

PREDVIĐANJE PUTA RAZGRADNJE IMIDAKLOPRIDA U TLIMA MASLINIKA ISTRE I KVARNERA

Lorencin Pucić, Anika

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:321298>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-29**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Anika Lorencin Pucić

PREDVIĐANJE PUTA RAZGRADNJE IMIDAKLOPRIDA U TLIMA MASLINIKA ISTRE I
KVARNERA

Diplomski rad

Rijeka, 2022.

Mentor rada: izv.prof.dr.sc. Dalibor Broznić, dipl.sanit.ing.

Diplomski rad obranjen je dana ____25.03.2022.____ na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv.prof.dr.sc. Sandra Pavičić Žeželj, dipl.sanit.ing.
2. doc.dr.sc. Dijana Tomić Linšak, dipl.sanit.ing.
3. izv.prof.dr.sc. Dalibor Broznić, dipl.sanit.ing.

Rad sadrži ____69____ stranica, ____7____ slika, ____7____ tablica,
____67____ literaturnih navoda.

SADRŽAJ

| | |
|---|----|
| 1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA..... | 11 |
| 1.1 UVOD..... | 2 |
| 1.2 TEORIJSKI DIO | 5 |
| 1.2.1 TLO..... | 5 |
| 1.2.2 PESTICIDI..... | 12 |
| 1.3 DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA IMIDAKLOPRIDA | 21 |
| 2. CILJ ISTRAŽIVANJA | 26 |
| 3. MATERIJALI I METODE | 28 |
| 3.1 MATERIJALI..... | 29 |
| 3.1.1 EKSPERIMENTALNA TLA | 29 |
| 3.1.2 KEMIČALIJE..... | 29 |
| 3.1.3 INSTRUMENTI I APARATURA..... | 30 |
| 3.2 METODE..... | 31 |
| 3.2.1 ODREĐIVANJE FIZIKALNO-KEMIJSKIH SVOJSTAVA TLA | 31 |
| 3.2.2 RAZGRADNJA IMIDAKLOPRIDA U TLU | 34 |
| 3.2.3 EKSTRAKCIJA I ANALIZA IMIDAKLOPRIDA | 35 |
| 3.2.4 MATEMATIČKI MODELI KORIŠTENI ZA OPISIVANJE RAZGRADNJE IMIDAKLOPRIDA U TLU..... | 36 |
| 3.2.5 STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA | 39 |
| 4. REZULTATI..... | 41 |
| 4.1 FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA TLA | 42 |
| 4.2 KINETIKA RAZGRADNJE IMIDAKLOPRIDA U TLIMA KRKA I ISTRE UZ PRIMJENU MATEMATIČKIH MODELA | 43 |
| 4.2.1 RAZGRADNJA IMIDAKLOPRIDA U TLU KRK I ISTRA..... | 43 |
| 4.2.2 USPOREDBA MATEMATIČKIH MODELA PRIMIJENJENIH ZA OBJAŠNJENJE RAZGRADNJE IMIDAKLOPRIDA U TLU ISTRA | 45 |
| 4.2.3 USPOREDBA MATEMATIČKIH MODELA PRIMIJENJENIH ZA OBJAŠNJENJE RAZGRADNJE IMIDAKLOPRIDA U TLU KRK | 46 |
| 4.2.4 PROCJENA VREMENA DT_{50} IMIDAKLOPRIDA U TLIMA KRK I ISTRA NA OSNOVU PRIMIJENJENIH MATEMATIČKIH MODELA | 47 |

| | |
|--|----|
| 4.2.5 UTJECAJ SVOJSTAVA TLA NA POSTOJANOST IMIDAKLOPRIDA U TLIMA ISTRE I KVARNERA | 52 |
| 5. RASPRAVA..... | 54 |
| 6. ZAKLJUČAK | 58 |
| 7. LITERATURA..... | 60 |

ZAHVALA

Zahvaljujem mentoru izv.prof.dr.sc. Daliboru Brozniću što mi je omogućio da svoj studij privedem kraju pružajući mi neiscrpnu inspiraciju. Veliko hvala na iznimnoj strpljivosti, vrijednim sugestijama, moralnoj podršci i vjeri u mene te ukazanoj mi pomoći u povremeno teškim trenucima.

Istraživanje je provedeno u okviru znanstveno-istraživačkog projekta uniri-biomed-18-155-1304 s potporom Sveučilišta u Rijeci voditelja izv. prof. dr. sc. Dalibora Broznića.

SAŽETAK

U suvremeno doba poljoprivreda se suočava s velikim problemom primjene prekomjernih količina kemijskih sredstava (insekticida) u suzbijanju raznih štetnika i njihovih razvojnih oblika, često puta bez ikakve kontrole i provođenja redovitih monitoringa njihovih ostataka u okolišu. U skupinu najčešće primjenjivanih insekticida prvenstveno zbog visoke učinkovitosti, selektivnosti i dugotrajne zaštite nasada ubraja se neonikotinoidni insekticid imidakloprid. U Hrvatskoj imidakloprid je učinkovito sredstvo u zaštiti šećerne repe, ali svoju primjenu pronašao je i u maslinicima Kvarnera i Istre u zaštiti od bolesti i štetnika na kulturama maslina, pogotovo u suzbijanju maslinove muhe (*Bactrocera oleae*). Iako je aktivan pri niskim dozama, njegova višekratna primjena tijekom sezone rasta i nekontrolirana uporaba predstavljaju javno-zdravstveni problem zbog ulaska u ciklus kruženja tvari u okolišu s toksičnim potencijalom prema vodnim resursima, tlu, zraku i živim bićima. Proučavana je postojanost imidakloprida u tlima maslinika s područja Istre i otoka Krka u ovisnosti o koncentraciji insekticida i fizikalno-kemijskim karakteristikama tla te kinetika razgradnje uz primjenu matematičkih modela. Rezultati ukazuju da je brža razgradnja imidakloprida u tlu Istra nego u tlu Krk, uzrokovana višim kationskim izmjenjivačkim kapacitetom i višem udjelu organskog ugljika i gline. Pri višoj dozi imidakloprida (5 mg/kg) Model kinetike prvoga reda najbolje opisuje razgradnju u tlu Krk dok se u tlu Istra uočava bifazna razgradnja. Bifazno ponašanje razgradnje je uočeno kod oba tla pri nižoj dozi imidakloprida (0,5 mg/kg). Vrijeme poluživota od 91 dan ubraja imidakloprid u umjereno postojane pesticide. Pretpostavka je da se u tlu Istra razgradnja imidakloprida odvijala uz abiotičku kiselu hidrolizu te da u ovom blago kiselom tlu, veliki udio gline uzrokuje vezu između brzina sorpcije i razgradnje i na taj način olakšava i ubrzava reakciju hidrolize. U tlu Krk prisutnost mikrobne populacije vjerojatno je utjecala na postojanost imidakloprida, a istodobno nije postignuta poveznica s procesima sorpcije. Rezultati ukazuju da se matematičko modeliranje može koristiti kao vrlo prikladan alat za predviđanje postojanosti imidakloprida kojim se omogućuje praćenje ostataka imidakloprida u onečišćenom tlu. Nadalje, primjena imidakloprida treba biti strogo kontrolirana, posebno u tlima s niskim sadržajem organske tvari gdje je rizik od onečišćenja tla i podzemnih voda visok zbog dulje postojanosti i mogućnosti površinskog ispiranja i procjeđivanja kroz tlo.

Ključne riječi: imidakloprid, matematičko modeliranje, postojanost, razgradnja, tlo

ABSTRACT

Nowadays, agriculture industry faces with the great problem of applying excessive chemicals (insecticides) amounts in the controlling of various pests and their developmental forms, often without any control and regular monitoring of their residues in the environment. One the most commonly used insecticides, primarily due to its high efficiency, selectivity and long-term plantation protection is the neonicotinoid insecticide imidacloprid. In Croatia, imidacloprid is most used as an an effective mean in the protection of sugar beet, but its application has been recorded in Kvarner and Istria olive orchards for the protection of olive tree against diseases and pests such as olive fruit fly (*Bactrocera oleae*). Although imidacloprid is active at low doses, its repeated application during the growing season and uncontrolled use, poses it as a public health problem since it was entered to the matter cycle in the environment with toxic effect for aquatic resources, soil, air and living beings. The imidacloprid persistence in the soils from Istria and the Krk island olive orchards as a function of the insecticide concentration and physicochemical soil characteristics was studied and analyzed by mathematical modelling. The results of the study indicate that the degradation of imidacloprid was more rapid in the Istria soil than in the Krk soil what is caused by higher cation exchange capacity and higher organic carbon and clay content in Istria soil. At a higher concentration used (5 mg/kg), the first-order kinetics model gives the best description of imidacloprid degradation in the Krk soil, while the biphasic degradation is observed in the Istria soil. Biphasic degradation was observed in both soils at a lower imidacloprid concentration (0.5 mg/ kg). Whit half-life of 91 days in analyzed soils, imidacloprid belongs to the group of moderately persistent pesticides. It can assumed that in the Istria soil, imidacloprid degradation took place by abiotic acidic hydrolysis where high clay amount stimulated imidacloprid sorption and accelerated the hydrolysis reaction. In the Krk soil, the presence of microbial populations probably affected the imidacloprid persistence, and no connection between degradation and sorption processes was achieved. The results of the study indicate that mathematical modeling can be used as a suitable tool for prediction of imidacloprid persistence, which allows monitoring of imidacloprid residues in contaminated soils. Furthermore, the use of imidacloprid should be carried out under strictly controlled conditions, especially in soils with low organic matter content where the potential of soil and groundwater contamination by imidacloprid is high due to its longer persistence and surface leaching and moving through the soil profile.

Key words: imidacloprid, mathematical modeling, persistence, degradation, soil

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1.1 UVOD

Od davnina jedan od primarnih ciljeva ljudske populacije je osiguravanje dovoljne količine hrane za prehranu ljudi. Stoga se u suvremeno doba svjetska poljoprivreda isprofilirala kao jedna od najvažnijih industrijskih grana i predstavlja stup razvitka svake države. Prvi pisani tragovi o obradi tla datiraju još 8000. godina prije Krista na području današnje Azije gdje se obrada tla provodila pokraj velikih rijeka u površinskim slojevima jer se smatralo da je tamo tlo najplodnije. Međutim, u suvremeno doba zbog nedostatnih količina hrane nastoje se eksploatirati svi dijelovi tla vodeći pri tome računa samo o ekonomskoj isplativosti, ali ne i o održavanju kvalitete obradivog tla. To ima za posljedicu da je povećanje poljoprivrednih prinosa često usko povezano s primjenom enormnih količina kemijskih sredstava (insekticida) u kontroli rasta i razvoja raznih štetnika i njihovih razvojnih oblika, često puta bez ikakve kontrole čak i bez provođenja redovitih monitoringa njihovih ostataka u okolišu. (1) Dominantne skupine insekticida koje se primjenjuju u kontroli štetnika su organofosforni insekticidi koji imaju neurotoksično djelovanje, karbamati koji inhibiraju enzim acetilkolin esterazu (AChE) i piretroidi, inhibitori enzima jetre. Velik problem koji stvaraju česte i nekontrolirane primjene ovih kemijskih sredstava, osim njihove toksičnosti prema okolišu i živim bićima, je otpornost štetnika na primijenjena sredstva. Samim time, otpornost štetnika prema ovim kemijskim sredstvima ograničila je njihovu uporabu što je nametnulo potrebu za sintezom novih kemijskih sredstava. Prilikom sinteze novog insekticida, jedan od primarnih zadataka je njegova efikasnost u suzbijanju štetnika, ali ne smije se zaboraviti da njegov toksični učinak bude čim minimalniji na okoliš i ljudsku populaciju. Ovakve osobine su pokazali neonikotinoidni insekticidi koji se ubrajaju u jednu od najnovijih sintetiziranih skupina insekticida. Među prvim neonikotinoidima koji se isticao jakom insekticidnom aktivnošću i širokim spektrom djelovanja je imidakloprid kojeg je *United States Environmental Protection Agency* (USEPA) odmah nakon njegove prve primjene 1992. registrirala kao insekticidno sredstvo. Odmah nakon toga započinje ekspanzija njegove primjene, tako da je već 2001. postao jedan od najprodavanijih insekticida u svijetu. (2) Ubrzo se počeo koristiti i na području Republike Hrvatske i to vrlo uspješno u maslinicima Istre, Primorja i Dalmacije kao efikasno sredstvo u suzbijanju bolesti i štetnika na nasadima maslina, među kojima dominira maslinova muha - *Bactrocera oleae*. (3)

S jedne strane regulirana uporaba insekticida poradi povećanja prinosa u poljoprivredi, ali i očuvanju zdravlja ljudske populacije od različitih nametnika je opravdana i prihvatljiva, a s druge strane oni kao toksične tvari, predstavljaju opasnost za rast i razvoj mnogih korisnih organizama pa i samog čovjeka. Nadalje, u brojnim državama svijeta još uvijek ne postoje zakonske regulative kojima se kontrolira primjena i provodi redoviti monitoring nad primijenjenim insekticidnim sredstvima. Na taj način nekontrolirana primjena kemijskih sredstava može izazvati veliki problem uslijed opterećenja okoliša ovim tvarima i na taj način opteretiti vodni sustav, sustav tla i zraka, a budući da se njihovi ostaci mogu naći i u hrani i pitkim vodama posljedično mogu imati negativan učinak na zdravlje ljudi. (4) Daljnji njihov negativan učinak je što utječu na resintezu raznih toksičnih tvari prisutnih u okolišu, kao što su ispušni plinovi, otpadne vode iz tvorničkih postrojenja, ali i urbanih sredina, čime se opasnost za biosferu izrazito povećava, a samim time, njihovo dokazivanje i određivanje još više usložnjava. S ovim problemima susreću se zemlje cijeloga svijeta, pogotovo industrijski razvijene zemlje, a i Republika Hrvatska gdje se zaštititi resursa vode i tla te pročišćavanju otpadnih voda ne posvećuje dovoljna pažnja. Iz tog razloga jedan od primarnih zadataka državnog zakonodavstva je uravnoteženje odnosa razvitka i urbanizacije s proizvodnjom i primjenom toksičnih tvari npr. kao što su pesticidi preko dobro osmišljene strategije uređenja, iskorištavanja i zaštite resursa tla i vode. SAD i Kanada su prve svjetske države koje su započele s istraživanjima utjecaja toksičnih tvari na ekosustav tla, razvile su brojne testove toksičnosti za tlo i zakonsku regulativu za nadzor i kontrolu zagađenosti tla. Na području EU u određenim članicama među kojima je i Hrvatska prisutni su problemi na nivou zakonske regulative upravljanja tlom iz razloga jer članice Unije još uvijek razvijaju kriterije kvalitete i strategiju neovisno jedna o drugoj. Jedan od dokumenata koji je vezan za ispuštanje onečišćujućih tvari koji je Republika Hrvatska prihvatila 2008. god. je Stocholmska konvencija o postojanim organskim onečišćujućim tvarima iz 2001. godine. Konvencijom je propisano da su svi potpisnici u obvezi smanjiti ili spriječiti ispuštanje 12 postojanih pesticidnih spojeva u okoliš (aldrin, klordan, DDT, dieldrin, eldrin, heptaklor, heksaklorbenzen, mirex i toksafen, PCB-i, HCB, PCDD/PCDF). Na taj način postiglo bi se značajno smanjenje ili potpuno uklanjanje ispuštanja tih spojeva u okoliš na globalnoj razini. (5)

Na osnovu svega navedenog može se zaključiti da ekosustav tla ima jednu od najvažnijih uloga u postojanju ljudske populacije. Predstavlja vrlo složeni polifazni sustav građen iz krute, tekuće, plinovite i žive faze koji se neprestano mijenja u prirodnim ciklusima kruženja tvari i pritome održava

povoljnu strukturu i oslobađa hranjive elemente koji su neophodni za život u i na tlu. Međutim, zbog utjecaja različitih čimbenika (voda, vjetar, biljke, životinje, izmjena mineralnog sastava, kultiviranje, devastacija), a u novije vrijeme antropogenih učinaka mijenjaju se karakteristike tla, njegova struktura, konzistencija, boja, tekstura, temperatura, vlaga i fertilitet. Optimalan sastav krute faze tla čini oko 93% minerala i 7% organskih tvari, među kojima čestice gline i humusne tvari omogućavaju sorpciju raznih mikrozagađivala antropogenog podrijetla. Kada se mikrozagađivalo nađe u sustavu tla, vezano za čestice tla, započinju procesi koji utječu na njegov gubitak i razgradnju. Pod gubicima se podrazumjevaju procesi gdje matična molekula zadržava svoj prvotni oblik, a uključuje procese sorpcije, ispiranja i isparavanja. S druge strane procesima razgradnje matična molekula mijenja svoj prvotni oblik, odnosno razgrađuje se, a razgradnja obuhvaća fotokemijske, kemijske i mikrobiološke procese. (6, 7) Znanstvenim istraživanjima dokazano je da štetan učinak mikrozagađivala na ekosustav tla ovisi prvenstveno o stupnju vezivanja mikrozagađivala za komponente tla te da se stupanj toksičnog utjecaja mijenja ovisno o fizikalno-kemijskim osobinama mikrozagađivala i samoga tla. Iz tog razloga mikrozagađivala istih koncentracija imat će različit ekotoksikološki učinak na ekosustav tla. Nadalje, toksični učinak mikrozagađivala na ekosustav tla ne ovisi samo o stupnju vezivanja mikrozagađivala za komponente tla nego i o bioraspoloživoj frakciji mikrozagađivala koja se nalazi u otopljenom obliku i dostupna je mikroorganizmima tla za razgradnju. Bioraspoloživost mikrozagađivala u ekosustavu tla ovisna je o intenzitetu vezivanja mikrozagađivala za koloide tla gdje dominantnu ulogu u vezivanju ima organska tvar tla. Istraživanja su pokazala da jači intenzitet vezivanja mikrozagađivala prema različitim komponentama čvrste faze utječe na slabljenje fotokemijskih procesa razgradnje te da sorpcija mijenja ponašanje tvari i u drugim kemijskim reakcijama, kao što su hidroliza ili redoks reakcije. Procesu razgradnje imaju direktan učinak na postojanost mikrozagađivala, tj. vremensko razdoblje tijekom kojeg mikrozagađivalo ostaje u aktivnom obliku. Manje postojano mikrozagađivalo predstavlja manju opasnost po okoliš. S postojanošću mikrozagađivala povezano je i vrijeme njegova poluraspada (DT_{50}), odnosno vrijeme nakon kojeg se polovica početne koncentracije mikrozagađivala mikrobiološki ili kemijski transformira. Poznavanje procesa sorpcije i razgradnje mikrozagađivala u ekosustavu tla može biti efikasno sredstvo za modeliranje transporta i ponašanja mikrozagađivala u tlima, zaštiti životne sredine kroz razvijanje kriterija kvalitete, interpretaciji testova toksičnosti i remedijaciji zagađenih područja. (8)

1.2 TEORIJSKI DIO

1.2.1 TLO

Pedosfera je temelj cijelog života na planeti Zemlji. To je dio Zemljine kore, točnije površina kore, koja se sastoji od tla i njegovih procesa koji su kontinuirano aktivni. Također taj dio koegzistira s atmosferom, litosferom, hidrosferom, biosferom. Tlo je nastalo kao rezultat raspada Zemljinih stijena te se prema vrstama stijena mogu utvrditi i karakteristike tla. Na strukturu i sastav tla utjecaj imaju različiti čimbenici, poput: oborina, životinja, biljaka, vjetra, izmjene mineralnog sastava itd. Npr, u šumovitim područjima prevladava humusno tlo zbog raznolikosti biljnog i životinjskog svijeta te velike količine oborina, dok krška područja i pašnjaci imaju nisku plodnost zbog male količine oborina i male količine flore i faune.

