се инјектира во колоната при што мобилната фаза поминува низ јамката.

При HPLC хроматографија се користат колони кои се изработени од материјал од челик кој не `рѓосува или стакло, исполнети со честички (силициум диоксид) со големина од 5 до 10  $\mu\text{m}$  или микроколони наполнети со честички со големина од 3 или 5  $\mu\text{m}$  (содржат голем број на подови – до 100 000). Микроколониите бараат малку растворувач, примерокот малку се разредува и добива подобар сигнал. Должината на колоните е од 10 до 30 cm со дијаметар од 4 до 10 mm. При оваа хроматографија се користи и претколони (која штити од загадување и заштита на колоната) и аналитичка колони.

Од стационарни фази се користат течен филм нанесен на полнител составен од силика гел честички. Како мобилна фаза може да се употребуваат различни раствори и растворувачи (пр. циклохексан, n-хексан, толуен, диетил етер, етанол, метанол, ацетонитрил, вода итн.) но мора да имаат голема чистота, да се компатибилни со детекторот, ниска вискозност, хемиски инертни и анализот да се раствора во нив (Mauger, 2004). Од голема важност е индексот на поларност на мобилната фаза.

Денес се развиени бројни детектори кои се употребуваат за следење на разделувањето со HPLC и кој детектор ќе се примени зависи од природата на примерокот. Кај HPLC се употребуваат спектроскопски детектори,



електрохемиски детектори и масен спектрометар кој функционира како детектор.

Спектроскопските детектори се ултравиолетови детектори UV и UV-Vis. Инструментите со низа од диоди го снимаат целиот спектар, даваат тродимензионален хроматограм и ја покажуваат апсорбанцата како функција од брановата должина и времето на елуирање. Детекторите можат да мерат на фиксна бранова должина (фотометри) или на повеќе бранови должини (спектрофотометри) за време на анализата. Детекторите кои имаат диоди и за време на анализата ја мерат и покажуваат целата спектрална област се DAD (diode array) спектрофотометри (Павловска, 2010). Резолуцијата на детекторот зависи од бројот на диоди во низата, и исто така, од опсегот на опфатени бранови должини. Крајната енергија на детекторот со низа од диоди ќе зависи од полупроводникот и од тоа колку се тенки индивидуалните фотоќелии што може да ги произведе произведувачот (Петропулос & Гулабоски, 2014).

Флуоресцентните детектори се селективни бидејќи мал е бројот на растворени супстанции кои имаат способност да флуоресцираат. Се добива хроматограм на интензитетот на флуоресценцијата како функција од времето.

Детекторите базирани на електрохемиски мерења (амперометрија, волтаметрија, кулометрија и спроводливост) имаат граници на детекција од  $10 \text{ pg}^{-1}\text{ng}$  од инјектиран аналит. Тука ефлуентот од колоната поминува низ работната електрода кој се држи на потенцијал погоден за оксидирање или редуцирање на аналитите. Потенцијалот се држи константно долж референтната електрода и се мери струјата која протекнува помеѓу работната и помошната електрода (Харви, 2009).

Детекторите на индексот на прекршување се осетливи на речиси сите супстанции, но нивната граница на детекција е за околу 1000 пати повисока од онаа на UV-детекторите. Тие се многу чувствителни на промени на температурата (неопходно е термостатирање), но и на промена на притисокот, протокот и составот на мобилната фаза, што ги прави неупотребливи при градиентно елуирање. И покрај недостатоците, детекторите на индексот на прекршување многу често се користат при определување на супстанции кои

воопшто или многу малку апсорбираат во UV подрачјето (Петропулос & Гулабоски, 2014).

Покрај споменатите детектори во поново време кај HPLC се употребуваат и масените детектори. Тие се со добри граници на детекција од  $100 \text{ pg}^{-1}\text{ng}$  од инјектиран аналит. Покрај квалитативната информација масениот спектрометар дава и информација за структурата односно помага во идентификација на аналитите. Неговата примена кај HPLC е малку покомплицирана отколку кај GC-MS заради некомпатибилноста на течната мобилна фаза со потребата од голем вакуум во масениот спектрометар (Харви, 2009).

#### **2.4.5 Течна хроматографија со масена спектроскопија (LC-MS)**

Во повеќе случаи гасната хроматографија е техника која се користи за анализа на резидуи од пестициди во овошје и зеленчук. Но, во последните години во тренд е користење на поларни пестициди кои имаат ниска перзистентност и токсичност за разлика од неполарните компоненти. Овие поларни пестициди се помалку стабилни за анализа со гасна хроматографија и затоа е потребно да се бараат други алтернативи. Многу поларни, испарливи пестициди може ефикасно да се одредат со гасна хроматографија поврзана со различни детектори како што се FID, ECD и MS. Сепак, поларните термички лабилни пестициди со ниска стабилност често не може директно да се анализираат. За да се анализираат оние соединенија се користи течна хроматографија (LC). Карбамати, фенилуреи, органофосфорни пестициди, триазини, амониум соединенија и хлорирани фенокси киселини се примери на пестициди кои се анализираат со течна хроматографија. Конвенционалните детектори кои се применуваат кај течната хроматографија, како што се UV детекторите, сепак, не се доволно селективни за анализа на пестициди во сложени материци. Покрај тоа, селективните детектори кои работат на флуоресценција или електрохемиска детекција може да се применат само кога пестицидот или неговите деривати исполнуваат одредени специфични барања. Затоа, течната хроматографија со масен детектор (LC-MS) стана моќна техника за анализа на резидуи од пестициди со ниска стабилност или термички нестабилни во храна и примероци од храна (Soler et al., 2008; Morales et al., 2011).

LC-MS е моќна аналитичка техника која ја комбинира резолуционата моќ на течната хроматографија со детекционата специфичност на масената спектроскопија. Податоците добиени со LC-MS може да се користат за да се обезбедат информации за молекуларната маса, структурата, идентитетот и количеството на специфични компоненти на примерокот.

Масена спектрометрија (MS) се темели на создавање на јони од аналитот и нивна анализа според вредноста на односот маса/полнеж ( $m/z$ ) и нивна детекција. Со масена спектрометрија е многу полесно проучувањето на големи молекули и нивна структура. Молекулски јон е наелектризирана честичка со непарен број на електрони и се формира од молекулата преку додавање или отпуштање на електрон или со адиција на наелектризирани честички со одредени маси (протон,  $Cl^-$ ,  $Na^+$  итн.). Овој јон не смее да се нарекува јон родител кој би се користел да објасни молекулски јон, прекурсорен или кој било друг тип на јон (Watson & Sparkman, 2007).

Со разложување на друг јон настанува фрагментен јон. Овој јон настанал со фрагментација на молекулски јон или на честичка како протонирана молекула, депротонирана молекула итн. Фрагментните јони може да се формираат и од фрагментен јон формиран од молекулски јон, при т.н. секундарна фрагментација. Фрагментните јони се формираат преку раскинување на хемиските врски и тие секогаш имаат маса помала од масата на нивниот прекурсор (Петропулос & Гулабоски, 2014).

При примена на масена спектрометрија се појавуваат пикови (карактеризирани со интензитет) кои всушност ги претставуваат јоните кои се формираат во масениот спектрометар. Оној пик кој се појавил со најголем интензитет се вика основен пик. Прикажувањето на масените спектри може да биде апсолутно, со интензитет на пик кој ја прикажува актуелната вредност добиена за интензитетот на тековниот јон за јон со истата  $m/z$  вредност, или пиковите може да имаат релативен интензитет кој ги прикажува податоците на начин на кој интензитетот на основниот пик е 100 % (Watson & Sparkman, 2007).

Секој масен спектрометар се состои од јонски извор (дел од инструментот во кој се образуваат јони), анализатор (дел кој служи за разделување на јони на основа на нивната  $m/z$  вредност) и детектор.

Поврзувањето на LC со MS детектор дава предност бидејќи може да се добијат информации за хемискиот состав на пестицидите. Овие информации

се многу специфични за разлика од оние детектори кои генерираат апсорпциски ленти пр. Uv-Vis или детекторот за апсорпција на инфрацрвени зраци. Масените спектрометри покажуваат висока чувствителност за полупроводни и неиспарливи соединенија.

Техниките на јонизација кои се користат во масената спектрометрија зависат од тоа за каков примерок се работи (дали примероците се во гасна состојба пред јонизација или примероци со мала испарливост) (Cody, 2002; Ardrey, 2003).

Техниките на електроспреј јонизација и хемиска јонизација може да се користат само во случај кога анализаторот е во гасовита состојба. Термоспреј, електроспреј и хемиска јонизација со атмосферски притисок се погодни за примена за неиспарливи и термонестабилни соединенија (Ardrey, 2003).

При техниката на електроспреј јонизација (ESI) примерокот растворен во поларен и испарлив растворувач во струја на азот се распрснува низ челична капилара чиј врв е под висок напон (3–6 kV) (Cody, 2002). Под дејство на електрично поле на растворот доаѓа до раздвојување на позитивни и негативни наелектризирања во растворот. На пример, во позитивен режим на извор, иглата на ESI изворот се наоѓа на релативно високо позитивен потенцијал во однос на вакуумскиот отвор. Анјоните, присутни во растворот, се движат кон површината на иглата, додека катјоните се групираат на површината на менискусот на растворот. Понатаму, како позитивно наелектризираните честици меѓусебно се одбиваат доаѓа до отстранување на површината на течности до врвот на ESI иглата. Кога ќе се изедначат електричните сили внатре во растворот со површината на напонот, доаѓа до формирање на „Taylor конусна опашка“. На врвот од „Taylor конусна опашка“, кога позитивното наелектризирање ќе го надмине површинскиот напон на течноста, доаѓа до формирање на спреј. Примерокот ја напушта капиларата во вид на аеросол составен од високо наелектризирани капки. За време на испарувањето на растворувачот доаѓа до намалување на површината на капките и во еден момент, кога површинскиот напон не може да издржи големо наелектризирање, доаѓа до експлозија од капки. Овој процес се повторува и како резултат на тоа добиваме јони од анализаторот, ослободени од растворувачот, кои низ јонска капилара стигнуваат до анализаторот (Cole, 1997; Cody, 2002; Niessen, 2006). Мобилната фаза има важна улога при овој процес на јонизација заради

нејзината испарливост, вискозитет, површински напон, спроводливост, јонската сила на растворот, диелектрична константа, концентрација на електролити и рН. Од овие карактеристики зависи процесот на јонизација и јачината на сигналот (Kostiainen & Kauppila, 2009). Освен составот на мобилната фаза, на јачината на ESI сигналот влијаат и физичко-хемиските особини на анализот како што се рКА вредност, хидрофобност, површинска активност, афинитетот кон примање или отпуштање на протони и инструменталните параметри како што се проток на мобилна фаза, температура и напон на ESI изворот. Стабилен електроспреј е тешко да се постигне при анализа на негативни јони (Hiraoka & Kudaka, 1992) и до електрично празнење може да дојде и при релативно ниски вредности на напонот (Kostiainen & Kauppila, 2009). Растворувачи како метанол и изопропанол се покажале како добар извор за снимање на негативни јони за разлика од ацетонитрил и етанол (Straub & Voyksner, 1993).

Хемиската јонизација (CI) се базира на создавање на гасовити кисели или базни честички, кои потоа реагираат со неутрална молекула од анализот формирајќи  $[M+H]^+$  или  $[M-H]^-$  јони, соодветно (Lavagnini et al., 2006). Почести се реакциите на протонирање на анализот, при што, одвивањето на овие реакции е поврзано со афинитет кон протон (PA) на M и гасот реактант, а внатрешната енергија на добиените честички е поврзана со разликите помеѓу овие афинитети кон протони.

Електронска јонизација (EI) или јонизација со судир со електрони се базира на интеракција на енергичен електронски зрак (70 eV) со пари од примерокот (на притисок од  $10^{-7}$  –  $10^{-5}$  Torr). Оваа интеракција доведува до создавање на серии од јони поврзани со хемиските својства на компонентите кои се предмет на проучување. При електронска јонизација, се формира молекулски јон  $M^+$ , кој се создава со губење на електрон од неутрална молекула:



како и серија на фрагменти. Некои од нив се формираат со едноставно раскинување на врските, додека други се формираат во процеси на повторно преуредување (раскинување на едни и формирање на други врски) (Петропулос & Гулабоски, 2014).

Фотојонизација при атмосферски притисок (APPI) се состои од озрачување на испарениот раствор од анализаторот од интерес, со криптонова ламба при атмосферски притисок. Озрачувањето се врши со фотони чии енергии се до 10,6 eV. При овој тип на јонизација молекулата може да се јонизира со енергија само кога  $E_v = h \cdot \nu$ , односно кога IEM\_Ev што би значело дека голем број молекули со повисока јонизациона енергија од 10,6 eV, не може да се јонизираат при интеракција со фотон кој потекнува од Kr-ламба. Ова покажува дека APPI методата, во принцип е многу поефикасна за LC/MS анализа на компоненти кои имаат IE пониска од 10,6 eV.

#### **2.4.6 Ултра ефикасна течна хроматографија (UPLC)**

Течна хроматографија со високи перформанси (HPLC) е добро позната техника која се користи во лабораториите во светот повеќе во последните 30 години. Факторот кој е одговорен за развојот на техниките е еволуцијата на материјалите за пакување што се користат за да се направи сепарација. Перформансите кај ултра ефикасната течна хроматографија (UPLC) значат радикални промени во донесувањето на брзи аналитички методи за сепарација. Предноста на UPLC како техника е во робустноста, лесна за користење, променлива чувствителност, селективност, пократко време на анализа и помала потрошувачка на растворувач.

UPLC е всушност последица на HPLC чиј основен принцип е дека, како што се намалува големината на честичките во колоната, ефикасноста и резолуцијата се зголемуваат. Тоа значи, ако ја намалиме големината на честичката помала од 2  $\mu\text{m}$ , ефикасноста покажува значителен пораст, брзината на анализата и максималниот капацитет, односно бројот на пикови добиени по единица време, можат да се продолжат до максималните вредности (Kumar, 2012).

За подобрување на ефикасноста на UPLC треба да се користи зголемен температурен опсег, кој ќе овозможи висок проток на мобилната фаза со намалување на вискозитетот и со тоа значително ќе се намали притисокот.

UPLC се базира на принципот на употреба на стационарна фаза која се состои од честички помали од 2  $\mu\text{m}$ , додека HPLC колоните обично се полни со честички од 3 до 5  $\mu\text{m}$ . UPLC бара порозни честички, кои можат да издржат висок притисок.

Основните принципи на оваа техника се регулирани со равенката на Van Deemter емпириска формула која ја опишува поврзаноста на линеарната брзина (проток) и висината на подови (EVTP-еквивалентна висина или висина на еден теоретски под) (Josef, 2005). Според равенката на Van Deemter, намалувањето на големината на честичките ја зголемува ефикасноста на сепарациите, додека од друга страна пак ефикасноста се намалува при зголемување на протокот или линеарни брзини. Со 1,7  $\mu\text{m}$  честички какви што се користат во UPLC, EVTP е намален во споредба со поголемите честички и не се зголемува со повисоки стапки на проток. Ова овозможува побрзо раздвојување да се врши со пократки колони и / или со повисоки протоци, што доведува до зголемена резолуција на колоните помеѓу одредени пикови и зголемен капацитет на пик, дефиниран како број на пикови што може да се сепарираат со одредена резолуција во дадено време. Ефикасноста е три пати поголема кај 1,7  $\mu\text{m}$  честички во споредба со 5  $\mu\text{m}$  честички и два пати поголема во споредба со 3,5  $\mu\text{m}$  честички. Резолуцијата е 70% повисока отколку кај 5  $\mu\text{m}$  честички и 40% повисока отколку кај 3,5  $\mu\text{m}$  честички. Големата брзина се добива бидејќи должината на колоната со 1,7  $\mu\text{m}$  честички може да се намали во споредба со 5  $\mu\text{m}$  честички, за истата ефикасност, а протокот да биде три пати поголем. Ова значи дека одделувањето може да биде девет пати побрзо со еднаква резолуција. Големината на честичките и ефикасноста на оваа хроматографска метода може да се објасни со равенката на Van Deemter.

Van Deemter-ова равенка е дадена како:

$$EVTP = A + B / u + C u$$

Каде  $u$  ја претставува средната брзина на движење на мобилната фаза, додека  $A$ ,  $B$  и  $C$  се константи кои се однесуваат на турбулентна дифузија, молекуларна дифузија и отпорот кој се јавува при пренос на масата. Турбулентната дифузија е најмала кога честичките се наоѓаат во мали колони и се униформни. Таа се јавува како резултат на минување на мобилната фаза низ различни патеки кои се резултат на различната форма на честичките кои ја сочинуваат стационарната фаза и нивната густина на пакување. Членот  $A$  е дефиниран со равенката:

$$A = 2\lambda d_p$$

Каде  $\lambda$  се однесува на нееднородноста на пакувањето во колоната, додека  $d_p$  е среден дијаметар на честичките на цврстата стационарна фаза (Бужаровска & Арсов, 2010).

Членот  $B$  се однесува на молекуларната дифузија и се дефинира со следнава равенка:

$$B=2\gamma D_G$$

Каде  $\gamma$  е степен на искривеност на каналите кои се формираат помеѓу честичките на стационарната фаза, додека  $D_G$  е коефициент на молекуларна дифузија.

Членот  $C$  се однесува на отпорот при пренос на маса и е даден со равенката:

$$C = \frac{8}{\pi^2} \frac{k}{(1+k)} \frac{d_f^2}{DL}$$

каде што  $d_f$  е средната дебелина на филмот на течната фаза нанесена на цврст носач,  $D_L$  е коефициентот на дифузија на молекулите на пробата во течна фаза, додека  $k$  е факторот на екстракција. Факторот на екстракција е производ од коефициентот на екстракција  $K$  и количникот од волуменскиот удел на течната фаза во колоната ( $x_L$ ) и волуменскиот удел на гасната фаза во колоната ( $x_G$ ) претставен со равенката:

$$k=K (x_L/x_G)$$

Равенката на Van Deemter покажува дека за да има добра ефикасност потребни се честички со помал дијаметар за разлика кај честички со поголем дијаметар (Swartz, 2005; Srivastava, 2010). Затоа е можно да се зголеми поробусната моќност, а со тоа и брзината на анализа без да се влијае на хроматографските перформанси. Доаѓањето на UPLC донесе развој на нов инструментален систем за течна хроматографија, кој може да ги искористи предностите на одвојувањето (со намалување на мртвите волумени) и во согласност со притисоците (околу 8000 до 15000 psi, во споредба со 2500-5000 psi во HPLC). Според авторот Srivastava (2010), ефикасноста е пропорционална на должината на колоната и обратно пропорционална со големината на честичките.

Пумпите во конвенционалните HPLC системи достигнуваат притисок од максимали 400 бари. Пумпите во UPLC системите може да достигнат притисоци од 1000 бари и повеќе. Ова овозможува употреба на помали



честички (<2.0 nm) и прифатливи стапки на проток (до 5 ml / min) (Gaikwad, 2012).

Употребата на помали честички овозможува да се добие:

- подобра резолуција (ефикасност на сепарација),
- побрза хроматографска анализа,
- зголемена чувствителност поради појавата на поостри (потесни) и повисоки пикови.

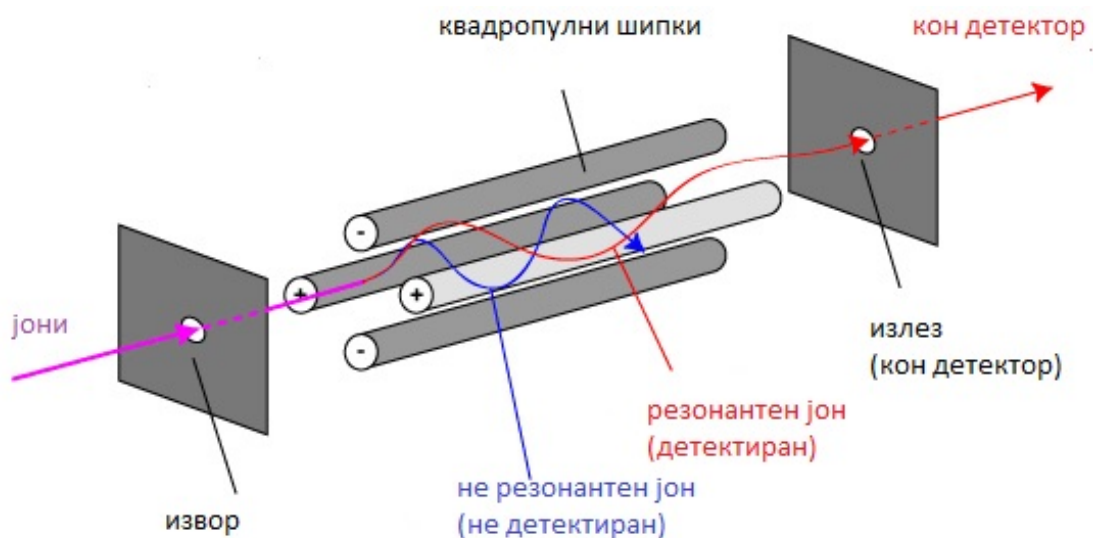
*Колони.* Силика честичките поседуваат добра механичка сила, но нивната примена е ограничена поради тесен опсег на рН. Полимерните колони немаат никакви ограничувања на рН, но покажаа дека имаат ниска ефикасност. Во 2000 година, хибридната хемија од првата генерација го користи класичниот метод на сол-гел за да создаде издржливи колони инкорпорирајќи јаглерод во форма на метил групи. Овие колони покажуваат неколку предности, како што се механичка сила, висока ефикасност и се оперативни во проширен рН опсег. Сепак, тие немаат доволно механичка стабилност што го наметнува UPLC. Како последица на тоа, беше развиена втората генерација на колони. Оваа технологија ја зголемува механичката стабилност од 1,7 µm честички преку премостување на метилните групи во силициум матрикс и доведува до производство на колони кои можат да издржат висок притисок и рН. Овие колони направени според ВЕН-Ethylene Bridged Hybrid технологија (C18 и C8 колони) се многу ефикасни бидејќи ефикасноста на колоната е директно пропорционална со нејзината должина и е обратно пропорционална со големината на честичките. Примената на колоните на ВЕН резултираше со откривање на дополнителни метаболити, супериорна сепарација и подобрен спектрален квалитет (Patil et al., 2012; Taleuzzaman et al., 2015).

Кај UPLC се користат следниве детектори:

- UV/Vis детектор;
- PDA (детектор со фото диоди);
- ELS (Evaporative Light Scattering detector);
- FLR (флуоресцентен детектор);
- TQ (трипл квадроупл детектор).

UPLC поврзана со масена спектрометрија и трипл квадрупол детектор се користи при анализа на резидуи од пестициди (Seelam, 2013; O'Mahony et al., 2013).

Масен спектрометар со TQ (Triple Quadrupole detector). Квадруполниот масен анализатор ги користи осцилираните електрични полиња за да селективно го стабилизира или дестабилизира патот на јоните кои поминуваат низ радио фреквентно квадруполно поле помеѓу четири паралелни шипки (слика 5).



Слика 5. Квадрупол анализатор (достапно на <http://lab-training.com>)  
Figure 5. Quadrupole analyzer (available on <http://lab-training.com>)

Само јоните во одреден опсег на односот маса и полнеж поминува низ системот во секое време но промената на потенцијалот на шипката овозможува широк опсег на  $m/z$  вредности. Притоа, јоните кои влегуваат во масениот анализатор дејствуваат како масено - селективен филтер и близок е на квадруполната јонска замка (Galen, 2005). Линеарната квадруполна јонска замка е дизајнирана така што пред се ќе ги пропушта незафатените јони, наместо да ги собира јоните кои се фатени во замката и оваа состојба се вика трансмисија. Вообичаена варијанта на трансмисионен квадрупол е тројниот масен спектрометар.



Слика 6. Шема на трипл квадрупол масен спектрометар (достапно на <http://lab-training.com>)

Figure 6. Triple quadrupole mass spectrometer schematic diagram (available on <http://lab-training.com>)

Линеарната серија на три квадрупули се применува и како тројни квадрупулен масен спектрометар. Првиот ( $Q_1$ ) и третиот ( $Q_3$ ) квадрупол функционираат како масени филтри, а средниот ( $Q_2$ ) се користи како ќелија за судири (слика 6). Оваа ќелија за судири во радиофреквентниот (RF) квадрупол (во кој нема масено филтрирање) користат Ar, Ne или N гас за собирање на селектираните јони од родителите кои се дисоцирале од  $Q_1$ . Потоа фрагментите поминуваат низ  $Q_3$  каде се филтрираат и повторно се скенираат. Таквиот процес овозможува проучување на фрагментите (јони ќерки) кои се од суштинско значење за структурни истражувања. На пример, ако  $Q_1$  е филтер за јон со позната маса, кој фрагментира во  $Q_2$ , тогаш третиот квадрупол  $Q_3$  го скенира опсегот на  $m/z$  давајќи информации за интензитетот на настанатите фрагменти, што помага лесно да се утврди структурата. Ако е квадруполот направен за брзо и повторно да ги циклира уредите за филтрирање на масата, се добива потполн спектар. Тројниот квадрупол може да биде изведен така што ќе овозможи различни видови на скенови карактеристични за тандемска масена спектрометрија (Јокановиќ, 2014).

#### 2.4.7 Гасна хроматографија (GC)

Хроматографија е аналитичка метода која овозможува раздвојување и квантитативно определување на супстанции кои имаат слична структура и слични хемиски особини.

Раздвојувањето при хроматографските методи се врши со пропуштање на мобилна фаза низ стационарна фаза. Кај гасната хроматографија мобилната фаза е секогаш гас додека стационарната фаза може да биде цврста или течност која е нанесена врз цврст носач. Според тоа, во каква агрегатна состојба е стационарната фаза таа се дели на гасно-течна хроматографија ако стационарната фаза е течност и гасно-цврста ако стационарната фаза е цврста агрегатна состојба. Кај гасно-цврстата хроматографија разделувањето на компонентите се одвива по адсорпционен механизам додека кај гасно-течната хроматографија разделувањето се одвива како по принципот на распределба (Cserhati & Szogyi, 2012).

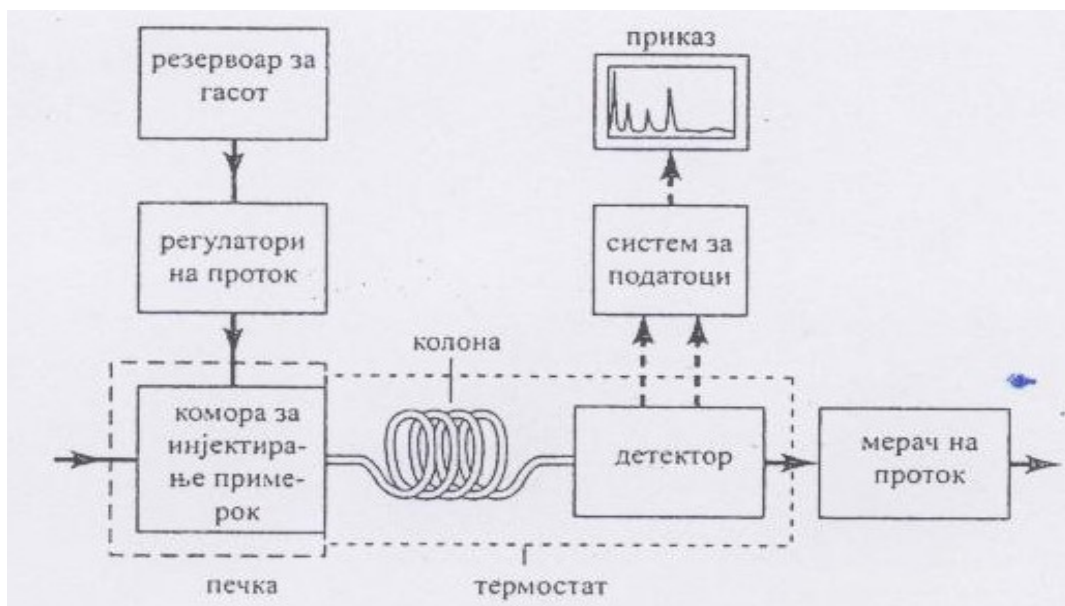
Разделувањето кај овој тип на хроматографија се темели на разликата во коефициентите на распределба меѓу стационарната течна фаза и мобилната гасовита фаза. Компонентите се задржуваат во стационарната фаза и тоа е еднакво со интензитетот на силите кои владеат помеѓу секоја молекулска или јонска врска и стационарната фаза. Заради тоа, хроматографскиот систем прва ќе го напушти најслабо врзаната компонента, а последна ќе го напушти компонентата која е најјакно врзана за стационарната фаза т.е. има поголем афинитет кој неа (Павловска, 2010; Бужаровска & Арсов, 2010; Jokanović, 2014; Петропулос & Гулабовски, 2014). Тоа значи дека компонентата со најмал коефициент на распределба, прва ќе го напушти хроматографскиот систем. Заради различниот коефициент на распределба, компонентите се разделуваат и како такви достигнуваат во детекторот.

Гасната хроматографија е погодна за раздвојување, квалитативна и квантитативна детерминација на компонентите кои се испарливи или полуиспарливи, но и термички стабилни на температурата на мерење (Cserhati et al., 2012).

Според Torres и соработниците (1996); Schenck и соработниците (2002); и Anastassiades и соработниците (2003), најсоодветен метод за детерминација на резидуи од пестициди се хроматографските методи (течна и гасна хроматографија) со претходна различна подготовка на примероците за екстракција на резидуите. Авторот Lambropoulou и соработниците (2007) го потенцираат развојот на повеќе методи за анализа на резидуи од пестициди како што се гасна и течна хроматографија, проследени со различни методи на екстракција. Секоја метода поединечно има предности и недостатоци во однос

на друга метода и тоа е предизвик на многу истражувачи, особено во делот на ефектите од матриксот при анализа. Според авторот Li и соработниците (2013), влијанието на матрикс ефектите се слични и покрај различните физичко-хемиски карактеристики на пестицидите.

Основни делови на инструментот за гасна хроматографија се: систем за довод и контрола на гасот, систем за внесување на примерок, колона и детектор (слика 7).



Слика 7. Шема за гасна хроматографија (Ског и сор., 2009)  
Figure 7. Scheme for gas chromatography (Skoog et al., 2009)

*Систем за довод на гас.* Примерокот кој може да биде гас или течност се инјектира во струја од инертен гас како мобилна фаза. Се спроведува низ наполнета или капиларна колона каде што компонентите на примерокот се разделуваат врз основа на нивната способност за распределување меѓу мобилната и стационарната фаза (Харви, 2009). Мобилната фаза се внесува со систем за довод на гас со контролиран проток во спротивно не ќе може да се одреди времето на ретенција и не ќе може да се препознае компонентата која се анализира. Доколку протокот е променлив, се јавува и шум на детекторот и промени во базната линија (Павловска, 2010). Гасот носач се наоѓа во садови под притисок од околу 0,7 до  $3,5 \cdot 10^5$  Pa, додека протокот на гасот во колоната треба да изнесува од 25 до 150 mL/min, а кај капиларните колони брзината е 1-25 mL/min.

Како мобилна фаза во гасната хроматографија се користат He, Ar и N<sub>2</sub> најчесто заради нивната хемиска инертност кон примерокот и кон неподвижната фаза. Гасот не смее да содржи вода и кислород и мора да е чист, за да не се разорува стационарната фаза при висока температура. Нечистотиите во гасот пречат и на работата на детекторот, затоа што детекторот ги регистрира како компоненти кои ја напуштаат колоната. Затоа гасот пред да влезе во колоната поминува низ филтри кои го ослободуваат од примесите (Barry, 2004).

При избор на стационарна фаза треба да се внимава таа да биде хемиски инертна, термички стабилна, тешко испарлива и со соодветна поларност за компонентите што се раздвојуваат. Кај гасно-течната хроматографија се употребуваат следниве стационарни фази: сквален, полидиметил силоксан (кај пестициди, лекови, алкалоиди), 50% метил-50 % фенил полисилоксан (пестициди, полиароматични јаглеводороди, полихлорирани бифенили) итн. Стационарната фаза полидиметил силоксан, во која сите – R групи се метил групи, е слабо поларна со температурен лимит од 300-350°C и често е прв избор за ново раздвојување. При примена на оваа фаза, редоследот на елуирање обично ја следи температурата на вриењето на растворената супстанца, при што елуираат прво оние растворени супстанции кои имаат пониска точка на вриење. Во трговијата е позната како SE-30. Доколку се замени некоја од метил групите со други супституенти се зголемува поларноста на стационарната фаза, со што се овозможува поголема селективност.

Во колоната, примерокот се носи со *систем за внесување* при што врши загревање до температура која овозможува брзо преведување на супстанците во гасна фаза без тие термално да се разградат. Таа температура треба да биде повисока најмалку 50°C од температурата на вриење на најслабо испарливата компонента од анализираниот примерок (Jokanović, 2014). Пробата во гасниот хроматограф треба да се внесува во мали количини, брзо и во загреан инјектор за да може моментално при самото внесување, да испари. Внесувањето треба да биде брзо и во мали количини, за да се добијат остри и раздвоени пикови кои лесно може да се интегрираат. Ако количината на примерокот е голема, тој не може да испари веднаш при внесувањето, пробата

ќе се разликува во колоната и одделувањето нема да биде добро и ќе се добијат широки и развлечени пикови.

Најчесто користен *инјектор* е split/splitless инјекторот кој работи на два начина split и splitless. При првиот начин (split), внесениот примерок се разделува и само еден мал дел од него (илјадити дел) оди во колоната за анализа, додека другиот дел се отстранува надвор од хроматографскиот систем. Кога split отворот е затворен, функционира вториот начин (splitless) при што целиот инјектиран примерок оди во колоната за анализа. Вториот начин за инјектирање се користи кога се користи примерок во кој анализот се наоѓа во многу ниски концентрации. Внесувањето на гасниот примерок се врши со шприц или со гасен вентил. Цврстите примероци, прво се преведуваат во течна форма, а потоа се внесуваат во гасниот хроматограф. Современите хроматографи содржат уреди за автоматско внесување на примерокот (автосемплер).

*Колона* е цевка со различна должина каде се наоѓа стационарната фаза. Се делат на полни (пакувани) и капиларни колони. Се изработуваат од метал или стакло. Колоните изработени од метал како што е бакарот не се погодни за употреба бидејќи бакарот ги катализира реакциите на соединенијата кои содржат одредени функционални групи (пр. аминокиселинска или халогена група). Должината на пакуваните аналитички колони се од 0,5-4 m со внатрешен дијаметар од 1 до 4 mm. Со подолгите колони се постигнува подобро раздвојување, но се продолжува времето на анализа. Со смалување на нејзиниот пресек се зголемува и нејзината ефикасност. Колоните за гасно-цврста хроматографија се полнети со цврст активен материјал. Тој може да биде неоргански или органски материјал. Од неорганските материјали како полнители се користат: силикагел, активен јаглен, алуминиум триоксид и зеолити. Цврсти адсорбенти од органско потекло се разни полимери или кополимери. Колоните за гасно-течна хроматографија се составени од цврст носач и течна стационарна фаза, која се нанесува во вид на тенок филм по цврстиот носач. Стационарната фаза се нанесува така што е можно поголема површина од неа да биде во допир со мобилната фаза. Најдобро е носачот да биде во форма на мали, еднолични, топчести зрна и специфична површина од најмалку  $1 \text{ m}^2/\text{g}$ . Како цврст носач најчесто се користи дијатомејска земја,

огноотпорна цигла, тefлон, стаклени топчиња и др. Носачите мора да бидат инертни кон примероците што се анализираат. Овие честички се прилично порозни, со активна површина од 0,5-0,75 m<sup>2</sup>/g, што овозможува голема допирна површина помеѓу мобилната фаза и стационарната фаза. При хидролиза, на површината на дијатомејската земја се формираат силанолни групи (-SiOH), овозможувајќи активни центри, во гасно-цврстата хроматографија, кои ги апсорбираат молекулите на растворената супстанца (Харви, 2009).

Капиларните колони во споредба со пакуваните (полнети) колони се поефикасни бидејќи имаат поголема димензија (30-150 m) и внатрешен пречник од 0,25-0,75 mm. Внатрешните ѕидови се обложени со активен материјал додека некои од колоните поседуваат цврсто полнило, полно со паралелни микропори. Најчесто користени капиларни колони се тие од извлечен кварц со внатрешен отвор од 320 до 250 μm. Кварцот за хроматографските колони треба да биде посебно прочистен и да не содржи траги од метали. Овие колони имаат многу потенок ѕид од стаклените колони. На надворешниот дел од овие колони при извлекувањето се додава заштитен слој од полиамид. Ваквите колони може да се свиткаат во дијаметар од неколку сантиметри.

Во поново време се развиваат нови техники и методи и постојат т.н. новоразвиени колони каде што се внесени две паралелни колони во една колона. Таквата конструкција е посебно примамлива во услови каде стационарната фаза не е компатибилна. Заради тоа постои поделба на микробрзи колони (греени однатре, конструкција од две колони, со внатрешен грејач и температурен сензор споени со една заедничка колона) и микропакувани колони (колоната е спакувана внатре во друга колона, при што надворешната колона има друго полнење од внатрешната колона и овозможува истовремено двојно раздвојување во колоната).

Колоните во гасниот хроматограф се сместени во термостатиран простор кој служи да се одржува стабилна температура и да се контролира нејзината големина. Големината на температурата зависи од видот на примерокот. Таа може да биде постојана за цело време на анализата или да се зголемува за време на анализата. Зголемувањето на температурата при



самата анализа може да биде континуирано или во скокови, што се врши со програмирање, пред почетокот на анализата. Температурата на која се загреваат колоните и на која се врши анализата се движи од 40°C до 350°C (Павловска, 2010). Разделувањето на анализите е поефикасно на пониска температура, но времето за анализа е многу подолго на пониска температура отколку на повисока температура. Во интерес на времето сите примероци што добро може добро да се раздвојат на повисока температура, се анализираат на повисока температура. Во гасната хроматографија клучна улога има температурата, затоа треба да се контролира дури и до десетици делови од степен Целзиусов. Хроматографската колона може да се загрева, при што се намалува вискозноста на мобилната фаза, а со тоа се намалува и притисокот и се овозможува поголем проток. Зголемената температура овозможува и подобра резолуција, заради забрзување на дифузијата на компонентите од пробата. Сепак, не се препорачува работење на висока температура, поради побрзо разградување на стационарната фаза, со што се скратува животот на колоната. Од друга страна, термостатирањето на колоната е препорачливо и поради зависноста на коефициентот на распределба од температурата (варијациите на времињата на задржување на компонентите од примерокот најчесто се должат на варијации на температурата на колоната со која се работи) (Петропулос & Гулабовски, 2014). Смалување на температурата доведува до подобро раздвојување на компонентите но значително до продолжување на времето на елуирање. Заради ова е воведен и температурна програма каде температурата постепено се зголемува и намалува во зависност од потребата (Jokanović, 2014).

Разделените компоненти кои излегуваат од хроматографската колона се детектираат во детекторот. Идеален детектор треба да има неколку важни карактеристики: ниски граници на детекција, линеарен одговор во широк концентрациски интервал на растворената супстанца, селективност за специфична класа растворени супстанции, инертност кон промени на брзната на проток или температура (Харви, 2009).

Постојат две групи на детектори: детектори чија работа зависи од концентрацијата на компонентите и масено зависни детектори. Сигналот кај концентрациско зависните детектори е во тесна корелација со концентрацијата

на растворените компоненти. Кај овие детектори испитуваните компоненти не се уништуваат при нивна детекција додека кај масено зависните, сигналот е поврзан со брзината со која влегуваат разделените компоненти и примерокот се уништува (Бужаровска & Арсов, 2010). Во гасната хроматографија најчесто се користат следниве *детектори*:

- Пламен-јонизациски детектор (FID);
- Детектор на термичка спроводливост (TCD);
- Детектор со електронски зафат (ECD);
- Пламен-фотометриски детектор (FPD);
- Детектор со фото-јонизација (PID);
- Масен спектрометар.

*Пламено-јонизирачки детектор (Flame-Ionization Detector, FID).* Претставува универзален детектор за гасна хроматографија во кој се користи пламен од водород и воздух. При согорување на соединението во тој пламен, пламенот се збогатува со електрони и јони. Јоните се собираат и продуцираат електричен сигнал кој потоа се мери. Детекторот е исклучително чувствителен на повеќето органски соединенија и е релативно нечувствителен на температурни промени, мали промени на проток и кон водата. Оваа неосетливост кон водата го подобрува користењето на овој детектор за анализа на примероци во водени раствори. Предноста на FID детекторот е ниската граница на детекција и линеарен одговор од  $1 \cdot 10^6$  на големината на аналитот и мал шум, издржлив е и лесен за употреба. Недостаток е што при примената на FID детектор, при процесот на согорување, примерокот се уништува.

*Детектор на термичка спроводливост (Thermal Conductivity Detector-TCD).* Се користи при анализа на неоргански гасови: аргон, азот, водород, јаглерод диоксид и мали молекули на јаглеводороди. Кај овој детектор доаѓа до термичка спроводливост на мобилната фаза (најчесто хелиум и водород, поради високата термичка спроводливост). Составен е од електрично загреан извор чија температура зависи од термичката спроводливост на околниот гас. Загреаниот елемент може да биде тенка жица од платина, злато или волфрам. Електричниот отпор на елементот зависи од термичката спроводливост на

гасот. Мобилната фаза при излегувањето од колоната поминува низ загреаниот елемент. Кога растворената компонента ќе се елуира, температурата на загреаниот елемент се намалува а се намалува и термичката спроводливост на мобилната фаза. TCD ја споредува топлинската спроводливост на двата гасни приливи - чист носач (референтен) гас и примерокот. Промените во температурата на електрично загреаните жици во детекторот се засегнати од топлинската спроводливост на гасот што тече околу нив. Промените во оваа топлинска спроводливост се чувствуваат како промена во електричниот отпор и се мерат. Предноста е во тоа што дава линеарен одговор за концентрации во интервал од  $10^4$  и не го уништува примерокот што овозможува собирање на растворените супстанции по нивната детекција. Недостаток на овој детектор е малата граница на детекција во споредба со други детектори. Кога овој детектор е поврзан со GC-TCD потребно е носечкиот гас да биде со ниска содржина на вода и кислород бидејќи водата и кислородот можат да предизвикаат значителни проблеми како што се бучава и да влијаат врз колоната со намалување на животниот век на колоната. Дополнително, кислородните и нечистотиите од водата може да влијаат на TCD и да предизвикаат оксидација на жиците во детекторот (Петропулос & Гулабовски, 2014).

*Детектор со електронски зафат (Electron-Capture Detectro - ECD).* Составен е од радиоактивен бета емитер (пр.<sup>63</sup>Ni). Електроните кога се емитираат ја јонизираат мобилната фаза и се добиваат дополнителни електрони кои создаваат струја помеѓу двете електроди. Кога растворената супстанца (со висока моќност за заробување на електрони) се елуира во колоната, струјата се намалува и ова намалување служи како сигнал кој се мери. На пример, во присуство на органски молекули кои содржат електронегативни функционални групи кои може да „фатат“ електрони, оваа струја се намалува. Овој детектор се користи за анализа на халогенирани јаглеводороди, пестициди, нитро соединенија, полихлорирани бифенили, а е неосетлив за амини, алкохоли и јаглеводороди (Харви, 2009). Кислородните и водените нечистотиите од мобилната фаза можат да го оксидираат изворот на радиоактивен никел и да го намалат одговорот на детекторот. Покрај тоа, носечкиот гас мора да има исклучително ниско ниво на халокарбони бидејќи

ECD е екстремно осетлив на овие соединенија. Граница на детекција е одлична но линеарниот опсег е многу мал (два реда големина).

*Пламен-фотометриски детектор (FDP).* Детектор што се користи при анализа на соединенија и метали кои содржат сулфур или фосфор, како и метали како што се калај, бром, арсен и хром. Овој детектор користи пламен од водород/воздух каде се внесува примерокот. Фосфорните и сулфурните јаглеводороди генерираат хемилумисценција на специфични бранови должини кои кога се пренесуваат во фотомултипликатор, даваат електричен сигнал кој може да се мери. Овој детектор е исклучително чувствителен на јаглеводородни нечистотии при снабдувањето со водород и воздух за пламенот. Овие нечистотии предизвикуваат зголемена бучава и ја намалуваат чувствителноста на детекторот (Харви, 2009).

*Детектор со фото-јонизација (Photoionization Detector - PID).* Детекторот се користи при анализа на широк спектар на ароматични јаглеводороди и други органски соединенија. Типична примена е анализа на загадувањето на вода од јаглеводороди. PID користи ултравиолетова светлина за да ги јонизира компонентите што излегуваат од колоната. Јоните се собираат од електродите и се мери концентрацијата. Како носечки гасови се користат хелиум и азот.

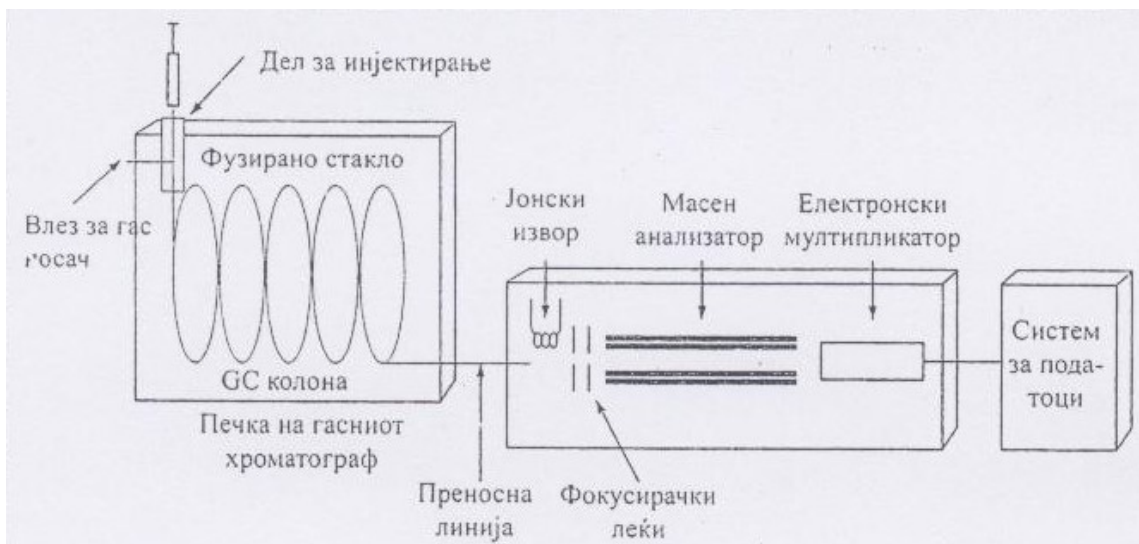
#### **2.4.8 Гасна хроматографија со масена спектроскопија (GC-MS)**

Гасната хроматографија е техника со која се овозможува брзо раздвојување на компонентите во смеса на органски соединенија. Таа има голема моќ за раздвојување и квантитативно определување на раздвоените компоненти со голема точност.

Таа е метода со голема моќ на раздвојување и можност за квантитативно одредување на раздвоените компоненти со задоволителна точност. Но таа има и одредени слабости како квалитативна метода бидејќи идентификацијата на поедини компоненти се врши индиректно, што понекогаш е невозможно посебно ако станува збор за комплицирана смеса. Во ваквите случаи се користат други методи на идентификација, позната како масена и инфрацрвена спектрометрија. Овие методи може да се користат на два начина.

Првиот е кога поединечните компоненти од смесата после излегување од колоната се собираат и дополнително се анализираат. Вториот начин е гасниот хроматограф да се спои со одреден спектрометар во која е возможна анализа на поединечните раздвоени состојки од смесата непосредно по неговото излегување на колоната. За двете методи е карактеристично да користат приближно иста количина на примерок во гасовита состојба (помалку од 1 ng). Долго време спојувањето на овие два инструменти било голем проблем бидејќи во масениот спектрометар има висок вакуум, на излегување од колоната при гасна хроматографија, притисокот е малку поголем од атмосферскиот. Овој проблем се решава така што пакуваните колони се поврзуваат со јонски извор преку таканаречен сепаратор. Бидејќи GC може да се поврзе директно со MS оваа метода е континуирана постапка на врзување. Кај дисконтинуираната постапка компонентите прво се раздвојуваат со помош на GC а потоа со кондензација во капиларна цевка на излезот се издвојуваат а потоа секој примерок се внесува посебно во MS. Во оваа метода односно кај GC-MS се користат различни системи за инјектирање, колони, гасови носачи, јонски извори и масени анализатори.

Во состав на GC-MS покрај снимањето на масените спектри, масениот спектрометар има и улога на гасно-хроматографски детектор со кои поединечно секоја раздвоена компонента се одредува на основа на избраниот масен број кој е карактеристичен за неа. За време на анализата се добиваат голем број на податоци, каде се обработуваат со помош на софтвер (слика 8) (Jokanović, 2014).



Слика 8. Шема на гасен хроматограф со масена спектрометрија (Ског и сор., 2009)

Figure 8. Schematic diagram of gas chromatograph with mass spectrometry (Skoog et al., 2009)

Масениот детектор користи електрично или магнетно поле или нивна комбинација да ги раздвои јоните на основа маса/полнеж. Во комбинација на гасна или течна хроматографија се користат детектори со квадроупл јонски филтер, јонска замка и анализатор со време на прелетување (engl. Time of Flight–TOF) или нивна комбинација (Ardrey, 2003; Picó et al., 2004).

Во GC-MS, елуентот од колоната се внесува директно во јонизационата комора на масениот спектрометар (слика 8). Елуентот се внесува, при што ќе го елиминира вишокот од носечкиот гас. Масен спектар е графички приказ на јонскиот интензитет како функција од односот маса/полнеж на јонот. Во јонизационата комора сите молекули (на заостанатиот носечки гас, на растворувачот и на растворените супстанции) се јонизираат и јоните се раздвојуваат според нивниот однос маса / полнеж.

