Fitoakumulacija teških metala iz tla korištenjem konoplje (Cannabis sativa L.)

Kožul, Mateo

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:320671

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

FITOAKUMULACIJA TEŠKIH METALA IZ TLA KORIŠTENJEM KONOPLJE (*Cannabis sativa* L.)

DIPLOMSKI RAD

Mateo Kožul

Zagreb, listopad, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:

Agroekologija - agroekologija

FITOAKUMULACIJA TEŠKIH METALA IZ TLA KORIŠTENJEM KONOPLJE (*Cannabis sativa* L.)

DIPLOMSKI RAD

Mateo Kožul

Mentor: Prof. dr. sc. Ivica Kisić

Zagreb, listopad, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Mateo Kožul**, JMBAG 017809040, rođen 27.11.1992. u Wroclawu, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

FITOAKUMULACIJA TEŠKIH METALA IZ TLA KORIŠTENJEM KONOPLJE (*Cannabis sativa* L.)

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana 31.10.2018.

_____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice **Mateo Kožul**, JMBAG 017809040, naslova

FITOAKUMULACIJA TEŠKIH METALA IZ TLA KORIŠTENJEM KONOPLJE (*Cannabis sativa* L.)

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo: potpisi:

- prof.dr.sc. Ivica Kisić mentor _____
- prof.dr.sc. Milan Pospišil član _____
- izv.prof.dr.sc. Željka Zgorelec član _____

SADRŽAJ

SADRŽAJ
SUMMARY
1. UVOD....1
2. PREGLED LITERATURE....2
2.1. Botanička klasifikacija konoplje....2
2.2. Morfologija industrijske konoplje....4
2.2.1. Korijen....4
2.2.2. Stabljika....5
2.2.3. List....6
2.2.4. Cvijet i cvat....6
2.2.5. Plod....8
2.3. Fitoremedijacija....9
2.3.1. Fitoakumulacija…….....12
2.3.2. Fitostabilizacija....13
2.3.2. Fitovolatizacija....14
2.4. Teški metali....16
2.4.1. Značajke pojedinačnih teških metala....18
2.4.2. Uzgoj konoplje na tlima zagađenim teškim metalima....24
3. MATERIJALI I METODE....26
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA....29
4.1. Sadržaj teških metala u biljci....29
4.2. Uklanjanje pojedinačnih elemenata kroz biljku....31
4.3. Koeficijent biološke adsorpcije (BAC)....32
4.4. Translokacijski koeficijent (TC)....35
5. ZAKLJUČAK....36
6. POPIS LITERATURE....37
ŽIVOTOPIS

SAŽETAK

Diplomskog rada **Matea Kožula**, naslova

FITOAKUMULACIJA TEŠKIH METALA IZ TLA KORIŠTENJEM KONOPLJE (Cannabis sativa L.)

Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je jednogodišnja, zeljasta biljka iz porodice konoplji (*Cannabaceae*), roda *Cannabis.* Vrsta *Cannabis sativa* ima tri podvrste: *Cannabis sativa* L. *ssp*. *sativa, Cannabis sativa* L. *ssp. indica, Cannabis sativa* L. *ssp. ruderalis.* Porijeklom je iz središnje Azije. Industrijska konoplja (*Cannabis sativa* L.) se stoljećima proizvodi za dobivanje vlakna i sjemena.

Ciljevi ovog istraživanja su utvrditi mogućnost akumulacije teških metala iz tla korištenjem četiri sorte konoplje (Fedora 17, Fibrol, Futura 75 i Santhica 27) pri alkalnoj i kiseloj reakciji tla, te provjeriti hipotezu je li konoplja hiperakumulator teških metala.

Na usvajanje teških metala (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Cr, Hg, Co, Mo i As) mjerenih u korijenu konoplje, stabljici i listu, u najvećoj je mjeri utjecala reakcija tla (pH). Temeljem ovog istraživanja utvrđeno je da se sorta Fibrol može koristiti za uklanjanje teških metala iz tla. Nadalje, konoplja je pokazala sposobnost uklanjanja najvećih količina cinka (do 27,1 kg ha^{-1}) dok je kod ostalih elemenata zabilježen niži stupanj uklanjanja (<0.80 kg ha^{-1}). Najveći koeficijent biološke apsorpcije u alkalnom tlu imala je sorta Fibrol za molibden (BAC = 2,65) dok je u kiselom tlu imala Fedora 17 za kadmij (BAC = 16,1).

Budući da teški metali u sjemenu ograničavaju upotrebu konoplje u prehrambene svrhe, oni ne utječu na kvalitetu vlakna. Takva se kontaminirana vlakna mogu koristiti u proizvodnji kombiniranih materijala ili proizvodnji energije u kogeneracijskim postrojenjima.

Ključne riječi: hiperakumulator, industrijska konoplja, teški metali

SUMMARY

Of the master's thesis- student **Mateo Kožul**, entitled

PHYTOACCUMULATION OF HEAVY METALS FROM THE SOIL USING HEMP (Cannabis sativa L.)

Hemp (*Cannabis sativa* L.) is annual plant from Cannabaceae family. Cannabis genus consists of one species Cannabis sativa, and three subspecies; Cannabis sativa L. ssp. sativa, Cannabis sativa L. ssp. indica, Cannabis sativa L. ssp. Ruderalis. Originally from Central Asia. Industrial hemp (Cannabis sativa L.) has been manufactured for it's fiber and seeds for centuries.

The objectives of this research were to determine the possibility of accumulation of heavy metals from the ground using four strains of hemp (Fedora 17, Fibrol, Futura 75 and Santhica 27) at different soil reaction values, and to verify the hypothesis of hemp being hyperaccumulator of heavy metals.

The pH values of soil were the main factor affecting he adoption of the tested metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Cr, Hg, Co, Mo and As) measured in the roots of hemp, stems and leaves. Based on this research it is concluded that the Fibrol variety can be used to remove heavy metals. Furthermore, hemp showed the ability to remove the largest amounts of zinc (up to 27.1 kg ha^{-1}) while other elements had a lower degree of removal (<0.80 kg ha^{-1}). Moreover, the highest degree of absorption in the alkaline soil had the Fibrol variety (Mo - BAC = 2.65) while in the acidic soil it had Fedora 17 (Cd - BAC = 16.1).

Since heavy metals in the seed limits the use of hemp for nutritional purposes, they do not affect fiber quality. Such contaminated fibers can be used in the production of combined materials or energy production in cogeneration plants.

Keywords: hyperaccumulator, industrial hemp, heavy metals

1. UVOD

Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je jednogodišnja, zeljasta biljka iz porodice konoplji (*Cannabaceae*). Porijeklom je iz središnje Azije. Rod *Cannabis* se sastoji od jedne vrste *Cannabis sativa* koja ima tri podvrste: *Cannabis sativa* L. *ssp. sativa, Cannabis sativa* L. *ssp. indica, Cannabis sativa* L. *ssp. ruderalis.* S obzirom na namjenu, razlikujemo industrijsku konoplju s udjelom THC-a (tetrahidrokanabinola) manjim od 0,2 %, od psihoaktivne, odnosno, medicinske konoplje s udjelom THC-a većim od 0,2 %.

Industrijska konoplja se najčešće koristi za proizvodnju konopaca, papira, tkanine, odjeće, goriva (biodizel), građevinskog materijala, kozmetike te za ljudsku i životinjsku ishranu. Iako se uzgoj konoplje zapostavio, što zbog pronalaska drugih jeftinijih sirovina, što zbog globalizacije te promjene zakonskih regulativa, njena se višestruka korisnost ne može zanemariti.

Zbog sve većeg onečišćenja odnosno zagađenja okoliša, uzrokovanog u najvećoj mjeri ljudskom djelatnošću i nemarom sve se više istražuje upotreba konoplje na području sanacije tla. Najveći su problem tla onečišćena anorganskim onečišćenjima tj. teškim metalima. Jedna od najjeftinijih mjera je sanacija onečišćenih tala fitoremedijacijom ili fitoakumulacijom, odnosno korištenjem biljaka koje imaju razvijen vretenast korijen, te veliku nadzemnu masu. Jedna od takvih biljaka je konoplja (*Cannabis sativa* L.). Postoje tri oblika sanacije tla: kemijska, fizikalna i biološka. Treba naglasiti da su najbolji oblici sanacije tla oni koji su najmanje invazivni po okoliš odnosno ekosustav. Stoga se ovaj rad odnosi na biološku remedijaciju tla odnosno na fitoekstrakciju. Fitoremedijacija kao dio biološke remedijacije, je vrlo spora tehnologija, ali s druge strane ekološki prihvatljiva i ekonomski isplativa budući da koristi biljke i spada među najjeftinije metode remedijacije tla.

Cilj ovog rada je utvrditi mogućnost akumulacije teških metala iz tla korištenjem četiri sorte konoplje pri alkalnoj i kiseloj reakciji tla, te provjeriti hipotezu je li konoplja hiperakumulator teških metala.

2. PREGLED LITERATURE

Smatra se da je konoplja jedna od najstarijih kultiviranih biljnih vrsta, te da se uzgajala u staroj Kini u različite svrhe čak i prije 10.000 godina. Neki od arheoloških nalaza s područja Kine na temu konoplje datiraju sve do mlađeg kamenog doba (6.500 god. Pr. Kr.).

Najstariji poznati nalaz biljnog materijala konoplje pronađen je u više od 2.500 godina staroj grobnici Yinghai u zapadnoj Kini. Uz mumificirano tijelo pronađena je kožna košara i drvena posuda sa 789 grama biljnog materijala koji odgovara rodu *Cannabis.* Smatra se da je bio korišten u ritualne svrhe (Hong-En Jiang i sur., 2006).

Iako raste kao samonikla biljka, povijesni nalazi bilježe više tisućljeća njezinog kontinuiranog kultiviranja, prenošenja s kontinenta na kontinent kao i samostalnog širenja, što je rezultiralo izuzetnom varijabilnošću vrste.

U našem području vegetacija konoplje traje između 130 dana i 160 dana. Njezin rast je nevjerojatno brz, ali ne teče jednolično (Pospišil, 2013).

Konopljike su dobar izbor za akumulaciju metala, budući da imaju veliku nadzemnu masu i razvijen vretenast korijen. Ove tolerantne vrste mogu rasti u najzahtjevnijim uvjetima i dati dobru količinu biomase kao sekundarnog proizvoda. Također posjeduju sposobnost vrlo visoke akumulacije odnosno apsorbiranja teških metala poput olova, nikla, kadmija, cinka i kroma (Ćaćić i sur., 2018).

2.1. Botanička klasifikacija konoplje

Konoplja (*Cannabis sativa* L.) prema botaničkoj klasifikaciji pripada porodici *Cannabinaceae* (*Cannabaceae* ili *Cannabidacea*), rodu *Cannabis*. Ima samo jednu vrstu i to *Cannabis sativa* L. koja ima tri podvrste:

- *Cannabis sativa* L. *ssp*. s*ativa* (L.) Small et Cronquist
- *Cannabis sativa* L. *ssp*. *indica* (Lam.) Small et Cronquist
- *Cannabis sativa* L. *ssp*. *ruderalis* Janisch

Svaka od spomenutih podvrsta potječe iz geografski i klimatskih različitih dijelova svijeta – *Cannabis sativa ssp. sativa* je biljka uzgajana u Europi, *Cannabis sativa ssp. indica* je donesena iz Indije, *Cannabis sativa ssp. ruderalis* je divlja konoplja, odnosno kultivirana konoplja koja se prilagodila uvjetima i počela samoniklo rasti. Prema Pospišil (2013) spontano raste u cijeloj Europi kao korov, a potječe iz jugoistočnih dijelova središnje Rusije. Svaka od njih ima dva varijeteta (jedan kultivirani i jedan divlji). Prema određenim morfološkim obilježjima kultivirana se konoplja dijeli na zemljopisne tipove. Prema gospodarskoj koristi ovi se tipovi dijele na dvije skupine: predivo-sjemensku i hašišnu skupinu (Pospišil, 2013).

2.2. Morfologija industrijske konoplje

2.2.1. Korijen

Korijen konoplje je vretenastog tipa te „produžuje" stabljiku za 10 cm ispod površine tla. Korijen u početku vegetacije raste sporo. Glavno korijenje tijekom rasta razvija postrano korijenje prvog i drugog reda. U rahlim tlima prodire do dva metra dubine dok u težim samo trideset do četrdeset centimetara. Ženske biljke imaju bolje razvijen korijenov sustav (Butorac, 2009). U odnosu na nadzemnu masu korijenov sustav biljke je slabo razvijen, osobito u prvim fazama (od nicanja pa do cvatnje) kada mu je usisna moć vrlo slaba (Pospišil, 2013). Na slici 2.2.1.1. se vidi korijen u prvoj fazi nicanja te vrlo razvijen korijenov sustav u kasnijoj fazi rasta.



