

Utjecaj poboljšivača na fitoremedijaciju kadmija i žive iz tla pomoću trave *Miscanthus x giganteus*

Zubčić, Lana

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:469692>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**UTJECAJ POBOLJŠIVAČA NA FITOREMEDIJACIJU
KADMIJA I ŽIVE IZ TLA POMOĆU TRAVE
MISCANTHUS X GIGANTEUS**

DIPLOMSKI RAD

Lana Zubčić

Zagreb, rujan, 2023.
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:

Ekološka poljoprivreda i agroturizam

**UTJECAJ POBOLJŠIVAČA NA FITOREMEDIJACIJU
KADMIJA I ŽIVE IZ TLA POMOĆU TRAVE
MISCANTHUS X GIGANTEUS**

DIPLOMSKI RAD

Lana Zubčić

Mentor:

prof. dr. sc. Željka Zgorelec

Zagreb, rujan, 2023.
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Lana Zubčić**, JMBAG 0178112146, rođena 13.10.1997. u Rijeci, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

**UTJECAJ POBOLJŠIVAČA NA FITOREMEDIJACIJU KADMIJA I ŽIVE IZ TLA POMOĆU TRAVE
MISCANTHUS X GIGANTEUS**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica 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 odobrila mentorica;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE
O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Lane Zubčić**, JMBAG 0178112146, naslova

**UTJECAJ POBOLJŠIVAČA NA FITOREMEDIJACIJU KADMIJA I ŽIVE IZ TLA POMOĆU TRAVE
MISCANTHUS X GIGANTEUS**

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

- | | | |
|----|--|----------|
| 1. | prof. dr. sc. Željka Zgorelec | mentor |
| 2. | dr. sc. Silva Žužul, dipl. ing. kem, IMI | komentor |
| 3. | izv. prof. dr. sc. Nikola Bilandžija | član |
| 4. | prof. dr. sc. Ivica Kisić | član |

potpisi:

Zahvala

Zahvaljujem se svojoj mentorici prof. dr. sc. Željki Zgorelec na uloženom vremenu, trudu i podršci koju mi je pružila tijekom pisanja ovoga rada te komentorici dr. sc. Silvi Žužul s Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada, na strpljenju i pomoći. Ivi Hrelji i Mariji Galić zahvaljujem na pomoći u laboratoriju.

Hvala dr. sc. Zorani Kljaković-Gašparić s Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada na odrađenim analizama žive u tlu i nadzemnoj biomasi te dr.sc. Mariji Trkmić iz Centralnog kemijsko-tehnološkog laboratorija HEP-Proizvodnje d.o.o. na odrađenim analizama kadmija i žive u podzemnoj biomasi.

Hvala svim prijateljicama i kolegicama koje su mi uljepšale studentske dane, a posebno zahvaljujem mojoj Tiani na svakom trenutku koji smo provele zajedno, na fakultetu i izvan njega.

Najveće hvala mojim roditeljima, Dolores i Božidaru, na neizmjerne ljubavi, podršci i požrtvovnosti te mojem dečku Nikoli na motivaciji i ohrabrenju. Hvala vam što ste uvijek vjerovali u mene i moje odluke.

Ovaj rad posvećujem mojoj sestri Viktoriji.

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Pregled literature	2
2.1. Teški metali	2
2.2. Kadmij	4
2.2.1. Kadmij u tlu	5
2.2.2. Kadmij u biljkama	7
2.3. Živa	8
2.3.1. Živa u tlu	9
2.3.2. Živa u biljkama	11
2.4. <i>Miscanthus x giganteus</i>	12
2.5. Poboljšivači tla	14
2.5.1. Otpadni mulj	14
2.5.2. Mikoriza	17
2.5.3. Pepeo	20
3. Hipoteze i ciljevi rada	23
4. Materijali i metode istraživanja	24
4.1. Eksperimentalni dizajn	24
4.2. Tlo	25
4.3. Biljni materijal	27
4.4. Tretmani	28
4.4.1. Tlo bez poboljšivača (I)	28
4.4.2. Otpadni mulj (II)	28
4.4.3. Mikoriza (III)	29
4.4.4. Pepeo (IV)	29
4.5. Metodologija analiza	30
4.6. Kronologija radova na istraživanju	31
4.7. Statistička analiza podataka	35
4.8. Kontrola kvalitete	35
5. Rezultati i rasprava	36
5.1. Tlo nakon eksperimenta	36
5.2. Usporedba rezultata analize tla prije i nakon eksperimenta	37
5.3. Nadzemna biomasa	46
5.4. Podzemna biomasa (rizomi)	54
5.5. Usporedba sadržaja Cd i Hg u ispitivanim uzorcima	57
6. Zaključci	61
7. Literatura	63
Životopis	73

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Lane Zubčić**, naslova

UTJECAJ POBOLJŠIVAČA NA FITOREMEDIJACIJU KADMIJA I ŽIVE IZ TLA POMOĆU TRAVE MISCANTHUS X GIGANTEUS

Istraživanje prezentirano u ovom radu provedeno je u završnoj godini trogodišnjeg eksperimenta koji se provodio na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu u razdoblju od 2018. do 2021. godine. Glavni cilj rada bio je utvrditi utjecaj različitih poboljšivača (čisto tlo – kontrola, otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, mikoriza, pepeo MxG) na fitoremedijaciju tla onečišćenog s kadmijem i živom pomoću trave miskantus (*Miscanthus x giganteus* – MxG), energetske kulture koja se zbog svojih odlika (višegodišnji rast, visoka produktivnost i otpornost) koristi u proizvodnji biomase. Eksperimentalni dizajn postavljen je u plastičnim posudama prema slučajnom bloknom rasporedu, u četiri tretmana i tri ponavljanja. Tretmani su se međusobno razlikovali po dodanom poboljšivaču, dok je razina onečišćenja bila jednaka (100 mg Cd/kg tla i 20 mg Hg/kg tla). Kemijskim analizama određeni su parametri tla te podzemne (rizomi) i nadzemne biomase miskantusa. Prinos se kretao između 5,0 – 5,5 t ST/ha, sadržaj kadmija između 5,98 – 7,12 mg/kg, a sadržaj žive između 41,78 – 101,79 µg/kg u nadzemnoj biomasi. Sadržaj kadmija u podzemnoj biomasi kretao se između 44,3 – 57,2 mg/kg, a žive između 4,24 – 6,05 mg/kg. Koeficijent obogaćivanja (EC) u nadzemnoj biomasi za Cd kretao se između 0,060 i 0,071, što ukazuje na slabu akumulaciju Cd nadzemnom biomasom; a za Hg između 0,002 i 0,005, što znači da miskantus ne akumulira živu u nadzemnoj biomasi. EC u podzemnoj biomasi za Cd se kretao između 0,44 i 0,57, a za Hg između 0,21 i 0,30 što miskantus svrstava u kategoriju biljaka koje usvajaju umjerene količine Cd i Hg. Faktor translokacije (TF) za Cd kretao se između 0,104 i 0,145, a za Hg između 0,008 i 0,024. Dodani poboljšivači nisu imali značajan utjecaj na fitoremedijaciju kadmija i žive iz jako onečišćenog tla. Utvrđeno je da je onečišćenje visokim koncentracijama Cd i Hg nadjačalo utjecaj dodanih poboljšivača. Onečišćenje teškim metalima negativno je utjecalo na prinos. Pokazalo se da pri onečišćenju kadmijem i živom u ispitivanim koncentracijama miskantus nije najprikladniji izbor za fitoekstrakciju jer nadzemnom biomasom godišnje odnosi niske koncentracije teških metala, a vrijednosti u nadzemnoj biomasi premašuju dozvoljene za njeno sigurno spaljivanje. Prema izračunatom koeficijentu obogaćivanja i faktoru translokacije miskantus je pogodniji za korištenje u procesu fitostabilizacije i proizvodnji biomase na tlima umjereno kontaminiranim teškim metalima.

Ključne riječi: otpadni mulj, mikoriza, pepeo, rizomi, teški metali, prinos

Summary

Of the master's thesis – student **Lana Zubčić**, entitled

EFFECT OF SOIL IMPROVERS ON PHYTOREMEDIATION OF CADMIUM AND MERCURY FROM SOIL USING GRASS MISCANTHUS X GIGANTEUS

The research presented in this paper was conducted in the last year of a three-year experiment conducted at the Faculty of Agriculture, University of Zagreb, from 2018 to 2021. The main objective of this work was to determine the influence of different amendments (clean soil – control, waste sludge from a biogas plant, mycorrhiza, MxG ash) on phytoremediation of soil contaminated with cadmium and mercury using Miscanthus (*Miscanthus x giganteus* – MxG), an energy crop used in biomass production due to its characteristics (perennial growth, high productivity and resistance). The experiment was set up in plastic pots as a randomized complete block design with four treatments and three replicates. The treatments differed from each other by the addition of amendments, while the pollutant levels were the same (100 mg Cd/kg soil and 20 mg Hg/kg soil). Soil parameters and below-ground (rhizomes) and above-ground biomass of Miscanthus were determined by chemical analysis. Yield ranged from 5,0 – 5,5 t ST/ha, cadmium content ranged from 5,98 – 7,12 mg/kg, and mercury content ranged from 41,78 – 101,79 µg/kg in aboveground biomass. Cadmium content in belowground biomass ranged from 44,3 – 57,2 mg/kg and mercury content ranged from 4,24 – 6,05 µg/kg. The enrichment coefficient (EC) in the aboveground biomass ranged from 0,060 to 0,071 for Cd, indicating weak enrichment of Cd in the aboveground biomass, and from 0,002 to 0,005 for Hg, indicating that Miscanthus does not enrich mercury in the aboveground biomass. The EC in belowground biomass ranged from 0,44 to 0,57 for Cd and from 0,21 to 0,30 for Hg, placing Miscanthus in the category of plants that accumulate moderate amounts of Cd and Hg. The translocation factor (TF) for Cd ranged from 0,104 to 0,145, and that for Hg ranged from 0,008 to 0,024. The added soil amendments had no significant effect on the phytoremediation of Cd and Hg from heavily contaminated soils. It was found that contamination with high Cd and Hg concentrations overrode the effect of the added soil amendments. Heavy metal contamination had a negative effect on yield. Miscanthus was found not to be the best choice for phytoextraction when contaminated with Cd and Hg at the concentrations tested, because it accumulates and removes low concentrations of heavy metals per year via the aboveground biomass, and the levels in the aboveground biomass exceed those allowed for its safe combustion. According to the calculations of EC and TF, Miscanthus is better suited for phytostabilization and biomass production on soils moderately polluted with heavy metals.

Keywords: sewage sludge, mycorrhiza, ash, rhizomes, heavy metals, yield

1. Uvod

Tlo je rastresiti sloj Zemljine kore nastao trošenjem litosfere pod utjecajem klimatskih i bioloških čimbenika, njegova najvažnija uloga iz perspektive čovjeka jest proizvodna (Kisić, 2012). U ekosustavu tlo ima nebrojeno mnogo različitih uloga, neke od njih su regulacija topline i utjecaj na stanje u atmosferi, sudjelovanje u biogeokemijskom kruženju tvari, regulacija zaliha vode te pružanje životnog prostora za ljude, životinje i biljke (Bašić, 1994). Iako je važnost tla neupitna te se ono smatra konačnim resursom čiji gubitak se ne može obnoviti u ljudskom vijeku, prema podacima FAO i ITPS (2015) 33 % tla u svijetu već je degradirano, a preko 90 % moglo bi to postati do 2050. godine. Sukladno navedenom i trendu stalnog porasta broja svjetskog stanovništva, važno je očuvati postojeća zdrava i plodna tla te ih koristiti prvenstveno za proizvodnju prehrambenih kultura. Onečišćena tla mogu se iskoristiti za uzgoj energetskih kultura u svrhu proizvodnje biogoriva, istovremeno uzgajane energetske kulture uklanjaju onečišćivače iz tla procesom fitoremedijacije. Fitoremedijacija je okolišno prihvatljiva tehnologija koja koristi biljke za uklanjanje, degradaciju ili zadržavanje štetnih tvari u tlu (Morel et al., 2006). Razlikuje se nekoliko mehanizama fitoremedijacije koji se koriste pri uklanjanju teških metala iz tla: fitostabilizacija, fitoekstrakcija i rizofiltracija. Fitostabilizacija podrazumijeva blokiranje onečišćivača u tlu, fitoekstrakcija uklanjanje i akumulaciju onečišćivača u biljci, a rizofiltracija ekstrakciju i zadržavanje onečišćivača u podzemnoj biomasi (Kisić, 2012).

Jedna od energetskih kultura s potencijalom za primjenu u procesu fitoremedijacije je visoko energetska kultura miskantus (*Miscanthus x giganteus* – MxG) koju karakterizira višegodišnji rast, visoka proizvodnja biomase, otpornost i prilagodljivost. Korištenje energetske kulture miskantus u fitostabilizaciji kadmija i žive prethodno su proučavali Zgorelec et al. (2020) i Bilandžija et al. (2022). Miskantus se pokazao kao potencijalni kandidat za upotrebu u procesu fitostabilizacije i proizvodnje biomase na tlima onečišćenim umjerenim količinama ovih teških metala. Navedeno je dodatno potvrđeno istraživanjem energetskih karakteristika miskantusa. Pokazalo se da onečišćenje tla kadmijem i živom nema značajan utjecaj na svojstva izgaranja biomase miskantusa nakon korištenja biljaka u procesu fitoremedijacije, no zbog akumulacije kadmija iznad granice za sigurno korištenje u proizvodnji čvrstih biogoriva spaljivanjem biomase utvrđeno je da je biljke miskantusa moguće koristiti u proizvodnji biogoriva jedino u modernim postrojenjima koja ograničavaju ponovnu emisiju teških metala u atmosferu.

U ovom radu nastavlja se istraživanje potencijala miskantusa kao akumulatora teških metala kadmija i žive u procesu fitoremedijacije te se nastoji utvrditi na koji način različiti poboljšivači (čisto tlo – kontrola, otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, mikoriza i pepeo miskantusa) dodani u tlo utječu na taj proces.

2. Pregled literature

2.1. Teški metali

Teške metale čini izrazito heterogena skupina elemenata različitih kemijskih svojstava i biološkog djelovanja (Sharma i Agrawal, 2005). Iako je ovaj pojam prvi put spomenut još 1936. godine njegovo značenje još uvijek nije strogo definirano, stoga se broj elemenata koji se ubrajaju u teške metale razlikuje između studija (Hübner et al., 2010). Većina definicija temelji se na gustoći i relativnoj atomskoj masi. Ali i Khan (2017) teške metale definiraju kao skupinu prirodno prisutnih metala čiji je atomski broj veći od 20, a gustoća iznad 5 g/cm^3 . Neki autori u ovu skupinu uz metale ubrajaju i metaloide (polumetale) arsen (As), antimon (Sb) i selen (Se) (Ali i Khan, 2017). Teški metali često se povezuju s kontaminacijom, potencijalnom toksičnošću i ekotoksičnošću. Smatra se da je tlo onečišćeno teškim metalom onda kada je njegov udio u tlu u toj količini da uzrokuje vidljiv ili mjerljiv poremećaj jedne ili više uloga tla (Kisić et al., 2018). Ovisno o ulozi u biološkim sustavima teški metali dijele se na esencijalne i ne esencijalne. Esencijalni teški metali su elementi koji su u određenim (niskim) koncentracijama neophodni za pravilno funkcioniranje organizama. Popis esencijalnih teških metala razlikuje se za biljke, životinje i mikroorganizme (Ali et al., 2019). Teški metali mangan (Mn), kobalt (Co), željezo (Fe), nikal (Ni), bakar (Cu), cink (Zn) i molibden (Mo) esencijalni su za život biljaka. Takvi elementi nazivaju se i mikrohranjivima ili elementima u tragovima (Peralta-Videa et al., 2009). U optimalnim koncentracijama njihov je utjecaj na mehanizme potrebne za normalan rast, razvoj i funkcioniranje kao i na veći prinos biljaka pozitivan dok u povišenim koncentracijama imaju toksično djelovanje (Jaishankar et al., 2014; Arif et al., 2016). Ne esencijalni teški metali nisu biogeni i nemaju pozitivan utjecaj na organizme. Kadmij (Cd), živa (Hg), olovo (Pb), krom (Cr) i arsen (As) smatraju se najopasnijim teškim metalima. Mogu biti otrovni ili toksični, imaju štetan utjecaj na živa bića te zagađuju okoliš (tlo, vodu i zrak) (Asati et al., 2016). Pri akutnoj izloženosti velikim količinama ili kroničnoj izloženosti učestalim malim količinama ovih elemenata, dolazi do otrovanja (Engwa et al., 2019). U ljudskom organizmu teški metali svojim ionima aktivno sudjeluju odnosno ometaju biokemijske reakcije (Pezerović i Panijan, 1979). Dugotrajna izloženost kod ljudi uzrokuje brojne degenerativne procese i bolesti živčanog sustava te oštećenja i promjene u funkcioniranju organa. Izvori teških metala dijele se na prirodne i antropogene (Alengebawy et al., 2021). Teški metali potječu iz Zemljine kore, njihova prirodna pojava u tlu produkt je trošenja matične stijene ili izdanaka stijena. Njihov sastav i koncentracija ovise o vrsti stijene i okolišnim uvjetima koji utječu na njeno trošenje. U prirodne izvore ubrajaju se i vulkani koji emitiraju visoke razine Al, Mn, Pb, Ni, Cu i Hg te požari (Sharma i Agrawal, 2005). Značajniji (negativan) utjecaj na okoliš imaju antropogeni izvori odgovorni za emisiju velike količine teških metala u biodostupnim i mobilnim oblicima (Vareda et al., 2019). Glavni antropogeni izvori uključuju rudarstvo, poljoprivredu i industriju. Teški metali se tijekom industrijskih procesa ispuštaju u atmosferu te cirkuliraju u okolišu procesima suhog i mokrog (oborine) taloženja (Ali et al., 2019). Najvažniji izvori teških metala u poljoprivredi su anorganska i organska gnojiva. Važan utjecaj na poljoprivredna tla ima i

kalifikacija, kanalizacijski mulj, kvaliteta vode za navodnjavanje i sredstva za zaštitu bilja, posebice fosfatna gnojiva koja sadrže teške metale poput Cd, Cr, Ni i Pb (Ali et al., 2019; Sharma i Agrawal, 2005). Ispušteni u okoliš, teški metali u povišenim koncentracijama kontaminiraju tlo, vodene površine i njihove sedimente (Ali et al., 2019; Sharma i Agrawal, 2005).

Jednom kada dospiju u tlo, teški metali se većinom ne mogu razgraditi već dolazi do njihove bioakumulacije kroz hranidbeni lanac (tlo-biljka-čovjek ili tlo-biljka-životinja-čovjek), udisanjem ili dermalnim kontaktom (McLaughlin et al., 2000). U tlu su prisutni u različitim frakcijama: topljivi u vodi, izmjenjivi, vezani za karbonate, vezani za Fe i Mn okside, vezani za organsku tvar, vezani za sulfide i rezidualni (Giacalone et al., 2005). Njihova prisutnost i distribucija ovise o klimatskim uvjetima, sastavu matične stijene te fizikalnim, kemijskim i biološkim svojstvima tla (Ali et al., 2019). S obzirom na to da su brojni teški metali u tlu prisutni u oblicima koji nisu dostupni organizmima (vezani su u različitim organskim i anorganskim spojevima), ukupna koncentracija teških metala u tlu ne odražava njihovu biodostupnost i opasnost za okoliš (Rahman i Singh, 2019). Biljke iz tla unose samo one metale koji su u njima dostupnom obliku, što ovisi o vrsti metala i fizikalno-kemijskim svojstvima tla (Ali et al., 2019). Neka od svojstava tla koja utječu na biodostupnost su temperatura, pH vrijednost, redoks potencijal (Eh), kapacitet izmjene kationa (KIK), tekstura, udio organske tvari, mikrobiološke zajednice i koncentracije Fe i Mn oksida (Rahman i Singh, 2019). Teški metali u biljke dopijevaju selektivnim unosom, difuzijom iz tla preko korijena (Peralta-Videa et al., 2009) ili folijarno. Uz biodostupnost, razinu izloženosti i nakupljanje metala u biljkama određuju aktivnost unosa i učinkovitost translokacije. Kisić (2012) navodi da koncentracija metala u biljci ovisi o vrsti, dominantnom tkivu, koncentraciji i dostupnosti elemenata u tlu, udaljenosti od izvora emisije, godišnjem dobu i vremenskim prilikama. Pojedine vrste i varijeteti biljaka koje rastu na visoko onečišćenim tlima imaju razvijene mehanizme prilagodbe i hipertolerantne su na prisutnost određenih teških metala, a nazivaju se metalofitima (Clemens, 2006). Mehanizmi tolerancije variraju ovisno o biljnoj vrsti i metalu. Zabilježeno je preko 400 biljnih vrsta koje pripadaju hiperakumulatorima. Biljke posjeduju različite molekularne i fiziološke mehanizme za suzbijanje stresa uzrokovanog teškim metalima. Neki od tih mehanizama su regulacija adsorpcije iona teških metala, kompartmentalizacija i sekvencijacija u vakuole i druge stanične organele i detoksifikacija kelacijom (Zhu et al., 2021). Općenito, sposobnost biljaka da akumuliraju elemente u tragovima iz tla procjenjuje se pomoću koeficijenta obogaćivanja (EC) koji se izražava kao omjer sadržaja nekog elementa u biljnom materijalu (mg/kg suhe tvari) i u tlu (mg/kg suhog tla) te pomoću faktora translokacije (TF) čija vrijednost označava potencijal biljke za korištenje u fitoekstrakciji, a izražava se kao omjer sadržaja nekog elementa u nadzemnoj biomasi i u podzemnoj biomasi, odnosno korijenu (Erickson i Pidlisnyuk, 2021). Zgorelec (2009) biljke ovisno o koeficijentu obogaćivanja dijeli u četiri kategorije: biljke visoki akumulatori EC 1 – 10, biljke srednji akumulatori EC 0,1 – 1, biljke niski akumulatori EC 0,01 – 0,1 i biljke koje nisu akumulatori EC < 0,01.

2.2. Kadmij

Kadmij (Cd, lat. *cadmia* – kalamín) je sjajni metal srebrnasto-bijele boje. Mekan je i plastičan, može se kovati i vući u žice. Neka od njegovih kemijskih svojstava prikazana su u Tablici 2.1.1. U prirodi se pojavljuje u obliku minerala primiješanih uz rude metala poput cinka, olova i bakra (Vallero, 2014). Antropogeni izvori kadmija uključuju različite industrijske procese, rudarstvo, metaluršku industriju i talionice kadmija, proizvodnju baterija (Ni-Cd), izgaranje fosilnih goriva, spaljivanje otpada i poljoprivredu. Emitirani kadmij dospijeva u kanalizacijski mulj, gnojiva, podzemne vode i tlo (Engwa et al., 2019; Rahman i Singh, 2019). U tlu ostaje fitodostupan i do nekoliko desetljeća zahvaljujući dugom vremenu biološkog poluraspada (10-30 godina) (Kaur i Hussain, 2020).

Kadmij, njegovi spojevi i njihove otopine vrlo su otrovni te u biljnom tkivu predstavljaju opasnost po ljudsko i životinjsko zdravlje u koncentracijama koje ne uzrokuju fitotoksičnost (Peralta-Videa et al., 2009). Kadmij se klasificira kao karcinogen koji se akumulira u tijelu i može uzrokovati trajne posljedice po ljudsko zdravlje. Privremeni podnošljivi mjesečni unos kadmija iznosi 0,025 mg/kg tjelesne težine. Primarni izvor kadmija u ljudskom organizmu je hrana koja se konzumira u većim količinama – žitarice i proizvodi od žitarica, povrće i proizvodi od povrća te korjenasto i gomoljasto povrće. Navedeni prehrambeni proizvodi čine oko 56 % ukupnog unosa kadmija u pet regija koje pokriva Globalni sustav praćenja okoliša Svjetske zdravstvene organizacije – Program praćenja i procjene kontaminacije hrane (GEMS/Food) (EFSA, 2012).

Tablica 2.2.1. Kemijska svojstva kadmija

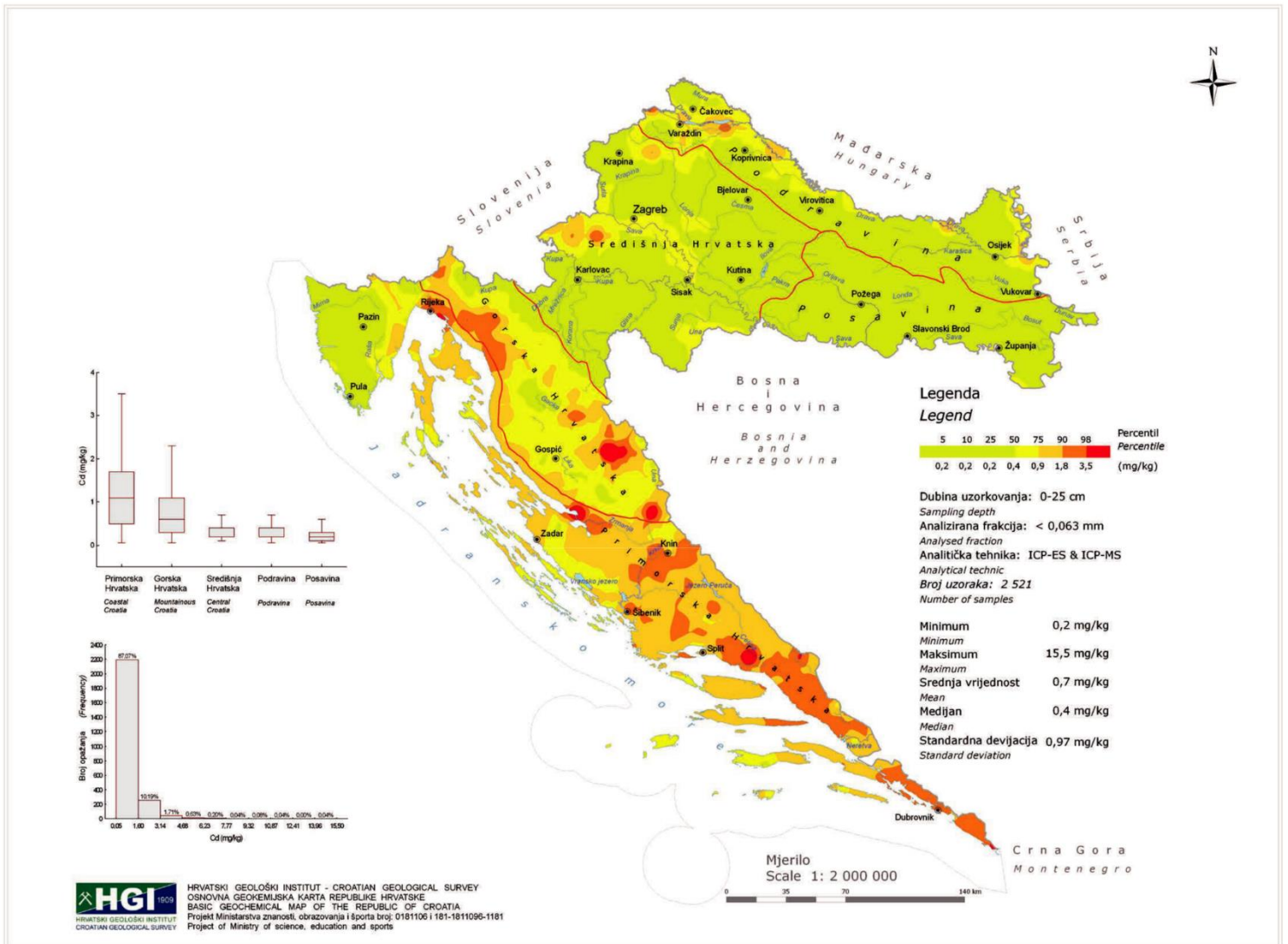
Atomski broj	48
Atomska masa	112,4 g mol ⁻¹
Gustoća	8,7 g cm ⁻³ na 20 °C
Talište	321 °C
Vrelište	767 °C
Elektronegativnost prema Paulingu	1,7
Polumjer Van der Waalsa	0,154 nm
Ionski polumjer	0,097 nm (+2)
Izotopi (prirodni)	8
Elektromagnetska konfiguracija	(Kr) 4d ¹⁰ 5s ²

Izvor: <https://www.lenntech.com/periodic/elements/cd.htm>

2.2.1. Kadmij u tlu

Koncentracija kadmija u litosferi u prosjeku iznosi 0,1 – 0,5 ppm ili 0,2 mg/kg (McLaughlin i Singh, 1999), dok u tlu ovisi o mobilnosti njegovih spojeva i geokemijskim svojstvima tla (Vallero, 2014). Snažan utjecaj na topljivost kadmija ima pH tla i vode (Rahman i Singh, 2019). U ne kontaminiranom tlu prosječna koncentracija iznosi 0,01 – 5 mg/kg tla (Peralta-Videa et al., 2009), a može doseći do 3 mg/kg suhog tla ili preko 100 mg/dm³ u površinskom sloju tla (do 25 cm dubine) (Kaur i Hussain, 2020). Kadmij u poljoprivredna tla dopijeva preko fosfatnih gnojiva, sredstava za zaštitu bilja i kanalizacijskog ili otpadnog mulja te navodnjavanjem otpadnim vodama. Fosfatna gnojiva proizvode se iz fosfornih ruda koje uz različite minerale sadrže i kadmij. Količina kadmija u fosfatnim gnojivima određena je njegovim sadržajem u navedenim rudama te varira između 3,6 – 527 mg/kg (Kaur i Hussain, 2020). Primjena mineralnih fosfatnih gnojiva čini 45 % ukupnog unosa kadmija na oranicama i pašnjacima u Europskoj uniji (Römkens et al., 2018).

