

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Ana POTOČNIK

**VPLIV PRANJA TAL Z RAZLIČNIMI ODMERKI  
EDTA NA PRIDELEK KITAJSKEGA KAPUSA  
(*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis* Hanelt.), VSEBNOST  
Pb, Zn IN Cd V LISTIH IN KORENINAH TER  
ODCEDNIH VODAH**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij – 1. stopnja

Ljubljana, 2012

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Ana POTOČNIK

**VPLIV PRANJA TAL Z RAZLIČNIMI ODMERKI EDTA NA  
PRIDELEK KITAJSKEGA KAPUSA (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*  
Hanelt.), VSEBNOST Pb, Zn IN Cd V LISTIH IN KORENINAH TER  
ODCEDNIH VODAH**

DIPLOMSKO DELO  
Visokošolski strokovni študij – 1. stopnja

**THE INFLUENCE OF SOIL WASHING WITH DIFFERENT DOSES  
OF EDTA ON THE YIELD OF CHINESE CABBAGE (*Brassica rapa* L.  
ssp. *pekinensis* Hanelt.), THE CONTENT OF Pb, Zn AND Cd IN THE  
LEAVES AND ROOTS AND DRAINAGE WATERS**

B. SC. THESIS  
Professional Study Programmes

Ljubljana, 2012

Diplomsko delo je zaključek Visokošolskega strokovnega študija Kmetijstvo – agronomija in hortikultura – 1. stopnja. Delo je bilo opravljeno na Katedri za pedologijo in varstvo okolja.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Heleno Grčman.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Marjana Jakše  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Helena Grčman  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Nina Kacjan Maršić  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Diplomsko delo je rezultat lastnega dela. Podpisani se strinjam z objavo svojega diplomskega dela na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddal v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Ana Potočnik

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ŠD | Dv1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| DK | UDK 631.453:502.174:635.34:543.62 (043.2)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| KG | Kitajski kapus/ remediirana tla/ EDTA/ toksične kovine/ svinec/ cink/ kadmij/<br>kemična sestava/ pridelek/ izpiranje                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| AV | POTOČNIK, Ana                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| SA | GRČMAN, Helena (mentor)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| KZ | SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| ZA | Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| LI | 2012                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| IN | VPLIV PRANJA TAL Z RAZLIČNIMI ODMERKI EDTA NA PRIDELEK<br>KITAJSKEGA KAPUSA ( <i>Brassica rapa</i> L. ssp. <i>pekinensis</i> Hanelt.), VSEBNOST<br>Pb, Zn IN Cd V LISTIH IN KORENINAH TER ODCEDNIH VODAH                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| TD | Diplomsko delo (Visokošolski strokovni študij - 1. stopnja)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| OP | IX, 30 str., 2 pregl., 15 sl., 33 vir.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| IJ | sl                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| JI | sl/en                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| AI | V kolonskem poskusu smo ugotavljali primernost remediiranih tal za kmetijstvo z<br>vidika sprejemanja Pb, Cd in Zn v testno rastlino kitajski kapus ( <i>Brassica rapa</i> L.<br>ssp. <i>pekinensis</i> Hanelt.) in spiranja teh kovin iz tal. Uporabili smo s Pb, Zn in Cd<br>onesnažena tla iz Mežiške doline, ki so bila predhodno oprana z različnimi odmerki<br>EDTA (10, 30 in 60 mmol EDTA/kg tal). Po sedmih tednih rasti smo rastline<br>poželi, izmerili pridelek suhe snovi in vsebnost Pb, Zn in Cd v listih in koreninah.<br>Ugotovili smo, da pranje tal z EDTA uspešno zmanjša vsebnost kovin v koreninah,<br>medtem ko celo rahlo poveča vsebnost v listih. Prisotnost ostankov EDTA v tleh<br>pospešuje translokacijo kovin iz korenin v nadzemne dele. Pri obravnavanju z 10<br>mmol EDTA/kg tal je bila translokacija najbolj izrazita, verjetno zaradi premalo<br>spranih tal s čisto vodo. Pridelek rastline nakazuje, da so tla, ki so bila tretirana s 60<br>mmol EDTA, toksična za rastline. Vsebnost Pb in Cd v nadzemnih delih je<br>presegala dovoljene vrednosti, zaradi česar rastline ne bi bile primerne za prehrano.<br>Merili smo tudi koncentracijo Pb, Zn in Cd v odcednih vodah. V skladu s<br>pričakovani, smo največje koncentracije kovin v odcednih vodah izmerili v prvem<br>tednu poskusa. Največje koncentracije Pb, Zn in Cd v odcednih vodah smo izmerili<br>v obravnavanju, kjer so bila tla tretirana z 10 mmol EDTA. Najmanjša vsebnost<br>kovin je bila v odcednih vodah netretiranih tal, ki so bila že predhodno<br>izpostavljena gravitacijski vodi padavin, ki je spirala mobilne oblike kovin iz tal. |

## KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Dv1

DC UDC 631.453:502.174:635.34:543.62 (043.2)

CX Chinese cabbage/ remediated soil/ EDTA/ lead/ zinc/ cadmium/ toxic metals/  
drainage water

AU POTOČNIK, Ana

AA GRČMAN, Helena (supervisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy

PY 2012

TY THE INFLUENCE OF SOIL WASHING WITH DIFFERENT DOSES OF EDTA  
ON THE YIELD OF CHINESE CABBAGE (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*  
Hanelt.), THE CONTENT OF Pb, Zn AND Cd IN THE LEAVES AND ROOTS  
AND DRAINAGE WATERS

DT B. Sc. Thesis (Professional Study Programmes)

NO IX, 30 p., 2 tab., 15 fig., 33 ref.

LA sl

Al sl/en

AB In our research we tested suitability of washed soil, contaminated with Pb, Zn and Cd, for the use of agricultural purposes and the leaching of these metals to the soil. Our test plant was Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis* Hanelt.). We used with Pb, Zn and Cd contaminated soil from Mežica valley, which was previously treated with different doses of EDTA (10, 30 and 60 mmol EDTA/kg soil). After seven weeks of growth, we harvested the plants, weighed yields and measured the level of Pb, Zn and Cd in leaves and in roots. The results showed that EDTA soil washing successfully reduces the level of metals in the roots and at the same time slightly raises the level of metals in the leaves. The presence of residues of EDTA in the soil accelerates the translocation of the metals from the roots to the leaves. The translocation was particularly high in the 10 mmol EDTA treatment, most likely due to insufficient rinsing of the soil with clean water. The yield of the plants indicates that with 60 mmol EDTA treated soil is toxic for the plants. The level of Pb and Cd in the leaves is above the permitted and therefore the plants are not suitable for consumption. Furthermore we measured the concentration of Pb, Zn and Cd in the drainage water. As expected the highest concentration of metals was contained in the first week of the experiment. The highest concentration of metals was in the drainage water of with 10 mmol EDTA treated soil. The lowest was in the drainage water of untreated soil, due to its previous exposure to gravitational water of the rainfall which has removed the mobile forms of metals from the soil.

## KAZALO VSEBINE

|                                          | Str.      |
|------------------------------------------|-----------|
| KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA      | III       |
| KEY WORDS DOCUMENTATION                  | IV        |
| KAZALO VSEBINE                           | V         |
| KAZALO PREGLEDNIC                        | VI        |
| KAZALO SLIK                              | VII       |
| <br>                                     |           |
| <b>1 UVOD</b>                            | <b>1</b>  |
| 1.1 NAMEN IN CILJ RAZISKAVE              | 1         |
| 1.2 DELOVNE HIPOTEZE                     | 2         |
| <b>2 PREGLED OBJAV</b>                   | <b>3</b>  |
| 2.1 REMEDIACIJSKE METODE                 | 3         |
| 2.1.1 Soldifikacija in stabilizacija     | 3         |
| 2.1.2 Tehnologije fizikalne separacije   | 3         |
| 2.1.2.1 Hidrodinamična separacija        | 5         |
| 2.1.2.2 Mehansko in mokro sejanje        | 5         |
| 2.1.2.3 Gravitacijsko koncentriranje     | 5         |
| 2.1.2.4 Magnetna separacija              | 5         |
| 2.1.2.5 Flotacija s peno                 | 6         |
| 2.1.2.6 Elektrostatično ločevanje        | 6         |
| 2.1.3 Pirometalurška separacija          | 6         |
| 2.1.4 Tehnologije biokemijske separacije | 6         |
| 2.1.5 Fitoremediacija                    | 7         |
| 2.1.6 Tehnologije kemične ekstrakcije    | 8         |
| <b>3 MATERIALI IN METODE</b>             | <b>10</b> |
| 3.1 LASTNOSTI NEREMEDIIRANIH TAL         | 10        |
| 3.2 POSTOPEK REMEDIACIJE                 | 10        |
| 3.3 ZASNOVA POSKUSA                      | 10        |
| 3.4 ZAKLJUČEVANJE POSKUSA                | 11        |
| 3.5 PRIPRAVA RASTLINSKIH VZORCEV         | 13        |
| 3.6 PRIPRAVA KORENINSKIH VZORCEV         | 13        |

|          |                                                           |           |
|----------|-----------------------------------------------------------|-----------|
| 3.7      | MERITVE                                                   | 14        |
| 3.8      | STATISTIČNA ANALIZA                                       | 14        |
| <b>4</b> | <b>REZULTATI IN RAZPRAVA</b>                              | <b>15</b> |
| 4.1      | VSEBNOST Pb, Zn IN Cd V NADZEMNIH DELIH KITAJSKEGA KAPUSA | 15        |
| 4.2      | VSEBNOST Pb, Zn IN Cd V KORENINAH KITAJSKEGA KAPUSA       | 17        |
| 4.3      | MASA NADZEMNEGA DELA KITAJSKEGA KAPUSA                    | 20        |
| 4.4      | VREDNOTENJE PRIDELKA                                      | 21        |
| 4.5      | VSEBNOST Pb, Zn IN Cd V ODCEDNIH VODAH                    | 22        |
| <b>5</b> | <b>SKLEPI</b>                                             | <b>25</b> |
| <b>6</b> | <b>POVZETEK</b>                                           | <b>26</b> |
| <b>7</b> | <b>VIRI</b>                                               | <b>27</b> |
|          | <b>ZAHVALA</b>                                            |           |

## KAZALO PREGLEDNIC

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Preglednica 1: Prikaz kombiniranja metod fizikalne separacije in uspešnost odstranitve določenih elementov                                   | 4  |
| Preglednica 2: Povprečne vsebnost Pb in Cd v listih kitajskega kapusa po posameznih obravnavanjih. Podane so vrednosti na suho in svežo snov | 23 |



## KAZALO SLIK

|                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Slika 1: Poskus                                                                                                                                         | 11 |
| Slika 2: Meritve nadzemnega dela                                                                                                                        | 12 |
| Slika 3: Vzorčenje tal in korenin                                                                                                                       | 13 |
| Slika 4: Vsebnost Pb (mg/kg) v nadzemnih delih kitajskega kapusa na različno tretiranih tleh                                                            | 15 |
| Slika 5: Vsebnost Zn (mg/kg) v nadzemnih delih kitajskega kapusa na različno tretiranih tleh                                                            | 16 |
| Slika 6: Vsebnost Cd (mg/kg) v nadzemnih delih kitajskega kapusa na različno tretiranih tleh                                                            | 16 |
| Slika 7: Vsebnost Pb (mg/kg) v koreninah kitajskega kapusa na različno tretiranih tleh                                                                  | 17 |
| Slika 8: Vsebnost Zn (mg/kg) v koreninah kitajskega kapusa na različno tretiranih tleh                                                                  | 18 |
| Slika 9: Vsebnost Cd (mg/kg) v koreninah kitajskega kapusa na različno tretiranih tleh                                                                  | 18 |
| Slika 10: Prikaz razmerja med koncentracijo kovin v koreninah in listih                                                                                 | 19 |
| Slika 11: Povprečna masa svežih listov kitajskega kapusa (g) posameznih tretiranj                                                                       | 20 |
| Slika 12: Primerjava razvitosti kitajskega kapusa pri različnih odmerkih EDTA; pri vsakem obravnavanju smo izločili najbolj in najmanj razvito rastlino | 21 |
| Slika 13: Vsebnost Pb (mg/ kolono) v odcednih vodah; prikazane so vrednosti za posamezni teden poskusa                                                  | 22 |
| Slika 14: Vsebnost Zn (mg/ kolono) v odcednih vodah posamezni teden                                                                                     | 23 |
| Slika 15: Vsebnost Cd (mg/ kolono) v odcednih vodah posamezni teden                                                                                     | 23 |

## OKRAJŠAVE

ADA – adipinska kislina  
 $\text{CH}_3\text{COOH}$  – očetna kislina  
EDTA – etilendiamintetraočetna kislina  
 $\text{HCl}$  – klorovodikova kislina  
 $\text{HNO}_3$  – nitratna kislina  
 $\text{H}_3\text{PO}_4$  – fosforna kislina  
 $\text{H}_2\text{SO}_4$  – sulfidna kislina  
 $\text{K}_2\text{SO}_4$  – kalijev sulfat  
 $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – amonijev nitrat  
NTA – nitrilotriocetna kislina  
PDA – piridin-2,6-dikarboksilna kislino

## 1 UVOD

Tla, pogosto medij iz katerega se nerazgradljive težke kovine premeščajo v rastlinske dele ter spirajo z gravitacijsko vodo v podtalnico, so posredno eden glavnih virov zastrupitev ljudi s težkimi kovinami. Kontaminacija rastlin s težkimi kovinami je možna tudi s posedanjem delcev iz zraka ali drobcev zemlje na samo rastlino. Težke kovine zaidejo v človeški organizem najpogosteje posredno s hrano, torej z rastlinami, ki jih zaužijemo, neposredno z vdihavanjem ali skozi rane. Najlažji način za preprečevanje vnosa težkih kovin v človeški organizem je preprosto splakovanje rastlinskih delov, ki jih želimo zaužiti.