Slika 2.2.1.1. Korijen u prvoj fazi nakon nicanja (lijevo) i vrlo razvijen korijenov sustav (desno)

Izvor: (lijevo); *https://www.cannabis.info/modules/psblog/uploads//1503055458.jpg*

(desno): *https://www.dutch-passion.com/img/nieuws_org/am%20muddy12.JPG*

2.2.2. Stabljika

Stabljika konoplje je uspravna. U početku je zeljasta a, nakon 3 – 4 tjedna odrveni. Šuplja je, samo pri dnu i vrhu ispunjena parenhimom. Kora stabljike je svijetlo zelene do tamno zelene boje. Visina stabljike je od 0,5 – 5 m, a ovisi o genetskoj konstituciji biljke, fotoperiodu, vodozračnom režimu tla, tipu tla, hranjivima, veličini vegetacijskog prostora i spolu biljke. Stabljika se grana ovisno o veličini vegetacijskog prostora odnosno gustoći sklopa. Biljke u rjeđem sklopu granati će se više nego one u gustom sklopu. Muške biljke su 10 – 15 % više od ženskih biljaka. Stabljika raste u visinu povećavanjem broja nodija, koji nisu jasno izraženi. Smješteni su na dijelovima gdje izbijaju dva nasuprotna lista. Broj internodija varira između šest i petnaest, a njihova dužina od 5 – 40 cm. Dužina internodija pada s njihovim brojem, a najduži su internodiji na sredini stabljike. Debljina stabljike najviše ovisi o veličini vegetacijskog prostora. Na epidermi stabljike nalaze se grube dlačice. Na stabljiku otpada 60 – 65 % biljne mase (Butorac, 2009). Na slici 2.2.2.1. se može vidjeti stabljika, a na slici 2.2.2.2. poprečni presjek stabljike konoplje.



Slika 2.2.2.1. Stabljika konoplje

Izvor: *:* *https://d3atagt0rnqk7k.cloudfront.net/wp-content/uploads/2017/10/04131150/tips-for-growing-industrial-hemp-1280x800.jpg*



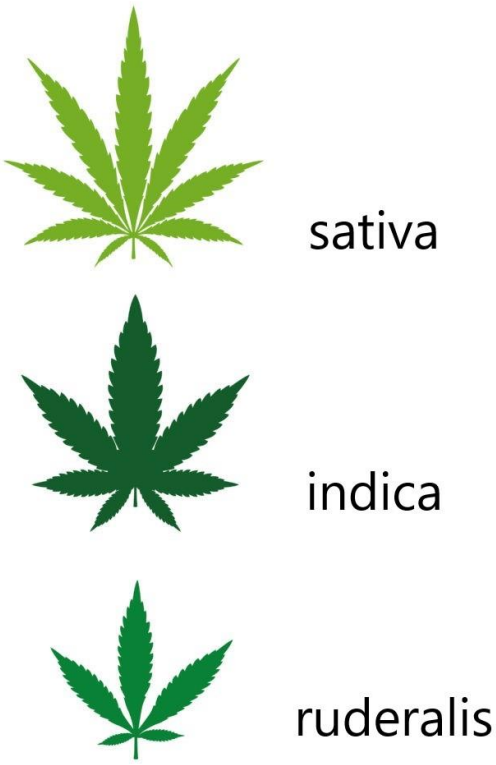
Slika 1.2.2.2. Poprečni presjek stabljike konoplje

Izvor: *https://i.pinimg.com/originals/3c/e6/ea/3ce6ea69022455055b29aa1d005ce5b7.jpg)*

2.2.3. List

Listovi konoplje su prstastog tipa rasta i sastoje se od 1-3-5-7-9-11 segmenata (slika 2.2.1.1.). Prvi par listova je jednostavan i sastoji se od jednog segmenta. Drugi par od tri, treći od pet itd. Broj se segmenata prema vrhu biljke smanjuje. Listovi su na biljci smješteni nasuprotno, a na vrhu su naizmjenično poredani. Broj i veličina listova variraju ovisno i sorti. Segmenti su u prosjeku dugi od 5 – 18 cm, a široki od 0,5 – 2,5 cm. Listovi ženskih biljaka su većih dimenzija nego kod muških biljaka. Na listove otpada od 15 – 20 % biljne mase

(Butorac, 2009). Na slici 2.2.3.1. su vidljive morfološke razlike lista različitih podvrsta konoplje.



Slika 2.2.3.1. Morfološke razlike lista kod različitih podvrsta konoplje

Izvor: *https://azarius.net/media/images/news/sativa-indica-ruderalis2.jpg*

2.2.4. Cvat i cvijet

Konoplja je dvodomna biljka što znači da ima muške i ženske biljke (Slika 2.2.4.1.) odnosno jednospolne cvjetove - muški se cvjetovi nalaze na muškim biljkama, a ženski cvjetovi na ženskim biljkama. Moguća je i pojava hermafroditizma (dvospolnost) što znači da ima i muške i ženske cvjetove na istoj biljci.

Muške se biljke zovu bjelojke jer imaju manje listova, svjetlijih su stabljika, žutih cvjetova s dugim stapkama, cvat je rahliji, cvjetovi su raspoređeni na vrhovima stabljike, a sastoji se od perigona i pet prašnika. Cvjetovi muških biljaka skupljeni su u cvat metlicu koja se nalazi na vrhu stabljike i postranih grana (Pospišil, 2013). Ženske biljke zovu se crnojke, stabljika im je intenzivnije zelene boje, cvjetovi su sjedeći i smješteni u pazušcima listova, često jedan od dva cvijeta abortira. Cvjetovi zauzimaju gornju trećinu stabljike i čine cvat, a cvijet se sastoji od ovojnog listića, perigona i tučka s dvije njuške (Butorac, 2009). Ženska cvat je robusnija, lisnatija i kompaktnija od muške cvati. U odnosu na muške biljke, ženske cvjetaju istodobno (srednjeruski tip) ili 10 do 15 dana ranije (talijanski tip). Cvjetanje muških biljaka traje 15 do 35 dana, a ženskih do 30 dana. Biljke konoplje srednjeruskog tipa u našim krajevima cvatu već krajem lipnja ili početkom srpnja, dok talijanski tip konoplje počinje cvasti krajem srpnja, a završava početkom kolovoza (Butorac, 2009).



Slika 2.2.4.1. Ženski cvat (lijevo) i muški cvat (desno)

Izvor: *http://www.ilovegrowingmarijuana.com/assets/img/comp/ilovegrowingmarijuana.com/male-or-female-how-to-sex-outdoor-marijuana-plants-36181-w800.jpg*

2.2.5. Plod

Plod konoplje je orašac (Slika 2.2.5.1.), omotan tvrdom ljuskom koja štiti sjeme pa se s agronomskog aspekta smatra sjemenom. Može biti dugačak od 2,5 – 5 mm, širok 2 – 4 mm i visok 2 – 3,5 mm, ovisno o sorti (Butorac, 2009). Plod se sastoji od ljuske ploda, sjemene ljuske, endosperma i klice. Embrio je bijele boje, povijen i potpuno ispunjava unutrašnjost sjemenke. Prema tome, endosperma ima malo ili ništa. Boja ploda ovisi o podrijetlu, zrelosti, sorti itd. Masa 1.000 sjemenki varira od 13 – 25 g ovisno o tipu konoplje (Pospišil, 2013).



Slika 2.2.5.1. Plod konoplje

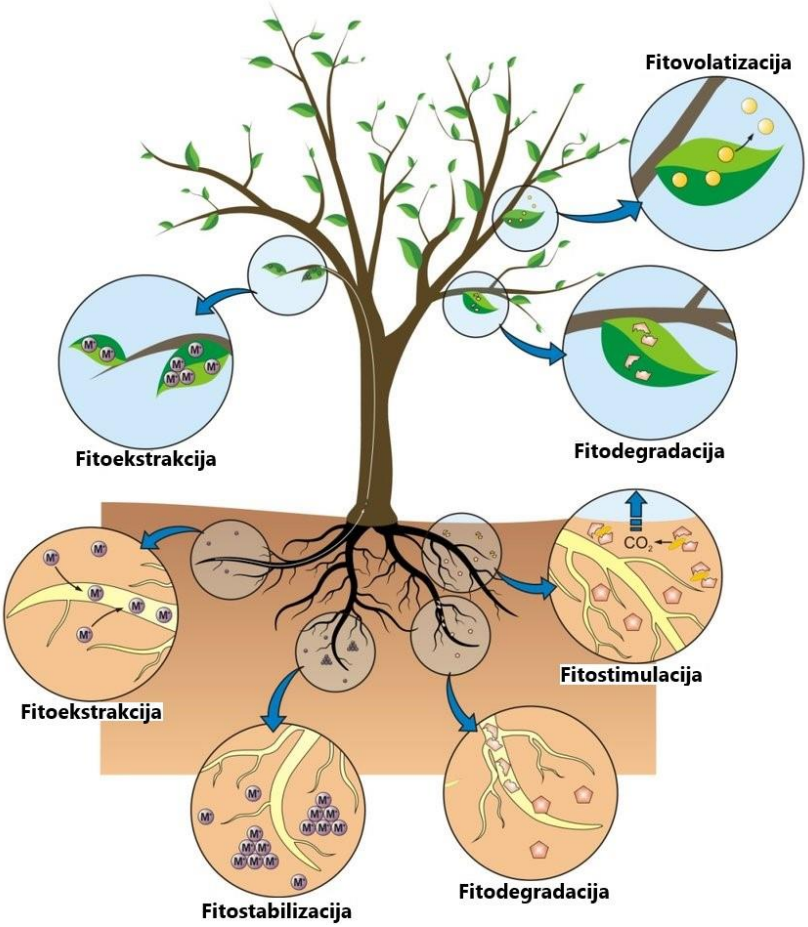
Izvor: *https://nuts.com/images/auto/510x340/assets/26918c3f7d1fc234.jpg*

2.3. Fitoremedijacija

U doslovnom prijevodu, riječ fitoremedijacija se prevodi kao "ozdravljenje tla". Dolazi od staro-grčke riječi phyto (biljka) i latinske riječi remedium (ozdravljenje, lijek). Prema američkoj agenciji za zaštitu okoliša (USA EPA), fitoremedijacija definirana je kao tehnologija koja se koristi biljkama i njihovim rizosferičnim mikroorganizmima pri uklanjanju, degradaciji ili zadržavanju štetnih kemijskih tvari u tlu, podzemnim i površinskim vodama te atmosferi. Fitoremedijacija je samo jedna od bioloških metoda sanacije onečišćenih tala i voda. Biološke metode remedijacije uključuju procese u kojima se primjenjuju mikroorganizmi i kisik (bioremedijacija) te remedijaciju pomoću biljaka (fitoremedijacija).

Ideja o dekontaminaciji okoliša koristeći zelene biljke nije nova. Prije gotovo 300 godina predloženo je da se biljke koriste za tretiranje otpadnih voda. Potkraj devetnaestog stoljeća *Thlaspi caerulescens* i *Viola calaminaria* bile su prve biljne vrste kod kojih je dokumentirano da akumuliraju visoke količine teških metala u lišću. Do danas je zabilježeno da postoji 420 biljnih vrsta u oko 45 porodica za koje je poznato da imaju hiperakumulatorska svojstva za teške metale (Leong, 2013).

Biološke metode remedijacije su bilo koje metode koje se koriste biljkama ili mikroorganizmima. Postoji više procesa kod kojih se mikroorganizmi i biljke mogu iskoristiti za remedijaciju onečišćenih tala, sedimenata i voda (Slika 2.3.1.). Ovisno o strategiji pročišćavanja tim se procesima blokira ili uklanja onečišćivač iz tla uz pomoć biljke. Za strategiju blokiranja primjenjuje se fitostabilizacija biljkama koje su tolerantne na metale kako bi se mehanički stabilizirala onečišćena tla te spriječila erozija i transport zrakom na druge ekosustave. Ispiranje onečišćivača može biti smanjeno zbog više stope evapotranspiracije povezane s ogoljelim tlima. Proces fitoimobilizacije sprječava pomicanje i transport otopljenih sastavnica upotrebom biljaka koje minimaliziraju mobilnost onečišćivača u tlima. Fitoekstrakcijom mogu se iz tla izvući metali i organske sastavnice izravnom apsorpcijom korijena i translokacijom u biomasu iznad tla. Fitodegradacijom postiže se unos i unutarnja razgradnja biljke i/ili mikrobna razgradnja organskih onečišćivača u rizosferi uz pomoć biljke. Fitovolatizacija uključuje specijalne enzime koji mogu transformirati, razgraditi i ispariti onečišćivače u sustavu mikroorganizmi tla – biljka – atmosfera (Kisić, 2012).



