Određivanje teških metala u sjemenkama štitaste ognjice i rukole

Galić, Antonija

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:167:794844

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

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

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U SJEMENKAMA ŠTITASTE OGNJICE I RUKOLE

DIPLOMSKI RAD

ANTONIJA GALIĆ
Matični broj: 189

Split, listopad 2018.

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

ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U SJEMENKAMA ŠTITASTE OGNJICE I RUKOLE

DIPLOMSKI RAD

ANTONIJA GALIĆ
Matični broj: 189

Split, listopad 2018.

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

DETERMINATION OF HEAVY METALS IN GARDEN CANDYTUFT AND ROCKET SEEDS

DIPLOMA THESIS

ANTONIJA GALIĆ
Parent number: 189

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

ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U SJEMENKAMA ŠTITASTE OGNJICE I RUKOLE

Antonija Galić, 189

Sažetak: U ovom diplomskom radu određene su koncentracije odabranih teških metala u sjemenkama štitaste ognjice (*Iberis umbellata* L.) i rukule (*Eruca sativa* Mill.). Koncentracije odabranih teških metala su određene diferencijalnom impulsnom anodnom "stripping" voltamterijom (DPASV). Uočava se kako su najniže koncentracije teških metala detektirane za kadmij te iznose 0,06 μg g^{-1} za štitastu ognjicu te 0,44 μg g^{-1} za rukolu. Detektirane su jako niske koncentracije olova u sjemenkama biljaka dok su se koncentracije cinka nalazile unutar odgovarajućih granica te u štitastoj ognjici iznosile 34,20 μg g^{-1}, dok su u rukoli bile 39,80 μg g^{-1}. Koncentracije bakra u sjemenkama obiju biljaka su bile ispod odgovarajućih vrijednosti koje su potrebne za rast i razvoj biljke.

Ključne riječi: *Iberis umbellata* L., štitasta ognjica, *Eruca sativa* Mill., rukola, teški metali

Rad sadrži: 26 stranica, 13 slika, 3 tablice, 11 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Doc. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić	predsjednica
2. Doc. dr. sc. Franko Burčul	član
3. Doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek	član-mentor

Datum obrane: 16. 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

DETERMINATION OF HEAVY METALS IN GARDEN CANDYTUFT AND ROCKET SEEDS

Antonija Galić, 189

Abstract: In this graduate thesis the concentrations of selected heavy metals were determined in the seeds of the garden candytuft (*Iberis umbellata* L.) and the rocket (*Eruca sativa* Mill.). The concentrations of selected heavy metals are determined by differential impulse anode "stripping" volatility (DPASV). It is noted that the lowest concentrations of heavy metals were detected for cadmium, 0.06 μg g^{-1} for garden candytuft and 0.44 μg g^{-1} for rocket. Very low concentrations of lead in plant seeds were detected, while the zinc concentrations are within the permissible limits, in the garden candytuft is 34.20 μg g^{-1} while in the rocket 39.80 μg g^{-1}. The concentrations of copper in the seeds of both plants were below the compatible values required for the growth and development of the plant.

Keywords: *Iberis umbellata* L., garden candytuft, *Eruca sativa* Mill., rocket, heavy metals

Thesis contains: 26 pages, 13 pictures, 3 tables, 11 literary references

Original in: Croatian

Defence Committee:

1. Ivana Generalić Mekinić, PhD, assistant prof.	chair person
2. Franko Burčul, PhD, assistant prof.	member
3. Mario Nikola Mužek, PhD, assistant prof.	supervisor

Defence date: October 16th, 2018.

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

Završni rad je izrađen u Zavodu za anorgansku tehnologiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Maria Nikole Mužeka u razdoblju od svibnja do rujna 2018. godine.

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

Zahvala

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

Također se zahvaljujem svojem mentoru doc. dr. sc. Mariu Nikoli Mužeku na velikoj pomoći i suradnji.

Hvala mojim roditeljima na nesebičnoj i bezgraničnoj ljubavi, potpori i razumijevanju, i na kraju hvala mom Josipu koji je prošao to sve sa mnom i bio uvijek tu!

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

- Kupiti sjemenke štitaste ognjice (*Iberis umbellata* L.) i rukole (*Eurca sativa* Mill.).
- Pripremiti sjemenke za određivanje koncentracije odabranih teških metala (cinka, bakra, kadmija i olova).
- Odrediti i usporediti sadržaj teških metala u sjemenkama.

SAŽETAK

U ovom diplomskom radu određene su koncentracije odabranih teških metala u sjemenkama štitaste ognjice (*Iberis umbellata* L.) i rukule (*Eruca sativa* Mill.). Koncentracije odabranih teških metala su određene diferencijalnom impulsnom anodnom "stripping" voltamterijom (DPASV). Uočava se kako su najniže koncentracije teških metala detektirane za kadmij te iznose 0,06 μg g^{-1} za štitastu ognjicu te 0,44 μg g^{-1} za rukolu. Detektirane su jako niske koncentracije olova u sjemenkama biljaka dok su se koncentracije cinka nalazile unutar odgovarajućih granica te u štitastoj ognjici iznosile 34,20 μg g^{-1}, dok su u rukoli bile 39,80 μg g^{-1}. Koncentracije bakra u sjemenkama obiju biljaka su bile ispod odgovarajućih vrijednosti koje su potrebne za rast i razvoj biljke.

