

Vlasac (*Allium schoenoprasum* L.) kao potencijalni hiperakumulator olova, nikla i bakra

Duvnjak, Jelena

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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:167:164754>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

**VLASAC (*ALLIUM SCHOENOPRASUM* L.) KAO POTENCIJALNI
HIPERAKUMULATOR OLOVA, NIKLA I BAKRA**

DIPLOMSKI RAD

JELENA DUVNJAK

Matični broj: 202

Split, listopad 2018.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ KEMIJSKE TEHNOLOGIJE
MATERIJALI

VLASAC (*ALLIUM SCHOENOPRASUM* L.) KAO POTENCIJALNI
HIPERAKUMULATOR OLOVA, NIKLA I BAKRA

DIPLOMSKI RAD

JELENA DUVNJAK

Matični broj: 202

Split, listopad 2018.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
GRADUATE STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
MATERIALS

**CHIVES (*ALLIUM SCHOENOPRASUM* L.) AS A POTENTIAL
LEAD, NICKEL AND COPPER HYPERACCUMULATOR**

DIPLOMA THESIS

JELENA DUVNJAK

Parent number: 202

Split, October 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Diplomski studij kemijske tehnologije, smjer: Materijali

Znanstveno područje: Tehničke znanosti
Znanstveno polje: Kemijsko inženjerstvo
Tema rada je prihvaćena na 3. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta

Mentor: doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek
Pomoć pri izradi:

VLASAC (*ALLIUM SCHOENOPRASUM* L.) KAO POTENCIJALNI HIPERAKUMULATOR OLOVA, NIKLA I BAKRA

Jelena Duvnjak, 202

Sažetak: U ovom diplomskom radu određene su koncentracije odabranih teških metala (olova, nikla i bakra) analizom otopina vlasca (*Allium schoenoprasum* L.) spektrometrijom masa s induktivno spregnutom plazmom (HR ICP-MS). Uočava se da je kod svake biljke koja je tretirana odgovarajućom vodenom otopinom teškog metala izmjerena najviša koncentracija tog metala u dvadesetom danu tretiranja nakon kojeg koncentracije počinju opadati. Vlasac tretiran vodenim otopinama olova i nikla počinje pokazivati znakove stresa tek nakon dvadesetog dana tretiranja odabranim otopinama, dok vlasac tretiran vodenom otopinom bakra pokazuje znakove stresa tijekom cijelog perioda tretiranja. Izmjerene koncentracije odabranih teških metala upućuju na zaključak kako je biljka vlasac hipertolerantna biljka s obzirom na usvajanje nikla, a moguće i na usvajanje bakra, dok izmjerene koncentracije za olovo govore kako bi se vlasac mogao razmatrati kao potencijalni hiperakumulator olova jer je u svim uzorcima koji su tretirani s vodenom otopinom olovljevog(II) nitrata njegova koncentracija viša od $1000 \mu\text{g g}^{-1}$.

Ključne riječi: hiperakumulacija, *Allium schoenoprasum* L., vlasac, nikal, bakar, olovo

Rad sadrži: 40 stranica, 21 slika, 7 tablica, 18 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. Doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek	član-mentor

Datum obrane: 5. listopada 2018.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

DIPLOMA THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Graduate study of Chemical Technology, Orientation: Materials

Scientific area: Technical sciences

Scientific field: Chemical engineering

Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 3.

Mentor: Mario Nikola Mužek, PhD, assistant professor

Technical assistance:

CHIVES (*ALLIUM SCHOENOPRASUM* L.) AS A POTENTIAL LEAD, NICKEL AND COPPER HYPERACCUMULATOR

Jelena Duvnjak, 202

Abstract: In this diploma thesis, concentrations of selected heavy metals (lead, nickel and copper) were determined by analyzing the chives solutions (*Allium schoenoprasum* L.) by inductively coupled plasma mass spectrometry (HR ICP-MS). It is evident that at each plant treated with appropriate heavy metal aqueous solution, the highest concentration of selected metal was measured in the twentieth day of treatment, after which the concentrations began to decrease. The chives treated with aqueous solutions of lead and nickel begins to show signs of stress only after twenty days of treatment with the selected solutions, while the treatment with copper solution showed signs of stress throughout the treatment. Measured concentrations of selected heavy metals suggest that the chives plant is a hypertolerant plant towards nickel and possibly copper. The measured lead concentrations indicate that the chives could be considered as a potential hyperaccumulator of lead because in all the samples treated with water solution of lead (II) nitrate, its concentration was higher than $1000 \mu\text{g g}^{-1}$.

Keywords: hyperaccumulation, *Allium schoenoprasum* L., chives, nickel, copper, lead

Thesis contains: 40 pages, 21 pictures, 7 tables, 18 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, assistant prof.	supervisor

Defence date: October 5th, 2018.

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

*Diplomski rad je izrađen u Zavodu za anorgansku tehnologiju
Kemijско-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Maria Nikole
Mužeka u razdoblju od travnja do rujna 2018. godine.*

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

Zahvala

Zahvaljujem se svome mentoru doc. dr. sc. Mariu Nikoli Mužeku na iskazanom povjerenju, strpljenju, vodstvu i pomoći tijekom izrade ovog diplomskog rada.

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

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

- Pripremiti vodene otopine teškog metala ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).
- Zalijevati vlasac (*Allium schoenoprasum* L.) vodenim otopinama teškog metala u vremenskom periodu od mjesec dana.
- Svaki deset dana uzeti uzorak vlasca te ostaviti na sobnoj temperaturi da se osuši.
- Provesti analizu teških metala u osušenim uzorcima vlasca te odrediti koncentraciju odabranih teških metala.

SAŽETAK

U ovom diplomskom radu određene su koncentracije odabranih teških metala (olova, nikla i bakra) analizom otopina vlasca (*Allium schoenoprasum* L.) spektrometrijom masa s induktivno spregnutom plazmom (HR ICP-MS). Uočava se da je kod svake biljke koja je tretirana odgovarajućom vodenom otopinom teškog metala izmjerena najviša koncentracija tog metala u dvadesetom danu tretiranja nakon kojeg koncentracije počinju opadati. Vlasac tretiran vodenim otopinama olova i nikla počinje pokazivati znakove stresa tek nakon dvadesetog dana tretiranja odabranim otopinama, dok vlasac tretiran vodenom otopinom bakra pokazuje znakove stresa tijekom cijelog perioda tretiranja. Izmjerene koncentracije odabranih teških metala upućuju na zaključak kako je biljka vlasac hipertolerantna biljka s obzirom na usvajanje nikla, a moguće i na usvajanje bakra, dok izmjerene koncentracije za olovo govore kako bi se vlasac mogao razmatrati kao potencijalni hiperakumulator olova jer je u svim uzorcima koji su tretirani s vodenom otopinom olovljevog(II) nitrata njegova koncentracija viša od 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Ključne riječi: hiperakumulacija, *Allium schoenoprasum* L., vlasac, nikal, bakar, olovo

SUMMARY

In this diploma thesis, concentrations of selected heavy metals (lead, nickel and copper) were determined by analyzing the chives solutions (*Allium schoenoprasum* L.) by inductively coupled plasma mass spectrometry (HR ICP-MS). It is evident that at each plant treated with appropriate heavy metal aqueous solution, the highest concentration of selected metal was measured in the twentieth day of treatment, after which the concentrations began to decrease. The chives treated with aqueous solutions of lead and nickel begins to show signs of stress only after twenty days of treatment with the selected solutions, while the treatment with copper solution showed signs of stress throughout the treatment. Measured concentrations of selected heavy metals suggest that the chives plant is a hypertolerant plant towards nickel and possibly copper. The measured lead concentrations indicate that the chives could be considered as a potential hyperaccumulator of lead because in all the samples treated with water solution of lead (II) nitrate, its concentration was higher than $1000 \mu\text{g g}^{-1}$.

Keywords: hyperaccumulation, *Allium schoenoprasum* L., chives, nickel, copper, lead

SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO.....	3
1.1. TEŠKI METALI U OKOLIŠU	4
1.1.1. PRISUTNOST TEŠKIH METALA U TLU	5
1.1.2. PRISUTNOST TEŠKIH METALA U BILJKAMA.....	5
1.2. HIPERAKUMULACIJA TEŠKIH METALA U BILJKAMA	7
1.2.1. MEHANIZAM HIPERAKUMULACIJE TEŠKIH METALA	8
1.3. MOGUĆA PRIMJENA HIPERAKUMULATORA U	
FITOREMEDIJACIJI I FITORUDARENJU	11
1.4. VLASAC (<i>ALLIUM SCHOENOPRASUM</i> L.)	14
2. EKSPERIMENTALNI DIO	16
2.1. MATERIJALI I KEMIČALIJE	17
2.2. INSTRUMENTI.....	20
2.3. PROVEDBA EKSPERIMENTA.....	22
3. REZULTATI I RASPRAVA	24
3.1. VIZUALNA KARAKTERIZACIJA UZORAKA VLASCA.....	25
3.2. HIPERAKUMULACIJA TEŠKIH METALA	33
4. ZAKLJUČAK	36
5. LITERATURA.....	38

Hiperakumulatori teških metala su posljednjih godina privukli veliku pozornost zbog mogućeg korištenja tih biljki za fitoremedijaciju tla onečišćenog teškim metalima. Međutim, većina hiperakumulatorskih biljki je male biomase i nisu pogodne za "oštar" okoliš.

