

Ponašanje insekticida acetamiprida, klotianidina i tiametoksama u tlima Republike Hrvatske

Devčić, Luka

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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:184:109490>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-21**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ SANITARNOG INŽENJERSTVA

Luka Devčić

Ponašanje insekticida acetamiprida, klotianidina i tiametoksama u tlima Republike

Hrvatske

Diplomski rad

Rijeka, 2023.

SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ SANITARNOG INŽENJERSTVA

Luka Devčić

Ponašanje insekticida acetamiprida, klotianidina i tiametoksama u tlima Republike

Hrvatske

Diplomski rad

Rijeka, 2023.

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

Diplomski rad obranjen je dana 29. rujna 2023. na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr.sc. Marin Tota, mr. ph.
2. izv. prof. dr. sc. Mirna Petković Didović, dipl. ing. kemije
3. doc. dr. sc. Sunčica Buljević, dipl. sanit. ing.

Rad sadrži 54 stranice, 11 slika, 13 tablica, 41 literaturni navod.

Zahvala

Zahvaljujem se izv. prof. dr. sc. Daliboru Brozniću za mogućnost rada na zanimljivoj temi i pozornom mentorstvu. Također, ovim putem želim se zahvaliti doc. dr. sc. Igoru Dubroviću za veliku pomoć u provođenju analize rada i jasnom objašnjenju oko svega što mi je u početku predstavljalo nejasnoće.

Istraživanje je provedeno u okviru znanstveno-istraživačkog projekta pod naslovom „Razvoj novih analitičkih metoda u analizi ostataka imidakloprida i njegovih razgradnih produkata u tlima maslinika Primorsko-goranske županije“, broj: uniri-biomed-18-155-1304 s potporom Sveučilišta u Rijeci voditelja izv. prof. sc. Dalibora Broznića.

Sadržaj

| | |
|---|----|
| Sažetak..... | |
| Summary..... | |
| 1. Uvod | 1 |
| 1.1. Acetamiprid | 1 |
| 1.2. Tiametoksam..... | 2 |
| 1.3. Klotianidin..... | 3 |
| 1.4. Poljoprivreda (konvencionalna i genetski modificiranih organizama) | 4 |
| 1.5. Tlo | 5 |
| 1.6. Sorpcija i desorpcija..... | 6 |
| 1.7. Ponašanje pesticida u tlu | 7 |
| 2. Cilj istraživanja..... | 10 |
| 3. Materijali i metode..... | 11 |
| 3.1. Materijali | 11 |
| 3.1.1. Uzorci tala..... | 11 |
| 3.1.2. Kemikalije | 13 |
| 3.1.3. Instrumenti..... | 14 |
| 3.2. Metode..... | 14 |
| 3.2.1. Priprema otopina insekticida | 14 |
| 3.2.2. Eksperimenti sorpcijsko/desorpcijskih procesa insekticida na analiziranim tlima..... | 15 |
| 3.2.3. Kromatografska analiza insekticida | 16 |
| 3.2.4. MS/MS detekcija insekticida | 16 |
| 3.3. Ravnotežni matematički modeli za opisivanje nelinearne sorpcije i desorpcije | 18 |
| 3.3.1. Freundlichova izoterma | 18 |
| 3.3.2. Langmuirova izoterma | 19 |
| 3.3.3. Temkinova izoterma | 20 |
| 3.4. Prikaz rezultata i statistička analiza rezultata | 20 |

| | |
|---|----|
| 4. Rezultati | 22 |
| 4.1. Odabir ravnotežnog modela sorpcijsko/desorpcijskih izotermi za opis ponašanja analiziranih insekticida u tlima | 22 |
| 4.2. Utjecaj organske tvari na sorpciju/desorpciju i termodinamika procesa | 27 |
| 4.3. Sorpcijske izoterme acetamiprida, tiametoksama i klotianidina u tlima | 29 |
| 4.4. Desorpcijske izoterme acetamiprida, tiametoksama i klotianidina u tlima..... | 32 |
| 4.5 Testiranje utjecaja fizikalno-kemijskih karakteristika tla na sorpcijsko/desorpcijsko ponašanje acetamiprida, tiametoksama i klotianidina primjenom korelacijske matrice | 35 |
| 4.6 Testiranje utjecaja fizikalno-kemijskih karakteristika tla na sorpcijsko/desorpcijsko ponašanje acetamiprida, tiametoksama i klotianidina primjenom analize glavnih komponenata (PCA) | 39 |
| 6. Zaključci | 47 |
| 9. Literatura..... | 49 |
| 10. Životopis | 54 |

Sažetak

Neonikotinoidni insekticidi uslijed česte primjene i ulaska u ciklus kruženja tvari u okolišu pokazuju toksični učinak na ekosustave i živa bića. Na području Hrvatske koriste se u Slavoniji kao efikasno sredstvo u zaštiti nasada šećerne repe i u primorskim maslinicima za suzbijanje maslinove muhe. Djelovanje neonikotinoida očituje se neselektivnim učincima na CNS (eng. *Central nervous system*, CNS) insekata što može imati dugoročne posljedice na ekosustav u kojem se primjenjuju. Tlo je ekosustav vrlo izložen negativnim učincima neonikotinoida. U tlu je njihovo ponašanje ovisno o karakteristikama samog tla, prvenstveno količini organske tvari (eng. *Soil organic matter*, SOM), ali i o kemijskim strukturama samih molekula insekticida. Cilj istraživanja bio je ispitati utjecaj različitosti karakteristika tala s područja Republike Hrvatske na intenzitet vezivanja acetamiprida, tiametoksama i klotianidina na koloide tla, odnosno analizirati sorpcijsko/desorpcijske procese. Eksperimentalni podaci o ravnotežnoj sorpciji i desorpciji najbolje su prikazani Freundlichovim ravnotežnim modelom. Kod desorpcijskih procesa vrijednosti koeficijenta K_F za sve analizirane neonikotinoide bile su izrazito više u odnosu na K_F sorpcije. Utvrđeno je da su sorpcijsko-desorpcijski procesi neonikotinoida ovisni o sadržaju SOM-a. Vrijednosti faktora nelinearnosti znatno su se razlikovale između procesa desorpcije i sorpcije, što je ukazivalo na neslaganje sorpcijskih i desorpcijskih izoterma, odnosno pojave tzv. „histereze“. Izračunata srednja vrijednost koeficijenta K_{OC} svrstava analizirane neonikotinoide u mikrozagađivala visoke pokretljivosti. Niska slobodna energija sorpcijskih i desorpcijskih procesa upućuje na to da se procesi sorpcije i desorpcije analiziranih neonikotinoida odvijaju fizičkim procesima, od kojih je primarni mehanizam raspodjela insekticida unutar organske tvari tla .

Zaključak ovog istraživanja je da je kontrolirana primjena analiziranih neonikotinoida obvezna, posebice u tlima s niskim udjelom organske tvari, kako bi se rizik od onečišćenja okoliša i podzemnih voda sveo na minimum.

Ključne riječi: acetamiprid, klotianidin, tiametoksam, sorpcija, desorpcija, tlo

Summary

Due to an excessive use, neonicotinoid insecticides show a toxic effect on ecosystems and living beings in the environment. In Croatia, they are often used in Slavonia as an effective means to protect sugar beet plantations or in coastal regions to protect olive groves from olive flies. Neonicotinoids work by binding non-selectively to the acetylcholine receptors on the CNS of all insects, which can have long-term consequences for the ecosystem in which it is applied. One ecosystem often exposed to the negative effects of neonicotinoids is soil. The behaviour of insecticides in soil depends on the characteristics of the soil, primarily the amount of organic matter (SOM), but also on the chemical structure of the insecticides themselves. The goal of this research is to examine the influence of different soil characteristics on the intensity of binding of acetamiprid, thiamethoxam and clothianidin to soils from the Republic of Croatia, and to analyze their sorption/desorption processes. The data analyzed is best represented by the Freundlich model. . In the case of desorption processes, the K_F values for all analyzed insecticides are significantly higher compared to the sorption K_F values. This research confirms that the sorption-desorption processes of neonicotinoids are statistically dependent on the organic phase of the soil. The values of the nonlinearity factor differed considerably between the desorption and sorption processes, which indicated a discrepancy between the sorption and desorption isotherms, this is the occurrence of the so called "hysteresis" phenomena. The mean value of K_{OC} coefficients in this research classifies the analyzed neonicotinoids as highly mobile micropollutants. The low Gibbs energy of sorption and desorption processes indicates that the sorption and desorption processes of analyzed neonicotinoids take place through physical processes, the primary mechanism of which is the distribution of insecticides within organic matter of the soil.

The results of the research emphasize that the controlled application of the analyzed neonicotinoids is mandatory, especially in soils with a low content of organic substances, in order to minimize the risk of environmental and groundwater pollution..

Keywords: acetamiprid, clothianidin, thiametoxam, adsorption, desorption soil

1. Uvod

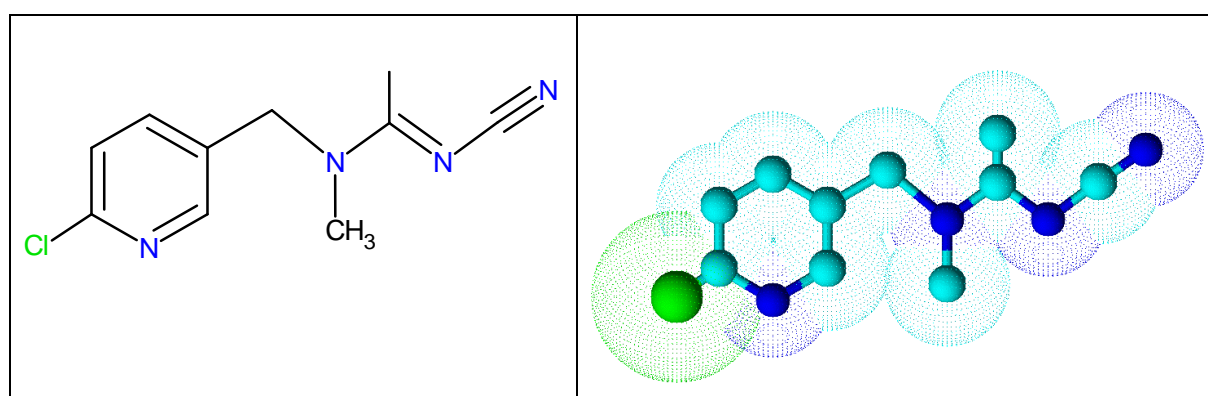
Uz rast uporabe neonikotinoidnih insekticida posljednjih dva desetljeća, otkad je prvi neonikotinoid imidakloprid komercijaliziran 1991. godine, neonikotinoidi su odobreni za korištenje u više od 120 zemalja i primjenjuju se na više od 290 usjeva [1,2]. Neonikotinoidni insekticidi imaju jedinstven način djelovanja na nikotinske acetilkolinske receptore u CNS-u (eng. *Central nervous system*, CNS) insekata: vezuju se na iste receptore, izazivajući pretjeranu stimulaciju, što uzrokuje paralizu sa smrtnim ishodom. Također, remete endokrini rad štitnjače gmazova, a utvrđeno je i da uzrokuju poremećaje metabolizma i oksidativni stres kod miševa [3]. Niske koncentracije prilikom primjene, selektivna toksičnost i izražena rezidualna aktivnost neonikotinoida doveli su do široke primjene u svim poljoprivrednim industrijama. Prema Agenciji za istraživanje hrane i okoliša u Velikoj Britaniji, oko 120 t neonikotinoida primijenjeno je na više od 2 milijuna hektara poljoprivrednog zemljišta u Velikoj Britaniji između 2012. i 2016. godine. U 2018. godini, Europska agencija za sigurnost hrane zabranila je korištenje imidakloprida, tiametoksama i klotianidina u Europskoj Uniji kao rezultat dokazivanja njihove toksičnosti. Zabrana se nije odnosila na primjene navedenih neonikotinoida na staklenički uzgoj kultura radi smanjenog rizika širenja insekticida u zatvorenom stakleničkom sustavu. Za sada ne postoji konsenzus o najboljoj alternativi za zamjenu neonikotinoida [4].

Potrebno je naglasiti da primjenom neonikotinoida dolazi do akumulacije samih insekticida i njihovih razgradnih produkata u okolišu. Barem jedan neonikotinoid je otkriven u 63% od 48 ispitanih potoka SAD-a [5]. U području Sydneya i njegovoj okolini, u 93% ispitanih rijeka, pronađeno je dva ili više neonikotinoida u koncentracijama 0,06 – 4,5 µg/L [6].

1.1. Acetamiprid

Acetamiprid je insekticid koji pripada neonikotinoidima. Koristi se za suzbijanje nametnika u poljoprivredi, ali i za kućnu upotrebu za suzbijanje buha na mačkama i psima. U tijelu insekata se ponaša kao nikotinski agonist čime uzrokuje paralizu i smrt. Struktura i trodimenzionalni prikaz molekule acetamiprida prikazana su na Slici 1. Radi se o organskom spoju kemijske formule $C_{10}H_{11}ClN_4$ standardnog (IUPAC) naziva N1-[(6-klor-3-piridil)-metil]-N2-cijano-N1-metilacetamidin. Glavno obilježje strukture je prisutnost kloropiridinilske i nitrilne skupine.

Acetamiprid je insekticid bez mirisa u obliku bijelih kristala ili praha. Topljiv je u vodi, etanolu, metanolu, acetonu, acetonitrilu i kloroformu. S obzirom na neselektivnost acetamiprida, povezan je sa štetnim učincima na oprašivače, poput pčela, koje imaju ključnu ulogu u poljoprivredni i ekosustavu. Njegova raširena uporaba u poljoprivredi može naštetiti lokalnoj populaciji pčela i poremetiti proces oprašivanja u ekosustavu, što bi dovelo do smanjenih prinosa u poljoprivredi i opće ekološke neravnoteže. Osim toga, ostaci acetamiprida mogu dospjeti u vodna tijela, što predstavlja rizik za život u vodi i potencijalno utječe na cjelokupno zdravlje ekosustava u Hrvatskoj. Učinkovita regulacija i praćenje njegove uporabe ključni su za ublažavanje ovih potencijalnih problema [7].

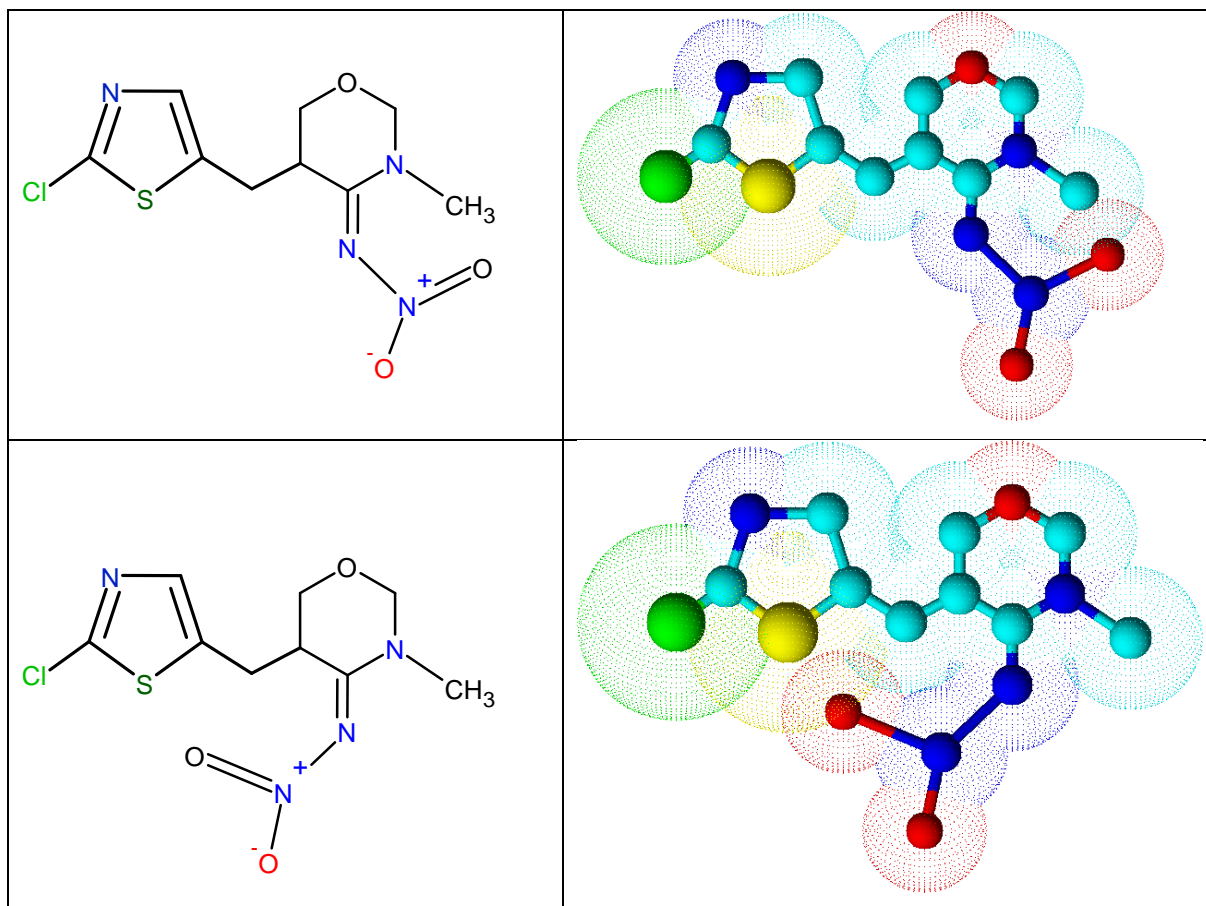


Slika 1. Strukturna formula i trodimenzionalni prikaz molekule acetamiprida

1.2. Tiametoksam

Tiametoksam je sistemski insekticid iz klase neonikotinoida širokog spektra djelovanja na mnoge vrste insekata. Ima isti mehanizam djelovanja kao acetamiprid, zbog čega je poznat po odgovornosti za smrt velikog broja oprašivača. Istraživanje provedeno od strane Europske agencije za sigurnost hrane (eng. *The European Food Safety Authority*, EFSA) iz 2018. utvrdilo je da upotreba većine neonikotinoidnih pesticida, među kojima je i tiametoksam predstavlja rizik za divlje pčele i medonosne pčele [4]. Struktura i trodimenzionalni prikaz molekule tiametoksama prikazani su na Slici 2, u obliku *E* i *Z* izomera. Jedna značajka tiametoksama je njegova sveobuhvatnost, budući da se može primijeniti različitim načinima primjene, poput tretiranja sjemena, primjene u tlu i prskanja. Takva fleksibilnost ga čini vrijednim alatom za integrirane strategije upravljanja štetočinama. Međutim, tiametoksam, kao i drugi neonikotinoidni insekticidi, izazvao je zabrinutost zbog svojih potencijalnih utjecaja na okoliš, posebice zbog njegove povezanosti sa smanjenjem broja pčela. Zbog svog dokazanog štetnog

djelovanja, tiametoksam je zabranjen u EU od 2018. godine, zbog zagađenja koja nastaju njegovom nekontroliranom upotrebom ili njegovim ostacima i produktima koji nastaju razgradnjom [4].