Slika 2.3.1. Shematski prikaz fitoremedijacije

Izvor: https://image.slidesharecdn.com/phytoremediation-150306015346-conversion-gate01/95/phytoremediation-1-638.jpg?cb=1425606957

Kao i sve druge metode sanacije, tako i ova metoda ima svoje prednosti i mane. Glavne prednosti fitoremedijacije mogu se sagledati s ekološkog te financijskog aspekta budući da je ekološki prihvatljiva zbog korištenja biljaka i ne narušava prirodnu ravnotežu kao kod iskopavanja, spaljivanja i drugih metoda koje su kobne za ekosustav te zbog toga što spada među financijski najprihvatljivije metode. Naime jasno je, da je kod ove metode jedan od ključnih faktora osjetljivost same biljke na onečišćujuću tvar koju treba sanirati. Takve biljke se nazivaju hiperakumulatori. Hiperakumulatori su biljne vrste koje su tolerantne na visoke koncentracije toksičnih tvari u korijenu i nadzemnoj biljnoj masi.

Da bi pojedina biljka bila svrstana u grupu hiperakumulatora, ona u suhoj tvari nadzemne biljne mase mora imati minimalno 0,001 % Hg, 0,01 % Cd i Se; 0,1 As, Ca, Cu, Cl, Ni, Pb, Sb, Se i Tl odnosno 1 % Zn i Mn (Kisić, 2012). Također da bi biljka bila svrstana u grupu hiperakumulatora, na njoj se ne smiju vidjeti nikakve promjene uzrokovane povećanim sadržajem teških metala. Postoje dvije vrste hiperakumulatora, obligatni (koji mogu preživjeti samo uz prisutnost metala) i fakultativni (koji mogu tolerirati takve uvjete ali nisu ograničeni samo na njih). Uglavnom se mogu naći kao specijalizirana flora na područjima gdje je utvrđeno povećano onečišćenje. Nemaju prirodnih neprijatelja jer visokim koncentracijama teških metala odbijaju kukce, bakterije i gljivice. Kod većine biljaka otpornost na visoke koncentracije teških metala očituje se u izoliranju metala iz protoplasta. Neke biljke aktivno uzimaju metale, što dovodi do akumulacije na mnogo većoj razini koja nadmašuje onu u tlu. Metali se kod njih nakupljaju u epidermi lista, u fiziološki inertnim, ali živim stanicama (Kisić, 2012).

Većina hiperakumulatorskih biljaka pojavljuje se na tlima koja su se razvila na serpentinu ili tlima koja imaju mnogo minerala hemimorfita u matičnoj stijeni. Te biljne vrste imaju sposobnost brzog translociranja elemenata kroz korijen u nadzemni dio biljke (Kisić, 2012).

Danas znamo mnogo više o mehanizmu tolerancije biljaka prema teškim metalima i učinkovitosti biljke u preuzimanju, translokaciji i daljnjoj sekvestraciji teških metala u specijaliziranim tkivima (u trihomima i organelama kao što su vakuole). Evidentno je da apsorpcija metala ovisi o njihovoj biodostupnosti, a biljke su razvile i mehanizme za povećanje bioraspoloživosti mikronutrijenata; u nekim slučajevima biljke su razvile otpornost na visoke koncentracije teških metala, u osnovi dva mehanizma, izbjegavanje i tolerancija. U mehanizmu izbjegavanja, isključenje metala izvan korijena je postignuto, a kod mehanizma tolerancije glavni se proces sastoji u kompleksiranju metala kako bi se spriječila inaktivacija proteina i enzima (Leong, 2013).

Također ograničavajući faktori za uspješnu fitoremedijaciju su velika nadzemna masa te duljina korijena biljke i njegova razgranatost budući da korijen mora biti u kontaktu s onečišćivačem. Najbolje bi bilo da biljka ima veliku nadzemnu masu te da je korijen razgranat, čupav i pun korijenovih dlačica. Jedna od biljnih vrsta s takvim korijenom i

velikom nadzemnom masom je i konoplja (*Cannabis sativa* L.). Na tablici 2.3.1. mogu se vidjeti prednosti i nedostatci fitoremedijacije.

Tablica 1.3.1. Prednosti i nedostatci fitoremedijacije

Prednosti fitoremedijacije	Nedostatci fitoremedijacije
• Zelena ekološki prihvatljiva tehnologija • Mnogo jeftinija u odnosu na ostale metode • Mali volumen otpada • Krajobrazno prihvatljivija • Poboljšava bioraznolikost • Prihvaća ju lokalna zajednica • Protuerozijska mjera • Smanjuje emisiju čestica tla u zrak • Ne narušava strukturu tla • Prihvatljiva na većim površinama	• Potrebno duže vremensko razdoblje i do 15 godina • Ograničenje primjene samo na dubinu korijena • Fitotoksična ograničenja • Ponekad nejasna sudbina onečišćene biljne mase • Ovisnost o vremenskim prilikama, godišnjim dobima i stadiju razvoja biljke • Potencijalna opasnost od prijenosa onečišćivača prema životinjama ili u zrak • Autohtonost biljaka • Mogućnost onečišćenja podzemnih voda

Izvor: Kisić, 2012

2.3.1. Fitoakumulacija

Fitoakumulacija je sposobnost biljke da apsorbira određene onečišćivače, odnosno oblik sanacije onečišćenog tla pri kojem se koriste više ili niže biljke koje uklanjaju onečišćenje iz tla tako što ga apsorbiraju svojim korijenovim sustavom i translociraju ih i/ili akumuliraju do nadzemnih organa. Taj koncept se naziva fitoekstrakcija. Biljke za svoj rast i razvoj ne samo da koriste makroelemente (N, P, K, Mg, Ca), već i esencijalne mikroelemente kao što su Fe, Zn, Mn, Ni, Cu i Mo. Biljke su razvile specifične mehanizme odnosno svaka biljka ima svoje vlastite mehanizme usvajanja, translociranja i skladištenja istih. Stoga dolazimo do zaključka da su neke vrste biljaka pogodne za fitoekstrakciju jednih metala, a neke vrste za ekstrakciju drugih teških metala.

Gibanje metala preko biomembrana odvija se preko transportnih proteina. Osjetljivi mehanizmi održavaju međustaničnu koncentraciju teških metala unutar fiziološkog raspona. Generalno gledajući, biljke neke ione usvajaju a neke ne. Selektivnost usvajanja iona ovisi o strukturi i svojstvima membranskih transportera. Takve karakteristike omogućuju transporterima da prepoznaju, vežu i posreduju transmembranskim transportom specifičnih iona. Na primjer, neki transporteri sudjeluju u transportu divalentnih kationa ali ne

prepoznaju mono-ili trovalentne ione. Mnogi metali kao što su Zn, Mn, Ni i Cu su esencijalni mikronutrijenti. U uobičajenim neakumulatorskim biljkama, akumulacija ovih mikronutrijenata ne prelazi koncentracije njihovih metaboličkih potreba (<10 mg kg^{-1}). Kao kontrast, hiperakumulatorske vrste mogu akumulirati vrlo visoke količine metala (tisuće ppm-a) (Lasat, 2000).

Nakon što biljke vežu teške metale, uklanjaju se s površine i spremaju u odlagališta opasnog otpada, spalionice smeća, tvornice cementa/željeza, gdje se spaljuju ili koriste za proizvodnju električne i toplinske energije kroz kogeneracijska ili trigeneracijska postrojenja. Postupak se ponavlja nekoliko puta (u skladu sa stupnjem onečišćenja ponekad je potrebno i desetljeće) kako bi se tlo što bolje očistilo te postalo pogodno za druge svrhe. Različite biljne vrste mogu usvajati teške metale pa čak i radioaktivne elemente. No problem je ove tehnike što se određeni teški metali (prije svega arsen) vrlo lako vežu na korijenski sustav biljke te se vrlo teško premještaju u njezine nadzemne dijelove. Zbog toga se pojedine biljke, iako imaju visoku akumulaciju teških metala ako se oni zadržavaju na korijenu, ne mogu primjenjivati za fitoekstrakciju (Kisić, 2012).

Uspjeh tog zahvata ovisi, između ostaloga, i o razvijenosti korijenske mreže usjeva koji se primjenjuje za fitoremedijaciju i nadzemnoj biljnoj masi. Kulture koje imaju veći i dublju korijensku masu imaju i bolje rezultate u fitoekstrakciji. Također kulture koje imaju bujnu nadzemnu biljnu masu zahvalnije su za fitoekstrakciju (Kisić, 2012).

2.3.2 Fitostabilizacija

Fitostabilizacija se definira kao imobilizacija onečišćenja u tlu absorpcijom i akumulacijom u zoni korijena ili kao korištenje biljaka u sprječavanju širenja onečišćenja erozijom vjetrom ili vodom ili ispiranja u dublje slojeve. Fitostabilizacija se obavlja kroz korijenovu zonu mikrobiološkim ili kemijskim mehanizmima same zone korijena, pri čemu nastaje promjena u reakciji tla kao posljedica izdvajanja eksudata korijenova sustava ili zbog nastajanja ugljikova dioksida. Elementarni preduvjet za odabir biljaka koje će poslužiti u fitostabilizaciji jest postojanje vrlo razgranatog (čupavog – žiličastog) korijenskog sustava te brzo formiranje nadzemne i podzemne biljne mase. Najbolji rezultati korištenjem takve metode postignuti su na tlima koja su bila onečišćena anorganskim onečišćenjima. Navedena

metoda najčešće se primjenjuje za fitostabilizaciju otvorenih rudokopa, kamenoloma i pri sanaciji deponija otpada (Kisić, 2012).

Prednost fitostabilizacije je ista kao kod fitoekstrakcije a to je ekonomičnost (zato što se tlo ne treba iskapati i transportirati). A glavni su nedostatci što onečišćenje ostaje u tlu tj. korijenovoj zoni te rizik da se onečišćenje počne razgrađivati i mogućnost ispiranja u dublje slojeve tla i podzemne vode.

2.3.3. Fitovolatizacija

Fitovolatizacija je proces usvajanja, transporta i oslobađanja onečišćujuće tvari s pomoću transpiracije kod viših biljaka uz otpuštanje onečišćujućih tvari u istome ili promijenjenom obliku u atmosferu. Početna faza je usvajanje potencijalnog onečišćenja korijenom, zatim njihovo premještanje do mjesta metaboličke promjene i sama promjena s pomoću metaboličkih mehanizama u stanicama biljnog organizma. emisija transpiracijom manje toksičnih ili netoksičnih tvari završni je stupanj tog oblika fitoremedijacije. Fitovolatizacija se može uspješno primjenjivati za tretiranje onečišćenih voda, a manje uspješno za tretiranje onečišćenog tla (Kisić, 2012).

Loša stvar kod fitovolatizacije je ta što se neki onečišćivači koji se volatiziraju u zrak mogu uzrokovati veće probleme u zraku nego u tlu. Kisić (2012) ističe da su hlapljive sastavnice selena, kao što je dimetilselenid, 500 – 600 puta toksičnije od anorganskih oblika selena u tlu. Osim toga, još je nedostatak i taj što ima sezonsko djelovanje. Usprkos svemu ova metoda ima budućnost u sanaciju tala onečišćenim selenom i živom. U tablici 2.3.3.1. je prikaz metoda fitoremedijacije i njihovih fitoremedijacijskih mehanizama te u kojem tlu se primjenjuju i za koje vrste onečišćivača.