Teški metali su sve prisutniji u okolišu te su glavna skupina anorganskih zagađivača. U teške metale se ubraja niz metala i metaloida koji mogu biti toksični za biljke, životinje i čovjeka. Neki teški metali pogoduju biljci za normalan rast i razvoj (Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn) dok fiziološka funkcija nekih nije poznata (Hg, Pb, Cd, As). Iako su metali, na razne načine, prirodno prisutni u Zemljinoj kori i mnogi od njih su potrebni za normalan rad i razvoj stanica živih organizama, svi metali su toksični pri višim koncentracijama.

Cilj ovog rada bio je odrediti koncentraciju odabranih teških metala u vlasцу. Vlasac (*Allium schoenoprasum* L.) je višegodišnja otporna lukovičasta trajnica, ukrasna i začinska biljka te je najmanja vrsta iz obitelji luka, Alliaceae, gdje još pripadaju češnjak, crveni luk i poriluk. Porijeklom je iz Azije, Europe i Sjeverne Amerike. Bogat je vitaminima C, A i K te vitaminom B₈, a od minerala željezom, fosforom, kalcijem, kalijem i magnezijem. Koristi se kao začín brojnim jelima u svježem ili sušenom obliku.

1. OPĆI DIO

1.1. TEŠKI METALI U OKOLIŠU

Teški metali su svi metali čija je atomska masa iznad 20 g mol^{-1} i specifična težina veća od 5 g cm^{-3} . Biološki se teški metali odnose na metale i metaloide koji mogu biti toksični za biljke i životinje, čak i pri niskim koncentracijama. Pojam "teški metali" koristi se i za potencijalno fitotoksične elemente. Teški metali poput arsena, kadmija, olova, selenija ili žive nisu esencijalni jer ne obavljaju poznate fiziološke funkcije u biljkama. Metali poput željeza, bakra, kobalta, mangana, cinka ili nikla su važni elementi za normalan rast i metabolizam biljaka.¹

Teški metali su sve prisutniji u okolišu te su glavna skupina anorganskih zagađivača. Onečišćenje tla metalima značajno se razlikuje od onečišćenja zraka ili vode jer se metali u tlu zadržavaju znatno duže nego u ostalim dijelovima biosfere. Prema istraživanju Singha i suradnika² 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. Teški metali u okolišu često su mutageni i kancerogeni.³

Prijetnja teških metala čovjekovom i životinjskom zdravlju proizlazi iz njihove sposobnosti dugog zadržavanja u okolišu. Primjerice, olovo (Pb) ima sposobnost zadržavanja 150-5000 godina u tlu, a kadmij (Cd) do 18 godina. Velika prijetnja metala također proizlazi iz toga što se mogu unijeti u ljudsko i životinjsko tijelo putem hrane što nadalje može izazvati promjenu DNK i karcinome.³

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organization*, WHO)⁴ trovanje olovom kod djece uzrokuje neurološka oštećenja koja uzrokuju smanjenje inteligencije, gubitak kratkotrajne memorije, probleme u učenju i koordinaciji pokreta. Kadmij se akumulira u bubrezima, živa oštećuje živčani sustav i mišiće te uzrokuje djelomičan gubitak vida.³

Najčešći izvor kontaminacije tla teškim metalima su metaloprerađivačka, metalurška i elektronička industrija, postrojenja za tretman otpadnih voda, rudarenje, odlagalište otpada te drugi izvori kao što je prikazano u tablici 1.1. Također, zagađenje teškim metalima može potjecati i od cestovnog prometa.³

Tablica 1.1. Prikaz grana industrija koje emitiraju teške metale⁵

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

1.1.1. PRISUTNOST TEŠKIH METALA U TLU

Iako su metali, na razne načine, prirodno prisutni u Zemljinoj kori i mnogi od njih su potrebni za normalan rad i razvoj stanica živih organizama, svi metali su toksični pri višim koncentracijama. Točnije, bilo koji metal ili metaloid se može smatrati onečišćivačem ako se detektira tamo gdje nije potreban ili u koncentraciji koja se smatra štetnom za okoliš i/ili čovjeka. Koncentracija metala u tlu se može kretati od koncentracije koja je niža od 1 mg kg^{-1} do koncentracije od $100\,000 \text{ mg kg}^{-1}$. Neovisno o podrijetlu metala u tlu, prekomjerna koncentracija metala može uzrokovati smanjenje kvalitete tla, smanjenje prinosa usjeva, lošu kvalitetu poljoprivrednih proizvoda, itd. To uključuje metale i metaloide, kao što su: arsen (As), kadmij (Cd), krom (Cr), bakar (Cu), olovo (Pb), živa (Hg), nikal (Ni), srebro (Ag), cink (Zn) te selenij (Se), dok su rjeđe zastupljeni aluminij (Al), kobalt (Co), mangan (Mn) i uranij (U).⁶

1.1.2. PRISUTNOST TEŠKIH METALA U BILJKAMA

Olovo sprječava rast i funkcioniranje metabolizma biljke. Olovo u biljkama smanjuje sadržaj pigmenta i intenzitet fotosinteze, smanjuje količinu željeza, mangana, bakra i

cinka u izdanku biljke. Korijen biljke ima veliku sposobnost akumulacije olova i na taj način se štiti nadzemni dio. U većim koncentracijama olovo sprječava rast i izduživanje korijena i lišća, kao i proces fotosinteze.⁷

Nikal je u malim koncentracijama neophodan za normalan razvoj biljke. Međutim, u povišenim koncentracijama smanjuje rast biljke, dovodi do trovanja lišća, smanjuje sadržaj vode u tkivu i slično. Fiziološka uloga mu je da pomogne biljci prilikom apsorpcije željeza. Osim toga, jako je važan za aktivnost enzima ureaze, a ima učinak i na klijanje sjemena.⁸

Biljke uzimaju bakar u obliku Cu^{2+} iona te u prosjeku sadrže 2-20 mg kg^{-1} bakra u suhoj tvari. Bakar je biljkama slabo dostupan jer zajedno s organskim kiselinama gradi stabilne komplekse u tlu. Toksični efekt bakra javlja se kad je njegov ukupan sadržaj u tlu 20-40 mg kg^{-1} i kada se pH tla kreće oko 5,5. Povećana kiselost tla dovodi do povećanog sadržaja bakra. Osnovni znakovi da biljci nedostaje bakar su: sušenje i savijanje listova, odumiranje listova i smanjenje razvoja biljke.⁸

Mala koncentracija cinka u tlu uzrokuje njegovu slabu pokretljivost kroz biljku. U slučaju visoke koncentracije cinka u tlu većinom se taloži u korijenu biljaka. Po svojoj prirodi, izaziva manji stupanj toksičnosti od bakra. Cink je jako važan za razvoj biljke, a njegov nedostatak može uzrokovati promjene u anatomske i morfološke građi biljke.⁸

Mangan ima jako važnu fiziološku ulogu. Ulazi u sastav mnogih enzima, a neophodan je i u procesu fotosinteze. Potreban je svim biljnim vrstama u određenim količinama. On djeluje stimulirajuće prilikom apsorpcije kisika, fosfora i kalija te sudjeluje u prijenosu i akumulaciji šećera u biljkama.⁹

Biljke uzimaju željezo u obliku Fe^{2+} i Fe^{3+} iona. Apsorpcija željeza iz tla je povezana s redukcijom. Ukoliko nedostaje željeza u tlu, biljka iz korijena izlučuje fenole i reducirajuće agense. Fiziološka uloga željeza očituje se u sintezi klorofila, redukciji nitrita i sulfata, prijenosu elektrona i slično.⁸

Kadmij se lako može prenijeti kroz biljku putem korijena i brzo se translocirati u lišće te zbog toga pokazuje efekte toksičnosti i pri niskim koncentracijama. Sprječava klijanje sjemena, reducira rast, narušava fotosintezu, otežava prijenos dušika, fosfora, kalija, magnezija, kalcija, cinka, bakra i natrija. Kadmij koji biljka uzima uglavnom se akumulira u korijenu dok je sadržaj tog metala u lišću biljke približno isti. Veće koncentracije kadmija oštećuju listove, sprječavaju fotosintezu te smanjuju unos vode.¹⁰

1.2. HIPERAKUMULACIJA TEŠKIH METALA U BILJKAMA

Jedan od prvih zapisa o biljci koja sadrži neuobičajeno visoke koncentracije metala se može pripisati Baumannu (1885.) koji je otkrio izuzetno visoke koncentracije cinka u listovima *Thlaspi calaminare* Lej. & Courtois (*Thlaspi caerulescens* J. Presl & C. Presl).¹¹