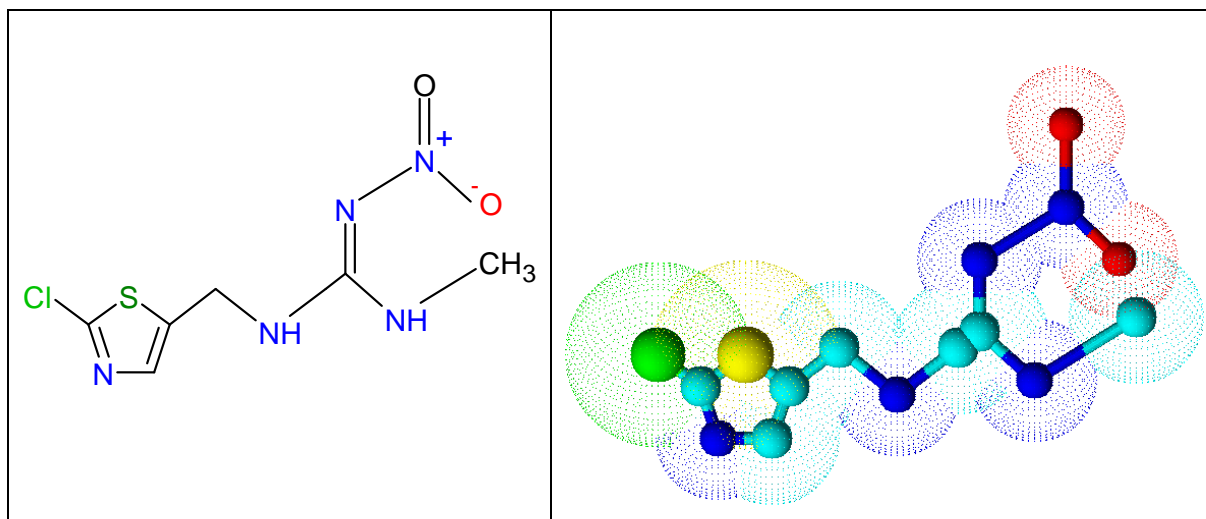


Slika 2. Strukturna formula *E* i *Z* izomera tiametoksama

1.3. Klotianidin

Klotianidin, insekticid vrlo sličan tiametoksamu, smije se koristiti u određenim slučajevima tretiranja sjemenki biljaka. Mehanizam djelovanja je jednak kao kod prethodno navedenih neonikotinoida i također je poznat po svom djelovanju na oprašivače [8]. Struktura i trodimenzionalni prikaz molekule klotianidina prikazani su na Slici 3, gdje je istaknuta njegova polarnost. Agencija za zaštitu okoliša SAD-a (eng. United States Environmental Protection Agency, US EPA) navodi kao glavni rizik klotianidina toksičnost na pčele medarice (kao i kod drugih navedenih neonikotinoida). Kratkoročno je toksičan za sisavce koji ga unesu u tijelo, a kronična izloženost može imati negativne posljedice na reproduktivni sustav i razvoj organizma. Ispitivanja ukazuju na postojanost i pokretljivost klotianidina u okolišu. Također,

stabilan je na hidrolizu i kao takav predstavlja potencijalan rizik kao zagađivalo podzemnih i površinskih voda. Dokazano je da se klotianidin zadržava u površinskih 15 cm tla pri primjeni maksimalnih koncentracija tijekom godine. Iz ovih razloga klotianidin je zabranjen za svu vanjsku upotrebu u EU od 2018. godine kao i tiametoksam [8].



Slika 3. Strukturna formula i trodimenzionalni prikaz *E* izomera klotianidina

1.4. Poljoprivreda (konvencionalna i genetski modificiranih organizama)

Poljoprivreda je primarna djelatnost usmjerena na proizvodnju hrane za ljudsku potrošnju, obavezno za opskrbu energijom i održavanje osnovnih metaboličkih procesa u ljudskom tijelu. Međutim, suvremena konvencionalna poljoprivreda često zanemaruje pravu važnost tla i nastoji iz njega izvući što veće količine resursa i u što kraćem periodu. Nažalost, ova praksa često dovodi do ozbiljnog onečišćenja i oštećenja okoliša. U nastojanju da ostvari visoke prinose, konvencionalna poljoprivreda se oslanja na pesticide, genetski modificirane organizme (GMO) (u slučaju GMO poljoprivrede), različite mehaničke uređaje, umjetna gnojiva i velike količine energije. Ove metode često rezultiraju dugotrajnim i ozbiljnim posljedicama za ekosustav. Prirodna ravnoteža se narušava, a javljaju se problemi poput klimatskih promjena, eutrofikacije (prekomjernog rasta algi u vodi), erozije tla, onečišćenja okoliša, te prekomjerne emisije stakleničkih plinova. Također, plodnost tla opada, a pojavljuju se i različite bolesti kod ljudi i životinja. U slučaju nepovoljnih uvjeta, bilo vremenskih ili nepogodnog tla za određene kulture, proizvodnja se često seli u staklenike i plastenike kako bi se lakše kontrolirali uvjeti uzgoja.

Ovakav način proizvodnje omogućuje dostupnost željenog voća i povrća tijekom cijele godine, bez obzira na sezonske varijacije. Međutim, biljke i životinje često se tretiraju različitim hormonima, pesticidima i drugim kemikalijama kako bi se postigle određene željene karakteristike. Ovakav način primjene može utjecati na stvaranje novih vrsta organizama koje mogu poremetiti prirodnu ravnotežu i ugroziti biološku raznolikost. Sve ove negativne posljedice ukazuju na to da uspjeh konvencionalne poljoprivrede može biti prividan. U Hrvatskoj, konvencionalna poljoprivreda nije tako razvijena kao u nekim drugim zemljama zbog različitih socio-ekonomskih razloga. Kako bi se ublažile posljedice konvencionalne poljoprivrede na okoliš i ljudsko zdravlje, u novije se vrijeme zagovara ekološka poljoprivreda. U ekološkoj poljoprivredi ograničava se uporaba pesticida, smanjuje se potrošnja energije i teži se vraćanju resursa iz okoliša natrag prirodi. Glavni cilj ekološke poljoprivrede je maksimalno iskorištavanje prirodnih resursa, smanjenje onečišćenja okoliša i unapređenje zdravlja ljudi [9].

1.5. Tlo

Tlo je površinski sloj Zemlje koji ima ključnu ulogu u rastu i razvoju biljaka. Formira se kroz složen proces djelovanja različitih čimbenika poput klime, reljefa, organizama i vegetacije na rastresite stijene. Tijekom formiranja tla, odvijaju se mnogi kemijski i biološki procesi, uključujući razgradnju organskih tvari, stvaranje humusa te trošenja minerala.

Tlo se sastoji od dvije glavne faze: anorganske koja čini oko 45% tla, i organske koji čini oko 5% tla. Preostali dio tla zauzimaju voda i zrak. Također je važno napomenuti da su voda i zrak u tlu međusobno usko povezani. Hidrolitički ili ciklus vode u prirodi, ima iznimno važnu ulogu u ovom kontekstu. Prisutnost vode u tlu značajno utječe na njegovu strukturu, prozračnost, režim vode i topline, te cirkulaciju organskih i mineralnih tvari (ciklus mineralnih tvari). Količina vode i zraka u tlu su obrnuto proporcionalne: što je tlo bogatije vodom, to će biti siromašnije zrakom i obrnuto. Voda, zrak i hranjive tvari zadržavaju se u porama i međuprostorima unutar tla. Interakcija tih komponenata u tlu neophodna je za rast i razvoj biljaka [10].

Ovisno o sposobnosti vezivanja tvari i svojoj specifičnoj površini, minerali tla dijele se na primarne i sekundarne. Anorganski dio tla čini oko 95% ukupne čvrste mase tla i sastoji se od 80% primarnih i 20% sekundarnih minerala. Primarni minerali su npr. pijesak i prah,

karakterizirani malom površinom i zanemarivom sposobnošću vezivanja tvari. Osnovna kristalna struktura primarnih minerala tla (uglavnom silikata) je tetraedarska, gdje je centralni kation Si^{4+} okružen s četiri aniona O^{2-} , te oktaedarska, gdje je Al^{3+} okružen sa šest OH^- iona. Također, tijekom njihova raspadanja oslobađaju se tvari koje su potrebne biljkama za rast i razvoj.

Sekundarni minerali uključuju gline, okside, hidrokside i karbonate. Oni zajedno s organskom tvari čine aktivni dio tla, ali su znatno manje prisutni u usporedbi s primarnim mineralima. Sekundarni minerali imaju negativan naboj i stoga privlače katione. Kationi se mogu vezati nespecifično na vanjskoj strani ili specifično na unutarnjoj strani njihove strukture. Općenito, struktura se sastoji od SiO_2 tetraedara i oktaedara aluminijevim, magnezijevim ili željezovim ionima u središtu. Za razliku od primarnih minerala, sekundarni minerali brže se raspadaju, ali ipak ne dovoljno brzo da bi biljkama osigurali potrebne hranjive tvari [11].

Osnova rasta i razvoja biljaka leži u hranjivim tvarima koje biljke crpe iz tla. Te hranjive tvari mogu se podijeliti u četiri osnovne skupine: makroelementi (ugljik, kisik, vodik, dušik, fosfor, kalij, željezo, kalcij, magnezij, sumpor), mikroelementi (bakar, cink, klor, nikel), korisni elementi (natrij, aluminiј, silicij, kobalt) i toksični elementi (arsen, živa, krom, olovo, kadmij, uran). Makroelementi su ključni za osnovne funkcije biljaka, dok dušik, sumpor i fosfor imaju važnu ulogu u strukturi organskih molekula. Kada se cirkulacija esencijalnih tvari unutar biljke poremeti, mogu se pojaviti različite nuspojave. To može uključivati promjene boje lišća, odumiranje lišća ili drugih dijelova biljke. Često je razlog tome premještanje tvari prema mlađim listovima, dok stariji dijelovi biljke propadaju [12].

1.6. Sorpcija i desorpcija

Procesi sorpcije i desorpcije važna su pojava u kontekstu ponašanja pesticida unutar ekosustava. Ti su procesi u središtu razumijevanja interakcije pesticida s matricom tla, utječući na njihov potencijalni utjecaj (negativan ili pozitivan) na okoliš.

Sorpcija uključuje „lijepljenje“ molekula pesticida na različite komponente tla, prvenstveno mineralne čestice i organsku tvar. To je dinamičan proces na koji utječe mnoštvo čimbenika poput kemijskih svojstava pesticida, sastava tla, temperature, razine vlage i pH. Sorpcija je

odgovorna za zadržavanje pesticida unutar matrice tla i potencijalno produljenja njihove postojanosti.

Desorpcija je obrnuti proces u kojem se pesticidi oslobađaju iz čestica tla natrag u tekuću fazu tla. To može biti potaknuto promjenama u uvjetima okoliša, kao što su fluktuacije vlažnosti tla ili pH, kao i interakcije s drugim sastojcima tla. Desorpcija je važan čimbenik koji određuje bioraspoloživost pesticida, budući da upravlja udjelom pesticida koji je dostupan biljkama za unos, ispiranje u podzemne vode ili prijelaz u druge dijelove okoliša.

Razumijevanje dinamike sorpcije i desorpcije ključno je za procjenu utjecaja primjene pesticida na okoliš u poljoprivredi. Utječe na mogućnost ispiranja pesticida u podzemne vode, onečišćenje površinskih voda i rizik od izloženosti na ciljanim organizmima. Također, ima značajnu ulogu u učinkovitosti pesticida, jer dostupnost aktivnog sastojka za ciljane štetnike ovisi o njegovom sorpcijskom ponašanju u tlu [13].

1.7. Ponašanje pesticida u tlu

Sukladno istraživanju koje su proveli Živančev i suradnici [14], ostaci pesticida pretežno se nakupljaju u gornjim slojevima tla, no za potpuno razumijevanje njihovog utjecaja na okoliš ključno je ispitati njihovo kretanje kroz podzemne vode. Ovo je posebno važno u vodonosnicima gdje je protok vode relativno spor, što dovodi do sporijeg kretanja onečišćenja zbog sorpcije. Sorpcija također omogućuje produljeni vremenski okvir za odvijanje drugih procesa razgradnje. Kako bi se odredio linearni sorpcijski koeficijent za neonikotinoide korištene u svom istraživanju, Živančev i suradnici [14] upotrijebili su model simulacije transporta korištenjem podataka terenskih istraživanja. Pesticidi korišteni u istraživanju bili su acetamiprid, imidakloprid i karbendazim. Rezultati ovog istraživanja ukazuju na sličan koeficijent sorpcije imidakloprida i acetamiprida, što je u skladu s rezultatima terenskog pokusa i fizikalno-kemijskim svojstvima proučavanih tvari. Nadalje, primjena matematičkog modeliranja dala je vrijedan uvid u ponašanje karbendazima, acetamiprida i imidakloprida u podzemnim vodama. S obzirom na korištene pesticide, ovo istraživanje također može poslužiti kao osnova za procjenu ponašanja drugih kemijskih spojeva sličnih fizikalno-kemijskih karakteristika u ekosustavu[14].

Među svim proučavanim neonikotinoidnim insekticidima u istraživanju kojeg su proveli Aseperi i suradnici [15], tiametoksam je pokazao najnižu razinu sorpcije u različitim vrstama tla. Iz dobivenih rezultata zaključeno je da tiametoksam ima velik potencijal za onečišćenje podzemnih voda, osobito kada se primjenjuje na tla s relativno niskim sadržajem organskog ugljika. S druge strane, utvrđeno je da će se tiaklopid, koji je pokazao najvišu razinu sorpcije, snažnije zadržati u tlima s višim sadržajem organskog ugljika. Utvrđeno je i da se sorpcija ovih neonikotinoida može uspješno opisati Freundlichovim modelom. Nadalje, na stupanj sorpcije značajno su utjecali tip tla i karakteristike pojedinih pesticida, ali je kapacitet sorpcije najviše bio ovisan o udjelu organske tvari u tlu.

I u drugim je istraživanjima [15, 17, 37] pokazano da se u tlima s visokim sadržajem organske faze značajno produljuje vrijeme ispiranja pesticida iz tla, pri čemu je tiametoksamu trebalo četiri puta dulje, a tiaklopidu čak četrdeset osam puta dulje da se ispere iz tala s visokim udjelom organske tvari u odnosu na tla s niskim. Iz ovih opažanja proizlaze dvije važne implikacije. Prvo, ako se ovi insekticidi ne razgrade, tiaklopid će brzo postati dostupan u okolišu, potencijalno predstavljajući rizik za ekosustav. Drugo, tiametoksam i tiaklopid ostavljaju više ostataka u gornjim dijelovima profila tla kada se nanose na tlo s niskim adsorpcijskim svojstvima (bogata muljem). Tla bogata organskom tvari imaju tendenciju zadržavanja većine ostataka dublje unutar profila tla. To ponovo ima značajne implikacije na bioraspodjelu neonikotinoida i za biljke i za druge organizme u tlu zbog same brzine i dubine njihovog prodiranja u tlo te mogućnost njihovog širenja kroz profil tla [15].

Povećana upotreba neonikotinoidnih insekticida širom svijeta izaziva zabrinutost zbog sve veće i šire kontaminacije tla i vodenih ekosustava. Aktivnosti u poljoprivrednim i urbanim područjima glavni su izvor neonikotinoida u vodama, iz kojih proizlaze i drugi (sekundarni) izvori, kao što su otpadne vode ili mulj iz postrojenja za obradu otpadnih voda i drenažnih sustava. Neonikotinoidi korišteni u poljoprivredi također završavaju u drugim matricama jer se veći dio širi u okolišu. Putevi širenja insekticida u okolini mogu biti: površinsko otjecanje s obradivih površina, ispiranje iz drenažnih sustava, vlažno ili suho atmosfersko taloženje uzrokovano prskanjem ili raspršivanjem prašine, isparavanje pesticida s polja tijekom primjene i prodor u podzemne i površinske vode. Ako kontaminirane površinske vode služe u svrhu navodnjavanja, neonikotinoidi se mogu ponovno prenositi u tlo na ciljanim ili neciljanim područjima. Glavni čimbenici koji utječu na ekološku postojanost neonikotinoida su: vrsta i

količina pesticida, vrsta tla, sadržaj organske tvari/organskog ugljika (engl. *organic matter*, OM / *organic carbon*, OC), pH, sunčeva svjetlost, temperatura, cirkulacija vode [16].

U sličnom istraživanju koje su proveli Carbo i suradnici [17], analizirana je sorpcija acetamiprida, karbendazima, diurona i tiametoksama u dva brazilska tla. Od analiziranih pesticida u interesu ovog istraživanja su rezultati insekticida acetamiprida i tiametoksama. Za opis procesa sorpcije, tj. za izračun K_D i K_F koeficijenata iz eksperimentalnih podataka, korišten je Freundlichov model. Vrijednosti K_D korištene su za izračun koeficijenta raspodjele organskog ugljika u tlu (K_{OC}). Za acetamiprid i tiametoksam, vrijednosti K_{OC} u analiziranim tlima kretale su se od 98 do 3235, odnosno od 104 do 2877. Nadalje, za acetamiprid i tiametoksam utvrđeni su niski sorpcijski koeficijenti, što ukazuje na visok rizik od onečišćenja površinskih i podzemnih voda [17].

2. Cilj istraživanja

Primjenom matematičkih modela za opise procesa sorpcije i desorpcije insekticida u tlu moguće je procijeniti potencijalni rizik onečišćenja podzemnih voda. U usporedbi s drugim insekticidima, podaci o procesu sorpcije – a posebice desorpcije – neonikotinoida prilično su oskudni.

U ovom su istraživanju stoga proučavani ravnotežni procesi sorpcije/desorpcije neonikotinoidnih insekticida tiametoksama, klotianidina i acetamiprida, s tri glavna cilja: (a) analizirati učinak fizikalno-kemijskih karakteristika tla na sorpcijsko/desorpcijsko ponašanje navedenih insekticida; (b) pronaći matematički model (sorpcijsku izotermu) koji najbolje opisuje eksperimentalno ponašanje; (c) koristiti model za procjenu rizika onečišćenja okoliša na mjestima primjene.

3. Materijali i metode

3.1. Materijali

3.1.1. Uzorci tala

U ovom istraživanju korištena su tri uzorka tla: Slavonska crnica (uzorak SC), Plase–bor (uzorak PB) i Bukva–Zlobin (uzorak BZ). Lokacije uzorkovanja tala prikazane su na Slici 4.



Slika 4. Lokacije uzorkovanja tla; Slavonska crnica (uzorak SC), Plase–bor (uzorak PB) i Bukva–Zlobin (uzorak BZ)

Uzorkovanje i analiza fizikalno-kemijskih parametara provedena je u prethodnim studijama [18] te je karakterizacija tala prikazana u tablicama 1, 2 i 3. Uzorkovanje tala provedeno je prema standardnoj proceduri uzorkovanja, poštujući načela slučajnosti, neovisnosti, nepristranosti i reprezentativnosti. Tla su prikupljena na 0,5 ha površine tla metodom “dijagonale” [18], sondom od nehrđajućeg čelika iz A horizonta na dubini do 30 cm na način da je uzet po jedan uzorak na svakom vrhu pravokutnika i po jedan uzorak na sjecištu dijagonala pravokutnika. Tako je sa svakog lokaliteta uzeto pet pojedinačnih uzoraka od 2 kg u plastičnim kutijama s poklopcem. Tla su osušena na zraku u laboratoriju, usitnjena i prosijana kroz sito (\emptyset 1 mm). Tla sa svake lokacije su pomiješana, homogenizirana i “četvrtana” radi dobivanja reprezentativnog uzorka, a zatim pohranjena na temperaturi od 20 ± 1 °C. Prije provedbe sorpcijsko-desorpcijskih procesa, tla su analizirana na ostatke insekticida koji su primijenjeni u istraživanju (acetamiprida, tiametoksama i klotianidina) pomoću vezanog sustava HPLC-MS/MS metode.

Tablica 1. Teksturni sastav uzoraka tla [18].

| Uzorak tla | Oznaka uzorka tla | Krupni pijesak / % | Prah / % | Glina / % | Sitni pijesak / % |
|------------------|-------------------|--------------------|----------|-----------|-------------------|
| Plase – bor | PB | 14,85 | 10,69 | 26,77 | 47,69 |
| Bukva – Zlobin | BZ | 14,86 | 10,68 | 22,16 | 52,30 |
| Slavonska crnica | SC | 1,53 | 31,37 | 47,85 | 19,24 |

Tablica 2. Aktivna (aktualna), supstitucijska (izmjenjiva) i hidrolitička kiselost uzoraka tla [18].

| Oznaka uzorka tla | Aktivna kiselost | Supstitucijska kiselost | Hidrolitička kiselost / cmol kg ⁻¹ |
|-------------------|------------------|-------------------------|---|
| PB | 6,39 ± 0,05 | 6,11 ± 0,06 | 11,20 |
| BZ | 6,29 ± 0,06 | 6,09 ± 0,06 | 11,42 |
| SC | 6,34 ± 0,06 | 6,04 ± 0,08 | 27,78 |

U tlima je spektrofotometrijski određen i udio organske faze (eng. Soil organic matter, % SOM) mokrim spaljivanjem s koncentriranom sumpornom kiselinom i kalijevim bikromatom, uz glukozu kao standard. Pri valnoj duljini od 585 nm očitana je apsorbancija i formiran je baždarni pravac iz kojega je potom određen SOM u uzorcima. Dobiveni rezultati SOM-a preuzeti su iz prethodnog istraživanja na analiziranim tlima a prikazani su u Tablici 3 [19].

Sukladno dobivenim rezultatima proizlazi da je SC tlo s malo humusa/organske tvari, a BZ i PB su tla s vrlo visokim količinama humusa. Udio SOM-a u tlu SC je očekivan za poljoprivredna tla u Hrvatskoj (1 – 5 % SOM), dok je SOM kod uzoraka PB i BZ iznimno visok. Činjenici da je u tlima PB i BZ udio SOM-a toliko visok može se pripisati lokaciji s kojeg su tla uzeta, odnosno da se radi o šumskom tlu [19].