U Hrvatskoj se koncentracija kadmija u tlu razlikuje po regijama, pri čemu minimalna količina kadmija u površinskom sloju tla iznosi 0,2 mg/kg, a maksimalna 15,5 mg/kg (Slika 2.2.1.1.). U središnjoj Hrvatskoj koncentracija kadmija kreće se između 0,2 i 9,4 mg/kg, a povećane koncentracije javljaju se na područjima koja su izvor ruda (Žumberak, Samoborsko gorje, Ivanščica) te u tlima na poplavnim sedimentima rijeke Save. U Posavini (0,2 – 11 mg/kg) i Podravini (0,2 – 7,1 mg/kg) povišene koncentracije kadmija također su vezane uz poplavne sedimente rijeka. U primorskoj Hrvatskoj vrijednost medijana iznosi 1,1 mg/kg, što ukazuje na opterećenje većeg dijela površine većim koncentracijama kadmija od prosječnih. U gorskoj Hrvatskoj zabilježen je najveći raspon koncentracije kadmija, 0,2 – 15,5 mg/kg (Halamić i Miko, 2009).



Slika 2.2.1.1. Prostorna raspodjela kadmija u Republici Hrvatskoj (mg/kg tla)

Izvor: Halamić i Miko (2009)

2.2.2. Kadmij u biljkama

Kadmij u otopini tla može biti prisutan u različitim fizikalno-kemijskim oblicima, različitim veličina i naboja. Otopljeni kadmij može biti prisutan kao slobodni, hidratizirani kationi ili kao vrste kompleksirane s organskim ili anorganskim ligandima (McLaughlin i Singh, 1999). Dostupnost kadmija vezanog uz čestice u tlu raste redosljedom: mineralne rešetke > Fe i Mn oksidi > organski > metalno-organski kompleksi > karbonati > izmjenjivi (Kaur i Hussain, 2020). Ovisno o pH vrijednosti, u tlu je najčešće prisutan kao CdCO_3 (visoki pH) ili CdS (niski pH) te lako prelazi u oblike dostupne biljkama (Rahman i Singh, 2019). Apsorpcija kadmija iz tla uglavnom je u obliku iona Cd^{2+} , a može biti apsorbiran i kao anorganski (CdSO_4 , CdCl_2 , CdCl^+) ili organski kompleks (Irfan et al., 2013). Zabilježena je veća akumulacija kadmija u biljkama u odnosu na druge teške metale, u prosječnoj koncentraciji 10 – 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Rahman i Singh, 2019). Unos kadmija u korijenje i njegova translokacija u nadzemne dijelove biljke dva su glavna fiziološka procesa povezana s nakupljanjem kadmija u biljkama (Clemens, 2006). Kod biljaka uzgojenih u tlu koje sadrži visoke razine kadmija javljaju se brojni poremećaji kao što su smanjenje postotka klijavosti i razvoja sjemena, inhibicija rasta, crnjenje korijena, kloroza i nekroza lišća te smrt (Asati et al., 2016; Nagajyoti et al., 2010). Visoka koncentracija kadmija u tlu povezana je i s nedostatkom Fe (II) kod nekih biljaka, što negativno utječe na fotosintezu (Nagajyoti et al., 2010). Do nedostatka Fe (II) dolazi zbog inhibicije korijenske Fe (III) reduktaze. Kadmij ometa i unos, transport i korištenje Ca, Mg, P, K i vode u biljkama te smanjuje apsorpciju i transport nitrata od korijena do izdanaka inhibicijom aktivnosti nitrat reduktaze u izdancima (Asati et al., 2016).

Fizikalno-kemijska svojstva tla i otopine tla koja utječu na udio kadmija koji je biodostupan su kapacitet izmjene kationa (KIK), organska tvar (OT), pH, prisutnost drugih iona, redoks potencijal (Eh) i temperatura (Kaur i Hussain, 2020). Sadržaj organske tvari utječe na dostupnost kadmija u tlu zbog sposobnosti zadržavanja metalnih kationa (Sarwar et al., 2010). Primjena organskih materijala kao što su kanalizacijski mulj, stajski gnoj, peradarski gnoj i svinjska gnojovka može utjecati na svojstva tla kao što su KIK i pH vrijednost. Dodani mulj u tlu ostaje u zoni primjene što može utjecati na povećanu fitoakumulaciju kadmija (McLaughlin i Singh, 1999). Povišeni udio organske tvari u tlu povećava KIK što može poboljšati njegovu adsorpciju ili dovesti do smanjene fitoakumulacije. Organska tvar mijenja topljivi oblik kadmija u organski vezanu frakciju, čime se smanjuje njegova biodostupnost (Kaur i Hussain, 2020). pH tla kontrolira sorpciju/desorpciju i topljivost kadmija u otopini tla. Brojnim studijama utvrđeno je postojanje obrnute korelacije između pH tla i bioraspodjelivosti kadmija – padom pH tla unos kadmija u biljkama raste (Kaur i Hussain, 2020). U kiselim tlima onečišćenim kadmijem njegova dostupnost je veća u odnosu na dostupnost u alkalnim i neutralnim tlima (McLaughlin i Singh, 1999). Izlučevine korijena također mogu utjecati na biodostupnost metala. Pri izlučivanju protona (H^+) rizosfera postaje kisela, a topljivost metala se pojačava (Kaur i Hussain, 2020).

2.3. Živa

Živa (Hg, lat. *hydrargyrum* – vodeno srebro) je srebrnasti teški metal, jedini koji se u prirodi pri normalnim uvjetima nalazi u tekućem stanju. Pojedina kemijska svojstva žive prikazana su u Tablici 2.3.1. Zbog sposobnosti bioakumulacije u ekosustavima i negativnog utjecaja na ljudsko zdravlje živa je uvrštena na popis kemikalija koje predstavljaju prijetnju za javno zdravlje (WHO, 2021). Najčešći kemijski oblici žive su elementarna (Hg^0), anorganska (jednovalentna, Hg^+ i dvovalentna, Hg^{2+}) i organska živa (metil-živa, dimetil-živa i etil-živa) (Halamić i Miko, 2009). Organoživini spojevi su zastupljeniji u kopnenim i vodenim ekosustavima, a mogu biti i do 10 puta toksičniji od anorganskih živinih spojeva (Boening, 2000). Godišnja emisija Hg iz antropogenih izvora na globalnoj razini 2015. godine procijenjena je na 2 220 tona (UNEP, 2019). Antropogeni izvori žive uključuju izgaranje fosilnih goriva, rudarenje, zanatsko iskopavanje zlata u malim razmjerima, proizvodnju metala, upotrebu žive u klor-alkalnoj industriji, spaljivanje otpada te brojne druge industrijske, kemijske i farmaceutske primjene. Prirodni izvori Hg mogu biti primarni ili procesi ponovne emisije Hg prethodno taložene u tlu, vodenim površinama ili na vegetaciji. U primarne prirodne izvore Hg ubrajaju se trošenje stijena, vulkanske erupcije, geotermalni izvori i površinski slojevi tla obogaćeni Hg, a ponovna emisija žive događa se promjenom načina korištenja zemljišta i izgaranjem biomase (Pirrone et al., 2010). Veliki unos žive u obradive površine rezultirao je raširenom pojavom kontaminacije u cijelom hranidbenom lancu (Asati et al., 2016). Živa preko kontaminiranih poljoprivrednih proizvoda i hrane dolazi u ljudski organizam (Peralta-Videa et al., 2009).

Tablica 2.3.1. Kemijska svojstva žive

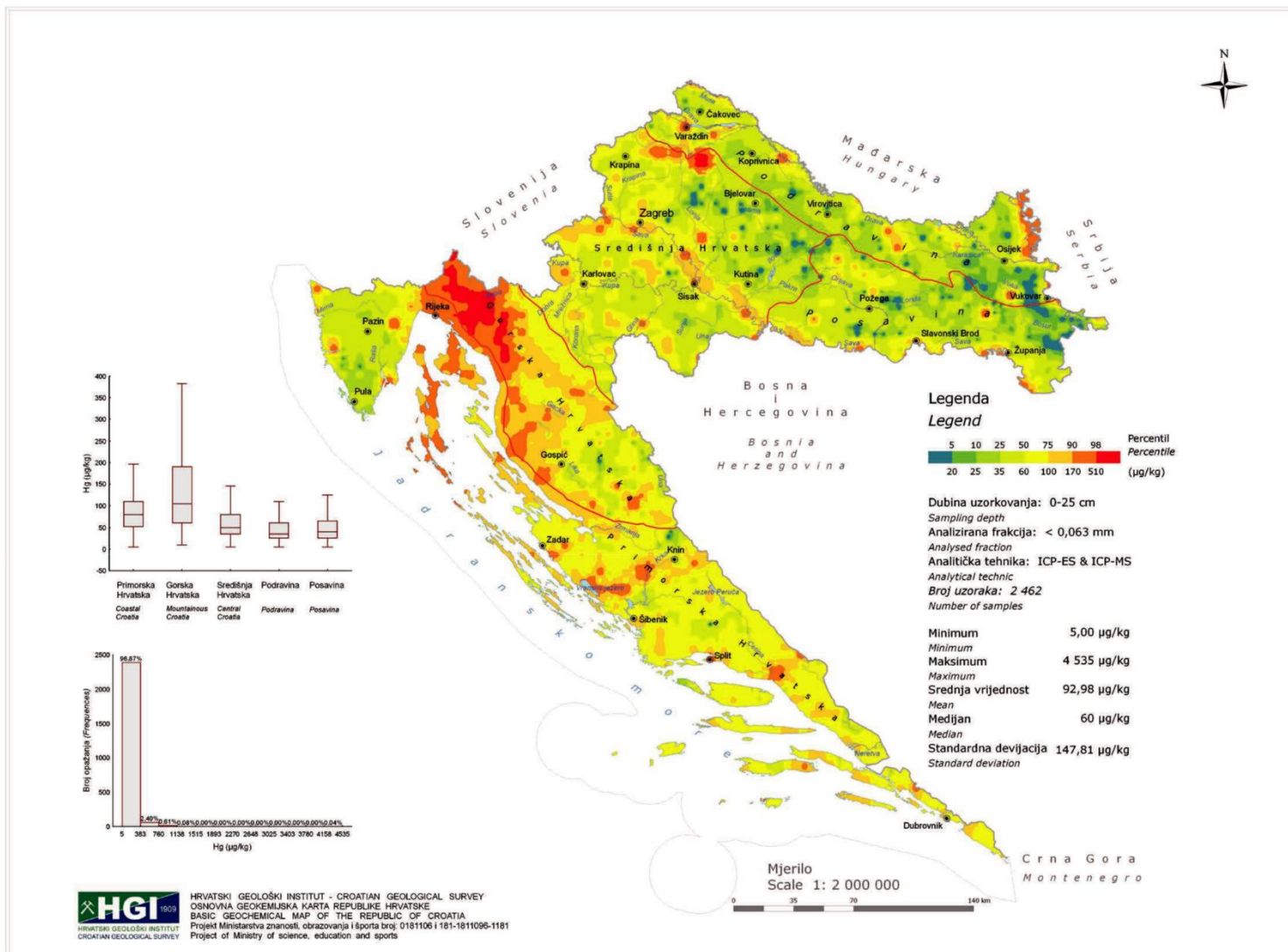
Atomski broj	80
Atomska masa	200,59 g/mol
Gustoća	13,6 g/cm ³ na 20 °C
Talište	- 38,9 °C
Vrelište	356,6 °C
Elektronegativnost prema Paulingu	1,9
Polumjer Van der Waalsa	0,157 nm
Ionski polumjer	0,11 nm (+2)
Izotopi (prirodni)	7
Elektromagnetska konfiguracija	(Xe) 4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ²

Izvor: <https://www.lenntech.com/periodic/elements/hg.htm>

2.3.1. Živa u tlu

Udio žive u tlu ovisi o trošenju minerala koji sadrže živu i atmosferskom taloženju. Clemens (2013) procjenjuje da prosječni sadržaj Hg u litosferi iznosi oko 0,08 mg/kg, pri čemu sedimentne stijene imaju viši sadržaj Hg od magmatskih stijena. Bhatia et al., (2022) navode da prosječni udio Hg u tlu iznosi oko 0,06 mg/kg, odnosno kreće se između 0,03 i 0,1 mg/kg. U tlima koja nisu pogođena emisijom Hg ili onečišćenjem, koncentracije su obično ispod 100 µg/kg (Clemens, 2013). Mnogo veće vrijednosti mogu se pronaći u blizini izvora emitiranja žive ili kao posljedica izravne primjene materijala koji sadrži živu u tlo (Boening, 2000). Živa se u poljoprivredna tla unosi gnojidbom fosfatnim gnojivima, otpadnim muljem, životinjskim gnojem ili primjenom sredstava za zaštitu bilja poput pesticida i fungicida (Patra i Sharma, 2000).

U Hrvatskoj se sadržaj Hg u tlu kreće od 5 µg/kg do 4 535 µg/kg (Slika 2.3.1.1.), s medijanom od 60 µg/kg. Najviši sadržaj Hg zabilježen je središnjoj Hrvatskoj, pri čemu autori navode da se sadržaji Hg iznad 198 µg/kg smatraju anomalijama geogenog podrijetla. U Posavini medijan iznosi 40 µg/kg, sa zabilježenim višim sadržajem Hg na aluvijalnim sedimentima rijeke Save i na dijelovima Papuka i Krndije. U Podravini je zabilježen medijan od 35 µg/kg Hg, što je najmanja vrijednost na području Hrvatske. Povećani sadržaj Hg zabilježen je na aluvijalnim sedimentima rijeka Drave i Dunava. U primorskoj Hrvatskoj povišeni sadržaj Hg zabilježen je u području Hrvatskog primorja (Rijeka, Senj, otoci Krk, Cres i Lošinj), dok je u Istri sadržaj žive uglavnom ispod 50 µg/kg. Veliki dio gorske Hrvatske ima značajno povišeni sadržaj Hg u tlu, Gotski kotar uglavnom sadržava preko 200 µg/kg što je prema autorima povezano s orudnjenjem u stijenama paleozojskog kompleksa (Halamić i Miko, 2009).



Slika 2.3.1.1. Prostorna raspodjela žive u Republici Hrvatskoj ($\mu\text{g}/\text{kg}$ tla)

Izvor: Halamić i Miko (2009)

2.3.2. Živa u biljkama

Biljke živu unose u organskom ili elementarnom obliku te u obliku iona (Clemens, 2013) na nekoliko načina: folijarno preko puči, unosom iz tla preko korijena te pasivnim unosom preko kore (Zhou et al., 2021). Patra i Sharma (2000) navode da su C_4 biljke, kao što je miskantus, otpornije na unos žive iz zraka u odnosu na C_3 biljke. Korijen biljke živu uzima u obliku Hg^{2+} . Živa u tlu može biti prisutna u različitim oblicima ovisno o teksturi, organskoj tvari tla, sastavu iona, prisutnosti kisika, pH i mikrobnj aktivnosti (Morosini et al., 2021). Tangahu et al. (2011) navode da se živa u tlu otapa kao slobodni ion ili topljivi kompleks te se nespecifično adsorbira vezanjem elektrostatskim silama, keliranjem i taloži se u obliku fosfata, karbonata, sulfida i hidroksida. Topljivost, pokretljivost i toksičnost različitih oblika žive pada redosljedom: $Hg^0 > Hg^{2+} > \text{alkil-Hg}$ (Rahman i Singh, 2019). Sorpcija i desorpcija žive u tlu ovisi o sadržaju određenih iona i spojeva. Živa se u tlu čvrsto veže za reducirane sumporne skupine i organsku tvar, odnosno ima jaku tendenciju stvaranja stabilnih kompleksa s ligandima koji sadrže OH^- , Cl^- i S^{2-} ili S^- (Skylberg et al., 2003). Dakle, viši udio organske tvari u tlu utječe na smanjenje biodostupnosti žive.

Sadržaj žive u biljkama najviši je u korijenu, no može doći i do translokacije u nadzemne dijelove biljke (Boening, 2000). Ipak, mobilnost žive unutar biljaka vrlo je ograničena. Navedeno je potvrđeno studijama provedenim na različitim biljkama kao što su grašak, kukuruz, duhan i uljana repica koje su ukazale na nisku stopu translokacije od korijena do izdanaka (Patra i Sharma, 2000). Putevi unosa žive u korijenje biljaka do sada nisu molekularno identificirani već se pretpostavlja da prijenosnici koji posreduju u unosu esencijalnih iona ne prave razliku između kemijski sličnih iona i dopuštaju ulazak i toksičnim ionima. U slučaju Hg^{2+} , pretpostavlja se da prijenosnici metalnih kationa kao što su Fe^{2+} ili Zn^{2+} unose i Hg^{2+} (Clemens, 2006). Svojstva tla poput KIK-a, pH vrijednosti i prozračnosti tla, kao i sama biljna vrsta utječu na unos žive od strane biljke. Primjerice, visoki pH, visoki sadržaj vapna i soli u tlu utječu na smanjenje unosa (Azevedo i Rodriguez, 2012).

Živa ima fitotoksičan utjecaj na biljku. Izloženost živi utječe na fotosintezu, brzinu transpiracije, unos vode, sintezu klorofila (Boening, 2000) te na zdravlje i klijavost sjemena. Studije su pokazale da živa zamjenjuje Mg (središnji atom) iz klorofila i Zn (prisutan u D1 i D2 proteinu) iz kompleksa fotosustava II koji razvija kisik (Rahman i Singh, 2019). Također, dokazano je da organska i anorganska živa uzrokuju gubitak kalija, magnezija i mangana te nakupljanje željeza (Boening, 2000).

2.4. *Miscanthus x giganteus*

Rod *Miscanthus* pripada porodici trava (*Poaceae*). Obuhvaća 20-ak vrsta višegodišnjih C₄ trava koje su prirodno rasprostranjene na tropskim i subtropskim područjima južne Azije i Afrike, a danas se mogu pronaći na području Europe te Sjeverne i Južne Amerike (Heaton et al., 2010). Ovaj rod ubraja se u višegodišnje rizomatske trave (eng. PRG, perennial rhizomatus grasses) koje se posljednjih desetljeća istražuju kao potencijalne energetske kulture za proizvodnju biomase. Heaton et al. (2004) navode njihove najvažnije karakteristike: (1) sustav višegodišnjih rizoma omogućuje sezonsko kruženje hraniva između nadzemnih i podzemnih dijelova biljke, čime se minimizira upotreba gnojiva; (2) ako se žetva usjeva obavi nakon translokacije hraniva u podzemne dijelove biljke, proizvedeno gorivo imat će nizak sadržaj minerala i oslobađati manje onečišćenja pri izgaranju; (3) višegodišnje kulture zahtijevaju samo jednu sadnju i obradu tla, čime se smanjuju troškovi i korištenje fosilnih goriva. Nadalje, rod *Miscanthus* karakterizira i provođenje C₄ fotosinteze koja je važan čimbenik u maksimiziranju učinkovitosti pretvorbe sunčeva zračenja u pohranjenu energiju biomase. C₄ biljke fiksiraju atmosferski CO₂, nakupljaju ga oko kloroplasta te ugrađuju u organske spojeve i onda kad je omjer koncentracija CO₂ i O₂ vrlo nizak, time se uvelike eliminira fotorespiracija koja u C₃ biljaka uzrokuje nepotreban gubitak energije (Levin, 2013).

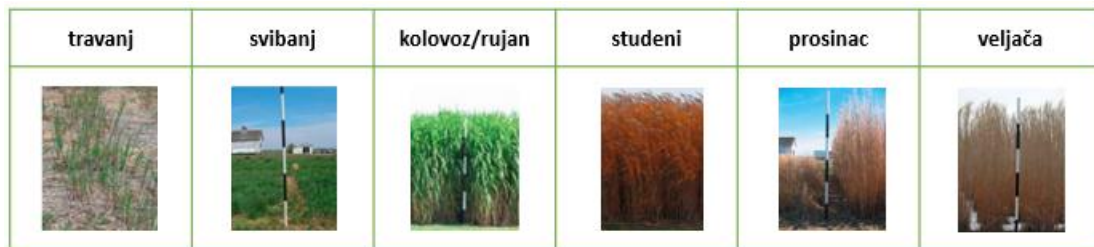


Slika 2.4.1. Trogodišnji nasad trave *Miscanthus x giganteus*

Izvor: Bilandžija (2014)

Miscanthus x giganteus (hrv. miskantus) prikazan na Slici 2.4.1., sterilni je triploidni hibrid nastao križanjem vrsta *Miscanthus sinensis* i *Miscanthus sacchariflorus*. Potječe iz Sjeveroistočne Azije, a u Europu je uveden 1935. godine (Lewandowski et al., 2000). Miskantus je višenamjenska kultura, u početku korištena kao ukrasna biljka te izvor germplazme za povećanje tolerancije na stres kod šećerne trske, dok se danas uzgaja

prvenstveno kao energetska kultura (Heaton et al., 2010). Bilandžija (2014) ističe prednosti uzgoja miskantusa za proizvodnju biomase: višegodišnji rast (15 – 20 godina), visoka produkcija biomase (15 – 20 t/ha od 3. godine uzgoja), mogućnost žetve suhe biomase (vlaga < 16 %), visoki stupanj otpornosti na bolesti i štetočine, tretiranje herbicidima i ostali agrotehnički zahvati potrebni su samo u prvoj i eventualno drugoj godini od zasnivanja usjeva, a zahvaljujući sterilnosti ne postoji opasnost od nekontroliranog širenja. Zrelost usjeva postiže se nakon 2 do 3 godine uzgoja. Zrele biljke mogu doseći visinu od 3,5 – 4 m, a prosječna dubina korijena je 1,8 m (Anderson et al., 2011). Miskantus se razmnožava vegetativno, a za uzgoj se mogu koristiti podzemni rizomi ili presadnice – biljke izrasle iz dijelova rizoma ili dobivene mikropropagacijom iz kulture tkiva. Uobičajeno je razmnožavanje ili zasnivanje usjeva pomoću podzemnih rizoma, ono se obavlja u kasnu jesen ili rano proljeće prije nicanja izbojaka. Prednost mikropropagacije je proizvodnja velikog broja biljaka u relativno kratkom vremenskom periodu (Anderson et al., 2011). Nedostaci korištenja presadnica su visoki troškovi i zalijevanje koje je potrebno nakon presadnje.



Slika 2.4.2. Godišnji ciklus rasta trave *Miscanthus x giganteus*

Izvor: Heaton et al. (2010)

U prvoj godini uzgoja izbjegava se žetva kako bi se smanjio mogući negativan utjecaj na preživljavanje kritične prve zime. Heaton et al. (2010) navode kako zima predstavlja problem samo u prvoj vegetacijskoj sezoni, zbog nedostatne količine rezervnih tvari u rizomu. Godišnji ciklus rasta zrelog nasada miskantusa (Slika 2.4.2.) započinje pojavom izbojaka iz rizoma u rano proljeće, kada je temperatura tla između 6 i 10 °C. Tijekom ljeta dolazi do naglog rasta odnosno akumulacije biomase koja svoj vrhunac dostiže u rujnu. Žetva miskantusa može se provesti u razdoblju nakon translokacije hraniva, odnosno pojave mraza (studeni) i prije početka proljetnog rasta (ožujak, travanj) (Bilandžija et al., 2018). Ranom žetvom ostvaruje se veći prinos po proizvodnoj površini, dok njenom odgodom dolazi do pada prinosa od 15-35 % (Bilandžija et al., 2014). Kasnijom žetvom poboljšava se kvaliteta izgaranja biomase miskantusa smanjenjem sadržaja vlage i neželjenih komponenti biomase poput kalcija, kalija i pepela (Lewandowski i Heinz, 2003). Odabir sezone žetve ovisi o klimatskim uvjetima, trenutnom prinosu, sadržaju vlage i slično (Bilandžija et al., 2018).

2.5. Poboljšivači tla

2.5.1. Otpadni mulj

Prema Pravilniku o gospodarenju muljem iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi (NN 38/08), otpadni mulj definira se kao mulj iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda iz kućanstava, gradova, septičkih jama i drugih sličnih uređaja za pročišćavanje otpadnih voda. Isti Pravilnik obrađeni mulj definira kao otpadni mulj podvrgnut obradi (biološkoj, kemijskoj ili toplinskoj), dugotrajnom skladištenju (najmanje šest mjeseci) ili nekom drugom postupku kojim se smanjuje njegova razgradnja i opasnost po zdravlje. U poljoprivredi je dozvoljeno korištenje samo obrađenog mulja koji je stabiliziran, odnosno kojem su uništeni patogeni organizmi te koji sadrži organske tvari i teške metale u količinama koje nisu veće od propisanih dopuštenih vrijednosti. Dozvoljena godišnja količina iznosi 1,66 tona suhe tvari mulja po hektaru poljoprivrednog tla. Pravilnikom je propisano da je pri korištenju otpadnog mulja u poljoprivredi potrebno pratiti potrebe biljaka za prihranjivanjem, paziti da se kakvoća tla održi jednakom ili poboljša te paziti na očuvanje površinskih i podzemnih voda. Bulat (2022) navodi da se od donošenja Pravilnika (NN 38/08), u poljoprivredi i kao poboljšivač na zelene površine primjenjivao mulj proslijeđen iz biološke obrade otpadnih voda prehrambene industrije i uređaja za pročišćavanje otpadnih komunalnih voda. Količine proslijeđenog obrađenog mulja rastle su sve do 2018. godine. U 2019. godini kao posljedica uvođenja Pravilnika o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (NN 71/19) kojim je zabranjeno korištenje otpadnog mulja na površinama za proizvodnju hrane, dolazi do naglog pada proslijeđene količine mulja. Autor ističe da je u 2021. godini na poljoprivrednim površinama iskorišteno samo 698,31 tona suhe tvari mulja dok je iste godine samo u uređajima za pročišćavanje komunalnih otpadnih voda proizvedeno 20 944 tona suhe tvari mulja. Navedene neiskorištene količine otpadnog mulja ukazuju na veliki potencijal za njegovo korištenje kao poboljšivača tla u uzgoju energetskih kultura kao što je miskantus.

Zbrinjavanje obrađenog otpadnog mulja primjenom u poljoprivredi jeftinije je rješenje u odnosu na zbrinjavanje mulja na odlagalištima otpada ili spaljivanjem (Lamastra et al., 2018). Otpadni mulj sadrži organske spojeve, mikro i makrohranjiva, metale u tragovima, organske mikro zagađivače i mikroorganizme. Sastav otpadnog mulja vrlo je heterogen, ovisan je o izvoru otpadne vode i načinu njenog pročišćavanja zbog čega je važno odrediti točan kemijski sastav prije primjene u tlo (Moss et al., 2002 prema Hudcová et al., 2019; Kulling, 2001 prema Singh i Agrawal, 2008). U ovom istraživanju korišten je mulj iz Agroproteinke d.d., postrojenja za zbrinjavanje i recikliranje životinjskih trupala i životinjskog otpada (kafilerije). Pri termičkoj obradi spomenutih nusproizvoda životinjskog podrijetla nastaju otpadne, mutne i kondenzne vode koje se pročišćavaju pomoću uređaja za predobradu otpadnih voda i uređaja za biološko pročišćavanje. Nakon procesa pročišćavanja višak mulja i flotacijski mulj skupljaju se u spremištu mulja te idu na dehidraciju na dekantnu centrifugu, nakon čega se dehidrirani mulj

odvozi na preradu (Romac, 2013). Đurašin et al. (2018) istraživale su bioraspoloživost makroelemenata iz otpadnog mulja životinjskog podrijetla te njegov utjecaj na prinos i kvalitetu salate (*Lactuca sativa*). Prosječni prinos salate nije se značajno razlikovao između kontrole i tretmana s dodatkom otpadnog mulja, uzrok tome vjerojatno je mala količina primijenjenog otpadnog mulja (1,66 t/ha). Kemijskom analizom utvrđen je sadržaj ukupnog C (42,1 %), zatim ukupni H (19,8 %), ukupni S (1,55 %) i ukupni N (7,48 %) u otpadnom mulju. Pokazalo se da je mulj bogat makroelementima (N, P i S) i povoljan za primjenu kao poboljšivač tla, osobito za uzgoj ne prehrambenih kultura. Uzevši u obzir da je navedeno istraživanje jedino dostupno istraživanje koje se bavi primjenom mulja životinjskog podrijetla u poljoprivredi, u nastavku teksta sažeti su dostupni podaci o drugim izvorima otpadnog mulja, prvenstveno mulja iz gradske kanalizacije, odnosno mulja komunalnih otpadnih voda. Zbog visokog sadržaja organske tvari i hraniva otpadni mulj se pokazao kao potencijalna zamjena za kemijska gnojiva, osobito u uzgoju energetskih kultura (Voća et al., 2021). Mulj je bogat ugljikom kojeg mikroorganizmi u tlu koriste za energiju i rast te dušikom kojeg koriste za protein i reprodukciju. Unos mulja u tlo povećava plodnost tla, potiče rast određene skupine bakterija i gljivica i poboljšava agregaciju tla (Liu, 2016). Nadalje, utvrđeno je njegovo pozitivno djelovanje na fizikalna, kemijska i biološka svojstva tla, KIK i vodozračne odnose u tlu (Gubišová et al., 2020; Hudcová et al., 2019). Utjecaj otpadnog mulja na odabrana svojstva tla prikazan je u Tablici 2.5.1.1.