Ključne riječi: *Iberis umbellata* L., štitasta ognjica, *Eruca sativa* Mill., rukola, teški metali

SUMMARY

In this graduate thesis the concentrations of selected heavy metals were determined in the seeds of the garden candytuft (*Iberis umbellata* L.) and the rocket (*Eruca sativa* Mill.). The concentrations of selected heavy metals are determined by differential impulse anode "stripping" volatility (DPASV). It is noted that the lowest concentrations of heavy metals were detected for cadmium, 0.06 $\mu g\ g^{-1}$ for garden candytuft and 0.44 $\mu g\ g^{-1}$ for rocket. Very low concentrations of lead in plant seeds were detected, while the zinc concentrations are within the permissible limits, in the garden candytuft is 34.20 $\mu g\ g^{-1}$ while in the rocket 39.80 $\mu g\ g^{-1}$. The concentrations of copper in the seeds of both plants were below the compatible values required for the growth and development of the plant.

Keywords: *Iberis umbellata* L., garden candytuft, *Eruca sativa* Mill., rocket, heavy metals

SADRŽAJ

UVOD **1**
1. OPĆI DIO **3**
1.1. ŠTITASTA OGNJICA (*IBERIS UMBELLATA* L.) **4**
1.2. RUKOLA (*ERUCA SATIVA* MILL.) **5**
1.3. KRUŽENJE TEŠKIH METALA U PRIRODI **6**
1.4. TOKSIČNOST TEŠKIH METALA **7**
1.4.1. CINK 7
1.4.2. BAKAR 8
1.4.3. KADMIJ 9
1.4.4. OLOVO 9
1.5. HIPERAKUMULACIJA TEŠKIH METALA **11**
1.5.1. MEHANIZAM HIPERAKUMULACIJE TEŠKIH METALA 12
2. EKSPERIMENTALNI DIO **14**
2.1. BILJNI MATERIJAL **15**
2.2. INSTRUMENTI **16**
2.3. PROVEDBA EKSPERIMENTA **17**
3. REZULTATI I RASPRAVA **20**
4. ZAKLJUČAK **23**
5. LITERATURA **25**

UVOD

Od velikog broja onečišćujućih tvari koje ljudskom djelatnošću dospijevaju u okoliš, svakako jednu od najvažnijih uloga imaju metali i to prije svega, teški metali. Neki od teških metala su bitni elementi neophodni za normalan rast i metabolizam biljaka (Co, Cu, Fe, Mo, Zn) dok fiziološka funkcija pojedinih nije poznata (Hg, Pb, Cd, As). Njihov značaj se pak ogleda u mogućnosti akumuliranja u biološkim sustavima, visokoj toksičnosti, nemogućnosti detoksikacije prirodnim procesima te ulaskom u biogeokemijske cikluse u okolišu.

S obzirom da proizvodnja metala, prerada i njihova primjena su u svakodnevnom porastu, raste i njihova koncentracija u zraku, vodi i tlu, što povećava rizik od njihovog štetnog djelovanja na žive organizme. Izloženost živih organizama, a posebice ljudi, utjecaju teških metala iz okoliša, ima različite oblike, a putovi unošenja teških metala u žive organizme su različiti. Uneseni u okoliš, metali putuju vodom, zrakom ili se transportiraju u dublje slojeve tla i podzemne vode i to tako dugo sve dok jednim dijelom ne pređu u netopljivi oblik i završe u sedimentu, kao u posljednjoj postaju na kojoj metali ostaju dugo vremena.

Cilj ovog rada bio je odrediti koncentraciju teških metala (cinka, bakra, olova i kadmija) u sjemenkama štitaste ognjice (*Iberis umbellata* L.) i rukole (*Eruca sativa* Mill.).

1. OPĆI DIO

1.1. ŠTITASTA OGNJICA (*IBERIS UMBELLATA* L.)

Hrvatski naziv ove biljke je štitasta ognjica. To je zeljasta biljka cvjetnice roda *Iberis* i obitelji Brassicaceae. Ime roda potječe od *Iberija*, drevnog imena Španjolske, a naziv vrste dolazi od latinske riječi *umbel*, što znači kišobran i odnosi se na izgled cvata. Pupoljci biljke se nalaze neposredno ispod površine tla, a cvjetna os je više ili manje uspravna s nekoliko listova.[1] U tablici 1.1. je prikazana sistematika štitaste ognjice.

Tablica 1.1. Sistematika štitaste ognjice[2]

TAKSONOMSKA KATEGORIJA	NAZIV
Porodica (familia)	Brassicaceae
Red (tribus)	Brassicales Bromhead
Rod (genus)	*Iberis*
Vrsta (species)	*Iberis umbellata* L.

Stabljika je zakrivljena u podnožju dok su grane uspravne. Ove biljke dosegnu visinu od 30 do 50 centimetara. Čašica cvijeta je ljubičaste boje dok su latice ljubičaste, bijele i ružičaste boje. Razdoblje cvatnje je od svibnja do lipnja, cvjetovi su dvospolni i oprašuju ih pčele i leptiri. Raste većinom u Europi, najviše uz obalu, od Španjolske do Grčke te Sjeverne Amerike.[1] Na slici 1.1. prikazana je štitasta ognjica.