Najznačajniji utjecaj na kvalitetu i plodnost tla čini antropogeni ili ljudski utjecaj. Industrijski, građevinski pa tako i kućanski nesansirani otpad, intenzivna poljoprivreda uz korištenje raznih kemijskih sredstava za zaštitu nasada u nekontroliranim uvjetima dovode do velike opterećenosti tla mikrozagađivačima. Kontinuirano opterećenje tla mikrozagađivačima može dovesti do tzv. neplodnog ili „jalovog“ tla koje nema mogućnost zadržavanja ili razgradnje mikrozagađivača što posljedično može dovesti do kontaminacije podzemnih i površinskih voda kao pitkih resursa, koji su neophodni za život ljudi. Zbog toga svaki antropogeni utjecaj na tlo treba biti detaljno proučen kako bi se utvrdio intenzitet negativnog učinka te kako taj negativni učinak spriječiti ili svesti na minimum. (9)

1.2.1.1 SVOJSTVA TLA

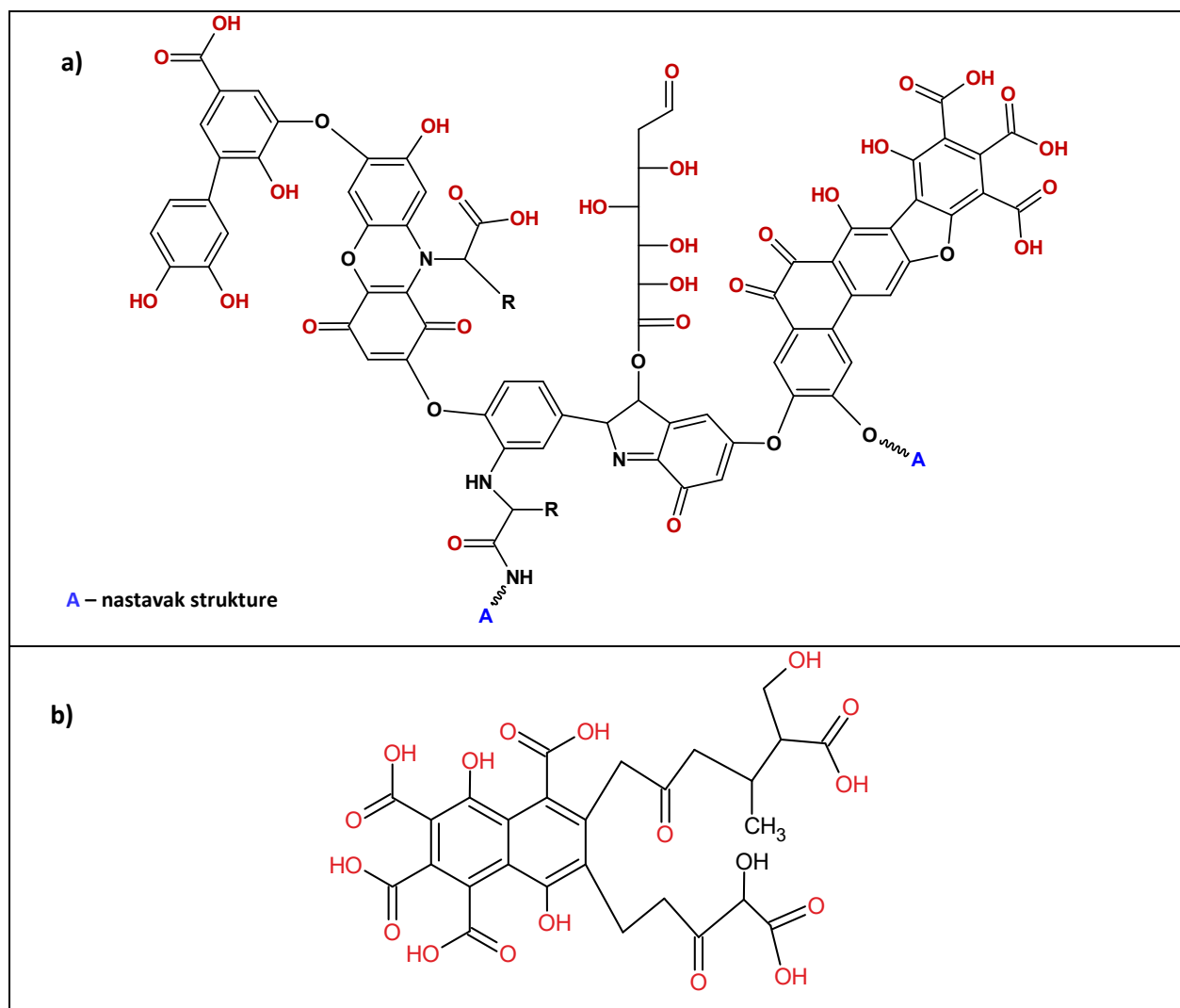
Kako bi se mogle pratiti promjene na nivou tla, potrebno je poznavati njegove fizikalne, kemijske i biološke karakteristike.

Fizikalne karakteristike tla

Fizikalne karakteristike uključuju boju, agregatna stanja, teksturu i poroznost tla. Boja tla može biti crvena, žuta, crna i siva. Crvena i žuta ovise o oksidaciji aluminija i željeza, crna je zbog velike količine humusa, dok se siva pojavljuje samo kod crnogoričnih šuma zbog izluživanja željeza. (10) Tlo je polifazni sastav koji se sastoji od krutog, tekućeg i plinovitog agregatnog stanja. Kruta faza tla dijeli se na organski (7%) i anorganski dio (93%). Organski dio je najbolji pokazatelj plodnosti i kvalitete tla za poljoprivredu jer sadrži žive organske tvari poput raspadnutih biljaka, životinja, gljiva i nežive organske tvari kojoj pripadaju humus i organski ostaci koji nisu potpuno razgrađeni. (11, 12) Iako je udio organske tvari mali u usporedbi s anorganskom, njezina prisutnost intenzivno utječe na čitav niz vrlo značajnih fizikalnih i kemijskih svojstava tla, kao što su struktura, kapacitet za vodu, sorpcija iona, sadržaj neophodnih elemenata itd. Organska tvar se prema veličini čestica može podijeliti na *inertnu* (krupnije čestice) organsku rezervu tla dok čestice koje imaju svojstva koloidnih micela čine *humus* (sitnije čestice). Humusne tvari su nepolarne tvari koje karakterizira velika specifična površina i visoka poroznost te aromatičnost strukture pa pokazuju jak afinitet vezivanja mikrozagađivala. Na osnovu topljivosti u otapalima mogu se podijeliti u tri skupine:

- a) **Huminske kiseline,**
- b) **Fulvinske kiseline,**
- c) **Humini.**

Huminske kiseline su visokomolekulski spojevi ($M_r > 10000$) koje se ekstrahiraju iz tla lužinom i stvaraju tamne želatinozne taloge, dok fulvinske kiseline su spojevi manje molekulske mase ($M_r = 1000 - 5000$) zaostaju u ekstraktu, nakon taloženja huminskih kiselina, stvaraju crvenkasto-žutu boju ekstrakta. Te dvije skupine su vrlo bitne kod zadržavanja mikrozagađivala u tlu jer imaju velike aktivne površine i imaju mogućnost interakcije i s polarnim i s nepolarnim tvarima (imaju hidrofilna i hidrofobna svojstva). Humini su skupina inertnih spojeva jer nisu topljivi ni u kojem otapalu. (12, 13) Na slici 1. prikazane su strukture huminskih i fulvinskih kiselina.



Slika 1. Prikaz strukture molekula huminskih a) i fulvinskih b) kiselina

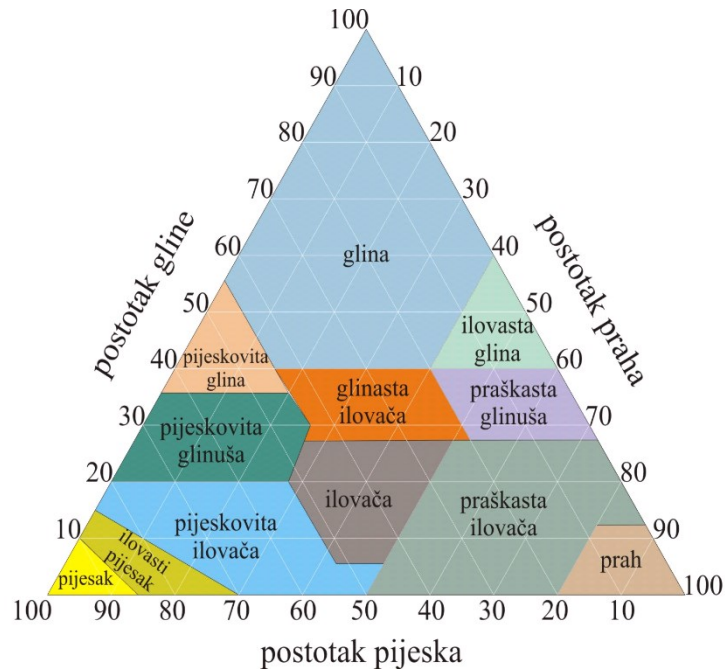
Anorganski ili mineralni dio tla sastoji se većinom od primarnih minerala (oko 80%) i od sekundarnih ili glinenih minerala (20%) različite veličine, međusobno povezanih, unutar kojih se javljaju pore različitih veličina ispunjene vodom i zrakom. Usitnjenost krute faze tla naziva se *tekstura*, a čestice koje se razlikuju prema obliku i veličini svrstavaju se u *frakcije* tla koje se mogu izraziti postotnim sadržajem u tlu.

Tablica 1. Klasifikacija čestica prema njihovom promjeru

| NAZIV FRAKCIJE | PROMJER FRAKCIJE |
|----------------|------------------|
| Kamen | >20mm |
| Šljunak | 2 – 20 mm |
| Pijesak | 0,02 – 2 mm |
| Prah | 0,002 – 0,02 mm |
| Glina | <0,002 mm |

Na prozračivanje i specifični toplinski kapacitet tla utječe poroznost tla. Visoka poroznost je karakteristična za šljunčano tlo što znači da takvo tlo zadržava malo vode i brzo se procjeđuje te se brzo zagrijava i brzo hladi. Tla s malim porama, sa sitnijim frakcijama kao što je glina, slabo se prozračuju i sporije se hlade i zagrijavaju. Međutim, zbog malog promjera čestica, glina ima veliku specifičnu površinu što pospješuje sorbiranje mikrozagađivala. (11)

Laboratorijskim metodama teksturne analize može se odrediti veličina čestica ovisna o materijalu iz kojeg je nastala procesom pedogeneze. Na slici 2. prikazan je relativni odnos između navedenih grupa čestica.



Slika 2. Teksturne klase tla

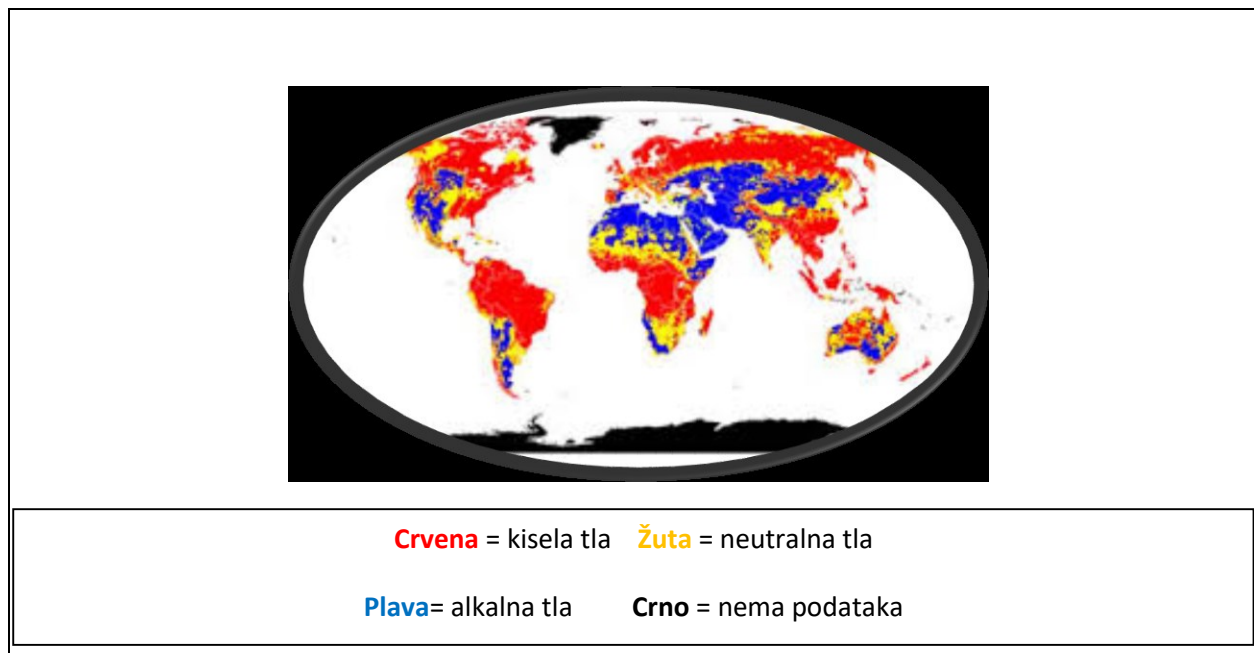
Kemijske karakteristike tla

Među najvažnija kemijska svojstva tla ubrajaju se kiselost i kapacitet izmjene kationa (KIK). Kiselost tla se iskazuje kao pH vrijednost, uključujući i mineralni i organski dio unutar vodene otopine tla, i ovisna je o koncentraciji prisutnih vodikovih iona u tlu. Ovisno o porijeklu vodikovih iona u tlu, kiselost tla može se podijeliti na:

- a) **aktualnu,**
- b) **izmjenjivu (supstitucijsku),**
- c) **hidrolitičku.**

Aktualna kiselost tla pokazuje prisutnost slobodnih vodikovih, aluminijskih i hidroksidnih iona u otopini tla koji se oslobađaju sa sorpcijskog kompleksa tla topljivim organskim ili mineralnim kiselinama, dok je supstitucijska kiselost tla određena prisutnošću vodikovih iona i dijelom iona aluminijskih i željeza koji se zamjenjuju sa sorpcijskog kompleksa tla uz djelovanje neutralnih soli (KCl ili CaCl₂). Hidrolitička kiselost tla se razlikuje od prethodno navedenih kiselosti po tome što se tlo tretira neutralnim solima kao npr. kalijevim kloridom ili bazičnim solima kao što su natrijev ili kalijev acetat. U reakciji nastaju jake lužine koje jako disociraju te lužnata reakcija omogućuje zamjenu vodikovih iona sa sorpcijskog kompleksa tla s kalijevim ili natrijevim ionima. Količina nastale kiseline ekvivalentna je količini vodikovih iona na sorpcijskom kompleksu tla pa se hidrolitička kiselost određuje neutralizacijom (titracijom) otopine tla s lužinom.

Na slici 3. je prikazana raspodjela tala globalnoj razini ovisno o kiselosti. Vidljivo je da na području Europe prevladavaju neutralna i kisela tla. Slična raspodjela je i u Republici Hrvatskoj. Mnogi čimbenici imaju utjecaj na kiselost tla: gnojidba, klimatske prilike, biološka aktivnost tla i fizikalna svojstva tla. Sama kiselost tla se mijenja tijekom vegetacijskog perioda što uključuje i utjecaj vlažnosti tla i vegetativni porast. (14)



Slika 3. Globalna kiselost tla

Kapacitet izmjene kationa (KIK) opisuje sposobnost tla da sorbira, zadržava i izmjenjuje katione. Humus i glina sadrže koloidne čestice velike specifične površine s električnim nabojem koji je u većini slučajeva negativan te privlače pozitivne naboje (katione) kako bi se neutralizirale. Zbog toga tla koja su bogatija organskim tvarima, većinom imaju i veći KIK prema siromašnijim organskim tlima. Najčešće vrijednosti KIK-a kreću se od 15 do 45 cmol(+)/kg tla. Kapacitet izmjene kationa u tlu često se određuje pomoću amonijevih iona. Najprije se u ekstraktu utvrdi sadržaj desorbiranih kationa te se nakon amonijevog vezivanja odredi ukupni kapacitet sorpcije. (5)

Biološke karakteristike tla

Biološka svojstva tla obuhvaćaju žive organizame prisutne u pedosferi, tj. tlu. Najzastupljenije su bakterije koje čine mikrofloru, a u makrofloru ubrajaju se mahovine, lišajevi, gljive, biljke, životinje, morske alge. Njihove uloge u tlu određuju biološka svojstva tla, kao npr.: razgrađivanje, usitnjavanje i nakupljanje organskih tvari, miješanje, agregiranje, dreniranje i prozračivanje tla i sudjelovanje u oksidacijama i redukcijama mineralnih elemenata ishrane. Može se reći da su organizmi prisutni na tlu i u tlu također bitni u biološkom kruženju tvari. (14)

1.2.1.2 TLO ISTRE I KVARNERA

Tla primorske Hrvatske koja između ostalog obuhvaća Kvarner i Istru koja su i proučavana ovim istraživanjem, ubrajaju se u tla koja su siromašna humusom. Za Kvarner su specifična tla crvenica, ali posjeduju i obilježja smeđeg tla koje nastaje na podlozi fliša, tj. na području gdje se sedimentne stijene izmjenjuju s laporima, pješčenjacima i vapnencima. Upravo zbog vapnenačke podloge, tla primorske Hrvatske siromašna su humusom. Istarska tla se u literaturi prikazuju kao visoko obradiva poljoprivredna područja primorske Hrvatske u odnosu na Kvarner gdje se jedino visoko obradivo područje smatra Vinodolska dolina. (15) Proučavajući upravo tla Primorja odnosno tla maslinika Istre i Kvarnera autori Broznić i Milin (16) u svom istraživanju utvrdili su da tla maslinika Istre sadrže veći udio gline (oko 40%), kiselija su ($\text{pH} < 5,5$) i imaju visoki udio humusa i organskih tvari, dok tla maslinika s područja Kvarnera, konkretno otoka Krka, imaju manji udio gline u tlu (oko 20%), lužnatija su ($\text{pH} > 7$) i vrlo malo humozna.