Pojam hiperakumulacija su skovali Brooks i sur. (1977.) u istraživanjima koncentracije nikla u biljaka koje rastu na serpentinskim tlima. Od tada su Brooks i njegove kolege, uključujući i druge znanstvenike, popisali veliki broj biljaka s visokom koncentracijom metala u nadzemnim dijelovima biljaka te definirali kritične vrijednosti metala koje se trebaju nalaziti u biljci kako bi se ona mogla kategorizirati kao hiperakumulator za tu vrstu.¹¹

Pojam hiperakumulator se odnosi na biljke koje imaju sposobnost usvajati iznimno visoke količine jednog ili više teških metala iz tla. Nadalje, teški metali se ne zadržavaju u korijenu nego se translociraju kroz biljku u organe iznad korijena, naročito lišća, u koncentracijama 100-1000 puta višim od onih detektiranih u neakumulatorskim biljkama.¹

U početku se termin hiperakumulator koristio za biljke koje su mogle akumulirati više od 1 mg g⁻¹ nikla u korijenu. Granične vrijednosti su određene kako bi se lakše odredila hiperakumulacija svih ostalih teških metala, obzirom na njihovu specifičnu fitotoksičnost. Uzimajući u obzir taj kriterij, hiperakumulatorske su one biljke koje, rastući na izvornome tlu, koncentriraju više od 10 mg g⁻¹ mangana ili cinka, više od 1 mg g⁻¹ arsena, kobalta, bakra, kroma, nikla, olova, antimona, selenija i više od 0,1 mg g⁻¹ kadmija u nadzemnim organima, bez opasnosti od fitotoksičnosti. Najviše taksona hiperakumulira nikal (više od 75%), dok je mali broj hiperakumulatora pronađen za jednog od najtoksičnijih teških metala kadmij. Ujedno je nikal teški metal kod kojeg je zasada zabilježena najviša koncentracija u biljci, a koja je izmjerena u *Sebertia acuminata* (Pierre ex Baill.), endemskom drvu koje raste na području Nove Kaledonije. Akumulira do 26% nikla u svom lateksu.¹

Oko 25% pronađenih hiperakumulatora pripada porodici Brassicaceae, odnosno rodovima *Thlaspi* i *Alyssum*, od kojih je najviše nikal hiperakumulirajućih vrsta. Hiperakumulatori cinka su manje brojni i uključuju *Arabidopsis halleri* L. i vrste *Thlaspi*, iz porodice Brassicaceae te *Sedum alfredii* H. iz porodice Crassulaceae. *Arabidopsis halleri* L. i *Sedum Alfredii* H. zajedno s *Thlaspi caerulescens* J. Presl & C.

Presl i *Thlaspi praecox* Wulfen su četiri otkrivene vrste koje uz cink hiperakumuliraju i kadmij.¹

1.2.1. MEHANIZAM HIPERAKUMULACIJE TEŠKIH METALA

Stupanj hiperakumulacije jednog ili više teških metala može se značajno razlikovati u različitim vrstama, čak i populaciji i ekotipu iste vrste. Međutim, hiperakumulacija ovisi o tri osnovna obilježja koja razlikuju hiperakumulatore od povezanih nehiperakumulatorskih vrsta, a to su:¹

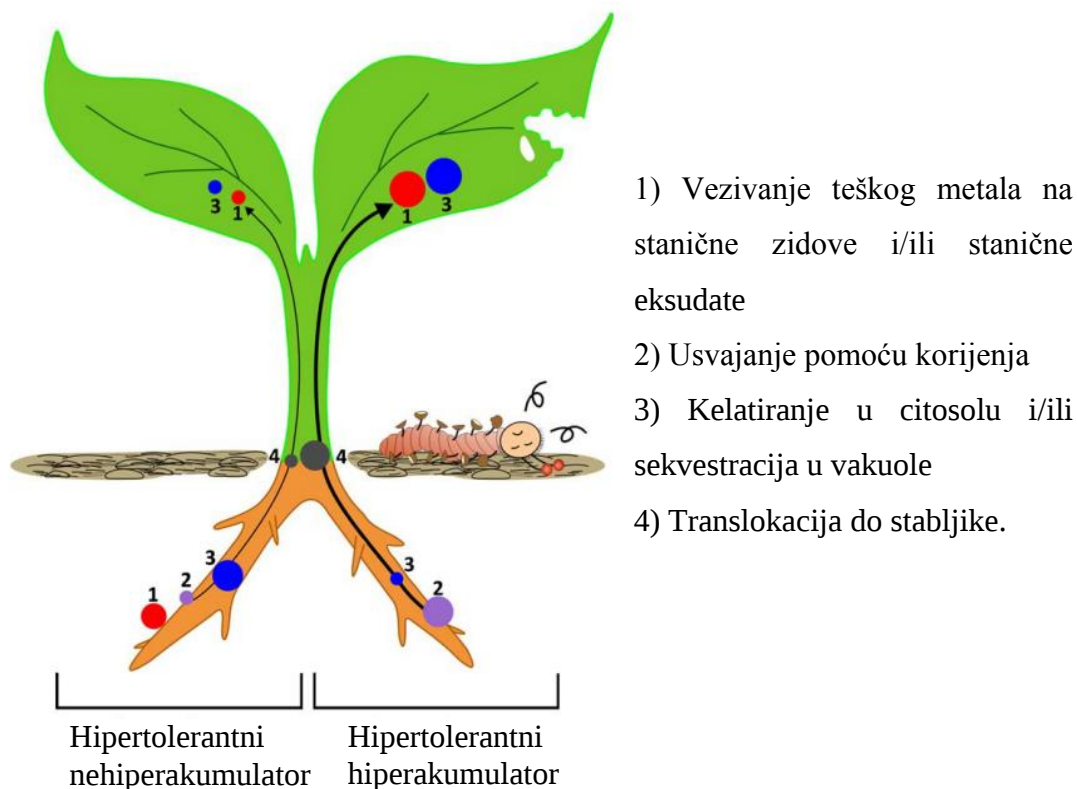
- mnogo veća sposobnost usvajanja teških metala iz tla,
- brža i učinkovitija translokacija metala iz korijena u ostale dijelove biljke,
- mnogo veća sposobnost detoksifikacije i sekvestracije golemih količina teških metala u lišću.

Mehanizmi hiperakumulacije teških metala su prikazani na slici 1.1. Lijevi dio biljke predstavlja model biljke koja ne hiperakumulira teške metale, dok je s desne strane prikazan model hiperakumulatora.

Mehanizam hiperakumulacije teških metala se može podijeliti na sljedeće korake (slika 1.1.):¹

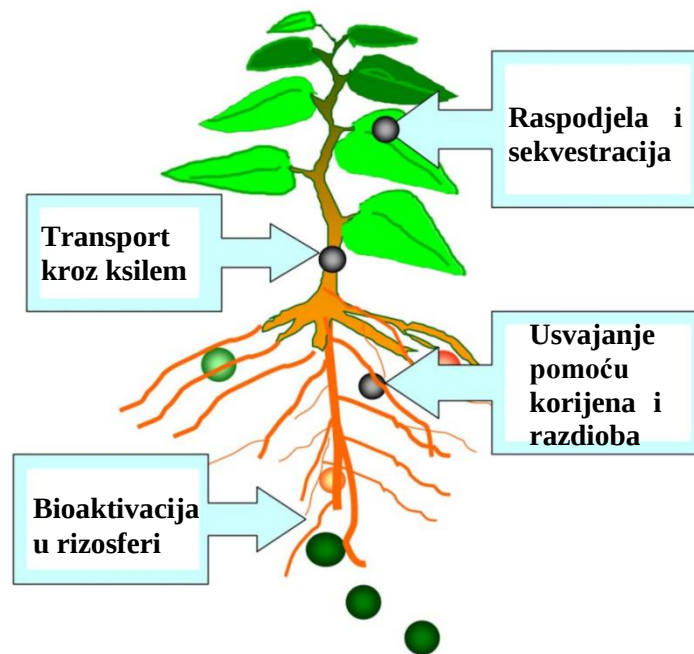
- najprije se u korijenu biljke odvija vezanje teškog metala na stanične zidove i/ili stanične eksudate,
- usvajanje pomoću korijenja,
- kelatiranje u citosolu i/ili sekvestracija u vakuole,
- translokacija od korijena do stabljike.