Slika 1.1. Štitasta ognjica[1]

1.2. RUKOLA (*ERUCA SATIVA* MILL.)

Rukola (slika 1.2.) odnosno *Eruca sativa* Mill. je jednogodišnja povrtnica kratkog uzgojnog ciklusa. Skromna je i brzorastuća biljka porijeklom s Mediterana. Pripadnik je porodica kupusnjača. Ima duboko urezane tamno zelene listove koji rastu iz rozete. Od biljke se koriste list i sjemenka.[3] U tablici 1.2. je prikazana sistematika rukole.

Tablica 1.2. Sistematika rukole[2]

TAKSONOMSKA KATEGROIJA	NAZIV
Porodica (familia)	Brassicaceae
Red (tribus)	Brassicales
Rod (genus)	*Eruca*
Vrsta (species)	*Eruca sativa* Mill.

Sjemenke rukole se prešaju za dobivanje ulja. Iz ulja se dobiva eruka (toksična, monozasićena masna kiselina koja se može naći i u sjemenkama uljane repice i gorušice). Neprerađeno ulje je biorazgradivo pa je dobra alternativa mineralnim uljima u industriji. Zbog sastava glukozinolata i flavonoida, rukola ima snažno antioksidacijsko djelovanje. Učinkovita je kod suzbijanja blagih bakterijskih i gljivičnih upala, a visoka koncentracija vitamina C djeluje antiskorbutski. Rukola obiluje vitaminima A i K, riboflavinom i folnom kiselinom te kalcijem, magnezijem, bakrom, željezom, cinkom i kalijem. Izotiocijanati s brojnim antioksidansima iz rukole reguliraju imunološki sustav, sprječavaju makularnu degeneraciju i osteoporozu te aktivno štite od raka. Rukola je bogata klorofilom i sumpornim spojevima koji potpomažu čišćenje organizma na staničnom nivou. Pogodna je i za kelatnu terapiju, koja se provodi radi izbacivanja teških metala iz organizma.[3]

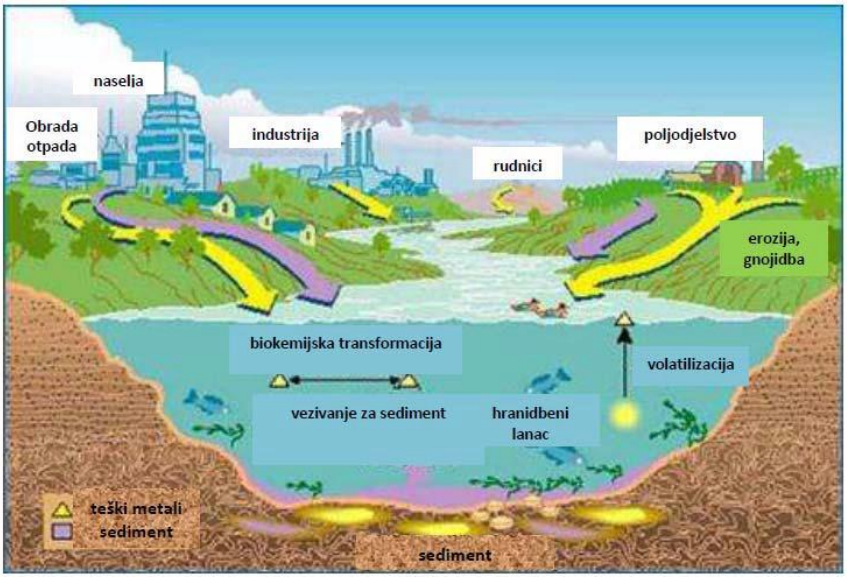


Slika 1.2. Rukola[3]

1.3. KRUŽENJE TEŠKIH METALA U PRIRODI

Teški metali su sve prisutniji u okolišu posebice u industrijaliziranim područjima. Porast broja stanovništva, intenzivna industrijalizacija i urbanizacija uvjetovale su zagađenje čovjekove sredine, prije svega zagađenja vode i zemljišta. Onečišćenje tla teškim metalima bitno se razlikuje od onečišćenja vode i zraka, obzirom da se teški metali dulje zadržavaju u tlu nego li u vodi ili u zraku. Prema istraživanjima, u svijetu se godišnje proizvede 22 000 tona kadmija, 939 000 tona olova te 1 350 000 tona cinka. Najčešći izvori zagađenja tla su metaloprerađivačka, metalurška i elektronička industrija, postrojenja za tretman otpadnih voda, odlagališta otpada i poljoprivredna gnojiva.[4]

Teški metali u obliku finih čestica prašine dospijevaju u atmosferu, odakle se talože u vodi i tlu. U vodi se mnogo brže razgrađuju i nastaju teško topljivi sulfati, sulfiti ili karbonati. Teški metali su s kemijskog stajališta prijelazni metali s atomskom masom iznad 20 g mol^{-1} i gustoćom iznad 5 g cm^{-3}. Pojam teški metal odnosi se na niz metala i metaloida koji mogu biti toksični, kako za biljke tako i za životinje čak i pri vrlo niskim koncentracijama. Teški metali kao što su As, Cd, Pb, Se ili Hg nisu esencijalni jer ne obavljaju nikakvu poznatu fiziološku funkciju u biljkama dok su metali poput Fe, Cu, Co, Mn, Mo, Zn ili Ni bitni elementi neophodni za rast i metabolizam biljaka.[4] Ciklus kruženja teških metala u prirodi prikazan je na slici 1.3.