Tablica 3. Udio organske faze u tlu i elementarna analiza uzoraka tla [19].

| Oznaka uzorka tla | SOM/% | W(C)/% | W(H)/% | W(N)/% | C/H omjer | C/N omjer |
|-------------------|-------|--------|--------|--------|-----------|-----------|
| PB | 23,9 | 17,87 | 2,626 | 0,8670 | 6,805 | 20,61 |
| BZ | 16,9 | 13,81 | 2,403 | 0,9831 | 5,747 | 14,05 |
| SC | 2,74 | 1,699 | 0,7669 | 0,1801 | 2,215 | 9,434 |

Rezultati elementarne analize uzoraka tla, zajedno s C/H i C/N omjerima, prikazani su u tablici 3. Što je veći C/H omjer veći je udio aromatskih spojeva i dvostrukih (C=C) veza u ostalim spojevima organske faze, tj. ukazuje na veću zastupljenost hidrofobnih skupina. Suprotno tome, manja vrijednost C/H omjera znači veću hidrofilnost.

Najveći udio ugljika dobiven je kod tla PB, kojeg slijedi BZ, te SC s vrlo malom količinom ugljika. Dobiveni redoslijed je u skladu s prethodno izračunatim rezultatima za SOM. Omjer C/H prikazuje najveću zastupljenost hidrofobnih skupina kod tla PB, dok tlo SC, prikazuje najhidrofilnije osobine. C/N omjer najmanji je za tlo SC, što pokazuje da je ovo tlo najbogatije dušičnim skupinama [19].

3.1.2. Kemikalije

- acetamiprid, analitički standard čistoće $\geq 99,0\%$ (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Njemačka);
- tiametoksam, analitički standard čistoće $\geq 99,0\%$ (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Njemačka);
- klotianidin, analitički standard čistoće $\geq 99,0\%$ (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Njemačka);
- komplet standarda za analizu pesticida, Pestizidruck kit RESTEK 31971 LC Multi (Bellefonte, PA, SAD);
- metanol, CH₃OH, HPLC čistoće za LC/MS analizu (Supelco, Darmstad, Njemačka);
- amonijev formijat, HCOONH₄, za LC/MS analizu (Fluka, Deisenhofen, Njemačka);
- acetonitril, CH₃CN, HPLC čistoće (J.T. Baker, Deventer, Nizozemska);
- kalcijev klorid, CaCl₂, (Kemika, Zagreb, Hrvatska);
- superčista voda pripremljena korištenjem Ultrapure Water sustava, Ultra Clear™ TP ED TWF, Evoqua Water Technologies (Guenzburg, Njemačka).

3.1.3. Instrumenti

Analitička vaga, OHAUS Explorer (Nänikon, Švicarska);

Centrifuga Rottina 420R, Andreas Hettich GmbH & Co. KG (Tuttlingen, Njemačka);

Horizontalna tresilica, Heidolph promax 2020 (Schwabach, Njemačka);

HPLC-MS/MS, Exion LC (Concord, Ontario, Kanada) opremljen Phenomenex Kinetex C18 analitičkom kolonom (100 × 2,1 mm i.d., 2,6 μm veličina čestica punjenja, 100 Å veličina pore Phenomenex, Torrance, CA, SAD).

3.2. Metode

3.2.1. Priprema otopina insekticida

Ishodne otopine analitičkih standarda insekticida (1 mg/mL), acetamiprida, tiametoksama i klotianidina pripremljene su otapanjem odgovarajuće količine svakog insekticida u acetonitrilu HPLC čistoće, dok su za eksperimente ravnotežnih procesa sorpcije/desorpcije ishodne otopine insekticida razrijeđene s 0,01 M otopinom CaCl₂. Kemijska struktura korištenih insekticida s njihovim fizikalno-kemijskim svojstvima prikazana je u Tablici 4.

Tablica 4. Fizikalno-kemijska svojstva korištenih insekticida (izvor: Pubchem baza podataka kemijskih spojeva) [20].

| Svojstva | acetamiprid | tiametoksam | klotianidin |
|-------------------------------|--|--|---|
| IUPAC ime | N-[(6-kloropiridin-3-il)metil]-N'-cijano-N-metiletanimidamid | {3-[(2-Kloro-1,3-tiazol-5-il)metil]-5-metil-1,3,5-oksadiazinan-4-iliden}nitramid | 1-(2-Kloro-1,3-tiazol-5-ilmetil)-3-metil-2-nitrogvanidin |
| Molekulska formula | C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄ | C ₈ H ₁₀ ClN ₅ O ₃ S | C ₆ H ₈ ClN ₅ O ₂ S |
| Molarna masa/ g/mol | 222,67 | 291,71 | 249,67 |
| Talište / °C | 98,9 | 139,1 | 179,0 |
| Topljivost u vodi / (g/L) | 2,95 (20 °C) | 4,1 | 0,327 |
| Gustoća/ (g/cm ³) | 1,17 | 1,57 | 1,61 |

3.2.2. Eksperimenti sorpcijsko/desorpcijskih procesa insekticida na analiziranim tlima

Sorpcijski procesi analiziranih insekticida kvantificirani su uz primjenu standardne „šaržne“ ravnotežne metode koja je opisana u Tehničkim smjernicama OECD-a (eng. *Organisation for Economic Co-operation and Development*) br. 106 [21]. Od pripremljenih temeljnih otopina svakog insekticida (1 mg/mL), pripremljene su radne otopine svakog insekticida u koncentracijama 2,1, 4,2, 8,3, 12,5, 16,7, 20,8 i 25 mg/L, razrjeđivanjem s 0,01 M CaCl₂, koji je korišten za održavanje konstantne ionske jakosti i poticanja flokulacije. Eksperimenti su provedeni u tri paralelne analize za svaku koncentraciju svakog pojedinog insekticida, na način da je 5,0 g zrakosuhog tla pomiješano s alikvotom od 25 mL otopine pojedine koncentracije svakog insekticida u epruветama za centrifugiranje od 50 mL. Smjese tla i otopine insekticida dobro su promiješane vrtložnom laboratorijskom miješalicom te dodatno miješane na horizontalnoj tresilici pri 20 okr/min tijekom 48 h zbog postizanja ravnotežnog stanja procesa sorpcije. Nakon 48 h smjesa je dekantirana te je 1 mL suspenzije uzet za analizu količine insekticida. Uklonjene suspenzije su centrifugirane na 4000 okr/min tijekom 3 min te je svaki supernatant filtriran kroz Millipore filter veličine pora membrane od 0,22 μm (Merck, Darmstadt, Njemačka) prije analize na HPLC-MS/MS. Sorbirana količina svakog insekticida, q_{eq}^{sor} (mg/kg) izračunata je prema izrazu (1):

$$q_{eq}^{sor} \text{ (mg/kg)} = \frac{[\gamma_0 - \gamma_{eq}^{sor}] \cdot V_0}{m_{tla}} \quad (1)$$

U izrazu (1) γ_0 i γ_{eq}^{sor} predstavljaju početnu i ravnotežnu koncentraciju (mg/L) procesa sorpcije svakog insekticida, V_0 je volumen insekticidne otopine (L) i m_{tla} je masa tla (kg).

Pripremljeni su i kontrolni uzorci koji su podvrgnuti analizi na identičan način kao i sami uzorci, jedan uzorak bez tla, samo s insekticidnom otopinom i drugi s tlom, ali bez insekticida, kako bi se izbjegla moguća sorpcija insekticida na filtrima ili centrifugalnim epruветama, razgradnja i isparavanje tijekom eksperimenta. Kontrolni uzorci su korišteni za svaku seriju eksperimenata.

Nakon procesa sorpcije, proveden je proces desorpcije na način da je otopina insekticida uklonjena nakon 48 h sorpcije i zamijenjena s 25 mL 0,01 M otopine CaCl₂. Smjesa tla i otopine

ponovno je miješana 48 h, centrifugirana i 1 mL supernatanta je uklonjeno za kromatografsku analizu. Preostale faze postupka bile su identične kao i kod procesa sorpcije. Količina insekticida koja je ostala sorbirana, q_{eq}^{des} (mg/kg) nakon vremenskog intervala 48 h desorpcije izračunata je prema izrazu (2):

$$q_{eq}^{des} \text{ (mg/kg)} = \frac{m_{eq}^{sor} - m_{eq}^{des}}{m_{tla}} \quad (2)$$

U izrazu (2) m_{eq}^{sor} i m_{eq}^{des} predstavljaju masu insekticida pri sorpcijskoj ravnoteži (mg) i masu insekticida pri desorpcijskoj ravnoteži (mg).

3.2.3. Kromatografska analiza insekticida

Koncentracija analiziranih insekticida određena je HPLC-MS/MS-om (eng. *High performance liquid chromatography – mass spectrometry*) na Phenomenex Kinetex C18 analitičkoj koloni ($100 \times 2,1$ mm i.d., veličina čestica 2,6 μm , veličina pora 100 Å). Kromatografske analize provedene su uz pokretnu fazu dvaju otopina: otopina A sastoji se od 90 % H_2O , 10 % CH_3OH + 5 mM HCOONH_4 ; otopina B sastoji se od 10 % H_2O , 90 % CH_3OH + 5 mM HCOONH_4 . Ukupno vrijeme analize iznosilo je 20 min, brzina protoka iznosila je 0,4 mL/min, a volumen injektiranja bio je 30 μL . Insekticidi su analizirani gradijentnom elucijom. Program eluiranja bio je sljedeći: 0 – 1 min, 98 % pokretne faze A i 2 % pokretne faze B; 15 – 18 min, 2 % pokretne faze A i 98 % pokretne faze B; 18,05 – 20,00, 98 % pokretne faze A i 2 % pokretne faze B. Pri navedenim uvjetima, vrijeme zadržavanja acetamiprida, tiametoksama i klotianidina iznosilo je 8,03, 4,94, odnosno 7,24 min.

3.2.4. MS/MS detekcija insekticida

Detekcija analiziranih insekticida provedena je kvadrupolnim masenim spektrometrom s elektrosprej ionizacijom (eng. *Electrospray ionization*, ESI), u modu pozitivnih iona na Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Primorsko goranske županije na Zdravstveno-ekološkom odjelu. MS uvjeti bili su sljedeći: ionizacijski napon optimiziran je na 5500 V, temperatura izvora iona iznosila je 400 °C, a tlakovi plinova 1 i 2 za raspršivanje u izvoru iona bili su 50 odnosno 55 psi. Podatci su prikupljeni u načinu praćenja više reakcija (eng. *Multiple reaction monitoring*, MRM), čiji je rad optimiziran nakon injektiranja svake pojedinačne

standardne otopine. Sukladno tome, dva ionska prijelaza odabrana su za svaki spoj, kvantifikacijski i potvrđni MRM. Praćena su dva fragmenta svakog analiziranog insekticida, od kojih je fragment s intenzivnijim odzivom korišten za kvantifikaciju, dok je onaj s drugim odzivom korišten za potvrdu. Ionski prijelazi za analizirane insekticide, zajedno s potencijalom deklasterizacije (DP), energijom sudara (CE), izlaznim potencijalom (EP) i ulaznim potencijalom kolizijske ćelije (CEP) navedeni su u Tablici 5.

Tablica 5. Prijelazi praćenja višestrukih reakcija (MRM) za kvantifikaciju i potvrdu acetamiprida, tiametoksama i klotianidina te MS/MS uvjeti.

| Analizirani insekticid | Q1 (m/z) | Q3 (m/z) | MRM prijelazi | CE (V) | DP (V) | EP (V) | CEP (V) |
|------------------------|----------|----------|----------------|--------|--------|--------|---------|
| Acetamiprid | 223,2 | 126,1 | Kvantifikacija | 39,0 | 50,0 | 10,0 | 10,0 |
| | 223,2 | 99,1 | Potvrda | 67,0 | 50,0 | 10,0 | 10,0 |
| Tiametoksam | 292,0 | 211,0 | Kvantifikacija | 17,0 | 91,0 | 10,0 | 10,0 |
| | 292,0 | 181,0 | Potvrda | 31,0 | 91,0 | 10,0 | 10,0 |
| Klotianidin | 250,0 | 169,1 | Kvantifikacija | 17,0 | 71,0 | 10,0 | 10,0 |
| | 250,0 | 132,0 | Potvrda | 21,0 | 71,0 | 10,0 | 10,0 |

Potvrda dobivenih analitičkih rezultata provedena je uz Biblioteku masenih spektara za identifikaciju spojeva (AB Sciex, Framingham, MA, SAD), što je značajno smanjilo rizik od lažno pozitivnih rezultata. Identifikacija i kvantifikacija insekticida izvršena je uz programsku podršku Analyst® 1.6.1 (AB Sciex, Framingham, MA, SAD). Testiranje linearnosti i kvantifikacija provedena je izradom kalibracijskog pravca za svaki analizirani insekticid na način da je pripremljeno pet različitih razina koncentracije (od 0,05 do 22 mg/L) u triplikatu. Koeficijenti korelacije (R^2) kalibracijskih pravaca bili su $R^2 > 0,9999$. Prije svake sekvence uzoraka napravljen je kalibracijski pravac. U svakoj sekvenci uzoraka analiza je provedena na početku, u sredini i na kraju. Standard insekticida korišten je kako bi se utvrdilo postoji li moguće odstupanje u intenzitetu analita.

LOQ (eng. *Limit of Quantitation*) je bio 0,1 ng/mL ili niži za sve insekticide, što je omogućilo razrjeđivanje uzoraka i smanjenje učinaka matrice. LOD (eng. *Limit of detection*) za acetamiprid iznosio je 1 ng/mL, za tiametoksam 1 ng/mL i za klotianidin 1 ng/mL. Kako bi se

se zadržala koncentracija analiziranih insekticida u validiranom mjernom području, uzorci su razrijeđeni (faktori razrjeđenja 10 i 50 do 1000 μL konačnog volumena).

3.3. Ravnotežni matematički modeli za opisivanje nelinearne sorpcije i desorpcije

Za opis procesa sorpcije/desorpcije acetamiprida, tiametoksama i klotianidina u analiziranim tlima korištena su tri modela nelinearne ravnoteže: Freundlichova, Langmuirova i Temkinova izoterma.

3.3.1. Freundlichova izoterma

Freundlichova izoterma primjenjuje se kada je površina tla heterogena odnosno kada sva sorpcijsko/desorpcijska mjesta nisu jednaka. Energija procesa sorpcije/desorpcije nije konstantna i ovisi o stupnju zasićenosti koloida tla s molekulama insekticida. Izotermu prikazuje sljedeći izraz (3):

$$q_{eq}^{\text{sor/des}} = K_F^{\text{sor/des}} \cdot \gamma_{eq}^{1/n^{\text{sor/des}}} \quad (3)$$

U izrazu (3), $q_{eq}^{\text{sor/des}}$ i $\gamma_{eq}^{\text{sor/des}}$ predstavlja masu insekticida sorbiranog po jedinici mase tla (mg/kg) i ravnotežnu koncentraciju insekticida u suspenziji tla (mg/L), $K_F^{\text{sor/des}}$ je Freundlichov sorpcijsko/desorpcijski koeficijent, odnosno koeficijent kapaciteta sorpcije/desorpcije $((\text{mg/kg})(\text{mg/L})^{1/n})$, a $1/n^{\text{sor/des}}$ predstavlja Freundlichov eksponent, odnosno koeficijent nelinearnosti $0 < 1/n \leq 1$. Ukoliko je $1/n = 1$, izoterma je linearna i slobodna energija procesa je konstantna pri svim koncentracijama insekticida, a ako je $1/n < 1$, izoterma je konkavna te s porastom koncentracije insekticida opada slobodna energija procesa i energija se smanjuje povišenjem koncentracije insekticida, i kada je $1/n > 1$ izoterma je konveksna te s porastom koncentracije insekticida raste i slobodna energija procesa [21].

Da bi se koeficijenti sorpcije/desorpcije ($K_F^{\text{sor/des}}$) dobiveni na različitim tlima s različitim udjelom organske tvari mogli međusobno usporediti, neophodno je izračunati koeficijente sorpcije/desorpcije normalizirane na udio organskog ugljika (SOM), čime se dobiva koeficijent K_{OC} koji se izračunava prema izrazu (4):

$$K_{OC} = \frac{100 \cdot K_F^{\text{sor/des}}}{SOM (\%)} \quad (4)$$

U izrazu (4) SOM (%) predstavlja udio organskog ugljika (eng. *Organic carbon*, OC) u tlu (%).

Koeficijent adsorpcije normiran na organski ugljik (K_{OC}) i molarna slobodna Gibbsova energija (ΔG^0 , kJ/mol) povezani su sljedećim izrazom (5):

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{OC} \quad (5)$$

Nadalje, promjene u vrijednostima K_{OC} za pojedini spoj utječu na nelinearnost procesa sorpcije/desorpcije i nastanak tzv. kompetitivne sorpcije odnosno sorpcijsko-desorpcijske histereze. Postojanje sorpcijsko-desorpcijske histereze može se kvantificirati za svaki par podataka sorpcijskih i desorpcijskih izoterma pomoću koeficijenata histereze: λ [22] i H [23]. Koeficijenti histereze izračunavaju se pomoću Freundlichovih eksponenata (koeficijent nelinearnosti, $1/n$) procijenjenih iz izoterma sorpcije i desorpcije, a mogu se prikazati sljedećim izrazima:

$$H = \frac{1/n^{des}}{1/n^{sor}} \quad (6)$$

$$\lambda = \frac{1/n^{sor} + 1}{1/n^{des} + 1} - 1 \quad (7)$$

U izrazu (6) i (7) $1/n^{sor}$ i $1/n^{des}$ predstavljaju Freundlichove koeficijente nelinearnosti za procese sorpcije i desorpcije.

3.3.2. Langmuirova izoterma

Model Langmuirove izoterme pretpostavlja da je u svakom trenutku brzina sorpcije razmjerna površini tla koja je još ostala nepokrivena molekulama insekticida, a brzina desorpcije površini koja je već pokrivena monomolekularnim slojem. Nadalje, ne postoji interakcija između sorbiranih molekula, odnosno sorbirani udio molekula nema utjecaja na brzinu sorpcije/desorpcije i energija veze između sorbiranih molekula insekticida i površine tla jednaka je za svaku molekulu i neovisna o prisutnosti drugih sorbiranih molekula [24].

Model Langmuirove izoterme prikazan je izrazom (8):

$$q_{eq}^{sor/des} = \frac{q_{max}^{sor/des} \cdot K_L^{sor/des} \cdot \gamma_{eq}^{sor/des}}{1 + K_L^{sor/des} \cdot \gamma_{eq}^{sor/des}} \quad (8)$$

U izrazu (8) $q_{max}^{sor/des}$ predstavlja maksimalni udio insekticida sorbiran po jedinici mase tla (mg/kg), $K_L^{sor/des}$ je Langmuirova konstanta koja ovisi o energiji procesa sorpcije/desorpcije. Naime, na početku procesa sorpcije, molekule insekticida „biraju“ mjesta na kojima mogu stvarati najjače veze s koloidima tla. Kako se pokrivenost površine molekulama insekticida povećava, molekule se sorbiraju na energetski nepovoljnija mjesta. Tako entalpija sorpcije ΔH_{sor} (apsolutna vrijednost topline sorpcije, $q_{max}^{sor/des}$) uvijek opada s pokrivenošću površine.

3.3.3. Temkinova izoterma

Temkinova izoterma uzima u obzir interakcije između molekula insekticida i koloida tla te pretpostavlja da: 1) entalpija sorpcije svih molekula u sloju linearno opada s pokrivenošću zbog navedenih interakcija insekticid-koloidi tla; i 2) sorpciju karakterizira ravnomjerna raspodjela energija veza sve do neke maksimalne vrijednosti. Model Temkinove izoterme prikazuje izraz (9)[25]:

$$q_{eq}^{sor/des} = \frac{RT}{b} \ln K_T^{sor/des} \cdot \frac{RT}{b} \ln \gamma_{eq}^{sor/des} \quad (9)$$

U izrazu (9) $K_T^{sor/des}$ predstavlja Temkinovu konstantu veze u ravnotežnom (L/g) stanju odgovornu za maksimalnu energiju veze, b je konstanta koja je ovisna o energiji procesa sorpcije/desorpcije (J/mol), R opća plinska konstanta ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) i T termodinamička temperatura (K).