Toksičnost težkih kovin za človeka variira, odvisna je posameznega elementa, kot tudi od trajanja izpostavljenosti ter koncentracije (Pociecha, 2012).

Človeku najnevarnejši elementi so As, Cd, Cu, Hg, Ni, Pb in Zn (Finžgar, 2010).

Prisotnost težkih kovin v tleh je odvisna od več dejavnikov. Glavni izvor je matična podlaga, na kateri so tla nastala. Drugi dejavniki so človekove dejavnosti, s poudarkom na urbanizaciji okolja in razvoju kmetijstva ter industrijskih panog. Zaradi nezmožnosti tal, da bi popolnoma zadržale težke kovine, predvsem Pb, As in Cd, v vezani obliki, so taka tla manj primerna za kmetijsko pridelavo. Težke kovine v tleh predstavljajo pereč problem na različnih območjih po svetu, v Sloveniji pa se pojavljajo na nekaterih lokacijah. Vsebnost Ni in Cr v tleh je visoka na območju Jesenic z okolico, zaradi železarske in jeklarske dejavnosti ter v okolici Kopra zaradi večjih vsebnosti v flišni kamninski osnovi. V posameznih vinogradih tako na Primorskem kot na Dolenjskem in Štajerskem se pojavljajo povečane količine Cu, v Mežiški dolini in širšem Celjskem območju pa je prevelika vsebnost Pb, Zn in Cd (Pociecha, 2012).

S pomočjo različnih metod remediacije onesnaženih tal, lahko tla očistimo težkih kovin. V grobem ločimo več tipov fizikalne separacije in metode kemične ekstrakcije. Fizikalne separacije izvajamo na tleh, kjer so onesnažila prisotna v prosti obliki, medtem ko s kemično ekstrakcijo iz tal izločamo onesnažila, ki se v tleh pojavljajo v vezani ionski obliki. Postopki remediacije pa so učinkovitejši, kadar hkrati uporabimo obe metodi.

Za izločanje težkih kovin iz tal lahko uporabimo tudi biološke metode, kot sta fitoremediacija in biološko izpiranje, vendar so te metode slabše razvite.

### 1.1 NAMEN IN CILJ RAZISKAVE

Namen diplomske naloge je bil testirati s pranjem (uporaba različnih odmerkov liganda etilendiamintetraocetne kisline (EDTA)) remediirana tla. Želeli smo ugotoviti, koliko Pb, Zn in Cd se nakopiči v posameznih rastlinskih delih kitajskega kapusa (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis* Hanelt.) ter koliko teh elementov se izpere v odcedne vode.

Rezultati meritev, opravljenih za to diplomsko nalogo, bodo pomagali določiti ali je metoda čiščenja tal z ligandi dovolj uspešna, da bi bila po čiščenju primerna za kmetijsko pridelavo.

## 1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Postavili smo naslednje hipoteze:

1. Predvidevamo, da bo pri obravnavanjih z najbolj očiščenimi tlemi (tla tretirana z največjim odmerkom EDTA 60 mmol/kg tal) v rastlinskih delih kitajskega kapusa najmanj težkih kovin (Pb, Zn in Cd). Največja koncentracija bo v rastlinskih delih kitajskega kapusa, ki so rasle na netretiranih tleh.
2. Najmanj težkih kovin se bo spralo iz najbolj očiščenih tal, saj je pranje tal z EDTA odstranilo večino mobilnih oblik Pb, Zn in Cd.
3. Pričakujemo, da bo največja količina težkih kovin (Pb, Zn in Cd) v odcednih vodah, ki smo jih pobrali v prvem tednu poskusa.
4. Za pridelavo vrtnin so najprimernejša najbolj tretirana tla.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 REMEDIACIJSKE METODE

#### 2.1.1 Soldifikacija in stabilizacija

Težke kovine ali druge elemente lahko iz tal izoliramo, da je remediacija lažja. Najprej s soldifikacijo, tj.- s pomočjo fizičnih ovir, ujamemo težke kovine v trdno matriko. Nato z različnimi kemičnimi reakcijami težke kovine stabiliziramo in tako zmanjšamo njihovo premeščanje.

Ta metoda je stroškovno najugodnejša, saj onesnažila pustimo v zemlji, poleg tega pa jo izvajamo *in situ*.

Ena izmed teh metod je tudi vitrifikacija. V tla vstavimo elektrode, skozi katere se spusti električni tok, kar tla segreje in povzroči topljenje mineralnega dela tal. Soldifikacija sledi, ko se tla ohladijo. Pri vitrifikaciji lahko nastajajo škodljivi plini, zato je potreben stalen nadzor (Mulligan in sod., 2001).

#### 2.1.2 Tehnologije fizikalne separacije

Pri tem postopku izkoriščamo določene lastnosti talnih delcev, da zberemo onesnažila na manjšem volumnu zemlje. Na učinkovitost metod fizikalne separacije vplivajo različne talne karakteristike, kot so: velikost, oblika, vsebnost glinenih delcev, vlage in organske snovi, heterogenosti tal, razlike med gostotami talne matrice in onesnažil, magnetizem in hidrofobne lastnosti površine talnih delcev. Velik učinek na uporabnost metod fizikalne separacije ima predvsem velikost talnih delcev, zato so razvili različne metode, ki so učinkovitejše le pri določenih velikostnih razredih talnih delcev.

V praksi sta najpogosteje uporabljeni tehnologiji flotacija s peno in gravitacijsko koncentriranje (Dermont in sod., 2008).

Različne metode fizikalne separacije so različno primerne za določen tip tal. Primernejše so za antropogena tla, kot za tla v kmetijski rabi. Težke kovine so v kmetijskih tleh v vezanih oblikah, njihova koncentracija v tleh je relativno majhna in taka tla imajo predvsem meljasto-glinasto teksturo in vsebujejo večji odstotek organske snovi.

Metode fizikalne separacije se med seboj razlikujejo tudi po stroških procesa, količini materiala, ki jo lahko naenkrat očistimo, in mobilnosti naprav. Ena najpomembnejših lastnosti je tudi delež očiščene zemlje, ki jo lahko vrnemo na mesto odvzema. Pri vseh metodah ostane določena količina zemlje, ki je ni možno očistiti in jo je zaradi tega potrebno odložiti na druga odlagališča. Pri novejših raziskavah si prizadevajo, da bi ta ostanek čim bolj reciklirali ter zmanjšali.

S kombiniranjem različnih metod fizikalne separacije lahko odstranimo različne količine težkih kovin iz tal. V spodnji preglednici so prikazane različne fizikalne separacije onesnaženih tal in njihov učinek.

Preglednica 1: Prikaz kombiniranja metod fizikalne separacije in uspešnost odstranitve določenih elementov (Dermont in sod., 2008: 4-8)

| Opis projekta                                                                                                                                                     | Opis uporabljene tehnologije                                                                | Element            | Začetna vsebnost (µg/g)  | Končna vsebnost (µg/g)   | Uspešnost odstranitve (%) |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Site demonstration of BESCOP plant system at the Alaskan Battery Enterprises site, Fairbanks, AK 1993                                                             | Mehansko sejanje, gravitacijsko koncentriranje                                              | Pb                 | 5600                     | 200                      | 65 - 85                   |
| Field application performed by Metcalf & Eddy for remediation of Naval weapons Station Earle Pistol Range, NJ, 1996                                               | Mehansko sejanje, gravitacijsko koncentriranje                                              | Pb                 | >20000                   | 14 - 92                  | >90                       |
| Pilot-scale demonstration of the physical separation process (INRS and Dragage Verreault Inc.) for remediation of brownfield soils from Montreal, QC, Canada 2000 | Mehansko sejanje, hidrodinamična separacija, flotacija s peno, gravitacijsko koncentriranje | Pb<br>Zn           | 466 - 994<br>1869 - 2293 | 399 - 466<br>1483 - 1793 | 26 - 60<br>21 - 22        |
| Full-scale application of BESCOP's Particle Separation System performed on Pb-contaminated soils from the SAFR site at range 24, Forth Dix, NJ 1999               | Mehansko sejanje, hidrodinamična separacija, gravitacijsko koncentriranje                   | Pb                 | 5300 – 38000             | 396                      | 93                        |
| Full-scale application of BESCOP's Particle Separation System performed on soils from SAFR site Massachusetts Military Reservation (MMR), Cape Cod, Ma 1999       | Mehansko sejanje, hidrodinamična separacija, gravitacijsko koncentriranje                   | Pb                 | >4820                    | <TLCP                    | 98                        |
| Pilot-scale demonstration of BESCOP's Particle Separation System at the SAFR site, Forth Ord, CA 2001-2005                                                        | Mehansko sejanje, hidrodinamična klasifikacija, gravitacijsko koncentriranje                | Pb                 | 2000                     | 227                      | 95                        |
|                                                                                                                                                                   |                                                                                             |                    | Koncentracija µg/g       |                          |                           |
| Evaluation of physical separation technologies for remediation of six brownfield soils (polluted by landfilling of various wastes in Quebec City, QC, Canada)     | Mehansko sejanje, dva načina gravitacijskega koncentriranja                                 | Pb<br>Zn           | 4,893<br>3,535           |                          | 61/67<br>58/54            |
| Froth flotation as a remediation technique for heavily polluted sediment in Belgium                                                                               | Flotacija s peno                                                                            | Cd<br><br>Pb<br>Zn | 13<br><br>721<br>3200    |                          | 60 (pH 8)<br>60<br>60     |

#### 2.1.2.1 Hidrodinamična separacija

Glavna naloga te separacije je ločevanje delcev glede na hitrost, s katero preidejo skozi tok vode. Ločimo tri tehnološke skupine.

V prvi skupini so metode, ki temeljijo na centrifugalni sili, kot so naprimer hidrocikloni. S temi metodami odstranjujemo najmanjše delce, velikosti 8 – 120  $\mu\text{m}$  (Dermont in sod., 2008).

V drugo spadajo metode, katerih temelj je prehod skozi tok zraka, kot je ločevanje v lebdečem sloju, pri katerem odstranimo manjše delce na površju (Mulligan in sod., 2001).

V tretji skupini pa so mehanske separacije, primerne za delce velikosti 60 – 1000  $\mu\text{m}$  (Dermont in sod., 2008).

#### 2.1.2.2 Mehansko in mokro sejanje

Preprosta metoda fizikalne separacije, ki temelji na različnih velikostih talnih delcev. Preko fizičnih ovir ločimo talne delce, najprimernejše za nadaljno obravnavo od ostalih. Sem spadajo različne priprave s siti, ki fizično ločijo večje delce od manjših. Z mehanskim sejanjem ločujemo večje delce, velikosti 50–500 000  $\mu\text{m}$ . Za uspešnejše ločevanje se priporoča predfaza sejanja, s katero se odstranimo največje talne delce. Nato z vodnim curkom povzročimo razpad večjih strukturnih agregatov, tako da nastane zmes vode in zemlje, ki gre skozi sita. Pogostejše uporabljene naprave so vibracijski bobni (sodi) in vibracijska sita (Dermont in sod., 2008).

#### 2.1.2.3 Gravitacijsko koncentriranje

Ločevanje delcev poteka glede na njihovo velikost, obliko, težo in gostoto, med katerimi je slednja najpomembnejša. Za uspešno separacijo mora biti razlika v gostoti posameznih delcev – kakor trdijo Gosselin in sod. (1999) – 1  $\text{g}/\text{cm}^3$ .

Tla z večjo vsebnostjo glinenih delcev ter organske snovi so manj primerna za gravitacijsko koncentriranje. Velikosti delcev za to metodo variirajo od 1  $\mu\text{m}$  do 14 000  $\mu\text{m}$  (Dermont in sod., 2008).