Obojene točke na slici ukazuju na biljne organe u kojima postoje različiti mehanizmi dok veličine točki ukazuju na nivo svakoga od njih.¹



Slika 1.1. Mehanizam hiperakumulacije teških metala¹

Značajan napredak u razumijevanju mehanizama koji reguliraju hiperakumulaciju metala je napravljen u zadnjem desetljeću kroz usporedna fiziološka, genomska i proteomska proučavanja hiperakumulatora i srodnih nehiperakumulirajućih vrsta. Veliki broj istraživanja je proveden na *Thlaspi caerulescens* J. Presl & C. Presl i *Arabidopsis halleri* L., koji su postali model biljke za hiperakumulaciju. Vrlo zanimljivo svojstvo otkriveno u ovim istraživanjima leži u činjenici da se većina ključnih koraka u hiperakumulaciji ne oslanja na nove gene, već ovise o genima zajedničkim za hiperakumulatore i nehiperakumulatore, koji su drugačije izraženi.¹



Slika 1.2. Osnovna obilježja hiperakumulacije teških metala⁶

Odlučujuća uloga u upravljanju usvajanja velike količine teških metala, translokaciji u nadzemne dijelove i sekvencijaciji u vakuole ili stanične zidove hiperakumulatora se pripisuje 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, slika 1.2.¹

1.3. MOGUĆA PRIMJENA HIPERAKUMULATORA U FITOREMEDIJACIJI I FITORUDARENJU

Moderni stil života i industrijalizacija dovode do velikih ekoloških problema jer generiraju različite vrste otpada i odlažu ih bez odgovarajućeg tretmana u okoliš. S obzirom da teški metali predstavljaju veliku opasnost, otpad bi se trebao zbrinuti na pravi način prije odlaganja kako bi se minimizirao njegov štetni utjecaj na okoliš i zdravlje svih živih bića. Međutim, nakon što se tlo zagadi slijedi niz postupaka kako bi se moglo vratiti u "uporabu". Takvi efektivni tretmani su skupi i mogu ostaviti neželjene učinke.¹² Za alternativnim ekološki i novčano prihvatljivim načinima tretiranja zagađenih voda i tla se još uvijek traga, a trenutno najuspješniji pristup se nalazi u fitoremedijaciji.^{1,2}

Fitoremedijacija (grč. *phyto* biljka, lat. *remedium* čistiti) se smatra procesom čišćenja zagađenih područja pomoću biljki i još uvijek se nalazi u razvojnem stupnju. Fitoremedijacijom se označava čitav niz tehnologija temeljenih na sposobnosti biljaka za akumuliranje velikih količina metala koji su i prirodno prisutni u njihovim tkivima bez da uzrokuju simptome toksičnosti. Biljke koje prihvaćaju teške metale iz tla često imaju mogućnost pročititi tlo pomoću fitoremedijacije jer u području najaktivnijeg sloja tla, rizosfere, prihvaćaju visoke koncentracije teških metala. Ova tehnika je ekološki prihvatljiva, relativno jeftina i pruža mogućnost bio-obnove teških metala. Biljke moraju biti brzo rastuće, moraju imati visoku količinu biomase i sposobnost prihvaćanja raznih metala te se moraju moći lako posijati i žeti.^{1,2}

Upotreba biljki za remedijaciju zagađenog tla se čini izvrsnom metodom u usporedbi s ostalim inženjerskim metodama. Hiperakumulatori teških metala koji rastu u okolini obogaćenoj metalima mogu akumulirati 100-1000 puta više metala nego normalne biljke predstavljajući tako odličnog kandidata za fitoekstrakciju* te samim time i za fitorudarenje.^{1,2}

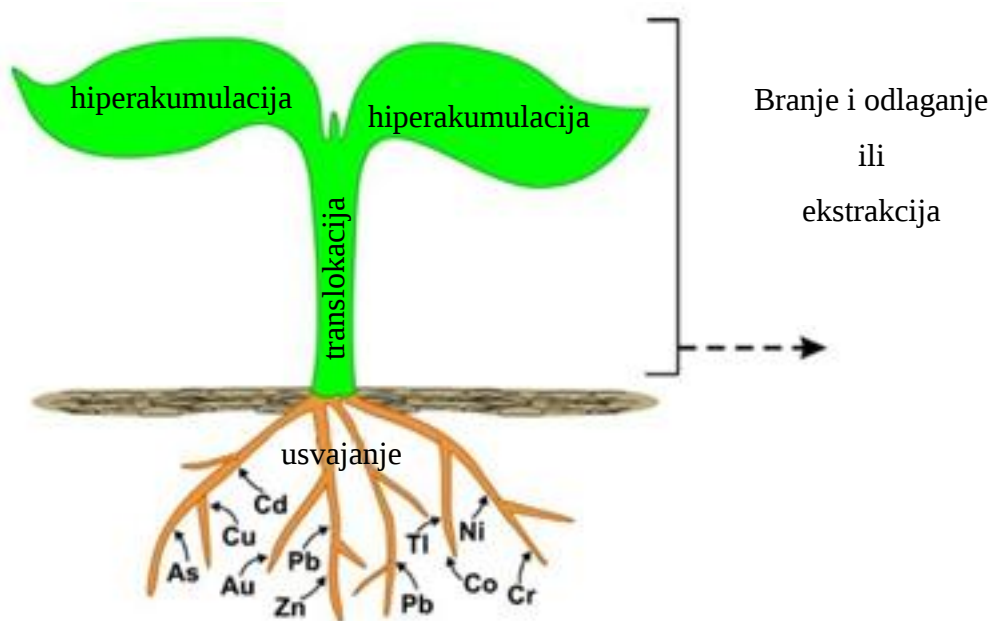
Uspjeh fitoekstrakcije je ovisan o raznim karakteristikama same biljke. Dvije najvažnije su da biljka ima sposobnost produciranja velike količine biomase i kapacitet akumulacije velikih količina metala u nadzemnom tkivu biljke. Osim toga, za uspjeh fitoekstrakcije poželjno je da se tlom upravlja na pravilan način što uključuje optimizaciju agronomskih postupaka. Biljke bi za fitoekstrakciju trebale biti otporne na

* Fitoekstrakcija (fitoakumulacija) je metoda kojom se kontaminirajući metali iz tla korijenjskim sustavom biljke prenose iz tla u biljku, a od tuda translociraju u površinske dijelove biljke.

bolesti i pesticide i "neprivlačne" za životinje kako bi se minimizirao prijenos teških metala na više nivoe hranidbenog lanca.^{1,2}

Proces fitoremedijacije je generalno malo sporiji od drugih tehnika koje uključuju fizičke i kemijske postupke što ga čini malo nepovoljnim.^{1,2}

Fitorudarenje predstavlja metodu fitoekstrakcije kojoj je glavni cilj ostvariti visoki prihod tržišne količine teških metala iz biljne biomase dobivene iz biljaka hiperakumulatora koje su korištene za ekstrakciju teških metala iz onečišćenog tla, slika 1.3.



Slika 1.3. Fitoremedijacija i fitorudarenje tla bogatog teškim metalima uz pomoć biljaka koje hiperakumuliraju te teške metale u nadzemnim organima.¹

Prvo istraživanje fitorudarenja je provedeno na biljci *Streptanthus polygaloides* A. Gray koja je hiperakumulator nikla.¹ Od tada su nađene brojne vrste koje mogu hiperakumulirati nikal, kao što su *Alyssum* spp., *Berkheya coddii* Roessler, *Alyssum bertolonii* Desv. te se pretpostavlja kako bi se i one mogle koristiti za fitorudarenje. *Iberis intermedia* Guers. i *Biscutella* (Brassicaceae) se mogu koristiti za fitorudarenje talija. Realno se može očekivati kako se sve hiperakumulatorske vrste mogu upotrijebiti i za hiperakumulaciju drugih teških metala kao što su zlato, kobalt i uranij. Štoviše, postoji mogućnost da je fitorudarenje visokoselektivna metoda izdvajanja odabranog teškog metala iz tla u koncentracijama koje su neekonomične za konvencionalne tehnike ekstrakcije. Za ostale manje vrijedne metale, kao što su olovo, kadmij, cezij i

bakar, fitorudarenje se nikada neće istaknuti kao profitabilna grana poljoprivredne industrije. Bez obzira na sva dosadašnja obećavajuća istraživanja i iskazane prednosti u odnosu na konvencionalno rudarstvo, do sada nije bilo zabilježski o uspješno provedenom komercijalnom fitorudarenju. Utvrđeni su mogući čimbenici koji ograničavaju komercijalizaciju fitorudarenja te se može zaključiti da je fitorudarenje atraktivno samo kada se primjenjuje na onečišćenom tlu i u kombinaciji s tradicionalnim rudarenjem. Fitorudarenje s hiperakumulatorima visoke biomase bi moglo imati ekonomske prednosti u odnosu na tradicionalne rudarske tehnike, posebno u slučajevima gdje su ekstrahirani metali ciljevi biorudarenja, imaju ekonomsku vrijednost, a energija izgaranja biomase se može prodati. Osim toga, budući da je bioruda praktički bez sumpora, njezino taljenje ne pridonosi stvaranju kiselih kiša. Tim više što postoji potreba za razvojem metoda koje omogućavaju oporavak i trgovinu metala.¹

Unatoč velikom broju pronađenih hiperakumulatorskih vrsta i dalje postoje nedovoljne informacije o raspodjeli ovih vrsta ili o mehanizmima usvajanja teških metala što ograničava njihovu upotrebu u fitorudarenju. Nadalje, nisu dovoljno dobro poznata ni njihova agronomska svojstva, kao što su zahtjevi za gnojivom, potrebnom pH vrijednosti tla, kontrolom korova i zahtjevima za vodom. Bez obzira na ta ograničenja, jasno je da komercijalizacija fitorudarenja korištenjem hiperakumulatorskih biljaka visoke biomase u osnovi ovisi o koncentraciji teškog metala koji se može hiperakumulirati u biljci, godišnjoj proizvodnji biomase i tržišnoj cijeni odabranog teškog metala.¹

1.4. VLASAC (*ALLIUM SCHOENOPRASUM* L.)

Vlasac (*Allium schoenoprasum* L.) je višegodišnja otporna lukovičasta trajnica, ukrasna i začinska biljka. Najmanja je vrsta iz obitelji luka, Alliaceae. Tu još pripadaju češnjak, crveni luk i poriluk.¹³ Porijeklom je iz Azije, Europe i Sjeverne Amerike.¹⁴ U tablici 1.2. prikazana je taksonomija biljke.