3.4. Prikaz rezultata i statistička analiza rezultata

Eksperimentalni podaci sorpcije/desorpcije analiziranih insekticida testirani su primjenom nelinearnih regresijskih modela dostupnih u programskoj podršci Wolfram Research Mathematica® V.12.0. (Wolfram Research Co., Champaign, IL, SAD). Kao mjera podudarnosti eksperimentalnih rezultata i rezultata dobivenih modeliranjem, korišteni su: koeficijent višestruke determinacije (R^2), skalirana srednja kvadratna pogreška (SRMSE) i pogreška χ^2 testa. Deskriptivna analiza podataka i sve statističke analize provedene su pomoću programske podrške Statistica® V.14.0. (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, SAD) na razini značajnosti $p < 0,05$. Eksperimentalni podaci prikazani su kao srednja vrijednost. Utjecaj fizikalno-kemijskih

svojstava tla na parametre sorpcije/desorpcije insekticida dobiveni matematičkim modeliranjem testirani su korelacijskom matricom. Nadalje, u svrhu utvrđivanja utjecaja na parametre karakteristika tla i parametara sorpcije/desorpcije u analiziranim tlima, kao i sličnosti i korelacije među varijablama, provedena je faktorska analiza temeljena na analizi glavnih komponenti (eng. *Principal component analysis*, PCA).

4. Rezultati

4.1. Odabir ravnotežnog modela sorpcijsko/desorpcijskih izoterma za opis ponašanja analiziranih insekticida u tlima

Kako bi se pronašao matematički model koji najbolje opisuje ravnotežne procese sorpcije i desorpcije analiziranih neonikotinoida u ispitivanim tlima, korištena su tri nelinearna modela izoterma: Freundlichova (izraz (3)), Langmuirova (izraz (8)) i Temkinova (izraz (9)). U tablicama 6, 7 i 8 prikazani su sorpcijsko/desorpcijski koeficijenti testiranih modela acetamiprida, tiametoksama i klotianidina za analizirana tla, kao i statistički pokazatelji slaganja eksperimentalnih vrijednosti i onih dobivenih modelima [koeficijent višestruke determinacije (R^2), skalirana srednja kvadratna pogreška (eng. *Scaled Root of the Mean Square Error*, SRMSE) i pogreška χ^2 testa]. Pogreška χ^2 testa, predstavlja najpouzdaniji kriterij slaganja eksperimentalnih vrijednosti i onih dobivenih modelom, jer uzima u obzir broj stupnjeva slobode, odnosno broj mjerenja i broj parametara modela koji se procjenjuju. Da bi model bio prihvatljiv, uobičajeno je da pogreška χ^2 testa bude manja od 5 %.

Analizirajući vrijednosti χ^2 pogreška (Tablice 6, 7 i 8), uočava se da su pogreške pri primjeni Freundlichova modela za proces sorpcije svih analiziranih neonikotinoida bile u rasponu od 1,15 % do 5,44 % (najviša vrijednost za sorpciju klotianidina u tlu SC). Korištenjem Langmuirovog i Temkinovog modela u objašnjenju procesa sorpcije dobivaju se više vrijednosti χ^2 pogreške u rasponu od 2,48 % do 20,58 % kod primjene Langmuirovog modela i u rasponu od 7,11 % do 22,76 % kod primjene Temkinovog modela.

Kod procesa desorpcije analiziranih neonikotinoida na tlima uočava se vrlo sličan trend ponašanja χ^2 pogreške (Tablice 6, 7 i 8), te je primjena Freundlichovog modela za objašnjenje procesa desorpcije rezultirala najmanjim pogreškama u rasponu od 1,01 do 5,54 %, osim kod sorpcije tiametoksama na tlu BZ (χ^2 pogreška = 9,94 %). Langmuirov model generirao je visoke χ^2 pogreške kod desorpcije tiametoksama na tlu BZ (χ^2 pogreška = 43,77 %) i klotianidina na tlu SC (χ^2 pogreška = 22,21 %), dok je Temkinov model kod svih testiranja postigao više vrijednosti χ^2 pogreške od 5%.

Iz rezultata prikazanih u tablicama 18 i 19 može se zaključiti da Freundlichov model daje adekvatno objašnjenje sorpcijsko-desorpcijskih ravnotežnih procesa za sorpcijsko-desorpcijskog ponašanja acetamiprida, tiametoksama i klotianidina u analiziranim uzorcima tla

te da su svi parametri određeni ovim modelom višeg kriterija točnosti u usporedbi s ostalim nelinearnim modelima za sva analizirana tla. Iz tog razloga odabran je upravo ovaj model za prikaz ravnotežnih stanja svih daljnjih eksperimenata.

Tablica 6. Parametri sorpcije i desorpcije acetamiprida, tiametoksama i klotianidina procijenjeni uz primjenu nelinearnog ravnotežnog modela Freundlichove izoterme u eksperimentalnim tlima zajedno sa statističkim pokazateljima slaganja eksperimentalnih i modelnih rezultata: koeficijent višestruke determinacije (R^2), skalirana srednja kvadratna pogreška (SRMSE) i pogreška χ^2 testa.

| Oznaka uzorka tla | Insekticid | Freundlichova izoterma | | | | | |
|-------------------|-------------|------------------------|--------|-------|--------|--------|-------------------|
| | | Proces | K_F | $1/n$ | R^2 | SRMSE | χ^2 pogreška |
| BZ | Acetamiprid | Sorpcija | 6,741 | 1,102 | 0,9929 | 0,0145 | 1,15 |
| | | Desorpcija | 22,377 | 0,935 | 0,9956 | 0,0155 | 1,23 |
| | Tiametoksam | Sorpcija | 4,172 | 1,052 | 0,9602 | 0,0337 | 2,68 |
| | | Desorpcija | 9,537 | 0,970 | 0,8417 | 0,1251 | 9,94 |
| | Klotianidin | Sorpcija | 6,657 | 0,914 | 0,8604 | 0,0520 | 4,13 |
| | | Desorpcija | 14,592 | 0,735 | 0,7878 | 0,0605 | 4,81 |
| PB | Acetamiprid | Sorpcija | 10,593 | 1,025 | 0,9828 | 0,0218 | 1,73 |
| | | Desorpcija | 38,486 | 1,024 | 0,9928 | 0,0137 | 1,09 |
| | Tiametoksam | Sorpcija | 10,097 | 0,770 | 0,9880 | 0,0275 | 2,18 |
| | | Desorpcija | 21,014 | 0,959 | 0,9850 | 0,0127 | 1,01 |
| | Klotianidin | Sorpcija | 10,730 | 0,950 | 0,9867 | 0,0124 | 0,98 |
| | | Desorpcija | 26,158 | 0,913 | 0,9815 | 0,0147 | 1,17 |
| SC | Acetamiprid | Sorpcija | 4,248 | 1,159 | 0,9864 | 0,0215 | 1,58 |
| | | Desorpcija | 13,957 | 1,263 | 0,8796 | 0,0340 | 2,70 |
| | Tiametoksam | Sorpcija | 6,803 | 0,673 | 0,9079 | 0,0293 | 2,56 |
| | | Desorpcija | 12,957 | 0,840 | 0,9603 | 0,0247 | 1,98 |
| | Klotianidin | Sorpcija | 2,666 | 0,925 | 0,9453 | 0,0536 | 3,94 |
| | | Desorpcija | 12,184 | 0,850 | 0,8288 | 0,0739 | 5,44 |

BZ – uzorak tla Zlobin–bukva; PB – uzorak tla Plase–bor; SC – uzorak tla slavonska crnica; K_F – Freundlichov koeficijent sorpcije/desorpcije; $1/n$ – Freundlichov eksponent (koeficijent nelinearnosti)

Freundlichov sorpcijski koeficijent, K_F predstavlja kapacitet sorpcije/desorpcije analiziranih insekticida, a $1/n$ nelinearnost u sorpcijsko/desorpcijskoj izotermi. Vrijednosti navedenih parametara prikazane su u Tablici 6. Uočavaju se razlike u sorpcijskom kapacitetu analiziranih

tala za pojedini insekticid te razlike u sorpcijskom ponašanju analiziranih insekticida na istome tlu. Dakle, razlike u fizikalno-kemijskim karakteristikama tala zasigurno utječu na različitost sorpcijskog ponašanja analiziranih insekticida. Proučavajući utjecaj fizikalno-kemijskih karakteristika tala, uočava se da su vrijednosti K_F bile u rasponu od 4,248 (tlo SC) do 10,593 (PB) $(\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$ za sorpciju acetamiprida, od 4,172 (tlo BZ) do 10,097 (TLO PB) $(\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$ za sorpciju tiametoksama i od 2,666 (tlo SC) do 10,730 (tlo PB) $(\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$ za sorpciju klotianidina. Najviše vrijednosti K_F kod tla PB, i to kod svih analiziranih insekticida, ukazuju na najviši kapacitet sorpcije i posljedično najslabiji potencijal pokretnosti u tom tlu zbog višeg udjela organske tvari (% SOM = 23,9 %). Najniže su vrijednosti K_F uočene kod sorpcije acetamiprida i klotianidina na tlu SC ($K_F = 4,248 (\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$ za acetamiprid i $K_F = 2,666 (\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$ za klotianidin) i sorpcije tiametoksama na tlu BZ ($K_F = 4,172 (\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$). Različitost u sorpcijskom ponašanju analiziranih insekticida zasigurno se može pripisati fizikalno-kemijskim karakteristikama tla i to prvenstveno udjelu SOM-a, što će biti analizirano i detaljnije objašnjeno u narednim odjeljcima. Nadalje, fizikalno-kemijske karakteristike analiziranih insekticida, odnosno njihova građa također utječu na njihov različit sorpcijski kapacitet u analiziranim tlima. Tako se uočava da se u tlu BZ najjače sorbira acetamiprid ($K_F = 6,741 (\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$), u tlu PB klotianidin ($K_F = 10,730 (\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$), i u tlu SC tiametoksam ($K_F = 6,803 (\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$).

Vrijednosti koeficijenta nelinearnosti $1/n$ Freundlichove izoterme (Tablica 6) za acetamiprid bile su više u svim analiziranim tlima od 1 i u rasponu od 1,025 (tlo PB) do 1,159 (tlo SC), dok su za klotianidin bile niže od 1, i kretale su se u granicama od 0,914 (tlo BZ) do 0,950 (tlo PB). Uočena je nelinearnost u izotermi i kod sorpcije tiametoksama, s time da je u tlima PB i SC $1/n$ bio znatno niži od 1 ($1/n < 0,770$), a suprotno tome u tlu BZ viši od 1 ($1/n = 1,052$). Nadalje, uočene su i razlike u obliku izoterme pojedinih insekticida na istome tlu. Tako su vrijednosti $1/n > 1$ za sorpciju acetamiprida i tiametoksam na tlu BZ, dok je klotianidin imao vrijednost $1/n = 0,914$. Na tlu PB acetamiprid je imao $1/n = 1,025$, dok su vrijednosti za tiametoksam i klotianidin bile niže od 1. I na kraju, u tlu SC uočeni su slični trendovi vrijednosti $1/n$ kao i kod tla PB.

Kod desorpcijskih procesa, vrijednosti Freundlichovog koeficijenta K_F desorpcije za sve analizirane neonikotinoide bile su izrazito više u odnosu na K_F sorpcije. K_F vrijednosti za acetamiprid bile su u rasponu od 13,957 $(\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$ za tlo SC do 38,486 $(\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$ za tlo PB, za tiametoksam od 9,537 $(\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$ za tlo BZ do 21,014

$(\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$ za tlo PB i za klotianidin od 12,184 $(\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$ za tlo SC do 26,158 $(\text{mg/kg})/(\text{mg/L})^{1/n}$ za tlo PB. Visoke vrijednosti K_F mogu se također povezati s višim udjelom organske tvari, odnosno jačim vezivanjem te slabijim intenzitetom desorpcije insekticida u analiziranim tlima.

Vrijednosti koeficijenta nelinearnosti $1/n$ Freundlichove izoterme bile su niže od 1 ($1/n < 1$), i niže od sorpcijskih jedino kod klotianidina (Tablica 6) i kretale su se u granicama od 0,735 (tlo BZ) do 0,913 (tlo PB). Kod desorpcije tiametoksama vrijednosti $1/n$ također su bile niže od 1, s time da su kod tala PB i SC vrijednosti $1/n$ desorpcije bile viših vrijednosti od sorpcijskih (0,959 za desorpciju i 0,770 za sorpciju kod tla PB; 0,840 za desorpciju i 0,673 za sorpciju kod tla SC). Kod desorpcije acetamiprida uočena je niža vrijednost $1/n$ desorpcije ($1/n = 0,935$) u odnosu na $1/n$ sorpcije ($1/n = 1,102$) jedino kod tla BZ. Kod tla PB $1/n$ vrijednosti sorpcije i desorpcije acetamiprida bile su gotovo identične (1,025 za sorpciju i 1,024 za desorpciju). Suprotno tome, kod desorpcije acetamiprida s tla SC uočena je viša vrijednost koeficijenta $1/n$ u odnosu na sorpciju (1,263 kod desorpcije i 1,159 kod sorpcije) i ujedno su vrijednosti oba koeficijenta bile više od 1.

Na osnovu navedenog može se zaključiti da su vrijednosti faktora nelinearnosti ($1/n$) znatno različite kod procesa desorpcije u odnosu na sorpcijske procese, odnosno da postoji neslaganje između sorpcijskih i desorpcijskih izoterma, to je pojava tzv. „histereze“. Budući da su mehanizmi procesa sorpcije i desorpcije kontrolirani brojnim reakcijama, ali i fizičkim procesima, čija reakcijska vremena variraju u širokom rasponu od nekoliko sekundi do nekoliko godina vrlo je teško utvrditi točno vrijeme za postizanje ravnotežnih procesa sorpcije i desorpcije. U slučaju spore kinetike procesa sorpcije i desorpcije, često je teško utvrditi je li termodinamička ravnoteža uspostavljena ili nije. Ukoliko ona nije uspostavljena, sorpcijska i desorpcijska izoterma se ne poklapaju.

Navedene činjenice ukazuju na zaključak da se procesi sorpcije i desorpcije svih analiziranih neonicotinoida ne odvijaju na isti način u pojedinim tlima, ili da je došlo do ireverzibilnog kemijskog vezivanja molekula insekticida za određene frakcije krute faze tla, zarobljavanja molekula u mezo- ili mikroporoznim strukturama unutar anorganskih komponenti tla ili pak zarobljavanja molekula unutar organske tvari tla. O histerezi će se više reći dalje u radu.

Tablica 7. Parametri sorpcije i desorpcije acetamiprida, tiametoksama i klotianidina procijenjeni uz primjenu nelinearnog ravnotežnog modela Langmuirove izoterme u eksperimentalnim tlima zajedno sa statističkim pokazateljima slaganja eksperimentalnih i modelnih rezultata: koeficijent višestruke determinacije (R^2), skalirana srednja kvadratna pogreška (SRMSE) i pogreška χ^2 testa.

| Oznaka uzorka tla | Insekticid | Langmuirova izoterma | | | | | |
|-------------------|-------------|----------------------|-------|-----------|--------|--------|-------------------|
| | | Proces | K_L | q_{max} | R^2 | SRMSE | χ^2 pogreška |
| BZ | Acetamiprid | Sorpcija | 0,024 | 285,71 | 0,9966 | 0,0381 | 3,03 |
| | | Desorpcija | 0,130 | 200,00 | 0,9899 | 0,0813 | 6,46 |
| | Tiametoksam | Sorpcija | 0,011 | 434,78 | 0,9685 | 1,1278 | 10,17 |
| | | Desorpcija | 0,009 | 1250,00 | 0,9904 | 0,5765 | 43,77 |
| | Klotianidin | Sorpcija | 0,064 | 120,48 | 0,9450 | 0,1816 | 14,44 |
| | | Desorpcija | 0,229 | 79,37 | 0,9310 | 0,1994 | 15,85 |
| PB | Acetamiprid | Sorpcija | 0,062 | 156,25 | 0,9833 | 0,0781 | 6,21 |
| | | Desorpcija | 0,061 | 588,24 | 0,9966 | 0,0411 | 3,27 |
| | Tiametoksam | Sorpcija | 0,058 | 166,67 | 0,9918 | 0,0714 | 5,68 |
| | | Desorpcija | 0,033 | 666,67 | 0,9982 | 0,0282 | 2,24 |
| | Klotianidin | Sorpcija | 0,016 | 666,67 | 0,9981 | 0,0312 | 2,48 |
| | | Desorpcija | 0,053 | 526,32 | 0,9973 | 0,0375 | 2,98 |
| SC | Acetamiprid | Sorpcija | 0,028 | 163,93 | 0,9949 | 0,0455 | 3,61 |
| | | Desorpcija | 0,223 | 45,05 | 0,9767 | 0,0865 | 6,87 |
| | Tiametoksam | Sorpcija | 0,081 | 72,99 | 0,9800 | 0,1147 | 9,12 |
| | | Desorpcija | 0,176 | 88,5 | 0,9840 | 0,0818 | 6,51 |
| | Klotianidin | Sorpcija | 0,042 | 72,46 | 0,8932 | 0,2588 | 20,58 |
| | | Desorpcija | 0,440 | 40,49 | 0,8793 | 0,2794 | 22,21 |

BZ – uzorak tla Zlobin–bukva; PB – uzorak tla Plase–bor; SC – uzorak tla slavonska crnica; K_L – Langmuirova konstanta; q_{max} – maksimalni udio insekticida

Tablica 8. Parametri sorpcije i desorpcije acetamiprida, tiametoksama i klotianidina procijenjeni uz primjenu nelinearnog ravnotežnog modela Temkinove izoterme u eksperimentalnim tlima zajedno sa statističkim pokazateljima slaganja eksperimentalnih i modelnih rezultata: koeficijent višestruke determinacije (R^2), skalirana srednja kvadratna pogreška (SRMSE) i pogreška χ^2 testa.

| Oznaka uzorka tla | Insekticid | Temkinova izoterma | | | | | |
|-------------------|-------------|--------------------|-------|--------|--------|--------|-------------------|
| | | Proces | K_T | b | R^2 | SRMSE | χ^2 pogreška |
| BZ | Acetamiprid | Sorpcija | 0,670 | 64,50 | 0,9033 | 0,1572 | 12,50 |
| | | Desorpcija | 2,791 | 93,24 | 0,8928 | 0,1655 | 13,16 |
| | Tiametoksam | Sorpcija | 0,519 | 85,00 | 0,8379 | 0,2123 | 16,88 |
| | | Desorpcija | 1,726 | 133,06 | 0,9103 | 0,3083 | 24,51 |
| | Klotianidin | Sorpcija | 0,683 | 88,53 | 0,7128 | 0,2863 | 22,76 |

| | | | | | | | |
|-----------|-------------|------------|-------|--------|--------|--------|-------|
| | | Desorpcija | 2,508 | 143,33 | 0,7575 | 0,2593 | 20,62 |
| PB | Acetamiprid | Sorpcija | 0,876 | 52,64 | 0,947 | 0,1149 | 9,14 |
| | | Desorpcija | 3,473 | 67,40 | 0,9412 | 0,1210 | 9,62 |
| | Tiametoksam | Sorpcija | 0,889 | 87,99 | 0,848 | 0,1878 | 14,93 |
| | | Desorpcija | 2,493 | 92,57 | 0,9097 | 0,1446 | 11,49 |
| | Klotianidin | Sorpcija | 0,919 | 143,77 | 0,9139 | 0,1427 | 11,35 |
| | | Desorpcija | 3,295 | 84,46 | 0,9533 | 0,1032 | 8,21 |
| SC | Acetamiprid | Sorpcija | 0,526 | 70,92 | 0,9111 | 0,1540 | 11,34 |
| | | Desorpcija | 1,731 | 79,03 | 0,8878 | 0,1830 | 14,55 |
| | Tiametoksam | Sorpcija | 0,887 | 161,88 | 0,9462 | 0,1003 | 7,11 |
| | | Desorpcija | 2,954 | 184,83 | 0,9422 | 0,0929 | 7,13 |
| | Klotianidin | Sorpcija | 0,438 | 68,72 | 0,8172 | 0,2211 | 16,28 |
| | | Desorpcija | 3,548 | 216,66 | 0,7307 | 0,2812 | 20,70 |

BZ – uzorak tla Zlobin–bukva; PB – uzorak tla Plase–bor; SC – uzorak tla slavonska crnica; K_T – Temkinova konstanta veze; b – konstanta ovisna o energiji procesa

4.2. Utjecaj organske tvari na sorpciju/desorpciju i termodinamika procesa

Koeficijent adsorpcije normiran na organski ugljik, K_{OC} (izraz (4)), obično izražava hidrofobnost mikrozagađivala i može se koristiti za procjenu njegove pokretnosti i predviđanje ponašanja u okolišu. Vrijednosti K_{OC} koeficijenta za sve analizirane neonikotinoide prikazane su u Tablici 9. Za acetamiprid vrijednosti K_{OC} koeficijenata varirale su od 39,89 (tlo BZ) do 155,04 L/kg. Kod tiametoksama uočene su niže vrijednosti K_{OC} u tlima BZ i PB u odnosu na acetamiprid, a suprotno tome viša vrijednost u tlu SC. Kod klotianidina K_{OC} je bio u rasponu od 39,39 do 97,29 L/kg.

Nadalje, iz Tablice 9 uočavaju se više vrijednosti koeficijenta K_{OC} kod procesa desorpcije nego kod sorpcije, s najvećom vrijednosti K_{OC} desorpcije acetamiprida u tlu SC i najmanjom vrijednosti K_{OC} desorpcije tiametoksama u tlu BZ. McCall [26] je pokretljivost mikrozagađivala prema dobivenim vrijednostima K_{OC} razvrstao u šest skupina, pri čemu su mikrozagađivala s $K_{OC} < 50$ L/kg spojevi izrazito visoke pokretljivosti, 50 – 150 L/kg visoke pokretljivosti, 150 – 500 L/kg srednje pokretljivosti, 500 – 2500 L/kg umjerene pokretljivosti, 2500 – 5000 L/kg slabe pokretljivosti i > 5000 L/kg potpuno nepokretna mikrozagađivala. Srednja vrijednost koeficijenata K_{OC} u iznosu od 80 L/kg za acetamiprid, od 105 L/kg za tiametoksam i 61 L/kg svrstava analizirane neonikotinoide u mikrozagađivala visoke pokretljivosti.

Koeficijent adsorpcije normiran na organski ugljik, trebao bi predstavljati konstantu za određeno mikrozagađivalo odnosno prikazivati njegove karakteristike i posjedovati iste vrijednosti na tlima s različitim udjelom organske tvari. Međutim, postoje izvjesne razlike u koeficijentima raspodjele K_{OC} eksperimentalno određenim na različitim tlima pa čak i na tlima s istim udjelom organske tvari, što ukazuje na to da, ne samo udio, već i sastav organske tvari, utječe na raspodjelu organskih mikrozagađivala u sustavu tlo/voda [27]. Pored promjena u vrijednostima K_{OC} za pojedino mikrozagađivalo, brojni drugi dokazi iz literature kao što su nelinearna i kompetitivna sorpcija i sorpcijsko-desorpcijska histereza, ukazuju na preveliku pojednostavljenost modela ravnotežne raspodjele te loše prikazivanje sorpcijskih procesa u sustavu tlo/voda.

U ravnoteži, raspodjela analiziranih insekticida između krute i vodene faze tla analizirana je izračunom Gibbsove slobodne energije (ΔG^0) za procese sorpcije i desorpcije. ΔG^0 vrijednosti sorpcijskih procesa za acetamiprid kretale su se u rasponu od -9,13 do -12,50 kJ/mol, od -7,94 do -13,66 kJ/mol za tiametoksam i od -9,10 do -11,34 kJ/mol za klotianidin (Tablica 9). Vrijednosti ΔG^0 desorpcijskih procesa bile su viših apsolutnih vrijednosti u odnosu na sorpcijske procese. Negativne vrijednosti ΔG^0 ukazuju na egzotermnu prirodu procesa. Niska slobodna energija sorpcijskih i desorpcijskih procesa (< 50 kJ/mol) upućuje na to da se procesi sorpcije i desorpcije analiziranih neonikotinoida odvijaju fizičkim procesima [28], od kojih je primarni mehanizam raspodjela insekticida unutar organske tvari tla [29]. Može se zaključiti da odvijanje procesa sorpcije i desorpcije fizičke prirode te da su veze između molekula insekticida i koloida tla slabe privlačne sile [30]. Nadalje, negativne vrijednosti ΔG^0 ukazuju na spontanost procesa.

Tablica 9. Koeficijenti raspodjele organskog ugljika (K_{OC}), Gibbsove slobodne energije (ΔG^0) i koeficijenta histereze (H , λ) analiziranim tlima.

| Tlo | Insekticid | | K_{OC} (L kg ⁻¹) | ΔG (kJ mol ⁻¹) | H | λ |
|-----|-------------|------------|-----------------------------------|---------------------------------------|-------|-----------|
| BZ | Acetamiprid | Sorpcija | 39,89 | -9,13 | 0,849 | 0,086 |
| | | Desorpcija | 132,41 | -12,11 | | |
| | Tiametoksam | Sorpcija | 24,68 | -7,94 | 0,922 | 0,041 |
| | | Desorpcija | 56,43 | -9,99 | | |
| | Klotianidin | Sorpcija | 39,39 | -9,10 | 0,804 | 0,103 |
| | | Desorpcija | 86,34 | -11,05 | | |

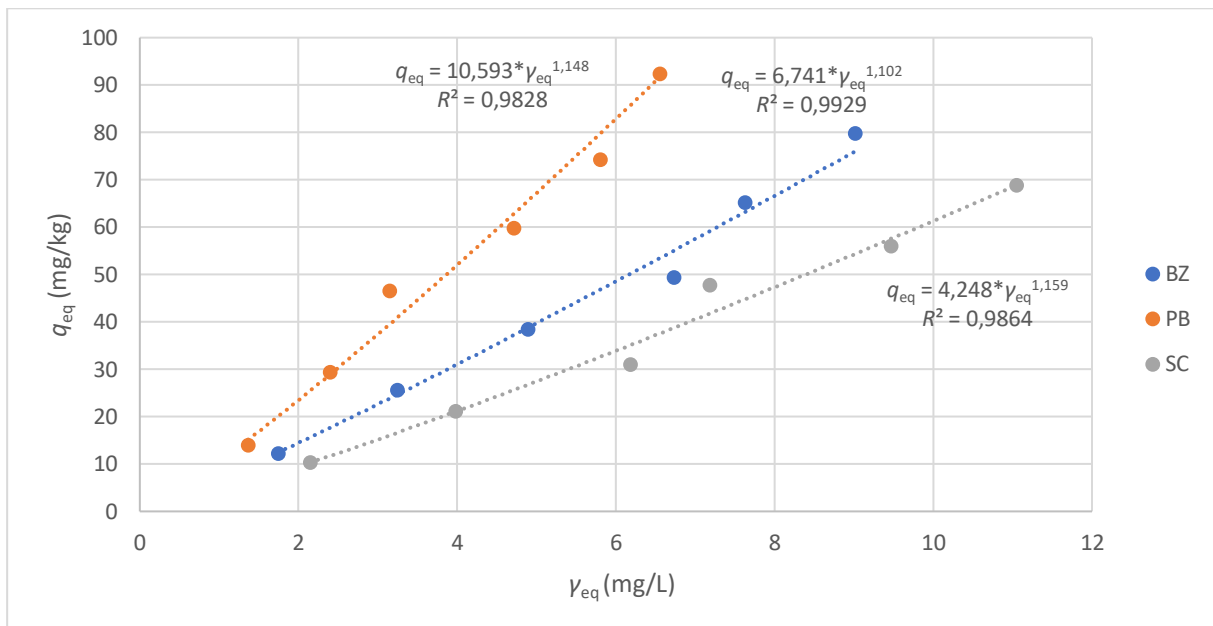
| | | | | | | |
|----|-------------|------------|--------|--------|-------|--------|
| PB | Acetamiprid | Sorpcija | 44,32 | -9,39 | 1,000 | 0,000 |
| | | Desorpcija | 161,03 | -12,59 | | |
| | Tiametoksam | Sorpcija | 42,25 | -9,27 | 1,245 | -0,096 |
| | | Desorpcija | 87,92 | -11,09 | | |
| | Klotianidin | Sorpcija | 44,90 | -9,43 | 0,961 | 0,020 |
| | | Desorpcija | 109,45 | -11,63 | | |
| SC | Acetamiprid | Sorpcija | 155,04 | -12,50 | 1,087 | -0,045 |
| | | Desorpcija | 509,39 | -15,44 | | |
| | Tiametoksam | Sorpcija | 248,28 | -13,66 | 1,248 | -0,091 |
| | | Desorpcija | 472,88 | -15,26 | | |
| | Klotianidin | Sorpcija | 97,29 | -11,34 | 0,918 | 0,041 |
| | | Desorpcija | 444,68 | -15,11 | | |

BZ – uzorak tla bukva–Zlobin; PB – uzorak tla Plase–bor; SC – uzorak tla slavonska crnica

Kako bi se procijenile razlike između izoterme sorpcije i desorpcije, izračunati su koeficijenti histereze H i λ , čije vrijednosti za sva analizirana tla su prikazane u Tablici 9. Histereza se očituje povećanjem razlika između nagiba izoterme sorpcije i desorpcije [31, 32]. Obično je nedostatak sličnosti između izoterme sorpcije i desorpcije rezultat vezivanja organske tvari i čestica gline [33]. Pozitivna vrijednost koeficijenta H ukazuje na postojanje histereze, a što je vrijednost H niža, sorpcijsko-desorpcijska histereza je izraženija uz veću nelinearnost, pa je brzina desorpcije sporija u odnosu na brzinu sorpcije. Najniža vrijednost koeficijenta H utvrđena je kod sorpcije/desorpcije klotianidina u tlu BZ ($H = 0,804$).

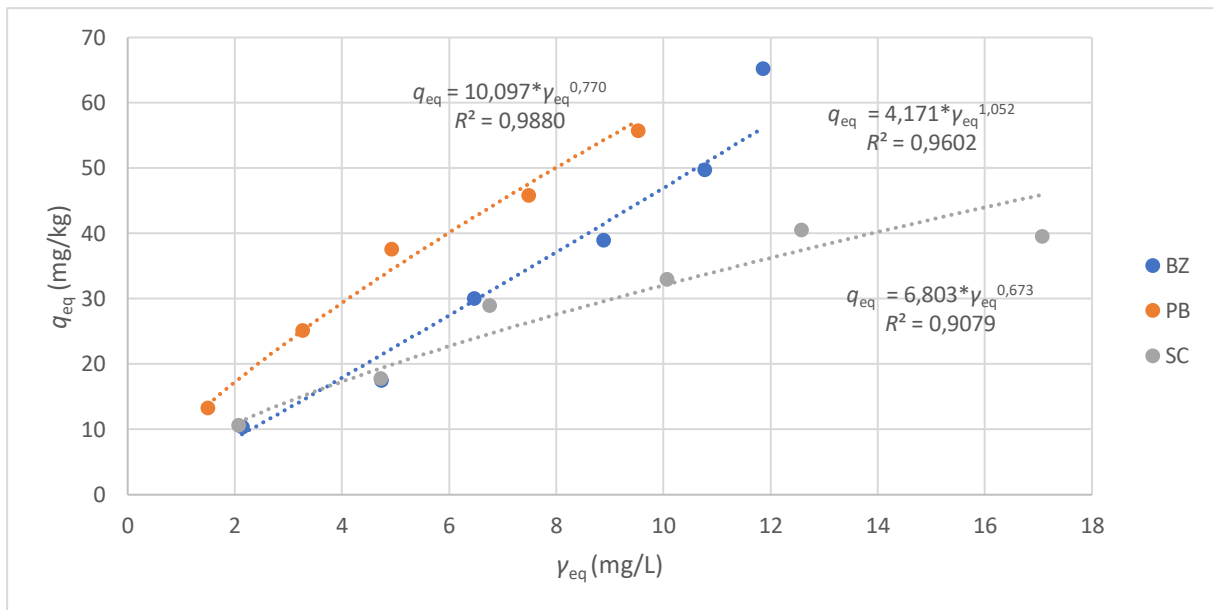
4.3. Sorpcijske izoterme acetamiprida, tiametoksama i klotianidina u tlima

Na Slikama 4, 5 i 6 prikazane su sorpcijske Freundlichove izoterme acetamiprida, tiametoksama i klotianidina za sva analizirana tla. Prikazana je ovisnost udjela insekticida sorbiranih na analiziranim uzorcima tla u odnosu na ravnotežnu koncentraciju procesa sorpcije ($q_{eq} - \gamma_{eq}$). Podaci za konstruiranje krivulja izoterme sorpcije na svim analiziranim uzorcima tla, dobiveni su direktnom analizom koncentracije insekticida u tlu koja je zaostala nakon provedenog procesa sorpcije. Prikazane su srednje vrijednosti tri određivanja za svaku koncentracijsku točku sorpcijske izoterme. Isprekidanim linijama prikazane su modelne vrijednosti dobivene predloženim Freundlichovim modelom, a kružići predstavljaju eksperimentalne vrijednosti.



Slika 4. Eksperimentalni podaci i teorijske krivulje predstavljene nelinearnim ravnotežnim modelom Freundlichove izoterme sorpcije acetamiprida u eksperimentalnim tlima: Plase-bor (PB), bukva-Zlobin (BZ) i Slavonska crnica (SC). Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost triju određivanja acetamiprida.

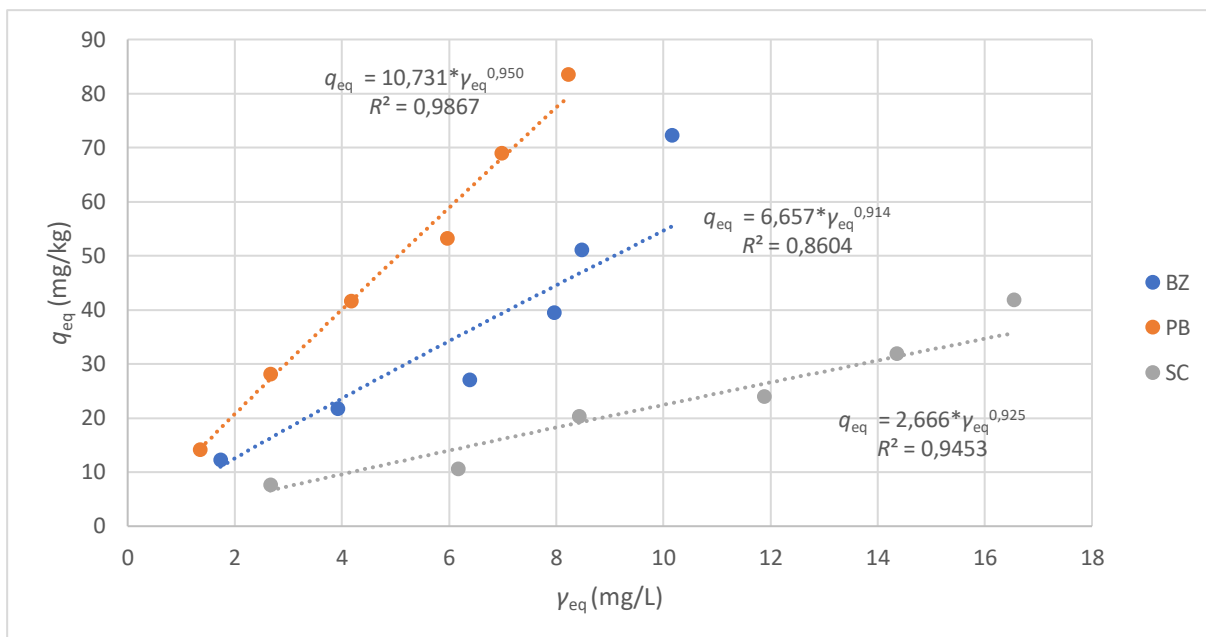
Sorpcija acetamiprida odvija se eksponencijalno u sva tri analizirana tla što se vidi iz eksponenta $1/n$ koji je veći od 1, što čini krivulju konveksnom odnosno S oblika (Slika 4). Nadalje, izoterme su vrlo sličnog oblika, ali se može vidjeti razlika u kapacitetu sorpcije, koji je određen pomoću Freundlichovog sorpcijskog koeficijenta K_F . Najveći kapacitet sorpcije postignut je kod tla PB ($10,593 \text{ (mg/kg)/(mg/L)}^{1/n}$), dok je najniži kapacitet sorpcije postignut kod tla SC ($4,248 \text{ (mg/kg)/(mg/L)}^{1/n}$). Takav rezultat može se pripisati utjecaju fizikalno-kemijskih svojstava ovih tala i njihovoj sposobnosti da sorbiraju acetamiprid.



Slika 5. Eksperimentalni podaci i teorijske krivulje predstavljene nelinearnim ravnotežnim modelom Freundlichove izoterme sorpcije tiametoksama u eksperimentalnim tlima: Plase-bor (PB), bukva-Zlobin (BZ) i Slavonska crnica (SC). Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost triju određivanja tiametoksama.

Rezultati pokazuju da se sorpcijska izoterma tiametoksama može opisati eksponencijalnom funkcijom, te u tlima PB i SC se uočava da je $1/n < 1$ (Slika 5) što istovremeno čini krivulju konveksnom ili L oblika, a u tlu BZ odvija se linearno ($1/n \approx 1$). Sorpcija tiametoksama je najjače izražena u tlu PB ($K_F = 10,097 \text{ (mg/kg)/(mg/L)}^{1/n}$), a najlošije u tlu BZ ($K_F = 4,171 \text{ (mg/kg)/(mg/L)}^{1/n}$).

Klotianidin se sorbira na analizirana tla s vrijednošću koeficijenta nelinearnosti $1/n < 1$ (Slika 6). Sve tri krivulje su konveksne i L oblika. Sorpcija je najjača u tlu PB, praćeno tlom BZ, i najlošija u tlu SC s K_F vrijednostima 10,731, 6,657 i 2,666 $\text{(mg/kg)/(mg/L)}^{1/n}$.

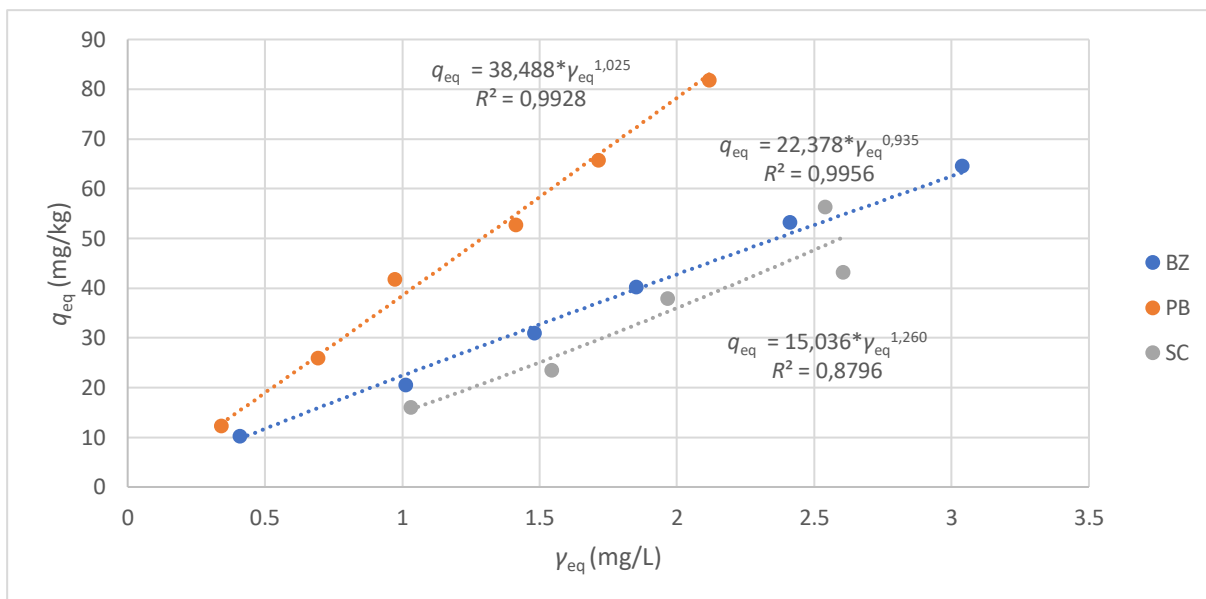


Slika 6. Eksperimentalni podaci i teorijske krivulje predstavljene nelinearnim ravnotežnim modelom Freundlichove izoterme sorpcije klotianidina u eksperimentalnim tlima: Plase–bor (PB), bukva–Zlobin (BZ) i Slavonska crnica (SC). Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost triju određivanja klotianidina.

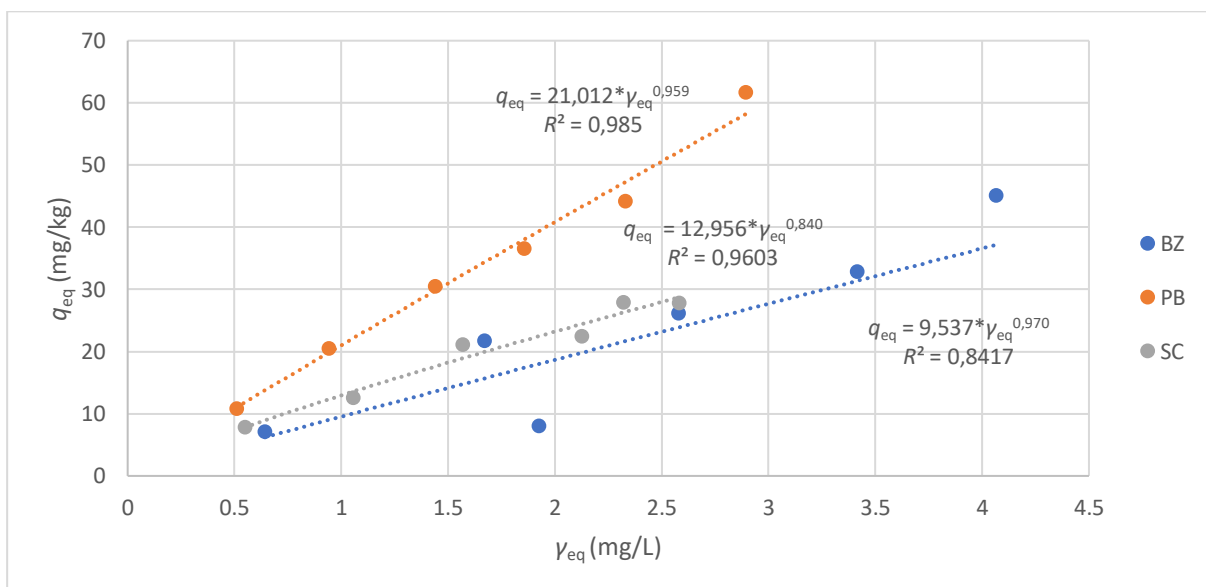
4.4. Desorpcijske izoterme acetamiprida, tiametoksama i klotianidina u tlima

Na Slikama 7, 8 i 9 prikazane su desorpcijske Freundlichove izoterme acetamiprida, tiametoksama i klotianidina za sva analizirana tla. Kod desorpcijskih izotermi prikazana je ovisnost udjela insekticida preostalog sorbiranog nakon procesa desorpcije na analiziranim uzorcima tla u odnosu na ravnotežnu koncentraciju procesa desorpcije ($q_{eq} - \gamma_{eq}$). Kao i kod sorpcijskih izotermi, direktnom analizom utvrđena je koncentracija insekticida u tlu zaostalog nakon provedenog procesa desorpcije. Isprekidanim linijama prikazane su modelne vrijednosti dobivene predloženim Freundlichovim modelom, a kružići predstavljaju eksperimentalne vrijednosti.

Za pretpostaviti je da se proces desorpcije acetamiprida u svakom analiziranom tlu odvija drukčijim mehanizmom. Tome u prilog idu i dobivene vrijednosti koeficijenta nelinearnosti $1/n$. Desorpcija acetamiprida u tlu PB, tlu koje je predstavljalo najjači sorbens za insekticid s $1/n = 1,148$, linearno ga desorbira s $1/n \approx 1$ (Slika 7). Acetamiprid u tlu BZ pri sorpciji ima eksponencijalni rast s $1/n > 1$, a pri desorpciji je eksponent manji od 1. Također, proces desorpcije u tlu SC je eksponencijalan s $1/n = 1,260$.



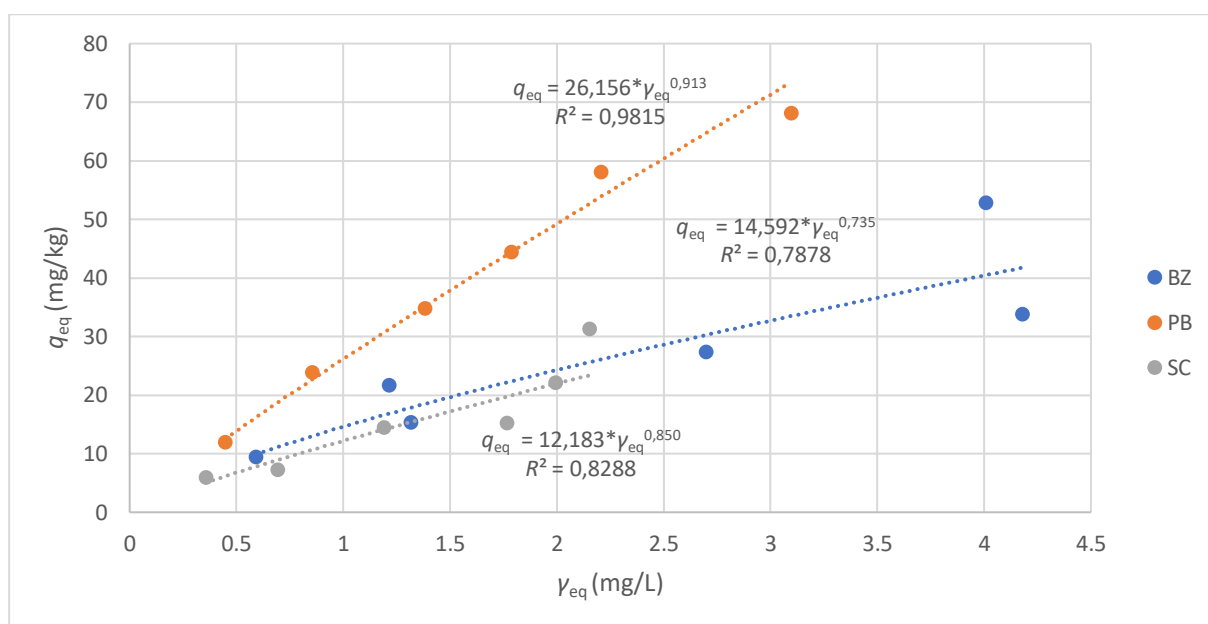
Slika 7. Eksperimentalni podaci i teorijske krivulje predstavljene nelinearnim ravnotežnim modelom Freundlichove izoterme desorpcije acetamiprida u eksperimentalnim tlima: Plase–bor (PB), Zlobin–bukva (BZ) i Slavonska crnica (SC). Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost triju određivanja acetamiprida.



Slika 8. Eksperimentalni podaci i teorijske krivulje predstavljene nelinearnim ravnotežnim modelom Freundlichove izoterme desorpcije tiametoksama u eksperimentalnim tlima: Plase–bor (PB), Zlobin–bukva (BZ) i Slavonska crnica (SC). Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost triju određivanja tiametoksama.

I kod desorpcije tiametoksama na analiziranim tlima uočava se odstupanje od nelinearnosti funkcije (Slika 8). Pri tome je najveće odstupanje od linearnosti kod tla SC ($1/n = 0,840$). Jedino kod tla BZ pronađene su niže vrijednosti $1/n$ u odnosu na one dobivene kod procesa sorpcije ($1/n = 1,052$ kod sorpcije i $1/n = 0,840$ kod desorpcije).

Desorpcija klotianidina prati eksponencijalni trend procesa sorpcije te je za sva analizirana tla eksponent $1/n$ manji od 1 (Slika 9). Nadalje, vrijednosti $1/n$ kod procesa desorpcije su nižih vrijednosti u odnosu na vrijednosti $1/n$ procesa sorpcije kod svih analiziranih tala. Ovakvo ponašanje je najjače izraženo kod tla BZ ($1/n = 0,914$ kod sorpcije i $1/n = 0,735$ kod desorpcije).



Slika 9. Eksperimentalni podaci i teorijske krivulje predstavljene nelinearnim ravnotežnim modelom Freundlichove izoterme desorpcije klotianidina u eksperimentalnim tlima: Plase-bor (PB), Zlobin-bukva (BZ) i Slavonska crnica (SC). Vrijednosti su izražene kao srednja vrijednost triju određivanja klotianidina.

Na osnovu svega navedenog dolazi se do zaključka da su $1/n$ vrijednosti u tlu BZ, osim kod sorpcije acetamiprida i tiametoksama, manje od 1 s L oblikom izoterme. Sorpcija acetamiprida i tiametoksama s vrijednostima $1/n$ od 1,102 i 1,052 je približno jednaka 1 i time se radi o skoro linearnoj funkciji. U tlu PB acetamiprid pokazuje vrijednost $1/n > 1$ i kod procesa sorpcije i desorpcije, a tiametoksam i klotianidin imaju vrijednosti $1/n < 1$ za oba procesa. Kod tla SC vrijednosti $1/n < 1$ kod tiametoksama i klotianidina za oba procesa te su izoterme posjedovale L oblik, dok su vrijednosti $1/n > 1$ kod sorpcije i desorpcije acetamiprida ukazujući na S oblik izoterme.

4.5 Testiranje utjecaja fizikalno-kemijskih karakteristika tla na sorpcijsko/desorpcijsko ponašanje acetamiprida, tiametoksama i klotianidina primjenom korelacijske matrice

Za testiranje utjecaja fizikalno-kemijskih karakteristika tla na sorpcijsko/desorpcijsko ponašanje analiziranih neonikotinoida korištena je korelacijska matrica. Rezultati navedenog testiranja prikazani su u tablicama 10 i 11. Korelacijske analize provedene su posebno za procese sorpcije (Tablica 10) i desorpcije (Tablica 11) analiziranih neonikotinoida. Matrično testiranje je obuhvatilo ukupan broj podataka $N = 540$ (3 tla \times 3 replikacije \times 12 karakteristika tla \times 5 parametara sorpcije) za procese sorpcije i $N = 432$ (3 tla \times 3 replikacije \times 12 karakteristika tla \times 3 parametara desorpcije) za procese desorpcije. Statistički značajne korelacije ($p < 0,05$) prikazane su crvenoobojenim brojevima i odgovarajućim p vrijednostima. U tablicama pozitivna korelacija ukazuje da porast jedne varijable utječe na porast promatrane varijable, dok negativna korelacija ukazuje na suprotan trend.

Iz rezultata navedenih u Tablici 10 za procese sorpcije analiziranih neonikotinoida vidljiv je pozitivan statistički značajan utjecaj ($p < 0,05$) pH i SOM-a na sorpcijski kapacitet K_F kao i udjela $W(C)$ i $W(H)$. Vrijednosti koeficijenta K_F koji određuje kapacitet sorpcije mijenjale su se ovisno o pojedinom tlu, insekticidu kao i o provedenom procesu. Korelacija ukazuje da je sorpcija insekticida jača (K_F je viši) pri višem udjelu SOM-a u tlu, dok pozitivna korelacija s udjelom gline nije postignuta. Koeficijent nelinearnosti $1/n$ prema provedenoj korelacijskoj analizi nije pokazao statistički značajnu ovisnost niti o jednoj fizikalno-kemijskoj karakteristici tla. Suprotno tome, koeficijent adsorpcije normiran na organski ugljik K_{OC} , pokazao je pozitivnu statistički značajnu povezanost s udjelom praha, gline i hidrolitičke kiselosti (HK). Suprotno tome, utjecaj SOM-a na K_{OC} bio je statistički značajan, ali s negativnim učinkom ($-0,792$; $p = 0,011$). Na iznos Gibbsove slobodne energije (ΔG^0) značajno utječu sve fizikalno-kemijske karakteristike tala. Javlja se pozitivna korelacija s frakcijama krupnijih čestica pijeska (krupni i sitni pijesak), pH, SOM te udjela C, H i N, dok je korelacija s HK, prahom i glinom negativna. Koeficijenti histereze, H i λ , nisu statistički značajno povezani niti s jednim od analiziranih fizikalno-kemijskih karakteristika tla.

Kod procesa desorpcije, korelacijska matrice (Tablica 11) pokazuje statistički značajnu ovisnost koeficijenta K_F i udjela organske tvari (SOM; $0,668$, $p = 0,049$) i omjera C/N ($0,763$, $p = 0,017$).

Kao i kod procesa sorpcije (Tablica 10), Freundlichov eksponent, $1/n$ ne pokazuje ovisnost o fizikalno-kemijskim karakteristikama tla, dok koeficijent K_{OC} statistički značajno (pozitivno) korelira s udjelom praha ($0,984, p < 0,001$) i gline ($0,981, p < 0,001$) te s HK ($0,983, p < 0,001$) te negativno sa svim preostalim parametrima tla. I na kraju Gibbsova slobodna energija (ΔG^0) pokazuje pozitivnu korelaciju s karakteristikama tla: krupni i sitni pijesak te sa svim sastavnicama organske tvari tla ($p < 0,05$) dok je korelacija s krupnim i sitnim pijeskom pozitivna ($p < 0,001$).

Tablica 10. Koeficijenti korelacije između fizikalno-kemijskih karakteristika tla i parametara sorpcije analiziranih insekticida (acetamiprida, tiametoksama i klotianidina) predstavljeni korelacijskom matricom (N = 540; skupni podaci; 3 tla × 3 replikacije × 12 karakteristika tla × 5 parametara sorpcije). Statistički značajne korelacije ($p < 0,05$) prikazane su crveno obojenim brojevima i odgovarajućim p vrijednostima.

| Varijabla | krupni pijesak | prah | glina | sitni pijesak | pH (CaCl ₂) | HK | SOM | W (C) | W (H) | W (N) | C/H omjer | C/N omjer |
|--------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| K_F | 0,602 $p = 0,086$ | -0,603 $p = 0,086$ | -0,481 $p = 0,190$ | 0,512 $p = 0,159$ | 0,766 $p = 0,016$ | -0,611 $p = 0,081$ | 0,788 $p = 0,012$ | 0,747 $p = 0,021$ | 0,673 $p = 0,047$ | 0,508 $p = 0,163$ | 0,736 $p = 0,024$ | 0,882 $p = 0,002$ |
| $1/n$ | 0,159 $p = 0,682$ | -0,159 $p = 0,682$ | -0,207 $p = 0,593$ | 0,196 $p = 0,613$ | 0,070 $p = 0,858$ | -0,156 $p = 0,689$ | 0,054 $p = 0,891$ | 0,082 $p = 0,833$ | 0,125 $p = 0,748$ | 0,198 $p = 0,610$ | 0,090 $p = 0,819$ | -0,045 $p = 0,908$ |
| K_{oc} | -0,856 $p = 0,003$ | 0,856 $p = 0,003$ | 0,853 $p = 0,003$ | -0,856 $p = 0,003$ | -0,808 $p = 0,008$ | 0,855 $p = 0,003$ | -0,792 $p = 0,011$ | -0,818 $p = 0,007$ | -0,845 $p = 0,004$ | -0,855 $p = 0,003$ | -0,823 $p = 0,006$ | -0,664 $p = 0,051$ |
| ΔG^0 | 0,922 $p = 0,000$ | -0,922 $p = 0,000$ | -0,933 $p = 0,000$ | 0,933 $p = 0,000$ | 0,845 $p = 0,004$ | -0,920 $p = 0,000$ | 0,824 $p = 0,006$ | 0,859 $p = 0,003$ | 0,900 $p = 0,001$ | 0,933 $p = 0,000$ | 0,867 $p = 0,003$ | 0,662 $p = 0,052$ |
| H | -0,379 $p = 0,314$ | 0,379 $p = 0,315$ | 0,469 $p = 0,203$ | -0,449 $p = 0,226$ | -0,206 $p = 0,595$ | 0,372 $p = 0,324$ | -0,173 $p = 0,656$ | -0,230 $p = 0,552$ | -0,314 $p = 0,411$ | -0,451 $p = 0,223$ | -0,244 $p = 0,527$ | 0,025 $p = 0,948$ |
| λ | 0,400 $p = 0,286$ | -0,400 $p = 0,286$ | -0,499 $p = 0,172$ | 0,476 $p = 0,195$ | 0,212 $p = 0,584$ | -0,393 $p = 0,296$ | 0,177 $p = 0,649$ | 0,238 $p = 0,537$ | 0,329 $p = 0,387$ | 0,479 $p = 0,192$ | 0,2534 $p = 0,511$ | -0,379 $p = 0,923$ |

HK – hidrolitička kiselost; SOM – udio organske faze u tlu; K_F – Freundlichov sorpcijski koeficijent; $1/n$ – Freundlichov koeficijent nelinearnosti; ΔG^0 – molarna slobodna Gibbsova energija; H – koeficijent histereze, λ – stupanj histereze

Tablica 11. Koeficijenti korelacije između fizikalno-kemijskih karakteristika tla i parametara desorpcije analiziranih insekticida (acetamiprida, tiametoksama i klotianidina) predstavljeni korelacijskom matricom (N = 432; skupni podaci; 3 tla × 3 replikacije × 12 karakteristika tla × 3 parametara sorpcije). Statistički značajne korelacije ($p < 0,05$) prikazane su crvenoobojenim brojevima i odgovarajućim p vrijednostima.

| Varijabla | krupni pijesak | prah | glina | sitni pijesak | pH (CaCl ₂) | HK | SOM | W (C) | W (H) | W (N) | C/H omjer | C/N omjer |
|--------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| K_F | 0,493 $p = 0,177$ | -0,493 $p = 0,177$ | -0,382 $p = 0,310$ | 0,410 $p = 0,274$ | 0,646 $p = 0,060$ | -0,501 $p = 0,170$ | 0,668 $p = 0,049$ | 0,629 $p = 0,070$ | 0,559 $p = 0,118$ | 0,406 $p = 0,278$ | 0,618 $p = 0,076$ | 0,763 $p = 0,017$ |
| $1/n$ | -0,207 $p = 0,593$ | 0,207 $p = 0,593$ | 0,247 $p = 0,522$ | -0,238 $p = 0,538$ | -0,129 $p = 0,741$ | 0,204 $p = 0,598$ | -0,114 $p = 0,771$ | -0,140 $p = 0,720$ | -0,178 $p = 0,647$ | -0,239 $p = 0,536$ | -0,146 $p = 0,707$ | -0,020 $p = 0,959$ |
| K_{oc} | -0,984 $p = 0,000$ | 0,984 $p = 0,000$ | 0,981 $p = 0,000$ | -0,984 $p = 0,000$ | -0,928 $p = 0,000$ | 0,983 $p = 0,000$ | -0,910 $p = 0,001$ | -0,940 $p = 0,000$ | -0,971 $p = 0,000$ | -0,984 $p = 0,000$ | -0,946 $p = 0,000$ | -0,761 $p = 0,017$ |
| ΔG^0 | 0,936 $p = 0,000$ | -0,936 $p = 0,000$ | -0,948 $p = 0,000$ | 0,948 $p = 0,000$ | 0,857 $p = 0,003$ | -0,934 $p = 0,000$ | 0,836 $p = 0,005$ | 0,872 $p = 0,002$ | 0,914 $p = 0,001$ | 0,948 $p = 0,000$ | 0,880 $p = 0,002$ | 0,671 $p = 0,048$ |

HK – hidrolitička kiselost; SOM – udio organske faze u tlu; K_F – Freundlichov sorpcijski koeficijent; $1/n$ – Freundlichov koeficijent nelinearnosti; ΔG^0 – molarna slobodna Gibbsova energija

4.6 Testiranje utjecaja fizikalno-kemijskih karakteristika tla na sorpcijsko/desorpcijsko ponašanje acetamiprida, tiametoksama i klotianidina primjenom analize glavnih komponenata (PCA)

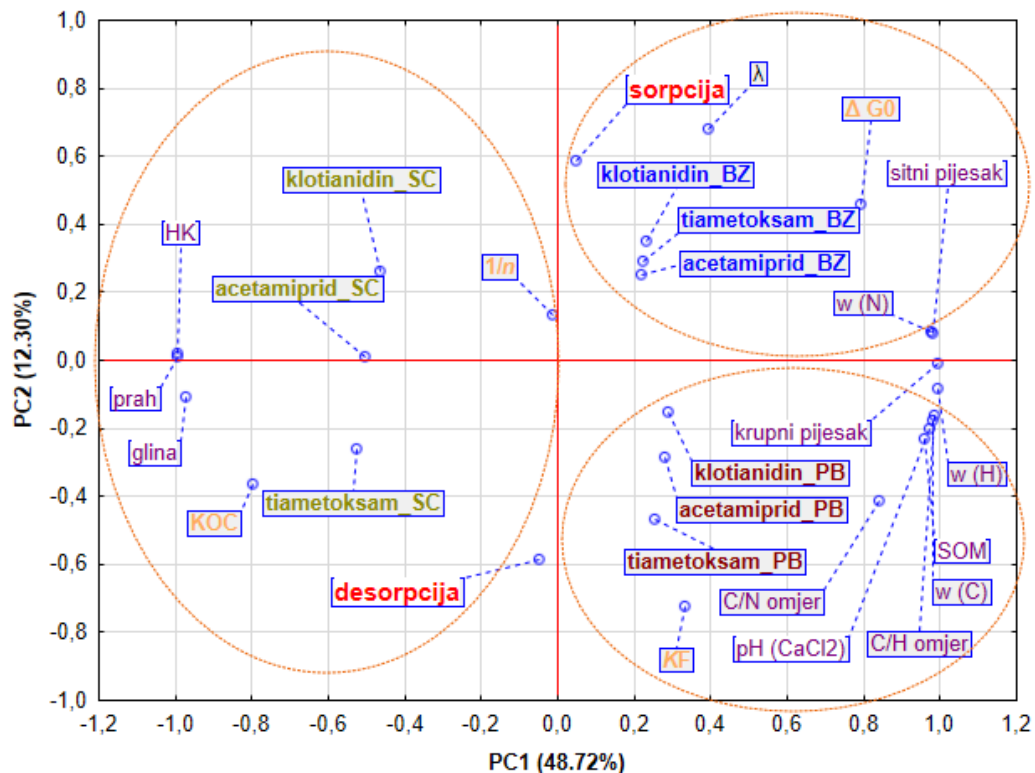
Na kraju, kako bi se objedinili svi dobiveni eksperimentalni podaci – tri analizirana neonikotinoida, tri tla na kojima su provedeni procesi sorpcije, te svi procijenjeni parametri dobiveni pomoću modela Freundlichove izoterme – korištena je statistička analiza glavnih komponenti (PCA). U analizu je ukupno uključeno 972 podatka analize (540 sorpcijskih i 432 desorpcijska podatka). Kao kategorijske varijable korištene su: vrsta procesa (sorpcija, desorpcija), vrsta uzorka tla (BZ, PB i SC) i vrsta analiziranih insekticida (acetamiprid, tiametoksam i klotianidin), dok su kao varijable za analizu korištene sve fizikalno-kemijske karakteristike tla te sorpcijsko/desorpcijski parametri dobiveni modelom Freundlichove izoterme.