#### 2.1.2.4 Magnetna separacija

Pri tej separaciji izkoriščamo feromagnetne lastnosti elementov, zaradi katerih se le ti različno odzivajo na prisotnost magnetnega polja. Obstaja več različic te magnetne separacije, z magnetnim poljem visoke ali nizke napetosti. Za odstranjevanje Cr, Cu, Ni, Pb in Zn uporabljamo mokra visokonapetostna magnetna separacija (Rikers in sod., 1998).

#### 2.1.2.5 Flotacija s peno

Pri metodi flotacije za separacijo s peno izrabljamo hidrofobne lastnosti talnih delcev. V zmes vode in zemlje vbrizgamo mehurčke zraka, na katere se vežejo onesnaženi talni delci. Nato se mehurčki zberejo in tvorijo peno, ki se nahaja na površini zmesi. Peno fizično odstranimo. Za povečanje hidrofobnosti onesnaženih delcev uporabljamo različna sredstva, zaradi česar je ta metoda tudi kemična, ne le fizikalna. S to tehniko uspešno odstranjujemo Cd, Cu, Pb in Zn.

Flotacija v praksi še ni velikokrat uporabljena, čeprav se je izkazala za učinkovito pri tleh z drobnozrnato teksturo. Da bi dosegli želene rezultate, to metodo pogosto uporabljamo skupaj s hidrodinamično separacijo in gravitacijskim koncentriranjem (Dermont in sod., 2008).

#### 2.1.2.6 Elektrostatično ločevanje

Zelo redko uporabljena tehnika, ki temelji na električni prevodnosti elementov. Snov za čiščenje mora biti popolnoma suha. Običajno je to zadnja faza postopkov separacije in nastopi po mehanski ter magnetni separaciji in gravitacijskem koncentriranju. Priporočena velikost delcev v snovi je 80 – 800  $\mu\text{m}$  (Dermont in sod., 2008).

### 2.1.3 Pirometalurška separacija

Onesnažene delcev izpostavimo izredno visoki temperaturi, zaradi česar se kovine volatilizirajo. Nato kovine imobiliziramo ali obnovimo v njihovo kovinsko obliko. Pri odstranjevanju Pb, Cd, As in Cr iz onesnaženih tal je priporočljivo predhodno tretiranje s sredstvi, ki jih stopijo, s čimer zagotovimo homogenost delcev. Po pirometalurški separaciji sledi še fizikalna separacija ali pranje zgoščene zmesi (Mulligan in sod., 2001).

### 2.1.4 Tehnologije biokemijske separacije

Med temi tehnologijami so najpogostejše uporabljene metode, ki temeljijo na biološkem izpiranju in redoks reakcijah. Pri biološkem izpiranju uporabljamo žveplena kislina mikrobnega izvora, ki ob substituciji protonov iz tal izloča kovine.

Ločimo neposredno in posredno biološko izpiranje. Neposredno izpiranje izvajajo z oksidiranjem kovinskih sulfidov v kovinske kisline, ki desorbirajo kovine iz tal. Pri posrednem biološkem izpiranju gre za pretvorbo  $\text{Fe}^{2+}$  v  $\text{Fe}^{3+}$ , ki postopoma oksidira žveplene minerale v  $\text{Fe}^{2+}$  in tako zakisa matriko.

Mulligan in sod. (1999) so ugotovili, da ima dober potencial za izločanje težkih kovin iz tal tudi gliva *Aspergillus niger*, ki producira citronske in glukonske kisline. Kisline nižajo pH tal, odstranjujejo pa kovine, kot je baker.



K tehnologijam biokemijske separacije štejemo tudi biosorpcijo. Kovine se adsorbirajo v celice alg ali bakterij, tudi po tem, ko so že odmrle. Primernejša je za odstranjevanje manjših koncentracij kovin v vodi (Hazardous Waste Consultant, 1996, cit. po Dermont in sod., 2008).

Hg in Cd lahko mikroorganizmi oksidirajo, As in Fe pa reducirajo, zaradi česar so učinkoviti pri remediaciji.

Metoda biometilacije, pri kateri se metilna skupina veže na As, Hg, Cd in Pb, je ena izmed razvijajočih se metod biokemijske remediacije. Elementi tako postanejo bolj mobilni in se izpirajo v podtalnico (Mulligan in sod., 2001).

### 2.1.5 Fitoremediacija

Za nekatere rastline je dokazano, da lahko hitreje sprejemajo težke kovine iz tal in jih nato kopičijo v zeleni masi. Chaney je prvi predlagal uporabo rastlin za čiščenje onesnaženih tal (Chaney, 1983, cit. po Rascio in Navari-Izzo, 2011). V kasnejših člankih so trdili, da imajo te rastline omejene zmožnosti sprejema težkih kovin, saj je njihov sprejem selektiven, bolje pa uspevajo v lastnih naravnih habitatih (Rascio in sod., 2011). Ker so omenjene rastline tudi manj preučevane, je znanje o njihovih pridelovalnih lastnostih slabše.

*Thlaspi caerulescens* v svojih tkivih kopiči Zn, Cd, Ni in celo Pb. Iz tal lahko odstrani do 60 kg Zn/ha in do 8,4 kg Cd/ha (Robinson in sod., 1998).

*Fagopyrum esculentum* je bila prva znana rastlina, ki akumulira Pb, ki je v zemlji težko mobilen. V poganjkih lahko nakopiči do 4,2 mg Pb/g suhe mase (Tamura in sod., 2005).

V novejših raziskavah in člankih so poskušali združiti fitoremediacijo in pranje tal z različnimi ligandi (etilendiamintetraocetna kislina (EDTA) in nitrilotriocetna kislina (NTA)). Rastline na tleh, tretiranih z ligandi, slabše rastejo, zato imajo razvite manj mase in posledično se manjša njihov fitoremediacijski potencial.

Chen in sod. (2004) so preučevali koliko Pb se nakopiči v posameznih rastlinskih vrstah. Brez uporabe EDTA se je v zelju (*Brassica rapa* L. subsp. *chinensis*) akumuliralo od 5,7 do 9,7 µg Pb/kg. Ko so tla tretirali z 2,5 mmol EDTA/kg tal, se je v rastlini akumuliralo 54,3 do 89,4 µg Pb/kg. Pri tretiranju tal s 5 mmol EDTA/kg tal pa se je nakopičilo 76,3 – 84,7 µg Pb/kg. Vsebnost kovin v listih se je povečevala z večjimi koncentracijami aplicirane EDTA. Opazili so tudi, da je vsebnost Pb precej večja pri dvokaličnicah kot pri enokaličnicah.

V drugi raziskavi, ki so jo izvedli Grčman in sod. (2003), so tla tretirali z 10 mmol EDTA v štirih odmerkih. Izkazalo se je, da kitajski kapus (*Brassica rapa* L. subsp. *pekinensis*) v poganjkih nakopiči okoli 60 µg Pb/kg, 3 µg Cd/kg in enako količino Zn. Pojavili so se tudi stranski učinki dodajanja EDTA, ki so se kazali kot kloroza, nekroza in manjša količina biomase, povečalo pa se je tudi spiranje mobiliziranih kovin skozi talni profil, zaradi česar uporaba ligandov ni primerna za aplikacijo *in situ*.

### 2.1.6 Tehnologije kemične ekstrakcije

Te tehnologije temeljijo na kemijski ekstrakciji z uporabo raznovrstnih ekstrakcijskih tekočin, ki vsebujejo kemične reagente. Reagenti so najpogostejše kisline ter kelatni ligandi, uporabi pa se lahko tudi baze, soli ter redoks agente. Izbira reagenta je odvisna od v tleh vsebovane kovine, koncentracije kovine, frakcije v kateri le-ta nastopa, in od lastnosti onesnaženih tal. Tem postopkom pravimo tudi pranje tal ter jih izvajamo z ekstrakcijo ali izpiranjem tal (Mulligan in sod., 2001). To so *ex situ* metode, pri katerih tla po postopku remediacije vrnemo na mesto odvzema. Zaradi potencialne toksičnosti ostanka reagentov na mikroorganizme v tleh in na rastline, bodo potrebne nadaljne raziskave za izboljšanje teh metod.

Pri nižjem pH-ju je izločanje Cd, Cu, Pb in Zn iz tal učinkovitejše (Dermont in sod., 2008).

Za kislinsko ekstrakcijo je možna uporaba močnih mineralnih kislin, kot so klorovodikova (HCl), sulfidna ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), nitratna ( $\text{HNO}_3$ ) in fosforna kislina ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) ali pa uporaba organskih kislin, kot je očetna kislina ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) (Dermont in sod., 2008). Moutsatsou in sod. (2006) so v raziskavi dokazali, da je ekstrakcija elementov (As, Cu, Pb in Zn) iz močno onesnaženih tal uspešnejša z uporabo HCl kot z  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ali z  $\text{HNO}_3$ .

Pri uporabi kislin kot reagentov pride do raztapljanja karbonatov ter drugih snovi, na katere so vezane kovine. Močni  $\text{H}^+$  ioni izpodbijajo kovine na mestu vezave, tako da se kovine sprostijo v pralno raztopino (Isoyama in sod., 2007). Med ioni  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  in težkimi kovinami poteka kompeticija za vezavo na prosto mesto na ligandu. Da bi zmanjšali kompeticijo je potrebno zagotoviti potrebno količino prostih vezavnih mest, torej zadostno količino ligandov (Elliot in Brown, 1989).

Slabosti pranja tal s kislinami sta predvsem rušenje talnih struktur ter velika izguba mineralnih lastnosti tal in organskih snovi. Težavno je tudi odstranjevanje odpadne vode, s katero je potrebno prečistiti tretirana tla po remediaciji. Poleg tega so stroški takšne remediacijske metode visoki (Dermont in sod., 2008).

Namesto kislin lahko uporabljamo tudi soli. Pri pranju tal s solmi je učinek na strukturo tal majhen, poleg tega pa se pH tal po pranju ne zniža toliko kot pri tretiranjih s kislinami. Kuo in sod. (2006) so ugotovili, da je učinkovitost odstranjevanja Cd iz tal enaka pri tretiranju tal z 0,001 M HCl in 0,1M  $\text{NaCl}_2$  kot pri tretiranju z 0,01 M HCl raztopino. V določenih raziskavah pa je fermentiran NaCl enako ali celo bolj učinkovit pri odstranjevanju Pb iz glinenih tal z drobnozrnato strukturo kot običajno uporabljena EDTA ali HCl (Dermont in sod., 2008).

Kelatni ligandi so zaradi svoje izjemne moči vezave kovin v stabilne kovinske komplekse redno uporabljeni pri pranju tal. Pomembno je, da se kovinski ion dobro veže pri različnih vrednostih pH-ja, hkrati pa naj bi bil ligand biološko slabše razgradljiv, zato da ga je možno ponovno uporabiti v procesu. V primerjavi s kislinami uporaba kelatnih ligandov ne povzroča rušenja talne strukture. Po drugi strani so kelatni ligandi dražji in predstavljajo tudi večjo nevarnost za okolje, če niso primerno recikrirani (Lim in sod., 2004, 2005).

V preteklih raziskavah so preizkusili veliko različnih kelatnih ligandov, kot so EDTA, NTA, citronska kislina, glukonat, oksalat, amonijev acetat in drugi. Pri odstranjevanju Pb, Cu in Zn sta se kot najučinkovitejši izkazali EDTA in NTA. NTA ogroža človekovo zdravje, zato ni priporočljiva za uporabo pri pranju tal. Poleg škodljivosti pa NTA v primerjavi z EDTA slabše tvori stabilne komplekse. Zaradi svojih lastnosti je EDTA ali njena natrijeva sol  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  najpogosteje uporabljen ligand (Leštan in sod., 2008).

Kljub visokim odstotkom remediacije elementov iz tal, nekaj elementov ostane vezanih v stabilne komplekse. Ti elementi so nemobilni in ne predstavljajo nevarnosti za prenos v rastline in talne mikroorganizme. Cilj pranja tal ni popolna odstranitev toksičnih elementov temveč zmanjšanje njihove koncentracije in s tem toksičnosti.

Veliko raziskovalcev je preučevalo pranje tal z EDTA, pri čemer pa se rezultati razlikujejo. Najuspešnejša remediacija je na peščenih tleh z majhnim deležem organske snovi.

Wasay in sod. (2001) so iz tal z 0,7 % organske snovi s pranjem tal z EDTA uspeli odstraniti manj kot 10 % Cd, 98% Pb in 58 % Zn. Iz peščenih tal z 2,4 % organske snovi se lahko s pomočjo EDTA odstrani več kot 95 % Cd in prav toliko Pb (Lim in sod., 2005).