1.2.2 PESTICIDI

Riječ pesticid dolazi od latinskih riječi: *pestis* što znači kuga ili štetnik i *occidere* što znači ubiti. Pojam pesticid je definiran u dokumentu međunarodne organizacije Ujedinjenih naroda za poljodjelstvo te glasi: „Pesticid je bilo koja tvar ili mješavina tvari namijenjena sprječavanju, uništavanju ili suzbijanju bilo kojeg štetnika, kao što su prenositelji bolesti ljudi ili životinja koja uzrokuju štetu tijekom proizvodnje, preradbe, pohranjivanja, transporta ili trgovine hranom, poljodjelskim proizvodima, drvetom i drvenim proizvodima kao i stočnom hranom“. Povijest pesticida nije dovoljno dokumentirana, ali ono što je poznato je da se po prvi puta, prije 4500 godina, u Sumeriji spominje uporaba sumpora kao pesticida. Postoje zapisi o uljnim sprejevima i sumpornoj masti od strane Aristotela i Homera. Također je navedena uporaba modre galice tijekom vladavine Rimskog Carstva koja se i dan danas koristi za zaštitu vinove loze. Krajem 15. stoljeća počinju se koristiti toksični elementi (arsen, živa i olovo) te je ekstrahiran i nikotin sulfat koji se tada koristio kao insekticid. U 19. stoljeću otkriveno je još nekoliko vrsta pesticida koji se tijekom 20. stoljeća počinju enormno koristiti. Tako DDT, organoklorni insekticid, postaje glavna „*pesticidna revolucija*“ u suzbijanju komaraca i malarije 1939. godine. (17)

Pesticidi se mogu primjenjivati na različite načine u postupcima zamagljivanja, zaprašivanja, irigacije, premazivanja, prskanja, rasprašivanja i orošavanja te se sam pripravak pesticida može nalaziti u obliku praha, tableta, granula, kristala i emulzija. Postoje i pesticidi za fumigaciju koji djeluju u plinovitom stanju. Pesticid kao pripravak sastoji se od dva dijela:

- a) **Djelatna tvar,**
- b) **Nosač bez djelovanja.**

Djelatna tvar posjeduje pesticidni učinak, dok nosač, kao inertna komponenta, poboljšava djelotvornost i stabilnost iste, ali također može imati toksičan učinak na zdravlje.

Pesticidi su vrlo raspostranjeni u ljudskim djelatnostima. Najviše se koriste u poljoprivredi i gospodarstvu, zatim u drvnoj industriji, industriji papira, boje, pamuka, kozmetike i u prehrambenoj industriji. Koriste se i u komunalnim djelatnostima za održavanje cesta, parkova, aerodroma, sportskih terena te u domaćinstvu. (17, 18)

Postoje razne podjele pesticida koje uključuju podjele prema: *akutnoj otrovnosti, namjeni - meti djelovanja i kemijskoj strukturi djelatne tvari.*

Podjela prema akutnoj otrovnosti zasniva se na vrijednosti letalne doze, LD_{50} , koja pokazuje određenu otrovnost tvari. Uzima se srednja letalna doza koja je utemeljena na pokusnim životinjama i izražava se u mg tvari/kg mase životinje. Prema Pravilniku o mjerilima za razvrstavanje otrova u skupine (NN 27/99; 19), u Republici Hrvatskoj pesticidi se dijele u tri skupine:

- a) **I skupina** (Vrlo jaki otrov, simbol: T+; čija srednja smrtna doza (LD_{50}) za štakora per os iznosi do 25 mg/kg),
- b) **II skupina** (Otrov, simbol: T; čija srednja smrtna doza (LD_{50}) za štakora per os iznosi više od 25 mg/kg do 200 mg/kg),
- c) **III skupina** (Štetna tvar, simbol: Xn; čija srednja smrtna doza (LD_{50}) za štakora per os iznosi više od 200 mg/kg do 2000 mg/kg).

Prema namjeni, pesticidi se mogu podijeliti na:

- a) **zoocidi,**
- b) **fitocidi.**

Zoocidi su skupina pesticida koja se upotrebljava pri suzbijanju životinja. Dije se na pesticide prema meti djelovanja jer svaki pesticid ima određenu metu koju uništava. Naravno, ne mora nužno djelovati samo na određenu vrstu životinje, već može imati učinak i na ostale životinje. Prema meti djelovanja, zoocidi se mogu podijeliti na insekticide, rodenticide, nematocide, akaricide, moluscide i korvicide. Fitocidi su skupina pesticida koja se upotrebljava pri suzbijanju biljaka i fitopatogenih gljivica i bakterija, a to su herbicidi i fungicidi. (11, 20)

Ovisno o djelatnoj tvari, tj. o njenom kemijskom sastavu, pesticidi se mogu podijeliti u nekoliko skupina:

- a) **Organoklorni spojevi,**
- b) **Organofosforni spojevi,**
- c) **Karbamati,**
- d) **Piretrini,**
- e) **Neonikotinoidi. (18)**

Neonikotinoidi

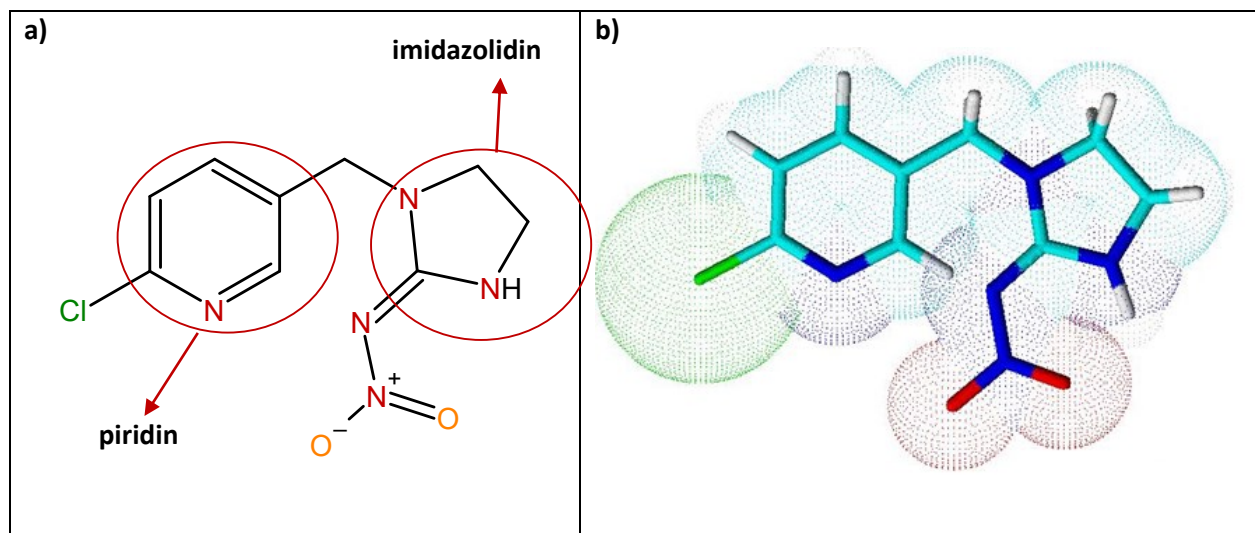
Neonikotinoidi su insekticidi na bazi nikotina koji se već stoljećima koristi kao insekticid u poljoprivredi. Istraživanja su pokazala kako neonikotinoidi imaju vrlo dobru učinkovitost suzbijanja insekata, a nisku toksičnost za sisavce. Međutim, pojedini novosintetizirani neonikotinoidi nisu bili fotokemijski stabilni što nije bilo povoljno za njihovu široku primjenu u poljoprivredi. 1985. godine po prvi puta je sintetiziran imidakloprid koji je pokazao visoku toksičnost prema insektima, nisku prema sisavcima i malu postojanost u tlu. Nakon njega sintetizirani su i drugi neonikotinoidi poput acetamiprida, nitenpirama, tiametoksama, tiakloprida, klotianidina i dinotefurana. Zbog svojih kvalitetnih svojstava počinju se primjenjivati kao jedni od najboljih insekticida. U svojoj kemijskoj strukturi posjeduju ravnolančane strukture i heterocikličke molekule s 5 ili 6 ugljikovih atoma. Na njih su još vezane razne skupine koje dodatno utječu na njihovu insekticidnost, toksičnost te općenito na njihova svojstva. Njihov mehanizam djelovanja ostvaruje se na način da se neonikotinoid nakon ulaska u sustav biljke razdijeli preko cijele biljke i to u vaskularnim tkivima, pri čemu ingestijom te biljke, insekt unosi insekticid u svoj organizam. Neonikotinoid ušavši u organizam veže se ireverzibilno na nikotinske acetilkolinске receptore te tako dovodi do blokiranja funkcije acetilkolineseteraze i funkcije receptora. Kao krajnji ishod insekt ostaje paraliziran i ugiba. Nikotinski acetilkolinški receptori se također nalaze i kod ljudi, međutim neonikotinoidi nisu toliko toksični za ljudsku populaciju. Selektivnost se očituje u potpuno drugačijoj građi receptora kod ljudi pri čemu se neonikotinoidi ne mogu vezati za ljudske receptore na razini mozga. Zbog toga se neonikotinoidi i razlikuju od ostalih insekticida jer su i do deset puta selektivniji. Neonikotinoidi se primjenjuju na razne načine: natapanjem tla, folijarnim prskanjem ili u granulama.

Međutim njihova toksičnost može se manifestirati i na ljudsku populaciju zbog dobre topljivosti u vodi i postojanosti u tlu identificirani su u površinskim i podzemnim vodama. Istraživanja pokazuju da neonikotinoidi, zbog svoje male molekulske mase i dobre topljivosti u vodi, mogu predstavljati veliku opasnost po ljudsku populaciju. Pronađeni su u mnogom voću i povrću gdje ih nije pranje i guljenje kore uklonilo. Očigledno je da su ljudi svakodnevno u doticaju s neonikotinoidima i stoga se nameće sve veća potreba za praćenjem njihove potencijalne opasnosti prema ljudima tj. analiziranjem njihovih razgradnih produkata i njihovom toksičnosti pri metaboličkim i fotokemijskim reakcijama. Najvećim proizvođačem i izvoznikom, na svjetskoj razini, neonikotinoida smatra se Kina. (21)

Kada se govori o neonikotinoidima u Republici Hrvatskoj, upotrebljavani su na oko 30% proizvodnih površina. 2018. godine od strane Europske unije izdaje se odluka o zabrani korištenja tri neonikotinoida: imidaklopid, klotianidin i tiametoksam na svim poljoprivrednim usjevima. Zabranjena je primjena neonikotinoida iz razloga istrebljenja medonosnih pčela koje su ugibale prilikom slijetanja na biljku koja je sadržavala neki od navedenih neonikotinoida. (22)

Imidaklopid

Imidaklopid, [1-(6-kloro-3-piridilmetil)-N-nitroimidazolidin-2-ilidenamin], prvi je sintetizirani neonicotinoid, vrlo jakog insekticidnog učinka i slabe toksičnosti na sisavce pri niskim primijenjenim dozama koji je Agencija za zaštitu okoliša u SAD-u (USEPA) registrirala za upotrebu kao pesticid. Mehanizam djelovanja se odvija na nivou živčanog sustava gdje djeluje kao agonist nikotinskih acetilkolinskih receptora čime na početku izaziva stimulaciju postsinaptičkih membrana receptora i prijenos živčanih impulsa. Budući se ne razgrađuje djelovanjem acetilkolin esteraze, dugotrajna stimulacija receptora dovodi do prekida prijenosa živčanih impulsa, oštećenja živčanog sustava i kao krajnjeg ishoda paralize i ugibanja insekta. U strukturi sadrži gvanidinsku skupinu zbog koje je omogućeno čvršće vezivanje, jači afinitet i selektivnost prema receptorima insekta. (16)



Slika 4. Kemijska struktura imidakloprida

Imidaklopid zbog izrazito visoke toksičnosti i učinkovitosti, potrebno je primjenjivati u niskim dozama (16) više puta tijekom sezone rasta. U hrvatskom prioblju, nalazi primjenu u maslinicima Istre i Kvarnera u suzbijanje maslinove muhe (*Bactrocera oleae*) (slika 5.). Maslinova muha je najopasniji nametnik drva masline jer napada list, cvijet i plod, a njezina infestacija obično započinje u jesen. Suzbijanje maslinove muhe je obvezno ukoliko je infestirano više od 5% plodova. Kvaliteta maslinova ulja dobivenog od infestiranih plodova bitno je lošija zbog velikog udjela kiselina, a također dobivena ulja ne odgovaraju propozicijama o kategorizaciji kvalitete ulja zbog promijenjenih organoleptičkih osobina.



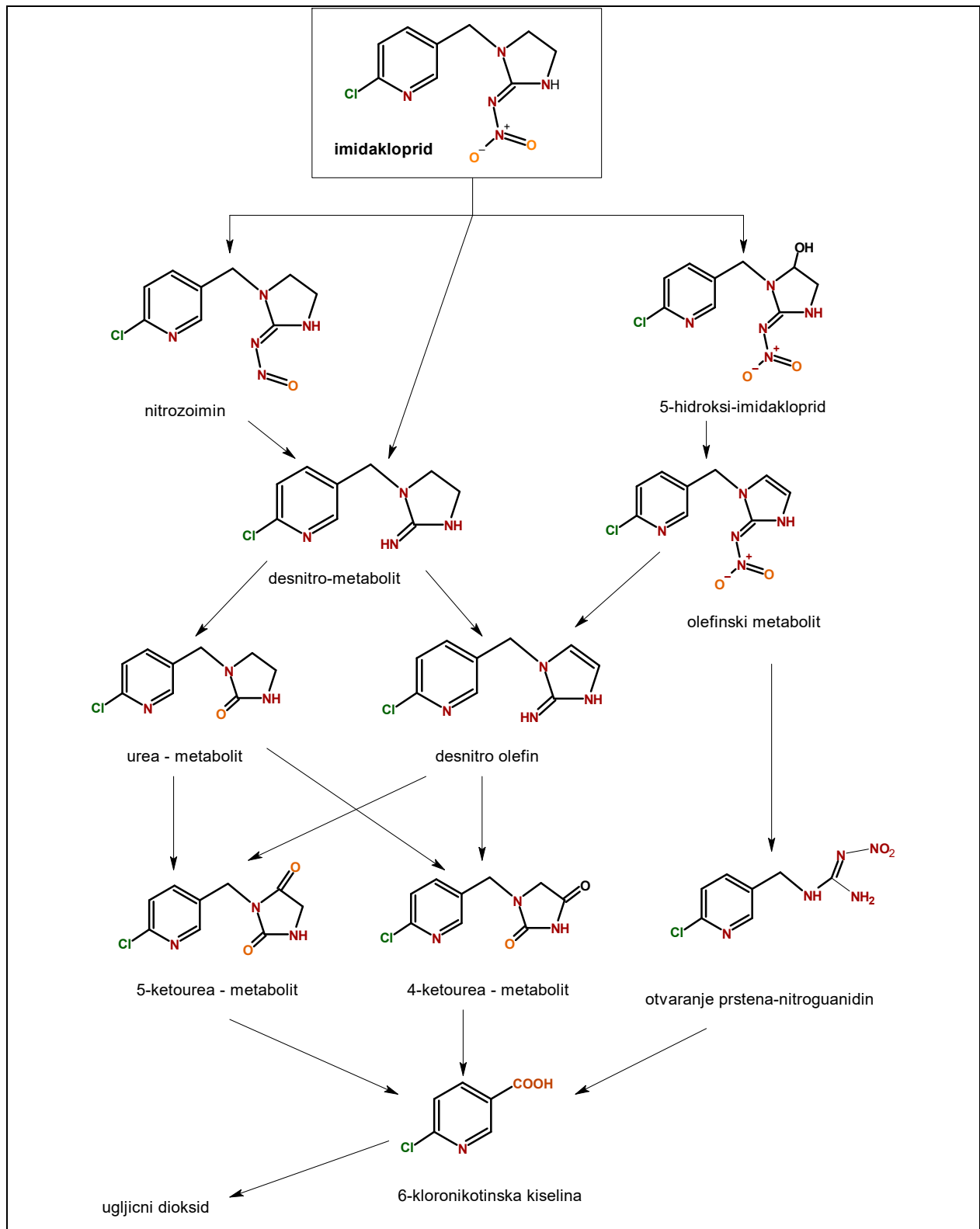
Slika 5. Maslinova muha, *Bactrocera oleae*

Ponašanje imidakloprida u tlu

Imidaklopid, u plinovitoj ili tekućoj fazi, dospijećem u sustav tla ulazi u procese svog gubitka i razgradnje. Gubici podrazumjevaju da se matična molekula imidakloprida ne raspada, odnosno zadržava svoj prvotni oblik. Najvažniji procesi uključeni u gubitke imidakloprida su sorpcija od strane koloida tla, ispiranje i isparavanje. Ovi procesi usko su povezani s pokretnosti imidakloprida kroz profil tla, odnosno utječu na jaču ili slabiju pokretnost insekticida. S druge strane razgradnja imidakloprida može se odvijati fotokemijskim, kemijskim ili mikrobiološkim procesima. Prilikom razgradnje, matična molekula imidakloprida se razgrađuje prilikom čega nastaju različiti pesticidno inaktivni spojevi koji mogu imati manji toksični učinak od materinske komponente, ali često metaboliti nastali razgradnjom mogu izrazito štetno djelovati na okoliš i na ljudsku populaciju. (11)

Može se zaključiti, da su procesi razgradnje i transporta imidakloprida vrlo usko međusobno povezani te da su karakteristike tla (proces sorpcije/desorpcije), klimatske prilike (proces ispiranja i isparavanja), mikrobiološka aktivnost (proces razgradnje) te same karakteristike imidakloprida (topljivost i postojanost) izrazito važni čimbenici koji će direktno utjecati hoće li se odvijati procesi razgradnje ili transporta imidakloprida u tlu.

Razgradnja imidakloprida u tlu obično se odvija u aerobnim uvjetima u mikrobno aktivnom tlu uz prisutnost različitih enzima. Glavni procesi razgradnje uključuju hidroksilaciju, dehidrogenaciju i oksidativno cijepanje. Metabolički put razgradnje imidakloprida u tlu prikazan je na slici 6. Hidroksilacijom imidazolidinskog prstena nastaju mono- i dihidroksilirani spojevi, nakon čega slijedi gubitak vode pri čemu nastaje olefinski metabolit. Drugi važan proces razgradnje započinje dehidrogenacijom imidazolidinskog prstena kako bi se formirao desnitro metabolit uz daljnju oksidaciju u 6-kloronikotinsku kiselinu. Glavni metaboliti razgradnje imidakloprida koji su identificirani u tlu uključuju imidaklopid-ureu, 6-kloronikotinsku kiselinu i 6-hidroksinikotinsku kiselinu (23), koja se u konačnici razgrađuje do CO₂ (24).