Tablica 2.2.3.1. Prikaz raznih metoda fitoremedijacije

Vrsta remedijacije	Mehanizam djelovanja	Tretirani medij	Onečišćivači
Fitoekstrakcija	Direktna akumulacija onečišćivača u izdancima biljke uz naredno uklanjanje izdanaka	Tlo	Anorganski spojevi
Fitostabilizacija	Korijenovi eksudati uzrokuju taloženje metala i tako smanjuju biodostupnost	Podzemne vode, tlo, rudnici	Anorganski spojevi
Fitovolatizacija	Biljke evaporiraju određene metalne ione i hlapljive organske spojeve	Tlo, podzemne vode	Anorganski i organski spojevi
Fitodegradacija	Mikrobiološka degradacija onečišćivača u zoni rizosfere	Tlo, podzemne vode u zoni rizosfere	Organski spojevi
Rizofiltracija	Apsorpcija i adsorpcija onečišćivača korijenovim sustavom	Površinske vode, voda koja prolazi kroz korijen	Anorganski i organski spojevi
Fitotransformacija	Biljke usvajaju organske onečišćivače i degradiraju ih	Površinske i podzemne vode	Organski spojevi
Uklanjanje onečišćivača iz zraka	Usvajanje raznih hlapljivih onečišćivača putem lista	Zrak	----------

Izvor: Kumar , 2017

2.4. Teški metali

U današnje vrijeme, sve više i više ljudi smatra da veličina problema zagađenosti vode i tla, iziskuje neposrednu mjeru prevencije odnosno sanacije. Između ostalih otrovnih tvari koje prelaze granice kritične vrijednosti su teški metali uključujući živu, olovo, krom, arsen,

cink, kadmij, uran, selen, srebro, zlato i nikal. Opasnost teških metala očituje se u njihovoj vrlo velikoj perzistentnosti u okolišu kao rezultat njihove nepromjenjive prirode (Kumar, 2017). Metali mogu biti dispergirani u tlu, vodi i zraku. Geoznanstvenici se uglavnom bave metalima dispergiranim u tlu i sedimentu, otopljenim u podzemnim i nadzemnim vodama te suspenziranim česticama u površinskoj vodi ili u porama fluida u sedimentu (David i Joel, 2004). Onečišćenjem tla teškim metalima se smatra ona razina teških metala koja premašuje maksimalno dopuštenu količinu u tlu odnosno kada tlo gubi svoju najbitniju funkciju, a to je plodnost.

Biljka izrasla na čistom tlu pogodna je za sve uobičajene načine korištenja i potpuno je bezopasna za svakog konzumenta. U protivnom, tlo je onečišćeno, preko njega se onečistila i biljka jer se onečišćivač našao u tlu u kemijskom obliku u kojem ga biljka može primiti u količini koja se negativno odražava na rast, razvoj ili kakvoću biljke. Ako je prinos biljke neprimjeren ekološkim prilikama i razini ulaganja u proizvodnju, ponovno je riječ o onečišćenju tla teškim metalima. Procjedna ili gravitacijska voda koja se ispire kroz tlo mora biti potpuno bezopasna, a njezin kemijski sastav ne smije na duže vrijeme dovesti u opasnost biološku ravnotežu u akvatičnim ekosustavima koji dolaze u dodir s tako filtriranom vodom. U protivnom, tlo je onečišćeno, iz njega je u vodu koja protječe kroz masu tla otpuštena stanovita količina onečišćivača koji vodu čine ograničeno upotrebljivom ili neupotrebljivom za bilo koju namjenu (Kisić, 2012). Prema pravilniku o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (NN 9/2014), poljoprivredno zemljište smatra se onečišćenim kada sadrži više teških metala i potencijalno onečišćujućih elemenata od maksimalno dopuštenih količina (MDK), izraženo u mg kg^{-1} (tablica 2.4.1.):

Tablica 2.3.1. MDK teških metala u poljoprivrednom zemljištu, mg kg^{-1}

tlo	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Pjeskovito	0,0 – 0,5	0 – 40	0 – 60	0,0 – 0,5	0 – 30	0 – 50	0 – 60
Praškasto – ilovasto	0,5 – 1,0	40 – 80	60 – 90	0,5 – 1,0	30 – 50	50 – 100	60 – 150
Glinasto	1,0 – 2,0	80 – 120	90 – 120	1,0 – 1,5	50 – 75	100 – 150	150 – 200

Izvor: NN 9/14

- Za teške metale kadmij (Cd), cink (Zn) i nikal (Ni) ukoliko je pH vrijednost glinastog tla manji od 6,0, tada se primjenjuje granična vrijednost propisana za praškasto – ilovasta tla, a ukoliko je pH vrijednost praškasto – ilovastog tla manji od 6,0, tada se primjenjuje granična vrijednost propisana za pjeskovita tla.

- Za teške metale olovo (Pb) i krom (Cr) ukoliko je pH vrijednost glinastog tla manji od 5,0, tada se primjenjuje granična vrijednost propisana za praškasto – ilovasta tla, a ukoliko je pH praškasto – ilovastog tla manji od 5,0, tada se primjenjuje granična vrijednost propisana za pjeskovita tla.
- Za teške metale živu (Hg) i bakar (Cu) ukoliko je sadržaj humusa glinastog tla manji od 3 %, tada se primjenjuje granična vrijednost propisana za praškasto – ilovasta tla, a ukoliko je sadržaj humusa praškasto – ilovastog tla manji od 3 %, tada se primjenjuje granična vrijednost propisana za pjeskovita tla (Zakon o poljoprivrednom zemljištu, Narodne novine, broj 20/2018).

Na bioakumulaciju proučavanih metala u biljkama iz tla utječe nekoliko različitih čimbenika. Najvažnije su, dakako, same značajke tla koje uključuju redoks potencijal i reakciju tla o kojima ovisi pristupačnost teških metala, ukupan sadržaj metala u tlu, njihova pokretljivost u promatranom tlu, oksido-redukcijski potencijal pojedinog metala, biološka raznolikost tla i ostalo (Kisić, 2012).

Apsorpcija elemenata putem korijena može biti pasivna (ne metabolička) i aktivna (metabolička). Pasivno usvajanje odvija se difuzijom iona iz otopine preko endoderme korijena. Za aktivno usvajanje je potrebna metabolička energija budući da se proces odvija suprotno koncentracijskom gradijentu. Nekoliko podataka podupire tvrdnju da je u otopini tla kod općenito prisutnih koncentracija elemenata u tragovima, apsorpcija elemenata u trgovima korijenom, kontrolirana metaboličkim procesima korijenovog sustava. Vjeruje se da je aktivnost iona u otopini jedan od glavnih čimbenika koji utječe na njihovo usvajanje od strane biljke. Vjerojatno je to važan čimbenik kada je unos aktivan, ali ne mora biti važan kada je pasivan (Kabata-Pendias i Pendias, 2001).

Aktivnost vodikovog iona (reakcija tla) vjerojatno je najvažniji čimbenik koji regulira metalnu specijaciju, topljivost s mineralnih površina, transporta i eventualne bioraspoloživosti metala u vodenim otopinama. Reakcija tla utječe i na topivost mineralnih hidroksidnih minerala i procesa adsorpcije-desorpcije. Većina minerala metalnog hidroksida ima vrlo nisku razinu topivosti pod uvjetima u prirodnoj vodi. Budući da je aktivnost hidroksida izravno povezana s pH, topivost minerala metalnog hidroksida povećava se sa smanjenjem pH, te više otopljenih metala postaje potencijalno dostupno za biološke procese kako se pH smanjuje.

Vrste metalnih iona također su najčešće najotrovniji oblici vodenim organizmima (David i Joel, 2004).

Mehanizmi usvajanja se razlikuju ovisno o promatranom elementu. Pb i Ni se ponajprije usvajaju pasivno, dok se Cu, Mo i Zn usvajaju ponajprije aktivno. Kada su biološka i strukturna svojstva korijena izmijenjena, međutim, svi se elementi usvajaju pasivnim putem. To je slučaj kada koncentracije elemenata prelaze granične vrijednosti fiziološkog maksimuma.

Budući da su bakar, cink i molibden biogeni mikroelementi koji tvore u helate u protetičkim grupama enzima (specifične nepolipeptidne jedinice) (Ćustić, 2006), najprije će biti govora o njima.

2.4.1. Značajke pojedinačnih teških metala

Bakar (Cu) je biogeni element koji je u prirodi ponekad u elementarnom stanju, ali najčešće u obliku sulfida. U tlu se ne veže u netopljive oblike, slabo je mobilan, osim u uvjetima reakcije tla manje od 4,0 i veće od 7,0. Čvršće se veže na organsku tvar od drugih mikrohraniva, pa je nepokretna, što najviše ovisi o reakciji tla. Najvažniji potencijalni izvori bakra jesu bakrena zaštitna sredstva, koja se uobičajeno i tradicionalno primjenjuju za suzbijanje nametnika u vinogradarstvu i voćarstvu, gdje se u tlu nakuplja, a erozijom translocira i izvan mjesta korištenja. Svinjska gnojovka i industrijski mulj otpadnih voda također mogu sadržavati visoke koncentracije bakra (Kisić, 2012).

Molibden (Mo) je element koji se u prirodi pojavljuje kao mineral molibdenit, plavo sive boje. Ukupan sadržaj molibdena u većini poljoprivrednih tala varira od 0,6 do 3,5 mg kg^{-1} s prosječnim ukupnim sadržajem 2 mg kg^{-1}, od čega u pristupačnom obliku prosječno do 0,2 mg kg^{-1}. Vrijednosti su različite, ovisno o matičnom supstratu iz kojeg se razvilo tlo. Za razliku od ostalih teških metala molibden se u prirodnom okolišu pojavljuje u obliku MoO_4^{2-} pa se u tlu ponaša slično fosfatnom ili sulfatnom ionu. Molibden je u kiselim tlima vrlo fiksiran, a s povećanjem reakcije tla, pristupačnost mu raste. Na alkalnim tlima, sa sadržajem molibdena većim od 100 mg kg^{-1}, nastaju poremećaji u rastu usjeva. Ekološki je najrizičniji oblik u kojem se pojavljuje molibden trioksid. Molibden trioksid je umjetno proizvedena kemikalija iz elementarnog molibdena ili bilo kojeg molibdenova oksida ili sulfida.

Primjenjuje se za proizvodnju specijalnih čelika, stakla, legura, keramičkih glazura, emajla i pigmenata kao sredstvo za podmazivanje i u analitičkoj kemiji. Često je kemijski reagens, te zbog toga može ući u okoliš iz industrijske proizvodnje postrojenja za preradu gradskog otpada (Kisić, 2012).

Cink (Zn) je elementarni plavo-bijeli metal. Glavne cinkove rude su sfalerit (ZnS) i smitsonit ($ZnCO_3$). U svim spojevima cink ima stupanj oksidacije +2. Najveći postotak ukupnog cinka u onečišćenim tlima i sedimentu povezan je s željezom i manganovim oksidom. Ionski promjer cinka sličan je promjeru iona Fe^{2+} i Mn^{2+}. Kiše ispiru cink iz tla zbog toga što su cinkovi spojevi vrlo topljivi. Kao i u svih metala, apsorpcija cinka raste s reakcijom tla. Cink se u tlu nalazi u mjestima zamjene minerala gline i organske tvari ili adsorbiran na krutim česticama tla. Razina cinka u otopini tla je niska, što posebice vrijedi za tla visoke pH vrijednosti i uz prisustvo kalcijeva karbonata. Višak cinka rijedak je u prirodi, i to samo na kiselim tlima i rudištima te na tlima ispod odlagališta mineralnog otpada. Razina cinka u biljnom materijalu i potrebe biljaka za cinkom razmjerno su male. Mobilnost cinka u biljci nije visoka, već ga biljke primaju proporcionalno pristupačnim količinama i ovisno o biljnoj vrsti. Cink je sastavni dio nekih enzima i vrlo je važan za metabolizam dušika u biljci. Neke biljne vrste tolerantne su na ekstremno visok sadržaj cinka, a kao toksična vrijednost uzima se 150 – 200 $\mu g\ g^{-1}$ suhe tvari biljnog tkiva (Kisić, 2012).