Ehsan in sod. (2006) pa so iz tal z večjo vsebnostjo organske snovi (12,5 %) odstranili 35% Cd, le 66 % Pb in 42 % Zn. Novejše raziskave kažejo, da lahko iz tal odstranimo do 52 % Cd, manj pa je moč odstraniti Pb (53 %) in Zn (26 %) (Pociecha in Leštan, 2010).

Elliott in Shastri (1999) so pri pH tal 6 z odmerkom 1 mmol EDTA/l uspeli odstraniti manj kot 10 % Pb, 53 % Cd in 28 % Zn. Po razmerjih med odstotki odstranitve posameznih elementov iz tal, sta podobne rezultate dobila Finžgar in Leštan (2008), ki trdita, da ima EDTA najmanjši remediacijski potencial za Zn.

Steele in Pichtel (1998) sta pri pranju s Pb in Cd onesnaženih tal uporabila EDTA, adipinsko kislino ADA, piridin-2,6-dikarboksilno kislino (PDA) in HCl. Pri odstranjevanju Pb iz tal se je kot najučinkovitejša izkazala EDTA, malo manj ADA, PDA in najmanj HCl. Pri odstranjevanju Cd pa so bili rezultati ravno nasprotni, najučinkovitejša je bila HCl, najmanj pa EDTA.

Ob uporabi EDTA se poveča premeščanje težkih kovin v rastline, vendar se v rastlino ne premestijo vse mobilne oblike težkih kovin. Premeščene oblike, ki jih rastlina absorbira, se običajno ne zadržujejo v koreninah, temveč po ksilemu potujejo v liste in poganjke. Količina premeščenih težkih kovin je odvisna od lastnosti kovin in od družine rastlin, ki jih absorbira. Rastline iz družine Brassicaceae (križnice) imajo močno zmožnost premeščanja težkih kovin iz onesnaženih tal v liste (Evangelou in sod., 2007). Po izvedbi pranja tal z EDTA se pojavlja vprašanje toksičnosti ostanka tega liganda na mikroorganizme v tleh (Grčman in sod., 2001) in na rastline, ki rastejo na opranih tleh. Epstein in sod. (1999) so z raziskavo potrdili, da se toksičnost EDTA na rastline kaže z občutnim zmanjšanjem rastlinske biomase.

### 3 MATERIALI IN METODE

Zasnovali smo kolonski poskus s testnimi rastlinami kitajskega kapusa (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis* Hanelt.), ki so v poskusu rasle 7 tednov. Poskus je bil izveden na Laboratorijskem polju, v rastlinjaku Biotehniške fakultete v Ljubljani.

#### 3.1 LASTNOSTI NEREMEDIIRANIH TAL

Z zasebnega zelenjavnega vrta v Mežiški dolini smo odstranili 30 cm zgornje plasti zemlje. Analiza osušenih talnih delcev, ki smo jih presejali skozi dvomilimetersko sito, je pokazala naslednje lastnosti tal: pH 6,9; 7,0 % organske snovi; 40,4 mg  $P_2O_5$ /100g tal; 6,1 mg  $K_2O$ /100 g tal in KIK (kationsko izmenjalno kapaciteto) 31 mmol<sub>c</sub>/100 g tal. Tla so karbonatna (70,7 %) z ilovnato teksturo.

#### 3.2 POSTOPEK REMEDIACIJE

Na onesnaženih tleh smo izvedli pranje tal s kelatnim ligandom  $Na_2$ -EDTA in sicer v treh različnih odmerkih, 10, 30 in 60 mmol  $Na_2$ -EDTA/kg suhih tal. 75 kg suhih tal smo v mešalcu betona ekstrahirali z raztopino EDTA, v razmerju 1:1. Mešali smo 2 uri. Nato smo tla obdelali s filtrirno prešo, da se je talna suspenzija ločila od pralne raztopine tal. Sledilo je spiranje tal z vodo za odstranjevanje mobilnih oblik težkih kovin, dokler v odcedni vodi ni bilo več prisotnega Pb, Zn in Cd. Po spiranju smo izvedli elektrolitsko razgradnjo pralne raztopine, pri kateri smo raztopino spustili skozi elektrolitske celice, ki so bile opremljene z grafitno anodo in nerjavečo katodo. Pri tem skozi raztopino steče približno 120 A visok električni tok, pri čemer se kovinski kompleks z EDTA oksidativno degradira, težke kovine pa z obarjanjem izloči iz raztopine. S tem smo zaključili pranje tal.

#### 3.3 ZASNOVA POSKUSA

Postavili smo kolonski poskus s 24 poskusnimi valjastimi posodami, 4 poskusna obravnavanja v šestih ponovitvah. Posode so bile visoke 18 cm in imele 15 cm premera. Napolnili smo jih s 3640 kg suhih tal. Testirali smo naslednja obravnavanja: osnovna onesnažena tla, tla oprana z 10 mmol EDTA/kg tal, tla oprana s 30 mmol EDTA/kg tal, tla oprana s 60 mmol EDTA/kg. Na dnu vsake posode je bila mreža, ki je preprečevala spiranje zemlje, skoznjo pa so bile speljane cevi v drugo plastično posodo, kamor se je odtekala odcedna voda posamezne posode. Zemljo v posodah smo pognojili s 150 mg/kg N in K v obliki  $NH_4NO_3$  in  $K_2SO_4$ . Po dveh tednih stabilizacije smo v posode posadili 3 tedne stare sadike kitajskega kapusa (*Brassica rapa* L. subsp. *pekinensis*). V vsako posodo smo posadili 1 sadiko, ki je nato rasla 7 tednov. Rastline smo vsak teden zalili s 500 ml destilirane vode. Odcedne vode iz posamezne posode smo pobirali vsak petek. Najprej smo pobrali odcedne vode netretiranih rastlin, nato rastlin, tretiranih s 10 mmol EDTA, sledilo je pobiranje odcednih voda rastlin, tretiranih s 30 mmol EDTA in na koncu še s 60 mmol EDTA. Merilne valje smo sproti čistili z destilirano vodo, natančneje med vsako serijo tretiranja. Zadnje odcedne vode smo pobrali 2. decembra, nato smo poskus zaključili.



Slika 1: Poskus

### 3.4 ZAKLJUČEVANJE POSKUSA

Najprej smo tik pri tleh odrezali nadzemni del rastline, ga slikali in stehtali. Nato smo ga očistili pod tekočo vodo, ga pospravili v papirnato vrečko in dali v sušilnico, kjer smo ga posušili. Kolone smo podirali po tretiranjih, najprej netretirano, nato tretirano z 10 mmol EDTA, 30 mmol EDTA in na koncu s 60 mmol EDTA. Celoten poskus smo podrli isti dan, v dveh delih. Najprej smo odrezali nadzemne dele netretiranih rastlin in rastlin tretiranih z 10 mmol EDTA. Ko smo podrli te kolone, smo porezali še nadzemne dele rastlin tretiranih s 30 mmol in 60 mmol EDTA. Ko smo rastlino stehtali, smo odstranili cevke, skozi katere je tekla voda v zbirne posode. Nato smo prerezali gumjasti trak, ki je bil pritrjen na sredino ogrodja s silikonom. Nazadnje smo ločili zgornji del ogrodja od spodnjega. Pri vseh na seznamu prvih rastlinah vsakega tretiranja (1, 3, 4, 8) smo posebej obravnavali zemljo v zgornjem delu ogrodja in zemljo iz spodnjega dela ogrodja, tako smo vzorce ločili in jih shranili v posamezne papirnate vrečke. Iz zemlje smo odstranili glavno korenino in čim več koreninskih laskov, to smo dali v plastične vrečke. Korenine smo površinsko sprali že v rastlinjaku, natančneje pa v laboratoriju s pomočjo cedila. Korenine smo nato slikali, pospravili v papirnate vrečke in posušili v sušilnici. Iz zemlje zgornjega in spodnjega dela ogrodja smo vzeli po 10 približno enako velikih strukturnih agregatov. S strukturnimi agregati smo nato opravili test obstojnosti strukturnih agregatov. Ostalo zemljo smo spravili v papirnate vrečke in jo dali v sušilnico. Na koncu smo površinsko pobrisali ogrodja posamezne rastline in jih stehtali. Ogrodje je bilo sestavljeno iz: dveh valjev, gumjastega

traku, treh cevkh in nastavkov za pritrdjevanje cevkh v podstavke, mrežice ter podstavka. Pribor, ki smo ga uporabljali, smo po podiranju vsake rastline pomili s tekočo vodo. V laboratoriju smo pomili ogrodje ter zbirne posode z razredčeno kislino, toplo vodo in krtačo.



Slika 2: Meritve nadzemnega dela kitajskega kapusa





Slika 3: Vzorčenje tal in korenin kitajskega kapusa

### 3.5 PRIPRAVA RASTLINSKIH VZORCEV

Prvi korak pri pripravi vzorcev listov po sušenju je mletje, ki smo ga opravili z Retschevim titanovim mlinčkom. Najprej smo temeljito očistili mlinček. Ko smo sestavili vse dele, smo vanj skozi odprtino počasi stresali delce kitajskega kapusa. Po mletju posameznega vzorca smo zunanost in sestavne dele mlinčka posesali s sesalcem, nato smo jih očistili še z acetonom. Zmlete vzorce smo hranili v neprodušno zaprti plastični vrečki.

### 3.6 PRIPRAVA KORENINSKIH VZORCEV

Po sušenju koreninskih vzorcev je sledilo mletje v ahatni terilnici, ki smo jo pred mletjem očistili z etanolom. Nekaj dušika smo iz jeklenke prelili v striporno posodo in pokrili s stiroporno ploščo, da je bilo doziranje lažje. Korenine smo dali v ahatno terilnico, prelili z malo dušika, počakali, da je dušik izhlapel, nato pa korenine strli. Pod terilnico smo imeli čist list papirja. Zmlete korenine smo pretresli v majhne lončke, ki so bili označeni s številko rastline. Terilnico smo po mletju posameznih vzorcev natančno obrisali z etanolom. Tako smo naredili za vseh 24 vzorcev korenin.

Priprava rastlinskih vzorcev za analizo kovin je bila izvedena po standardu SIST ISO 11466 (mikrovalovni razklop s kislino).

Najprej smo preverili natančnost tehtnice z utežmi. Na analitski tehtnici smo natehtali 0,3 g vzorca. Pri koreninskih vzorcih to ni bilo vedno možno, ker so bili nekateri vzorci premajhni, zato smo natehtali kolikor je bilo mogoče. Vzorec 25 je bil slepi vzorec, kamor smo dali le kislino. Nato smo posamezne vzorce previdno pretresli v mikrovalovne posodice (cevke), ki smo jih predhodno oštevilčili. Cevke smo rahlo potresli, da smo s sten cevke odstranili čim več vzorca. S pipeto smo odmerili 4 ml  $H_2NO_3$  in prelili vzorce. Nato smo cevko zopet narahlo potresli in tako premešali vzorce. Ko smo prelili zadnji vzorec, smo počakali 30 minut, da jih je kislina raztopila. Cevke smo prekrili z dvema pokrovčkoma. Z notranjim smo cevke pokrili, zunanjega, ki ima navoj, pa smo dodatno zatesnili z nastavkom.. Stojalo s cevkami smo postavili v mikrovalovno pečico in izbrali program »rastlinski xpress«. Po približno 25 minutah se je program zaključil. Stojalo smo vzeli iz mikrovalovne pečice in ga postavili v komoro, kjer smo ga pustili, da se malo ohladi. Ko je bilo ohlajeno, smo iz njega previdno izvlekli cevke in jih prestavili v namizno stojalo. Medtem, ko smo imeli cevke v mikrovalovni pečici, smo pripravili 25 mililitrske bučke, ki smo jih oštevilčili, puhalko z destilirano vodo ter lijček. Lijček smo po vsakem vzorcu pomili z navadno in destilirano vodo. V digestoriju smo previdno odvili pokrovček cevke in skozi lijček zlili vsebino v bučko. Nato smo cevko in notranji pokrovček poplaknili z malo destilirane vode ter to prelili v bučko. V bučko smo dodali do 25 ml destilirane vode (razen pri koreninskih vzorcih 7 in 22, kjer smo natehtali okoli 0,1g. Ta dva vzorca smo razredčili na 10 ml) . Cevke smo postavili v vodo in tako preprečili izhajanje hlapov dušikove kisline. V bučki smo vzorec premešali, nato pa ga prelili v oštevilčene steklene posodice. Posodice smo najprej poplaknili z majhno količino vzorca in jih očistili. To količino vzorca smo zavrgli. Preostali vzorec smo prelili v posodico in ga pokrili s parafinom.

