

# Kemijska i toksikološka karakterizacija filtrata tla iz okolice TE Plomin

---

**Urošević, Tonći**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2015**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:921223>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO - MATEMATIČKI FAKULTET  
GEOLOŠKI ODSJEK

TONČI UROŠEVIĆ

**KEMIJSKA I TOKSIKOLOŠKA KARAKTERIZACIJA FILTRATA TLA  
IZ OKOLICE TE PLOMIN**

Diplomski rad  
predložen Geološkom odsjeku  
Prirodoslovno - matematičkog fakulteta  
Sveučilišta u Zagrebu  
radi stjecanja akademskog stupnja  
magistra geologije zaštite okoliša

Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Mineraloško-petrografskom zavodu Geološkog odsjeka pod vodstvom izvanredne profesorice dr. sc. Gordane Medunić, te na Botaničkom zavodu pod vodstvom doc. dr. sc. Sandre Radić Brkanac u okviru diplomskog studija Geologija zaštite okoliša na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

## ZAHVALA

*Zahvaljujem mentorici dr. sc. Gordani Medunić što mi je omogućila rad na ovoj zanimljivoj temi i na svim korisnim savjetima koje mi je pružala tijekom studija.*

*Posebnu zahvalu upućujem komentorici doc. dr. sc. Sandri Radić Brkanac na ukazanom povjerenju, savjetima i svestranoj pomoći prilikom izrade i pisanja rada. Također joj veliko hvala na strpljenju i vremenu koje je izdvajala kako bi mi bila na raspolaganju u svakome trenutku.*

*Veliko hvala tehničarki Valeriji Vujčić na nesebičnom trudu, susretljivosti i pomoći pri izradi eksperimentalnog dijela.*

*Također zahvaljujem svim djelatnicima Laboratorija za fiziologiju bilja te djelatnicima u laboratoriju Mineraloško-petrografskog zavoda koji su mi ustupili instrumente i pomogli u realizaciji rada.*

*Zahvaljujem doc. dr. sc. Viboru Roji na pomoći pri izradi analize teških metala i savjetima pri radu na ICP-u.*

*Posebno zahvaljujem svojim roditeljima i bratu na razumijevanju, savjetima i nesebičnoj potpori tijekom studija.*

*Veliko hvala svim dragim prijateljima i kolegama na njihovoj potpri i razumijevanju, posebno Kati i Nikoli, bez kojih studij ne bi prošao tako zabavno!*

*Rad posvećujem borbi za bolje sutra.*

## SADRŽAJ

<b>TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA</b> .....	<b>V</b>
<b>BASIC DOCUMENTATION CARD</b> .....	<b>VI</b>
<b>POPIS SLIKA</b> .....	<b>VII</b>
<b>POPIS TABLICA</b> .....	<b>VIII</b>
<b>POPIS PRILOGA</b> .....	<b>VIII</b>
<b>POPIS KRATICA</b> .....	<b>IX</b>
<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. LITERATURNI PREGLED</b> .....	<b>3</b>
2.1. Termoelektrane na ugljen .....	3
2.1.1. Ugljen.....	3
2.1.2. Energetska postrojenja na ugljen i njihov utjecaj na okoliš .....	4
2.1.3. Smještaj i karakteristike TE Plomin.....	7
2.2. Testovi toksičnosti .....	9
2.2.1. Lemna-test.....	10
2.2.2. Biokemijski pokazatelji .....	12
2.2.3. Otrovni kisikovi spojevi i radikali.....	12
2.2.4. Lipidna peroksidacija .....	13
2.2.5. Antioksidansi.....	14
2.2.6. Karotenoidi.....	14
2.2.7. Glutation.....	15
2.2.8. Peroksidaze i katalaza .....	15
2.3. Pregled dosadašnjih istraživanja .....	16
<b>3. OBILJEŽJA ISTRE I ISTRAŽIVANOG PODRUČJA</b> .....	<b>19</b>
3.1. Geografski položaj i klimatska obilježja Istre .....	19
3.2. Geologija Istre .....	20
3.2.1. Regionalna podjela.....	20
3.2.2. Stratigrafske značajke .....	21
3.3. Geologija istraživanog područja .....	24
3.3.1. Interpretacija Osnovne geološke karte – list Labin.....	24
3.3.2. Tektonsko – geomorfološke značajke.....	25
3.3.3. Hidrogeološke karakteristike .....	26
3.4. Tla istraživanog područja.....	28
3.4.1. Postanak i klasifikacija tala .....	28
3.4.2. Tla istraživanog područja .....	29
<b>4. METODE ISTRAŽIVANJA</b> .....	<b>31</b>
4.1. Terensko istraživanje.....	31
4.2. Priprema filtrata tla .....	32
4.3. Kemijska analiza.....	33
4.3.1. Priprema filtrata tla i biljnog materijala za određivanje sadržaja elemenata tehnikom ICP-AES .....	33
4.3.2. Određivanje sadržaja metala tehnikom ICP-AES.....	33

4.3.3.	Određivanje sadržaja kationa i aniona ionskom kromatografijom .....	35
4.4.	Kultura vodene leće ( <i>Lemna minor</i> L.) u uvjetima in vitro .....	35
4.5.	Lemna-test i biokemijski pokazatelji u vodenoj leći.....	37
4.5.1.	Lemna-test (ISO 20079) – stopa rasta vodene leće.....	37
4.5.2.	Određivanje sadržaja pigmenata u vodenoj leći.....	38
4.5.3.	Određivanje sadržaja malondialdehida u vodenoj leći .....	38
4.5.4.	Određivanje sadržaja neproteinskih tiola .....	39
4.5.5.	Ekstrakcija topivih proteina i aktivnost katalaze i peroksidaza u vodenoj leći .....	39
4.6.	Statistička obrada podataka .....	40
<b>5.</b>	<b>REZULTATI.....</b>	<b>41</b>
5.1.	Kemijska analiza filtrata tla i biljnog materijala .....	41
5.1.1.	Sadržaj metala u filtratima tla i laboratorijskoj kontroli .....	41
5.1.2.	Sadržaj metala u biljnom materijalu .....	42
5.1.3.	Sadržaj kationa i aniona u filtratima tla i laboratorijskoj kontroli .....	43
5.2.	Makroskopske promjene .....	44
5.2.1.	Stopa rasta biljaka .....	44
5.2.2.	Sadržaj klorofila i karotenoida .....	46
5.2.3.	Sadržaj neproteinskih tiola .....	47
5.2.4.	Sadržaj malondialdehida (MDA) .....	48
5.2.5.	Sadržaj ukupnih proteina .....	49
5.2.6.	Aktivnost askorbat peroksidaze .....	50
5.2.7.	Aktivnost katalaze .....	51
<b>6.</b>	<b>RASPRAVA.....</b>	<b>52</b>
<b>7.</b>	<b>ZAKLJUČAK .....</b>	<b>58</b>
<b>8.</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>60</b>
<b>9.</b>	<b>PRILOZI.....</b>	<b>70</b>

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno - matematički fakultet  
Geološki odsjek

Diplomski rad

### KEMIJSKA I TOKSIKOLOŠKA KARAKTERIZACIJA FILTRATA TLA IZ OKOLICE TE PLOMIN

TONČI UROŠEVIĆ

Rad je izrađen na Mineraloško-petrografskom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 95, 10 000 Zagreb, Republika Hrvatska, te na Botaničkom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilište u Zagrebu, Roosveltov trg 6, 10 000 Zagreb, Republika Hrvatska

**Sažetak:** Cilj ovog rada bio je kemijska i toksikološka karakterizacija vodenih filtrata tla iz bliže okolice TE Plomin pomoću biotesta na vodenoj leći (*Lemna minor* L.). Kemijska analiza vodenih ekstrakata i biljnog materijala obavljena je emisijskom spektrometrijom (ICP) i ionskom kromatografijom, a analizirani parametri bili su pojedini metali, sulfati i drugi ioni. Toksikološka analiza napravljena je Lemna-testom (test inhibicije rasta) te su kao indikatori toksičnosti mjereni pojedini biokemijski pokazatelji - sadržaj klorofila i karotenoida, sadržaj malondialehida, sadržaj glutationa, sadržaj ukupnih proteina te aktivnost antioksidacijskih enzima (katalaza i askorbat peroksidaza). Shema uzorkovanja sastojala se od zrakasto položenog profila dugog 800 m, položenog u smjeru jugozapada (JZ) sukladno smjeru prevladavajućeg zračnog strujanja gdje je prikupljeno 20 uzoraka na udaljenostima 200, 300, 400 i 800 m od glavnog dimnjaka TE Plomin. Rezultati istraživanja pokazali su povišene koncentracije pojedinih teških metala u usporedbi s laboratorijskom i terenskom kontrolom, međutim povezanost između distribucije ispitivanih parametara i udaljenosti od izvora onečišćenja nije jasno dokazana. Svi parametri fitotoksičnosti, izuzev malondialdehida, pokazali su statistički značajnu razliku u odnosu na laboratorijsku i terensku kontrolu. Rezultati biokemijskih pokazatelja toksičnosti ukazuju na relativno nepovoljan utjecaj TE Plomin na okolni ekosustav.

**Ključne riječi:** termoelektrana Plomin (TEP), tlo, ugljen, *Lemna minor*, toksičnost, ICP, biokemijski pokazatelji

**Rad sadrži:** IX+73 stranice, 18 slika, 7 tablica, 81 literaturni navod

**Jezik izvornika:** hrvatski

Rad je pohranjen u: Središnjoj geološkoj knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10 000 Zagreb, Republika Hrvatska

**Mentori:** dr. sc. Gordana Medunić, izvanredni profesor  
dr. sc. Sandra Radić Brkanac, docentica

**Ocjenjivači:** dr. sc. Gordana Medunić, izvanredni profesor  
dr. sc. Sandra Radić Brkanac, docentica  
dr. sc. Damir Bucković, izvanredni profesor

**Rad prihvaćen:** 09. siječnja 2015.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Geology

Master Thesis

### CHEMICAL AND TOXICOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SOIL WATER EXTRACTS FROM THERMAL POWER PLANT PLOMIN AREA

TONČI UROŠEVIĆ

Thesis completed at the Division of Mineralogy and Petrology, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 95, 10 000 Zagreb, Croatia and Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb, Rooseveltov trg 6, 10 000 Zagreb, Croatia

**Abstract:** The aim of this thesis was chemical and toxicological characterization of soil water extracts around thermal power plant Plomin (TPP) using duckweed (*Lemna minor* L.) bioassay method. Chemical analysis of soil water extracts and plant material was determined by measuring different parameters such as heavy metals, sulphates and other ions using atomic emission spectrometry (ICP) and ionic chromatography. *L. minor* growth inhibition test was used in toxicology analysis. The chlorophylls and carotenoids, malondialdehyde, glutathione and protein contents as well as ascorbate peroxidase and catalase activity were monitored as phytotoxic parameters in duckweed. Sampling scheme consisted of radially directed profile of 800 m in the southwest (SW) direction, selected in accordance with the prevailing wind where 20 samples of soil were taken at a distance of 200, 300, 400 and 800 m from thermal power plant Plomin. The results showed elevated levels of certain heavy metal concentrations compared to the laboratory and field control samples, but the connection between distribution of analysed contaminants and the vicinity of the TPP was not clearly established. The results of phytotoxic indicators showed relatively negative influence of TPP Plomin on the environment since all parameters except malondialdehyde were statistically significant compared to laboratory and field controls.

**Key words:** Thermal power plant, soil, coal, *Lemna minor*, toxicity, ICP, biomarkers

**Thesis contains:** IX+73 pages, 18 figures, 7 tables, 81 references

**Original in:** Croatian

**Thesis deposited in:** Central geological library, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10 000 Zagreb, Croatia

**Supervisors:** Gordana Medunić, PhD, Associate Professor  
Sandra Radić Brkanac, PhD, Assistant Professor

**Reviewers:** Gordana Medunić, PhD, Associate Professor  
Sandra Radić Brkanac, PhD, Assistant Professor  
Damir Bucković, PhD, Associate Professor

**Thesis accepted:** January 9, 2015



## POPIS SLIKA

<b>Slika 1.</b> Geografski prikaz lokacije TE Plomin.....	7
<b>Slika 2.</b> Odlagalište pepela i šljake iz TE Plomin.....	8
<b>Slika 3.</b> <i>Lemna minor</i> L.....	11
<b>Slika 4.</b> Shematski prikaz kolonije i dijelova vodene leće ( <i>Lemna minor</i> L.).....	12
<b>Slika 5.</b> Geomorfološka podjela Istre.....	21
<b>Slika 6.</b> Površinska rasprostranjenost izdvojenih megasekvencija u Istri.....	22
<b>Slika 7.</b> Profil tla.....	28
<b>Slika 8a.</b> Prikaz lokacije uzorkovanja kontrolnog tla (Mošćenička draga).....	31
<b>Slika 8b.</b> Prikaz točaka uzorkovanja na profilu 800 m od TE Plomin.....	32
<b>Slika 9.</b> Shematski prikaz uzorkovanja.....	32
<b>Slika 10.</b> Makroskopske promjene u vodenoj leći.....	44
<b>Slika 11.</b> Stopa rasta broja biljaka, mase svježe tvari (FW) i mase suhe tvari (DW) vodene leće.....	45
<b>Slika 12.</b> Sadržaj klorofila <i>a</i> i <i>b</i> te ukupnih karotenoida u vodenoj leći .....	46
<b>Slika 13.</b> Sadržaj tiola u vodenoj leći.....	47
<b>Slika 14.</b> Sadržaj malondialdehida u vodenoj leći .....	48
<b>Slika 15.</b> Sadržaj ukupnih proteina u vodenoj leći .....	49
<b>Slika 16.</b> Aktivnost askorbat peroksidaze u vodenoj leći .....	50
<b>Slika 17.</b> Aktivnost katalaze u vodenoj leći.....	51

## POPIS TABLICA

<b>Tablica 1.</b> GPS lokacije uzorkovanja .....	31
<b>Tablica 2.</b> Parametri instrumentalne analize za ICP-OES.....	34
<b>Tablica 3.</b> Parametri instrumentalne analize za ionsku kromatografiju. ....	35
<b>Tablica 4.</b> Sastav hranjivih podloga po Pirsonu i Seidelu (1950) i Steinbergu (1946) .....	36
<b>Tablica 5.</b> Sadržaj metala u filtratima tla .....	41
<b>Tablica 6.</b> Sadržaj metala u vodenoj leći.....	42
<b>Tablica 7.</b> Sadržaj kationa i aniona u filtratima tla. ....	43

## POPIS PRILOGA

- Prilog 1.** Karakteristike različitih vrsta ugljena
- Prilog 2.** Karakteristike uvoznog kamenog ugljena
- Prilog 3.** Osnovna geološka karta SFRJ - List Labin (L 33-101)
- Prilog 4.** Pregledna hidrogeološka kompilacijska karta.

## POPIS KRATICA

AES	...	atomska emisijska spektrometrija
CFC	...	klorofluorouglijci (eng. <i>chlorofluorocarbon compounds</i> )
DW	...	masa suhe tvari (eng. <i>Dry weight</i> )
EDTA	...	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
FGC	...	<i>Flue gas conditioning</i>
FW	...	masa svježe tvari (eng. <i>Fresh weight</i> )
ICP	...	induktivno spregnuta plazma (eng. <i>Inductively coupled plasma</i> )
ISO	...	<i>International Standard Organization</i>
KAT	...	katalaza
LK	...	laboratorijska kontrola
MDA	...	malondialdehid
OGK	...	Osnovna geološka karta
PAH	...	policiklički aromatski ugljikovodici (eng. <i>Polycyclic aromatic hydrocarbons</i> )
ROS	...	reaktivni kisikovi oblici (eng. <i>Reactive oxygen species</i> )
TE	...	termoelektrana
TK	...	terenska kontrola
TPP	...	<i>Thermal Power Plant</i>
XRD	...	rentgenska difrakcija

## 1. UVOD

Ljudska populacija stoljećima koristi ugljen kao izvor topline. Nastankom modernog društva i razvojem gospodarstva, ugljen je dobio novu primjenu - u proizvodnji električne energije. Izgradnja energetske tvornice koje sagorijevanjem ugljena proizvode dovoljne količine električne energije kako bi se zadovoljile potrebe današnjeg društva, izazvala je veliko opterećenje za okoliš. Sagorijevanjem ugljena u okoliš se ispuštaju različite vrste potencijalno toksičnih organskih i anorganskih tvari u obliku heterogene smjese stakleničkih plinova, šljake i pepela. Jedan dio tih tvari raspršuje se direktno u atmosferu kao lebdeći pepeo, dok dio zaostaje kao teški talog na dnu peći. Potencijalno toksični elementi samo djelomično su vezani za ove čestice pa se pod utjecajem atmosferilija lako mobiliziraju u tlo, površinske i podzemne vode, dok štetni plinovi poput CO<sub>2</sub>, SO<sub>x</sub>, NO<sub>x</sub> i druge opasne hlapljive tvari dopijevaju u atmosferu gdje se uz pomoć vjetrova lako prenose u udaljenija područja. Jedna od takvih elektrana koja kao gorivo koristi kameni ugljen je i termoelektrana Plomin (TE Plomin) koja se nalazi nedaleko od mjesta Plomin na jugistočnom dijelu Istarskog poluotoka. Posljednjih pedesetak godina je ova elektrana svojim radom bitno utjecala na lokalni ekosustav.

Cilj ovog rada je kemijska i toksikološka karakterizacija vodenih filtrata tla koje je bilo pod utjecajem lebdećeg pepela i šljake nastalih izgaranjem kamenog ugljena kao energenta u TE Plomin. Interpretacijom dobivenih podataka utvrdio bi se utjecaj prevladavajućih zračnih strujanja na raspodjelu analiziranih onečišćujućih tvari. Usporedbom s kontrolnim tlom bit će procijenjen utjecaj geološke podloge na kemizam istraživanog tla.

Shema uzorkovanja sastojala se od zrakasto položenog profila dugog 1000 m, položenog u smjeru jugozapada sukladno smjeru prevladavajućeg zračnog strujanja. Uzorci tla pripremljeni su za obradu u laboratoriju Mineraloško-petrografskog zavoda Geološkog odsjeka Prirodoslovno – matematičkog fakulteta. U Laboratoriju za fiziologiju bilja Biološkog odsjeka Prirodoslovno – matematičkog fakulteta pripremljene su vodene otopine tla za potrebe određivanja toksikološkog potencijala putem Lemna testa (test inhibicije rasta). Izuzev Lemna testa, mjereni su i biokemijski pokazatelji koji se koriste kao indikatori toksičnosti: sadržaj klorofila i karotenoida, sadržaj malondialdehida (indikator oštećenja biomembrana), sadržaj neproteinskih

tiola (reducirani glutation), sadržaj ukupnih proteina te aktivnost antioksidacijskih enzima (katalaza i askorbat peroksidaza). Kemijska analiza vodenih ekstrakata i biljnog materijala obavljena je metodom emisijske spektrometrije (ICP) u laboratoriju Zavoda za ekologiju i uzgajanje šuma pri Šumarskom fakultetu te metodom ionske kromatografije u Glavnom vodnogospodarskom laboratoriju Hrvatskih voda.

Dobiveni podaci uspoređeni su sa kontrolnim vrijednostima (laboratorijska (LK) i terenska kontrola (TK)) te podacima iz literature. Rezultati analize obrađeni su pomoću statističkog računalnog programa *Statistica* radi utvrđivanja odnosa među ispitivanim uzorcima i mjerenim parametrima, te radi procjene utjecaja vodenih ekstrakata na modelne organizme kako bi se potvrdio eventualni utjecaj produkata sagorijevanja ugljena TE Plomin na okolno tlo.

## 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Termoelektrane na ugljen

#### 2.1.1. Ugljen

Ugljen je sedimentna, biogena stijena koja u svom sastavu sadrži najviše ugljika, kisika i vodika. Nastao je procesima pougljenjivanja, odnosno karbonizacije, fosiliziranih biljnih ostataka koje su milijunima godina bile izložene visokim tlakovima i temperaturama. Formiranjem ugljena, u njegovu kristalnu rešetku ugrađuju se i različite onečišćujuće tvari iz okolnih stijena i sedimenata, uključujući sumpor, živu, arsen, olovo, nikal i druge potencijalno štetne elemente u tragovima<sup>1</sup> (EH&E, 2011). Procesom sagorijevanja ugljena dolazi do oslobađanja ovih elemenata i njihova ispusta u okoliš što predstavlja veliku opasnost za zdravlje živih organizama i prirodnu ravnotežu općenito.

Obzirom na kvalitetu (toplinsku moć) te sadržaj vlage i pepela ugljen se može podijeliti u četiri kategorije: (1) antracit; (2) bituminozni ugljen; (3) subbituminozni ugljen i (4) lignit. Antracit ima najkvalitetnije karakteristike i najveću toplinsku vrijednost, dok je lignit najmanje kvalitetan (EH&E, 2011). Bituminozni i subbituminozni ugljeni najčešće se koriste u termoelektranama za dobivanje električne energije. Bituminozni ugljeni sadrže mineral pirit, bogat željezom i sumporom, koji uz sebe primarno veže arsen i živu. S druge strane, subbituminozni ugljeni imaju manji udio sumpora pa se stoga češće koriste u termoelektranama kako bi se smanjila emisija sumporova dioksida u atmosferu. Usporedbom srednjih vrijednosti koncentracija HAP-ova (eng. *Hazardous air pollutants*) u ove dvije vrste ugljena, može se primjetiti da bituminozni ugljeni sadrže dva do tri puta više onečišćivača, ali im je toplinska moć veća (Prilog 1). Sukladno tome, potrebna je veća količina subbituminoznog ugljena kako bi se proizvela jednaka količina električne energije što zbog žive nije povoljno za okoliš (EH&E, 2011).

---

<sup>1</sup> Pojmom elementi u tragovima opisuje se skupina elemenata čija ukupna zastupljenost u okolišu iznosi manje od 1% (npr. B, Cl, Co, Cr, Cu, F, I, Mn, Mo, Se, Zn, Sr itd.) (Nalbandian, 2012).

### 2.1.2. Energetska postrojenja na ugljen i njihov utjecaj na okoliš

Termoelektrane na ugljen su energetska postrojenja koja energiju za proizvodnju električne energije dobivaju sagorijevanjem ugljena. U najširem smislu, njihova uloga je proizvodnja i transformacija primarnih oblika energije u koristan rad koji se potom koristi za dobivanje električne energije. Jedan od najvećih problema ovakvih energetskih tvornica je ispušt produkata sagorijevanja ugljena u okoliš, kako u atmosferu, tako i u tlo te površinske i podzemne vode. Međutim, unos štetnih tvari u okoliš događa se i tijekom rudarenja, čišćenja i transporta ugljena, a ugljeni pepeo koji ostane nakon spaljivanja odlaze se kao kruti otpad u kojem još uvijek postoji određeni udio raznih onečišćivača (Keating, 2001).

Sagorijevanjem ugljena u termoelektranama, u atmosferu se direktno emitiraju štetni staklenički plinovi poput ugljikova dioksida ( $\text{CO}_2$ ), dušikovih oksida ( $\text{NO}_x$ ), sumporovih oksida ( $\text{SO}_x$ ), klorofluorougličinih plinova (CFC spojevi) i metana ( $\text{CH}_4$ ) koji doprinose efektu staklenika na globalnoj razini i stvaranju fotokemijskog smoga. Emisijom dušikovih oksida raste koncentracija prizemnog ozona koji nastaje spajanjem  $\text{NO}_x$  i volatilnih organskih spojeva iz atmosfere uz prisustvo sunčeva zračenja. Ovaj tip ozona štetan je za udisanje jer umanjuje plućni kapacitet, usporava rast usjeva i inhibira procese stvaranja i pohrane energije u biljaka zbog čega postaju osjetljive na bolesti, nametnike i druga onečišćenja. Dio dušikovih spojeva se istaloži zbog čega može doći do eutrofikacije u morskim i jezerskim okolišima, a dio odlazi u atmosferu gdje zajedno sa sumporovim oksidima sudjeluje u reakcijama zakiseljavanja zbog čega nastaju kisele kiše. Upravo je iz navedenih razloga na snagu stupio Protokol iz Kyota kojim je dogovoreno izbacivanje termoelektrana iz upotrebe do kraja 2020. godine (Keating, 2001).