Tablica 1.2. Taksonomija biljke vlasac¹⁵

TAKSONOMIJA	NAZIV
Red	Asparagales
Porodica	Amaryllidaceae
Rod	Allium
Vrsta	<i>Allium schoenoprasum</i> L.

Vlasac (ili vlašac) (slika 1.4.) je otporna biljka koja može narasti do 50 cm visine. Korijen je duguljasta lukovica. Dugi izdanci su uski, okrugli, cjevasti listovi, zelene ili zeleno-sive boje. Latice su mu jednake dužine i zvjezdastog su rasporeda. Za rast vlasca potrebno je hranjivo i vlažno tlo, a danas se uzgaja uglavnom u staklenicima.¹³ Može se uzgajati i u posudama smještenim na osunčanoj prozorskoj dasci.¹³



Slika 1.4. Vlasac (*Allium schoenoprasum* L.)^{13,15}

Vlasac je jedna od prvih biljki koja cvate u proljeće. Njegovi cvjetovi jako privlače kukce, naročito pčele.¹³ Sadrži eterična ulja bogata sumporom koja su uzrok njegovog ljutog mirisa i okusa.¹³ Bogat je vitaminima C, A i K te vitaminom B₈, a od minerala željezom, fosforom, kalcijem, kalijem i magnezijem. Smanjuje kolesterol zbog visokog

sadržaja alicina, jača imunitet jer je bogat vitaminom A, sprječava osteoporozu i aterosklerozu jer sadrži spojeve koji zadržavaju kalcij u kostima i krvi te poboljšava probavu zahvaljujući alil-sulfidu i drugim spojevima. Može se dodati brojnim jelima u svježem ili sušenom obliku.¹³

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. MATERIJALI I KEMIJE

U radu su korišteni sljedeći materijali i kemikalije:

- Biljka vlasac (lat. *Allium schoenoprasum* L.), slika 2.1.



Slika 2.1. Vlasac (*Allium schoenoprasum* L.)

Biljka je kupljena u travnju 2018., u trgovačkom centru Lidl. Proizvođač je Bratovinski d.o.o. iz Huma na Sutli. Godina proizvodnje je 2018., a datum sadnje 17. ožujka.

- Vodene otopine teških metala:
 - vodena otopina olovljevog(II) nitrata (slika 2.2.) 8 mM,



Slika 2.2. Vodena otopina olovljevog(II) nitrata

Vodena otopina olovljevog(II) nitrata je pripremljena otapanjem 7,9488 g $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u 3 dm^3 destilirane vode kako bi se dobila koncentracija od 8 mM.

- vodena otopina bakrovog(II) sulfata pentahidrata (slika 2.3.) 8 mM,



Slika 2.3. Vodena otopina bakrovog(II) sulfata pentahidrata

Vodena otopina bakrovog(II) sulfata pentahidrata je pripremljena otapanjem 5,9924 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ u 3 dm³ destilirane vode kako bi se dobila koncentracija od 8 mM.

- vodena otopina niklovog(II) nitrata heksahidrata (slika 2.4.) 8 mM,



Slika 2.4. Vodena otopina niklovog(II) nitrata heksahidrata

Vodena otopina niklovog(II) nitrata heksahidrata je pripremljena otapanjem 6,9791 g $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ u 3 dm³ destilirane vode kako bi se dobila koncentracija od 8 mM.

- vodovodna voda (slika 2.5.),



Slika 2.5. Vodovodna voda

- HCl, 20% otopina.

2.2. INSTRUMENTI

U radu su korišteni sljedeći instrumenti:

- Sušionik Nuve FN 400 (slika 2.6.),



Slika 2.6. Sušionik

- Peć Demitem Easy (slika 2.7.),



Slika 2.7. Peć

- Maseni spektrometar visoke rezolucije s induktivno spregnutom plazmom (HR ICP-MS) Element 2, Thermo Finnigan, Bremen, Germany (slika 2.8.)



Slika 2.8. HR ICP-MS¹⁶

2.3. PROVEDBA EKSPERIMENTA

Kupljene su četiri tegle vlasca koje su zalijevane u periodu od mjesec dana. Tri tegle sadnica su zalijevane vodenom otopinom teškog metala; svaka sadnica je zalijevana isključivo otopinom jednog teškog metala. U tablici 2.1. prikazani su ukupno utrošeni volumeni svake od otopine kojom je vlasac bio tretiran. Vodene otopine teškog metala predstavljaju izvor teškog metala (olova, nikla te bakra). Sadnica u četvrtoj tegli je zalijevana samo vodovodnom vodom te je služila kao referentni uzorak.

Tablica 2.1. Ukupno utrošeni volumeni otopina kojima je vlasac tretiran

Dodani volumen otopine u periodu tretiranja			
Otopina	do 10-og dana	do 20-og dana	do 30-og dana
Pb(NO₃)₂	700	1000	1200
Ni(NO₃)₂·6H₂O	800	1200	1400
CuSO₄·5H₂O	700	1100	1300
H₂O	700	1200	1400

Nakon 10 dana iz svake se tegle uzimao uzorak vlasca koji se ostavljao sušiti na sobnoj temperaturi (oko 25 °C) u periodu od dva dana. Nakon što se dobila odgovarajuća suhoća uzoraka, što je utvrđeno promjenom boje i opipom, vlasac se usitnjavao te sušio dva sata u sušioniku na 105 °C. Isto je ponovljeno za svaki uzorak vlasca nakon 20 i 30 dana tretiranja odgovarajućim otopinama.

Nakon završene pripreme od svakog uzorka se uzimao po 1 gram uzorka i premjestio u lončice za žarenje te prenio u peć za žarenje. Uzorci su spaljivani preko noći na temperaturi od 500 °C (slika 2.9.).



Slika 2.9. Uzorci pripremljeni za žarenje u peći na 500°C

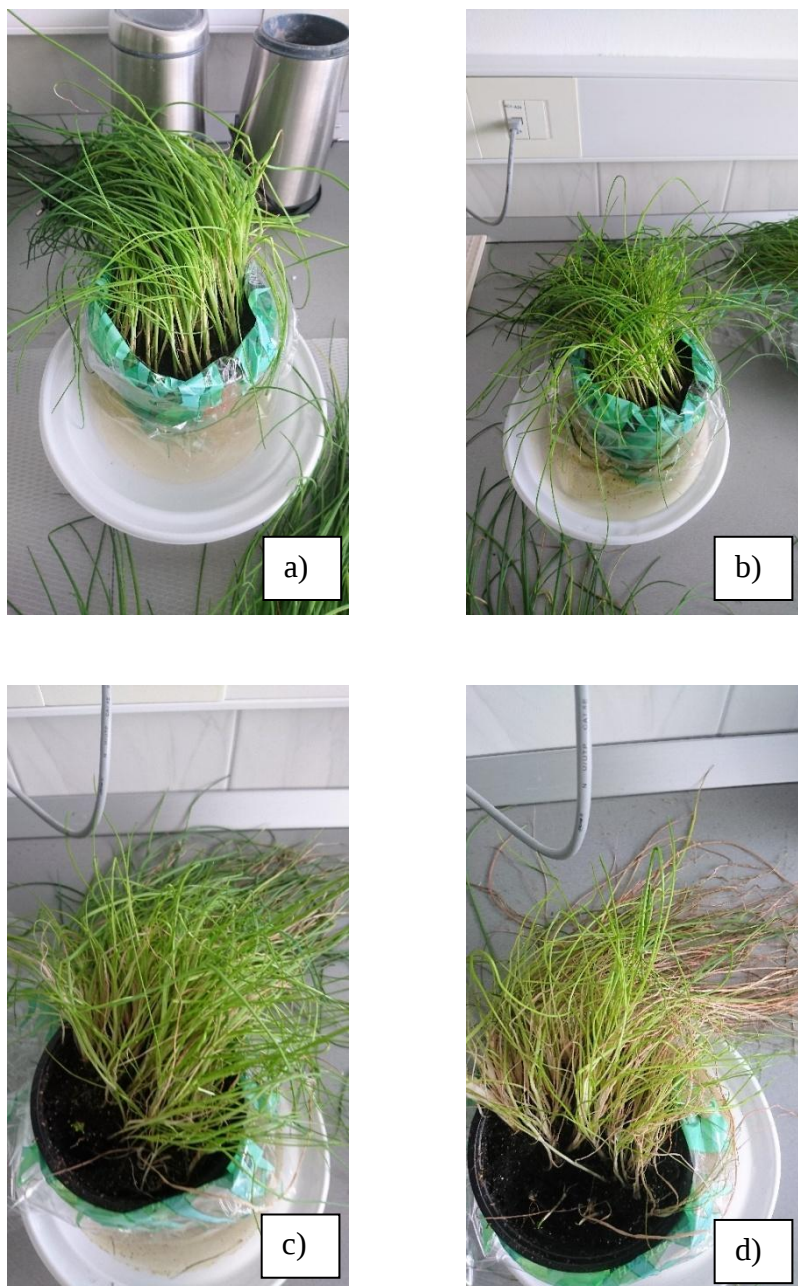
Nakon što su se uzorci izvadili iz peći i ohladili, otopljeni su u 5 mL 20% HCl. Otopina se zagrijala po potrebi kako bi se sav ostatak otopio. Dobivena otopina se profiltrirala, a dobiveni filtrat je potrebno dopuniti do oznake ultračistom vodom te dobro promiješati. Ovako pripremljene otopine uzoraka su spremne za daljnju analizu.