Slika 6. Prikaz razgradnje imidakloprida

Jedan od glavnih uzročnika toksičnog djelovanja pesticida je njihova postojanost u tlu te su znanstvena istraživanja usmjerena k objašnjenju mehanizama i čimbenika koji utječu na procese razgradnje, kako bi se identificirali i razgradni produkti, predvidjela njihova postojanost i toksičnost. Velik broj studija razgradnje pesticida pretpostavljaju da se razgradnja odvija jednostavnom kinetikom prvog reda (25, 26, 27, 28) što je prikazuje sljedeći izraz:

$$M_{(t)} = M_0 e^{-k_1 t} \quad (\text{I.})$$

U izrazu I. $M_{(t)}$ predstavlja količinu pesticida preostalu u trenutku t (mg/kg), M_0 početnu količinu pesticida, t je vrijeme (dani), a k je konstanta brzine razgradnje (1/dan). Ovakav matematički model je vrlo koristan za procjenu poluživota pesticida, DT_{50} (vrijeme u kojem količina pesticida dosegne polovicu svoje početne vrijednosti), a može se odrediti prema izrazu:

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k} \quad (\text{II.})$$

Poznavanje vrijednosti DT_{50} izrazito je važno jer ukazuje na direktan toksičan učinak pesticida na okoliš. To podrazumjeva, ako se molekula pesticida brzo razgrađuje ima nisku vrijednost DT_{50} , a time se i njezin utjecaj na okoliš smanjuje, ukoliko su metaboliti koji nastaju razgradnjom netoksični za okoliš. Suprotno, utjecaj na okoliš pesticidnih molekula s visokom vrijednošću DT_{50} može biti znatan čak iako molekula pokazuje umjerenu toksičnost. Gavrilescu (2005) je izvršio podjelu pesticida na osnovu njihove postojanosti, odnosno njihovim vrijednostima DT_{50} , u tri skupine, gdje se pesticidi s $DT_{50} < 30$ dana ubrajaju u nepostojane pesticide, u usporedbi s pesticidima s $DT_{50} > 100$ dani koji su postojani. (29)

U literaturi se mogu pronaći i odstupanja razgradnje pesticida od kinetike prvoga reda. Naime, uočena je početna brza faza razgradnje nakon koje je slijedilo postupno smanjenje brzine razgradnje do krajnje vrlo spore faze. Stoga je za objašnjenje ovakve kinetike razgradnje korišten matematički model s dvije konstante brzine razgradnje, tzv. bifazni model kinetike prvoga reda (30, 31, 32, 33) Ovaj model (izraz III.) upravo opisuje proces razgradnje koji se odvija između dva različita odjeljka s različitim brzinama koje su karakterizirane različitim konstantama (k_1 i k_2). Dva

parametra, M_1 i M_2 , iskazuju kvantitativnu raspodjelu između dva odjeljka, gdje je $M_1 + M_2$ približno jednako M_0 (mg/kg):

$$M_{(t)} = M_1 e^{-k_1 t} + M_2 e^{-k_2 t} \quad (\text{III.})$$

Brza razgradnja u prvom odjeljku dešava se kada se pesticid nalazi u fazi tlo-voda i lako je dostupan mikroorganizmima koji će započeti njegovu razgradnju. U drugom odjeljku pesticid je sorbiran na čestice tla. Stoga se može pretpostaviti, da će brzina razgradnje biti kontrolirana brzinom difuzije-desorpcije iz jednog u drugi odjeljak. U kojem odjeljku će se nalaziti pesticid ovisit će i o sorpcijskim svojstvima pesticida, ali i fizikalno-kemijskim karakteristikama tla. Ovakve pretpostavke upućuju da u ovakvim slučajevima DT_{50} neće biti dovoljan za utvrđivanje postojanosti pesticida. Stoga su Beulke i Brown (2001) preporučili uporabu DT_{90} kao indeksa rizika za utvrđivanje postojanosti pesticida, gdje DT_{90} predstavlja vrijeme koje je potrebno da se 90% početne molekule pesticida razgradi. (30)

1.3 DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA IMIDAKLOPRIDA

Imidaklopid, sistemski neonikotinoidni insekticid zbog visoke učinkovitosti, svestranosti i dugotrajne zaštite nasada pronašao je i primjenu u maslinicima na području Kvarnera i Istre u zaštiti od bolesti i štetnika na kulturama maslina, pogotovo u suzbijanju maslinove muhe (*Bactrocera oleae*). Iako se primjenjuje u niskim dozama, njegova primjena nekoliko puta tijekom sezone rasta kao i nekontrolirana primjena predstavljaju javno-zdravstveni problem jer je uslijed česte primjene ušao u ciklus kruženja tvari u okolišu s toksičnim potencijalom prema vodnim resursima, ekosustavu tla, zraka te naposljetku i na živa bića. Djeluje neurotoksično na način da se veže na acetilkolinску stranu nikotinskih receptora insekta pri čemu izaziva blokadu prijenosa živčanih impulsa što završava teškim tremorom, paralizom i smrću. Detaljno je proučavana njegova toksičnost, karcinogenost, genotoksičnost i reproduktivna toksičnost na štakorima i miševima uz primjenu akutne i kronične toksičnosti. Ulaskom u organizam započinje njegova intenzivna razgradnja i raspodjela po cijelom sustavu pa se njegovi ostaci i ostaci njegovih metabolita mogu naći u jetri, bubrezima, plućima i koži. (34) Nadalje, vrlo je interesantno da se u

potpunosti izlučuje iz organizma unutar 48 h i to većinskim dijelom putem urina (75%) dok se preostali dio može pronaći u fecesu. Nije dokazano njegovo karcinogeno djelovanje, ali kronična izloženost može uzrokovati promjene u tjelesnoj masi i kostima. Dobra osobina mu je da uslijed hidrofilnog karaktera i niskog $K_{ow}=3,72$ (koeficijent raspodjele između oktanol i vode) pokazuje minimalnu akumulaciju u biološkim ili masnim tkivima. Međutim, izrazito štetan učinak imidakloprida zabilježenje i na ne ciljane međutim korisne organizme kao što su pčele. To je izrazito probudilo svijest o potencijalnoj toksičnosti imidakloprida što će rezultirati njegovom potpunom i trajnom zabranom za svu vanjsku upotrebu u državama EU-a od 31. srpnja 2022 osim za primjenu u staklenicima. U preostalim državama svijeta ulažu se veliki naponi za smanjenjem primjene imidakloprida, ali s ograničenim uspjehom. Istraživanjem koje je provedeno na području Japana utvrđeno je da je intenzivna primjena imidakloprida uzrokovala smanjenje prosječne biomase zooplanktona za 83% u jezeru Shinji, odnosno smanjenje ribolovnog prinosa s 240 na 22 tone i time direktno utjecala na prehrambeni sustav Japana. Sa sličnim problemima suočile su se i Argentina i Nizozemska gdje su uočena smanjenja populacija ptica na obradivim površinama koje se nisu samo hranile kontaminiranim insektima nego i konzumirale površinsku vodu kontaminiranu imidaklopridom. Iako se smatralo da nije potencijalno opasan za akumulaciju u vodnom okolišu studije govore upravo suprotno. Upravo zbog stabilnosti na hidrolizu pri pH vrijednostima relevantnim za vodni okoliš utvrđena je njegova postojanost i teška biorazgradivost u vodenom okolišu s vremenom poluživota od 30 do 129 dana. U programu praćenja pesticida u Australiji, imidakloprid je najčešće otkriven insekticid s izrazito visokim vrijednostima od 4560 ng/L koje su pronađene u rijekama u blizini agroimanja. Nadalje, visoke koncentracije od 1660 ng/L otkrivene su u vodonosnicima u Brazilu nakon berbe duhana, u Nizozemskoj gdje su pronađene koncentracije 25 000 puta više od granice dopustivih. Ono što predstavlja problem na globalnoj razini jesu smjernice za kvalitetu vode u svezi s ograničenjem ostataka imidakloprida koje su značajno različite u različitim zemljama i kreću se u širokom rasponu od 130 do 1050 ng/L. (35, 36, 37)

Ekološki sustav tla iako jedan od najvažnijih sastavnih dijelova našega života, još uvijek nije prihvaćen kao takav. To podrazumjeva, da se imidakloprid još uvijek ne prati rutinski u tlu, iako je među svim „zagađivačima koji izazivaju zabrinutost“ prepoznat kao jedan od najbitnijih kojem treba posvetiti posebnu pozornost. Pod ovim pojmom definiraju se “tvari koje su otkrivene u okolišu, ali koje trenutno nisu uključene u rutinske programe praćenja na razini EU-a i čija sudbina, ponašanje i (eko)toksikološki učinci nisu još do sada dobro razjašnjeni”. Kada se

imidakloprid nađe u sustavu tla započinje čitav niz procesa koji utječu na njegovu sudbinu i ponašanje. S jedne strane su uključeni procesi gubitka materinske molekule imidakloprida, a s druge strane procesi njegove razgradnje. U tlima u kojima su vladali anaerobni uvjeti bez prisutnosti svjetla utvrđeno je da se imidakloprid lako razgrađuje i kao glavni metabolit razgradnje nastaje desnitro-imidakloprid s duljom postojanošću u odnosu na sami imidakloprid. S druge strane u aerobnim uvjetima i izloženosti svjetlu glavni produkti razgradnje bili su osim desnitro-imidakloprida, urea metabolit i 6-kloronikotinska kiselina. Upravo desnitro-imidakloprid izaziva veliku zabrinutost zbog izrazite topljivosti u vodi (230 g/L) što je mnogo više od topljivosti imidakloprida (0,61 g/L) i visokog afiniteta za acetilkolinske receptore sisavaca. (5, 16, 38) Poradi boljeg razumjevanja utjecaja pesticida na ekosustav potrebno je poznavati i njegovu postojanost odnosno vremensko razdoblje u kojem se pesticid nalazi u svom aktivnom obliku. Postojanost imidakloprida u tlu ovisi o raznim čimbenicima, kao što su: temperatura, vrsta tla, pH, prisutnost organskih tvari. Vrijeme poluživota (DT_{50}) predstavlja indeks postojanosti imidakloprida jer što se imidakloprid u svojem aktivnom obliku vremenski duže zadržava u tlu, njegova je postojanost veća, a samim time veća je i opasnost kontaminacije vodnih resursa, ali i štetnog djelovanja na ljude i okoliš. U literaturi se može pronaći vrlo široki raspon vrijednosti za DT_{50} imidakloprida. Kao jedan od razloga može se uzeti provedba eksperimenata uslijed terenskih i laboratorijskih uvjeta. Dobivene vrijednosti DT_{50} terenskih pokusa iznosile su od 40 do 130 dana (23), dok su u laboratorijskim uvjetima iznosile od 156 dana naviše što se pripisuje nedostatku mikrobne populacije u odnosu na terenska istraživanja. (27) Također, neke studije su provedene na ispitivanju utjecaja vegetacije, vlažnosti i temperature na razgradnju imidakloprida u tlu gdje je utvrđeno da u tlima s vegetacijom DT_{50} iznosi 110 dana, dok u tlima bez vegetacije iznosi 174 dana ukazujući na njegovu izrazitu postojanost. (39) Nadalje, na vrijednosti DT_{50} utječe i pH vodenog medija. Sarkar i suradnici su proveli istraživanje utjecaja pH na razgradnju imidakloprida te su utvrdili da se povećanjem pH povećava i DT_{50} odnosno raste njegova postojanost. (28) Krohn i suradnici proučavali su razgradnju imidakloprida u laboratorijskim uvjetima u mraku pri temperaturi od 20 °C te su utvrdili da je razgradnja postepena i prati kinetiku prvoga reda. Pretpostavili su da su manja uočena odstupanja od kinetike prvoga reda prisutna zbog pojačane sorpcije imidakloprida na koloide tla. (27) Istraživanja razgradnje imidakloprida koja su provedena na tlima u Indiji uz dvije primijenjene formulacije imidakloprida (Confidor 200 SL-200g/L-tekuća i Gaucho-700 mg/kg-praškasta) ukazala su da je razgradnja slijedila kinetiku prvoga reda s vrijednošću DT_{50} između 29

i 48 dana. (28) Baskaran i suradnici proučavali su kinetiku razgradnje imidakloprida na tlima u Australiji gdje se imidaklopid primjenjivao kao termicid u laboratorijskim uvjetima pri vrlo visokoj primijenjenoj dozi od 50 mg/kg tla (preporučena doza za kontrolu i suzbijanje termita u tlima Australije). Utvrdili su da razgradnja imidakloprida slijedi kinetiku prvoga reda s vremenom DT_{50} oko 1110 dana. (25) Može se zapaziti da je Model kinetike prvoga reda najčešće primjenjivani model za objašnjenje ponašanja razgradnje imidakloprida u tlu, ali prvenstveno zbog svoje jednostavnosti. (27) Međutim, razgradnja imidakloprida često puta može, ali i ne mora slijediti kinetiku prvoga reda. Jedan od mogućih odstupanja je prisutnost mikrobne populacije i različitost svojstava tla, poput gline i organskih tvari. (40) Iz tog razloga u proučavanju kinetike razgradnje imidakloprida u tlu bifazni kinetički modeli (bifazni model kinetike prvog reda, diskontinuirani bifazni model prvoga reda, model kinetike prvoga reda s dva odjeljka, Gustafson-Holden model itd.) trebaju biti korišteni. U većini slučajeva, razgradnja pesticidnih spojeva u prirodnim uvjetima pa tako i imidakloprida, odvija se u dvofaznom procesu slijedeći bifaznu kinetiku, odnosno smanjenje koncentracije se odvija u dvije odvojene faze, prvoj brzom i drugoj sporijoj. Prvu fazu koja se odvija unutar faze tlo-voda karakterizira brza mikrobna razgradnja lako dostupne i brzo desorbirajuće frakcije pesticida. U drugoj fazi, razgradnja je sporija zbog prisutne sorpcije molekula pesticida na česticama koloida tla ili njihovog “zarobljavanja” u mikroporama matriksa tla. (41, 42) Ukoliko se razgradnja pesticida odvija u dvije različite faze, nije dovoljno koristiti DT_{50} indeks kao jedini parametar za predviđanje postojanosti pesticida u tlu. Stoga je potrebno koristiti indeks postojanosti pesticida, DT_{90} , koji predstavlja vrijeme potrebno da se početna količina primijenjenog pesticida smanji za 90% svoje vrijednosti. (30, 32, 43)

U Hrvatskoj, kao članici EU, imidaklopid zauzima treće mjesto među najčešće primijenjivanim insekticidima za uporabu kao sprej ili u tretiranju sjemena. (11) Uz nekoliko drugih zemalja EU-a, Hrvatska je 2020. godine izdala hitno odobrenje za vanjsku upotrebu imidakloprida prvenstveno zbog njegove izrazite učinkovitosti u zaštiti šećerne repe. Također je vrlo učinkovit u suzbijanju protiv maslinove muhe (*Bactrocera oleae*), najvažnijeg štetnika u maslinicima. (16) Budući da, Mediteranska tla u koja se ubrajaju i tla s otočnog i priobalnog područja Republike Hrvatske obično imaju vrlo nizak udio organske tvari, a sami položaj plantaža maslina nalazi se u blizini Jadranskog mora, primjena imidakloprida predstavlja potencijalnu prijetnju za morski i obližnji vodeni ekosustav. Kako duljina hrvatske obale prelazi 1700 km i obuhvaća područja tala različitog geološkog podrijetla, tako se i fizikalno-kemijska svojstva tala

značajno razlikuju između pojedinih maslinika. Svakako treba napomenuti, da su podaci o ponašanju imidakloprida pogotovo o njegovoj razgradnji na tlima Mediterana i hrvatskim tlima vrlo oskudni. Iz tog razloga, a na temelju alarmantnih činjenica o toksičnosti imidakloprida na neželjene organizme i ekosustav, učestalosti njegovog otkrivanja u cijelom svijetu, visokog potencijala ispiranja mediteranskih tla i nedostatka informacija o ponašanju u tlima, provedeno je istraživanje razgradnje imidakloprida u tlima uzetim iz maslinika Istre i Kvarnera.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Imidaklopid, neonikotinoidni insekticid širokog spektra djelovanja, učinkovit je u suzbijanju raznih štetnikana na poljoprivrednim kulturama i to uz primjenu niskih doza (50 – 100 g/ha) u staklenicima, na poljima i oranicama, folijarnom tretmanu, tretmanu sjemena te u nepoljoprivrednoj praksi. U hrvatskom priobalju, imidaklopid se često koristi u maslinicima Istre i Kvarnera za suzbijanje maslinove muhe (*Bactrocera oleae*) na nasadima maslina.

S vrijednostima koeficijenta raspodjele između organskog ugljika i vode (K_{OC}) u rasponu od 132 do 310 L/kg, imidaklopid se ubraja u srednje pokretne pesticide, što ukazuje na njegov potencijal pokretnosti u tlu te dosizanja dubljih slojeva tla. Osim pokretnosti, razgradnja imidakloprida također značajno utječe na njegovu transformaciju. Brzine razgradnje imidakloprida u tlima izrazito variraju i ovisne su o eksperimentalnim uvjetima (terenskim ili laboratorijskim), kao i različitim čimbenicima kao što su temperatura, tip tla, pH, organska tvar, upotreba organskih gnojiva te prisutnost ili odsutnost pokrova tla.

Iako se imidaklopid intenzivno koristi u Republici Hrvatskoj, podaci o kinetici i njegovim ostacima nastalim uslijed razgradnje na hrvatskim tlima vrlo su oskudni. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi učinak fizikalno-kemijskih svojstava tla i početne koncentracije insekticida na kinetiku razgradnje imidakloprida i njegovu postojanost u laboratorijskim uvjetima, u dva eksperimentalna tla s područja Krka i Istre, koja se značajno razlikuju po kiselosti, sadržaju organske tvari i gline. Drugi cilj bio je procijeniti primjenu monofaznih i bifaznih matematičkih modela u simulaciji razgradnje imidakloprida, kako bi se predvidjela njegova postojanost i pretpostavili mogući mehanizmi razgradnje u tlu.

3. MATERIJALI I METODE

3.1 MATERIJALI

3.1.1 EKSPERIMENTALNA TLA

Uzorci eksperimentalnih tala uzeti su iz priobalnih područja Republike Hrvatske, a to su:

1. Otok Krk – područje naselja Punat (GPS koordinate: 45°21'24" N, 14°37'43" W);
2. Poluotok Istra – okolica grada Poreča (GPS koordinate: 45°18'02" N, 13°37'13" W).

Uzorkovanje je provedeno s površinskog oraničnog sloja tla, dubine do trideset centimetara, slijedeći standardnu metodologiju uzorkovanja (44). Sa svakog lokaliteta uzeto je pet uzoraka. Tla su dostavljena u laboratorij u plastičnim kutijama nakon čega su sušena na zraku, usitnjena u porculanskom tarioniku te prosijana kroz sito s otvorom promjera 2 mm. Tla s jednog lokaliteta su pomiješana i homogenizirana, nakon čega se pristupilo „čtvrtnanju“ kako bi se dobio reprezentativan uzorak. Uvjeti kojima su podvrgnuti uzorci tla bili su 80% vlažnost te temperatura 20 ± 1 °C. Uzorci tla nisu sadržavali imidakloprid što je provjereno utvrđivanjem njegovih ostataka pomoću Tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC).