Tablica 2.5.1.1. Prikaz utjecaja otpadnog mulja kao poboljšivača na odabrana svojstva tla

Fizikalna svojstva tla		
pH	Pada	Epstein (1975), Nelson et al. (1998)
	Raste	Tsadilas et al. (1995), Nelson et al. (1998)
Stabilnost agregata tla	Raste	Ojeda et al. (2003)
Gustoća	Pada	Ramulu (2002), Ojeda et al. (2003)
Kapacitet tla za vodu	Raste	Epstein (1975), Ramulu (2002)
Porozitet	Raste	Ramulu (2002), Ojeda et al. (2003)
Erozija	Pada	Ojeda et al. (2003)
Sadržaj humusa	Raste	Kulling et al. (2001)
Kemijska svojstva tla		
Toksični elementi	Raste	Kulling et al. (2001), Lopez-Mosquera et al. (2000)
Organski ugljik	Raste	Kladivko i Nelson (1979)
Električna vodljivost	Raste	Martinez et al. (2002), Ramulu (2002)
Dušik i fosfor	Raste	Martinez et al. (2002), Sommers (1977), Walter et al. (2000)
KIK	Raste	Ramulu (2002), Soon (1981)
Biološka svojstva tla		
Populacija kvasaca	Raste	Kulling et al. (2001)
Patogeni organizmi	Raste	Kulling et al. (2001), Ramulu (2002)
Aerobne bakterije	Raste	Kulling et al. (2001), Ramulu (2002)

Izvor: Singh i Agrawal (2008)

Uz nabrojane pozitivne strane recikliranja otpadnog mulja upotrebom u poljoprivredi, javlja se opasnost od potencijalnog onečišćenja okoliša unosom različitih zagađivača kao što su teški metali. Zbog toga se predlaže upotreba otpadnog mulja kao poboljšivača tla na već onečišćenim tlima uz nasade energetske kulture koje mogu istovremeno djelovati kao akumulatori teških metala u procesu fitoremedijacije. Sastav otpadnog mulja može utjecati na učinkovitost fitoremedijacije. Neki autori navode da se povećanim sadržajem organske tvari u kanalizacijskom mulju utječe na dostupnost teških metala, a visoki KIK stvaranjem kompleksa smanjuje biodostupnost teških metala (Hashimoto et. al, 2008 prema Grobelak et al., 2017). Prilikom primjene u tlo pH mulja utječe na pH tla, a time i na biodostupnost nekih elemenata u tlu, što je posebno važno kod fitoremedijacije teških metala (Li et al., 2021 prema Oksanen et al., 2023).

Voća et al. (2021) ispitivali su učinak mulja komunalnih otpadnih voda u različitim dozama (0 kg ST/ha, 1,66 t ST/ha, 3,32 t ST/ha i 6,64 t ST/ha – 1 nanošenje) na proizvodnost nasada energetske kulture miskantus. pH tla i raspoloživi fosfor su se smanjili zbog povećane količine komunalnog kanalizacijskog mulja, dok je ukupni dušik bio gotovo jednak onome u kontrolnom tlu. Sadržaj organskog ugljika u tlu i raspoloživi kalij povećali su se povećanjem količine otpadnog mulja. Autori navode da bi se spomenuta varijabilnost u plodnosti tla mogla povezati s metodom primjene komunalnog kanalizacijskog mulja, topljivošću hranjivih tvari i unosom od strane biljke. Upotrijebljeni mulj imao je visok pH, sadržaj organskog ugljika, dušika i fosfora, ali nizak sadržaj kalija. Autori su utvrdili da mulj komunalnih otpadnih voda nanesen na površinu tla nije poboljšao plodnost tla. Korištenjem mulja nije došlo do povećanja sadržaja teških metala u tlu i biomasi.

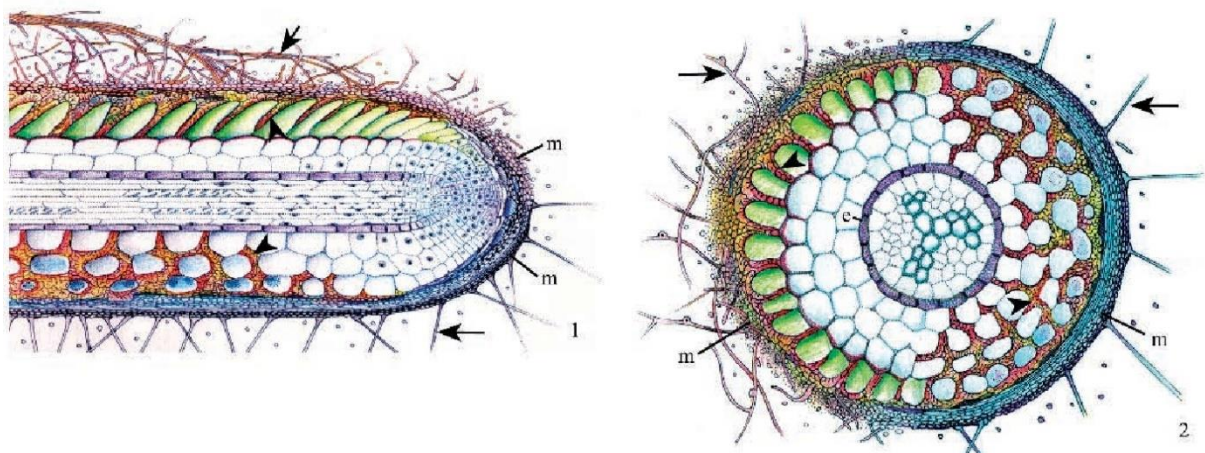
Grobelak et al. (2017) su u petogodišnjem terenskom pokusu jednokratno primijenili kanalizacijski mulj iz prehrambene industrije kao dodatak tlu koji podržava proces fitoremedijacije zemljišta kontaminiranog teškim metalima (Cd, Zn i Pb) pomoću vrsta drveća: običnog bora (*Pinus silvestris*), obične smreke (*Picea abies*) i hrasta (*Quercus robur*). Drveće je prije sadnje inokulirano mikorizom. Primjenom kanalizacijskog mulja došlo je do povećanja sadržaja N i P što je pozitivno utjecalo na rast biljaka. KIK je ostao nepromijenjen. Nije došlo do imobilizacije istraživanih teških metala što je suprotno zaključcima nekih drugih istraživanja. Topljivost Pb značajno je povećana. Nadalje, unos i distribucija kadmija kod biljaka koje su rasle na tretiranoj površini bili su konstantni dok se na kontrolnoj površini količina Cd udvostručila svake godine. Autori su zaključili da je kanalizacijski mulj učinkoviti poboljšivač tla koji pozitivno utječe na fitoremedijaciju tala onečišćenih teškim metalima.

Mockevičienė et al. (2023) istraživali su fitoremedijacijski potencijal energetskih biljaka *Salix viminalis* i *Silphium perfoliatum*, aspekte njegova povećanja i rizike od kontaminacije. Korištena su tri tretmana: negnojeno tlo (kontrola) i primjena 45 i 90 t/ha granuliranog komunalnog kanalizacijskog mulja. Utvrđeno je da su sadržaji Cr, Ni, Pb, Cu i Zn u tlu imali tendenciju stalnog porasta kada se količina mulja povećala s 45 na 90 t/ha te da su teški metali

prema sadržaju u tlu poredani na sljedeći način: Zn > Cr > Ni > Pb > Cu. Zabilježen je porast sadržaja Cr i Pb u tlu za 22,5 % na kraju eksperimenta, dok su koncentracije Cu smanjene za 44,4 %. Cu i Ni značajno su reducirani biljkom *Salix viminalis*, dok su Pb i Zn reducirani biljkom *Silphium perforatum*. Broj teških metala u tlu na kojem je uzgajana *Salix viminalis* bio je značajno niži u odnosu na brojnost teških metala u tlu pod nasadom *Silphium perforatum*, što bi mogla biti posljedica razlika u strukturi korijena kao i sposobnosti fitoremedijacije. Autori zaključuju da se primjenom granuliranog kanalizacijskog mulja povećalo zadržavanje teških metala u tlu što je imalo pozitivan utjecaj na njihovu dostupnost biljkama, a povećanje količine kanalizacijskog mulja značajno je povećalo akumulaciju teških metala u nadzemnoj biomasi istraživanih biljaka.

2.5.2. Mikoriza

Mikoriza (grč. mikes – gljiva, rhizos – korijen) je simbiotska veza korijena viših biljaka i gljiva, u kojoj anorganske tvari (voda, mikro i makro hraniva) putuju iz gljiva lokaliziranih u području korijena u biljku, a organske (asimilati) iz biljke u gljivu (Širić et al., 2022). Smith i Read (2008) prema morfološkim karakteristikama razlikuju 6 oblika mikorize: arbuskularna mikoriza, ektomikoriza, ektoendomikoriza, arbutoidna mikoriza, monotropoidna mikoriza i erikoidna mikoriza. U ovom istraživanju korištena je ektomikoriza. Ektomikoriza se sastoji od plašta gljivičnog tkiva koji obavija korijen domaćina te ne prodire u njegove stanice već stvara mrežu hifa između epidermalnih i kortikalnih stanica korijena, tzv. Hartigovu mrežu (Chot i Reddy, 2022). Hartigova mreža predstavlja mjesto izmjene vode, hraniva i asimilata između gljive i biljke. Iz plašta koji obavija korijen biljke u tlo se šire hife (ekstraradikalni ili vanjski micelij) (Luo et al., 2014). Na Slici 2.5.2.1. prikazan je uzdužni (1) i poprečni (2) presjek ektomikorize te glavne značajke koje se javljaju kod kritosjemenjača (gore, lijevo) i četinjača (dolje, desno): plašt (m), Hartigova mreža (vrhovi strelica) i vanjski micelij (strelice).



Slika 2.5.2.1. Uzdužni (1) i poprečni (2) presjek građe ektomikorize

Izvor: Peterson et al. (2004)

Brojna istraživanja pokazala su pozitivan utjecaj ektomikoriznih gljiva na toleranciju abiotičkih i biotičkih stresova kod biljaka. Primjerice, ektomikorizne gljive povećavaju otpornost biljaka domaćina na stres uzrokovan nedostatkom hraniva, pojavom suše, povećanjem saliniteta tla i pojavom štetočinja (Luo et al., 2014). Ektomikorizne gljive biljkama osiguravaju dostupnost većih količina fosfora i dušika u tlu, čiji nedostatak je često ograničavajući faktor za njihov rast (van der Heijden et al., 2015). Vanjski micelij ektomikoriznih gljiva djeluje kao produžetak biljnog korijena, što omogućava veću apsorpciju vode i povećava otpornost na sušu. Lehto i Zwiazek (2011) ističu da je većina studija na ovu temu provedena na malim presadnicama, dok je utjecaj mikorize na stabla nedovoljno istražen. Studije su pokazale da ektomikorizne gljive mogu zaštititi biljke od stresa uzrokovanog prekomjernim količinama soli. Primjerice, Zwiazek et al. (2019) su utvrdili pozitivan utjecaj urbane ektomikorize na toleranciju na stres kod presadnica *Pinus contorta*, a Bai et al. (2021) su utvrdili da ektomikoriza može ublažiti inhibiciju rasta kod presadnica *Quercus mongolica* pri stresu uzrokovanom prekomjernom količinom soli. Autori su naglasili da je pri upotrebi ektomikorize potrebno odabrati odgovarajuću vrstu gljiva za inokulaciju određene biljke. Ektomikorizne gljive mogu izazvati pojavu inducirane sistemske otpornosti (Induced systemic resistance – ISR) u svom domaćinu protiv folijarnih štetnika i patogena (Vishwanathan et al., 2020). ISR je oblik obrambenog mehanizma biljke, a predstavlja fiziološko stanje povećane obrambene sposobnosti biljke (Gašić i Obradović, 2012). Kebert et al. (2022) su utvrdili da ektomikoriza ima zaštitno djelovanje protiv hrastove pepelnice uzrokovane s *Erysiphe alphitoides* te sprječava pad fizioloških parametara, fenola i antioksidativnog kapaciteta koji se inače javljaju kod infekcije pepelnicom.

Luo et al. (2014) opisuju mehanizme detoksikacije teških metala na staničnoj razini biljke: vezivanje teških metala za staničnu stijenku i izvanstanične eksudate, smanjenje unosa i ispumpavanje metalnih iona iz citosola, kelacija metalnih iona u citosolu, kompartmentalizacija metala u vakuolama ili drugim podstaničnim strukturama i popravak oštećenih biomolekula. Ektomikorizne gljive također imaju razvijene obrambene mehanizme protiv stresa uzrokovanog teškim metalima što im omogućava opstanak u onečišćenim tlima. Bellion et al. (2006) razlikuju izvanstanične mehanizme koji uključuju kelaciju i vezivanje teških metala za staničnu stijenku te unutarstanične mehanizme poput vezivanja na organske kiseline, sumporne spojeve, polifosfate, peptide i transport u unutarstanične odjeljke. Cilj izvanstaničnih mehanizama je sprječavanje ulaska metala, dok unutarstanični mehanizmi imaju za cilj smanjiti opterećenje metalima u citosolu. Zahvaljujući vlastitoj otpornosti ektomikorizne gljive povećavaju i otpornost biljaka domaćina na teške metale te imaju važnu ulogu u procesu bioremedijacije tala onečišćenih metalima. Prema Chot i Reddy (2022) ektomikoriza pomaže u povećanju otpornosti biljaka na stres uzrokovan teškim metalima na sljedeće načine: sekvestracijom teških metala vezanjem za staničnu stijenku gljive ili biljke, smanjenim izlaganjem biljke teškim metalima zahvaljujući plaštu koji obavija korijen, sprječavanjem prijenosa metala iz korijena u izdanak, pojačanjem unosa vode i hraniva iz tla u biljku, razrjeđivanjem sadržaja teških metala u biljci, sekvestracijom teških metala ektomikoriznim metalotioneinima i glutationima koji ograničavaju njihov prijenos u biljku te

povećanjem otpornosti biljke na oksidativni stres uzrokovan teškim metalima. Ipak, ektomikorizne gljive mogu imati i suprotno djelovanje, kao što je povećanje dostupnosti metala u tlu, njihovog prijenosa iz tla u korijen biljke i translokacije iz korijena u izdanak, što ih čini korisnima u procesima fitostabilizacije i fitoekstrakcije (Coninx et al., 2017). U nastavku teksta izdvojeno je nekoliko istraživanja o utjecaju ektomikorize na fitoremedijaciju Cd u tlu i jedno istraživanje o utjecaju Hg na ektomikorizu.

Sell et al. (2005) su u eksperimentalnim posudama istraživali mogućnost poboljšanja fitoekstrakcije Cd u vrbama (*Salix viminalis*) i topolama (*Populus x canadensis*) u kombinaciji s tri ektomikorizne gljive (*Hebeloma crustuliniforme*, *Paxillus involutus* i *Pisolithus tinctorius*). Istraživanje je provedeno u četiri ponavljanja svake kombinacije gljiva i vrsta drveća te kontrole bez inokuluma ektomikorize. Nakon perioda rasta od 11 tjedana, izmjereni su prinos i koncentracija Cd u korijenu, stabljici i lišću, izračunat je ukupni unos Cd, prijenos do korijena i translokacija do stabljike i lišća. Autori su kod ektomikorize *Populus x canadensis* s *Paxillus involutus* utvrdili značajno povećanje sadržaja Cd, osobito u lišću koje je sadržavalo $2,74 \pm 0,34$ mg Cd po kg suhe tvari, što je poboljšanje od gotovo 100 % u usporedbi s kontrolom. Također, translokacija iz korijena u lišće značajno se povećala, što je dovelo do omjera sadržaja (lišće/korijen) od $0,32 \pm 0,06$ u usporedbi s $0,20 \pm 0,02$ kod kontrolnih biljaka. Autori navode da slični učinci nisu primijećeni kod drugih gljiva ili u kombinaciji sa *Salix viminalis*.

Ma et al. (2014) su istraživali utjecaj ektomikorize na unos i toleranciju Cd kod biljke *Populus x canescens* te su zabilježili povećanu asimilaciju CO₂, poboljšani sadržaj hraniva i ugljikohidrata te smanjeni oksidativni stres kod biljaka s uspostavljenom ektomikorizom u odnosu na kontrolu. Nadalje, pokazalo se da su biljke s uspostavljenom mikorizom akumulirale veće količine iona Cd²⁺ iz tla. Autori su zaključili da povećani volumen korijena i prekomjerna ekspresija gena koji su uključeni u unos i transport Cd²⁺ kod ektomikorize utječu na povećanje detoksifikacije i obranu biljke domaćina.

Deng et al. (2021) istraživali su hoće li inokulacija ektomikoriznim gljivama povećati toleranciju *Populus x canescens* na povišeni sadržaj soli u tlu kako bi se *Populus x canescens* mogla koristiti za fitoremedijaciju slanih tala onečišćenih Cd. U istraživanju su korištena dva soja gljive *Paxillus involutus* – MAJ koji tvori potpunu ektomikorizu i NAU koji tvori samo plašt oko korijena te su oba sačuvala veći unos Cd²⁺ pod stresom od soli u odnosu na kontrolu. Autori su zaključili da ektomikorizacija drvenastih vrsta hiperakumulatora poput topole može poboljšati fitoremedijaciju Cd u zaslanjenim tlima. Autori navode da rezultati istraživanja ukazuju na pojavu promjena u zajednici ektomikoriznih gljiva u kontaminiranom tlu prije pojave uočljivih učinaka na nadzemnoj biomasi preživjelih sadnica

Crane et al. (2012) posadili su presadnice *Pinus rigida* (16 ponavljanja po tretmanu) u eksperimentalne posude ispunjene tlom s dodatkom žive (0, 5, 14, 37, 88, 198 i 366 mg/kg ST). Autori su utvrdili preživljavanje i rast presadnica te analizirali prisutnost morfotipa

ektomikoriznih gljiva. Studijom je utvrđeno da je povećanjem količine Hg dodane u tlo smanjeno preživljavanje sadnica, no istovremeno nije primijećeno smanjenje rasta kod preživjelih sadnica. Preko 80 % sadnica posađenih u četiri tretmana s najmanjim sadržajem Hg je preživjelo, no kod tretmana s dodatkom Hg iznad 37 mg/kg došlo je do značajnog smanjenja u preživljavanju. Nadalje, dodatkom 88 mg/kg Hg u tlo populacija ektomikoriznih gljiva se prepоловила te je smanjena raznolikost morfotipova, dok niže koncentracije Hg dodane u tlo nisu značajno utjecale na sastav ektomikoriznih gljiva u odnosu na kontrolu. Autori su zaključili da povišene razine Hg mogu utjecati na zajednicu ektomikorize, inhibirati rast ektomikoriznih gljiva i smanjiti njihovu kompeticijsku sposobnost.

2.5.3. Pepeo

Pepeo biomase je kruti ostatak koji nastaje izgaranjem biomase u proizvodnji toplinske i električne energije. Godišnje se u Hrvatskoj proizvede oko 12 000 t pepela (Bošnjak et al., 2022), koji najčešće završava na odlagalištima otpada iako se radi o potencijalno vrijednom nusproizvodu koji sadrži različita mikro i makrohranjiva (Knapp i Insam, 2011). Milovanović et al. (2019) navode da sadašnja praksa odlaganja pepela drvene biomase uzrokuje dodatni pritisak na okoliš te financijske i materijalne gubitke. Fizikalna i kemijska svojstva pepela su varijabilna i ovise o: a) biljnoj vrsti, načinu uzgoja i dijelovima biljke koji se spaljuju, b) svojstvima tla i klimatskim uvjetima, c) postrojenju i tehnološkom procesu spaljivanja, d) transportu i načinu skladištenja. Pepeo se uglavnom sastoji od Ca, K, Mg, Si, Al, P, Na, Mn, S i elemenata u tragovima (Fe, Zn, As, Ni, Cr, Pb, Hg, Cu, B, Mb, V, Ba, Cd, Ag) u različitim koncentracijama, dok se većina N gubi izgaranjem (Demeyer et al., 2001). Pepeo koji se dobiva izgaranjem drvene biomase dijeli se na pepeo s dna peći (ložišni pepeo) i leteći pepeo koji može biti krupnije (iz ciklona) ili finije frakcije (iz elektrostatičkih filtara). Između ovih vrsta pepela postoji značajna razlika u sadržaju teških metala, primjerice udio Zn, Pb i Cd povećava se smanjenjem veličine čestica (Milovanović et al., 2019). Procijenjeni sadržaj teških metala u pepelu s dna peći i letećem pepelu prikazan je u Tablici 2.5.3.1.

Tablica 2.5.3.1. Sadržaj teških metala (mg/kg) u pepelu s dna peći i letećem pepelu

Element	As	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Mn	Ni	Pb	V	Zn
Pepeo s dna peći	0,2 - 3	0,4 - 0,7	0 - 7	>60	15 - 300	<0,4	2500 - 5500	40 - 250	15 - 60	10 - 120	15 - 1000
Leteći pepeo	1 - 60	6 - 40	3 - 200	40 - 250	~ 200	0 - 1	6000 - 9000	20 - 100	40 - 1000	20 - 30	40 - 700

Izvor: Milovanović et al., 2019; Pitman, 2006)

Pepeo se može reciklirati primjenom u poljoprivredi kao poboljšivač tla, zamjena za komercijalna gnojiva u uzgoju ne prehrambenih kultura ili kao materijal za kalcifikaciju (Bošnjak et al., 2022). Prije upotrebe pepela u poljoprivredi važno je odrediti njegov kemijski sastav, sadržaj teških metala i drugih potencijalno onečišćujućih tvari (Knapp i Insam, 2011). Studije su pokazale da poljoprivredna biomasa sadrži niže koncentracije teških metala u

odnosu na šumsku biomasu, zbog duljeg perioda fitoakumulacije i nižeg pH šumskog tla (Voća et al., 2021). Veličina čestica pepela utječe na brzinu oslobađanja hraniva, što je pepeo grublji to je dulje vrijeme oslobađanja hraniva. Pepeo predstavlja izvor Ca, Mg, K i P (Demeyer et al., 2001). Sadržaj SiO₂ u pepelu utječe na zadržavanje vode u tlu (Odzijewicz et al., 2022). Zbog visokog pH može se primijeniti kao poboljšivač tla u procesu fitoremedijacije. Povećanjem pH smanjuje se biodostupnost teških metala Cd, Pb i Zn u tlu i pospješuje otapanje P i njegovo otpuštanje iz netopivih formi Al i Fe fosfata (Brami et al., 2021). Bošnjak et al. (2022) navode da studije uglavnom ukazuju da pepeo utječe na broj i raznolikost bakterija u tlu te na populacije mikroorganizama, pri čemu se povećava njihova brojnost i aktivnost, a time i mineralizacija i nitrifikacija. Ipak, autori napominju da su neke studije utvrdile smanjenje mineralizacije organske tvari i mikrobne aktivnosti. Općenito, pepeo sadrži vrlo malo C i N, stoga njegova primjena može smanjiti njihov ukupni sadržaj u tlu povećanjem topivosti organskog C (Demeyer et al., 2001). U Tablici 2.5.3.2. nalazi se sažetak rezultata nekih istraživanja o utjecaju primjene letećeg pepela biomase na svojstva tla, prema Odzijewicz et al. (2022). Primjena pepela u tlo može poboljšati rast i prinos kod biljaka (Demeyer et al., 2001). Prema Odzijewicz et al. (2022) studije su pokazale pozitivan učinak pepela na prinos nekih vrsta trava u odnosu na kontrolu, dok je učinak pepela na njihov rast bio usporediv s djelovanjem mineralnih gnojiva.

Tablica 2.5.3.2. Utjecaj doze letećeg pepela različite biomase na svojstva tla

Ječam	
32 t/ha	Povećanje pH tla s 6,5 na 8,6 do 4 mjeseca nakon primjene Povećanje sadržaja P u tlu s 138 na 274 mg/kg Povećanje sadržaja Mg s 22 na 44 mg/kg
30 t/ha	Povećanje sadržaja dostupnog K s 160 na 2067 mg/kg
16 t/ha	Povećanje sadržaja Mg s 22 na 37 mg/kg
Uljana repica, slama	
> 8 t/ha	Povećanje sadržaja Mg u tlu s niskog na srednji
8 t/ha	Povećanje pH tla s 6,5 na 7,5 Povećanje u sadržaju dostupnog P za 43 % i K za 235 % u odnosu na kontrolu (160 mg/kg K)
1 t/ha, 2 t/ha	Povećanje sadržaja dostupnog P za 24 % i 27 %
Vrba, drvena sječka, slama)	
0,75 t/ha, 1 t/ha	Povećanje dostupnog K u tlu za 22 % i 40 %
10,5 t/ha	Povećanje pH s 5,2 na 5,74 Povećanje sadržaja K u tlu sa srednjeg na visoki

Izvor: Odzijewicz et al. (2022)

Saletnik et al. (2018) istraživali su upotrebu bioglajena i pepela biomase (smjesa energetskih kultura i biomase poljoprivrednih kultura) kao poboljšivača tla. U istraživanju su uočili značajno povećanje prinosa miskantusa nakon primjene 1,5 t/ha pepela biomase (smjesa biomase energetskih kultura i biomase poljoprivrednih kultura) te su zaključili da primjenom u primjerenj dozi pepeo ima pozitivan utjecaj na kemijska svojstva tla i povećanje prinosa, no prema rezultatima istraživanja bioglajen se pokazao kao bolja zamjena za gnojivo. Prema Odziejewicz et al. (2022) miskantus ima najviši udio pepela (7 %) u odnosu na neke druge energetske kulture, Brami et al. (2021) navode da se spaljivanjem miskantusa dobiva između 2 i 3,5 % pepela, a prema studiji koju su proveli Bilandžija et al. (2017) udio pepela u miskantusu uzgojenom u zadanim agroekološkim uvjetima Hrvatske iznosi oko 1,5 %. Brami et al. (2021) proveli su istraživanje sastava pepela miskantusa s dna peći. Miskantus je uzgojen na ne kontaminiranom tlu i potom spaljen u postrojenju za proizvodnju energije. Rezultati analize sastava miskantusa prikazani su u Tablici 2.5.3.3.

Tablica 2.5.3.3. Fizikalno-kemijske karakteristike pepela miskantusa

Parametar	Rezultat	Jedinica mjere
pH	11,8	/
OT	42	g/kg
O_{org}	21	g/kg
N_{tot}	0,2	g/kg
Omjer C/N	105	/
CaO	65,6	mg/kg
P₂O₅	29,7	mg/kg
K₂O	58,9	mg/kg
Cd	0,1	mg/kg
Cr	3,59	mg/kg
Cu	24	mg/kg
Ni	1,9	mg/kg
Pb	0,82	mg/kg
Zn	73,9	mg/kg
Co	0,52	mg/kg
B	32,9	mg/kg
Fe	1400	mg/kg
Hg	<0,03	mg/kg
Mn	978	mg/kg
Mo	2	mg/kg

Izvor: Brami et al. (2021)

3. Hipoteze i ciljevi rada

Cilj ovoga rada je utvrditi utjecaj poboljšivača na fitoremedijaciju tla onečišćenog s Cd i Hg pomoću trave miskantus. Pretpostavlja se da će dodatak različitih poboljšivača tla (kontrola – čisto tlo, otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, mikoriza, pepeo MxG) u tlo na kojem će izrasti presadnice miskantusa različito utjecati na rast i produktivnost (kvalitetu i kvantitetu) biomase te da će akumulacija Hg i Cd od strane biljaka biti različita ovisno o dodanom poboljšivaču. Specifični ciljevi su:

Tlo

1. Prije i nakon žetve odrediti osnovne agrokemijske parametre tla: pH, KIK, tekstura (% - gline, praha i pijeska), P, K, humus (OM), TC, TN, odrediti mikro, makro i elemente u tragovima (Al, Ag, As, Ba, Bi, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Mo, Nb, Ni, P, Pb, Rb, S, Sb, Se, Si, Sr, Ti, U, V, W, Y, Zn, Zr), ukupni sadržaj N, C, S, H, Cd i Hg.