Slika 1.3. Ciklus kruženja teških metala[4]

1.4. TOKSIČNOST TEŠKIH METALA

Teški metali dovode do trovanja ako je njihova koncentracija iznad optimalnih vrijednosti. Fitotoksičnost teških metala može biti rezultat promjene u brojnim fiziološkim procesima na staničnoj i molekulskoj razini, a mogu se očitovati u obliku inaktivacije enzima, potiskivanja ili zamjene esencijalnih elemenata, blokiranju funkcijskih skupina metabolički važnih molekula i narušavanju integriranja stanične membrane. Posljedica učinka teških metala je povećanje proizvodnje reaktivnih kisikovih vrsta zbog ometanja transporta elektrona, što je posebno izraženo u membrani kloroplasta. Osobitu toksičnost pokazuju metaloorganski spojevi žive, olova, kroma i selena. Povećane koncentracije teških metala mogu biti uzrok nastanka autoimunih oboljenja, pri čemu se stvaraju protutijela usmjerena protiv vlastitog organizma.[4,5]

Trovanje olovom kod djece uzrokuje neurološka oštećenja koja smanjuju inteligenciju, uzrokuju probleme u učenju i koordinaciji pokreta. Trovanje arsenom uzrokuje kardiovaskularne probleme, vezan je uz rak kože i druge kožne bolesti. Kadmij se akumulira u bubrezima, dok su prvi znaci trovanja živom suhoća usta i grla, tegobe pri disanju, bol u prsima, drhtavica, nepreciznost u pokretima ruku i prstima te probavne tegobe. Pri teškom trovanju živom dolazi do gubitka pamćenja, grčeva, oduzetosti i smrti.[5]

Kada ove tvari dospiju u organizam talože se u masnom tkivu, jetri, bubrezima i mozgu, te od tu djeluju na biokemijske i hormonske procese, kao što su metabolizam i rast stanica te plodnost. Velik broj različitih onečišćujućih tvari koje se javljaju u okolišu, svrstavaju se u opasne tvari, a u okoliš mogu doći iz prirodnih izvora kao i iz izvora koje je stvorio čovjek. Ove tvari se u okolišu mogu oslobađati spontano – svakodnevno ili pak nesretnim slučajem, bez obzira dolaze li od prirodnih ili antropogenih izvora. Sve onečišćujuće tvari koje se, osim iz prirodnih izvora, u okolišu javljaju u obliku velikog broja različitih emisija iz industrija i drugih djelatnosti, mogu se razvrstati u osnovne skupine: anorganske onečišćujuće tvari, organske onečišćujuće tvari, organometalne, radioaktivne izotope i plinovite onečišćujuće tvari.[5]

1.4.1. CINK

Cink (Zn) je jedan od esencijalnih mikroelemenata koji je biljkama potreban u malim količinama. Normalan udio cinka u biljnom tkivu je 15-60 $\mu g\ g^{-1}$, a u supstratu

za uzgoj 0,10-2,0 μg g^{-1}. Nedostatak cinka se ne javlja jako često, međutim nedostatak cinka može ostaviti štetne posljedice na rast i razvoj biljke. Niske temperature tla i visoke količine fosfora u tlu, značajno otežavaju usvajanje cinka iz tla. Cink povećava otpornost biljaka na bolesti (preko utjecaja na proteosintezu), povećava otpornost na sušu (smanjuje transpiraciju) te povećava otpornost na niske temperature. Također je uključen u metabolizam dušika u biljci. Kod biljaka kojima nedostaje cink, sinteza proteina je značajno reducirana. Biljke koje su dovoljno opskrbljene cinkom sintetiziraju veće količine škroba. Simptomi nedostatka cinka uočavaju se u pojavi međužilne kloroze lista, sitnolisnatosti i smanjenja rasta zbog skraćivanja internodija. Simptomi nedostatka jednako se uočavaju na mlađem i starijem lišću. Suvišak cinka u biljci se rijetko javlja i to samo na kiselim staništima ili na staništima koje trpe visoko zagađenje cinkom iz industrijskih postrojenja.[6,7]

Koncentracija vodotopivog cinka u tlu značajno opada porastom pH vrijednosti tla. Na količinu usvojivog cinka u tlu također utječe i količina kelatnih agensa, koji su prisutni u tlu, a koji nastaju iz izlučevina korijena ili razgradnjom organske tvari.[7]

1.4.2. BAKAR

Pokretljivost bakra (Cu) u biljkama je osrednja. Transport u velikoj mjeri ovisi o koncentraciji bakra u biljkama. Ako ga nema dovoljno, premještanje u nadzemne dijelove biljaka, kao i iz starijih u mlađe listove, je neznatno. Iz listova pšenice koje imaju visoku koncentraciju bakra, tijekom rasta zrna 70 % te količine se premještaju u zrno. Nasuprot tome, pri niskoj koncentraciji bakra iz listova se premješta svega 20 % bakra. Koncentracija bakra u biljkama kreće se od 5 do 30 mg kg^{-1} suhe tvari. Ako je udio u suhoj tvari manji od 4 mg kg^{-1}, smatra se da biljka ne sadrži dovoljnu koncentraciju bakra, a ako je taj sadržaj preko 20 do 100 mg kg^{-1} smatra se da je koncentracija bakra previsoka. Biljke koje su jako osjetljive na smanjenu koncentraciju bakra su zob, ječam, pšenica, duhan i špinat. Kao posljedica smanjene koncentracije bakra kod biljaka dolazi do uvenuća i uvijanja listova, odumiranja mladih listova, smanjenja rasta i prinosa. Do toksičnog djelovanja ovog elementa dolazi kad je njegov ukupni sadržaj u tlu od 25 do 40 mg kg^{-1} i ako je pri tome pH tla ispod 5,5. Također se može reći da se velika količina bakra nalazi u kiselom tlu. Odgovarajuću pažnju treba posvetiti koncentraciji bakra zbog toga što je on neophodan u određenoj koncentraciji za biljke i životinje, a u visokim koncentracijama može biti toksičan.[8]