3.1.2. KEMIKALIJE

- Kalcijev klorid (CaCl_2); Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Analitički standard imidakloprida; 99,9% čistoće; Riedel-de Haen, Hanover, Njemačka
- Acetonitril, HPLC analitičke čistoće, J.T.Baker, Deventer, Nizozemska
- Natrijev pirofosfat ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \times 10\text{H}_2\text{O}$); Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Sumporna kiselina (H_2SO_4); Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Kalijev dikromat($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$); Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Natrijev hidroksid (NaOH); Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Natrijev acetat (CH_3COONa); Kemika, Zagreb, Hrvatska
- Amonijev acetat ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$); Alkaloid, Skoplje, Makedonija
- Metanol (CH_3OH); Alkaloid, Skoplje, Makedonija

3.1.3. INSTRUMENTI I APARATURA

- Laboratorijski pH-metar; MP 220, MettlerToledo, Giessen, Njemačka
- Atomski apsorpcijski spektrofotometar (AAS); Perkin Elmer Analyst, Waltham, MA, SAD
- UV/VIS spektrofotometar; Cary 100 Bio WINUV, Varian, Melbourne, Australija
- Rotacijska miješalica; Unimax 1010, Heidolph, Schwabach, Njemačka
- Centrifuga; BR4i Multifunction, Thermo Electron Corporation, Saint-Herblain, Francuska
- Polipropilenski hidrofilni filter (0,45 μm); Whatman, Puradisc 25 TF, Piscataway, NJ, SAD
- Rotacijski vakuumski uparivač; Laborota 4001/03 Control, Heidolph, Njemačka
- Tekućinski kromatograf visoke djelotvorosti (HPLC)
 - Spectra; Thermo Separation Products, Riviera Beach, FL, USA
 - gradijentna binarna pumpa P2000
 - UV/VIS detektor UV2000
 - kromatografska kolona s obrnutom fazom; Hypersil Gold C18; dimenzija 150 x 4,6 mm, veličine čestica 5 μm , Thermo Electron Corporation, Runcorn, Velika Britanija
 - predkolona, Hypersil C18 Gold; dimenzija 10 x 4,6mm, veličine čestica 5 μm

3.2. METODE

3.2.1. ODREĐIVANJE FIZIKALNO-KEMIJSKIH SVOJSTAVA TLA

Određivanje mehaničkog sastava tla (45)

Mehanički sastav tla određen je tzv. metodom „pipetiranja“ s 0,4 M otopinom natrijeva pirofosfata ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \times 10 \text{H}_2\text{O}$). 10 g zrakosuhog tla pomiješano je s otopinom natrijeva pirofosfata i ostavljeno 24 h, nakon čega je suspenzija miješana na miješalici 6 h. Suspenzija je prebačena u cilindar volumena 1 L kroz sito s porama 0,2 mm koji je nadopunjen vodom do oznake. Frakcija krupnog pijeska (promjera 0,2 – 2mm) zaostaje na situ, a ostale frakcije prolaze kroz sito u cilindar. Frakcija krupnog pijeska je sušena i izvagana te izražena u postocima u odnosu na cjelokupnu masu tla. Čestice promjera 0,02 mm prelaze put od 10 cm za 4 minute i 48 sekundi, a čestice manjeg promjera od 0,002 mm isti put za 8 h. U tim vremenskim intervalima s dubine od 10 cm uzeto je 10 mL suspenzije. Dobivene frakcije su sušene i vagane. Izravno su dobivene samo dvije frakcije čestica tla, krupni pijesak i glina. Čestice praha (promjer 0,002 – 0,02 mm) dobivene su oduzimanjem mase čestica pipetiranih nakon 4 minute i 48 sekundi (prah i glina zajedno) i mase čestica gline, dok su sučestice sitnog pijeska (promjer 0,02 – 0,2 mm) dobivene oduzimanjem mase svih preostalih frakcija od ukupne mase tla.

Klasifikacija tla prema teksturi

Teksturna klasa tla određenaje na osnovu postotka pojedinih frakcija tla. Na osnovu udjela frakcije gline ili na osnovu sume praha i gline, podjelom prema Alterbergu (9, 46), teksturna klasa je određena kao što je prikazano u tablici 2.

Tablica 2. Teksturna klasa tla

| TEKSTURNA KLASA TLA | UDIO ČESTICA MANJIH OD 0,02 mm/% | UDIO ČESTICA MANJIH OD 0,002 mm/% |
|--------------------------------|---|--|
| Pjeskulja | do 10 | do 4 |
| Ilovasta pjeskulja | 10 – 25 | 4 – 9 |
| Pjeskovita ilovača | 25 – 40 | 9 – 15 |
| Obična ilovača | 40 – 50 | 15 – 20 |
| Teža ilovača | - | 20 – 25 |
| Glinasta ilovača | 50 – 75 | 25 – 36 |
| Teška glina | preko 75 | preko 36 |

Određivanje kiselosti tla

Kiselost tla određena je u suspenziji tla i deionizirane vode i 0,01 M kalcijeva klorida. pH tla je mjeren pH-metrom. Klasifikacijom prema Thun-u (47) određen je intenzitet kiselosti tla:

- pH < 4,5 – jako kisela reakcija;
- pH 4,5 – 5,5 – kisela reakcija;
- pH 5,5 – 6,5 – slabo kisela reakcija;
- pH 6,5 – 7,2 – neutralna reakcija;
- pH > 7,2 – alkalna reakcija.

Određivanje hidrolitičke kiselosti (HK) tla

Hidrolitička kiselost određena je Kappenovom metodom (48). Kappenova metoda je titrimetrijska metoda u kojoj dodavanjem otopine natrijevog acetata u tlo dolazi do izmjene vodikovih iona sa sorpcijskog kompleksa tla. Kao rezultat nastaje octena kiselina koja u titraciji s 0,1 M natrijevom lužinom (uz dodatak fenolftaleina) daje blago crvenkastoljubičastu boju otopine. Utrošak volumena natrijevog hidroksida se bilježi i preračunava u hidrolitičku kiselost prema formuli IV.:

$$HK = \frac{a \times k \times 10 \times 1,75 \text{ (cmol(+))}}{m \text{ (kg tla)}} \quad (\text{IV.})$$

U formuli IV. su:

- a – utrošak NaOH (0,1 mol/L);
- k – faktor lužine;
- m – alikvotna masa tla;
- 1,75 – popravak za nezamijenjene H⁺ ione.

Određivanje količine izmjenjivih kationa (KIK) tla

Kapacitet izmjene kationa (KIK) određen je metodom zamjene Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺ i Na⁺ iona sa sorpcijskog kompleksa tla s amonijevim ionima (NH₄⁺). (49) Koncentracija iona u otopini određena je na atomskom apsorpcijskom spektrofotometru (AAS) uz primjenu elektrotermičke atomizacije. Kapacitet izmjenjivih kationa tla određen je zbrajanjem hidrolitičke kiselosti tla i ekvivalentno preračunatih udjela kationa utvrđenih u uzorku tla.

Određivanje udjela humusa u tlu

Udio humusa u tlu određen je oksidacijom s 0,33 M otopinom kalijeva bikromata ($K_2Cr_2O_7$) i koncentriranom sumpornom kiselinom (H_2SO_4). (50) Nakon dodatka koncentrirane H_2SO_4 smjesa se stavlja na temperaturu između 98 i 100 °C, nakon čega je hlađena i razrijeđena destiliranom vodom. Na dobivenoj smjesi udio humusa analiziran je spektrofotometrijski pri 585 nm. Rezultat je izražen u postocima (%). Kao standard za izradu kalibracijskog pravca korištena je 10%-tna otopina glukoze gdje maseni udio humusa (%) predstavlja apscisu u kalibracijskom pravcu, a apsorbanca ordinatu. Radni standardi su pripremljeni s različitim razrjeđenjima glukoze koji odgovaraju različitim masenim udjelima ugljika. ($\% \text{ humusa} = \% C \times 1,724$; humus sadrži 58% C, $100/58 = 1,724$).

3.2.2. RAZGRADNJA IMIDAKLOPRIDA U TLU

Ishodna otopina imidakloprida (1 mg/mL) pripremljena je otapanjem odgovarajuće mase standarda imidakloprida u acetonitrilu. Razgradnja imidakloprida u tlu praćena je pri dvije ishodne koncentracije imidakloprida (0,5 i 5 mg/kg) u laboratorijskim uvjetima. Dodavanjem imidakloprida u tlo provedeno je prema proceduri koju su dali Gupta i Gajbhiye te je ista prilagođena uvjetima laboratorija i laboratorijskog instrumentarija. (42) 200 g tla pomiješano je s 10 mL ishodne standardne otopine imidakloprida kako bi se postigla koncentracija od 50 mg/kg. Tlo je preliveno metanolom te se smjesa miješala 1 h na rotacijskoj miješalici kako bi pesticid bio homogeno raspoređen u smjesi te je smjesa ostavljena 24 h radi potpunog isparavanja otapala. Nakon isparavanja otapala, tlo s imidaklopidom pomiješano je s netretiranim tlom kako bi se dobile krajnje koncentracije od 0,5 i 5 mg/kg. Za svaku koncentraciju imidakloprida analizirana su tri uzorka tla. Ostaci imidakloprida analizirani su tijekom 180 dana.

3.2.3. EKSTRAKCIJA I ANALIZA IMIDAKLOPRIDA

Postupak ekstrakcije imidakloprida iz tla proveden je s otopinom acetonitrila i vode u omjeru od 80:20 (V/V), uz uporabu rotacijske miješalice i centrifuge pri 6000 okr/min. Nakon centrifugiranja, uzorci su filtrirani preko polipropilenskog hidrofilnog filtera (veličina pore 0,45 μm). Postupak ekstrakcije ponovljen je tri puta za pojedini uzorak te su sva tri ekstrakta pomiješana i ukoncentrirana na rotacijskom vakuumskom uparivaču i uparena do suhog ekstrakta uz primjenu blage struje dušika. Dobiveni suhi ekstrakt je otopljen u 1 mL pokretne faze tekućinskog kromatografa u mješavini acetonitrila i vode, u omjeru od 20:80 (V/V). 20 μL ekstrakta imidakloprida unesen je injekcijskom štrcaljkom u tekućinski kromatograf. Odjeljivanje imidakloprida je provedeno izokratnim eluiranjem uz temperaturu kolone od 25 °C i protok pokretne faze kroz kolonu od 1,2 mL/min. Imidaklopid je detektiran UV detektorom pri valnoj duljini, $\lambda = 270 \text{ nm}$ uz vrijeme zadržavanja na koloni od 4,3 min.

Svaka kromatografska analiza imidakloprida provedena je dva puta. Iskorištenje ekstrakcije imidakloprida iz tla otoka Krka je 98,4%, a iz tla Istre 93,1%, s relativnom standardnom pogreškom manjom od 5%. Područje linearnosti na kalibracijskom pravcu postignuto je u području od 0,05 do 10 mg/L, s regresijskim koeficijentom od $R^2 > 0,999$ (šest kalibracijskih točaka u dva ponavljanja). Analitički limit detekcije imidakloprida iznosio je 0,001 mg/L, dok je najniži prag kvantifikacije (LOQ) iznosio 0,005 mg/L.

3.2.4 MATEMATIČKI MODELI KORIŠTENI ZA OPISIVANJE RAZGRADNJE IMIDAKLOPRIDA U TLU

Za opis razgradnje imidakloprida u tlu korišteno je osam matematičkih modela, jedan monofazni, šest bifaznih i jedan logistički model.

Model kinetike prvoga reda

Ovaj model pretpostavlja da je broj molekula imidakloprida vrlo mali u usporedbi s mikroorganizmima koji vrše razgradnju i u usporedbi s molekulama vode zbog moguće hidrolize, a prikazan je izrazom V.:

$$M = M_0 e^{-k_1 t} \text{ (V.)}$$

U izrazu V. su:

M_0 – početna koncentracija imidakloprida u tlu;

M – koncentracija imidakloprida u tlu u određenim vremenskim periodima (t);

k_1 – konstanta brzine razgradnje prvog reda (1/dan);

t – vrijeme pri kojoj je mjerena koncentracija imidakloprida.

Uz dobivenu konstantu brzine razgradnje može se odrediti i vrijeme poluraspada (DT_{50}) imidakloprida koje se izračunava prema izrazu VI.:

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k_1} \text{ (VI.)}$$

Hoerl-ov model

Hoerl-ov model sadrži parametar c koji predstavlja mjeru odstupanja modela od eksponencijalne funkcije. Dakle, ako je parametar $c < 0$ onda se razgradnja odvija u dvije faze, a ako je $c > 0$ razgradnja slijedi monofaznu kinetiku. Model je prikazan izrazom VII.:

$$M = M_0 e^{-k_1 t} t^{-c} \text{ (VII.)}$$

Hockey – Stick model

Ovaj model ubraja se u bifazne modele. U prvoj fazi koncentracija opada sukladno modelu kinetike prvog reda konstantom brzine k_1 dok druga faza razgradnje započinje nakon vremena prekida, t_b te ju karakterizira konstanta brzine k_2 . Ovaj bifazni model prikazan je izrazom VIII.:

$$M = M_0 e^{-k_1 t_b} e^{-k_2 (t - t_b)} \text{ (VIII.)}$$

U izrazu VIII. su:

k_1 – konstanta brzine u prvoj fazi;

t_b – vrijeme prekida, između prve i druge faze;

k_2 – konstanta brzine u drugoj fazi.

Bifazni model kinetike prvoga reda

Osnovna pretpostavka ovog modela bazirana je na činjenici da se razgradnja pesticida odvija brzo u prvoj fazi, dok drugu karakterizira spora razgradnja uslijed sorpcije pesticida na koloide tla. Model prikazuje izraz IX.:

$$M = M_1 e^{-k_1 t} + M_2 e^{-k_2 t} \text{ (IX.)}$$

U izrazu IX. su:

M_1 i M_2 – količine pesticida primjenjene u fazi 1 i 2 u trenutku kada je $t = 0$;

k_1, k_2 – konstante brzine razgradnje pesticida u fazi 1 i 2.

Diskontinuirani bifazni model kinetike prvoga reda

Kod ovog bifaznog modela razgradnja pesticida odvija se prema modelu kinetike prvog reda u različitim vremenskim intervalima i s različitim konstantama brzine razgradnje ($k_1 \neq k_2$). Model je prikazan izrazom X.:

$$M = M_1 e^{-k_1 t_1} + M_2 e^{-k_2 t_2} \text{ (X.)}$$

U izrazu X. su:

t_1 i t_2 – vremenski intervali određeni prema nagibu krivulje razgradnje pesticida.

Model kinetike prvog reda s dva odjeljka

Ovaj model uvodi konstantu, k_3 , koja karakterizira brzinu prijenosa između dva konkurentna procesa, brzog i sporog, odnosno predstavlja brzinu prijenosa molekula pesticida između dva odjeljka. Model je prikazan izrazom XI.:

$$M = M_0 e^{-(k_1+k_3)t} + M_0 \frac{k_3}{k_1+k_3-k_2} \{e^{-k_2 t} - e^{-(k_1+k_3)t}\} \text{ (XI.)}$$

Gustafson – Holden model

Ovaj model sagledava tlo kao heterogeni medij koji sadrži veliki broj pododjeljaka u kojima se razgradnja pesticida odvija s različitim konstantama brzine razgradnje. Model je prikazan izrazom XII.:

$$M = M_0 \left(\frac{t}{\beta} + 1\right)^{-\alpha} \text{ (XII.)}$$

U izrazu XII. su:

α – parametar koji određuje oblik krivulje razgradnje;

β – parametar koji određuje brzinu razgradnje.

Logistički model

Pretpostavka ovog modela je da se brzina razgradnje povećava zbog prisustva mikrobne populacije. Ovaj se model koristi za opis razgradnje pesticida, kada se na krivulji uočava *lag* faza, ali bez jasno vidljive prijelomne točke. Model je prikazan izrazom XIII.:

$$M = \frac{M_0 + M_i}{\left[1 + \left(\frac{M_i}{M_0}\right)^{k_1 t (M_0 + M_i)}\right]} \text{ (XIII.)}$$

U izrazu XIII. je:

M_i – količina pesticida potrebna da uzrokuje početni rast mikroorganizama.

3.2.5. STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA

Eksperimentalni podaci prikazani su kao srednja vrijednost od tri paralelna mjerenja zajedno s pripadnim standardnim pogreškama. Primijenjeni matematički modeli razgradnje imidakloprida analizirani su u programskoj podršci Wolfram Research Mathematica[®] v.9.0 (Wolfram Research Co, SAD) uz primjenu nelinearnih regresijskih procedura. Podudaranje rezultata dobivenih modelom i eksperimentalnih mjerenja analiziran je Pearsonovim koeficijentom korelacije (R^2) standardnom pogreškom modela (engl. *Scaled Root Mean Squared Error*; SRMSE; izraz XIV.) i pogreškom hi-kvadrat testa (χ^2 test pogreška (%); izraz XV.).

Statističke parametre prikazuju izrazi (XIV. i XV.):

$$SRMSE = \frac{1}{\bar{o}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_i - O_i)^2}{n}} \text{ (XIV.)};$$

$$\chi^2 \text{ pogreška} = 100 \sqrt{\frac{1}{\chi^2_{\text{tablični}}} \sum \frac{(C - O)^2}{\bar{o}^2}} \text{ (XV.)}$$

U izrazima XIV. i XV. su:

C – rezultati dobiveni matematičkim modelom;

O – rezultati dobiveni eksperimentom;

n – broj mjerenja.

Programska podrška Statistica[®]v.13.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, SAD) koristila se za analiziranje učinka svojstava tla na razgradnju imidakloprida u eksperimentalnim tlima uz primjenu neparametrijskog korelacijskog testa (Kendall-Tau) i višestruke linearne regresije.

Statističke razlike smatrane su značajnima ako su se nalazile unutar 95%-tnog intervala pouzdanosti, $p < 0,05$.

4. REZULTATI

4.1. FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA TLA

Rezultati u Tablici 3. prikazuju podjelu tala prema teksturi i fizikalno – kemijska svojstva analiziranih tala: uzorak Krk (Punat) i uzorak Istra (Poreč). Po teksturi, tlo Istra sadrži veći udio gline (47,21%), u odnosu na Krk (21,12%). Uspoređujući tla na osnovu frakcije gline, odnosno, % sadržaja čestica manjih od \emptyset 0,002 mm (podjela po Atterbergu), Istarsko tlo ubraja se u teške gline, dok se tlo otoka Krka ubraja u skupinu težih ilovača. Podjelom teksturnih klasa tla prema Driesenu (52) koja uzima u obzir sve tri frakcije, glinu, prah i pijesak, tlo Krk ubraja se u pjeskovite glinuše, a tlo Istra u potpuno glinovita tla. Analizirajući kiselost tla, tlo Krk pokazuje neutralnu reakciju, a tlo Istra slabo kiselu reakciju. Kapacitet izmjene kationa (KIK) je jači kod Istarskog tla (49,16 cmol/kg), isto tako je i veća hidrolitička kiselost (16,21 cmol/kg) u odnosu na Krčko tlo (25,67 i 2,98cmol/kg). Najčešće vrijednosti KIK za poljoprivredna tla nalaze se u rasponu od 15 do 45 cmol/kg tla, te je vidljivo da su vrijednosti za tlo Krk unutar tog raspona, dok su vrijednosti tla Istra nešto viših vrijednosti. S obzirom na udio organske tvari u tlu (OC) podjelom prema Gračaninu (53) tlo Krk ubraja se u vrlo slabo humozna tla (<1% humusa), a tlo Istra u dosta humozna tla (3-5% humusa).