Biljni materijal

1. Utvrditi prinos, visinu biljaka i broj izboja po istraživanoj površini, sadržaj vlage; sadržaj N, C, S, H, Cd i Hg u nadzemnom dijelu biljke.
2. Odrediti masu te sadržaj Cd i Hg u podzemnoj biomasi (rizomima).

4. Materijali i metode istraživanja

4.1. Eksperimentalni dizajn

Eksperiment je postavljen 08.05.2018. godine u otvorenom stakleniku Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i trajao je tri vegetacijske godine: 2018/2019, 2019/2020 i 2020/2021. Za vrijeme trajanja eksperimenta (2018. – 2021.) godišnja količina oborina iznosila je 853,6 mm, 1000,5 mm, 950,4 mm i 772,2 mm, a srednja godišnja temperatura zraka 13 °C, 13 °C, 12,6 °C i 12,2 °C (Državni hidrometeorološki Zavod – postaja Maksimir).



Slika 4.1.1. Eksperimentalni dizajn

Izvor: Željka Zgorelec

Presadnice trave miskantus posađene su u plastične posude (eksperimentalne posude - EP) u četiri tretmana i tri ponavljanja prema slučajnom bloknom rasporedu (Slika 4.1.1). U svim tretmanima korišteno je tlo onečišćeno kadmijem (100 mg/kg tla) i živom (20 mg/kg tla), a tretmani su se međusobno razlikovali po dodanom poboljšivaču (jedan po tretmanu): I – čisto tlo bez dodatka poboljšivača, II – mikoriza, III – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja i IV – pepeo MxG (Tablica 4.1.1).

Tablica 4.1.1. Različiti poboljšivači dodani u tlo s istom razinom onečišćenja kadmijem (100 mg/kg tla) i živom (20 mg/kg tla)

Tretman	Br. ponavljanja	Oznaka	Dodatak
I Čisto tlo (bez poboljšivača)	3	I-1	
		I-2	18 kg tla bez poboljšivača/EP
		I-3	
II Otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja	3	II-1	18 kg tla + 340 g otpadnog mulja/EP (tekući, 97 % prirodne vlažnosti)
		II-2	Ekvivalent 1,66 t/ha prema Pravilniku (NN 38/08)
		II-3	
III Mikoriza	3	III-1	
		III-2	18 kg tla + 5 mL mikorize/EP ili biljci
		III-3	
IV Pepeo MxG	3	IV-1	
		IV-2	13,5 kg tla + 4,5 kg pepela
		IV-3	Tlo/pepeo = 75/25

Supstrat korišten u eksperimentu dobiven je miješanjem i homogeniziranjem čistog tla u koje je nakon provedenih analiza dodano 114,2 mg CdO/kg tla (2077 mg CdO/18 kg tla) čistoće 99 % i 27,1 mg HgCl₂/kg tla (490 mg HgCl₂/kg 18 kg tla) čistoće 99,5 % da bi se postigla željena koncentracija od 100 mg Cd/kg tla i 20 mg Hg/kg tla po posudi.

4.2. Tlo

Čisto tlo korišteno u istraživanju uzeto je s pokušališta Maksimir Agronomskog fakulteta u Zagrebu i pripravljeno za analitičku obradu (ručno usitnjeno, osušeno na zraku i pakirano u vrećice s pripadajućim analitičkim brojem). U analitičkom laboratoriju Agronomskog fakulteta provedene su analize tla i utvrđena fizikalna (mehanički sastav) i kemijska (pH, sadržaj humusa, sadržaj makro i mikro elemenata) svojstva tla. U laboratoriju Zavoda za pedologiju analiziran je mehanički sastav tla u Na-pirofosfatu (HRN ISO 11277:2004). Utvrđena je tekstura tla praškasta ilovača (PrI) (Tablica 4.2.1).

Tablica 4.2.1. Mehanički sastav tla

Kategorija čestica	Promjer, mm	Udio u tlu, %
Krupni pijesak	2,0 - 0,2	4,4
Sitni pijesak	0,2 - 0,063	10

Krupni prah	0,063 - 0,02	38
Sitni prah	0,02 - 0,002	37,7
Glina	< 0,002	9,9

Prema podacima dobivenim analizom osnovnih kemijskih svojstava (Tablica 4.2.2.) tlo je blago kiselo (pH 6,23) i dosta humozno (3,8 %). Opskrbljenost tla fiziološki aktivnim, biljci pristupačnim oblicima fosfora (P_2O_5) i kalija (K_2O) vrlo je slaba (Vukadinović i Lončarić, 1998). Tlo je bogato opskrbljeno ukupnim dušikom (0,23 %) (klasifikacija prema Woltmanu, Čoga i Slunjski, 2018).

Tablica 4.2.2. Osnovna kemijska svojstva tla

Parametar	Jedinica mjere	Rezultat	Norma
pH u 1 M KCl (1:2,5)	-	6,23	Mod. HRN ISO 10390:2004
Humus (%)	%	3,8	Titrimetrijski, metoda po Tjurinu Mod. HRN ISO 14235:2004
P_2O_5	mg/100 g tla	4,4	AL metoda (Škorić, 1982)
K_2O	mg/100 g tla	7,8	AL metoda (Škorić, 1982)
TN	%	0,23	HRN ISO 13878:2004
TC	%	2,48	HRN ISO 10694:2004
TS	%	0,049	HRN ISO 15178:2005
Ca^{2+}	cmol(+)/kg tla	16,5	HRN ISO 11260:2004
K^+	cmol(+)/kg tla	0,19	HRN ISO 11260:2004
Mg^{2+}	cmol(+)/kg tla	2,9	HRN ISO 11260:2004
Na^+	cmol(+)/kg tla	0,06	HRN ISO 11260:2004
KIK	cmol(+)/kg tla	18,9	HRN ISO 11260:2004

U završnoj godini eksperimenta na dan žetve miskantusa (18.3.2021.) iz svake eksperimentalne posude uzeti su uzorci koji su pripremljeni za analizu u laboratoriju Zavoda za opću proizvodnju bilja. Analiza tla na ukupne elemente prije i nakon eksperimenta odrađena je pXRF metodom (Tablica 4.5.1.) te je određen sadržaj: Al, Ca, Fe, K, Si (%); Ag, As, Ba, Bi, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Nb, Ni, P, Pb, Rb, S, Sb, Se, Sr, Ti, U, V, W, Y, Zn, Zr (mg/kg). C, H, N i S (%) određeni su metodom suhog spaljivanja (Tablica 4.5.1).

Sadržaj Cd i Hg u tlu nakon eksperimenta određen je metodom ICP-MS (Tablica 4.5.1.) na Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada (IMI), pri čemu je dio uzoraka tla pripremljen i mikrovalno razoren (Ultraclave, Milestone) na IMI-u (1), a dio u Al bloku na Agronomskom fakultetu (2) kako bi se provela i usporedba metoda.

(1) Odvagano je oko 0,1 g tla po uzorku. Uzorci su zatim mikrovalno razoreni uz dodatak 25 % HNO₃ (6 mL) prema programu prikazanom u Tablici 4.2.3. Nakon razaranja u uzorke je u svrhu stabilizacije Hg dodano 6 % HCl (4 mL) te je ukupni volumen svih uzoraka iznosio 10 mL.

(2) Odvagano je oko 0,1 g tla po uzorku, nakon čega su uzorci prenijeti u digestor. U svaki uzorak je dodano 1,2 mL zlatotopke (90 mL konc. HCl 37 % + 30 mL konc. HNO₃ 65 %) te jedna kap octanola da bi se spriječilo pjenjenje. Uzorci su dobro začepljeni i ostavljeni da stoje preko noći te idućeg dana razoreni u bloku za digestiju koji je postavljen na program 4 (4 h na 55 °C). Nakon razaranja uzorci su na IMI-u razrijeđeni s 50 mL H₂O, ohlađeni, izvagani, profiltrirani i ostavljeni u hladnjaku do analize.

Uzorci tla su za analizu Cd ICP-MS metodom prethodno razrijeđeni 100 puta. U uređaju je kao interni standard korišten rodij (Rh). Analiziran je izotop Cd 111 u kolizijskom načinu rada uz helij (He).

Tablica 4.2.3. Program za mikrovalno razaranja uzoraka (uređaj Ultraclave)

	Vrijeme t/min	Snaga mikrovalova MW/W	Temperatura T1/°C	Tlak P1/bar
1.	04:00	1000	80	100
2.	08:00	1000	130	100
3.	04:30	1000	180	150
4.	21:00	1000	220	160
5.	0:00			

4.3. Biljni materijal

Posađene presadnice rasle su u otvorenom stakleniku Zavoda za Opću proizvodnju bilja te su nakon žetve iz svake eksperimentalne posude uzeti uzorci biljnog materijala kojima su izmjereni:

- visina biljaka (cm)
- prinos (g)
- broj izboja po istraživanoj površini
- sadržaj vlage (%)
- N, C, S, H (%)
- Cd (mg/kg)
- Hg (µg/kg)

Kao i kod uzoraka tla, sadržaj Cd i Hg u nadzemnoj biomasi analiziran je ICP-MS metodom. Priprema uzoraka nadzemne biomase bila je jednaka ranije opisanoj za uzorke tla (poglavlje 4.2, str. 26 i 27), osim što se pri mikrovalnom razaranju za uzorke nadzemne biomase izvagalo 0,2 g te je dodano 25 % HNO₃ (3 mL) i 6 % HCl (7 mL). Uzorci su nakon razaranja razrijeđeni vodom do ukupnog volumena od 10 mL.

Podzemna biomasa (rizomi) miskantusa analizirana je na nakon tri godine istraživanja. Sadržaj Cd i Hg u podzemnoj biomasi analiziran je u Centralnom kemijsko-tehnološkom laboratoriju, HEP-Proizvodnja d.o.o. Za detekciju Cd korištena je metoda ICP-OES (Tablica 4.5.1). Odvagano je 0,4000 – 0,5000 g po uzorku. Uzorci su mikrovalno razoreni u uređaju Multiwave PRO (Anton Paar) uz dodatak 65 % HNO₃ (8 mL). Za detekciju Hg uzorci su prethodno usitnjeni na veličinu čestica < 1,0 mm te je odvagano 0,1300 g po uzorku u posudicu od nikla. Detekcija je provedena na živinom analizatoru (Tablica 4.5.1).

4.4. Tretmani

4.4.1. Tlo bez poboljšivača (I)

Kao prvi tretman u istraživanju korišteno je čisto tlo s pokušališta Maksimir Agronomskog fakulteta. Svaka EP ispunjena je s 18 kg čistog tla.

4.4.2. Otpadni mulj (II)

Drugi tretman bio je otpadni mulj ili digestat iz fermentora bioplinskog postrojenja Agroproteinka. Sastav otpadnog mulja je analiziran, bakteriološki je ispravan te odgovara zahtjevima članka 8. Pravilnika o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (NN 71/19) kojim se određuju maksimalne dopuštene količine (MDK) teških metala (Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb i Zn) i potencijalno toksičnih esencijalnih elemenata (Zn, Cu) u gnojivima i poboljšivačima tla. U tekućem je obliku (97 % prirodne vlažnosti), karakteristične boje i mirisa, s vrlo niskim udjelom suhe tvari (3 %). Po eksperimentalnoj posudi je dodano 340 g otpadnog mulja što odgovara dopuštenoj godišnjoj količini od 1,66 t/ha poljoprivrednog tla prema Pravilniku o gospodarenju muljem iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi (NN 38/08). Kemijski sastav otpadnog mulja prikazan je u Tablici 4.4.2.1.

Tablica 4.4.2.1. Kemijski sastav otpadnog mulja iz bioplinskog postrojenja Agroproteinka

Parametar	Jedinica	Rezultat	MDK	Metoda
Humus	%	12,44	-	Bikromatna metoda
Dušik (N)	%	0,72	-	HRN ISO 11261:2004
Fosfor (P₂O₅)	mg/100 g	80	-	AL metoda
Kalij (K₂O)	mg/100 g	65,83	-	Interna metoda

Magnezij (Mg)	mg/kg	400	-	Interna metoda
Kalcij (Ca)	mg/kg	384	-	Interna metoda
Sumpor (SO₃; ukupni)	%	< 1,0	-	Interna metoda
Bor	mg/kg	< 0,050	-	RU-OTV_015 (izdanje 1)
Bakar (Cu)	mg/kg	6,87	600	Mod. HRN ISO 11047:2004
Cink (Zn)	mg/kg	152,14	1000	Mod. HRN ISO 11047:2004
Mangan (Mn)	mg/kg	0,14	-	Mod. HRN ISO 11047:2004
Kadmij (Cd)	mg/kg	< 0,100	10	Mod. HRN ISO 11047:2004
Krom (Cr)	mg/kg	< 0,101	600	Mod. HRN ISO 11047:2004
Živa (Hg)	mg/kg	< 0,102	7,5	Mod. HRN ISO 11047:2004
Nikal (Ni)	mg/kg	< 0,103	375	Mod. HRN ISO 11047:2004
Olovo (Pb)	mg/kg	2,8	750	Mod. HRN ISO 11047:2004
Željezo (Fe)	mg/kg	0,22	-	Mod. HRN ISO 11047:2004
pH (H₂O)	pH	8,6	-	HRN ISO 10390:2005
pH (1M KCl)	pH	8,5	-	HRN ISO 10390:2005

Izvor: Euroinspekt Croatiakontrola d.o.o., Agroproteinka-energija d.o.o. (2018)

4.4.3. Mikoriza (III)

U trećem tretmanu apliciran je MYKOFLOR®, komercijalni inokulum živih ektomikoriznih micelija suspenziranih u otopini AgroHydroGel® tvrtke Agroidea. Korišteno je 5 mL mikorize po eksperimentalnoj posudi, što je 15 mL za tri ponavljanja. AgroHydroGel® je polimerna čestica s izraženom sposobnosti upijanja i skladištenja vode (u količini 300 puta većoj od svoje mase). Dostupan je u obliku praška ili granula veličine 2 – 4 mm te se nakon navodnjavanja mijenja u trajni gel. Standardni pH približan je neutralnom. Prema postojećoj uputi proizvođača, za tla kao što je praškasta ilovača primjenjuje se 2 g AgroHydroGela® po jami ili biljci. Dakle, za tri ponavljanja po 10 biljaka primijenjeno je ukupno 60 g.

4.4.4. Pepeo (IV)

Četvrti tretman bio je pepeo MxG. Omjer tla i pepela bio je 75:25, odnosno za 18 kg supstrata po eksperimentalnoj posudi korišteno je 13,5 kg tla i 4,5 kg pepela MxG.

4.5. Metodologija analiza

U tablici 4.5.1. je prikazan popis analiza nadzemne biomase, podzemne biomase i tla.

Tablica 4.5.1. Provedene analize nadzemne biomase, podzemne biomase i tla

Parametar	Protokol	Norma	Matriks
Sušenje, mljevenje, sijanje, homogeniziranje uzoraka	Priprema uzoraka tla i biljnog materijala za fizikalne i kemijske analize	HRN ISO 11464:2009	Nadzemna i podzemna biomasa, tlo
Vlaga (%)	Određivanje suhe tvari i sadržaja vlage - gravimetrijska metoda	HRN ISO 11465:2004	Nadzemna biomasa, tlo
TN (% ST)	Određivanje ukupnog dušika metodom suhog spaljivanja (Vario Macro CHNS Analyzer, Elementar)	HRN ISO 13878:2004	Nadzemna biomasa, tlo
TC (% ST)	Određivanje ukupnog ugljika metodom suhog spaljivanja (Vario Macro CHNS Analyzer, Elementar)	HRN ISO 10694:2004	Nadzemna biomasa, tlo
TS (% ST)	Određivanje ukupnog sumpora metodom suhog spaljivanja (Vario Macro CHNS Analyzer, Elementar)	HRN ISO 15178:2005	Tlo
Al, Ca, Fe, K, Si (%) Ag, As, Ba, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Nb, Ni, P, Pb, Rb, S, Sb, Se, Sr, Ti, U, V, W, Y, Zn, Zr (mg/kg)	Analiza na ukupne elemente metodom pXRF (Vanta VCR G2, Olympus)	HRN ISO 13196:2013	Tlo
Cd	Detekcija metodom ICP-MS (7500, Agilent Technologies)	/	Nadzemna biomasa, tlo
	Detekcija metodom ICP-OES (ICPE-9000, Shimadzu)	HRN ISO 16968:2015	Podzemna biomasa

Hg	Detekcija na uređaju AMA-254 Mercury Analyzer (Leco Inc)	/	Nadzemna biomasa, tlo
	Detekcija na uređaju SMS 100 Mercury Analyzer (Perkin Elmer)	HRN ISO 16968:2015	Podzemna biomasa

Vrijednosti dobivene za Hg u nadzemnoj biomasi i tlu metodom ICP-MS bile su ispod granice detekcije (< LOD), stoga je detekcija provedena u živinom analizatoru (Tablica 4.5.1). Korelacija između rezultata za Cd dobivenih različitim metodama ekstrakcije bila je vrlo visoka ($r = 0,9086$). Pri statističkoj analizi Cd i Hg korišteni su podaci dobiveni ekstrakcijom mikrovalnim razaranjem, metodom za koju su dostupna mjerenja za sve tri godine istraživanja.

4.6. Kronologija radova na istraživanju



Slika 4.6.1. Prikaz biljaka početkom lipnja 2020. godine
Izvor: Željka Zgorelec

01.06.2020. Obilazak pokusa, provjera stanja opskrbe biljaka vodom (Slika 4.6.1).



Slika 4.6.2. Prikaz biljaka krajem lipnja 2020. godine
Izvor: Željka Zgorelec

24.06.2020. Obilazak pokusa, zalijevanje biljaka i ručno suzbijanje korova (Slika 4.6.2).



Slika 4.6.3. Prikaz biljaka krajem kolovoza 2020. godine
Izvor: Željka Zgorelec

21.08.2020. Obilazak pokusa radi suzbijanja korova i zalijevanja biljaka (Slika 4.6.3).



Slika 4.6.4. Prikaz biljaka početkom studenog 2020. godine
Izvor: Željka Zgorelec

06.11.2020. Preseljenje pokusa na Ispitno-demonstracijski poligon Zavoda za mehanizaciju poljoprivrede (Slika 4.6.4).





Slika 4.6.5. Stanje pokusa na dan žetve i žetva miskantusa u ožujku 2021. godine
Izvor: Željka Zgorelec, osobna arhiva

18.03.2021. Žetva miskantusa, uzimanje uzoraka nadzemne biomase i tla (Slika 4.6.5).

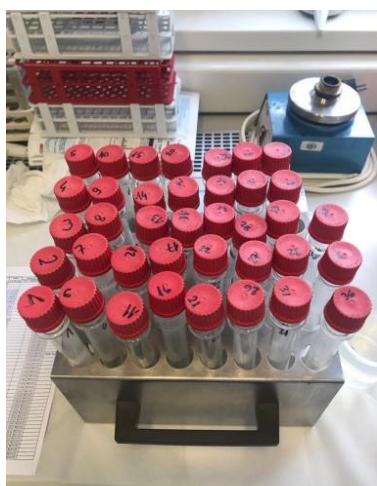


Slika 4.6.6. Prikaz pripreme uzoraka tla za sušenje te mjerenja visine i usitnjavanja nadzemne biomase u ožujku 2021. godine
Izvor: Osobna arhiva



Slika 4.6.7. Mljevenje uzoraka nadzemne biomase i tla u ožujku 2021. godine

Izvor: Osobna arhiva



Slika 4.6.8. Priprema i digestija tla i nadzemne biomase za detekciju Cd i Hg na Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada u svibnju 2021. godine

Izvor: Osobna arhiva



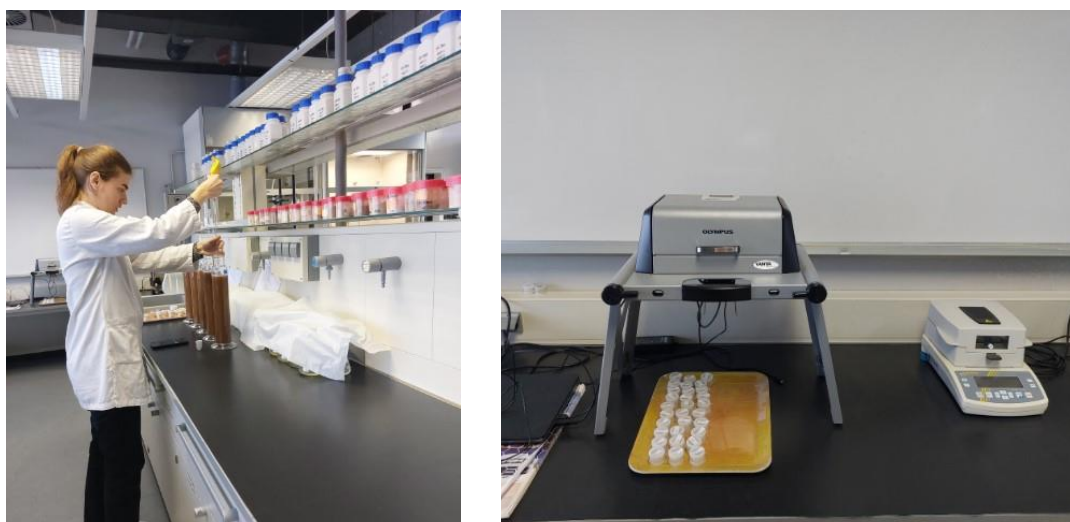
Slika 4.6.9. Prikaz podzemne biomase nakon završetka pokusa u veljači 2022. godine

Izvor: Željka Zgorelec



Slika 4.6.10. Priprema uzoraka podzemne biomase u ožujku 2022. godine

Izvor: Osobna arhiva



Slika 4.6.11. Priprema uzoraka podzemne biomase za detekciju Cd i Hg u svibnju 2022. godine

Izvor: Željka Zgorelec

4.7. Statistička analiza podataka

Dobiveni podaci statistički su obrađeni koristeći program SAS 9.1 (SAS Inst. Inc). Provedena je analiza varijance (One-way ANOVA) za ispitivanje varijabilnost unutar tretmana za sve ispitivane parametre. Kad je ANOVA bila statistički značajna ($p < 0,05$) razlike između srednjih vrijednosti testirane su FISHER LSD post hoc testom.

4.8. Kontrola kvalitete

Kontrola kvalitete provedena je tijekom cijelog istraživanja, uključujući rukovanje uzorcima i laboratorijske analize. Za provjeru točnosti mjerenja tla upotrebljeni je referentni materijal ISE 989, a za provjeru točnosti mjerenja biljnog materijala referentni materijal IPE 225. Preciznost mjerenja provjerena je replikacijom pojedinih mjerenja u tri ponavljanja.

5. Rezultati i rasprava

5.1. Tlo nakon eksperimenta

U Tablici 5.1.1. prikazane su srednje vrijednosti izmjerenih parametara tla.

Tablica 5.1.1. Kemijska analiza parametara tla (pXRF metoda)

Parametar		Tretman			
Naziv	Simbol	I	II	III	IV
Aluminij	Al (%)	12,40	11,97	12,31	11,13
Srebro	Ag (mg/kg)	< LOD (3)			
Arsen	As (mg/kg)	9	11	6	8
Barij	Ba (mg/kg)	1697	1701	1381	1567
Bizmut	Bi (mg/kg)	< LOD (3)			
Ugljik	C (%)	2,48			
Kalcij	Ca (%)	1,38	1,46	1,50	1,67
Kobalt	Co (mg/kg)	13,2	11,9	12,4	13,4
Krom	Cr (mg/kg)	147	150	151	131
Bakar	Cu (mg/kg)	34	34	33	40
Željezo	Fe (%)	4,77	4,68	4,73	4,55
Kalij	K (%)	1,47	1,44	1,47	1,39
Mangan	Mn (mg/kg)	1225	1207	1244	1171
Molibden	Mo (mg/kg)	0,14	0,22	0,14	0,31
Niobij	Nb (mg/kg)	14	14	13	13
Nikal	Ni (mg/kg)	63,6	63,9	64,4	59,2
Fosfor	P (mg/kg)	175	191	200	234
Olovo	Pb (mg/kg)	737	861	1032	1012
Rubidij	Rb (mg/kg)	96	95	94	91
Antimon	Sb (mg/kg)	< LOD (3)			
Selenij	Se (mg/kg)	< LOD (1)			
Silicij	Si (%)	41,9	40,6	41,6	38,0
Stroncij	Sr (mg/kg)	120	119	118	116
Titanij	Ti (mg/kg)	6803	6671	6719	6387
Uranij	U (mg/kg)	< LOD (1)			
Vanadij	V (mg/kg)	164	133	216	208
Volfram	W (mg/kg)	2	3	2	3
Itrij	Y (mg/kg)	40	41	40	39
Cink	Zn (mg/kg)	771	917	1016	1040
Cirkonij	Zr (mg/kg)	256	257	251	241

* < LOD – ispod granica detekcije instrumenta

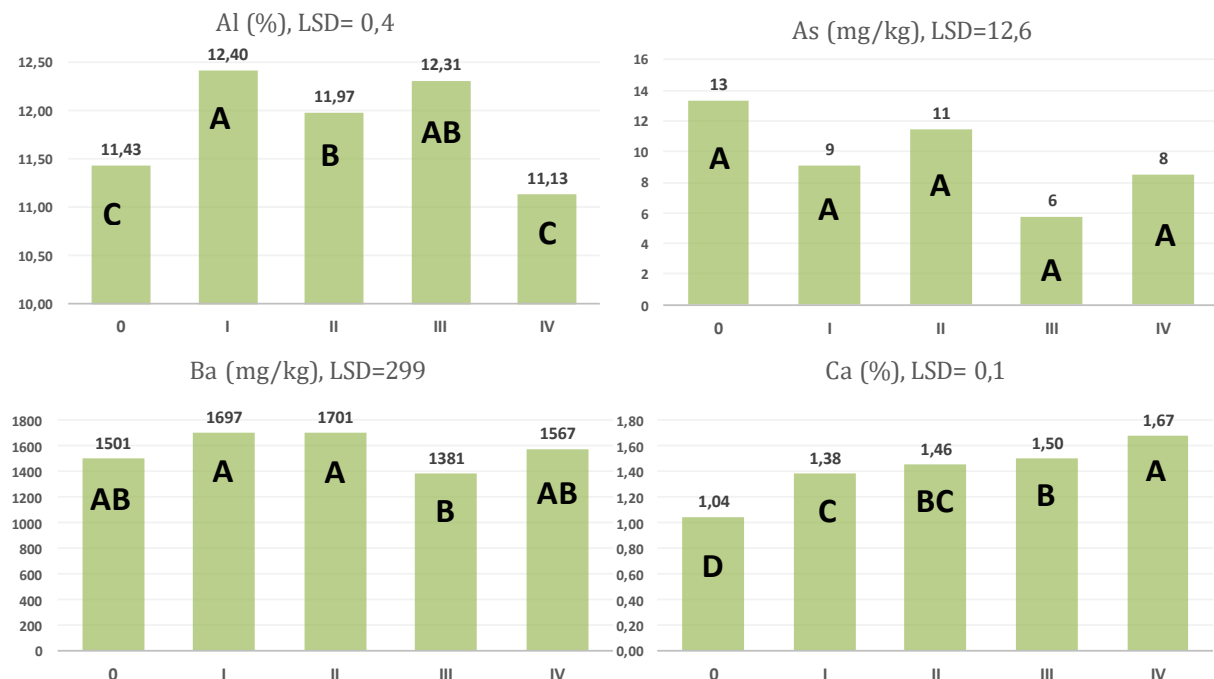
U Tablici 5.1.2. prikazane su srednje vrijednosti sadržaja C, H, N i S u tlu.