### 3.7 MERITVE

Meritve kovin Pb, Zn in Cd v rastlinskih vzorcih in odcednih vodah so bili izvedene z atomskim absorpcijskim spektrofotometrom (AAS, Varian AA240FS) po standardu SIST ISO 11047. AAS smo sproti umerjali s standardnimi raztopinami in preverjali njegovo natančnost z merjenjem raztopin znanih koncentracij. Vzorce odcednih voda smo merili neposredno, brez priprave.

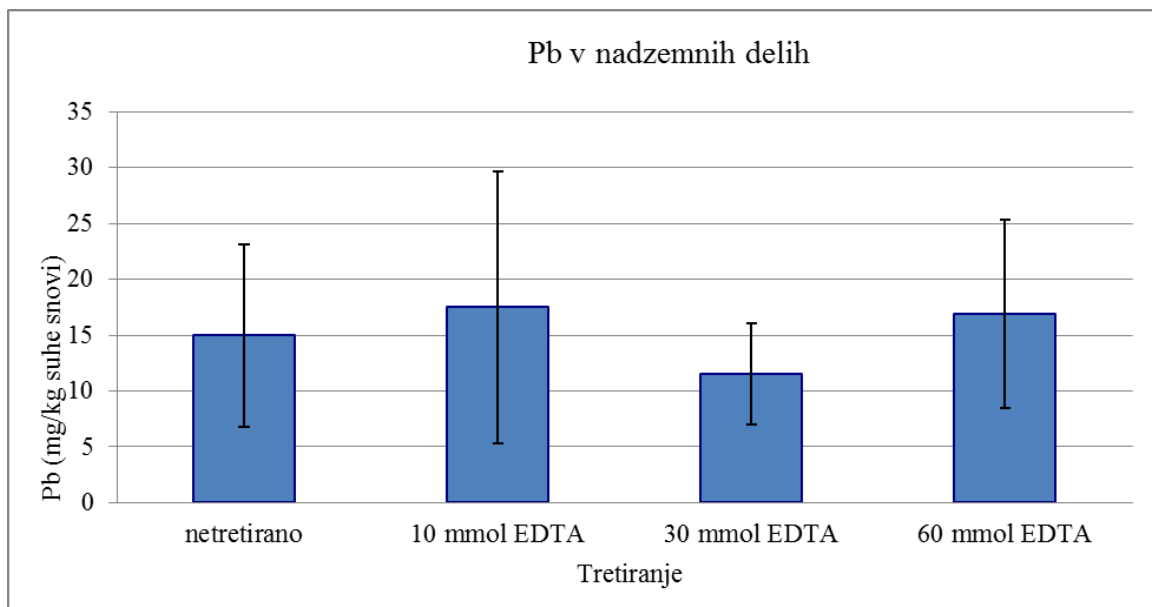
### 3.8 STATISTIČNA ANALIZA

Dobljene rezultate smo statistično obdelali v programu Excel. Rezultati, ki so prikazani v grafih, so podani s 95 % intervalom zaupanja.



## 4 REZULTATI IN RAZPRAVA

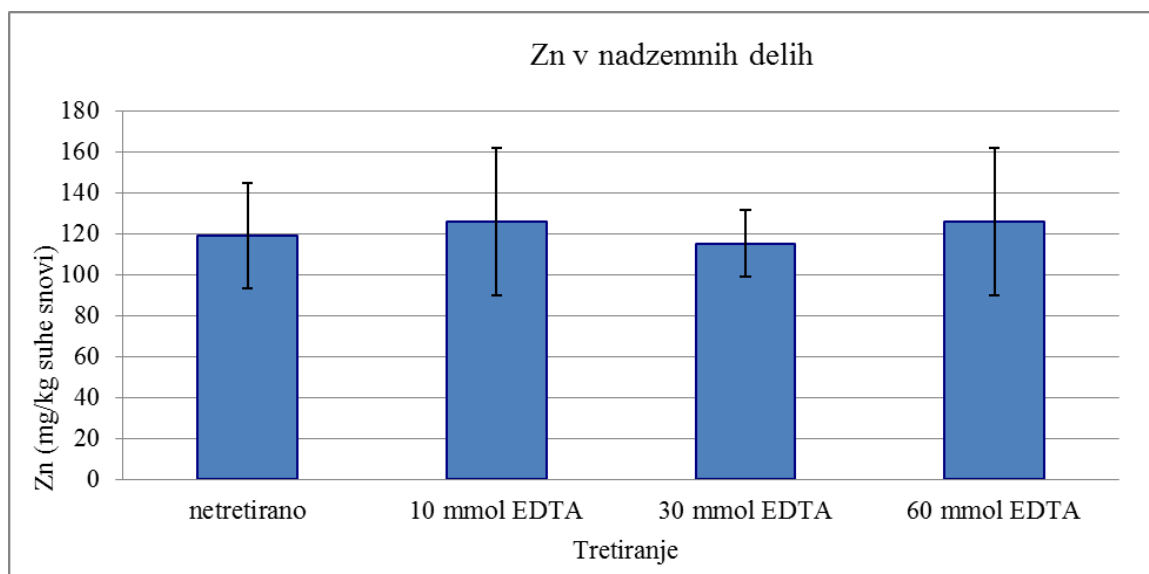
### 4.1 VSEBNOST Pb, Zn IN Cd V NADZEMNIH DELIH KITAJSKEGA KAPUSA



Slika 4: Vsebnost Pb (mg/kg suhe mase) v nadzemnih delih kitajskega kapusa na različno tretiranih tleh

Nadzemni rastlinski deli rastlin, ki so rasle na netretiranih tleh, so vsebovali od 6,47 do 25,89 mg Pb/kg suhe mase. V povprečju so tako vsebovali 14,96 mg Pb/kg suhe mase. Rastlinski deli kitajskih kapusov, ki so rasli na tleh, tretiranih z 10 mmol EDTA so vsebovali od 5,93 do 37,28 mg Pb/kg suhe mase, v povprečju pa 17,51 mg Pb/kg suhe mase. Najmanjša prisotnost svinca je bila pri rastlinskih delih kitajskih kapusov, ki so rasli na tleh, tretiranih s 30 mmol EDTA. Vsebnost Pb je bila od 6,40 do 18,99 mg Pb/kg suhe mase in je bila v povprečju 11,51 mg Pb/kg suhe mase. Izmerjene vrednosti med posameznimi ponovitvami so se pri tej skupini najmanj razlikovale. Na tleh, tretiranih s 60 mmol EDTA, je bila vsebnost Pb v rastlinskih delih kitajskega kapusa zopet večja. V povprečju je bila vrednost Pb 16,87 mg Pb/kg suhe mase, vrednosti pa so se raztezale od 9,62 mg/kg suhe mase do 29,72 mgPb/kg suhe mase. Največja vsebnost Pb je bila pri kitajskem kapusu, ki je rasel na tleh, tretiranih z 10 mmol EDTA (slika 4).

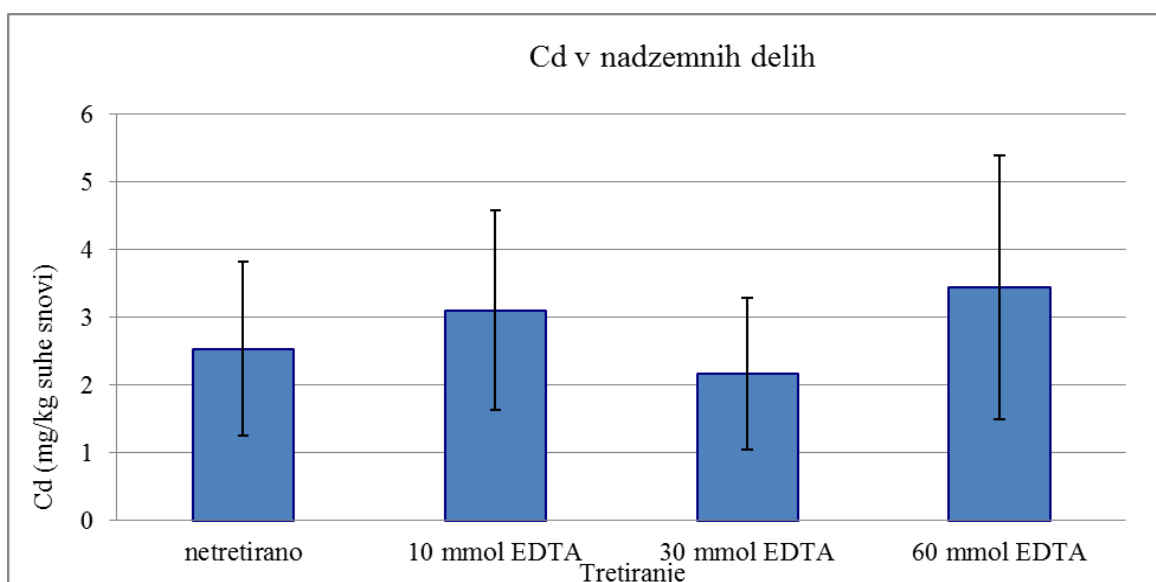
Največje vsebnosti Pb niso bile na netretiranih tleh, kot smo pričakovali. To lahko pripisujemo daljši časovni izpostavljenosti tal naravnim pojavom, kot sta dež in sneg, ki sta mobilne frakcije Pb spirala iz zemlje. Pranje tal z EDTA je mobiliziralo vezan Pb, ki je tako postal dostopen rastlinam.



Slika 5: Vsebnost Zn (mg/kg suhe mase) v nadzemnih delih kitajskega kapusa na različno tretiranih tleh

Največja povprečna količina Zn se je nakopičila v nadzemnih delih rastlin, ki so rasle na tleh, tretiranih s 60 mmol EDTA. Povprečna količina Zn je znašala 126,08 mg Zn/kg suhe mase. 115,32 mg Zn/kg suhe mase je bilo prisotnega v nadzemnih delih kitajskih kapusov, ki so rasli na tleh, tretiranih s 30 mmol EDTA, 126 mg Zn/kg suhe mase pa v rastlinah, ki so rasle na tleh, tretiranih z 10 mmol EDTA. 119,45 mg Zn/kg suhe mase se je nakopičilo v rastlinskih delih kitajskih kapusov, ki so rasli na netretiranih tleh (slika 5).

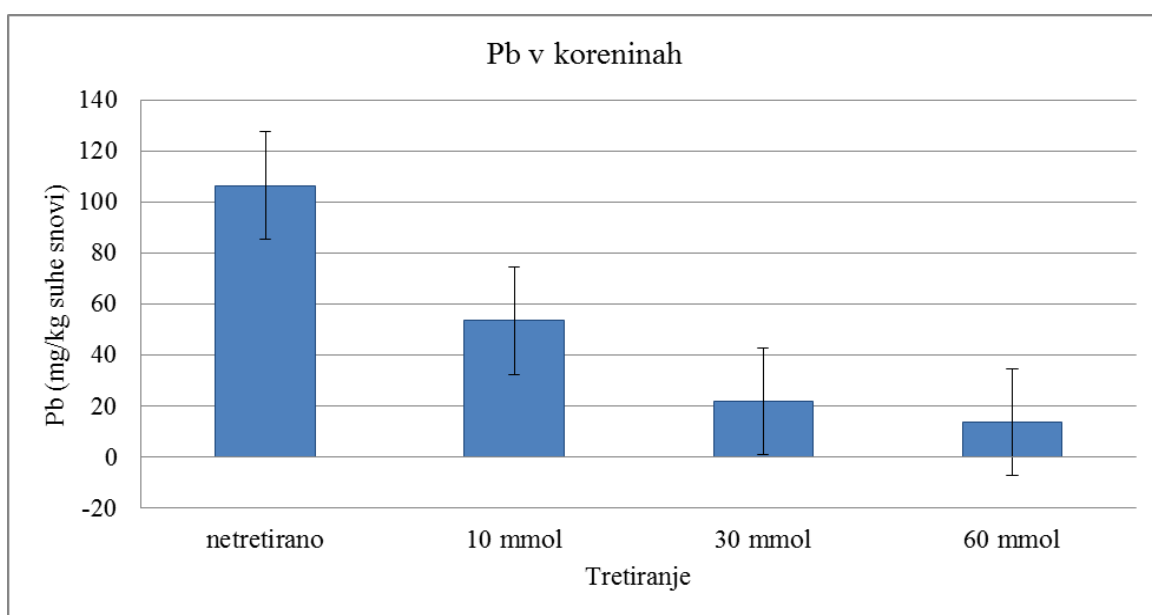
Končna vsebnost Zn v nadzemnih delih je bila večja kakor vsebnost Pb in Cd, kar lahko pripišemo slabši sposobnosti remediacije za Zn s pranjem tal.



Slika 6: Vsebnost Cd (mg/kg suhe mase) v nadzemnih delih kitajskega kapusa na različno tretiranih tleh

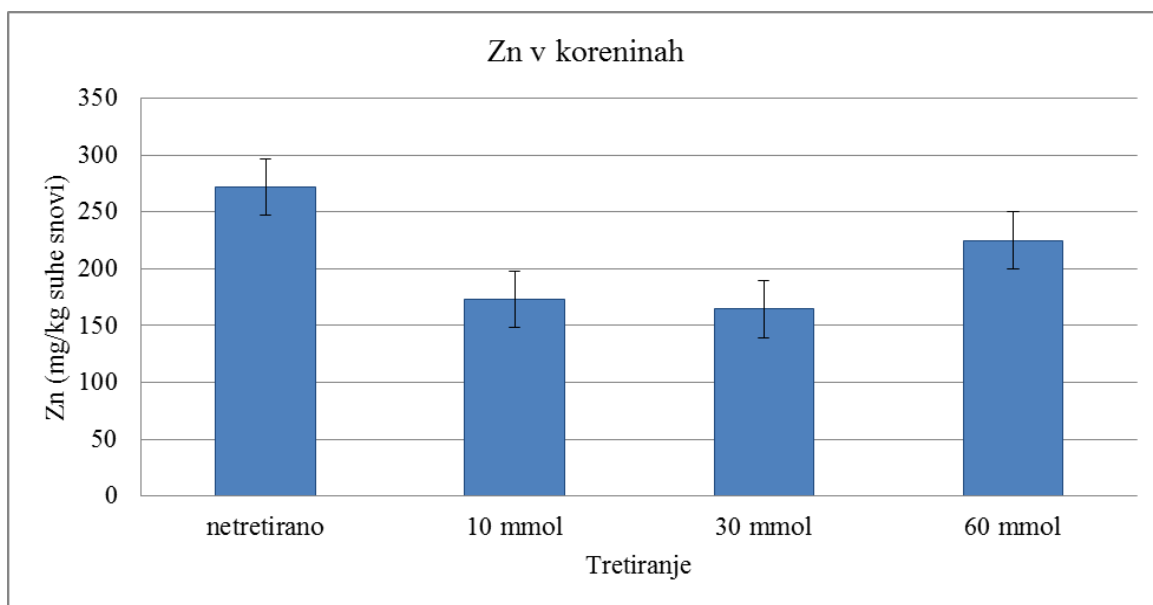
Vsebnost Cd v nadzemnih delih rastlin na netretiranih tleh se je gibala od 1,48 mg Cd/kg suhe mase do 4,35 mg Cd/kg suhe mase, v povprečju pa je znašala 2,54 mg Cd/kg suhe mase. Pri rastlinah, ki so rasle na tleh, tretiranih z 10 mmol EDTA, je bila vsebnost rahlo večja in sicer je znašala v povprečju 3,11 mg Cd/kg suhe mase. Najmanjše vsebnosti Cd v rastlinskih delih so bile v rastlinah, ki so rasle na tleh, tretiranih s 30 mmol EDTA. Povprečna vrednost je znašala 2,17 mg Cd/kg suhe mase. Največja vsebnost Cd pa je bila v rastlinah, ki so rasle na najbolj tretiranih (60 mmol EDTA) tleh in sicer 3,45 mg Cd/kg suhe mase (slika 6).

## 4.2 VSEBNOST Pb, Zn IN Cd V KORENINAH KITAJSKEGA KAPUSA



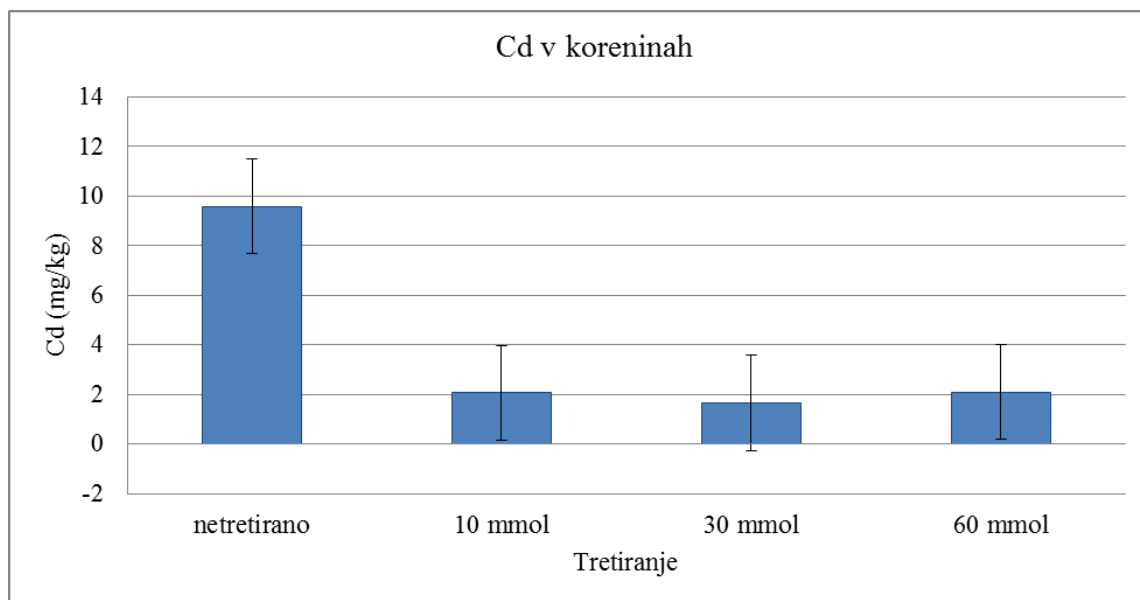
Slika 7: Vsebnost Pb (mg/kg suhe mase) v koreninah kitajskega kapusa na različno tretiranih tleh

Večje količine Pb so se nakopičile v koreninah, saj se ta element slabo premešča po rastlini iz korenin v nadzemne organe. Največ se ga je nakopičilo v rastlinah, ki so rasle na netretiranih tleh, povprečna vrednost je znašala 106,51 mg Pb/kg suhe mase. Manjša vsebnost je bila v rastlinah, ki so rasle na tleh, tretiranih z 10 mmol EDTA, vsebnost je bila 53,61 mg Pb/kg suhe mase. V koreninah rastlin, ki so rasle na tleh, tretiranih s 30 mmol EDTA pa je bila povprečna vrednost 21,97 mg Pb/kg suhe mase. Najmanjša vrednost Pb je bila v koreninah najbolj tretiranih tal, in sicer 13,76 mg Pb/kg suhe mase. Rezultati kažejo, da remediacija tal uspešno zmanjša sprejem Pb v korenine (slika 7).



Slika 8: Vsebnost Zn (mg/kg suhe mase) v koreninah kitajskega kapusa na različno tretiranih tleh

336,59 mg Zn/kg suhe mase je bila povprečna vsebnost Zn, ki smo jo izmerili v koreninah rastlin, ki so rasle na netretiranih tleh. V koreninah rastlin, ki so rasle na tleh, tretiranih s 30 mmol EDTA, smo izmerili najmanjšo vrednost Zn, ki je znašala 164,40 mgZn/kg suhe mase. V povprečju so korenine rastlin, ki so rasle na tleh, tretiranih z 10 mmol EDTA, vsebovale 172,92 mg Zn/kg suhe mase, korenine rastlin, ki so rasle na najbolj tretiranih tleh, pa 224,87 mg Zn/kg suhe mase (slika 8).

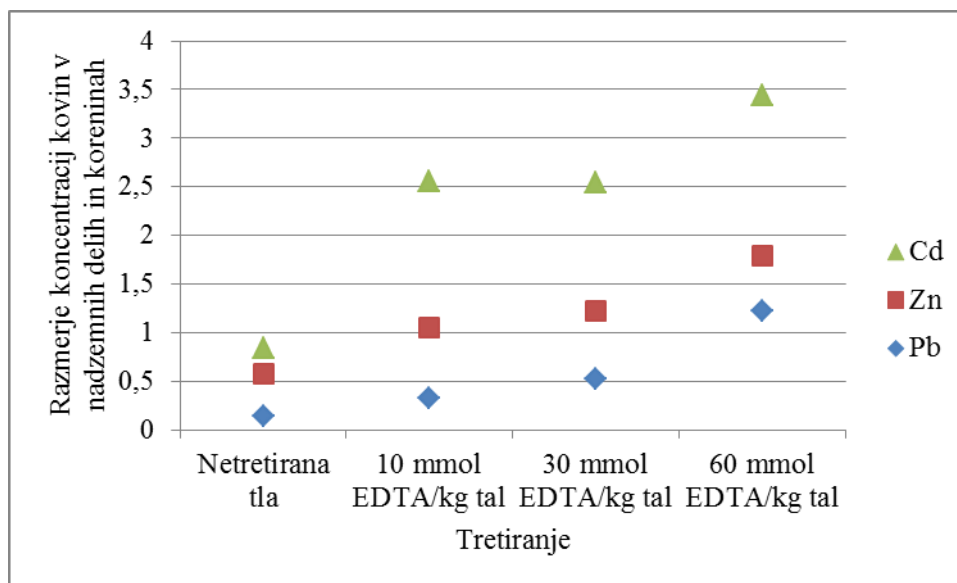


Slika 9: Vsebnost Cd (mg/kg suhe mase) v koreninah kitajskega kapusa na različno tretiranih tleh

Največja vsebnost Cd je bila prav tako kot pri ostalih elementih prisotna v koreninah rastlin, ki so rasle na netretiranih tleh. Najmanjša vsebnost je nastopila pri tleh, tretiranih s

30 mmol EDTA in je znašala 1,65 mg Cd/kg suhe mase. Rastline, ki so rasle na tleh, tretiranih z 10 mmol EDTA, so v koreninah nakopičile v povprečju 2,06 mg Cd/kg suhe mase. V koreninah rastlin, ki so rasle na najbolj tretiranih tleh je bila povprečna vsebnost Cd 2,10 mg Cd/kg suhe mase. Podobno kot za Pb remediacija tal uspešno zmanjšala sprejem Cd v korenine kitajskega kapusa (slika 9).

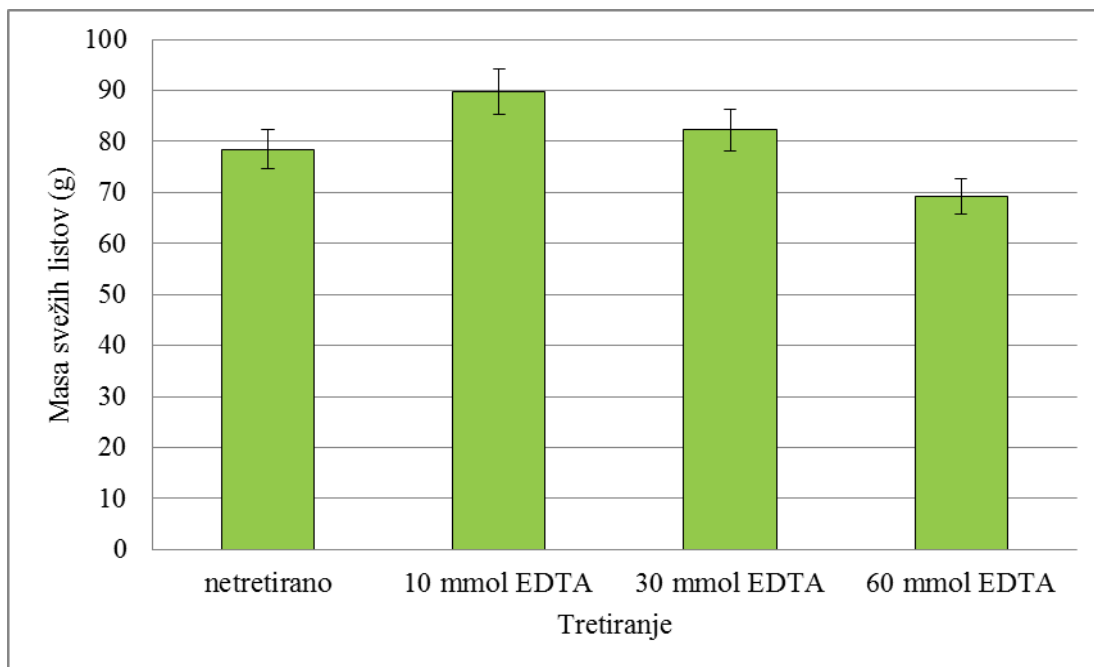
V koreninah rastlin, ki so rasle na netretiranih tleh, se je nakopičilo največ težkih kovin.



Slika 10: Prikaz razmerja med koncentracijo kovin v koreninah in listih

Vpliv dodatka EDTA na translokacijo kovin v nadzemne dele kaže slika 10. Vidimo lahko, da se je količnik med koncentracijo kovin v listih in koncentracijo kovin v koreninah večal z dodatkom EDTA. Izrazito je naraščal pri Pb, malo manj pri Cd, pri Zn pa je dosegel vrh že pri 10 mmol EDTA/kg tal. Z večanjem dodatka EDTA tlom se je pospešila translokacija kovin iz korenin v liste (slika 10).

### 4.3 MASA NADZEMNEGA DELA KITAJSKEGA KAPUSA



Slika 11: Povprečna masa svežih listov kitajskega kapusa (g) posameznih tretiranj

Najmanjšo povprečno maso (69,17 g) so imele rastline, ki so rasle na najbolj tretiranih tleh, kar lahko pripišemo dejstvu, da je bilo v teh rastlinah največja vsebnost Pb, Zn in Cd, ki lahko delujejo na rastline delujejo toksično. Ta tla so bila tretirana z največjim odmerkom EDTA, ki ima na rastlinsko maso enak učinek. Toksičen učinek EDTA za rastline je viden iz slike 11. Nasprotno pa so imele rastline, ki so rasle na tleh, tretiranih z 10 mmol EDTA, največjo povprečno maso, ki jo lahko pripišemo manjši vsebnosti Zn in Cd v koreninah (slika 11).

Rastline, ki so rasle na netretiranih tleh, so imele povprečno maso svežih listov 78,5 g. V koreninah teh rastlin je bila vsebnost Zn in Cd največja. Rastline, ki so rasle na tleh, tretiranih s 30 mmol EDTA, so imele povprečno maso 82,25 g. Te rastline so imele najmanjšo vsebnost težkih kovin v koreninah (slika 11).



Slika 12: Primerjava razvitosti kitajskega kapusa pri različnih odmerkih EDTA; pri vsakem obravnavanju smo izločili najbolj in najmanj razvito rastlino

Največ potenciala za kmetijsko rabo so imela tla, oprana s 30 mmol EDTA, saj je bila prisotnost Pb, Zn in Cd v nadzemnih delih rastlin, ki so rasle na teh tleh, najmanjša. Hkrati je bila masa listov kitajskega kapusa v povprečju manj kot 10 g manjša od največje. Zaradi preseganja normativnih vrednosti za vsebnost Pb in Cd v živilih, ta tla še niso primerna za takojšnje kmetijsko rabo (slika 12).

#### 4.4 VREDNOTENJE PRIDELKA

Za vsebnost Pb in Cd v sveži masi kapusnic imamo v Sloveniji predpisane mejne vrednosti. Te znašajo 0,30 mg Pb/kg sveže mase in 0,20 mg Cd/kg sveže mase. (Uredba o določitvi mejnih vrednosti..., 2006, Uredba o spremembi uredbe..., 2008)

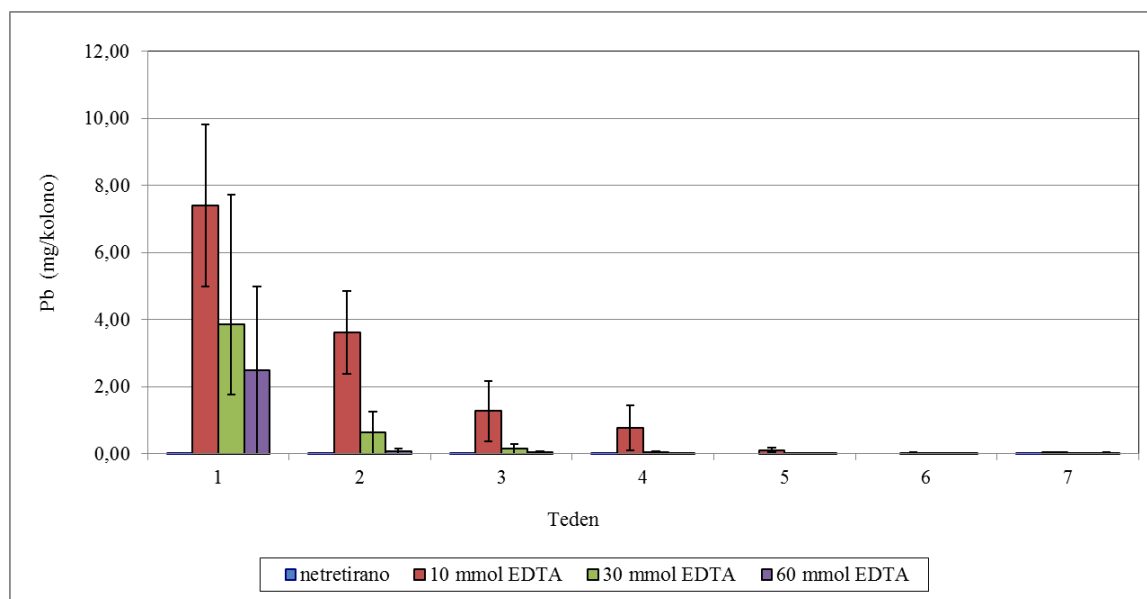
V spodnji preglednici so podane povprečne izvirne in na svežo maso preračunane vrednosti Pb in Cd v testnih rastlinah.

Preglednica 2: Povprečne vsebnost Pb in Cd v listih kitajskega kapusa po posameznih obravnavanjih; podane so vrednosti na suho in svežo snov

| Obravnavanje | mg Pb/kg suhe mase | mg Pb/kg sveže mase | mg Cd/kg suhe mase | mg Cd/kg sveže mase |
|--------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| netretirano  | 14,96              | 1,05                | 2,54               | 0,18                |
| 10 mmol EDTA | 17,51              | 1,23                | 3,11               | 0,22                |
| 30 mmol EDTA | 11,51              | 0,81                | 2,17               | 0,15                |
| 60 mmol EDTA | 16,87              | 1,18                | 3,45               | 0,24                |

Dovoljeno koncentracijo Pb presegajo vse testne rastline, saj je bila izvorna vsebnost Pb v tleh zelo velika. Manjša vsebnost Cd od dovoljene je bila pri listih rastlin, ki so rasle na netretiranih tleh in pri listih rastlin, ki so rasle na tleh, tretiranih s 30 mmol EDTA. Rastline, ki so bile vključene v poskus, ne bi bile primerne za človekovo prehrano.

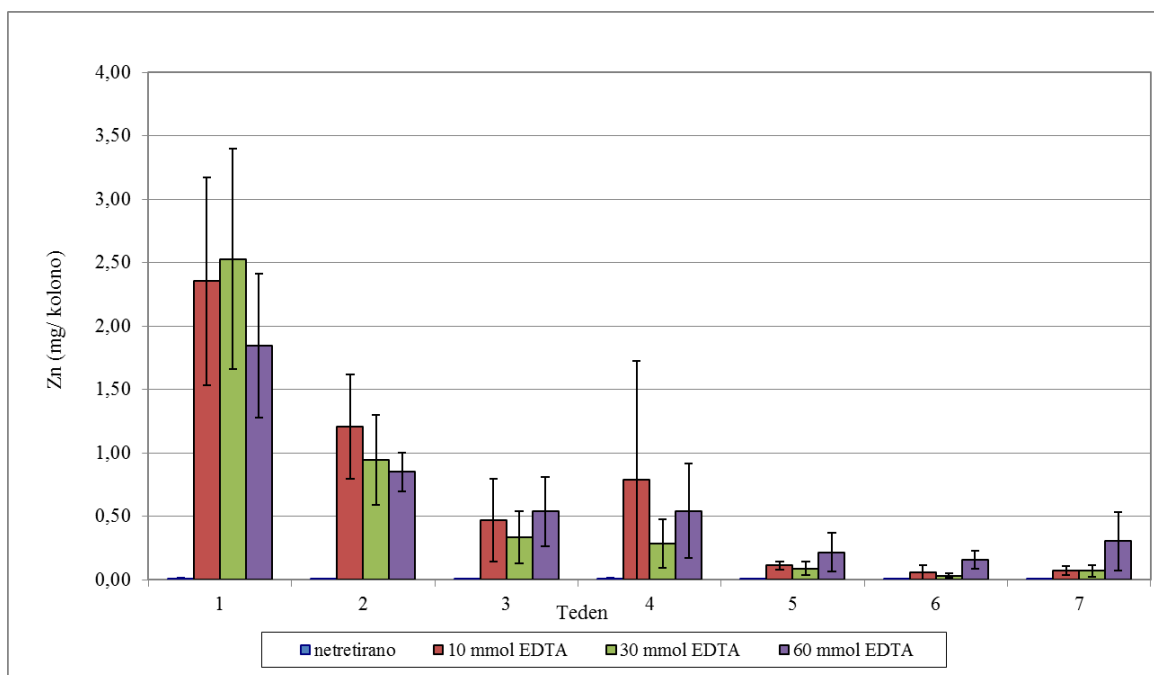
#### 4.5 VSEBNOST Pb, Zn IN Cd V ODCEDNIH VODAH



Slika 13: Vsebnost Pb (mg/ kolono) v odcednih vodah. Prikazane so vrednosti za posamezni teden poskusa

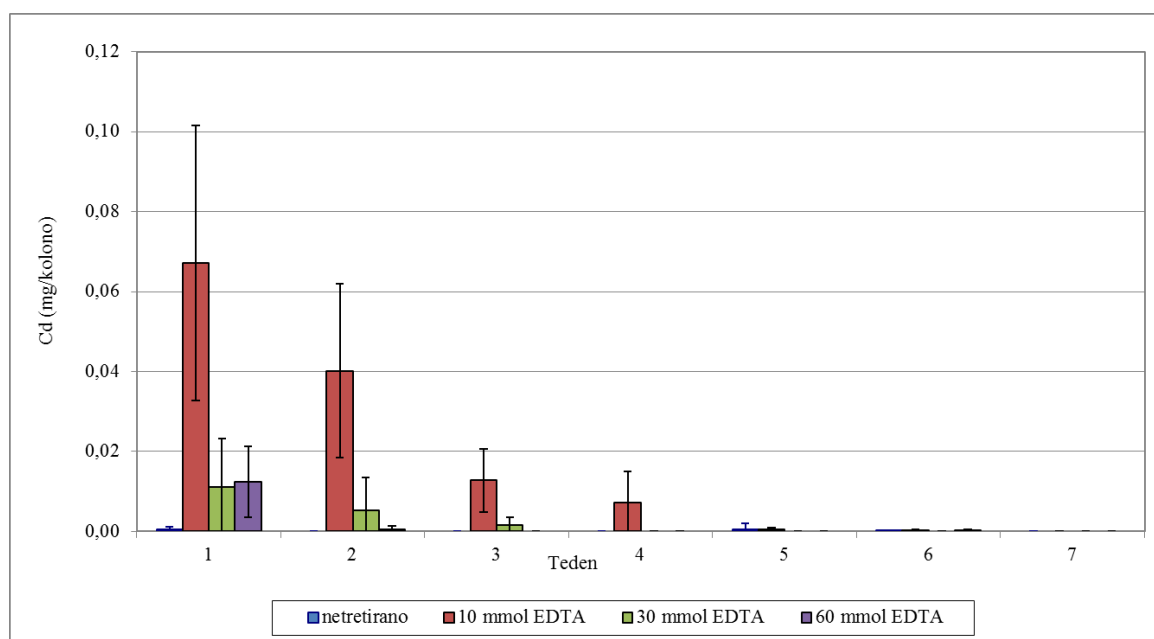
Vrednost Pb v odcednih vodah se je z vsakim zalivanjem rastlin (tednom poskusa) manjšala, saj so se mobilne oblike Pb spirale iz talnega profila ali pa so se premestile v rastline. Pričakovano so bile vrednosti težkih kovin v odcednih vodah največje v prvih tednih poskusa, nato pa so vrednosti močno upadle. Največ Pb se je spiralo iz tal, tretiranih z 10 mmol EDTA, kar kaže na dejstvo, da je dodana EDTA Pb mobilizirala ob hkratnem najmanjšem deležu odstranjenega Pb. Obstaja tudi možnost, da tla v postopku pranja niso bilo dobro sprana s čisto vodo (slika 13).





Slika 14: Vsebnost Zn (mg/ kolono) v odcednih vodah posamezni teden

Prvi teden poskusa se je največja vrednost Zn pojavila v tleh, tretiranih s 30 mmol EDTA, vendar se je nato zmanjšala. V prvem tednu je bilo spiranje iz teh tal močnejše kot iz ostalih, v naslednjih tednih pa se je največ Zn spralo iz tal, tretiranih z 10 mmol EDTA. Zadnji teden poskusa je bila vrednost Zn v odcednih vodah tal, tretiranih s 60 mmol EDTA, velika, možna je napaka pri meritvi ali pa je rezultat neenakomernega spiranja vode skozi talni profil v času poskusa (slika 14).



Slika 15: Vsebnost Cd (mg/ kolono) v odcednih vodah posamezni teden

Tudi izpiranje Cd je bilo najmočnejše iz tal, tretiranih z 10 mmol EDTA. Prisotnost Cd v odcednih vodah se je sčasoma močno zmanjšala. V zadnjem tednu Cd v odcednih vodah ni bil več prisoten (slika 15).

Povečano stopnjo spiranja kovin iz tal, tretiranih z 10 mmol EDTA, lahko pripišemo postopku pranja tal. V procesu pranja tal je bila faza spiranja tal verjetno opravljena pomanjkljivo, kar je imelo za posledico večjo količino mobiliziranih kovin v tleh in je vplivalo tako na intenziteto spiranja kovin iz tal kot na koncentracijo kovin v nadzemnih delih. Tudi koncentracija Pb v listih je bila največja pri obravnavanju 10 mmol EDTA/kg tal.

## 5 SKLEPI

S pranjem tal z ligandi spodbudimo spremembo mobilnosti težkih kovin v tleh.

Po pranju tal je potrebno še spiranje s čisto vodo, s katero odstranimo sproščene težke kovine. Uporabljena voda se v postopku pranja tal reciklira – kovine in EDTA se odstranijo, voda se ponovno uporabi. S poskusom, ki je opisan v diplomskem delu, smo želeli preveriti, koliko Pb, Zn in Cd se po pranju tal z EDTA in spiranju z vodo še lahko nakopiči v rastlinah ter koliko se jih z gravitacijsko vodo spere skozi talni profil.

Prišli smo do naslednjih ugotovitev in sklepov:

- Pranje z večjo koncentracijo EDTA bi moralo zagotavljati najmanjšo vsebnost težkih kovin v tleh in rastlinah. Ugotovili smo, da pranje tal z EDTA uspešno zmanjša vsebnost kovin v koreninah, medtem ko celo rahlo poveča njihovo vsebnost v listih. To pomeni, da prisotnost ostankov EDTA v tleh pospešuje translokacijo kovin iz korenin v nadzemne dele. To je še posebej izrazito, če tla v procesu remediacije niso dovolj sprana s čisto vodo, kot se je izkazalo pri obravnavanju z 10 mmol EDTA/kg tal.
- EDTA, predvsem večje koncentracije, je za rastline toksična, kar je pokazala masa listov po obravnavanju s 60 mmol EDTA/kg tal.
- Določen delež težkih kovin, ki je po naših predvidevanjih vezan z EDTA v stabilen kompleks, se je spral z gravitacijsko vodo. Rezultati so potrdili našo hipotezo, da je največja vsebnost težkih kovin v odcednih vodah prvega tedna poskusa. Drugi del te hipoteze pa so rezultati ovrgli. Najmanjše spiranje Pb, Zn in Cd je bilo pri netretiranih tleh. Razlog za to je dolgo obdobje izpostavljenosti teh tal naravnem čiščenju tal s padavinsko vodo.
- Zaradi previsokih vsebnosti Pb in Cd v nadzemnih delih rastlin, tako remediirana tla še ne bi bila primerna za uporabo v kmetijski namene.

## 6 POVZETEK

Prisotnost težkih kovin v tleh lahko predstavlja resen problem za zdravje ljudi, ki bivajo na onesnaženih območjih. V Sloveniji je več takih območij, med katerimi je najbolj znana predvsem Mežiška dolina. Tam v preteklosti močna železarska industrija, levji delež k onesnaženju pa je prispevala tudi topilnica svinca v Žerjavu, ki je v ozračje poleg SO<sub>2</sub> spuščala velike količine Pb, Zn in Cd. Vse to je pustilo na tleh svoj pečat.

Pb, Zn in Cd se vežejo v talni profil, iz katerega jih lahko odstranimo s pomočjo različnih remediacijskih postopkov.

Ločimo biološke in kemične postopke. Biološki so manj raziskani in manj učinkoviti, najbolj znani pa sta fitoremediacija in biološko izpiranje. Najenostavnejše so metode fizikalne separacije, najučinkovitejše pa metode kemične ekstrakcije. Zaradi svojih lastnosti je uspešen ligand EDTA, ki je pogosto uporabljena kislina v postopkih remediacije.

V naši raziskavi smo tla iz Mežiške doline, ki so onesnažena s Pb, Zn in Cd tretirali s 3 različnimi odmerki EDTA in sicer z 10 mmol EDTA/kg suhih tal, s 30 mmol EDTA/kg suhih tal in s 60 mmol EDTA/kg suhih tal. Zasnovali smo kolonski poskus s 24 poskusnimi rastlinami, ki so rasle 7 tednov. Glavni namen poskusa je bilo ugotoviti, koliko Pb, Zn in Cd se po pranju tal z EDTA nakopiči v posameznih rastlinskih delih kitajskega kapusa (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis* Hanelt.) ter koliko se jih izpere v odcedne vode pri različno tretiranih tleh. Pričakovali smo, da bo najmanj težkih kovin (Pb, Zn in Cd) prisotnih v rastlini kitajskega kapusa, ki je rasel na najbolj tretiranih tleh (60 mmol EDTA). Rezultati so to domnevo ovrgli, saj je bilo v nadzemnih delih teh rastlin v povprečju nakopičenih največ težkih kovin. To gre po našem mnenju pripisati učinkovanju EDTA na vezane oblike težkih kovin, saj se pri večji koncentraciji v tla sprosti večja količina kovin, zato je večja količina dostopna tudi rastlinam. Najmanjša vsebnost težkih kovin pa je bila v nadzemnih delih rastlin, ki so rasle na tleh, tretiranih s 30 mmol EDTA. Kljub temu ta tla še niso primerna za kmetijsko uporabo, saj so bile vsebnosti Pb in Cd v listih kapusa večje od dovoljenih. Pridelki listov kitajskega kapusa so bili najmanjši na tleh, tretiranih s 60 mmol EDTA, saj je večja koncentracija EDTA oziroma njenih kovinskih kompleksov za rastline toksična. Opazili smo tudi, da dodatek EDTA pospeši translokacijo kovin iz korenin v liste. Rezultati odcednih voda so potrdili le del naše hipoteze – največja vsebnost težkih kovin v odcednih vodah je bila v prvem tednu. Drugi del hipoteze pa smo ovrgli. Najmanjše spiranje težkih kovin je bilo iz netretiranih tal. Onesnaževanje podtalnice bi bilo tako najmanjše pri netretiranih tleh, saj v njih ni bilo prisotnih veliko mobilnih oblik težkih kovin, te so bile sprane že z gravitacijsko vodo padavin.

## 7 VIRI

- Chen Y., Xiangdong L., Zhenguo S. 2004. Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextracion process. *Chemosphere*, 57: 187-196
- Dermont G., Bergeron M., Mercier G., Richer-Lafléche M. 2008. Soil washing for metal removal: A review of physical/chemical technologies and field applications. *Journal of Hazardous Materials*, 152: 1–31
- Ehsan S., Prasher S.O., Marshall W.D. 2006. A washing procedure to mobilize mixed contaminants from soil. II. Heavy metals. *Journal of Environmental Quality*, 35: 2084–2091
- Elliott H.A., Shastri N.L. 1999. Extractive decontamination of metal polluted soils using oxalate. *Water, Air, Soil & Pollution*, 110: 335–346
- Elliot H.A., Brown G.A. 1989. Comparative evaluation of NTA and EDTA for extractive decontamination of Pb-polluted soils. *Water, Air, Soil & Pollution*, 45: 361–369
- Epstein, A.L., Gussman, C.D., Blaylock, M.J., Yermiyahu, U., Huang, J.W., Kapulnik, Y., Orser, C.S. 1999. EDTA and Pb–EDTA accumulation in Brassica juncea grown in Pb-amended soil. *Plant and Soil*, 208: 87–94
- Evangelou M.W.H., Ebel M., Schaeffer A. 2007. Chelate assisted phytoextraction of heavy Metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents. *Chemosphere*, 68: 989-1003
- Finžgar N. 2010. Washing of metal contaminated soil in a closed process loop. Doktorska disertacija, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 139 str.
- Finžgar N., Leštan D. 2008. The two phase leaching of Pb, Zn and Cd contaminated soil using EDTA and electrochemical treatment of the washing solution. *Chemosphere*, 73: 1484-1491
- Gosselin A., Blackburn D., Bergeron M. 1999. Assessment protocol of the applicability of ore-processing technology to treat contaminated soils, sediments and sludges, prepared for eco-technology innovation section technology development and demonstration program, Environment Canada  
<http://publications.gc.ca/collections/Collection/En40-542-5-1997E.pdf> (avgust 2012)
- Grčman, H., Velikonja-Bolta, S., Vodnik, D., Kos, B., Leštan, D. 2001. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching, and toxicity. *Plant and Soil*, 235: 105–114

- Grčman H., Vodnik D., Velikonja-Bolta S., Leštan D. 2003. Ethylenediaminedisuccinate as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction. *Journal of Environmental Quality*, 32: 500-506
- ISO 11047. Soil quality – Determination of cadmium, chromium, cobalt, copper, lead, manganese, nickel and zinc- Flame and electrothermal atomic absorption spectrometric methods. 1995: 29 str.
- ISO 11466. Soil quality- Extraction of trace elements soluble in aqua regia. 1995: 6 str.
- Isoyama M., Wada S.I. 2007. Remediation of Pb-contaminated soils by washing with hydrochloric acid and subsequent immobilization with calcite and allophanic soil. *Journal Hazardous Materials*, 143: 636–642
- Kuo S., Lai M.S., Lin C.W. 2006. Influence of solution acidity and  $\text{CaCl}_2$  concentration on the removal of heavy metals from metal-contaminated rice soils. *Environmental Pollution*, 144: 918-925
- Leštan D., Luo C., Li X. 2008. The use of chelating agents in the remediation of metal-contaminated soils: a review. *Environmental Pollution*, 153, 1: 3-13
- Lim T.T., Tay J.H., Wang J.Y. 2004. Chelating-agent-enhanced heavy metal extraction from a contaminated acidic soil. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 130: 59–66
- Lim T.T., Chui P.C., Goh K.H. 2005. Process evaluation for optimization of EDTA use and recovery for heavy metal removal from a contaminated soil. *Chemosphere*, 58: 1031-1040
- Moutsatsou A., Gregou M., Matsas D., Protonotarios V. 2006. Washing as a remediation technology applicable in soils heavily polluted by mining-metallurgical activities. *Chemosphere*, 63: 1632-1640
- Mulligan C.N., Yong R.N., Gibbs B.F. 1999. Removal of heavy metals from contaminated soil and sediments using the biosurfactant surfactin. *Journal of Soil Contaminations*, 8: 231-254
- Mulligan C.N., Yong R.N., Gibbs B.F. 2001. Heavy metal removal from sediments by biosurfactants, *Journal of Hazardous Materials*, 85: 111–125
- Mulligan C.N., Yong R.N., Gibbs B.F. 2001. An evaluation of technologies for the heavy metal remediation of dredged sediments. *Journal of Hazardous Materials*, 85: 145–163
- Pociecha M. 2012. Recikliranje liganda EDTA po ekstrakciji s kovinami onesnaženih tal. Doktorska disertacija, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 85 str.

- Pociecha M., Leštan D. 2010. Using electroagulation for metal and chelat separation from washing solution after EDTA leaching of Pb, Zn and Cd contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 174: 670-678
- Rascio N., Navari-Izzo F. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180: 169-181
- Rikers R.A., Rem P., Dalmijn W.L. 1998. Improved method for prediction of heavy metal recoveries from soil using high intensity magnetic separation (HIMS), *International Journal of Mineral Processing*, 54: 165-182
- Robinson B.H., Leblanc M., Petit D. 1998. The potential of *Thlaspi caerulescens* for phytoremediation of contaminated soils. *Plant and Soil*, 203: 47-56
- Steele M.C., Pichtel J. 1998. Ex-situ remediation of metal-contaminated superfund soil using selective extractants. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 124: 639- 640
- Tamura H., Honda M., Sato T., Kamachi H. 2005. Pb hyperaccumulation and tolerance in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Journal of Plant Research*, 118: 355-359
- Uredba komisije (ES) št 1881/2006 z dne 19. decembra 2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih. 2006. Uradni list Evropske unije, L 364: 5-24
- Uredba komisije (ES) št. 629/2008 z dne 2. julija 2008 os spremembi Uredbe komisije (ES) št 1881/2006 z dne 19. decembra 2006 o določitvi mejnih vrednosti nekaterih onesnaževal v živilih. 2008. Uradni list Evropske unije, L 173: 6-9
- Wasay S.A., Parker W.J., Van Geel P.J. 2001. Contamination of a calcareous soil by battery industry wastes. II. Treatment. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 28: 349-354

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem se mentorici za pomoč in posvečen čas.

Iskreno se zahvaljujem vsem mojim najbližjim.