Veliki problem za okoliš predstavljaju i anorganske čestice koje u termoelektranama nastaju kao produkt izgaranja ugljena, a mogu se podijeliti na lebdeći pepeo (eng. fly ash) koji je izgrađen od čestica vrlo malih dimenzija (0,5 – 100  $\mu\text{m}$ ) i teški pepeo (eng. bottom ash) koji nakon sagorijevanja ostaje na dnu peći, pa se njegovo odlaganje može kontrolirati. Čestice pepela po sastavu su alumosilikati koji sadrže okside Si, Al, Fe i Ca sa manjim udjelom Mg, Na, K, Zn i S, te razne elemente u tragovima (Singh, 2013). Njihove koncentracije variraju ovisno o tome da li su elementi vezani procesima adsorpcije na površinu čestice pepela ili su ugrađeni u matriks. Posljednja istraživanja znanstvenika u Indiji pokazuju da je sastav

lebdećeg i teškog pepela primarno uvjetovan temperaturom pri kojoj dolazi do isparavanja elemenata u tragovima. Heterogena smjesa plinova i pepela hladi se izlaskom iz spalionice prilikom čega dolazi do kondenzacije i adsorpcije elemenata u tragovima na čestice pepela. Na taj način se potencijalno toksični elementi u tragovima, koji uključuju i neke teške metale<sup>2</sup>, distribuiraju direktno u okoliš.

Obzirom na temperaturu isparavanja navedeni elementi mogu se podijeliti u tri skupine (Singh, 2013):

- (1) elementi čija je temperatura isparavanja veća od temperature sagorijevanja ugljena, pa ostaju u čvrstom stanju (Al, Ba, Ca, Ce, Co, Fe, Hf, K, La, Mg, Mn, Ni, Rb, Se, Si, Sm, Sr, Th, Ta i Ti). Ovi elementi pronađeni su u lebdećem i teškom pepelu u sličnim koncentracijama;
- (2) elementi koji isparavaju pri temperaturama nižim od temperature sagorijevanja ugljena, ali se prilikom hlađenja plina apsorbiraju na površinu čestica lebdećeg pepela. Elementi ove skupine su As, Cd, Ga, Mo, Pb, Sb, Se i Zn;
- (3) elementi koji imaju niske temperature isparavanja, stoga su tijekom čitavog procesa sagorijevanja ugljena u plinovitom stanju (Hg, Cl i Br). Navedeni elementi ne apsorbiraju se na čestice pepela, već odlaze direktno u atmosferu.

Smanjenjem promjera čestica pepela raste koncentracija adsorbiranih elemenata, a njihova mobilnost u okolišu ovisi o geologiji, klimatskim uvjetima, karakteristikama tla i vegetaciji (Singh, 2013).

Teški metali u tlu su nerazgradivi i akumuliraju se vezanjem s organskim i mineralnim tvarima iz tla. Tvore kompleksne spojeve koji nerijetko imaju izraženi štetni učinak. Visoka razina biološke dostupnosti omogućuje im ulazak u hranidbeni lanac pa se pojedini povezuju s akutno toksičnim (As, Ba, Cr, Hg, Ni, Pb, Sn), karcinogenim (As, Co, Cr, Ni, Pt), imunogenim (Au, Co, Cr, Ni, Pt), teratogenim (Hg), spermiotoksičnim (Cd, Hg, Ni, Pb, Tl) nefrotoksičnim (Cd, U), neurotoksičnim (Al, Hg, Mg, Mn, Pb, Sn, Tl), genotoksičnim (Co, Cr) i alergogenim (Cr, Ni, Pt, Pd) učincima (WHO, 2006).

---

<sup>2</sup> Naziv teški metali koristi se za elemente koji imaju relativnu atomsku gustoću veću od 5 g/cm<sup>3</sup> (Nalbandian, 2012).



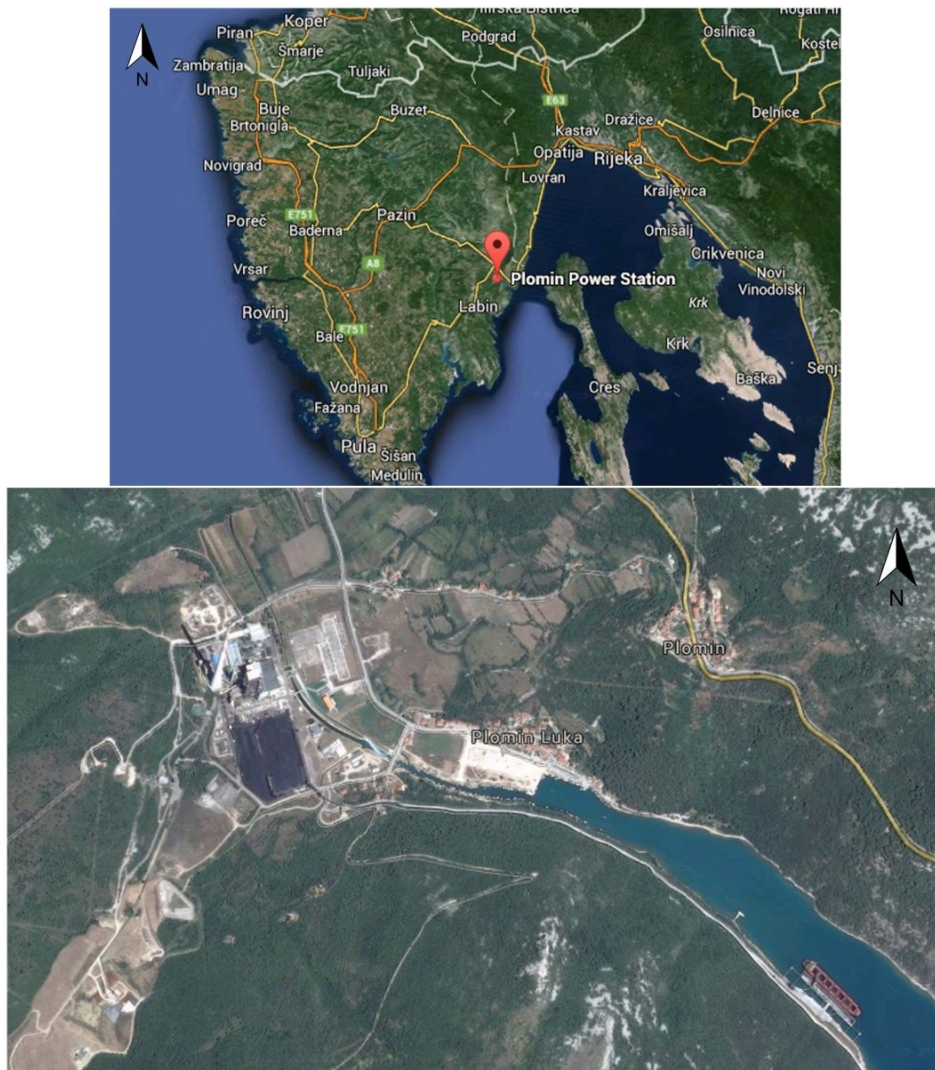
Američno Nacionalno vijeće za istraživanja (US National Research Council – NRC) predložilo je klasifikaciju elemenata u tragovima koji se raspršuju u okoliš ili zaostaju kao produkt sagorijevanja ugljena u termoelektranama (Nalbandian, 2012). Obzirom na stupanj rizika kojeg oni predstavljaju po okoliš i zdravlje živih bića, mogu se podijeliti na elemente:

- (1) Visokog rizika: As, B, Cd, Pb, Hg, Mo i Se. Arsen, kadmij, olovo i živa predstavljaju visoko toksične elemente za većinu bioloških sustava pri koncentracijama većim od dozvoljenih. Selen je esencijalni element svih organizama, ali je također vrlo toksičan u povišenim koncentracijama, dok molibden i bor predstavljaju problem zbog njihove bioakumulacije u živim organizmima, zbog čega izazivaju fitotoksičnost i pretjeranu laktaciju kod krava.
- (2) Umjerenog rizika: Cr, V, Cu, Zn, Ni i F. Navedeni elementi potencijalno su toksični pri koncentracijama većim od dozvoljenih. Analizom različitih vrsta tla u bližoj okolini termoelektrana na ugljen dokazane su povišene koncentracije ovih elemenata umjerenog rizika. Velik problem predstavlja i već spomenuta bioakumulacija, koja u slučaju fluora predstavlja problem za zdravlje životinja, a naposljetku i ljudi.
- (3) Srednjeg rizika: Ba, Sr, Na, Mn, Co, Sb, Li, Cl, Br i Ge. Ovi elementi predstavljaju nizak toksični učinak za okoliš, međutim svrstani su u ovu kategoriju jer njihove koncentracije u pravilu prelaze maksimalne dopuštene vrijednosti, a posljedica su izgaranja ugljena u termoelektranama.
- (4) Niskog rizika: Be, Tl, Ag i Te. Elementi niskog rizika dokazano imaju negativan utjecaj na zdravlje, ali su u okolišima blizu termoelektrana na ugljen prisutni u jako niskim koncentracijama, stoga je njihov utjecaj zanemariv.
- (5) Radioaktivne elemente: U i Th. Uran i torij radioaktivni su elementi, a produkti njihova raspada, radij, polonij i radon, nazivaju se radionuklidi i prirodno su prisutni u okolišu. Radij i polonij su alfa emiteri i imaju dugo vrijeme poluraspada zbog čega ne predstavljaju velik problem u okolišu. Međutim, radon je plin koji ima kratko vrijeme poluraspada pa predstavlja velik rizik u smislu njegova nakupljanja u rudnicima ugljena.

Utjecaj produkata izgaranja ugljena na okoliš u blizini termoelektrane znatno ovisi o geologiji, demografiji i klimi (Nalbandian, 2012).

### 2.1.3. Smještaj i karakteristike TE Plomin

TE Plomin nalazi se na jugoistočnoj obali istarskog poluotoka na samom kraju Plominskog zaljeva (Slika 1). Područje elektrane obuhvaća površinu od oko 54 ha i u vlasništvu je Hrvatske elektroprivrede (HEP), a za prihvat i transport ugljena koristi se još 3 ha pomorskog dobra za koje je diobivena koncesija. Prostor većim dijelom pripada općini Kršan, a obalni rub Plominskog zaljeva gradu Labinu. Uže područje lokacije obuhvaća naselja Plomin Luka i Plomin s ukupno 328 stanovnika. Prema regionalno – geološkoj podjeli područje TE Plomin pripada paleogenskom flišnom bazenu, odnosno „Sivoj Istri“, koje je obilježeno snažnom morfološkom dinamikom (flišni humci i udoline) te većim brojem stalnih i povremenih vodotoka (EKONERG, 2011).



Slika 1. Geografski prikaz lokacije TE Plomin

Postrojenje TE Plomin sastoji se od dva termoenergetska bloka: TE Plomin 1 koja je u komercijalnom pogonu od 1970. godine i TE Plomin 2 koja je u pogonu od 2000. godine. Ukupno postrojenje proizvodi 2 187 GWh električne energije, što zadovoljava otprilike 10% potreba za ovom vrstom energije u RH. Neposredno uz samu termoelektranu smješteno je odlagalište pepela i šljake (Slika 2). Danas je na površini od približno 120.000 m<sup>2</sup> akumulirano oko milijun tona šljake i pepela (Marović i sur., 2006).



**Slika 2.** Odlagalište pepela i šljake iz TE Plomin  
(izvor: Google Earth Pro – probna inačica programa).

U sklopu postrojenja TE Plomin planiran je zahvat koji podrazumijeva modernizaciju i povećanje kapaciteta rekonstrukcijom i/ili zatvaranjem postojećih objekata i izgradnjom novog energetskog bloka – Plomin C. Novi pogon trebao bi biti izgrađen prema konceptu suvremenih termoelektrana čiste tehnologije na ugljen s ciljem poboljšanja stanja s gledišta utjecaja na okoliš po nizu aspekata. Primjenom suvremene tehnologije superkritičnih parametara pare, Plomin C trebao bi povećati stupanj korisnog djelovanja na 45%, što je znatno više u usporedbi s današnjim klasičnim elektranama koje imaju stupanj pretvorbe od 32 do 37%. Po pitanju opterećenja okoliša, prema okvirnoj kategorizaciji koju koristi Institut za istraživanje ugljena Međunarodne agencije za energiju ova elektrana može se svrstati u tzv. elektrane 'blizu nulte emisije'. Ugradnjom novih sustava za pročišćavanje dimnih

plinova (FGC, eng. *Flue Gas Conditioning*) koji se sastoje od uređaja za smanjenje dušikovih oksida na bazi vodene otopine uree i elektrofiltera za uklanjanje krutih čestica, smanjila bi se emisija NO<sub>x</sub> za 25%, a emisija krutih čestica za 13%. Kao metoda odsumporavanja odabran je mokri postupak s vapnencem koji bi trebao smanjiti emisiju SO<sub>2</sub> za 54% (EKONERG, 2011). Konačni produkt ovog procesa je gips koji se koristi u građevinarstvu pa se direktno smanjuje količina otpada. Rezultat primijenjenih FGC tehnologija su manje emisije u atmosferu koje su znatno ispod važećih EU ograničenja.

Za proizvodnju električne energije termoelektrana je do početka devedesetih godina prošloga stoljeća rabila domaće ugljene - antracit iz Istre, lignit i smeđi ugljen s Dinarida s visokim postotkom sumpora (10 do 14%) i povišenom prirodnom radioaktivnosti. Budući da su domaći ugljenokopi zatvoreni, posljednjih se desetak godina za rad termoelektrane rabe samo kameni ugljeni iz uvoza (ugljeni iz Jugoistočne Azije, Indonezije, Kolumbije i Južne Afrike). Ovi ugljeni imaju veću toplinsku moć (26,3 MJ/kg) te manji udio sumpora (1%), pepela (11,7%) i drugih onečišćujućih tvari (Prilog 2) (EKONERG, 2011; Marović i sur., 2006).

U razdoblju uporabe domaćih ugljena sav se otpad nakon izgaranja odlagao na odlagalište. Veliki problem na odlagalištu bio je utjecaj vjetra i posljedično rasipanje i raspršivanje pepela i šljake te njihovo raznošenje oborinama. Sredinom 1980-ih počelo je prekrivanje dijelova odlagališta zemljom (oko 60 cm zemlje i više) i ti se dijelovi odlagališta više nisu nasipavali pepelom. Krajem 1990-ih počela je stručna sanacija koja se sastojala od nanošenja zaštitne folije ispod i iznad otpadne šljake i pepela, od prekrivanja zemljom i sustavne izgradnje rubnih kanala i kolektora za odvod oborinskih voda (Marović i sur., 2006).

## **2.2. Testovi toksičnosti**

Istraživanje toksičnosti putem biotestova, zajedno s kemijskim istraživanjem, esencijalna je komponenta djelotvornog monitoringa i predstavlja osnovu za predviđanje mogućeg antropogenog utjecaja na ekološki sustav (Blaise, 2000). Izvođenje biotestova podrazumijeva izlaganje testnog organizma, izoliranog organa ili stanice u kulturi određenoj tvari, odnosno fizičkom ili kemijskom čimbeniku ili kombinaciji više njih, te promatranje nastalog učinka. Kao krajnji cilj ističe se otkrivanje djelovanja testne tvari na promatrani organizam, odnosno koju staničnu

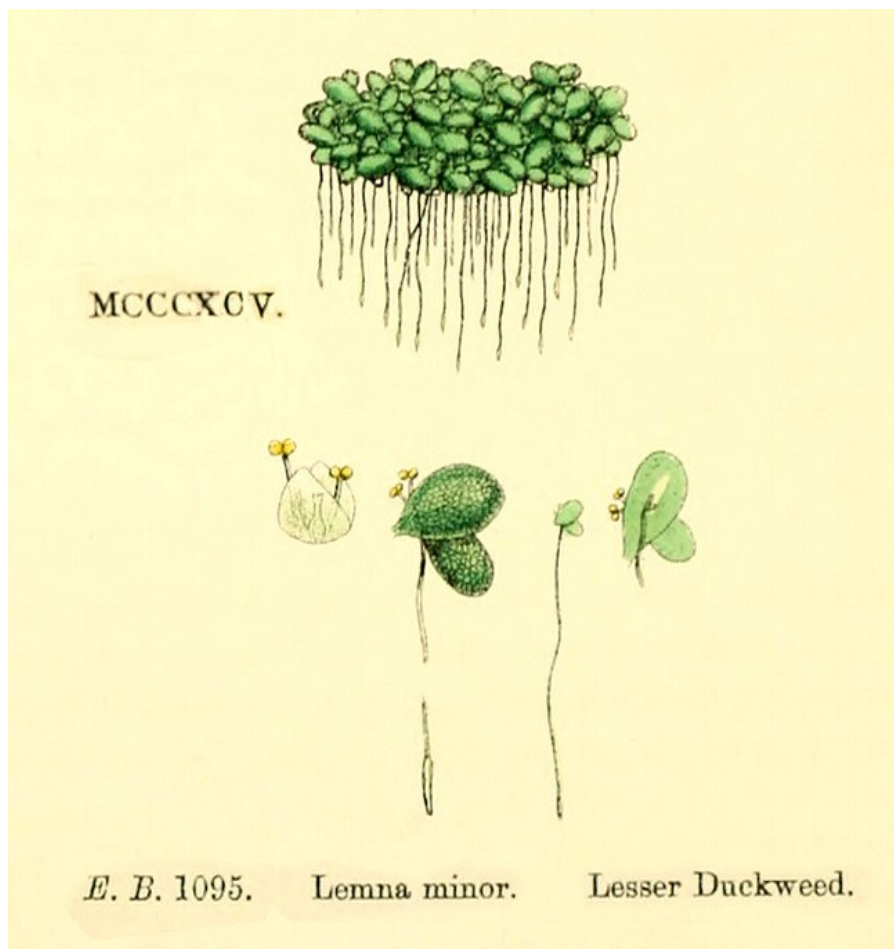
strukturu, tkivo ili organ najviše pogađa, te na kraju tu promjenu kvalitativno i kvantitativno prikazati. Izuzev bakterija i životinja, danas se kao testni organizmi sve više koriste biljke koju su ne samo proizvođači kisika već i početni organizmi svakog prehrambenog lanca. Iako su biljke filogenetski udaljene od čovjeka i životinja zbog sličnosti strukture i funkcije biljnih i životinjskih stanica moguće je na temelju rezultata dobivenih u biljnim biotestovima predvidjeti štetno djelovanje testirane tvari na druge organizme uključujući i čovjeka. U početku se smatralo da biljke nisu dovoljno osjetljive, no razvojem sve većeg broja biotestova, pokazalo se da biljke svojom osjetljivošću mogu biti usporedne i s animalnim testovima, kao i testovima na eukariotskim stanicama u kulturi in vitro (Fiskesjö, 1985; Wang, 1991). Testovi na vodenim i kopnenim biljkama mogu se provoditi in situ, znači i na terenu, ali i ex situ, dakle u laboratorijskim uvjetima. Neki makrofiti imaju svojstva koja ih čine pogodnima za toksikološka istraživanja, a među njima je većina vrsta iz porodice Lemnaceae. Zahvaljujući brzom razmnožavanju u kratkom vremenu se mogu dobiti genetički jednake biljke (klonovi). Prednost vodenih makrofita je i činjenica da oni nisu toksikantu izloženi samo preko korijena, već i većim dijelom ili čak čitavom svojom površinom (plutajući makrofiti).

### **2.2.1. Lemna-test**

Biljke iz porodice *Lemnaceae* široko su rasprostranjene od tropskog do umjerenog klimatskog područja. U porodicu Lemnaceae spadaju četiri roda: *Lemna*, *Spirodela*, *Wolffia* i *Wolffiella*. Vodena leća (*Lemna minor* L.) već se niz godina koristi u biljnoj biologiji i toksikologiji za procjenu učinka otopina čistih kemikalija i smjesa tvari (Slike 3 i 4) (Wang, 1990). Ona je široko rasprostranjena, slobodno plutajuća slatkovodna jednosupnica koja u prirodnim uvjetima obitava u vodama stajaćicama i rukavcima vodotokova s niskom brzinom strujanja vode. Vodena leća ima niz svojstava koja ju čine prikladnom za laboratorijska istraživanja : (1) vrlo je osjetljiva na nazočnost različitih tvari u hranjivoj podlozi; (2) malih je dimenzija; (3) jednostavne je građe; (4) brzo se razmnožava; (5) razmnožavanje je vegetativno, što osigurava genetičku homogenost; (6) nema potrebe za velikim prostorom tijekom uzgoja i izvođenja pokusa i (7) hranjiva podloga je jednostavna i jeftina. Osim što je porodica *Lemnaceae* zbog svojih karakteristika vrlo pogodna za izvođenje biotestova, ona je zbog visoke produktivnosti i sadržaja proteina i izvor hrane (Landolt, 1986).



Slika 3. *Lemna minor* L. (Izvor: [www.mobot.org](http://www.mobot.org))



Slika 4. Shematski prikaz kolonije i dijelova vodene leće (*Lemna minor* L.) (Izvor: [www.mobot.org](http://www.mobot.org))

Lemna-test može se izvoditi kao statički test (bez izmjene hranjive podloge), test s periodičnim obnavljanjem hranjive podloge i protočni test (uz kontinuiranu izmjenu hranjive podloge tijekom pokusa). Zbog jednostavnosti i ekonomičnosti, najčešće se rabe statički testovi, osim u slučaju testiranja isparljivih i nestabilnih uzoraka. Tako je i u ovom istraživanju korišten statički oblik standardiziranog Lemna-testa ISO 20079 (ISO/DIS 20079, 2004) u trajanju od sedam dana. Lemna-test, biotest s vodenom lećom već se niz godina rabi u toksikologiji za procjenu toksičnosti pojedinih kemikalija kao npr. teških metala (Dirilgen, 2011), policikličkih aromatskih ugljikovodika (Pašková i sur., 2006), mikrotoksina (Abbas i sur., 1994), herbicida (Cedergreen i sur., 2005), industrijskog i komunalnog otpada (Garaj-Vrhovac i sur., 2013) te procjenu onečišćenja kopnenih voda (Radić i sur., 2011) kao i filtrata tla (Vidic i sur., 2009).

### **2.2.2. Biokemijski pokazatelji**

U kulturi vodene leće *in vitro* mogu se, osim pokazatelja rasta, mjeriti i biokemijski pokazatelji toksičnosti koji se često javljaju prije vidljivih posljedica te ukazuju na mehanizam djelovanja istraživane tvari ili stresnog čimbenika. Biokemijski pokazatelji mogu se mjeriti u određenim vremenskim razmacima tijekom pokusa ili samo na kraju pokusa.

U ovom istraživanju su kao biokemijski pokazatelji mjereni sadržaj klorofila i karotenoida, sadržaj malondialdehida (pokazatelj oksidacijskog oštećenja lipidne komponente stanične membrane), sadržaj neproteinskih tiola (procjena reduciranog glutaciona) te aktivnost antioksidacijskih enzima katalaze i askorbat peroksidaze.

### **2.2.3. Otrovni kisikovi spojevi i radikali**

Slobodni radikali definiraju se kao molekule koje imaju nespareni elektron i stoga su izuzetno reaktivne. U živom organizmu proizvode se pri normalnim fiziološkim procesima te imaju vrlo važnu ulogu u odvijanju brojnih funkcija, osobito u međustaničnoj komunikaciji, gdje uvelike potpomažu u obrani od bakterija i drugih štetnih agensa. Kad se nađu u suvišku, narušavaju stabilnost drugih molekula u okolini da bi postigli vlastitu ravnotežu, pokreću nepoželjne lančane reakcije koje dovode do oksidativnog stresa, zbog čega nastaju oksidativna oštećenja

biomolekula, oštećenja tkiva, smrt stanica i različite bolesti. Radikali se obično stabiliziraju delokalizacijom elektrona, stvaranjem intramolekularnih vodikovih veza ili daljnjom reakcijom s drugim lipidnim radikalom (Arora i sur., 2002).

Zbog velike koncentracije kisika, kloroplasti se smatraju glavnim izvorom reaktivnih kisikovih oblika (ROS - „reactive oxygen species“ ) u biljnim stanicama (Pevalek-Kozlina, 2003). Različiti stresni uvjeti uzrokuju povećanu aktivaciju kisika i stvaranje povećane količine otrovnih spojeva kisika (vodikov peroksid, superoksidni radikal, singletni kisik, hidroksilni radikal) koji mogu denaturirati proteine i oštetiti nukleinske kiseline (Perl-Treves i Perl, 2002). Učinak stresnih uvjeta na membrane također je djelomično posljedica nastanka kisikovih radikala koji uzrokuju peroksidaciju membranskih lipida i dovode do oštećenja membrana. Reaktivni kisikovi oblici nastaju tijekom normalnog aerobnog metabolizma interakcijom između kisika i elektrona koji „pobjegnu“ iz transportnih lanaca elektrona u kloroplastima i mitohondrijima. Njihova toksičnost temelji se na mogućnosti da započnu kaskadu reakcija koja će rezultirati nastankom vrlo opasnog hidroksilnog radikala koji može reagirati sa skoro svim staničnim komponentama te uzrokovati denaturaciju proteina, mutaciju DNA i peroksidaciju lipida (Blokhina i sur., 2003).