Tablica 5.1.2. Sadržaj C, H, N i S u tlu

Parametar		Tretman			
Naziv	Simbol	I	II	III	IV
Ugljik	C (%)	2,484	2,467	2,603	5,722
Vodik	H (%)	1,131	1,154	1,171	1,451
Dušik	N (%)	0,197	0,205	0,212	0,234
Sumpor	S (%)	0,063	0,062	0,063	0,071

5.2. Usporedba rezultata analize tla prije i nakon eksperimenta

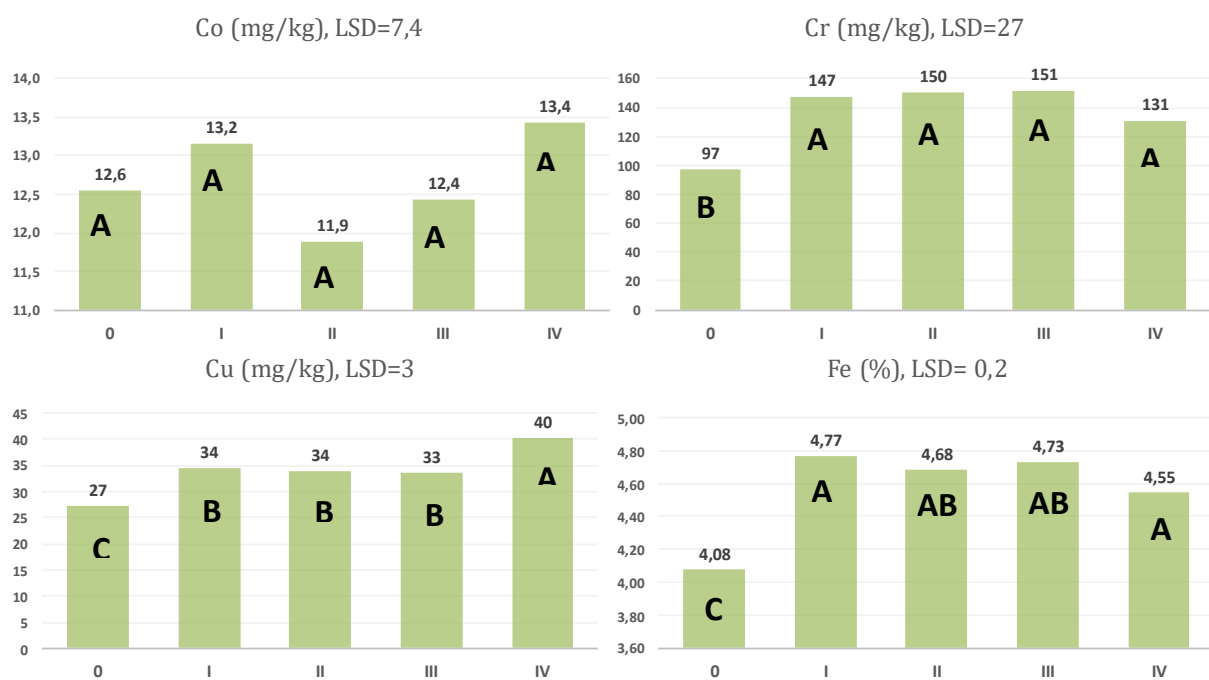
Na Slici 5.2.1. prikazani su rezultati statističke analize sadržaja Al, As, Ba i Ca u tlu. Utvrđena je statistički značajna razlika između tretmana za sadržaj aluminija u tlu. Sadržaj se kretao između 11,13 % (IV) i 12,40 % (I). Sadržaj aluminija u tretmanu I značajno je viši u odnosu na početno stanje (0) i tretmane II i IV, a tretman III se značajno razlikuje od tretmana IV. Ne postoji značajna razlika između sadržaja aluminija 2018. godine (0) i u tretmanu IV, što ukazuje na to da pepeo MxG nije sadržavao aluminij u značajnim koncentracijama. Nadalje, utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između sadržaja arsena u tlu na početku eksperimenta 2018. godine i sadržaja arsena u tlu 2021. godine. Razlika u sadržaju arsena između tretmana u 2021. godini također nije statistički značajna. Sadržaj barija u tlu 2021. godine kretao se između 1381 mg/kg (III) i 1701 mg/kg (II). Tretmani I i II imaju značajno viši sadržaj barija u odnosu na tretman III. Sadržaj kalcija u tlu kretao se između 1,38 % (I) i 1,67 % (IV) za 2021. godinu, pri čemu tretman IV ima značajno viši sadržaj kalcija u odnosu na ostale tretmane. Također, sadržaj kalcija 2018. godine bio je značajno niži u odnosu na sve tretmane 2021. godine.



* 0 – početno stanje tla (2018), I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

Slika 5.2.1. Rezultati statističke analize sadržaja Al, As, Ba i Ca u tlu

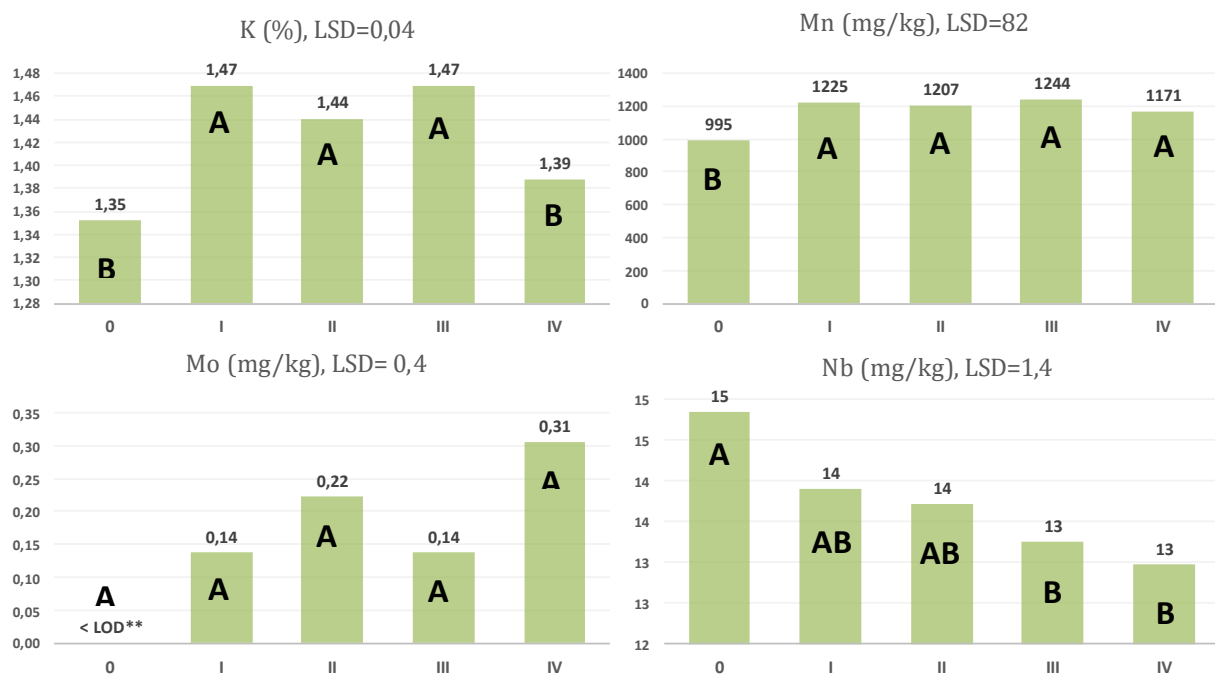
Na Slici 5.2.2. prikazani su rezultati analize sadržaja Co, Cr, Cu i Fe u tlu. Sadržaj kobalta u različitim tretmanima 2021. godine kretao se od 11,9 mg/kg (II) do 13,4 mg/kg (IV) te je utvrđeno da nema statistički značajnih razlika između tretmana, niti u odnosu na 2018. godinu (0). U 2021. godini sadržaj kroma u tretmanima kretao se između 131 mg/kg (IV) i 151 mg/kg (III) te je utvrđeno da ne postoji značajna razlika između tretmana. Ipak, sadržaj kroma u tlu 2021. godine za sve tretmane značajno je viši od sadržaja kroma na početku eksperimenta (0). Sadržaj bakra u tlu 2021. godine značajno je viši od sadržaja bakra u tlu 2018. godine (0). Također, sadržaj bakra u tretmanu IV (40 mg/kg) značajno je viši u odnosu na ostale tretmane (I, II, III). Sadržaj željeza je 2018. godine bio značajno niži u odnosu na sve tretmane 2021. godine, a iznosio je 4,08 %. 2021. godine najviši sadržaj željeza imao je tretman I (4,77 %) te se značajno razlikovao od tretmana IV (4,55 %).



* 0 – početno stanje tla (2018), I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

Slika 5.2.2. Rezultati statističke analize sadržaja Co, Cr, Cu i Fe u tlu

Sadržaj kalija u tretmanu IV iznosio je 1,39 % što je značajno niže u odnosu na ostale tretmane 2021. godine (Slika 5.2.3). Sadržaj kalija na početku eksperimenta (0) također je značajno niži od sadržaja kalija u tretmanima I, II i III. Mangan se u tlu 2021. godine nalazio u rasponu od 1171 mg/kg (IV) do 1244 mg/kg (III), što je statistički značajno više u odnosu na početak eksperimenta (0) kada je u tlu bilo 995 mg/kg mangana. Između tretmana 2021. godine nema statistički značajnih razlika. Sadržaj molibdena 2018. godine bio je ispod granice detekcije, a 2021. godine između 0,14 mg/kg (III) i 0,31 (IV) te je utvrđeno da nema statistički značajnih razlika u sadržaju molibdena u tlu. Niobij se u tlu 2021. godine kretao u rasponu 13 mg/kg (IV) do 14 mg/kg (I), a na početku eksperimenta sadržaj niobija bio je 15 mg/kg. Utvrđena je statistički značajna razlika između sadržaja niobija u tlu 2018. godine (0) i tretmana III i IV.

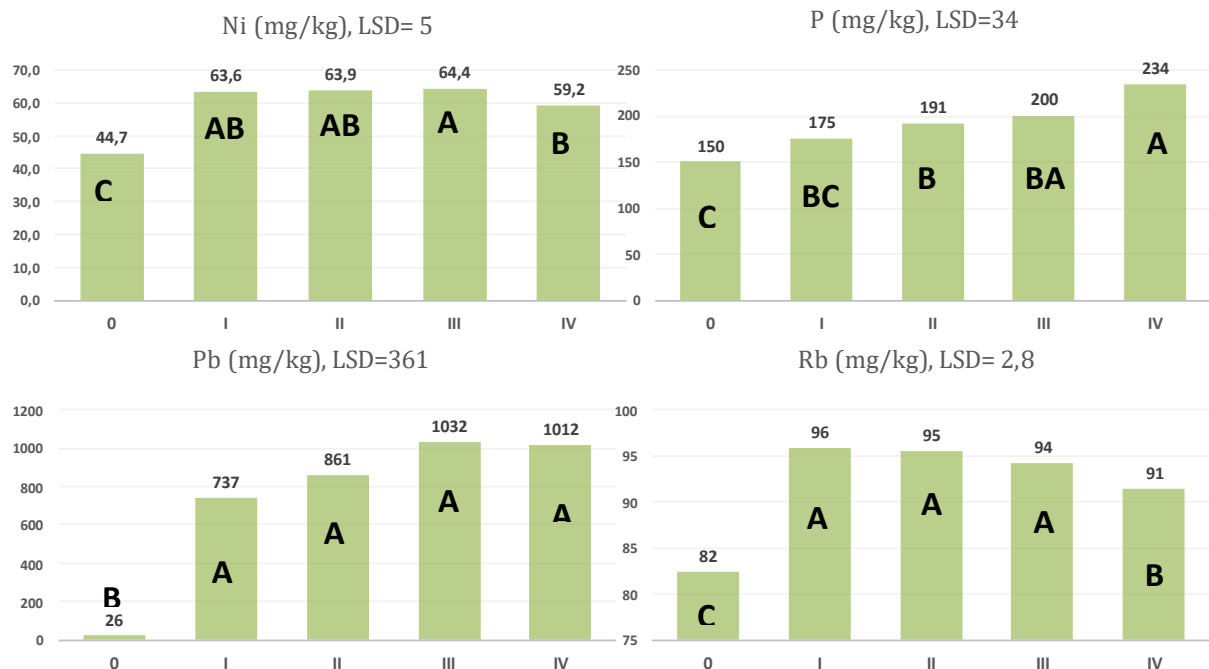


* 0 – početno stanje tla (2018), I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

** < LOD – ispod granice detekcije (2 mg/kg Mo)

Slika 5.2.3. Rezultati statističke analize sadržaja K, Mn, Mo i Nb u tlu

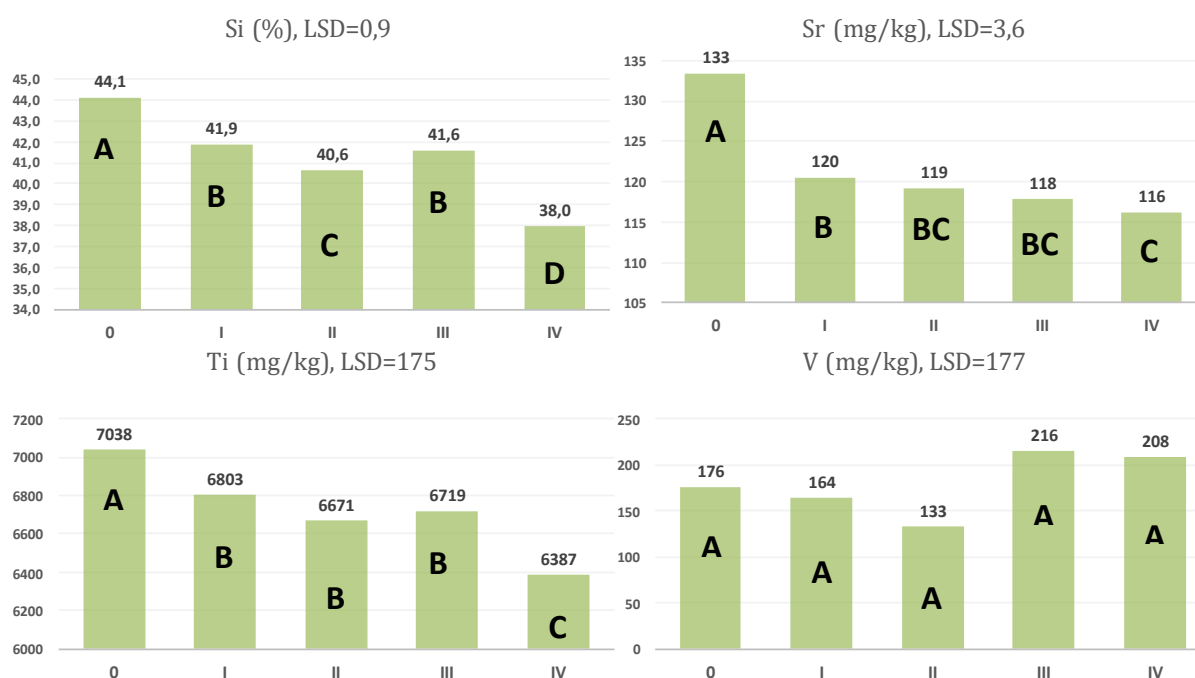
Sadržaj nikla u tlu na početku eksperimenta (0) iznosio je 44,7 mg/kg što je statistički značajno niže u odnosu na njegov sadržaj u tlu 2021. godine (Slika 5.2.4). U 2021. godini utvrđena je statistički značajna razlika u sadržaju nikla između III (64,4 mg/kg) i IV (59,2 mg/kg) tretmana. Sadržaj fosfora 2018. godine bio je značajno niži u odnosu na II, III i IV tretman te je iznosio 150 mg/kg. U 2021. godini sadržaj fosfora kretao se između 175 mg/kg (I) i 234 mg/kg (IV) te je utvrđeno da je sadržaj fosfora u tretmanu IV bio značajno viši u odnosu tretman I i II. Tlo je u početku eksperimenta (0) sadržavalo 26 mg/kg olova što je statistički značajno niže u odnosu na 2021. godinu kada se sadržaj olova kretao između 737 mg/kg (I) i 1032 mg/kg (III). Utvrđeno je da nema statistički značajnih razlika između tretmana za olovo 2021. godine. Sadržaj rubidija u tlu 2018. godine (0) iznosio je 82 mg/kg i bio je statistički značajno niži u odnosu na 2021. godinu, dok je u 2021. godini najniži sadržaj rubidija iznosio 91 mg/kg za tretman IV koji se značajno razlikovao u odnosu na ostale tretmane (I, II, III).



* 0 – početno stanje tla (2018), I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

Slika 5.2.4. Rezultati statističke analize sadržaja Ni, P, Pb i Rb u tlu

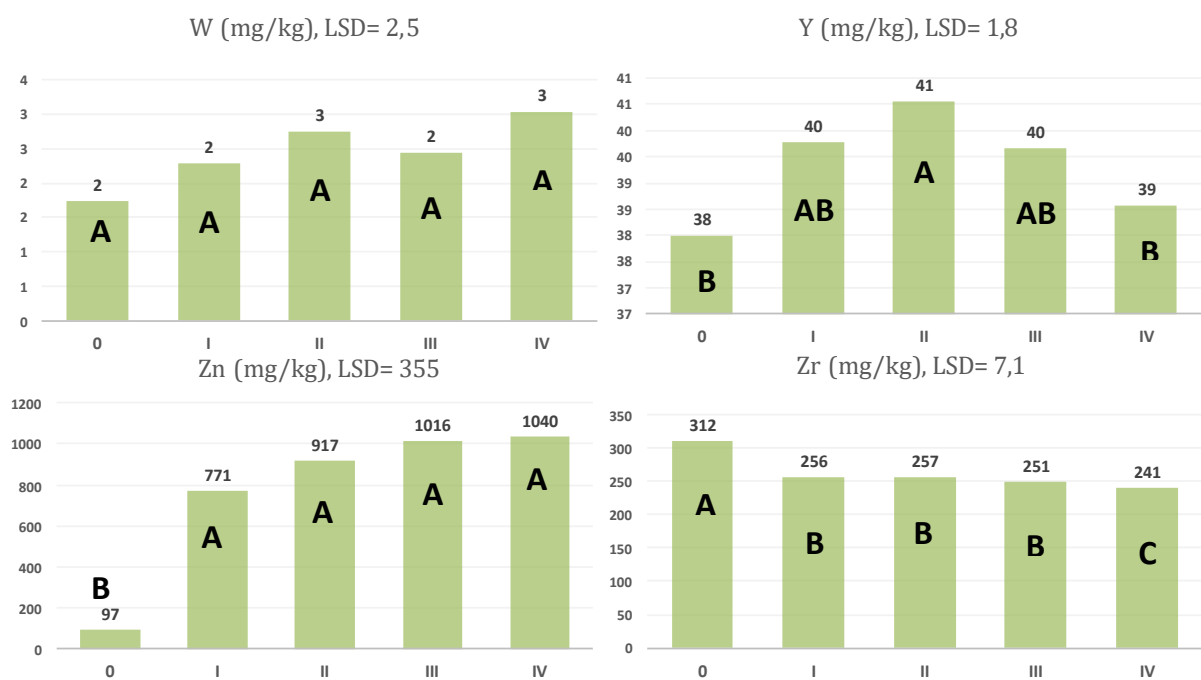
Najviši sadržaj silicija zabilježen je za 2018. godinu (0), iznosi 44,1 % i statistički se značajno razlikuje u odnosu na sadržaj silicija u tretmanima 2021. godine (Slika 5.2.5). U 2021. godini najniži sadržaj silicija iznosio je 38,0 % (IV), a najviši 41,9 % (I). Utvrđene su statistički značajne razlike između tretmana II i ostalih tretmana te između tretmana IV i ostalih tretmana. Sadržaj stroncija je u tlu također bio najviši 2018. godine (0) kada je iznosio 133 mg/kg i statistički se značajno razlikuje u odnosu na sve tretmane 2021. godine. Najviši sadržaj stroncija u 2021. godini imao je tretman I (120 mg/kg), a najniži tretman IV (116 mg/kg) te je između navedenih tretmana utvrđena statistički značajna razlika. Tlo je u početku eksperimenta (0) sadržavalo 7038 mg/kg titanija što je statistički značajno više u odnosu na 2021. godinu kada se sadržaj titanija kretao između 6387 mg/kg (IV) i 6803 mg/kg (I). Utvrđeno je da u 2021. godini tretman IV ima statistički značajno niži sadržaj titanija u odnosu na ostale tretmane. Sadržaj vanadija 2018. godine iznosio je 176 mg/kg, a 2021. godine između 133 mg/kg (II) i 216 (III) te je utvrđeno da nema statistički značajnih razlika u sadržaju vanadija u tlu.



* 0 – početno stanje tla (2018), I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

Slika 5.2.5. Rezultati statističke analize sadržaja Si, Sr, Ti i V u tlu

U tlu nisu utvrđene statistički značajne razlike u sadržaju volframa (Slika 5.2.6). Tlo je u početku eksperimenta (0) sadržavalo 2 mg/kg volframa, a u 2021. sadržaj se kretao između 2 mg/kg (I) i 3 mg/kg (IV). Sadržaj itrija u tlu je 2018. godine (0) iznosio 38 mg/kg što je značajno niže od tretmana I, II i III. 2021. godine najniži sadržaj itrija iznosio je 39 mg/kg za tretman IV, a najviši sadržaj itrija iznosio je 41 mg/kg za tretman II te je između navedenih tretmana utvrđena statistički značajna razlika. Sadržaj cinka bio je najniži u 2018. godini s 97 mg/kg što je statistički značajno niže u odnosu na 2021. godinu, kada se sadržaj cinka kretao između 771 mg/kg (I) i 1040 mg/kg (IV). Statistički značajno viši sadržaj cirkonija zabilježen je u početku eksperimenta (0), a iznosio je 312 mg/kg. U 2021. godini najniži sadržaj cirkonija iznosio je 241 mg/kg (IV), a najviši 257 mg/kg (II) te je utvrđeno da se tretman IV statistički značajno razlikuje od ostalih tretmana.



* 0 – početno stanje tla (2018), I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

Slika 5.2.6. Rezultati statističke analize sadržaja W, Y, Zn i Zr u tlu

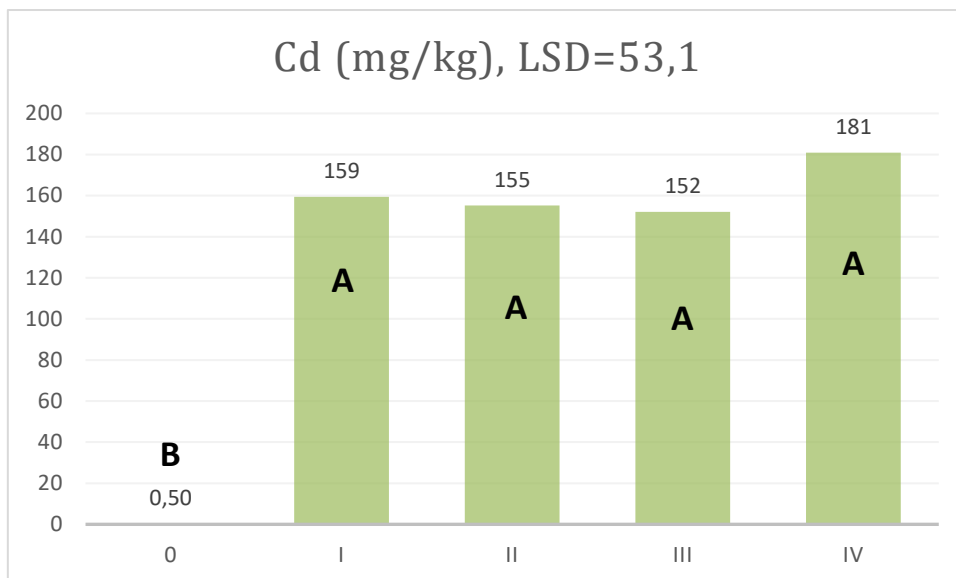
Sadržaj dušika u tlu 2018. godine (0) iznosio je 0,230 %, a u 2021. godini kretao se između 0,197 % (I) i 0,234 % (IV) (Slika 5.2.7). Sadržaj dušika u tretmanu I statistički je značajno niži u odnosu na početno stanje tla (0) i tretman IV, a sadržaj dušika u tretmanu IV značajno je viši od tretmana II. Tlo je u početku eksperimenta (0) sadržavalo 2,5 % ugljika, što je značajno niže od sadržaja ugljika u tretmanu IV. U 2021. godini sadržaj ugljika kretao se između 2,5 % (II) i 5,7 % (IV) pri čemu je utvrđeno da se tretman IV statistički značajno razlikuje od ostalih tretmana. Sadržaj sumpora u početku eksperimenta (0) iznosio je 0,049 % što je značajno niže od sadržaja sumpora u tretmanima 2021. godine, koji se kretao između 0,062 % (II) i 0,071 % (IV). Također, utvrđen je značajno viši sadržaj sumpora u tretmanu IV u odnosu na ostale tretmane. Sadržaj vodika u početku eksperimenta (0) iznosio je 0,23 % što je značajno niže u odnosu na sadržaj vodika u tretmanima 2021. godine. U 2021. godini sadržaj vodika bio je između 1,13 % (I) i 1,45 % (IV). Tretman IV imao je statistički značajno viši sadržaj vodika u odnosu na ostale tretmane.



* 0 – početno stanje tla (2018), I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

Slika 5.2.7. Rezultati statističke analize sadržaja N, C, S i H u tlu

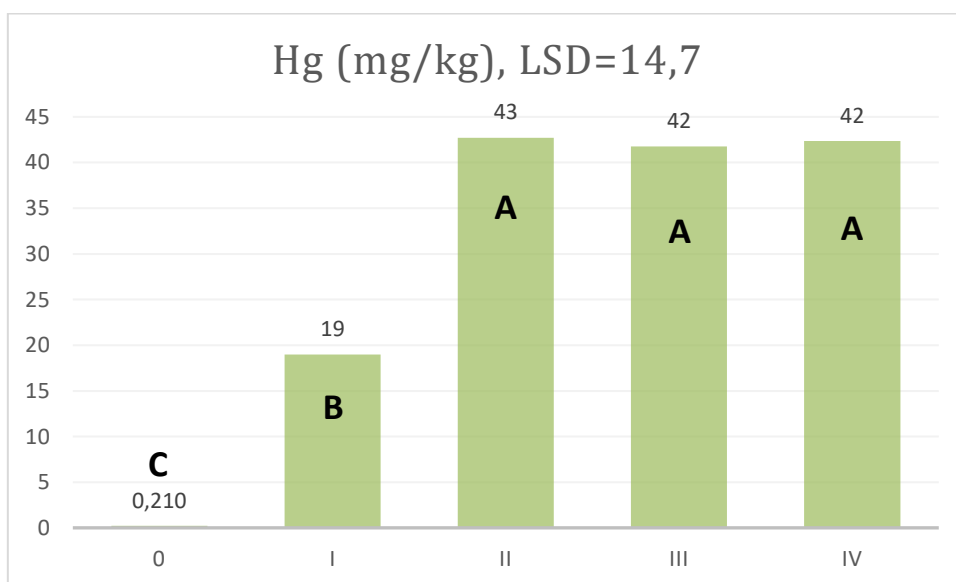
Kao što je prikazano u Grafikonu 5.2.1., tlo je u početku eksperimenta (0) sadržavalo 0,50 mg/kg kadmija što je statistički značajno niže u odnosu na sadržaj kadmija u tlu 2021. godine. U 2021. godini sadržaj kadmija u tlu kretao se između 152 mg/kg za tretman III i 181 mg/kg za tretman IV te je utvrđeno da ne postoji značajna razlika u sadržaju kadmija između tretmana.



* 0 – početno stanje tla (2018), I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

Grafikon 5.2.1. Rezultati statističke analize sadržaja Cd u tlu

Kao i kod kadmija, sadržaj žive u tlu bio je najniži u početku eksperimenta (0), odnosno u čistom tlu bez dodatka teških metala (Grafikon 5.2.2). Tada je sadržaj žive u tlu iznosio 0,210 mg/kg što je statistički značajno niže od sadržaja žive u različitim tretmanima 2021. godine. Sadržaj se između tretmana kretao od 19 mg/kg (I) do 43 mg/kg (II) te je utvrđena statistički značajna razlika između kontrole i tretmana s dodatkom različitih poboljšivača.



* 0 – početno stanje tla (2018), I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

Grafikon 5.2.2. Rezultati statističke analize sadržaja Hg u tlu

U Tablici 5.2.1. prikazani su rezultati točnosti mjerenja za Cd i Hg u uzorcima tla za ICP-MS metodu. Apsolutna pogreška mjerenja za Cd u tlu iznosila je 0,09 %, a preciznost (RSD) 16,5 %. Za Hg je apsolutna pogreška mjerenja iznosila 2,88 %, a preciznost 7,09 %.

Tablica 5.2.1. Rezultati točnosti mjerenja za Cd i Hg u uzorcima tla (ICP-MS metoda)

Referentni materijal	Parametar	Prava referentna vrijednost (X_{ref})	Izmjerene vrijednosti (X_m)	Apsolutna pogreška mjerenja (%)
ISE 989	Cd (mg/kg)	8,08	8,07	0,09
	Hg (ug/kg)	3813	3703	2,88

*Apsolutna pogreška mjerenja = $\left| \left(\frac{X_m - X_{ref}}{X_{ref}} \right) * 100 \right|$

5.3. Nadzemna biomasa

U Tablici 5.3.1. prikazane su srednje vrijednosti analize nadzemne biomase.