Kadmij (Cd) je meki srebrno bijeli metal. U prirodi je najčešće kao CdO, $Cd(OH)_2$, CdS, $CdCl_2$ ili $CdSO_4$. Kadmij u tlu može biti u elementarnom stanju ili kao Cd^{2+} ion u otopini tla. Također može biti vezan u mineralnim fazama prisutnim u tlu ili organskim spojevima i u tom se slučaju ne ispire iz tla (Kisić, 2012). Prema Kabata-Pendias i Pendias, kadmij jedan od najekotoksičnijih metala koji imaju vrlo negativan učinak na biološku aktivnost tla, metabolizam biljaka i zdravlje ljudi i životinja. Kadmij se akumulira u poljoprivrednim tlima depozicijom iz zraka, izgaranjem fosilnih goriva, spaljivanjem otpada, u industriji plastičnih masa, boja, legura, eksplozivnih sredstava, akumulatora te talionica ruda cinka, bakra i olova. Zbog svojeg problematičnog ponašanja u okolišu, tj. velike biodostupnosti, riječ je o teškom metalu koji se najviše istražuje. U tlo se vrlo često unosi primjenom komposta iz gradskog smeća i mulja te fosfornim gnojivima i pesticidima koji sadrže kadmij (Kisić, 2012). Kabata-Pendias i Pendias (2001) dali su odličan primjer

dugoročnog povećanja koncentracije kadmija u oraničnom sloju. Atmosferska depozicija kadmija te upotreba gnojiva (stajski gnoj i fosfatna gnojiva) uzrok su povećanja koncentracija kadmija. Porast koncentracije ne tretiranih područja narastao je s 0,51 do 0,77 ppm u periodu od 40 godina. Tla s nižom reakcijom tla (<5,0) i manjim sadržajem organske tvari slabo vežu kadmij pa se Cd ioni pojavljuju u otopini tla, odakle ga biljke mogu lako primati. Nasuprot tome, tla koja jako vežu kadmij neutralne su ili alkalne reakcije i visokog sadržaja organske tvari (<5 %). Kadmij možemo smatrati najopasnijim teškim metalom zbog svoje topljivosti i sposobnosti brzoga i laganog prijelaza iz tla u biljku te zbog toksičnosti u vrlo malim količinama (Kisić, 2012). Neke metalofilne biljne vrste razvile su mehanizme tolerancije na kadmij, rastući na tlima bogatim kadmijem mogu sadržavati ekstremno visoke koncentracije kadmija (2.500 do 17.700 mg kg^{-1} pepela) (Kabata–Pendias i Pendias 2001).

Nikal (Ni) je srebrnobijeli i teško topljivi metal. U prirodi je u obliku silikata i sulfida, a može se naći i u obliku arsenida. Nikal (Ni^{+2}) je u kompeticijskim odnosima s bakrom i cinkom. Većina tala sadržava vrlo male količine nikla, obično manje od 100 mg kg^{-1} tla, osim na tlima koja su nastala na ultrabazičnim stijenama i serpentinu. Takva tla mogu imati 20 do 40 puta veće količine nikla u odnosu na tla nastala na drugim stijenama (Kisić, 2012). Prema Kabata-Pendias i Pendias (2001) smatra se da je pored bioloških i pedoloških svojstava, pH tla najbitniji faktor koji utječe na usvajanje nikla. Nikal je lako ekstrahirati iz tla putem biljaka, naročito hiperakumulatorskim biljkama kao što su *Alyssum* sp. koje mogu apsorbirati više od 400 kg nikla po hektaru. Mehanizam štetnosti nikla prema biljkama nije u potpunosti jasan iako je zabilježen ograničen rast i oštećenja kod biljaka kao posljedica velikih količina nikla u tlu. Najčešće oštećenje kod biljaka kao rezultat trovanja niklom je kloroza lišća u vidu Fe-inducirane kloroze, te su zabilježeni nedostatci Fe u lišću kod toksičnih količina Ni u mediju na kojem su biljke rasle budući da sprječava njegovu translokaciju. Zagađenje okoliša niklom uvelike utječe na njegovu koncentraciju u biljkama. U ekosustavima gdje nikal dolazi depozicijom iz zraka, nikal se taloži na vrhovima biljke gdje se olako može isprati s biljke u tlo. Kanalizacijski mulj najčešći je izvor onečišćenja tla niklom.

Olovo (Pb) je plavosivi metal, a njegove se čestice mogu naći posvuda u okolišu – zraku, tlu i vodi. U tlu se pojavljuje u obliku iona Pb^{2+} te kao olovo tetraetil, olovo trietil, olovo dietil i ostali alikilni derivati olova: organski spojevi olova mnogo su pokretniji i za

biljku toksičniji od ionskog oblika olova Pb^{2+}. Olovo ima visok stupanj apsorpcije u tlima bogatim troslojnim mineralima gline, najviše se unosi u tlo suhom i vlažnom depozicijom iz zraka te onečišćenim poplavnim vodama. Povećan unos olova je utvrđen u okolici termoelektrana, koksara te talionice olova. Akumulira se u površinskom dijelu tla, 3 do 5 cm od površine, dok se koncentracija smanjuje s dubinom. Uobičajen je sadržaj olova u poljoprivrednim tlima od 2 do 100 mg kg^{-1}, u nekim je ekstremnim slučajevima zabilježeno i 1.000 mg kg^{-1} olova u površinskim dijelu tla (Kisić, 2012). Iako se olovo nalazi prirodno u svim biljkama, nije dokazano da ima ikakve esencijalne uloge u njihovom metabolizmu. Olovu se u posljednje vrijeme pridaje mnogo pažnje kao glavnom onečišćivaču okoliša i elementu toksičnom za biljke. Akumulacija olova u površinskom dijelu tla je od velike ekološke važnosti budući da olovo ima velik utjecaj na biološku aktivnost tla. Razmatrani su tehnički i ekonomski problemi vezani za sanaciju tala kontaminiranih olovom. Budući da je olovo uglavnom dobro vezano u svim tipovima tala, fitoekstrakcija je ograničena. Kada biljka usvaja olovo, njegova translokacija do viših dijelova biljke je vrlo slaba. Većina se apsorbiranog olova koncentrira u korijenu (Kabata – Pendias i Pendias 2001).

Krom (Cr) je metal sive boje koji se u prirodi pojavljuje u tlu, vulkanskoj prašini i dimu. Krom se u tlu pojavljuje u dva oblika: trovalentni krom – Cr^{3+} i heksavalentni Cr^{6+} oblik (Kisić, 2012). Sadržaj kroma u površinskom dijelu tla može se povećati uslijed raznih onečišćenja od kojih su glavna industrijski otpad (galvanizacijski mulj, industrija pigmenata i štavljenja, kožarska industrija) te općenito kanalizacijski mulj. Krom se najčešće akumulira u tankom površinskom dijelu tla. Većina tala sadrži značajne količine kroma, ali je njegova dostupnost biljkama vrlo ograničena. Međutim, dodatak kroma u tlo utječe na količinu kroma u biljkama, ali stupanj usvajanja kroma od strane biljaka je ovisan o mnogim čimbenicima tla i same biljke. Biljke sadržavaju male koncentracije kroma zbog niske razine usvajanja putem korijena što je povezano s mehanizmom usvajanja te nemogućnosti redukcije kroma do topljivih oblika. Translokacija kroma od korijena do nadzemnih organa biljke je također vrlo ograničena s obzirom na sklonost Cr^{3+} da se veže na stjenke stanica korijena. Biljke ga usvajaju u Cr^{3+} i CrO_4^{2+} obliku (Kabata – Pendias i Pendias, 2001). Biljke sadržavaju niske koncentracije kroma, od 0,02 do 1 mg kg^{-1}, a toksičnost nastaje s više od 5 mg kg^{-1} (Kisić, 2012).

Živa (Hg) je kemijski element koji se pojavljuje u tri oblika: elementarnom te u anorganskim i organskim spojevima. Anorganski spojevi žive sadržavaju klor, ugljik ili kisik, dok je najpoznatiji organski spoj metilživa. Živa u okolišu može prelaziti iz organskog u anorganski oblik. Te procese pretvorbe obavljaju mikroorganizmi putem svojeg metabolizma i produkata svog metabolizma. Živa se najčešće unosila u tlo korištenjem fungicida metilživa, gnojiva ili industrijskog otpada, komunalnog otpada, pigmentima boja, a vrlo su veliki problemi uvjetovani ispiranjem žive iz rudnika u vodotoke gdje se u vrijeme poplava unosi u tlo. Svi oblici žive su otrovni (Kisić, 2012). Kod svojstava žive u biokemiji najveća je zabrinutost kod biološke transformacije spojeva žive koji utječu na kruženje žive u okolišu. Kabata-Pendias i Pendias (2001) nalažu pretpostavku da mikroorganizmi proizvode metilživu u svrhu detoksificiranja žive, ali s druge strane metilirana živa apsorbirana kroz stanične membrane je visoko biotoksična. U tlu se slabo veže u netopljive oblike, slabo je mobilna, a nakupljanje u tlu i pristupačnost za biljku je mala do srednja. Sorpcija žive na adsorpcijski kompleks raste s povećanjem reakcije tla (Kisić, 2012). Živa se vrlo lako može apsorbirati kroz organsku tvar i translocirati u biljci. Kod tala onečišćenih živom gdje je živa bilo jedino onečišćenje, pokazalo se da se najveći dio apsorbirao u stanice korijena, ali su listovi i zrnje također akumulirali visoke koncentracije žive iz čega se može zaključiti da se živa vrlo lako može apsorbirati putem korijenovog sustava i translocirati kroz biljku (Kabata – Pendias i Pendias, 2001).

Arsen (As) je sivi metal koji se pojavljuje u okolišu kao arsenat As^{5+} ili kao arsenit As^{3+}. Oba su toksična, međutim arsenit je toksičniji oblik, ali je arsenat češći u prirodi. Ponašanje arsenata u tlu analogno je fosfatu zbog njihove kemijske sličnosti. Arsenat se kao i fosfat fiksira u tlu te je zbog toga relativno nepokretan. Arsen s kisikom, klorom i sumporom stvara anorganske spojeve, a s ugljikom i vodikom organske spojeve. U oksidiranom stanju adsorpcija arsena uvjetovana je reakcijama s oksidima minerala, najčešće željeza, a u reduciranom stanju s mineralnim sulfidima. Prisutnost željeza u tlu najučinkovitiji je način kontrole mobilnosti arsenata. U uvjetima redukcije veća je mobilnost i pristupačnost arsena. U tlu se nalazi u malim količinama. Sadržan je u rudama srebra, bakra, olova, kobalta, nikla, kositra te pri preradi rudača. Također i mnoga fosilna goriva, naročito ugljen, sadrže arsen pa se pri izgaranju emitira u okoliš (Kisić, 2012). Arsen je sastavni element većine biljaka, ali njegova uloga u metabolizmu nije u potpunosti razjašnjena. Nekoliko je spoznaja o pozitivnoj

korelaciji između koncentracije arsena u biljkama i koncentracije arsena u tlu i otopini tla što nalaže da se arsen usvaja pasivnim putem kroz usvajanje vode. Fitotoksičnost u najvećoj mjeri ovisi o svojstvima tla; dok je u težim tlima zabilježeno smanjenje rasta od 90 % kod dodavanja 1.000 mg kg^{-1} arsena, u lakšim tlima 100 mg kg^{-1} arsena može djelovati jednako toksično. Korištenjem fosfatnih gnojiva smanjuje se biodostupnost arsena. Ovisno o lokaciji i izvoru onečišćenja, biljke mogu akumulirati ekstremno visoke koncentracije arsena preko 6.000 mg kg^{-1} suhe tvari i 8.000 mg kg^{-1} u pepelu (Kabata – Pendias i Pendias, 2001).

Kobalt (Co) u elementarnom obliku je sjajan, plavkastobijeli i vrlo tvrd metal. U Zemljinoj kori ima visoku koncentraciju u ultrabazičnim stijenama (100 do 220 mg kg^{-1}), a u kiselim stijenama 1 do 15 mg kg^{-1}. Nalazi se u rudama kao što su kobaltit i smaltit. Kobalt u prirodi tvori minerale s arsenom, sumporom i selenom kao što su: kobaltit (CoAsS) i smaltit (Co_2S_4). Normalna koncentracija kobalta u površini tla se kreće između 0,1 do 70 mg kg^{-1} suhog tla, gdje najniže koncentracije imaju podzoli i histosoli, a najviše vrijednosti kambisol i rendzina. Srednja vrijednost koncentracija kobalta površini tla u svijetu iznosi 7,9 mg kg^{-1}. Prirodno se kobalt nalazi u tlima nastalim na serpentinu i depozitima rude. Značajne količine kobalta dospijevaju u okoliš putem talionica nehrđajućih metala te u manjoj mjeri izgaranjem ugljena, nafte te iz ispušnih plinova. Međutim, poznato je da su tla uz ceste te prašina obogaćena kobaltom (Kabata – Pendias i Pendias, 2001). Primanje kobalta korijenom viših biljaka uvjetovano je mobilnošću i ukupnim sadržajem kobalta u otopini tla. Lisnate biljke i leguminoze imaju visok sadržaj kobalta, dok je njegov sadržaj malen u trava i žitarica. Zrno žitarica sadrži više kobalta nego zeleni dijelovi biljke, te se koncentracija povećava sa starošću biljke. Visoke koncentracije kobalta uvjetuju smanjenje sadržaja željeza, mangana, cinka, dušika i fosfora i u tlu i u biljnom tkivu. Koncentracije kobalta u biljci uvjetovane su sadržajem mangana i željeza u tlu, reakcijom tla, sadržajem vlage u tlu te biljnom vrstom, stadijem razvitka i dijelom biljke (Kisić, 2012). Vrijednosti kobalta koje su kritične za biljku iznose 30 do 40 mg kg^{-1} suhog tla. Koncentracije kobalta u biljnom tkivu veće od 60 mg kg^{-1} suhe tvari mogu biti toksične za životinje.