Tablica 3. Fizikalno – kemijska svojstva tla Istre i otoka Krka

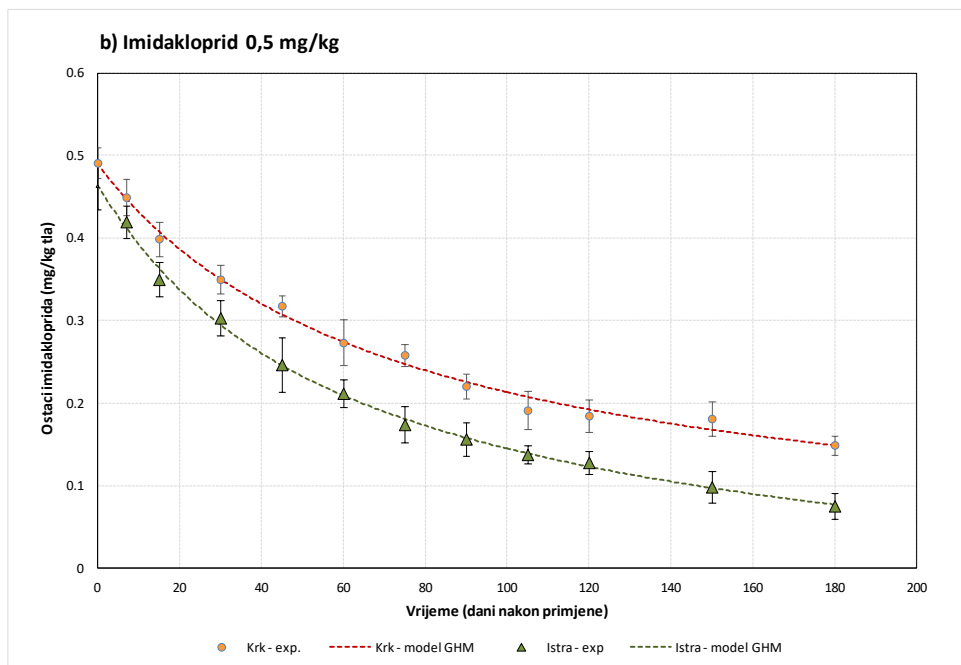
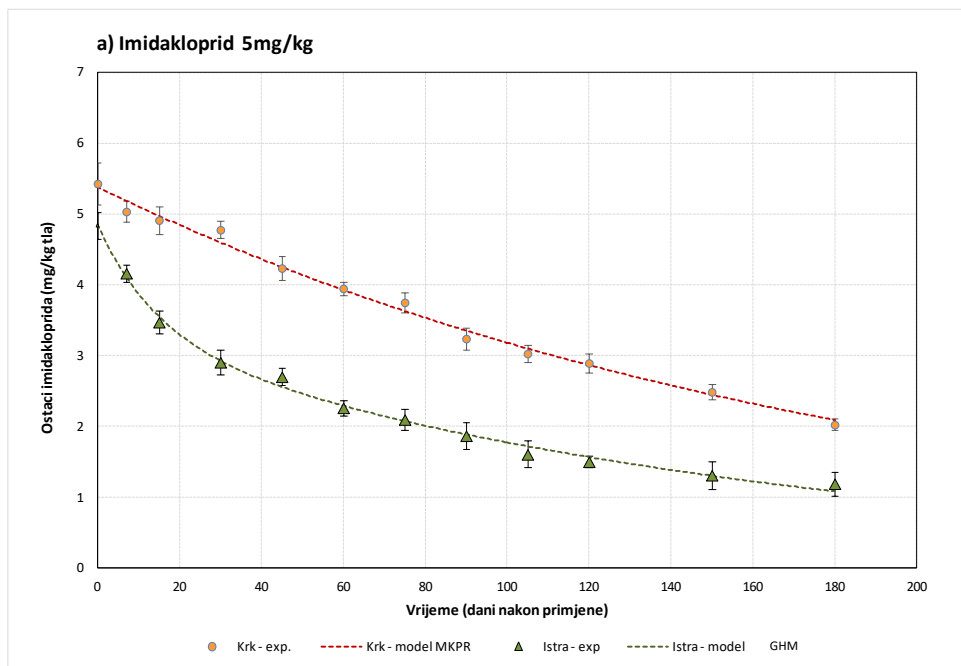
| TLO | TEKSTURA | PIJESAK (%) | MULJ (%) | GLINA (%) | OC ^a (%) | pH | KIK ^b (cmol/kg) | HK ^c (cmol/kg) |
|--------------|-----------------------|----------------|-------------|--------------|------------------------|------|-------------------------------|------------------------------|
| KRK | pjeskovita glinuša | 58,19 | 20,69 | 21,12 | 0,55 | 7,12 | 25,67 (±0,74) | 2,98 (±0,90) |
| ISTRA | Glina | 30,44 | 22,35 | 47,21 | 1,91 | 6,35 | 49,16 (±0,31) | 16,21 (±0,09) |

^a – udio organske tvari u tlu
^b – kationski izmjenjivački kapacitet tla
^c – hidrolitičkakiselost tla

4.2. KINETIKA RAZGRADNJE IMIDAKLOPRIDA U TLIMA KRKA I ISTRE UZ PRIMJENU MATEMATIČKIH MODELA

4.2.1. RAZGRADNJA IMIDAKLOPRIDA U TLU KRK I ISTRA

Ostaci imidakloprida u eksperimentalnim tlima pri dvije primijenjene doze (5 mg/kg i 0,5 mg/kg) tijekom 6 mjeseci prikazani su na Slici 7. U tlu Istra, pri obje primijenjene doze uočava se nagli pad udjela imidakloprida tijekom prvih 30 dana nakon primjene, nakon čega slijedi sporiji pad razgradnje. Drugačiji trend razgradnje imidakloprida uočava se kod tla Krk gdje je postignuta kontinuirana razgradnja bez uočljivih intenzivnijih promjena u fazama razgradnje. Pri primijenjenoj dozi od 5 mg/kg u 30.-tom danu razgradnje postignuto je 12,0%-tno smanjenje kod tla Krk, a 39,9%-tno kod tla Istra. Kod doze od 0,5 mg/kg veći postotak razgradnje je također uočen kod tla Istra (34,5%) u odnosu na tlo Krk (28,7%). Na kraju eksperimentalnog perioda (180 dana) kod obje primijenjene doze postignuta je intenzivnija razgradnja kod tla Istra (75,4% kod 5 mg/kg i 83,7% kod 0,5 mg/kg) nego kod tla Krk (62,7% kod 5 mg/kg i 69,6% kod 0,5 mg/kg). Na osnovu navedenog može se pretpostaviti da na razgradnju imidakloprida u eksperimentalnim tlima utječu različiti fizikalno-kemijski čimbenici tla, te da su procesi razgradnje regulirani različitim mehanizmima reakcija. Poradi detaljnije analize razgradnje imidakloprida u eksperimentalnim tlima i objašnjenja mehanizama reakcije uključenih u faze razgradnje korišteni su matematički modeli (monofazni i bifazni). Slaganje eksperimentalnih podataka i podataka dobivenih modelom proučavano je statističkim parametrima (R^2 , SRMSE, χ^2 pogreška) na osnovu kojih je odabran model koji najbolje opisuje razgradnju imidakloprida u eksperimentalnim tlima. Na osnovu dobivenih modelnih parametara određeni su DT_{50} i DT_{90} kao i konstante brzine razgradnje (k) koji su korelirani s fizikalno-kemijskim karakteristikama tla.



Slika 7. Razgradnja imidakloprida u tlima Krk i Istra uz dvije primijenjene doze insekticida: a) 5 mg/kg i b) 0,5 mg/kg. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost tri paralelna mjerenja sa standardnim pogreškama. Prikazane su i teorijske krivulje dobivene najboljim modelom. MKPR – Model Kinetike Prvoga Reda, BMKPR – Bifazni Model Kinetike Prvoga Reda, GHM – Gustafson – Holden model.

4.2.2. USPOREDBA MATEMATIČKIH MODELA PRIMIJENJENIH ZA OBJAŠNJENJE RAZGRADNJE IMIDAKLOPRIDA U TLU ISTRA

Kako je i prethodno utvrđeno da se razgradnja imidakloprida u tlu Istra odvija u dvije faze, prvoj bržoj nakon koje slijedi sporija faza razgradnje za pretpostaviti je da će bifazni modeli razgradnje dati parametre modela koji bolje opisuju eksperimentalne rezultate. Prikaz parametara dobivenih uz primjenu različitih matematičkih modela razgradnje imidakloprida u tlu Istra pri koncentraciji imidakloprida od 0,5 i 5 mg/kg prikazani su u tablicama 4. i 5. Na osnovu statističkih parametara potvrđena je prethodna pretpostavka pa su bifazni modeli (Model kinetike prvoga reda, Diskontinuirani model kinetike prvoga, Model kinetike prvog reda s dva odjeljka i Gustafson- Holden model) puno bolji odabir za opis razgradnje imidakloprida u tlu Istra u odnosu na preostale monofazne modele. Pearsonov koeficijent korelacije R^2 za primijenjene bifazne modele bio je izrazito visokih vrijednosti, $R^2 > 0,998$, standardne pogreške modela bile su izrazito niskih vrijednosti (SRMSE = 0,025 – 0,034) kao i pogreška hi-kvadrat testa (χ^2 pogreška = 2,20 – 2,83).

Dobiveni rezultati razgradnje imidakloprida ovom studijom u bliskoj su poveznici s nekoliko prethodno provedenih i objavljenih studija. Tako su Capri i suradnici (54) proveli studiju razgradnje imidakloprida na talijanskim tlima uočili također njegovu bifaznu razgradnju, uz brzu početnu fazu razgradnje insekticida unutar 10 dana, nakon čega se uslijedila spora faza razgradnje. Nadalje, Krohn i Hellpointner (27) proučavali su razgradnju imidakloprida u laboratorijskim uvjetima te su također utvrdili da eksperimentalni podaci pokazuju odstupanje od kinetike razgradnje prvoga reda. Njihov zaključak upućuje da su odstupanja od kinetike prvoga reda uzrokovana procesom sorpcije imidakloprida na čestice tla.

Iako su prethodno navedeni statistički parametri upućivali da se bifazni modeli opravdano mogu koristiti u objašnjenju kinetike razgradnje imidakloprida u tlu Istra, ipak je razvidno da i među njima također postoje razlike, kako prema složenosti modela tako i po broju parametara koji se prilagođavaju prema upotrijebljenom modelu. Uspoređujući prethodno korištene bifazne modele vidljivo je da je Gustafson-Holden-ov model najjednostavniji odnosno da je njegovom uporabom potrebno procijeniti samo tri parametra za razliku od ostalih bifaznih modela gdje je potrebna procjena četiri ili pet parametara, ili čak određivanje vremena brze i spore faze razgradnje kao kod diskontinuiranog bifaznog modela kinetike prvog reda. Procjena vremena obje faze razgradnje također može uzrokovati veliku pogrešku u procjeni parametara, što se onda može očitovati

visokim vrijednostima statističkih parametara (SRMSE i χ^2 pogreške). Prema svemu navedenom može se zaključiti da Gustafson – Holden model najoptimalnije opisuje razgradnju i ponašanje imidakloprida u tlu Istra, iako je generirao nešto veće vrijednosti pogreške (SRMSE i χ^2 pogreške) od preostalih bifaznih modela.

4.2.3. USPOREDBA MATEMATIČKIH MODELA PRIMIJENJENIH ZA OBJAŠNJENJE RAZGRADNJE IMIDAKLOPRIDA U TLU KRK

U odnosu na tlo Istra, u tlu Krk uočen je nešto drugačiji trend razgradnje imidakloprida pogotovo pri početnoj dozi od 5 mg/kg. Pri toj dozi imidakloprida, razgradnja je podjednako dobro opisana i Monofaznim modelom kinetike prvoga reda kao i preostalim primijenjenim bifaznim modelima. Tome u prilog govore i dobiveni statistički parametri da su svi primijenjeni modeli pokazali dobro slaganje eksperimentalnih vrijednosti i vrijednosti dobivenih modelom, odnosno da su statistički parametri procjene bili gotovo identični (R^2 , SRMSE) (Tablica 7). Međutim, nešto niža vrijednost pogreške χ^2 monofaznog modela (χ^2 pogreška = 1,96) u odnosu na druge korištene modele (χ^2 pogreška = 2,03 – 2,36) kao i njegova jednostavnost (prilagodba samo dva parametra), ukazuju da je opravdana njegova uporaba u opisivanju razgradnje imidakloprida u tlu Krk. Nadalje, opravdanost primjene monofaznog modela u opisu razgradnje imidakloprida u tlu Krk moguće je objasniti i na osnovu konstanti brzine kemijske reakcije. Kao što je vidljivo iz rezultata prikazanih u Tablici 7., vrijednost konstante brzine razgradnje (k_1) monofaznog modela bila je identična s vrijednostima konstanti razgradnje brze (k_1) i spore (k_2) faze razgradnje bifaznog modela kinetike prvog reda. Identične konstante brzine razgradnje ukazuju da se razgradnja imidakloprida odvija u jednoj fazi kako je i predviđeno monofaznim modelom.

Suprotno tome, uz primijenjenu nižu dozu (0,5 mg/kg) imidakloprida, monofazna kinetika lošije objašnjava kinetiku razgradnje, pa su stoga bifazni kinetički modeli bolji izbor za opis razgradnje pri nižoj primijenjenoj dozi (Tablica 6). Iako su za bifazne modele dobivene gotovo identične vrijednosti R^2 i SRMSE, analiza vrijednosti pogreške χ^2 pokazuje da ipak među njima postoje razlike u primjeni opisa razgradnje. Naime, Gustafson – Holden model ima najnižu vrijednost pogreške χ^2 (Tablica 6) uz najmanji broj parametara za prilagodbu te je najoptimalniji odabir modela za opis razgradnje imidakloprida u tlu Krk s nižom primijenjenom dozom insekticida.

Sličan tip kinetike razgradnje uočen je u eksperimentu razgradnje acetoklora u dva novozelandska tla, koje su proveli Ma i suradnici (32). Uz dvije primijenjene doze herbicida utvrdili su da je pri višoj primijenjenoj dozi razgradnja acetoklora slijedila monofaznu kinetiku, dok je pri nižoj primijenjenoj dozi razgradnja bila bifazna.

4.2.4. PROCJENA VREMENA DT_{50} IMIDAKLOPRIDA U TLIMA KRK I ISTRINA NA OSNOVU PRIMIJENJENIH MATEMATIČKIH MODELA

Procijenjene vrijednosti DT_{50} dobivene ovim istraživanjem ($DT_{50} = 50 - 77$ dana) uz primjenu najoptimalnijeg matematičkog modela ukazuju da se imidaklopid može svrstati u skupinu srednje postojanih pesticida. (16) Međutim, pri višoj primijenjenoj dozi u tlu Krk pronađen je duži DT_{50} ($DT_{50} = 132$ dana). U ovom tlu, imidaklopid predstavlja visok potencijal rizika za onečišćenje tla i podzemnih voda, budući da može biti postojan dovoljno dugo vremena da procjeđivanjem kroz pore tla ili površinskim otjecanjem dođe po podzemnih pitkih tokova prije nego što se razgradi. Prethodne studije razgradnje imidakloprida pokazale su njegovu intenzivnu postojanost u tlu u laboratorijskim uvjetima (DT_{50} od 40 do 229 dana; uz primjenu Monofaznog modela kinetike prvoga reda (27, 28)) i veće varijabilnosti u postojanosti u kontroliranim terenskim uvjetima (DT_{50} od 96 dana do 2 godine (27, 55, 56)). Međutim, duži period DT_{50} i preko godine dana također je određen u laboratorijskim studijama (25). Tako je Mulye (55) u svojim terenskim studijama razgradnje imidakloprida izvijestio o vrijednostima DT_{50} od otprilike dvije godine. Vrijednosti DT_{50} za razgradnju imidakloprida dobivenim ovom studijom usporedive su s onima objavljenim pod terenskim uvjetima (96 dana) (56), ali je razgradnja bila sporija nego u drugim studijama u laboratorijskim uvjetima (40 dana). (28)

Tablica 4. Prikaz parametara dobivenih uz primjenu različitih matematičkih modela razgradnje imidakloprida u tlu Istra pri koncentraciji imidakloprida od 0,5 mg/kg.

| <i>Istra (0,5 mg/kg)</i> | | | | | | | | |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| <i>Procijenjeni/Statistički parametri</i> | MODEL 1 | MODEL 2 | MODEL 3 | MODEL 4 | MODEL 5 | MODEL 6 | MODEL 7 | MODEL 8 |
| M_1 (mg/kg) | 0,44 | 0,44 | 0,61 | 0,30 | 0,30 | 0,46 | 0,46 | 0,92 |
| M_2 (mg/kg) | | | | 0,17 | 0,17 | | | |
| M_i (mg/kg) | | | | | | | | 0,92 |
| k_1 (1/dan) | 0,0114 | 0,0102 | 0,2679 | 0,0075 | 0,0227 | 0,0175 | | 1,1136 |
| k_2 (1/dan) | | | 0,0114 | 0,0353 | 0,0527 | 0,0075 | | |
| k_3 (1/dan) | | | | | | 0,0178 | | |
| c (1/dan) | | 0,0195 | | | | | | |
| t_b (dan) | | | 1,25 | | | | | |
| A | | | | | | | 1,68 | |
| B | | | | | | | 98,96 | |
| DT_{50} (dan) | 60,71 | 59,80 | 32,55 | 50,38 | 50,39 | 50,21 | 50,57 | 64,45 |
| DT_{90} (dan) | 201,67 | 214,29 | 173,51 | 247,99 | 248,00 | 247,75 | 290,94 | 178,86 |
| R^2 | 0,9959 | 0,9975 | 0,9949 | 0,9993 | 0,9993 | 0,9993 | 0,9993 | 0,9886 |
| SRMSE | 0,066 | 0,049 | 0,066 | 0,025 | 0,025 | 0,025 | 0,026 | 0,105 |
| X^2 pogreška | 5,36 | 4,13 | 5,82 | 2,22 | 2,46 | 2,22 | 2,20 | 8,81 |

MODEL 1 – Model kinetike prvoga reda; MODEL 2 – Hoerl-ov model; MODEL 3 – Hockey – Stick model; MODEL 4 – Bifazni model kinetike prvoga reda; MODEL 5 – Diskontinuirani bifazni model kinetike prvog reda; MODEL 6 – Model kinetike prvoga reda s dva odjeljka; Model 7 – Gustafson – Holden model; MODEL 8 – Logistički model.
 M_1 , M_2 – udio imidakloprida tijekom prve i druge faze razgradnje; M_i – udio imidakloprida potreban za stvaranje početne populacije mikroorganizama za razgradnju; k_1 , k_2 , k_3 – konstante brzine razgradnjec – mjera odstupanja od eksponencijalnosti; t_b – vrijeme u kojem dolazi do promjene konstante brzine reakcije; α , β – parametri oblika i položaja krivulje; DT_{50}/DT_{90} – vrijeme potrebno za 50/90%-tnu razgradnju.