Tablica 5.3.1. Analiza nadzemne biomase

Redni broj	Tretman	Srednja vrijednost Prinos ST	RSD	Jedinica
1.	I	30	6	g
	II	33	10	
	III	33	9	
	IV	30	16	
Visina biljke				
2.	I	90	4	cm
	II	92	11	
	III	100	15	
	IV	86	26	
Broj izboja				
3.	I	11	35	/
	II	12	5	
	III	10	15	
	IV	14	31	
Udio vlage				
4.	I	19	10	%
	II	17	5	
	III	18	6	
	IV	15	17	
N				
5.	I	0,284	30	%
	II	0,251	6	
	III	0,225	17	
	IV	0,256	19	
C				
6.	I	47,92	1	%
	II	48,52	0	
	III	47,98	1	
	IV	45,95	2	
S				
7.	I	0,241	46	%
	II	0,166	6	
	III	0,15	3	
	IV	0,157	5	

H				
8.	I	8,09	2	%
	II	8,33	1	
	III	8,19	1	
	IV	7,99	1	
Cd				
9.	I	7,12	34	mg/kg
	II	5,98	7	
	III	6,31	11	
	IV	6,43	23	
Hg				
10.	I	96,52	74	µg/kg
	II	41,78	5	
	III	95,03	23	
	IV	101,79	54	

*RSD – relativna standardna devijacija, izračunata prema: $RSD = 100 * \frac{Stdev}{\bar{x}}$

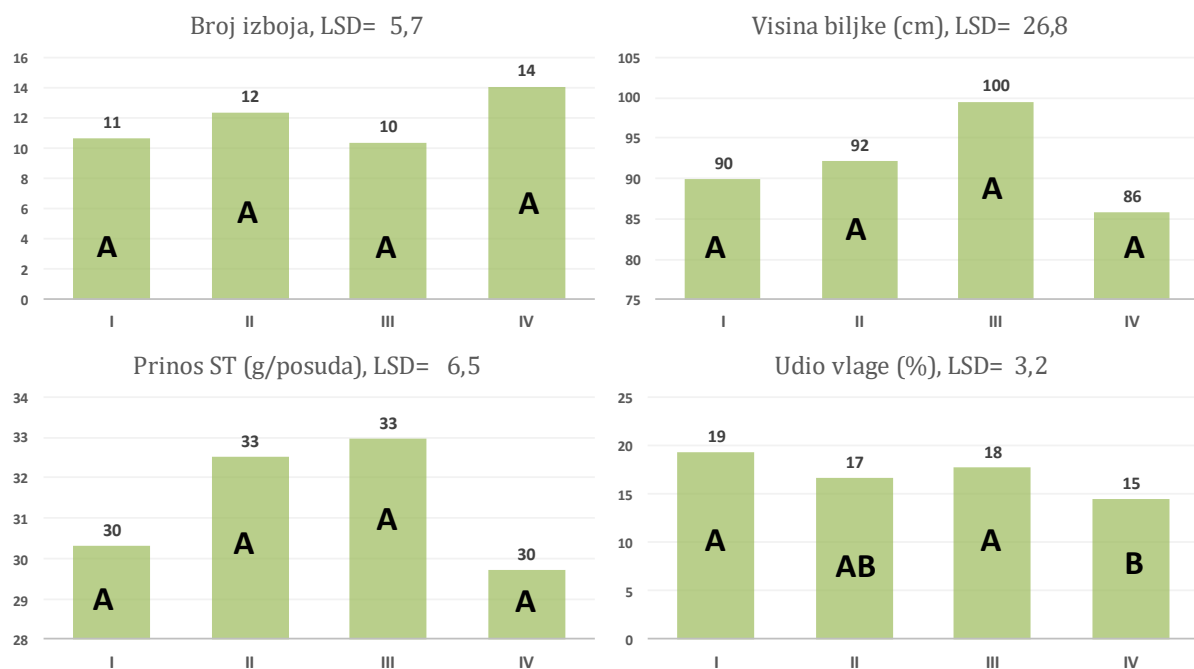
Tablica 5.3.2. Prinos izračunat u suhoj tvari (ST) izražen u g, kg/m², kg/ha i t/ha

Prinos (ST)					
Tretman	g	± RSD	kg/m ²	kg/ha	t/ha
I	30,30	6	0,51	5050,00	5,1
II	32,51	10	0,54	5418,33	5,4
III	32,98	9	0,55	5496,11	5,5
IV	29,72	16	0,50	4952,78	5,0

*RSD – relativna standardna devijacija, izračunata prema: $RSD = 100 * \frac{Stdev}{\bar{x}}$

Prinos suhe tvari kretao se od 30 g (IV) do 33 g (III), što odgovara vrijednosti od 5,0 t ST/ha do 5,5 t ST/ha u godini (Tablica 5.3.2). Ostvareni prinos sukladan je podacima o prinosu koji je ostvaren u prve dvije godine ovog eksperimenta – između 3,64 t ST/ha (III) i 5,27 t ST/ha (IV) u 2018. godini, odnosno između 4,91 t ST/ha (I) i 5,45 t ST/ha (IV) u 2019. godini (Šestak et al., 2022). Pokazalo se da je u trećoj godini eksperimenta najviši prinos bio u tretmanu s dodatkom mikorize, dok je u prve dvije godine najviši prinos ostvaren za tretman s dodatkom pepela MxG. Bilandžija et al. (2022) i Zgorelec et al. (2020) su u trogodišnjem istraživanju provedenom u eksperimentalnim posudama, utvrdili da se prinos miskantusa uzgojenog u tlu onečišćenom različitim koncentracijama Cd i Hg kretao između 6,3 i 15,5 t ST/ha, no ako se promatra samo treća godina istraživanja utvrđeni prinos kretao se između 9,1 t ST/ha i 6,3 t ST/ha. Ostvareni prinos je niži u odnosu na literaturne podatke za miskantus uzgajan u poljskim uvjetima, koji se kreću između 10 t ST/ha i 49 t ST/ha (Lewandowski et al., 2000), odnosno između 14,5 i 25,8 t ST/ha za Hrvatsku (Bilandžija et al., 2021; Bilandžija et al., 2018) i može se objasniti negativnim utjecajem Cd i Hg dodanih u tlo i korištenjem eksperimentalnih posuda koje su ograničavajući faktor za razvoj korijena. Između tretmana u 2021. godini nije utvrđena

značajna razlika u vrijednosti prinosa (Slika 5.3.1.) te se može utvrditi da dodatak različitih poboljšivača nije utjecao na povećanje prinosa. U Tablici 5.3.1. i na Slici 5.3.1. vidljivo je da se visina biljaka kretala između 86 cm (IV) i 100 cm (III) što je manje u odnosu na visine biljaka uzgajanih u poljskom eksperimentu na Medvednici (2,88 m), Donjoj Bistri (3,28 m) i Ličkom Polju (2,84 m) koje su u trećoj godini uzgoja utvrdili Leto et al. (2015). Kao i kod prinosa, negativan utjecaj na visinu može se objasniti dodatkom Cd i Hg te razlikama u rastu i razvoju biljaka uzgajanih u eksperimentalnim posudama u odnosu na biljke koje su rasle u poljskim uvjetima. Smanjena visina biljaka utvrđena ovom studijom sukladna rezultatima istraživanja Fernanda i Oliveire (2004) koji su utvrdili smanjeni rast i smanjenje broja izboja po biljci kod miskantusa uzgojenog u tlu onečišćenom različitim količinama Cd, dok značaj negativan utjecaj Hg nije zabilježen. Što se tiče razlika u visini biljaka između tretmana, utvrđeno je da nema značajnih razlika u odnosu na dodane poboljšivače, što je sukladno rezultatima trogodišnjeg istraživanja u eksperimentalnim posudama kojeg su proveli Bilandžija et al. (2022) i Zgorelec et al. (2020) na miskantusu uzgojenom u tlu onečišćenom s različitim dozama Cd i Hg, a jedan tretman uključivao je i dodatak mulja otpadnih voda. U njihovom istraživanju prosječna visina miskantusa kretala se od 103 cm do 172 cm te je utvrđena značajna razlika između godina uzgoja, dok značajnih razlika između tretmana nije bilo.



* I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

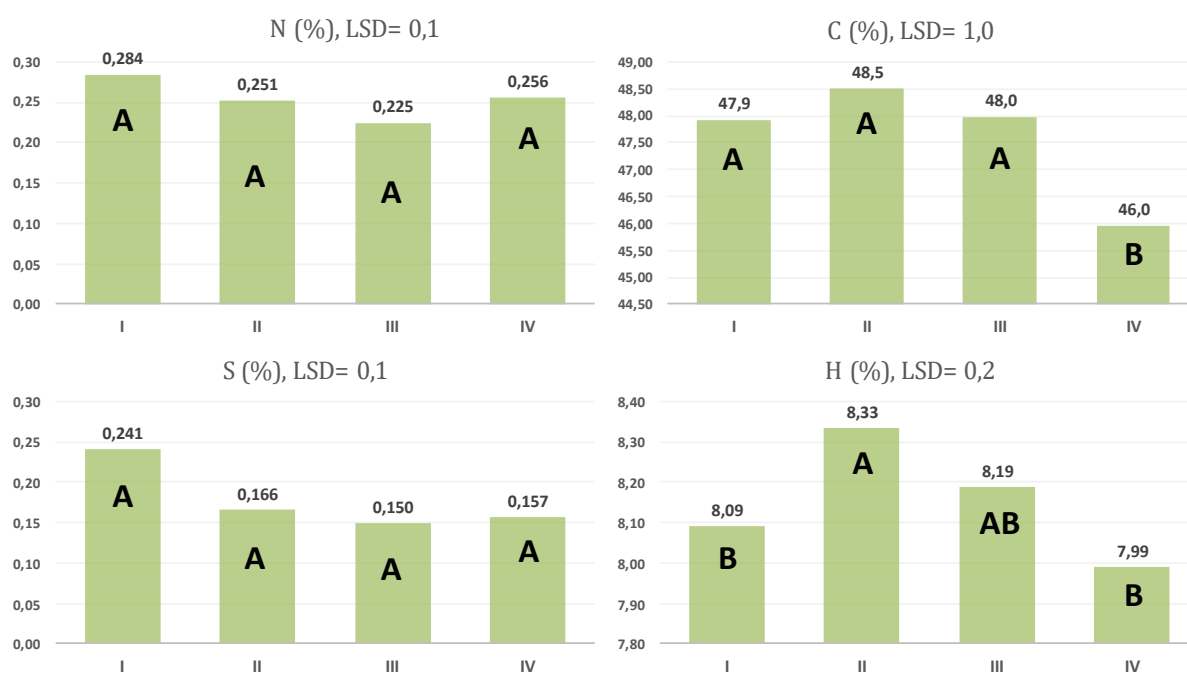
Slika 5.3.1. Rezultati statističke analize za broj izboja, visinu biljaka, prinos i udio vlage

U Tablici 5.3.1. i na Slici 5.3.1. vidljivo je da se broj izboja po biljci kretao od 10 (III) do 14 (IV) što je usporedivo broju izboja u istraživanju Bilandžije et al. (2022) i Zgorelec et al. (2020) koji se kretao od 6 do 11 (6 do 10 u trećoj godini istraživanja) te manje od broja izboja koje su u svom istraživanju na miskantusu uzgojenom hidroponski uz dodatak različitih doza Cd (0, 0,75, 1,5, 2,25, 3 mg/L) utvrdili Arduini et al. (2006). Dodatak poboljšivača nije značajno utjecao na

promjene u broju izboja. Sadržaj vlage kretao se od 15 % (IV) do 19 % (I) (Tablica 5.3.1. i Slika 5.3.1.) što je sukladno podacima za proljetnu žetvu Bilandžije et al. (2018) i Lewandowskog i Heinza (2003) koji su u poljskim uvjetima utvrdili sadržaj vlage u biomasi miskantusa od 19,13 % i 18 % te rezultatima trogodišnjeg istraživanja koje su proveli Bilandžija et al. (2022) na miskantusu uzgojenom u eksperimentalnim posudama u tlu onečišćenom s Cd i Hg, u kojem se sadržaj vlage kretao od 10,30 % do 27,84 %. Sadržaj vlage utvrđen u ovom istraživanju smatra se poželjnim pri uzgoju miskantusa za proizvodnju energije – kada je udio vlage niži od 20 % pri skladištenju nije potrebno naknadno sušenje (Lewandowski i Heinz, 2003), čime se povećava isplativost proizvodnje (Bilandžija et al., 2018). Utvrđeno je da biomasa miskantusa uzgojenog u tlu s dodatkom pepela MxG sadrži značajno manje vlage u odnosu na kontrolu i miskantus uzgojen u tlu s dodatkom mikorize.

Prema podacima prikazanim u Tablici 5.3.1. i na Slici 5.3.2. vidljivo je da u nadzemnom dijelu biljke nema značajne razlike u sadržaju dušika između tretmana. Sadržaj dušika kretao se između 0,225 % (III) i 0,284 % (I), što je u skladu s prosječnim vrijednostima od 0,29 % i 0,303 % za kasniju žetvu miskantusa uzgojenog na ne kontaminiranom tlu prema Bilandžiji et al. (2018) i Mos et al. (2013). Utvrđeni sadržaj dušika niži je od prosječnog sadržaja dušika u 3. godini istraživanja Bilandžije et al. (2022) koji su u miskantusu uzgojenom u tlu kontaminiranom različitim koncentracijama Cd i Hg, u tretmanu s nižom koncentracijom Cd i Hg (10 i 2 mg/kg tla) uz dodatak mulja (10 g/EP) otpadnih voda utvrdili 0,426 % N, a u tretmanu kontaminiranom istom količinom Cd i Hg kao u ovom istraživanju 0,416 % N. Općenito, niži sadržaj dušika podiže kvalitetu biomase u smislu njezine upotrebe za izgaranje, odnosno u proizvodnji energije (Bilandžija et al., 2018), a mogao bi biti posljedica kasnije žetve (ožujak), translokacije hraniva u podzemnu biomasu (rizome) i gubitka listova tijekom zime, koji u odnosu na stabljiku sadrže veće koncentracije dušika (Lewandowski i Heinz, 2003). Statistički značajno niži sadržaj ugljika u odnosu na ostale tretmane zabilježen je za tretman IV, a iznosio je 46,0 %. Najviši sadržaj ugljika imao je tretman II, 48,5 % (Tablica 5.3.1. i Slika 5.3.2). Dobiveni rezultati usporedivi su s rezultatima istraživanja u kojima je prosječni udio ugljika za proljetnu žetvu miskantusa iznosio 47,50 % (Mos et al., 2013), 49,496 % (Bilandžija et al., 2018) i 46,75 – 48,81 % (Meehan et al., 2013), kao i s rezultatima istraživanja u kojima se proučavao uzgoj miskantusa na kontaminiranim tlima: 46,60 % (Uchman et al., 2017), 44,60 – 45,20 % i 45,50 – 46,90 % (Werle et al., 2019). U trogodišnjem istraživanju Bilandžije et al. (2022) udio ugljika kretao se od 46,34 % do 49,91 %, pri čemu je najviši sadržaj ugljika utvrđen u trećoj godini za tretman bez dodanih poboljšivača kontaminiran istom količinom Cd i Hg kao u ovom istraživanju, dok je u tretmanu s nižom koncentracijom Cd i Hg (10 i 2 mg/kg tla) uz dodatak mulja otpadnih voda (10 g/EP) sadržaj ugljika u trećoj godini istraživanja iznosio 49,299 %. Sadržaj sumpora u nadzemnoj biomasi kretao se između 0,150 % (III) i 0,241 % (I) (Tablica 5.3.1 i Slika 5.3.2.) te je utvrđeno da nema značajnih razlika između tretmana. Dobiveni rezultati sukladni su rezultatima od 0,2 % i 0,14 – 0,16 % koje su u svojim istraživanjima naveli Jeguirim et al. (2010) i Meehan et al. (2013) te rezultatima istraživanja provedenih na kontaminiranom tlu, u kojima je udio sumpora iznosio 0,1 % (Osman et al., 2018) i 0,304 % (Bilandžija et al.,

2022). Najniži sadržaj vodika iznosio je 7,99 % (IV), a najviši 8,33 % (II) (Tablica 5.3.1. i Slika 5.3.2). Utvrđeno je da tretman II sadrži značajno viši udio vodika u odnosu na tretmane I i IV. Jeguirim et al. (2010) utvrdili su udio vodika 5,70 %, Meehan et al. (2013) 5,76 – 5,95 %, a Osman et al. (2018) 5,83 %. Što se tiče uzgoja na kontaminiranim tlima, Bilandžija et al. (2022) utvrdili su udio vodika između 5,02 i 6,68 %, a Uchman et al. (2017) 7,16 %. Sadržaj vodika utvrđen u nadzemnoj biomasi miskantusa u ovom istraživanju viši je u odnosu na rezultate drugih istraživanja. Iz rezultata je vidljivo da je dodatak otpadnog mulja iz bioplinskog postrojenja u tlo utjecao na povećani sadržaj vodika u nadzemnoj biomasi miskantusa u odnosu na kontrolu i tretman s dodatkom pepela.



* I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

Slika 5.3.2. Rezultati statističke analize sadržaja N, C, S i H u nadzemnoj biomasi

Koncentracija Cd, prikazana u Tablici 5.3.3. i Grafikonu 5.3.1., u nadzemnom dijelu biljke se kretala od 5,98 mg/kg (II) do 7,12 mg/kg (I) što je usporedivo s rezultatima Bilandžije et al. (2022) i Zgorelec et al. (2020) koji su u trogodišnjoj studiji utvrdili kretanje koncentracije Cd od 0,045 mg/kg do 6,758 mg/kg, no ako se gledaju koncentracije u trećoj godini studije (0,121 mg/kg do 3,277 mg/kg) vidljivo je da su koncentracije kadmija ustanovljene u ovoj studiji više. Utvrđeni sadržaj kadmija prelazi granicu za sigurno spaljivanje biomase miskantusa kao čvrstog biogoriva koja prema HRN ISO 17225-1:2014 za Cd iznosi 1,0 mg/kg te se proizvedena biomasa može klasificirati kao opasan materijal čija uporaba u proizvodnji biogoriva zahtijeva korištenje suvremenih postrojenja koja sprječavaju ponovnu emisiju Cd. Odnosenje Cd kretalo se od 31,05 g/ha (IV) do 35,87 g/ha (I) što je sukladno s rezultatima istraživanja Barbu et al. (2009) koji su utvrdili da miskantus kadmij može akumulirati u količini od 35 do 55 g/ha te da je pogodan za uzgoj na siromašnim, kiselim tlima onečišćenim teškim metalima poput Pb i Cd. Barbu et al. (2009) su utvrdili da miskantus nije pogodan za fitoekstrakciju zbog niske

akumulacije teških metala što je sukladno izračunatom koeficijentu obogaćivanja (Tablica 5.3.3.) koji se u ovoj studiji kretao između 0,060 (II) i 0,071 (I), što prema Zgorelec (2009) ukazuje na slabu akumulaciju kadmija nadzemnom biomasom.

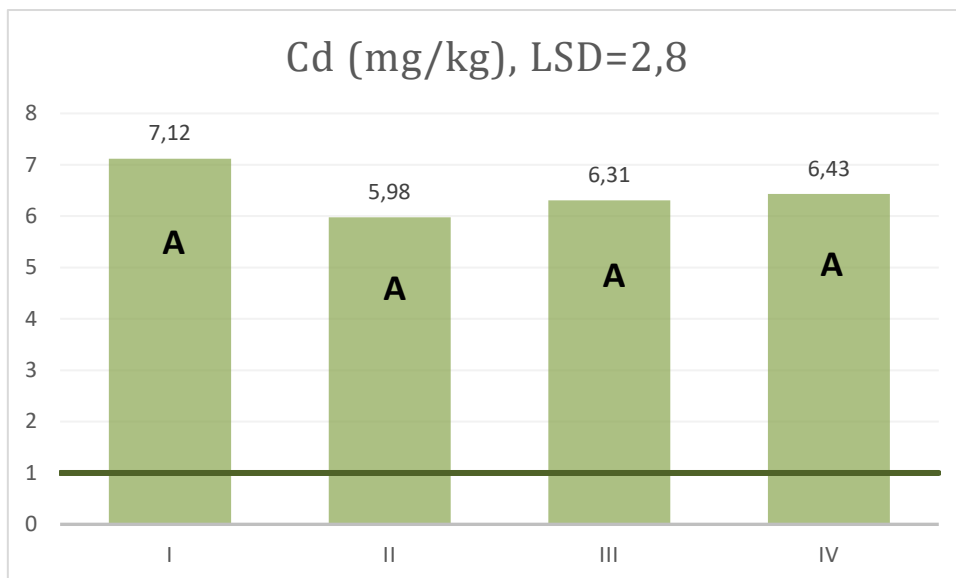
Koncentracija Hg se u nadzemnoj biomasi kretala između 41,78 µg/kg (II) i 101,79 µg/kg (IV) (Tablica 5.3.3 i Grafikon 5.3.2). Utvrđena koncentracija žive je viša u odnosu na rezultate Bilandžije et al. (2022) i Zgorelec et al. (2020) koji su utvrdili da se koncentracija žive kretala od 8,7 µg/kg do 108,9 µg/kg, odnosno od 9,3 µg/kg do 24,1 µg/kg u trećoj godini studije. Sadržaj žive utvrđen u ovoj studiji za sve tretmane prelazi granicu za sigurno spaljivanje biomase miskantusa kao čvrstog biogoriva koja prema HRN ISO 17225-1:2014 za Hg iznosi 30 µg/kg. Odnosenje žive kretalo se od 0,23 g/ha (II) do 0,53 g/ha (IV) što je u skladu s rezultatima Bilandžije et al. (2022) i Zgorelec et al. (2020) u čijoj trogodišnjoj studiji se odnošenje žive nadzemnom biomasom miskantusa kretalo do 0,79 g/ha godišnje. Koeficijent obogaćivanja za živu u ovoj studiji kretao se od 0,002 (II) i 0,005 (IV) (Tablica 5.3.3.), što znači da miskantus ne akumulira živu u nadzemnoj biomasi (Zgorelec, 2009). Dobiveni rezultati u suprotnosti su sa Zhao et al., (2019) koji su utvrdili da se za *M. sinensis* koeficijent obogaćivanja za Hg kretao između 0,365 i 225, pri čemu se koeficijent smanjivao povećanjem koncentracije žive u tlu.

Tablica 5.3.3. Koncentracije u nadzemnoj biomasi i odnošenje Cd i Hg nadzemnom biomasom miskantusa, izraženo u µg/kg, µg/m², mg/ha, g/ha i EC

Cd	mg/kg	± RSD	µg/m ²	mg/ha	g/ha	EC (Cd)
I	7,12	34	3586,83	35868,27	35,87	0,071
II	5,98	7	3234,96	32349,56	32,35	0,060
III	6,31	11	3473,23	34732,35	34,73	0,063
IV	6,43	23	3105,48	31054,79	31,05	0,064
Hg	µg/kg	± RSD	µg/m ²	mg/ha	g/ha	EC (Hg)
I	96,52	74	49,96	499,58	0,50	0,005
II	41,78	5	22,72	227,15	0,23	0,002
III	95,03	23	52,90	528,97	0,53	0,005
IV	101,79	54	48,47	484,73	0,48	0,005

*RSD – relativna standardna devijacija, izračunata prema: $RSD = 100 * \frac{Stdev}{\bar{x}}$

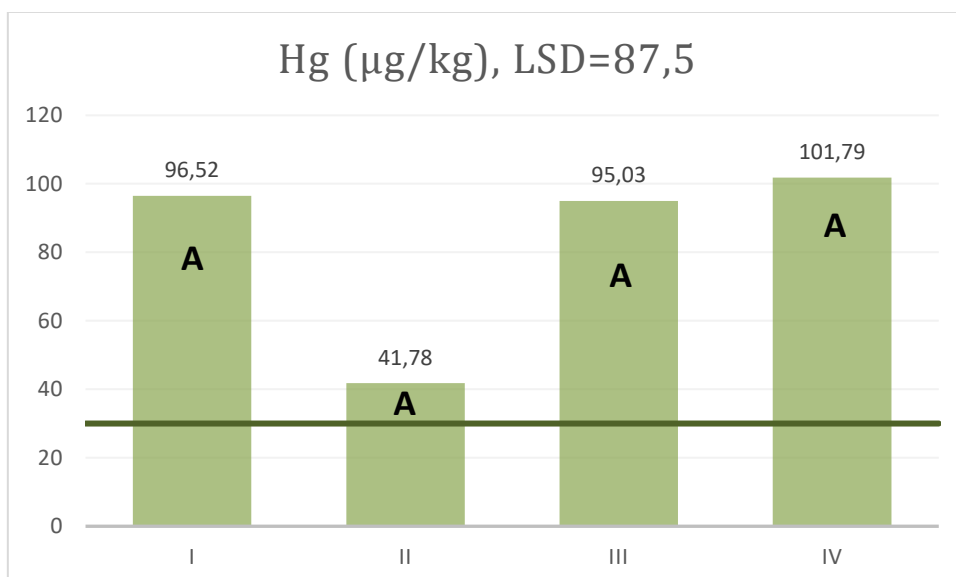
**EC – koeficijent obogaćivanja, izračunat prema $EC = C_{suha\ biljka} / C_{suho\ tlo}$



* I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

Grafikon 5.3.1. Sadržaj Cd u nadzemnoj biomasi s označenom dozvoljenom granicom za spaljivanje miskantusa u proizvodnji biogoriva (1,0 mg/kg prema HRN ISO 17225-1:2014)

U Tablici 5.3.3. prikazan je sadržaj kadmija u nadzemnoj biomasi, a u Grafikonu 5.3.1. dodatno je naznačena granica za sadržaj kadmija u miskantusu čija biomasa se koristi kao čvrsto biogorivo. Sadržaj kadmija bio je najniži u tretmanu s dodatkom otpadnog mulja iz bioplinskog postrojenja (II), te je iznosio 5,98 mg/kg. Najviši sadržaj kadmija, 7,12 mg/kg, bio je u čistom tlu bez dodatka poboljšivača. Utvrđeno je da dodatak različitih poboljšivača nije značajno utjecao na akumulaciju kadmija u biljkama (Grafikon 5.3.1).



* I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

Grafikon 5.3.2. Sadržaj Hg u nadzemnoj biomasi s označenom dozvoljenom granicom za spaljivanje miskantusa u proizvodnji biogoriva (30 µg/kg prema HRN ISO 17225-1:2014)

U Grafikonu 5.3.2. naznačena je granica za sadržaj žive u nadzemnoj biomasi miskantusa namijenjenoj za proizvodnju čvrstog biogoriva. Najniži sadržaj žive u nadzemnoj biomasi imao je miskantus uzgajan u tlu s dodatkom otpadnog mulja iz bioplinskog postrojenja (41,78 µg/kg) a najviši miskantus uzgajan u tlu s dodatkom pepela MxG (101,79 µg/kg) (Tablica 5.3.1). Kao i kod kadmija, dodatak različitih poboljšivača nije značajno utjecao na akumulaciju žive u biljkama.

Tablica 5.3.4. Rezultati točnosti mjerenja za Cd i Hg u uzorcima nadzemne biomase

Referentni materijal	Parametar	Referentna vrijednost (X_{ref})	Izmjerene vrijednosti (X_m)	Apsolutna pogreška mjerenja (%)
IPE 225	Cd (µg/kg)	72,1		< LOD
	Hg (µg/kg)	35	36	2,98

$$*Apsolutna\ pogreška\ mjerenja = \left| \left(\frac{X_m - X_{ref}}{X_{ref}} \right) * 100 \right|$$

Apsolutnu pogrešku mjerenja za Cd nije bilo moguće izračunati jer je sadržaj Cd u referentnom uzorku bio ispod granice detekcije uređaja. Preciznost (RSD) je za Cd bila između 1,5 % i 4,7 %. Za Hg je apsolutna pogreška mjerenja iznosila 2,98 %, a preciznost 27 % (Tablica 5.3.4).

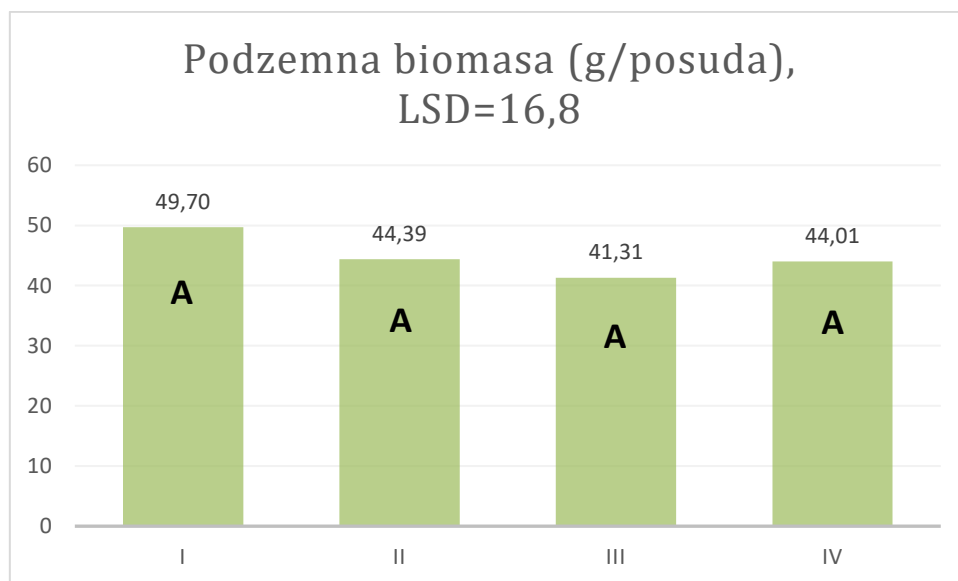
5.4. Podzemna biomasa (rizomi)

Kao što je vidljivo u Tablici 5.4.1. i Grafikonu 5.4.1. podzemna biomasa kretala se od 41,31 g za tlo s dodatkom mikorize (III) do 49,70 g za tlo bez dodatka poboljšivača (I), odnosno od 6 884 kg/ha (III) do 8 283 kg/ha. Utvrđeno je da nema statistički značajnih razlika u podzemnoj biomasi u odnosu na različite poboljšivače koji su dodani u tlo. U istraživanju Arduini et al. (2006) količina podzemne biomase kretala se od 27,9 g/biljci do 73,9 g/biljci, pri čemu je najmanja podzemna masa utvrđena kod biljaka izloženih najvišoj koncentraciji kadmija (3,00 mg/L).

Tablica 5.4.1. Količina podzemne biomase izražena u g, kg/m², kg/ha i t/ha

Količina podzemne biomase	g	± RSD	kg/m ²	kg/ha	t/ha
I	49,70	6	0,83	8283,33	8,3
II	44,39	36	0,74	7398,89	7,4
III	41,31	17	0,69	6884,44	6,9
IV	44,01	4	0,73	7335,00	7,3

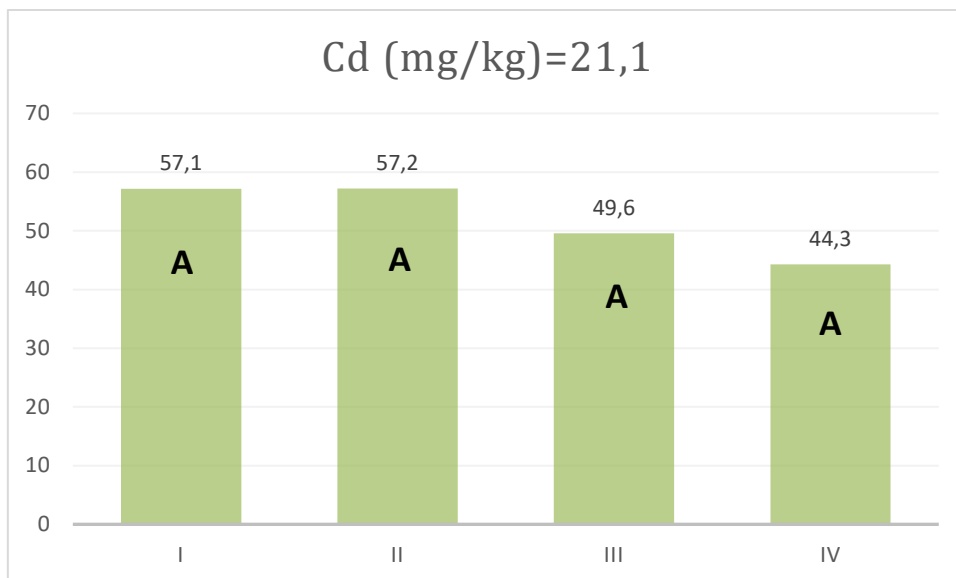
*RSD – relativna standardna devijacija, izračunata prema: $RSD = 100 * \frac{Stdev}{\bar{x}}$



* I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

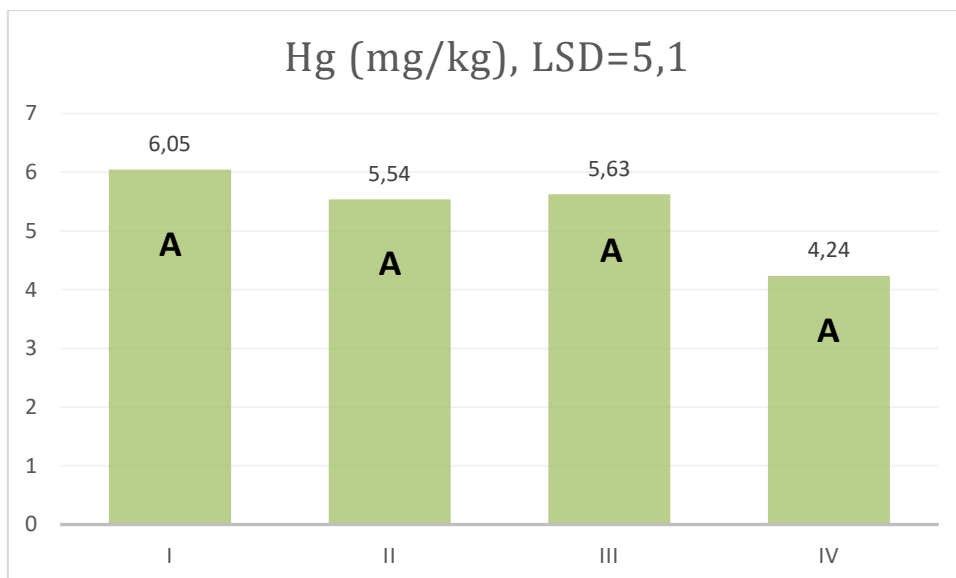
Grafikon 5.4.1. Rezultati statističke analize količine podzemne biomase

Sadržaj kadmija u podzemnoj biomasi miskantusa vidljiv je na Grafikonu 5.4.2. Najviši sadržaj kadmija u podzemnoj biomasi (57,2 mg/kg) utvrđen je za biljke miskantusa koje su rasle u tlu s dodatkom otpadnog mulja iz bioplinskog postrojenja, a najniži sadržaj u podzemnoj biomasi (44,3 mg/kg) imale su biljke koje su rasle u tlu s dodatkom pepela MxG. Dodatak poboljšivača nije značajno utjecao na akumulaciju kadmija u podzemnoj biomasi miskantusa.



* I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG
 Grafikon 5.4.2. Rezultati statističke analize sadržaja Cd u podzemnoj biomasi

Najniži sadržaj žive u podzemnoj biomasi imale su biljke koje su rasle na tlu s dodatkom pepela MxG, a najviši sadržaj biljke koje su rasle na tlu bez dodatka poboljšivača (Grafikon 5.4.3). Kao i kod kadmija, poboljšivači nisu značajno utjecali na razlike u akumulaciji žive u podzemnoj biomasi miskantusa.



* I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG
 Grafikon 5.4.3. Rezultati statističke analize sadržaja Hg u podzemnoj biomasi

Tablica 5.4.2. Sadržaj Cd i Hg u podzemnoj biomasi miskantusa izraženo u mg/kg, $\mu\text{g}/\text{m}^2$, mg/ha, g/ha i EC

Cd	mg/kg	\pm RSD*	$\mu\text{g}/\text{m}^2$	mg/ha	g/ha	EC (Cd)**
I	57,13	16	47583,18	475831,83	475,83	0,57
II	57,23	31	45125,34	451253,44	451,25	0,57
III	49,55	13	34535,41	345354,11	345,35	0,50
IV	44,28	18	32340,58	323405,83	323,41	0,44
Hg	mg/kg	\pm RSD*	$\mu\text{g}/\text{m}^2$	mg/ha	g/ha	EC (Hg)**
I	6,05	56	5097,07	50970,70	50,97	0,30
II	5,54	69	4736,43	47364,30	47,36	0,28
III	5,63	23	3781,84	37818,38	37,82	0,28
IV	4,24	22	3118,98	31189,81	31,19	0,21

*RSD – relativna standardna devijacija, izračunata prema: $\text{RSD} = 100 * \frac{\text{Stdev}}{\bar{x}}$

**EC – koeficijent obogaćivanja, izračunat prema $\text{EC} = \frac{C_{\text{suha biljka}}}{C_{\text{suho tlo}}}$

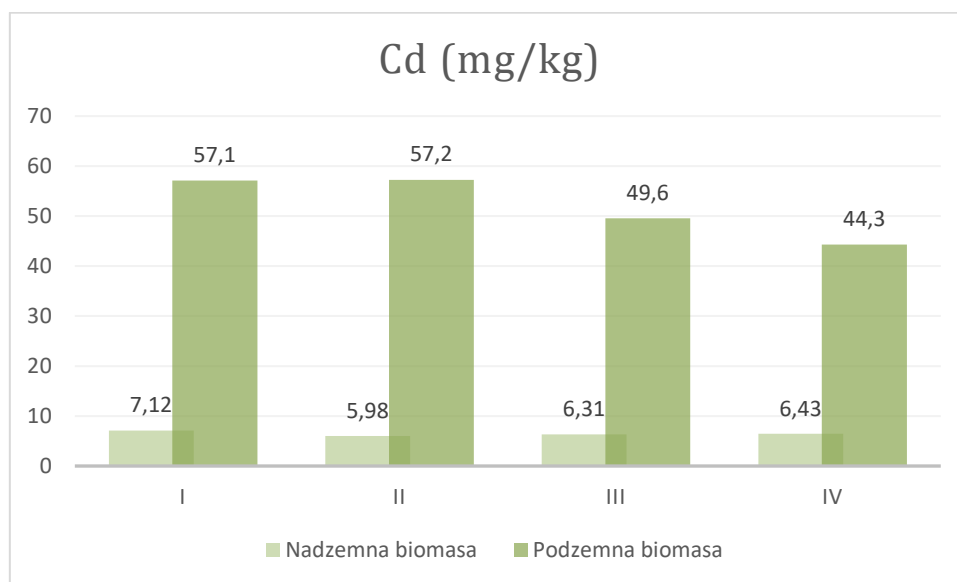
Kao što je vidljivo u Tablici 5.4.2. koncentracija Cd se u podzemnoj biomasi kretala između 44,28 mg/kg (IV) i 57,23 mg/kg (II), a koncentracija Hg u podzemnoj biomasi između 4,24 mg/kg (IV) i 6,05 mg/kg (I). Koeficijent obogaćivanja (EC) za Cd se kretao između 0,44 (IV) i 0,57 (II), a za Hg između 0,21 (IV) i 0,30 (I).

Prema izračunu koeficijenta obogaćivanja za podzemnu biomasu ($0,1 < \text{EC} < 1$), može se zaključiti da miskantus pripada kategoriji biljaka koje usvajaju umjerene količine teških metala kadmija i žive, odnosno biljkama čiji je EC između 0,1 i 1 (Zgorelec, 2009).

Analize rizoma odrađene su u Centralnom kemijsko-tehnološkom laboratoriju HEP-Proizvodnje d.o.o. Laboratorij je akreditiran od strane Hrvatske akreditacijske agencije (HAA) te sukladno tome radi provjeru točnosti i preciznosti prema propisanim standardima.

5.5. Usporedba sadržaja Cd i Hg u ispitivanim uzorcima

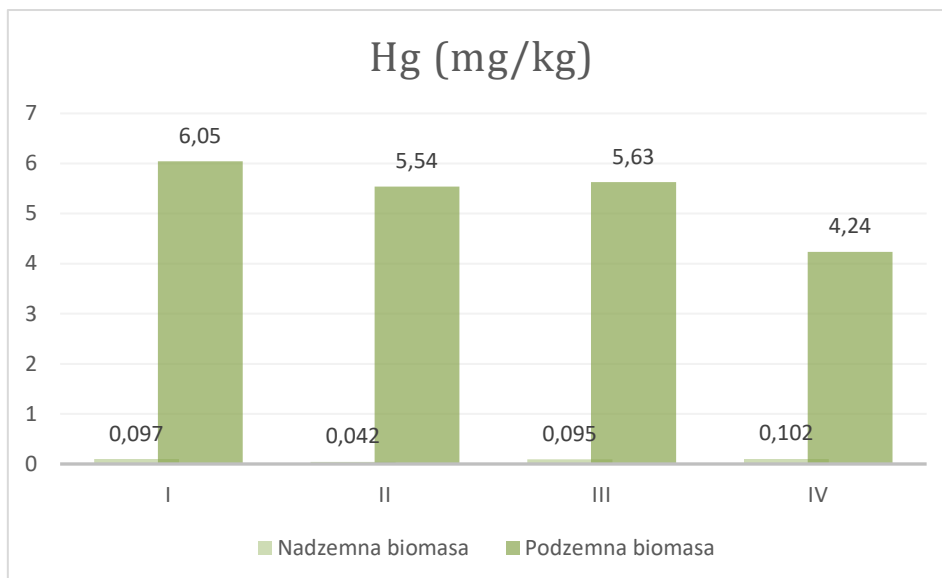
U Grafikonu 5.5.1. prikazana je usporedba koncentracije Cd u nadzemnoj i podzemnoj biomasi po tretmanima u 2021. godini. Vidljivo je da podzemna biomasa u tretmanu IV sadrži 7 puta veću koncentraciju Cd, a u tretmanima I i III 8 puta veću koncentraciju Cd u odnosu na nadzemnu biomasu. U tretmanu II koncentracija Cd u podzemnoj biomasi veća je gotovo 10 puta od one u nadzemnoj. Navedeno je sukladno istraživanju Dražića et al. (2017) koji su utvrdili značajno nižu koncentraciju As, Cd, Co, Cr i Cu u nadzemnoj biomasi miskantusa u odnosu na rizome te akumulaciju većih koncentracija Cd, Cr i Pb u podzemnoj biomasi u odnosu na tlo. Barbu et al. (2009) u svom su istraživanju utvrdili sadržaj kadmija u rizomima od 5,62 mg/kg, a u nadzemnoj biomasi oko 2,37 mg/kg (1,62 mg/kg u stabljici i 0,75 mg/kg u listu).



* I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

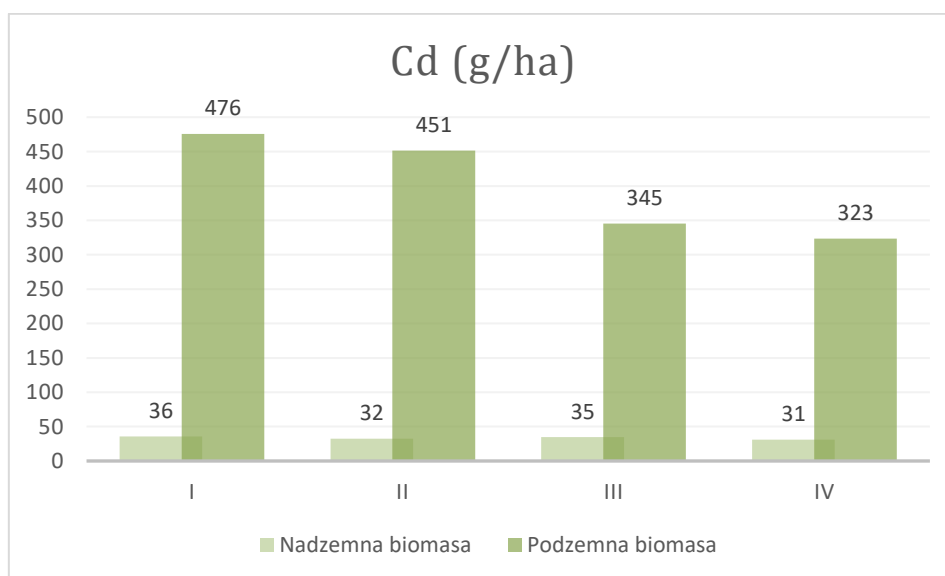
Grafikon 5.5.1. Usporedba koncentracije Cd u nadzemnoj i podzemnoj biomasi po tretmanima u 2021. godini

U Grafikonu 5.5.2. prikazana je usporedba koncentracije Hg u nadzemnoj i podzemnoj biomasi po tretmanima u 2021. godini. Sadržaj Hg u podzemnoj biomasi značajno je viši od sadržaja Hg u nadzemnoj biomasi, tako je u tretmanu I koncentracija Hg čak 62 puta viša u podzemnoj biomasi. U tretmanu II koncentracija Hg u podzemnoj biomasi viša je gotovo 132 puta, a u tretmanu III 59 puta. U tretmanu IV koncentracija Hg je gotovo 42 puta viša u odnosu na koncentraciju u nadzemnoj biomasi.



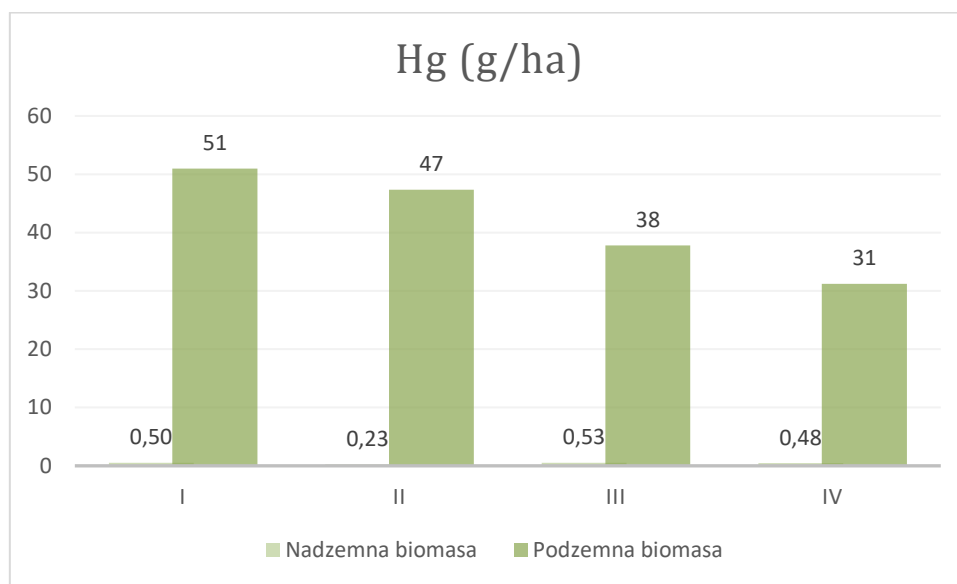
* I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG
 Grafikon 5.5.2. Usporedba koncentracije Hg u nadzemnoj i podzemnoj biomasi po tretmanima u 2021. godini

U Grafikonu 5.5.3. vidljivo je da podzemna biomasa sadrži znatno veće koncentracije kadmija, od 323 g/ha do 476 g/ha, u odnosu na količinu kadmija koja se godišnje odnosi nadzemnom biomasom, 31 g/ha – 35 g/ha. Također, može se primijetiti da je najveća količina Cd u podzemnoj i nadzemnoj biomasi biljaka uzgojenih u tlu bez dodatka poboljšivača, a najmanja količina kod biljaka uzgojenih u tlu s dodatkom pepela MxG. Prikazani rezultati slažu se s drugim autorima koji su utvrdili da je akumulacija kadmija viša u korijenu i rizomima u odnosu na nadzemni dio biljke (Barbu et al., 2009; Dražić et al., 2017). Arduini et al. (2004) navode da se sadržaj kadmija u miskantusu povećava redoslijedom korijen > rizomi > izboji > listovi.



* I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG
 Grafikon 5.5.3. Usporedba odnošenja Cd nadzemnom biomasom i sadržaja Cd u podzemnoj biomasi

Kao i kod kadmija, podzemna biomasa sadrži znatno veće količine žive u odnosu na količine koje se godišnje odnose nadzemnom biomasom (Grafikon 5.5.4). Podzemna biomasa biljaka uzgajanih u tlu s dodatkom pepela MxG sadrži najmanje količine žive (31 g/ha), a podzemna biomasa biljaka uzgajanih u tlu bez dodatka poboljšivača najveće količine žive (51 g/ha). Kod nadzemne biomase najmanje se žive odnosi biljkama uzgojenim u tlu s dodatkom otpadnog mulja iz bioplinskog postrojenja (0,23 g/ha), a najviše biljkama uzgojenim u tlu s dodatkom mikorize (0,53 g/ha).



* I – tlo bez poboljšivača, II – otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, III – mikoriza, IV – pepeo MxG

Grafikon 5.5.4. Usporedba odnošenja Hg nadzemnom biomasom i sadržaja Hg u podzemnoj biomasu

Translokacija teških metala iz podzemne u nadzemnu biomasu općenito se smatra limitirajućim faktorom za uspješnu fitoremedijaciju. Prema podacima u Tablici 5.5.1. faktor translokacije za Cd kretao se između 0,104 za biljke uzgojene u tlu s dodatkom otpadnog mulja iz bioplinskog postrojenja i 0,145 za biljke uzgojene u tlu s dodatkom pepela MxG. Dražić et al. (2017) utvrdili su nizak faktor translokacije za teške metale As, Cd (0,090 i 0,065), Cr, Cu, Mn, Ni, Pb i Zn kod miskantusa uzgojenog na glejsolu, pepelu iz termoelektrane i pokrivi ili navezenom sloju s otvorenog rudnika ugljena. Prema Arduini et al. (2004) postotak ukupnog kadmija akumuliranog u biljci koji se translocira u nadzemni dio nizak je kod većine biljnih vrsta (uglavnom niži od 20 %) te se dodatno smanjuje s povećanjem koncentracije kadmija u tlu, što odgovara podacima dobivenim u ovoj studiji.

Zhao et al. (2019) utvrdili su faktor translokacije od 0,998 do 2,14 za *Miscanthus sinensis* uzgojen u tlu s dodatkom različitih koncentracija žive (1,48 mg/kg, 11,5 mg/kg, 24,4 mg/kg, 62,1 mg/kg, 134 mg/kg, 183 mg/kg, 398 mg/kg, 493 mg/kg, 796 mg/kg). Za biljke uzgojene u tlu s dodatkom žive od 24,4 mg/kg koeficijent translokacije iznosio je 2,13 dok se u ovoj studiji za biljke koeficijent translokacije kretao od 0,008 do 0,024. Razlike u rezultatima mogu biti

objašnjene vrstom biljke, trajanjem studije, dodatkom Cd u visokoj količini, dodatkom poboljšivača i sličnome. U ovoj studiji faktor translokacije za Hg kretao se između 0,008 za biljke uzgojene u tlu s dodatkom otpadnog mulja iz bioplinskog postrojenja i 0,024 za biljke uzgojene u tlu s dodatkom pepela MxG.

Tablica 5.5.1. Faktor translokacije Cd i Hg

	Cd	Hg
I	0,125	0,016
II	0,104	0,008
III	0,127	0,017
IV	0,145	0,024

*TF – faktor translokacije, izračunat prema $C_{\text{nadzemna biomasa}}/C_{\text{podzemna biomasa}}$

6. Zaključci

U ovom istraživanju biljkama MxG koje su u vegetacijskoj sezoni 2020/2021. (3. godina istraživanja) rasle na tlu kontaminiranom s 20 mg Hg/kg tla i 100 mg Cd/kg tla s dodatkom različitih poboljšivača (kontrola, otpadni mulj iz bioplinskog postrojenja, mikoriza, pepeo MxG) izmjeren je prinos, visina, broj izboja i sadržaj vlage; udio N, C, S i H te koncentracije Cd i Hg u podzemnoj i nadzemnoj biomasi. U uzorcima tla na kraju istraživanja određeni su mikro, makro i elementi u tragovima; udio N, C, S i H te koncentracije Cd i Hg. Izračunat je koeficijent obogaćivanja i translokacijski faktor.

Tlo

Osnovna fizikalno-kemijska analiza tla: Tlo je praškasto – ilovaste teksture, blago kiselo (pH 6,23), dosta humozno (3,8 %), slabo opskrbljeno biljci pristupačnim oblicima fosfora (P_2O_5) i kalija (K_2O) i bogato opskrbljeno ukupnim dušikom (0,23 %).

Elementarna analiza tla: Udio ugljika kreće se između 2,5 – 5,7 %, udio dušika 0,197 – 0,234 %, udio sumpora 0,062 – 0,071 %, udio vodika 1,13 – 1,45 %, udio aluminija 11,13 – 12,40 %, udio kalcija 1,38 – 1,67 %, udio željeza 4,55 – 4,77 %, udio kalija 1,39 – 1,47 %, silicija 38,0 – 41,9 %, arsen 6 – 11 mg/kg, barij 1381 -1701 mg/kg, kobalt 11,9 – 13,4 mg/kg, krom 131 – 151 mg/kg, bakar 33 – 40 mg/kg, mangan 1171 – 1244 mg/kg, molibden 0,14 – 0,31 mg/kg, niobij 13 – 14 mg/kg, nikal 59,2 – 64,4 mg/kg, fosfor 175 – 234 mg/kg, olovo 737 – 1032 mg/kg, rubidij 91 – 96 mg/kg, stroncij 116 -120 mg/kg, titanij 6387 – 6803 mg/kg, vanadij 133 – 216 mg/kg, volfram 2 – 3 mg/kg, itrij 39 – 41 mg/kg, cink 771 – 1040 mg/kg, cirkonij 241 – 257 mg/kg. Kadmij se u tlu nalazi u koncentraciji od 152 do 181, a živa u koncentraciji od 19 do 43 mg/kg.

Biljni materijal

Nadzemna biomasa: Prinos se kretao između 5,0 – 5,5 t/ha, visina biljke 86 – 92 cm, broj izboja 10 – 14, udio vlage 15 – 19 %, udio dušika 0,225 – 0,284, udio ugljika 46,0 – 48,5 %, udio sumpora 0,150 – 0,241 %, udio vodika 7,99 – 8,33 %, sadržaj kadmija 5,98 – 7,12 mg/kg, sadržaj žive 41,78 – 107,79 μ g/kg. Utvrđeno je da dodatak različitih poboljšivača nije značajno utjecao na akumulaciju kadmija i žive u biljkama. Koeficijent obogaćivanja (EC) u nadzemnoj biomasi za Cd kretao se između 0,060 i 0,071, što ukazuje na slabu akumulaciju Cd nadzemnom biomasom; a za Hg između 0,002 i 0,005, što znači da miskantus ne akumulira živu u nadzemnoj biomasi.

Podzemna biomasa: Količina podzemne biomase kretala se od 41,31 – 49,70 g/EP, odnosno od 6,9 t/ha – 8,3 t/ha. Utvrđeno je da nema statistički značajnih razlika u količini podzemne biomase u odnosu na različite poboljšivače koji su dodani u tlo. Sadržaj kadmija kretao se između 44,3 – 57,2 mg/kg, a sadržaj žive između 4,24 – 6,05 mg/kg. Dodatak poboljšivača nije značajno utjecao na akumulaciju teških metala u podzemnoj biomasi miskantusa. Koeficijent obogaćivanja (EC) u podzemnoj biomasi za Cd se kretao između 0,44 i 0,57, a za Hg između 0,21 i 0,30 što miskantus svrstava u kategoriju biljaka koje usvajaju umjerene količine Cd i Hg.

Faktor translokacije (TF) za Cd kretao se između 0,104 (II) i 0,145 (IV). Faktor translokacije za Hg kretao se između 0,008 za biljke uzgojene u tlu s dodatkom otpadnog mulja iz bioplinskog postrojenja i 0,024 za biljke uzgojene u tlu s dodatkom pepela MxG. Podzemna biomasa sadrži znatno veće koncentracije kadmija (323,41 – 475,83 g/ha), u odnosu na količinu kadmija koja se odnosi nadzemnom biomasom (31,05 – 35,38 g/ha). Najveća količina Cd u podzemnoj i nadzemnoj biomasi utvrđena je kod biljaka uzgojenih u tlu bez dodatka poboljšivača, a najmanja količina kod biljaka uzgojenih u tlu s dodatkom pepela MxG. Podzemna biomasa sadrži znatno veće količine žive u odnosu na količine koje se godišnje odnose nadzemnom biomasom. Podzemna biomasa biljaka uzgajanih u tlu bez dodatka poboljšivača sadrži najveće količine žive (50,97 g/ha), a podzemna biomasa biljaka uzgajanih u tlu s dodatkom pepela MxG najmanje (31,19 g/ha).

Pokazalo se da različiti poboljšivači dodani u tlo nisu imali značajan utjecaj na fitoremedijaciju kadmija i žive iz tla pomoću miskantusa te je onečišćenje utjecalo na smanjenje prinosa, odnosno onečišćenje teškim metalima u visokim koncentracijama nadjačalo je djelovanje poboljšivača. Također, pokazalo se da pri onečišćenju teškim metalima u koncentraciji kao što je 100 mg Cd/kg i 20 mg Hg/kg miskantus nije najprikladniji izbor za fitoekstrakciju jer nadzemnom biomasom godišnje odnosi između 31,05 i 35,87 g/ha Cd i 0,23 – 0,53 g/ha Hg. Prema izračunatom koeficijentu obogaćivanja i faktoru translokacije zaključujemo da je miskantus pogodniji za korištenje u procesu fitostabilizacije i proizvodnji biomase na tlima umjereno kontaminiranim teškim metalima jer se pri onečišćenju tla visokim koncentracijama teški metali u biomasi miskantusa akumuliraju u koncentracijama koje prelaze granice za sigurno korištenje u proizvodnji čvrstih biogoriva.