Масата ( $m$ ) претставуваа збир на масените броеви на сите атоми кој го сочинуваат дадениот јон а ( $z$ ) е бројот на електрони создадени за време на процесот на јонизација. Бидејќи секоја растворена супстанца претрпува специфични фрагментации во помали јони, нејзиниот масен спектар, кој го покажува јонскиот интензитет како функција од односот маса/полнеж, овозможува квалитативна информација којашто може да се користи за идентификација на растворената супстанца. Вкупната јонска сила за сите јони

кои достигнуваат до детекторот обично се користи за добивање на хроматограм. Селективноста може да се постигне само ако се следат специфични односи маса/полнеж, процес наречен селективно јонско следење.

*MS/MS е тандем масена спектрометрија* при која се извршуваат две фази од масената анализа. Првата фаза опфаќа изолација на јон од интерес додека другата анализа ги опфаќа настанатите фрагменти. Во јонската стапица пред фрагментацијата се изолира еден јон (прекурсор јон), додека останатите јони излегуваат од стапицата. Потоа, на останатите јони во стапицата преку електроди се воведува резонантна фреквенција со ниска амплитуда од 1-3 kV. На овој начин јоните добиваат кинетичка енергија која доведува до фрагментација на јоните при судир со атомите на хелиум. Додадената резонантна фреквенција влијае само врз прекурсор јонот додека останатите фрагменти немаат иста осцилаторна фреквенција и тие не се наоѓаат во возбудена состојба (Radišić, 2013). Настанатите фрагменти секвенцијално излегуваат од стапицата и се добива MS/MS спектар. Процесот на изолација, фрагментација и масена анализа може да се повтори неколку пати и тој процес е познат како MS<sup>n</sup> анализа (Fernández, 2007). Најчесто користени степени MS<sup>n</sup> анализа за проучување на пестициди се MS<sup>3</sup> и MS<sup>4</sup> (Baglio et al., 1999; Blasco et al., 2004). Најголем недостаток на тандем масената анализа со помош на јонска стапица е неможноста да се детектира фрагментот чија m/z вредност е помала од 1/3 m/z вредност од прекурсор јонот (Fernández, 2007).

### 3. ПРЕДГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

#### 3.1 Преглед на досегашни истражувања за екстракција и анализа на резидуи од пестициди

Низ литературните податоци постојат голем број истражувања поврзани со анализа на пестициди во овошје и зеленчук и дел од нив се претставени во следниот дел. Најголем дел од нив се однесуваат на екстракција на резидуи (со различни техники) и анализа на пестициди со хроматографски методи (течна и гасна хроматографија) поврзани со различни детектори.

Авторот Aysal со соработниците (2007) направиле модификација во QuEChERS методот и наместо ацетонитрил употребиле етил ацетат како растворувач за екстракција на резидуи од пестициди во овошје и зеленчук (јаболка, домати и смрзнат грашок). Тие забележале дека етил ацетатот е подобар при анализа со гасна хроматографија со електронски детектор (ECD) и азотен фосфор детектор (NPD). При анализа на 24 пестициди (дихлорвос, с-етил дипропилтиокарбамат, мевинфос, хептенофос, фолпет, диметоат, диазинон, примикарб, фенитроцион, хлорфенвинфос, метидатион, триазофос, ипродион, фенпропатрин, азинфос-метил, фенаримол, коумафос, фенвалерат, цифлутрин, пропиконазол, алфа-ендосулфан, винклозолин, линдан и пропахлор) со наведениот метод забележале лимит на детекција од 0,005-0,01 mg/kg.

Авторот Sinha со соработниците (2012) направиле квантификација на органофосфорни инсектициди и хербициди во овошни примероци користејќи QuEChERS метод и течна хроматографија со електроспреј јонизација со масена спектрометрија (LC-ESI/MS). Методот бил успешно применет за анализа на резидуи во зеленчук. Целните пестициди биле застапени со концентрација која е во ранг од 0,016 до 50,85  $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$ .

QuEChERS метод е користен при екстракција на линурон во камилица, а анализиран со течна хроматографија поврзана со масена спектрометрија (LC-MS/MS). Нема детектирано линурон во цветовите, но во стебленцата од камилица оваа активна материја се движи во ранг од 0,010 до 0,040 mg/kg (Trifunović et al., 2015).



QuEChERS метод бил валидиран за анализа на 140 резидуи од пестициди во два различни примероци краставица и портокал, односно матрикс со висока содржина на вода и киселина. Анализата на пестицидите е направена со GC-QqQ-MS/MS. Авторите забележуваат дека овој метод е одржлив и може да се користи при рутинска анализа на пестициди (Mogeno et al., 2008).

Анализирани се резидуи од хлорпирифос, ендосулфан, диклофол, циперметрин, фенвалерат, пропаргит (анализирани со гасна хроматографија), карбендазим, карбосулфан, тиаметоксам (анализирани со течна хроматографија) и малатион, форат, манкозеб (анализиран со колориметриска метода) во јаболка, одгледувани со интегрална заштита на штетници (IPM) и неинтегрална заштита на штетници (non-IPM) во областа Shimla, Индија. Резидуите од анализираните пестициди во сите примероци се под лимитот на детекција освен за карбендазим и хлорпирифос. Иако, резидуите на карбендазим и хлорпирифос не ја надминуваат максимално дозволената концентрација (МДК) во двата случаи (IPM и non-IPM), сепак резидуите се помали во јаболката одгледувани со интегрална заштита (IPM) (Singh et al., 2009).

Авторот Tsakiris и неговите соработници (2004) направиле мониторинг на резидуи од пестициди во свежи праски одгледувани со конвенционално производство и производство базирано на интегрална заштита во Северна Грција. Анализата на резидуите била направена со гасна хроматографија со масена спектроскопија а екстракцијата на резидуите извршена со цврсто фазна екстракција. Се анализирале следниве инсектициди: диметоат, метамидифос, хлорпирифос метил, паратион метил, малатион, хлорпирифос, фентион, едносулфан, етион, фосмет, фосалон и азинфос-метил. Од фунгицидите анализирани биле: хлороталонил и каптан а од акарициди анализиран е диклофол. Концентрацијата на резидуите во свежите праски одгледувани со интегрална заштита е под нивото на МДК. Додека, во 7 % од примероците одгледувани по конвенционален начин, резидуите од хлорпирифос ја надминале максимално дозволената концентрација (МДК).

Бидејќи овошјето и зеленчукот се категорија на храна која многу често се консумира во свежа или процесирана состојба, очекувано е содржината на пестицидите да биде поголема за разлика од друга категорија на храна како

што се на пример лебот или житарките. Храната од животинско потекло содржи помала количина на резидуи од пестициди. Изложеноста на одредена група луѓе кон резидуи од пестициди кои конзумираат овошје и зеленчук во Белгија е истражувана од страна на авторот Claeys и соработниците (2011). Резултатите покажале дека возрасната категорија на луѓе (над 15 години) е генерално под контрола иако почесто конзумира овошје и зеленчук. Кај најголем дел од пестицидите, изложеноста е илјада пати помала од прифатливиот дневен внес („acceptable daily intake - ADI“). Кај децата (2-5 години) кои исто така конзумираат голема содржина на овошје и зеленчук, има индикации дека кај одредени пестициди ADI може да биде надминат. Авторите забележувале дека миењето на овошјето и зеленчукот резултира со 5-6 пати помала изложеност.

Според авторот Łozowicka (2015) најголем проценет ризик за акутна изложеност кај децата и возрасните кои конзумираат јаболка има флусилазол и тебуконазол. Ова е докажано при анализа на 186 пестициди (фунгициди, инсектициди) во јаболка од Полска, со гасна хроматографија, течна хроматографија и спектрофотометриски техники. Според добиените резултати само во 33,5 % од анализираните примероци не се содржеле резидуи од пестициди. Во 66,5 % од примероците биле детектирани 34 пестициди од кои најмногу се фунгициди, додека максимално дозволената концентрација била надмината во 3 % од примероците.

Течна хроматографија со високи перформанси (HPLC) и суперкритична екстракција (SFE) е применета за анализа на 27 активни материи (муклобутанил, цимоксанил, дикломезин, пиридат, тиабендазол, карбарил, имазалил, пиразоксифен, хекситиазокс, тебуфенозид, дифлубензурон итн.) во свежо овошје и зеленчук (красавица, компири, јаболка, ротквица и банана). Лимитот на детекција за сите активни материи бил 0,005-0,01 ppm (Kaihara et al., 2000).

Rodriguez и соработниците (2002) наведуваат дека капиларна електрофорезна – масена спектрометрија (CE-ESI-MS) има потенцијал да стане поволна техника за детекција на резидуи од пестициди и да се користи како алтернатива за многу често користените GC-MS и LC-MS техники. При анализа на фунгицидите тиабендазол и процимидон во овошје и зеленчук (јаболка, грозје, портокал, круши, јагоди и домати) со CE-ESI-MS забележале

дека во 50 % од анализираните примероци се содржеле едната или двете активни материи со концентрација која е во ранг од 0,05 до 1,00 mg/kg.

Авторот Navarro и соработниците (2002) употребиле матрикс цврсто фазна дисперзија (MSPD) и гасна хроматографија (GC) за анализа на 8 фунгициди (квинтозен, пириметанил, каптан, фолпет, флутоланил, флудиоксанил, карбоксин и тебуконазол) во овошје и зеленчук (јаболко, артичок, моркови, тиквички, портокали и домати). Концентрацијата на фунгицидите е под МДК. Лимитот на детекција и квантификација на овие резидуи во овошјето и зеленчукот се под 0,1 mg/kg.

Гасна хроматографија со масена спектрометрија (GC-MS) со цврсто-фазна микроекстракција (HSSPME) е употребена од страна на авторот Navalon и соработниците (2002) за анализа на фунгициди пириметанил и кресоксим-метил во грозје, јагоди, домати и кечап. Лимит на детекција за кресоксим-метил е 2,8-3,1 ng/g додека за пириметанил е 1,8-2,0 ng/g. Релативна стандардна девијација (RSD) е помеѓу 7,4 и 15,0 %. Авторите заклучуваат дека овој метод може да се користи при мониторинг на посочените активни материи во наведените примероци.

Фунгицидите азоксистробин и трифлористробин во јаболка, се анализирани со гасна хроматографија и детектор со адсорпција на електрони ( $\mu$ -ECD) (GC-EC) но и со нитроген фосфор детектор (NDP). Лимитот на детекција е 0,02 mg/kg за азоксистробин и 0,01 mg/kg за трифлористробин (Giza & Sztwiertnia, 2003).

Имидаклоприд како најчесто користен системичен инсектицид е анализиран со течна хроматографија (LC-APCI-MS/MS) во почва, растенија и полен. Екстракцијата, сепарацијата и детекцијата е направена според критериумите за обезбедување квалитет и согласно директивата 96/23/EC која се однесува на забранети супстанции. Линеарен ранг е 0,5-20  $\mu$ g/kg имидаклоприд во почва, растенија и полен со релативна стандардна девијација од 2,9 % на 1  $\mu$ g/kg. Лимит на детекција (LOD) е 0,1  $\mu$ g/kg и лимит на квантификација (LOQ) е 1  $\mu$ g/kg. Овој метод може да се применува и за анализа на имидаклоприд во вода, овошје и зеленчук (Vonmatin et al., 2003).

Течна хроматографија со UV детектор (LC-UV) е применета за анализа на клофентезин (акарицид) во овошје (јаболка, манго, портокал и папаја) од локален маркет во Araraquara, Бразил. Овој инсектицид се користи како

средство за заштита против *Panonychus ulmi* и *Teranychus spp.* Не биле детектирани резидуи од клофентезин. Лимитот на квантификација (LOQ) постигнат со овој метод е во согласност со МДК и овој метод може да се користи за рутинска анализа (Navickiene & Ribeiro, 2004).

Мултирезидуален метод за анализа на 74 пестициди (карбамати, коназол, бензимидазоли, фунгициди и инсектициди) во овошје и зеленчук со течна хроматографија со електроспреј тандем масена спектроскопија (LC-ESI-MS/MS) и екстракција со етил ацетат (без додадени реагенси за отстранување на интерференции) е спроведен од авторот Ortelli и неговите соработници (2004). Дел од анализираните активни материи се: ацетамиприд, алдикарб, азоксистробин, бендиокарб, карбендазим, карбофуран, цимоксанил, дифеноконазол, диметоат, диметилан, феноксикарб, флудиоксонил, хекситазокс, имазалил, имидаклоприд, муклобутанил, ометоат, фосалон, пиримикарб, пириметанил, тебуконазол, тиаклоприд, тиофанат-етил, тиофанат-метил итн. Добиените вредности за точност и релативна стандардна девијација како и лимит на квантификација (0,01 mg/kg) дозволуваат овој метод да се користи при рутинска анализа на пестициди. Авторите забележале присуство на еден или повеќе пестициди во половина од примероците. Црешите, цитрусното овошје и лиснатиот зеленчук биле многу контаминирани со пестициди. Повеќе од 30 % од примероците содржеле повеќе резидуи од пестициди, а во примероците од грозје се детектирани 12 различни резидуи од пестициди но сепак со помала концентрација од МДК.

Гасна хроматографија со нитроген фосфор детектор (GC-NPD) е употребена за анализа на резидуи од азоксистробин, фенхексамид и пириметанил во јагоди после третман (миење со вода од чешма и миење со комерцијален детергент). Кај јагодите после миење со вода од чешма, концентрациите на резидуите од азоксистробин и пириметанил се во ранг од 0,55 до 2,98 mg/kg што се под границите од МДК предвидени во ЕУ, додека концентрацијата на фенхексамид е 2,99 mg/kg и е многу блиску до МДК (3 mg/kg). Миењето со вода од чешма ги намалува резидуите од азоксистробин и фенхексамид, но не и на пириметанил. Кај јагодите измиени со комерцијален детергент било забележано намалување на концентрацијата за 45 % за азоксистробин и пириметанил и 60 % за фенхексамид (Angioni et al., 2004).

Течна хроматографија со тандем масена спектрометрија (LC-MS/MS) е применета за анализа на 22 триазолни компоненти и нивни метаболити вклучувајќи фунгициди во јаболка, праски, брашно и вода. Се применил трипл квадрупол масен спектрометар и електроспреј јонизација за детерминација на активните материи од интерес. Се анализирале следниве фунгициди: пропиконазол, фенбуконазол и неговиот метаболит RH-9129, RH-9130, ципроконазол, дифеноконазол, тебуконазол и неговиот метаболит HWG 2061, хексаконазол, бромбуконазол, епоксиконазол, тетраконазол, тритриконазол и неговиот метаболит RPA-404886 и RPA-406341, триадимефон, триадименол и муклобутанил. Метаболитите 1,2,4-триазол (Т), триазолиланин (ТА) и триазолиацетинска киселина (ТАА) се квантифицирани со 25-50 ppb во примероците од храна и 0,50 ppb во вода. Авторите добиле точност на методот за јаболка од 70-101 %, 60-121 % за праски, 57-118 % за брашно, 75-99 % за сурова вода и 79-99 % за вода од чешма (Schermerhorn et al., 2005).

Авторот Chu и соработниците (2005), направиле валидација на метод за детекција на резидуи од пестициди во сок од јаболка произведени во Кина. Употребиле матрикс цврсто фазна распределба (MSPD), екстрахирале 266 пестициди од сок од јаболко и анализата ја направиле со гасна хроматографија со масен селективен детектор (GC-MSD). Од сите пестициди најмногу е застапен фенпропатрин кој и најмногу се користи во провинцијата Shaanxi (од каде се земени и примероците за анализа) но тој е во граница на дозволените вредности објавени во Кина. Од добиените резултати се забележува дека овој метод е чувствителен и неговата предност е што овозможува брза подготовка на примероците. Овој заклучок се однесува на широк ранг на пестициди и е применлив за анализа на сок од јаболко и многу погоден за употреба во лаборатории.

Авторот Štěpán и соработниците (2005) анализирале свежи јаболка од сортата ајдаред и златен делишес кои се користеле за подготовка на храна за бебиња. Анализирани биле 86 пестициди со гасна хроматографија. Резидуи од пестициди се детектирани во 59,5 % од примероците кај свежите јаболка но МДК е надмината само кај 1,4 % од примероците. Во 33 % од примероците биле детектирани значително пониски вредности на резидуите од МДК. Миењето на јаболката (вода, 10-15°C, 6 min) значително не ја намалило содржината на резидуи од пестициди. Но, третирање на јаболката со пара

(110°C, 20-25 min) и отстранување на лушпите од јаболката (65-70°C, 3 min) бил идентификуван како најефикасен чекор во намалување на резидуи од фосалон и целосна елиминација на фенитротион и толилфлуанид.

Свежите јаболка и процесираниите јаболка се користат за подготовка на храна за бебиња во Словенија. Domotorova и соработниците (2006) го испитувале присуството на резидуи од пестициди во јаболка од следниве сорти: златен делишес, ајдаред, топаз, рубинола, јонаголд, глостер, шампион и селена. Јаболката се одгледувале во различни локации (Nove Zamky, Nova Trstena, Dvory nad Zitavou) во Словенија. Анализата била извршена со GC-MS. Примероците на јаболка од локацијата Nove Zamky покажале висока концентрација на етофенпрокс во сортата топаз. Добиената концентрација е 19,6 µg/kg и е скоро два пати поголема од дозволената (10 µg/kg). Концентрацијата на етофенпрокс во сортата ајдаред е 11,3 µg/kg и за многу малку ја надминува МДК. Во сортата златен делишес и рубинола концентрацијата на оваа активна материја е под МДК. Кај јаболката одгледувани на локација Dvory nad Zitavou концентрацијата на фенитротион е 18,5 µg/kg и е над дозволената МДК. Пенконазол е детектиран со мала концентрација во сортите шампион, ајдаред, глостер и јонаголд. Во локацијата Nova Trstena детектиран бил само циперметрин кој не ја надминувал МДК. Добиените резултати од анализата покажале дека останатите резидуи од пестициди се застапени до концентрација под 10 µg/kg што кореспондира со максимум дозволените концентрации на пестицидите во храна за бебиња предвидено со правилник (Official Journal of the European Communities, 1999).

Pang и соработниците (2006) користеле мултирезидуален метод за детерминација на 450 резидуи од пестициди во мед, овошни сокови (направени од јаболко и др.) и вино и притоа употребиле двојна цврсто фазна екстракција, гасна хроматографија со масена спектроскопија (GC-MS) и течна хроматографија со тандем масена спектроскопија (LC-MS/MS). Овој метод покажал добри резултати за анализа на резидуи во мед, овошни сокови и вино, освен за праз и кромид.

За детерминација на карбосулфан и седум негови метаболити во портокал била применета течна хроматографија (LC-IT-MS) и течна екстракција под притисок (PLE) со дихлорометан. Од добиените резултати при анализата се забележува дека главни деградациони продукти се: карбофуран, 3-

хидроксикарбофуран, 3-кетокрбофуран и дибутиламин кои се последица на механизам на хидролиза и оксидација но се застапени со концентрација помала од МДК. Лимит на квантификација (LOQ) е во ранг од 0,01 до 0,07 mg/kg, точност (R%) од 55-90 % а релативна стандардна девијација (RSD) од 8 до 19 % (Soler et al., 2006).

Sadło и соработниците (2007) анализирале резидуи од пестициди во различни видови на овошје и зеленчук вклучувајќи и јаболка од Полска. Резидуите се анализирале со GC/NP детектор. Се добиле следниве резултати: бупиримат (2,19 mg/kg), каптан (1,82 mg/kg), етиленбисдитиокарбамат (1,6 mg/kg), толилфлуанид (1,44 mg/kg), процимидон (1,19 mg/kg) и хлорпирифос (1,01 mg/kg). Во 3,6 % од примероците биле надминати националните МДК вредности.

При анализа на пестициди од различни хемиски групи (поларни органофосфати, карбамати, стробилурины, неоникотиноиди, амиди, пиримидини, бензимидазоли, имидазолати и триазоли) и нивни метаболити во процесирано овошје и зеленчук со течна хроматографија со електроспреј јонизација (LC-ESI-MS) се покажало точност (R %) од 65-94,4 % а RSD од 9,0 до 20 %, LOD од 0,002 до 0,007 mg/kg. Утврдено е дека оваа метода може да се користи за рутинска анализа на пестициди во мониторинг програмите (Botitsi et al., 2007).

Отстранувањето на инсектицид ендосулфан во зеленчук со домашен третман (миење - 25-30°C, 30 сек.; пилинг - излупени во соодветна големина со пилинг нож и готвење) е истражувано од авторот Randhawa и соработниците (2007). Анализирани се модар патлиџан, спанаќ, домати, карфиол и бамја со HPLC. Најголема содржина на ендосулфан имало во модар патлиџан во свежа состојба (2,43 mg/kg), бамја (1,83 mg/kg) и спанаќ (1,25 mg/kg) и најмалку кај домати (0,177 mg/kg). Резидуите најмногу се отстраниле со пилинг (60-67 %), миење (15-30 %) и готвење (13-35 %). Готвењето на зеленчукот ја намалува концентрацијата на резидуите под МДК.

За детерминација на акарицид амитраз во мед е употребена високо ефикасна течна хроматографија (HPLC) во Анкара, Турција. Во 15 % од примероците биле детектирани резидуи од амитраз. Во дел од примероците концентрацијата на амитраз ја надминала МДК од 1 mg/kg која ја пропишала Светската здравствена организација (Çobanoğlu & Tüze, 2008).

Авторот Kovalczuk и соработниците (2008) развиле и оптимизирале метод за анализа на 64 резидуи од пестициди и нивни метаболити во екстракти од јаболка. Анализата ја извеле со UPLC-MS/MS додека екстракција била направена со QuEChERS. Авторите потенцираат дека овој метод може да се користи и за анализа на резидуи од пестициди во храна за бебиња каде МДК се многу помали.

Гасна хроматографија со пламен јонизирачки детектор (GC-FDT) е користена за анализа на органофосфорни пестициди (ометоат, диметоат, етион, малаоксон, фентион, фентион сулфоксид и фентион сулфон) во маслиново масло од Грција. Најчесто застапени пестициди биле диметоат и фентион. Во 30, 5 % од примероците се содржеле резидуи од пестициди а диметоат бил детектиран со концентрација која ја надминува МДК. Фентион и фентион сулфоксид се детектирале во 10,8 % и 14,4 % од примероците со концентрација од 0,003-0,61 mg/kg. Диметоат е детектиран во 10,2 % од примероците со 0,003-0,0057 mg/kg. Авторите заклучуваат дека не постои опасност од акутна или хронична изложеност при консумација на маслиново масло (Tsoutsis et al., 2008).

Авторот Radišić и соработниците (2009), анализирале: ацефат, монокротофос, диметоат, малатион (органофосфорни пестициди), ацетамиприд (неоникотиноид), симазин, атразин (триазини), диурон (фенилуреа), карбофуран (карбамати), 4,6-динитро-о-крезол (DNOC) (динитрофенол) и тебуфенозид (диацилхидразин), карбендазим (бензимидазол) во овошни сокови од јаболко, праска, портокал и малина произведени од локални компании и снабдени од маркет. Анализата е вршена со течна хроматографија тандем масена спектрометрија. Екстракцијата е работена со матрикс цврста фазна дисперзија со дијатомејска земја како распрснувач и дихлорметан како растворувач. Добиените резултати покажуваат дека во 90 % од примероците се детектирани резидуи. Карбендазим бил најчесто детектиран во скоро 80 % од примероците. Диметоат и монокротофос исто така биле присутни во 22 % од примероците. Но сепак, тие се застапени со концентрација која е под максимално дозволените концентрации предвидени во ЕУ. Во три примероци од вкупно 18 примероци за анализа немало присуство на пестициди.



Авторот Chen и соработниците (2009), ја следеле деградацијата на метамидофос и хлорпирифос во сок од јаболко третирано со импулсно електрично поле (PEF) и резидуите се анализирале со гасна хроматографија со пламено фотометриски детектор (GC-FPD). Резултатите покажале дека силата на електричното поле (8-20 kV/cm) и бројот на пулсирања (6-26 пулсирања) има значаен ефект врз деградацијата на метамидофос и хлорпирифос. PEF е ефективен третман за деградација на овие пестициди во сок од јаболко додека хлорпирифос е повеќе лабилен кон PEF отколку метамидофос. Зголемување на бројот на пулсирања или силата на електрично поле може да ја забрза деградацијата на метамидофос и хлорпирифос.

За анализа на фунгицидите диетофенкарб и пириметанил во пулпа и кора од јаболко била применета течна хроматографија со високи перформанси и детектор со низа од диоди (HPLC-DAD). Употребена е течно-течна микроекстракција базирана на солидификација со органски растворувач (ацетонитрил) (DLLME-SFO). Граница на детекција за двата фунгициди е 1,2 - 1,6 µg/kg. Споредувајќи ја оваа метода со стандардната конвенционална подготовка, таа има предност во брзината и едноставноста како и мала употребливост на органски растворувач (Zhou et al., 2010).

Авторот Liu и соработниците (2010) анализирале два фунгициди (кресоксим-метил и боскалид) со GC-MS во овошје, зеленчук и почва. Применета била течно-течна екстракција со ацетон и дихлорметан како растворувач. LOD за кресоксим-метил и боскалид е 0,006 mg/kg и 0,015 mg/kg, и LOQs од 0,02 mg/kg и 0,05 mg/kg. Релативна стандардна девијација (RSD) е од 13,8 % и 14,5%, а точноста е во ранг од 77,1 % до 98,7% за кресоксим-метил и 72,8-105,1% за боскалид. Концентрацијата за остатоците од двата фунгициди во дињи собрани 7 дена по последната апликација била под утврдените вредности на МДК.

LC-ESI/MS и UPLC-QqTOF/MS се применети за анализа на 148 пестициди во бобинки. За екстракција на резидуите е употребен QuEChERS метод. Авторите забележуваат дека при анализата со LC-ESI-MS/MS, за 95% од пестицидите има точност помеѓу 81 и 110%, 98% од пестицидите има средна прецизност од 20 % и кај 95 % од пестицидите се покажало мерна неизвесност од 40 %. За 95 % од пестицидите анализирани со UPLC-QqTOF/MS има точност помеѓу 81 и 110 %, во 86 % од пестицидите има средна

прецизност од 20 % и во 83 % од пестицидите покажале мерна несигурност од 40 %. Авторите предлагаат LC-ESI/MS/MS да биде прв избор за квантификација на претаргетирана анализа поради супериорна чувствителност и добра повторливост додека UPLC QqTOF/MS е идеална за пост целно истражување и потврдност бидејќи има прецизно мерење на маса (Wang et al., 2010).

GC-MS била примената за детерминација на органофосфатни и пиретроидни резидуи од инсектициди од овошје, зеленчук и овошни сокови. Истражувањето покажало дека во 14 % или 5 % од примероците се содржат најмалку еден органофосфатен или пиретроиден инсектицид, соодветно. Анализирани се вкупно 11 органофосфатни инсектициди во храна за деца и добиена е концентрација која се движи во ранг од 1 до 387 ng/g и кај три пиретроидни инсектициди концентрација во ранг од 2 до 1133 ng/g (Koesukwiwat et al., 2010).

Детерминација на резидуи од кресоксим-метил и боскалид во јаболка, круши, пиперки, модар патлиџан, диња, краставица и почва е направена со GC-ECD. Детерминирани се 5 резидуи ( $\gamma$ -HCH, хлороталонил, фенитротион, хлорпирифос и поцимидон) во домати. Авторите добиле точност помеѓу 70-110%, LOD и LOQ биле од 0,04-0,06 ng/kg и 0,014-0,03 mg/kg (Cardoso et al., 2010).

Morales и соработниците (2011) примениле LC-ESI-MS за анализа на резидуи од пестициди во пиперки од Murcia, Шпанија. Екстракцијата била извршена со QuEChERS метод. Детектирале 16 пестициди и тоа: флуфеноксурон, феноксикарб, диметоморф, ацетамиприд, имидаклоприд, луфенурон, тиаклоприд, тиабендазол, тиофанат-метил, спиносад, фенбутатин оксид, метоксифенозид, оксамил, клотианидин, тиаметоксам и карбендазим. Сите резидуи биле застапени со концентрации под максимално дозволените согласно европските стандарди.

Анализа на резидуи од фенбуконазол и муклобутанил во јагоди со HPLC-MS/MS и екстракција со ацетонитрил е направена од страна на авторот Zhang и соработниците (2011). Бил применет едноставен и чувствителен енантиселективен метод за детерминација на овие пестициди. Резултатите покажале дека деградацијата на фенбуконазол во јагодите не е енантиселективна додека деградацијата на муклобутанил е

енантиоселективна и дека (+) – муклобутанил покажува побрза деградација за разлика од (-)-муклобутанил.

Rodrigues и соработниците (2011), анализирале инсектициди во разни примероци од овошје (портокал, диња, овошен сок, домати и сок од шеќерна трска) со GC-ECD. Примероците биле одгледувани на четири различни локации во Бразил (Serra Grande, Barauna, Pactuba и Aquiraz). Добиените резултати биле споредувани со МДК за Бразил а потоа споредувани со МДК од Европската унија. Детектирани биле резидуи од следниве активни материи: 2,4-дихлорофенол (органохлорни пестициди), малатион, паратион метил и хлорпирифос (фосфорни пестициди) но тие биле застапени со концентрација под пропишаните максимално дозволени концентрации.

Liu и соработниците (2010) развиле и валидирале метод за анализа на резидуи од трифлористробин, тебуконазол и нивни метаболити во краставици, домати, кинеска зелка и грозје. Екстракцијата била направена со QuEChERS метод а анализата на резидуите со гасна хроматографија со азотен фосфор детектор (GC-NPD) и гасна хроматографија со масена спектроскопија со јонска стапица (GC-IT-MS). Се покажало дека IT-MS има поголема специфичност, селективност, подобар лимит за детекција и квантификација. Но повторливоста и прецизноста со NPD е поголема во споредба со IT-MS.

Walorczyk & Drozdzyński (2011), развиле и валидирале рутински мултирезидуален метод за детерминација на 140 пестициди во овошје (јаболка, јагоди, рибизли и круши) и зеленчук (домати, краставици, печурки, пиперки и кромид) со гасна хроматографија тандем квадрупол масена спектрометрија (GC-MS/MS). Потврдена е робуствост на методата. Во 51 % од примероците се детектирани резидуи од 47 пестициди.

Гасна хроматографија со масена спектрометрија (GC-MS/MS) е валидирана за анализа на пестициди во рафиниран шеќер по претходна екстракција на резидуите со растворувач (дихлорметан и хексан 1:1). Анализирани се 11 пестициди во рафиниран шеќер а тоа се:  $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH,  $\delta$ -HCH, p,p'-DDE, p,p'-DDD, p,p'-DDT, хлорпирифос,  $\alpha$ -ендосулфан,  $\beta$ -ендосулфан, ендосулфан сулфат. Само во еден примерок е детектиран хлорпирифос со концентрација од 0,22  $\mu\text{g}/\text{kg}$  додека во другите примероци не се детектирани остатоци од пестициди (Sinha et al., 2011).

Furlani и соработниците (2011), анализирале: трифлуралин, атразин, ацетохлор, алахлор,  $\alpha$ -ендосулфан,  $\beta$ -ендосулфан и ендосулфан  $SO_4$  во сок од шеќерна трска одгледувана на две различни локации во Бразил во различни периоди. Анализата била извршена со GC-ECD со претходна екстракција на резидуите со QuEChERS метод. Добиените резултати овозможиле да се направи споредба во концентрацијата на пестицидите (земајќи ја предвид временската и географската разлика) во примероци замени од две различни локации во два различни временски периоди. Анализата покажала дека концентрациите на резидуите се помали од МДК и авторите забележале дека не постои географска или сезонска варијација во концентрацијата на пестицидите.

Авторот Česnik и соработниците (2012), анализирале 200 активни материи во примероци од јаболка, марула и домати во Словенија. Анализата е направена со LC-MS/MS. Во 38,7 % од примероците (јаболка) не биле детектирани резидуи од пестициди, во 58,6 % се содржеле резидуи со помала или еднаква концентрација на МДК додека во 2,7 % од примероците се забележани резидуи со надмината МДК. Во 84,6 % од примероците на марула не биле детектирани резидуи, во 12,3 % се содржеле резидуи со помала или еднаква концентрација на МДК додека во 3,1 % од примероците се содржеле резидуи со концентрација над МДК. Во 98 % од примероците (домати) не биле детектирани резидуи од пестициди а во 2 % се содржеле помало или еднакво количество на резидуи со МДК. Најзастапени активни материи во јаболката и марулата биле дитиокарбаматите додека кај доматиите најзастапен е фосалон.

Dasika и соработниците (2012), за анализа на резидуи од пестициди во овошје и зеленчук примениле течна хроматографија со тандем масена спектрометрија (LC-MS/MS) и екстракција на пестицидите со QuEChERS метод. Како материјал за работа биле следниве сорти на јаболка: грени смит, пинк лејди и голд дел мичиган. Јаболката биле третирани/измиени со млака вода и со солена млака вода. Анализирани биле 15 резидуи од пестициди вклучувајќи фунгициди (пираклостробин, додин) и инсектициди (примикарб, тиаклоприд и ацетамид итн.). Не биле детектирани резидуи од пестициди со концентрација повисока од МДК но хлорпирифос бил застапен со висока концентрација во грени смит и голд дел. Исто така, авторите забележале дека концентрацијата

на активните материи е значително помала доколку јаболката се измени со топла вода и солена топла вода.

Гасна хроматографија (GC-TOF/MS) користена е за квантификација на резидуи од пестициди (инсектициди, акарициди, хербициди и фунгициди) во примероци со висока содржина на вода (јаболка, домати и моркови), висока содржина на киселина (портокали) и висока содржина на масло. Применет бил QuEChERS метод за екстракција на резидуите. Валидацијата на методот кај примероците што содржат масла е отежнато заради појавата на интерференции и покрај тоа што е користен дисперзивен dSPE и користена C18 колона (Cervera et al., 2012).

Истражуван е ефектот на отстранување на резидуите од хлорпирифос,  $\beta$ -циперметрин, тебуконазол, ацетамиприд и карбендазим во јаболко со разни третмани: миење, пилинг, отстранети семки, централен дел од јаболкото и сок од јаболко. Анализата е направена со UPLC-MS/MS и GC-ECD. Анализата покажала дека повеќе резидуи од пестициди има во кората и јадрото во јаболкото отколку во другите делови. Сепак авторите потенцираат дека помалку резидуи од пестициди има во јадливиот дел од јаболкото. Најмалку резидуи од  $\beta$ -циперметрин има во сокот од јаболко. Редукацијата за  $\beta$ -циперметрин е од 81 % до 84 % додека за другите пестициди таа изнесува од 15 % до 36 % (Kong et al., 2012).

Гасна хроматографија со термален специфичен детектор (GC-TSD) е употребена за анализа на хлорпирифос и диазинон во јаболка земени за време на берба во Дамаванд, Иран. Концентрацијата на хлорпирифос во златните и црвените јаболка изнесува 1,08 ppm и 1,34 ppm додека концентрацијата на диазинон изнесува 0,65 ppm и 0,7 ppm. Концентрацијата на двете активни материи е над дозволената МДК (Maskialeagha & Farahani, 2012).

Гасна хроматографија со детектор со апсорпција на електрони и нитроген фосфор детектор (GC-ECD-NDP) е применета при анализа на резидуи од пестициди во житарки и прехранбени производи од растително потекло при мониторинг во Полска. Во 84, 2 % од примероците не биле пронајдени резидуи, во 15,8 % од нив се содржеле резидуи под МДК додека најзастапен пестицид бил пиримифос-метил. Авторите заклучуваат дека не постои опасност за човековото и здравјето на животните, консумирајќи храна

која содржи резидуи од пестициди со застапената концентрација (Łozowicka et al., 2012).

Авторот Galeano и соработниците (2013), анализирале неоникотинеиди во мед. Анализирани биле: ацетамиприд, клотианидин, имидаклоприд, нитенпирам, тиаклоприд и тиаметоксам со UPLC/MS-MS и QuEChERS метод. Најголема концентрација била забележана за тиаметоксам и ацетамиприд, а најмала концентрација за останатите пестициди.

Авторот Carneiro и соработниците (2013) анализирале 128 пестициди во различни примероци на банани од Бразил со UPLC/MS-MS и QuEChERS метод. Методот покажал добри валидациони параметри како што се линеарност, лимит на детекција и лимит на квантификација и дадена е насока за негово користење при рутинска анализа на примероци што содржат висока содржина на вода. Во примероците се детектирани имидаклоприд (13  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), карбендазим (24  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) и боскалид (31  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Концентрацијата на имидаклоприд е помала од МДК, а боскалид и карбендазим не биле дозволени за употреба според законските правила во Бразил.

Авторот Giroud со соработниците (2013) употребиле UPLC-MS/MS за анализа на пестициди и екстракција на резидуите со QuEChERS метод. Се анализирале следниве инсектициди: тиаметоксам, олефин, 5-хидрокси-имидаклоприд, клотианидин, имидаклоприд, ацетамиприд, ламбда-цихалотрин, циперметрин, делтаметрин, есфенвалерат, бифентрин-6-хлороникотинска киселина. Методот е применет кај 32 примероци пчелин производ. Најчесто детектирани инсектициди се имидаклоприд со концентрација од 0,31 ng/g додека концентрацијата кај ацетамиприд и тиаклоприд надминува 170 ng/g. Детектирани биле и ламбда-цихалотрин и бифентрин но со ниска концентрација.

Zhang и соработниците (2013), употребиле мултирезидуален метод за детерминација на тиаклоприд, тиаметоксам, клотианидин и динотефуран во житарки, зеленчук и овошје, а притоа користеле QuEChERS метод и ултра ефикасна течна хроматографија (UPLC-MS/MS). Методот е валидиран за ориз, краставици, домати, зелка, јаболка и праски. Овој метод дава добра линеарност, ниско ниво на детекција, точност и прецизност. Заради добрите карактеристики може да се користи за рутинска анализа на резидуи во житарки, овошје и зеленчук.

Bursic и соработниците (2013) анализирале: додин, хлорпирифос, бупиримат, фенаримол, флутриафол, флусилазол, пенконазол, крезоксин-метил, дитианон, каптан, циперметрин, боскалид и трифлуксистеробин во овошје и зеленчук. Резидуите од пестициди биле анализирани со гасна хроматографија со квадрупол масен детектор (GC-MS/MS). Била применета екстракција на резидуите според QuEChERS метод. Определеното количество на резидуи е под максимално дозволените концентрации освен за боскалид и каптан.

Łozowicka и соработниците (2013) анализирале инсектициди, фунгициди и хербициди во овошје од Полска и направиле проценка на здравствениот ризик. Акредитиран мултирезидуален метод со гасна и течна хроматографија е користен за анализа на резидуи од 160 пестициди. Во 48,2 % од примероците немало резидуи, 45,9 % од примероците содржеле резидуи со концентрација на граница или под МДК и во 5,9 % од примероците се содржеле резидуи со концентрација над МДК. Забележано е дека во вишните (66 %) и јаболката (63 %) се детектирани најмногу пестициди. Во 59,2 % од анализираниите јаболка се содржеле пестициди со концентрација под МДК, а во 3,9 % над МДК. Најчесто детектирани пестициди во јаболката се: дитиокарбамати (0,05-1,87 mg/kg), каптан (0,01-0,06 mg/kg), пириметанил (0,01-0,27 mg/kg), боскалид (0,02-0,26 mg/kg), трифлуксистеробин (0,01-0,100 mg/kg), диазинон (0,01-0,03 mg/kg), диметоат (0,01-0,03 mg/kg), флусилазол (0,01-0,09 mg/kg) и фосалон (0,01-0,25 mg/kg). Внесот на пестициди преку храна предизвикува опасност врз здравјето. Најкритична храна за децата со најголем индекс на токсичност се јаболка кои содржат флусилазол.

Сензитивен, точен и сигурен мултирезидуален метод за анализа со гасна хроматографија со тандем масена спектроскопија (GC-QqQ-MS/MS) е употребен за анализа на резидуи од пестициди во органски култури од Полска. Екстракцијата е извршена со QuEChERS метод. Анализирани биле примероци од овошје, зеленчук, житарки, лисја од растенија и други зелени делови. Во 4,4 % од примероците се содржеле резидуи од пестициди со концентрација над прагот на детекција од 0,01 mg/kg. Вкупно, биле детектирани 20 резидуи од пестициди (Walorczyk et al., 2013).

Кинетичка дисипација на резидуите од флукинконазол и пириметанил (како контрола против *Venturia inaequalis* во јаболка (јонаголд декоста, голден и

шампион) наменети за подготовка на храна за бебиња е следена од страна на авторот Szpyrka и соработниците (2013). Анализата е направена со GC-ECD и GC-NPD. За да се добијат резидуи од анализираните фунгициди под 0,01 mg/kg (МДК), авторите забележуваат дека е потребно апликацијата на овие фунгициди да се врши 2-3 месеци пред берба со 1,0 L/Ha – 1,5 L/Ha.

Дисипација на резидуи од фунгицидите каптан, ципродинил, флудиоксонил, дитианон и тебуконазол во праски, круши и јаболка е следена од авторот Passarella и соработниците (2009). Авторот Yu и соработниците (2011), ја студираат дисипацијата на флусилазол во јаболка и почва додека авторот Guo и соработниците (2010) ја следат дисипацијата на дифеноконазол во јаболка и почва, додека најчесто користен фунгицид во јаболка е приметанил (Slowik-Borowiec et al., 2012).

Дисперзивно течно-течна микроекстракција (DLLME) и QuEChERS метод на резидуите од примерокот и анализа со течна хроматографија со тандем масена спектрометрија (LC-MS/MS) е користена од страна на авторот Jovanov и соработниците (2014) за детекција на неноикотиноиди инсектициди во ликер од мед, снабден од маркет. Авторите ги анализирале следниве инсектициди: динотефуран, нитенпирам, тиаметоксам, клотианидин, имидаклоприд, ацетамиприд и тиаклоприд. Анализата покажала присуство на клотианидин и тиаклоприд во четири примероци и авторите даваат препорака за понатамошна контрола на резидуи во овој традиционален продукт.

Применета била LC-MS/MS за анализа и QuEChERS метод за екстракција на неоникотиноиди (инсектициди): ацетамиприд, клотанидин, динотефуран, флоникамид, имидаклоприд, нитенпирам, тиаклоприд и тиаметоксам во свежо овошје и зеленчук, мед и полен, купени од маркети од Бостон. Биле анализирани следниве сорти на јаболка: кортланд, греми смит, фуџи, црвен делишес, златен делишес, гала, honey crisp и мекинтош. Од инсектицидите, најзастапен бил ацетамиприд во сортата honey crisp со концентрација од 100,7 ng/g, и 40,4 ng/g во греми смит. Имидаклоприд во златен делишес се содржи со концентрација од 4,2 ng/g, тиаклоприд со 18,3 ng/g во гала, додека другите пестициди се застапени со помала концентрација која е под ниво на детекција (Chen et al., 2014).

Shafi и соработниците (2014) анализирале пестициди во: јаболка, банани, диња, гуава, папаја, портокал и јагоди купени од маркет во Пунјаб во



Пакистан. За анализата е користена течна хроматографија и екстракција на резидуите со етил ацетат. Концентрацијата на цихалотрин во папаја е 0,112 mg/kg, во јагоди е 0,133 mg/kg, циперметрин во портокал е 0,320 mg/kg, а во банана е застапен со 0,170 mg/kg. Хлорпирифос во гуава бил застапен со 0,122 mg/kg, а карбофуран во јаболко со концентрација од 0,109 mg/kg.

Гасна хроматографија со масена спектроскопија (GC-MS) е употребена за анализа на монокротофос, хлорпирифос и циперметрин во јаболка, грозје и гуава. Екстракцијата на резидуите е извршена со QuEChERS метод. Примероците биле земани од локален маркет во Нандед, Индија, веднаш после нивната берба. Резултатите покажале присуство на резидуи од пестициди со концентрација од 1 mg/kg со што ја надминале дозволената максимална концентрација (Chandra et al., 2014).

Мултирезидуален метод комбиниран со цврсто фазна екстракција (SPE) на резидуи и анализа со ултра ефикасна течна хроматографија (UPLC-TOF/MS) бил употребен за анализа на 60 пестициди (дел од нив се: хлорпирифос, дифеноконазол, етион, пенконазол, тебуконазол, диазинон, хексаконазол, фосалон, хлорпирифос метил, ацефат, карбендазим, тиабендазол, диметоат, линурон, пропанил, метиокарб, малатион, триазофос, бромацил итн.) во овошје и зеленчук (јаболко, банана, зелка, грозје, гуава, манго, окра, портокал, кромид, мандарини, домати и компири). Во 13 % од примероците се детектирани ацефат (14 µg/kg), бенфуракарб (46 µg/kg), карбендазим (1304 µg/kg), диметоат (34 µg/kg), етион (59 µg/kg) и монокротофос (33 µg/kg) додека во 3 % од примероците е детектиран профенофос (30 µg/kg). Авторите забележуваат дека лимитот на квантификација на пестицидите е под МДК и овој метод е одржлив за рутинска анализа на пестициди во овошје и зеленчук (Sivaperumal et al., 2015).

Во последните години вниманието кон пестицидите е се поголемо, знаејќи дека тие може да се предизвикувачи на стерилност, невролошки и ренални заболувања, тумори, тератогени ефекти, нарушување во однесувањето (Maroni et al., 1993). Некои ризични пестициди се отстранети за употреба како средства за заштита на овошје, но сепак има нивна дозвола за користење за заштита на зеленчук, или обратно, се забранети за употреба кај зеленчук (каптан и беномил), а имаат дозвола за користење кај овошје (Šovjanski & Lazić, 2004).

При хронична изложеност на луѓето како и кај акватичните и копнени организми на супстанции кои го нарушуваат ендокриниот систем, може да се манифестира со оштетување на ембрионалниот развој и нарушување на нормалната репродуктивна функција на возрасните единки (Šovljanski & Živanović, 1979; Šovljanski 1978, 1986; Simonović et al., 1989; Daxenberger, 2002). Во оваа група спаѓаат пестициди, РСВ, диоксини и други индустриски отрови. Овие супстанции дејствуваат на разни начини: се врзуваат за рецепторите на хормоните (имитираат хормони) или се антагонисти на физиолошката функција на хормоните. Од друга страна, тие може да ги стимулираат или инхибираат ензимите одговорни за синтеза или ослободување на хормоните и со тоа да го зголемат или намалат дејството на хормоните (Daxenberger, 2002). Овие супстанции може да имаат естрогено, антиестрогено, андрогено и антиандрогено дејство (Gray et al., 1999). Значајно е тоа што овие супстанции дејствуваат при многу ниски концентрации во зависност од времето на изложеност.

Според Šovljanski и соработниците (2004), најризични инсектициди (прва и втора група отрови) кои се применуваат во овоштарството (јаболка) се: азинфос-метил, бифентрин, делтаметрин, дихлорвос, ендосулфан, есфенвалерат, фосалон, хлорпирифос, карбарил, ламбда-цихалотрин, метидатион, метомил, монокротофос, оксидиметон-метил,  $\alpha$ -циперметрин, z-циперметрин. Најризични фунгициди (трета група отрови) кои се применуваат во заштита на јаболката се: беномил, цинеб, цирам, дифеноконазол, фенаринол, флусилазол, фолпет, хексаконазол, каптан, манкозеп, муклобутанил, пенконазол, просимидон, тирам, триадимефон и винклозолин. За да се намали изложеноста на човекот и другите организми кон овие штетни пестициди потребно е прецизно да се дефинираат максималниот број на третирања. Се предлага да се намали употребата на овие соединенија и тоа само еднаш во текот на вегетацијата или заштитата на овошките да се прави со други пестициди или други методи.

Постои поврзаност помеѓу пестицидите и појавата на Паркинсонова болест (Betarbet et al., 2000). Паркинсонова болест е невродегенеративна болест и 1 % од луѓето над 65 години може да ја добијат. Хронична изложеност на луѓето кон ротенон може да предизвика Паркинсонова болест но сепак

механизмот на предизвикување е непознат и е предизвик за повеќето истражувачи (Sherer et al., 2001).

Органофосфорните пестициди (OPPs) може да се цитотоксични (Wagner et al., 2005; Giordano et al., 2007) генотоксични (Rahman et al., 2002; Cakir & Sarikaya, 2005) репродуктивно токсични (Kang et al., 2004) и имунотоксични (Crittenden et al., 1998; Yeh et al., 2005).

Според Светската здравствена организација, монокроотофос спаѓа во групата на екстремно токсични пестициди додека диметоат спаѓа во умерено токсични пестициди, додека малатион спаѓа во групата на благо токсични пестициди. Неоникотиноидите (карбендазим) спаѓа во умерено и благо токсични пестициди. Карбаматите (карбофуран, карбарил итн. (инсектициди), со својата активност влијаат на нервниот систем предизвикувајќи иреверзибилна блокада на постисинаптичките никотинергични ацетилхолни рецептори. Карбаматите многу брзо се излучуваат од организмот, а некои од нив (карбофуран и карбарил) може да предизвикаат и канцероген ефект. Карбофуран спаѓа во групата на екстремно токсични пестициди врз човековиот организам (WHO, 2005).

#### 4. ЦЕЛ НА ИСТРАЖУВАЊЕ

Имајќи го предвид значењето на пестицидите и нивната употреба при производството на јаболка од една страна и интересот за производство на безбедна храна, од друга страна, неопходно е да се обрне внимание на контрола на резидуите од пестициди во јаболка. Знаејќи ги последиците од изложеноста на резидуи од пестициди кон човековото здравје, потребно е да се следат препораките од овластените институции кои се однесуваат на максимално дозволената концентрација на пестицидите во храна. Во Република Македонија максималното дозволено количество на остатоци од резидуи е пропишано во Правилник за општите барања за безбедност на храната во однос на максимално дозволените нивоа на резидуи од пестициди во или врз храната (Службен весник бр. 156, 13 ноември 2013 година).