1.4.3. KADMIJ

Kadmij (Cd) i njegovi spojevi su vrlo otrovni, a njihova se otrovnost utvrdila tek u prvoj polovici prošlog stoljeća. Opasnost od onečišćenja okoliša kadmijem leži prije svega u procesima taljenja i rafinacije cinka i olova, gdje se kadmij nalazi kao pratilac, a u atmosferu dospijeva s prašinom i dimnim plinovima. Tehnološki procesi proizvodnje akumulatora, boja i polimernih materijala, također su izvori onečišćenja kadmijem. Neke soli kadmija (npr. kadmijev klorid) koriste se kao insekticidi i fungicidi, premda je njihova važnost relativno mala. Ovaj toksični teški metal se u organizam vrlo često unosi hranom iz sirovina biljnog podrijetla uzgojem bilja na onečišćenom tlu te se iz probavnog sustava apsorbira < 10 %, dok je apsorpcija inhaliranog kadmija znatno veća i iznosi do 40 %. Apsorbirani kadmij prenosi se putem krvi i raspoređuje u organizmu te akumulira u bubrezima, mišićima i jetri. Kod predoziranja kadmija ingestijom, njegova apsorpcija je ograničena zbog brzog povraćanja nakon ingestije, dok je s druge strane, apsorpcija preko pluća izražena i to iz dima i aerosola emitiranih iz spalionica fosilnih goriva i komunalnog otpada, kao i iz dima cigarete. Apsorpcija kadmijevih soli preko kože nije zabilježena. Kationi kadmija odlažu se uglavnom u gušterači, jetri, bubrezima i u plućima. Akumulirani kadmij se vrlo sporo uklanja iz organizma.[8]

Brojne biljne vrste pokazuju da je sadržaj kadmija u nadzemnim organima u korelaciji s njegovom koncentracijom u tlu. Naime, kadmij usvojen iz tla uglavnom se zadržava u korijenu, a udio u stablu i listovima biljke je približno isti ili manji od njegove koncentracije u korijenu. Neke biljke (primjerice djetelina) imaju sposobnost akumuliranja kadmija iz tla pa ga se može naći u sjemenu žitarica uzgajanih na jako onečišćujućim tlima, a njegova koncentracija ne prelazi 1 mg kg^{-1} suhe tvari. Kadmij najviše apsorbiraju rajčica, salata i špinat. U vegetativnim nadzemnim organima ovih povrtnih kultura njegova koncentracije može biti i do 160 mg kg^{-1}. Viša koncentracija kadmija u biljkama inhibira metabolizam željeza, izaziva klorozu smanjujući tako intenzitet fotosinteze.[8]

1.4.4. OLOVO

Najčešća trovanja olovom povezana su s radnom sredinom koja je obično onečišćena olovom zbog nedovoljnih mjera zaštite. Trovanje olovom se ubraja u kronična trovanja, jer za promjene u organizmu koje nastaju zbog metabolizma i

nakupljanja olova treba određeno vrijeme koje ovisi o intenzitetu izloženosti. Primjerice, pri izloženosti ljudskog organizma niskim koncentracijama olova, ponekad do pojave simptoma može proći i nekoliko mjeseci ili čak godina.[8]

Posljednjih 50 godina, zbog naglog povećanja koncentracije olova u okolišu, olovo postaje problem, što potkrepljuju i mjerenja sadržaja olova u ledu Grenlanda koja su pokazala da je njegova koncentracija početkom industrijske revolucije iznosila 10 pg g^{-1} leda, da bi danas porasla na oko 200 pg g^{-1} leda. U urbanim sredinama okoliš još uvijek onečišćuju produkti sagorijevanja etiliranih benzina, otpadne boje koje kao pigment sadrže olovljev oksid (Pb_3O_4), dim iz cigareta, itd. U ovim sredinama dnevni unos olova u ljudski organizam udisanjem zraka, hranom i vodom, obično ne prelazi 100 μg od čega se apsorbira oko 30 do 50 % olova, a u probavnom sustavu samo oko 20 %. Apsorbirano se olovo prenosi krvlju i raspoređuje se u bubrege, jetru, kosti i druga tvrda tkiva. Najviše olova nalazi se u kostima (> 90 %), dok su najniže koncentracije utvrđene u mišićima, masnom tkivu i mozgu. Olovo se iz organizma pretežno eliminira putem bubrega i tim se putem u zdrave odrasle osobe dnevno može izlučiti oko 500 μg, dok je kod djece taj put ograničen pa ona izlučuju oko 30 μg olova.[8]