2.4.2. Uzgoj konoplje na tlima zagađenim teškim metalima

Uzgoj konoplje na tlima onečišćenim teškim metalima je moguć za potrebe sanacije tla, ali kod takvog uzgoja postavlja se pitanje. Može li se ta konoplja iskoristiti za proizvodnju vlakana, sjemena te ulja. Zanimljivo je istraživanje koje je provedeno u Nordrhein-Westfalen, Njemačka. Istraživanje je provedeno za potrebe dokazivanja fitoekstrakcijskog potencijala konoplje (*Cannabis sativa,* USO 31) na pokusnoj parceli dimenzija 2 x 3 m čija je gustoća sklopa 250 sjemenki/m^2. Tlo je onečišćeno kanalizacijskim muljem koji je sadržavao: 102 mg kg^{-1} kadmija (Cd), 419 mg kg^{-1} nikla (Ni) i 454 mg kg^{-1} olova (Pb). Sadržaj teških metala mjeren je u lišću, kučini, vlaknima i sjemenu. U svim testiranim dijelovima biljke, odnos koncentracija metala je bio Ni > Pb > Cd. Najveće koncentracije svih ispitanih metala su pronađene u listovima. U sjemenu su koncentracije kadmija i nikla bile relativno visoke (Linger i sur., 2002).

Činjenica da *Cannabis sativa* L. akumulira teške metale u svim dijelovima biljke, ograničava njenu uporabu kao sirovi materijal, kako za proizvodnju odjeće, tako i za prehranu ljudi i životinja. Međutim, kako teški metali nisu imali utjecaj na kvalitetu vlakana i kučine, to im omogućuje da se koriste u proizvodnji posebnih kombiniranih materijala. Prema Linger i sur. (2002), kontaminacija tla teškim metalima ne utječe na kvalitetu vlakana te su finoća i čvrstoća konopljinih vlakana biljke koja je uzgajana na onečišćenom tlu identična unutar granice eksperimentalne pogreške onoj koja je uzgajana na nezagađenom tlu.

Prema Linger i sur. (2002), konoplja je najprikladnija za tla s niskom koncentracijom teških metala zbog svog relativno niskog potencijala fitoekstrakcije. Komercijalni aspekti konoplje zajedno sa sposobnošću da akumulira teške metale čine ju idealnim profitabilnim usjevom kada se koristi u fitoremedijacijske svrhe.

3. MATERIJALI I METODE

Istraživanja koja su korištena za izradu ovog diplomskog rada provedena su 2016. godine u otvorenom stakleniku Zavoda za opću proizvodnju bilja Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Istraživanje je provedeno kako bi se ocijenila sposobnost konoplje (*Cannabis sativa* L.) da akumulira teške metale te otkrila mogućnost fitoakumulacije ili fitostabilizacije. U pokusnim posudama za uzgoj konoplje korištene su dva tipa (uzorka) tla. Prvi (alkalno tlo), uzorak tla uzet je u Raši koja se nalazi na istarskom poluotoku (N 45 ° 3', E 14 ° 2', nadmorska visina - 2 m ispod razine mora). Tlo je klasificirano kao glinovita ilovača ili glejno tlo (Bogunović i sur., 2017). Drugi (kiselo tlo) uzorak tla uzet je u blizini Daruvara (N 45 ° 33 '54 .66 ", E 17 ° 01 '43.89", na nadmorskoj visini od 133 m). Na temelju IUSS klasifikacije (2014), ovaj tip tla je definiran kao stagnirajući luvisol (Ćaćić i sur., 2018).



Lokacija 1 (Raša)

Lokacija 2 (Daruvar)

Slika 3.1. Lokacije 1 i 2

Izvor: *https://www.google.hr/intl/hr/earth/*

Uzorci tla su analizirani na početku istraživanja. Uzorci su osušeni na zraku, mljeveni, prosijani (<2 mm) te homogenizirani (HRN ISO 11464: 2009). Tekstura je određena prema ISO 11277: 2009. Sadržaj organske tvari tla je određen pomoću titrimetrijske metode po Tjurin-u. pH tla je mjeren elektrometrijskom metodom pomoću Beckmanovog pH metra Φ 72, u 1 M KCl u omjeru 1: 2,5, sukladno modificiranom protokolu HRN ISO 10390: 2005. . U tablici 3.1. prikazane su prosječne vrijednosti pH i organske tvari (OM) za alkalno i kiselo tlo s koeficijentom varijacije (CV). Prosječna reakcija tla (pH) je iznosila 7,79 za alkalno tlo, a za kiselo tlo 5,29. Sadržaj organske tvari iznosio je 30,3 g kg^{-1} za alkalno tlo i 13,3 g kg^{-1} za kiselo tlo (Ćaćić i sur., 2018).

Tablica 3.1. Prosječne vrijednosti pH i organske tvari (OM) za alkalno I kiselo tlo s koeficijentom varijacije (CV)

	pH	**CV, %**	**OM, g kg^{-1}**	**CV, %**	**n**
Alkalno tlo	7,79	1,03	30,3	12,10	24
Kiselo tlo	5,29	18,84	13,3	15,61	24

Izvor: (Ćaćić i sur., 2018)

Elementi u tragovima ekstrahirani su u zlatotopki (HRN ISO 11466: 2004) i izmjereni s ICP-OES (induktivno spregnuta plazma i optička emisijska spektrometrija) (HRN ISO 11885: 2010). U tablici 3.2. prikazan je prosječni sadržaj ukupnih teških metala (mg kg^{-1}) u alkalnom i kiselom tlu. Maksimalna dopuštena koncentracija (MDK) ukupnih teških metala (mg kg^{-1}), u tlu za određenu teksturu tla i stupanj kontaminacije tla teškim metalima propisana je hrvatskim zakonodavstvom (NN 09/14). Stupanj onečišćenja (So) je izračunat prema formuli:

Stupanj onečišćenja – *So (%) = (ukupan sadržaj teških metala u tlu / MDK) x 100*

Tablica 3.2. Prosječan sadržaj ukupnih teških metala (mg kg^{-1}), MDK teških metala u tlu te stupanj onečišćenja tla teškim metalima (%)

	pH > 7									
Alkalno tlo	**Cd**	**Cu**	**Ni**	**Pb**	**Zn**	**Cr**	**Hg**	**Co**	**Mo**	**As**
	0,30	19,02	77,74	13,65	78,21	113,50	0,04	10,24	0,20	8,53
	pH < 7									
Kiselo tlo	**Cd**	**Cu**	**Ni**	**Pb**	**Zn**	**Cr**	**Hg**	**Co**	**Mo**	**As**
	0,18	17,50	27,00	18,25	46,25	18,50	0,04	12,25	0,20	9,25
MDK (mg kg^{-1})	1	90	50	100	150	80	1	50	10	20
	Stupanj onečišćenja (%)									
Alkalno tlo	30,0	21,1	155,5	13,7	52,1	141,9	4,0	20,5	2,0	42,7
Kiselo tlo	18,0	19,4	54,0	18,3	30,8	23,1	4,0	24,5	2,0	46,3

Izvor: (Ćaćić i sur., 2018)

U ovom istraživanju korištene su sorte konoplje iz kataloga raznolikosti biljnih vrsta (Common Catalogue of varieties of vegetable species) (https://ec.europa.eu/food/plant/plant_propagation_material/plant_variety_catalogues_databases_en). Korištene su četiri sorte konoplje: *Fedora 17*, *Fibrol*, *Futura 75* i *Santhica 27*. Eksperiment je proveden u tri ponavljanja za svaku sortu. Eksperimentalna posuda je bila volumena 0,03 m^3, ispunjena s 9 kg tla. Deset sjemenki konoplje posijano je u svaki lonac 4. svibnja, 2016., a žetva je bila 12. rujna iste godine. Klijavost sjemena se kretala od 70 do 80 % na alkalnom tlu, a 10 do 30 % na kiselom tlu. U skladu s vremenskim uvjetima, voda je dodavana otprilike četiri puta tjedno na temelju izgleda biljke i provjerom vlažnosti tla. U uzgoju konoplje u loncima primijenjene su standardne agrotehničke mjere. Za analizu biljnog materijala, uzorci korijena, lišća i stabljika prikupljani su odvojeno na kraju istraživanja. Uzorci biljnog materijala su sušeni u sušioniku na 70 °C do konstantne mase te mljeveni nakon čega su teški metali ekstrahirani mikrovalnom digestijom i određeni atomskom apsorpcijskom spektrometrijom (HRN EN ISO 12846: 2012; HRN EN 14084: 2005) (Ćaćić i sur., 2018).

Da bi se uspostavio odnos između koncentracije teških metala u biljkama i tlu, izračunat je koeficijent biološke adsorpcije (BAC), prema formuli:

Koeficijent biološke adsorpcije – $BAC = c\ (dio\ biljke)/c\ (tlo)$

c = koncentracija teških metala

U istraživanju je izračunat BAC za korijen, stabljiku i lišće, uzimajući u obzir sadržaj teških metala u tlu.

Translokacijski koeficijent (TC) je izračunat prema Mattina i sur. (2003) kao odnos između koncentracije teških metala u suhoj tvari nadzemne mase (stabljika i lišće) i koncentracije metala u suhoj tvari korijena. TC je izračunat prema formuli:

Translokacijski koeficijent – $TC = c\ (nadzemna\ biomasa)/c\ (korijen)$

c = koncentracija teških metala

Na temelju utvrđenih koncentracija teških metala u biljnim dijelovima, izračunato je uklanjanje pojedinih elemenata za sve sorte u oba tipa tla (Ćaćić i sur., 2018).

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. Sadržaj teških metala u biljci

Sadržaj teških metala u biljkama uzgajanim na alkalnom i kiselom tlu prikazan je u tablici 4.1.1. Svi rezultati su izraženi u mg kg^{-1} suhe tvari.

Prema podatcima tablice 4.1.1., u usporedbi s alkalnim tlom, veća koncentracija metala prevladava u korijenu kod sviju sorata kultiviranim na kiselom tlu. Korijenje sorte Fedora 17, u kiselom tlu sadrži 2,4 puta više teških metala od korijenja iste sorte u alkalnom tlu, kao i korijenje sorte Fibrol (1,1), sorte Futura 75 (3,1) te sorte Santhica 27 (1,2). Najveći sadržaj teških metala zabilježen je u korijenju biljaka: u kiselom tlu, gdje je najveći stupanj akumulacije zabilježen kod sorte Futura 75 (Zn – 688,6 mg kg^{-1}). To jasno pokazuje da je reakcija tla (pH) glavni čimbenik za distribuciju cinka u tlu, što utječe na topivost i mobilnost cinka u otopini tla. U alkalnom tlu, najveći sadržaj metala je akumulirala sorta Fibrol (Cr – 272,1 mg kg^{-1}), gdje koncentracija kroma u biljci najvećim dijelom ovisi o koncentraciji kroma u tlu i sorti konoplje, dok njegova biodostupnost u tlu nije obrnuto proporcionalna s reakcijom tla (Ćaćić i sur., 2018). Autori ovog istraživanja navode kako se metali prvenstveno akumuliraju u korijenu te se samo djelomično translociraju u nadzemnu biomasu. Također navode kako je u istraživanju Irshad i sur. (2014), većina od 13 istraženih biljnih vrsta uključujući *Cannabis sativa* L., pokazala veći sadržaj teških metala u korijenu u usporedbi s izbojima.

U stabljici također prevladava veća koncentracija teških metala u svih sorata kultiviranim na kiselom tlu u usporedbi s alkalnim tlom. Stabljike sorte Fedora 17 u kiselom tlu, sadrži 5,8 puta više metala od korijenja sorte Fedora 17 iz alkalnog tla. Isto vrijedi i za sortu Fibrol (17,9), sortu Futura 75 (8,7) te sortu Santhica 27 (2,4). Sadržaj teških metala se jasno vidi kroz odnos između tipa tla i sorti, gdje u kiselom tlu prevladava veći sadržaj teških metala u sorti Fibrol i niži sadržaj metala u sorti Santhica 27 što je obrnuto u alkalnom tlu (Ćaćić i sur., 2018).