Tablica 5. Prikaz parametara dobivenih uz primjenu različitih matematičkih modela razgradnje imidakloprida u tlu Istra pri koncentraciji imidakloprida od 5 mg/kg.

| <i>Istra (5 mg/kg)</i> | | | | | | | | |
|--|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| <i>Procijenjeni/Statistički parametri</i> | MODEL 1 | MODEL 2 | MODEL 3 | MODEL 4 | MODEL 5 | MODEL 6 | MODEL 7 | MODEL 8 |
| M_1 (mg/kg) | 4,33 | 4,36 | 1,29 | 3,28 | 3,28 | 4,85 | 4,83 | 2,88 |
| M_2 (mg/kg) | | | | 1,57 | 1,57 | | | |
| M_i (mg/kg) | | | | | | | | 2,89 |
| k_1 (1/dan) | 0,0093 | 0,0102 | -0,6062 | 0,0684 | 0,0362 | 0,0263 | | 0,9487 |
| k_2 (1/dan) | | | 0,0093 | 0,0062 | 0,0823 | 0,0684 | | |
| k_3 (1/dan) | | | | | | -0,0201 | | |
| c (1/dan) | | 0,0387 | | | | | | |
| t_b (dan) | | | 1,97 | | | | | |
| A | | | | | | | 0,71 | |
| B | | | | | | | 30,30 | |
| DT_{50} (dan) | 74,24 | 72,39 | 203,88 | 52,02 | 52,26 | 52,02 | 50,31 | 78,20 |
| DT_{90} (dan) | 246,61 | 285,99 | 376,18 | 310,17 | 164,62 | 310,17 | 751,58 | 217,20 |
| R^2 | 0,9897 | 0,9966 | 0,9871 | 0,9989 | 0,9986 | 0,9990 | 0,9987 | 0,9805 |
| SRMSE | 0,102 | 0,056 | 0,102 | 0,029 | 0,029 | 0,029 | 0,034 | 0,132 |
| χ^2 pogreška | 8,23 | 4,69 | 8,95 | 2,51 | 2,79 | 2,51 | 2,83 | 11,15 |
| MODEL 1 – Model kinetike prvoga reda; MODEL 2 – Hoerl-ov model; MODEL 3 – Hockey – Stick model; MODEL 4 – Bifazni model kinetike prvoga reda; MODEL 5 – Diskontinuirani bifazni model kinetike prvog reda; MODEL 6 – Model kinetike prvoga reda s dva odjeljka; Model 7 – Gustafson – Holden model; MODEL 8 – Logistički model. | | | | | | | | |
| M ₁ , M ₂ – udio imidakloprida tijekom prve i druge faze razgradnje; M _i – udio imidakloprida potreban za stvaranje početne populacije mikroorganizama za razgradnju; k_1 , k_2 , k_3 – konstante brzine razgradnjec – mjera odstupanja od eksponencijalnosti; t_b – vrijeme u kojem dolazi do promjene konstante brzine reakcije; α , β –parametri oblika i položaja krivulje; DT_{50}/DT_{90} – vrijeme potrebno za 50/90%-tnu razgradnju. | | | | | | | | |

Tablica 6. Prikaz parametara dobivenih uz primjenu različitih matematičkih modela razgradnje imidakloprida u tlu otoka Krka pri koncentraciji imidakloprida od 0,5 mg/kg.

| <i>Krk (0,5 mg/kg)</i> | | | | | | | | |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| <i>Procijenjeni/Statistički parametri</i> | MODEL 1 | MODEL 2 | MODEL 3 | MODEL 4 | MODEL 5 | MODEL 6 | MODEL 7 | MODEL 8 |
| M_1 (mg/kg) | 0,46 | 0,47 | 0,44 | 0,28 | 0,21 | 0,49 | 0,49 | 0,94 |
| M_2 (mg/kg) | | | | 0,21 | 0,28 | | | |
| M_i (mg/kg) | | | | | | | | 0,95 |
| k_1 (1/dan) | 0,0076 | 0,0066 | -0,0186 | 0,0187 | 0,0119 | 0,0116 | | 1,0471 |
| k_2 (1/dan) | | | 0,0076 | 0,0020 | 0,0226 | 0,0020 | | |
| k_3 (1/dan) | | | | | | 0,0071 | | |
| c (1/dan) | | 0,0216 | | | | | | |
| t_b (dan) | | | 1,44 | | | | | |
| A | | | | | | | 0,93 | |
| B | | | | | | | 68,88 | |
| DT_{50} (dan) | 91,36 | 90,70 | 96,32 | 74,99 | 74,70 | 76,62 | 76,66 | 94,39 |
| DT_{90} (dan) | 303,48 | 331,51 | 308,45 | 703,59 | 691,17 | 708,89 | 757,72 | 260,42 |
| R^2 | 0,9953 | 0,9971 | 0,9941 | 0,9989 | 0,9989 | 0,9989 | 0,9990 | 0,9899 |
| SRMSE | 0,067 | 0,050 | 0,067 | 0,029 | 0,024 | 0,029 | 0,029 | 0,093 |
| X^2 pogreška | 5,44 | 4,22 | 5,91 | 2,57 | 2,85 | 2,57 | 2,45 | 7,81 |

MODEL 1 – Model kinetike prvoga reda; MODEL 2 – Hoerl-ov model; MODEL 3 – Hockey – Stick model; MODEL 4 – Bifazni model kinetike prvoga reda; MODEL 5 – Diskontinuirani bifazni model kinetike prvog reda; MODEL 6 – Model kinetike prvoga reda s dva odjeljka; Model 7 – Gustafson – Holden model; MODEL 8 – Logistički model.
 M_1 , M_2 – udio imidakloprida tijekom prve i druge faze razgradnje; M_i – udio imidakloprida potreban za stvaranje početne populacije mikroorganizama za razgradnju; k_1 , k_2 , k_3 – konstante brzine razgradnjec – mjera odstupanja od eksponencijalnosti; t_b – vrijeme u kojem dolazi do promjene konstante brzine reakcije; α , β – parametri oblika i položaja krivulje; DT_{50}/DT_{90} – vrijeme potrebno za 50/90%-tnu razgradnju.

Tablica 7. Prikaz parametara dobivenih uz primjenu različitih matematičkih modela razgradnje imidakloprida u tlu otoka Krka pri koncentraciji imidakloprida od 5 mg/kg.

| <i>Krk (5 mg/kg)</i> | | | | | | | | |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|----------|--------------------|---------|
| <i>Procijenjeni/Statistički parametri</i> | MODEL 1 | MODEL 2 | MODEL 3 | MODEL 4 | MODEL 5 | MODEL 6 | MODEL 7 | MODEL 8 |
| M_1 (mg/kg) | 5,38 | 5,39 | 2,75 | 3,13 | 3,70 | 5,43 | 5,39 | 3,22 |
| M_2 (mg/kg) | | | | 2,26 | 1,68 | | | |
| M_i (mg/kg) | | | | | | | | 3,28 |
| k_1 (1/dan) | 0,0053 | 0,0052 | -0,1867 | 0,0053 | 0,0105 | 1,7264 | | 0,0619 |
| k_2 (1/dan) | | | 0,0053 | 0,0053 | 0,0105 | 131,5940 | | |
| k_3 (1/dan) | | | | | | -1,7211 | | |
| c (1/dan) | | 0,0008 | | | | | | |
| t_b (dan) | | | 3,51 | | | | | |
| A | | | | | | | $1,93 \times 10^4$ | |
| B | | | | | | | $3,67 \times 10^6$ | |
| DT_{50} (dan) | 131,81 | 131,83 | 259,78 | 131,81 | 130,09 | 130,42 | 131,66 | 130,36 |
| DT_{90} (dan) | 437,87 | 439,56 | 565,74 | 437,87 | 234,53 | 439,10 | 437,38 | 355,11 |
| R^2 | 0,9993 | 0,9993 | 0,9992 | 0,9992 | 0,9989 | 0,9992 | 0,9993 | 0,9991 |
| SRMSE | 0,024 | 0,024 | 0,024 | 0,024 | 0,024 | 0,024 | 0,024 | 0,026 |
| χ^2 pogreška | 1,96 | 2,03 | 2,13 | 2,13 | 2,36 | 2,09 | 2,05 | 2,22 |

MODEL 1 – Model kinetike prvoga reda; MODEL 2 – Hoerl-ov model; MODEL 3 – Hockey – Stick model; MODEL 4 – Bifazni model kinetike prvoga reda; MODEL 5 – Diskontinuirani bifazni model kinetike prvog reda; MODEL 6 – Model kinetike prvoga reda s dva odjeljka; Model 7 – Gustafson – Holden model; MODEL 8 – Logistički model.

M_1 , M_2 – udio imidakloprida tijekom prve i druge faze razgradnje; M_i – udio imidakloprida potreban za stvaranje početne populacije mikroorganizama za razgradnju; k_1 , k_2 , k_3 – konstante brzine razgradnje – mjera odstupanja od eksponencijalnosti; t_b – vrijeme u kojem dolazi do promjene konstante brzine reakcije; α , β – parametri oblika i položaja krivulje; DT_{50}/DT_{90} – vrijeme potrebno za 50/90%-tnu razgradnju. do promjene konstante brzine reakcije; α , β – parametri oblika i položaja krivulje; DT_{50}/DT_{90} – vrijeme potrebno za 50/90%-tnu razgradnju.

4.2.5. UTJECAJ SVOJSTAVA TLA NA POSTOJANOST IMIDAKLOPRIDA U TLIMA ISTRE I KVARNERA

Budući da je Gustafson – Holden model dao dobar opis razgradnje imidakloprida u oba eksperimentalna tla pri obje primijenjene doze, odabran je kako bi se dodatno razjasnio učinak fizikalno-kemijskih čimbenika tla na razgradnju imidakloprida. Vrijednosti DT_{50} korelirane su sa sadržajem OC, gline, KIK-a i pH uz primjenu statističkog neparametrijskog testa Kendall-Tau. Korelacijska analiza pokazuje da je postojanost imidakloprida u tlima negativno povezana s KIK, udjelom gline i OC, pri čemu se uočava najjači negativan odnos između DT_{50} i KIK (Tablica 8). Odnos između DT_{50} vrijednosti i pH tla bio je pozitivan, ali manje jak u usporedbi s ostalim parametrima tla. Također, Sarkari i suradnici (28) koji su proučavali razgradnju imidakloprida u indijskim tlima uočili su značajnu korelaciju između vrijednosti DT_{50} i pH tla, te su dokazali da je postojanost imidakloprida bila jača u kiselijim tlima.

Tablica 8. Korelacijski test Kendall – Tau između svojstava tla i vremena DT_{50} imidakloprida, n = 12

| | pH | Glina | KIK | OC |
|-------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| pH | 1,00 | -0,33 | -0,47 | -0,55 |
| glina | -0,33 | 1,00 | 0,87 | 0,68 |
| OC ^a | -0,55 | 0,68 | 0,78 | 1,00 |
| KIK ^b | -0,47 | 0,87 | 1,00 | 0,78 |
| DT50 ^c | 0,41 | -0,73 | -0,82 | -0,79 |

^a – sadržaj organskog ugljika; ^b – kapacitet izmjene kationa; ^c – vrijeme potrebno za razgradnju 50% od početne doze imidakloprida
 Podebljani font – značajna korelacija na 95%-tnom intervalu ($p < 0,05$)

Uz neparametrijski test, korišten je i test višestruke linearne regresija koja istovremeno uspoređuje različita fizikalno-kemijska svojstva tla i DT_{50} te dovodi do linearnog prediktivnog modela za vrijednost DT_{50} . Višestruka linearna regresija rezultirala je sljedećom korelacijom:

$$(DT_{50} = -70,76 OC - 7,78 KIK + 8,12 \text{ glina} - 18,26 \text{ pH} + 298,55 \quad (R^2 = 0,795).$$

Neparametrijskom regresijom potvrđen je utjecaj udjela OC i gline u tlu i KIK-a na procese razgradnje imidakloprida, dok višestruka linearna regresija ukazuje da je sadržaj OC dominantan u razgradnji imidakloprida u eksperimentalnim tlima.

5. RASPRAVA

Mnoge pesticidne molekule u složenom sustavu okoliša tlo/voda podliježu procesima razgradnje koji uključuju kemijske i mikrobiološke aktivnosti. Nadalje, istovremeno s razgradnjom, odvija se i raspodjela pesticida između vodene i krute faza tla, pri čemu veliki utjecaj na dostupnost mikroorganizmima koji vrše njihovu razgradnju imaju procesi sorpcije i desorpcije. U istraživanju o sorpcijsko/desorpcijskim procesima imidakloprida na koloidima tla Krka i Istre kojeg su proveli Broznić i suradnici, utvrđeno je da je udio OC u tlu bio najznačajniji čimbenik sorpcije imidakloprida. (5) To podrazumijeva da su tla s većim udjelom OC imala veći sorpcijski kapacitet za imidaklopid odnosno da je potencijal pokretnosti imidakloprida u tim tlima bio smanjen. Sorpcijski kapacitet tla Istra za imidaklopid gdje je pronađen viši udio OC bio je jači ($K_F = 3,28 \pm 0,09 \text{ (mg/kg) (mg/L)}^{1/n}$) u odnosu na tlo Krk s nižim udjelom OC ($K_F = 1,53 \pm 0,06 \text{ (mg/kg) (mg/L)}^{1/n}$) gdje je utvrđen slabiji sorpcijski kapacitet za imidaklopid. (57) Iako je opće poznato da su sorbirane molekule pesticida slabije dostupne mikroorganizmima koji vrše njihovu razgradnju i da proces sorpcije ograničava razgradnju i transport, razgradnja sorbiranih molekula nije zanemariva. (58, 59) Ova činjenica govori da povećanje sorpcije od strane koloida tla ne mora nužno utjecati na proporcionalno smanjenje brzine razgradnje. Tako su Picton i Farenhorst (60) analizirajući bifaznu kinetiku razgradnje herbicida 2,4-D, uočili da prvu fazu karakterizira brza razgradnja lako dostupne i brzo desorbirajuće frakcije herbicida, a razgradnja je ovisila o prisutnosti i aktivnosti mikrobne populacije. Nadalje, u drugoj fazi bifazne razgradnje, brzina je bila znatno manja zbog spore desorpcije i ograničavajuće brzine difuzije molekula herbicida iz unutarnjih izmjenjivačkih mjesta i mikropora koloida tla u vodenu fazu tla. (41, 42) Također, vrlo slično ponašanje imidakloprida utvrđeno je i u eksperimentalnim tlima Istre i Krka. Uspoređujući konstante brzine razgradnje imidakloprida u eksperimentalnim tlima u prvoj fazi, intenzivniji pad koncentracije insekticida može se uočiti kod tla Istra u odnosu na tlo Krki to pri obje primijenjene doze insekticida ($k_{I\text{Istra}} > k_{I\text{Krk}}$; Tablice 4, 5, 6 i 7). Nadalje, proučavana je i lako dostupna frakcija imidakloprida u prvoj fazi razgradnje, a izražena je u postocima u odnosu na ukupnu primijenjenu dozu imidakloprida. Uspoređujući lako dostupnu frakciju imidakloprida tijekom prve faze razgradnje kod obje primijenjene doze, veći udio ove frakcije pronađen je u tlu Istra (64% kod 0,5 mg/kg i 68% kod 5 mg/kg) nego kod tla Krk (57% kod 0,5 mg/kg i 58% kod 5 mg/kg). Sve ove činjenice upućuju da je razgradnja imidakloprida u prvoj fazi vjerojatno bila kontrolirana od strane ponovne mobilizacije prethodno nedostupnih frakcija insekticida, ali isto tako da udio imidakloprida u prvoj fazi nije jednak udjelu otopljenog imidakloprida. (32, 61) Dobiveni rezultati

ovim istraživanjem o učincima sorpcije na proces razgradnje usporedivi su s već prethodno objavljenim istraživanjima razgradnje brojnih pesticida u tlima (32, 62). Budući da je utjecaj sorpcije na razgradnju imidakloprida u eksperimentalnim tlima bio izrazit te da je uočen trend brže razgradnje insekticida pri jačoj sorpciji dolazi se do zaključka da je sorpcija vjerojatno ubrzala razgradnju imidakloprida. (63) U drugoj fazi procesa razgradnje, brzina razgradnje imidakloprida bila je znatno sporija zbog spore difuzije molekula imidakloprida kroz matriks tla čime je bio otežan kontakt molekula insekticida i mikroorganizama tla. Ova pretpostavka može se potvrditi usporedbom konstanti brzina u obje faze razgradnje imidakloprida u eksperimentalnim tlima, gdje su vrijednosti konstanti brzina za prvu fazu razgradnje bile viših vrijednosti od onih za drugu fazu ($k_1 > k_2$; Tablice 4, 5, 6, 7). U istraživanju kojeg su proveli Broznić i suradnici o ponašanju imidakloprida u tlu Krk i tlu Istra, pretpostavili su da se proces sorpcije imidakloprida na porozne koloide tla ostvaruje putem fizikalnih procesa koji uključuju slabe privlačne sile koje uključuju interakcije i raspodjelu molekula imidakloprida u organsku tvar tla. (64, 65) Prema tzv. „dvojnog“ modelu sorpcije mikrozačivala na organsku tvar (42), pretpostavka je da se u drugoj fazi razgradnje, molekule imidakloprida brzo sorbiraju na vanjsku površinu poroznih čestica tla, nakon čega slijedi sporo difuzivno prodiranje molekula imidakloprida u pore same čestice. Prodor molekula je usporen zbog raspodjele između molekula imidakloprida otopljenih u tekućoj fazi unutar pora tla i molekula imidakloprida u/na porama tla. (41) Ako se pretpostavi da je polumjer pore oko 10 Å, tada je izračunati volumen jedne pore oko 4200 Å³. Budući da jedna molekula imidakloprida zauzima volumen oko 275 Å³, (66) moguće je da je „zarobljavanje” molekula imidakloprida uzrokovalo razliku između procesa sorpcije i desorpcije.

Nadalje, proučavanjem sadržaja organske tvari u eksperimentalnim tlima, također se htjelo utvrditi postoji li poveznica između ovog parametra tla i mikrobne populacije tla. Općenito se pokazalo da veći udio OC u tlu povećava prisutnost mikrobne populacije i potiče procese biorazgradnje, što su Park i suradnici (63) i Cox i suradnici (67) prikazali u njihovim prethodnim publikacijama. Budući da je utvrđen različit udio OC u eksperimentalnim tlima (Tablica 8) eksperimentalni podaci razgradnje imidakloprida testirani su Logističkim modelom koji uzima u obzir ovisnost kinetike razgradnje i rasta mikrobne populacije. U tlu Istra, slabo slaganje eksperimentalnih podataka i onih dobivenih modelom, ukazuje na to da ovaj model ne daje zadovoljavajući opis procesa biorazgradnje pri obje primijenjene doze imidakloprida. To dokazuju relativno visoke vrijednosti SRMSE (0,1324 na višoj i 0,105 na nižoj primijenjenoj dozi

imidakloprida) i χ^2 pogreške (11,15 na višoj i 8,81 na nižoj primijenjenoj dozi imidakloprida) (Tablica 4 i 5). Sve prethodno navedene činjenice ukazuju da učinak mikrobne aktivnosti tla očito nije bio najvažniji parametar koji utječe na biorazgradnju imidakloprida u tlu Istra. Još jedna činjenica koja potvrđuje prethodnu pretpostavku da je pad koncentracije imidakloprida započeo bez početne „lag-faze“. Suprotno prethodno navedenom, eksperimentalni podaci razgradnje imidakloprida u tlu Krk testirani Logističkim modelom generirali su niže vrijednosti SRMSE (0,026 na višoj i 0,093 na nižoj primijenjenoj dozi imidakloprida) i χ^2 pogreške (2,22 na višoj i 7,81 na nižoj primijenjenoj dozi imidakloprida), u usporedbi s tlom Istra, što ukazuje da je Logistički model bolji odabir i daje zadovoljavajuće objašnjenje biorazgradnje imidakloprida u ovom tlu.

Uzimajući u obzir sve prethodno navedene činjenice i pretpostavke, evidentno je da je razgradnja imidakloprida vjerojatno regulirana različitim mehanizmima u ova dva eksperimentalna tla. Pretpostavka je da u tlu Krk, gdje prevladava neutralni pH, mikrobna populacija može doprinijeti razgradnji imidakloprida. S druge strane, u tlu Istra razgradnjom imidakloprida dominiraju kemijski procesi, kao što je kemijska hidroliza. Moguće je da u ovom blago kiselom tlu, veći sadržaj gline može olakšati reakciju hidrolize, što ukazuje da je kemijska hidroliza bila jedna od mogućih putova razgradnje imidakloprida u ovom eksperimentalnom tlu.