#### **2.2.4. Lipidna peroksidacija**

Lipidna peroksidacija je sekundarna reakcija na stres koja ukazuje na indukciju oksidacijskog stresa u biljnom organizmu, a izazivaju je primarni proizvodi stresa, radikali kisika i otrovni spojevi kisika (Jinmin i Huang, 2002). Višestruko nezasićene masne kiseline često su meta stvorenih slobodnih radikala, što posljedi lipidnom peroksidacijom. Lipidnu peroksidaciju najčešće uzrokuje hidroksilni radikal, međutim i pojedini drugi radikali mogu pokrenuti proces peroksidacije. U lipidnim sustavima započinjanje niza peroksidacijskih reakcija odnosi se na napad ROS-a sposobnog da izdvoji atom vodika iz metilenske skupine. Tako iz nezasićenih masnih kiselina nastaju slobodni lipidni radikali. Prisutnost dvostrukih veza u masnim kiselinama oslabljuje C-H veze na atomu ugljika u blizini dvostruke veze, te tako premještanje vodika čini lakšim. Ugljikovi radikali nastoje se stabilizirati reorganizacijom molekula, oblikujući konjugirane diene. U aerobnim uvjetima dieni se mogu spajati s kisikom te stvarati peroksilne radikale koji dalje mogu eliminirati vodik iz druge organske molekule, uključujući višestruko nezasićene masne kiseline, pri čemu dolazi do



oblikovanja lipidnih hidroperoksida, te reaktivnih ugljikovih radikala. Djelovanjem iona željeza ili bakra, lipidni peroksidi stvaraju mnogobrojne razgradne produkte između ostalih i malondialdehid (MDA) koji se koristi kao pokazatelj peroksidacije lipida.

### **2.2.5. Antioksidansi**

Antioksidansi su kemijske tvari koje sprečavaju oksidaciju spojeva podložnih oksidaciji, a u biološkim sustavima onemogućuju djelovanje slobodnih radikala (oksidansa) kad su oni u štetnom suvišku tj. kad je koncentracija slobodnih radikala veća nego što je potrebno za odvijanje normalnih fizioloških procesa. Antioksidansi inaktiviraju djelovanje slobodnih radikala pa tako zaustavljaju lančanu reakciju stvaranja novih radikala i sprječavaju njihovo štetno djelovanje. Stanica se za razgradnju reaktivnih oblika kisika osim neenzimskih mehanizama koristi i enzimima stresa ili antioksidacijskim enzimima (Arora i sur., 2002).

### **2.2.6. Karotenoidi**

Karotenoidi se sintetiziraju isključivo u biljkama i gljivama. Imaju karakterističnu žutonarančastu boju, a najjače apsorbiraju svjetlost valnih duljina između 380 i 550 nm, proširujući tako spektar boja koje mogu pokretati fotosintezu (Pevalek-Kozlina, 2003). Na temelju kemijske strukture dijele se na karotene, ugljikovodike simetrične građe poput  $\beta$ -karotena i ksantofile koji sadrže jedan ili više atoma kisika kao što je zeaksantin. U kloroplastima karotenoidi služe kao pigmenti u kompleksima za sakupljanje svjetlosti. Karotenoidi imaju važnu zaštitnu ulogu jer štite stanicu od oštećenja koja može prouzročiti oksidacijski stres. Zaštitna uloga karotenoida očituje se u „gašenju“ pobuđenog stanja klorofila. Ako pobuđeno stanje klorofila potraje, doći će do reakcije s molekulskim kisikom te će nastati vrlo reaktivni singletni kisik koji može prouzrokovati štetu u stanici posebice u lipidima. Budući da pobuđeno stanje karotenoida nema dovoljno energije za nastanak singletnog kisika, brzo se vraća u osnovno stanje otpuštajući višak energije u obliku topline (Pevalek-Kozlina, 2003). Karotenoidi mogu neposredno reagirati s produktima lipidne peroksidacije i prekinuti lančanu reakciju, a također mogu pojačati djelovanje vitamina E pri razgradnji peroksidnih radikala.

### 2.2.7. Glutation

U reduciranom obliku, glutacion (GSH) je tripeptid ( $\gamma$ -glutamil-cisteil-glicin) sa slobodnom sulfhidrilnom (tiolnom) grupom (-SH) koja potječe od cisteinskog ostatka. Upravo je slobodna -SH skupina redoks-aktivna te je odgovorna za antioksidacijska svojstva glutaciona (može se reverzibilno oksidirati i reducirati). Osim što sudjeluje u uklanjanju slobodnih radikala, glutacion može konjugirati ksenobiotike te na taj način potpomaže njihovo uklanjanje. U stanicama se taj antioksidans održava u reduciranom stanju pomoću enzima glutacion reduktaze, a sam zauzvrat reducira ostale metabolite i enzime npr. askorbat (vitamin C) u glutacion-askorbatnom ciklusu, glutacion peroksidazu, glutaredoksine ili direktno oksidanse (ROS). Pri tim reakcijama glutacion se oksidira i nastaje glutacion disulfid (GSSG). Zbog visoke stanične koncentracije te uloge u održavanju redoks stanja stanice, glutacion je jedan od najvažnijih antioksidansa posebice u animalnim stanicama. Naime u biljnim stanicama, askorbat je kvantitativno dominantan antioksidans.

Reducirani glutacion je najzastupljeniji neproteinski tiol u biljnoj stanici i čini preko 90 % sadržaja neproteinskih tiola, dok se ostatak od 10 % odnosi na ostale tiolne spojeve niske molekularne mase kao što su cistein, metionin, fitohelatini, metalotioneini, defenzini i sl. (Mulier i sur., 1998). Spoj 5,5-ditio-bis-nitrobenzojeva kiselina (DTNB) koji služi kao glavni reagens u metodi za dokazivanje neproteinskih tiola primijenjenoj u ovom radu vezuje se ne samo na -SH skupinu reduciranog glutaciona, već i na one cistena glutamil cisteina i drugih neproteinskih tiola, no zna se da većina detektiranih sulfhidrilnih grupa potječe od GSH (Liszewska i sur., 2001).

### 2.2.8. Peroksidaze i katalaza

Peroksidaze (oksidoreduktaze vodikovog peroksida) su široko rasprostranjeni enzimi prisutni u životinja, biljaka, gljiva i prokariotskih organizama. Kataliziraju oksidaciju pojedinih staničnih tvari koristeći vodikov peroksid ili neki drugi organski peroksid kao primatelj elektrona. S obzirom na fiziološku ulogu i supstratnu specifičnost peroksidaze su podijeljene u dvije skupine (Asada, 1992). U jednoj skupini su peroksidaze koje koriste vodikov peroksid za različite oksidacijske procese u stanici i čija je karakteristika slaba supstratna specifičnost. Zbog slabe supstratne specifičnosti kao donor elektrona mogu poslužiti pirogalol, gvajakol, siringaldazin i drugi fenolni spojevi. Ova skupina uključena je u procese biosinteze lignina i

suberina, razgradnje auksina, zaraštavanje rana, obrane od patogena i uklanjanje toksičnih spojeva peroksida (Hiraga i sur., 2001). Druga skupina su peroksidaze kojima je glavna uloga uklanjanje vodikovog peroksida i organskog peroksida, a među kojima su askorbat i glutation peroksidaza. Za redukciju toksičnog vodikovog peroksida potreban je reducirajući supstrat koji je uglavnom askorbat. Askorbat peroksidaza se većinom nalazi u kloroplastima, a rjeđe u citosolu i glioksisomima.

Katalaza (KAT) je enzim pronađen u biljkama, životinjama i aerobnim mikroorganizmima gdje katalizira brzu razgradnju vodikova peroksida na vodu i kisik. Unutar stanice prisutna je u peroksisomima (nije nađena u kloroplastima) i katalitički je vrlo aktivna (Noctor i Foyer, 1998). Biljne su katalaze tetramerni enzimi, molekulske mase od 54 do 59 kDa te sadrže hem kao prostetičku skupinu. Velika važnost brze katalize vodikova peroksida potrebna je stoga jer je on snažan i jako reaktivan oksidans koji može oštetiti biološke molekule i time uzrokovati metaboličke poremećaje. Vodikov peroksid nastaje kao produkt u procesu fotosinteze, fotorespiracije i staničnog disanja, a javlja se i kao produkt djelovanja oksidaza. Katalaza ima veliku katalitičku aktivnost ali slabu supstratnu specifičnost jer treba dvije molekule vodikovog peroksida u aktivnom mjestu.

### **2.3. Pregled dosadašnjih istraživanja**

*Valković i sur.* (1984) analizirali su sastav ugljena koji se koristi za dobivanje električne energije i produkte njegova izgaranja. Elementni sastav, analiziran metodom rentgenske difrakcije (XRD), pokazao je prisutnost potencijalno toksičnih elemenata - Ti, V, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Pb, Sr, Y i U. Njihove koncentracije kvantitativno su određene uz pomoć protonskih snopova i pokazuju nekoliko puta veće vrijednosti u otpadnom pepelu nego u ugljenu. *Komlenović i sur.* (1990) mjerili su koncentracije sumpora, olova i cinka u tlu i njihov utjecaj na kulturu crnog bora na području Istarskog poluotoka. Rezultati analize tla pokazali su povišene koncentracije mjerenih elemenata u okolici TE Plomin, dok je biljni materijal na istom području pokazao simptome karakteristične za trovanje sumporom (prijevremeno otpadanje iglica, nekroza i sušenje stabala). *Prohić i Miko* (1998) ispitivali su koncentracije pojedinih metala u površinskom horizontu tala u radijusu od 1,5 km od izvora emisije u TE Plomin kako bi ih usporedili sa koncentracijama iz tala NP-a Risnjak, za koja se smatralo da su pod utjecajem industrijske zone iz okolice grada Rijeke. Dobivene su

sljedeće srednje vrijednosti za tla (frakcija < 63  $\mu\text{m}$ ) u blizini TE Plomin: Se (5,64 mg/kg), As (10,3 mg/kg), V (166 mg/kg), Cr (145 mg/kg), Ni (80 mg/kg), Zn (143 mg/kg) i Pb (143 mg/kg). Srednje vrijednosti tala na Risnjaku: Se (84 mg/kg), As (18,5 mg/kg), V (123 mg/kg), Cr (66 mg/kg), Ni (49 mg/kg), Zn (114 mg/kg) i Pb (65 mg/kg). Izuzev arsena, rezultati su pokazali puno veći stupanj onečišćenja u tlima iz okolice TE Plomin. *Miko i sur.* (2003) su u svom istraživanju opisali raspodjelu i mobilnost teških metala u krškim tlima Hrvatske i Slovenije. U sklopu istraživanja uzorkovana su tla u okolini TE Plomin (frakcija < 2 mm), te je utvrđen iznimno visok sadržaj manganovih oksihidroksida, a zabilježene su i povišene koncentracije Mo, Cd, Co, Cr, Cu i V. *Oreščanin i sur.* (2009) objavili su rezultate granulometrijske i kemijske analize sedimenata Plominskog zaljeva. Svrha rada bila je utvrditi rizike remobilizacije potencijalno opasnih vrsta teških metala (Ti, V, Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, Pb i U) iz sedimenta u vodeni stup. Granulometrijskom analizom utvrđeno je da u svim uzorcima prevladava sitnozrnata frakcija (< 63  $\mu\text{m}$ ). Rezultati analize pokazali su da sedimenti taloženi prije i za vrijeme rada TE Plomin imaju gotovo isti kemijski sastav, odnosno da sedimenti Plominskog zaljeva predstavljaju nizak rizik za okoliš. U kontaktu s morskom vodom moguća je remobilizacija samo 0,29 mg kg<sup>-1</sup> V, 0,04 mg kg<sup>-1</sup> Cr, 0,07 mg kg<sup>-1</sup> Ni, 0,33 mg kg<sup>-1</sup> Cu, 0,67 mg kg<sup>-1</sup> Zn i 0,06 mg kg<sup>-1</sup> Pb iz sedimenta u stupac morske vode. Međutim ove vrijednosti su tri do deset puta povećane u slučaju izluživanja organskim kiselinama. *Pongrac* (2013) je istraživao tehnogena i smeđa tla u okolini TE plomin te šljaku s otvorenog odlagališta koja predstavlja otpadni neizgoreni materijal iz termoelektrane. Analizom su utvrđene slijedeće srednje vrijednosti koncentracija elemenata u smeđim tlima: As (18,5 mg/kg), Se (1,9 mg/kg), U (4,8 mg/kg), Sr (mg/kg), Y (59,6 mg/kg), Cr (244,8 mg/kg), Cu (47,7 mg/kg), Co (26,5 mg/kg), Mn (1731 mg/kg), V (340,3 mg/kg), Ni (78,4 mg/kg), Zn (88,7 mg/kg) i Sc (16,6 mg/kg). Ovim istraživanjem dokazan je negativan utjecaj termoelektrane na okoliš obzirom da su elementi As, Cd, Cr, Se i U dominantno antropogenog podrijetla. Elementi Mn, Sr, V i Y dijelom su antropogenog a djelom geogenog podrijetla, dok su Ba i Ni dominantno geogenog podrijetla. Posljednja istraživanja utjecaja rada TE Plomin na okoliš obavljena su u sklopu izrade diplomskih radova *Velić* (2014), *Ernečić* (2014) i *Bertović* (2014). *Velić* (2014) je istraživanjem geokemijskih karakteristika tala u okolini TE Plomin zaključila da su u radijusu od 1 km od izvora emisije vrijednosti koncentracija istraživanih elemenata značajno povišene u odnosu na zakonski propisane vrijednosti te stoga predstavljaju

opasnost i rizik za ljudsko zdravlje i okoliš. U radovima *Ernečić i sur. (2014)* i *Ernečić (2014)* utvrđene su povišene masene aktivnosti  $^{226}\text{Ra}$  unutar radijusa od 1 km od TE Plomin. Rezultati ovog istraživanja pokazali su i znatan utjecaj zračnih strujanja, koja dominiraju u smjeru Z-JZ, na distribuciju  $^{226}\text{Ra}$  u tlu. U radu *Medunić i sur. (2014)* obuhvaćeni su rezultati pojedinih diplomskih radova (Velić, 2014; Erenčić, 2014) u svrhu procjene rizika na okoliš zbog emisije sumpora i lebdećeg pepela sagorijevanjem ugljena u TE Plomin. Osnovni statistički parametri (aritmetička sredina, medijan, min, max, i SD) izračunati za S u uzorcima JZ profila iznose redom (%): 0,88, 0,40, 0,12, 3,28, i 0,98. Statistički značajni Kendallovi tau koeficijenti korelacije parova udaljenost od TE – OT, udaljenost od TE - S, udaljenost od TE - Cu, S - OT i S - Cu bili su kako slijedi: -0,51, -0,73, -0,60, 0,60, i 0,69. Ovi rezultati ukazuju na jak trend smanjenja onečišćenja s udaljenošću od TE. *Bertović (2014)* je u svom diplomskom radu istraživala raspodjelu onečišćujućih tvari, kao što su sumpor i policiklički aromatski ugljikovodici (PAH-ovi) u tlu oko TE Plomin. Rezultati istraživanja pokazali su povišene koncentracije oba tipa zagađivala u blizini TE te u segmentu koji se poklapa sa smjerom dominantnih vjetrova. Koncentracije zagađivala se smanjuju s udaljavanjem od TE Plomin, ukazujući na znatan utjecaj obližnjeg odlagališta ugljena na njihovu razinu u tlu te na ulogu transporta zrakom na raspodjelu potencijalno toksičnih sastojaka u blizini TE.

### 3. OBILJEŽJA ISTRE I ISTRAŽIVANOG PODRUČJA

#### 3.1. Geografski položaj i klimatska obilježja Istre

Istra je najveći hrvatski poluotok smješten na samom zapadu Republike Hrvatske, odnosno na sjeverozapadnom rubu Jadranskog mora. Geografska granica Istre ide linijom od uvale Milje (tal. Muggia) do uvale Preluk. Najzapadnija točka Istre i cijele Hrvatske je rt Savudrija, a najjužnija rt Kamenjak. Na sjeverozapadu je ograničena Tršćanskim zaljevom, a s istoka i jugoistoka gorjem Tršćanskog krša i gorskim masivom Ćićarije. Na istočnoj strani istarskog poluotoka nalaze se Plominski i Raški zaljev, a na jugozapadnoj i zapadnoj obali nalaze se Limski kanal i Tarski zaljev. Zapadna obala Istre je plića, niska i bolje razvedena, dok je istočna strma, kamenita i slabo razvedena. Ukupna površina Istre iznosi 3470 km<sup>2</sup>.

Osnovnu značajku podneblju istarskoga poluotoka daje sredozemna klima. Sredozemna klima duž obale postupno se mijenja prema unutrašnjosti i prelazi u kontinentalnu zbog hladna zraka koji struji s planina i zbog blizine Alpa. Ipak, najveći dio Istre je pod utjecajem umjerenog tople klime. Sjeveroistočni dijelovi poprimaju obilježja gorskih klimatskih uvjeta, dok južni obalni pojas ima najveće temperature i najmanju količinu padalina. Istočna strana Istarskog poluotoka ima toplu vlažnu klimu s vrućim ljetima, dok je u unutrašnjosti klima umjerenija s toplim ljetima (Filipčić, 1992).

Na temperaturu u Istri utječu kopno, more i nadmorska visina. Najniži obalni dio, do nadmorske visine oko 150 metara ima prosječnu siječanjsku temperaturu iznad 4 °C, a srpanjsku od 22 do 24 °C. S porastom nadmorske visine u unutrašnjosti Istre prosječne siječanjske temperature snižavaju se na 2 do 4 °C, u najvišim predjelima na sjeveroistoku poluotoka i ispod 2 °C. Srpanjske su temperatura u unutrašnjosti 20 do 22 °C. Prostorni raspored oborina u Istri pod neposrednim je utjecajem reljefa. Veći dio vlažnog zraka nad Istru dolazi s jugozapada. Zračne se mase sudaraju s reljefnom preprekom između Slavnika i Učke te zbog podizanja zraka dolazi do kondenzacije i stvaranja oborina. Zato su brdoviti predjeli na sjeveroistoku najkišovitiji. Iako količina oborine raste od zapada prema istoku Istre, cijeli poluotok ima isti oborinski režim. Najviše oborina padne u jesen (listopad, studeni), a manje je izrazit sekundarni vrhunac na prijelazu proljeća u ljeto. Unatoč velikom utjecaju reljefa na vjetrove u Istri najčešće pušu vjetrovi iz smjerova sjeveroistoka i istoka

(bura), i jugoistoka (jugo). Bura je najčešća po zimi, jer je Jadran u to godišnje doba često u područjima niskog zračnog tlaka.

Općenito govoreći, Istru karakteriziraju toplija i sušnija ljeta i hladnija i vlažnija zimska razdoblja stoga se, prema *Köppen*-ovoj<sup>3</sup> klasifikaciji, može svrstati u blaga mediteranska, odnosno submediteranska podneblja (Filipčić, 1992; Roglić, 1981).

## 3.2. Geologija Istre

### 3.2.1. Regionalna podjela

Geološki gledano Istra se može podijeliti na tri najvažnija područja (prema Velić i sur., 1995):

- (1) Jursko – kredno – eocensko karbonatno i klastično područje južne i jugozapadne Istre;
- (2) Kredno – eocensko karbonatno i klastično područje obilježeno navlačnim strukturama na istočnom i sjeveroistočnom dijelu poluotoka;
- (3) Eocenski bazen s flišom u središnjoj Istri.

Različita geološka građa uvjetovala je i nastanak različitih vrsta tala na području Istre (Slika 5). Stoga se, obzirom na vrste tla, Istra može podijeliti na: (1) gorsku Istru (tzv. *Bijela Istra*) smještenu na sjeveru, sjeveroistoku i istoku (Učka i Ćićarija), obilježenu okršenim vapnencima; (2) istrasko pobrđe (tzv. *Siva Istra*) koju povezujemo s flišom, smješteno na sjeverozapadnom i središnjem dijelu; (3) karbonatna zaravan (tzv. *Crvena Istra*) koja se prostire u zapadnom i jugozapadnom dijelu Istre, nazvana prema zemlji crvenici (*terra rossa*) koja se razvila na karbonatnoj podlozi; i (4) naplavne ravnice rijeka (Raša, Mirna, Draganja) (Velić i sur., 1995).

---

<sup>3</sup> Wladimir P. Köppen (1846-1940): klasifikacija se temelji na konceptu ovisnosti klime i vegetacije, gdje je vegetacija direktan izražaj karakteristika klime. Tip klime spaja prosječne godišnje i mjesečnim temperature i oborine sa vrstama vegetacije.



Slika 5. Geomorfološka podjela Istre (izvor: [www.istra.lzmk.hr](http://www.istra.lzmk.hr))

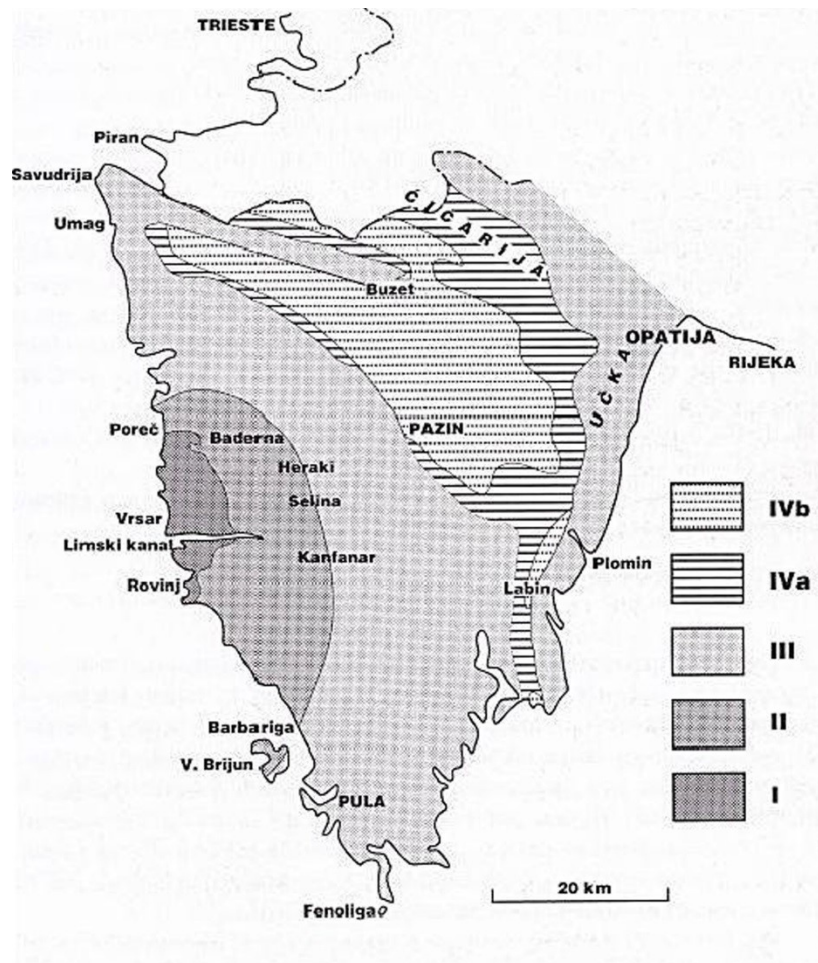
### 3.2.2. Stratigrafske značajke

Istarski poluotok paleogeografski pripada sjeverozapadnom dijelu Jadranske karbonatne platforme (Vlahović i sur., 1995). Izgrađen je pretežito od plitkomorskih karbonata stratigrafskog raspona od dogera do srednjeg eocena, dok se u manjoj mjeri mogu pronaći siliciklastične naslage, fliš i vapnenačke breče srednje eocenske starosti, te crvenica i les kvartarne starosti. S obzirom na uvjete koji su dominirali prilikom taloženja naslaga u Istri, razlikujemo četiri jedinice taloženja (megasekvencije) (Slika 6) međusobno odijeljene ploham diskontinuiteta (emerzijskim površinama):

- (1) bat – donji kimeridž,
- (2) gornji titon – gornji apt,
- (3) gornji alb – donji kampan,
- (4) paleocen – eocen.

Završetak svake megasekvencije karakteriziran je diskontinuitetima koji predstavljaju emerzijske površine različitog trajanja tijekom kojih je vladala kontinentalna faza.





**Slika 6.** Površinska rasprostranjenost izdvojenih megasekvencija u Istri:

I – bat-donji kimeridž; II – gornji titon-gornji apt; III – gornji alb-donji kampan; IV – paleocen-eocen: a) foraminiferski vapnenci, b) fliš i prijelazne naslage (Velić i dr., 1995).

Prva, regresivna, megasekvencija obuhvaća najstarije naslage Istre, odnosno jezgru zapadnoistarske antiklinale taložene od bata do oksforda. Tijekom ovog razdoblja prevladavaju okoliši izoliranih plićaka u plitkom subtajdalu i lagunama, gdje se talože debeli slojevi madstona i fosilifernih vekstona (Velić i sur., 2002, 2003). Srednje- do kasnooksfordske naslage taložene su na rubovima laguna u okolišima visoke energije u obliku pješanih prudova koji predstavljaju nakupine ooida i skeletnih ostataka. Trend oplićavanja nastavlja se do kraja oksforda i tijekom ranog kimeridža, omogućujući taloženje regresivnih breča, tzv. *Rovinj breča*. Tijekom kopnene faze stijene su izložene okršavanju, a u dubljim dijelovima tako nastalog reljefa taložen je ishodišni materijal za postanak boksita. U razdoblju od titona do apta postepeno se uspostavlja morski režim, pa nastaje plitkomorski karbonatni okoliš. U peritajdalnom slijedu naslaga taložili su se stromatoliti i peloidni vapnenci, dok su nešto rjeđe

emerzijske breče te rano do kasno dijagenetski dolomiti. O jako plitkim morskim taložnim okolišima svjedoče brojne desikacijske pukotine, otisci tragova stopala dinosaura na gornjim slojnim plohama, te dobro očuvani ranodijagenetski dolomiti, tzv. *Fantazija dolomiti* (Velić i sur., 1995). Izrazito plitkomorski taložni uvjeti nastavljaju se i tijekom neokoma i barema. Regionalna emerzija u kasnom aptu izazvala je eroziju sedimenata barema i apta. Kopnenu fazu karakteriziraju emerzijske breče, konglomerati koji sadrže karakteristične crne valutice (tzv. *Black-pebbles* breče) nastali u močvarnim okolišima, boksiti i kvarcni dijagenetski sedimenti nastali donosom vulkanskog pepela iz udaljenih područja (Velić i sur., 2003). Tijekom cenomana dolazi do diferencijacije postojećih okoliša, te se javljaju taložni sustavi peritajdala, plitkovodnog pješčanog pruda i blago položene karbonatne rampe. Uglavnom se talože madstoni, peloidni vekstoni i pekstoni s brojnom zajednicom rudista i foraminifera, a javljaju se i stromatoliti. Krajem cenomana i početkom turona dolazi do potapanja plitkomorskog područja južne Istre, pa se talože vapnenci s pelagičkim organizmima, dok su na sjevernom dijelu i dalje plitkomorski karbonatni okoliši. Taloženje paleogenskih naslaga započelo je postupnim preplavlivanjem tektonski deformiranog, okršenog i reljefno raznolikog kopna. Transgresija je uzrokovala i podizanje razine podzemne vode, pa su u najnižim dijelovima reljefa postupno nastali močvarni okoliši, u kojima je između karbonatnih sedimenata taložen i ishodišni materijal za debele naslage ugljena (područje Labina). Daljim porastom morske razine uspostavljaju se plitkomorski uvjeti na sve većem području Istre i talože se sedimenti koji sadrže velike količine ljušturica foraminifera. Obzirom na regionalne tektonske događaje i globalne varijacije u razinama morske vode, na području Istre su u ovom razdoblju nastale četiri značajnije vrste naslage: (1) Liburnijske naslage; (2) foraminiferski vapnenci; (3) prijelazne naslage i (4) fliš. Liburnijske naslage su paleocenske starosti, a obilježavaju period u kojem se odvijala slatkovodna do brakična karbonatna sedimentacija. Izgrađeni su od tamnih i smeđih vapnenaca s ugljenom koji sadrže slatkovodne puževe roda *Stomatopsis* i *Cosinia* te alge iz skupine *Charophyta*. Debljina ovih naslaga varira od nekoliko metara do debelih naslaga u Labinskom i Plominskom bazenu (više od 100 m). Foraminiferski vapnenci stratigrafski pripadaju kraju paleocena i početku eocena, a sastoje se pretežito od skeleta bentoskih foraminifera (miliolide, alveoline, numuliti i diskocikline). Prijelazne naslage obilježavaju tranziciju iz plitkomorskih karbonatnih okoliša u bazenske okoliše u kojima se talože klastični sedimenti. Litološki su to

laporoviti vapnenci s glaukonitima u kojima su, uz ostatke diskociklina, brojne kućice planktonskih foraminifera. Fliš u najnižem dijelu sadrži lapore, a zatim pravilnu izmjenu lapora i vapnenačkih pješčenjaka.

Nakon taloženja fliša, kao najmlađih paleogenskih naslaga, područje današnje Istre je okopnjelo. Tijekom dugog kopnenog razdoblja sve četiri taložne cjeline izložene su površinskom trošenju, okršavanju i eroziji, a dijelom su prekrivene najmlađim sedimentima – crvenicom (*terra rosa*), eolskim materijalom (les), kvartarnim brečama i močvarnim sedimentima (Velić i sur., 1995).

### **3.3. Geologija istraživanog područja**

#### **3.3.1. Interpretacija Osnovne geološke karte – list Labin**

U prilogu 3. nalazi se dio Osnovne geološke karte SFRJ (Šikić i sur., 1973) u mjerilu 1:100 000, koji prikazuje detaljnu geološku građu istraživanog područja. List Labin obuhvaća područje istočne Istre i Hrvatskog primorja s djelovima otoka Krka i Cresa. Nalazi se između 14°00' i 14°30' istočne dužine i 45°00' i 45°20' sjeverne širine.

Istraživano područje, odnosno uža okolica TE Plomin nalazi se na geološkoj podlozi paleogenske starosti za koju su karakteristični foraminiferski vapnenci. Iako su paleogenske naslage dosta rasprostranjene na istarskom poluotoku (padine Učke i Ćićarije, područje između Pićana i Pazina, te unutar Labinskog bazena) nigdje nisu razvijene u potpunosti. Nedostatak pojedinih članova uvjetovan je izmjenom transgresivnih i regresivnih faza koje su postepeno zahvatile područja gornjokredne i paleogenske starosti, stoga na mnogim lokalitetima nedostaju jedan ili više članova transgresivne, odnosno regresivne serije. Tako na području TE Plomin, prema interpretaciji OGK, nisu pronađene Liburnijske naslage koje označavaju početak paleocena. Najstarije pronađene naslage su miliolidni vapnenci koji označavaju prijelaz iz paleocena u eocen. Ova formacija nalazi se uvijek u bazi foraminiferskih vapnenaca. Površinski su najrasprostranjeniji u južnom dijelu Labinskog bazena. U ostalim područjima pojavljuju se kao uske trake uz obode bazena s ostalim paleogenkim naslagama. Miliolidni vapnenci taloženi su u zaštićenim, vjerovatno i hipersalinim platformnim okolišnim uvjetima, stoga su dobro uslojeni i karakteristične su svijetlo smeđe do sive boje. Na miliolidne vapnence nastavljaju se alveolinski

vapnenci donjoeocenske starosti. Ove naslage dobro su otkrivene i nalaze se duž svih rubova Labinskog i Pazinskog bazena. Uglavnom su smeđe do bijele boje, nepravilnog loma i brašnaste teksture, a slojevitost im je slaba. Numulitni vapnenci javljaju se na prijelazu iz donjeg u srednji eocen. Prostiru se na istim područjima gdje i alveolinski vapnenci iz kojih se postepeno razvijaju. To su pretežito smeđi, rijeđe žućkasti i sivi, a u gornjem dijelu obično brečasti vapnenci, uvijek nepravilnog loma. Stijene numulitnih vapnenaca su homogenije i kompaktnije od alveolinskih vapnenaca i sa slabom, potpuno nejasnom uslojenošću. S numulitnim vapnencima prestaje vapnena sedimentacija paleogena.

Na području Plominskog zaljeva pronađene su i prijelazne naslage srednje- do gornjoeocenske starosti. Ove naslage karakterizira vertikalna i lateralna izmjena lapora, pješčenjaka sa slojevima konglomerata, breča, numulitnih breča i rijeđe vapnenaca (flišolike naslage). Flišolika serija razvijena je na čitavom području tercijarnog bazena i njegovim rubovima – Učka, Ćićarija, te u Labinskom i Plominskom bazenu, zatim u području Rijeke, Krka i na Cresu. Paleogenski sedimenti mjestimično su prekriveni naslagama pijeska, šljunka, te sivim i crnim tlima holocenske starosti, kako je opisano u OGK. Paleogenske naslage u okolici TE Plomin omeđene su gornjokrednim vapnencima. Općenito, ove naslage počinju skoro neposredno iznad naslaga donje krede. Sjeverno prevladavaju sivi i smeđi homogeni pločasti do škrljavi vapnenci, dok su oni u smjeru juga bolje uslojeni s lećama bijelih vapnenaca. To su svjetlosivi, bjeličasti do smeđi, dobro uslojeni laporoviti vapnenci, unutar kojih se nalaze ulošci bijelih do ružičastih vapnenaca. Nekad su to breče od sitnog kršja, rudista, ježinaca ili pak konglomerati koji sadrže valutice i fragmenata ljuštura školjkaša. Idući od Plomina prema istočnoj obali istarskog poluotoka, uz navedene dobro uslojene vapnence javljaju se i breče s rudistima koje se sastoje od zaobljenog kršja vapnenaca i ljuštura rudista.

### **3.3.2. Tektonsko – geomorfološke značajke**

Tektonski gledano Istarski poluotok se može podijeliti na dvije glavne tektonske jedinice. Prvoj pripada područje jugozapadne Istre (tzv. stabilna Istra) okarakterizirana superpozicijskim slijedom naslaga i odsutstvom intenzivnijih tektonskih pokreta. Područje druge tektonske jedinice nalazi se na sjeveroistočnom dijelu poluotoka, a karakteriziraju je intenzivna tektonska gibanja koja su uzrokovala

nastanak reversnih rasjeda i ljuskave građe. Navlačenjem su zahvaćeni kredni i foraminiferski vapnenci, koji su najčešće tektonski dovedeni u položaj da leže na različitim članovima paleogena, osobito na eocenskom flišu. Granica između ova dva prostora je rasjed Ćićarija – Raša koji je regionalnog značaja.

Tri su dominantne strukturne jedinice. Stabilnom Istrom dominira zapadnoeuropska antiklinala, smjera pružanja SI – JZ, sa srednje- do gornjejurskim naslagama u jezgri, odnosno krednim i eocenskim karbonatima u lijevom krilu, dok je desno prekrivenom morem. Druga jedinica je Pazinski fliški bazen, kojeg izgrađuju foraminiferski vapnenci i fliš, a pruža se središnjim dijelom poluotoka u smjeru SZ – JI. Treća cjelina uključuje ljuskave strukture Ćićarije i navlaku Učke, izgrađene od gornjokrednih vapnenaca, eocenskih karbonata i fliša.

Tektonska građa užeg područja istraživanja (Šikići sur., 1973) podjeljena je na nekoliko jedinica: nizinski sliv rijeke Raše, brdovito sjeverozapadno područje, te prostor Labinskog bazena, Učke i Ćićarije. Slojevi koji su pod utjecajem tektonskog sklopa rijeke Raše slabije su poremećeni i relativno slabije nagnuti, a sličan odnos slojeva primjećuje se i u Pazinskom bazenu. Labinski bazen, Učka i Ćićarija imaju izrazito složenu građu koja je posljedica jakih tektonskih zbivanja. Zbog toga se pojedini stratigrafski članovi kredne i paleogenske starosti na ovim područjima ne pojavljuju na površini u prvotnoj vezi, nego su odvojeni tektonskim poremećajima, a među njima postoji oštro zabilježen prekid sedimentacije (Šikić i sur., 1973).

Tektonski gledano, TE Plomin nalazi se na kompleksnoj podlozi, odnosno na presjecištu intenzivnih kompresijskih strukturnih formi Učka – Rabac – Koromačno, međusobno odijeljene reversnim rasjedima, Istarske mikroploče i fliškog bazena. Dio lokacije izgrađen je od naslaga fliša (klastiti tercijara), dio od vapnenaca ljuskave strukture Učke, a dio bi se mogao pripisati Istarskoj mikroploči. Lokaciju presjeka reversni rasjed koji odvađa foraminiferske vapnence od fliša, a slična je situacija s odnosom fliša i vapnenaca koji su dio Istarske mikroploče (EKONERG, 2011).

### **3.3.3. Hidrogeološke karakteristike**

Hidrogeološke karakteristike šireg područja TE Plomin (Šikić i sur., 1973) uvjetovane su litofizičkim obilježjima stijenskog kompleksa, tektonskoj oštećenosti i stupnjem deformacije, kao i podložnosti korozivskim i erozijskim procesima. Obzirom

na litološki sastav razmatranog područja, opisanog u prethodnim poglavljima, izdvojene su tri osnovne grupe stijena različitih hidrogeoloških značajki:

- (1) dobro vodopropusne karbonatne naslage;
- (2) srednje vodopropusne klastične naslage;
- (3) slabo vodopropusne klastične naslage, promjenjive propusnosti zbog različite intergranularne i sekundarne poroznosti.

Skupini dobro vodopropusnih karbonatnih naslaga pripadaju gornjokredni vapnenci, te miliolidni, alveolinski i numulitni vapnenci. Odlikuju se sekundarnom pukotinsko-kavernoznom poroznošću, koja je posljedica tektonskih aktivnosti, kao i erozijskog i kemijskog djelovanja vode. Skupini srednje vodopropusnih naslaga pripadaju vapnenačke breče i konglomerati, povoljnije vodopropusnosti ovisno o veličini međuzrnske poroznosti. Slabo vodopropusnim naslagama smatraju se prijelazne naslage (lapori, glinoviti vapnenci); flišne naslage (lapori, pješčenjaci, breče, konglomerati) i kvartarne naslage (gline s malo ili dosta kršja i odlomaka) (EKONERG, 2011).

Slivno područje Plomina iznosi cca 230 km<sup>2</sup>, a obuhvaća zapadnu Učku i Ćićariju do Lupoglava, paleogenski bazen i dio područja između Labina i Plomina. Hidrografska mreža unutar paleogenskog bazena je normalna, dok ostala područja imaju karakteristike krškog hidrografskog sustava. Važniji površinski tok je Boljunščica, a u široj okolici nalazi se jedno od najvećih slivnih područja u Istri - rijeka Raša (Šikić i sur., 1973).

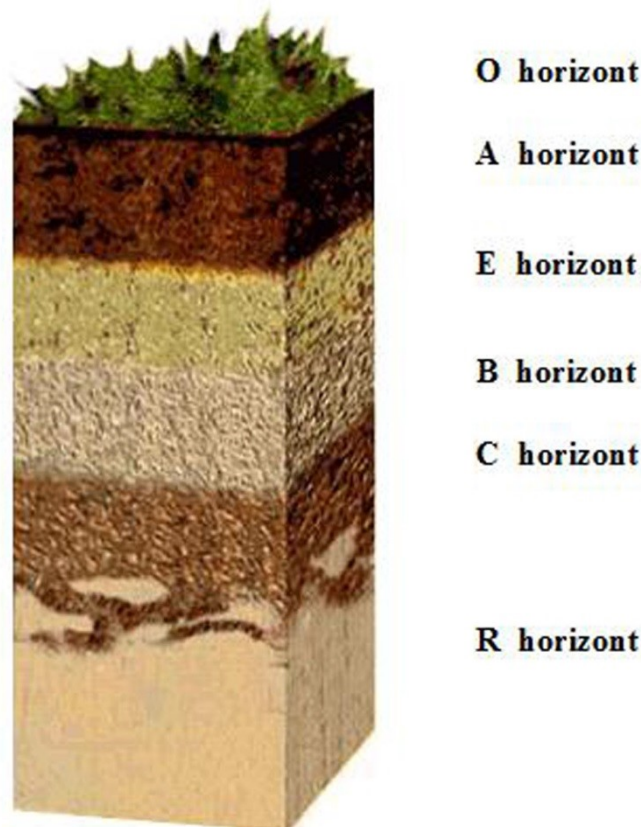
Općenito, smjer kretanja podzemnih voda na sjevernom i sjeveroistočnom dijelu istraživanog područja je u pravcu juga, a potom u pravcu jugozapada (južni dio istraživanog područja) (Prilog 4). Velik utjecaj na smjer toka podzemnih voda imaju rasjedni sistemi pravca pružanja sjever sjeverozapad – jug jugoistok do sjever – jug na zapadnom podnožju Učke, kao i rasjedni sistemi pružanja sjeveroistok – jugozapad na širem prostoru Labina i Raše. Relativnu barijeru podzemnim vodama čini nepropusni kompleks naslaga fliša, klastičnih naslaga kvartara i more (EKONERG, 2011).

### 3.4. Tla istraživanog područja

#### 3.4.1. Postanak i klasifikacija tala

Tlo je prirodno tijelo nastalo iz rastresite stijene ili na trošini čvrste stijene pod utjecajem čimbenika pedogeneze i kao rezultat djelovanja pedogenetskih procesa (Škorić, 1986). Pedogenetski čimbenici su faktori tvorbe i razvoja tla, a čine ih matični supstrat, klima, flora i fauna, reljef i vrijeme. Pedogenetski procesi uzrokuju trošenje matične stijene i primarnih minerala fizičkim i kemijskim agensima, sintezu sekundarnih minerala, stvaranje i razgradnju organske tvari, nastanak humusa i različite oblike migracije u tlu (Škorić, 1986).

Profil tla sastoji se od specifično raspoređenih horizonata koji se međusobno razlikuju po karakteristikama i sastavu, a uvjetovani su vertikalnim i lateralnim kretanjem otopina i suspenzija (Slika 7). Weaver (1989) je definirao šest osnovnih horizonata tla: O, A, E, B, C i R.



**Slika 7.** Profil tla (izvor: [www.uvm.edu](http://www.uvm.edu))

Organski površinski horizont (O) leži iznad mineralnog dijela tla u pretežno aerobnim uvjetima i sadrži uglavnom organski materijal koji je dijelom raspadnut.

Humusno akumulativni horizont (A) tamne je boje, a predstavlja zonu organske akumulacije i maksimalne biološke aktivnosti. Pod utjecajem erozije i oborina u ovom horizontu javljaju se intenzivne migracije te dolazi do ispiranja mineralne tvari putem otopina i istovremenog akumuliranja organske tvari. Organske kiseline koje nastaju iz organskog materijala povećavaju topljivost i mobilnost iona u tlu. Ispod A horizonta često se nalazi eluvijalni (E) horizont koji sadrži manje organske tvari, ali je obogaćen mineralnim česticama te je svjetlije boje od horizontata s kojima graniči. B horizont predstavlja iluvijalni mineralni horizont u kojem se taloženjem nakupljaju alumosilikati (minerali glina) isprani iz E horizonta ili organska tvar isprana iz A horizonta. Uglavnom je crvenkaste do tamnosmeđe boje. Horizonti A, E i B nazivaju se solum tla i predstavljaju dio tla formiran procesima pedogeneze. C horizont je nekonsolidirani dio iz kojeg se može formirati solum, a sastoji se od pijeska, lesa ili lapora. R horizont predstavlja čvrstu, matičnu stijenu izgrađenu od karbonata, siliciklastičnih, metamorfnih ili magmatskih stijena. Horizonti C i R nisu zahvaćeni pedogenetskim procesima.

### **3.4.2. Tla istraživanog područja**

Tla Istre uvelike se razlikuju zbog utjecaja klime, oborina, reljefa i vegetacije. Glavni razlog tome je sama geomorfologija Istre, kao i opisana klimatska obilježja. Analizom i interpretacijom pedološke karte utvrđeni su najčešći tipovi tala koji se javljaju u bližoj okolini TE Plomin (EKONERG, 2011; Škorić, 1981). Obzirom na površinu koju zauzimaju mogu se podijeliti na smeđa tla na vapnencu i dolomitu, vapnenačko dolomitnu crnicu, rendzina tla, rigolana tla i crvenicu.

*Smeđe tlo na vapnencu i dolomitu* razvijeno je na mezozojskim vapnencima i dolomitima i tercijarnim vapnencima. Općenito, to su heterogena tla po dubini i po skeletnosti, a građa profila uključuje horizonte A – B. Udio skeletnih čestica (granulometrijska frakcija tla promjera > 2 mm) ovisi o intenzitetu okršenosti vapnenaca. Zbog izrazite kamenitosti ovih tala smanjena je njihova fiziološki aktivna dubina.

*Vapnenačko dolomitna crnica* je plitko tlo A – C građe profila do 20-ak cm humusnog horizonta koji direktno ili preko regolita leži na vapnencu ili dolomitu. Sporo trošenje podloge i propadanje sitnice kroz pukotine uvjetuje postanak pretežito plitkih tala. Ovaj tip tla u prostoru dolazi zajedno sa već spomenutim smeđim tlom na



vapnencu i dolomitu. Dobra propusnost i mali kapacitet tla za vodu uvjetuju da su ova tla suha do vrlo suha. Većina segmenta tla ove jedinice često je ispresjecana visokom slojevitošću.

*Rendzino tlo* je humusno akumulativno tlo A – C tipa građe profila koje je na ovome području razvijeno na supstratima kao što su lapor, fliš, meki vapnenci i dolomiti. Ovaj tip tla najčešće je žučkastosmeđe boje zbog velike prisutnosti minerala goethita (FeO(OH)).

*Rigolano tlo (Rigosol)* je antropogeno tlo u kojem je zbog obrade došlo do miješanja dva ili više horizonata tla sa slojevima lapora, fliša, vapnenaca ili dolomita do dubine od najmanje 60 cm. Tako je nastao antropogeni horizont P, pa je građa profila ovog tla P – C. Ova tla su pogona za biljnu proizvodnju, posebice rigolana tla na zaravnjenim dijelovima terena.

*Crvenica (terra rossa)* je tip tla karakterističan za mediteranska krška područja koja imaju znatnu količinu padalina. Građa profila uključuje horizonte A – B. Površinski sloj siromašan je humusom, a ispod njega se nalazi glinoviti sloj koji ovom tlu daje crvenkasto-smeđu boju. Crvenica je nastala kao rezultat kemijskog trošenja čistih mezozojskih vapnenaca i dolomita, a karakterizira je glinasta tekstura i povoljna tabilnost strukturnih agregata. Rubifikacija, odnosno prevladavanje minerala hematita nad goethitom, uzorkuje prepoznatljivu crvenu boju tla.

Uz opisane tipove tala koje preovladavaju na ovom području, u manjoj mjeri zastupljene su i sljedeće vrste tla: *kamenjar*, *sirozem*, *lesivirano tlo*, *močvarno glejno tlo* i *rudničke jalovine s deposolima* (EKONERG, 2011).

## 4. METODE ISTRAŽIVANJA

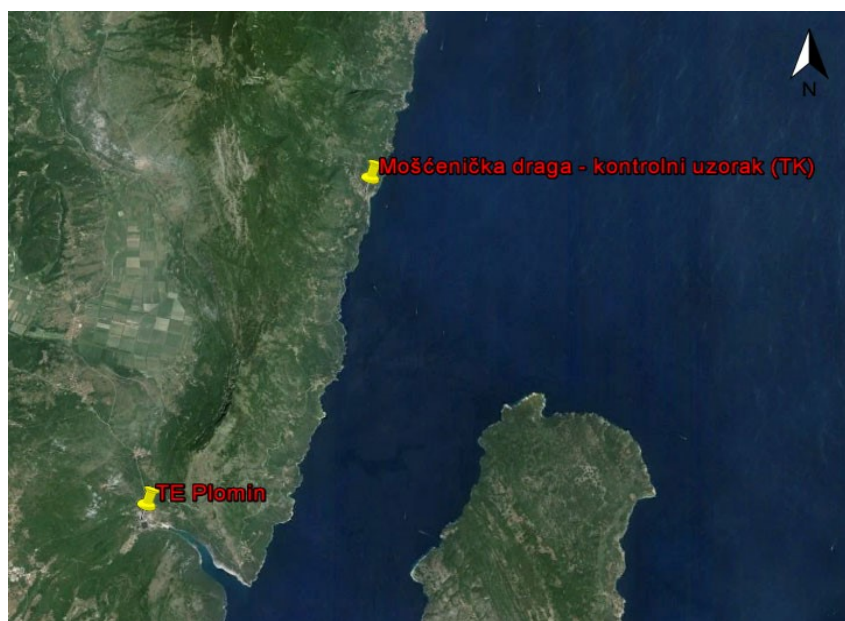
Izrada diplomskog rada sastojala se od terenskog i laboratorijskog istraživanja te interpretacije dobivenih rezultata.

### ■ Terensko istraživanje

Uzorkovanje je obavljeno u ožujku 2014. godine. Uzorci tla sakupljeni su na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja u TE Plomin (200, 300, 400 i 800 m) linearno u smjeru prevladavajućeg smjera vjetera (SZ – JI), te u Mošćeničkoj dragi koja je odabrana kao kontrolna lokacija (referentno tlo, nadalje u tekstu terenska kontrola, TK) (Slike 8a, 8b i 9). Na svakoj od lokacija prikupljeno je po pet uzoraka tla, a udaljenost između uzorkovanja je iznosila oko jedan metar. Lokacije uzorkovanja s GPS koordinatama prikazane su u Tablici 1.

**Tablica 1.** GPS lokacije uzorkovanja

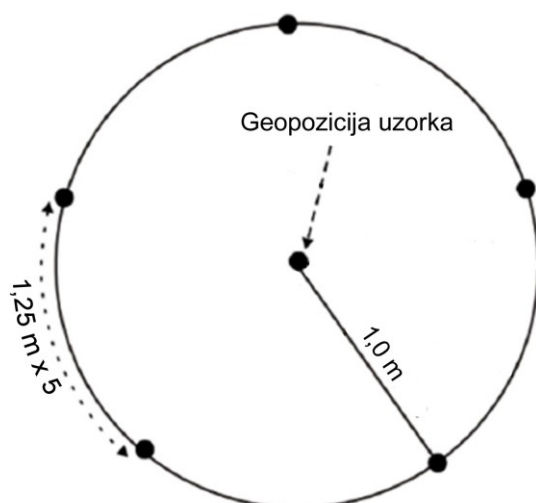
Uzorak	S.Z.Š.	I.Z.D.
200m	45°08'08"	14°09'37"
300m	45°08'05"	14°09'33"
400m	45°08'03"	14°09'29"
800m	45°08'55"	14°09'15"



**Slika 8a.** Prikaz lokacije uzorkovanja kontrolnog tla (Mošćenička draga) (Izvor: Google Earth Pro – probna inačica programa).



**Slika 8b.** Prikaz točaka uzorkovanja na profilu 800 m od TE Plomin (izvor: Google Earth Pro – probna inačica programa).



**Slika 9.** Shematski prikaz uzorkovanja.

## Preprema filtrata tla

Sakupljeni uzorci tla (po pet uzoraka sa svake lokacije), usitnjeni su i prosijani kroz sito 2 mm. Za izradu filtrata, odvagano je po 50 g uzoraka tla sakupljenog na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja u TE Plomin te na kontrolnoj lokaciji (terenska kontrola, TK). Uzorcima tla dodano je po 500 ml dH<sub>2</sub>O (omjer 1:10) te su dobivene suspenzije stavljene na magnetsku miješalicu tijekom jednog sata, nakon

čega je slijedila sedimentacija (jedan sat). Dobivene otopine su prvo filtrirane putem filter papira a zatim centrifugirane ( $13\ 000\times g$ , 10 min) te je u daljnjem pokusu korišten dobiveni supernatant.

## **Kemijska analiza**

### **4.3.1. Priprema filtrata tla i biljnog materijala za određivanje sadržaja elemenata tehnikom ICP-AES**

Svaki uzorak filtrata tla zakiseljen je s dušičnom kiselinom ( $\text{HNO}_3$ , *p.a.*, 1% v/v, „Carlo Erba“, Italija) te su tako pripremljene otopine analizirane tehnikom atomske emisijske spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-AES). Prije digestije, uzorci biljnog materijala su posušeni na  $60\ ^\circ\text{C}$  do konstantne mase (24h). Svaki uzorak ( $\sim 0,1\ \text{g}$ ) biljnog materijala je razoren metodom mokre digestije u 6 mL koncentrirane dušične kiseline ( $\text{HNO}_3$ , *p.a.*, „Carlo Erba“, Italija) u mikrovalnom sustavu za razaranje uzoraka Anton Paar Multiwave 3000 opremljenom rotorom XFS-100 i teflonskim posudama volumena 100 mL.

Parametri digestije primijenjeni na mikrovalnom sustavu bili su:  $P_{\text{max}} = 1200\ \text{W}$ ,  $t_{\text{max}} = 200\ ^\circ\text{C}$ ,  $p_{\text{max}} = 60\ \text{bar}$ ;  $\tau$ (postupno zagrijavanje) = 10 min,  $\tau$ (zagrijavanje pri maksimalnim  $t$ ,  $p$ ) = 15 min,  $\tau$ (hlađenje) = 20 min. Nakon provedene digestije, dobivene otopine su u polipropilenskim odmjernim tikvicama od 100 mL („Nalgene“) razrijeđene ultračistom vodom. Takve otopine su analizirane tehnikom ICP-AES. Zajedno sa serijom od 6 uzoraka, tretirane su po dvije slijepe probe (dušična kiselina).

### **4.3.2. Određivanje sadržaja metala tehnikom ICP-AES**

Uređaj je podešen na stabilne uvjete rada te je obavljena vanjska kalibracija serijom standardnih otopina priređenih razrjeđivanjem komercijalnog multielementnog standarda (Multi-element ICP-Standard-Solution ROTI®STAR, ROTH, Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland). Sve standardne otopine i slijepa proba zakiseljene su dušičnom kiselinom ( $\text{HNO}_3$ , 1 %, v/v).

Uzorak se u plazmu injektira u obliku aerosola u uski prolaz unutar cirkularne struje plazme argona pri čemu argon služi i kao nosač uzorka. Ovakav način unosa osigurava optički vrlo tanak izvor emisije, te kemijski inertnu atmosferu. Atomizacija elemenata u uzorku postiže se na temperaturama od 5500 do 8000 K. Ovako visoke

temperature osim što minimaliziraju kemijske interakcije u uzorku dodatno ioniziraju argon koji je prethodno preveden u plazmu strujanjem kroz radiofrekvencijsko polje. U Tablici 2 opisani su važni parametri instrumentalne analize.

**Tablica 2.** Parametri instrumentalne analize za ICP-OES.

Parametar	Vrijednost
Instrument	Thermo Fischer iCAP6300 Duo
Snaga RF-a	1150 W
Protok rashladnog plina	12 L/min
Protok plina za uzorak	0,65 L/min
Protok pomoćnog plina	0,5 L/min
Sustav za uvođenje uzorka	-automatski uzorkivač CETAC ASX-260 -koncentrični raspršivač s vrtložnom komorom za raspršivanje
Brzina peristaltičke pumpe	45 okr/min
Cijevčice peristaltičke pumpe	-uzorak: narančasto-bijela -ispiranje: bijelo-bijela
Vrijeme uvođenja uzorka	45 s
Vrijeme ispiranja	60 s
Analiza plazme ( <i>Plasma view</i> )	Automatska ( <i>Auto View</i> )
Maksimalno vrijeme mjerenja	-niske valne duljine (160-230 nm): 15 s -visoke valne duljine (230-847 nm): 5 s
Mjereni elementi i valne duljine (nm)	Al – 167,079      Co – 228,616      Mn – 257,610 As – 193,759      Cr – 267,716      Ni – 231,604 Ba – 455,403      Cu – 327,396      Sr – 407,771 Cd – 214,438      Fe – 259,837      Zn – 206,200
Kalibracijske otopine	- 0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (svi elementi) - 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (svi elementi) - 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ (svi elementi) - 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ (svi elementi)
Otopina za ispiranje sustava	Dušična kiselina, $\text{HNO}_3$ , <i>supra pur</i> , 1 % (v/v)

### 4.3.3. Određivanje sadržaja kationa i aniona ionskom kromatografijom

Određivanje sadržaja kationa i aniona u filtratima tla izvedeno je metodom ionske kromatografije prema normi HRN EN ISO 14911:2001 za katione te HRN EN ISO 10304-1:1998 za anione. Ionska kromatografija je oblik tekućinske kromatografije gdje je odvajanje kontrolirano ionskom interakcijom iona otopine i iona suprotnog naboja koji su kao funkcionalne grupe vezani na stacionarnoj fazi (koloni). Za svaki ion ionska izmjena je okarakterizirana odgovarajućom konstantom ravnoteže koja određuje razdiobu između mobilne i stacionarne faze. Prije mjerenja, svaki je uzorak filtrata tla zakiseljen s dušičnom kiselinom na pH vrijednost 3. Uređaj je podešen na stabilne uvjete rada (ispiranje kolone eluensom oko pola sata radi stabilizacije bazne linije te zatim deioniziranom vodom) te je obavljena kalibracija uzorkom miješanih standardnih otopina kationa odnosno aniona. Uvjeti rada instrumenta prikazani su u Tablici 3.

**Tablica 3.** Parametri instrumentalne analize za ionsku kromatografiju.

Parametar	Vrijednost
Instrument	ICS-3000 Ion Chromatography System Dionex
Kationski eluens i kolona	otopina metansulfonske kiseline, IonPac® CS16 5x250 mm)
Anionski eluens i kolona	otopina kalijeva hidroksida, IonPac® AS18 4x250 mm)
Ispiranje kolone eluensom	30 min
Sustav za uvođenje uzorka	automatski uzorkivač namješten na volumen 25 µL
Protok izokratne pumpe	1mL/min (min. tlak 200 psi, max.tlak 3000 psi)
Sakupljanje podataka	5 Hz, svakih 0,5 s
Vrijeme uvođenja uzorka	45 s

### **Kultura vodene leće (*Lemna minor* L.) u uvjetima in vitro**

Testna biljka korištena u ovom istraživanju vodena leća (*Lemna minor* L.) sakupljena je u Botaničkom vrtu Prirodoslovno–matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Prilikom uvođenja vodene leće u kulturu *in vitro* 1995. godine biljke su sterilizirane etanolom i živinim kloridom postupkom po Kranjčiću i Devidéu (1980) i

dalje uzgajane u akseničnim uvjetima. Za dugotrajnu kultivaciju vodene leće korištena je modificirana Pirson-Seidel (PS) hranjiva podloga (Pirson i Seidel, 1950), a za eksperimentalnu analizu hranjiva podloga po Steinbergu (1946) koje su sterilizirane autoklaviranjem pri temperaturi od 120 °C i tlaku od 0,15 MPa u trajanju od 20 minuta. Sastav hranjivih podloga prikazan je u Tablici 4.

**Tablica 4.** Sastav hranjivih podloga po Pirsonu i Seidelu (1950) i Steinbergu (1946).

Pirson i Seidel			Steinberg		
MAKROELEMENTI	mg/L	mmol/L	MAKROELEMENTI	mg/L	mmol/L
KNO <sub>3</sub>	400	3,95	KNO <sub>3</sub>	350	3,46
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	200	1,47	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	90	0,66
			K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	12,6	0,072
MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	300	1,21	MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	100	0,41
CaCl <sub>2</sub> x 2H <sub>2</sub> O	804	5,46	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> x 4H <sub>2</sub> O	295	1,25
MIKROELEMENTI	mg/L	mmol/L	MIKROELEMENTI	mg/L	mmol/L
MnCl <sub>2</sub> x 4H <sub>2</sub> O	300	1,5	MnCl <sub>2</sub> x 4H <sub>2</sub> O	180	0,91
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	500	8,1	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	120	1,94
Na <sub>2</sub> – EDTA x 2H <sub>2</sub> O	1860	4,99	Na <sub>2</sub> – EDTA x 2H <sub>2</sub> O	1500	4,03
Željezni citrat	5000	20	FeCl <sub>3</sub> x 6H <sub>2</sub> O	760	2,81
			Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O	44	0,18
			ZnSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	180	0,63
ORGANSKI DODACI	g/L	mmol/L			
Saharoza	10	29,2			
Asparagin	0,1	0,66			

Za priređivanje testnih podloga korištene su dobivene otopine uzoraka tla kojima su dodani makro- i mikroelementi po Steinbergu, no također je priređena i laboratorijska kontrola (LK) koja je umjesto otopina uzoraka tla priređena s destiliranom vodom. Prije nasađivanja biljaka, sve priređene podloge su sterilizirane hladnom filtracijom korištenjem celuloza-nitratnih membrana "Whatman" (veličine pora 0,45 μm, promjera 47 mm). pH vrijednost filtrirane laboratorijske kontrole iznosila je 5,94 a terenske kontrole 6,37-6,72. pH vrijednost filtrata tla sakupljenih blizu izvora onečišćenja bila je vrlo slična pH vrijednostima terenske kontrole i

iznosila je 6,45-6,85 za filtrate tla sakupljene 200 m od izvora onečišćenja, 6,87-7,00 za filtrate tla sakupljene 300 m od izvora onečišćenja, 6,57-6,95 za filtrate tla sakupljene 400 m od izvora onečišćenja te 6,72-6,96 za filtrate tla sakupljene 800 m od izvora onečišćenja.

Prije samog eksperimenta, biljke vodene leće su uzgajane tijekom sedam dana na sterilnoj Steinbergovoj podlozi kako bi se biljke prilagodile na spomenutu podlogu, koja za razliku od PS podloge, ne sadrži saharozu.

Nakon sedam dana rasta, pojedinačne zdrave kolonije s 2-3 listića (ukupno 10 listića) su nasađene u Erlenmeyerove tikvice od 100 mL koje su sadržavale po 50 mL uzorka filtriranih testnih voda uzoraka tla (te su tikvice korištene za praćenje rasta), a po desetak kolonija u tikvice od 300 mL (iz tih se tikvica uzimao materijal za određivanje biokemijskih parametara) koje su sadržavale po 130 mL uzorka testnih voda.

Biljke su tijekom dugotrajne kultivacije uzgajane u uvjetima dugog dana (16 sati osvjetljenja i 8 sati tame) na temperaturi  $24 \pm 1$  °C uz rasvjetu bijelih fluorescentnih svjetiljki ( $90 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) u klima-komori. Tijekom sedam dan prilagodbe na Steinbergovu podlogu te sedam dana pokusa, biljke su uzgajane u uvjetima kontinuiranog svjetla iste jakosti i temperature kao i u slučaju dugotrajne kultivacije. Uzorci biljnog tkiva za pokuse uzimani su iz svih tikvica nakon sedam dana pokusa.

## **██████ Lemna-test i biokemijski pokazatelji u vodenoj leći**

### **4.5.1. Lemna-test (ISO 20079) – stopa rasta vodene leće**

Rast biljaka praćen je određivanjem broja frondova tj. listića, mase svježe (FW) i suhe tvari (DW) tijekom sedam dana izlaganja uzorcima testnih voda. Pri tome je brojena svaka pa i najmanja biljka vidljiva golim okom. Dobiveni podaci uvrštavani su u slijedeći izraz:

$$\text{Stopa rasta} = \frac{\ln x t_2 - \ln x t_1}{t_2 - t_1}$$

$x t_1$  – vrijednost broja listića ili mase svježe ili mase suhe tvari u vremenu  $t_1$  (dani)

$x t_2$  – vrijednost broja listića u vremenu  $t_2$  (dani)

$t_2 - t_1$  – vremenski period između dana uzimanja uzorka i početnog dana



Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost stope rasta broja biljaka u pet Erlenmeyerovih tikvica  $\pm$  standardna devijacija.

#### **4.5.2. Određivanje sadržaja pigmenata u vodenoj leći**

Sadržaj pigmenata određen je spektrofotometrijski (UV/VIS spektrofotometar Specord, Analytik Jena). Uzorci svježeg tkiva (30 mg) ekstrahirani su u 80%-tnom hladnom acetonu (1,5 mL) i centrifugirani (5000 g / 10 min) u rotoru 12154H visokookretajne centrifuge (Sigma 3K18) pri temperaturi +4 °C. Mjeren je cijeli spektar apsorbancije za svaki uzorak te su zatim očitavani podaci na tri valne duljine: 663, 646 i 470 nm (Arnon, 1949). Sadržaj fotosintetskih pigmenata određen je prema Lichtenthaleru (1987).

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost pet replika  $\pm$  standardna devijacija i izraženi u odnosu na kontrolu.

#### **4.5.3. Određivanje sadržaja malondialdehida u vodenoj leći**

Kako bi se odredio sadržaj malondialdehida (MDA) krajnjeg produkta lipidne peroksidacije, pomiješano je 200  $\mu$ L uzorka s 800  $\mu$ L reakcijske smjese (0,25% tiobarbiturna kiselina otopljena u 10%-tnoj trikloroocenoj kiselini). Kao slijepa proba korištena je reakcijska smjesa. Uzorci i slijepa proba preliveni su u staklene semimikroeprovete te zagrijavani u sušioniku 30 min na 95 °C. Nakon toga uzorci su naglo ohlađeni na ledu te centrifugirani 10 min na 10 000 g. Nakon toga slijedilo je očitavanje apsorbancije na 532 te na 600 nm zbog korekcije na nespecifično zamućenje (Heath i Packer, 1968). Tijekom zagrijavanja reakcijske smjese niske pH vrijednosti dolazi do raspadanja lipidnih peroksida nastalih kao posljedica stresa pri čemu nastaje malondialdehid. Jedna molekula MDA reagira s dvije molekule TBA, a time se stvara crvenkasti kromogen kojemu se mjeri apsorbancija. Koncentracija lipidnih peroksida izražena je kao MDA u jedinicama nmol/g sv. t uz ekstinkcijski koeficijent  $\epsilon_{532} = 155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost pet replika  $\pm$  standardna devijacija.

#### 4.5.4. Određivanje sadržaja neproteinskih tiola

Uzorci vodene leće mase 250 mg homogenizirani su u 1,0 ml 6,67% sulfosalicilne kiseline te centrifugirani 10 minuta na 13 000 g u rotoru 12154H visokookretajne centrifuge (Sigma 3K18) pri temperaturi +4 °C. Kako bi se odredio sadržaj neproteinskih tiola, 900 µl Ellmanovog reagensa (120 mM Na-fosfatni pufer pH 7,5 koji sadrži 5mM EDTA i 0,6 mM 5,5-ditio-bis-nitrobenzojevu kiselinu (DTNB)) pomiješano je sa 100 µl supernatanta. Kao slijepa proba korišten je alikvot istog uzorka (100 µl) pomiješan s 900 µl 120 mM Na-fosfatnog pufera pH 7,5 koji sadrži 5mM EDTA. Kao korekciju za apsorbanciju reakcijske smjese bez supernatanta korišteno je 100 µl 6,67% sulfosalicilne kiseline pomiješano s 900 µl Ellmanovog reagensa. Pripremljeni uzorci su inkubirani 15 min na sobnoj temperaturi. Nakon inkubacije je slijedilo mjerenje sadržaja neproteinskih tiola uz reducirani glutation kao standard. Sadržaj neproteinskih tiola koji se temelji na reakciji tiolnih skupina s DTNB, određen je spektrofotometrijskim mjerenjem otopljenih uzoraka na valnoj duljini od 412 nm (Ellman, 1959). Količina nastalih tiola izražena je u nmol po gramu svježje tvari uz ekstinkcijski koeficijent  $\epsilon_{412} = 14,53 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .

Rezultati su prikazani kao srednju vrijednost pet replika  $\pm$  standardna devijacija i izraženi u odnosu na kontrolu.

#### 4.5.5. Ekstrakcija topivih proteina i aktivnost katalaze i peroksidaza u vodenoj leći

Nakon sedam dana izlaganja testnim vodama, uzorci vodene leće (150 mg) homogenizirani su u 50 mM kalij fosfatnom puferu (pH 7,0) uz dodatak 0,1 mM EDTA i netopivog polivinilpolipirrolidona te su zatim centrifugirani (29000 g / 30 minuta) u rotoru 12154H visokookretajne centrifuge (Sigma 3K18) pri temperaturi +4 °C. Dio dobivenog supernatanta iskorišten je za određivanje koncentracije proteina metodom Bradforda (1976), dio za određivanje aktivnosti enzima, a dio za određivanje lipidne peroksidacije. Bradfordova metoda temelji se na mjerenju apsorbancije smjese proteinskog ekstrakta i reagensa pri valnoj duljini 595 nm. Koncentracija proteina u pojedinim uzorcima određena je očitavanjem baždarne krivulje dobivene mjerenjem apsorbancije otopina serumskog albumina iz goveda poznatih koncentracija (od 0,1 mg/mL do 0,8 mg/mL).

Reakcijska otopina za određivanje aktivnosti askorbat peroksidaze sadržavala je 50 mM kalij fosfatnog pufera (pH7), 0.2 mM askorbinske kiseline, 0,1 mM EDTA, 12 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Nakano i Asada, 1981) i supernatant (120 µL). Vodikov peroksid (10 µL) dodan je u reakcijsku smjesu neposredno prije mjerenja te je praćen pad apsorbancije zbog oksidacije askorbinske kiseline svaku sekundu tijekom 15 sekundi. Aktivnost APOD je izračunata na isti način kao i aktivnost GPOD, no uz odgovarajući ekstinkcijski koeficijent ( $\epsilon_{290} = 2,8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

Reakcijska otopina za katalazu (KAT) sadržavala je 50 mM kalij fosfatnog pufera (pH 7), 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Aebi, 1984) i uzorak (30 µL supernatanta vodene leće) i mjeren je pad apsorbancije (zbog razgradnje vodikovog peroksida) svakih 10 sekundi tijekom 2 minute pri valnoj duljini od 240 nm. Aktivnost KAT izražena je kao količina potrošenog H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u µmolu po minuti po miligramu proteina, a izračunata je uz korištenje odgovarajućeg ekstinkcijskog koeficijenta ( $\epsilon_{240} = 40 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost pet replika  $\pm$  standardna devijacija i izraženi u odnosu na kontrolu.

## **Statistička obrada podataka**

Svaki brojčani podatak prikazan grafikonom ili tablicom aritmetička je sredina određenog broja replika.

Usporedba kontrole i tretmana (pojedinačno i međusobno) provedena je pomoću jednosmjerne analize varijance (ANOVA) te primjenom „Duncan’s New Multiple Range Test“ tj. post hoc testa višestrukih usporedbi (Duncan, 1955). Statistički značajnim smatrani su rezultati koji su se razlikovali na razini  $p \leq 0,05$ . Pri statističkoj obradi podataka korišten je računalni program STATISTICA 12.0 (Stat Soft Inc., SAD).

## 5. REZULTATI

### 5.1. Kemijska analiza filtrata tla i biljnog materijala

#### 5.1.1. Sadržaj metala u filtratima tla i laboratorijskoj kontroli

U Tablici 5. prikazan je sadržaj metala u filtratima tla (kontrolni filtrat, TK i filtrati blizu izvora onečišćenja) te u laboratorijskoj kontroli (LK). Najveći sadržaj Al, Ba, Co, Cu i Ni izmjeren je u filtratu tla po udaljenosti najbližeg izvoru onečišćenja TE Plomin. U usporedbi s LK i TK, povećani sadržaj Cd zabilježen je u svim filtratima tla blizu TE Plomin, no najveći sadržaj tog metala izmjeren je u filtratu tla udaljenog 400 m od TE Plomin. Također, sadržaj Sr, Ni i Zn bio je povećan u filtratima tla blizu TE Plomin u odnosu na LK i TK. Najveće vrijednosti Fe zabilježene su u filtratu kontrolnog tla. Najniže vrijednosti svih metala, izuzev Mn, izmjerene su u LK. Vrijednosti Cr i As u svim su uzorcima bili ispod granice detekcije.

**Tablica 5.** Sadržaj metala u filtratima tla sakupljenih na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja TE Plomin te u laboratorijskoj (LK) i terenskoj kontroli (TK).

Element µg/L	LK	TK	Plomin			
			200 m	300m	400 m	800 m
Al	5,45	28,85	109,6	30,85	28,53	43,97
As	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Ba	2,49	9,17	18,50	16,84	14,75	9,88
Cd	<0,03	0,09	0,16	0,21	0,29	0,20
Co	<0,008	<0,008	3,55	2,27	2,04	1,31
Cr	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Cu	<1,0	<1,0	17,41	2,46	2,21	11,57
Fe	<0,03	35,24	9,41	<0,03	<0,03	8,55
Mn	6,51	7,72	5,26	6,51	5,41	3,36
Ni	0,09	0,14	0,97	0,69	0,56	0,45
Sr	6,13	16,64	76,13	79,21	76,31	77,85
Zn	12,74	17,16	38,27	40,57	34,69	43,21

Brojevi u Tablici predstavljaju srednju vrijednost dvije replike.

### 5.1.2. Sadržaj metala u biljnom materijalu

U Tablici 6. prikazan je sadržaj metala u vodenoj leći uzgojenoj na uzorcima filtrata tla (kontrolni filtrat, TK i filtrati blizu izvora onečišćenja) te u laboratorijskoj kontroli (LK). U usporedbi s LK i TK, povećani sadržaj Al, Cd i Sr zabilježen je u biljkama izloženim filtratima tla iz okolice TE Plomin (neovisno o udaljenosti). U vodenoj leći izloženoj filtratima tla udaljenim 300, 400 i 800 m od izvora onečišćenja zabilježen je povećani sadržaj Ba u odnosu na TK. Najveći sadržaj Co i Ni, u usporedbi s TK, zabilježen je u vodenoj leći uzgojenoj na filtratu tla najbližem TE Plomin. Cr je detektiran samo u biljkama raslim na filtratima tla udaljenim 200 i 300 m od TE Plomin. Vrijednosti As u svim su uzorcima bili ispod granice detekcije.

**Tablica 6.** Sadržaj metala u vodenoj leći nakon sedam dana izlaganja filtratima tla i podlozi Steinberg (laboratorijska kontrola, LK).

Element µg/g	LK	TK	Plomin			
			200 m	300m	400 m	800 m
Al	7,2 (1,5) d	51,7 (3,9) c	104,0 (17,1) ab	125,3 (27,5) a	89,6 (6,9) b	135,9 (23,1) a
As	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ba	4,6 (0,9) d	10,9 (1,0) c	13,2 (1,7) bc	14,8 (1,4) ab	17,1 (1,2) a	17,7 (1,5) a
Cd	0,01(0,002) b	0,02(0,001) b	0,05 (0,01) a	0,05 (0,008) a	0,06 (0,01) a	0,06 (0,01) a
Co	ND	0,07 (0,02) bc	0,16 (0,07) a	0,14 (0,03) ab	0,07 (0,01) bc	0,05 (0,003) c
Cr	ND	ND	0,94 (0,03) b	1,6 (0,3) a	ND	ND
Cu	3,4 (1,00) b	3,9 (0,8) ab	7,1 (1,9) a	4,9 (0,4) ab	4,3 (0,9) ab	5,8 (1,0) ab
Fe	167 (60,1) b	282 (39,1) a	188 (39,6) ab	205 (36,2) ab	149 (16,2) b	191 (29,4) ab
Mn	201 (34,4) a	157 (6,7) ab	173 (41,8) ab	145 (17,3) ab	143 (11,3) b	134 (0,3) b
Ni	ND	0,99 (0,05) b	1,99 (0,4) a	1,43 (0,2) b	1,09 (0,2) b	1,25 (0,2) b
Sr	2,1 (0,17) f	5,9 (0,11) e	19,1 (0,5) d	36,4 (0,4) a	24,1 (1,2) c	29,7 (0,8) b
Zn	37,6 (5,3)	34,6 (1,0)	37,3 (4,9)	39,2 (3,1)	38,7 (3,2)	35,7 (4,3)

Brojevi predstavljaju srednju vrijednost tri replike, a brojevi u zagradi standardnu devijaciju. Brojevi u pojedinom redu označeni različitim slovima međusobno se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ).

### 5.1.3. Sadržaj kationa i aniona u filtratima tla i laboratorijskoj kontroli

U Tablici 7. prikazan je sadržaj kationa i aniona u filtratima tla (kontrolni filtrat, TK i filtrati blizu izvora onečišćenja) te u laboratorijskoj kontroli (LK). Vidljivo je da vrijednosti kationa i aniona u filtratima tla sakupljenih u okolici TE Plomin nisu bitno odstupale od vrijednosti zabilježenih u TK. Općenito, sadržaj kationa i aniona u filtratima tla i LK bio je međusobno sličan, izuzev u slučaju  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  i  $\text{NO}_2^-$  čiji je sadržaj bio veći u filtratima tla u usporedbi s LK.

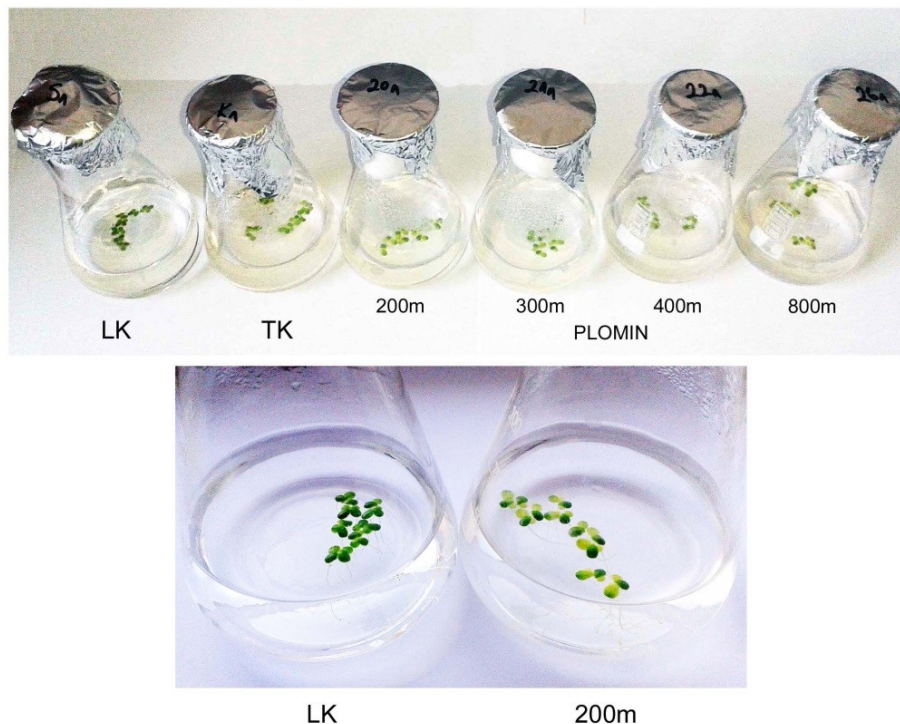
**Tablica 7.** Sadržaj kationa i aniona u filtratima tla sakupljenih na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja TE Plomin te u laboratorijskoj (LK) i terenskoj kontroli (TK).

Element mg/L	LK	TK	Plomin			
			200 m	300m	400 m	800 m
$\text{Ca}^{2+}$	57,8	91,9	109,7	83,9	113,7	97,4
$\text{K}^+$	199,6	270,6	218,5	221,4	219,0	210,9
$\text{Mg}^{2+}$	12,4	15,7	13,1	14,2	13,7	13,4
$\text{Na}^+$	2,50	5,97	4,46	4,85	6,56	6,45
$\text{NH}_4^+$	0,85	0,91	0,72	0,95	0,92	1,17
$\text{F}^-$	0,06	0,04	0,08	0,09	0,06	0,06
$\text{Cl}^-$	1,09	7,73	6,41	5,42	8,99	9,83
$\text{NO}_2^-$	0,08	0,12	0,17	0,23	0,17	0,20
$\text{NO}_3^-$	109,8	154,0	140,3	141,3	148,5	146,2
$\text{SO}_4^{2-}$	58,3	65,1	58,6	60,7	59,9	57,3

Brojevi u Tablici predstavljaju srednju vrijednost dvije replike

## 5.2. Makroskopske promjene

Tijekom sedmodnevnog izlaganja biljaka (*Lemna minor* L.) filtratima tla (200, 300, 400 i 800 m), te filtratu kontrolnog tla (TK) uočene su promjene vanjskog izgleda biljaka u odnosu na laboratorijsku kontrolu (LK). Najintenzivnije morfološke promjene uočene su petog dana izlaganja kad je kloroza listova bila vidljiva u biljkama izloženim uzorcima filtrata tla iz blizine TE Plomin i filtratu kontrolnog tla, u odnosu na laboratorijsku kontrolu (Slika 10).

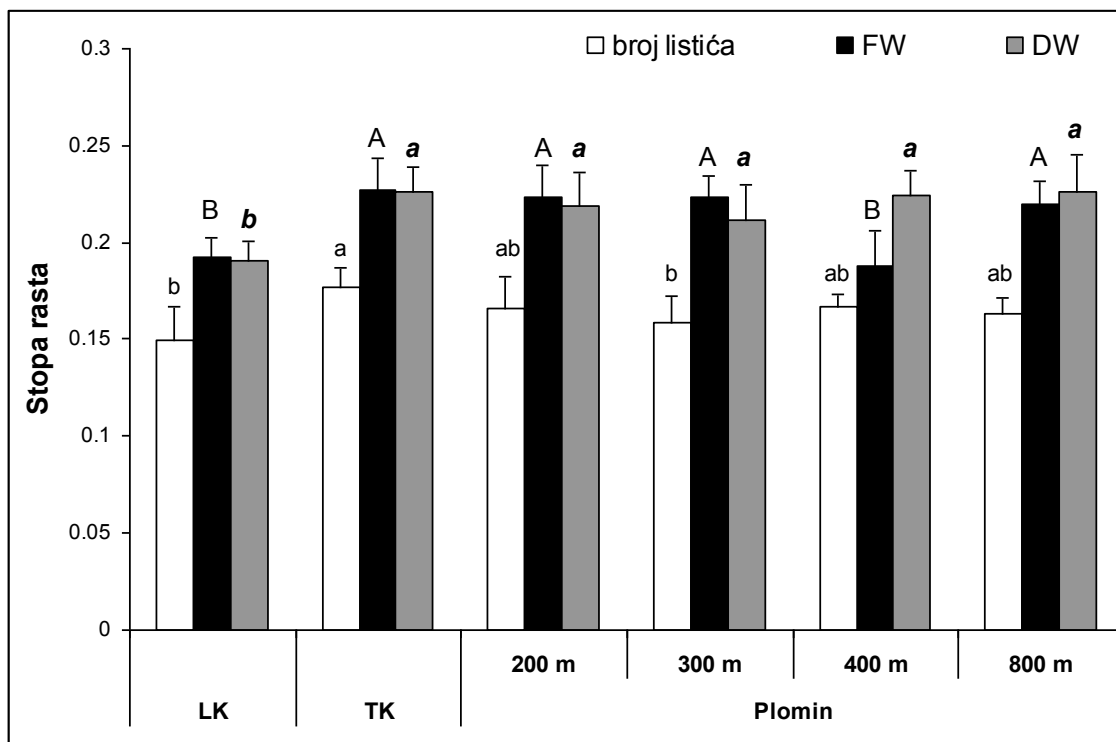


**Slika 10.** Makroskopske promjene u vodenoj leći nakon sedam dana rasta na podlozi koja je sadržavala filtrate tla sakupljenog na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja u TE Plomin te na kontrolnoj lokaciji (terenska kontrola, TK) ili na podlozi bez filtrata tla – laboratorijska kontrola (LK).

### 5.2.1. Stopa rasta biljaka

Stopa rasta izražena po broju biljaka, po masi svježe tvari (FW) i masi suhe tvari (DW) biljaka nakon sedam dana rasta na uzorcima filtrata tla (200, 300, 400 i 800 m), filtratu kontrolnog tla (TK) i na podlozi bez filtrata tla (LK) prikazana je na Slici 11. Uzorci filtrata tla uzeti u okolici TE Plomin (200, 300, 400 i 800 m) nisu uzrokovali statistički značajna odstupanja u stopi rasta izraženoj po broju listića u odnosu na laboratorijsku kontrolu (LK), dok je filtrat kontrolnog tla (TK) pokazao

stimulativno djelovanje na biljke, odnosno značajan porast stope rasta izraženog po broju listića. Vrijednosti stope rasta mase svježe tvari i mase suhe tvari biljaka više su varirale u odnosu na stopu rasta broja biljaka. Uzorci filtrata tla – 200, 300 i 800 m, kao i filtrat kontrolnog tla (TK) uzrokovali su statistički značajan porast stope rasta izražen po masi svježe tvari dok je stopa rasta vodene leće uzgojene na uzorku 400 m bila slična laboratorijskoj kontroli (LK). Također, svi uzorci filtrata tla iz okolice TE Plomin kao i filtrat kontrolnog tla (TK) izazvali su statistički značajno povećanje stope rasta vodene leće izražene po masi suhe tvari.



**Slika 11.** Stopa rasta broja biljaka, mase svježe tvari (FW) i mase suhe tvari (DW) vodene leće nakon sedam dana rasta na podlozi koja je sadržavala filtrate tla sakupljenog na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja u TE Plomin te na kontrolnoj lokaciji (terenska kontrola, TK) ili na podlozi bez filtrata tla – laboratorijska kontrola (LK). Na stupcima je označena standardna devijacija. Stupci označeni različitim slovima međusobno se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ).

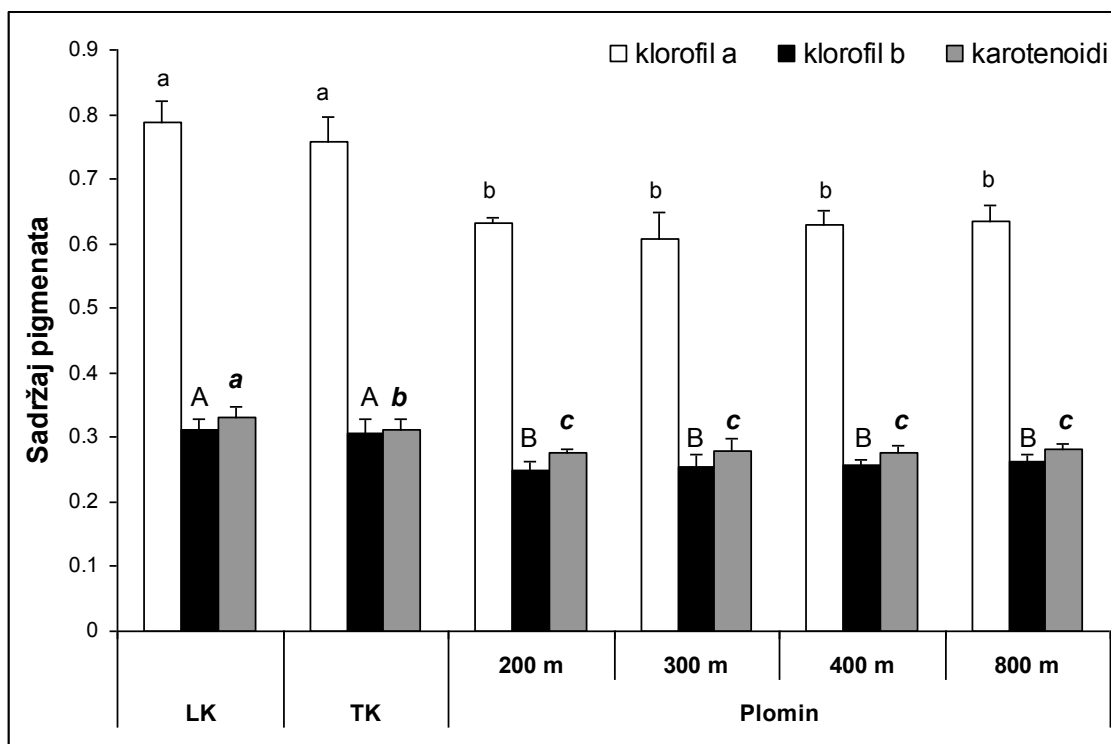


## 5.2.2. Sadržaj klorofila i karotenoida

Svi uzorci filtrata tla iz okolice TE Plomin (200, 300, 400 i 800 m) uzrokovali su statistički značajno smanjenje (između 15 i 23%) sadržaja klorofila *a* i *b* vodene leće nakon sedam dana pokusa u odnosu na obje kontrole, TK i LK (Slika 12).

Sadržaj ukupnih karotenoida u vodenoj leći nakon sedam dana pokusa pratio je trend promjene klorofila. Svi uzorci filtrata tla iz okolice TE Plomin, u usporedbi s objema kontrolama, uzrokovali su smanjenje sadržaja karotenoida u vodenoj leći.

Također, sadržaj karotenoida u biljkama raslim na terenskoj kontroli bio je statistički značajno smanjen u odnosu na sadržaj tih pigmenata izmjereno u biljkama uzgojenim na laboratorijskoj kontroli .

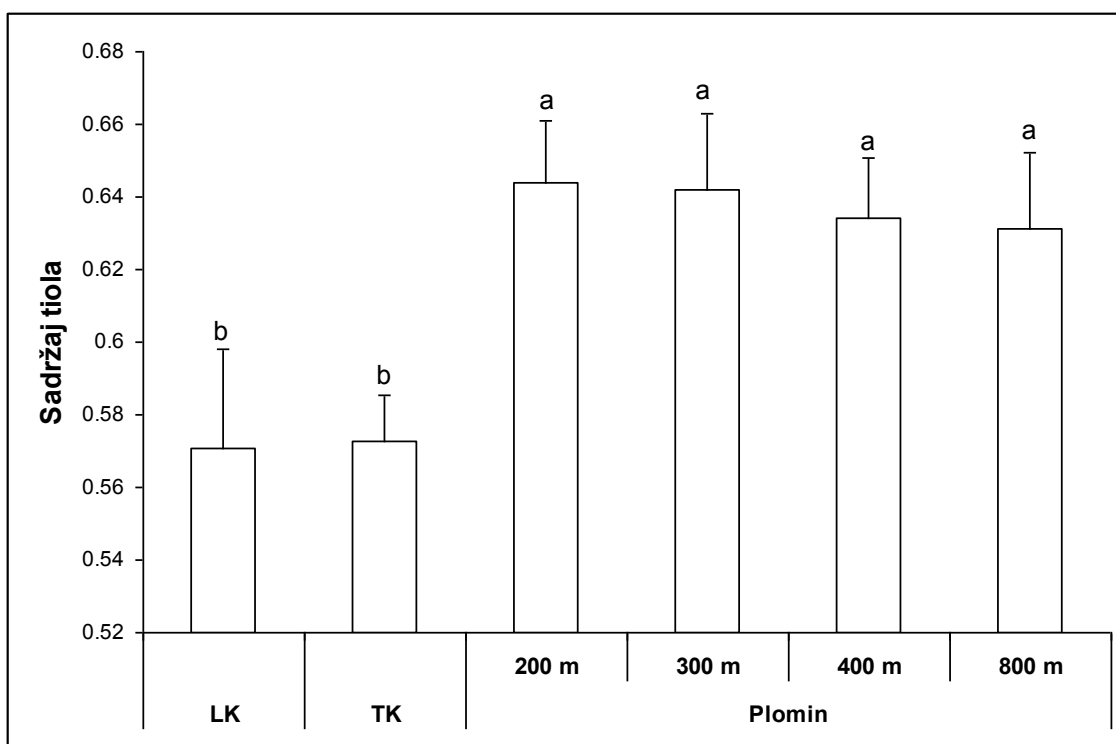


**Slika 12.** Sadržaj klorofila *a* i *b* te ukupnih karotenoida (mg / g svježe tvari) u vodenoj leći nakon sedam dana rasta na podlozi koja je sadržavala filtrate tla sakupljenog na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja u TE Plomin te na kontrolnoj lokaciji (terenska kontrola, TK) ili na podlozi bez filtrata tla – laboratorijska kontrola (LK). Na stupcima je označena standardna devijacija. Stupci označeni različitim slovima međusobno se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ).

### 5.2.3. Sadržaj neproteinskih tiola

Na Slici 13. prikazan je sadržaj neproteinskih tiola koji su u biljnoj stanici najviše zastupljeni u obliku reduciranog glutaciona.

Sadržaj neproteinskih tiola u vodenoj leći nakon sedam dana pokusa bio je statistički značajno povećan (između 10 i 13%) u odnosu na vrijednosti laboratorijske kontrole (LK) i terenske kontrole (TK).

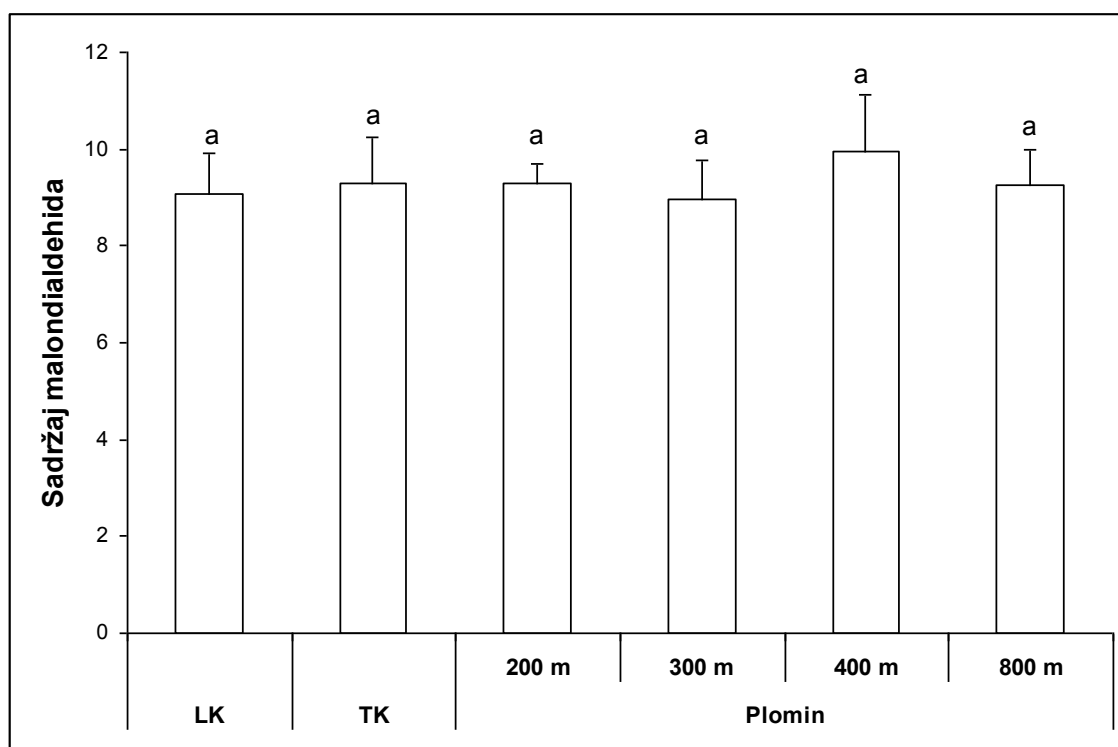


**Slika 13.** Sadržaj tiola ( $\mu\text{mol} / \text{g}$  svježe tvari) u vodenoj leći nakon sedam dana rasta na podlozi koja je sadržavala filtrate tla sakupljenog na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja u TE Plomin te na kontrolnoj lokaciji (terenska kontrola, TK) ili na podlozi bez filtrata tla – laboratorijska kontrola (LK). Na stupcima je označena standardna devijacija. Stupci označeni različitim slovima međusobno se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ).

#### 5.2.4. Sadržaj malondialdehida (MDA)

Opseg lipidne peroksidacije tj. stupanj oštećenja lipidne komponente stanične membrane procijenjen je pomoću sadržaja malondialdehida (MDA) jednog od krajnjih produkata tog procesa.

U vodenoj leći uzgojenoj na uzorcima filtrata tla iz okolice TE Plomin su nakon sedam dana pokusa izmjerene vrijednosti sadržaja MDA slične onima u vodenoj leći uzgojenoj na kontrolama (TK i LK) (Slika 14). Uzorak filtrata tla uzetog na 400 m udaljenosti od emisije u TE Plomin pokazuje blago, ali ne i statistički značajno, povećanje vrijednosti sadržaja MDA.

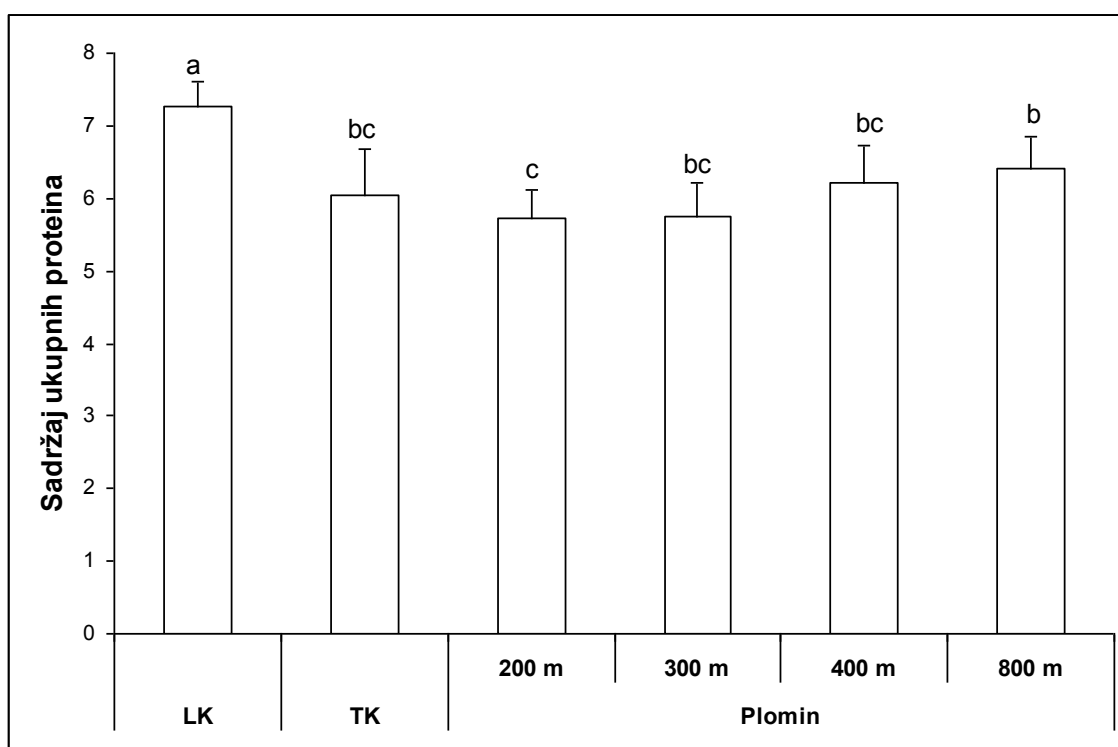


**Slika 14.** Sadržaj malondialdehida (nmol / g svježe tvari) u vodenoj leći nakon sedam dana rasta na podlozi koja je sadržavala filtrate tla sakupljenog na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja u TE Plomin te na kontrolnoj lokaciji (terenska kontrola, TK) ili na podlozi bez filtrata tla – laboratorijska kontrola (LK). Na stupcima je označena standardna devijacija. Stupci označeni različitim slovima međusobno se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ).

### 5.2.5. Sadržaj ukupnih proteina

U usporedbi s laboratorijskom kontrolom (LK), svi uzorci iz okolice TE Plomin (200, 300, 400 i 800 m), ali i terenska kontrola, uzrokovali su statistički značajno smanjenje sadržaja ukupnih proteina (između 12 i 21%) u biljkama vodene leće (Slika 15).

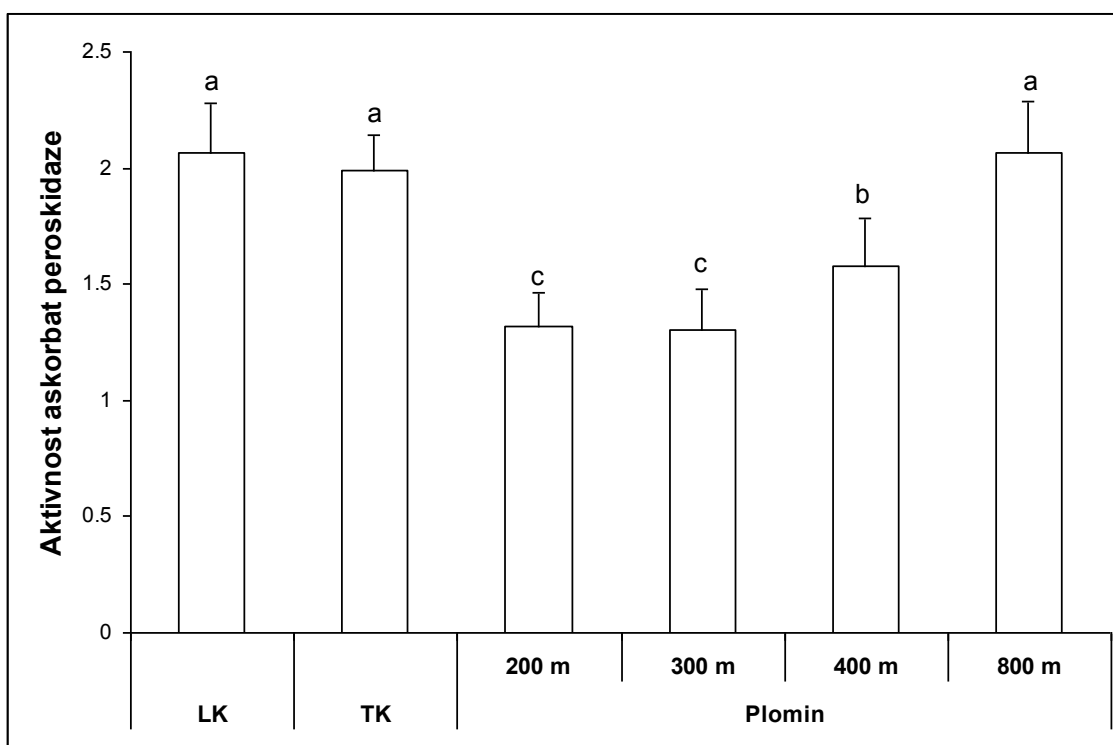
Najveći pad u sadržaju proteina vidljiv je u biljkama uzgojenim na filtratu tla koji je sakupljen najbliže izvoru onečišćenja u TE Plomin (200 m – 21, 42%), dok se sadržaj ukupnih proteina u vodenoj leći postepeno povećava udaljavanjem od izvora onečišćenja ( 800 m – 12, 03%).



**Slika 15.** Sadržaj ukupnih proteina (mg/ g svježe tvari) u vodenoj leći nakon sedam dana rasta na podlozi koja je sadržavala filtrate tla sakupljenog na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja u TE Plomin te na kontrolnoj lokaciji (terenska kontrola, TK) ili na podlozi bez filtrata tla – laboratorijska kontrola (LK). Na stupcima je označena standardna devijacija. Stupci označeni različitim slovima međusobno se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ).

### 5.2.6. Aktivnost askorbat peroksidaze

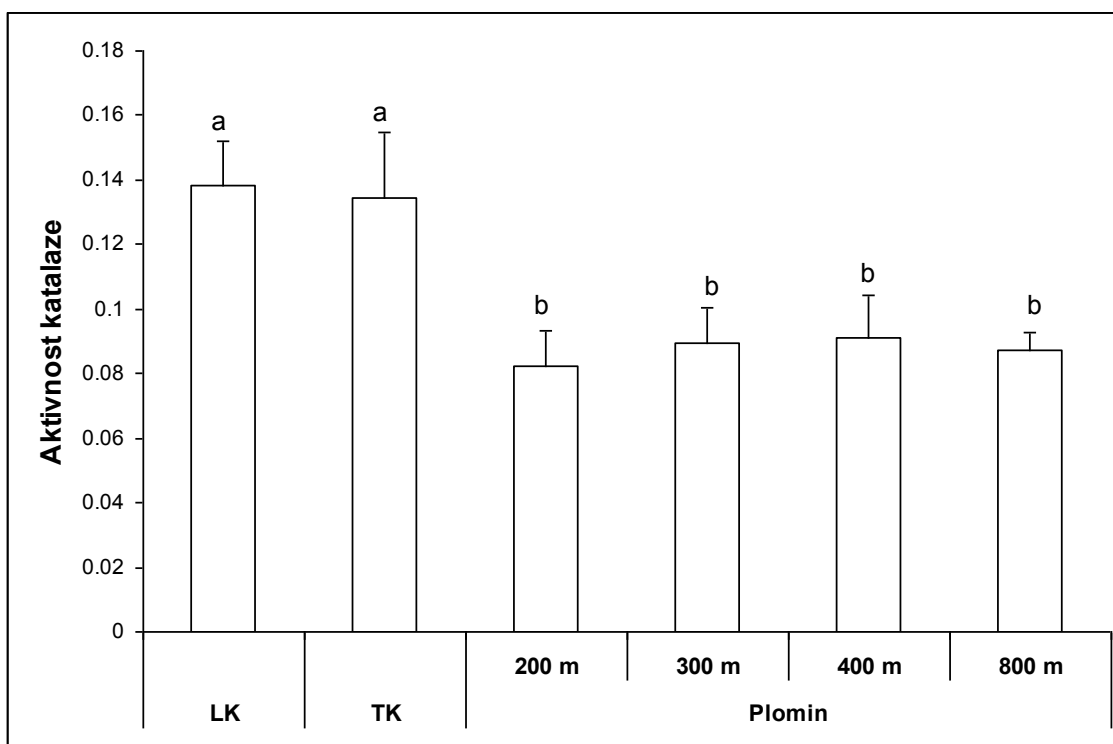
Aktivnost askorbat peroksidaze u vodenoj leći izloženoj sedam dana uzorcima filtrata tla udaljenim 200, 300 i 400 m od izvora emisije u TE Plomin bila je značajno smanjena u odnosu na kontrolne biljke (LK i TK) (Slika 16) pri čemu je smanjenje aktivnosti tog enzima u vodenoj leći bilo proporcionalno udaljenosti tla od izvora onečišćenja u TE Plomin; aktivnost askorbat peroksidaze u biljkama raslim na podlozi koja je sadržavala filtrat tla udaljen 200 i 300 m od izvora emisije bila je smanjena za 36%, a u onima koje su rasle na podlozi koja je sadržavala filtrat tla udaljen 400 m od izvora emisije 23% u odnosu na kontrole. Aktivnost askorbat peroksidaze u biljkama raslim na podlozi koja je sadržavala filtrat tla udaljen 800 m od izvora emisije nije se statistički značajno razlikovala od vrijednosti izmjerenih u kontrolama.



**Slika 16.** Aktivnost askorbat peroksidaze ( $\mu\text{mol} / \text{min mg proteina}$ ) u vodenoj leći nakon sedam dana rasta na podlozi koja je sadržavala filtrate tla sakupljenog na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja u TE Plomin te na kontrolnoj lokaciji (terenska kontrola, TK) ili na podlozi bez filtrata tla – laboratorijska kontrola (LK). Na stupcima je označena standardna devijacija. Stupci označeni različitim slovima međusobno se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ).

### 5.2.7. Aktivnost katalaze

Aktivnost katalaze u vodenoj leći nakon sedam dana rasta bila je statistički značajno smanjena (između 34 i 40 %) na svim podlogama koje su sadržavale filtrate tla (200, 300, 400 i 800 m) iz okolice TE Plomin u usporedbi s kontrolnim uzorcima (LK i TK) (Slika 17). Svi uzorci filtrata tla izazvali su podjednako smanjenje vrijednosti aktivnosti tog antioksidacijskog enzima.



**Slika 17.** Aktivnost katalaze ( $\mu\text{mol} / \text{min mg proteina}$ ) u vodenoj leći nakon sedam dana rasta na podlozi koja je sadržavala filtrate tla sakupljenog na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja u TE Plomin te na kontrolnoj lokaciji (terenska kontrola, TK) ili na podlozi bez filtrata tla – laboratorijska kontrola (LK). Na stupcima je označena standardna devijacija. Stupci označeni različitim slovima međusobno se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,05$ ).

## 6. RASPRAVA

Najveći dio tvari koje se smatraju onečišćivačima prirodni su sastojci tla, premda često samo u tragovima. Određivanje ukupnog sadržaja teških metala u tlu osnovni je pokazatelj za određivanje stupnja onečišćenosti, premda dugoročne procjene rizika i izravni učinci onečišćenja počivaju na njihovoj biopristupačnosti i/ili mobilnosti (Salomons, 1995). Poznato je da su termoelektrane na ugljen, kao najzastupljeniji način proizvodnje električne energije osobito u gospodarski manje razvijenim zemljama, jedan od najvažnijih izvora onečišćenja i generatora potencijalno opasnog otpada. Za proizvodnju električne energije TE Plomin je do početka devedesetih godina prošloga stoljeća rabila domaće ugljene (antracit iz Istre, lignit i smeđi ugljen s Dinarida) koji sadrže 10-15% nesagorivog ostatka (Valković i sur., 1984; Oreščanin i sur., 2009). Izgaranjem ugljena u termoelektranama teški metali koji su u njemu prirodno vezani koncentriraju se u ostacima izgaranja, odnosno šljaci i pepelu, dok se manji dio smjese hlapljivih metala i drugih izgorjelih tvari ispušta kroz dimnjak.

Teški metali imaju kumulativan učinak koji dovodi do kontinuiranog narušavanja osjetljivih staničnih biomembrana (DNA, proteini, lipidi) i stanja kronične toksičnosti. Fizikalne i analitičke metode koje se redovito rabe za određivanje prisutnosti i koncentracije kemijskih tvari u okolišu ne daju podatke o potencijalnom učinku tih tvari na živi svijet. To vrijedi pogotovo u slučaju kada je u ekosustav uneseno više različitih kemikalija, pa su moguće njihove međusobne interakcije, te interakcije s uobičajenim tvarima u ekosustavu. Najbolji pristup u procjeni toksičnosti odnosno genotoksičnosti takvih tvari je upotreba bioloških testnih sustava na živim stanicama ili organizmima koje daju opći odgovor na smjesu zagađivača prisutnih u uzorku. Krajnji cilj je otkriti utječe li primijenjeni čimbenik na testni organizam, staničnu strukturu, tkivo ili organ i na kraju uočenu promjenu kvalitativno i kvantitativno izraziti (Vidaković-Cifrek, 1999).

Brojnim istraživanjima je utvrđeno da su biljke iz porodice *Lemnaceae* sposobne akumulirati velike količine teških metala (Jain i sur., 1989; Zayed i sur., 1998; Miretzky i sur., 2004). Akumulacija je povezana sa tolerancijom, koja se definira kao sposobnost biljke u sprječavanju ozljeda uzrokovanih teškim metalima (Sabreen i Sugiyama, 2008). Međutim, ako su koncentracije teških metala veće od one koju biljka može tolerirati dolazi do fizioloških promjena i indukcije simptoma toksičnosti

(Gračanac, 2012). Vodena leća (*Lemna minor L.*) se do sada pokazala kao dobar testni organizam za ispitivanje utjecaja teških metala na organizme (Wang, 1990).

U ovom radu je na temelju Lemna testa te pojedinih biokemijskih pokazatelja procijenjena kvaliteta odnosno stupanj onečišćenja tla u čijoj se blizini nalazi TE Plomin. Procjena je napravljena usporedbom rezultata laboratorijske kontrole na modelnom organizmu (vodena leća) koji nije sadržavao filtrat ispitivanog tla i terenske kontrole koja se sastojala od filtrata referentnog tla uzetog u Mošćeničkoj dragi, s uzorcima filtrata tala uzetih u okolici TE Plomin na udaljenostima 200 m, 300 m, 400 m i 800 m u smjeru dominantnih zračnih strujanja.

U ovom radu mjerio sam sadržaja metala u filtratima tla sakupljenim na određenim udaljenostima od izvora onečišćenja TE Plomin te u biljnom materijalu uzgojenom u ovim otopinama kako bi utvrdio njihov utjecaj na modelne organizme putem biokemijskih pokazatelja toksičnosti.

U usporedbi s LK i TK najveći sadržaj Al, Ba, Co, Cu i Ni izmjeren je u filtratu tla po udaljenosti najbližeg izvoru onečišćenja TE Plomin (Tablica 5). Povećani sadržaj Cd zabilježen je u svim filtratima tla blizu TE Plomin, no najveći sadržaj tog metala izmjeren je u filtratu tla udaljenog 400 m od TE Plomin. Također, sadržaj Sr, Ni i Zn bio je povećan u filtratima tla blizu TE Plomin u odnosu na LK i TK. Najniže vrijednosti svih metala, izuzev Mn, izmjerene su u LK. Vrijednosti Cr i As u svim su uzorcima bili ispod granice detekcije. U usporedbi s dosadašnjim istraživanjima sadržaja metala u tlu u bližoj okolici TE Plomin (Valković i sur., 1984; Komlenović i sur., 1990; Prohić i Miko, 1998; Oreščanin i sur., 2009; Pongrac, 2013) rezultati mojeg istraživanja pokazuju puno manje vrijednosti sadržaja ispitivanih metala, što se može objasniti činjenicom da se radi o vodenoj otopini tla velikog razrjeđenja (1:10). Također, mora se uzeti u obzir gubitak određene količine metala zbog postupka pripreme otopina tla (filtracija i centrifugiranje). Rezultati sadržaja metala u vodenoj leći uzgojenoj na uzorcima filtrata tla pokazali su povećani sadržaj Al, Cd i Sr (neovisno o udaljenosti) u usporedbi s LK i TK (Tablica 6). U vodenoj leći izloženoj filtratima tla udaljenim 300, 400 i 800 m od izvora onečišćenja zabilježen je povećani sadržaj Ba u odnosu na TK. Najveći sadržaj Co i Ni, u usporedbi s TK, zabilježen je u vodenoj leći uzgojenoj na filtratu tla najbližem TE Plomin. Cr je detektiran samo u biljkama raslim na filtratima tla udaljenim 200 i 300 m od TE Plomin, dok su vrijednosti As u svim su uzorcima bili ispod granice detekcije.



U ovom istraživanju mjerio sam i sadržaj kationa i aniona u filtratima tla (kontrolni filtrat, TK i filtrati blizu izvora onečišćenja) te u laboratorijskoj kontroli (LK) (Tablica 7). Vidljivo je da vrijednosti kationa i aniona u filtratima tla sakupljenih u okolini TE Plomin nisu bitno odstupale od vrijednosti zabilježenih u TK. Općenito, sadržaj kationa i aniona u filtratima tla i LK bio je međusobno sličan, izuzev u slučaju  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  i  $\text{NO}_2^-$  čiji je sadržaj bio veći u filtratima tla u usporedbi s LK.

Fitotoksičnost otopina tla iz okolice TE Plomin bila je vidljiva petog dana izlaganja testnog organizma u vidu morfoloških promjena, odnosno kloroze. Znakove kloroze pokazali su svi ispitivani uzorci, uključujući i otopinu kontrolnog tla, međutim najveće promjene primjećene su kod uzorka (200 m) koji se nalazio najbliže izvoru emisije (Slika 3). Nepovoljni učinci teških metala na biljke najčešće su vidljivi kao smanjenje stope rasta, gubitak biomase, kloroza, nekroza, otpadanje listova, promjena boje i izgleda korijena. U ovom istraživanju, izuzev kloroze, nisu uočene druge morfološke promjene.

Promatrana je stopa rasta izražena po broju biljaka, masi svježe tvari i masi suhe tvari nakon sedam dana rasta na uzorcima filtrata tla (200, 300, 400 i 800 m), filtratu kontrolnog tla (TK) i na podlozi bez filtrata tla (LK).

Što se tiče stope rasta izražene po broju listića niti jedan uzorak filtrata tla nije pokazao statistički značajnije odstupanje u odnosu na laboratorijsku kontrolu (LK). Vrijednosti stope rasta mase svježe tvari i mase suhe tvari biljaka više su varirale u odnosu na stopu rasta broja biljaka. Uzorci filtrata tla – 200, 300 i 800 m, kao i filtrat kontrolnog tla (TK) uzrokovali su statistički značajan porast stope rasta izražen po masi svježe tvari. Ovo stimulativno djelovanje na porast biljne mase može se objasniti činjenicom da su biljke iz porodice Lemnaceae (*Lemna minor*) poznate po preferiranju  $\text{NH}_4^+$  kao izvora dušika (Porath i Pollock, 1982; Cedergreen & Madsen, 2002; Cindrić, 2010), a izmjerene vrijednosti ovog parametra povećavaju se udaljavanjem od izvora onečišćenja (Tablica 7). Isto tako, poznato je da teški metali u niskim koncentracijama pokazuju povoljan utjecaj na rast biljaka a u većim nepovoljan odnosno toksičan učinak (hormeza) (Poschenrieder i sur., 2013). Za razliku od stope rasta izražene po masi svježe tvari, svi uzorci filtrata tla iz okolice TE Plomin kao i filtrat kontrolnog tla (TK) izazvali su statistički značajno povećanje stope rasta vodene leće izražene po masi suhe tvari. To se može objasniti činjenicama da su uzorci koji su odstupali sadržavali veće koncentracije toksičnih i hranjivih tvari obzirom da je analiza kationa i aniona u otopinama tla pokazala blago povećanje

koncentracija ispitivanih parametara udaljavanjem od TE Plomin (Tablica 7) te da vodena leća ima veliki potencijal njihova nakupljanja (Rahmani i Sternberg, 1999; Miretzky, 2004).

U ovom radu sam također pokušao procijeniti utjecaj otopine tla, potencijalno onečišćenog produktima sagorijevanja ugljena iz TE Plomin, uz pomoć nestandardiziranih biokemijskih pokazatelja toksičnosti – sadržaj klorofila i karotenoida, malondialdehida, neproteinskih tiola (glutaciona), ukupnih proteina te aktivnost peroksidaze i katalaze.

Fotosintetski pigmenti klorofili, karotenoidi i fikobilini imaju primarnu ulogu u procesu fotosinteze. Teški metali utječu prvotno na sintezu fotosintetskih pigmenata budući da su kloroza i smetnje pri rastu prvi simptomi toksičnosti teških metala i odličan su pokazatelj u procjeni ukupne toksičnosti takvih smjesa (Mysliwa-Kurdziel i sur., 2002). Svi uzorci filtrata tla iz okolice TE Plomin (200, 300, 400 i 800 m) uzrokovali su smanjenje sadržaja klorofila *a* i *b* vodene leće između 15 i 23% nakon sedam dana pokusa u odnosu na obje kontrole (LK i TK) neovisno o udaljenosti (Slika 5). Supstitucija  $Mg^{2+}$  iona u molekuli klorofila metalnim ionima  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  ili  $Ni^{2+}$  uzrokuje oštećenja koja sprječavaju proces fotosinteze što je vjerojatno uzrok uočenog smanjenja sadržaja pigmenta (Küpper i sur., 1998). Ovu tvrdnju podržava i moje istraživanje obzirom da su analize sadržaja metala u vodenoj leći uzgojenoj na uzorcima filtrata tla pokazali povišenje koncentracija analiziranih parametara ( $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  i  $Ni^{2+}$ ) u usporedbi s laboratorijskom i terenskom kontrolom. Utjecaj ispitivane otopine tla na sadržaj karotenoida bio je vrlo sličan utjecaju te otopine na klorofil *a* i *b*, odnosno došlo je do statistički značajnog smanjenja ovog pigmenta u vodenoj leći u odnosu na laboratorijski (LK) i terensku kontrolu (TK) bez obzira na udaljenost od TE Plomin. Karotenoidi imaju važnu ulogu pomoćnih pigmenata u fotosintezi, a istovremeno služe i kao vrlo važni antioksidansi koji neutraliziraju slobodne radikale i smanjuju oštećenja stanične membrane i DNA.

Neproteinski tioli su u biljkama uglavnom zastupljeni u obliku reduciranog glutaciona koji kao važan antioksidans sudjeluje u odgovoru biljke na različite stresne uvjete. Brojnim istraživanjima uočeno je da njihova koncentracija raste u uvjetima slabog stresa, dok u uvjetima jačeg stresa njihova koncentracija pada (Tausz i sur., 2004). U ovom istraživanju sadržaj neproteinskih tiola u vodenoj leći nakon sedam dana pokusa bio je povećan u svim modelnim organizmima između 10 i 13% u

odnosu na vrijednosti kontrola (LK i TK). Porast sadržaja glutaciona u određenoj mjeri upućuje na negativni utjecaj TE Plomin na okolni ekosustav.

Djelovanjem brojnih stresnih čimbenika uključujući i teške metale povećava se stvaranje kisikovih radikala i molekula koje su oštećene radikalima a također se potiče ekspresija gena za antioksidacijske mehanizme što podiže razinu antioksidansa koji uklanjaju radikale. Malondialdehid (MDA) nastaje kao produkt raspada nezasićenih masnih kiselina u biomembranama, zbog čega se koristi kao pokazatelj oštećenja nastalih lipidnom peroksidacijom (Blokina i sur., 2003).

U ovom radu sam mjerio sadržaj MDA kao pokazatelja opsega peroksidacije lipida. Lipidna peroksidacija ukazuje na indukciju oksidacijskog stresa u biljnom organizmu do kojeg dolazi ukoliko stvaranje otrovnih spojeva kisika premaši mogućnosti mehanizma za uklanjanje tih otrova (Jinmin i Huang, 2002). Povećanje opsega lipidne peroksidacije objašnjava se djelovanjem iona željeza i bakra koji sudjeluju u redoks ciklusu i kataliziraju nastanak hidroksilnih radikala i drugih toksičnih oblika kisika (Arora i sur., 2002). Suprotno tim redoks aktivnim metalima, metali poput cinka, nikla, kroma i olova ne stvaraju direktno kisikove radikale, ali povećavaju oksidacijski stres sprječavajući antioksidacijske obrambene mehanizme biljke (Aravind i Prasad, 2003) pa na taj način doprinose povećanju MDA. Rezultati ovog istraživanja nisu pokazali statistički značajnija odstupanja u sadržaju MDA u ispitivanim uzorcima obzirom na LK i TK, što bi značilo da blago povećanje sadržaja metala mjerenih u vodenoj leći (Tablica 6) nije uzrokovalo oštećenja biomembrana na modelnim organizmima. Uzorak filtrata tla uzetog na 400 m udaljenosti od emisije u TE Plomin pokazuje blago, ali ne i statistički značajno, povećanje vrijednosti sadržaja MDA (Slika 7).

U istraživanjima utjecaja teških metala na sadržaj proteina u biljkama, utvrđeno je da teški metali mogu uzrokovati porast ili pad sadržaja ukupnih proteina (Vajpayee i sur., 2000). Oksidativni stres uzrokovan djelovanjem teških metala smanjuje sadržaj proteina kroz razne kompleksne mehanizme. Neposredna oštećenja nukleinskih kiselina stvaranjem lezija sprječavaju sintezu novih proteina dok oštećenja membrana povećavaju propusnost i gubitak postojećih proteina. Smanjenjem sadržaja proteina u stanicama ujedno se smanjuje i sadržaj antioksidativnih enzima, što kao posljedicu može imati pojačane učinke oksidativnog stresa (Šarec, 2012). Porast sadržaja proteina može biti uzrokovan porastom sadržaja specifičnih proteina vezanih za odgovor biljke na stres (Doganlar i sur., 2012).

Rezultati analize ukupnog sadržaja proteina u vodenoj leći koja je bila izložena filtratima tla iz okolice TE Plomin pokazuju negativan trend u odnosu na laboratorijsku kontrolu (LK). Najveći pad u sadržaju proteina vidljiv je u biljkama uzgojenim na filtratu tla koji je sakupljen najbliže izvoru onečišćenja u TE Plomin (200 m - 21, 42%), dok se sadržaj ukupnih proteina u vodenoj leći postepeno povećava udaljavanjem od izvora onečišćenja (800 m - 12, 03%). Rezultati sadržaja ukupnih proteina ukazuju na blagi oksidativni stres koji se može povezati s blagim povećanjem koncentracija teških metala izmjenjenim u biljnom materijalu (Tablica 6).

Česta metabolička promjena u stresnim uvjetima je povećanje aktivnosti antioksidacijskih enzima. Povećan sadržaj ovih enzima utvrđen je u odgovoru biljaka na različite stresne faktore kao što su teški metali, ranjavanje, povišena temperatura, smrzavanje i suša (Gosset i sur., 1994). U ovom istraživanju sam pokušao utvrditi utjecaj otopina potencijalno onečišćenih tala iz okolice TE Plomin na vodenu leću mjerenjem aktivnosti antioksidacijskih enzima – askorbat peroksidaze i katalaze koje razgrađuju vodikov peroksid. Rezultati istraživanja pokazali su da je aktivnost askorbat peroksidaze u vodenoj leći izloženoj sedam dana uzorcima filtrata tla bila je značajno smanjena kod uzoraka najbližih TE Plomin (200 m – 36%, 300 m – 36% i 400 m - 23%) u odnosu na kontrolne biljke (LK i TK), dok najudaljeniji uzorak (800m) nije pokazao značajniju promjenu. Poznato je da esencijalni teški metali (cink, bakar, nikel) u niskim koncentracijama induciraju aktivnost peroksidaza dok u višim dolazi do inhibicije tih enzima (Srivastava i sur., 2006). Do toksičnosti kojoj su uzrok neesencijalni metali dolazi nakon zamjene esencijalnog metala neesencijalnim unutar aktivnog mjesta enzima. Ioni  $Hg^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  i  $Ag^{2+}$  teže vezivanju za sulfhidrilne skupine, što dovodi do inaktivacije različitih enzima neophodnih za normalno funkcioniranje metabolizma biljke (Šarec, 2012). Slične trendove pokazuje i aktivnost katalaze u vodenoj leći. Nakon sedam dana rasta aktivnost ovog enzima bila je statistički značajno smanjena (između 34 i 40%) na svim podlogama koje su sadržavale filtrate tla (200, 300, 400 i 800 m) iz okolice TE Plomin u usporedbi s kontrolnim uzorcima (LK i TK). Svi uzorci filtrata tla izazvali su podjednako smanjenje vrijednosti aktivnosti tog antioksidacijskog enzima bez obzira na udaljenost od potencijalnog izvora onečišćenja.

## 7. ZAKLJUČAK

U ovom radu analizirana su kemijska svojstva i toksični potencijal otopine tla koje je bilo pod utjecajem lebdećeg pepela i šljake nastalih izgaranjem ugljena kao energenta u TE Plomin, s ciljem utvrđivanja njenog utjecaja na okoliš.

Usporedbom dobivenih rezultata s laboratorijskom i terenskom kontrolom te dostupnom literaturom utvrđeno je da su koncentracije analiziranih teških metala u otopinama tla kao i u biljnom materijalu povišene. To se može protumačiti činjenicom da je TE Plomin dugi niz godina koristila sirovi raški ugljen niske kvalitete kao izvor energenta. Shodno tome, uočene su morfološke promjene u obliku kloroze listova na vodenoj leći (*Lemna minor* L.) što je prvi pokazatelj fitotoksičnog učinka otopine uzorkovanih tala potencijalno inducirano povišenim koncentracijama teških metala.

Stopa rasta izražena po broju listića nije pokazala statistički značajnija odstupanja u odnosu na laboratorijsku kontrolu, međutim stopa rasta izražena po masi suhe i svježe tvari bila je povećana što ukazuje na utjecaj povećanog sadržaja teških metala obzirom da biljke iz skupine Lemnaceae imaju veliki potencijal njihova akumuliranja. Rezultati analize klorofila *a* i *b* te karotenoida u vodenoj leći pokazali su smanjenje sadržaja ovih pigmenata do 23% nakon sedam dana pokusa u odnosu na obje kontrole (LK i TK) što dokazuje da su se dogodila oštećenja u molekuli klorofila izazvana metalnim ionima poput  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  ili  $\text{Ni}^{2+}$  čije su vrijednosti također povišene u odnosu na obje kontrole. Sadržaj neproteinskih tiola bio je povećan u svim modelnim organizmima između 10 i 13% u odnosu na vrijednosti kontrola čime je potvrđeno stanje stresa u biljkama izloženim filtratima tla i blizine TE Plomin. Ovo stanje blagog oksidativnog stresa u vodenoj leći potvrđuju i rezultati analize sadržaja ukupnih proteina koji bilježe pad do 21% kod uzorka koji je najmanje udaljen od TE Plomin (200 m). Sadržaj malondialdehida u vodenoj leći nije pokazao statistički značajnije promjene. Nepovoljan utjecaj otopina tla iz okolice TE Plomin na modelni organizam pokazuju i aktivnosti enzima askorbat peroksidaze i katalaze. Rezultati analize askorbat peroksidaze pokazuju značajan pad aktivnosti ovog enzima (200 m – 36%, 300 m – 36% i 400 m - 23%) u odnosu na kontrolne biljke, a glavni inhibitori najčešće su Zn, Cu i Ni koji su također pokazali povišen sadržaj u odnosu na kontrolu. Slične trendove pokazuje i aktivnost katalaze koja je smanjena između 34 i 40% u svim uzorcima bez obzira na udaljenost od potencijalnog izvora onečišćenja. Usporedba rezultata dobivenih u ovom radu s kontrolnim uzorcima i dostupnom

literaturom ukazuje na nepovoljan utjecaj TE Plomin na okoliš, osobito na kvalitetu tla i živi svijet u blizini postrojenja, a najveći problem leži u sagorijevanju ugljena relativno loše kvalitete i nepravilnom skladištenju ostataka sagorijevanja.

## 8. LITERATURA

ABBAS, H.K., TANAKA, T., DUKE, S.O., PORTER, J.K., WRAY, E.M., HODGES, L., SESSIONS, A.E., WANG, E., MERRILL, A.H. & RILEY, R.T. (1994): Fumonisin- and AAL-toxin-induced disruption of sphingolipid metabolism with accumulation of free sphingoid bases. *Plant Physiol* 106, 1085-1093.

AEBI, H. (1984): Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol* 105, 121- 126.

ARNON, D.I. (1949): Copper enzymes in isolated chloroplast: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol* 24, 1-15.

ARAVIND, P., PRASAD, M.N.V. (2003): Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L.: a free floating freshwater macrophyte. *Plant Physiol Biochem* 41, 391-397.

ARORA, A., SAIRAM, R.K. & SRIVASTAVA, G.C. (2002): Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Curr Sci* 82, 1227-1238.

ASADA, K. (1992): Ascorbate peroxidase- a hydrogen peroxide- scavenging enzyme in plants. *Physiol Plant* 85, 235- 241.

BERTOVIĆ, B. (2014): Raspodjela sumpora i PAH-ova u tlu oko TE Plomin. Diplomski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu. 75 str.

BLAISE, A. (2000): Canadian application of microbiotests to assess the toxic potential of complex liquid and solid media. U: Persoone G, Janssen C, DeCoen W (ur.) *New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring*. Kluwer Academic/ Plenum Publisher, New York, str. 3- 12.

BLOKHINA, O., VIROLAINEN, E. & FAGERSTEDT, K.V. (2003): Antioxidants, oxidative damage an oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot* 91, 179-194.

BRADFORD, M.M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- dye binding. *Anal Biochem* 72, 248- 254.

CEDERGREEN, N. & MADSEN, T.T. (2002): Nitrogen uptake by the floatin macrophyte. *Lemna minor*. *New Phytol* 155, 285-292.

CEDERGREEN, N., ANDERSEN, L., FRIHAUGE OLESEN, C., SPLIID, H.H. & STREIBIG, J.C. (2005): Does the effect of herbicide pulse exposure on aquatic plants depend on  $K_{ow}$  or mode of action? *Aquat Toxicol* 71, 261-271.

CINDRIĆ, A. (2010): Procjena kvalitete vode rijeke Ilove Lemna- i Chlorella-testom. Diplomski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet. Sveučilište u Zagrebu. 44 str.

DIRILGEN, N. (2011): Mercury and lead: Assessing the toxic effects on growth and metal accumulation by *Lemna minor*. *Ecotox Environ Safe* 74, 48-54.

DOGANLAR, Z.B., CAKMAK, S., YANIK, T. (2012): Metal uptake and physiological changes in *Lemna gibba* exposed to manganase and nickel. *Int J Biol* 4(3), 148-157.

DUNCAN, D.B. (1955): Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11, 1-42.

EKONERG D.O.O. (2011): Studija o utjecaju na okoliš zahvata rekonstrukcije TE Plomin – zamjene postojeće TE Plomin 1 u cilju modernizacije i povećanja kapaciteta. KNJIGA 1/4 (Poglavlja 1. – 3.3.). Zagreb, svibanj 2011.

ELLMAN, G.L. (1959): Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 82, 70-77.

ENVIRONMENTAL HEALTH & ENGINEERING (EH&E) (2011): Emissions of hazardous air pollutants from coal-fired power plants. EH&E Report 17505. 39 str.

ERNEČIĆ, G. (2014): Masena aktivnost radionuklida u tlu u okolici Termoelektrane Plomin i procjena izloženosti terestričkom gama zračenju. Diplomski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu. 75 str.



ERNEČIĆ, G., LOVRENČIĆ MIKELIĆ I. I MEDUNIĆ, G. (2014): Distribution of  $^{226}\text{Ra}$  in the surface soil in the vicinity of thermal power plant Plomin (Croatia). *Acta Mineralogica-Petrographica. Abstract Series*, 8, 28-28 str.

FILIPČIĆ, A. (1992): *Klima Hrvatske; Geografski horizonti*, 38.

FISKESJÖ, G. (1985): The Allium tests as a standard in environmental monitoring. *Hereditas* 102, 99-112.

GARAJ-VRHOVAC, V., OREŠČANIN, V., GAJSKI, G., GERIĆ, M., RUK, D., KOLLAR, R., RADIĆ BRKANAC, S. & CVJETKO, P. (2013): Toxicological characterization of the landfill leachate prior/after chemical and electrochemical treatment: A study on human and plant cells. *Chemosphere* 93, 939–945.

GOSSETT, D.R., MILLHOLLON, E.P. & LUCAS, M.C. (1994): Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Sci* 34, 706–714.

GRAČANAC, I. (2012): Usporedba osjetljivosti dvije kulture vrste *Lemna gibba L.* (laboratorijske i kulture iz ribnjaka narta) na bakar. Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Odjel za Biologiju. 69 str.

HEATH, R.L. & PACKER, L. (1968): Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I- Kinetics and Stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 125, 189- 198.

HIRAGA, S., SASAKI, K., ITO, H., OHASHI, Y. & MATSUI, H. (2001): A large family of class III peroxidases. *Plant Cell Physiol* 42, 462- 468.

ISO/DIS 20079 (2004): Water quality- determination of the toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*)- Duckweed growth inhibition test. ISO TC 147/SC 5/WG 5.

JAIN S. K, VASUDEVAN P, JHA N. K. 1989. Removal of some heavy metals from polluted water by aquatic plants: Studies on duckweed and water velvet. *Biol Wastes* 28, 115-126.

JINMIN, F., HUANG, B. (2002): Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool- season grasses to localised drought stress. *Environ Exp Bot* 45, 105-114.

KEATING, M. (2001): *Cradle to Grave: The Environmental Impacts from Coal*; Clean Air Task Force, Boston.

KOMLENOVIĆ, N., MAYER, B. I RASTOVSKI, P. (1990): Opterećenost kulture crnog bora (*Pinus nigra* Arn.) na području Istre sumporom i teškim metalima. *Šumarski List*, CXIV, 451-461 str.

KRAJNČIĆ, B. & DEVIDÉ, Z. (1980): Report on photoperiodic response in Lemnaceae from Slovenia. *Ber. Geobot. Inst. ETH, Stiftung Rübel, Zürich*, 47, 75- 86.

KÜPPER, H., KÜPPER, F. & SPILLER, M. (1998): Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. *J Exp Bot* 47, 259-266.

LANDOLT, E. (1986): *The Family of Lemnaceae*. Monographic study (Vol.1) Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der Edig. Tech. Hochschule, Stiftung Rübel, Zürich Heft 71.

LICHTENNHALTER, H.K. (1987): Chlorophylls and carotenoids- pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol* 148, 350- 382.

LISZEWSKA, F., BŁASZCZYK, A. & SIRKO, A. (2001): Modification of non-protein thiols contents in transgenic tobacco plants producing bacterial enzymes of cysteine biosynthesis pathway. *Acta Biochim Pol* 48, 647-656.

MAROVIĆ, G., SENČAR, J., BRONZOVIĆ, M., FRANIĆ, Z. I KOVAČ, J. (2006): Otpad vezan uz proizvodnju električne energije i proizvodnju mineralnih gnojiva. Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju 57, 333–338.

MEDUNIĆ, G., BOŽIĆEVIĆ MIHALIĆ, I., KOPJAR, N., GAURINA SRČEK, V., CUCULIĆ, V., OREŠČANIN, V (2014): Sulphur soil pollution caused by a coal-fired power plant (Plomin, Croatia). DUST2014 – 1st International Conference on Atmospheric Dust – Italy. 276-276 str.

MIKO, S., DURN, G., ADAMCOVÁ, R., ČOVIĆ, M., DUBÍKOVÁ, M., SKALSKÝ, R. I KAPELJ, S. (2003): Heavy metal distribution in karsts soils from Croatia and Slovakia. Environ Geol 45, 262-272.

MIRETZKY, P., SARALEGUI, A. & FERNANDEZ CIRELLI, A. (2004): Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals. Chemosphere 57, 997-1005.

MULIER, B., RAHMAN, I., WATCHORN, T., DONALDSON, K., MACNEE, W. & JEFFERY, P - K. (1998): Hydrogen peroxide-induced epithelial injury: the protective role of intracellular nonprotein thiols (NPSH). Eur Respir J 11, 384-391.

MYSLIWA-KURDZIEL, B. & STRZALKA, K. (2002): Influence of metals on biosynthesis of photosynthetic pigments. U: Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants. Prasad, M.N.V. & Strzalka, K. (ur). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston, London, str. 221-227.

NAKANO, Y., ASADA, K. (1981): Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol 22, 867- 880.

NALBANDIAN, H. (2012): Trace element emissions from coal. U Profiles CCC/203, ISBN 978-92-9029-523-5, 89 pp, September 2012, London, UK.

NOCTOR, G., FOYER, C.H. (1998): Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 49, 249-279.

OREŠČANIN, V., NAĐ, K., BARTOLINČIĆ, A. I VALKOVIĆ, V. (2009): Chemical Profile of Plomin Bay Sediments. Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju 60, 281-287.

PAŠKOVÁ, V., HILSCHEROVÁ, K., FELDMANNOVÁ, M. & BLÁHA, L., (2006): Toxic effects and oxidative stress in higher plants exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons and their N-heterocyclic derivatives. Environ Toxicol Chem 25, 3238-3245.

PERL-TREVES, R. & PERL, A. (2002): Oxidative stress: an introduction. U: Inzé D, van Montagu M (izd.) Oxidative stress in plants. Taylor & Francis Inc, London, New York, str. 1-33.

PEVALEK- KOZLINA, B. (2003): Fiziologija bilja, Profil International, Zagreb.

PIRSON, A., SEIDEL, F. (1950): Zell- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an der Wurzel von Lemna minor unter besonderer Berücksichtigung von Kalium- und Kalziummangel. Planta 38, 431-473.

PONGRAC, P. (2013): Geokemijske i mineraloške značajke tehnogenih i smeđih tala u blizini termoelektrane "Plomin". Diplomski rad. Rudarsko-geološko-naftni fakultet, Sveučilište u Zagrebu. 148 str.

PORATH, D., POLLOCK, J. (1982): Ammonia stripping by duckweed and its feasibility in circulating aquaculture. Aquatic Bot 13, 125-131.

POSCHENRIEDER, C., CABOT, C., MARTOS, S., GALLEGRO, B., BARCELÓ, J. (2013): Do toxic ions induce hormesis in plants? Plant Sci 212, 15-25.

PROHIĆ, E., MIKO, S. (1998): Distribution of selected elements in soils in the vicinity of coal burning power plant "Plomin", Istria, Croatia. Erdwissenschaftliche Aspekte des Umweltschutzes, Tagungsband, U: Sauer, D. (ur.): Österriechisches Forschungs- und Prüfzentrum Arsenal Ges. m. b., Beč. 319 – 324 str.

RADIĆ, S., STIPANIČEV, D., CVJETKO, P., MARIJANOVIĆ RAJČIĆ, M., ŠIRAC, S., PEVALEK - KOZLINA, B. I PAVLICA, M. (2011): Duckweed *Lemna minor* as a tool for testing toxicity and genotoxicity of surface waters. *Ecotox Environ Saf* 74, 182-187.

RAHMANI, G.N.H. & STERNBERG, S.P.K. (1999): Bioremoval of lead from water using *Lemna minor*. *Bioresour Technol* 70, 225-230.

ROGLIĆ, J. (1981): Geografski aspekt za prirodnu podlogu Istre. U: EKL, V. (Ed.): *Liburnijske Teme, Knjiga 4, Opatija*, 25-33.

SABREEN, S. & SUGIYAMA, S. (2008): Trade off between cadmium tolerance and relative growth rate in 10 grass species. *Environ Exp Bot* 63, 327-332.

SALOMONS, W. (1995): Long-term Strategies for Handling Contaminated Sites and Large-scale Areas. U *Biogeodynamics of Pollutants in Soils and Sediments*. Eds. Salomons W. & Stigliani W.M. Series: Environmental science. Springer, New York, str. 1-26.

SINGH, G. (2013): Environmental Aspects of Coal Combustion Residues from Thermal Power Plants. Mohammad Rasul (Ur.), ISBN 978-953-51-1095-8, Published: April 17, 2013 under [CC BY 3.0 license](#). © The Author(s).

SOFILIĆ, T. (2014): Onečišćenje i zaštita tla. Sveučilište u Zagrebu. Metalurški fakultet. Sisak.

SRIVASTAVA, S., MISHRA, S., RUDRA, D., DWIVEDI, T.S. & GUPTA, D.T. (2006): Copper-induced oxidative stress and responses of antioxidants and phytochelatins in *Hydrilla verticillata* (L.f.). *Royle. Aquat Toxicol* 80, 405-415.

ŠAREC, T. (2012): utjecaj mangana, kobalta i žive na oksidativni stres u korijenu i listu graška (*Pisum sativum l.*). Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Odjel za Biologiju. 51 str.

ŠIKIĆ, D. & POLŠAK, A. I MAGAŠ, N. (1973): Osnovna geološka karta SFRJ 1:100 000, Tumač za list Labin (L 33-101), Institut za geološka istraživanja Zagreb (1963), Savezni geološki zavod, Beograd.

ŠKORIĆ, A. (1981): Tla Istre. U: Ekl, V. (ed.): Liburnijske teme, 4, 170-174 str.

ŠKORIĆ, A. (1986): Postanak, razvoj i sistematika tla. Posebno izdanje poljoprivredne znanstvene smotre, Zagreb, 172s.

TAUSZ, M., ŠIRCELJ, H., GRILL, D. (2004): The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: is a stress-response concept valid?. J Exp Bot 55, 1955-1962.

VAJPAYEE, P., TRIPATI, R.D., RAI, U.N., ALI, M.B. & SINGH, S.N. (2000): Chromium accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein content of *Nymphaea alba*. Chemosphere 41,1075-1082.

VALKOVIĆ, V., MAKJANIĆ, J., JAKSIĆ, M., POPOVIĆ, S., BOS, J. J. A., VIS, D. R., WIEDERSPAHN, K. & VERHEUL, H. (1984): Analysis of fly ash by X-ray emissions spectroscopy and proton microbeam analysis. Fuel 63, 1357-62.

VELIĆ, A. (2014): Utjecaj termoelektrane Plomin na geokemijske karakteristike tla. Diplomski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu. 79 str.

VELIĆ, I., TIŠLJAR, J., MATIČEC, D. I VLAHOVIĆ, I. (1995): Opći prikaz geološke građe Istre. U: VLAHOVIĆ, I. I VELIĆ, I. (Ur.): Vodič ekskurzija, 1. Hrvatski geološki kongres, 5-30, Zagreb.

VELIĆ, I., TIŠLJAR, J., MATIČEC, D., VLAHOVIĆ, I., MATIČEC, D. & BERGANT, S. (2003): Evolution of the Istrian part of the Adriatic carbonate platform from the Middle Jurassic to the Santonian and the formation of the Flysch Basin during the Eocene: Main events and regional comparison. U VLAHOVIĆ, I. & TIŠLJAR, J. (Ur.), Evolution of Depositional Environments from the Paleozoic to the Quaternary in the karst Dinarides and the Pannonian Basin. 22nd IAS Meeting of sedimentology, Opatija – September, 17-19, 2003. Field Trip Guidebook, 3-17, Zagreb.

VELIĆ, I., TIŠLJAR, J., MATIČEC, D., VLAHOVIĆ, I., MATIČEC, D., KORBAR, T., MORO, A. & ČOSOVIĆ, V. (2002): Geological evolution of istria (NW Part of the Adriatic Carbonate Platform, Croatia). U VLAHOVIĆ, I., & KORBAR, T. (Ur.), 6th International Congress on Rudists, Rovinj, Abstract and Excursion Guidebook, 83-93, Zagreb.

VIDAKOVIĆ-CIFREK Ž, KRSNIK-RASOL M, REGULA I, PAPEŠ D. 1995. Calcium chloride and calcium bromide in Allium test, Lemna test and their effect upon peroxidase in *Avena coleoptiles*. Abstract Book, 25-th Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society, Noordwijkerhout, Nizozemska.

VIDIĆ, T., LAH, B., BERDEN - ZRIMEC, M. & MARINSEK - LOGAR, R. (2009): Bioassays for evaluating the water-extractable genotoxic and toxic potential of soils polluted by metal smelters. Environ Toxicol 24, 472–483.

WANG W (1990): Literature review on duckweed toxicity testing. Environ Res 52, 7-22.

WANG W (1991): Literature review on higher plants for toxicity testing. Water Air Soil Poll 59, 381-400.

WHO. Environmental Health Criteria 234. (2006): Elemental speciation in human health risk assessment. Pristupljeno: 03.01.2015. Dostupno na: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/43442>

ZAYED A, GOWTHAMAN S, TERRY N. 1998. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants. J Environ Qual 27, 715-721.

Internetski izvori:

[www.mobot.org](http://www.mobot.org) [21.12.2014.]

[www.istra.lzmk.hr](http://www.istra.lzmk.hr) [27.12.2014.]

[www.uvm.edu](http://www.uvm.edu) [23.12.2014.]

Google Earth Pro – probna inačica programa [Modificirano: 14. 01.2015.]



## 9. PRILOZI

**Prilog 1.** Karakteristike različitih vrsta ugljena (Izvor: EH&E, 2011).

KARAKTERISTIKE	ANTRACIT	BITUMINOZNI	SUBBITUMINOZNI	LIGNIT
		UGLJEN	UGLJEN	
Toplinska vrijednost (BTU/lb)	15	11 - 15	8 – 13	4 – 8
S (%)	< 1	3 – 10	< 1	< 1
Ar (lb/10 <sup>9</sup> BTU)	N	0,500	0,100	0,300
Be (lb/10 <sup>9</sup> BTU)	N	0,110	0,030	0,200
Cd (lb/10 <sup>9</sup> BTU)	N	0,030	0,010	0,060
Cl (lb/10 <sup>9</sup> BTU)	N	35,000	2,700	24,000
Cr (lb/10 <sup>9</sup> BTU)	N	1,100	0,400	2,200
Pb (lb/10 <sup>9</sup> BTU)	N	0,600	0,200	1,000
Ma (lb/10 <sup>9</sup> BTU)	N	1,800	1,300	20,000
Hg (lb/10 <sup>9</sup> BTU)	N	0,007	0,006	0,030
Ni (lb/10 <sup>9</sup> BTU)	N	0,900	0,400	1,200

BTU/lb – mjerna jedinica za kalorijsku vrijednost ugljena (*British Thermal Units per pound of coal*); N – vrijednosti nisu zabilježene

**Prilog 2.** Karakteristike uvoznog kamenog ugljena (Izvor: EKONERG, 2011)

VELIČINA	JEDINICA	UGLJEN		
		Najlošiji	Projektni	Najbolji
H <sub>4</sub>	MJ/kg	24,000	26,300	29,300
Ugljik	% mase	59,750	65,480	72,500
Sumpor	% mase	1,500	1,017	0,300
Dušik	% mase	1,400	1,423	1,500
Klor	% mase	0,071	0,0150	0,010
Vlaga	% mase	12,000	7,626	6,500
Pepeo	% mase	15,000	11,693	8,000



**Prilog 4.** Pregledna hidrogeološka kompilacijska karta. M 1: 100 000 (izvor: Eknerg, 2011.). Strijelice označavaju smjer kretanja površinskih tokova, a crveno označeno predstavlja šire područje utjecaja TE Plomin.