Koncentracije teških metala (olovo, nikal, bakar, željezo, kadmij, cink i mangan) u otopinama vlasca su određene pomoću masenog spektrometra visoke rezolucije s induktivno spregnutom plazmom (HR ICP-MS). Analiza je izvršena na Institutu Ruđer Bošković.

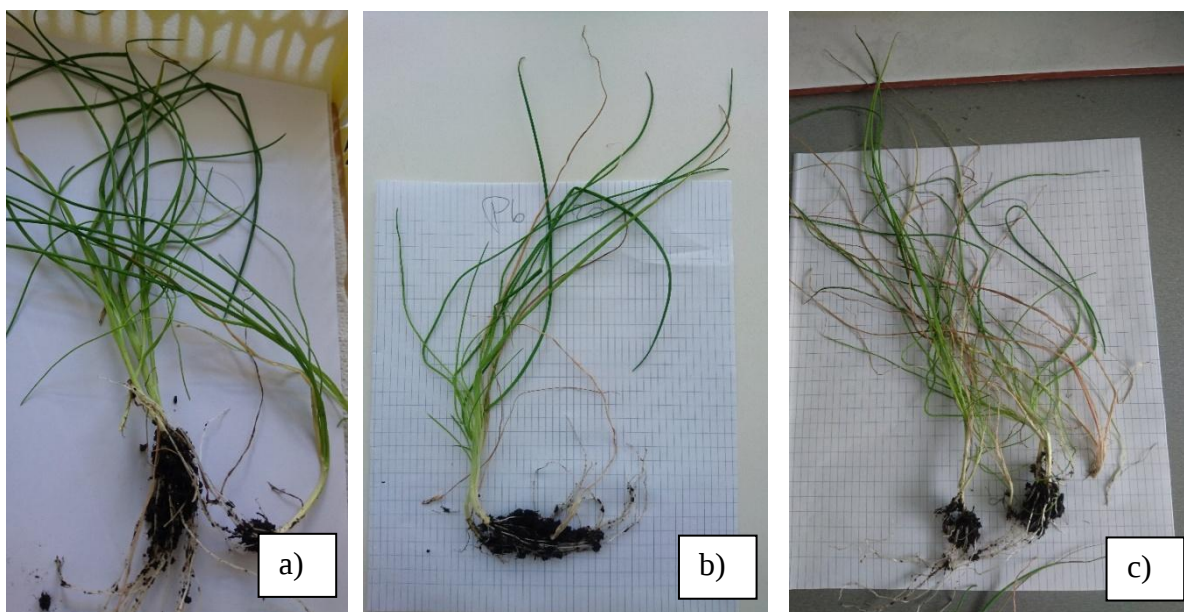
3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. VIZUALNA KARAKTERIZACIJA UZORAKA VLASCA

Na slikama 3.1.-3.8. prikazane su tegle vlasca, kao i sabrani uzorci vlasca koji su se tretirali u periodu od mjesec dana. Prikazan je izgled biljke na samom početku te svakih deset dana do konačnog branja biljke.



Slika 3.1. Izgled biljke nakon tretiranja vlasca vodenom otopinom olovljevog(II) nitrata: a) početni uzorak vlasca; b) vlasac nakon 10 dana tretiranja; c) vlasac nakon 20 dana tretiranja; d) vlasac nakon 30 dana tretiranja

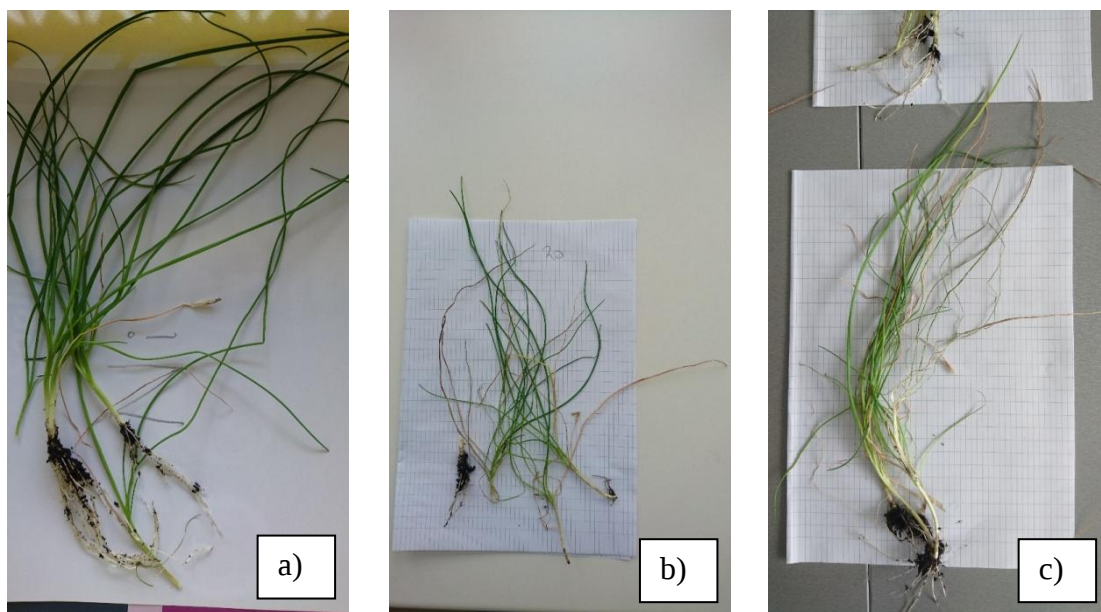


Slika 3.2. Izgled sabranog uzorka vlasca nakon tretiranja s vodenom otopinom olovljevog(II) nitrata: a) vlasac nakon 10 dana tretiranja; b) vlasac nakon 20 dana tretiranja; c) vlasac nakon 30 dana tretiranja

Iz slika 3.1.-3.2. uočava se da je vlasac nakon deset dana tretiranja otopinom olovljevog(II) nitrata ostao nepromijenjen dok su nakon dvadesetog dana tretiranja listovi počeli mijenjati boju. Razlog tome leži upravo u činjenici da biljka usvaja olovo preko korijena, a olovo u biljkama smanjuje sadržaj pigmenta i intenzitet fotosinteze.¹⁷ Nakon trideset dana tretiranja vodenom otopinom olovljevog(II) nitrata veliki broj listova se stanjio i osušio te se uočavaju znakovi propadanja biljke. Usprkos tome, vlasac u periodu tretiranja nije napao niti jedan nametnik.