Među najznačajnije izvore olova u okolišu ubrajaju se i tzv. mobilni izvori tj. motorna vozila koja se kao izvori obično povezuju s onečišćenjem biljaka i tla. Nakupljanje olova u biljkama, u blizini autocesta ovisi o udaljenosti biljaka od prometnica, gustoći i vrsti biljnog raslinja, trajanju vegetacijskog razdoblja te smjeru i intenzitetu vjetra. Anorganski oblik olova iz onečišćenog tla biljke slabo primaju i premještaju u nadzemne dijelove (stabljiku i listove), osim kad se radi o kiselim tlima. Organske spojeve olova biljka relativno brzo usvaja i translocira u nadzemne dijelove, premda većina biljaka intenzivnije nagomilava olovo u korijenu nego u nadzemnim dijelovima. Visoka koncentracija olova u biljkama usporava izduženje korijena i rast listova, usporava procese fotosinteze i utječe na morfološko-anatomsku građu biljaka. Reakcija kulturnih biljaka na povišeni sadržaj olova je različita. Pšenica i soja pokazuju relativno visoku toleranciju, dok se špinat ubraja u osjetljive biljke, jer se već pri koncentraciji od 10 mg kg^{-1} suhe tvari, prinos špinata značajno smanjuje.[8]

1.5. HIPERAKUMULACIJA TEŠKIH METALA

Pojam "hiperakumulator" odnosi se na biljke koje aktivno usvajaju velike količine jednog ili više teških metala iz tla. Hiperakumulatori za razliku od biljaka tolerantnih na teške metale, aktivno usvajaju velike količine jednog ili više različitih teških metala, prenose ih u nadzemne biljne organe (primjerice u listove) gdje ih pohranjuju u 100-1000 puta većoj koncentraciji nego nehiperakumulirajuće vrste i to bez ikakvih simptoma toksičnosti.[9]

Tri glavne karakteristike hiperakumulatora kojima se oni razlikuju od uobičajenih biljnih vrsta su:[8]

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

Do sada je poznato oko 450 hiperakumulatorskih vrsta što je manje od 0,2 % svih poznatih biljnih vrsta. Ove biljne vrste i dalje rastu, tako da će se još mnogi neidentificirani hiperakumulatori pojaviti u prirodi. S druge strane, neke se biljne vrste, koje se kvalificiraju kao hiperakumulatori na temelju analiziranih uzoraka, možda mogu izbrisati s popisa ako ta svojstva nisu potvrđena ispitivanjem u kontroliranim uvjetima.[8]

U ranijim fazama istraživanja, izraz hiperakumulator se odnosio na biljke koje imaju sposobnost akumulacije više od 1 mg g^{-1} nikla što predstavlja iznimno visoku koncentraciju teških metala s obzirom na to da se u vegetativnim organima većine biljaka koncentracije nikla kreću između 10-15 μg g^{-1}. Uzastopnim mjerenjima dobivene su granične vrijednosti kojima se definiraju hiperakumulatori teških metala. Prema tim kriterijima, hiperakumulatori su biljke koje akumuliraju:[9]

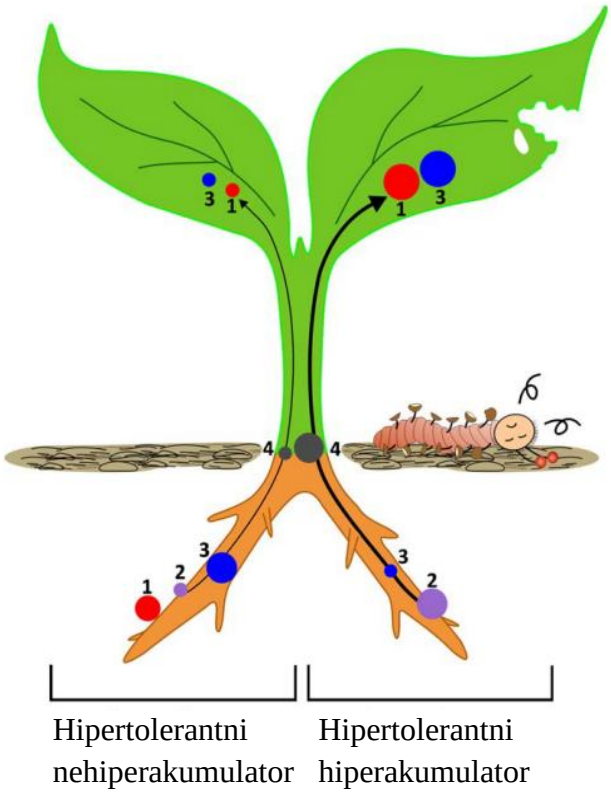
- > 10 mg mangana ili cinka po gramu suhe tvari biljke (1 % njezine mase)
- > 1 mg arsena, kobalta, kroma, bakra, nikla, olova, antimona, selenija ili talija po gramu suhe tvari biljke (0,1 % njezine mase)
- > 0,1 mg kadmija po gramu suhe tvari biljke (0,01 % suhe mase)

u izdanku bez simptoma fitotoksičnosti. Nikal je hiperakumuliran u najvećem broju biljaka (više od 75 %), dok je za kadmij, koji je jedan od najtežih teških metala, pronađen mali broj akumulatora (samo pet biljnih vrsta do danas). Nikal je metal koji

doseže najvišu koncentraciju u biljkama. Primjerice *Sebartia acuminata* (Pierre ex Baill.) (Sapotaceae), endemsko drvo koje raste na serpentinskom tlu u Novoj Kaledoniji, akumulira do 26 % nikla. Oko 25 % otkrivenih hiperakumulatora pripada obitelji Brassicaceae, posebno rodovima *Thlapsi* i *Alyssum*. *Arabidopsis halleri* L. i *Sedum alfredii* H., zajedno s *Thlapsi caerulescens* J. Presl & C. Presl i *Thlapsi praecox* Wulfen, su četiri poznate biljne vrste koje osim što hiperakumuliraju cink, hiperakumuliraju i kadmij.[9]