6. ZAKLJUČAK

Primjena monofaznih i bifaznih matematičkih modela u praćenju procesa razgradnje imidakloprida u dva tla na području Republike Hrvatske ukazuje na vrlo precizno predviđanje njegove postojanosti što u značajnoj mjeri pridonosi uspješnijoj kontroli ostataka insekticida u kontaminiranim tlima. Razgradnja imidakloprida bila je brža u glinovitom tlu Istra nego u tlu Krk, zbog višeg kationskog izmjenjivačkog kapaciteta te i viših udjela organskog ugljika i gline. Dobiveni rezultati istraživanja ukazuju da su promjene u brzinama razgradnje imidakloprida ovisile o vrsti tla, ali i o primijenjenoj dozi insekticida te da nije moguće razgradnju imidakloprida u tlima objasniti samo jednim fizikalno-kemijskim parametrom tla. Nadalje, pretpostavlja se da su razlike u postojanosti imidakloprida u eksperimentalnim tlima posljedica istovremenih složenih interakcija između procesa sorpcije i razgradnje u kojima sudjeluje imidakloprid. Poradi pojašnjenja ove pretpostavke korišten je logistički model koji je omogućio uvid u različite mehanizme reakcija uključenih u ponašanje imidakloprida u eksperimentalnim tlima. U glinovitom tlu Istra, pretpostavlja se da je razgradnja imidakloprida potaknuta abiotičkom kiselim hidrolizom. Moguće je, da u ovom blago kiselim tlu, veliki udio gline uzrokuje vezu između brzina sorpcije i razgradnje te na taj način vjerojatno olakšava i ubrzava reakciju hidrolize nakon sorpcije imidakloprida na organske koloide tla. Suprotno prethodnom, biotička razgradnja vjerojatno je utjecala na postojanost imidakloprida u pjeskovitom tlu Krk. Brzina razgradnje imidakloprida u ovome tlu, s nižim sadržajem gline i neutralnim pH, bila je ovisna o prisutnoj mikrobnjoj populaciji tla, a istodobno nije postignuta poveznica s procesima sorpcije.

Rezultati istraživanja ukazuju da se imidakloprid ubraja u srednje postojane insekticide te da njegova primjena treba biti strogo kontrolirana, posebno u tlima s niskim sadržajem organske tvari. U ovim tlima imidakloprid predstavlja visok potencijal kontaminacije tla i podzemnih vodenih tokova zbog dovoljno dugog perioda postojanosti kao i površinskog ispiranja ili procjeđivanja kroz profil tla, a prije njegove razgradnje.

7. LITERATURA

1. Poljoprivredna enciklopedija, svezak 2, JLZ, Zagreb, 1970 str. 504-505.
2. D.S. Soldatović, Toksikologija pesticida s analitikom, Privredni pregled, Beograd, 1980 str. 17-295.
3. Škarica B., Žužić I., Bonifačić M., Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj, Rijeka, 1996; Tipograf d.d.
4. Navarro S., Vela N., Navarro G., An overview on environmental behaviour of pesticide residues in soils, *Span. J. Agric. Res.*, 2007, 5 (3), 357-375
5. Broznić D., Sorpcija – desorpcija i 6-kloronikotinske kiseline na tlima priobalja Republike Hrvatske, Zagreb: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 2010; Doktorska disertacija
6. Pehkonen S.O., Zhang Q., The degradation of organophosphorus pesticides in natural waters, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 2002, 32,17.
7. Flores-Cespedes F., Gonzales-Pradas E., Fernandez-Perez M., Effects of dissolved organic carbon on sorption and mobility of imidacloprid in soil, *J. Environ. Qual.*, 2002), 31, 880-888.
8. J.G. Mueller, C.E. Cerniglia, P.H.Pritchard.: In: *Bioremediation Principles and Applications*; Biotechnology Research Series, Vol. 6; Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1996, 125-194
9. A.Škorić, Sastav i svojstva tla, T.E.A.M., Zagreb, 1991 str.11-47
10. Briški F., Interna skripta za studente preddiplomskog studija Ekoinženjerstvo i Kemijsko inženjerstvo, 2012
11. Broznić D., Studija razgradnje imidakloprida u tlu, maslinama i maslinovu ulju, Zagreb: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 2007, Magistarski rad
12. Gluhčić D, Humusne tvari i primjena huminske kiseline u poljoprivredi; Glasnik zaštite bilja 3, 2017, Pregledni rad, str. 65-68
13. Earthgreen Products: Humic vs Fulvic Acids — Earthgreen Products. Dostupno na: <http://www.earthgreen.com/humic-vs-fulvic-acids>
14. Jug D, Osnovne značajke tla, str. 5, 12. Dostupno na: http://www.fazos.unios.hr/upload/documents/OBsK-_07%20Osnovne%20znacajke%20tla.pdf
15. Hrvatski Izzi.digital. Dostupno na: https://hr.izzi.digital/DOS/604/datastore/10/publication/604/files/2019/07/05/1562337823_medjunaroda_godina_tla_geografija.pdf?v=1614862445
16. Broznić D., Čedomila M., Imidakloprid – „čuvar“ maslinika, *Med. Flum.*, 2009, 45 (2), 119-126. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/38695>
17. Puntarić D., Miškulin M., Bošnjir J., i suradnici, Zdrastvena ekologija, Zagreb, 2012; Medicinska naklada, str. 116-122
18. Valić F. i suradnici, Zdrastvena ekologija, Zagreb, 2001; Medicinska naklada, str. 66-69
19. Pravilnik o mjerilima za razvrstavanje otrova u skupine, NN 27/99, članak 1-4.

20. Duraković Z. i suradnici, Klinička toksikologija, Zagreb, 2000; Grafos, str. 222-224
21. Pavliček D., Bilandži N., Tlak Gajger I., Denžić Lugomer M., Uporaba neonikotinoida i praćenje njihovih rezidua u medonosnim pčelama i pčelinjim proizvodima, *Vet stanica*, 2021, 52 (5), 565-77
22. Bažok R., Posljedice zabrane neonikotinoida za poljoprivrednu proizvodnju Republike Hrvatske, Zagreb, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, 2018; *Glasiilo biljne zaštite*, 18 (4), 407-412
23. Rouchaud J., Gustin F., Wauters A., Imidacloprid insecticide soil metabolism in sugar beet field crops, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1996, 56 (1), 29-36. Dostupno na: <http://dy.doi.org/10.1007/s1289900005>
24. Scholz K., Spitteller M., Influence of groundcover on the degradation of carbon-14 imidacloprid in soil, The British crop protection council, Author Brighton Crop Protection Conference; Peasts and Diseases, Vol 1, 2 i 3, 883-888, 1992
25. Baskaran S., Kookana R.S., Naidu R., Degradation of bidenthrin, chlorpyrifos and imidacloprid in soil and bedding materials at termitical application rates, *Pestic. Sci.*, 1999, 55 (12), 1222-1228
26. Calderon C., Serven L., The Effects of Infrastructure Development on Growth and Income Distribution, The Worl Bank, Washington DC, 2004
27. Krohn J., Hellpointer E., Environmental fate of imidacloprid, *Pflanzenschaft-Nachrichten Bayer*, 2002, 55 1-25.
28. Sarkar M.A., Roy S., Kole R.K., Chowdhury., Persistence and metabolism of imidacloprid in different soils of West Bengal, *Pest Manag. Sci.*, 2001, 57 (7), 598-602. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1002/ps.328>
29. Gavrilesco M., Fate of pesticides in the environment and its bioremediation, *Eng. Life Sci.*, 2005, 5(6), 497-526. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1002/elsc.200520098>
30. Beulke S., Brown C.D., Evaluation of methods to derive pesticide degradation parameters for regulatory modeling, *Biol. Fertil. Soils*, 2001, 33 (6), 558-64. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1007/s003740100364>
31. Henriksen T, Svensmark B., Juhler R.K., Degradaton and sorption of metribuzin and primary metabolites in a sandy soil, *J. Environ. Qual.*, 2004, 33 (2), 619-627
32. Ma Q.L., Rahman A., Holland P.T., James T.K., McNaughton D.E., Field dissipation of acetochlor in two New Zeland soils at two application rates, *J. Environ, Qual.*, 2004, 33 (3), 930-938
33. L. Sanchez, E. Romero, A. Pena: Ability of biosolids and a cationic surfactant to modify methidathion leaching. Modelling with pescol. *Chemosphere*, 2003, 53, 843-850.
34. Broznić D., Marinić J., Tora M., Jurešić Čanadi G., Milin Č., Kinetic evaluation of imidacloprid degradation in mice organs treated with olive oil polyphenols extract, *Croat. Chem.*, 2008, 81 (1), 203-209. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/file/36943>

35. Yamamuro, M.; Komuro, T.; Kamiya, H.; Kato, T.; Hasegawa, H.; Kameda, Y. Neonicotinoids Disrupt Aquatic Food Webs and Decrease Fishery Yields. *Science* 2019, 366 (6465), 620–623. <https://doi.org/10.1126/science.aax3442>.
36. Poliserpi, M. B.; Cristos, D. S.; Brodeur, J. C. Imidacloprid Seed Coating Poses a Risk of Acute Toxicity to Small Farmland Birds: A Weight-of-Evidence Analysis Using Data from the Grayish Baywing *Agelaioides Badius*. *Sci. Total Environ.* 2021, 763, 142957. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142957>.
37. Hallmann, C. A.; Foppen, R. P. B.; van Turnhout, C. A. M.; de Kroon, H.; Jongejans, E. Declines in Insectivorous Birds Are Associated with High Neonicotinoid Concentrations. *Nature*, 2014, 511 (7509), 341–343. <https://doi.org/10.1038/nature13531>.
38. Loser D., Grillberger K., Hinojosa M.G., Blum J., Haufe Y., Danker T. i sur., Acute effects of the imidacloprid metabolite desnitro-imidacloprid on human nACh receptors relevant for neuronal signaling. *Arch. Toxicol.*, 2021, 95 (12), 3695-3716. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-021-03168-z>
39. Plant production and protection division, Fao.org. Dostupno na: <https://www.fao.org/agriculture/crops/agp-home/en/>
40. Fomsgaard S. I., The influence of sorption on the degradation by mathematical models; The Influence of Sorption on the Degradation of Pesticides and other Chemicals in Soil; Environmental Project No. 902, Danish Institute of Agricultural Sciences, Tjele, Danska, 2004; str. 1-78
41. Thiele-Bruhn S., Brummer D.W., Kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degradation in long-term polluted soils during bioremediation, *Plant Soil.*, 2005, 275 (1-2), 31-42
42. Pignatello J.J., Xing B.S., Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles, *Environ. Sci. Technol.*, 1996, 30 (1), 1-11
43. Boesten J.J.T.I., Aden K., Beigel C., Beulke S., Dust M., Dyson J.S., Formsgaard I.S., Jones R.L., Karlsson S., van der Linden A.M.A., Richter O., Magrans J.O., Soulas G., Guidance Document on Estimating Persistence and Degradation Kinetics from Environmental Fate Studies on Pesticides in EU Re-registration, Report of the FOCUS Work Group on Degradation Kinetics, EC Document Reference Sanco/10058/2005 version 2.0, 2006. Dostupno na: <http://focus.jrc.ec.europa.eu/dk/docs/finalreportFOCDegKin04June06linked.pdf>
44. US EPA. Standard Operating Procedures Soil Sampling. U.S. EPA Contract 68-C4-0022; Autor: Washington, D.C., USA, 2012. Dostupno na <http://www.dem.ri.gov/pubs/sops/wmsr2012.pdf>
45. Kroetsch, D.; Wang, C. Particle Size Distribution. In: Soil Sampling and Methods of Analysis; Carter, M.R., Gregorich, E.H., Eds; CRC Press: Boca Raton, FL, 2007; 713-727
46. J.Martinović, Tla u Hrvatskoj, Pokret prijatelja prirode «Lijepa naša», Zagreb, 2000, str. 154-161.

47. Karleuša R.; Utjecaj organske tvari na sorpcijsko ponašanje dimetoata; Završni rad, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, 2019.
48. Hendershot W.H., Lalonde H., Duquette M., Soil Reaction and Exchangeable Acidity. In: Soil Sampling and Methods of Analysis: Carter M.R., Gregorich E.H., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2007, 173-179
49. Hendershot W.H., Lalonde H., Duquette M., Ion Exchange and Exchangeable Cations. In: Soil Sampling and Methods of Analysis: Carter M.R., Gregorich E.H., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2007, 197-207
50. Skjemstad J.O., Baldock J.A., Total and Organic Carbon, In: Soil Sampling and Methods of Analysis, Carter M.R., Gregorich E. H., Eds, CRC Press, Boca Raton, FL, 2007, 225-239
51. Gupta S, Gajbhiye V.T., Persistence of acetamiprid in soil, *B. Environ. Contam.Tox.*, 2007, 78 (5), 349-352
52. Driessen P.M., Dudal R.: (Eds.) *Lecture notes on the major soils of the world*. Agricultural University Wageningen and Katholieke Universiteit Leuven, Belgium, 1990.
53. M.Gračanin: *Pedologija*, II. dio, Zagreb, 1947.
54. Capri E., Camisa M.G., Flores-Cespedes F., Imidacloprid and pyrimethanil soil sorption, *Agronomie*, 2001, 21, 57-64
55. Mulye H.S., Supplementary review of imidacloprid technical and the end-use product, Amire 240F insecticide, Submission Numbers: 94-1706 and 94-1705, Environmental Evaluation Division, Pest Management Regulatory Agency, Health Canada: Ottawa, Ontario, Canada, 1996
56. Schad T., Calculation of temperature referenced first order DT_{50} of imidacloprid based on field dissipation studies conducted in Europe, Internal Report, Bayer AG: Leverkusen, Germany, 2001
57. Broznić D., Marinić J., Milin C., Behavior and Fate of Imidacloprid in Croatia Olive Orchard Soils Under Laboratory Conditions, In: Pesticides in the Modern World – Risks and Benefits, InTech, 2011, Vol. 3, str. 489-518
58. Koskinen W.C.; Cox L., Yen P.Y., Changes in sorption/bioavailability of imidacloprid metabolites in soil with incubation time. *Biol. Fert. Soils*, 2001, 33 (6), 546-550
59. Arias-Estevez M., Lopez-Periago E., Martinez-Carballo E., Simal-Gandara J., Mejuto J.C., Garcia-Rio L., The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources, *Agr. Ecosyst. Environ.*, 2008, 123 (4), 247-260
60. Picton P., Farenhorst A., Factors influencing 2,4-D sorption and mineralization in soil, *J. Environ. Sci. Heal. B*, 2004, 39 (3), 367-379
61. Grover R., Wolt J.D., Cessna A.J., Schiefer H.B. Environmental fate of trifluralin; *Rev. Environ. Contam. T.*, 1997, 153, 1-64

62. Sarmah A.K., Close M.E., Mason N.W.H., Dissipation and sorption of six commonly used pesticides in two contrasting soils of New Zealand, *J. Environ. Sci. Heal. B*, 2009, 44 (4), 325-336
63. Park J.H., Feng Y.C., Ji P.S., Voice T.C., Boyd S.A., Assessment of bioavailability of soil-sorbed atrazine, *Appl. Environ. Microb.*, 2003, 69 (6), 3288-3298
64. Broznić D., Marinić J., Tota M., Jurešić G.C., Petković O., Milin C., Hysteretic Behavior of Imidacloprid Sorption-Desorption in Soils of Croatian Coastal Regions, *Soil Sediment Contam.*, 2012, 21(7), 850-871
65. Broznić D., Milin C., Effects of temperature on sorption-desorption processes of imidacloprid in soils of Croatian coastal regions., *J. Environ. Sci. Heal. B*, 2012, 47 (8), 779-794
66. Food and Agriculture Organization of the United Nations., Specifications for imidacloprid., FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides, FAO of the United Nations: Rim, 2008, 1-41
67. Cox L, Koskinen W.C., Yen P.Y., Sorption-desorption of imidacloprid and its metabolites in soils, *J. Agr. Food Chem.*, 1997, 45 (4), 1468-1472

SADRŽAJ SLIKA:

Slika 1. Prikaz strukture molekula huminskih a) i fulvinskih b) kiselina..... 7

Slika 2. Teksturne klase tla..... 9

Literatura: Driessen, P.M. and R. Dudal, 1991. The major soils of the world. Lecture notes on their geography, formation, properties and use. Wageningen University, The Netherlands and Katholieke Universiteit Leuven, Belgium

Slika 3. Globalna kiselost tla..... 10

Dostupno na:

https://www.google.com/search?q=global+acid+ground&tbm=isch&ved=2ahUKEwjs0puI2Yv0AhUCrKQKHRp1C3AQ2-cCegQIABAA&oq=global+acid+ground&gs_lcp=CgNpbWcQAzoHCCMQ7wMQJzoFCAAQgAQ6BggAEAgQHjoECAAQHjoGCAAQBRAeOgQIABAYUP4UWOX7A2Cz_QNoAHAAeACAAb0BiAG9D5IBBDuMTeYAQCgAQGqAQtd3Mtd2l6LWltZ8ABAQ&scient=img&ei=H6GKYazHDoLYkgWa6q2ABw&bih=603&biw=1229#imgrc=fyZ47fwElQ1vwM

Slika 4. Kemijska struktura imidakloprida 16

Slika 5. Maslinova muha, *Bactrocera oleae* 17

Dostupno na:

https://www.google.com/search?q=maslinova+muha&sxsrf=AOaemvKeQSO0IB4mGX41EsvBuG6tIcrMwQ:1636913249698&source=lnms&tbm=isch&sa=X&sqi=2&ved=2ahUKEwjq5qGuZj0AhVKklYBHUDjC_UQ_AUoAXoECAEQAw&biw=1229&bih=557&dpr=1.56#imgrc=E7A4h9BIC2bxNM

Slika 6. Prikaz razgradnje imidakloprida 19

Slika 7. Razgradnja imidakloprida u tlima Krk i Istra uz dvije primijenjene doze insekticida: a) 5 mg/kg i b) 0,5 mg/kg. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost tri paralelna mjerenja sa standardnim pogreškama. Prikazane su i teorijske krivulje dobivene najboljim modelom. MKPR – Model Kinetike Prvoga Reda, BMKPR – Bifazni Model Kinetike Prvoga Reda, GHM – Gustafson – Holden model. 44

SADRŽAJ TABLICA:

| | |
|--|----|
| Tablica 1. Klasifikacija čestica prema njihovom promjeru..... | 8 |
| Tablica 2. Teksturna klasa tla..... | 32 |
| Tablica 3. Fizikalno – kemijska svojstva tla Istre i otoka Krka | 42 |
| Tablica 4. Prikaz parametara dobivenih uz primjenu različitih matematičkih modela razgradnje imidakloprida u tlu Istra pri koncentraciji imidakloprida od 0,5 mg/kg | 48 |
| Tablica 5. Prikaz parametara dobivenih uz primjenu različitih matematičkih modela razgradnje imidakloprida u tlu Istra pri koncentraciji imidakloprida od 5 mg/kg. | 49 |
| Tablica 6. Prikaz parametara dobivenih uz primjenu različitih matematičkih modela razgradnje imidakloprida u tlu otoka Krka pri koncentraciji imidakloprida od 0,5 mg/kg | 50 |
| Tablica 7. Prikaz parametara dobivenih uz primjenu različitih matematičkih modela razgradnje imidakloprida u tlu otoka Krka pri koncentraciji imidakloprida od 5 mg/kg | 51 |
| Tablica 8. Korelacijski test Kendall – Tau između svojstava tla i vremena DT_{50} imidakloprida, n = 12..... | 52 |

8. ŽIVOTOPIS

Anika Lorencin Pucić, rođena je 04.01.1997. u Rijeci. Osnovnu školu u Kraljevici pohađala je od 2003 do 2011. Nakon osnovnoškolskog obrazovanja 2011. upisuje Prvu sušačku hrvatsku gimnaziju, prirodoslovno-matematički smjer. 2015. godine upisuje preddiplomski studij Sanitarno inženjerstvo na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci te 2019. godine stječe zvanje Prvostupnik sanitarnog inženjerstva. 2019. upisuje Diplomski studij sanitarnog inženjerstva na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci.