Određivanje teških metala u korabi (Brassica rupestris Raf.ssp.gongyloides (L.) Janch.)

Kozina, Tomislav

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:495892

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U KORABI (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.)

ZAVRŠNI RAD

TOMISLAV KOZINA

Matični broj: 817

Split, rujan 2017.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJSKE TEHNOLOGIJE

KEMIJSKO INŽENJERSTVO

ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U KORABI (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.)

ZAVRŠNI RAD

TOMISLAV KOZINA

Matični broj: 817

Split, rujan 2017.

UNIVERSITY OF SPLIT

FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY

CHEMICAL ENGINEERING

DISTRIBUTION OF HEAVY METALS IN KOHLRABI (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.)

BACHELOR THESIS

TOMISLAV KOZINA

Parent number: 817

Split, September 2017

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij kemijske tehnologije, smjer: Kemijsko inženjerstvo

Znanstveno područje: Tehničke znanosti
Znanstveno polje: Kemijsko inženjerstvo
Tema rada je prihvaćena na 21. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta

Mentor: dr. sc. Mario Nikola Mužek, znanstveni suradnik
Pomoć pri izradi:

ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U KORABI (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.)

Tomislav Kozina, 817

Sažetak: U ovom završnom radu su određene koncentracije odabranih teških metala (Pb, Cd, Zn, Cu, Ni, Fe, Mn i As) i jednog metaloida (Se) u korabi (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.) koja je sabrana u travnju 2017. godine. Koraba je podijeljena na više frakcija: korijen (podzemni dio), gomolj, stabljika, list te cvijet (nadzemni dio). Koncentracije teških metala (olovo, kadmij, cink, bakar, nikal, željezo, mangan i arsen) i metaloida (Se) u otopinama korabe su određene pomoću spektrometrije masa s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS). Uočava se kako se veći dio istraživanih teških metala: olova, kadmija, cinka, bakra, nikla, željeza, mangana i arsena, kao i metaloida selena akumulirao u nadzemnom dijelu biljke što je vjerojatno posljedica translokacije iz korijena biljke. Poprilično se olova akumuliralo u nadzemnom dijelu biljke i to najviše u listu – 4,917 μg g^{-1}. Najniže koncentracije teških metala su detektirane za kadmij te iznose 0,367 μg g^{-1} u nadzemnom dijelu te 0,155 μg g^{-1} u podzemnom dijelu. Može se zaključiti kako se kadmij iz korijena u većoj mjeri translocira u nadzemni dio. Najveća izmjerena koncentracija kadmija u nadzemnim organima otpada na cvijet i iznosi 0,135 μg g^{-1} što je gotovo jednako njegovoj koncentraciji u korijenu (0,155 μg g^{-1}). Najviše izmjerene koncentracije su upravo u slučaju željeza. U podzemnom dijelu je izmjereno 1227,500 μg g^{-1}, dok je nadzemnom dijelu izmjereno 841,600 μg g^{-1}. Ostale koncentracije teških metala se nalaze unutar granica dozvoljenih vrijednosti. Najniža koncentracija je izmjerena upravo za metaloid selen. Detektiran je samo u gomolju korabe te njegova koncentracija iznosi 1,143 μg g^{-1}.

Ključne riječi: *Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch., teški metali, esencijalni metali, neesencijalni metali.

Rad sadrži: 37 stranica, 11 slika, 5 tablice, 24 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Izv. prof. dr. sc. Sandra Svilović - predsjednica
2. Doc. dr. sc. Franko Burčul - član
3. Dr. sc. Mario Nikola Mužek, znan. sur. - član-mentor

Datum obrane: 26. rujna 2017.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Undergraduate study of chemical technology, Orientation: Chemical Engineering

Scientific area: Technical sciences
Scientific field: Chemical engineering
Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 21.

Mentor: dr. sc. Mario Nikola Mužek, research associate
Technical assistance:

DISTRIBUTION OF HEAVY METALS IN KOHLRABI (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.)

Tomislav Kozina, 817

Abstract: In this bachelor thesis, concentrations of selected heavy metals (Pb, Cd, Zn, Cu, Ni, Fe, Mn, and As) and one metalloid (Se) were determined in the kohlrabi (Brassica rupestris Raf. ssp. gongyloides (L.) Janch.). The kohlrabi was collected in April 2017, and divided into several fractions: root (the underground part), bulb, stalk, leaf, and flower (the aerial part). The concentrations of heavy metals (lead, cadmium, zinc, copper, nickel, iron, manganese and arsenic) and metalloid (Se) in kohlrabi solutions were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). It can be seen that the most of the investigated heavy metals: lead, cadmium, zinc, copper, nickel, iron, manganese and arsenic as well as the metalloid selenium have accumulated in the aerial part of the plant, probably due to the translocation from the plants root. A lot of lead accumulated in the aerial part of the plant, mostly in the leaf - 4.917 μg g^{-1}. The lowest concentrations of heavy metals were detected for cadmium, and amounted to 0.367 μg g^{-1} in the aerial part and 0.155 μg g^{-1} in the underground part. It can be concluded that cadmium is mostly translocated from roots to the aerial parts of plant. The highest measured concentration of cadmium in the aerial parts was for the flower with 0.135 μg g^{-1}, which is almost equal to the concentration determined in the root (0.155 μg g^{-1}). The highest measured concentrations were found in the case of iron with 1227.500 μg g^{-1} in the underground part, while the aerial contained 841.600 μg g^{-1} of iron. Other heavy metal concentrations were within the limits of permissible values. The metalloid selenium was found to have the lowest concentration, and it was detected only in the bulb with concentration of 1.143 μg g^{-1}.

Keywords: *Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch., heavy metals, essential metals, nonessential metals.

Thesis contains: 37 pages, 11 pictures, 5 tables, 24 literary references

Original in: Croatian

Defence Committee:

1. Sandra Svilović, PhD, associate prof.	chair person
2. Franko Burčul, PhD, assistant prof.	member
3. Mario Nikola Mužek, PhD, research associate	supervisor

Defence date: September 26th, 2017.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposed in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za anorgansku tehnologiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom dr. sc. Maria Nikole Mužeka, znan. sur. u razdoblju od ožujka do rujna 2017. godine.

Rad je financiran od Hrvatske zaklade za znanost projektom BioSMe (IP-2016-06-1316).

Zahvala

Zahvaljujem se dr. sc. Dariu Omanoviću, znanstvenom savjetniku, na stručnoj pomoći i savjetima.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

- Sabrati korabu (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.).
- Podijeliti korabu na više frakcija: korijen (podzemni dio), gomolj, stabljiku, list te cvijet (nadzemni dio).
- Pripremiti otopine korabe za određivanje koncentracije odabranih teških metala.
- Usporediti sadržaj teških metala u podzemnom i nadzemnom dijelu.

SAŽETAK

U ovom završnom radu su određene koncentracije odabranih teških metala (Pb, Cd, Zn, Cu, Ni, Fe, Mn i As) i jednog metaloida (Se) u korabi (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.) koja je sabrana u travnju 2017. godine. Koraba je podijeljena na više frakcija: korijen (podzemni dio), gomolj, stabljika, list te cvijet (nadzemni dio). Koncentracije teških metala (olovo, kadmij, cink, bakar, nikal, željezo, mangan i arsen) i metaloida (Se) u otopinama korabe su određene pomoću spektrometrije masa s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS). Uočava se kako se veći dio istraživanih teških metala: olova, kadmija, cinka, bakra, nikla, željeza, mangana i arsena, kao i metaloida selena akumulirao u nadzemnom dijelu biljke što je vjerojatno posljedica translokacije iz korijena biljke. Poprilično se olova akumuliralo u nadzemnom dijelu biljke i to najviše u listu – 4,917 μg g^{-1}. Najniže koncentracije teških metala su detektirane za kadmij te iznose 0,367 μg g^{-1} u nadzemnom dijelu te 0,155 μg g^{-1} u podzemnom dijelu. Može se zaključiti kako se kadmij iz korijena u većoj mjeri translocira u nadzemni dio. Najveća izmjerena koncentracija kadmija u nadzemnim organima otpada na cvijet i iznosi 0,135 μg g^{-1} što je gotovo jednako njegovoj koncentraciji u korijenu (0,155 μg g^{-1}). Najviše izmjerene koncentracije su upravo u slučaju željeza. U podzemnom dijelu je izmjereno 1227,500 μg g^{-1}, dok je nadzemnom dijelu izmjereno 841,600 μg g^{-1}. Ostale koncentracije teških metala se nalaze unutar granica dozvoljenih vrijednosti. Najniža koncentracija je izmjerena upravo za metaloid selen. Detektiran je samo u gomolju korabe te njegova koncentracija iznosi 1,143 μg g^{-1}.

Ključne riječi: *Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch., teški metali, esencijalni metali, neesencijalni metali.

SUMMARY

In this bachelor thesis, concentrations of selected heavy metals (Pb, Cd, Zn, Cu, Ni, Fe, Mn, and As) and one metalloid (Se) were determined in the kohlrabi (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.). The kohlrabi was collected in April 2017, and was divided into several fractions: root (the underground part), bulb, stalk, leaf, and flower (the aerial part). The concentrations of heavy metals (lead, cadmium, zinc, copper, nickel, iron, manganese and arsenic) and metalloid (Se) in kohlrabi solutions were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). It can be seen that the most of the investigated heavy metals: lead, cadmium, zinc, copper, nickel, iron, manganese and arsenic, as well as the metalloid selenium have accumulated in the aerial part of the plant, probably due to the translocation from the plants root. A lot of lead accumulated in the aerial part of the plant, mostly in the leaf - 4.917 μg g^{-1}. The lowest concentrations of heavy metals were detected for cadmium, and amounted to 0.367 μg g^{-1} in the aerial part and 0.155 μg g^{-1} in the underground part. It can be concluded that cadmium is mostly translocated from roots to the aerial parts of plant. The highest measured concentration of cadmium in the aerial parts was for the flower with 0.135 μg g^{-1}, which is almost equal to the concentration in the root (0.155 μg g^{-1}). The highest measured concentrations were found in the case of iron with 1227.500 μg g^{-1} in the underground part, while the aerial part contained 841.600 μg g^{-1} of iron. Other heavy metal concentrations were within the limits of permissible values. The metalloid selenium was found to have the lowest concentration, and it was detected only in the bulb with concentration of 1.143 μg g^{-1}.

Keywords: *Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch., heavy metals, essential metals, nonessential metals.

SADRŽAJ

UVOD **1**
1. OPĆI DIO **3**
1.1. KORABA (*BRASSICA RUPESTRIS* RAF. SSP. *GONGYLOIDES* (L.) JANCH.) **4**
1.2. TEŠKI METALI U OKOLIŠU **6**
1.3. TOKSIČNOST TEŠKIH METALA **8**
1.3.1. Olovo 9
1.3.2. Kadmij 10
1.3.3. Cink 11
1.3.4. Bakar 11
1.3.5. Nikal 12
1.3.6. Željezo 12
1.3.7. Mangan 13
1.3.8. Selen 13
1.3.9. Arsen 14
1.4. STRATEGIJA BILJAKA U BORBI PROTIV FITOTOKSIČNIH KONCENTRACIJA METALA **15**
1.5.1. Mehanizam hiperakumulacije teških metala 19
2. EKSPERIMENTALNI DIO **22**
2.1. BILJNI MATERIJAL **23**
2.2. PROVEDBA EKSPERIMENTA **26**
3. REZULTATI I RASPRAVA **27**
4. ZAKLJUČAK **32**
5. LITERATURA **35**

UVOD

Kroz povijest ljudska aktivnost nije značajno utjecala na okoliš sve do razvoja industrije. Razvojem industrije i upotrebom ugljena u proizvodnji energije u 18. stoljeću, dolazi do povećanog ispuštanja ugljičnih, sumpornih i dušičnih oksida. Novi val onečišćenja dolazi uporabom nafte i naftnih derivata. Razvojem kemije i primjenom kemijskih tvari u industriji, krajem 19. i tijekom 20. stoljeća raste doprinos i drugih štetnih tvari u onečišćenju okoliša. Kao direktna posljedica industrijske, vojne ili poljoprivredne djelatnosti širom svijeta, sve je više onečišćenih površina te zagađenih vodotoka.

Nagomilavanje otrovnih onečišćivača (teški metali, radionuklidi, organski onečišćivači) opterećuje proizvodni kapacitet ekosustava. Tlo učestalo prima, veže i zadržava štetne tvari. No, ako unos tih onečišćivača prijeđe određenu granicu, tlo počinje predstavljati zdravstveni rizik. Svjetske plodne površine se iz dana u dan smanjuju, glad povećava, a katastrofa zbog ljudskog nemara poprima još veće razmjere.

Među opasne tvari koje zagađuju okoliš spadaju i teški metali. U teške metale se ubraja niz metala i metaloida koji mogu biti toksični za čovjeka i okoliš. Neki od teških metala su neophodni za normalan rast i metabolizam biljaka (Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn), dok metali kao što su Hg, Pb, Cd, As mogu dovesti do trovanja ako je njihova koncentracija iznad dozvoljene vrijednosti.

Cilj ovog završnog rada je bio odrediti koncentraciju odabranih teških metala i metaloida u korabi (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.) iz domaćeg uzgoja. Koraba je višegodišnja biljka sorte kupusa koja se pokazala kao vrlo učinkovita za ublažavanje problema u slučaju edema, kandide ili virusnih zaraza. S obzirom da stabilizira razinu šećera, preporučuje se kod hipoglikemije i dijabetesa, a njenim redovnim konzumiranjem se može potencijalno smanjiti rizik od bubrežnih kamenaca te sniziti krvni tlak zahvaljujući prisutnom kaliju.

1. OPĆI DIO

1.1. KORABA (*BRASSICA RUPESTRIS* RAF. SSP. *GONGYLOIDES* (L.) JANCH.)

Koraba (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.) je višegodišnja biljka sorte kupusa. Ime dolazi od njemačkih riječi *kohl* (kupus) i *rübe* (repa). Koraba je nastala umjetnom selekcijom lateralnog meristema rasta, a njezini srodnici su: kupus, brokula, cvjetača, kelj, raštika i dr.[1] U tablici 1.1. je prikazana sistematika korabe.

Tablica 1.1. Sistematika korabe[2]

TAKSONOMSKA KATEGORIJA	NAZIV
Porodica (*familia*)	Brassicaceae
Red (*tribus*)	Brassicales Bromhead
Rod (*genus*)	*Brassica*
Vrsta (*species*)	*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.

Narodni nazivi: koraba, korabica, kupus repasti, kupus ripa, broskvena ripa, kohlrabi[2]

Koraba je dvogodišnja biljka. U prvoj godini nakon četvrtog ili sedmog pravog lista počinje zadebljavanje stabljike, koja do tehnološke zrelosti poprimi kuglast, kuglasto spljošten ili ovalan oblik. Svijetlo zelene je ili ljubičaste boje. Listovi su spiralno raspoređeni na dugim peteljkama, romboidnog oblika i više ili manje urezanog ruba i s voštanom prevlakom. Na vrhu zadebljale stabljike nalazi se rozeta s lišćem.[3]

Optimalna temperatura za rast i formiranje pravilne zadebljale stabljike iznosi 14-20°C danju i 8-12°C noću, a temperatura tla mora biti viša od 8°C.[3]

Ako nakon sušnog razdoblja padne jača kiša, zadebljala stabljika puca. U trenutku presađivanja korabica se zalijeva s 30-40 mm vode, a zatim svakih 5-8 dana do stvaranja zadebljanja stabljike s 20-30 mm vode.[3]

Za ranu proizvodnju prikladnija su lakša tla koja se brže zagrijavaju, a za jesensku proizvodnju povoljnija su srednje teška tla s većim kapacitetom za vodu uz pH tla od 6 do 7,5. Kiselijim tlima je potrebno dodavati vapno.[3]

Koraba se pokazala kao vrlo učinkovito povrće za ublažavanje problema u slučaju edema, kandide ili virusnih zaraza. S obzirom da stabilizira razinu šećera, preporučuje se i kod hipoglikemije i dijabetesa. Redovitim konzumiranjem korabe može se,

potencijalno, smanjiti rizik od bubrežnih kamenaca te sniziti krvni tlak zahvaljujući prisutnom kaliju.[4]

U korabi se nalaze fitonutrijenti kao što su indoli, sulforafani i izotiocijanati koji pokazuju antikancerogeno djelovanje. Izotiocijanati štite od nekih oblika raka jer sudjeluju u reakcijama s estrogenom i na taj način djeluju protiv hormona povezanih s rakom dojke i prostate.[4]

Koraba je dobar izvor dijetalnih vlakana vrlo važnih za zdravlje našeg organizma. Ljekovito djeluju na srčano-krvožilni sustav jer smanjuju količinu ukupnog i LDL kolesterola, pomažu kod konstipacije, daju osjećaj sitosti i reduciraju apetit, snižavaju razinu šećera u krvi, a mogu pomoći i u prevenciji raka debelog crijeva.[4]



Slika 1.1. Koraba[2]

1.2. TEŠKI METALI U OKOLIŠU

Od velikog broja onečišćujućih tvari koje ljudskom djelatnošću dospijevaju u okoliš, svakako jednu od najvažnijih uloga imaju metali i to prije svega, teški metali. Pojam teški metali obuhvaća metale čija je gustoća veća od 5 g cm^{-3}. Razlikuju se esencijalni teški metali i neesencijalni teški metali. Esencijalni teški metali (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Cr, Co) su oni metali koji su neophodni za mnogobrojne funkcije u ljudskom organizmu, a njihov manjak dovodi do pojave ozbiljnih simptoma bolesti. Najbolji primjeri su anemija kod manjka željeza, dijabetes kod manjka kroma, problemi u rastu kod manjka nikla. Funkcija nekih elemenata nije još uvijek dovoljno istražena. Teški metali kao što su As, Cd, Pb ili Hg su neesencijalni jer nemaju nikakvu poznatu fiziološku funkciju u organizmu, ali je dokazano da u većim količinama pokazuju toksično djelovanje.[5]

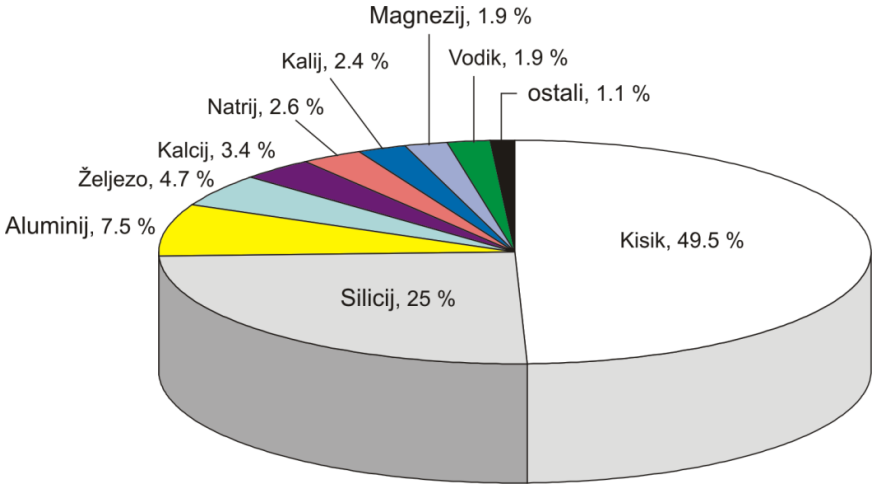
Najčešće je pitanje toksičnosti zapravo samo pitanje količine, a ovaj raspon varira za svaki pojedini element. Tako se dnevna neophodna količina kobalta, središnjeg atoma vitamina B12 koji je nužan u stvaranju eritrocita kreće oko 0,1 µg. U količinama od 25-30 mg po danu nastupaju simptomi trovanja koji obuhvaćaju poteškoće od strane gastrointestinalnog trakta, srčana i bubrežna oštećenja. Neki drugi elementi kao primjerice talij, otrovni su u bilo kojoj količini.[5]

Teški metali su sve prisutniji u okolišu posebice u industrijaliziranim područjima. Najčešći izvori kontaminacije tla teškim metalima su metaloprerađivačka, metalurška i elektronička industrija, postrojenja za tretman otpadnih voda, rudarenje, područja zahvaćena ratnim djelovanjima ili vojni poligoni, odlagališta otpada i poljoprivredna gnojiva (tablica 1.2.).[6]

Tablica 1.2. Prikaz grana industrija koje emitiraju teške metale[6]

Industrijska grana	Cd	Cr	Cu	Hg	Pb	Ni	Sn	Zn
Papirna industrija	-	+	+	+	+	+	-	-
Petrokemija	+	+	-	+	+	-	+	+
Proizvodnja klora	+	+	-	+	+	-	+	+
Industrija gnojiva	+	+	+	+	+	+	-	+
Željezare i čeličane	+	+	+	+	+	+	+	+

S obzirom da proizvodnja, prerada i primjena metala svakodnevno rastu, raste i njihova koncentracija u zraku, tlu i vodi, što povećava rizik od njihovog štetnog djelovanja na žive organizme. Iako se metali obično javljaju kao onečišćujuće tvari u emisijama antropogenih izvora, važno je spomenuti da su oni tvari koje se mogu naći i u prirodi. Naime, metali su prisutni u okolišu još od trenutka nastanka našeg planeta. Većina danas poznatih kemijskih elemenata su metali, no njihova zastupljenost u zemljinoj kori je oko 25% od čega su najzastupljeniji Al, Fe, Ca, Na, K i Mg (slika 1.2.).[7]



Slika 1.2. Zastupljenost metala u Zemljinoj kori[8]

U moru, od 35-40 g dm^{-3} otopljenih soli, na metale otpada oko 13 g dm^{-3}, a najzastupljeniji su Na, Mg, Ca i K koji spadaju u makrokonstituente jer ih ima više od 1 mg dm^{-3}. Ostali, a to su gotovo svi elementi periodnog sustava, se prema koncentraciji dijele na mikrokonstituente (između 1 mg dm^{-3} i 1 μg dm^{-3}) i elemente koji se javljaju u tragovima (<1 μg dm^{-3}).[7]

1.3. TOKSIČNOST TEŠKIH METALA

Iako živi organizmi u svojoj građi sadrže tzv. esencijalne metale koji sudjeluju u njihovoj građi i reakcijama potrebnim za prirodan rast i zdrav život, izloženost živih organizama povišenim koncentracijama tih istih metala može dovesti do poremećaja i toksičnih učinaka s lakšim ili težim posljedicama. Izloženost živih organizama, a posebno ljudi, utjecaju teških metala iz okoliša poprima različite oblike, a putovi unošenja teških metala u žive organizme su različiti. Uneseni u okoliš, metali putuju vodom, zrakom ili se transportiraju u dublje slojeve tla i podzemne vode i to tako dugo dok jednim dijelom ne prijeđu u netopljivi oblik i završe u sedimentu, kao posljednjoj postaji na kojoj mnogi metali ostaju dugo vremena.[7]

Olovo, kadmij, živa, krom, antimon, arsen i drugi metali i metaloidi u okoliš dospijevaju iz prirodnih i antropogenih izvora pa ih se može naći u tlu, vodi i zraku te u prehrambenom lancu, u namirnicama biljnog i životinjskog podrijetla itd. Zbog prekomjerne vanjske izloženosti metalima može doći do prekomjernog nakupljanja metala u tijelu, što obično uzrokuje pogoršanje zdravlja.[7]

Povišena koncentracija teških metala može biti uzrok nastanka autoimunih oboljenja, pri čemu se stvaraju protutijela usmjerena protiv vlastitih organa. Najčešći primjeri su različite vrste alergija, a u žena smetnje u funkciji žutog tijela jajnika (*corpus luteum*) koje priprema sluznicu maternice za implantaciju oplođenog jajašca.[5,9]

Pretpostavlja se da teški metali također utječu na metabolizam cinka, pri čemu izazivaju njegov manjak. Manjak cinka može izazvati smetnje u funkciji hipofize, štitnjače, nadbubrežne žlijezde, jajnika i testisa, što se može negativno odraziti na plodnost.[5,9]

Na temelju rezultata istraživanja krajem 80-ih godina prošlog stoljeća, utvrđeno je da je u ukupnim atmosferskim depozicijama na globalnoj razini antropogeni udio čak 96% za Pb, 85% za Cd, 75% za V, 66% za Zn, 65% za Ni, 61% za As, 59% za Hg, 56% za Cu, 52% za Mo i 41% za Cr. U isto vrijeme u Hrvatskoj najveći udio u emisiji Pb (42,7%) imali su proizvodni procesi, u emisiji As (59,4%) i Cr (48,4%) najviše su doprinijeli procesi izgaranja u termoenergetskim postrojenjima te u emisiji Ni (59,3%), Hg (43,2%) i Cd (39,4%) procesi izgaranja u industriji i cestovni promet koji u emisiji Cd ima udio od 28,5%.[7]

Najveći su izvor teških metala, kao nečistoća među mineralnim gnojivima, fosfatna gnojiva, tj. sirovi fosfati kao pojedinačna gnojiva ili kao sirovina za proizvodnju pojedinačnih i složenih mineralnih gnojiva. Takva gnojiva u pravilu sadrže povišenu

koncentraciju kadmija u fosfatnim mineralima, ali mogu sadržavati i klor i fluor kao onečišćenja.[7]

1.3.1. Olovo

Trovanju olovom izloženi su radnici u naftnoj industriji, rudnicima, ljevaonicama, u proizvodnji olovnih akumulatora, boja, keramike i stakla jer dolaze u dodir s prašinom i parama koje sadrže olovo i njegove spojeve.[10]

Olovo i njegovi spojevi otrovni su ako se unesu u organizam, a naročito olovo zbog svog kumulativnog efekta. Olovo se kompleksno veže na okso-skupine enzima i tako ometa gotovo sve korake sinteze hemoglobina i metabolizam porfirina, sprječava djelovanje adenozin-trifosfataze odgovorne za proizvodnju stanične energije, ometa i sintezu bjelančevina i vrlo štetno djeluje na središnji i periferni živčani sustav, izazivajući poremećaje (naročito kod djece) krvi i mozga.[10]

U urbanim sredinama, okoliš još uvijek onečišćuju produkti sagorijevanja etiliranih benzina, otpadne boje koje kao pigment sadrže olovni oksid (Pb_3O_4), dim iz cigareta itd. U ovim sredinama dnevni unos olova u ljudski organizam obično ne prelazi 100 μg, od čega se apsorbira 25 μg. Inhalacijom se apsorbira oko 30 do 50% olova, a probavnim sustavom samo oko 20%. Apsorbirano se olovo prenosi krvlju i raspoređuje se u krv, bubrege, jetru, kosti i druga tvrda tkiva. Najviše olova se nalazi u kostima (više od 90%), dok su najniže koncentracije utvrđene u mišićima, masnom tkivu i mozgu.[7]

Nakupljanje olova u biljkama, u blizini autocesta ovisi o udaljenosti biljaka od prometnica, pokrivenosti tla biljkama, dužini trajanja vegetacije, pravcu i intenzitetu vjetra. Intenzitet kontaminacije biljaka olovom smanjuje se njihovom udaljenošću od velikih saobraćajnica. Biljke olovo u neorganskom obliku slabo usvajaju i premještaju u nadzemne organe, izuzev na kiselim tlima. Organski spojevi olova veoma se brzo usvajaju i transportiraju u nadzemne dijelove biljaka. Taloženje olova kod većine biljaka intenzivnije je u korijenu u odnosu na nadzemne dijelove.[11]

Velika moć korijena u akumulaciji olova mogla bi predstavljati i jedan oblik zaštite nadzemnog dijela biljke. Olovo u većim koncentracijama inhibira izduživanje korijena i rast listova, inhibira proces fotosinteze, utječe na morfološko-anatomsku građu biljke. Smatra se da pšenica i soja imaju relativno visoku tolerantnost prema olovu. Špinat se ubraja u osjetljive biljke. Kod ove biljne vrste već pri koncentraciji od 10 μg g^{-1} suhe tvari, prinos se značajno smanjuje.[11]

1.3.2. Kadmij

Kadmij je teški metal koji predstavlja ozbiljan rizik za ljudsko zdravlje te je bez poznatih korisnih svojstava za život. Klasificiran je 1993. kao kancerogen prve skupine koji štetno utječe na ljude i životinje. Ubraja se u zagađivače okoliša i nalazi se na osmom mjestu između dvadeset najopasnijih tvari. Ima dugačak biološki vijek (20 god.), a ciljani organi su bubrezi i jetra. Mehanizmi koji dovode do kancerogeneze kadmija su prije svega oni koji uzrokuju oksidacijski stres, inhibiciju mehanizama popravka DNK te povećanje ili smanjenje tendencije prema apoptozi.[12]

Emisije kadmija nastaju iz dva glavna izvora: prirodnog i antropogenog. Prirodni izvori obuhvaćaju procese poput abrazije stijena, erozije tla, prijenos zagađenih čestica tla vjetrom, šumskim požarima i vulkanskim erupcijama. Iz tla se apsorbira u biljke, a prehrambenim lancem dalje prenosi i akumulira u životinjama i ljudima.[13]

Glavni izvor kadmija u općoj populaciji je hrana, posebno žitarice (riža i pšenica), povrće, lignje, školjke i iznutrice, kao i duhanski dim.[14]

Kadmij se može akumulirati i u plućima udisanjem kontaminiranog zraka. Iako je plućni epitel učinkovita barijera za toksične molekule i teške metale, kadmij može proći kroz alveolarne stanice i ući u krv. Apsorpcija kadmija iz probavnog trakta je pod snažnim utjecajem sadržaja proteina, cinkovih i bakrenih spojeva, kalcija i željeza u prehrani. Njihova niska koncentracija u prehrani povećava apsorpciju kadmija iz probavnog trakta i njegovu akumulaciju u tijelu. Apsorpcija kadmijevih soli preko kože nije zabilježena. Kationi kadmija odlažu se u gušterači, jetri, bubrezima i u plućima, a akumulirani kadmij se vrlo sporo uklanja iz organizma.[13]

Kod brojnih biljnih vrsta intenzitet transporta kadmija u nadzemnim organima je u korelaciji s njegovom koncentracijom u hranjivoj podlozi. Kadmij usvojen iz hranjive podloge uglavnom se zadržava u korijenu. Udio ovog elementa u stablu i listovima biljaka je približno isti ili manji od njegove koncentracije u podzemnom dijelu biljke. Neke biljke (djetelina) imaju sposobnost akumulirati kadmij usvojen iz zemlje. U sjemenu žitarica, uzgojenih na jako zagađenim tlima, najčešće ne prelazi 1 $\mu g\ g^{-1}$ suhe tvari. Ovaj se element najviše apsorbira u rajčici, salati i špinatu. Kod spomenutih vrsta, koncentracija kadmija u vegetativnim nadzemnim organima može iznositi i do 160 $\mu g\ g^{-1}$. Veće koncentracije u biljkama rezultiraju inhibicijom metabolizma, izazivaju klorozu i time smanjuju intenzitet fotosinteze.[7,15]

1.3.3. Cink

Cink se ubraja u umjereno toksične metale. Njegova toksičnost za biljke manja je od bakra. Velike koncentracije cinka kod biljaka najčešće se javljaju na kiselim tresetnim tlima, na tlima koja su nastala iz matičnog supstrata bogatog cinkom, kao i u okolini rudnika i topionicama cinka.[15]

Zbog višestruke uloge u razvoju biljaka, nedostatak cinka izaziva velike promjene, kako u razmjeni tvari, tako i u morfološkoj i anatomskoj građi biljaka. Od biljaka, na nedostatak cinka naročito su osjetljivi kukuruz i jabuka.[15]

Njegovo premještanje iz starijih organa biljke u mlađe naročito je sporo kada nema dovoljne količine cinka. U slučajevima kada mu je koncentracija visoka u vanjskoj sredini on se taloži u korijenju. Koncentracija cinka u biljkama se kreće od 1 pa sve do 10 000 $\mu g\ g^{-1}$ suhe tvari. U prosjeku je to od 30 do 50 $\mu g\ g^{-1}$, a najčešće od 20 do 50 $\mu g\ g^{-1}$. Pri koncentraciji od 10 do 20 $\mu g\ g^{-1}$ može se računati s latentnim pa čak i akutnim nedostatkom cinka. Vidljivi simptomi viška ovog elementa javljaju se kada njegova koncentracija u suhoj tvari prelazi 300 do 5 000 $\mu g\ g^{-1}$. U ovim slučajevima, kod biljaka dolazi do nižeg rasta, smanjenja korijenskog sustava i nekroze listova.[16]

1.3.4. Bakar

Pokretljivost bakra u biljkama je osrednja. Transport u velikoj mjeri ovisi o koncentraciji bakra u biljkama. Ako ga nema dovoljno, premještanje u nadzemne dijelove biljke, kao i iz starijih u mlađe listove, je neznatno. Iz listova pšenice koji imaju visoku koncentraciju bakra, tijekom rasta zrna 70% te količine se premješta u zrno. Nasuprot tome, pri niskoj koncentraciji bakra iz listova se premješta svega 20% bakra. Koncentracija bakra se u biljkama kreće od 5 do 30 $\mu g\ g^{-1}$ u suhoj tvari. Ako je udio u suhoj tvari manji od 4 $\mu g\ g^{-1}$, smatra se da biljka ne sadrži dovoljnu koncentraciju bakra, a ako je taj sadržaj preko 20 do 100 $\mu g\ g^{-1}$ smatra se da je koncentracija ovog elementa previsoka. Izrazito osjetljive biljke na smanjenu koncentraciju bakra su zob, ječam, pšenica, lucerna, duhan, špinat. Kao posljedica smanjene koncentracije bakra kod biljaka dolazi do uvenuća, uvijanja listova, odumiranja mladih listova, smanjenja rasta i prinosa. Do toksičnog djelovanja ovog elementa dolazi kad je njegov ukupni sadržaj u tlu od 25 do 40 $\mu g\ g^{-1}$ i ako je pri tome pH tla ispod 5,5. Također se može reći da se velika količina bakra nalazi u kiselom tlu.

Odgovarajuću pažnju treba posvetiti koncentraciji bakra zbog toga što je on neophodan u određenoj koncentraciji za i biljke i životinje, a u prevelikim koncentracijama može biti toksičan.[15]

1.3.5. Nikal

Nikal je po zastupljenosti 24 element u litosferi s prosječnim sadržajem od 75 μg g^{-1}. Prosječna koncentracija nikla u tlima iznosi 40 μg g^{-1}, s velikim odstupanjima među tipovima tala, što najviše ovisi o karakteristikama matične podloge. Nikal je posljednji stekao status esencijalnog elementa, a kemijski je sličan željezu i kobaltu. U biljkama se nalazi kao Ni(II), a može egzistirati i kao Ni(I) i Ni(III). Gradi stabilne kompleksne spojeve, npr. s aminokiselinom cisteinom i limunskom kiselinom. Neophodan je za rad enzima ureaze i mnogih hidrogenaza potrebnih za redukciju sulfata, fotosintezu i oksidaciju vodika kod bakterija (*Rhizobium* i *Bradyrhizobium*).[17]

Najbogatije namirnice niklom su: orasi, lješnjaci, grašak, grah, soja, leća, zob, heljda, ječam, kukuruz i čokolada. Od voća nikla ima u bananama i kruškama. Hrana životinjskog porijekla je siromašna niklom, ali se nikal može naći i u vodi za piće. Osim u hrani, nikla ima i u neprehrambenim proizvodima kao što su metalni novac, nakit, okviri za naočale, razni kućanski aparati, itd. Određena količina nikla tada ulazi u organizam preko kože. Preporučene dnevne količine nikla nisu utvrđene, ali se pretpostavlja da je dovoljno unijeti oko 100 μg dnevno. Međutim, neka istraživanja pokazuju da se dnevno može unijeti i od 200-750 μg nikla. Nedostatak nikla se u organizmu rijetko dešava jer su organizmu potrebne niske količine.[18]

1.3.6. Željezo

Željezo u tlu potječe iz mnogobrojnih primarnih i sekundarnih minerala. Njihovim raspadanjem oslobađa se željezo koje u kiselim tlima brzo iznova gradi sekundarne minerale. Svježe istaloženi minerali željeza su u obliku amorfnih koloida i pristupačni su za ishranu bilja. Željezo je teška kovina, a u tlu i biljkama nalazi se kao dvovalentan i trovalentan kation ili u odgovarajućim spojevima. Vrlo lako mijenja valentno stanje i može graditi kompleksne spojeve (kelati), a u biljkama je uglavnom u Fe(III) oksidacijskom stanju. Rezerve željeza u tlu su pretežito anorganske prirode, a ukupni sadržaj je između 0,5 i 4,0% (prosječno 3,2%). Biljke usvajaju željezo kao Fe^{2+}, Fe^{3+} ili

u obliku kelata (organometalni kompleksni spojevi). Usvajanje je povezano s redukcijom pa kod nedostatka željeza u tlu biljke izlučuju iz korijena fenole i druge reducirajuće agense (organske kiseline) kao i druge tvari koje potpomažu usvajanje željeza. Prosječna koncentracija željeza u biljci iznosi od 50 do 300 μg g^{-1} (može biti i do 1000 μg g^{-1}). Kritična koncentracija željeza u lišću iznosi od 50 do 150 μg g^{-1}.[17]

1.3.7. Mangan

Mangan je teški metal koja se u biljkama nalazi kao kation Mn^{2+} i Mn^{3+}, a u tlu i kao Mn^{4+} i Mn^{6+}. Veliki broj minerala sadrži mangan. Prema rasprostranjenosti u litosferi, mangan je na desetom mjestu, a u prirodi se najčešće nalazi u obliku oksida. Raspoloživost mangana raste s kiselošću tla i njegove redukcije do Mn^{2+} kojeg biljke lako usvajaju (označava se kao aktivni mangan), dok su više oksidirani oblici kao Mn^{3+} i Mn^{4+} neaktivni oblici. Biljke lako usvajaju mangan i u obliku kelata. Sadržaj mangana u biljkama jako ovisi o biljnoj vrsti, ali i o biljnom dijelu, odnosno organu, a biljke ga prosječno sadrže od 50 do 200 μg g^{-1}. Izuzetno značajnu ulogu mangan ima u oksidacijsko-redukcijskim procesima. Sastavni je dio niza enzima i aktivator enolaza, karboksilaza, superoksid-dismutaze i drugih enzima, ali nije građevni element jer je konstituent samo proteina manganina.[17]

1.3.8. Selen

Selen je esencijalni mineral koji se u organizmu nalazi u tragovima. Služi kao antioksidans, naročito u kombinaciji s vitaminom E, tako što hvata tzv. slobodne radikale. Selen je potreban za funkcioniranje štitne žlijezde i sastavni je dio oko 30 poznatih selenoproteina koji su važni antioksidacijski enzimi.[19] Također je dio i enzima glutation-peroksidaze važnog za ublažavanje oksidacijskog stresa. Selen također utječe na imunološki sustav. Dokazano je i da povećava antioksidacijski učinak vitamina A i E. Selen ima sposobnost mijenjanja metabolizma nekih toksičnih minerala čime smanjuje njihovu toksičnost. Kvalitetnom i uravnoteženom prehranom unese se oko 70-100 μg selena na dan čime su potrebe zdrave odrasle osobe za ovim mineralom zadovoljene. Biljke su glavni izvor selena iako ga se može naći i u nekim vrstama mesa te hrani iz podmorja, osobito lososu i školjkama. Količina selena u hrani ovisna je o tlu na kojem je biljka rasla odnosno o sadržaju selena u biljkama koju su životinje jele.

Dnevno preporučeni unos selena za zdravu odraslu ženu iznosi 55 μg, dok je za zdravog odraslog muškarca taj unos nešto veći i iznosi 70 μg.[20]

1.3.9. Arsen

U biljkama koje se koriste u ishrani sadržaj arsena ne prelazi dozvoljene vrijednosti, osim ako nisu uzgajane na onečišćenom tlu. Sadržaj arsena u biljkama je obično znatno niži nego u tlu. Njegova se koncentracija u suhoj tvari biljke u prosijeku kreće od 1 do 7 μg g^{-1} suhe tvari. U ekstremnim uvjetima je zabilježena i koncentracija od 3 460 μg g^{-1} suhe tvari. Nakupljanje, a samim tim i toksičnost ovog elementa, veća je u kiselim tlima, posebno ako je pH vrijednost tla manja od 5. Na težim tlima rjeđe dolazi do njegovog toksičnog djelovanja nego na pjeskovitim, jer se kod prvih arsen bolje veže. Osjetljivost biljaka na visoke koncentracije arsena je različita. U najosjetljivije vrste spadaju grah, djetelina i mahunarke, dok su tolerantne vrste krumpir, rajčica i mrkva. U prirodi se veoma rijetko može uočiti fitotoksično djelovanje visokih koncentracija arsena ili njegovo nepovoljno djelovanje na prinos biljaka. Obzirom da je koncentracija arsena u biljkama niska, njegov ulazak u lanac ishrane preko biljaka je zanemariv.[15]

1.4. STRATEGIJA BILJAKA U BORBI PROTIV FITOTOKSIČNIH KONCENTRACIJA METALA

Biljke raspolažu čitavim nizom mehanizama koji se mogu aktivirati u procesima detoksifikacije i tolerancije prema stresu izazvanom teškim metalima. Najuspješnije mehanizme razvile su neke specifične biljne vrste, poznate kao biljke hiperakumulatori, koje mogu akumulirati iznimno visoke koncentracije ovih opasnih onečišćivača u svojim nadzemnim organima.[21,22]

Fitoremedijacija je definirana kao relativno nova tehnologija koja se zasniva na primjeni određenih biljaka za uklanjanje i sanaciju opasnih tvari u cilju poboljšanja kvalitete životne sredine. Mehanizmi koji mogu biti uključeni u remedijaciju neorganskih zagađivača poput teških metala su: fitoekstrakcija, fitostabilizacija, fitoakumulacija, rizofiltracija i fitovolatilizacija.[21,22]

Biljke koje opstaju na tlu zasićenom metalima se mogu grupirati u tri kategorije:

1) Ekskluderi - vrste biljaka koje sprečavaju usvajanje toksičnih metala unutar stanica korijena i u kojima se koncentracija metala u nadzemnim dijelovima održava ispod kritičnih vrijednosti, tj. na niskom nivou u odnosu na koncentracije metala u tlu. Ekskluderi se mogu iskoristiti za stabilizaciju tla i za izbjegavanje daljnjeg širenja zagađenja, povezanog s erozijom.

2) Akumulatori - vrste biljaka u kojima se metali koncentriraju u nadzemnim dijelovima. Akumulatori ne sprečavaju ulazak metala u korijen te samim time dozvoljavaju bioakumulaciju visokih koncentracija metala u svojim tkivima.

3) Indikatori - vrste biljaka kod kojih unutrašnje koncentracije proporcionalno odražavaju eksterne koncentracije.[21,22]

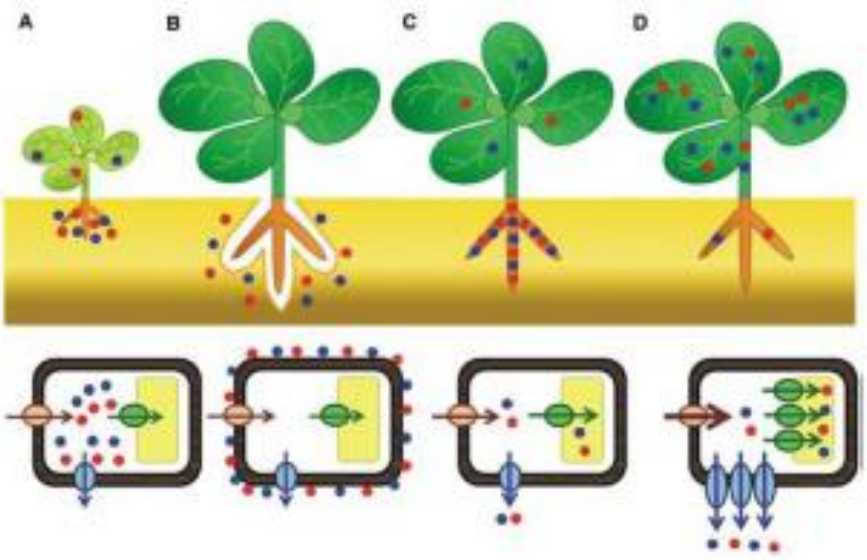
U odnosu na molekularne mehanizme koje koriste u postizanju svoje otpornosti/tolerantnosti prema metalnom stresu, biljne se vrste mogu promatrati kao (slika 1.3.):[21,22]

1) Vrste osjetljive prema metalima (engl. *metal-sensitive species*),

2) Vrste otporne na metale – ekskluderi (engl. *metal-resistant excluder species*),

3) Nehiperakumulatorske vrste tolerantne prema metalima (engl. *metal-tolerant nonhyperaccumulator species*),

4) Vrste hipertolerantne prema metalima i hiperakumulirajuće (engl. *metal hypertolerant hyperaccumulator species*).



Slika 1.3. **A)** Biljke osjetljive na teške metale, koje ne mogu spriječiti ulazak metala u korijen, niti mogu spriječiti transport metala do izdanka (1), **B)** Metal-rezistentni ekskluderi, koji su sposobni držati metale van dohvata korijena, ili mogu razviti brz refluks u slučaju ulaska u stanice korijena (2), **C)** Metal-tolerantne nehiperakumulirajuće biljke, u kojima metali ulaze u stanice korijena gdje se vrši njihova odvajanje u vakuolama čime se sprječava translokacija kroz stablo (3), **D)** Metal-hipertolerantne hiperakumulirajuće biljke, u kojima se metali aktivno usvajaju kroz korijen i u velikim količinama ubacuju u ksilem* (4)

Biljne vrste koje akumuliraju metale u tkivima svojih nadzemnih organa najpoželjnije su za primjenu u fitoremedijaciji ili fitorudarenju (metoda uzgajanja biljaka s ciljem dobivanja metala). Pri ovome, treba imati na umu da su mnogi metali koji se mogu akumulirati također i esencijalni nutrijenti, tako da se zaštita hrane i fitoremedijacija mogu razmatrati kao dvije različite strane iste medalje. Idealna biljka fitoremedijator bi trebala brzo rasti, razvijati veliku biomasu, biti tolerantna i akumulirati visoke koncentracije toksičnih metala u nadzemnim dijelovima te se u konačnici lako kultivirati i na kraju žeti.[21,22]

* **Ksilem** je jedan od dva tipa transportnog tkiva kod biljaka (floem je drugi).

1.5. HIPERAKUMULACIJA TEŠKIH METALA U BILJKAMA

Pojam *hiperakumulatori* se odnosi na biljke koje imaju mogućnost akumuliranja ekstremno visokih koncentracija teških metala u lišću i drugim nadzemnim dijelovima. Najčešće se radi o endemičnim vrstama koje prirodno rastu na tlu prezasićenom metalima i to kako u kontinentalnim, tako i u tropskim zonama (tablica 1.3.). Ove vrste biljaka su identificirane u vegetaciji regija Južne Afrike, Nove Kaledonije, Latinske Amerike kao i Sjeverne Amerike i Europe. Pod hiperakumulatore spadaju one vrste biljaka koje su sposobne akumulirati metale u koncentracijama koje su i do 100 puta veće od onih koje su normalno prisutne u biljkama.[21,22]

Vrijeme koje je potrebno biljkama da umanje količinu teških metala u onečišćenim tlima ovisi o produkciji biomase, kao i o njihovoj sposobnosti akumulacije.[21]

Tablica 1.3. Kategorizacije statusa akumulatora ili hiperakumulatora ovisno o sadržaju metala u biljkama (mg kg^{-1} suhe mase)[21]

Element	Prag za akumulatore (µg g^{-1})	Prag za hiperakumulatore (µg g^{-1})	Broj hiperakumulatorskih vrsta
As	-	1000	Nije zabilježen
Cd	20	100	1
Co	20	100	28
Cr	50	100	Nepoznat
Cu	100	1000	37
Mn	2000	10000	9
Ni	100	1000	317
Pb	100	1000	14
Se	10	1000	20
Zn	2000	10000	11

Ukupno je identificirano preko 500 vrsta biljaka hiperakumulatora. Najpoznatiji hiperakumulator metala je biljka *Thlaspi caerulescens*, koja akumulira velike količine Zn (39 600 µg g^{-1}) i Cd (1800 µg g^{-1}) bez vidljivijih oštećenja. Ova mala biljka može lako rasti u laboratorijskim uvjetima, čime predstavlja odličan eksperimentalni sustav za

ispitivanje mehanizama usvajanja, akumulacije i tolerancije metala povezanih s fitoekstrakcijom. Ni je hiperakumuliran u najvećem broju (više od 75%), dok je za Cd, koji je jedan od najtežih teških metala, pronađen mali broj akumulatora (samo pet vrsta do danas). Nikal je metal koji doseže najvišu koncentraciju u biljkama. Primjerice *Sebartia acuminata* (Sapotaceae); endemsko drvo koje raste na serpentinskom tlu u Novoj Kalesoniji, akumulira do 26% nikla. Oko 25% otkrivenih hiperakumulatora pripada obitelji Brassicaceae, posebno rodovima *Thlapsi* i *Alyssum.* Cinkovi hiperakumulatori su manje brojni i uključuju *Arabidopsis halleri* i vrste *Thlapsi*, među Brassicaceae, i *Sedum alfredii* (Crassulaceae). *A. halleri i S. alfredii*, zajedno s *Thlapsi caerulescens* i *T. praecox,* su četiri priznate vrste koje osim što hiperakumuliraju cink, hiperakumuliraju i kadmij. Nedavno je *Solanum nigrum* (Solanaceae) otkriven kao peti hiperakumulator kadmija. Vrste koje hiperakumuliraju selen distribuiraju se u rodovima različitih porodica, među kojima su: Fabaceae, Asteraceae, Rubiceae, Brassicaceae, Scrophulariaceae i Chenopodiaceae.[21,22]

U tablici 1.4. su navedeni primjeri biljnih vrsta pogodnih za remedijaciju metala.

Tablica 1.4. Primjeri biljnih vrsta pogodnih za remedijaciju metala[21]

Biljna Vrsta	Metal
Alyssum wulfenianum	Ni
Azolla pinnata, lemna minor	Cu, Cr
Brassica Juncea	Cu, Ni
Pteris vittata	Cu, Ni, Zn
Thlaspi caerulescens	Zn, Cd, Ni
Pistia stratiotes	Ag, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb i Zn
Thlaspi caerulescens	Zn, Pb, Zn i Cd
Lemna gibba	As
Arabidopsis thaliana	Zn, Cd
Brassica napus	Cd
Crotalaria juncea	Ni, Cr

Tri glavne karakteristike hiperakumulatora kojima se razlikuju od uobičajenih biljnih vrsta su:

- pojačana stopa unosa teških metala u biljku,
- njihov brži i uspješniji prijenos iz korijena u izdanak,
- izrazito veća sposobnost njihove detoksifikacije i odvajanje u listovima.

Do sada je poznato oko 450 hiperakumulatorskih vrsta – što je manje od 0,2% svih poznatih biljnih vrsta. S druge strane, neke se biljne vrste, koje se klasificiraju kao hiperakumulatori na temelju analiziranih uzoraka, možda mogu izbrisati s popisa ako ta svojstva nisu potvrđena ispitivanjem u kontroliranim uvjetima.[9]

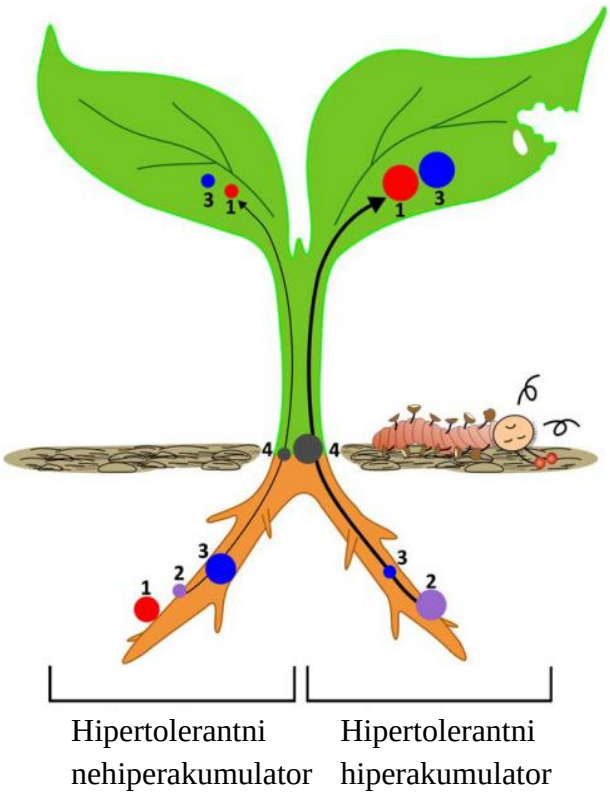
U ranijim fazama istraživanja, izraz hiperakumulator se odnosio na biljke koje imaju sposobnost akumulacije više od 1 mg g^{-1} Ni što predstavlja iznimno visoku koncentraciju teških metala s obzirom na to da se u vegetativnim organima većine biljaka koncentracija Ni kreće između 10-15 μg g^{-1}. Uzastopnim mjerenjima dobivene su granične vrijednosti kojima se definiraju hiperakumulatori teških metala. Prema tim kriterijima, hiperakumulatori su biljke koje akumuliraju:

- >10 mg Mn ili Zn po gramu suhe tvari biljke (1% njezine mase),
- >1 mg As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sb, Se ili Tl po gramu suhe tvari biljke (0,1% njezine mase) ili
- >0,1 mg Cd po gramu suhe tvari biljke (0,01% suhe mase)

u izdanku bez simptoma fitotoksičnosti.[22]

1.5.1. Mehanizam hiperakumulacije teških metala

Mehanizmi hiperakumulacije teških metala su prikazani na slici 1.4. Lijevi dio biljke predstavlja model biljke koja ne hiperakumulira teške metale, dok je s desne strane prikazan model hiperakumulatora.



Slika 1.4. Mehanizam hiperakumulacije teških metala[22]

1) Vezivanje teškog metala na stanične zidove i/ili stanične eksudate
2) Usvajanje pomoću korijenja
3) Kelatiranje u citosolu i/ili sekvestracija u vakuole
4) Translokacija do stabljike.

Mehanizam hiperakumulacije teških metala se može podijeliti na sljedeće korake:

- prvo se u korijenu biljke odvija vezanje teškog metala na stanične zidove i/ili stanične eksudate,
- usvajanje pomoću korijenja,
- kelatiranje u citosolu i/ili sekvestracija u vakuole,
- translokacija od korijena do stabljike.[22]

Obojene točke na slici ukazuju na biljne organe u kojima postoje različiti mehanizmi dok veličine točki ukazuju na nivo svakog od njih.[22]

Stupanj hiperakumulacije jednog ili više teških metala (slika 1.4.) može značajno varirati u različitim vrstama, kao i u populacijama i u ekotipovima iste vrste. Napredak u razumijevanju mehanizma koji reguliraju hiperakumulaciju metala napravljen je u

posljednjem desetljeću kroz usporedne fiziološke, genomske i proteomske studije hiperakumulatora i srodnih biljaka bez hiperakumulacije.[22]

Odlučujuća uloga u upravljanju usvajanja velike količine teških metala, translokaciji u nadzemne dijelove i sekvestraciji u vakuole ili stanične zidove hiperakumulatora se pripisuju overekspresiji gena koji kodiraju transmembranske prijenosnike. Za razliku od nehiperakumulirajućih biljaka koje u stanicama korijena zadržavaju veći dio teških metala usvojenih iz tla, hiperakumulatori brzo i učinkovito translociraju teške metale u izdanke preko ksilema.[22]

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. BILJNI MATERIJAL

U eksperimentalnom dijelu rada korištena je koraba (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.) (slika 2.1.) koja je podijeljena na više frakcija: korijen (podzemni dio), gomolj, stabljika, list te cvijet (nadzemni dio), slike 2.2. - 2.6. Biljka je sabrana u travnju 2017., u vrtu obiteljskog imanja u Gatima.



Slika 2.1. Koraba

Podzemni dio korabe:



Slika 2.2. Korijen korabe

Nadzemni dio korabe:



Slika 2.3. Gomolj korabe



Slika 2.4. Stabljika korabe



Slika 2.5. List korabe



Slika 2.6. Cvijet korabe

2.2. PROVEDBA EKSPERIMENTA

Koraba se najprije podijeli na više frakcija: korijen (podzemni dio), gomolj, stabljika, list te cvijet (nadzemni dio). Dobivene frakcije se isperu u destiliranoj vodi te ostave sušiti dva dana na sobnoj temperaturi. Nakon što prođu dva dana, pripremljene frakcije se dodatno suše u sušioniku 2 sata na temperaturi od 105°C. Nakon završene pripreme od svake se frakcije uzme po 1 gram uzorka, usitni i premjesti u lončiće za žarenje i prenese u peć za žarenje. Uzorci se spaljuju preko noći na temperaturi od 500°C (slika 2.7.)



Slika 2.7. Uzorci pripremljeni za žarenje u peći na 500°C

Nakon što se uzorci izvade iz peći i ohlade potrebno ih je otopiti u 5 mL 20% HCl. Otopinu zagrijati po potrebi kako bi se sav ostatak otopio. Dobivena otopina se profiltrira, a dobiveni filtrat je potrebno dopuniti do oznake deioniziranom vodom te dobro promiješati. Ovako pripremljene otopine uzoraka su spremne za daljnju analizu.
Koncentracije teških metala (olovo, kadmij, cink, bakar, nikal, željezo, mangan i arsen) i metaloida (selen) u otopinama korabe su određene pomoću spektrometrije masa s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS). Analiza je izvršena na Institutu Ruđer Bošković.

3. REZULTATI I RASPRAVA

Biljke za svoj rast trebaju makrohranjiva i mikrohranjiva. Osnovna razlika je u količini pojedinog biogenog elementa koji je potreban biljkama. Ukoliko se radi o većoj količini koje biljka zahtjeva tijekom svog životnog ciklusa, radi se o makrohranjivima, odnosno ako biljka zahtjeva biogene elemente u malim količinama govori se o mikrohranjivima. Međutim, prema važnosti nema razlike; i jedni i drugi su neophodni za pravilan rast i razvoj biljke. U makrohranjiva se ubrajaju: dušik (N), fosfor (P), kalij (K), kalcij (Ca), sumpor (S), magnezij (Mg), natrij (Na) dok se u mikrohranjiva ubrajaju: bor (B), klor (Cl), mangan (Mn), željezo (Fe), cink (Zn), bakar (Cu), molibden (Mo), nikal (Ni). i kobalt (Co).

U okviru ovog završnog rada istraženo je osam metala i to Zn, Cu, Ni, Fe i Mn kao mikrohranjiva, Pb, Cd i As koji predstavljaju toksične metale koje biljka akumulira te Se kao metaloid. Prema istraživanjima Singha i suradnika[10] u nekoliko posljednjih desetljeća godišnje se širom svijeta oslobađa oko 22 000 tona kadmija, 939 000 tona bakra, 783 000 tona olova te 1 350 000 tona cinka.

U tablici 3.1. su prikazani eksperimentalni podatci dobiveni nakon analize otopina spektrometrijom masa s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS). U svakoj otopini su određeni olovo, kadmij, cink, bakar, nikal, željezo, mangan i arsen kao teški metali te selen kao esencijalni metaloid. Rezultati su podijeljeni u dvije kategorije: podzemni dio (korijen) te nadzemni dio (gomolj, stabljika, list te cvijet).

Tablica 3.1. Koncentracije teških metala u otopinama korabe

Frakcija	***Koncentracija teškog metala (μg g^{-1})***								
	Pb	Cd	Zn	Cu	Ni	Fe	Mn	Se	As
Podzemni dio									
korijen	1,544	0,155	20,694	7,118	12,862	1227,500	91,287	-	0,477
Nadzemni dio									
gomolj	1,981	0,093	30,125	7,018	6,607	390,500	22,592	1,143	0,842
stabljika	0,966	0,066	13,515	9,535	7,317	132,500	13,380	-	0,348
list	4,917	0,073	32,437	7,469	0,748	211,500	33,989	-	1,430
cvijet	0,206	0,135	51,173	7,528	0,768	107,100	29,992	-	0,818

S obzirom na dobivene eksperimentalne rezultate, prikazane u tablici 3.1., uočava se kako se veći dio istraživanih teških metala, olova, kadmija, cinka, bakra, nikla, željeza, mangana i arsena, kao i metaloida selena akumulirao u nadzemnom dijelu biljke što je vjerojatno posljedica translokacije iz korijena biljke.

Dobiveni rezultati ukazuju kako se poprilično olova akumuliralo u samoj korabi što nije dobro jer je olovo iznimno otrovno. Prenosi se krvlju te raspoređuje u krv, bubrege, jetru, kosti i druga tvrda tkiva.[7] Većina biljaka intenzivnije nagomilava olovo u korijenu, međutim prema dobivenim rezultatima, kod korabe je pet puta više olova akumulirano u nadzemnom dijelu biljke i to najviše u listu – 4,917 $\mu g\ g^{-1}$. Tlo na kojem je uzgajana koraba se svrstava u kategoriju slabo kiselih do neutralnih tla (napravljena je kemijska analiza tla i pH tla iznosi od 6 do 7) što znači da je olovo u nadzemnom dijelu biljke posljedica organskih spojeva olova, koji se veoma brzo usvajaju i transportiraju u nadzemne dijelove biljke. Da se radilo o kiselom tlu anorganski oblik olova bi se lakše translocirao u nadzemne dijelove biljke. Biljke olovo u neorganskom obliku slabo usvajaju i premještaju u nadzemne organe, izuzev na kiselim tlima.[11] Olovo u većim koncentracijama inhibira izduživanje korijena i rast listova, inhibira proces fotosinteze, utječe na morfološko-anatomsku građu biljke što je možda i razlog patuljastog i neobičnog izgleda korabe koja je korištena za analizu u ovom završnom radu.

Najniže koncentracije teških metala su detektirane za kadmij te iznose 0,367 $\mu g\ g^{-1}$ u nadzemnom dijelu te 0,155 $\mu g\ g^{-1}$ u podzemnom dijelu. Sadržaj kadmija u nadzemnim organima biljke bi trebao biti u korelaciji s njegovom koncentracijom u tlu, međutim, uvidom u dobivene rezultate ipak se uočava dvostruko veća koncentracija kadmija u nadzemnom dijelu biljke. Može se zaključiti kako se kadmij iz korijena u većoj mjeri translocira u nadzemni dio. Najveća izmjerena koncentracija u nadzemnim organima se odnosi na cvijet i iznosi 0,135 $\mu g\ g^{-1}$ što je gotovo jednako koncentraciji kadmija u korijenu (0,155 $\mu g\ g^{-1}$).[7,22]

Prema literaturnim podatcima, ukoliko se koncentracija cinka kreće od 10 do 20 $\mu g\ g^{-1}$, radi se o akutnom nedostatku cinka.[7] S obzirom da cink ima višestruke uloge u razvoju biljaka, nedostatak cinka može izazvati velike promjene u morfološkoj i anatomskoj građi biljke. Koncentracija cinka izmjerena za podzemni dio iznosi 20,694 $\mu g\ g^{-1}$ dok za nadzemni dio iznosi čak 127,250 $\mu g\ g^{-1}$, od čega najviše otpada na koncentraciju koja je izmjerena u cvijetu i iznosi 51,173 $\mu g\ g^{-1}$.

Vrijednosti izmjerene za bakar se nalaze u odgovarajućim granicama koje su potrebne biljkama za njihov normalan rast i razvoj, a one se kreću od 5 do 30 μg g^{-1}. Ako je udio bakra u suhoj tvari manji od 4 μg g^{-1}, smatra se da biljka ne sadrži dovoljnu koncentraciju bakra, a ako je taj sadržaj preko 20 do 100 μg g^{-1} smatra se da je koncentracija ovog elementa previsoka.[15] Značajno je spomenuti kako je gotovo u svim dijelovima korabe izmjerena podjednaka koncentracija bakra (≈ 7,100 μg g^{-1}), osim za stabljiku. Tu je izmjerena malo viša koncentracija te iznosi 9,535 μg g^{-1}.

Koncentracija nikla izmjerenog u podzemnom (12,862 μg g^{-1}) i nadzemnom (15,440 μg g^{-1}) dijelu korabe je gotovo u korelaciji.

Od svih odabranih elemenata, najviše izmjerene koncentracije su upravo u slučaju željeza. U podzemnom dijelu je izmjereno 1227,500 μg g^{-1}, dok je nadzemnom dijelu izmjereno 841,600 μg g^{-1}. U biljci prosječna koncentracija iznosi od 50 do 300 mg kg^{-1} (može biti i do 1000 mg kg^{-1}). Kritična koncentracija željeza u lišću iznosi od 50 do 150 mg kg^{-1}.[17] Željezo je usko vezano uz nastanak klorofila, ali nije njegov sastavni dio, već predstavlja katalizator. Upravo je zbog ove uloge željeza, kloroza uvijek simptom njegovog nedostatka. Kloroza je pojava žućenja lisne mase, odnosno nedostatak važnih mikroelemenata. Željezo također može djelovati kao katalizator, u ulozi nosača kisika, prilikom procesa disanja.[24]

Sadržaj mangana u biljkama jako ovisi o biljnoj vrsti, ali i o biljnom dijelu, odnosno organu, a biljke ga prosječno sadrže od 50 do 200 μg g^{-1}. U podzemnom dijelu korabe izmjerena je koncentracija od 91,287 μg g^{-1}, dok je u nadzemnom dijelu izmjerena koncentracija od 99,953 μg g^{-1}, odnosno, gotovo su izmjerene podjednake koncentracije u obje frakcije. Funkcije mangana se smatraju usko povezanim s onima od željeza. Također sudjeluje u stvaranju klorofila, stoga je kloroza uobičajen simptom nedostatka mangana. Mangan može smanjiti topljivost željeza oksidacijom i stoga, višak mangana unutar biljke može dovesti do manjka željeza i kloroze. Mangan ima ulogu katalizatora; obavlja oksidacijske i redukcijske reakcijama unutar biljnih tkiva.[24]

Najniža koncentracija je izmjerena za metaloid selen. Detektiran je samo u gomolju korabe te je njegova koncentracija iznosila 1,143 μg g^{-1}. Količina selena u biljci ovisna je o tlu na kojem je biljka rasla.[20]

Što se arsena tiče, viša je koncentracija izmjerena u nadzemnom dijelu biljke (3,348 μg g^{-1}) od čega je najviša koncentracija izmjerena upravo u listu i iznosi 1,430 μg g^{-1} za razliku od koncentracije izmjerene za podzemni dio korabe (0,477 μg g^{-1}). Njegova se koncentracija u suhoj tvari biljke u prosijeku kreće od 1 do 7 μg g^{-1} suhe tvari. Obzirom

da je koncentracija arsena u biljkama niska, njegov ulazak u lanac ishrane preko biljaka je zanemariv.[15]

4. ZAKLJUČAK

Spektrometrijom masa s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS) uspješno su određene koncentracije odabranih teških metala u korabi (*Brassica rupestris* Raf. ssp. *gongyloides* (L.) Janch.) sabranoj u travnju 2017., u vrtu obiteljskog imanja u Gatima. S obzirom na dobivene rezultate mogu se izvući sljedeći zaključci:

- Veći se dio istraživanih teških metala: olova, kadmija, cinka, bakra, nikla, željeza, mangana i arsena, kao i metaloida selena akumulirao u nadzemnom dijelu biljke što je vjerojatno posljedica translokacije iz korijena biljke.
- Poprilično se olova akumuliralo u samoj korabi što nije dobro jer je olovo iznimno otrovno. Prenosi se krvlju te raspoređuje u krv, bubrege, jetru, kosti i druga tvrda tkiva. Većina biljaka intenzivnije nagomilava olovo u korijenu, međutim prema dobivenim rezultatima, kod korabe je pet puta više olova akumulirano u nadzemnom dijelu biljke i to najviše u listu – 4,917 $\mu g\ g^{-1}$.
- Najniže koncentracije teških metala su detektirane za kadmij te iznose 0,367 $\mu g\ g^{-1}$ u nadzemnom dijelu te 0,155 $\mu g\ g^{-1}$ u podzemnom dijelu. Može se zaključiti kako se kadmij iz korijena u većoj mjeri translocira u nadzemni dio. Najveća izmjerena koncentracija u nadzemnim organima otpada na cvijet i iznosi 0,135 $\mu g\ g^{-1}$ što je gotovo jednako koncentraciji kadmija u korijenu-0,155 $\mu g\ g^{-1}$.
- Koncentracija cinka izmjerena za podzemni dio iznosi 20,694 $\mu g\ g^{-1}$ dok za nadzemni dio iznosi čak 127,250 $\mu g\ g^{-1}$, od čega najviše otpada na koncentraciju koja je izmjerena u cvijetu i iznosi 51,173 $\mu g\ g^{-1}$.
- Vrijednosti izmjerene za bakar se nalaze u odgovarajućim granicama koje su potrebne biljkama za njihov normalan rast i razvoj. Značajno je spomenuti kako je gotovo u svim dijelovima korabe izmjerena podjednaka koncentracija bakra ($\approx$ 7,100 $\mu g\ g^{-1}$), osim za stabljiku, gdje je izmjerena nešto viša koncentracija te iznosi 9,535 $\mu g\ g^{-1}$.
- Koncentracija nikla izmjerenog u podzemnom (12,862 $\mu g\ g^{-1}$) i nadzemnom (15,440 $\mu g\ g^{-1}$) dijelu korabe je gotovo u korelaciji.
- Najviše izmjerene koncentracije su u slučaju željeza. U podzemnom dijelu je izmjereno 1227,500 $\mu g\ g^{-1}$, dok je nadzemnom dijelu izmjereno 841,600 $\mu g\ g^{-1}$.
- U podzemnom dijelu korabe izmjerena je koncentracija mangana od 91,287 $\mu g\ g^{-1}$, dok je u nadzemnom dijelu izmjerena koncentracija od 99,953 $\mu g\ g^{-1}$,

odnosno, izmjerene su gotovo podjednake koncentracije mangana u obje frakcije.

- Najniža koncentracija je izmjerena za metaloid selen. Detektiran je samo u gomolju korabe te njegova koncentracija iznosi 1,143 μg g^{-1}.
- Što se arsena tiče, viša je koncentracija izmjerena u nadzemnom dijelu biljke (3,348 μg g^{-1}) od čega je najviša koncentracija izmjerena u listu i iznosi 1,430 μg g^{-1} za razliku od koncentracije izmjerene za podzemni dio korabe, a koja iznosi 0,477 μg g^{-1}.

5. LITERATURA

1. URL:https://hr.wikipedia.org/wiki/Koraba (5.5.2017.)
2. URL:https://hirc.botanic.hr/fcd/DetaljiFrame.aspx?IdVrste=1826&taxon=Brassica+rupestris+Raf.+ssp.+gongyloides+(L.)+Janch (5.5.2017.)
3. URL:https://www.agroklub.com/sortna-lista/povrce/korabica-145/ (9.5.2017.)
4. URL:https://www.coolinarika.com/namirnica/koraba/ (9.5.2017.)
5. URL:http://www.poliklinika-harni.hr/Teski-metali.aspx (15.5.2017.)
6. URL:https://bib.irb.hr/datoteka/582661.Hiperakumulatori_tekih_metala.pdf (04.06.2017.).
7. *T. Sofilić*, Ekotoksikologija, Sveučilište u Zagrebu, Metalurški fakultet, Sisak 2014.
8. URL:https://glossary.periodni.com/rjecnik.php?hr=rasprostranjenost+elemenata (26.6.2017.)
9. URL:http://www.ttf.unizg.hr/tedi/pdf/TEDI-4-4-51.pdf (3.7.2017.)
10. URL:https://hr.wikipedia.org/wiki/Olovo_(element) (13.7.2017.)
11. URL:http://www.ekoforumzenica.ba/pdf/teski%20metali%20u%20biljkama%20ZENICA.pdf (15.8.2017.)
12. URL:http://veterina.com.hr/?p=53289 (28.8.2017.)
13. URL:www.veinst.hr/dokumenti/doc_download/84-broj-6 (1.9.2017.)
14. *M. Sedak, N. Bilandžić, B. Čalopek, M. Đokić, B. Solomun Kolanović, I. Varenina, Đ. Božić, I. Varga, B. Šimić, M. Đuras, T. Gomerčić*, Toksični metali - bioindikatori zagađenja u morskom okolišu - I. dio: kadmij i olovo, Veterinarska Stanica **46** (5) (2015) 343-348.
15. URL: http://www.buildmagazin.com/index2.aspx?fld=tekstovi&ime=bm1434.htm (10.09.2017.).
16. URL:http://www.fmoit.gov.ba/userfiles/file/2017/TE%20TUZLA%20DIVKOVI%C4%86I/Plan%20rehabilitacije.pdf (11.9.2017.)
17. URL:http://ishranabilja.com.hr/literatura/osnove_agroekologije/Biljna%20hraniva%20i%20toksicni%20elementi_AGEKO.pdf (12.9.2017.)
18. URL:http://www.povrcevoce.com/nikl/ (15.9.2017.)
19. URL:http://prirodnilek.com/selen-jak-antioksidans/ (16.9.2017.)
20. URL:http://www.dietpharm.hr/selen-i11 (18.9.2017.)
21. *S. Č. Alagić, M. M. Nujkić, M. D. Dimitrijević*, Strategije biljaka u borbi protiv fitotoksičnih koncentracija metala kao ključni preduslov uspešne fitoremedijacije: Ekskluderi i hiperakumulatori, deo II, Zaštita Materijala **55** (4) (2014) 435-440.

22. *N. Rascio, F. Navari-Izzo,* Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting?, Plant Sci. **180** (2011) 169-181.

23. *O. V. Sing, S. Labana, G. Pandey, R. Budhiraja, R. K. Jain*, Phitoremediation: an overview of metallion decontamination from soil, Appl. Microbiol. Biotechnol. **61** (2003) 405-412.

24. URL:http://customers.hbci.com/~wenonah/min-def/index.html (18.9.2017.)