Slika 3.3. Izgled biljke nakon tretiranja vlasca vodenom otopinom niklovog(II) nitrata heksahidrata: a) početni uzorak vlasca; b) vlasac nakon 10 dana tretiranja; c) vlasac nakon 20 dana tretiranja; d) vlasac nakon 30 dana tretiranja

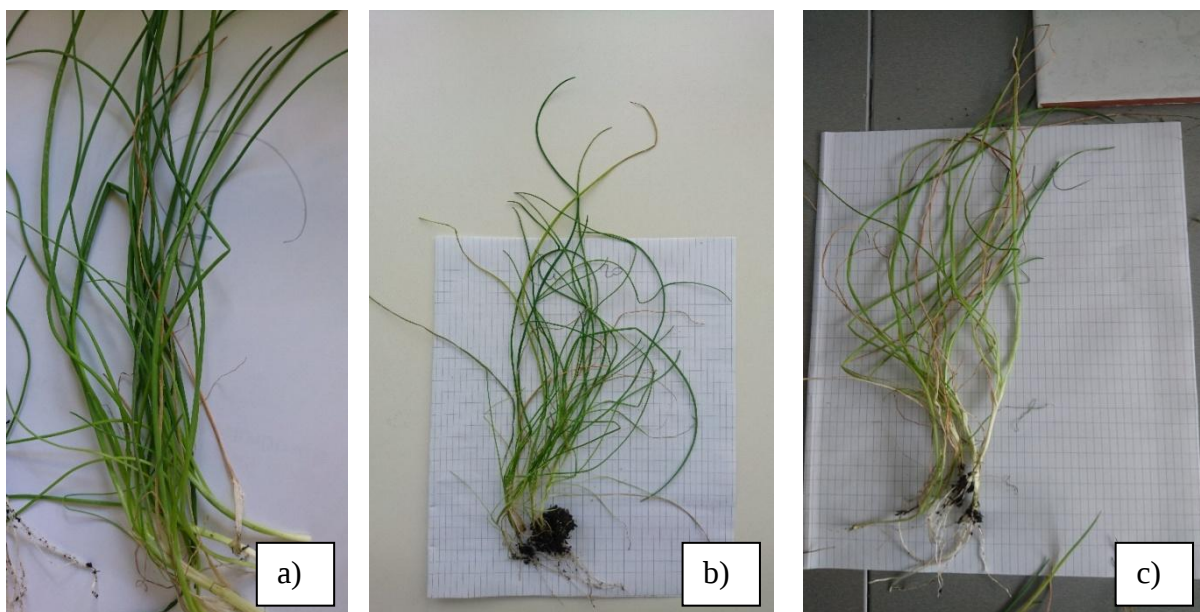


Slika 3.4. Izgled sabranog uzorka vlasca nakon tretiranja s vodenom otopinom niklovog(II) nitrata heksahidrata: a) vlasac nakon 10 dana tretiranja; b) vlasac nakon 20 dana tretiranja; c) vlasac nakon 30 dana tretiranja

Iz slika 3.3.-3.4. uočava se da vlasac tretiran s vodenom otopinom niklovog(II) nitrata heksahidrata napreduje s vremenom. Nakon desetog i dvadesetog dana tretiranja listovi su postajali sve deblji, duži i tamniji. Nakon trideset dana tretiranja uočava se da se listovi postepeno počinju sušiti, ali ako se uspoređi izgled s referentnim uzorkom i dalje su bujni iz čega se može pretpostaviti da nikal pogoduje vlasцу.



Slika 3.5. Izgled biljke nakon tretiranja vlasca vodenom otopinom bakrovog(II) sulfata pentahidrata: a) početni uzorak vlasca; b) vlasac nakon 10 dana tretiranja; c) vlasac nakon 20 dana tretiranja; d) vlasac nakon 30 dana tretiranja

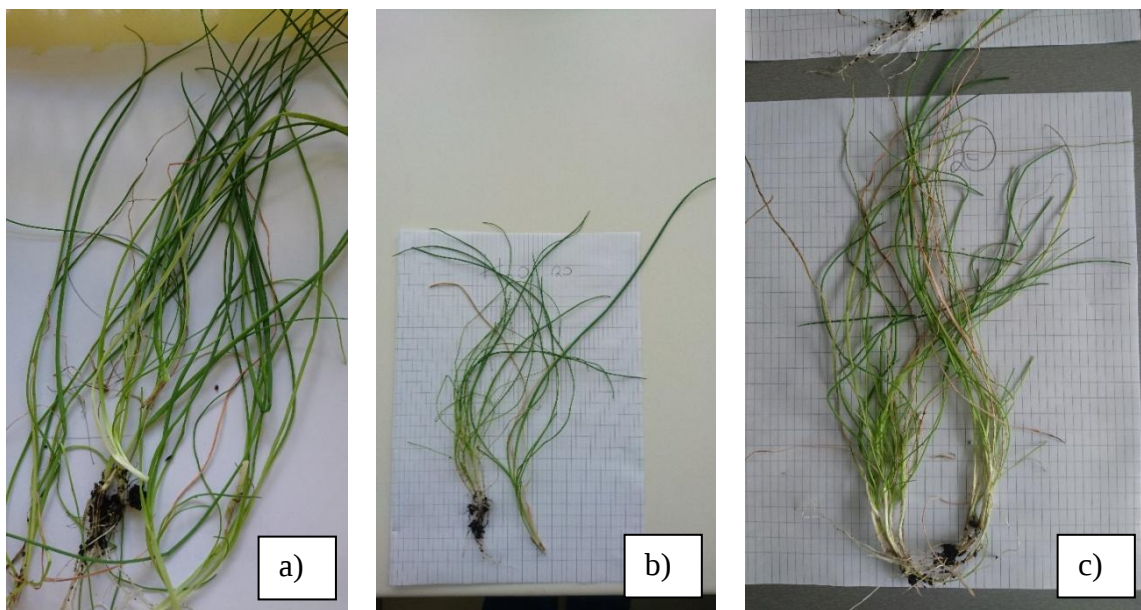


Slika 3.6. Izgled sabranog uzorka vlasca nakon tretiranja s vodenom otopinom bakrovog(II) sulfata pentahidrata: a) vlasac nakon 10 dana tretiranja; b) vlasac nakon 20 dana tretiranja; c) vlasac nakon 30 dana tretiranja

Iz slika 3.5.-3.6. uočava se da vlasac tretiran s vodenom otopinom bakrovog(II) sulfata pentahidrata slabi tijekom cijelog perioda tretiranja. Veće promjene se uočavaju nakon dvadesetog i tridesetog dana gdje listovi postaju sve tanji i znatno se suše. Da je ovaj vlasac podlijegao znatnoj razini stresa očituje se i u tome da je jedini napadnut biljnim ušima, koje su nakon konzumacije vlasca i same uginule.



Slika 3.7. Izgled biljke nakon tretiranja vlasca vodovodnom vodom: a) početni uzorak vlasca; b) vlasac nakon 10 dana tretiranja; c) vlasac nakon 20 dana tretiranja; d) vlasac nakon 30 dana tretiranja



Slika 3.8. Izgled sabranog uzorka vlasca nakon tretiranja vodovodnom vodom: a) vlasac nakon 10 dana tretiranja; b) vlasac nakon 20 dana tretiranja; c) vlasac nakon 30 dana tretiranja.

Vlasac tretiran s vodovodnom vodom je poslužio kao kontrolni uzorak. I kod njega se uočava sušenje listova tijekom perioda zalijevanja. Ukoliko se uspoređi izgled vlasca zalijevanog s vodom s onima koji su zalijevani vodenim otopinama olovljevog(II) nitrata i niklovog(II) nitrata heksahidrata uočava se kako se vlasac ponaša na sličan način, tj. došlo je do približno jednakog načina sušenja vlasca.

3.2. HIPERAKUMULACIJA TEŠKIH METALA

U okviru ovog diplomskog rada istraženi su utjecaji tri metala (olovo, nikal i bakar) na rast i razvoj vlasca te sposobnost vlasca da ih akumulira u svojim organima. U tablicama 3.1.-3.4. su prikazani eksperimentalni podatci dobiveni nakon analize otopina vlasca spektrometrijom masa s induktivno spregnutom plazmom (HR ICP-MS). U svakoj otopini su izmjerene koncentracije teških metala s kojima je vlasac tretiran, a to su: olovo, nikal i bakar. Također su izmjerene i koncentracije nekih od osnovnih metala koji su bitni za rast i razvoj biljaka, a to su: željezo, kadmij, cink i mangan. Rezultati su podijeljeni u četiri tablice ovisno o otopini s kojom su tretirani u periodu od mjesec dana.

Tablica 3.1. Koncentracije teških metala detektirane u vlasu tretiranom vodenom otopinom olovljevog(II) nitrata

Vlasac tretiran s $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	Koncentracija teškog metala ($\mu\text{g g}^{-1}$)						
	Pb	Ni	Cu	Fe	Cd	Zn	Mn
10	1117,986	5,189	14,961	37,738	0,173	48,384	86,656
20	1898,085	5,886	11,601	56,540	0,232	76,349	123,958
30	1504,642	2,101	19,177	37,658	0,114	39,107	58,673

Tablica 3.2. Koncentracije teških metala detektirane u vlasu tretiranom vodenom otopinom niklovog(II) nitrata heksahidrata

Vlasac tretiran s $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Koncentracija teškog metala ($\mu\text{g g}^{-1}$)						
	Pb	Ni	Cu	Fe	Cd	Zn	Mn
10	71,207	303,975	14,842	57,498	0,135	38,807	60,799
20	82,244	529,792	8,541	63,262	0,215	51,015	61,439
30	1,430	447,672	5,293	45,486	0,149	43,815	57,599

Tablica 3.3. Koncentracije teških metala detektirane u vlasu tretiranom vodenom otopinom bakrovog(II) sulfata pentahidrata

Vlasac tretiran s $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Koncentracija teškog metala ($\mu\text{g g}^{-1}$)						
	Pb	Ni	Cu	Fe	Cd	Zn	Mn
10	51,769	3,365	151,660	40,514	0,112	33,981	44,898
20	19,569	4,435	897,184	54,624	0,260	69,037	71,424
30	24,408	3,771	361,542	42,754	0,148	39,746	54,193

Tablica 3.4. Koncentracije teških metala detektirane u vlasu tretiranom vodovodnom vodom

Vlasac tretiran s H_2O	Koncentracija teškog metala ($\mu\text{g g}^{-1}$)						
	Pb	Ni	Cu	Fe	Cd	Zn	Mn
10	30,168	4,417	26,851	47,736	0,166	36,470	65,275
20	28,780	12,413	13,982	92,354	0,149	60,467	44,679
30	2,475	12,073	10,243	54,022	0,203	69,684	60,503

S obzirom na dobivene podatke, a koji su prikazani u tablicama 3.1.-3.3. uočava se da je kod svake biljke koja je tretirana odgovarajućom vodenom otopinom teškog metala izmjerena najviša koncentracija tog metala u dvadesetom danu tretiranja nakon kojeg koncentracije počinju opadati. Iz navedenih rezultata se može zaključiti kako je upravo tada postignut maksimum usvajanja odabranog teškog metala te nakon toga biljka više nije u mogućnosti usvajati novu količinu teškog metala.