Целта на овој докторски труд е да се види дали има остатоци од резидуи на пестициди во јаболката одгледувани во Ресенскиот Регион и доколку има да се направи споредба на нивната концентрација со МДК и да се донесат заклучоци кои ќе се однесуваат на нивната безбедност за консумација.

Во овој докторски труд, анализите на пестициди се спроведоа на примероци од две сорти на јаболка: златен делишес и ајдаред, а јаболката беа одгледувани на пет различни локации (Евла, Кривени, Дрмени, Јанковец и Лавци) во Ресен.

Притоа, содржината на резидуи од пестициди се контролираше во четири развојни фази на јаболката во текот на одгледувањето, а дополнително беа анализирани и јаболка после берба од три различни локации (Дрмени, Јанковец и Лавци) во Ресен.

Истражувачкиот дел од овој докторски труд опфати:

- Анализа на резидуи од пестициди во јаболка во четири развојни фази на јаболката, одгледувани на локациите Евла и Кривени и тоа во:
  - прва фаза – јаболка со големина на лешник,
  - втора фаза – јаболка со големина на орев,
  - трета фаза – почеток на зреење на јаболката,
  - четврта фаза – после берба на јаболката.
- Анализа на резидуи од пестициди во јаболка после берба (јаболка за пазар) од три различни локации: Дрмени, Јанковец и Лавци;

- Споредба на добиените резултати со максимално дозволените концентрации (МДК) на резидуи од пестициди во јаболка, согласно регулативите;
- Проучување на токсиколошките ефекти на пестицидите кои се над дозволените концентрации и нивното влијание врз здравјето на луѓето;
- Статистичка обработка на резултатите и донесување на заклучоци;

## 5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ НА РАБОТА

### 5.1 Материјал на истражувањето

Експерименталниот дел од истражувањето е извршен во Ресен на различни локации (Евла, Кривени, Дрмени, Јанковец и Лавци). Во табела 1 се дадени координатите за сите пет локации од каде се земаа примероци за анализа.

Табела 1. Координати на локациите Евла, Кривени, Дрмени, Лавци и Јанковец во Ресен

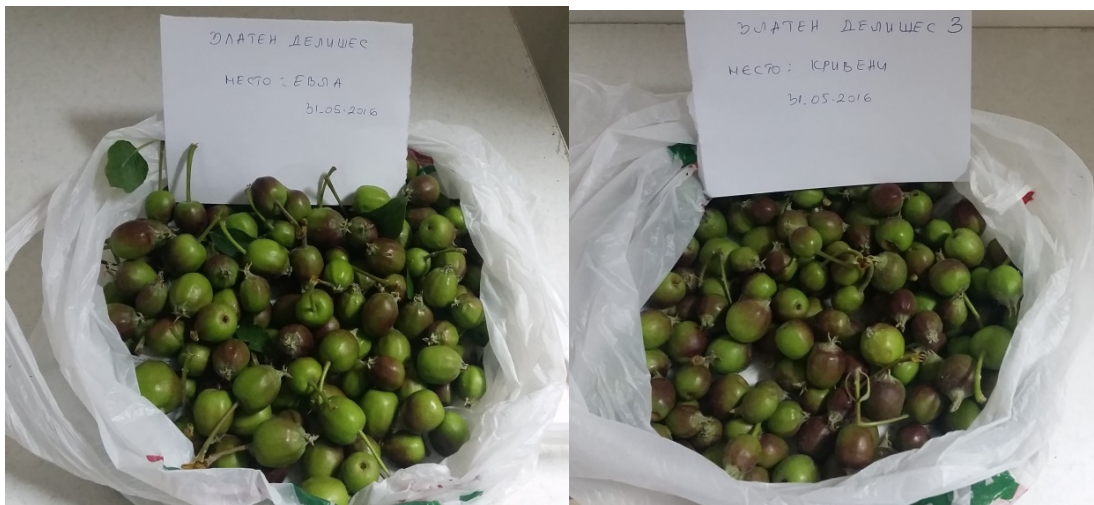
Table 1. Coordinates of locations Evla, Kriveni, Drmeni, Lavci and Jankovec in Resen

Локација	Координати
Евла	41°04'29" СГШ 20°57'21" ИГД
Кривени	41°08'25" СГШ 21°01'26" ИГД
Дрмени	41°01'59" СГШ; 21°00'00" ИГД
Лавци	41°02'43" СГШ 20°57'16" ИГД
Јанковец	41°06'30" СГШ 21°00'40" ИГД

Истражувањето на терен и експерименталниот дел се одвиваше во фази и траеше во текот на 2016 и 2017 година. На крајот на месецот мај беа земени првите примероци за анализа (јаболка со големина на лешник) (слика 9 а, б) и транспортирани за анализа на резидуи (слика 10 а, б). Примероци од јаболката се земаа по случаен избор. За анализа беше земено маса од 1kg посебно за секоја сорта јаболка и локација.

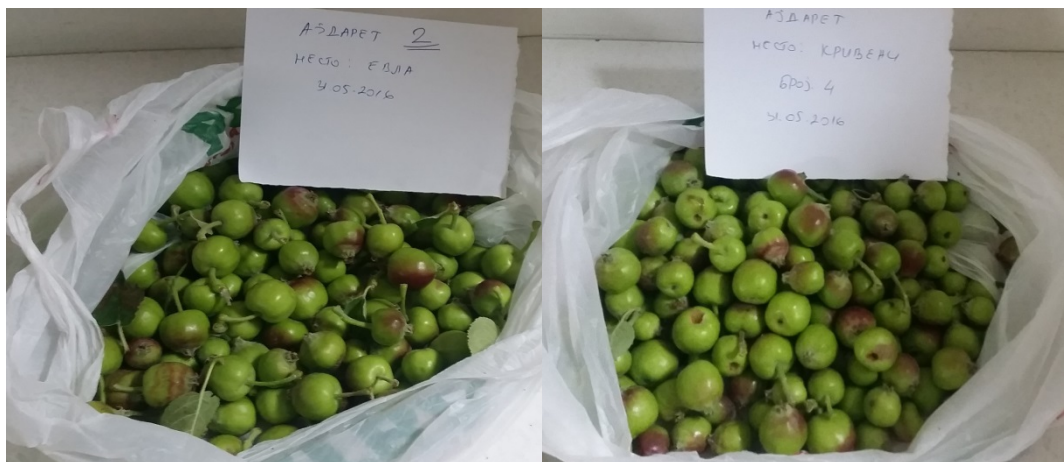


Слика 9 а, б. Златен делишес и ајдаред (прва фаза)  
 Figure 9 a, b. Golden delicious and Idared (first phase)



Слика 10 а, б. Златен делишес од локации Евла и Кривени (прва фаза)  
 Figure 10 a, b. Golden delicious from locations Evla and Kriveni (first phase)

Исто така, беа земени примероци за анализа од јаболката ајдаред од две локации (Евла и Кривени) во прва фаза (слика 11 а, б).



Слика 11 а, б. Ајдаред од локации Евла и Кривени (прва фаза)  
 Figure 11 a, b. Idared from locations Evla and Kriveni (first phase)

На слика 12 а, б, се претставени необрани јаболка во втора фаза, а на сликите 13 а, б, и 14 а, б, обрани јаболка во втора фаза, спремни за анализа на резидуи.



Слика 12 а, б. Ајдаред и златен делишес (втора фаза)  
Figure 12 a, b. Idared and Golden delicious (second phase)



Слика 13 а, б. Златен делишес од локации Евла и Кривени (втора фаза)  
Figure 13 a, b. Golden delicious from locations Evla and Kriveni (second phase)



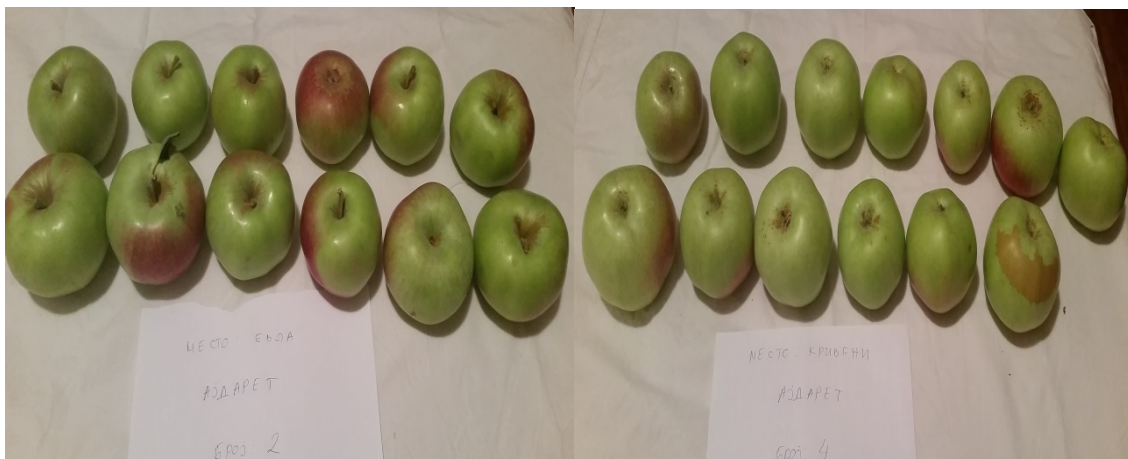
Слика 14 а, б. Ајдаред од локации Евла и Кривени (втора фаза)  
Figure 14 a, b. Idared from locations Evla and Kriveni (second phase)



Третата фаза на земање примероци за анализа се одвиваше кога јаболката беа во период на зреење (слика 15 а, б). На сликите 16 а, б и 17 а, б се претставени јаболката кои се анализираа.



Слика 15 а, б. Ајдаред и златен делишес (трета фаза)  
Figure 15 a, b. Idared and Golden delicious (third phase)



Слика 16 а, б. Ајдаред од локации Евла и Кривени (трета фаза)  
Figure 16 а, б. Idared from locations Evla and Kriveni (third phase)

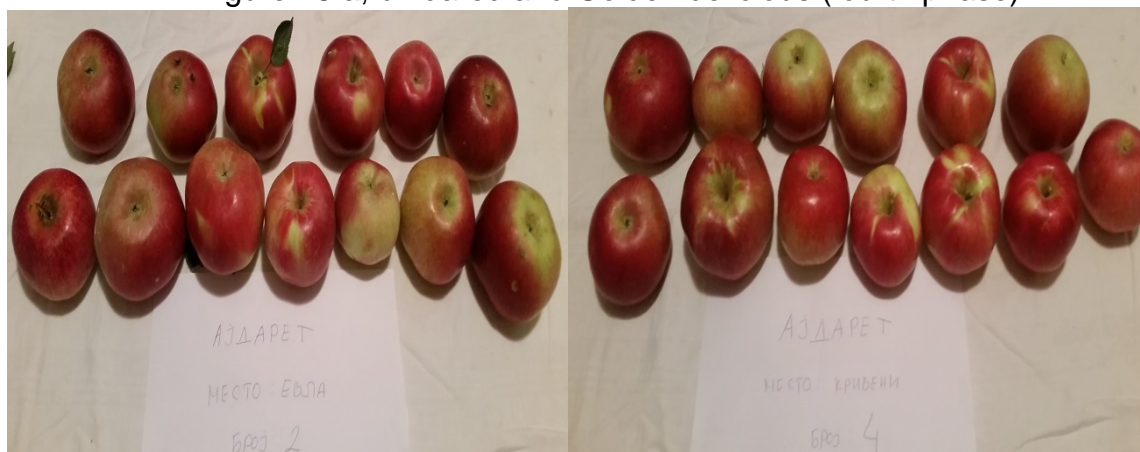


Слика 17 а, б. Златен делишес од локации Евла и Кривени (трета фаза)  
Figure 17 а, б. Golden delicious from locations Evla and Kriveni (third phase)

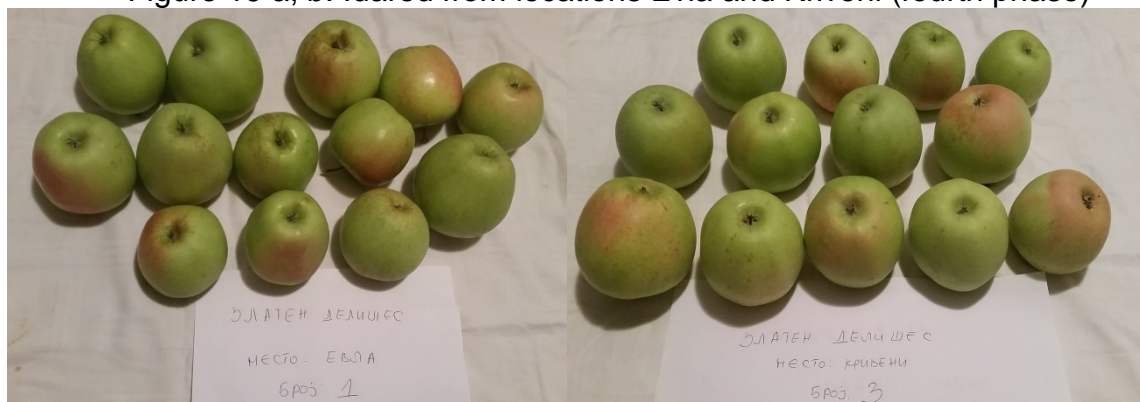
Четврта фаза на земање примероци од златен делишес за анализа на резидуи се одвиваше кога јаболката достигнаа време на берба (крај на месец септември за ајдаред и почеток на октомври за златен делишес). Јаболката во четврта фаза (јаболка после берба) се претставени на сликите 18 а, б и јаболка за анализа на резидуи на слики 19 а, б и 20 а, б.



Слика 18 а, б. Ајдаред и златен делишес (четврта фаза)  
Figure 18 a, b. Idared and Golden delicious (fourth phase)



Слика 19 а, б. Ајдаред од локации Евла и Кривени (четврта фаза)  
Figure 19 a, b. Idared from locations Evla and Kriveni (fourth phase)



Слика 20 а, б. Златен делишес од локации Евла и Кривени (четврта фаза)  
Figure 20 a, b. Golden delicious from locations Evla and Kriveni (fourth phase)

За да анализираме резидуи од пестициди во готов производ (јаболка за пазар) беа земени примероци од три различни локации (Дрмени, Јанковец и Лавци) претставени на слика 21 а, б; 22 а, б и 23 а, б.



Слика 21 а, б. Ајдаред и златен делишес од локација Дрмени  
Figure 21 a, b. Idared and Golden delicious from location Drmeni



Слика 22 а, б. Ајдаред и златен делишес од локација Јанковец  
Figure 22 a, b. Idared and Golden delicious from location Jankovec



Слика 23 а, б. Ајдаред и златен делишес од локација Лавци  
Figure 23 a, b. Idared and Golden delicious from location Lavci

## 5.2 Методи на истражување

Анализата на резидуи од пестициди во јаболка се вршеше со најсофистицирани сепарациони техники: ултра ефикасна течна хроматографија поврзана со масен детектор (UPLC-TQ/MS) и гасна хроматографија поврзана со масен детектор (GC-MS/MS) по претходна екстракција на резидуите со примена на QuEChERS метод, согласно стандардот МКС EN 15662:2011.

Анализите на резидуи од пестициди во јаболка беа извршени во Државна фитосанитарна лабораторија при Министерство за земјоделство, шумарство и водостопанство во Република Македонија.

Следејќи ги новите трендови на екстракција на резидуите од пестициди, во ова истражување беше применет QuEChERS метод (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe), согласно стандардот МКС EN 15662:2011. *Постапка:* Се мерат околу  $10\text{g} \pm 0,1\text{ g}$  репрезентативен хомоген материјал во туби за центрифугирање од 50 ml. Со стаклена пипета се додаваат 10 ml ацетонитрил и пуфериран микс од соли за екстракција и одделување ( $4\text{ g} \pm 0,2\text{ g}$  од магнезиум сулфат,  $1\text{ g} \pm 0,05\text{ g}$  од натриум хлорид,  $1\text{ g} \pm 0,05\text{ g}$  од тринатриум цитрат дихидрат,  $0,5\text{ g} \pm 0,03\text{ g}$  динатриумхидроген цитрат хексахидрат во пластични туби од 50 ml). Ја затвараме тубата со капаче и го мешаме енергично екстрактот со рака (1 мин). Првиот екстракт го центрифугираме (SIGMA 3-16) на  $> 3000\text{g}$  (4000 RPM), 5 минути. Ова е прв чекор на екстракција. После центрифугирање следува вториот чекор на екстракција со clean-up реагенси. Се зема 6 ml од екстрактот во ацетонитрил и се префрла во туби од 12 ml кои содржеа 150 mg PSA (примарен секундарен амин) и 900 mg магнезиум сулфат. Тубите се затвораат и се мешаат енергично 30 секунди, потоа се центрифугираат на (SIGMA 3-16) на  $> 3000\text{g}$  (4000 RPM), 5 минути. Ова е втор чекор од екстракцијата. Исчистените и закиселени екстракти се пренесуваат во автосемплерот и се користат за мултирезидуална детерминација со хроматографски методи.

За анализа на резидуи од пестициди со ултра ефикасна течна хроматографија (UPLC-TQ/MS) се користеше инструмент со следниве карактеристики: Agilent UPLC 1290 систем кој се состоеше од бинарна пумпа 1290 Infinity G4220A, автосемплер 1290 G4226A, преграден столб 1260 G1316A

и детектор DAD VL Agilent 1260 G1315D (Waldbronn, Германија), заедно со Agilent троен квадрупол LC/MS детектор 6420 (Agilent Technologies, Санта Клара, Калифорнија, САД). Температурата на колоната беше 35°C, а протокот 0,4 ml/min. Волумен на инјектирање е 0,7µl.

За анализа на резидуи од пестициди со гасна хроматографија со масена спектрометрија (GC-MS/MS) се користеше инструмент со следниве карактеристики: Agilent 7890A Series. Гас носач е хелиум. Влезен притисок од ~ 27,5 psi. Влезна температура 280°C. Температурниот режим на печката започнува со 70°C и време на задржување од 2 минути, потоа со чекор од 25°C/мин. до 150°C со време на задржување од 0 минути, чекор од 3°C/мин до 200°C со време на задржување од 0 минути и последниот чекор е со 8°C/мин. до покачување до 280°C со време на задржување од 10 минути. Вкупното време на методот изнесува 41,867 минути. Инјектор: splitless. Волумен на инјектирање е 1 µL. Колона: Agilent J&W HP-5ms UI 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm. Аух EPC гас-хелиум со влезен проток од 3,0 psi. Тандем масен спектрометар со следниве карактеристики: Agilent 7000B Series, температура на преносна линија 280°C, изворна температура 300°C. Квадрупол температура: Q1 и Q2 = 180 °C. MRM услови: проток на гас азот на 1,5 mL/min, хелиум на 2,25 mL/min.

Методата на ултра ефикасна течна хроматографија е оптимизирана и валидирана за 224 пестициди додека методата на GC-MS/MS е оптимизирана и валидирана за анализа на 181 пестицид. За анализа на инсектициди: ацетамиприд, хлорпирифос, диметоат, имидаклоприд, ометоат, фосмет (имидан), флоникамид, пирипроксифен, алфа-циперметрин, тиаметоксам и хекситиазокс и фунгициди: дифеноконазол, муклобутанил, пириметанил, трифлуксистробин, тебуконазол, пенконазол, боскалид, фенбуконазол, карбендазим (азол), флутриафол, тиофанат-метил, пропиконазол, пиракlostробин и цимоксанил (курзат) погоре споменатите методи се оптимизирани и валидирани.

За статистичка обработка на податоците беше применет XLSTAT софтвер, верзија 2018.1.49561, Addinsoft (Париз, Франција). Статистичката анализа на податоците се состои од дескриптивна статистика која опфаќа: просечни вредности на измерените концентрации, број на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот, број на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот, просечни вредности на измерените концентрации за

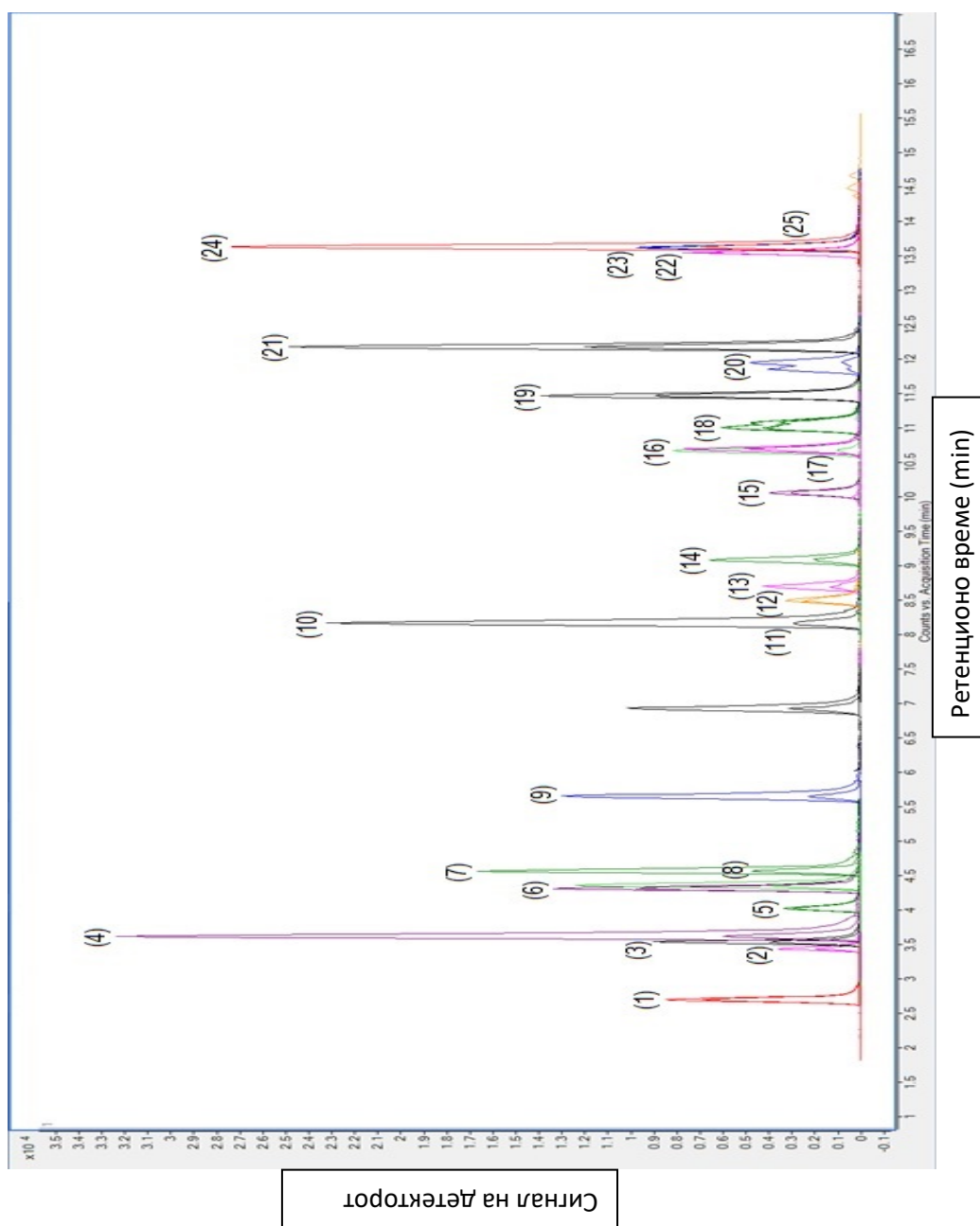
примероците каде што е утврдено присуство на пестицидот. Дескриптивната статистика се однесува за секој пестицид одделно, како и за сите пестициди (збирно) и тоа според различни параметри (сорта, локација, фаза, година).

Статистичко тестирање на поставените хипотези е направено со примена на ANOVA (анализа на варијанса) и т-тестови. За првите две хипотези се користат т-тестови, за третата хипотеза се користи т.н. „One way ANOVA“ или ANOVA со еден фактор, додека за четвртата хипотеза се користи т.н. „Factorial ANOVA“ или ANOVA со два фактора.

## 6. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

После направената анализа на резидуи од пестициди во јаболка ајдаред и златен делишес од пет локации (Евла, Кривени, Дрмени, Јанковец и Лавци) со хроматографски методи се добија резултати кои се претставени поединечно во следниот дел.

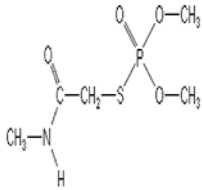
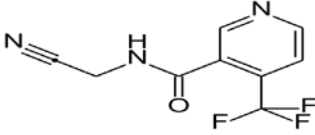
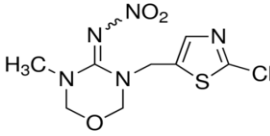
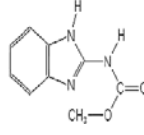
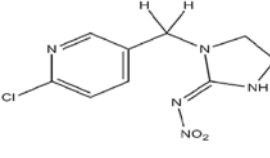
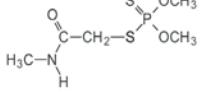
Хроматограмот на детектираните пестициди во јаболката е даден на слика 24 додека нивните поважни карактеристики се претставени во табела 2.



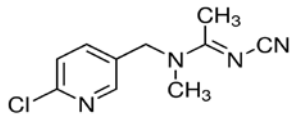
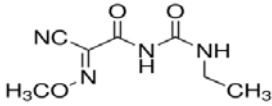
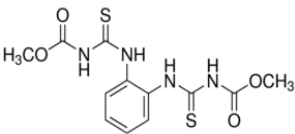
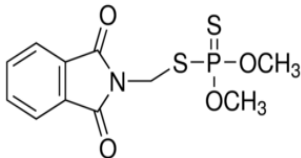
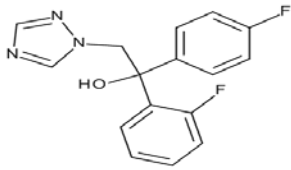
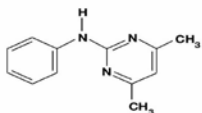
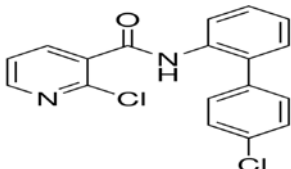
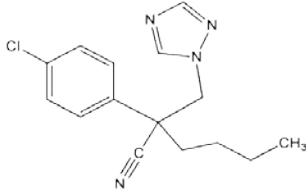
Слика 24. UPLC-TQ/MS хроматограм на селектирани пестициди  
Figure 24. UPLC-TQ/MS chromatogram of selected pesticides

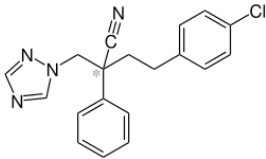
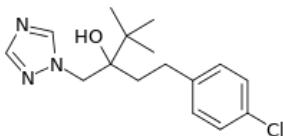
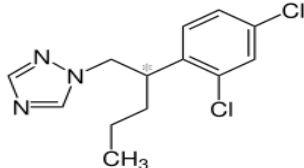
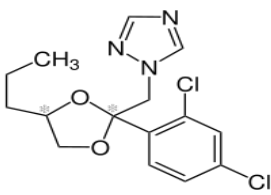
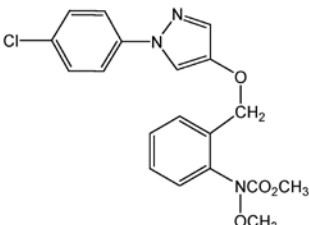
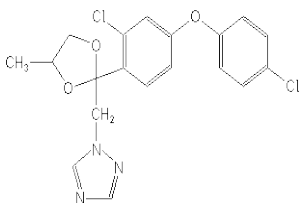
Табела 2. Хемиско име, структурна формула, каренца и ретенционо време на група пестициди

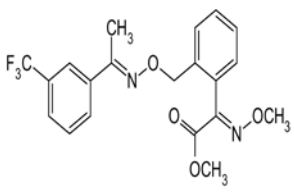
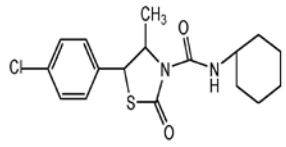
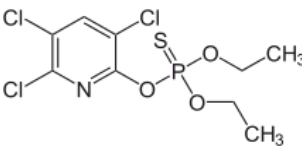
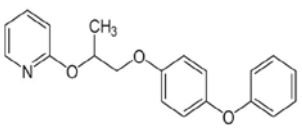
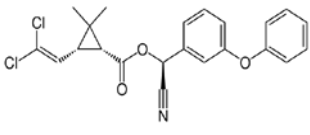
Table 2. Chemical name, structural formula, with-holding period (WHP) and retention time of a group of pesticides

Ознака	Активна материја	Хемиско име (IUPAC)	Структурна формула	Каренца/де нови	Група пестицид	Ретенционо време/мин.
(1)	ометоат	2-dimethoxyphosphinoylthio-N-methylacetamide		21	инсектицид	2,700
(2)	флоникамид	N-cyanomethyl-4-(trifluoromethyl)nicotinamide		21	инсектицид	3,441
(3)	тиаметоксам	3-(2-chloro-5-methyl-1,3,5-oxadiazin-4-ylidene)-N,N-dinitroamin		21	инсектицид	3,539
(4)	карбендазим (азол)	methyl benzimidazol-1-ylcarbamate		42	фунгицид	3,618
(5)	имидаклоприд	1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolin-2-ylideneamin		21	инсектицид	4,025
(6)	диметоат	2-dimethoxyphosphinothioylthio-N-methylacetamide		7	инсектицид	4,310
(7)	ацетамиприд	N-1-((6-chloro-3-pyridil)methyl)-N2-		14	инсектицид	4,361



		cijano-N1-metil-acetamidin				
(8)	цимоксан ил (курзат)	1-[(EZ)-2-cyano-2-methoxyimin oacetyl]-3-ethylurea		28	фунгицид	4,564
(9)	тиофанат-метил	dimethyl 4,4'-(o-phenylene)bis(3-thioallophanate)		3	фунгицид	5,657
(10)	фосмет (имидан)	O,O-dimethyl S-phthalimido methyl phosphorodithioate		35	инсектицид	8,175
(11)	флутриафол	(RS)-2,4'-difluoro-α-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)benzhydrol alcohol		30	фунгицид	8,238
(12)	пириметанил	N-(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)aniline		56	фунгицид	8,496
(13)	боскалид	2-chloro-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamide		7		8,704
(14)	муклобутанил	(RS)-2-(4-chlorophenyl)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)hexanenitrile		21	фунгицид	9,086
(15)	фенбуконазол	4-(4-chlorophenyl		28	фунгицид	10,052

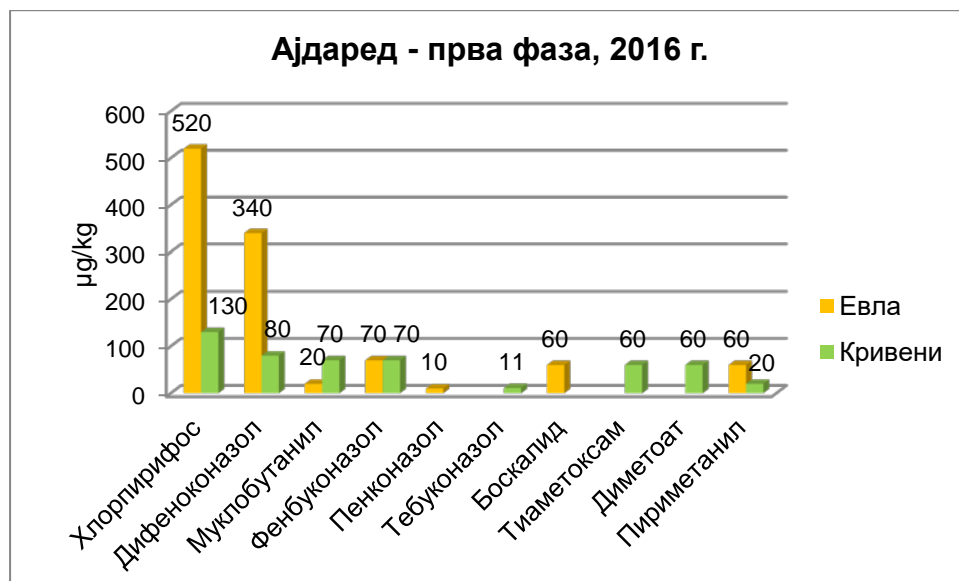
		)-2-phenyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)butyronitrile				
(16)	тебуконазол	(RS)-1-p-chlorophenyl-4,4-dimethyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)pentan-3-ol		14	фунгицид	10,668
(17)	пенконазол	(RS)-1-[2-(2,4-dichlorophenyl)pentyl]-1H-1,2,4-triazole		21	фунгицид	10,700
(18)	пропиконазол	(±)-1-[2-(2,4-dichlorophenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-ylmethyl]-1H-1,2,4-triazole		35 дена за грозје, пченица и јачмен	фунгицид	11,000
(19)	пираклостробин	methyl {2-[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-ylloxymethyl]phenyl}(methoxy)carbamate		7	фунгицид	11,475`
(20)	дифеноконазол	1-[2-[2-chloro-4-(4-chlorophenoxy)phenyl]-4-methyl[1,3]dioxolan-2-ylmethyl]-1H-1,2,4-triazole		35	фунгицид	11,951
(21)	трифлостробин	methyl (E)-methoxyimino-((E)-α-[1-(a,a,a-trifluoro-m-		14	фунгицид	12,183

		tolyl)ethylideneaminoxy]- -O- tolyl}acetate				
(22)	хекситиазокс	(4RS,5RS)- 5-(4-chlorophenyl)- N-cyclohexyl- 4-methyl-2-oxo-1,3-thiazolidine-3-carboxamide		14	инсектицид	13,551
(23)	хлорпирифос	O, O-diethyl O-3, 5, 6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate		28	инсектицид	13,622
(24)	пирипроксифен	4-phenoxyphenyl (RS)-2-(2-pyridyloxy)propyl ether		28	инсектицид	13,634
(25)	циперметрин	O, O-diethyl O-3, 5, 6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate		28	инсектицид	14,482

## 6.1 Резултати од пестициди во јаболка анализирани во развојни фази, 2016 година

### 6.1.1 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - прва фаза, 2016

Во ова истражување направивме анализа на резидуи од пестициди во јаболка ајдаред во четири фази. Во првата фаза јаболката имаа големина на лешник. На слика 25 се претставени застапените пестициди во ајдаред во прва фаза во две локации (Евла и Кривени) и нивната концентрација.



Слика 25. Пестициди во ајдаред од локации Евла и Кривени (прва фаза, 2016)  
Figure 25. Pesticides in Idared from the locations of Evla and Kriveni (first phase, 2016)

Во оваа фаза кај јаболката имаме детектирано пестициди. Авторот Clark и соработниците (2014) наведуваат дека е потребно да се познаваат симптомите, а потоа да се преземат мерки за заштита. Пред да достигнат во оваа фаза, јаболката биле третирани со разни средства со цел да се заштитат од појава на габни болести, чадлива краставост, пепелница како и против штетници лисни минери, лисни вошки итн. Од добиените резултати од ова истражување може да забележаме дека има разлика во детектираните пестициди во јаболката од двете локации. Односно, додека во едната локација (Евла) се детектирале: пенконазол, тиаметоксам, диметоат, боскалид и тебуконазол, во другата ги нема или се наоѓаат во концентрација која е под лимитот на детекција (0,01mg/kg).

Во јаболката од локацијата Кривени се детектирани: хлорпирифос, муклобутанил, дифенокназол, фенбуконазол, тебуконазол, тиаметоксам,

диметоат и пириметанил. Додека, детектирани пестициди во јаболката од двете локации се: хлорпирифос, дифеноконазол, муклобутанил, фенбуконазол и пириметанил. Концентрацијата на пестицидите во јаболката од локација Евла се движи во ранг од 10-520  $\mu\text{g}/\text{kg}$  додека концентрацијата на пестицидите во јаболката од локација Кривени е во ранг од 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  до 130  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Во оваа фаза се забележува дека резидуите од пестициди се застапени со помала концентрација во јаболката од локација Кривени за разлика од концентрацијата на резидуи во јаболката одгледувани во локација Евла.

### 6.1.2 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - втора фаза, 2016

Во втората фаза кога јаболката достигнаа големина на орев, направивме анализа на резидуите од пестициди и добиените резултати се претставени на слика 26.



Слика 26. Пестициди во ајдаред од локации Евла и Кривени (втора фаза, 2016)  
Figure 26. Pesticides in Idared from the locations of Evla and Kriveni (second phase, 2016)

Од резултатите може да се забележи дека во јаболката ајдаред од Евла се детектирани само два пестициди: инсектицид ацетамиприд со концентрација 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  и пириметанил со концентрација 12  $\mu\text{g}/\text{kg}$  додека во ајдаред од локација Кривени овие пестициди не се детектирани. Пириметанил е фунгицид и се користи како заштитно средство против пепелница и краставост (Navalon et al., 2002). Ова истражување ни покажа дека јаболката се третирани со фунгициди (пириметанил) кои ги штити од овие болести. Ацетамиприд е

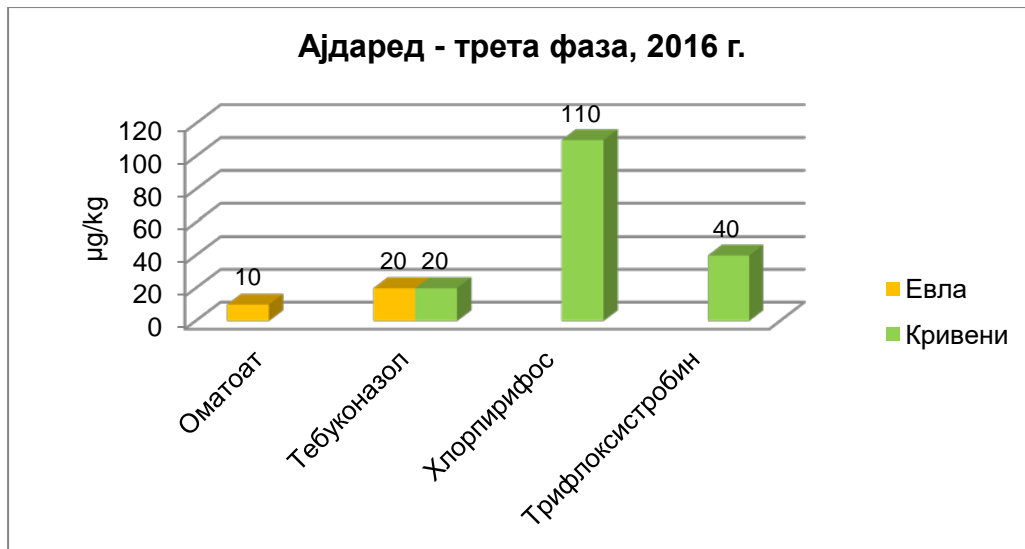
инсектицид кој се употребува за сузбивање на лисна вошка и е применет кај јаболката од оваа локација.

Во јаболката од Кривени се детектирани шест активни материи (хлорпирифос, дифеноконазол, муклобутанил, диметоат, ометоат и тебуконазол), кои воопшто ги нема во јаболката од Евла или нивната концентрација се наоѓа под лимит на детекција (10 µg/kg). Од инсектицидите е детектиран хлорпирифос кој се применува за сузбивање на лисната вошка (*Aphididae*), додека диметоат е системичен инсектицид и акарицид со изразито желудочно и контактно дејство и се применува за сузбивање на јаболков црв (*Laspeyria pomonella*), овошна мува (*Cerasis capitata*), лисни вошки (*Aphididae*), овошните лисни оси (*Holpocampa spp.*) и подвижни форми на пајачиња (*Acarina*). Тој е застапен со 21 µg/kg во јаболката од локација Кривени.

Повеќе резидуи од пестициди се застапени во јаболката ајдаред од Кривени за разлика од јаболката ајдаред во Евла. Концентрацијата на резидуи од пестициди во јаболката од Кривени се движи во ранг од 20-40 µg/kg додека кај јаболката од Евла во ранг од 12 до 20 µg/kg.

### **6.1.3 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - трета фаза, 2016**

Кога јаболката беа во фаза на зреење тоа претставуваше трета фаза. Помеѓу втора и трета фаза, јаболката се третираат со пестициди заради заштита од доцна краставост, јаболков црв и лисни вошки. Добиените резултати од анализата на јаболката Ајдаред од две различни локации во трета фаза се претставени на слика 27.



Слика 27. Пестициди во ајдаред од локации Евла и Кривени (трета фаза, 2016)

Figure 27. Pesticides in Idared from the locations of Evla and Kriveni (third phase, 2016)

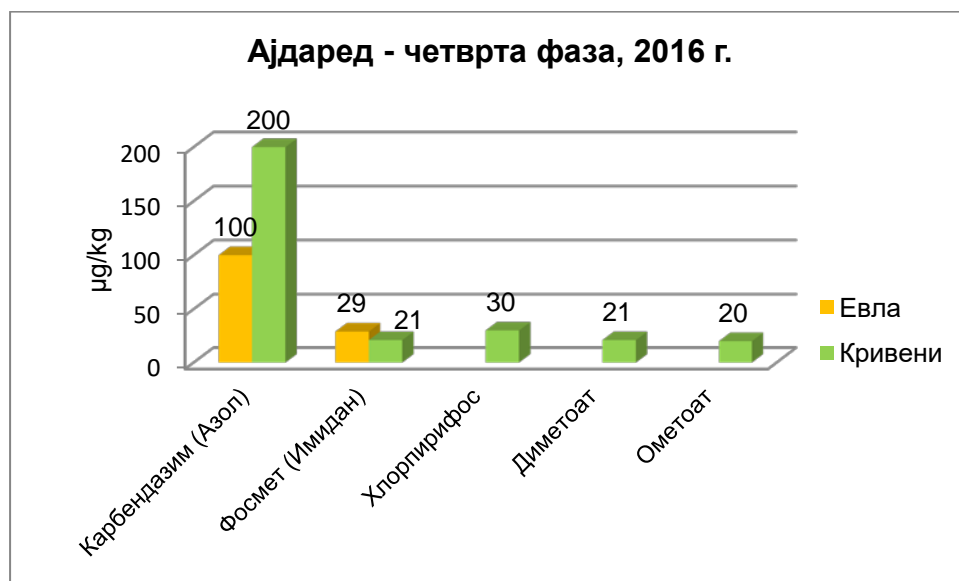
Од резултатите може да се забележи дека во јаболката ајдаред од Евла се детектирани само: ометоат и тебуконазол, додека во јаболката од Кривени се детектирани тебуконазол, хлорпирифос и трифлуксистербин. За прв пат во оваа фаза од анализираните јаболка е детектиран трифлуксистербин, додека во прва и втора фаза не беше детектиран. Помеѓу втора и трета фаза е применет трифлуксистербин како средство за заштита на јаболката од чадлива краставост на лисјата кај јаболката (*Venturia inaequalis*) и за сузбивање на пепелница кај јаболката (*Podosphaera leucotricha*). Трифлуксистербин е локал-системичен фунгицид со превентивно и куративно дејство. Детектиран е со концентрација од 40 µg/kg во јаболката од Кривени, а го нема во јаболката од Евла.

Од добиените резултати, може да се забележи дека тебуконазол е застапен во двете локации со иста концентрација (20 µg/kg), додека ометоат и хлорпирифос се застапени во јаболката само од едната локација (или во Евла или во Кривени). Авторот Navarro и соработниците (2002) употребиле гасна хроматографија за анализа на тебуконазол во овошје и зеленчук и добиле ниска концентрација слично како и во ова истражување. Концентрацијата на пестицидите во ајдаред од Кривени се движи во ранг од 20 µg/kg до 110 додека

концентрацијата на резидуи од пестициди во јаболката од Евла се движи од 10-20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

#### 6.1.4 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - четврта фаза, 2016

Пред јаболката да достигнат четврта фаза се третираат со пестициди заради нивна заштита од складишни болести и доцна краставост. Во четвртата развојна фаза јаболката ги анализираваме и добиените резултати се претставени на слика 28.



Слика 28. Пестициди во ајдаред од локации Евла и Кривени (четврта фаза, 2016)

Figure 28. Pesticides in Idared from the locations of Evla and Kriveni (fourth phase, 2016)

Од претставените резултати се забележува дека во јаболката ајдаред од локацијата Евла се застапени карбендазим (азол) и фосмет (имидан), додека во јаболката од Кривени се детектирани: карбендазим (азол), фосмет (имидан), хлорпирифос, диметоат и ометоат.

Два од вкупните пестициди, а тоа се карбендазим (азол) и фосмет (имидан) се застапени во јаболката ајдаред од двете локации. Во јаболката од Евла концентрацијата на карбендазим (азол) изнесува 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  и 29  $\mu\text{g}/\text{kg}$  за фосмет (имидан). Во јаболката од Кривени нивната концентрација е: 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  за карбендазим (азол) и 21  $\mu\text{g}/\text{kg}$  за фосмет (имидан). Фосмет (имидан) се употребува за заштита на јаболката од јаболков црв и фитофагни пајачиња (Miletić et al., 2009) и во двата примероци е застапен со релативно приближна концентрација. Авторот Singh и соработниците (2009) анализирале јаболка

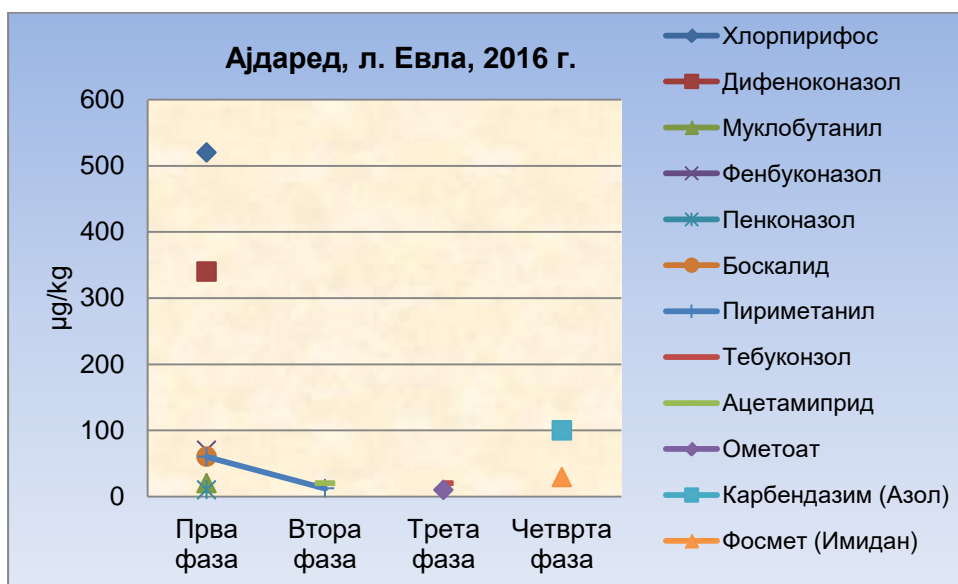


одгледувани во различни услови и детектирале карбендазим (азол) и хлорпирифос но со мала концентрација. Добиените резултати од ова истражување се слични со резултатите што ги добиле Singh и соработниците.

Хлорпирифос е застапен само во ајдаред од локацијата Кривени со концентрација од 30 µg/kg и диметоат со концентрација од 21 µg/kg. Диметоат е инсектицид и се користи за заштита од калифорниска вошка, црвливост и неговото дејство е контактено и системично. Како и во третата фаза и во оваа фаза во јаболката од Кривени е детектиран ометоат со концентрација 20 µg/kg, а во ајдаред од Евла го нема. Кај јаболката од локацијата Кривени се детектирани повеќе резидуи од пестициди и се застапени со поголема концентрација за разлика од јаболката од локација Евла.

### 6.1.5 Дијаграм на застапеност на пестициди во јаболката ајдаред, 2016 година

Во ова истражување, забележавме дека низ развојните фази на јаболката (прва до четврта фаза) се застапени резидуи од пестициди и нивната концентрација се менува (намалува или зголемува) и е различна. На слика 29 е даден дијаграм на кој се претставени застапените пестициди и нивна концентрација во јаболка ајдаред од Евла во четирите развојни фази.

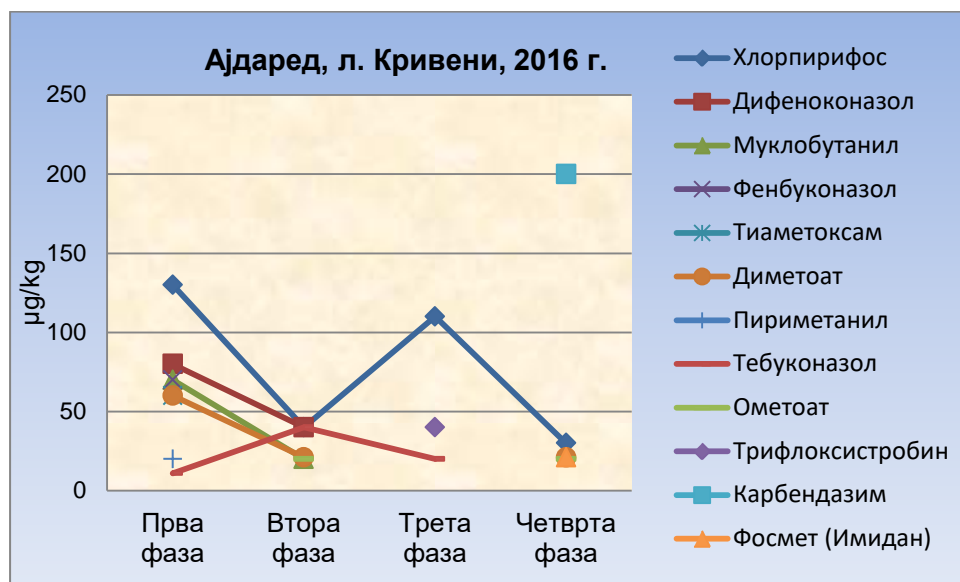


Слика 29. Дијаграм на пестициди во ајдаред од локација Евла во фази (2016)  
Figure 29. Diagram of pesticides in Idared from the location of Evla in phases (2016)

Се забележува дека хлорпирифос е детектиран само во прва фаза а во другите го нема или е застапен со концентрација која е под лимит на детекција.