1.5.1. MEHANIZAM HIPERAKUMULACIJE TEŠKIH METALA

Mehanizam hiperakumulacije teških metala prikazan je na slici 1.4. Lijevi dio biljke (list i stabljika) predstavlja model biljke koja ne hiperakumulira teške metale, dok je desna strana biljke prikazana kao model hiperakumulatora.[9]



Slika 1.4. Mehanizam hiperakumulacije teških metala: 1. Vezivanje teškog metala na stanične zidove i/ili stanične eksudate; 2. Usvajanje pomoću korijena; 3. Kelatiranje u citosolu i/ili sekvestracija u vakuole; 4. Translokacija do stabljike[9]

Mehanizam hiperakumulacije teških metala se može podijeliti na sljedeće korake:[9]

- prvo se u korijenu biljke odvija vezivanje 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.

Stupanj hiperakumulacije jednog ili više teških metala može značajno varirati među različitim vrstama, kao i među populacijama i među ekotipovima iste vrste. Napredak u razumijevanju mehanizama koji reguliraju hiperakumulaciju metala napravljen je u posljednjem desetljeću kroz usporedne fiziološke, genomske i proteomske studije hiperakumulatora i srodnih biljaka bez hiperakumulacije.[9]

Odlučujuća uloga u upravljanju usvajanjem velike količine teških metala, translokaciji u nadzemne dijelove i sekvestracijii u vakuole ili stanične zidove hiperakumulatora se pripisuju overekspresiji gena koji kodiraju transmembranske transportere. Za razliku od nehiperakumulatorskih biljaka koje u stanicama korijena zadržavaju veći dio teških metala usvojenih iz tla, hiperakumulatori brzo i učinkovito translociraju teške metale u izdanke preko ksilema.[9]

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. BILJNI MATERIJAL

U eksperimentalnom dijelu rada korištene su sjemenke štitaste ognjice (*Iberis umbellata* L.) proizvođača Tuinplus b. v. Heerenveen, Nizozemska (slika 2.1.) i rukole (*Eruca sativa* Mill.) proizvođača Bauhaus-Zagreb k.d., slika 2.2.



Slika 2.1. Sjeme štitaste ognjice (*Iberis umbellata* L.)



Slika 2.2. Sjeme rukole (*Eruca sativa* Mill.)

2.2. INSTRUMENTI

U radu su korišteni sljedeći instrumenti:

- Peć Demiterm Easy, proizvođač Elektrosanitarij, Novaki, Hrvatska (slika 2.3.)



Slika 2.3. Peć Demiterm Easy

- µAutolab III potenciostat (Metrohm-Autolab) kontroliran GPES 4.9 softverom (slika 2.4.)



Slika 2.4. µAutolab III potenciostat (Metrohm-Autolab)

2.3. PROVEDBA EKSPERIMENTA

Od sjemenki odabranih biljaka (štitasta ognjica i rukola) uzme se po 1 g uzorka i premjesti u lončiće za žarenje (slika 2.5.) i prenese u peć za žarenje (slika 2.6.).



Slika 2.5. Pripremljeni uzorci



Slika 2.6. Uzorci pripremljeni za žarenje u peći na 500 °C

Uzorci se spaljuju preko noći na temperaturi od 500 °C. Nakon što se izvade iz peći (slike 2.7. i 2.8.) i ohlade, uzorke je potrebno otopiti u 5 mL 20 % HCl. Ukoliko je potrebno, otopina se zagrije kako bi se sav ostatak otopio.



Slika 2.7. Uzorak štitaste ognjice nakon žarenja



Slika 2.8. Uzorak rukole nakon žarenja

Dobivena otopina se profiltrira (slika 2.9.), a dobiveni filtrat je potrebno dopuniti do oznake ultračistom vodom u odmjernoj tikvici od 50 mL te dobro promiješati. Ovako pripremljene otopine uzoraka su spremne za daljnju analizu.



Slika 2.9. Filtriranje uzoraka

Koncentracije metala u tragovima (cink, bakar, kadmij i olovo) određene su diferencijalnom impulsnom anodnom "stripping" voltametrijom (DPASV). Mjerenja su provedena na μAutolab III potenciostatu (Metrohm-Autolab) kontroliranom GPES 4.9 softverom u sustavu s tri elektrode u otopini analita - ćeliji (663 VA Stand, Metrohm). Ag|AgCl|(zas.)NaCl elektroda se koristila kao referentna elektroda, platinska žica kao pomoćna elektroda te nepomična kapajuća živina elektroda (SMDE) kao radna elektroda. Analize metala u tragovima su izvedene pomoću potpuno automatiziranog sustava sastavljenog od instrumenta, izmjenjivača uzorka iz kućne radinosti te pet Cavro XE 1000 pumpa za šprice. Analize su provedene na Institutu Ruđer Bošković.