7. Literatura

1. Alengebawy, A., Abdelkhalek, S. T., Qureshi, S. R., & Wang, M. Q. (2021). Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: Ecological risks and human health implications. *Toxics*, 9(3), 42.
2. Ali, H., & Khan, E. (2017). What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of the term 'heavy metals'—proposal of a comprehensive definition. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 100, 1–25. <https://doi.org/10.1080/02772248.2017.1413652>
3. Ali, H., Khan, E., & Ilahi, I. (2019). Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, 2019, 6730305. <https://doi.org/10.1155/2019/6730305>
4. Anderson, E., Arundale, R., Maughan, M., Oladeinde, A., Wycislo, A., & Voigt, T. (2011). Growth and agronomy of *Miscanthus x giganteus* for biomass production. *Biofuels*, 2(1), 71–87. <https://doi.org/10.4155/bfs.10.80>
5. Arduini, I., Ercoli, L., Mariotti, M., & Masoni, A. (2006). Response of miscanthus to toxic cadmium applications during the period of maximum growth. *Environmental and Experimental Botany*, 55(1–2), 29–40. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.09.009>
6. Arduini, I., Masoni, A., Mariotti, M., & Ercoli, L. (2004). Low cadmium application increase miscanthus growth and cadmium translocation. *Environmental and Experimental Botany*, 52(2), 89–100. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.01.001>
7. Asati, A., Pichhode, M., & Nikhil, K. (2016). Effect of Heavy Metals on Plants: An Overview. *International Journal of Application or Innovation in Engineering & Management (IJAIEM)*, 5(3), 56–66. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.27583.87204>
8. Azevedo, R., & Rodriguez, E. (2012). Phytotoxicity of Mercury in Plants: A Review. *Journal of Botany*, 2012, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2012/848614>
9. Bai, X.-N., Hao, H., Hu, Z.-H., & Leng, P.-S. (2021). Ectomycorrhizal Inoculation Enhances the Salt Tolerance of *Quercus mongolica* Seedlings. *Plants*, 10(9), 1790. <https://doi.org/10.3390/plants10091790>
10. Barbu, C. H., Pavel, B. P., Sand, C., & Pop, M. R. (2009). *Miscanthus sinensis giganteus*' behaviour on soils polluted with heavy metals. *Proceedings of 9th International Symposium of Romanian Academy Branch Cluj Napoca*, 21–24.
11. Bašić, F. (1994). Klasifikacija oštećenja tala Hrvatske. *Agronomski Glasnik*, 56(3–4), 291–310.
12. Bellion, M., Courbot, M., Jacob, C., Blaudez, D., & Chalot, M. (2006). Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Letters*, 254(2), 173–181. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2005.00044.x>
13. Bhatia, M., Khan, M. L., & Qureshi, A. (2022). Microbial remediation of mercury-contaminated soils. In *Microbes and Microbial Biotechnology for Green Remediation* (pp. 633–649). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90452-0.00039-6>

14. Bilandžija, D., Bilandžija, N., & Zgorelec, Ž. (2021). Sequestration potential of energy crop *Miscanthus x giganteus* cultivated in continental part of Croatia. *Journal of Central European Agriculture*, 22(1), 188–200. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/22.1.2776>
15. Bilandžija, N. (2014). Perspektiva i potencijal korištenja kulture *Miscanthus x giganteus* u Republici Hrvatskoj. *Inženjerstvo Okoliša*, 1(2), 81–81.
16. Bilandžija, N., Jurišić, V., Voća, N., Leto, J., Matin, A., Grubor, M., & Krička, T. (2017). Energy valorization of *Miscanthus x giganteus* biomass: A case study in Croatia. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 21(2), 32–36. <https://doi.org/10.5937/JPEA1701032B>
17. Bilandžija, N., Leto, J., Kiš, D., Jurisic, V., Ana, M., & Kuže, I. (2014). The impact of harvest timing on properties of *Miscanthus x Giganteus* biomass as a CO2 neutral energy source. *Collegium Antropologicum*, 38, 85–90.
18. Bilandžija, N., Voća, N., Leto, J., Jurišić, V., Grubor, M., Matin, A., Geršić, A., & Krička, T. (2018). Yield and Biomass Composition of *Miscanthus x Giganteus* in the Mountain Area of Croatia. *Transactions of FAMENA*, 42(Si1), 51–60. <https://doi.org/10.21278/TOF.42Si105>
19. Bilandžija, N., Zgorelec, Ž., Pezo, L., Grubor, M., Velaga, A. G., & Krička, T. (2022). Solid biofuels properties of *Miscanthus x giganteus* cultivated on contaminated soil after phytoremediation process. *Journal of the Energy Institute*, 101, 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.joei.2022.01.007>
20. Boening, D. W. (2000). Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, 40(12), 1335–1351. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00283-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00283-0)
21. Bošnjak, K., Vranić, M., Mašek, T., & Brčić, M. (2022). Application of Biomass Ash on Grasslands. *Poljoprivreda*, 28(1), 85–94. <https://doi.org/10.18047/poljo.28.1.12>
22. Brami, C., Pérès, G., Menasseri-Aubry, S., Byers-Woods, J. D., Jacquet, T., & Lowe, C. N. (2021). Effect of *Miscanthus x giganteus* ash on survival, biomass, reproduction and avoidance behaviour of the endogeic earthworm *Aporrectodea caliginosa*. *Ecotoxicology*, 30(3), 431–440. <https://doi.org/10.1007/s10646-021-02369-7>
23. Bulat, V. (2022). Pregled podataka o gospodarenju muljem iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi za 2021. godinu.
24. Chot, E., & Reddy, M. S. (2022). Role of Ectomycorrhizal Symbiosis Behind the Host Plants Ameliorated Tolerance Against Heavy Metal Stress. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.855473>
25. Clemens, S. (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*, 88(11), 1707–1719. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.07.003>
26. Clemens, S. (2013). Mercury in Plants. In *Encyclopedia of Metalloproteins* (pp. 1352–1356). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1533-6_313
27. Coninx, L., Martinova, V., & Rineau, F. (2017). Mycorrhiza-Assisted Phytoremediation (pp. 127–188). <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2016.12.005>

28. Crane, S., Barkay, T., & Dighton, J. (2012). The effect of mercury on the establishment of *Pinus rigida* seedlings and the development of their ectomycorrhizal communities. *Fungal Ecology*, 5(2), 245–251. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2011.12.001>
29. Čoga, L., & Slunjski, S. (2018). Dijagnostika tla u ishrani bilja: priručnik za uzorkovanje i analitiku tla. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
30. Demeyer, A., Voundi Nkana, J. C., & Verloo, M. G. (2001). Characteristics of wood ash and influence on soil properties and nutrient uptake: an overview. *Bioresource Technology*, 77(3), 287–295. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00043-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00043-2)
31. Deng, C., Zhu, Z., Liu, J., Zhang, Y., Zhang, Y., Yu, D., Hou, S., Zhang, Y., Yao, J., Zhang, H., Zhao, N., Sa, G., Zhang, Y., Ma, X., Zhao, R., Polle, A., & Chen, S. (2021). Ectomycorrhizal Fungal Strains Facilitate Cd²⁺ Enrichment in a Woody Hyperaccumulator under Co-Existing Stress of Cadmium and Salt. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11651. <https://doi.org/10.3390/ijms222111651>
32. Dražić, G., Milovanović, J., Stefanović, S., & Petrić, I. (2017). Potential of *Miscanthus × Giganteus* for Heavy Metals Removing from Industrial Deposol. *Acta Regionalia et Environmentalica*, 14(2), 56–58. <https://doi.org/10.1515/aree-2017-0009>
33. Đurašin, I., Zmeškal, V., Zgorelec, Ž., Špehar, A., Maurović, N., & Perčin, A. (2018). Macroelements bioavailability from waste water sludge of animal origin. *Journal of Central European Agriculture*, 19(2), 368–384. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/19.2.2156>
34. EFSA. (2012). Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA Journal*, 10(1), 2551. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2551>
35. Engwa, G. A., Ferdinand, P. U., Nwalo, F. N., & Unachukwu, M. N. (2019). Mechanism and Health Effects of Heavy Metal Toxicity in Humans. In O. Karcioğlu & B. Arslan (Eds.), *Poisoning in the Modern World*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.82511>
36. Erickson, L. E., & Pidlisnyuk, V. (Eds.). (2021). *Phytotechnology with biomass production - Sustainable management of contaminated sites*.
37. FAO, & ITPS. (2015). *Status of the World's Soil Resources (SWSR) - Main Report*.
38. Fernando, A., & Oliveira, J. S. (2004). Effects on growth, productivity and biomass quality of *Miscanthus x giganteus* of soils contaminated with heavy metals. *Proceedings of 2nd World Congress on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection*, 387–309.
39. Gašić, K., & Obradović, A. (2012). Induced plant resistance. *Ratarstvo i Povrtarstvo*, 49(3), 326–334. <https://doi.org/10.5937/ratpov49-1877>
40. Giacalone, A., Gianguzza, A., Orecchio, S., Piazzese, D., Dongarrà, G., Sciarrino, S., & Varrica, D. (2005). Metals distribution in the organic and inorganic fractions of soil: A case study on soils from Sicily. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 17, 83–93. <https://doi.org/10.3184/095422905782774892>
41. Grobelak, A., Placek, A., Grosser, A., Singh, B. R., Almås, Å. R., Napora, A., & Kacprzak, M. (2017). Effects of single sewage sludge application on soil phytoremediation. *Journal of Cleaner Production*, 155, 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.10.005>

42. Gubišová, M., Horník, M., Hrčková, K., Gubiš, J., Jakubcová, A., Hudcovicová, M., & Ondreičková, K. (2020). Sewage Sludge as a Soil Amendment for Growing Biomass Plant *Arundo donax* L. *Agronomy*, 10(5), 678. <https://doi.org/10.3390/agronomy10050678>
43. Halamić, J., & Miko, S. (2009). *Geokemijski atlas Republike Hrvatske* (J. Halamić & S. Miko, Eds.). Hrvatski geološki institut.
44. Heaton, E. A., Dohleman, F. G., Miguez, A. F., Juvik, J. A., Lozovaya, V., Widholm, J., Zobotina, O. A., McIsaac, G. F., David, M. B., Voigt, T. B., Boersma, N. N., & Long, S. P. (2010). *Miscanthus. A Promising Biomass Crop* (pp. 75–137). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381518-7.00003-0>
45. Heaton, E., Voigt, T., & Long, S. P. (2004). A quantitative review comparing the yields of two candidate C4 perennial biomass crops in relation to nitrogen, temperature and water. *Biomass and Bioenergy*, 27(1), 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2003.10.005>
46. HRN ISO 10694 (2004). Soil quality – Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis). International Organization for Standardization, Geneva.
47. HRN ISO 11260 (2004). Soil quality – Determination of effective cation exchange capacity and base saturation level using barium chloride solution. International Organization for Standardization, Geneva.
48. HRN ISO 11277 (2004). Soil quality -- Determination of particle size distribution in mineral soil material -- Method by sieving and sedimentation. International Organization for Standardization, Geneva.
49. HRN ISO 11464 (2009). Soil quality – Pretreatment of samples for physico-chemical analysis. International Organization for Standardization, Geneva.
50. HRN ISO 11465 (2004). Soil quality – Determination of dry matter and water content on a mass basis – Gravimetric method. International Organization for Standardization, Geneva.
51. HRN ISO 13196 (2013). Soil quality — Screening soils for selected elements by energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry using a handheld or portable instrument. International Organization for Standardization, Geneva.
52. HRN ISO 13878 (2004). Soil quality – Determination of total nitrogen content by dry combustion (elemental analysis). International Organization for Standardization, Geneva.
53. HRN ISO 15178 (2005). Soil quality – Determination of total sulfur by dry combustion. International Organization for Standardization, Geneva.
54. HRN ISO 15178 (2005). Soil quality – Determination of total sulfur by dry combustion. International Organization for Standardization, Geneva.
55. HRN ISO 17225-1 (2014). Solid biofuels – Fuel specifications and classes – Part 1: General requirements. International Organization for Standardization, Geneva.
56. Hübner, R., Astin, K., & Herbert, R. (2010). “Heavy metal” - Time to move on from semantics to pragmatics? *Journal of Environmental Monitoring: JEM*, 12, 1511–1514. <https://doi.org/10.1039/c0em00056f>

57. Hudcová, H., Vymazal, J., & Rozkošný, M. (2019). Present restrictions of sewage sludge application in agriculture within the European Union. *Soil and Water Research*, 14(2), 104–120. <https://doi.org/10.17221/36/2018-SWR>
58. Irfan, M., Hayat, S., Ahmad, A., & Alyemeni, M. N. (2013). Soil cadmium enrichment: Allocation and plant physiological manifestations. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.11.004>
59. Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B., & Beeregowda, K. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7, 60–72. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>
60. Jeguirim, M., Dorge, S., & Trouvé, G. (2010). Thermogravimetric analysis and emission characteristics of two energy crops in air atmosphere: *Arundo donax* and *Miscanthus giganteus*. *Bioresource Technology*, 101(2), 788–793. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.05.063>
61. Kaur, H., & Hussain, S. (2020). Cadmium: Bioavailability in Soils and Phytotoxicity. In P. K. and S. S. Mishra Kumkum and Tandon (Ed.), *Sustainable Solutions for Elemental Deficiency and Excess in Crop Plants* (pp. 351–391). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-8636-1_14
62. Kebert, M., Kostić, S., Zlatković, M., Stojnic, S., Čapelja, E., Zorić, M., Kiproovski, B., Budakov, D., & Orlović, S. (2022). Ectomycorrhizal Fungi Modulate Biochemical Response against Powdery Mildew Disease in *Quercus robur* L. *Forests*, 13(9), 1491. <https://doi.org/10.3390/f13091491>
63. Kisić, I. (2012). Sanacija onečišćenoga tla. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
64. Kisić, I., Zgorelec, Ž., & Perčin, A. (2018). Soil treatment engineering. *Physical Sciences Reviews*, 2(11). <https://doi.org/10.1515/psr-2016-0124>
65. Knapp, B., & Insam, H. (2011). Recycling of Biomass Ashes: Current Technologies and Future Research Needs. In *Recycling of Biomass Ashes* (pp. 1–16). https://doi.org/10.1007/978-3-642-19354-5_1
66. Lamastra, L., Suci, N. A., & Trevisan, M. (2018). Sewage sludge for sustainable agriculture: contaminants' contents and potential use as fertilizer. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 5(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s40538-018-0122-3>
67. Lehto, T., & Zwiazek, J. J. (2011). Ectomycorrhizas and water relations of trees: a review. *Mycorrhiza*, 21(2), 71–90. <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0348-9>
68. Leto, J., Bilandžija, N., & Hudek, K. (2015). Morfološka i gospodarska svojstva energetske trave *Miscanthus x giganteus* Greef et Deu. u trećoj godini uzgoja. In M. Pospíšil (Ed.), *Proceedings - 50th Croatian and 10th International Symposium on Agriculture* (pp. 329–333).
69. Levin, S. A. (2013). *Encyclopedia of Biodiversity*, Second Edition.
70. Lewandowski, I., & Heinz, A. (2003). Delayed harvest of miscanthus—influences on biomass quantity and quality and environmental impacts of energy production. *European Journal of Agronomy*, 19(1), 45–63. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(02\)00018-7](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(02)00018-7)

71. Lewandowski, I., Clifton-Brown, J. C., Scurlock, J. M. O., & Huisman, W. (2000). Miscanthus: European experience with a novel energy crop. *Biomass and Bioenergy*, 19(4), 209–227. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(00\)00032-5](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(00)00032-5)
72. Liu, H. (2016). Achilles heel of environmental risk from recycling of sludge to soil as amendment: A summary in recent ten years (2007–2016). *Waste Management*, 56, 575–583. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.05.028>
73. Luo, Z.-B., Wu, C., Zhang, C., Li, H., Lipka, U., & Polle, A. (2014). The role of ectomycorrhizas in heavy metal stress tolerance of host plants. *Environmental and Experimental Botany*, 108, 47–62. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.10.018>
74. Ma, Y., He, J., Ma, C., Luo, J., Li, H., Liu, T., Polle, A., Peng, C., & Luo, Z.-B. (2014). Ectomycorrhizas with *Paxillus involutus* enhance cadmium uptake and tolerance in *Populus × canescens*. *Plant, Cell & Environment*, 37(3), 627–642. <https://doi.org/10.1111/pce.12183>
75. McLaughlin, M. J., & Singh, B. R. (1999). Cadmium in Soils and Plants. In B. R. McLaughlin M. J. and Singh (Ed.), *Cadmium in Soils and Plants* (pp. 1–9). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-4473-5_1
76. McLaughlin, M. J., Zarcinas, B. A., Stevens, D. P., & Cook, N. (2000). Soil testing for heavy metals. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 31(11–14), 1661–1700. <https://doi.org/10.1080/00103620009370531>
77. Meehan, P. G., Finnan, J. M., & Mc Donnell, K. P. (2013). The effect of harvest date and harvest method on the combustion characteristics of *Miscanthus × giganteus*. *GCB Bioenergy*, 5(5), 487–496. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12003>
78. Milovanović, B., Štirmer, N., Carević, I., & Baričević, A. (2019). Wood biomass ash as a raw material in concrete industry. *Journal of the Croatian Association of Civil Engineers*, 71(6), 505–514. <https://doi.org/10.14256/JCE.2546.2018>
79. Mockevičienė, I., Šiaudinis, G., Karčauskienė, D., Repšienė, R., Barčauskaitė, K., & Anne, O. (2023). The Evaluation of the Phytoremediation Potential of the Energy Crops in Acid Soil by Sewage Sludge Fertilization. *Land*, 12(4), 866. <https://doi.org/10.3390/land12040866>
80. Modified HRN ISO 10390 (2004). Soil quality – Determination of pH. International Organization for Standardization, Geneva.
81. Modified HRN ISO 14235 (2004). Soil quality – Determination of organic carbon by sulfochromic oxidation. International Organization for Standardization, Geneva.
82. Morel, J. L., Echevarria, G., & Goncharova, N. (2006). *Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils* (Vol. 68). Kluwer Academic Publishers. <https://doi.org/10.1007/1-4020-4688-X>
83. Morosini, C., Terzaghi, E., Raspa, G., Zanardini, E., Anelli, S., Armiraglio, S., Petranich, E., Covelli, S., & Di Guardo, A. (2021). Mercury vertical and horizontal concentrations in agricultural soils of a historically contaminated site: Role of soil properties, chemical loading, and cultivated plant species in driving its mobility. *Environmental Pollution*, 285, 117467. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117467>

84. Mos, M., Banks, S. W., Nowakowski, D. J., Robson, P. R. H., Bridgwater, A. V., & Donnison, I. S. (2013). Impact of *Miscanthus x giganteus* senescence times on fast pyrolysis bio-oil quality. *Bioresource Technology*, 129, 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.069>
85. Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 8(3), 199–216. <https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>
86. Odziejewicz, J. I., Wotejko, E., Wydro, U., Wasil, M., & Jabłońska-Trypuć, A. (2022). Utilization of Ashes from Biomass Combustion. *Energies*, 15(24), 9653. <https://doi.org/10.3390/en15249653>
87. Oksanen, J., Pöykiö, R., & Dahl, O. (2023). Fertiliser Properties of Wastewater Sludge and Sludge Ash - A Case Study from the Finnish Forest Industry. *Ecological Chemistry and Engineering S*, 30(1), 63–78. <https://doi.org/10.2478/eces-2023-0004>
88. Osman, A. I., Ahmed, A. T., Johnston, C. R., & Rooney, D. W. (2018). Physicochemical characterization of miscanthus and its application in heavy metals removal from wastewaters. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 37(3), 1058–1067. <https://doi.org/10.1002/ep.12783>
89. Patra, M., & Sharma, A. (2000). Mercury toxicity in plants. *The Botanical Review*, 66(3), 379–422. <https://doi.org/10.1007/BF02868923>
90. Peralta-Videa, J. R., Lopez, M. L., Narayan, M., Saupe, G., & Gardea-Torresdey, J. (2009). The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: implications for the food chain. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 41(8–9), 1665–1677. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.03.005>
91. Peterson, R. L., Massicotte, H. B., & Melville, L. H. (2004). Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology.
92. Pezerović, D., & Panijan, R. (1979). Teški metali i biološki sustavi s posebnim osvrtom na živu. *Acta Stomatologica Croatica*, 13(4), 157–162. <https://doi.org/10.1210/endo-102-6-1702>
93. Pirrone, N., Cinnirella, S., Feng, X., Finkelman, R. B., Friedli, H. R., Leaner, J., Mason, R., Mukherjee, A. B., Stracher, G. B., Streets, D. G., & Telmer, K. (2010). Global mercury emissions to the atmosphere from anthropogenic and natural sources. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 10(13), 5951–5964. <https://doi.org/10.5194/acp-10-5951-2010>
94. Pitman, R. M. (2006). Wood ash use in forestry - a review of the environmental impacts. *Forestry*, 79(5), 563–588. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpl041>
95. Pravilnik o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (NN 71/19). https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_07_71_1507.html
96. Pravilniku o gospodarenju muljem iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi (NN 38/08). https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008_04_38_1307.html
97. Rahman, Z., & Singh, V. P. (2019). The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total

- environment: an overview. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(7), 419. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7528-7>
98. Romac, G. (2013). Tehničko-tehnološko rješenje postojećeg postrojenja Agroproteinka d.d.
 99. Römken, P., Rietra, R., Kros, H., Voogd, J. C., & de Vries, W. (2018). Impact of cadmium levels in fertilisers on cadmium accumulation in soil and uptake by food crops. <https://doi.org/10.18174/451353>
 100. Saletnik, B., Zagula, G., Bajcar, M., Czernicka, M., & Puchalski, C. (2018). Biochar and Biomass Ash as a Soil Ameliorant: The Effect on Selected Soil Properties and Yield of Giant Miscanthus (*Miscanthus x giganteus*). *Energies*, 11(10), 2535. <https://doi.org/10.3390/en11102535>
 101. Sarwar, N., Saifullah, Malhi, S. S., Zia, M. H., Naeem, A., Bibi, S., & Farid, G. (2010). Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(6), 925–937. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3916>
 102. Sell, J., Kayser, A., Schulin, R., & Brunner, I. (2005). Contribution of Ectomycorrhizal Fungi to Cadmium Uptake of Poplars and Willows from a Heavily Polluted Soil. *Plant and Soil*, 277(1–2), 245–253. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-7084-5>
 103. Sharma, R., & Agrawal, M. (2005). Biological effects of heavy metals: An overview. *Journal of Environmental Biology / Academy of Environmental Biology, India*, 26, 301–313.
 104. Singh, R. P., & Agrawal, M. (2008). Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Management*, 28(2), 347–358. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.12.010>
 105. Skyllberg, U., Qian, J., Frech, W., Xia, K., & Bleam, W. F. (2003). Distribution of mercury, methyl mercury and organic sulphur species in soil, soil solution and stream of a boreal forest catchment. *Biogeochemistry*, 64(1), 53–76. <https://doi.org/10.1023/A:1024904502633>
 106. Smith, S. E., & Read, D. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6>
 107. Šestak, I., Bilandžija, N., Perčin, A., Fadljević, I., Hrelja, I., & Zgorelec, Ž. (2022). Assessment of the Impact of Soil Contamination with Cadmium and Mercury on Leaf Nitrogen Content and Miscanthus Yield Applying Proximal Spectroscopy. *Agronomy*, 12(2), 255. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020255>
 108. Širić, I., Držaić, V., & Friganović, T. (2022). Mogućnosti primjene mikoriznih gljiva u ekološkoj poljoprivredi. *Glasnik Zaštite Bilja*, 45(3), 12–20. <https://doi.org/10.31727/gzb.45.3.2>
 109. Škorić, A. (1982). *Priručnik za pedološka istraživanja*. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb.
 110. Tangahu, B. V., Sheikh Abdullah, S. R., Basri, H., Idris, M., Anuar, N., & Mukhlisin, M. (2011). A Review on Heavy Metals (As, Pb, and Hg) Uptake by Plants through Phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*, 2011, 1–31. <https://doi.org/10.1155/2011/939161>

111. Uchman, W., Skorek-Osikowska, A., & Werle, S. (2017). Evaluation of the potential of the production of electricity and heat using energy crops with phytoremediation features. *Applied Thermal Engineering*, 126, 194–203. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2017.07.142>
112. UNEP. (2019). Global Mercury Assessment 2018.
113. Vallero, D. (2014). Chapter 23 - Metal and Metalloid Cycles. In D. Vallero (Ed.), *Fundamentals of Air Pollution* (Fifth Edition, pp. 531–545). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-401733-7.00023-2>
114. van der Heijden, M. G. A., Martin, F. M., Selosse, M., & Sanders, I. R. (2015). Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist*, 205(4), 1406–1423. <https://doi.org/10.1111/nph.13288>
115. Vareda, J. P., Valente, A. J. M., & Durães, L. (2019). Assessment of heavy metal pollution from anthropogenic activities and remediation strategies: A review. *Journal of Environmental Management*, 246, 101–118. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.126>
116. Vishwanathan, K., Zienkiewicz, K., Liu, Y., Janz, D., Feussner, I., Polle, A., & Haney, C. H. (2020). Ectomycorrhizal fungi induce systemic resistance against insects on a nonmycorrhizal plant in a CERK1-dependent manner. *New Phytologist*, 228(2), 728–740. <https://doi.org/10.1111/nph.16715>
117. Voća, N., Leto, J., Karažija, T., Bilandžija, N., Peter, A., Kutnjak, H., Šurić, J., & Poljak, M. (2021). Energy Properties and Biomass Yield of *Miscanthus x Giganteus* Fertilized by Municipal Sewage Sludge. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(14). <https://doi.org/10.3390/molecules26144371>
118. Vukadinović, V., & Lončarić, Z. (1998). *Ishrana bilja*. Sveučilište Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet Osijek.
119. Werle, S., Tran, K.-Q., Magdziarz, A., Sobek, S., Pogrzeba, M., & Løvås, T. (2019). Energy crops for sustainable phytoremediation – Fuel characterization. *Energy Procedia*, 158, 867–872. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.egypro.2019.01.223>
120. WHO. (2021). Mercury and human health Educational course.
121. Zgorelec, Ž. (2009). *Phytoaccumulation of Metals and Metalloids from Soil Polluted by Coal Ash*. Disertacija, Zagreb.
122. Zgorelec, Ž., Bilandžija, N., Knez, K., Galić, M., & Žužul, S. (2020). Cadmium and Mercury phytostabilization from soil using *Miscanthus x giganteus*. *Scientific Reports*, 10(1), 6685. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63488-5>
123. Zhao, A., Gao, L., Chen, B., & Feng, L. (2019). Phytoremediation potential of *Miscanthus sinensis* for mercury-polluted sites and its impacts on soil microbial community. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(34), 34818–34829. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06563-3>
124. Zhou, J., Obrist, D., Dastoor, A., Jiskra, M., & Ryjkov, A. (2021). Vegetation uptake of mercury and impacts on global cycling. *Nature Reviews Earth & Environment*, 2(4), 269–284. <https://doi.org/10.1038/s43017-021-00146-y>

125. Zhu, T., Li, L., Duan, Q., Liu, X., & Chen, M. (2021). Progress in our understanding of plant responses to the stress of heavy metal cadmium. *Plant Signaling & Behavior*, 16(1), 1836884. <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1836884>
126. Zwiazek, J. J., Equiza, M. A., Karst, J., Senorans, J., Wartenbe, M., & Calvo-Polanco, M. (2019). Role of urban ectomycorrhizal fungi in improving the tolerance of lodgepole pine (*Pinus contorta*) seedlings to salt stress. *Mycorrhiza*, 29(4), 303–312. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00893-3>

Životopis

Lana Zubčić rođena je 13. listopada 1997. godine u Rijeci. U Bribiru završava Osnovnu školu dr. Josipa Pančića te 2012. godine upisuje Gimnaziju Andrije Mohorovičića u Rijeci. Nakon završetka srednje škole odlučuje se na upis preddiplomskog studija Ekološka poljoprivreda na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Na istom fakultetu nastavlja školovanje na diplomskom studiju Ekološka poljoprivreda i agroturizam. Na diplomskom studiju kao student tutor pomaže novim studentima u snalaženju u akademskoj zajednici. Pohađa izvannastavnu aktivnost Vrtlarska grupa te sudjeluje na „Danu očaranosti biljkama“ i „Danu otvorenog vrta na Agronomskom fakultetu“. Tijekom studiranja aktivno sudjeluje i pomaže u vođenju studentske inicijative „Studentski vrt“, u kojoj s kolegicama i kolegama brine o zajedničkom vrtu, organizira i sudjeluje u različitim radionicama te ostvaruje suradnju s brojnim studentskim i građanskim udrugama. Završava Cornell University Civic Ecology Lab online edukacije „E-STEM Education“ i „Nature Education“. Dio studentske prakse odrađuje u Analitičkom laboratoriju Zavoda za opću proizvodnju bilja. U rujnu 2021. godine provodi dva tjedna na edukativno-volonterskom kampu „Dinara back to LIFE“ gdje sudjeluje na aktivnostima restauracije travnjaka te uči o održivom upravljanju, ruralnom razvoju i zaštiti okoliša. U 2022. godini putuje na Siciliju gdje sudjeluje u Erasmus+ razmjeni mladih „Sustainable lifestyle in practice“ na permakulturnom imanju Saja Project. Iste godine odlazi u Španjolsku, u eko selo Molino de Guadalmesi, na razmjenu mladih „Life in 5D – A journey through the 5 dimensions of sustainability“. Sudjelovanjem u Erasmus+ razmjenama mladih dobiva priliku iskusiti život u zajednici te uči o permakulturi, regenerativnoj poljoprivredi, održivosti, sociokraciji i nenasilnoj komunikaciji. Krajem 2022. godine upisuje apsolventsku godinu. Kao članica udruge Permakultura Dalmacija u svibnju 2023. godine putuje u Solun gdje sudjeluje u Erasmus+ treningu „Youth building agribusiness and rural development“.