Tablica 4.1.1. Sadržaj teških metala u biljkama uzgajanim na alkalnom i kiselom tlu, mg kg^{-1}

	Alkalno tlo												**Kiselo tlo**											
Dio biljke	*Korijen*				*Stabljika*				*list*				*korijen*				*stabljika*				*list*			
Sorte konoplje	**Fedora 17**	**Fibrol**	**Futura 75**	**Santhica 27**	**Fedora 17**	**Fibrol**	**Futura 75**	**Santhica 27**	**Fedora 17**	**Fibrol**	**Futura 75**	**Santhica 27**	**Fedora 17**	**Fibrol**	**Futura 75**	**Santhica 27**	**Fedora 17**	**Fibrol**	**Futura 75**	**Santhica 27**	**Fedora 17**	**Fibrol**	**Futura 75**	**Santhica 27**
Element																								
Cd	0.28	0.37	0.36	0.22	0.05	0.05	0.06	0.03	0.03	0.03	0.04	0.03	2.82	0.60	0.88	0.24	0.37	0.51	0.50	0.36	0.23	0.21	0.31	0.26
Cu	15.8	48.1	22.5	12.6	0.17	0.17	0.17	0.17	7.99	5.36	2.35	2.03	39.2	16.9	34.4	18.1	0.17	0.17	0.17	0.17	9.19	11.2	5.99	8.06
Ni	43.8	99.4	55.4	42.5	0.98	1.30	2.56	0.54	1.29	3.25	0.13	0.69	43.6	36.5	53.6	55.5	10.3	10.1	9.19	12.2	6.09	7.15	5.42	7.33
Pb	5.39	4.38	4.21	6.09	3.93	0.57	0.70	0.58	0.36	0.49	0.67	0.57	6.66	12.3	9.32	14.6	0.83	0.61	0.54	2.07	0.29	0.74	4.86	2.22
Zn	59.0	79.4	52.7	59.5	12.4	12.7	13.6	18.2	55.1	57.5	45.8	69.2	349.4	427.8	688.6	69.5	105.3	280.3	156.0	32.3	190.9	440.7	323.1	69.8
Cr	79.1	272.1	130.3	79.4	1.26	1.19	1.83	1.41	1.75	3.20	2.47	1.75	45.5	67.5	56.2	69.6	1.16	2.61	2.28	2.75	2.64	4.35	3.20	1.59
Hg	0.03	0.03	0.05	0.04	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.08	0.04	0.06	0.05	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01
Co	5.47	8.53	5.31	4.22	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	11.6	7.33	8.43	9.89	0.50	0.50	0.52	1.19	0.17	0.07	0.14	0.51
Mo	0.20	0.20	0.20	0.20	0.23	0.20	0.20	0.20	0.53	0.53	0.80	0.43	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
As	3.23	8.31	3.51	2.82	1.48	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	5.44	8.79	8.36	13.6	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25

Izvor: (Ćaćić i sur., 2018)

Veća koncentracija teških metala u listovima također prevladava u biljkama koje su rasle na kiselom tlu za sve sorte konoplje. Listovi sorte Fedora 17 iz kiselog tla sadrže 3,1 puta više metala od listova sorte Fedora 17 iz alkalnog tla. Isto vrijedi i kod drugih sorti gdje je sadržaj metala u listovima kod sorte Fibrol (6,6), sorte Futura 75 (6,5) te sorte Santhica 27 (1,2) puta veći od sadržaja metala u listovima kod biljaka izraslim na alkalnom tlu. Najveći sadržaj metala je akumulirala sorta Fibrol (Zn – 440,7 mg kg^{-1}) na kiselom tlu. U alkalnom tlu, najvišu koncentraciju akumulirala je sorta Santhica 27 (Zn – 69,2 mg kg^{-1}) (Ćaćić i sur., 2018).

4.2. Uklanjanje pojedinačnih metala kroz biljku

Znamo da biljke zahtijevaju pojedine elemente (hraniva) za svoj rast i razvoj, ali pri određenim koncentracijama mogu postati toksični za biljku. Kao i što je ranije navedeno, jedan od glavnih ograničavajućih čimbenika rasta je reakcija tla (pH). Također, pH je i jedan od glavnih čimbenika biodostupnosti i mobilnosti kemijskih elemenata i spojeva u tlu.

Ukupno usvajanje teških metala iz ispitivanih tala i njihovog uklanjanja kroz dobivenu biomasu najvažniji su čimbenici za konačni izračun. Ukupni uklonjeni metali kroz biomasu izračunati su kao prosjek iz koncentracija elemenata u nadzemnoj biomasi s obzirom na omjer pojedinačnih dijelova biljke i njihovog prinosa. U ovom istraživanju pod nadzemnom biomasom se podrazumijeva stabljika i lišće. Usvajanje većine elemenata bilo je veće u kiselom tlu gdje je zabilježena i manja nadzemna biomasa, s izuzetkom za Zn (sorta Santhica 27), Cr (sorta Fedora 17 i Santhica 27) te Co (sorta Fedora 17). U istraživanju je konoplja imala sposobnost uklanjanja, u najvećoj mjeri, Zn (do 27,1 kg ha^{-1}) dok je za druge elemente zabilježen manji stupanj usvajanja: Cr (0,15 – 0,35 kg ha^{-1}), Ni (0,08 – 0,73 kg ha^{-1}) te Cu (0,14 – 0,52 kg ha^{-1}) (Ćaćić i sur., 2018).

4.3. Koeficijent biološke adsorpcije (BAC)

U tablici 4.3.1. je prikazan koeficijent biološke adsorpcije (BAC) za svaku sortu konoplje na kiselom i alkalnom tlu. Koeficijenti su izračunati za različite biljne dijelove (korijen, stabljika, lišće) u odnosu na koncentraciju teških metala u tlu. Vrijednosti koeficijenta biološke adsorpcije za Cd (korijen i stabljika), Zn (korijen, stabljika, lišće), Cr (korijen) dosegnule su ekstremne vrijednosti u kiselom tlu, dok su u alkalnom tlu niske, srednje ili visoke (korijen). Biodostupnost većine metala u tlu smanjuje se kada je pH tla iznad 7. Za gotovo sve biljke, najveće vrijednosti za BAC su zabilježene u korijenu s izuzetkom za Mo u alkalnom tlu, čije su najveće vrijednosti za BAC zabilježene u lišću. Podatci iz tablice 4.3.1. ukazuju na vrlo nisku (0,10) do srednju (1,25) mobilnost kadmija (Cd) u alkalnom tlu za sve sorte i dijelove biljke. U kiselom tlu, mobilnost kadmija (Cd) postiže ekstremne vrijednosti, osobito za sortu Fedora 17 (16,1) u korijenu gdje je BAC bio 17 puta veći od BAC u alkalnom tlu. Za kadmij, biološki koeficijent adsorpcije kod svih sorata je išao ovim slijedom: korijen > stabljika > lišće u oba tipa tla. Autori ovog istraživanja navode, kako su pokusi na temu tolerancije i akumulacije kadmija kod osam različitih energetskih kultura, pokazali kako je konoplja najbolji akumulator kadmija te samim time odličan kandidat za fitoremedijaciju odnosno fitoakumulaciju (Ćaćić i sur., 2018).

Bioakumulacijski koeficijent za cink (Zn) u kiselom tlu raspoređen je od niskih (0,7) do ekstremnih (14,9) vrijednosti, dok je u alkalnom tlu raznovrstan, od vrlo niskog (0,16) do srednjeg (1,01) ovisno o sorti i dijelu biljke. Najveća mobilnost cinka zabilježena je u kiselom tlu kod sorte Futura 75 i to u korijenu. Sveukupne najniže vrijednosti zabilježene su u stabljici na biljkama izraslim na alkalnom tlu. Za cink, koeficijent bioakumulacije kod svih sorata bio je u redoslijedu; korijen > list > stabljika. Kos i sur. (2003) istražili su potencijal fitoekstrakcije olova, cinka i kadmija s 14 različitih biljnih vrsta i otkrili da su sve imale visok stupanj fitoekstrakcije cinka iz kontrolnog tla, što nije iznenađujuće budući da mnoge biljke hiperakumuliraju cink (Ćaćić i sur., 2018).

BAC vrijednosti za krom (Cr) u kiselom tlu bile su od vrlo visokih (2,46) do ekstremnih (3,76) u korijenu, dok su za stabljiku i lišće bile vrlo niske (< 0,25). Stabljike i

lišće biljaka iz alkalnog tla također su imale vrlo niske vrijednosti bioakumulacije kroma. Vrijednost bioakumulacijskog koeficijenta dobivenog iz korijena sorte Fibrol u alkalnom tlu, bila je vrlo visoka (2,40), dok je u sorti Fedora 17 (0,70) i Santhica 27 (0,70) bila niska, a za sortu Futura 75 srednja (1,15). Bioakumulacijski koeficijent (BAC) za krom, kod svih sorata i u oba tipa tla, išao je redoslijedom korijen > list > stabljika (Ćaćić i sur., 2018).

Molibden (Mo) u tlu je manje topiv pri niskim razinama pH. Prema tome, najviše vrijednosti za bioakumulacijski koeficijent za molibden zabilježene su u biljkama koje su rasle na alkalnom tlu. Vrijednosti su se kretale o niskih (1,00) do ekstremnih (4,00), dok su u kiselom tlu vrijednosti bile niske u svim dijelovima biljke (1,00). Zabilježeno je da molibden ima najveći bioakumulacijski koeficijent (BAC) u listovima biljaka izraslim na lužnatom tlu, dok su svi ostali teški metali imali više vrijednosti u korijenu. BAC za molibden kod svih sorata išao je redoslijedom list > stabljika > korijen za alkalno tlo, a korijen = stabljika = list za kiselo tlo (Ćaćić i sur., 2018).

Bioakumulacijski koeficijenti za živu (Hg) (2,22 - sorta Fedora 17) i nikal (Ni) (2,06 - sorta Santhica 27) pokazali su vrlo visoke vrijednosti izračunate za korijen kod biljaka izraslih na kiselom tlu (Ćaćić i sur., 2018).

Tablica 4.3.1. Koeficijent biološke adsorpcije (BAC) za svaku sortu konoplje na alkalnom i kiselom tlu

	Alkalno tlo												**Kiselo tlo**											
Dio biljke	*korijen*				*Stabljika*				*List*				*korijen*				*stabljika*				*list*			
Sorte konoplje	**Fedora 17**	**Fibrol**	**Futura 75**	**Santhica 27**	**Fedora 17**	**Fibrol**	**Futura 75**	**Santhica 27**	**Fedora 17**	**Fibrol**	**Futura 75**	**Santhica 27**	**Fedora 17**	**Fibrol**	**Futura 75**	**Santhica 27**	**Fedora 17**	**Fibrol**	**Futura 75**	**Santhica 27**	**Fedora 17**	**Fibrol**	**Futura 75**	**Santhica 27**
Element																								
Cd	0.95	1.25	1.22	0.75	0.17	0.17	0.20	0.10	0.10	0.10	0.14	0.10	16.1	3.43	5.03	1.37	2.11	2.91	2.86	2.06	1.31	1.20	1.77	1.49
Cu	0.83	2.53	1.18	0.66	0.01	0.01	0.01	0.01	0.42	0.28	0.12	0.11	2.24	0.97	1.97	1.03	0.01	0.01	0.01	0.01	0.52	0.64	0.34	0.46
Ni	0.56	1.28	0.71	0.55	0.01	0.02	0.03	0.01	0.02	0.04	0.00	0.01	1.61	1.35	1.99	2.06	0.38	0.37	0.34	0.45	0.23	0.26	0.20	0.27
Pb	0.39	0.32	0.31	0.45	0.29	0.04	0.05	0.04	0.03	0.04	0.05	0.04	0.36	0.67	0.51	0.80	0.04	0.03	0.03	0.11	0.02	0.04	0.27	0.12
Zn	0.75	1.01	0.67	0.76	0.16	0.16	0.17	0.23	0.70	0.74	0.59	0.88	7.55	9.25	14.9	1.50	2.28	6.06	3.37	0.70	4.13	9.53	6.99	1.51
Cr	0.70	2.40	1.15	0.70	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.03	0.02	0.02	2.46	3.65	3.04	3.76	0.06	0.14	0.12	0.15	0.14	0.24	0.17	0.09
Hg	0.75	0.75	1.25	1.00	0.25	0.50	0.50	0.50	0.25	0.50	0.25	0.50	2.22	1.11	1.67	1.39	0.56	0.56	0.28	0.56	0.28	0.56	0.28	0.28
Co	0.53	0.83	0.52	0.41	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.95	0.60	0.69	0.81	0.04	0.04	0.04	0.10	0.01	0.01	0.01	0.04
Mo	1.00	1.00	1.00	1.00	1.15	1.00	1.00	1.00	2.65	2.65	4.00	2.15	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
As	0.35	0.97	0.41	0.33	0.17	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.59	0.95	0.90	1.47	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03

0 – 0.5	**0.51 – 1.00**	**1.01 – 1.50**	**1.51 – 2.00**	**2.01 – 2.50**	**≥ 2.51**
vrlo nizak	nizak	srednji	visok	vrlo visok	ekstreman

Izvor: (Ćaćić i sur., 2018)

4.4. Translokacijski koeficijent (TC)

Translokacijski koeficijent se definira kao omjer koncentracija teških metala između nadzemne biomase i korijena. Njegova je svrha određivanje učinkovitosti biljke u translokaciji teških metala u biljci. Njegove vrijednosti mogu ukazivati na kretanje i distribuciju teških metala u biljci. Hiperakumulatorske biljke karakterizira TC > 1,0. Translokacijski koeficijent za sve metale kod svih sorata u alkalnom i kiselom tlu prikazan je u tablici 4.4.1.

Tablica 4.4.1. Translokacijski koeficijent za metale kod 4 sorte konoplje u alkalnom i kiselom tlu

Alkalno tlo										
	Cd	**Cu**	**Ni**	**Pb**	**Zn**	**Cr**	**Hg**	**Co**	**Mo**	**As**
Fedora 17	0,29	0,52	0,05	0,80	1,14	0,04	0,67	0,02	3,80	0,54
Fibrol	0,22	0,11	0,05	0,24	0,88	0,02	1,33	0,01	3,65	0,06
Futura 75	0,28	0,11	0,05	0,33	1,13	0,03	0,60	0,02	5,00	0,14
Santhica 27	0,27	0,18	0,03	0,19	1,47	0,04	1,00	0,02	3,15	0,18
Kiselo tlo										
	Cd	**Cu**	**Ni**	**Pb**	**Zn**	**Cr**	**Hg**	**Co**	**Mo**	**As**
Fedora 17	0,21	0,24	0,38	0,17	0,85	0,08	0,38	0,06	2,00	0,09
Fibrol	1,20	0,67	0,47	0,11	1,69	0,10	1,00	0,08	2,00	0,06
Futura 75	0,92	0,18	0,27	0,58	0,70	0,10	0,33	0,08	2,00	0,06
Santhica 27	2,58	0,45	0,35	0,29	1,47	0,06	0,06	0,17	2,00	0,04

Izvor: (Ćaćić i sur., 2018)

Molibden je imao najveći koeficijent translokacije (TC) od svih elemenata u oba tipa tla (≥ 2), iako su u alkalnom tlu prevladale više vrijednosti (od 3,15 do 5,00). U usporedbi s ostalim metalima, kobalt (Co) je imao najniži TC zabilježen na alkalnom tlu (≥ 0,02). Na kiselom tlu, najniži TC je zabilježen za arsen (As) (od 0,04 do 0,09) i krom (Cr) (od 0,06 do 0,10). Općenito, TC je bio manji od 1, osim za cink (Zn), živu (Hg) i molibden (Mo) kod

nekih sorata u alkalnom tlu te kadmij (Cd), cink (Zn), živu (Hg) i molibden (Mo) kod nekih sorata u kiselom tlu (Ćaćić i sur., 2018).

5. ZAKLJUČAK

Na usvajanje istraživanih teških metala (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Cr, Hg, Co, Mo i As) mjerenih u korijenu konoplje, stabljici i listu, u najvećoj je mjeri utjecala reakcija tla (pH). Temeljem ovog istraživanja sorta Fibrol može se koristiti za uklanjanje teških metala iz tla. Konoplja je pokazala sposobnost uklanjanja najvećih količina Zn (do 27,1 kg ha^{-1}) dok je kod ostalih elemenata zabilježen niži stupanj uklanjanja (<0,80 kg ha^{-1}). Najveći koeficijent apsorpcije u alkalnom tlu imala je sorta Fibrol (2,65 - Mo) dok je u kiselom tlu imala Fedora 17 (16,1 - Cd). Na osnovi vrijednosti koeficijenta biološke adsorpcije (BAC), potencijalna sposobnost za fitostabilizaciju zabilježena je u alkalnom tlu kako slijedi: Cu> Cr> Cd> Mo> Hg> Zn> Ni> Co> As> Pb, a u kiselom tlu: Zn> Cd> Cr > Ni> Hg> Cu> Mo> As> Co> Pb. Neke sorte konoplje imale su koeficijent translokacije (TC) više od 1 i pokazale sposobnost hiperakumulacije određenih teških metala. Na alkalnom tlu, sorte Fedora 17, Futura 75 i Santhica 27 pokazale su se kao hiperakumulatori cinka (Zn); Fibrol i Santhica 27 žive (Hg) i sve sorte kao hiperakumulatori molibdena (Mo). Na kiselom tlu, sorte Fibrol i Santhica 27 su hiperakumulatori kadmija (Cd); Fibrol i Santhica 27 cinka (Zn); Fibrol žive (Hg) i sve su sorte hiperakumulirale molibdena (Mo). Stoga, ovi rezultati potvrđuju da je konoplja prikladna biljka za fitostabilizaciju ili fitokumulacijske metode. Iako se sjeme konoplje uzgajane na tlima onečišćenim teškim metalima ne može koristiti u prehrambene svrhe, moguće je korištenje konopljinog ulja u proizvodnji lakova i industrijskog ulja. Budući da teški metali ne utječu na kvalitetu vlakna, takva se kontaminirana vlakna mogu koristiti u proizvodnji kombiniranih materijala, gdje se vlakna konoplje ugrađuju u polimere te na taj način onemogućuju ispuštanje teških metala. Također se biomasa konoplje može koristiti za proizvodnju energije u kogeneracijskim postrojenjima.

6. POPIS LITERATURE

1. Bogunović I., Pereira P., Brevik E.C. (2017). Spatial distribution of soil chemical properties in an organic farm in Croatia. Science of The Total Environment [online] 584 – 585, 535 – 545 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969717300633
2. Butorac J. (2009). Predivo bilje. Kugler d.o.o., Zagreb
3. Common catalogue of varieties of agricultural plant species (2018). https://ec.europa.eu/food/plant/plant_propagation_material/plant_variety_catalogues_databases_en Pristupljeno 26. kolovoza 2018.
4. Ćaćić M., Perčin A., Zgorelec Ž., Kisić I. (2018). Evaluation of heavy metals accumulation potential of hemp (Cannabis sativa L.). Rad je u postupku objavljivanja.
5. Ćustić M. (2006). Ishrana bilja. Interna skripta.
6. David A. John, Joel S. Leventhal (2004). Bioavailbility of metals. Semantic scholar.
7. Hong-En Jiang, Xiao Li, You-Xing Zhao, David K. Ferguson, Francis Hueber, Subir Bera, Yu-Fei Wanga, Liang-Cheng Zhao, Chang-Jiang Liu, Cheng-Sen Li (2006). A new insight into Cannabis sativa (Cannabaceae) utilization from 2500-year-old Yanghai Tombs, Xinjiang, China. Journal of Ethnopharmacology. [online] 108(3), 414 – 422, https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874106002935. Pristupljeno 20. kolovoza 2018.
8. HRN EN 14084: 2005 - Namirnice - Određivanje elemenata u tragovima -- Određivanje olova, kadmija, cinka, bakra i željeza atomskom apsorpcijskom spektrometrijom nakon mikrovalne razgradnje
9. HRN EN ISO 12846: 2012 - Kakvoća vode -- Određivanje žive -- Metoda atomske apsorpcijske spektrometrije
10. HRN ISO 10390: 2005 - Kakvoća tla -- Određivanje pH-vrijednosti (ISO 10390:2005)
11. HRN ISO 11277: 2011 – Kvaliteta tla – Određivanje raspodjele veličine čestica (mehaničkog sastava) u mineralnom dijelu tla – Metoda prosijavanja i sedimentacije (ISO 11277: 2009)
12. HRN ISO 11464: 2009 - Kakvoća tla -- Priprema uzorka za fizikalno-kemijske analize
13. HRN ISO 11466: 2004 - Kakvoća tla -- Ekstrakcija elemenata topljivih u zlatotopci
14. HRN ISO 11885: 2010 - Kvaliteta vode -- Određivanje određenih elemenata optičkom emisijskom spektrometrijom induktivno vezane plazme.
15. Irshad M, Ahmad S, Pervez A, Inoue M. (2014). Phytoaccumulation of heavy metals in natural plants thriving on wastewater effluent at Hattar Industrial Estate, Pakistan. Intern J Phytoremed. 17(2):154–158. doi: 10.1080/15226514.2013.862208
16. IUSS. (2014). World reference base for soil resources. Food and agricultureorganization of the United Nations. (2018) [online] http://www.fao.org/3/a-i3794e.pdf . Pristupljeno 28. kolovoza 2018.
17. Kabata-Pendias A., Pendias H. (2001). Trace elements is soil and plants, 3rd edn. CRC.
18. Kos B., Grčman H., Leštan D. (2003). Phytoextraction of lead, zinc, and cadmium from soil by selected plants. In: Plant, Soil and Envirnoment 49(12) 548 – 553.
19. Kisić I., (2012). Sanacija onečišćenog tla. Udžbenici Sveučilišta u Zagrebu, str. 276.

20. Kumar B., Smita K., Flores L.C. (2017). Plant mediated detoxification of mercury and lead. Arabian yournal of chemistry. [online] 10(2), 2335 –2342 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535213002712. Pristupljeno 27. kolovoza 2018.
21. Lasat M.M. (2000). Phytoextraction Of Metals From Contaminated Soil: A Review of Plant/Soil/Metal Interaction and Assessment of Pertinent Agronomic Issues. Journal of Hazardous Substance Research 2, 1-25, https://pdfs.semanticscholar.org/32a1/b0ff0e26da8e005a5465372cfb7b322d5d16.pdf . Pristupljeno 20. kolovoza 2018.
22. Leung D. W. M. (2013). Recent Advances Towards Improved Phytoremediation of Heavy Metal Pollution, eBook Collection (EBSCOhost). Bentham Science Publishers. Sharjah.
23. Linger P., Müssig J., Fischer H., Kobert J. (2002). Industrial hemp (Cannabis sativa L.) growing on heavy metal contaminated soil: fibre quality and phytoremediation potential. Industrial Crops and Products 16(1), 33-42, https://www.konopijelek.cz/assets/pdf/cannabis_growing_on_heavy_metal_contaminated_soil_.....pdf . Pristupljeno 20. kolovoza 2018.
24. Linger P., Ostwald A., Haensler J. (2005). Cannabis sativa L. growing on heavy metal contaminated soil: growth, cadmium uptake and photosynthesis. In: Biologia Plantarum 49(4), 567-576, https://www.alchimiaweb.com/blogfr/wp-content/uploads/2016/08/Cannabis-sativa-L.-growing-on-heavy-metal-contaminated-soil-growth-cadmium-uptake-and-photosynthesis-2005.pdf . Pristupljeno 27. kolovoya 2018.
25. Mattina M. I., Lannucci-Berger W., Musante C., White J, (2003). Concurrent plant uptake of heavy metals and persistent organic pollutants from soil. Environmental Pollution 124(3): 8-375.
26. Pospišil M. (2013). Ratarstvo II. dio - industrijsko bilje. Zrinski d.d., Čakovec.
27. Pravilnik o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja, Narodne novine br. 09/14.
28. Zakon o poljoprivrednom zemljištu, Narodne novine, br. 20/18.

ŽIVOTOPIS

Osobni podaci

Prezime i Ime: Kožul Mateo

Datum rođenja: 27. studenoga 1992.

Adresa: Domagovićka 3, 10090 Zagreb

Broj mobilnog telefona: 091/ 100-2711

E-mail: mateo.rollerblading@gmail.com

Državljanstvo: Hrvatsko

Narodnost: Hrvat

Obrazovanje

2015. – danas Diplomski studij, Agroekologija, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

2011. – 2015. Preddiplomski studij, Agrarna ekonomika, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

2007. – 2011. Gornjogradska gimnazija, Katarinin trg 5, 10000, Zagreb, Hrvatska

Osobne vještine i kompetencije

Materinski jezik(c2): Hrvatski jezik

Drugi jezik(c1): Engleski jezik (aktivno)

Vješto baratanje Internetom, Microsoft Office alatima (Word, Excel i PowerPoint), položen vozački ispit B kategorije, jednogodišnje iskustvo organizacije i managementa u prodaji.