Raspodjela podataka analiziranih varijabli prikazana je u vektorskoj ravnini (Slika 11). Testiranje primjerenosti uporabe PC analize provedeno je testom prema Kasier-Meyer-Olkinu, pri čemu je indeks podudarnosti iznosio je 0,735 te se njegova vrijednost može ocijeniti kao vrlo dobra, što je preduvjet za provedbu PC analize. Za određivanje broja glavnih komponenti koje su zadržane u analizi korišten je Cattellov scree test. Prema ovom testu, u analizi su zadržane četiri glavne komponente (PC1, PC2, PC3 i PC4) koje objašnjavaju 77,99 % ukupne varijance (Tablica 12). Prva glavna komponenta PC1 objašnjava 48,72 % ukupne varijance, a druga PC2, treća PC3 i četvrta PC4 12,30 %, 10,05 % odnosno 6,92 %.

Tablica 12. Rezultati svojstvenih vrijednosti i % ukupne varijance za model ovisnosti fizikalno-kemijskih karakteristika tla, sorpcijsko/desorpcijskih parametara, vrsta primijenjenih insekticida i procesa sorpcije i desorpcije predstavljenih analizom glavnih komponenti (PCA) u četiri glavne komponente (PC1 – PC4).

| Glavna komponenta (PC) | svojstvene vrijednosti | % ukupne varijance | Svojstvene vrijednosti - kumulativno | % ukupne varijance - kumulativno |
|------------------------|------------------------|--------------------|--------------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 14,13 | 48,72 | 14,13 | 48,72 |
| 2 | 3,57 | 12,30 | 17,70 | 61,02 |
| 3 | 2,92 | 10,05 | 20,61 | 71,08 |
| 4 | 2,01 | 6,92 | 22,62 | 77,99 |

Većina analiziranih varijabli fizikalno-kemijskih parametara (sitni i krupni pijesak, pH, udjeli SOM-a, C, H, N) nalazi se u prvom i drugom kvadrantu i definiraju pozitivnu stranu glavne komponente PC1 (desna strana PC1). Nadalje, u prvom kvadrantu nalaze se i kategorijske varijable, procesi sorpcije analiziranih insekticida na tlu PB. Može se uočiti da na proces sorpcije (najjači utjecaj na sorpcijski kapacitet, najviši K_F) analiziranih insekticida u tlu PB dominantan utjecaj imaju udio SOM-a, udio C i H odnosno pH (Slika 11, varijable u prvoj elipsi dolje desno). U drugom kvadrantu također su prikazani procesi sorpcije analiziranih neonicotinoida na tlu BZ, a od fizikalno-kemijskih parametara tla na utjecaj sorpcije pokazuju udio N i sitni pijesak. Na tlu BZ uočen je jači fenomen histereze (prisutnost koeficijenta λ), odnosno pomak desorpcijske izoterme u odnosu na sorpcijsku. Nadalje, kod sorpcijskih procesa kod tla BZ jače je izražen utjecaj molarne Gibbsove energije (ΔG°) (Slika 11, varijable u drugoj elipsi gore desno).



Slika 11. Raspodjela i ovisnost fizikalno-kemijskih karakteristika tla, sorpcijsko/desorpcijskih parametara, vrsta primijenjenih insekticida i procesa sorpcije i desorpcije u vektorskoj ravnini predstavljena analizom glavnih komponenti (PCA) u prve dvije glavne komponente (PC1 i PC2).

Fizikalno-kemijski parametri: HK, udio praha i gline raspoređene su u trećem odnosno četvrtom kvadrantu, s lijeve strane glavne komponente PC1, definirajući njenu negativnu stranu. S iste

strane (negativna strana PC1) orijentirane su i kategorijske varijable, procesi desorpcije na analiziranim neonikotinooidima na tlu SC. Ovakva raspodjela ukazuje da na procese desorpcije neonikotinoida u tlu SC najjači utjecaj ima udio sitnih čestica tla (prah i glina) te HK.

U svrhu razjašnjenja važnosti pojedinačnih varijabli uključenih u definiciju modela glavnih komponenti, korišteni su: vrijednost svojstvenih vektora i važnost varijabli (Tablica 13). Analizirajući vrijednosti svojstvenih vektora, vidljivo je da sve varijable fizikalno-kemijskih karakteristika tla definiraju glavnu komponentu PC1. Pozitivan učinak pokazuju udio C, H, N, SOM-a, sitnog i krupnog pijeska, dok je učinak na PC1 od strane HK, udjela praha i gline negativan. Jedini parametar koji karakterizira sorpcijsko/desorpcijske procese, a definiran je komponentom PC1 je koeficijent K_{OC} . Od analiziranih insekticida ponašanje klotianidina u tlu BZ je definirano komponentom PC1, ali je taj učinak bio vrlo slab (0,08). Koeficijenti histereze (H i λ) definiraju glavnu komponentu PC2, s time da λ pokazuje jak pozitivan učinak (0,36), a H jak, ali negativan učinak. U definiciji PC2 sudjeluju i koeficijent K_F s jakim negativnim učinkom (-0,38) i ΔG^0 s umjereno jakim pozitivnim učinkom (0,24). Jedina varijabla koja karakterizira sorpcijsko/desorpcijske izoterme, odnosno ukazuje na oblik izoterme, koeficijent nelinearnosti $1/n$ definiran je glavnom komponentom PC4 i pokazuje izrazito jak učinak (0,67). Konačno, analizom važnosti varijabli utvrđeno je da sve fizikalno-kemijske karakteristike tla imaju izrazito utjecaj u definiciji modela sa snagom $> 0,99$ (Tablica 13), dok analizirani insekticidi na različitim tlima pokazuju daleko slabiji utjecaj na definiciju modela (snaga $< 0,77$).

Na osnovu svega navedenog može se zaključiti da zajednički utjecaj fizikalno-kemijskih karakteristika tla utječe na sorpcijsko/desorpcijsko ponašanje analiziranih insekticida u tlima. Tome ide u prilog činjenica da navedene karakteristike tala definiraju glavnu komponentu PC1 s 48,72% ukupne varijance. Ovu glavnu komponentu (PC1) može se nazvati karakteristike tala koje imaju utjecaj na sorpcijsko/desorpcijsko ponašanje insekticida u tlu. Koeficijenti histereze zajedno sa sorpcijskim kapacitetom definiraju glavnu komponentu PC2 s udjelom od 12,30%, te se ova glavna komponenta može definirati kao čimbenici utjecaja na oblik izoterme. Glavnu komponentu PC3 s 10,05% definiraju procesi sorpcije/desorpcije, a zadnju glavnu komponentu PC4 definiraju analizirani insekticidi u tlima s postotkom od 6,92%.

Tablica 13. Vrijednosti svojstvenih vektora i važnost varijabli za fizikalno-kemijske karakteristike tla, sorpcijsko/desorpcijske parametre, vrsta primijenjenih insekticida i procese sorpcije i desorpcije u vektorskoj ravni predstavljene analizom glavnih komponenti (PCA) u prve četiri glavne komponente. Različitim bojama prikazane su varijable koje definiraju pojedinu glavnu komponentu. Obojeni faktori prvog stupca (PC 1) obilježavaju fizikalno kemijska svojstva tla. Obojeni faktori drugog stupca (PC 2) obilježavaju koeficijenti histereze, K_F i ΔG^0 . Obojeni faktori trećeg stupca (PC 3) obilježavaju procese sorpcije i desorpcije. Obojeni faktori četvrtog stupca (PC 4) obilježavaju koeficijent nelinearnosti $1/n$.

| Varijabla | Vrijednosti svojstvenih vektora | | | | Važnost varijabli | |
|-------------------------|---------------------------------|-------|-------|-------|-------------------|---------|
| | PC 1 | PC 2 | PC 3 | PC 4 | Snaga | Važnost |
| w (H) | 0,26 | -0,05 | -0,00 | 0,00 | 0,9992 | 1 |
| λ | 0,10 | 0,36 | 0,35 | -0,07 | 0,9991 | 2 |
| C/H omjer | 0,26 | -0,09 | -0,03 | 0,02 | 0,9989 | 3 |
| HK | -0,26 | 0,01 | -0,02 | 0,01 | 0,9989 | 4 |
| prah | -0,26 | 0,00 | -0,02 | 0,01 | 0,9989 | 5 |
| krupni pijesak | 0,26 | -0,00 | 0,02 | -0,01 | 0,9989 | 6 |
| w (C) | 0,26 | -0,09 | -0,03 | 0,02 | 0,9988 | 7 |
| pH (CaCl ₂) | 0,26 | -0,11 | -0,04 | 0,02 | 0,9986 | 8 |
| SOM | 0,26 | -0,12 | -0,05 | 0,03 | 0,9981 | 9 |
| H | -0,10 | -0,36 | -0,36 | 0,01 | 0,9979 | 10 |
| sitni pijesak | 0,26 | 0,04 | 0,05 | -0,03 | 0,9978 | 11 |
| w (N) | 0,26 | 0,04 | 0,05 | -0,03 | 0,9977 | 12 |
| glina | -0,26 | -0,06 | -0,06 | 0,03 | 0,9973 | 13 |
| C/N omjer | 0,22 | -0,22 | -0,12 | 0,06 | 0,9937 | 14 |
| ΔG^0 | 0,21 | 0,24 | -0,22 | 0,03 | 0,9820 | 15 |
| proces sorpcije | 0,01 | 0,31 | -0,43 | 0,08 | 0,9546 | 17 |
| proces desorpcije | -0,01 | -0,31 | 0,43 | -0,08 | 0,9546 | 17 |
| 1/n | -0,00 | 0,07 | 0,10 | 0,67 | 0,9399 | 18 |
| K_F | 0,09 | -0,38 | 0,28 | 0,04 | 0,9082 | 19 |
| K_{OC} | -0,21 | -0,19 | 0,19 | 0,01 | 0,8764 | 20 |
| acetamiprid_SC | -0,13 | 0,01 | 0,02 | 0,50 | 0,7737 | 21 |
| tiametoksam_SC | -0,14 | -0,14 | -0,15 | -0,33 | 0,6617 | 22 |
| tiametoksam_PB | 0,07 | -0,25 | -0,30 | -0,06 | 0,6008 | 23 |
| klotianidin_SC | -0,12 | 0,14 | 0,10 | -0,15 | 0,5611 | 24 |
| tiametoksam_BZ | 0,06 | 0,15 | 0,00 | 0,07 | 0,4544 | 25 |
| klotianidin_BZ | 0,06 | 0,18 | 0,14 | -0,31 | 0,4278 | 26 |
| acetamiprid_PB | 0,07 | -0,15 | 0,02 | 0,20 | 0,4240 | 27 |
| klotianidin_PB | 0,08 | -0,08 | -0,01 | 0,01 | 0,3327 | 28 |
| acetamiprid_BZ | 0,06 | 0,13 | 0,17 | 0,07 | 0,2398 | 29 |

BZ – uzorak tla bukva – Zlobin; PB – uzorak tla Plase – bor; SC – uzorak tla slavonska crnica HK; – hidrolitička kiselost; SOM – udio organske faze u tlu; K_F – Freundlichov sorpcijski koeficijent; $1/n$ – Freundlichov koeficijent nelinearnosti; ΔG^0 – molarna slobodna Gibbsova energija; K_{OC} – koeficijent adsorpcije normiran na organski ugljik; H, λ – koeficijenti histereze

5. Rasprava

Neonikotinoidi acetamiprid, tiametoksam i klotianidin analizirani u ovom istraživanju imaju slične veličine molekula i kemijske strukture, kao što je prikazano u Tablici 4. Unatoč tome, neka od njihovih osnovnih fizičkih svojstava – kao što je topljivost u vodi – uvelike se razlikuju. Topljivost klotianidina u vodi je za red veličine niža od topljivosti acetamiprida ili

tiametoksama i ima najnižu vrijednost od svih neonikotinoidea korištenih u istraživanju. Na njegovu topljivost ne utječe pH u rasponu između 4 i 9, te nema kisela ni bazična svojstva u vodenoj otopini. Osim toga, tiametoksam je dva do tri puta lipofilniji od acetamiprida. Takvo ponašanje je u velikom nesrazmjeru s činjenicom da tiametoksam može stvoriti više vodikovih veza od acetamiprida [40]. Uzimajući u obzir da su molekule slične veličine, tako da se faktor razlike u veličini može isključiti kao potencijalni čimbenik razlike u sorpcijsko/desorpcijskom ponašanju. Acetamiprid sadrži aromatsku skupinu 6-kloropiridina na jednoj strani i nitrilnu skupinu na suprotnoj strani molekule dok se negativni naboji nalaze na obje strane [40]. Osim toga, podaci iz literature sugeriraju da se acidobazna svojstva ovih insekticida razlikuju, pri čemu acetamiprid ima pK_a vrijednost od 0,7, tiametoksam se navodno ne disocira, a klotianidin ima pK_a od 11,1 [41]. Ova iznimno niska pK_a implicira da je acetamiprid jaka kiselina i prema tome, da pri tipičnom pH tla, acetamiprid postoji u ionskom obliku, što bi predstavljalo veliki doprinos razlikama u sorpcijskom/kinetičkom ponašanju. Međutim, povezivanje kemijske strukture acetamiprida s jakim kiselim svojstvima nije očito niti logično; nema funkcionalnih skupina koje bi disocirale pri tako niskom pH [25]. Zapravo, prisutnost dušikovih atoma čini oba spoja slabim bazama. Dakle, ova vrijednost pK_a označava kiselost protoniranog oblika molekule (protomer). Protoniranje na određenom mjestu u molekuli ovisi o protonskom afinitetu određenog atoma, ali u većini slučajeva, protonski afinitet različitih mjesta u molekuli je rezultat sinergističkog učinka svih prisutnih funkcionalnih skupina. Unatoč tome, iako se čini da je protoniranje neonikotinoidea koji sadrže nitrilne skupine dobro istraženo [40], prema sadašnjim saznanjima, nisu pronađena istraživanja o acetamipridu, tiametoksamu i klotianidinu koja bi objasnila mnoge nepoznanice.

Opisane razlike u molekularnoj strukturi, koje rezultiraju slabom topljivošću klotianidina u vodi, većom lipofilnošću i različitim kiselobaznim svojstvima, daju objašnjenje razlika u sorpcijskom/desorpcijskom ponašanju ovih spojeva. Rezultati su pokazali veću količinu acetamiprida sorbiranog u ravnoteži, za sva tla. Rezultati desorpcije pokazali su da se acetamiprid lakše i temeljitije desorbira od klotianidina i tiametoksama u svim tlima, što nije u skladu s njegovom topljivošću u vodi, jer s topljivosti od 2950 mg/L bi se trebao sporije otpuštati od tiametoksama (koji ima topljivost od 4100 mg/L). Dodatno, klotianidin bi se trebao najsporije desorbirati s topljivošću od samo 327 mg/L.

Rezultati ovog istraživanja i statistička analiza jasno ukazuju na utjecaj organske tvari na sorpciju insekticida acetamiprida, tiametoksama i klotianidina u tlu. Uspoređujući tla korištena

istraživanjem, tlo SC koje je primjer poljoprivrednog tla te tala PB i BZ, koji su primjeri šumskih tala, ukazuje se na moguću opasnost zagađenja podzemnih voda insekticidima poput analiziranih neonikotinoida. Dodatnom činjenicom da se neonikotinoidi i primjenjuju uglavnom na tlima poput tla SC zbog viših prinosa, a istovremeno da poljoprivreda svojim procesima smanjuje količinu organske tvari u tlu, ulazi se u krug mogućnosti širenja utjecaja insekticida na neželjene dijelove ekosustava. Do sličnih rezultata su došli Cox i suradnici [23] analizirajući sorpciju, sada zabranjenog neonikotinoida, imidakloprida. Elementi histereze, H i λ , prema odrađenim analizama i statistici nisu značajno povezani niti s jednom analiziranom fizikalno-kemijskom karakteristikom tla. Na osnovu statističke matrice analize također se vidi utjecaj svih karakteristika tla na slobodnu Gibbsovu energiju kod procesa sorpcije. Veliki broj čimbenika koji utječu na jednu varijablu pokazuju složenost i povoljnost samog procesa sorpcije. Suprotno, kod procesa desorpcije, manji je broj čimbenika (SOM, udio ugljika, omjer C/N i pH otopine CaCl_2) imao značajan utjecaj na sami proces. Ove rezultate potkrijepljuje i istraživanje Rodríguez-Liébana i suradnika [34] na tlima Španjolske. Naime, dodatkom organskih tvari u tla povećana je njihova sorpcijska moć i time umanjen rizik prodiranja u mikrozagađivala podzemne tokove pitke vode. Insekticidi korišteni u tom istraživanju bili su tiakloprid također insekticid iz obitelji neonikotinoida i fenarimolu [34].

Bitno je istaknuti da su ovim istraživanjem provedene analize isključivo procesa sorpcije i desorpcije insekticida u tlu, ali ne i njihova razgradnja. Svakako su potrebna daljnja istraživanja radi utvrđivanja i procesa razgradnje koji mogu teći paralelno s odvijanjem procesa sorpcije/desorpcije. Idealno bi bilo da se proces sorpcije/desorpcije provodi u sterilnom tlu iz kojeg su uklonjeni mikroorganizmi koji mogu provesti biorazgradnju materinskih komponenata insekticida. Tako su Zhang i suradnici [35] dokazali izrazit utjecaj sterilnosti tla na razgradnju insekticida u tlu. Značajan dio razgradnje insekticida uključuje biorazgradnju te je potrebno analizirati ponašanje produkata razgradnje u tlu i njihovo širenje ekosustavom [35]. Nekoliko istraživanja u kojima su analizirana sorpcijska ponašanja acetamiprida u tlu, ukazala su da acetamiprid pokazuje umjereno jaku sorpciju na tlo, pri čemu sorpcija raste s većim sadržajem organske tvari u tlu kao što je dobiveno i ovim istraživanjem. To implicira da u tlima bogatim organskim tvarima acetamiprid ima smanjenu pokretnost i bioraspodivnost, sporije dospjevajuću u podzemne vode i smanjujući rizik od zagađenja istih [15]. Murano i suradnici [36] ispitivali su sorpciju acetamiprida s utjecajem različitih vrsta minerala na analizirana tla. Otkrili su da je acetamiprid pokazao veći afinitet za određene minerale gline, što ukazuje da

mineralni sastav tla može utjecati na njegovu sorpcijsku sposobnost [26]. Studija Banerjee i suradnika [37] ukazala je da je tiametoksam pokazao jaču sorpciju u tlima s većim udjelom organskih tvari i većim sadržajem gline zbog veće površine glinaste strukture tla [37]. Na sorpcijsko ponašanje acetamiprida, tiametoksama i klotianidina u tlu utječu mnogi čimbenici kao što su tip tla, sadržaj organske tvari, sadržaj gline i pH. Razumijevanje ovih sorpcijskih karakteristika bitno je za predviđanje sudbine ovih insekticida u okolišu, njihovog potencijala ispiranja u podzemne vode i njihove bioraspoloživosti ne ciljanim organizmima. Unatoč tome, neka istraživanja također dokazuju da iako organska tvar tla (SOM) zadržava trenutna onečišćenja, kumulativni učinak i ispiranje insekticida i dalje je prisutno. U radu Morrison-a i suradnika [38], analizirana je soja koja je obložena tiametoksamom te posađena u glinasto tlo različitih koncentracija organskog ugljika u tlu. Uzorci procijeđene vode i tla skupljani su 10 tjedana nakon sjetve i analizirana je koncentracija insekticida pomoću LC/MS-MS metode. Prema zaključku istraživanja, koncentracija ostatnog tiametoksama u tlu bila je u negativnoj korelaciji s kumulativnim volumenom isprane vode. U početku su koncentracija i ukupna masa ispranog klotianidina bile značajno i negativno povezane sa sadržajem organske tvari; međutim, taj je učinak s vremenom postajao sve slabije izražen. Dinamika procjedne vode također je utjecala na pokretnost klotianidina, s pozitivnim odnosima između volumena procijeđene vode i koncentracije klotianidina tijekom odvijanja eksperimenta. Ovim rezultatima Morrison i suradnici [38] dokazali su da SOM može smanjiti maksimalno opterećenje neonicotinoidima u smislu naglog naleta velike količine insekticida, ali ne može promijeniti kumulativno ispiranje tijekom cijele vegetacijske sezone [38].