Исто така е и за дифеноконазол, муклобутанил, фенбуконазол, пенконазол, боскалид и пириметанил. Пириметанил е детектиран во прва фаза со концентрација од 60 µg/kg а во втора фаза со концентрација од 12 µg/kg додека во трета и четврта фаза не е детектиран. Тебуконазол е детектиран само во трета фаза со 20 µg/kg а во останатите фази го нема. Ометоат е детектиран со концентрација од 10 µg/kg и тоа само во трета фаза, додека во другите фази го нема. Во четвртата фаза се детектирани карбендазим (азол) со 100 µg/kg и фосмет (имидан) со 29 µg/kg додека во другите три фази и нема.

На слика 30 е даден дијаграм за присуство на резидуи од пестициди и нивна концентрација во ајдаред од Кривени.



Слика 30. Дијаграм на пестициди во ајдаред од локација Кривени во фази (2016)

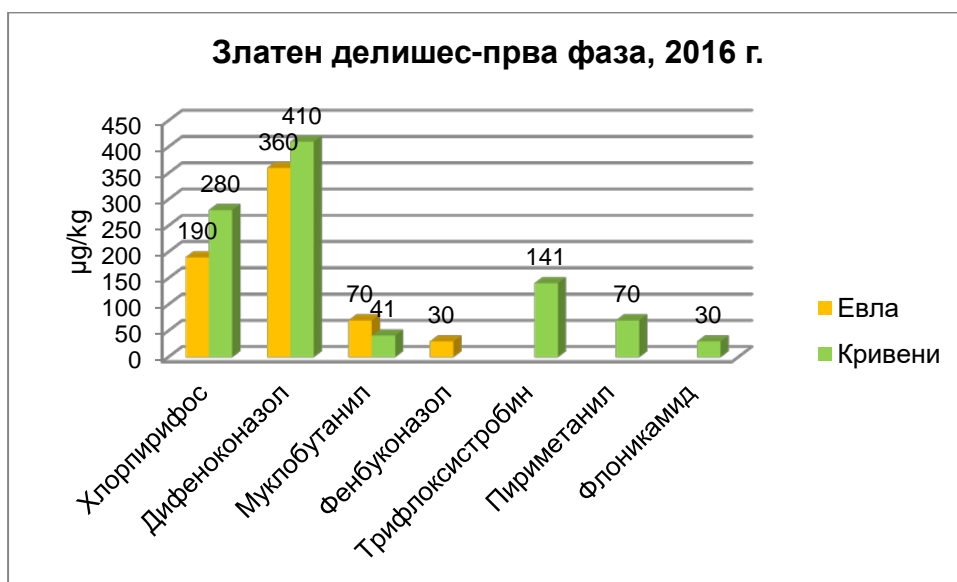
Figure 30. Diagram of pesticides in Idared from the location of Kriveni in phases (2016)

Од слика 30 може да се забележи дека диметоат е застапен во прва фаза со 60 µg/kg, во втора фаза со 21 µg/kg, во трета фаза не е детектиран, а во четврта фаза тој е застапен со 21 µg/kg. Концентрацијата на хлорпирифос се движи од 130 µg/kg во прва фаза и се намалува до 40 µg/kg во втора фаза, додека во трета фаза е застапен со повисока концентрација од 110 µg/kg, за да во четврта фаза неговата концентрација се намали до 30 µg/kg. Тебуконазол во првата фаза е детектиран со концентрација од 11 µg/kg и неговата концентрација во втората фаза се наголемува до 40 µg/kg за во трета фаза се

намали на 20 µg/kg и во четвртата фаза го нема или неговата концентрација е под лимитот на детекција (10 µg/kg). Муклобутанил е детектиран само во првите две фази и неговата концентрација се намалува од 70 µg/kg во првата фаза до 20 µg/kg во втората фаза. Концентрацијата на дифеноконазол во прва фаза е 80 µg/kg и се намалува до 40 µg/kg во втора фаза додека во трета и четврта фаза не е детектиран. Активните материји како што се фенбуконазол, тиаметоксам и пириметанил се детектирани само во прва фаза со концентрација од 70, 60 и 20 µg/kg а во другите фази ги нема. Ометоат е детектиран во втора фаза и четврта фаза со концентрација од 20 µg/kg. Трифлуксистеробин е детектиран само во трета фаза со концентрација од 40 µg/kg. Карбендазим (азол) и фосмет (имидан) се детектирани само во четврта фаза со концентрација од 200 µg/kg и 21 µg/kg. Промената на концентрацијата на пестицидите низ фазите и нивно намалување се резултат на разградување под влијание на хидролиза, оксидација, временски услови но и време на каренца (Čolović et al., 2013).

### 6.1.6 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - прва фаза, 2016

Освен јаболка ајдаред, ние анализираваме јаболка и од сортата златен делишес одгледувани во истите локации и при истите развојни фази. Добиените резултати од анализата на јаболката во прва фаза се претставени на слика 31.



Слика 31. Пестициди во златен делишес од локации Евла и Кривени (прва фаза, 2016)

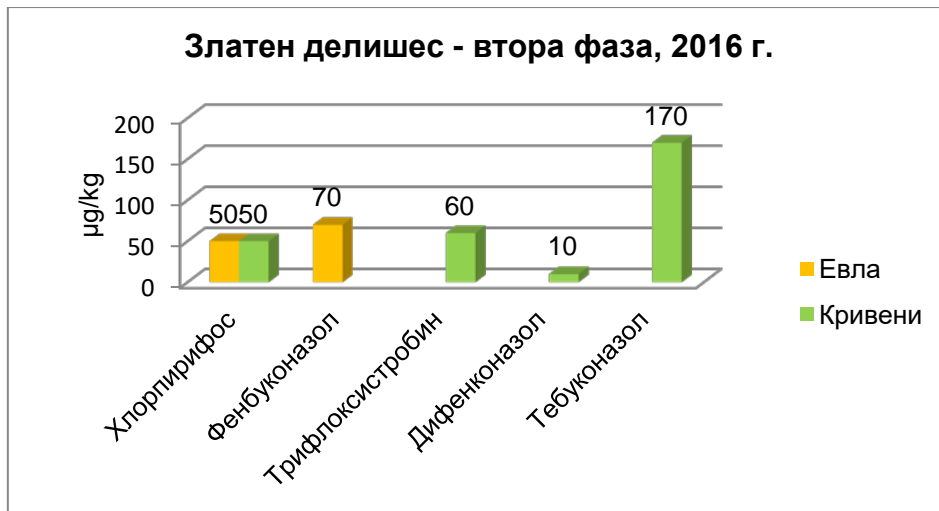
Figure 31. Pesticides in Golden delicious from the locations of Evla and Kriveni (first phase, 2016)

Од резултатите може да се забележи дека во јаболката златен делишес од Евла е детектиран само хлорпирифос како инсектицид додека од фунгицидите се детектирани: дифеноконазол, муклобутанил и фенбуконазол. Но за разлика од јаболката од Евла, во јаболката од Кривени се детектирани фунгициди: дифеноконазол, муклобутанил, трифлуксистеробин и пириметанил, а инсектициди хлорпирифос и флониламид. Флониламид е селективен контактно-системичен ацицид за сузбивање на лисни вошки. Авторот Angioni и соработниците (2004) анализирале пириметанил во јагоди и добиле резултати кои се приближни на резултатите од ова истражување. Дифеноконазол е фунгицид кој се применува за сузбивање на чадлива краставост на лисјата и плодовите кај јаболката (*Venturia inaequalis*) и против пепелница на јаболката (*Podosphaera leucotricha*).

Во истата сорта на јаболка (златен делишес) но во двете различни локации има разлика во детекцијата на инсектициди и фунгициди и тоа за фенбуконазол, пириметанил, флониламид и трифлуксистеробин. Хлорпирифос, дифеноконазол и муклобутанил се детектирани и во двете локации. Концентрацијата на резидуи од пестициди во јаболката од Евла се движи од 30-360 µg/kg, а кај јаболката од Кривени од 30-410 µg/kg.

#### **6.1.7 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - втора фаза, 2016**

Јаболката во втора фаза (јаболка со големина на орех) се анализирани и добиените резултати се претставени на слика 32.



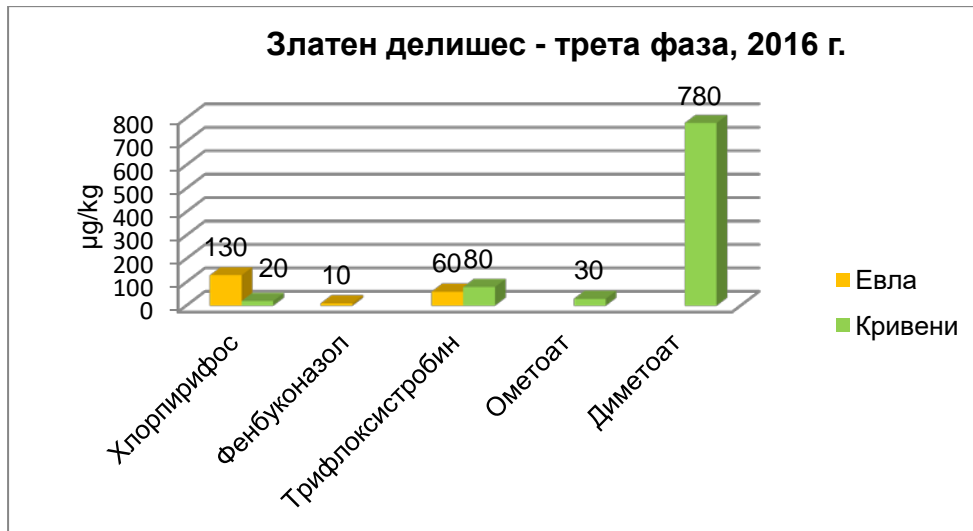
Слика 32. Пестициди во златен делишес од локации Евла и Кривени (втора фаза, 2016)

Figure 32. Pesticides in Golden delicious from the locations of Evla and Kriveni (second phase, 2016)

Од резултатите се забележува дека во златен делишес од Евла се детектирани: инсектицид хлорпирифос и фунгицид фенбуконазол со концентрација 50 µg/kg и 70 µg/kg. Додека, во златен делишес од Кривени се детектирани инсектицид хлорпирифос и фунгицидите трифлуксистробин, дифенконазол и тебуконазол, со концентрација која се движи од 10 до 170 µg/kg. Хлорпирифос е детектиран во јабољката златен делишес од двете локации со иста концентрација од 50 µg/kg. Добиените резултати од ова истражување се приближни со резултатите добиени од анализа на хлорпирифос (1010 µg/kg) во јабољка од страна на авторот Sadlo и соработниците (2007). Тебуконазол е детектиран само во јабољката од Кривени со висока концентрација (170 µg/kg). Резултатите од ова истражување, а се однесуваат за тебуконазол можат да се поврзат со резултатите што ги добиле авторот Schermerhorn и соработниците (2005). Фенбуконазол е системичен фунгицид што се применува за заштита од чадлива краставост на лисјата и плодовите кај јабољката и против пепелница на јабољката. Во јабољката од Евла тој е детектиран со 70 µg/kg, додека во јабољката од Кривени не е детектиран. Од добиените резултати може да се забележи дека во јабољката златен делишес од Кривени се детектирани резидуи од пестициди со поголема концентрација за разлика од јабољката од Евла.

### 6.1.8 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - трета фаза, 2016

Анализата ни покажа дека помеѓу втора и трета фаза јабољката се третирали со фунгициди и инсектициди заради нивна заштита. Детектираните пестициди во златен делишес (трета фаза) од две различни локации и нивните концентрации се претставени на слика 33.



Слика 33. Пестициди во златен делишес од локации Евла и Кривени (трета фаза, 2016)

Figure 33. Pesticides in Golden delicious from the locations of Evla and Kriveni (third phase, 2016)

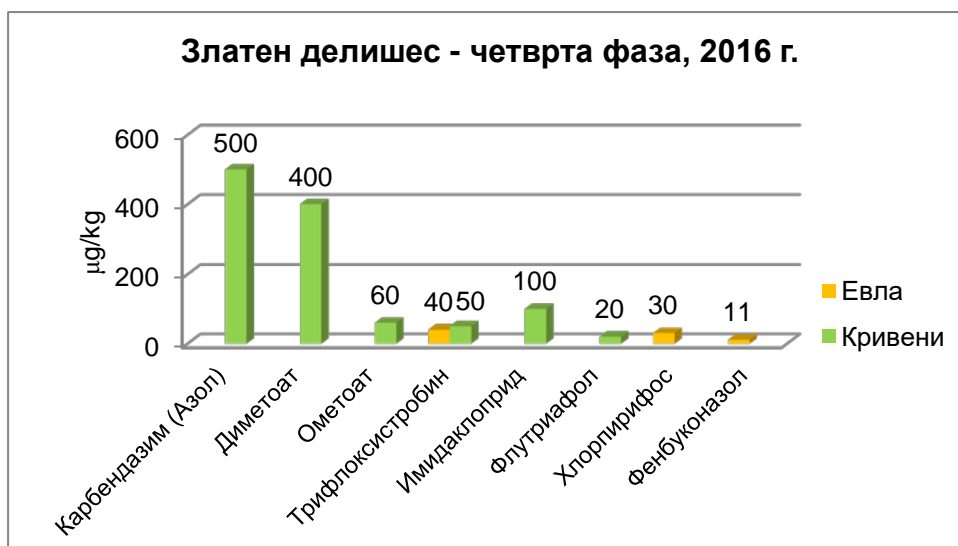
Од претставените резултати може да се забележи дека во јабољката златен делишес од Евла се детектирани инсектицидот хлорпирифос и фунгицидите фенбуконазол и трифлуксистробин, додека во јабољката од Кривени се детектирани инсектицидите хлорпирифос, ометоат и диметоат и фунгицидот трифлуксистробин.

Концентрацијата на пестицидите во јабољката златен делишес од Евла се движи во ранг од 10-130 µg/kg додека во јабољката златен делишес од Кривени во ранг од 20-780 µg/kg. Хлорпирифос е застапен во јабољката златен делишес од двете локации, но со поголема концентрација во јабољката од Евла. Диметоат е детектиран само во јабољката од Кривени и тоа со концентрација од 780 µg/kg. Нашите резултати се приближни со резултатите кои ги добиле авторот Pang и соработниците (2006) анализирајќи пестициди во овошни сокови од јабољко со гасна и течна хроматографија. Ометоат е застапен само во јабољката од Кривени и тоа со концентрација од 30 µg/kg додека тој не е детектиран во јабољката од Евла. Сепак во јабољката од

локација Кривени се детектирани резидуи од пестициди со поголема концентрација за разлика од јабољката од Евла.

### 6.1.9 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - четврта фаза, 2016

Анализирајќи ги јабољката од оваа сорта во фаза кога тие достигнаа време на берба (после берба) ги добивме резултатите кои се претставени на слика 34.



Слика 34. Пестициди во златен делишес од локации Евла и Кривени (четврта фаза, 2016)

Figure 34. Pesticides in Golden delicious from the locations of Evla and Kriveni (fourth phase, 2016)

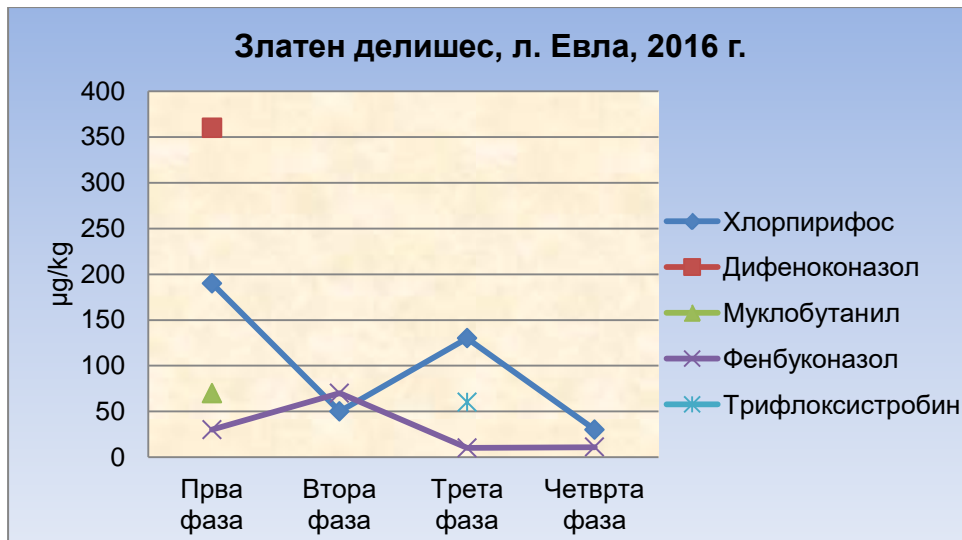
Во јабољката златен делишес од локацијата Евла се детектирани инсектицидот хлорпирифос и фунгицидите трифлуксистробин и фенбуконазол, додека во истата сорта јабољка одгледувани на локација Кривени се детектирани повеќе пестициди: инсектициди (диметоат, ометоат, имдаклоприд) и фунгицидите карбендазим (азол), трифлуксистробин и флутриафол. За прв пат во сите развојни фази е детектиран флутриафол кој претставува фунгицид и се користи против пепелница кај јабољката. Како и сите триазоли, фунгицидот флутриафол има изразен заштитен, а не терапевтски ефект. Активната материја брзо продира и се движи во ткивата на растението и ја нарушува виталната активност на патогенот. Поради добра подвижност, активната материја флутриафол ја заокружува локализацијата на патогенот, ја потиснува и обезбедува сигурна заштита на растенијата.

Од добиените резултати се забележува дека концентрацијата на резидуи од пестициди во јаболката златен делишес од Кривени се движи во ранг од 20 до 500 µg/kg. Концентрацијата на пестицидите во јаболката златен делишес од Евла се движи во ранг од 11 до 40 µg/kg. Трифлуксистеробин е детектиран во јаболката од двете локации и тоа со приближна концентрација. Со најголема концентрација е детектиран карбендазим (азол) и тоа само во јаболката од Кривени. Имидаклоприд како инсектицид е детектиран само во јаболката од Кривени и тоа со концентрација од 100 µg/kg, а во јаболката од Евла го нема. Фенбуконазол е детектиран со мала концентрација од 11 µg/kg само во јаболката од Евла, а во јаболката од Кривени го нема. Добиеените резултати за диметоат и ометоат може да се споредат со резултатите до кои дошле авторот Tsoutsis и соработниците (2008) детектирајќи ги овие пестициди во високи концентрации во маслиновото масло. Во јаболката од локација Кривени се детектирани резидуи од пестициди со поголема концентрација за разлика од јаболката од Евла.

#### **6.1.10 Дијаграм на застапеност на пестициди во јаболката златен делишес, 2016 година**

За да видиме дали концентрацијата на пестицидите се намалува или зголемува за време на четирите фази направивме дијаграми, а се однесуваат за јаболката златен делишес од локација Евла (слика 35) и за јаболка од локација Кривени (слика 36).



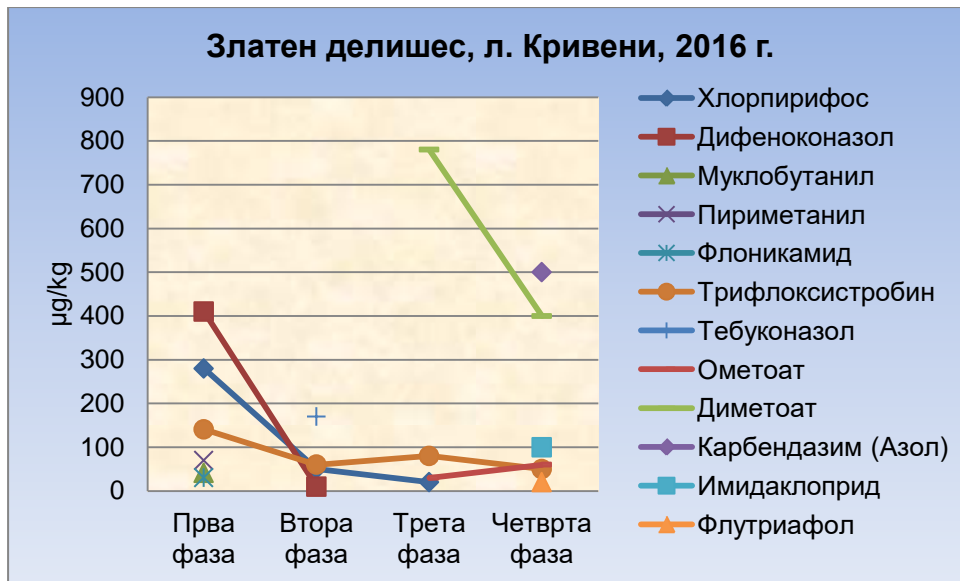


Слика 35. Дијаграм на пестициди во златен делишес од локација Евла во фази (2016)

Figure 35. Diagram of pesticides in Golden delicious from the location of Evla in phases (2016)

Од дијаграмот се забележува дека инсектицидот хлорпирифос е застапен во сите четири фази со различна концентрација, почнувајќи од 190 µg/kg во прва фаза, 50 µg/kg во втора фаза, 130 µg/kg во трета фаза за да во последната фаза достигне концентрација од 30 µg/kg. Трифлуксистробин не е застапен во првите две фази додека во трета фаза е детектиран со концентрација од 60 µg/kg, а во последната фаза не е детектиран. Фенбуконазол е детектиран во сите четири фази и неговата концентрација во првата фаза е 30 µg/kg, во втората изнесува 70 µg/kg, во третата е 10 µg/kg и во четвртата фаза е застапен со концентрација од 11 µg/kg. Муклобутанил е детектиран само во прва фаза со концентрација од 70 µg/kg додека во другите фази го нема. Дифеноконазол е детектиран со 360 µg/kg во прва фаза, а во останатите фази не е детектиран.

Во јаболката златен делишес од локацијата Кривени се детектирани резидуи од пестициди и нивната застапеност по фази е дадена на слика 36.



Слика 36. Дијаграм на пестициди во златен делишес од локација Кривени во фази (2016)  
 Figure 36. Diagram of pesticides in Golden delicious from the location of Kriveni in phases (2016)

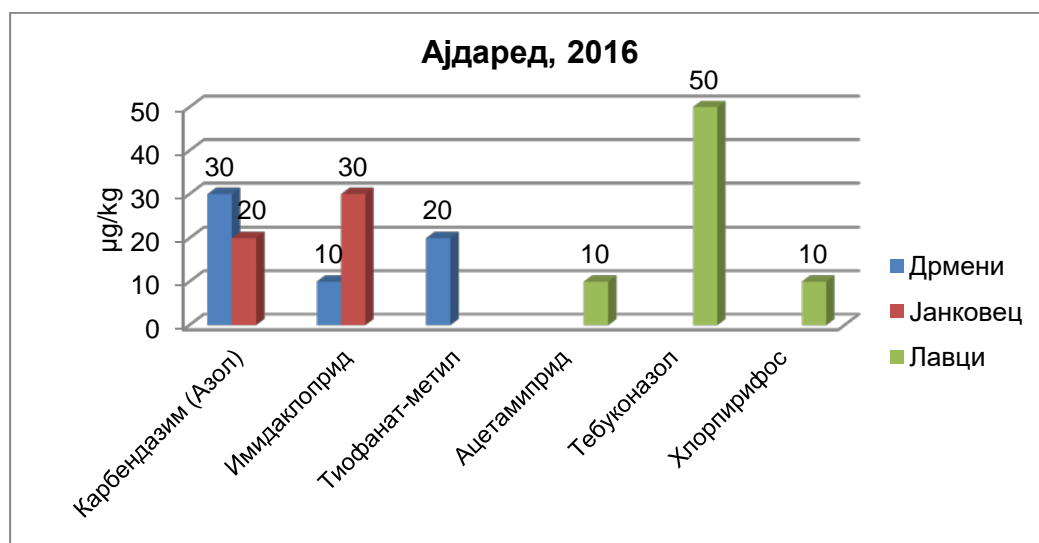
Од дијаграмот се забележува дека хлорпирифос е застапен во трите фази почнувајќи со концентрација од 280 µg/kg во првата фаза, 50 µg/kg во втора фаза и со најмала концентрација од 20 µg/kg во трета фаза, додека во четвртата фаза не е детектиран или неговата концентрација е под лимит на детекција. Дифеноконазол е детектиран во првите две фази со концентрација од 410 µg/kg и 10 µg/kg, а во трета и четврта фаза го нема или е под границата на детекција. Трифлуксистробин е детектиран во сите четири фази и неговата концентрација почнува од 141 µg/kg во прва фаза и достигнува до 50 µg/kg во последната фаза. Диметоат е детектиран со висока концентрација под 780 µg/kg во трета фаза и 400 µg/kg четврта фаза и се забележува намалување на неговата концентрација. Ометоат го нема во прва и втора фаза за да во трета фаза е детектиран со 30 µg/kg и 60 µg/kg во четврта фаза. Муклобутанил, пириметанил, флоникамид се застапени само во прва фаза со различна концентрација и во другите фази ги нема. Тебуконазол е застапен само во трета фаза со концентрација од 170 µg/kg. Додека, карбендазим (азол), имидаклоприд и флутриафол се детектирани со различна концентрација само во четврта фаза.

## 6.2 Резултати од пестициди во готов производ (јаболка за пазар), 2016 година

### 6.2.1 Ајдаред од локации Дрмени, Јанковец и Лавци, 2016

Дел од ова истражување беше да направиме анализа на резидуи од пестициди во јаболка земени од три различни локации: Дрмени, Јанковец и Лавци.

Резултатите што ги добивме од анализата на јаболката ајдаред се дадени на слика 37.



Слика 37. Пестициди во ајдаред од локациите Дрмени, Јанковец и Лавци (2016)  
Figure 37. Pesticides in Idared from the locations of Drmeni, Jankovec and Lavci (2016)

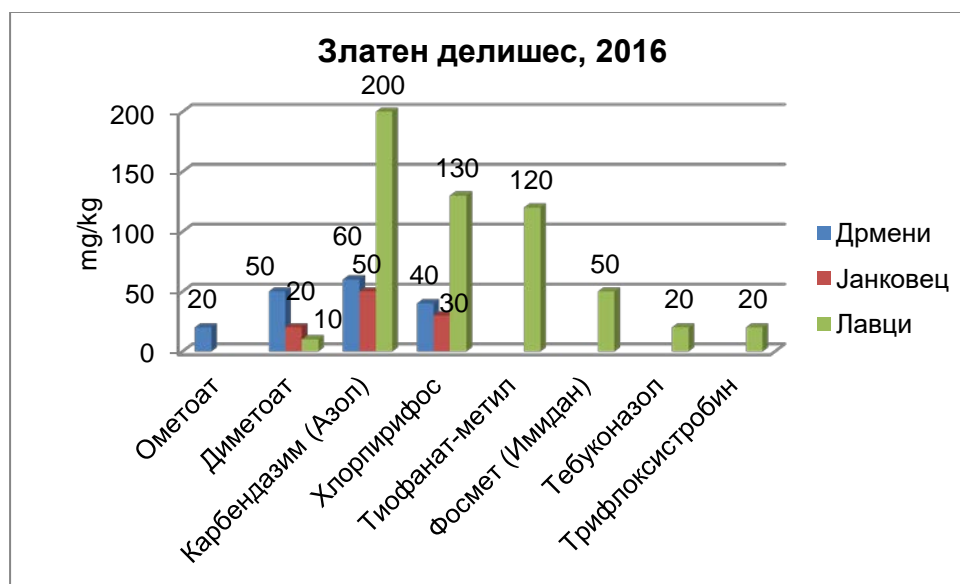
Од резултатите се забележува дека во двете локации Дрмени и Јанковец се детектирани исти пестициди (карбендазим и имидаклоприд) со разлика кај фунгицидот тиофанат-метил кој е детектиран во јаболката од Дрмени. Во јаболката од локација Лавци се детектирани сосема различни пестициди во однос на другите две локации. Во оваа локација се детектирани инсектициди: хлорпирифос и ацетамиприд, а не е детектиран имидаклоприд, а од фунгицидот е застапен тебуконазол. Од резултатите се забележува дека резидуите од пестициди во јаболката од Дрмени се застапени со концентрација која се движи во ранг од 10 до 30 µg/kg. Во овие јаболка со најголема концентрација (30 µg/kg) е застапен карбендазим (азол).

Во јаболката одгледувани на локација Јанковец се детектирани само два пестициди и тоа: карбендазим (азол) со концентрација од 20 µg/kg и имидаклоприд со концентрација од 30 µg/kg. Добиените резултати од ова истражување може да се поврзат со резултатите кои ги добиле Furlani и соработниците (2011) а се однесува на концентрацијата на карбендазим и имидаклоприд.

Во јаболката од Лавци се детектирани активните материји: ацетамиприд, тебуконазол и хлорпирифос. Ацетамиприд и хлорпирифос се застапени со концентрација од 10 µg/kg и нашите добиени вредности се слични со оние што ги добиле Rodrigues и соработниците (2011) при анализа на овошје одгледувано на различни локации во Бразил со GC-ECD. Резултатите што ги добивме за тебуконазол (50 µg/kg) се приближни со резултатите кои ги добиле авторите Walorczyk и Drozdzyński (2011) при анализа на пестициди во овошје и зеленчук со GC-MS/MS.

### 6.2.2 Златен делишес од локации Дрмени, Јанковец и Лавци, 2016

Со анализа на јаболката златен делишес од локациите: Дрмени, Јанковец и Лавци беа добиени резултатите претставени на слика 38.



Слика 38. Пестициди во златен делишес од локациите Дрмени, Јанковец и Лавци (2016)

Figure 38. Pesticides in Golden delicious from the locations of Drmeni, Jankovec and Lavci (2016)

Во јаболката златен делишес од Дрмени се детектирани инсектицидите: диметоат со концентрација од 50 µg/kg, ометоат со 20 µg/kg и хлорпирифос со 40 µg/kg и фунгицидите карбендазим (азол) со 60 µg/kg (повеќе за разлика од сортата ајдаред) и тиофанат-метил (20 µg/kg). Анализата ни покажа дека концентрацијата на пестицидите се движи во ранг од 20-60 µg/kg. Може да се забележи дека карбендазим (азол) е застапен во двете сорти на јаболка од истата локација и добиените резултати се приближни со резултатите кои ги добиле Radisic и соработниците (2009) кои што го детектирале карбендазим во 80 % од примероците на јаболка.

Во локацијата Јанковец се одгледувани и јаболка од сортата златен делишес и кај нив се детектирани три активни материи и тоа: карбендазим (азол), диметоат и хлорпирифос. Концентрацијата на резидуите од пестицидите детектирани во јаболката златен делишес од оваа локација е во ранг од 20 до 50 µg/kg. Од слика 38 се забележува дека во најголема концентрација е детектиран карбендазим (азол) со концентрација од 50 µg/kg (приближен резултат добиле и авторот Radisic и соработниците, 2009), а најмалку застапен е диметоат со 20 µg/kg. Концентрацијата на инсектицидот хлорпирифос изнесува 30 µg/kg. Авторот Shafi и соработниците (2014) детектирале хлорпирифос во гуава со концентрација од 122 µg/kg.

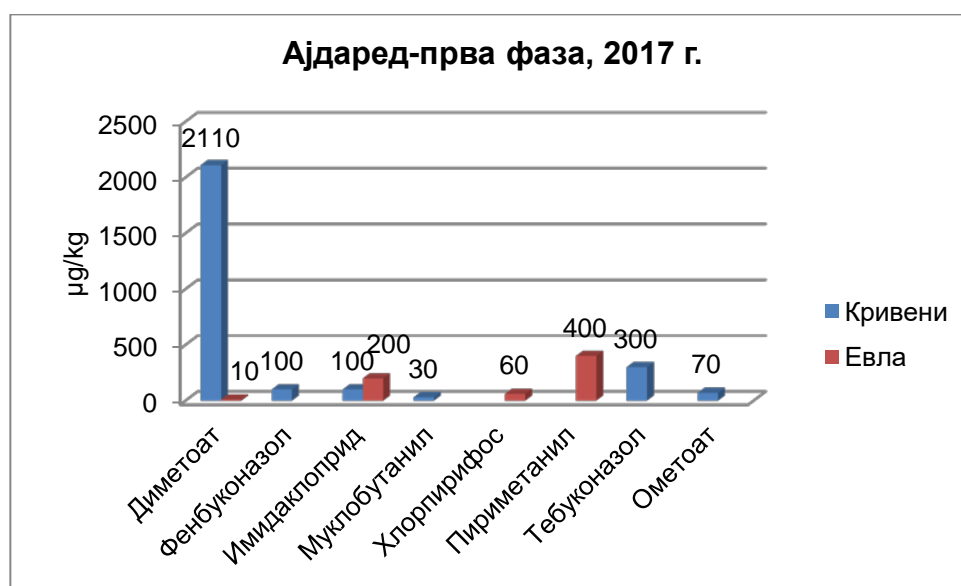
Во јаболката златен делишес од Лавци се детектирани вкупно 7 активни материи и тоа: карбендазим (азол), тиофанат-метил, фосмет (имидан), тебуконазол, трифлуксистробин, хлорпирифос и диметоат. Од податоците претставени на сликата може да се забележи дека концентрацијата на пестицидите во оваа сорта на јаболка се движи во ранг од 20-200 µg/kg. Со најмала концентрација е детектиран диметоат (10 µg/kg). Карбендазим (азол) е за 10 пати повеќе застапен за разлика од концентрацијата на тебуконазол и трифлуксистробин (20 µg/kg). Додека, со повисока концентрација се детектирани тиофанат-метил (120 µg/kg) и хлорпирифос (130 µg/kg). Добиените резултати се приближни со резултатите добиени од Sivaregumal и соработниците (2015) кои што направиле анализа на јаболка и добиле концентрација за карбендазим од 1304 µg/kg и диметоат од 34 µg/kg. Резултатите ни покажуваат дека во јаболката од Лавци се детектирани резидуи од пестициди со поголема концентрација за разлика од јаболката од другите

две локации. Во истите локации, но во друга сорта на јаболка (златен делишес) се детектирани повеќе резидуи од пестициди за разлика од јаболката ајдаред.

## 6.3 Резултати од пестициди во јаболка анализирани во развојни фази, 2017 година

### 6.3.1 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - прва фаза, 2017

Во следната година од ова истражување при анализа на резидуи од пестициди се добија резултати кои се претставени во овој дел. Во јаболката ајдаред од двете локации Евла и Кривени, во прва фаза, се детектирани пестициди и нивната концентрација е дадена на слика 39.



Слика 39. Пестициди во ајдаред од локациите Кривени и Евла (прва фаза, 2017)

Figure 39. Pesticides in Idared from the locations of Kriveni and Evla (first phase, 2017)

Анализата на јаболката ајдаред од двете локации ни покажа дека има застапено различен број на пестициди. Кај јаболката од Кривени се детектирани инсектицидите: диметоат, ометоат, имидаклоприд и фунгицидите фенбуконазол, муклобутанил и тебуконазол. Додека во јаболката од другата локација (Евла) се детектирани два инсектицида: диметоат и ометоат и фунгицидот пириметанил.

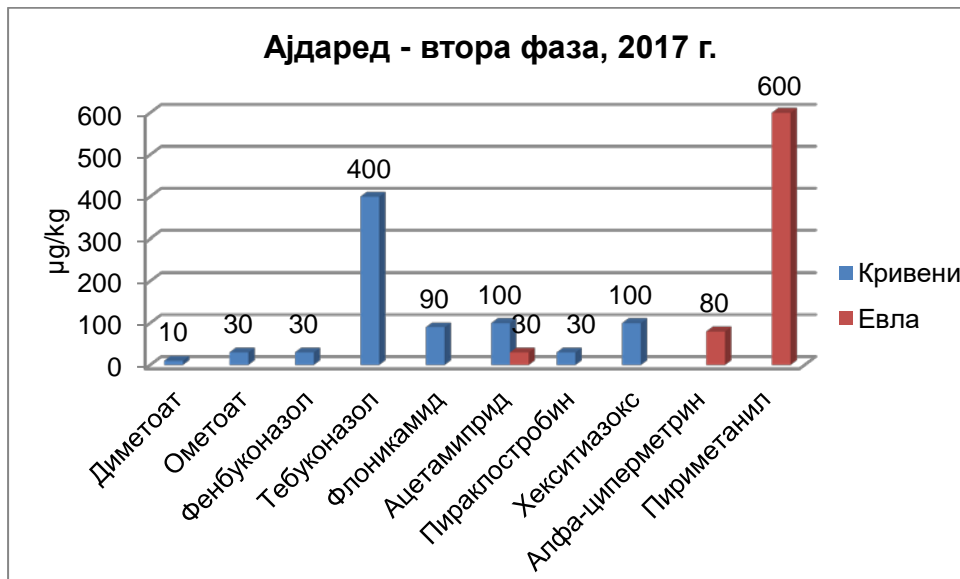
Од податоците претставени на слика 39, се забележува дека диметоат е застапен во јаболката од двете локации, но со значителна разлика во концентрацијата. Во оваа фаза карактеристично е да се детектираат инсектициди бидејќи јаболката се заштитуваат од штетни инсекти како што се пајаци, лисни вошки итн. Добиените резултати може да се споредат со

резултатите од авторот Aysal и неговите соработници (2007) кои што при анализа на јаболка детектирале резидуи од пестициди (вклучувајќи и диметоат). Ометоат се смета како метаболит на диметоат и тој е детектиран само во јаболката од Кривени со концентрација од 70 µg/kg. Фунгицидите фенбуконазол и тебуконазол се применуваат за заштита од чадлива краставост и дамкавост кај јаболката, а во јаболката од Кривени се детектирани со концентрација од 100 µg/kg и 300 µg/kg.

Во јаболката од Евла со најголема концентрација е детектиран пириметанил (400 µg/kg) и имидаклоприд (200 µg/kg), а диметоат и хлорпирифос се детектирани со помала концентрација. Авторот Zhou и соработниците (2010) го детектирале пириметанил во јаболка со приближна концентрација како и во ова истражување. Концентрацијата на резидуите од пестициди во јаболката од Кривени е во ранг од 30-2110 µg/kg, а во јаболката од Евла од 60 µg/kg до 400 µg/kg.

### 6.3.2 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - втора фаза, 2017

Кога јаболката достигнаа големина на орев (втора фаза) се анализираа примероци од двете локации. Добиените резултати се претставени на слика 40.



Слика 40. Пестициди во ајдаред од локациите Евла и Кривени (втора фаза, 2017)

Figure 40. Pesticides in Idared from the locations of Evla and Kriveni (second phase, 2017)

Од добиените резултати се забележува дека во јаболката од Кривени се детектирани повеќе инсектициди (диметоат, ометоат, ацетамиприд,

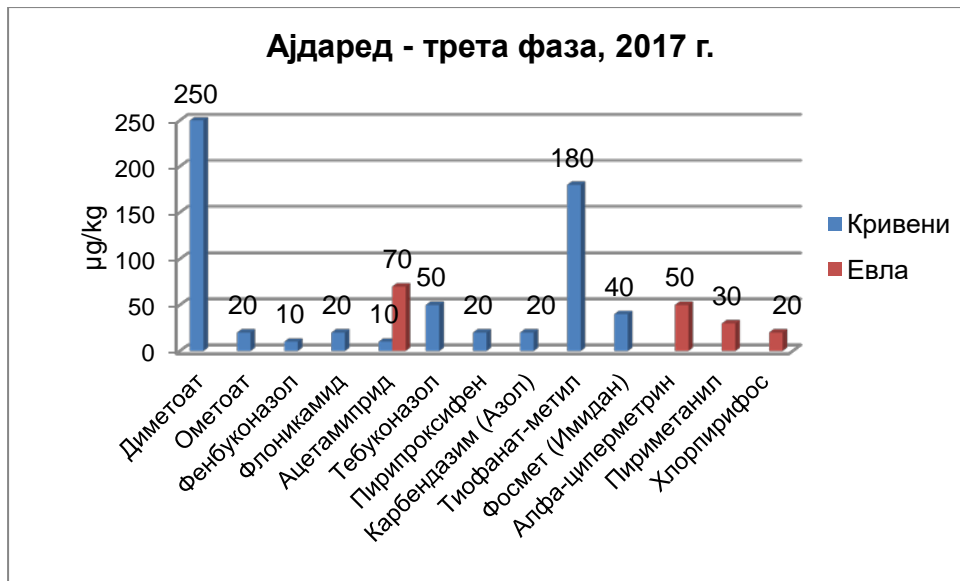


флониламид, пираклостробин и хекситиазокс) и фунгициди (фенбуконазол и тебуконазол) со различна концентрација. Концентрацијата на пестицидите се движи во ранг од 10 до 400 µg/kg. Хекситиазокс е акарицид со висока биолошка активност кон јајцата, ларвите и нифите од редот на *Tetranychidae*. Дејството на производот е контактен и гастроинтестинален ефект против подвижните форми и контактен против јајцата. Ларвите и нимфите при контакт со оваа активна материја брзо умираат. Добиените резултати може да ги споредиме со резултатите кои ги добиле авторот Kaihara и соработниците (2000) кои што детектирале резидуи од пестициди (вклучувајќи и хекситиазокс) во свежо овошје (вклучувајќи и јаболка) и зеленчук, но со помала концентрација.

Во јаболката од Евла се детектирани помал број на пестициди. Со најголема концентрација е детектиран пириметанил (600 µg/kg), потоа алфа-циперметрин (80 µg/kg) и ацетамиприд (30 µg/kg). Од добиените резултати се забележува дека ацетамиприд е заеднички, односно се користел како инсектицид во двете локации. Добиените резултати се слични со резултатите кои ги добиле авторот Koesukwiwat и соработниците (2010) кои што анализираше резидуи од инсектициди во овошје, зеленчук и сокови од овошје. Добиле резултати за три пиретроидни инсектициди со концентрација која е во ранг од 2 до 1133 ng/g. Во јаболката од локација Кривени се детектирани резидуи од пестициди со концентрација од 10-400 µg/kg додека во јаболката од Евла со концентрација од 30-600 µg/kg.

### **6.3.3 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - трета фаза, 2017**

Во третата развојна фаза од јаболката ајдаред одгледувани на две различни локации се детектирани резидуи од пестициди и резултатите се прикажани на слика 41.



Слика 41. Пестициди во ајдаред од локациите Кривени и Евла (трета фаза, 2017)

Figure 41. Pesticides in Idared from the locations of Kriveni and Evla (third phase, 2017)

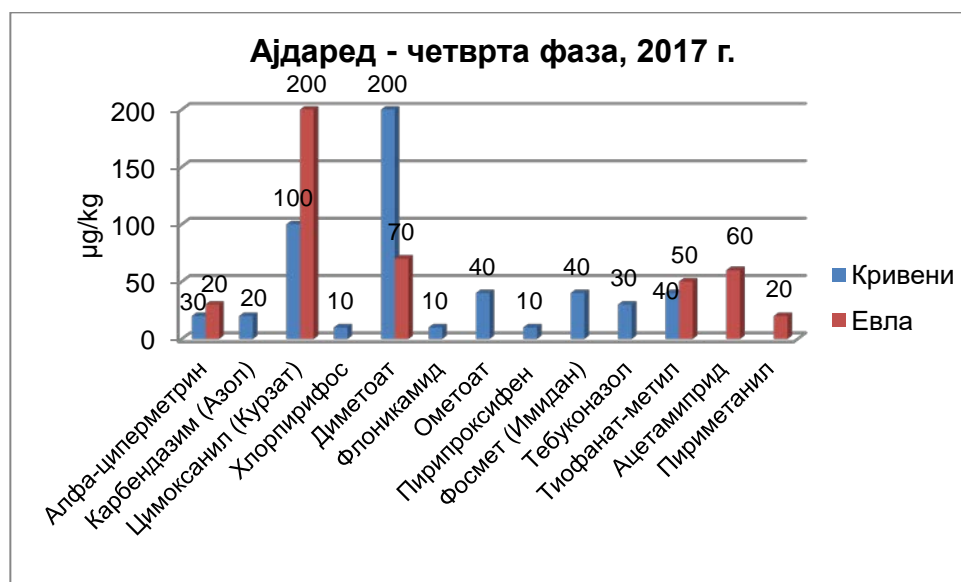
Од добиените резултати се забележува дека во јаболката од Кривени се детектирани повеќе инсектициди: диметоат, ометоат, ацетамиприд, флонирамид, пирипроксифен и фосмет, а од фунгицидите се детектирани: фенбуконазол, тебуконазол, карбендазим и тиофанат-метил со различна концентрација. За прв пат во оваа фаза е детектиран инсектицидот пирипроксифен кој е антагонист на хормоните за преслекување кај инсектите. Поседува трансламинаторно движење во растението, а доколку јајцата од инсектите се изложени директно тој има овицидно дејство кон нив. Тој дејствува дигестивно и контактно. Добиените резултати може да ги споредиме со резултатите што ги добиле авторот Morales и соработниците (2011) кои што детектирале 16 пестициди во пиперки (меѓу кои се тиофанат-метил, ацетамиприд, карбендазим итн.) со различна концентрација.

Додека во јаболката од Евла се детектирале три инсектициди (ацетамиприд, хлорпирифос и алфа-циперметрин) и само еден фунгицид (пириметанил). Добиените вредности за овие пестициди се слични со резултатите кои ги добиле Ortelli и соработниците (2004) при анализа на бензимидазоли, карбамати итн. во овошје и зеленчук.

Концентрацијата на пестицидите во јаболката од Кривени се движи во ранг од 10-250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  додека во јаболката од другата локација (Евла) е во ранг од 20-70  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

#### 6.3.4 Ајдаред од л. Евла и л. Кривени - четврта фаза, 2017

Резултатите од анализата на земените примероци од четврта фаза се претставени на слика 42.



Слика 42. Пестициди во ајдаред од локациите Кривени и Евла (четврта фаза, 2017)

Figure 42. Pesticides in Idared from the locations of Kriveni and Evla (fourth phase, 2017)

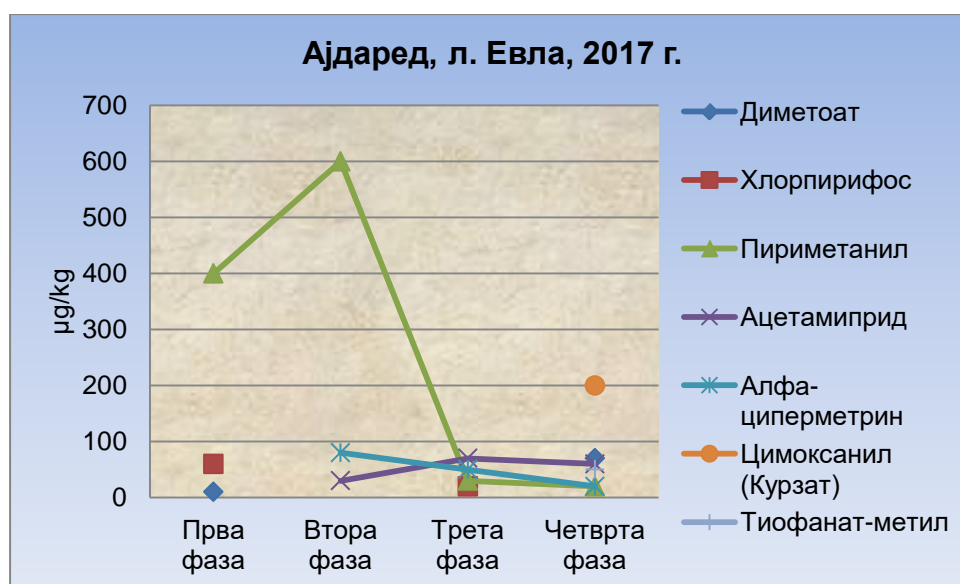
Од добиените резултати, може да се забележи дека во јаболката од локацијата Кривени се детектирани инсектицидите: алфа-циперметрин, хлорпирифос, диметоат, флоникамид, ометоат, пирипроксифен и фосмет додека од фунгицидите се детектирани: карбендазим (азол), тебуконазол и тиофанат-метил. Во јаболката од Евла се детектирани само два инсектициди (диметоат и ацетамиприд), а другите два се фунгициди (цимоксанил и пириметанил).

Од сликата 42 каде што е претставена застапеноста на пестицидите во јаболката од двете локации се гледа дека концентрацијата на пестицидите кај јаболката од Кривени се движи во ранг од 10 до 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Кај јаболката од Евла концентрацијата се движи во ранг од 20 до 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Алфа-циперметрин е детектиран во јаболката од двете локации со приближна концентрација, а слично е и кај тиофанат-метил. Концентрацијата на ометоат, фосмет (имидан)

и тиофанат-метил изнесува 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  во јаболката од Кривени. Хлорпирифос, флониламид и пирипроксифен се детектирани со иста концентрација (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) во јаболката од Кривени, а во јаболката од Евла не се детектирани. Во оваа фаза карактеристична е примената на цимоксанил кој се користи како системичен фунгицид и дејствува протективно и куративно. Неговото дејство е инхибиција на процесот на клеточно дишење и дејствува против повеќе видови габи. Овој фунгицид е детектиран и во јаболката од двете локации но со 2 пати помала концентрација во јаболката од Кривени во споредба со јаболката од Евла. Добиените резултати се слични со резултатите од авторот Botitsi и соработниците (2007) кои ги добиле при анализа на различни пестициди во процесирано овошје со примена на течна хроматографија.

### 6.3.5 Дијаграм на застапеност на пестициди во јаболката ајдаред, 2017 година

Во четирите развојни фази на јаболката се детектираа пестициди и за да видиме каква е нивната застапеност направивме дијаграми кои се однесуваат за јаболката ајдаред од локација Евла (слика 43) и за јаболка од локација Кривени (слика 44).



Слика 43. Дијаграм на пестициди во ајдаред од локацијата Евла во фази (2017)  
Figure 43. Diagram of pesticides in Idared from the locations of Evla in phases (2017)

Од дијаграмот на слика 43 може да се забележи дека пириметанил, се наоѓа во сите четири фази и тоа со многу висока концентрација од 400  $\mu\text{g}/\text{kg}$  во

прва фаза, 600 µg/kg во втора фаза, 30 µg/kg во трета фаза за да во последната фаза се намалува и неговата концентрација изнесува 20 µg/kg. Концентрацијата на ацетамиприд во втората фаза е помала (30 µg/kg), а во третата фаза достигнува до 70 µg/kg за да во четвртата фаза се намали до 60 µg/kg. Алфа-циперметринот е детектиран најпрво со повисока концентрација (80 µg/kg во втора фаза), со 50 µg/kg во трета фаза и во последната фаза се намалува на 20 µg/kg. Инсектицидот диметоат е детектиран во прва фаза со 10 µg/kg во втора и трета фаза го нема и во четврта фаза е застапен со 70 µg/kg. Во прва фаза е детектиран и инсектицидот хлорпирифос со 60 µg/kg, во втора и четврта фаза го нема, а во трета фаза е детектиран со 20 µg/kg. Цимоксанил (курзат) и тиофанат-метил се детектирани само во четврта фаза со концентрација од 200 µg/kg и 50 µg/kg. Кај одредени пестициди се забележува намалување на концентрацијата како што поминуваат развојните фази кај јаболката.

Како што опишавме и погоре, во јаболката од локацијата Кривени се детектирани повеќе пестициди и нивната застапеност во фази е претставена на слика 44.



Слика 44. Дијаграм на пестициди во ајдаред од локацијата Кривени во фази (2017)

Figure 44. Diagram for pesticides in Idared from the locations of Kriveni in phases (2017)

Во примероците од Кривени се детектирани поголем број пестициди (слика 44). Диметоат е детектиран во сите четири развојни фази, така што, неговата концентрацијата во прва фаза е 2110  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , во втора фаза се намалува на 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , во трета фаза изнесува 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  и во четврта фаза се намалува на 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Додека, концентрацијата на ометоат во првата фаза е 70  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , во втора фаза е 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , во трета фаза е 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  и во четврта фаза е 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Концентрацијата на фенбуконазол во прва фаза е 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  во втора фаза е 30, а во трета фаза е 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , додека во четврта фаза не е детектиран. Имидаклоприд и муклобутанил се детектирани само во првата фаза, а во другите фази ги нема. Тебуконазол е присутен со 300  $\mu\text{g}/\text{kg}$  во првата фаза, со 400  $\mu\text{g}/\text{kg}$  во втората фаза, со 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  во третата фаза и во четврта фаза со 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Хлорпирифос е детектиран само во четврта фаза со 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  додека во другите три фази го нема. Концентрацијата на флоникамид во втора фаза е 90  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , во трета фаза е 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  за да во последната фаза се намали на 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Ацетамиприд е детектиран со 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  во втора фаза и неговата концентрација се намалува во трета фаза и изнесува 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  додека во четвртата фаза го нема или не е детектиран. Пираклостробин и хекситизаокс се детектирани само во втора фаза со 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  и 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  а во останатите фази не е застапен. Пирипроксифен, карбендазим (азол), тиофанат-метил и фосмет (имидан) се застапени само во трета и четврта фаза и нивната концентрација во овие фази се намалува. Алфа-циперметрин и цимоксанил (курзат) се детектирани само во четврта фаза со концентрација од 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  и 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

### **6.3.6 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - прва фаза, 2017**

На сликата 45 се прикажани резултатите од анализата на јаболката златен делишес одгледувани на локациите Евла и Кривени.



Слика 45. Пестициди во златен делишес од локациите Кривени и Евла (прва фаза, 2017)

Figure 45. Pesticides in Golden delicious from the locations of Kriveni and Evla (first phase, 2017)

Од резултатите прикажани на сликата 45 се забележува дека во јабољката златен делишес од локацијата Кривени се детектирани инсектицидите: диметоат и имидаклоприд и фунгицидите фенбуконазол и муклобутанил. Додека во јабољката од другата локација (Евла) се детектирани диметоат, имидаклоприд и хлорпирифос (од инсектицидите) и само еден фунгицид, а тоа е пириметанил.

Концентрацијата на пестицидите во јабољката од Кривени се движи од 80 до 2110 µg/kg, а кај јабољката од Евла во ранг од 30 до 600 µg/kg. Со највисока концентрација е детектиран диметоат (2110 µg/kg). Според авторот Vonmatin и соработниците (2003) имидаклоприд претставува најкористен системичен инсектицид. Авторите го детектирале со течна хроматографија во почва, растенија и полен. Добиените резултати може да ги поврземе со нивните бидејќи и ние го детектиравме имидаклоприд во двете сорти на јабољка, но со приближно 2,5 пати помала концентрација во јабољката од Кривени за разлика од јабољката од Евла. Од добиените резултати може да се заклучи дека во јабољката златен делишес од двете локации се детектирани приближно ист број на пестициди но со поголема концентрација во јабољката од Кривени.

### 6.3.7 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - втора фаза, 2017

Помеѓу прва и втора развојна фаза, јабољката се третираат со пестициди против чадлива краставост, пепелница, јабољков црв, лисни вошки, лисни минери (по потреба) и пајаци. Резултатите од анализата на јабољката златен делишес од двете локации се прикажани на слика 46.



Слика 46. Пестициди во златен делишес од локациите Кривени и Евла (втора фаза, 2017)

Figure 46. Pesticides in Golden delicious from the locations of Kriveni and Evla (second phase, 2017)

Од резултатите се забележува присуство на различен број пестициди во јабољката од двете различни локации. Во јабољката од локацијата Кривени се детектирани голем број инсектициди (диметоат, ометоат, флоникамид, ацетамиприд, пирактостробин и хекситиазокс) и помал број фунгициди (пропиконазол, фенбуконазол и тебуконазол), додека во јабољката од Евла само еден инсектицид (алфа-циперметрин) и еден фунгицид (пириметанил).

Концентрацијата на пестицидите во јабољката од Кривени е во ранг од 20-400 µg/kg додека во јабољката од Евла изнесува 100 µg/kg за двата пестициди поодделно. Концентрацијата на диметоат, ометоат и пирактостробин е еднаква на 30 µg/kg во јабољката од Кривени додека во јабољката од Евла тие не се детектирани. Флоникамид, ацетамиприд и хекситиазокс се застапени во јабољката од Кривени со концентрација од 100 µg/kg а тие не се детектирани во јабољката од Евла. Тебуконазол е застапен со највисока концентрација од 400 µg/kg само во јабољката од Кривени. Добиените



резултати од оваа фаза, укажуваат на различна примена на пестициди кај иста сорта на јаболка, но одгледувани на две различни локации. Тоа ни покажува дека при одгледување на јаболката важна е локацијата и ова тврдење во своето истражување го истакнуваат авторот Domotorova со соработниците (2006).

### 6.3.8 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - трета фаза, 2017

Третата фаза е време кога јаболката се во фаза на зреење. Помеѓу втора и трета фаза, се третираат со пестициди против јаболков црв, лисни минери, краставост, пепелница итн. Добиените резултати од анализата на јаболката се претставени на слика 47.



Слика 47. Пестициди во златен делишес од локациите Кривени и Евла (трета фаза, 2017)

Figure 47. Pesticides in Golden delicious from the locations of Kriveni and Evla (third phase, 2017)

Од резултатите може да се забележи дека во јаболката од Кривени се детектирани поголем број инсектициди (диметоат, ометоат, ацетамиприд, флоникамид, хекситиазокс, фосмет (имидан) и пирипроксифен) и фунгициди (пиракlostробин, тебуконазол, фенбуконазол, пиракlostробин, карбендазим (азол) и тиофанат-метил) додека во јаболката од Евла се детектирани три инсектициди (ацетамиприд, хлорпирифос и алфа-циперметрин) и еден фунгицид (пириметанил).

Од добиените резултати се забележува дека концентрацијата на пестицидите во јаболката од Кривени се движи во ранг од 10 µg/kg за

хекситазокс и пираклостробин до 190 µg/kg за карбендазим (азол), додека во јаболката од Евла со 30 µg/kg за пириметанил и 100 µg/kg за алфа-циперметрин. Dasika со соработниците (2012) покрај големиот број на пестициди што ги анализирале во јаболка од повеќе сорти, детектирале и пираклостробин и добиените резултати може да ги споредиме со нивните. И во оваа фаза различен е бројот на детектирани пестициди и како и погоре и според тоа ќе наведеме дека локацијата има големо влијание при одгледувањето на јаболка. Во јаболката од локацијата Кривени застапени се резидуи од пестициди со поголема концентрација во споредба со јаболката од локација Евла.

### 6.3.9 Златен делишес од л. Евла и л. Кривени - четврта фаза, 2017

Помеѓу трета и четврта фаза, јаболката се третираат со фунгициди против доцна краставост и со инсектициди доколку има потреба (против ларви од јаболков црв и лисни вошки). Добиените резултати од анализираните јаболка се претставени на слика 48.



Слика 48. Пестициди во златен делишес од локациите Кривени и Евла (четврта фаза, 2017)

Figure 48. Pesticides in Golden delicious from the locations of Kriveni and Evla (fourth phase, 2017)

Од добиените резултати се забележува дека во јаболката од Кривени се детектирани голем број инсектициди и фунгициди а кај јаболката од Евла многу помал број од фунгициди и инсектициди. Во јаболката од Кривени се детектирани инсектицидите: ацетамиприд, хлорпирифос, диметоат,

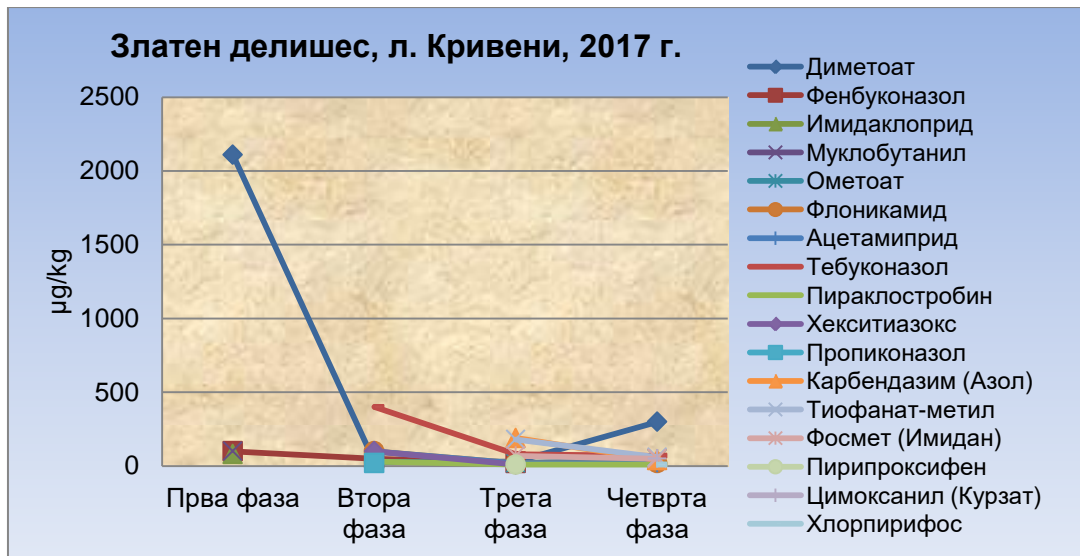
флоникамид, ометоат, фосмет (имидан) а од фунгицидите се карбендазим (азол), цимоксанил (курзат), пираклостробин, тебуконазол и тиофанат-метил. Додека во јаболката од Евла се детектирани инсектицидите ацетамиприд, хлорпирифос, диметоат и алфа-циперметрин, а од фунгицидите цимоксанил (курзат) и пириметанил. Концентрацијата на пестицидите се движи во ранг од 10-300  $\mu\text{g}/\text{kg}$  за јаболката од Кривени и од 20-300  $\mu\text{g}/\text{kg}$  за јаболката од Евла.

Во јаболката од Кривени со најмала концентрација (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) се застапени хлорпирифос и пираклостробин, а со најголема е застапен диметоат со 300  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Łozowicka и соработниците (2013) го детектирале диметоат во јаболка и добиле концентрација од 10-30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , а и во ова истражување е детектиран диметоат и тоа во јаболката од двете локации.

Во јаболкото златен делишес од Евла, најмалку е застапен хлорпирифос со 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , а најмногу цимоксанил (курзат) со 300  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Добиените резултати од ова истражување може да ги поврземе со резултатите на Chandra и соработниците (2014) кои што анализирале хлорпирифос со концентрација од 1  $\text{mg}/\text{kg}$  во јаболка со гасна хроматографија. Од добиените резултати може да заклучиме дека има повеќе детектирани резидуи од пестициди со различна концентрација во јаболката од Кривени во споредба со јаболката во Евла.

### **6.3.10 Дијаграм на застапеност на пестициди во јаболката златен делишес, 2017 година**

Во овој дел ќе ја претставиме застапеноста на пестицидите во јаболката златен делишес од локацијата Кривени (слика 49) во фази со помош на дијаграм.

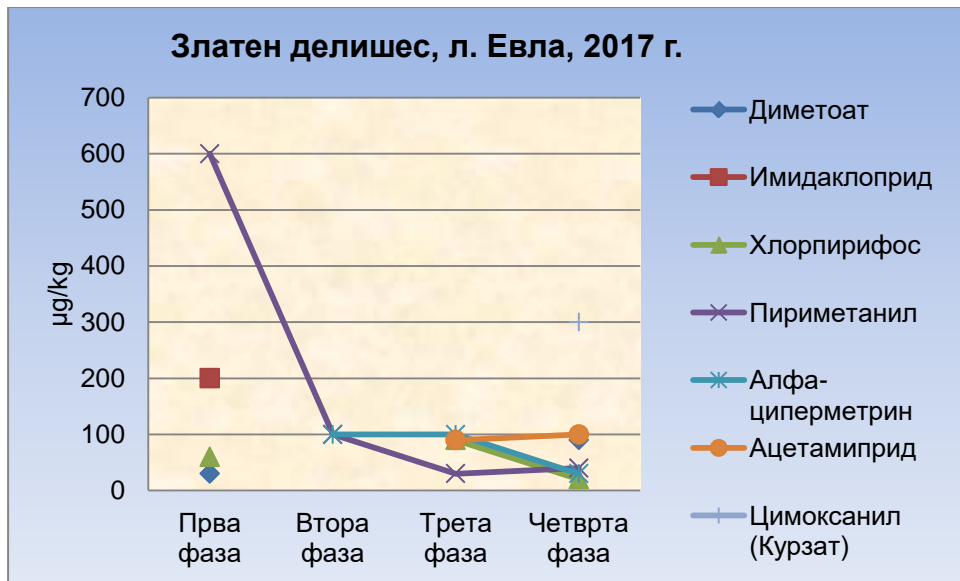


Слика 49. Дијаграм на пестициди во златен делишес од локацијата Кривени во фази (2017)

Figure 49. Diagram for pesticides in Golden delicious from the location of Kriveni in phases (2017)

И претходно споменавме дека се детектирани поголем број на пестициди во јаболката од локација Кривени што може да се забележи и од дијаграмот. Инсектицидот диметоат е детектиран во сите четири фази. Во прва фаза е застапен со многу висока концентрација дури од 2110 µg/kg, а во втора и трета фаза со 30 µg/kg, а во последната фаза со 300 µg/kg. Фунгицидот фенбуконазол во првата фаза е застапен со концентрација од 100 µg/kg за неговата концентрација да се намалува до 50 µg/kg во втора фаза и 20 µg/kg во трета фаза, а во четврта фаза го нема или не е детектиран. Имидаклоприд и муклобутанил се детектирани само во прва фаза. Ометоат, флоникамид, ацетамиприд, тебуконазол и пираклоstробин се застапени во сите три фази, освен во првата. За нив е карактеристично дека концентрацијата се намалува. Хекситиазокс е застапен само во втора и трета фаза со 100 µg/kg и 10 µg/kg. Пропиконазол е присутен со 20 µg/kg само во втора фаза. Хлорпирифос и цимоксанил (курзат) се застапени само во четврта фаза со концентрација од 10 µg/kg и 50 µg/kg. Карбендазим (азол), тиофанат-метил и фосмет (имидан) се детектирани во трета и четврта фаза и нивната концентрација се намалува.

Во јаболката од локација Евла се детектирани седум пестициди и нивната застапеност по фази е дадена на слика 50.



Слика 50. Дијаграм на пестициди во златен делишес од локацијата Евла во фази (2017)

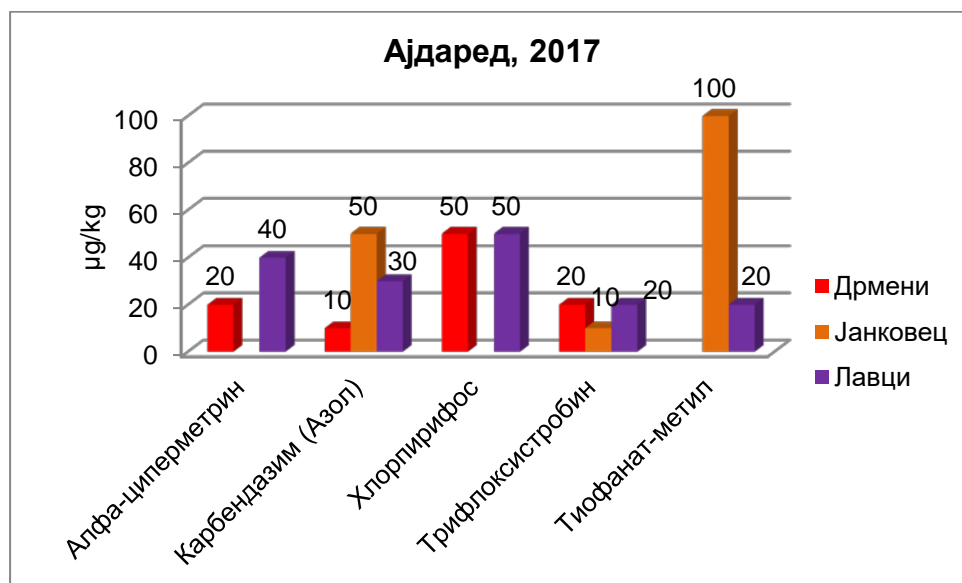
Figure 50. Diagram for pesticides in Golden delicious from the location of Evla in phases (2017)

Инсектицидот хлорпирифос е детектиран во прва фаза со 60 µg/kg во втора не е детектиран, а во трета фаза е со концентрација од 90 µg/kg за да во четврта фаза концентрацијата се намалува на 20 µg/kg. Пириметанил е детектиран во сите четири фази, почнувајќи од прва фаза со 600 µg/kg и завршувајќи со 40 µg/kg во последната фаза. Имидаклоприд е детектиран само во прва фаза со концентрација од 200 µg/kg. Диметоат е застапен во прва и последна фаза со концентрација од 30 µg/kg и 90 µg/kg. Алфа-циперметрин е детектиран во трите фази освен во првата и неговата концентрација се намалува од 100 µg/kg до 30 µg/kg во последната фаза. Ацетамиприд е детектиран во последните две фази со концентрација од 90 µg/kg и 100 µg/kg. Цимоксанил (курзат) е детектиран само во последната фаза и тоа со 300 µg/kg.

## 6.4 Резултати од пестициди во готов производ (јаболка за пазар), 2017 година

### 6.4.1 Ајдаред од локациите Дрмени, Јанковец и Лавци, 2017

Со цел да видиме дали има остатоци од пестициди во јаболка како готов производ (јаболка за пазар) направивме анализа и увидовме дека во јаболката ајдаред од локацијата Дрмени, Јанковец и Лавци се детектирани следниве пестициди: алфа-циперметрин, карбендазим (азол), хлорпирифос, трифлуксистробин и тиофанат-метил. Нивните концентрации се претставени на слика 51.



Слика 51. Пестициди во ајдаред од локациите Дрмени, Јанковец и Лавци (2017)  
Figure 51. Pesticides in Idared from the locations of Drmeni, Jankovec and Lavci (2017)

Во јаболката ајдаред од локацијата Дрмени се детектирани инсектицидите: алфа-циперметрин, хлорпирифос и фунгицидите: карбендазим (азол) и трифлуксистробин. Концентрацијата на пестицидите застапени во оваа сорта јаболка се движи во ранг од 10 до 50 µg/kg. Најмногу е застапен хлоропирифос со концентрација од 50 µg/kg. Добиените резултати можеме да ги поврземе со резултатите на авторите Mackialeagha & Farahani (2012) кои што анализирале хлорпирифос во жолти и црвени јаболка за време на берба и го детектирале со концентрација од 1,08 ppm и 1,34 ppm.

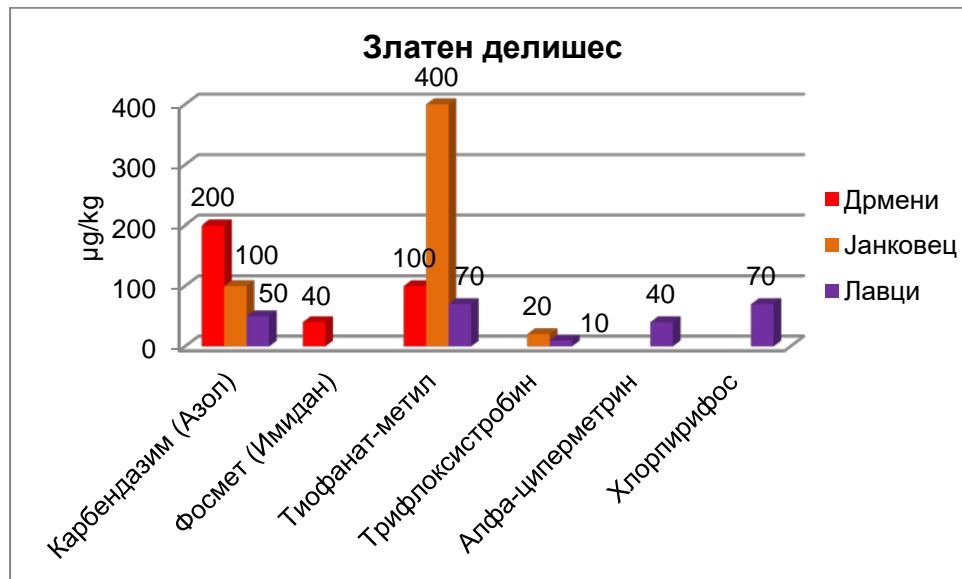
Од локацијата Јанковец, беа земени примероци јаболка ајдаред и анализата ни покажа дека се застапени резидуи од карбендазим (азол), тиофанат-метил и трифлуксистробин со концентрација која се движи во ранг од

10 до 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Во јабољката ајдаред од Јанковец со најголема концентрација (100  $\text{mg}/\text{kg}$ ) е застапен пестицидот тиофанат-метил. Слични резултати добивме како и Morales и соработниците (2011) кои што со течна хроматографија детектирале тиофанат-метил и карбендазим во пиперки.

Во оваа сорта јабољка (ајдаред) од Лавци се детектирани најголем број на пестициди (за разлика од другите две локации) како што се: алфа-циперметрин, карбендазим (азол), хлорпирифос, тиофанат-метил и трифлуксистеробин. Концентрацијата на тиофанат-метил и трифлуксистеробин е 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  додека на другите се движи во ранг од 30-50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Приближни резултати за трифлуксистеробин (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) добиле и авторите Giza & Sztwiertnia (2003) кои што анализирале трифлуксистеробин во јабољка со примена на гасна хроматографија.

#### 6.4.2 Златен делишес од локациите Дрмени, Јанковец и Лавци, 2017

Во јабољката златен делишес од сите три локации се детектирани карбендазим (азол), фосмет (имидан), тиофанат-метил, хлорпирифос, трифлуксистеробин и алфа-циперметрин со различни концентрации кои се претставени на слика 52.



Слика 52. Пестициди во златен делишес од локациите Дрмени, Јанковец и Лавци (2017)

Figure 52. Pesticides in Golden deliciuos from the locations of Drmeni, Jankovec and Lavci (2017)

Во јабољката земени од локацијата Дрмени се детектирани еден инсектицид (фосмет) и два фунгициди (тиофанат-метил и карбендазим).

Концентрацијата е во ранг од 40-200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Најзастапен е карбендазим (азол) со концентрација од 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  и овој резултат е сличен како резултатот кој го добил Sivaregumal (2015) при анализа на овој фунгицид во јаболка.

Во јаболката златен делишес од Јанковец нема детектирани инсектициди туку само фунгициди (тиофанат-метил, трифлуксистеробин и карбендазим). Од сите пестициди најмногу е застапен тиофанат-метил со 400  $\mu\text{g}/\text{kg}$  а најмалку трифлуксистеробин (20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

Во јаболката од Лавци се забележува присуство на хлорпирифос и тиофанат-метил кои се застапени со иста концентрација (70  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) додека другите пестициди се застапени со пониска концентрација која се движи од 10 до 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Карактеристично е тоа што тиофанат-метил и карбендазим се детектирани во јаболката од сите три локации но со различна концентрација.

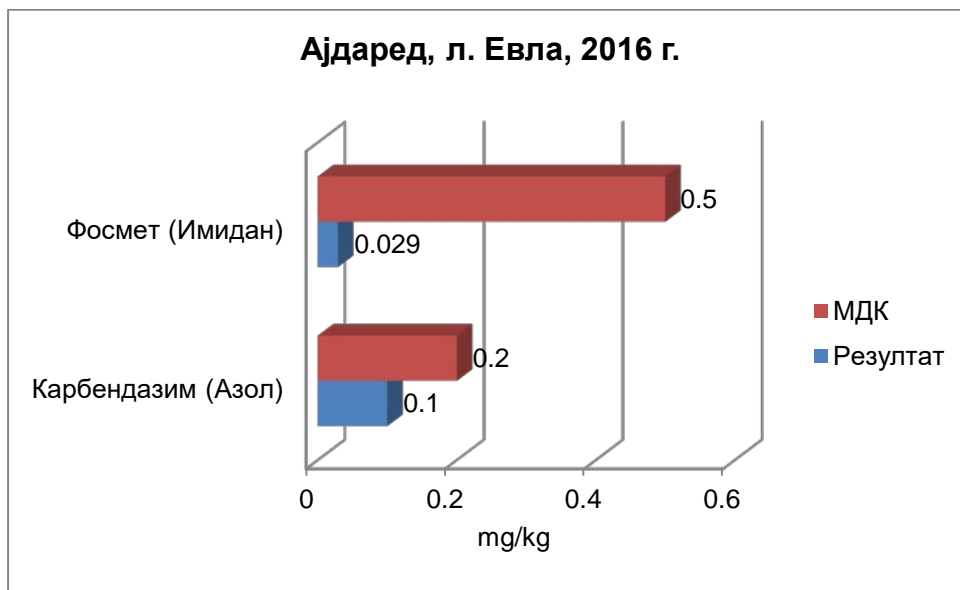


## 6.5 Споредба на концентрацијата на резидуи од пестициди во јаболката со МДК, 2016 година

### 6.5.1 Ајдаред од л. Евла и споредба со МДК, 2016

Ценејќи ја важноста на пестицидите при производството на јаболка од една страна и нивното влијание врз здравјето, доколку се застапени во поголема концентрација од друга страна, за нас беше важно да видиме дали има остатоци од пестициди во јаболката како конечен производ и колку тие се над МДК. Од таа причина направивме споредба на добиената концентрација на пестицидите со нивната максимално дозволена концентрација (МДК) пропишана со Правилник (Службен весник на Република Македонија, 156, 2013).

Добиените концентрации на пестицидите застапени во јаболката ајдаред од локацијата Евла и нивната максимална дозволена концентрација (МДК) се претставени на слика 53.



Слика 53. Споредба на концентрација на резидуи во ајдаред од локацијата Евла со МДК (2016)

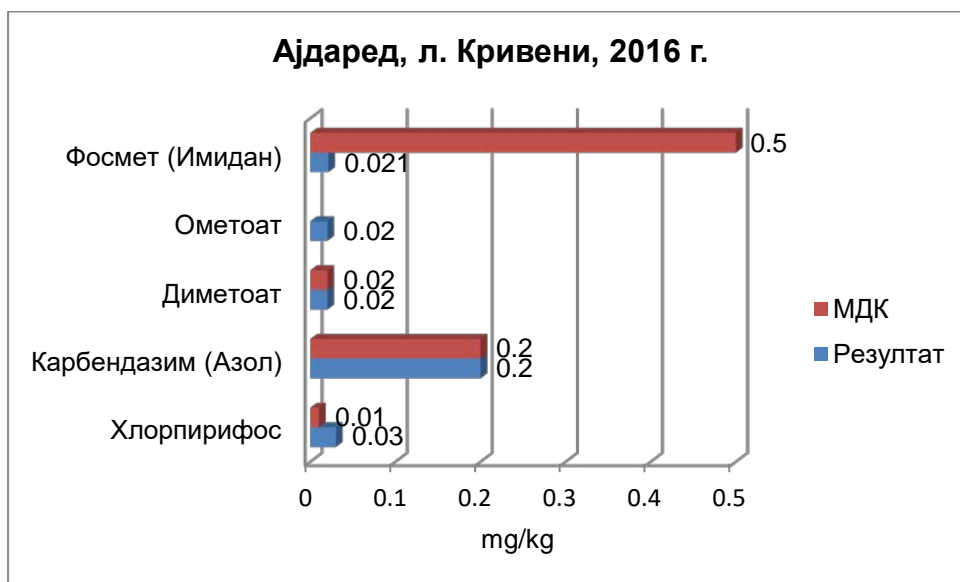
Figure 53. Comparison of the concentration of residues in Idared from the location of Evla with the MRL (2016)

Од добиените резултати се забележува дека двата пестициди фосмет (имидан) и карбендазим (азол) се застапени со концентрација која е дозволена, односно, концентрацијата на инсектицидот фосмет (имидан) изнесува 0,029 mg/kg и таа е 17 пати помала од МДК. Додека, концентрацијата на фунгицидот карбендазим (азол) изнесува 0,1 mg/kg и таа е за 2 пати помала од

дозволената. Од добиените резултати може да се заклучи дека јабољката ајдаред од локацијата Евла се безбедни за јадење бидејќи детектираните резидуи од пестициди се застапени со дозволена концентрација. Добиените резултати се слични со резултатите од авторот Radisic и соработниците (2009) кои што анализирале карбендазим во овошни сокови од јабољко, праска, портокал и малина со примена на течна хроматографија со тандем масена спектрометрија.

### 6.5.2 Ајдаред од л. Кривени и споредба со МДК, 2016

Максимално дозволените концентрации на пестицидите и концентрацијата на резидуите во јабољката ајдаред од локацијата Кривени се дадени на слика 54.



Слика 54. Споредба на концентрацијата на резидуи во ајдаред од локацијата Кривени со МДК (2016)

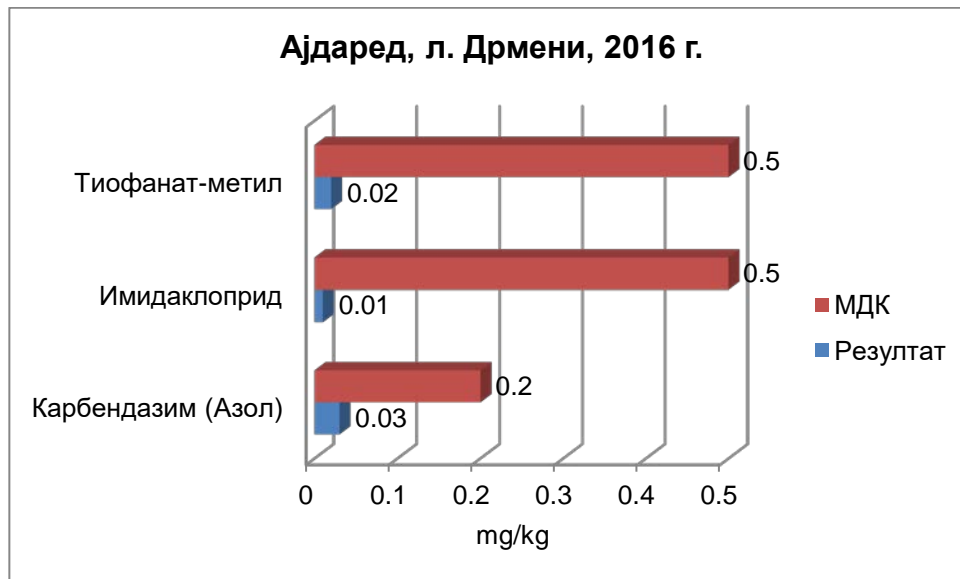
Figure 54. Comparison of the concentration of residues in Idared from the location of Kriveni with MRL (2016)

Од претставените резултати, може да се забележи дека во јабољката ајдаред од локација Кривени се застапени три инсектициди и еден фунгицид. Фунгицидот карбендазим (азол) е застапен со 0,2 mg/kg и оваа концентрација е еднаква на максимално дозволената концентрација (МДК). Добиениот резултат е сличен со резултатот што го добиле Morales и соработниците (2011) при анализа на пестициди во зеленчук со LC-ESI-MS и екстракција на резидуите со QuEChERS метод. Но, инсектицидот хлорпирифос е присутен со 0,03 mg/kg, а максимално дозволената концентрација е 0,01 mg/kg. Тоа значи дека тој се

наоѓа три пати повеќе во јаболката во споредба со МДК. Резултат за повисока концентрација од дозволената за хлорпирифос добиле и Dasika и соработниците (2012) правејќи анализа на овошје и зеленчук со примена на LC-MS/MS и екстракција на резидуите со QuEChERS метод. Повисока концентрација за хлорпирифос била забележана кај двете сорти на јаболка грени смит и голд дел. Концентрацијата на инсектицидот диметоат (0,02 mg/kg) присутен во јаболката е еднаква на неговата МДК пропишана во Правилникот. Сличен резултат на нашиот добиле и авторот Tsoutsis и соработниците (2008) при анализа на диметоат во грчко маслиново масло, кој бил детектиран во 10,2 % од примероците со концентрација од 0,003-0,0057 mg/kg. Ометоат е застапен со 0,02 mg/kg концентрација, но за него нема пропишано МДК. Фосмет (имидан) е застапен со 23 пати помала концентрација од МДК. Може да се заклучи дека јаболката ајдаред од локација Кривени, во однос на пестицидите, ометоат и хлорпирифос, не се безбедни за јадење.

### 6.5.3 Ајдаред од л. Дрмени и споредба со МДК, 2016

Резултатите од анализата за резидуи во јаболката ајдаред од локацијата Дрмени и споредбата со МДК се прикажани на слика 55.



Слика 55. Споредба на концентрација на резидуи во ајдаред од локацијата Дрмени со МДК (2016)

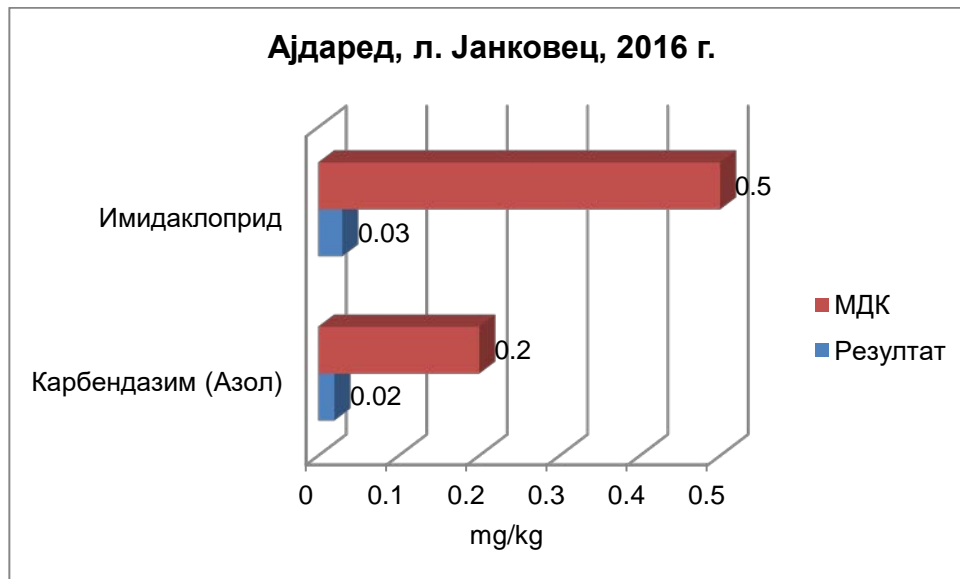
Figure 55. Comparison of the concentration of residues in Idared from the location of Drmeni with the MRL (2016)

Од добиените резултати на слика 55 се забележува присуство на еден инсектицид (имидаклоприд) и два фунгицида (карбендазим и тиофанат-метил).

Тиофанат-метил е застапен со 0,02 mg/kg, а дозволената концентрација за него е 0,5 mg/kg што значи дека е застапен во дозволените граници. Истото може да се забележи и кај останатите пестициди, односно, карбендазим (азол) е присутен со 0,03 mg/kg, а неговата МДК е 0,2 mg/kg. Тоа значи дека и овој фунгицид е во граници на максимално дозволена концентрација. Концентрацијата на имидаклоприд изнесува 0,01 mg/kg и таа е за 50 пати помала од МДК. Добиените резултати за имидаклоприд и карбендазим се слични со резултатите од Carneiro и соработниците (2013) кои анализирале 128 пестициди во различни примероци на банани со UPLC/MS-MS и QuEChERS и добиле концентрации помали од МДК. Според добиените резултати може да заклучиме дека јаболката Ајдаред од локацијата Дрмени во однос на застапените пестициди тиофанат-метил, имидаклоприд и карбендазим (азол), се безбедни за јадење.

#### 6.5.4 Ајдаред од л. Јанковец и споредба со МДК, 2016

Резултатите од застапени резидуи од пестициди во јаболката Ајдаред од Јанковец и нивна споредба со максимално дозволени концентрации се прикажани на слика 56.



Слика 56. Споредба на концентрацијата на резидуи во ајдаред од локацијата Јанковец со МДК (2016)

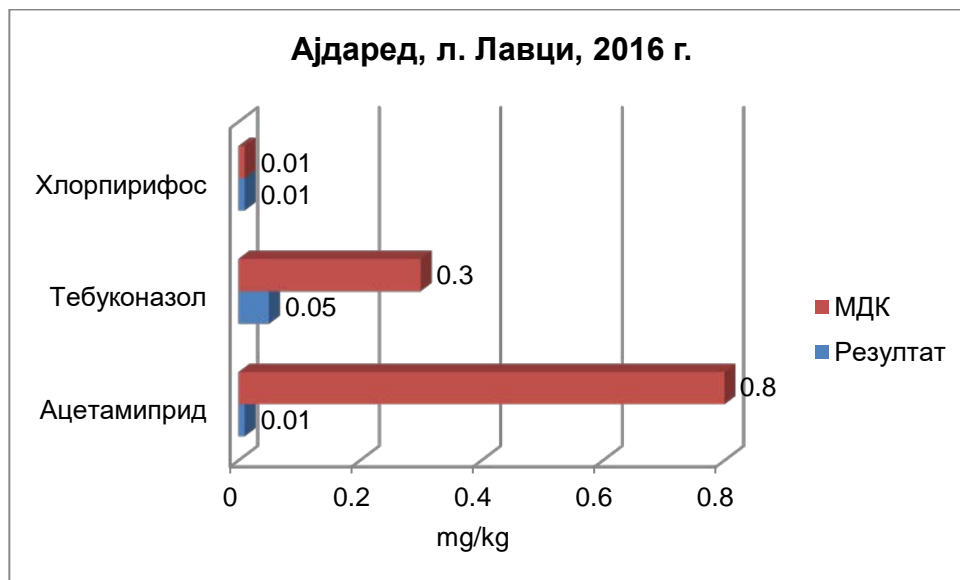
Figure 56. Comparison of the concentration of residues in Idared from the location of Jankovec with the MRL (2016)

Од прикажаните резултати на слика 56 може да се констатира присуство на инсектицидот имидаклоприд и фунгицидот карбендазим (азол) во јаболката

ајдаред во Јанковец. Концентрацијата на имидаклоприд во јабољката изнесува 0,03 mg/kg и таа е за 16,6 пати помала од максимално дозволената (0,5 mg/kg). Нашите резултати можеме да ги поврземе со резултатите кои ги добиле авторот Galeano и соработниците (2013), анализирајќи имидаклоприд во мед со UPLC/MS-MS и екстракција со QuEChERS при што добиле ниска концентрација за пестицидот. Концентрацијата на карбендазим (азол) е 0,02 mg/kg што е за 10 пати помала од МДК (0,2 mg/kg). Добиените резултати покажуваат дека јабољката ајдаред од локацијата Јанковец се безбедни за јадење.

### 6.5.5 Ајдаред од л. Лавци и споредба со МДК, 2016

Концентрацијата на пестицидите застапени во јабољката ајдаред од локацијата Лавци и нивната МДК се прикажани на слика 57.



Слика 57. Споредба на концентрацијата на резидуи во ајдаред од локација Лавци со МДК (2016)

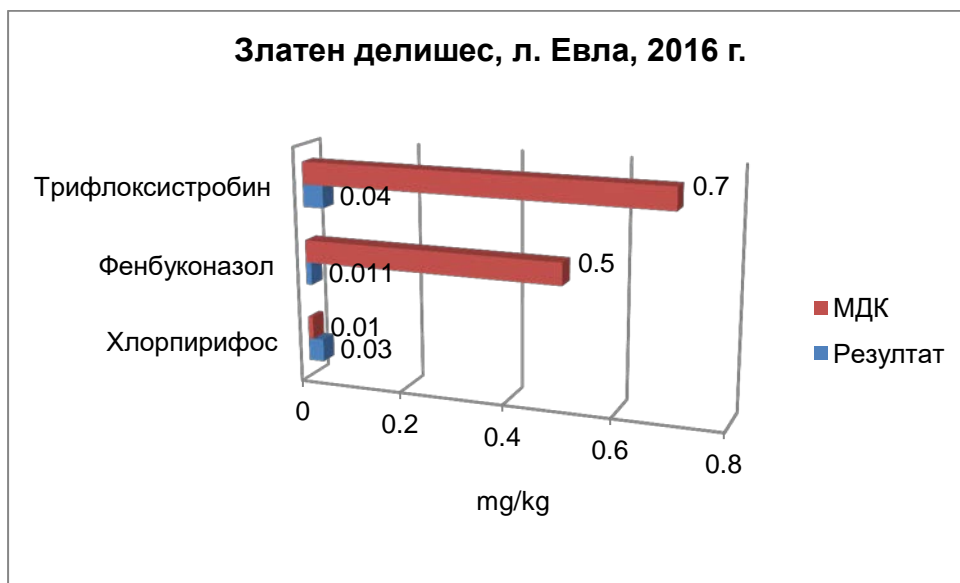
Figure 57. Comparison of the concentration of residues in Idared from the location of Lavci with the MRL (2016)

Од прикажаните резултати се забележува дека во испитуваните јабољка се детектирани два инсектициди и еден фунгицид. Фунгицидот тебуконазол е застапен со 0,05 mg/kg а неговата МДК е 0,3 g/kg што покажува дека неговата концентрација е 6 пати помала од МДК. Ниска концентрација за тебуконазол добиле и авторот Sivaregumal и соработниците (2015) кои што анализирале пестициди во овошје и зеленчук со UPLC-TOF/MS. Додека, концентрацијата на инсектицидот хлорпирифос е на граница со МДК (0,01 mg/kg). Концентрацијата на ацетамиприд е за 80 пати помала од МДК (0,8 mg/kg). Слични резултати за

ацетамиприд добиле и авторот Galeano и соработниците (2013) анализирајќи неникотинеиди во мед со UPLC/MS-MS. Од добиените резултати може да се заклучи дека јаболката ајдаред од локацијата Лавци, во однос на пестицидите ацетамиприд, тебуконазол и хлорпирифос се безбедни за јадење.

### 6.5.6 Златен делишес од л. Евла и споредба со МДК, 2016

На слика 58 се претставени добиените резултати од анализата на јаболката златен делишес од Евла кои се однесуваат на резидуи од пестициди и нивната максимално дозволена концентрација.



Слика 58. Споредба на концентрацијата на резидуи во златен делишес од локацијата Евла со МДК (2016)

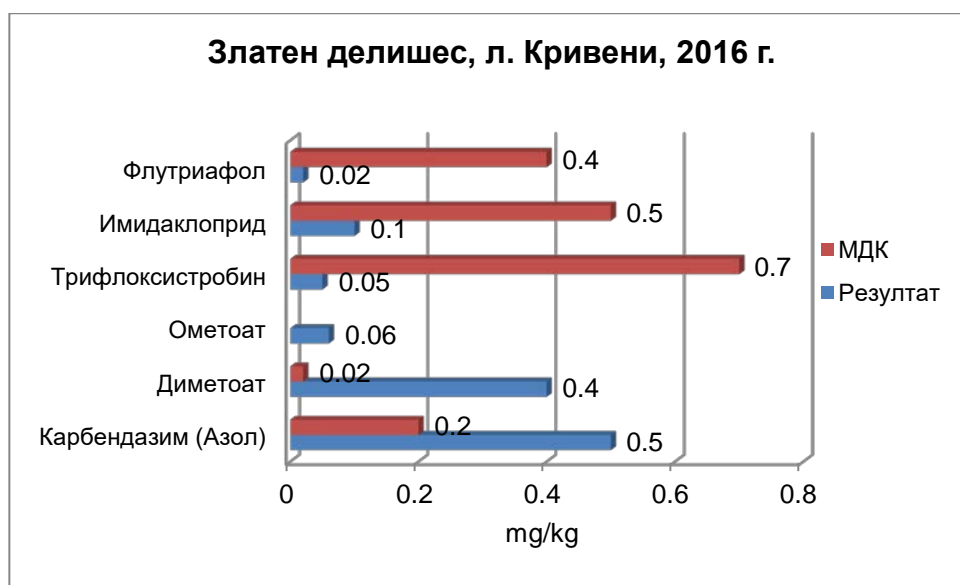
Figure 58. Comparison of the concentration of residues in Goden delicious from the location of Evla with MRL (2016)

Од добиените резултати може да се забележи дека концентрацијата на фунгицидот трифлуксистрибин е 0,04 mg/kg додека неговата максимално дозволена концентрација е 0,7 mg/kg. Концентрацијата на трифлуксистрибин е за 17,5 пати помала од МДК. Тоа значи дека овој пестицид е застапен во дозволени концентрации. Авторите Giza & Sztwiertnia, (2003) анализирале трифлуксистрибин во јаболка и добиле концентрација од 0,01 mg/kg која е под МДК и нивните резултати се слични со добиените резултати од ова истражување. Додека, фунгицидот фенбуконазол е застапен со концентрација од 0,011 mg/kg и таа е за 4,5 пати помала од МДК (0,05 mg/kg). Слични резултати добиле и авторот Schermerhorn и соработниците (2005). Инсектицидот хлорпирифос е застапен со повисока концентрација (0,03 mg/kg)

од МДК (0,01 mg/kg) и тоа за 3 пати. Сличен резултат добиле и Sadlo и соработниците (2007) при анализа на резидуи од пестициди во различни видови на овошје и зеленчук вклучувајќи и јаболка. Според добиените резултати може да се потенцира дека јаболката од сортата златен делишес од локацијата Евла, во однос на инсектицидот хлорпирифос не се безбедни за јадење.

### 6.5.7 Златен делишес од л. Кривени и споредба со МДК, 2016

На слика 59 се претставени концентрациите на застапените пестициди во јаболка златен делишес од локацијата Кривени и нивната максимално дозволена концентрација.



Слика 59. Споредба на концентрацијата на резидуи во златен делишес од локација Кривени со МДК (2016)

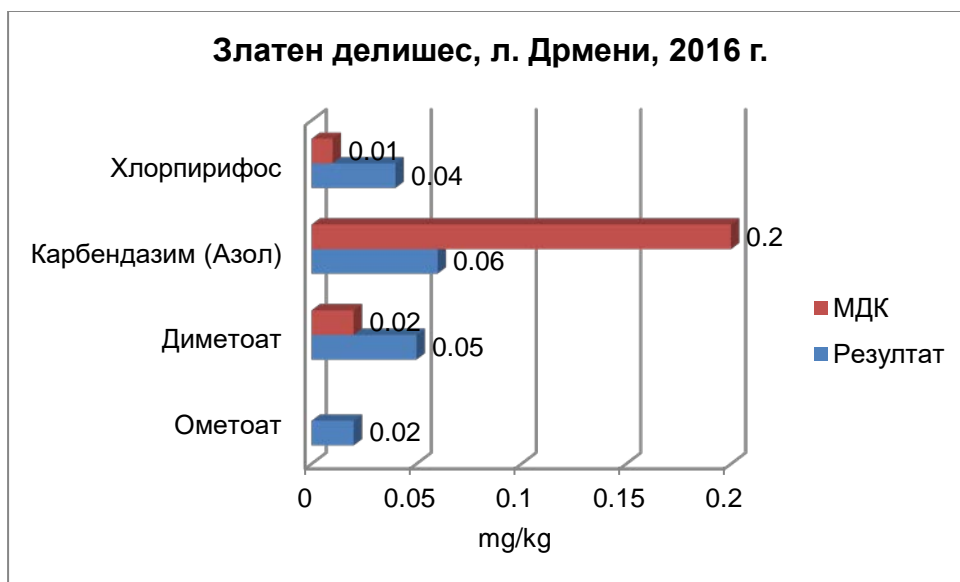
Figure 59. Comparison of the concentration of residues in Golden delicious from the location of Kriveni with the MRL (2016)

Од претставените резултати може да се забележи дека фунгицидите флутриафол и трифлуксиробин се застапени со концентрација која е во граници на максимално дозволена. Со тоа што, концентрацијата на флутриафол е 0,02 mg/kg и е за 20 пати помала од МДК додека концентрацијата на трифлуксиробин е 0,05 mg/kg и е за 14 пати помала од МДК. Концентрација помала од МДК за флутриафол добиле и Bursic и соработниците (2013) при анализа на овошје и зеленчук со гасна хроматографија и квадрупол масен детектор (GC-MS/MS). За фунгицидот карбендазим (азол) состојбата е поразлична. Тука, неговата концентрација е

над дозволената и тоа за 2,5 пати. Авторот Carneiro и соработниците (2013) детектирале карбендазим во банани. Кај инсектицидите, само имидаклоприд е застапен со концентрација помала од МДК односно со 0,1 mg/kg и таа е помала за 5 пати од МДК. Додека, диметоат е присутен со концентрација 0,4 mg/kg и таа е за 20 пати поголема од МДК. Најкарактеристично е тоа што е детектиран инсектицид ометоат со концентрација 0,06 mg/kg но за него нема пропишано МДК. Јаболката златен делишес од локацијата Кривени, во однос на пестицидите, ометоат, диметоат и карбендазим (азол) не се безбедни за јадење.

### 6.5.8 Златен делишес од л. Дрмени и споредба со МДК, 2016

Во јаболката златен делишес од локацијата Дрмени се застапени три инсектициди и еден фунгицид. Концентрацијата со која се присутни и нивната МДК е дадена на слика 60.



Слика 60. Споредба на концентрацијата на резидуи во златен делишес од локацијата Дрмени со МДК (2016)

Figure 60. Comparison of the concentration of residues in Golden delicious from the location of Drmeni with the MRL (2016)

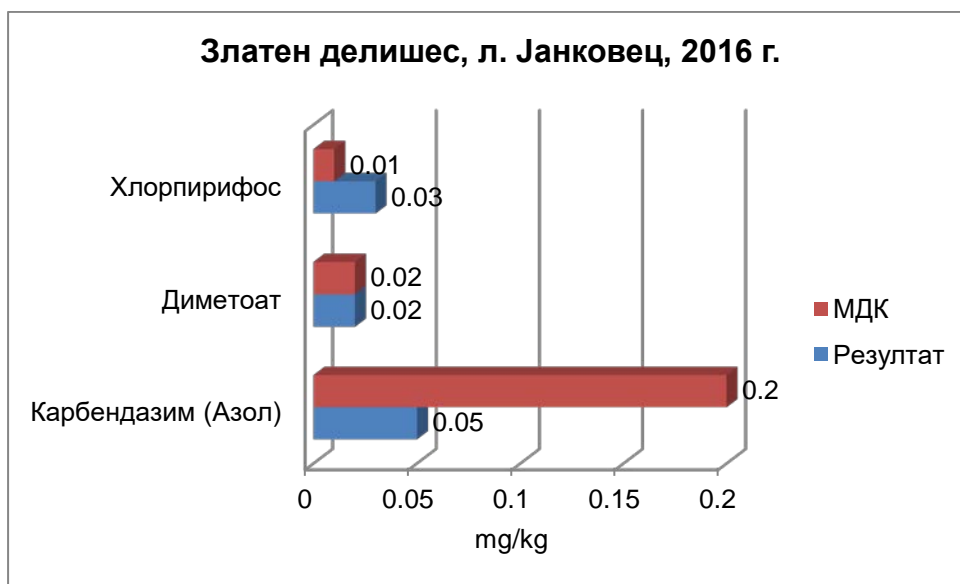
Од резултатите може да се забележи дека единствениот детектиран фунгицид карбендазим (азол) се наоѓа со 0,06 mg/kg и таа концентрација е 3,3 пати помала од МДК. Инсектицидите хлорпирифос, диметоат и ометоат се застапени со концентрација која е повисока од максимално дозволената. Концентрацијата на хлорпирифос е 0,04 mg/kg, а неговата МДК е 0,01 mg/kg и тој е застапен со 4 пати повисока концентрација од МДК. Слични резултати



добиле и авторот Kong и неговите соработници (2012) кои што детектирале хлорпирифос во јаболка и сок од јаболко со UPLC-MS/MS и GC-ECD. Диметоат е застапен со 0,05 mg/kg а неговата МДК е 0,02 mg/kg што значи дека тој е за 2,5 пати повеќе застапен од МДК. Во Правилникот за максимално дозволени концентрации не е дадена концентрација за ометоат. Но, во јаболката златен делишес од оваа локација е детектиран со концентрација од 0,02 mg/kg. Како резултат на погоре споменатото може да се заклучи дека јаболката златен делишес од локација Дрмени, во однос на инсектицидите хлорпирифос, диметоат и ометоат не се безбедни за јадење.

### 6.5.9 Златен делишес од л. Јанковец и споредба со МДК, 2016

Резултатите за застапените резидуи од пестициди во јаболка златен делишес одгледувани на локација Јанковец и споредбата со МДК се прикажани на слика 61.



Слика 61. Споредба на концентрацијата на резидуи во златен делишес од локацијата Јанковец со МДК (2016)

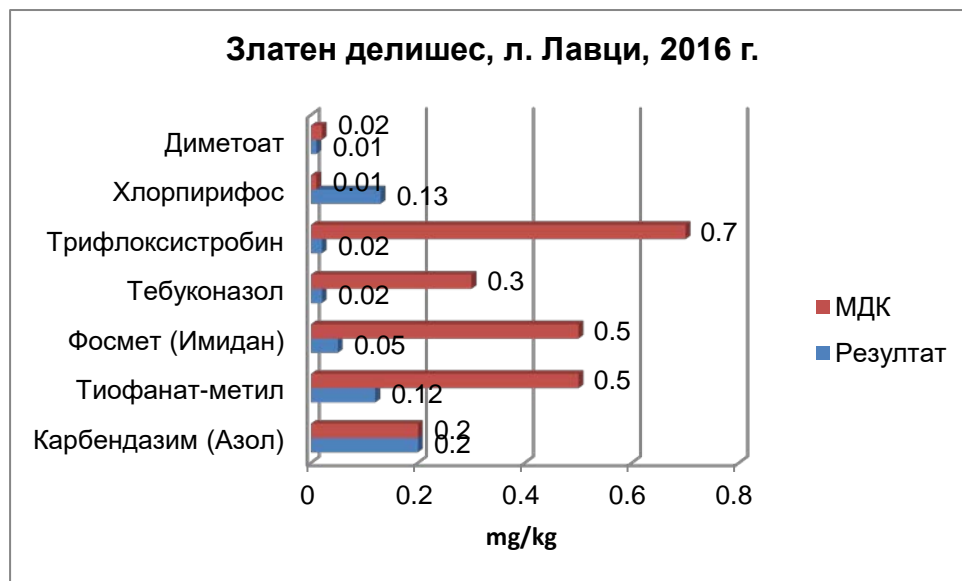
Figure 61. Comparison of the concentration of residues in Goden delicious from the location of Jankovec with the MRL (2016)

Како што се гледа од прикажаните резултати, во јаболката се детектирани два инсектицида и еден фунгицид. Инсектицидот хлорпирифос е застапен со концентрација од 0,03 mg/kg, а неговата МДК е 0,01 mg/kg. Може да се заклучи дека овој инсектицид е застапен со 3 пати повисока концентрација од МДК. Dasika и соработниците (2012) добиле повисока концентрација од МДК за хлорпирифос во јаболка анализирајќи ги со течна

хроматографија. Додека, концентрацијата на инсектицидот диметоат (0,02 mg/kg) е на граница со МДК (0,02 mg/kg). Фунгицидот карбендазим (азол) е застапен со 4 пати помала концентрација од МДК (0,2 mg/kg). Од добиените резултати може да се заклучи дека јабољката златен делишес од Јанковец, во однос на инсектицидот хлорпирифос не се безбедни за јадење.

#### 6.5.10 Златен делишес од л. Лавци и споредба со МДК 2016

Концентрацијата на остатоците од пестициди во јабољката златен делишес од Лавци и споредбата со максимално дозволените концентрации се прикажани на слика 62.



Слика 62. Споредба на концентрацијата на резидуи во златен делишес од локацијата Лавци со МДК (2016)

Figure 62. Comparison of the concentration of residues in Golden delicious from the location of Lavci with the MRL (2016)

Во овие јабољка се детектирани резидуи од четири фунгициди и два инсектицида. Од добиените резултати може да се забележи дека само концентрацијата на инсектицидот хлорпирифос е над максимално дозволената, односно неговата концентрација изнесува 0,13 mg/kg а МДК е 0,01 mg/kg т.е. тој е за 13 пати повеќе застапен од дозволеното. Sadlo и соработниците (2007) анализирале резидуи од пестициди во јабољка и добиле концентрација од 1,01 mg/kg за хлорпирифос, што е повисока од МДК и добиените резултати од ова истражување се слични со нивните. Трифлуксистробин е 35 пати помалку застапен од МДК, додека тебуконазол е 15 пати помалку застапен од дозволеното. Liu и соработниците (2010) анализирале тебуконазол во јабољка

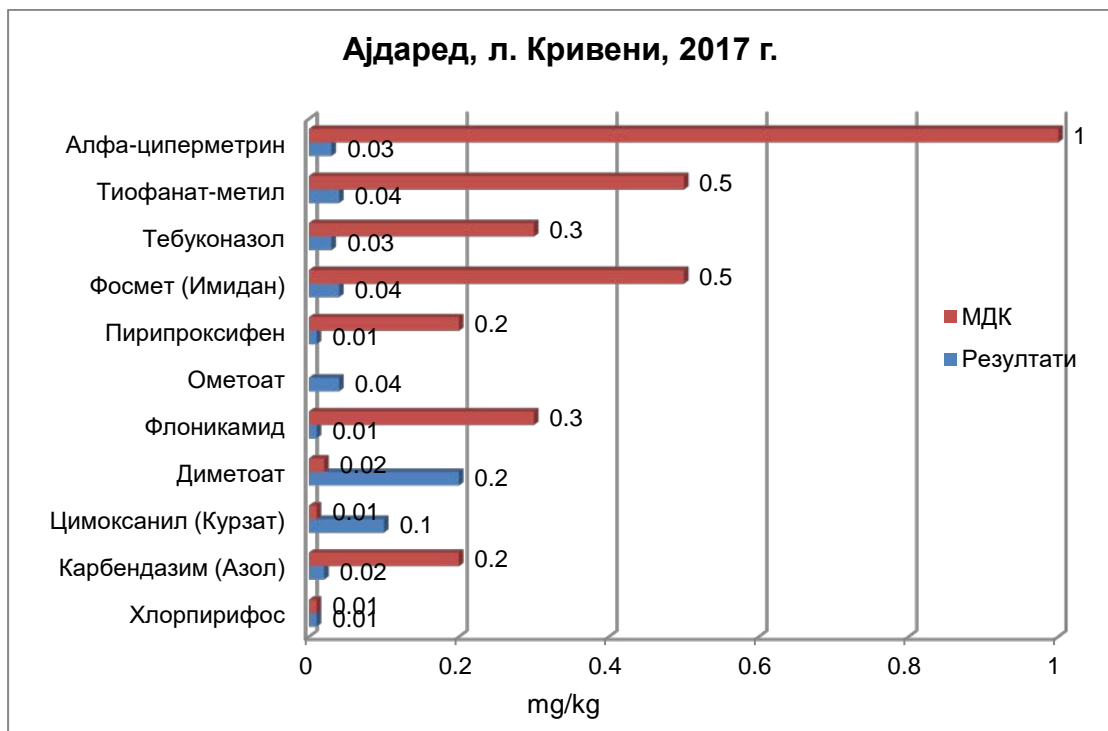
со гасна хроматографија со нитроген фосфор детектор при што го детектирале со приближна концентрација како и во ова истражување. Концентрацијата на фосмет (имидан) е 10 пати помала од МДК, а тиофанат-метил е за 4 пати помалку застапен од МДК. Концентрацијата на диметоат во анализираните јаболка изнесува 0,01 mg/kg и е за 2 пати помала од МДК. Само концентрацијата на карбендазим (азол) е на граница на МДК (0,2 mg/kg). Од добиените резултати може да се заклучи дека јаболката златен делишес од Лавци, во однос на инсектицидот хлорпирифос, не се безбедни за јадење.

## 6.6 Споредба на концентрацијата на резидуи од пестициди во јаболката со МДК, 2017 година

Резултатите претставени во овој дел се однесуваат на анализираните јаболка ајдаред и златен делишес од локациите: Евла и Кривени во нивната четврта фаза (готов производ). Добиената концентрација на застапените пестициди ќе се спореди со нивната МДК пропишана со правилник. Освен за јаболката од Евла и Кривени, ќе се направи споредба и за двете сорти на јаболката од локациите: Дрмени, Јанковец и Лавци.

### 6.6.1 Ајдаред од л. Кривени и споредба со МДК, 2017

На сликата 63 се претставени концентрациите на остатоците од пестициди во јаболката од сортата ајдаред од л. Кривени и нивните МДК.



Слика 63. Споредба на концентрацијата на резидуи во ајдаред од локацијата Кривени со МДК (2017)

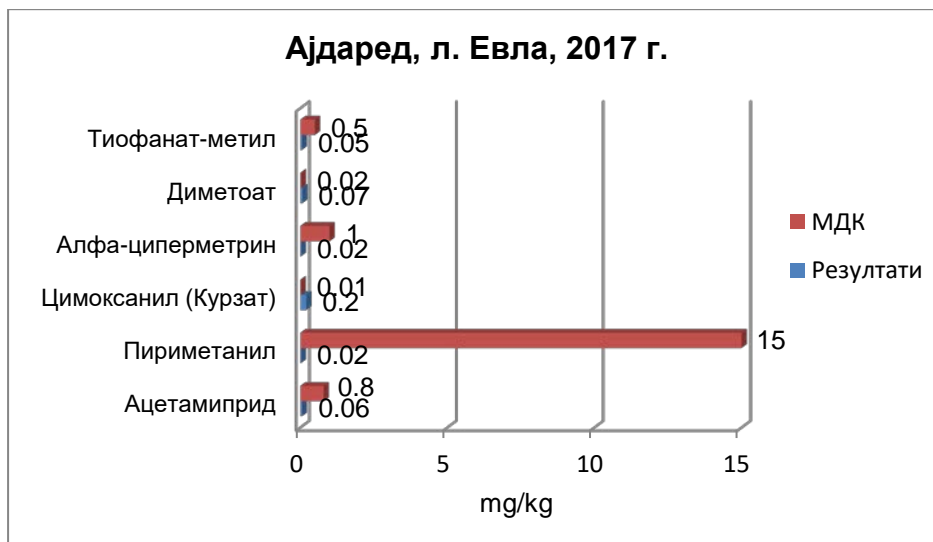
Figure 63. Comparison of the concentration of residues in Idared from the location of Kriveni with the MRL (2017)

Од резултатите може да се забележи дека во оваа сорта на јаболка концентрацијата на алфа-циперметрин изнесува 0,03 mg/kg и таа е за 33 пати помала од МДК, а за приближно толку помалку е застапен и флоникамид.

Концентрацијата на тиофанат-метил и фосмет (имидан) е за 12,5 пати помала од нивните МДК. Тебуконазол е застапен со 0,03 mg/kg, а неговата МДК е 0,3 mg/kg тоа би значело за 10 пати помала концентрација од МДК, додека концентрацијата на пирипроксифен за 20 пати е помала од МДК (0,2 mg/kg). Концентрацијата на ометоат е 0,04 mg/kg, но за него нема пропишано максимално дозволена концентрација. Концентрацијата на диметоат е 0,2 mg/kg, а неговата МДК е 0,02 mg/kg што значи дека тој е застапен со 10 пати повисока концентрација од дозволената. Повисока концентрација од максимално дозволената добиле авторот Tsoutsis и неговите соработници (2008) година при анализа на маслиново масло. Диметоат бил детектиран со концентрација која ја надминува МДК. Цимоксанил (курзат) е застапен со 0,1 mg/kg, а негова МДК е 0,01 mg/kg што укажува на 10 пати повисока концентрација од дозволената. Концентрацијата на хлорпирифос изнесува 0,01 mg/kg и таа е еднаква на МДК. Во јаболката ајдаред од Кривени со повисока концентрација од МДК се застапени пестицидите: ометоат, диметоат и цимоксанил (курзат) и според тоа овие јаболка не се безбедни за јадење.

#### 6.6.2 Ајдаред од л. Евла и споредба со МДК, 2017

Во јаболката ајдаред од локацијата Евла се детектирани пет пестицида и нивната концентрација споредена со МДК е претставена на слика 64.



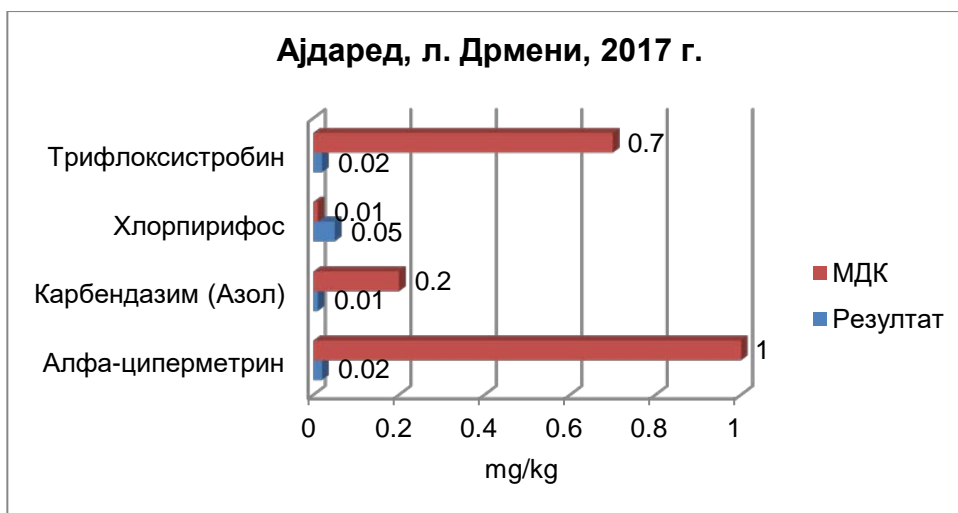
Слика 64. Споредба на концентрацијата на резидуи во ајдаред од локацијата Евла со МДК (2017)

Figure 64. Comparison of the concentration of residues in Idared from the location of Evla with the MRL (2017)

Од податоците претставени во графиконот може да се забележи дека само концентрацијата на цимоксанил (курзат) е над дозволената граница, односно, концентрацијата на овој фунгицид во јаболката ајдаред е 0,2 mg/kg и таа е за 20 пати повисока од дозволената. Концентрацијата на пириметанил е 0,02 mg/kg и таа е за многу помала од неговата дозволена концентрација. Резултатите добиени од ова истражување, што се однесуваат на пириметанил може да ги споредиме со резултатите што ги добиле авторот Zhou и соработниците (2010) кои го детектирале овој фунгицид со концентрација од 1,6 µg/kg и таа концентрација е помала од МДК. Во овој примерок го детектиравме и ацетамиприд кој е застапен со концентрација од 0,06 mg/kg, додека авторот Jovanov и соработниците (2014) анализирајќи го овој инсектицид во пчелини производи не детектирале негово присуство. Концентрацијата на тиофанат-метил во јаболката е 0,05 mg/kg додека за алфа-циперметрин е 0,02 и таа е многу пати помала од МДК (1 mg/kg). Во овие примероци е детектиран и диметоат со висока концентрација (0,07 mg/kg) која е над МДК и тоа за 3,5 пати. Според добиените резултати од анализата на јаболката ајдаред од локацијата Евла може да се каже дека јаболката не се безбедни за јадење бидејќи содржат цимоксанил (курзат) и диметоат со повисока концентрација од МДК.

### **6.6.3 Ајдаред од л. Дрмени и споредба со МДК**

Концентрацијата на остатоците од пестициди во јаболката ајдаред од локацијата Дрмени и нивната максимално дозволена концентрација се претставени на слика 65.



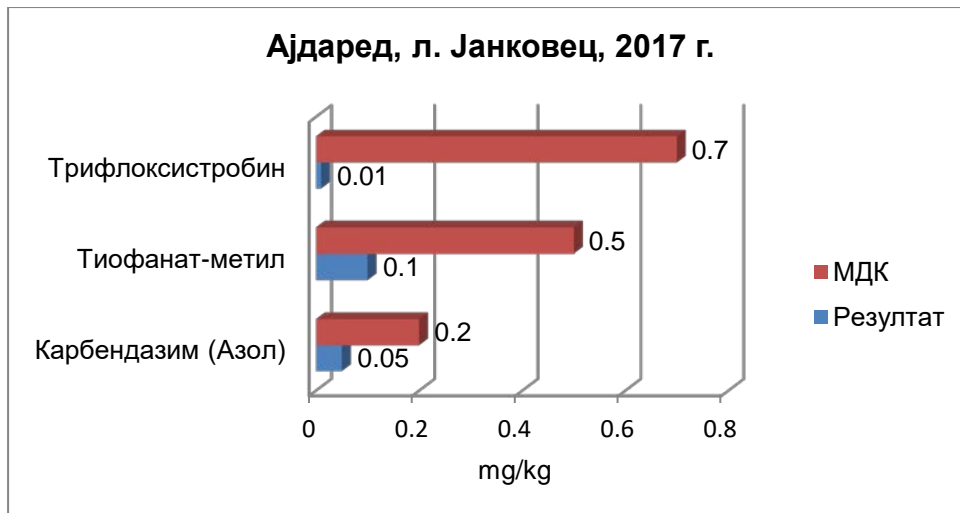
Слика 65. Споредба на концентрацијата на резидуи во ајдаред од локацијата Дрмени со МДК (2017)

Figure 65. Comparison of the concentration of residues in Idared from the location of Drmeni with the MRL (2017)

Од обработените резултати, претставени на слика 65 може да се забележи дека во јабољката ајдаред од локацијата Дрмени инсектицидот хлорпирифос е застапен со 0,05 mg/kg додека неговата МДК е 0,01 mg/kg. После направената споредба може да се заклучи дека тој е за 5 пати повеќе застапен од МДК. Според Šovljanski и соработниците (2004) хлорпирифос претставува инсектицид со најризично дејство (врз здравјето на луѓето) кој се применува во овоштарството, а ние го детектиравме со повисока концентрација. Авторот Štěpán и соработниците (2005) анализирале пестициди во свежи јабољка од сортата ајдаред и златен делишес и притоа утврдиле дека во 1,4 % од примероците се содржат пестициди кои имаат надмината МДК. Останатите пестициди во јабољката се застапени со помала МДК како што се трифлуксистеробин со 0,02 mg/kg, односно за 35 пати помала концентрација, карбендазим (азол) со 20 пати помала концентрација, а алфа-циперметрин е со 50 пати помала концентрација од МДК. Јабољката ајдаред од локацијата Дрмени содржат повисока концентрација на хлорпирифос од дозволената и тие не се безбедни за јадење.

#### 6.6.4 Ајдаред од л. Јанковец и споредба со МДК, 2017

Концентрацијата на пестицидите кои се застапени во јабољката ајдаред од локацијата Јанковец како и нивната максимално дозволена концентрација се дадени на слика 66.



Слика 66. Споредба на концентрацијата на резидуи во ајдаред од локацијата Јанковец со МДК (2017)

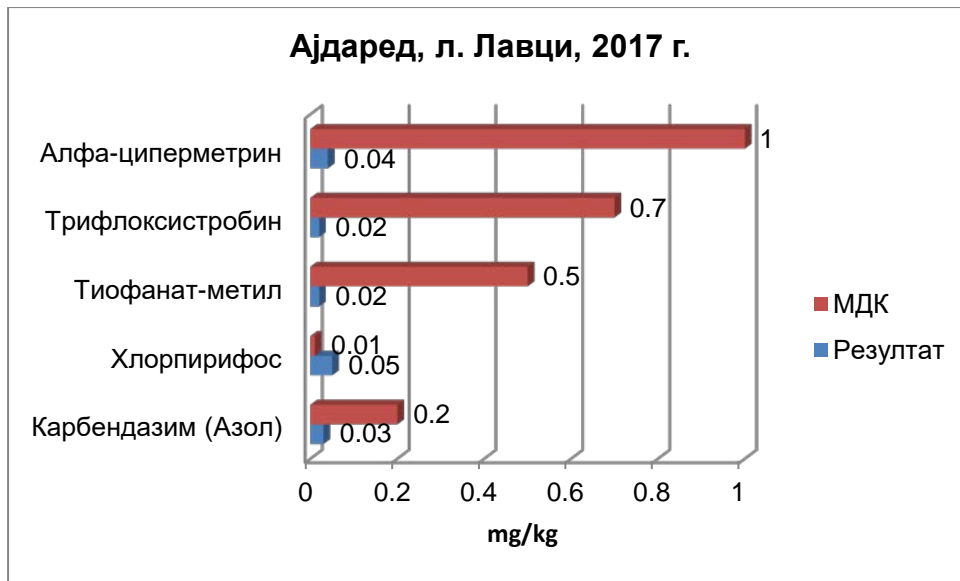
Figure 66. Comparison of the concentration of residues in Idared from the location of Jankovec with the MRL (2017)

Концентрацијата на фунгицидот карбендазим (азол) е застапен со 4 пати помала концентрација од МДК, тиофанат-метил со 5 пати помала од МДК, а трифлуксистеробин со 70 пати помала од МДК. Добиените резултати се слични со резултатите кои ги добиле Morales и соработниците (2011) детектирајќи ги пестицидите тиофанат-метил и карбендазим во пиперки со ниска концентрација. Во овие јаболка сите пестициди се наоѓаат во рамки на дозволените граници односно нивната концентрација е помала од МДК. Разгледувајќи ги резултатите заклучуваме дека во однос на застапените пестициди трифлуксистеробин, тиофанат-метил и карбендазим јаболката ајдаред од локацијата Јанковец се безбедни за јадење.

#### 6.6.5 Ајдаред од л. Лавци и споредба со МДК, 2017

Концентрацијата на застапените пестициди во јаболката ајдаред од локацијата Лавци и нивните максимално дозволени концентрации се дадени на слика 67.





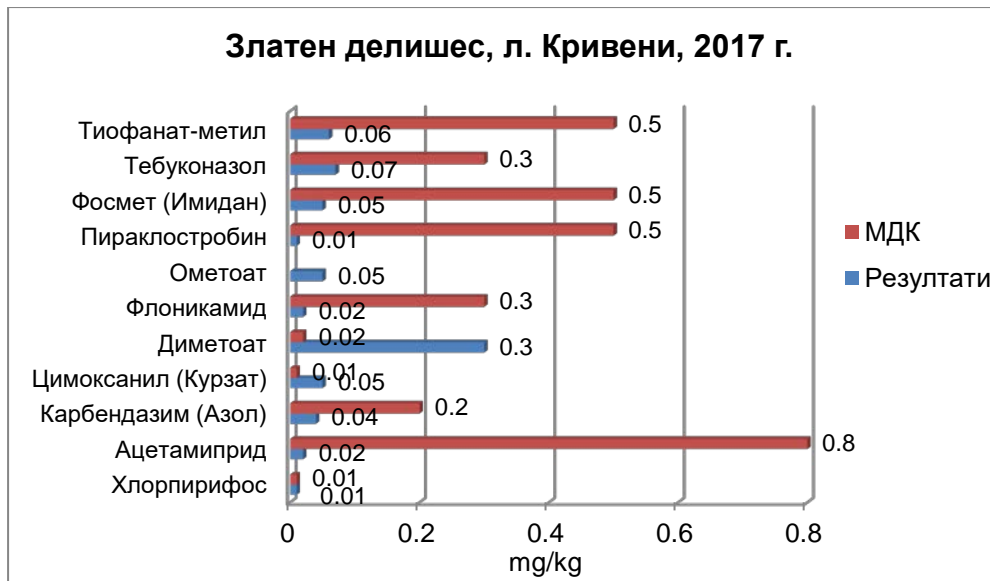
Слика 67. Споредба на концентрацијата на резидуи во ајдаред од локацијата Лавци со МДК (2017)

Figure 67. Comparison of the concentration of residues in Idared from the location of Lavci with the MRL (2017)

Од слика 67 се забележува дека трифлуксистробин и карбендазим (азол) се застапени со помала концентрација од максимално дозволената и тоа за 35 пати и 6,6 пати. Додека концентрацијата на алфа-циперметрин и тиофанат-метил е за 25 пати помала од нивната максимално дозволена. Карбендазим (азол) е застапен со 0,03 mg/kg и неговата концентрација е помала од дозволената. Добиените резултати се слични на резултатите кои ги добиле Navarro и соработниците (2002) при анализа на пестициди во овошје (вклучувајќи и јаболка) и зеленчук и утврдиле дека концентрациите на пестицидите се под МДК, додека, инсектицидот хлорпирифос е застапен со поголема концентрација од МДК, односно неговата концентрација е 0,05 mg/kg а МДК е 0,01 mg/kg т.е. тој е пет пати повеќе застапен од максимално дозволеното. Слични резултати се добиени и од страна на авторот Sadlo и соработниците (2007) при анализа на свежо овошје и зеленчук. Резултатите покажуваат дека јаболката ајдаред од Лавци во однос на инсектицидот хлорпирифос не се безбедни за јадење.

#### 6.6.6 Златен делишес од л. Кривени и споредба со МДК, 2017

Резултатите од анализата на резидуи од пестициди во јаболката златен делишес од Кривени и нивната максимално дозволена концентрација (МДК) се претставени на слика 68.



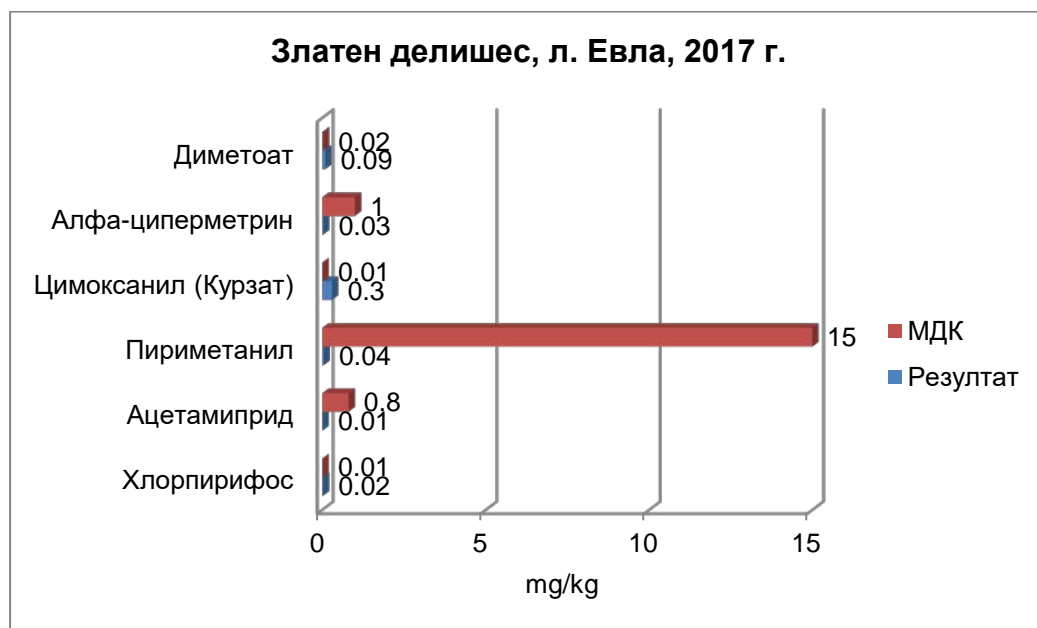
Слика 68. Споредба на концентрацијата на резидуи во златен делишес од локацијата Кривени со МДК (2017)  
 Figure 68. Comparison of the concentration of residues in Golden delicious from the location of Kriveni with the MRL (2017)

Од обработените резултати и претставени на слика 68 се забележува дека концентрацијата на пестицидот тиофанат-метил изнесува 0,06 mg/kg и е помала од МДК. Со помала концентрација од МДК е застапен и фунгицидот тебуконазол и тоа за 4 пати. Фосмет (имидан) и пираклостробин се застапени за 10 и 50 пати помалку во однос на МДК, додека флоникамид е застапен со 0,02 mg/kg и тој се наоѓа во рамки на дозволената граница. Се забележува дека концентрацијата на цимоксанил (курзат) ја надминува максимално дозволената граница и тоа за пет пати, односно неговата концентрација изнесува 0,05 mg/kg. Во јаболката е детектиран и ометоат и тоа со концентрација од 0,05 mg/kg но за него нема пропишано вредност за максимално дозволена концентрација. Концентрацијата на диметоат изнесува 0,3 mg/kg, а МДК е 0,02 mg/kg, тоа значи дека тој е застапен со 15 пати повисока концентрација од МДК. Инсектицидот хлорпирифос е застапен со концентрација од 0,01 mg/kg и таа е еднаква со максимално дозволената концентрација. Додека, пестицидот ацетамиприд е застапен со 40 пати помала концентрација од МДК. Добиените резултати можеме да ги поврземе со резултатите на Walorczyk & Drozdzyński (2011), кои при анализа на 140 пестициди во овошје и зеленчук со GC-MS/MS детектирале резидуи од пестициди вклучувајќи ги и погоре споменатите пестициди. Во однос на детектираните пестициди и оние кои се наоѓаат во

поголема концентрација од МДК, а тоа се цимоксанил (курзат), ометоат, диметоат може да се заклучи дека јаболката златен делишес од локацијата Кривени не се безбедни за јадење.

### 6.6.7 Златен делишес од л. Евла и споредба со МДК, 2017

Максимално дозволената концентрација и концентрацијата на пестицидите застапени во јаболката златен делишес од локацијата Евла се претставени на слика 69.



Слика 69. Споредба на концентрацијата на резидуи во златен делишес од локацијата Евла со МДК (2017)

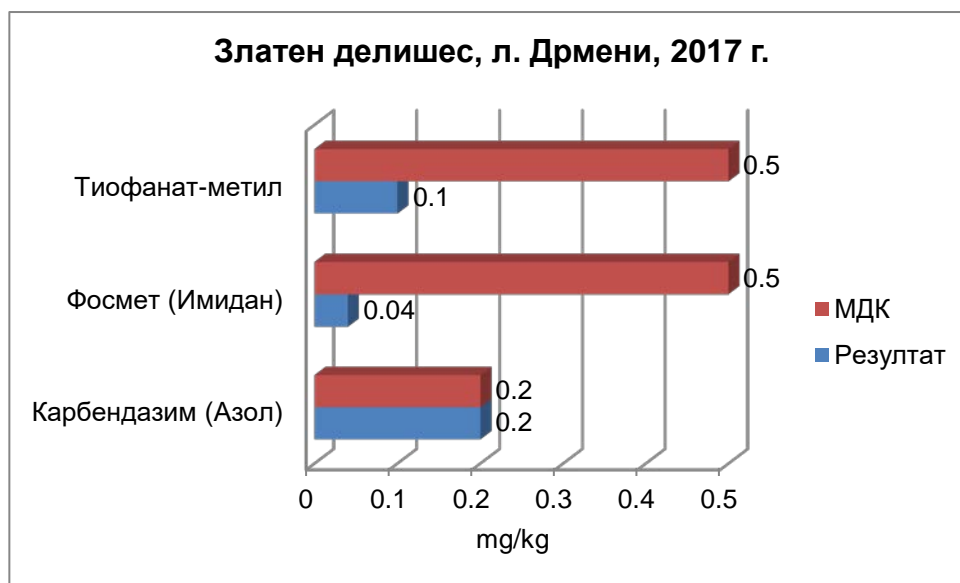
Figure 69. Comparison of the concentration of residues in Golden delicious from the location of Evla with the MRL (2017)

Во јаболката златен делишес од Евла е детектиран цимоксанил (курзат) и неговата концентрација изнесува 0,3 mg/kg, додека максимално дозволената концентрација е 0,01 mg/kg. Тоа значи дека овој фунгицид се наоѓа со 30 пати повисока концентрација од МДК. Друг пестицид кој е присутен со повисока концентрација од МДК е хлорпирифос и тоа за два пати. Овој резултат може да се спореди со резултатите од истражувањето на Dasika и соработниците (2012) кои при анализа на неколку сорти на јаболка добиле повисока концентрација за хлорпирифос. Ацетамиприд е застапен со 0,01 mg/kg, а неговата МДК е 0,8 mg/kg. Останатите пестициди како што се алфа-циперметрин и пириметанил се застапени со многу помала концентрација од МДК дури и до 375 пати (за пириметанил) слично како што добиле и авторот Radisic и соработниците

(2009) во нивното истражување. Анализата ни покажа дека во јаболката е застапен и диметоат и тоа со многу поголема концентрација (за 4,5 пати) од дозволената. Како заклучок може да се донесе дека во јаболката златен делишес од Евла со повисока концентрација се застапени диметоат, цимоксанил (курзат) и хлорпирифос и во однос на овие пестициди јаболката не се безбедни за јадење.

### 6.6.8 Златен делишес од л. Дрмени и споредба со МДК, 2017

Анализата на јаболката златен делишес од Дрмени ни покажа дека се детектирани резидуи од пестициди и нивната МДК е претставена на слика 70.



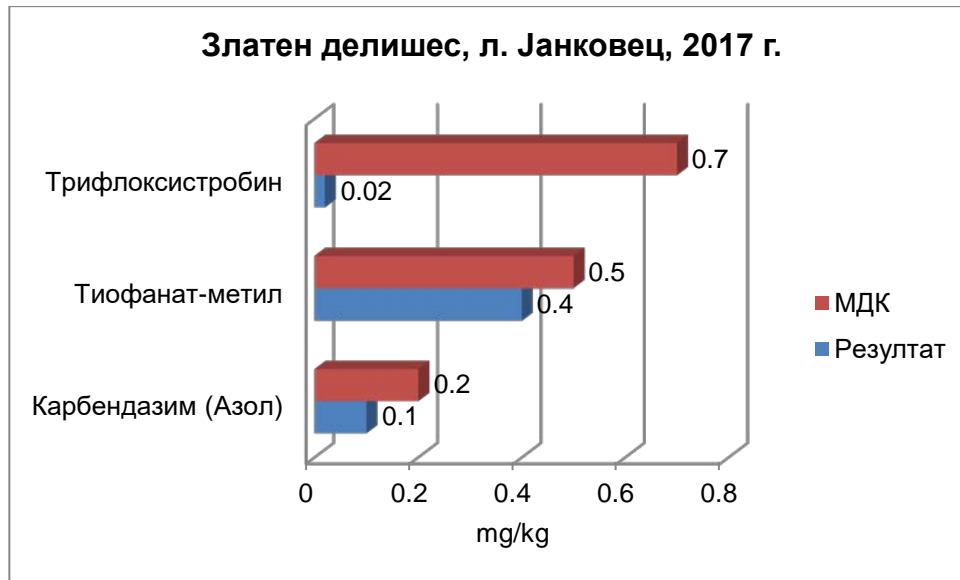
Слика 70. Споредба на концентрацијата на резидуи во златен делишес од локацијата Дрмени со МДК (2017)

Figure 70. Comparison of the concentration of residues in Golden delicious from the location of Drmeni with the MRL (2017)

Од резултатите се забележува дека фунгицидот карбендазим (азол) е застапен со концентрација која е еднаква на максимално дозволената и таа изнесува 0,02 mg/kg. Останатиот детектиран фунгицид тиофанат-метил е застапен со концентрација од 0,1 mg/kg и таа е за 5 пати помала од МДК. Додека инсектицидот фосмет (имидан) е застапен со 12,5 пати помала концентрација од МДК односно со 0,04 mg/kg. При анализа на 74 пестициди на овошје и зеленчук авторот Ortelli и неговите соработници (2004) детерминирале пестициди со ниска концентрација, слично како и во ова истражување. После направената споредба со МДК може да се заклучи дека јаболката златен делишес од локацијата Дрмени се безбедни за јадење.

### 6.6.9 Златен делишес од л. Јанковец и споредба со МДК, 2017

На слика 71 се претставени пестицидите кои се детектирани во јаболката златен делишес од локацијата Јанковец, концентрацијата со која се застапени како и нивната максимално дозволена концентрација пропишана во Правилникот.



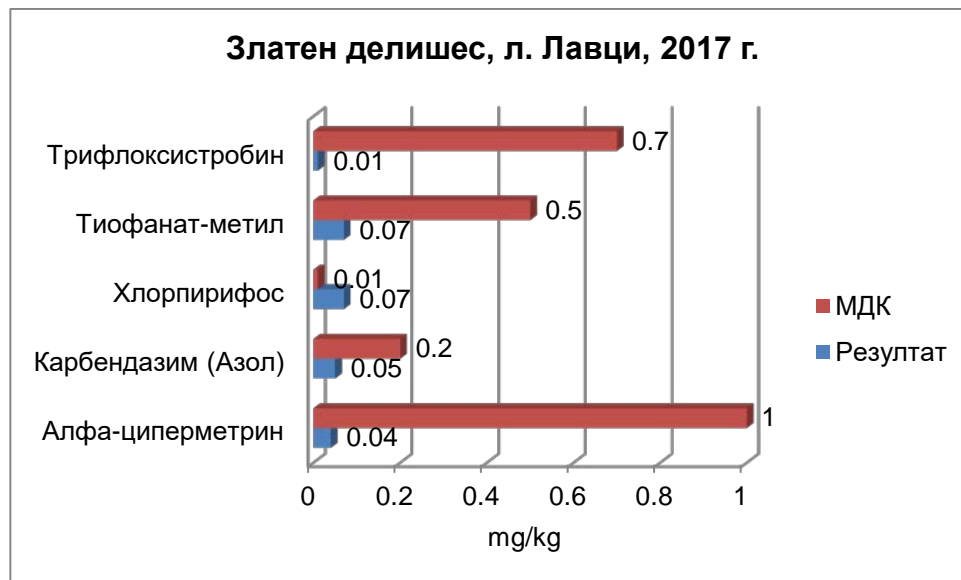
Слика 71. Споредба на концентрацијата на резидуи во златен делишес од локацијата Јанковец со МДК (2017)

Figure 71. Comparison of the concentration of residues in Golden delicious from the location of Jankovec with the MRL (2017)

Во јаболката златен делишес од Јанковец се детектирани истите три пестициди како и во јаболката ајдаред од истата локација. Но тука има разлика во концентрацијата на пестицидите. Во оваа сорта јаболка, пестицидот трифлуксистробин е застапен со 35 пати помала концентрација од МДК. Тиофанат-метил е со 1,25 помала концентрација од МДК додека карбендазим (азол) со 2 пати помала концентрација од МДК. Добиените резултати се слични со резултатите кои ги добиле авторот Liu и соработниците (2010) кои што анализирале резидуи од трифлуксистробин, тебуконазол и нивни метаболити во краставици, домати, кинеска зелка и грозје. После направената споредба со МДК може да се заклучи дека јаболката златен делишес од локација Јанковец се безбедни за јадење.

### 6.6.10 Златен делишес од л. Лавци и споредба со МДК, 2017

Концентрацијата на застапените пестициди во јабољката златен делишес од локацијата Лавци и нивните максимално дозволени концентрации се дадени на слика 72.



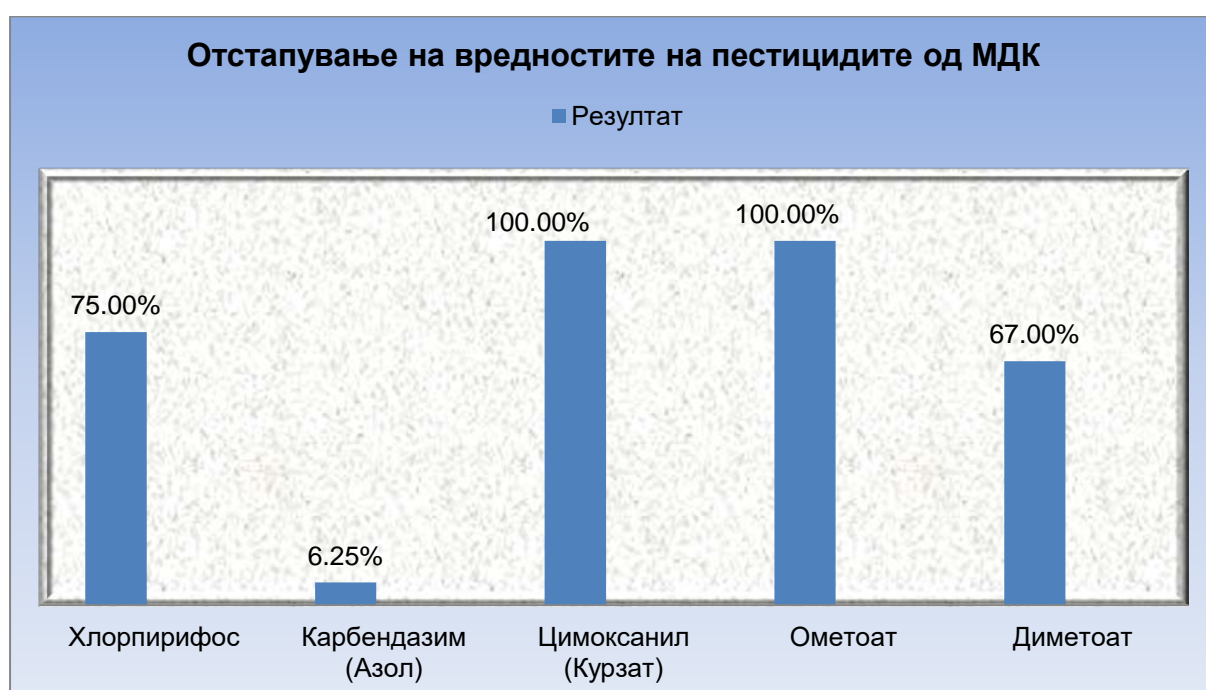
Слика 72. Споредба на концентрацијата на резидуи во златен делишес од локацијата Лавци со МДК (2017)

Figure 72. Comparison of the concentration of residues in Golden delicious from the location of Lavci with the MRL (2017)

Во јабољката златен делишес од локација Лавци со помала концентрација од максимално дозволената се детектирани трифлуксистеробин, тиофанат-метил, карбендазим (азол) и алфа-циперметрин. Тие се застапени со 70 пати помала концентрација од МДК, со 7,14 пати помала, 4 пати помала и 25 пати помала концентрација од МДК последователно. Додека инсектицидот хлорпирифос е застапен со концентрација од 0,07 mg/kg што е за 7 пати поголема од максимално дозволената. Добиените резултати од нашето истражување се приближни со резултатите кои ги добиле Servera и соработниците (2012) при анализа на инсектициди, акарициди, хербициди и фунгициди во јабољка, домати, моркови и портокал. Според нашите резултати јабољката златен делишес од локацијата Лавци не се безбедни за јадење бидејќи содржат хлорпирифос со поголема концентрација од МДК.

## 6.7 Токсиколошки ефекти на пестициди во јаболката кои се над МДК

Во ова истражување добивме резултати кои покажуваат дека во анализираните јаболка има застапено пестициди со концентрација над максимално дозволената. Тоа се пестицидите: хлорпирифос, карбендазим (азол), цимоксанил (курзат), ометоат и диметоат. На слика 73 се дадени проценти на проби во кои се детектирани пестицидите и за колку тие отстапуваат од максимално дозволените концентрации.



Слика 73. Отстапување на вредности на пестициди од МДК  
Figure 73. Deviation of pesticide values from the MRL

Инсектицидот хлорпирифос е детектиран во примероците и во 75 % од нив се наоѓа со концентрација која е над максимално дозволената (0,01 mg/kg). Хлорпирифос е органофосфорен пестицид (инсектицид) кој се користи за заштита на јаболката од инсекти кои може да предизвикаат значителни штетни во производството на јаболка. Најмногу се употребува на следниве култури: памук, пченка, бадеми, портокали и јаболка (Knezevic & Serdar., 2009). Според авторот Šovljanski (1986) тој е сместен во групата на најризичен инсектицид и е умерено токсичен за луѓето. Хлорпирифос го инхибира ензимот

ацетилхолинестераза (AChE), предизвикува оксидативен стрес и ендокрино нарушување (Yen et al., 2011). Труењето со хлорпирифос може да влијае на централниот нервен систем, кардиоваскуларниот систем и респираторниот систем (Raske, 1992; Kumar et al., 2011). Може да предизвика иритација на кожата и очите. Симптоми на акутна и хронична изложеност се: вкочанетост, пецкање, некоординираност, главоболка, вртоглавица, гадење, стомачни грчеви, потење, замаглен вид, отежнато дишење или респираторна депресија и бавно отчукување на срцето (Akhtar et al., 2009). Многу високи дози може да резултира со несвестица, инконтиненција, конвулзии и фаталност. Според извештајот 11/23/1993 од Европската комисија, хлорпирифос е категоризиран во група E и не е канцероген за човекот (Bouchard et al., 2005).

Диметоат во 67 % од вкупните примероци каде што е детектиран е застапен со повисока концентрација. Диметоат е контактен и системичен органофосфорен инсектицид и неговата главна токсиколошка крајна точка кај животните и луѓето е инхибиција на активноста на ацетилхолинестеразата (AChE). Тој се класифицира како инсектицид т.е. акарицид. Диметоат е со умерено акутна орална токсичност и низок степен на дермална токсичност. Тој може да биде иританс за очите но не и за кожата. Диметоат е класифициран во група Ц како веројатно хуман канцероген според извештајот 3/26/2002 од Европската комисија (Bouchard et al., 2005).

Инсектицидот ометоат исто така е детектиран во примероците од јаболка и таму каде што е детектиран е застапен со висока концентрација, но за него нема пропишана МДК и затоа ќе сметаме дека е недозволиво присутен (100 %). Ометоат е кислороден аналоген метаболит на диметоат и игра доминантна улога во токсичноста на диметоат за инсекти и цицачи односно тој е токсичен метаболит на диметоат. При акутна експозиција, овој инсектицид се смета за многу токсичен по орален пат и умерено токсичен од страна на дермалните или инхалационите патишта (Hayes & Laws, 1990).

Фунгицидот карбендазим (азол) е детектиран во примероци на јаболка и во 6,25 % од нив се наоѓа застапен со концентрација која е над МДК. Овој фунгицид е регистриран за сузбивање на причинители на болести кај коскести плодови, сончоглед, шеќерна репа и пченица. Карбендазим е тератоген кај



стаорци. Високи орални дози продуцираат малформации на екстремитетите, додека пониските дози предизвикуваат промени во постнаталното однесување, постнаталниот рефлекс и однесувањето (Schardein, 2000). Според Gupta (2011) тој претставува бензимидазолан фунгицид кој има ниска токсичност. На листата на Европската комисија е означен како пестицид за кој постои основано сомневање дека влијае на работата на хормоните. Споредувајќи го неговото дејство кај глодари забележано е дека доведува до оштетување на репродуктивните органи, уништувајќи ја клеточната структура на ткивата, што всушност претставува и механизам на кој карбендазимот дејствува како фунгицид. Покажува значителна стабилност во површински и отпадни води, почва и храна (Boundina et al., 2003). Карбендазим е ставен во група Ц како можно канцероген за човек според извештајот 4/7/1989 од Европската комисија. Во поново време употребата на карбендазим е под ревизија и одлуката за негов статус се уште не е донесена (Pisó, et al., 2004).

Фунгицидот цимоксанил (курзат) е детектиран во примероци и таму каде е детектиран тој е застапен со повисока концентрација од МДК (100 %). Цимоксанил (курзат) е контактен и локално системичен фунгицид со превентивно, куративно и антиспорулационо дејство за сузбивање на предизвикувачите на болести како што е пламеница. Се применува на следниве култури: винова лоза, компир, домати и краставици. Овој фунгицид обезбедува единствена активност на самото место на инфекција. На пазарот се наоѓа како препарат во комбинација со манкозеп со различен механизам на дејство. Цимоксанил брзо продира во листовите и го сузбива патогенот во тек на првата половина од инкубациониот период. Цимоксанил брзо се апсорбира и максималните концентрации во крвта и плазмата се постигнуваат во рок од 4 часа по дозирањето. Брзо и речиси целосно се елиминира преку урина во тек на 48 часа (California environmental protection agency, 2004). Податоците за акутна токсичност покажуваат дека цимоксанил не е токсичен при орално, респираторно или контактно дејство. Цимоксанил не покажал докази за канцероген потенцијал и бил класифициран како „најверојатно не е канцероген за луѓето“ (Valcke & Bouchard, 2009).

## 6.8 Статистичка обработка на податоците

Дескриптивна статистика за пестицидите застапени во јабољката ајдаред и златен делишес од пет различни локации во две години (2016 и 2017) е дадена во табела 3.

Табела 3. Дескриптивна статистика за пестициди според различни параметри (сорта, локација, фаза, година).  
Table 3. Descriptive statistics on pesticides according to different parameters (sort, location, phase, year).

индикатор		P01	P02	P03	P04	P05	P06	P07	P08	P09	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P23	P24	P25	ВКУПНО
		ВКУПНО																									
ВКУПНО	просечна измерена концентрација	0,05	0,03	0,01	0,01	0,01	0,04	0,01	0,07	0	0,04	0	0	0,01	0,01	0,01	0,04	0	0,01	0,03	0	0,01	0	0,01	0	0,01	0,02
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	26	6	7	6	8	11	12	19	2	14	1	1	12	13	11	18	1	7	12	1	4	3	9	3	4	211
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	18	38	37	38	36	33	32	25	42	30	43	43	32	31	33	26	43	37	32	43	40	41	35	41	40	889
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,09	0,21	0,04	0,06	0,07	0,17	0,04	0,16	0,05	0,12	0,01	0,06	0,05	0,03	0,05	0,1	0,02	0,05	0,11	0,02	0,09	0,07	0,05	0,01	0,16	0,09
		СПОРЕД СОРТА НА ОВОШЈЕ																									
S1	просечна измерена концентрација	0,06	0,04	0,01	0,01	0,01	0,04	0,02	0,09	0	0,03	0	0	0,01	0,01	0,01	0,06	0	0,01	0,04	0	0	0,01	0,01	0	0,02	0,02
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	16	3	4	3	4	5	8	10	0	5	0	0	7	6	4	9	1	4	6	1	3	2	4	1	2	108
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	6	19	18	19	18	17	14	12	22	17	22	22	15	16	18	13	21	18	16	21	19	20	18	21	20	442
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,08	0,26	0,04	0,08	0,06	0,17	0,05	0,19	n/a	0,15	n/a	n/a	0,04	0,04	0,06	0,15	0,02	0,05	0,16	0,02	0,02	0,06	0,07	0,01	0,18	0,10
S2	просечна измерена концентрација	0,05	0,02	0,01	0,01	0,01	0,05	0	0,05	0	0,04	0	0	0,01	0,01	0,01	0,02	0	0,01	0,02	0	0,01	0	0,01	0	0,01	0,01
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	10	3	3	3	4	6	4	9	2	9	1	1	5	7	7	9	0	3	6	0	1	1	5	2	2	103
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	12	19	19	19	18	16	18	13	20	13	21	21	17	15	15	13	22	19	16	22	21	21	17	20	20	447
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,1	0,15	0,04	0,05	0,08	0,18	0,02	0,12	0,05	0,1	0,01	0,06	0,06	0,03	0,04	0,05	n/a	0,04	0,07	n/a	0,3	0,1	0,04	0,02	0,15	0,08

индикатор		P01	P02	P03	P04	P05	P06	P07	P08	P09	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P23	P24	P25	ВКУПНО
		СПОРЕД ЛОКАЦИИ																									
L1	просечна измерена концентрација	0,05	0,03	0,02	0,02	0,02	0	0,02	0,17	0	0,1	0	0	0,02	0,02	0,01	0,06	0	0,01	0,03	0	0,02	0,01	0	0	0,01	0,03
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	9	4	7	3	6	1	5	13	1	11	0	0	7	11	4	6	1	4	4	1	4	3	1	3	2	111
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	7	12	9	13	10	15	11	3	15	5	16	16	9	5	12	10	15	12	12	15	12	13	15	13	14	289
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,08	0,14	0,04	0,09	0,05	0,02	0,07	0,21	0,06	0,14	n/a	n/a	0,05	0,04	0,06	0,16	0,02	0,05	0,12	0,02	0,09	0,07	0,02	0,01	0,08	0,09
L2	просечна измерена концентрација	0,07	0,04	0	0	0,02	0,12	0	0,01	0	0	0	0	0,01	0	0,02	0,01	0	0	0	0	0	0	0,02	0	0,03	0,01
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	10	2	0	1	2	10	1	4	1	1	1	1	5	1	6	1	0	1	1	0	0	0	5	0	2	56
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	6	14	16	15	14	6	15	12	15	15	15	15	11	15	10	15	16	15	15	16	16	16	11	16	14	344
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,12	0,35	n/a	0,06	0,14	0,19	0,04	0,05	0,03	0,02	0,01	0,06	0,04	0,01	0,05	0,1	n/a	0,03	0,05	n/a	n/a	n/a	0,07	n/a	0,25	0,11
L3	просечна измерена концентрација	0,02	0	0	0	0	0	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0,01	0	0,08	0	0,01	0,03	0	0	0	0,01	0	0	0,01
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	2	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	4	0	1	2	0	0	0	1	0	0	14
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	2	4	4	3	4	4	3	3	4	4	4	4	4	3	4	0	4	3	2	4	4	4	3	4	4	86
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,05	n/a	n/a	0,01	n/a	n/a	0,02	0,05	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0,02	n/a	0,08	n/a	0,04	0,06	n/a	n/a	n/a	0,02	n/a	n/a	0,05
L4	просечна измерена концентрација	0,01	0	0	0,01	0	0	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0,06	0	0	0,13	0	0	0	0	0	0	0	0,01
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	1	0	0	1	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	4	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	11
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	3	4	4	3	4	4	2	3	4	4	4	4	4	4	4	0	4	4	2	4	4	4	4	4	4	89
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,03	n/a	n/a	0,03	n/a	n/a	0,02	0,02	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0,06	n/a	n/a	0,25	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0,08
L5	просечна измерена концентрација	0,07	0	0	0	0	0	0,01	0	0	0,02	0	0	0	0	0,07	0	0,01	0,05	0	0	0	0,02	0	0	0	0,01
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	4	0	0	0	0	0	3	0	0	2	0	0	0	0	1	3	0	1	3	0	0	0	2	0	0	19
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	0	4	4	4	4	4	1	4	4	2	4	4	4	4	3	1	4	3	1	4	4	4	2	4	4	81
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,07	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0,02	n/a	n/a	0,04	n/a	n/a	n/a	n/a	0,01	0,09	n/a	0,05	0,07	n/a	n/a	n/a	0,04	n/a	n/a	0,05

индикатор		P01	P02	P03	P04	P05	P06	P07	P08	P09	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P23	P24	P25	ВКУПНО	
СПОРЕД ФАЗИ																												
F1	просечна измерена концентрација	0,16	0,15	0	0,03	0,06	0,13	0,02	0,07	0,01	0,04	0	0,01	0,05	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,03
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	7	4	1	3	6	3	1	5	2	2	1	1	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	42
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	1	4	7	5	2	5	7	3	6	6	7	7	3	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	158
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,19	0,3	0,03	0,08	0,09	0,34	0,14	0,1	0,05	0,16	0,01	0,06	0,07	0,07	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0,14
F2	просечна измерена концентрација	0,02	0,01	0,02	0	0	0,09	0,01	0,03	0	0,13	0	0	0,02	0,01	0,03	0	0	0	0	0	0,04	0,03	0,02	0	0	0,02	
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	3	2	2	0	1	3	1	3	0	4	0	0	3	3	4	0	0	0	0	1	2	2	2	0	0	36	
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	5	6	6	8	7	5	7	5	8	4	8	8	5	5	4	8	8	8	8	7	6	6	6	8	8	164	
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,05	0,03	0,1	n/a	0,02	0,24	0,06	0,09	n/a	0,25	n/a	n/a	0,05	0,03	0,06	n/a	n/a	n/a	n/a	0,02	0,17	0,1	0,09	n/a	n/a	0,10	
F3	просечна измерена концентрација	0,05	0	0,01	0	0	0,02	0,02	0,13	0	0,02	0	0	0,01	0,01	0,02	0,03	0	0,01	0,05	0	0	0,01	0	0	0	0,02	
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	5	0	2	0	0	3	2	3	0	4	0	0	3	4	4	2	0	2	2	0	1	1	1	2	0	41	
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	3	8	6	8	8	5	6	5	8	4	8	8	5	4	4	6	8	6	6	8	7	7	7	6	8	159	
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,07	n/a	0,02	n/a	n/a	0,04	0,06	0,35	n/a	0,04	n/a	n/a	0,01	0,02	0,05	0,11	n/a	0,06	0,18	n/a	0,01	0,01	0,1	0,02	n/a	0,07	
F4	просечна измерена концентрација	0,02	0	0	0,01	0	0	0,01	0,06	0	0,01	0	0	0	0,01	0	0,08	0	0,01	0,05	0	0	0	0,01	0	0,03	0,01	
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	11	0	2	3	1	2	8	8	0	4	0	0	1	5	3	16	1	5	10	0	1	0	6	1	4	92	
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	9	20	18	17	19	18	12	12	20	16	20	20	19	15	17	4	19	15	10	20	19	20	14	19	16	408	
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,04	n/a	0,02	0,05	0,02	0,03	0,02	0,14	n/a	0,04	n/a	n/a	0,01	0,04	0,03	0,1	0,02	0,04	0,1	n/a	0,01	n/a	0,03	0,01	0,16	0,07	
СПОРЕД ГОДИНА																												
2016	просечна измерена концентрација	0,08	0,06	0	0,01	0,02	0	0,02	0,07	0	0,02	0	0	0,01	0,01	0	0,05	0	0	0,01	0	0	0	0	0	0	0,01	
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	16	6	1	3	5	3	7	7	2	7	1	1	6	6	2	8	1	2	2	0	0	0	0	0	0	86	
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	6	16	21	19	17	19	15	15	20	15	21	21	16	16	20	14	21	20	20	22	22	22	22	22	22	464	
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,11	0,21	0,03	0,05	0,08	0,03	0,06	0,22	0,05	0,05	0,01	0,06	0,04	0,03	0,02	0,15	0,02	0,04	0,07	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0,09	
2017	просечна измерена концентрација	0,02	0	0,01	0,01	0,01	0,08	0	0,07	0	0,06	0	0	0,01	0,01	0,02	0,03	0	0,01	0,05	0	0,02	0,01	0,02	0	0,03	0,02	
	бр. на примероци во кои е утврдено присуство на пестицидот	10	0	6	3	3	8	5	12	0	7	0	0	6	7	9	10	0	5	10	1	4	3	9	3	4	125	
	бр. на примероци во кои не е утврдено присуство на пестицидот	12	22	16	19	19	14	17	10	22	15	22	22	16	15	13	12	22	17	12	21	18	19	13	19	18	425	
	просечна измерена концентрација во примероците каде е утврдено присуство на пестицидот	0,05	n/a	0,04	0,08	0,05	0,23	0,02	0,12	n/a	0,19	n/a	n/a	0,05	0,04	0,05	0,07	n/a	0,05	0,12	0,02	0,09	0,07	0,05	0,01	0,16	0,09	

P1-хлорпирифос; P2-дифенокназол; P3-флониамид; P4- имидаклоприд; P5-муклобутанил; P6-пириметанил; P7-трифлуксистеробин; P8-диметоат; P9-тиаметоксам; P10-тебуконазол; P11-пенконазол; P12-боскалид; P13-фенбуконазол; P14-ометоат; P15-ацетамиприд; P16-карбендазим (азол); P17-флутриафол; P18-фосмет (имидан); P19-тиофанат-метил; P20-пропиконазол; P21-пираклостробин; P22-хекситиазокс; P23-алфа-циперметрин; P24-пирипроксифен; P25-цимоксанил (курзат)  
F1- прва фаза, F2-втора фаза, F3-трета фаза, F4- четврта фаза  
L1- локација Кривени, L2-локација Евла, L3-локација Дрмени, L4-локација Јанковец, L5-локација Лавци.  
S1-сорта златен делишес, S2-сорта ајдаред

Од наш интерес беше да направиме обработка на податоците и да донесеме заклучоци дали постои разлика помеѓу примероците според сортата на јаболка, според локацијата каде што се одгледувани и годината кога се одгледувани јаболката. Од таа причина ги поставивме следниве хипотези:

#### *Хипотеза 1*

Нулта хипотеза (H<sub>0</sub>): Не постојат разлики помеѓу просечните вредности на концентрациите на пестициди кај двете сорти на јаболка (разлики помеѓу сорти).

Алтернативна хипотеза (H<sub>A</sub>): Постојат разлики помеѓу просечните вредности на концентрациите кај двете сорти на јаболка (разлика помеѓу сорти).

- статистика на тест = 3,53;  $p=0$ ;  $\alpha=0,05$

Според добиените вредности се прифаќа алтернативната хипотеза дека постои статистички значајна разлика помеѓу просечните вредности на концентрациите кај двете сорти на ниво на значајност од 0,05.

#### *Хипотеза 2*

Нулта хипотеза (H<sub>0</sub>): Не постојат разлики помеѓу просечните вредности на концентрациите на пестициди во двете години кога е извршена анализа на пестицидите (разлики помеѓу годините).

Алтернативна хипотеза (H<sub>A</sub>): Постојат разлики помеѓу просечните вредности на концентрациите на пестициди во двете години кога е извршена анализа на пестицидите (разлики помеѓу годините).

- статистика на тест = -1,19;  $p=0,24$ ;  $\alpha=0,05$

Според добиените вредности, на ниво на значајност од 0,05, може да се констатира дека во 2016 и 2017 година не постојат статистички значајни разлики во просечните вредности на концентрациите за пестицидите детерминирани во јаболката.

#### *Хипотеза 3*

Нулта хипотеза (H<sub>0</sub>): Не постојат разлики помеѓу просечните вредности на концентрациите за пестицидите детектирани во јаболката одгледувани на различни локации (разлики помеѓу локациите).

Алтернативна хипотеза (H<sub>A</sub>): Постојат разлики помеѓу просечните вредности на концентрациите на пестицидите детектирани во јаболката одгледувани на различни локации (разлики помеѓу локациите).

- статистика на тест = 3,09;  $p=0,02$ ;  $\alpha=0,05$

На ниво на значајност од 0,05 може да се констатира дека помеѓу локациите каде се одгледувани јаболката постојат статистички значајни разлики во просечните вредности на концентрации на пестициди кај јаболката.

#### *Хипотеза 4*

Нулта хипотеза (H<sub>0</sub>): Не постојат интеракции помеѓу сортата на јаболка и локацијата.

Алтернативна хипотеза (H<sub>A</sub>): Постојат интеракции помеѓу сортата на јаболка и локацијата.

- статистика на тест = 0,71;  $p=0,59$ ;  $\alpha=0,05$

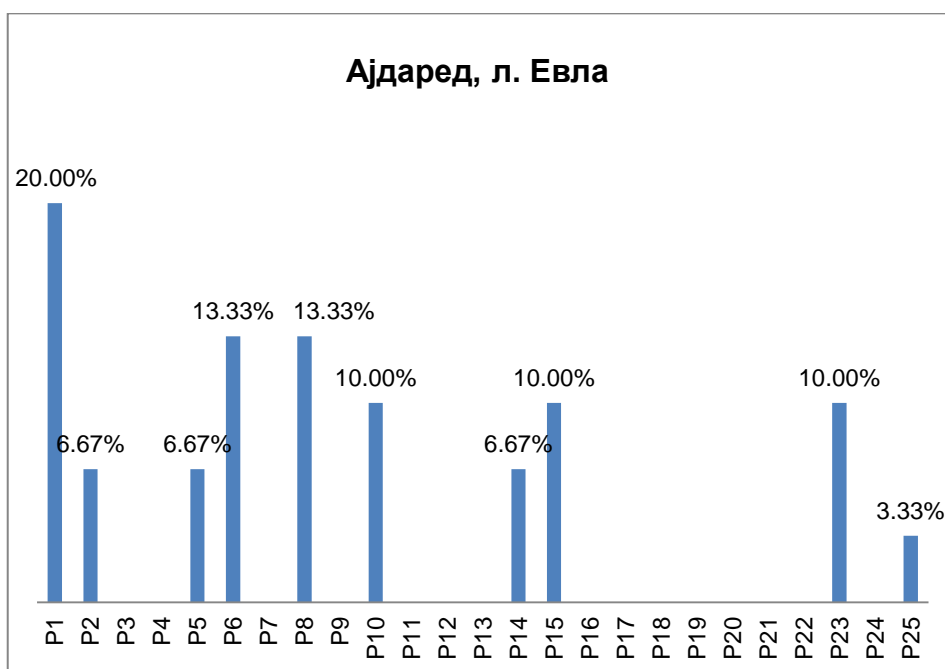
На ниво на значајност од 0,05 може да се констатира дека не постојат статистички значајни интеракции помеѓу сортата на јаболка и локацијата.

## 6.9 Најзастапени пестициди во јаболката од различни локации

Во овој дел ќе биде претставено кој од пестицидите е најзастапен во двете сорти (ајдаред и златен делишес) од пет локации: Евла, Кривени, Дрмени, Лавци и Јанковец.

### 6.9.1 Најзастапени пестициди во ајдаред од различни локации

На слика 74 се претставени најфреквентните пестициди во јаболката ајдаред до Евла.

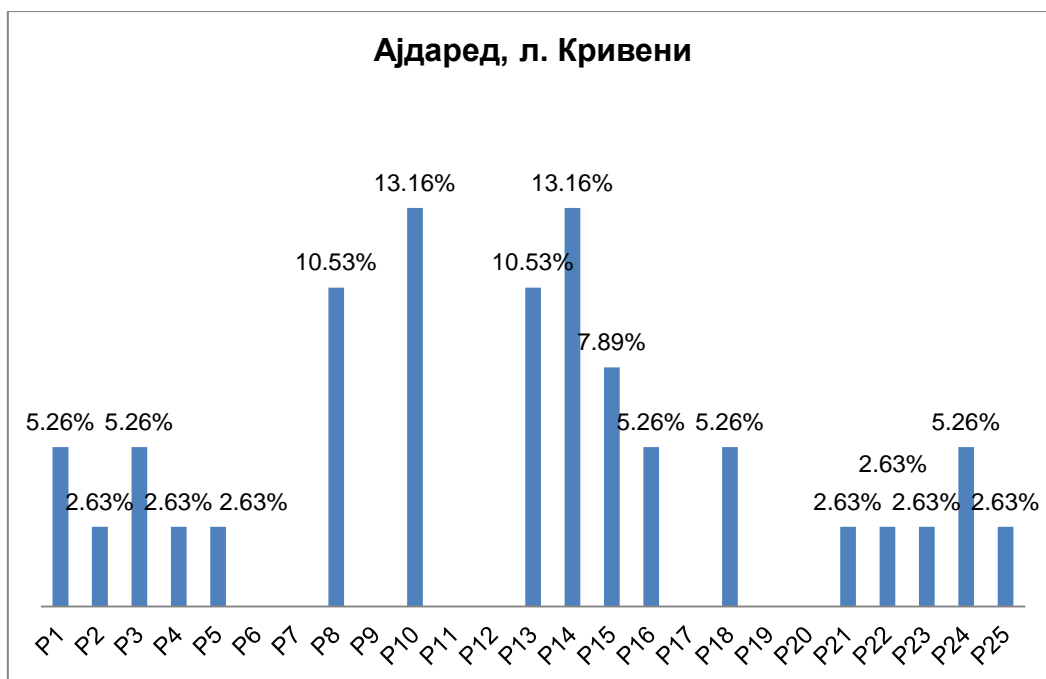


Слика 74. Најзастапени пестициди во ајдаред од локацијата Евла  
Figure 74. The most frequent pesticides in Idared from the location of Evla

P1-хлорпирифос; P2-дифеноконазол; P3-флониламид; P4- имидаклоприд; P5- муклобутанил; P6-пириметанил; P7-трифлуксиробин; P8-диметоат; P9-тиаметоксам; P10- тебуконазол; P11-пенконазол; P12-боскалид; P13-фенбуконазол; P14-ометоат; P15- ацетамиприд; P16-карбендазим (азол); P17-флутриафол; P18-фосмет (имидан); P19- тиофанат-метил; P20-пропиконазол; P21-пираклостробин; P22-хекситазокс; P23-алфа-циперметрин; P24-пирипроксифен; P25-цимоксанил (курзат)

Од сликата 74 се забележува дека најзастапен (најфреквентен) пестицид е инсектицидот хлорпирифос и тој е застапен со 20 % во однос на другите пестициди. Со 13,33 % се застапени диметоат и пириметанил, а останатите пестициди се застапени во помал процент.

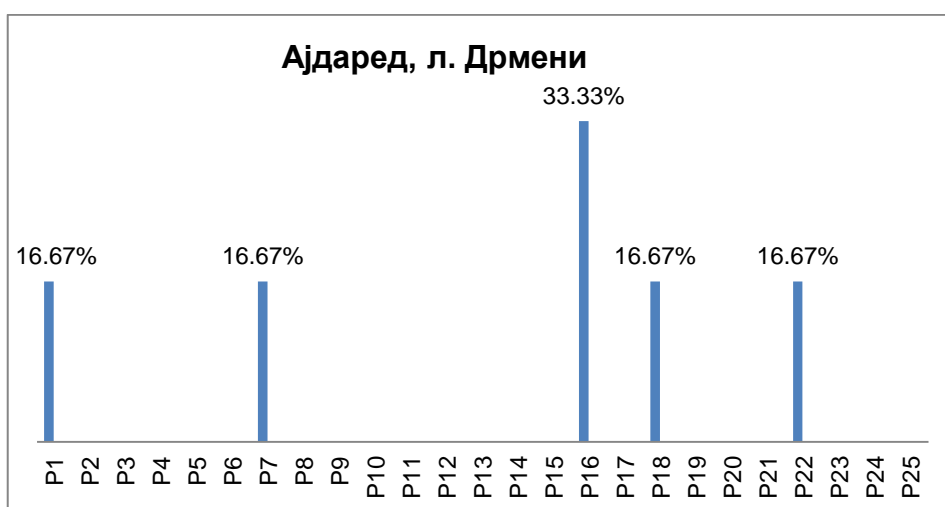




Слика 75. Најзастапени пестициди во ајдаред од локацијата Кривени  
 Figure 75. The most frequent pesticides in Idared from the location of Kriveni

P1-хлорпирифос; P2-дифеноконазол; P3-флоницамид; P4- имидаклоприд; P5- муклобутанил; P6-пириметанил; P7-трифлостробин; P8-диметоат; P9-тиаметоксам; P10- тебуконазол; P11-пенконазол; P12-боскалид; P13-фенбуконазол; P14-ометоат; P15- ацетамиприд; P16-карбендазим (азол); P17-флутриафол; P18-фосмет (имидан); P19- тиофанат-метил; P20-пропиконазол; P21-пираклостробин; P22-хекситиазокс; P23-алфа- циперметрин; P24-пирипроксифен; P25-цимоксанил (курзат)

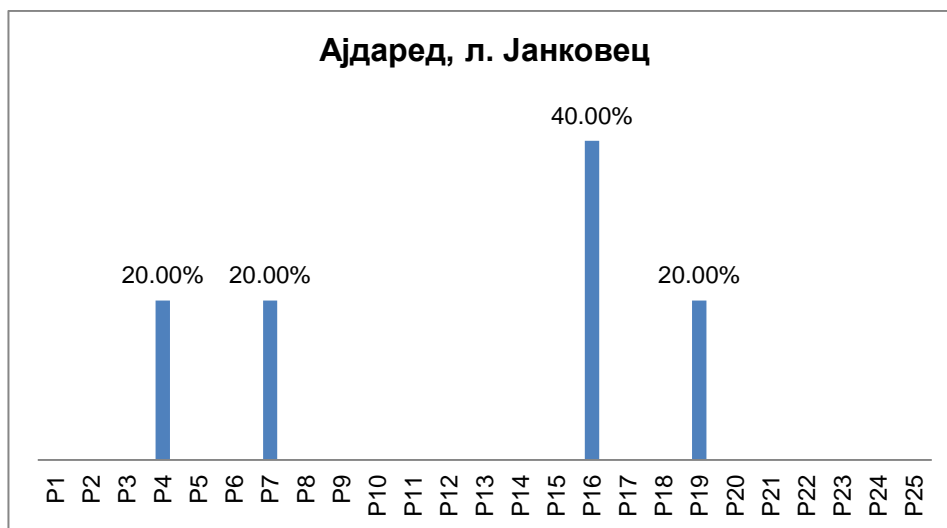
Од сликата 75 се забележува дека најзастапен пестицид во јаболката ајдаред од Кривени се тебуконазол и ометоат со 13,16 %. Додека другите пестициди се застапени во помал процент.



Слика 76. Најзастапени пестициди во ајдаред од локацијата Дрмени  
 Figure 76. The most frequent pesticides in Idared from the location of Drmeni

P1-хлорпирифос; P2-дифеноконазол; P3-флониламид; P4- имидаклоприд; P5- муклобутанил; P6-пириметанил; P7-трифлуксиробин; P8-диметоат; P9-тиаметоксам; P10- тебуконазол; P11-пенконазол; P12-боскалид; P13-фенбуконазол; P14-ометоат; P15- ацетамиприд; P16-карбендазим (азол); P17-флутриафол; P18-фосмет (имидан); P19- тиофанат-метил; P20-пропиконазол; P21-пираклостробин; P22-хекситиазокс; P23-алфа- циперметрин; P24-пирипроксифен; P25-цимоксанил (курзат)

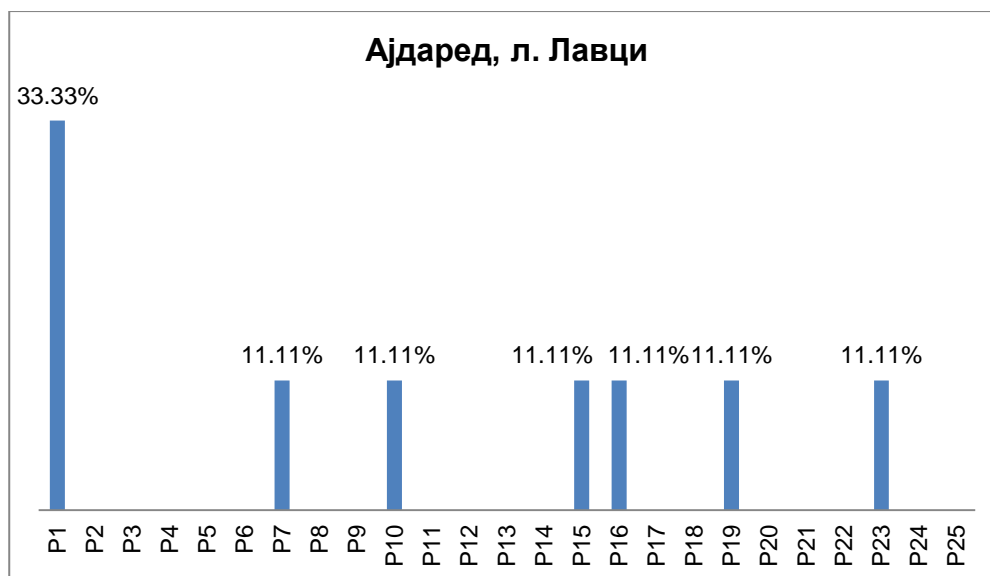
Од податоците претставени на слика 76 се забележува дека во јаболката ајдаред од локацијата Дрмени најзастапен е карбендазим (азол) со 33,33 % во однос на другите детектирани пестициди.



Слика 77. Најзастапени пестициди во ајдаред од локацијата Јанковец  
 Figure 77. The most frequent pesticides in Idared from the location of Jankovec

P1-хлорпирифос; P2-дифеноконазол; P3-флониламид; P4- имидаклоприд; P5- муклобутанил; P6-пириметанил; P7-трифлуксиробин; P8-диметоат; P9-тиаметоксам; P10- тебуконазол; P11-пенконазол; P12-боскалид; P13-фенбуконазол; P14-ометоат; P15- ацетамиприд; P16-карбендазим (азол); P17-флутриафол; P18-фосмет (имидан); P19- тиофанат-метил; P20-пропиконазол; P21-пираклостробин; P22-хекситиазокс; P23-алфа- циперметрин; P24-пирипроксифен; P25-цимоксанил (курзат)

Најзастапен пестицид во јаболката ајдаред од локацијата Јанковец е карбендазим (азол) со 40 % во однос на другите пестициди (слика 77).



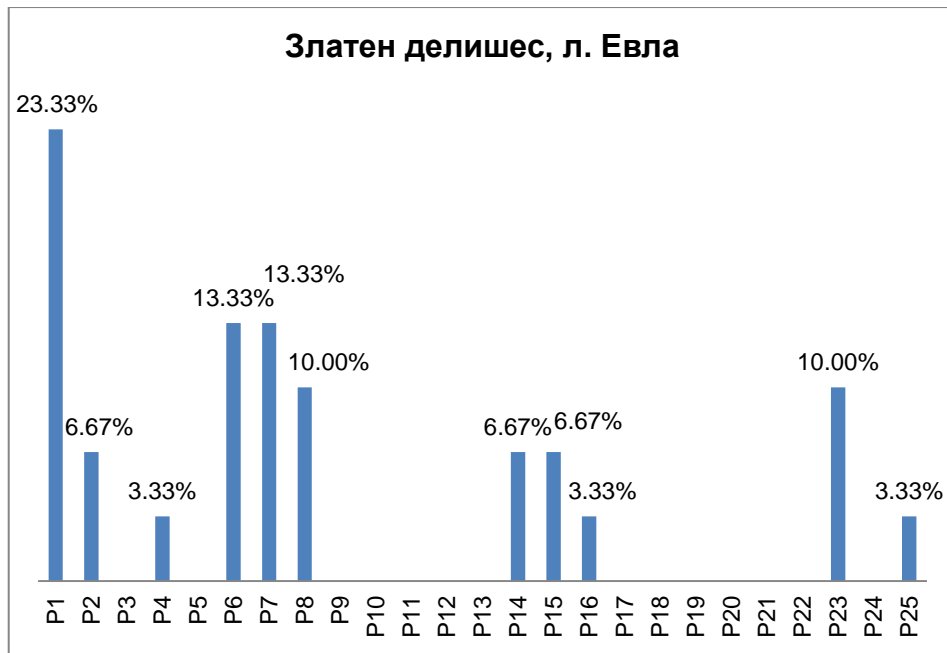
Слика 78. Најзастапени пестициди во ајдаред од локацијата Лавци  
 Figure 78. The most frequent pesticides in Idared from the location of Lavci

P1-хлорпирифос; P2-дифеноконазол; P3-флоникамид; P4- имидаклоприд; P5- муклобутанил; P6-пириметанил; P7-трифлуксистеробин; P8-диметоат; P9-тиаметоксам; P10- тебуконазол; P11-пенконазол; P12-боскалид; P13-фенбуконазол; P14-ометоат; P15- ацетамиприд; P16-карбендазим (азол); P17-флутриафол; P18-фосмет (имидан); P19- тиофанат-метил; P20-пропиконазол; P21-пираклостробин; P22-хекситиазокс; P23-алфа-циперметрин; P24-пирипроксифен; P25-цимоксанил (курзат)

Во јаболката ајдаред од локацијата Лавци најзастапен пестицид е хлорпирифос со 33,33% во однос на другите пестициди (слика 78).

### 6.9.2 Најзастапени пестициди во златен делишес од различни локации

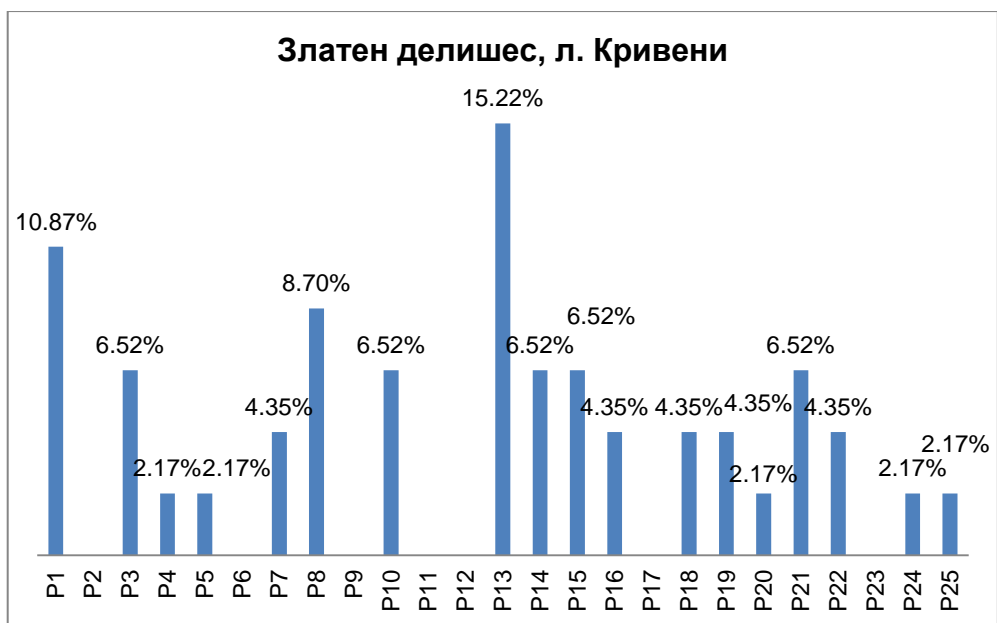
Најзастапени, односно најфреквентни пестициди во јаболката златен делишес од пет локации се претставени во овој дел. На слика 79 се дадени најзастапени пестициди во јаболката златен делишес од Евла.



Слика 79. Најзастапени пестициди во златен делишес од локацијата Евла  
 Figure 79. The most frequent pesticides in Golden delicious from the location of Evla

P1-хлорпирифос; P2-дифеноконазол; P3-флоникамид; P4- имидаклоприд; P5- муклобутанил; P6-пириметанил; P7-трифлуксистеробин; P8-диметоат; P9-тиаметоксам; P10- тебуконазол; P11-пенконазол; P12-боскалид; P13-фенбуконазол; P14-ометоат; P15- ацетамиприд; P16-карбендазим (азол); P17-флутриафол; P18-фосмет (имидан); P19- тиофанат-метил; P20-пропиконазол; P21-пираклостробин; P22-хекситазокс; P23-алфа- циперметрин; P24-пирипроксифен; P25-цимоксанил (курзат)

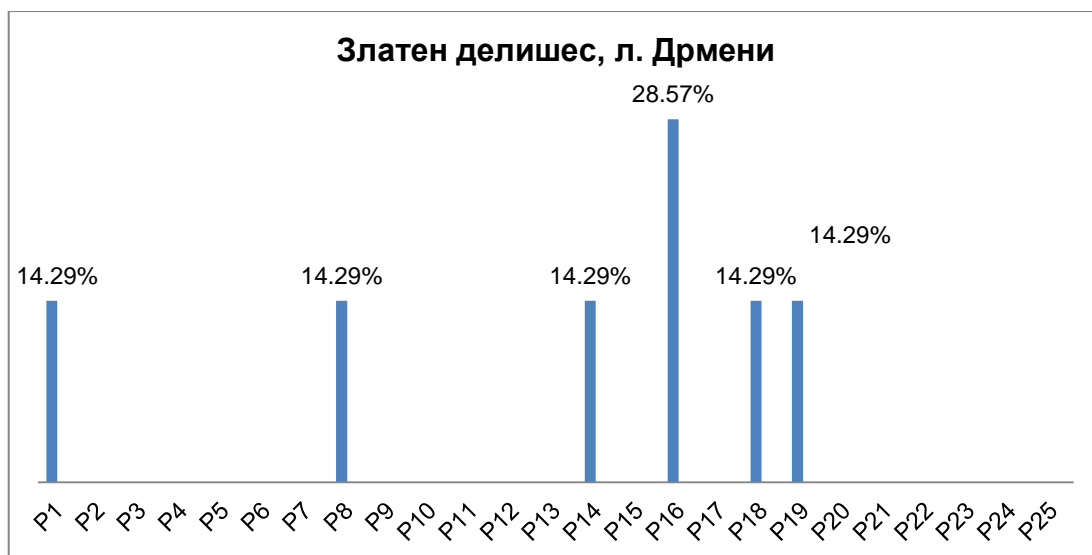
Во јаболката златен делишес од Евла најфреквентен пестицид е хлорпирифос со 23, 33 % во однос на другите пестициди (слика 79).



Слика 80. Најзастапени пестициди во златен делишес од локацијата Кривени  
 Figure 80. The most frequent pesticides in Golden Delicious from the location of Kriveni

P1-хлорпирифос; P2-дифеноконазол; P3-флониламид; P4- имидаклоприд; P5- муклобутанил; P6-пириметанил; P7-трифлуксистеробин; P8-диметоат; P9-тиаметоксам; P10- тебуконазол; P11-пенконазол; P12-боскалид; P13-фенбуконазол; P14-ометоат; P15- ацетамиприд; P16-карбендазим (азол); P17-флутриафол; P18-фосмет (имидан); P19- тиофанат-метил; P20-пропиконазол; P21-пираклостробин; P22-хекситиазокс; P23-алфа-циперметрин; P24-пирипроксифен; P25-цимоксанил (курзат)

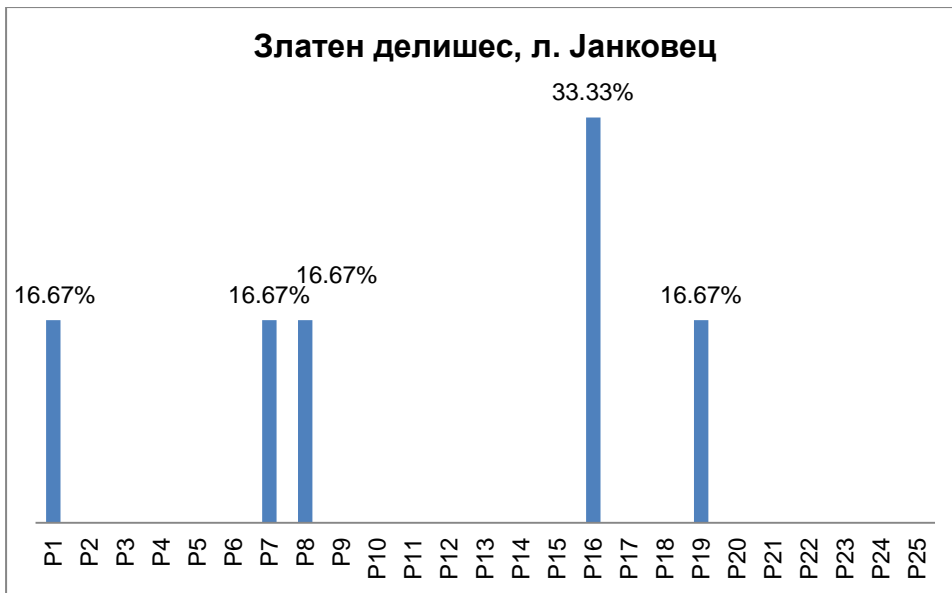
Од слика 80 може да се забележи дека најзастапен пестицид во јаболката златен делишес од локацијата Кривени е фенбуконазол со 15, 22 % во однос на другите пестициди.



Слика 81. Најзастапени пестициди во златен делишес од локацијата Дрмени  
 Figure 81. The most frequent pesticides in Golden delicious from the location of Drmeni

P1-хлорпирифос; P2-дифеноконазол; P3-флониламид; P4- имидаклоприд; P5- муклобутанил; P6-пириметанил; P7-трифлуксиробин; P8-диметоат; P9-тиаметоксам; P10-тебуконазол; P11-пенконазол; P12-боскалид; P13-фенбуконазол; P14-ометоат; P15-ацетамиприд; P16-карбендазим (азол); P17-флутриафол; P18-фосмет (имидан); P19-тиофанат-метил; P20-пропиконазол; P21-пираклостробин; P22-хекситиазокс; P23-алфа-циперметрин; P24-пирипроксифен; P25-цимоксанил (курзат)

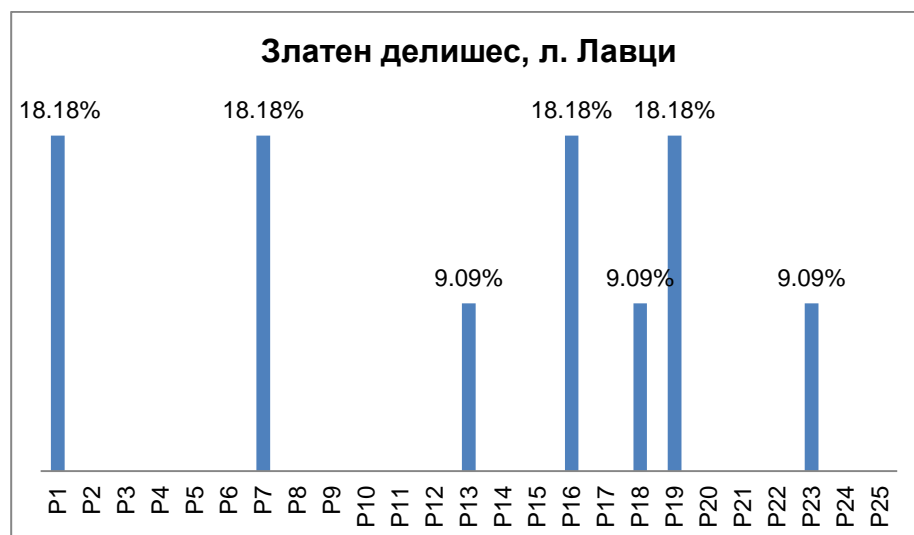
Во јабољката златен делишес од локацијата Дрмени, најзастапен пестицид е карбендазим (азол) со 28,57% во однос на другите пестициди (слика 81).



Слика 82. Најзастапени пестициди во златен делишес од локацијата Јанковец  
 Figure 82. The most frequent pesticides in Golden delicious from the location of Jankovec

P1-хлорпирифос; P2-дифеноконазол; P3-флоницамид; P4- имидаклоприд; P5- муклобутанил; P6-пириметанил; P7-трифлуксистеробин; P8-диметоат; P9-тиаметоксам; P10- тебуконазол; P11-пенконазол; P12-боскалид; P13-фенбуконазол; P14-ометоат; P15- ацетамиприд; P16-карбендазим (азол); P17-флутриафол; P18-фосмет (имидан); P19- тиофанат-метил; P20-пропиконазол; P21-пираклопостробин; P22-хекситазокс; P23-алфа- циперметрин; P24-пирипроксифен; P25-цимоксанил (курзат)

Во јаболката златен делишес од локацијата Јанковец најзастапен пестицид е карбендазим (азол) со 33,33 % во однос на другите пестициди (слика 82).



Слика 83. Најзастапени пестициди во златен делишес од локацијата Лавци  
 Figure 83. The most frequent pesticides in Golden delicious from the location of Lavci

P1-хлорпирифос; P2-дифеноконазол; P3-флониламид; P4- имидаклоприд; P5- муклобутанил; P6-пириметанил; P7-трифлуксистеробин; P8-диметоат; P9-тиаметоксам; P10- тебуконазол; P11-пенконазол; P12-боскалид; P13-фенбуконазол; P14-ометоат; P15- ацетамиприд; P16-карбендазим (азол); P17-флутриафол; P18-фосмет (имидан); P19- тиофанат-метил; P20-пропиконазол; P21-пираклостробин; P22-хекситазокс; P23-алфа- циперметрин; P24-пирипроксифен; P25-цимоксанил (курзат)

Во јаболката златен делишес од Лавци најзастапени пестициди се хлорпирифос, трифлуксистеробин, карбендазим (азол) и тиофанат-метил со 18,18 % во однос на останатите пестициди (слика 83).



## 7. ЗАКЛУЧОЦИ

Врз основа на добиените резултати од направената анализа на резидуи од пестициди во јаболка од сорта ајдаред и златен делишес од локациите: Евла и Кривени, анализирани во четири развојни фази од јаболката и извршената анализа на готов производ (јаболка за пазар) од локациите: Евла, Кривени, Дрмени, Јанковец и Лавци може да се донесат следниве заклучоци:

- Во анализираниите јаболка во фази (од прва до четврта фаза) од сортите ајдаред и златен делишес се детектирани голем број на инсектициди и фунгициди што укажува на потребата од заштита на јаболката од штетници и болести. Постои разлика во детектираните пестициди во јаболката од двете сорти и двете локации (Евла и Кривени). Во јаболката од локацијата Кривени е забележано присуство на резидуи од пестициди со поголема концентрација за разлика од јаболката од Евла.

- Најчесто детектирани пестициди во јаболката (ајдаред и златен делишес) во пет различни локации се: инсектициди (ацетамиприд, хлорпирифос, диметоат, имидаклоприд, ометоат, фосмет (имидан), флоникамид, пирипроксифен, алфа-циперметрин, тиаметоксам и хекситиазокс) и фунгициди (дифеноконазол, муклобутанил, пириметанил, трифлуксистеробин, тебуконазол, пенконазол, боскалид, фенбуконазол, карбендазим (азол), флутриафол, тиофанат-метил, пропиконазол, пираклостробин и цимоксанил (курзат)).

- Следејќи ја концентрацијата на застапените пестициди во јаболката ајдаред и златен делишес анализирани во развојни фази од локациите Евла и Кривени, во најголем дел се забележува намалување на концентрацијата на детектираните пестициди што покажува на нивна деградација со тек на време под влијание на повеќе фактори.

- Во јаболката ајдаред од локациите Дрмени, Јанковец и Лавци (јаболка за пазар) најчесто детектирани пестициди се карбендазим (азол), имидаклоприд, тиофанат-метил, ацетамиприд, тебуконазол, хлорпирифос застапени со различна концентрација што укажува на недозволени или неисправни навики за користење на фунгициди и инсектициди од страна на земјоделските производители.

- Во јаболката златен делишес од локациите Дрмени, Јанковец и Лавци се детектирани карбендазим (азол), ометоат, тиофанат-метил, диметоат, хлорпирифос, фосмет (имидан), тебуконазол, трифлуксистеробин кои се застапени

со различна концентрација, но забележителна е поголема застапеност на пестициди во јаболката ајдаред одгледувани на истите локации.

- После направена споредба на концентрацијата на присутните резидуи од пестициди во јаболката со нивната максимално дозволена концентрација (МДК) пропишана во правилник, се заклучува дека јаболката ајдаред од Евла, Дрмени, Јанковец и Лавци анализирани во 2016 година се безбедни за јадење, бидејќи сите детектирани пестициди се во граница на дозволеното. Во јаболката од локацијата Кривени пестициди кои се застапени со повисока концентрација од МДК се ометоат (0,02 mg/kg) и хлорпирифос (0,03 mg/kg).

- Анализата на резидуи од пестициди во јаболката златен делишес одгледувани на различни локации во 2016 година ни покажа дека во јаболката од сите локации има застапено пестициди кои се над МДК и тие не се безбедни за јадење. Така што во јаболката од Евла, Дрмени, Јанковец и Лавци има повисока концентрација од МДК за инсектицидот хлорпирифос и тоа најмалку за три пати. Во јаболката од: Дрмени и Кривени, со повисока концентрација се застапени диметоат (0,05 mg/kg) и ометоат (0,02 mg/kg). Карбендазим (азол) е застапен со повисока концентрација само во јаболката од Кривени.