3. REZULTATI I RASPRAVA

U okviru diplomskog rada izmjerene su koncentracije dvaju osnovnih metala koji su bitni za rast i razvoj biljaka, a to su: cink i bakar te koncentracije dvaju metala koji mogu štetno djelovati na rast i razvoj biljaka, a to su kadmij i olovo u sjemenkama biljaka štitasta ognjica (*Iberis umbellata* L.) i rukola (*Eruca sativa* Mill.). U tablici 3.1. su prikazane izmjerene koncentracije odabranih metala dobivene nakon analize otopina sjemenki biljaka diferencijalnom impulsnom anodnom "stripping" voltametrijom (DPASV).

Tablica 3.1. Koncentracije teških metala u otopinama sjemenki

Sjeme	Koncentracija teškog metala (μg g^{-1})			
	Zn	**Cu**	**Cd**	**Pb**
Štitasta ognjica (*Iberis umbellata* L.)	34,20	4,80	0,06	0,35
Rukola (*Eruca sativa* Mill.)	39,80	3,10	0,44	0,21

Najniže koncentracije teških metala detektirane su za kadmij te iznose 0,06 μg g^{-1} za štitastu ognjicu (*Iberis umbellata* L.) te 0,44 μg g^{-1} za rukolu. Izmjerene koncentracije su unutar očekivanih granica jer sadržaj kadmija najčešće ne prelazi 1 μg g^{-1} suhe tvari.

Ukoliko se koncentracija cinka kreće od 10-20 μg g^{-1} radi se o akutnom nedostatku cinka. S obzirom da cink ima višestruku ulogu u razvoju biljaka nedostatak cinka može izazvati veliko promjene u morfološkoj i anatomskoj građi biljke. U sjemenkama ovih biljaka koncentracija cinka se nalazi unutar odgovarajućih granica - u prosjeku je to 30 do 50 μg g^{-1} pa je tako za štitastu ognjicu izmjerena koncentracija cinka iznosila 34,20 μg g^{-1} dok je za rukolu iznosila 39,80 μg g^{-1}.

Kod sjemenki obiju biljaka detektirane su jako niske koncentracije olova (štitasta ognjica 0,35 μg g^{-1} te rukola 0,21 μg g^{-1}) što je i poželjno jer je olovo iznimno toksično. Prenosi se krvlju te raspoređuje u gotovo sve organe u ljudskom organizmu.

Vrijednosti dobivene za bakar se nalaze ispod odgovarajućih vrijednosti koje su potrebne za rast i razvoj biljke, a koje se kreću od 5 do 30 μg g^{-1}. Značajna je uloga

bakra u metabolizmu dušikovih spojeva jer regulira vezivanje amonijaka na ketokiseline, utječe na sintezu nukleinskih kiselina, bakterijskog hemoglobina, metabolizam ugljikohidrata, lignifikaciju, formiranje polena i plodnost biljaka, povećava otpornost na niske temperature i dr.[11] Uslijed nedostatka mikrohranjiva na biljkama se javljaju anatomske i morfološke promjene za koje se dugo mislilo da su posljedice bolesti izazvane mikroorganizmima.

4. ZAKLJUČAK

Diferencijalnom impulsnom anodnom "stripping" voltametrijom (DPASV) izmjerene su koncentracije određenih teških metala (cink, bakar, kadmij i olovo) u sjemenkama štitaste ognjice (*Iberis umbellata* L.) i rukole (*Eruca sativa* Mill.). S obzirom na rezultate može se zaključiti sljedeće:

- Najniže koncentracije teških metala su detektirane za kadmij te iznose za štitastu ognjicu 0,06 μg g^{-1} te za rukolu 0,44 μg g^{-1}.

- Koncentracija cinka u štitastoj ognjici iznosi 34,20 μg g^{-1} dok je u rukoli 39,80 μg g^{-1} te se nalazi unutar odgovarajućih granica.

- Detektirane su jako niske koncentracije olova u sjemenkama biljki (štitasta ognjica 0,35 μg g^{-1} te rukola 0,21 μg g^{-1}).

- Vrijednosti dobivene za bakar u sjemenkama obiju biljaka se nalaze ispod odgovarajućih vrijednosti koje su potrebne za rast i razvoj biljke, a koje se kreću od 5 do 30 μg g^{-1}.

5. LITERATURA

1. URL:http://www.hr.wikipdia.org.ognjica (17.9018.)
2. URL:http://www.agroklub.com/proizvodnja-rikole (16.9.2018.)
3. URL:http://www.plantea.com.hr/uskolisni-drvoredac (17.9.2018.)
4. URL:http://bib.irb.hr/datoteke/582661.Hiperakumulatori_teških_metala.pdf (22.9.2018.)
5. URL:http://www.poliklinika-harni.hr/Teški-metali (23.9.2018.)
6. URL:http://www.gnojidba.info/mikroelementi/cink-zn-1-dio/ (24.9.2018.)
7. URL:http://www.gnojidba.info/mikroelementi/cink-zn-2-dio/ (24.9.2018.)
8. *T. Sofilić*, Ekotoksikologija, Sveučilište u Zagrebu, Metalurški fakultet, Sisak, 2014.
9. *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.
10. *M. R.* Macnair, The hyperaccumulation of metals by plants, Adv. Bot. Res. **40** (2003) 63-105.
11. *V. Vukadinović, V. Vukadinović*, Ishrana bilja, Poljoprivredni fakultet, Osijek, 2011.