Izmjerene koncentracije odabranih teških metala upućuju na zaključak kako je biljka vlasac potencijalno hipertolerantna biljka s obzirom na usvajanje nikla, možda i bakra, dok koncentracije izmjerene za olovo upućuju na zaključak kako bi se vlasac mogao razmatrati kao potencijalni hiperakumulator olova jer je u svim uzorcima koji su tretirani s vodenom otopinom olovljelog(II) nitrata njegova koncentracija viša od $1000 \mu\text{g g}^{-1}$, štoviše, za uzorak uzet nakon dvadesetog dana tretiranja njegova izmjerena koncentracija je nešto malo niža od $2000 \mu\text{g g}^{-1}$.

Olovo u većim koncentracijama utječe na morfološko-anatomsku građu biljaka inhibiranjem izduživanja korijena i rasta listova, kao i procesa fotosinteze, međutim, kod vlasca se to nije dogodilo. Listovi su i dalje rasli. Zanimljiva je činjenica da je jedino kod vlasca koji je tretiran s otopinom olova korijen bio značajno duži i svjetliji, ali tanji nego kod svih ostalih uzoraka. Olovo u biljkama snižava količinu željeza što se može uočiti usporedbom dobivenih rezultata s izmjerenim vrijednostima u ostalim uzorcima vlasca koji su tretirani drugim otopinama.

Vlasac tretiran s niklom je u odnosu na sve ostale uzorke jako dobro reagirao na nikal te su njegovi listovi bili dvostruko deblji, odnosno "mesnatiji" i tamniji. Nikal pomaže biljci prilikom apsorpcije željeza što posebno dolazi do izražaja u uzorku vlasca koji je sabran nakon desetog dana tretiranja vlasca s otopinom nikla, čija je izmjerena koncentracija znatno viša nego u svim ostalim uzorcima te iznosi $57,498 \mu\text{g g}^{-1}$.

Što se tiče vlasca koji je tretiran s vodenom otopinom bakrovog(II) sulfata pentahidrata, koncentracija izmjerena nakon dvadesetog dana tretiranja je dala naznake da bi se vlasac mogao smatrati hiperakumulatorom bakra. Međutim, bakar je toliko oslabio vlasac da su ga uspjele napasti biljne uši te se počeo sušiti. No usprkos tome, i dalje bi se uspjeli razviti novi listovi kad bi se vlasac podrezao. Također, biljne uši su nakon konzumiranja vlasca uginule. Isto tako, povećana kiselost tla može dovesti do povećanog usvajanja bakra, do čega je vjerojatno i došlo u ovom slučaju s obzirom da je izmjerena pH vrijednost tla koje je bilo tretirano s otopinom bakra iznosila 6,05 što tlo kategorizira u umjereno kisela tla.¹⁸

Vrijednosti izmjerenih koncentracija željeza, cinka, mangana i kadmija se nalaze u preporučenim granicama. Zanimljivo je također da bi olovo trebalo utjecati na smanjenje koncentracije mangana u biljci, no naprotiv, u vlasцу koji je tretiran otopinom olova izmjerena je najviša koncentracija mangana u odnosu na ostale uzorke. Mangan ima jako bitnu fiziološku ulogu. Ulazi u sastav mnogih enzima, a neophodan je u procesu fotosinteze. Potreban je svim biljnim vrstama u određenim količinama te djeluje stimulirajuće prilikom apsorpcije kisika, fosfora i kalija te na prijenos i akumulaciju šećera u biljkama.⁹

4. ZAKLJUČAK

Zadatak diplomskog rada je bio ispitati utjecaj zalijevanja biljke vlasca otopinama teškog metala (nikal, bakar i olovo) na sposobnost hiperakumulacije odabranih teških metala u vlasu. Na temelju dobivenih eksperimentalnih podataka može se zaključiti:

- Vlasac tretiran vodenim otopinama olova i nikla počinje pokazivati znakove stresa tek nakon dvadesetog dana tretiranja odabranim otopinama što se očituje u sušenju listova.
- Vlasac tretiran vodenom otopinom bakra pokazuje znakove stresa tijekom cijelog perioda tretiranja te su ga jedinog napale biljne uši. No usprkos tome, biljka se uspjela obraniti i djelomično oporaviti.
- Svaki vlasac tretiran odgovarajućom vodenom otopinom teškog metala ima izmjerenu najvišu koncentraciju tog metala u dvadesetom danu tretiranja. Nakon dvadesetog dana koncentracije počinju opadati. Nakon dvadesetog dana biljka više nije u mogućnosti usvajati novu količinu teškog metala.
- Izmjerene koncentracije odabranih teških metala upućuju na zaključak kako je biljka vlasac hipertolerantna biljka s obzirom na usvajanje nikla, a moguće i na usvajanje bakra, ali bi bakar trebalo dodatno istražiti. Vlasac tretiran s niklom je u odnosu na sve ostale uzorke jako dobro reagirao na nikal te su njegovi listovi bili dvostruko deblji i tamniji.
- Izmjerene koncentracije za olovo govore kako bi se vlasac mogao razmatrati kao potencijalni hiperakumulator olova jer je u svim uzorcima koji su tretirani s vodenom otopinom olovljevog(II) nitrata njegova koncentracija viša od $1000 \mu\text{g g}^{-1}$.

5. LITERATURA

1. *N. Rasico, 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.
2. *O. V. Sing, S. Labana, G. Pandey, R. Budhiraja, R .K. Jain*, Phytoremediation: an overview of metallion decontamination from soil, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **61** (2003) 405-412.
3. URL:https://bib.irb.hr/datoteka/582661.Hiperakumulatori_tekih_metala.pdf (10.7.2018.)
4. WHO, Health and environment in sustainable development, Geneva: WHO, 1997.
5. URL:<http://www.poliklinika-harni.hr/Teski-metali.aspx> (10.7.2018.)
6. *X. Yang, Y. Feng, Z. He, P. J. Stoffella*, Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation, *J. Trace Elem. Med. Biol.* **18** (2005) 339-353.
7. URL:<http://www.pmf.ni.ac.rs/pmf/master/hemija/doc/2015-07-15-gg.pdf> (1.9.2018.)
8. *V. Vukadinović, Z. Lončarić*, Ishrana bilja, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek, 1998.
9. *V. Mickovski Stefanović*, Uticaj genotipa i lokaliteta na dinamiku akumulacije teških metala u vegetativnim organima pšenice, Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni Fakultet, Beograd, 2012.
10. *G. Grozdić*, Određivanje sadržaja metala u biljnim vrstama, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet u Nišu, Niš, 2015.
11. *M. R. Macnair*, The hyperaccumulation of metals by plants, *Adv. Bot. Res.* **40** (2003) 63-105.
12. *P. Ahmad*, Plant metal interaction: Emerging remediation techniques, Elsevier, 2016.
13. URL:<http://www.biovrt.com/ljekovito-i-zacinsko-bilje-2/vlasac-allium-schoenoprasum> (7.9.2018.)
14. URL:<https://www.krenizdravo.rtl.hr/prehrana/zacini/vlasac-dobrobiti-za-zdravlje-uzgoj-i-upotreba> (7.9.2018.)
15. URL:<https://hirc.botanic.hr/fcd/DetaljiFrame.aspx?IdVrste=763&taxon=Allium+schoenoprasum+L.> (6.9.2018.)

16. URL:<https://www.irb.hr/Istrazivanja/Kapitalna-oprema/HR-ICPMS-maseni-spektrometar-visoke-rezolucije-s-induktivno-spregnutom-plazmom-Element-2-Thermo> (28.8.2018.)
17. URL:<http://www.ekoforumzenica.ba/pdf/teski%20metali%20u%20biljkama%20ZENICA.pdf> (24.8.2018.)
18. *I. Majić*, Utjecaj zalijevanja vlasca vodenim otopinama teških metala (Pb, Ni, Cu) na pH vrijednosti tla, Završni rad, Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu, Split, 2018.