- Анализата на резидуи од пестициди на јаболката ајдаред одгледувани во 2017 година ни покажа дека само јаболката од локацијата Јанковец се безбедни за јадење. Додека, во јаболката од Дрмени и Лавци е детектиран хлорпирифос со повисока концентрација (0,05 mg/kg) од МДК. Во јаболката од Евла и Кривени е застапен инсектицидот диметоат и тоа за најмалку три пати повеќе од МДК. Цимоксанил (курзат) е застапен во јаболката од Кривени и Евла со приближно иста концентрација но сепак таа е повисока од МДК. Ометоат е детектиран во јаболката од Кривени со концентрација од 0,04 mg/kg.

- Јаболката од сортата златен делишес анализирани во 2017 година се безбедни за јадење само од локациите Дрмени и Јанковец. Додека, во јаболката од другите локации има застапено пестициди кои се над МДК. Така што, хлорпирифос е застапен во јаболката од Лавци и Евла и тоа со најмалку два пати повисока концентрација од МДК. Диметоат е детектиран во јаболката од Кривени и Евла со концентрација од 0,3 mg/kg и 0,09 mg/kg и тие се над МДК. Цимоксанил (курзат) е застапен со повисока концентрација од МДК во јаболката од Кривени и Евла. Ометоат е застапен во јаболката од Кривени со концентрација од 0,05 mg/kg.

- Застапени пестициди со поголема концентрација од МДК во јаболката се: хлорпирифос, карбендазим (азол), цимоксанил (курзат), ометоат и диметоат. Во примероците каде е детектиран хлорпирифос во 75 % од нив е застапен со повисока концентрација од МДК. Инсектицидот ометоат и фунгицидот цимоксанил (курзат) во 100 %, диметоат во 67 %, а фунгицидот карбендазим (азол) во 6, 25 % од примероците се застапени со концентрација повисока од МДК.

- Најзастапени пестициди во однос на другите пестициди во јаболката ајдаред од Евла се инсектицидот хлорпирифос со 20 %, со 13,3 % се застапени диметоат и пириметанил а останатите пестициди се застапени во помал процент. Тебуконазол и ометоат со 13,16 % во однос на другите пестициди се застапени во јаболката од Кривени. Во јаболката ајдаред од Дрмени најзастапен е карбендазим (азол) со 33,33 % а со 40 % е во јаболката од Јанковец. Во јаболката ајдаред од Лавци најзастапен пестицид е хлорпирифос со 33,33 %.

- Во јаболката златен делишес од Евла најфреквентен пестицид е хлорпирифос со 23,33 % додека во јаболката златен делишес од Кривени е фенбуконазол и тоа со 15,22 %. Во јаболката златен делишес од локацијата Дрмени, најзастапен пестицид е карбендазим (азол) со 28,75 % а со 33,33 % во јаболката од Јанковец. Во јаболката златен делишес од Лавци најзастапени пестициди се хлорпирифос, трифлуксистеробин, карбендазим (азол) и тиофанат-метил со 18,18 %.

- Со статистичката обработка на податоците може да се констатира дека постои статистички значајна разлика помеѓу просечните вредности на концентрациите кај двете сорти на јаболка на ниво на значајност од 0,05. Според добиените вредности, на ниво на значајност од 0,05 може да се констатира дека во 2016 и 2017 година не постојат статистички значајни разлики во средните концентрации на пестициди во јаболката но постои разлика во примената на пестициди во двете истражувани години. На ниво на значајност од 0,05 може да се констатира дека помеѓу локациите на кои се вршени мерења постојат статистички значајни разлики во средните концентрации на пестициди кај јаболката. На ниво на значајност 0,05 може да се констатира дека не постојат статистички значајни интеракции помеѓу сортата на јаболка и локацијата на која се извршени мерењата.

- Потребно е земјоделските производители да се придржуваат кон препораките за добра земјоделска пракса, да се редуцира примената на пестицидите, примена на активни материи со пониска токсичност и нивно кратко

задржување во производот, примена на пестицидите во најосетлив стадиум од развојот на штетникот, примена на селективни пестициди, поголема примена на биопестициди, запазување на времето на каренца итн.

- Едукација на земјоделските производители за поголема примена на интегралната заштита на културите која е од големо значење за добивање на безбедна храна.

- Со цел потрошувачите се обезбедат со храна која не содржи резидуи од пестициди над максимално дозволена концентрација предлагаме постојан мониторинг и контрола на производите од страна на овластени институции.

## 8. ПРИЛОГ

### Преглед на кратенки

FAO – Организација на Обединети нации за храна и земјоделие

МДК - Максимално дозволена концентрација

Non-IPM - Неинтегрална заштита на штетници

IPM - Интегрална заштита на штетници

LD<sub>50</sub> - Средна летална (смртоносна) доза

WHO – Светска здравствена организација (СЗО)

ARfD- Акутна референтна доза

ADI - Прифатлив дневен внес

LOD - Лимит на детекција

LQD - Лимит на квантификација

R % - Точност

RSD% – Релативна стандардна девијација

LLE - Течно-течна екстракција

SPE - Течно-цврста екстракција

dSPE – Дисперзирана цврсто-фазна екстракција

PLE - Течна екстракција под притисок

LLME - Течно-течна микроекстракција

MAE - Микробранова екстракција

UAE - Ултрасонична екстракција

SPME - Цврсто-фазна микроекстракција

MSPD - Матрикс цврсто фазна дисперзија

SFE - Суперкритична флуид екстракција

DLLME-SFO - Течно-течна микроекстракција базирана на солидификација со органски растворувач

QuEChERS - Брз, лесен, евтин, ефективен, цврст, безбеден метод на екстракција

MS - Масена спектрометрија

MS/MS - Тандем масена спектрометрија

HPLC - Високо-ефикасна течна хроматографија

HPLC-MS/MS – Високо ефикасна течна хроматографија со тандем масена спектрометрија

HPLC-DAD – Високо ефикасна течна хроматографија со детектор со диоди

GC – Гасна хроматографија

GSL - Гасно-течна хроматографија

GSC - Гасно-цврста хроматографија

GC – MS - Гасна хроматографија со масена спектрометрија

GC-QqQ-MS/MS – Гасна хроматографија со трипл квадроупл масена спектрометрија

GC-TOF/MS – Гасна хроматографија со време на прелет масена спектрометрија

GC- TCD – Гасна хроматографија со детектор на термичка спроводливост

GC-NDP - Гасна хроматографија со азотен фосфор детектор

GC-FDT - Гасна хроматографија со пламен јонизирачки детектор

GC-FPD - Гасна хроматографија со пламено фотометриски детектор

GC-MSD - Гасна хроматографија со масен селективен детектор

GC-ECD – Гасна хроматографија со детектор со електронски зафат

LC - Течна хроматографија

LC- MS -Течна хроматографија со масена спектрометрија

LC-MS/MS - Течна хроматографија со тандем масена спектрометрија

LC-APCI-MS/MS - Течна хроматографија со хемиска јонизација под атмосферски притисок тандем масена спектрометрија

LC-ESI/MS - Течна хроматографија со електроспреј масена спектрометрија

LC-ESI-MS/MS - Течна хроматографија со електроспреј тандем масена спектрометрија

LC-UV – Течна хроматографија со УВ детектор

LC-IT-MS – Течна хроматографија со јонска стапица масена спектрометрија

UPLC – Ултра ефикасна течна хроматографија

UPLC-MS/MS – Ултра ефикасна течна хроматографија со тандем масена спектрометрија

UPLC-TOF/MS - Ултра ефикасна течна хроматографија со време на прелет масена спектроскопија

UPLC-QqTOF/MS – Ултра ефикасна течна хроматографија со време на прелет квадрупол масена спектрометрија

UPLC-TQ/MS – Ултра ефикасна течна хроматографија со трипл квадрупол масена спектрометрија

MPM - Мултирезидуален метод

PSA - Примарни и секундарни амини

ESI - Електроспреј јонизација

CI - Хемиска јонизација

EI - Електронска јонизација

APPI - Фотојонизација при атмосферски притисок

ECD –Детектор со електронски зафат

NPD - Нитроген фосфор детектор

FID- Пламен-јонизациски детектор

TCD - Детектор на термичка спроводливост

FPD - Пламен-фотометриски детектор

PID - Детектор со фото-јонизација

PEF - Импулсно електрично поле

UV и UV-Vis - Ултравиолетови детектори

DAD – Детектори со диоди

PDA - Детектор со фото диоди

ELS - Evaporative Light Scattering detector

FLR - Флуоресцентен детектор

TQ - Трипл квадроупл детектор

IUPAC- Меѓународна унија за чиста и применета хемија

$t_r$  – Ретенционо време

$V_c$  - Волумен на мобилна фаза

$V_r$ - Ретенционен волумен

$u$  - Брзина на протекување на мобилна фаза

$N$  – Шум

$S$  - Сигнал

$w$  - Ширина на базна линија

$t_m$ - Мртво време на колоната

$K$  - Коефициент на распределба

$C_s$ –Концентрација на стационарна фаза



$C_m$  – Концентрација на мобилна фаза

$k'_A, k'_B$  - Ретенциони фактори на компоненти А и В

$\alpha$  - Селективен фактор

$N$  - Теоретски подови

$H$  - Висина на подовите

$L$  - Должина на колоната

$E_{VTP}$ - еквивалентна висина или висина на еден теоретски под

$d_p$  – Димензија на честичките

$D_G$ - Коефициент на молекуларна дифузија

$R_s$  - Резолуција на колоната

$pg/ng$ – Пиктограм/нанограм

$ppb$ - Дел од билион

$ppm$  – Дел од милион

$\mu g/kg$  – Микрограм/килограм

$mg/kg$  – Милиграм/килограм

$psi$  – Фунта на квадратен инч

$m/z$  - Маса/полнеж

$eV$  – Електрон-волт

ВЕН- Етилен премостена хибридна технологија

PCB – Полихлорирани бифенили

OPP<sub>s</sub> - Органофосфорни пестициди

WP – Прашок за суспензија

EC – Концентрат за емулзија

SC – Концентрирана суспензија

WG – Диспергирани гранули или микрогранули

SL – Водорастворлив концентрат

OD - Маслена концентрирана суспензија

ANOVA – Статистички метод за обработка на податоци

AChE – Ацетилхолинестераза ензим

## 9. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

- Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., & Schenck, F.J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86(2), 412-431.
- Agrios. (2008). Guidelines for integrated pome cultivation 2008. 18 th edition Workgroup for Integrated Fruit Production in South Tyrol, Haus des Apfels, Jakobstraße 1A, I-39018 Terlan (BZ), Italy
- Akhtar, N., Srivastava, M.K., & Raizada, R. B. (2009). Assessment of chlorpyrifos toxicity on certain organs in rat, *Rattus norvegicus*. *Journal of Environmental Biology*, 30(6), 1047-1053.
- Angioni, A., Schirra, M., Garau, V.L., Melis, M., Tuberoso, C. I. G., & Cabras, P. (2004). Residues of azoxystrobin, fenhexamid and pyrimethanil in strawberry following field treatments and the effect of domestic washing. *Food additives and contaminants*, 21(11), 1065-1070.
- Ardrey, R.E. (2003). *Liquid chromatography-mass spectrometry: an introduction*, University of Huddersfield, UK. 7-73.
- Aysal, P., Ambrus, A., Lehotay, S.J., & Cannavan, A. (2007). Validation of an efficient method for the determination of pesticide residues in fruits and vegetables using ethyl acetate for extraction. *Journal of environmental Science and health Part B*, 42, 481-490.
- Aziz, M., Anwar, M., Uddin, Z., Amanat, H., Ayub, H., & Jadoon, S. (2013). Nutrition comparison between genus of apple (*Malus Sylvestris* and *Malus Domestica*) to show which cultivar is best for the province of Balochistan. *Journal of Asian Scientific Research*, 3(4), 417-424.
- Балтовски, Б. (1981). Фитофармација, Наша книга, Скопје, 11- 22.
- Baceiro-Gonzalez, E., Gonzalez-Castro, M.J., Muniategui-Lorenzo, S., Lopez-Mahia P., & Prada-Rodriguez, D. (2012). Analytical Methodology for the determination of organochlorine pesticides in vegetation. *Journal of AOAC International*, 95(5), 1291-1310.

- Bonn, W.G., & Zwet, T. (2000). Distribution and economic importance of fire blight. In: Fire Blight: The Disease and its causative agent, *Erwinia amylovora* (Vanneste J., ed.). CABI Publishing, Wallingford, UK, 37-53.
- Botitsi, H., Economou, A., & Tsiipi, D. (2007). Development and validation of a multi-residue method for the determination of pesticides in processed fruits and vegetables using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389, 1685-1695.
- Boundina, A., Emmelin, C., Beeliouamer, A., Greier-Loustalot, M. F., & Chovelon, J. M. (2003). Photochemical behaviour of carbendazim in aqueous solution. *Chemosphere*. 50, 649–655.
- Baglio, D., Kotzias, D., & Larse, N. B. R. (1999). Atmospheric pressure ionisation multiple mass spectrometric analysis of pesticides. *Journal of Chromatography A*, 854, 207–220.
- Balaž, J., Grahovac, M., Radunović, D., Iličić, R., & Krstić, M. (2013). The status of *Erwinia amylovora* in the Former Yugoslav Republics over the past two decades. *Pestic. Phytomed. Belgrade*, 28(1), 9-22.
- Baličević, R., & Ravlić, M. (2013). *Fitofarmacija*, Poljoprivredni fakultet, Osijek, 17-26.
- Betarbet, R., Sherer, T. B., MacKenzie, G., Garcia-Osuna, M., Panov, A.V., & Greenamyre, J. T. (2000). Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nature Neuroscience*, 3, 1301-1306.
- Blasco, C., Font, G., & Picó, Y. (2004). Multiple-stage mass spectrometric analysis of six pesticides in oranges by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1043, 231–238.
- Bonmatin, J. M., Moineau, I., Charvet, R., Fleche, C., Colin, M. E., & Bengsch, E. R. (2003). A LC/APCI-MS/MS Method for analysis of imidacloprid in soils, in plants and in pollens. *Analytical Chemistry*, 75, 2027-2033.
- Bouchard, M., Carrier, G., Brunet, R. C., Bonvalot, Y., & Gosselin, N.H. (2005). Determination of biological reference values for chlorpyrifos metabolites in human urine using a toxicokinetic approach. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 2(3), 155-168.
- Bowen, J., Mesarich, C., Bus, V., Beresford, R., Plummer, K., & Templeton, M. (2011). *Venturia inaequalis*: the causal agent of apple scab. *Molecular plant pathology*, 12(2), 105–122.

- Boyer, J., & Liu, R.H. (2004). Apple photochemical and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3(5), 1-15.
- Brisset, M. N., Cesborn, S., Thomson, V. Sh., & Paulin, J. P. (2000). Acibenzolar-S-methyl induces the accumulation of defense-related enzymes in apple and protects from fire blight. *European Journal of Plant Pathology*, 106, 529-536.
- Bursic, V., Vukovic, G., Spirovic, B., Lazić, S., Pucarevic, M., & Zeremski, T. (2013). QuEChERS method for determination of pesticide residues in cherries. *Agriculture & Forestry, Podgorica*, 59(3), 91-100.
- Бужаровска, А., & Арсов, Љ. (2010). Методи на испитување на органски соединенија. Универзитет "Св. Кирил и Методиј" Технолошко - металуршки факултет, Скопје, 1-23.
- Cakir, S., & Sarikaya, R. (2005). Genotoxicity testing of some organophosphate insecticides in the *Drosophila* wing spot test. *Food and Chemical Toxicology*, 43(3), 443-450.
- Carneiro, R. O., Oliveira, F. A. S., Madureira, D. F., Silva, G., Souza, W.R., & Lopes, R.P. (2013). Development and method validation for determination of 128 pesticides in bananas by modified QuEChERS and UPLC-MS/MS analysis. *Food Control*, 33, 413-423.
- Cardoso, M. H. W. M., Gouvêa, A. V., da Nóbrega, A. W., & Abrantes, S. D. P. (2010). Method validation for determination of pesticide residues in tomatoes: a laboratorial experience. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 30, 63.
- Česnik, H., Bolta, Š., & Gregorcic, A. (2012). Pesticide residues in samples of apples, lettuce and potatoes from integrated pest management in Slovenia from 2005-2009. *Acta agriculturae Slovenica*. 99(1), 49-56.
- Čolović, B. M., Krstić, Z. D., Vasić, M.V., Bondžić, M.A., Ušćumlić, S. G., Petrović, D. S. (2013). Organofosfatni insekticidi: toksični efekti i bioanalitički testovi za evaluaciju toksičnosti tokom procesa degradacije. *Hem. Ind.* 67(2), 217–230.
- California environmental protection agency.(2004). Department of pesticide regulation human health assessment branch, Summary of toxicology data, Cymoxanil.
- Claeys, W. L., Schmit, J. F., Bragard, C., & Rogister, M. G. (2011). Exposure of several Belgian consumer groups to pesticide residues through fresh fruit and vegetable consumption. *Food Control*, 22, 508-516.

- Clark, D. M., Bus, M. V., Luby, J. J., & Bradeen, M. J. (2014). Characterization of the defense response to *Venturia inaequalis* in 'Honeycrisp' apple, its ancestors, and progeny. *European Journal of Plant Pathology*, 140, 69–81.
- Çobanoğlu, S., & Tüze, S. (2008). Determination of amitraz (varroaset) residue in honey by high performance liquid chromatography (HPLC). *Tarin Bilimleri Dergisi*, 14(2), 169-174.
- Cody, R. B. (2002). Electrospray ionization mass spectrometry: history, theory, and instrumentation. In: Pramanik, B. N., A. K. Ganguly, & M. L. Gross, (ed) *Applied electrospray mass spectrometry*, Taylor & Francis, USA.12-28.
- Cole, R. B. (1997). *Electrospray ionization mass spectrometry, fundamentals, instrumentation and applications*, John Wiley & Sons, New York, USA. 3-123.
- Council Directive 1999/29/EC on the undesirable substances and products in animal nutrition. (1999). *Official Journal of the European Communities*.
- Crittenden, P.L., Carr, R., & Pruett, S.B. (1998). Immunotoxicological assessment of methyl parathion in female B6C3F1 mice. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 54(1), 1-20.
- Commission Directive 98/82/EC. Amending the Annexes to Council Directives 86/362/EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC on the fixing of maximum levels for pesticide residues in and on cereals, foodstuffs of animal origin and certain products of plant origin, including fruit and vegetables respectively. (1998). *Official Journal of the European Communities*.
- Cara, M., Merkuri, J., Bici, I., Laska, A., & Gavani, E. (2012). Pesticide management in Albania. *Plant protection*, 24(25), 115-119.
- Cervera, M. I., Portolés, T., Pitarch, E., Beltrán, J., & Hernández, F. (2012). Application of gas chromatography time-of-flight mass spectrometry for target and non-target analysis of pesticide residues in fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1244, 168-177.
- Chandra, S., Mahindrakar, A., Kumar, M., & Shinde, L. (2014). Determination of pesticide residues in fruit local market Nanded, India. *International Journal of advanced research*, 2(7), 1075-1082.
- Chen, M., Tao, L., McLean, J., & Lu, Ch. (2014). Quantitative analysis of neonicotinoid insecticide residues in foods: Implication for dietary exposures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62,6082-6090.

- Chen, F., Zeng, L., Zhang, Y., Liao, X., Ge, Y., Hu, X., & Jiang, L. (2009). Degradation behavior of methamidophos and chlorpyrifos in apple juice treated with pulsed electric fields. *Food Chemistry*, 112, 956-961.
- Christer, J., & Markides, E. K. (2004). A new multi-residue method for analysis of pesticide residues in fruit and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 1023(1), 93-104.
- Chu, X. G., Hu, X. Zh., & Yao, H.Y. (2005). Determination of 266 pesticide residues in apple juice by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography-mass selective detection. *Journal of Chromatography A*, 1063, 201-210.
- Cserhati, T., & Szogyi, M. (2012). Chromatographic determination of pesticides in foods and food products. *European Chemical Bulletin*, 1(3-4), 58-68.
- Daxenberger, A. (2002). Pollutants with androgen-disrupting potency. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, 124-130.
- Dasika, R., Tangirala, S., & Naishadham, P. (2012). Pesticide residue analysis of fruits and vegetables. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 4(2), 19-28.
- Di Muccio, A., Fidente, P., Barbini, D. A., Dommarco, R., Seccia, S., & Morrica, P. (2006). Application of solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry to the determination of neonicotinoid pesticide residues in fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1108 (1), 1-6.
- Domotorova, M., Hercegova, A., & Matisova, E. (2006). Monitoring of pesticide residues in apples from Slovakia for baby food production. *Czech Journal of Food Sciences*, 24(2), 84-92.
- Државен завод за статистика на Република Македонија. (2015). Полјоделство, овоштарство и лозарство, 53.
- Fenik, J., Tankiewicz, M., & Biziuk, M. (2011). Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. *Trends in Analytical Chemistry*, 6(30), 814-826.
- Fernández, L. E. M. (2007). Introduction to ion trap mass spectrometry: application to the structural characterization of plant oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 68, 797-807.
- Food and Agricultural Organization of the United Nations. (2017). CropsFood and Agricultural Organization of the United Nations. Преземено на 15.08.2017 г. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

- Furlani, R. P. Z., Marcilio, K. M., Leme, M. F., & Tfouni, S. A. V. (2011). Analysis of pesticide residues in sugarcane juice using QuEChERS sample preparation and gas chromatography with electron capture detection. *Food Chemistry*, 126, 1283-1287.
- Galeano, M. P., Scordino, M., Sabatino, L., Pantò, V., Morabito, G., Chiappara, E., Traulo, P., & Gagliano, G. (2013). UPLC/MS-MS Analysis of six neonicotinoids in honey by modified QuEChERS: Method development, validation, and uncertainty measurement. *International Journal of Food Science*. Hindawi Publishing Corporation Article ID 863904, 7pages <http://dxdoi.org/10.1155/2013/863904>
- Garcia-Reyes, J., Molina-Diaz, A., Amadeo, R., & Fernandez-Alba, R. A. (2007). Identification of pesticide transformation products in food by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry via "Fragmentation-Degradation" Relationships. *Analytical Chemistry*, 79, 307-321.
- Giordano, G., Afsharinejad, Z., Guizzetti, M., Vitalone, A., Kavanagh, T., & Costa, L. G. (2007). Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 219(2), 181-189.
- Giza, I., & Sztwiertnia, U. (2003). Gas chromatographic determination of azoxystrobin and trioxystrobin residues in apples. *Acta chromatographica* 13, 226-229.
- Gaikwad, P. V. (2012). Ultra performance liquid chromatography: A recent novel development in HPLC. *Pharmacie globale international journal of comprehensive pharmacy*, 01, 1-3.
- Giroud, B., Vauchez, A., Vulliet, E., Wiest, L., & Bulete, A. (2013). Trace level determination of pyrethroid and neonicotinoid insecticides in beebread using acetonitrile-based extraction followed by analysis with ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1316, 53-61.
- Grahovac, M., Inđić, D., Lazić, S., & Vuković, S. (2009). Biofungicidi i mogućnosti primene u savremenoj poljoprivredi. *Pestic. fitomed. Beograd*, 24(4), 245-258.
- Gray, L. E., Wolf, C., Lambriht, C., Mann, P., Price, M., Cooper, R., & Ostby, J. (1999). Administration of potentially antiandrogenic pesticides (procymidone, linuron, iprodione, chlozolate, p, p'-DDE and ketoconazole) and toxic substances (dibutyl and diethylhexyl phthalate, PCB 169, and ethane dimetane sulphonate) during



- sexual differentiation produces diverse profiles of reproductive malformation in the male rat. *Toxicology and Industrial Health*, 15, 94-118.
- Grimalt, S., & Dehouck, P. (2016). Review of analytical methods for the determination of pesticides residues in grapes. *Journal of Chromatography A*, 1433, 1-23.
- Guo, C., Lj, J. Z., Guo, B. Y., & Wang, H. L. (2010). Determination and safety evaluation of difenoconazole residues in apples and soil. *Bulletin of Environmental Contamination and toxicology*, 85, 427-431.
- Gupta, P. K. (2011). *Reproductive and Developmental Toxicology*, 503–521.
- Гулабоски, Р. (2014). Хемиска контрола на квалитетот на производите. Универзитетот „Гоце Делчев“, Штип, 14-18.
- Харви, Д. (2009). Модерна аналитичка хемија. *Просветно дело*, Скопје, 39-44, 563-580.
- Hayes, W. J., & Laws, E. R. (1990). *Handbook of Pesticide Toxicology*, Vol. 3, Classes of Pesticides. Academic Press, Inc., NY. 119-180.
- Hiraoka, K., & Kudaka, I. (1992). Negative-mode electrospray-mass spectrometry using nonaqueous solvents. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 6, 265-268.
- Holb, I., Heijne, B., Withagen, J., Gáll, J., & Jeger, M. (2005). Analysis of summer epidemic progress of apple scab at different apple production systems in the Netherlands and Hungary; *Ecology and Epidemiology*. The American Phytopathological Society, 9(95), 1001-1020.
- Ivanović, M., Gašić, K., Čalić, A., Kuzmanović, N., Ivanović, M., & Obradović, A. (2011). Analiza masnih kiselina sojeva *Erwinia amylovora* iz Srbije i Crne Gore. *Pestic. Phytomed. (Belgrade)*, 26(1), 61-69.
- Jokanović, V. (2014). Instrumentalne metode kluc za razumevanje nanotehnologija i nanomedicine. *Inzenerska Akademija Srbije, Institut za nuklearne medicine "Vinca"*, Beograd, 530-569.
- Jovanov, P., Guzsvany, V., Franko, M., Lazic, S., Sakac, M., Milovanovic, I., & Nedeljkovic, N. (2014). Development of multiresidue DLLME and QuEChERS based LC-MS/MS method for determination of selected neonicotinoid insecticides in honey liqueur. *Food Research International* 55, 11-19.
- Каров, И. (2012). Фитофармација. Интерна скрипта. Универзитет Гоце делчев Штип, Земјоделски факултет Штип.

- Kong, Z., Shan, W., Dong, F., Liu, X., Xu, J., Li, M., & Zheng, Y. (2012). Effect of home processing on the distribution and reduction of pesticide residues in apples. *Food Additives and Contaminants*. 29(8), 1280-1287.
- Кулеванова, С., Стефков, Ѓ., Карапанцова, М., & Цветковиќ, И. (2012). Екстракција и изолација на природни состојки, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ Скопје, Фармацевтски факултет Скопје, 7-8.
- Kaihara, A., Yoshii, K., Tsumura, Y., Nakamura, Y., Ishimitsu, S., & Tonogai, Y. (2000). Multiresidue analysis of pesticides in fresh fruits and vegetables by Supercritical fluid extraction and HPLC. *Journal of health Science*, 46(5) 336-342.
- Kang, H. G., Jeong, S. H., Cho, J. H., Kim, D. G., Park, J. M., & Cho, M. H. (2004). Chlorpyrifos-methyl shows anti-androgenic activity without estrogenic activity in rast. *Toxicology*, 199(2-3), 219-230.
- Kataoka, H., Lord, H. L., & Pawliszyn, J. (2000). Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 880(1-2), 35-62.
- Knezevic, Z., & Serdar, M. (2009). Screening of fresh fruits and vegetables for pesticide residues on Croatian market. *Food control*. 20(4), 419-422.
- Koesukwiwat, U., Lehotay, S. J., Miao, S., & Leepipatpiboon, N. (2010). High throughput analysis of 150 pesticides in fruits and vegetables using QuEChERS and low-pressure gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*1217(43), 6692-703.
- Korban, S. S., & Skrivin, R. M. (1984). Nomenclature of the cultivated apple. *Horticultural Science*, 19, 177-180.
- Kovalczuk, T., Lacina, O., Jech, M., Poustka, J., & Hajšlova, J. (2008). Novel approach to fast determination of multiple pesticide residues using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). *Food Additives and Contaminants*, 25(4), 444-457.
- Kumar, P., Singh, S. P., Shrikant, K., & Madhukar, D. (2011). Analysis of buffalo liver samples for the presence of chloropyrifos residues by using high performance liquid chromatography. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 35(4), 219-226.
- Листа на дозволени активни материи. (2013). Службен весник на Република Македонија, 105.

- Li, Y., Pang, G.F., Fan, Ch. L., & Chen, X. (2013). Hierarchical cluster analysis of matrix effects on 110 pesticide residues in 28 tea matrixes. *Journal of AOAC International*, 96(6), 1453-1465.
- Liu, X., Dong, F., Qin, D., & Zheng, Y. (2010). Residue analysis of kresoxim-methyl and boscalid in fruits, vegetables and soil using liquid-liquid extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Biomed Chromatogr.* 24(4), 367-73.
- Łozowicka, B. (2015). Health risk for children and adults consuming apples with pesticide residue. *Science of total Environment*, 502, 184-198.
- Łozowicka, B., Kaczynski, P., Rutkowska, E., Jankowska, M., & Hrynko, I. (2013). Evaluation of pesticide residues in fruit from Poland and health risk assessment. *Agricultural Sciences* 4, 106-111.
- Łozowicka, B., Miciński, J., Zwierzchowski, G., Kowalski, I. M., & Szarek, J. (2012). Monitoring study of pesticide residues in cereals and foodstuff from Poland. *Polish Journal of Environmental Studies*, 21(6), 1703-1712.
- Lacey, C. N. D., & Campbell, A. I. (1987). Selection, stability and propagation of mutant apples. In *Improving Vegetatively Propagated Crops*, ed. A.J. Abbott and R.K. Atkin. New York Academic Press, 351-361.
- Lambropoulou, D. A., & Albanis, T. A. (2007). Method of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography-mass spectrometry-based techniques: A review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389, 1663-1683.
- Lavagnini, I., Magno, F., & Seraglia, R. (2006). *Quantitative Applications of Mass Spectrometry*, John Willey & Sons, Ltd. 3-34.
- Liu, X., Wang, X., Xu, J., Dong, F., Song, W., & Zheng, Y. (2011). Determination of tebuconazole, trifloxystrobin and its metabolite in fruit and vegetable by a Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QuEChERS) method using gas chromatography with a nitrogen-phosphorus detector and ion trap mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*, 25, 1081-1090.
- Министерство за земјоделство, шумарство и водостопанство. (2010). Факти и бројки, 13-14.
- Maroni, M., & Fait, A. (1993). Health effects in man from long term exposure to pesticide. *Inter.Centre for Pesticide Safety WHA Elsevier Sci.Publ.Ireland Ltd.* 1-180.

- Morales, A., Ruiz, I., Oliva, J., & Barba, A. (2011). Determination of sixteen pesticides in peppers using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 46, 525-529.
- Mackialeagha, M., & Farahani, M. (2012). Investigation of the residues of chlorpyrifos and diazinon in apple fruit in Damavand region. *Journal of Environmental Studies*, 38(62), 34-36.
- Mariani, M. B., Giannetti, V., Testani, E., & Ceccarell, V. (2013). Direct immersion- solid phase microextraction for the determination of chlorinated pesticide residues in tomatoes by gas chromatography with an electron capture detector. *Journal of AOAC International*, 96(6), 1430- 1434.
- Mayer, V. R. (2004). *Practical high-performance liquid chromatography* (forth edition), John Willy & Sons, Ltd., West Sussex, UK. 4-33.
- Miletić, N., & Tamaš, N. (2009). Integralna zaštita jabuke. Zbornik radova II Savetovanja „Inovacije u voćarstvu“, Beograd, 95-106.
- Mills, P. A., Onley, J. H., Guither, R. A. (1963). Rapid method for chlorinated pesticide residues in nonfatty foods. *Journal Association of Official Analytical Chemist*, 46, 186-191.
- Moreno, F. L. J., Garrido, A., Frenich, G. A., Bolanos, P. P., & Vidal, M. L. J. (2008). Multiresidue method for the analysis of more than 140 pesticide residues in fruits and vegetable by gas chromatography coupled to trip quadrupole mass spectrometry. *Journal of Mass spectrometry*, 43, 1235-1254.
- Muñoz, E., Muñoz, G., Pineda, L., Serrahima, E., & Centrich, F. (2012). Multiresidue method for pesticide residue analysis in food of animal and plant origin based on GC or LC and MS or MS/MS. *Journal of AOAC International* 95(6), 1777-1796.
- Nikolić, D., & Fotirić, M. (2009). Oplemenjivanje jabuke u svetu. Zbornik radova II Savetovanja „Inovacije u voćarstvu“. Poljoprivredni fakultet, Katedra za voćarstvo, Beograd, 5-23.
- Народна банка на Република Македонија. (2017). Надворешно-трговска размена. Преземено на 20.08.2017 [http://www.nbrm.mk/nadvorieshno\\_trghovska\\_razmiena.nspх](http://www.nbrm.mk/nadvorieshno_trghovska_razmiena.nspх)
- Narwate, B. M., Ghule, P. J., Ghule, A. V., Darandale, A. S., & Wagh, J. G. (2014). Ultra performance liquid chromatography: A new revolution in liquid chromatograph. *International Journal of Pharmaceutics and drug analysis*. 2(1), 25-34.

- Navalon, A., Prieto, A., Araujo, L., & Vilchez, J. L. (2002). Determination of pyrimethanil and kresoxim-methyl in green groceries by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, 975, 355-360.
- Navarro, M., Pico, Y., Marin, R., & Manes, J. (2002). Application of matrix solid-phase dispersion to the determination of a new generation of fungicides in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 968, 201-209.
- Navickiene, S., & Ribeiro, M. L. (2004). A simplified procedure for determination of clofentezine residues in fruits by liquid chromatography with UV detection. *Quimica Nova*, 27(5), 744-746.
- Niessen, W. M. A. (2006). *Liquid chromatography mass spectrometry*. Third edition, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 53-179.
- Општина Ресен, Пристапено на 18.10.2016 г.  
<http://www.resen.gov.mk/Default.aspx?LCID=262>
- O'Mahony, J., Clarke, L., Whelan, M., O'Kennedy, R., Lehotay, J. S., & Danaher, M. (2013). The use of ultra high pressure liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection in the analysis of agrochemical residues and mycotoxins in food-Challenges and application. *Journal of Chromatography A*, 1292, 83-95.
- Ortelli, D., Edder, P., & Corvi, C. (2004). Multiresidue analysis of 74 pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 520, 33-45.
- Павловска, Г. (2010). Инструментални аналитички методи. Интерна скрипта. Универзитет "Св. Климент Охридски" - Битола, Технолошко-технички факултет Велес, 9-10, 64-85.
- Pang, G. F., Fan, C. L., Liu, Y. M., Cao, Y. Z., Zhang, J.J., Fu, B.L., Li, X.M., Li, Z. Y., & Wu, Y.P. (2006). Multi-residue method for determination of 450 pesticide residues in honey, fruit juice and wine by double-cartridge solid-phase extraction/gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Additives and Contaminants*, 23(8), 777-810.
- Пејчиновски, Ф. & Митрев, С. (2007). Земјоделска Фитопатологија (специјален дел), Универзитет "Гоце делчев"- Штип: Монографија, 104-105, 119, 308-313.
- Петропулос, И. В., & Гулабоски, Р. (2014). Инструментални методи за анализа. Интерна скрипта. Универзитет Гоце Делчев-Штип, 2-3, 33-90.

- Passarella, I., Elia, I., Guarino, B., Bourlot, G., & Negre, M. (2009). Evaluation of the field dissipation of fungicides and insecticides used on fruit bearing trees in northern Italy. *Journal of Environmental Science and Health-Part B Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes* 44, 137-143.
- Paulin, J.P. (1996). Control of fire blight in European pome fruits. *Outlook on Agriculture*, 25, 49-55.
- Picó, Y., Blasco, C., & Font, G. (2004). *Mass Spectrometry Reviews*, 23, 45.
- Правилник за општите барања за безбедност на храната во однос на максимално дозволените нивоа на резидуи од пестициди во или врз храната. (2013). *Службен весник на Република Македонија*, 156, 3-4.
- Patil, V. P., Tathe, R. D., Devdhe, S. J., Angadi, S. S & Kale, S. H. (2011). Ultra performance liquid chromatography: A Review. *International research journal of pharmacy (IRJP)* 2(6), 39-44.
- Perihan, A., Ambrus, A., Lehotay, J. S., & Cannavan, A. (2007). Validation of an efficient method for the determination of pesticide residues in fruits and vegetables using ethyl acetate for extraction. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 42, 481-490.
- Petkovski, E. (2012). Abatement at apple during storage in adapted warehouses depending on the variety. *Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences (JAFES)*, 58, 34-38.
- Phipps, J. B. (1990). A checklist of the subfamily maloideae (rosaceae). *Canadian Journal of Botany*, 68(10), 2209.
- Poulsen, E. M., Naef, A., Gasser, S., Christen, D., & Rasmussen, H. P. (2009). Influence of different disease control pesticide strategies on multiple pesticide residue levels in apple. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 58-61.
- Radišić, M., Grujić, S., Vasiljević, T., & Lausević, M. (2009). Determination of selected pesticides in fruit juices by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 113, 712-719.
- Rahman, M. F., Mahboob, M., Danadevi, K., Saleha, B.B., & Grover, P. (2002). Assessment of genotoxic effects of chlorpyrifos and acephate by the comet assay in mice leucocytes. *Mutation Research*, 516, 139-147.
- Rodrigues, D., Carvalho, T., Sousa, A., Neto, S.V., Fachine, P., & Nascimento, R. (2011). Determination of insecticide residues in vegetal fruits, SAGE-Hindawi access to

research chromatography research, International Volume, Article ID 713256, 6 pages

- Rodriguez, R., Pico, Y., Font, G., & Manes, J. (2002). Analysis of thiabendazole and procymidone in fruits and vegetables by capillary electrophoresis-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 949, 359-366.
- Racke, K.D. (1992). The environmental fate of chlorpyrifos. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 131.
- Radišić, M. (2013). Razvoj i primena metode tecne hromatografije-tendem masene spektrometrije za odregjivanje pesticide u voću i voćnim sokovima. Doktorska disertacija, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd.
- Randhawa, M. A., Anjum, M. F., Asi, M. R., Butt, S. M., Ahmed, A., & Randhawa, S. M. (2007). Removal of endosulfan residues from vegetables by household processing. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 66, 849-852.
- 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 andamending Council Directive 91/414/EEC. (2005). *Official Journal of the European Union*,1-16.
- Schenck, J., Lehotay, S.J., &Vega, V. (2002). Comparison of solid phase extraction sorbents for cleanup in pesticide residue analysis of fresh fruits and vegetables. *Journal of Separation Science*, 25, 883-890.
- Shafi, M., Imran, M., Sarwar, M., Kalsoom, S.,& Mujahid, H. (2014). A study of pesticide residues in different fruits collected from different fruit markets of Lahore, Punjab. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 20(4), 298-303.
- Simonović, I., Krsmanović, I., Babić, Z., Šovljanski, R.,& Marić, D. (1989). Uticaj kaptanskog preparata, Orticida S-50 na reproduktivne procese kod pacova. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, 77, 5-13.
- Singh, Sh. B., Mukherjee, I., Maisnam, J., Kumar, P., Gopal, M.,&Kulshrestha, G. (2009). Determination of pesticide residues in integrated pest management and nonintegrated pest management samples of apple (*Malus pumila* Mill.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 11277-11283.
- Sinha, S. N., Bhatnagar, V. K., Doctor, R., Toteja, G. S., Agnihotri, N. P.,& Kalra, R. L. (2011). A novel method for pesticide analysis in refined sugar samples using a gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS/MS) and simple solvent extraction method. *Food Chemistry*, 126, 379-386.

- Slowik-Borowiec, M., Szpyrka, E., Kurdziel, A., Grzegorzak, M., & Matyaszek, A. (2012). Assessment of the pesticide residue occurrence in fruit from the south eastern region of Poland during 2010-2011 seasons. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 20, 119-126.
- Soler, C., Mañes, J., & Picó, Y. (2008). The role of the liquid chromatography-mass spectrometry in pesticide residue determination in food. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 38, 93-117.
- Ског, А. Д., Вест, М. Д., Холер, Ф. Ц & Кроуч. (2009). Аналитичка хемија – Вовед. Просветно дело, Скопје, 638-699.
- Stocska, J., & Biziuk, M. (2015). Multiresidue method for determination of currently used pesticides in fruits and vegetables using QuEChERS technique. *International Journal of Environmental science and development*, 6(1), 18-22.
- Статистички годишник на Република Македонија. (2016). Државен завод за статистика на Република Македонија, 560.
- Статистички годишник на Република Македонија. (2016). Државен завод за статистика на Република Македонија, 446.
- Sadło, S., Szpyrka, E., Jaźwa, A., & Zawiślak, A. (2007). Pesticide residues in fruit and vegetables from Southeastern Poland 2004-05. *Polish Journal of Environmental Studies*, 16(2), 313-319.
- Sanusi, A., Guillet, V., & Montury, M. (2004). Advanced method using microwaves and solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for the determination of pyrethroid residues in strawberries. *Journal of Chromatography A*, 1046, 35-40.
- Schardein, L. J., & Macina, O. T. (2000). *Human Developmental Toxicants: Aspects of Toxicology and Chemistry*. CRS Press. 149-152.
- Schermerhorn, G. P., Golden, P. E., Krynitsky, A. J., & Leimkuehler, W. M. (2005). Determination of 22 triazole compounds including parent fungicides and metabolites in apples, peaches, flour and water by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of AOAC International* 88 (5), 1491-1502.
- Seelam, Ch. Sh., Priyanka, G., Dhanalakshmi, K., & Nagarjuna, R. (2013). Switch from HPLC to UPLC: A novel achievement in liquid chromatography technique-A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 21(1), 38, 237-246.



- Sheree, T. B., Betarbet, R., & Greenamyre, J. T. (2001). Pesticides and Parkinson's Disease. *The Scientific World*, 1, 207-208.
- Sinha, S. N., Vasudev, K., Vishnu, M., & Rao, V. (2012). Quantification of organophosphate insecticide and herbicides in vegetable samples using the "Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe" (QuEChERS) method and a high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry (LC-MS/MS) technique. *Food Chemistry* 132, 1574-1584.
- Sivaperumal, P., Anand, P., & Riddhi, L. (2015). Rapid determination of pesticide residues in fruits and vegetables, using ultra-high-performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. *Food chemistry* 168, 356-365.
- Soler, C., Manes, J., & Pico, Y. (2006). Determination of carbosulfan and its metabolites in oranges by liquid chromatography ion trap triple-stage mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1109, 228-241.
- Srivastava, B., (2010). Ultra performance liquid chromatography (UPLC): A chromatography technique. *International Journal of Pharmaceutical Quality assurance*. 2(1), 19-25.
- Stensvand, A., Gadoury, D., Amundsen, A., Semb, T., & Seem, C. R. (1997). Ascospore release and infection of apple leaves by conidia and ascospores of *Venturia inaequalis* at low temperatures. *American Phytopathological Society*, 87(10), 1046-1053.
- Štěpán, R., Ticha, J., Hajslova, J., Kovalcuk, T., & Kocourek, V. (2005). Baby food production chain: Pesticide residues in fresh apples and products. *Food Additives and Contaminants*, 22(12), 1231–1242.
- Straub, R.F., & R.D. Voyksner. (1993). Negative ion formation in electrospray mass spectrometry. *Journal of American Society for Mass Spectrometry* 4, 578-587.
- Swartz, M. E. (2005). Ultra performance liquid chromatography UPLC: an introduction. *Separation science redefined*. 1, 8-14.
- Szpyrka, E., & Walorczyk, S. (2013). Dissipation kinetics of fluquinconazole and pyrimethanil residues in apples intended for baby food production. *Food Chemistry* 141, 3525-3530.
- Šovljanski, R., & Živanović, B. (1979). Ethylene thiourea (ETU) content of ethylene bisdithiocarbamate commercial formulations from Yugoslav production under the normal storage conditions; *CIPAC Symp. Series* 1, 170-175.

- Šovljanski, R. (1986). Toksikološki efekti ftalimidnih fungicida (kaptan, kaptafol i folpet). Jugoslovensko savetovanje o primeni pesticide, Opatija, 8, 59-72.
- Šovljanski, R., & Lazić, S. (2007). Osnovi fitofarmacije. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 15-34.
- Šovljanski, R. I., & Lazić, S. (2004). Pesticidi u zaštiti jabuke i nivni ostaci. Voćarstvo i vinogradarstvo, 3, 26-29.
- Šovljanski, R. (1978). Prilog proučavanju toksikologije savremenih pesticide. Zbornik IX savetovanja o primeni pesticide, Poreč, 41-56.
- Šovljanski, R., Šimit, Z. K., & Indiđ, D. (2004). Najrizičniji insekticidi i fungicide u zaštiti voćaka. Pestic. Phytomed. (Belgrade), 19, 9-18.
- Thomson, S.V. (1992). Fire blight of apple and pear. In: Jumar J, Chaube HS, Singh US and Mukhopadhyae AN (eds) Plant Diseases of International Importance. Prentice Hall, New Jersey, 3, 32-65.
- Torres, C.M., Pyco, Y., & Manes, J. (1996). Determination of pesticide residues in fruit and vegetables. Journal of Chromatography A, 754, 301-331.
- The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification: 2004. (2005). World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Takatori, S., Okihashi, M., Okamoto, Y., Kitagawa, Y., Kakimoto, S., Murata, H., Sumimoto, T., & Tanaka, Y. (2008). A rapid and easy multiresidue method for the determination of pesticide residues in vegetables, fruits, and cereals using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Journal of AOAC International, 91(4), 871-83.
- Taleuzzaman, M., Ali, S., Gilani, S. J., Imam, S. S., & Hafeez, A. (2015). Ultra performance liquid chromatography (UPLC) - A Review. Austin Journal of Analytical and Pharmaceutical Chemistry 2(6), 1056.
- Trifunović, Š. B. D., Vuković, G. Lj., Jovanović-Radovanov, K. D., Bursić, V.P., & Meseldžija, M. U. (2015). Determination of linuron in chamomile by LC-MS/MS using the QuEChERS extraction method. Journal Pesticides and Phytomedicine (Belgrade), 30(2), 115-120.
- Tsakiris, I. N., Danis, T. G., Stratis, I. A., Nikitovic, D., Dialyna, I. A., Alegakis, A. K., & Tsatsakis, A. M. (2004). Monitoring of pesticide residues in fresh peaches produced under conventional and integrated crop management cultivation. Food Additives and Contaminants, 21(7), 670-677.

- Tsoutsis, C. S., Konstantinou, I. K., Hela, D. G. (2008). Organophosphorus pesticide residues in Greek virgin oil: levels, dietary intake and risk assessment. *Food Additives and Contaminants*, 25(10), 1225-1236.
- United States Department of Agriculture. (2017). Dietary guidelines for Americans, 2015-2020. Посетено на 18.08.2017, <https://www.cnpp.usda.gov/dietary-guidelines>
- Valcke, M., & Bouchard, M. (2009). Determination of no-observed effect level (NOEL)-biomarker equivalents to interpret biomonitoring data for organophosphorus pesticides in children. *Environmental Health*. 8(5). doi: 10.1186/1476-069X-8-5
- Vas, G., & Vékey, K. (2004). Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry*, 39(3), 233-54.
- Walorczyk, S., & Drozdzyński, D. (2011). Development and validation of a routine multiresidue method for determination 140 pesticides in fruits and vegetables by gas chromatography tandem quadrupole mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 94(5), 1625-1642.
- Walorczyk, S., Drozdzyński, D., Kowalska, J., Starosta, D. R., Ziolkowski, A., Przewozniak, M., & Gnusowski, B. (2013). Pesticide residues determination in Polish organic crops in 2007-2010 applying gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry. *Food chemistry*, 139, 482-487.
- Wagner, E. D., McMillan, S. M., & Piewa, M. J. (2005). Cytotoxicity of organophosphorus ester (OP) insecticides and cytotoxic synergism of 2-acetoxyacetylaminofluorene (2AAAF) in Chinese Hamster Ovary (CHO) cells. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75(2), 329-334.
- Wang, J., Leung, D., & Chow, W. (2010). Applications of LC/ESI-MS/MS and UPLC QqTOF MS for the Determination of 148 Pesticides in Berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 5904–5925.
- Watson, J. T., & Sparkman, O. D. (2007). *Introduction to Mass Spectrometry. Instrumentation, Applications and Strategies for Data Interpretation*, Fourth Edition, John Wiley & Sons, Ltd. 3-28.
- Xiao, C.L., & Boal, R. J. (2009). Residual activity of fludioxonil and pyrimethanil against *Penicillium expansum* on Apple fruit. *Plant Disease*, 93(10), 1003-1008.
- Xie, H., & Du, X. (2016). Analysis of chlorpyrifos in water, soil and cabbage samples by solid phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Asian Journal of Chemistry*, 28(9), 1992-1996.

- Џексон, Џ. (2009). Биологија на јаболка и круши. Табернакул, Скопје, 22-40.
- Yeh, S. P., Sung, T. G., Chang, C. C., Cheng, W., & Kuo, C. M. (2005). Effects of an organophosphorus insecticide, trichlorfon on hematological parameters of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture*, 243, 383-392.
- Yu, S., Qin, D., Wu, Q., Guo, X., Han, L., & Jiang, S. (2011). Residue and dissipation dynamics of flusilazole in apple and soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86, 319-322.
- Zhang, H., Wang, X., Qian, M., Wang, X., Xu, H., Xu, M., & Wang, Q. (2011). Residue analysis and degradation studies of fenbuconazole and myclobutanil in strawberry by Chiral High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 12012-12017.
- Zhou, Y. W., Han, L. T., Cheng, J., Guo, F., Zhi, X. R., Hu, H., & Chen, G. (2010). Dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of a floating organic droplet for simultaneous analysis of diethofencarb and pyrimethanil in apple pulp and peel. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, DOI 10.1007/s00216-010-4567-x
- Zhang, Y., Xu, J., Dong, F., Liu, X., Li, X., Li, Y., Wu, X., Liang, X., & Zheng, Y. (2013). Simultaneous determination of four neonicotinoid insecticides residues in cereals, vegetables and fruit using ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytical Methods* 5, 1449-1455.