Eksperimentalni podaci testirani su matematičkim modelima sorpcijsko/desorpcijskih izoterma gdje se kao najprikladniji model pokazao Freundlichov. Općenito, vrijednosti koeficijenta nelinearnosti $1/n$ bile su manje od 1 za insekticide klotianidin i tiametoksam, dok se kod acetamiprida u većini slučajeva radilo o eksponencijalnom rastu i S obliku krivulje. U usporedbi s istraživanjem Danky i suradnika [39] uočava se razlika u oblicima krivulja jer su u njihovoj analizi insekticida (klotianidina, imidakloprida, tiakloprida, acetamiprida i tiametoksama) sve krivulje bile L oblika [39]. Također, sorpcijski parametri dobiveni ovim istraživanjem usporedivi su sa sličnim proučavanjima neonicotinoida u tropskim tlima. Tako uspoređujući rezultate istraživanja Carbo i suradnika [17] vidi se variranje rezultata $1/n$ vrijednosti acetamiprida između 0,955 i 1,478 kao i razlika $1/n$ vrijednosti ovog istraživanja od 0,934 do 1,363 za acetamiprid. Po vrijednostima Freundlichovog koeficijenta, K_F , analiza napravljena za

acetamiprid od strane Carbo i suradnika [17] je najbliža vrijednosti K_F tla SC iz ovog istraživanja. To je u skladu s očekivanim rezultatima jer su tla korištena u istraživanju Carbo i suradnika [17] bila vrlo niskog udjela organskih tvari kao i tlo SC. S druge strane, za tiametoksam nailazi se na veće razlike $1/n$ vrijednosti gdje Carbo i suradnici [17] uglavnom dobivaju vrijednosti $1/n > 1$, dok su u ovom radu uglavnom dobivene vrijednosti $1/n < 1$ za tiametoksam [17]. Vrijednosti K_F za neonikotinoide u istraživanju Danky i suradnika rastu ovisno o sadržaju organske faze tla. Ovaj trend je objašnjen kao utjecaj sadržaja organskog ugljika, za koji su zaključili da ima bitnu ulogu u procesu sorpcije svih neonikotinoida [38]. Vrijednosti koeficijenta K_{OC} (sorpcije) kretale su se od 260 do 2529 mL/g za sve neonikotinoide i odražavaju važan utjecaj organskog ugljika u proučavanim tlima. Prema Carbo i suradnicima [17], dobivene su K_{OC} vrijednosti od 104 – 2877 za analizirane neonikotinoide [17]. Slično tome, dobivene vrijednosti Banerjee i suradnika [37] za K_{OC} acetamiprida kretale su se od 98 – 3235 mL/g, dok se vrijednosti dobivene ovim istraživanjem kreću od 420 – 1579 mL/g [37]. Uz to, Banerjee i suradnici [37] su identificirali organsku fazu tla kao najvažniju komponentu za sorpcijsko ponašanje insekticida [37]. Suprotno tome, u slučaju tiametoksama, Carbo i suradnici [17] nisu uočili nikakvu značajnu korelaciju između koeficijenta sorpcije i sadržaja organskog ugljika u tlu [17]. Ovim istraživanjem je dokazan statistički značajan utjecaj velikog broja fizikalno-kemijskih parametara tla na vrijednosti K_{OC} , važnost organskog udjela u tlu i drugih parametara na K_F insekticida. Nedostatak informacije utjecaja parametara na vrijednost $1/n$ upućuje na potreban veći broj parametara potrebnih u analizi kako bi se utvrdilo što sve utječe na procese sorpcije i desorpcije insekticida u nekom tlu.

Zbog složenosti tla kao matriksa u kojem se odvija velik broj vrlo kompleksnih interakcija, potrebna su mnoga dodatna istraživanja kako bi se detaljno i što realnije objasnilo ponašanje mikrozagadivala u ekosustavima te njihov negativni utjecaj na okolinu.

6. Zaključci

S ciljem utvrđivanja utjecaja fizikalno-kemijskih svojstava tla na procese sorpcije i desorpcije insekticida acetamiprida, tiametoksama i klotianidina, rezultati istraživanja mogu biti sumirani u nekoliko točaka:

1. Tla BZ i PB su visoko humozna tla ili tla s visokim udjelom organske tvari te su istovremeno šumska tla koja se ne koriste za poljoprivredu i ne podliježu procesima obrade tla ili visokom antropogenom učinku. Tlo SC je poljoprivredno tlo Slavonije s vrlo niskim udjelom organske tvari kao posljedica korištenja tla za maksimalni doprinos u poljoprivredi.
2. Iako su svi ispitivani insekticidi iz obitelji neonikotinoida, interakcije acetamiprida, tiametoksama i klotianidina su u kontaktu s tlom različite. Acetamiprid se najbolje sorbirao u svim tlima nakon čega slijedi klotianidin pa tiametoksam.
3. Testirajući eksperimentalne vrijednosti matematičkim modelima, Freundlichovom, Langmuirovom i Temkinovom izotermom, kao optimalan model za objašnjenje sorpcijsko/desorpcijskog ponašanja odabran je Freundlichov model zbog najboljeg slaganja eksperimentalnih i teorijskih podataka. Preko Freundlichovih eksponenta $1/n$ (koeficijenta nelinearnosti) utvrđeni su oblici izotermi i njihova konveksnost ili konkavnost, a preko koeficijenta K_F utvrđen je kapacitet sorpcije i desorpcije koji je u ovom slučaju bio najjači kod tla PB.
4. Iz grafova izotermi dobivenih Freundlichovim modelom vidljiva je razlika oblika sorpcijskih izotermi. Kod tiametoksama i klotianidina vidljiva je izoterma L oblika što ukazuje na postepeno zasićenje tla tim insekticidima zbog postupnog smanjenja slobodnih mjesta na površini tla. S druge strane, sorpcijska izoterma acetamiprida ukazuje na S oblik krivulje čime svako vezno mjesto otvara nove mogućnosti vezanja (pri koncentracijama korištenim u ovom istraživanju).
5. Iz statističke analize korelacijske matrice dokazana je jaka pozitivna povezanost parametara K_F s ukupnim udjelom organske tvari i omjerom C/N. Uz to, dokazana je i

negativna korelacija Gibbsove energije s udjelom organske tvari, udjelom ugljika i omjerom C/N.

6. PC analizom dokazani su skupni utjecaji fizikalno kemijskih svojstava tla na ponašanje insekticida u tlu. Ponajviše, dokazana je statistička važnost K_{oc} i Gibbsove energije za ponašanje insekticida. Iz toga se doznaje da važan doprinos sorpcijskih i desorpcijskih procesa dolazi iz fizičkih reakcija, a ne samo kemijskih.

Za bolje razumijevanje procesa sorpcije i desorpcije, potrebno je provesti dodatne analize fizikalno-kemijskih karakteristika tla. To uključuje detaljnu analizu anorganske komponente tla, a i fazu sekundarnih metabolita koji s organskom komponentom formiraju koloidnu frakciju tla, frakciju na koju se vežu mikrozagađivači. Također je važno istražiti utjecaj razgradnih produkata insekticida u tlu i utjecaj mikroorganizama u tlu na razgradnju insekticida.

Ovakva vrsta istraživanja nužna je u područjima koja se koriste u poljoprivredne svrhe. Time se dobiva detaljniji uvid u karakteristike tla, ponašanje pesticida u tlima, njihovu pokretnost i sposobnost prodiranja u podzemne vode. Konačni cilj ovakvih ispitivanja bio bi postizanje održivog razvoja poljoprivrede, što znači upravljanje poljoprivredom i resursima na način da se očuva tlo u istom ili boljem stanju za buduće generacije. Zbog toga je ključno strogo kontrolirati upotrebu pesticida u svrhu očuvanja okoliša i zdravlja svih živih bića.

9. Literatura

1. Mörtl M., Kereki O., Darvas B., Klátyik S., Vehovszky Á., Győri J., Székács A., (2016), "Study on Soil Mobility of Two Neonicotinoid Insecticides", *Journal of Chemistry*, Article ID 4546584, 9 pages, Dostupno na: <https://doi.org/10.1155/2016/4546584>.
2. Jeschke P., Nauen, R., Schindler M., Elbert A., (2011), Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoids (dagger), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1–7, Dostupno na: <https://doi.org/10.1021/jf101303g>.
3. Yong L., Ling L., Huangqian Y., Jing G., Jinjin C., Liyun R., Xiangyang Y., (2018), Comparison of uptake, translocation and accumulation of several neonicotinoids in komatsuna (*Brassica rapa* var. *perviridis*) from contaminated soils, *Chemosphere*, 200 603-611, ISSN 0045-6535, Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.104>.
4. FERA, (2017), Food and Environment Research Agency, Fera, Pristupljeno: rujan 2023, Dostupno na: <https://secure.fera.defra.gov.uk/pusstats/mygraphindex.cfm>.
5. Hladik Michelle L., Kolpin Dana W., (2016) First national-scale reconnaissance of neonicotinoid insecticides in streams across the USA, *Environmental Chemistry* 13, 12-20, Dostupno na: <https://doi.org/10.1071/EN15061>.
6. Sanchez Bayo F., Hyne R. V., (2014), Detection and analysis of neonicotinoids in river waters – Development of a passive sampler for three commonly used insecticides, *Chemosphere* 99, 143–151, Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.10.051>.
7. Brunet J. L., Badiou, A., and Belzunces, L. P. (2005). In vivo metabolic fate of [14C]-acetamiprid in six biological compartments of the honeybee, *Apis mellifera* L. *Pest management science*, 61(8), 742–748. Dostupno na: <https://doi.org/10.1002/ps.1046>
8. Evaluation of the new active CLOTHIANIDIN in the products Sumitomo Shield Systemic Insecticide Sumitomo Samurai Systemic Insecticide Sumitomo Stealth Systemic Insecticide, Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority November 2007, Pristupljeno: rujan 2023, Dostupno na: http://www.apvma.gov.au/registration/assessment/docs/prs_clothianidin.pdf
9. Srpak M. i Zeman S. (2018). Održiva ekološka poljoprivreda. Zbornik radova Međimurskog veleučilišta u Čakovcu, 9 (2), 68-75. Dostupno na <https://hrcak.srce.hr/215393>

10. Škorić A., (1991): Sastav i svojstva tla, Fakultet poljoprivrednih znanosti, Zagreb, Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/file/216840>
11. Broznić D, (2010): Sorpcija – desorpcija imidakloprida i 6-kloronikotinske kiseline na tlima priobalja Republike Hrvatske, Doktorska disertacija, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu
12. Vukadinović V., Vukaninović V, (2018): Zemljišni resursi, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, str. 29-45. Dostupno na: https://tlo-i-biljka.eu/Gnojidba/Zemljisni_resursi.pdf
13. Rodríguez-Liébana J.A., Mingorance M.D. and Peña, A., (2014), Role of Irrigation with Raw and Artificial Wastewaters on Pesticide Desorption from Two Mediterranean Calcareous Soils. *Water Air Soil Pollut* 225, 2049 Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s11270-014-2049-z>
14. Živančev N. V., Kovačević S. R., Radović T. T., Radišić M. M., and Dimkić M. A. (2019). Mobility and sorption assessment of selected pesticides in alluvial aquifer. *Environmental science and pollution research international*, 26(28), 28725–28736. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06055-4>
15. Aseperi A. K., Busquets R., Hooda P. S., Cheung P. C. W., and Barker J. (2020). Behaviour of neonicotinoids in contrasting soils. *Journal of environmental management*, 276, 111329. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111329>
16. Pietrzak D., Kania J., Kmiecik E., Malina G., and Wątor K. (2020). Fate of selected neonicotinoid insecticides in soil-water systems: Current state of the art and knowledge gaps. *Chemosphere*, 255, 126981. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126981>
17. Carbo L., Martins E. L., Dores E. F., Spadotto C. A., Weber O. L., and De-Lamonica-Freire E. M. (2007). Acetamiprid, carbendazim, diuron and thiamethoxam sorption in two Brazilian tropical soils. *Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*, 42(5), 499–507. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/03601230701389439>
18. Marohnić S. (2019). UTJECAJ FIZIKALNO-KEMIJSKIH KARAKTERISTIKA TLA NA SORPCIJSKO PONAŠANJE DIMETOATA (Završni rad). Rijeka: Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet. Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:291763>

19. Milovan G. (2022), Ekstrakcija organske faze tla (Diplomski rad), Rijeka: Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet, Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:063296>
20. Pubchem baza podataka kemijskih spojeva, Pristupljeno: rujan 2023, Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetamiprid>
21. Piccin J. S., and Dotto G. L., and Pinto A. A., LUIZ. (2011). Adsorption isotherms and thermochemical data of FDandC RED N° 40 Binding by chitosan. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 28. 295-304. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-66322011000200014>
22. Selim H. M., and Zhu H., (2005). Atrazine sorption-desorption hysteresis by sugarcane mulch residue. *Journal of environmental quality*, 34(1), 325–335. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15647562/>
23. Papiernik S. K., Koskinen W. C., Cox L., Rice P. J., Clay S. A., Werdin-Pfisterer N. R., and Norberg K. A. (2006). Sorption-desorption of imidacloprid and its metabolites in soil and vadose zone materials. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(21), 8163–8170. Dostupno na: <https://doi.org/10.1021/jf061670c>
24. Inyinbor A. A., Adekola F. A., Olatunji G. A. (2016). Kinetics, Isotherms and thermodynamic modeling of liquid phase adsorption of Rhodamine B dye onto *Raphia hookerie* fruit epicarp. *Water Resources and Industry*. 15. 10.1016/j.wri.2016.06.001. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wri.2016.06.001>
25. Sinčić Modrić G., Petković Didović M., Dubrović I., Žurga P., Broznić D., (2023), Those That Remain: Sorption/Desorption Behaviour and Kinetics of the Neonicotinoids Still in Use, *International Journal of Molecular Sciences*, 2023; 24(7):6548, Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/ijms24076548>
26. McCall P. J., Laskowski D. A., Swann R. L., Dishburger H. L. (1981), Measurement of sorption coefficients of organic chemicals and their use in environmental fate analysis. p. 89–109. In *Test protocols for environmental fate and movement of toxicants. Proc. of a Symp.* Dostupno na: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/P1005IVR.txt>
27. Schwarzenbach R.P., Gschwend P.M., Imboden D. (2005). *An Introduction to Environmental Organic Chemicals. Environmental Organic Chemistry*. 13-54. 10.1002/0471649643.ch2. Dostupno na:

https://www.researchgate.net/publication/285092294_An_Introduction_to_Environmental_Organic_Chemicals

28. Broznić D., Marinić J., Tota M., Čanadi Jurešić G., Petković O. i Milin Č. (2012). Hysteretic Behavior of Imidacloprid Sorption-Desorption in Soils of Croatian Coastal Regions. *Soil and sediment contamination*, 21. (7), 850-871. Dostupno na: doi: 10.1080/15320383.2012.697934

29. Sheng G., Johnston C. T., Teppen B. J., and Boyd S. A. (2001). Potential contributions of smectite clays and organic matter to pesticide retention in soils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(6), 2899–2907. Dostupno na: <https://doi.org/10.1021/jf001485d>

30. Th.E.M. ten Hulscher, Cornelissen G., (1996), Effect of temperature on sorption equilibrium and sorption kinetics of organic micropollutants - a review, *Chemosphere* 32 609-626, Dostupno na : [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(95\)00345-2](https://doi.org/10.1016/0045-6535(95)00345-2).

31. Carrizosa M.J., Koskinen W.C., del Carmen Hermosín, M. (2004), INTERACTIONS OF ACIDIC HERBICIDES BENTAZON AND DICAMBA WITH ORGANOCCLAYS. *Soil Science Society of America Journal*, 68: 1863-1866. Dostupno na: <https://doi.org/10.2136/sssaj2004.1863>

32. Worrall F., Fernandez-Perez M., Johnson A. C., Flores-Cesperedes F., and Gonzalez-Pradas E. (2001). Limitations on the role of incorporated organic matter in reducing pesticide leaching. *Journal of contaminant hydrology*, 49(3-4), 241–262. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/s0169-7722\(00\)00197-2](https://doi.org/10.1016/s0169-7722(00)00197-2)

33. Žukauskaitė Z., Lukšienė B., Filistovič V., Tarasiuk N., Maceika E., Kazakevičiūtė-Jakučiūnienė L. (2001.), Experimental and modelling studies of radiocesium sorption/desorption processes in the fixed-bed moss column, *Journal of Environmental Radioactivity*, 203 (1-7), Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2019.02.007>.

34. Rodríguez-Liébana J.A., Mingorance M.D. and Peña A., (2013), Pesticide sorption on two contrasting mining soils by addition of organic wastes: Effect of organic matter composition and soil solution properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 435. 71-77. 10.1016/j.colsurfa.2012.12.027. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.12.027>

35. Zhang P., Ren C., Sun H., and Min L. (2018). Sorption, desorption and degradation of neonicotinoids in four agricultural soils and their effects on soil microorganisms. *The Science*

of the total environment, 615, 59–69. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.097>

36. Murano H., Suzuki K., Kayada S., Saito M., Yuge N., Arishiro T., WatanabeBA., and Isoi T. (2018). Influence of humic substances and iron and aluminum ions on the sorption of acetamiprid to an arable soil. *The Science of the total environment*, 615, 1478–1484. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.120>

37. Banerjee K., Patil S. H., Dasgupta S., Oulkar D. P., and Adsule P. G. (2008). Sorption of thiamethoxam in three Indian soils. *Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*, 43(2), 151–156. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/03601230701795130>

38. Morrison B. A., Xia K., and Stewart R. D. (2022). Soil organic matter can delay-but not eliminate-leaching of neonicotinoid insecticides. *Journal of environmental quality*, 51(6), 1270–1281. Dostupno na: <https://doi.org/10.1002/jeq2.20402>

39. Dankyi E., Gordon C., Carboo D., Apalangya V. A., Fomsgaard I. S. (2018). Sorption and degradation of neonicotinoid insecticides in tropical soils. *Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*, 53(9), 587–594. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1473965>

40. Abraham M. H., and Le J. (1999). The correlation and prediction of the solubility of compounds in water using an amended solvation energy relationship. *Journal of pharmaceutical sciences*, 88(9), 868–880. Dostupno na: <https://doi.org/10.1021/js9901007>

41. PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire, Pristupljeno: rujan 2023., Dostupno na: http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz_insect.htm

10. Životopis

OSOBNI PODACI

Ime i prezime: Luka Devčić

Spol: Muški

Datum i mjesto rođenja: 19.01.1999, Rijeka

Adresa: Ratka Petrovića 26, Rijeka 51000

Državljanstvo: Hrvatsko

OBRAZOVANJE

2021. – 2023. – Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci – Diplomski sveučilišni studij

Sanitarno inženjerstvo

2017. – 2021. – Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci – Preddiplomski sveučilišni studij

Sanitarno inženjerstvo

2013. – 2017. – Medicinska škola u Rijeci – Tehničar nutricionist