

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Dunja D. Đukić

**EFIKASNOST *FESTUCA RUBRA* U  
FITOSTABILIZACIJI JONA OLOVA U  
PRISUSTVU BRUŠIT-ALUMINOSILIKATNIH  
MATERIJALA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2026.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Dunja D. Đukić

**EFFICIENCY OF *FESTUCA RUBRA* IN  
PHYTOSTABILIZATION OF LEAD IONS IN  
THE PRESENCE OF BRUSHITE-  
ALUMINOSILICATE MATERIALS**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2026.

**Mentori:**

**dr Miljana Mirković**, viši naučni saradnik,  
Univerzitet u Beogradu – Institut za nuklearne nauke „Vinča“ – Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Laboratorija za materijale

---

**dr Ksenija Jakovljević**, naučni savetnik,  
Univerzitet u Beogradu – Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković” – Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju

---

**Članovi komisije:**

**dr Jasmina Šinžar Sekulić**, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet

---

**dr Tomica Mišljenović**, docent  
Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet

---

**dr Aleksandar Krstić**, naučni saradnik  
Univerzitet u Beogradu – Institut za nuklearne nauke „Vinča“ – Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Laboratorija za fizičku hemiju

---

**Datum odbrane:** \_\_\_\_\_

## ZAHVALNICA

Eksperimentalni deo ove doktorske disertacije je urađen u Laboratoriji za materijale, Instituta za nuklearne nauke “Vinča”- Instituta od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Univerziteta u Beogradu. Doktorska disertacija predstavlja interdisciplinarnu studiju za čiju izradu su bile uključene i druge Institucije: Katedra za ekologiju i geografiju biljaka, Institut za botaniku i botanička bašta „Jevremovac“, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Odeljenje za radioekologiju i agrohemiju Institut za primenu nuklearne energije Univerzitet u Beogradu, Laboratorija za fizičku hemiju, Institut za nuklearne nauke “Vinča” - Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Univerzitet u Beogradu, Centar za hemiju, Univerzitet u Beogradu - Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Katedra za matematiku i fiziku Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu. Doktorska disertacija je realizovana u okviru Ugovora o realizaciji i finansiranju naučno istraživačkog rada naučnoistraživačkih organizacija čiji su evidencioni brojevi: 451-03-136/2025-03/200017 i 451-03-136/2025-03/200007.

Ovim putem želim da iskažem ogromnu zahvalnost svojim mentorkama dr Miljani Mirković i dr Kseniji Jakovljević koje su me vodile i usmeravale tokom doktorskih studija. Veliko hvala na podršci, razumevanju, strpljenju, ažurnosti i prenesenom znanju. Takođe, hvala na neprocenjivim savetima koji su proizašli iz iskustva i koji su mi mnogo pomogli tokom izrade ove doktorske disertacije. Miljana, hvala Vam što ste me motivisali i što ste verovali u moje sposobnosti, na većito pozitivnom duhu i optimističnom stavu zbog kojih je svaki problem rešen u najkraćem roku. Ksenija, hvala Vam na brizi, pedantnosti, revnosti i predanosti, svojim primerom ste mi pokazali da se sve može postići trudom i radom. Posebnu zahvalnost dugujem članovima komisije.

Profesorki Jasmini Šinžar Sekulić zahvaljujem na brojnim korisnim sugestijama i savetima koji su doprineli unapređenju kvaliteta ove doktorske disertacije.

Docentu dr Tomici Mišljenoviću, zahvaljujem na pomoći pri analizama i interperetaciji dobijenih rezultata fizioloških i biohemijskih markera u ispitivanim biljnim uzorcima.

Dr Aleksandru Krstiću, naučnom saradniku Laboratorije za fizičku hemiju Instituta za nuklearne nauke “Vinča” dugujem veliku zahvalnost u pomoći prilikom izrade i modelovanja adsorpcionih eksperimenata kao i na sugestijama i korisnim savetima koji su mi pomogli prilikom interpretacije dobijenih rezultata.

Izražavam zahvalnost redovnom profesoru Vladimiru Pavloviću sa Katedre za matematiku i fiziku Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Beogradu na urađenim SEM i EDS analizama brušit-aluminosilikatnih materijala.

Saradnicama Centra za hemiju, Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, dr Mariji Šuljagić i dr Ljubici Anđelković dugujem veliku zahvalnost za pomoć prilikom određivanja osobina vezanih za adsorpcione karakteristike brušit-aluminosilikatnih materijala kao i za karakterizaciju materijala FTIR metodom.

Dr Svetlani Butuliji, višem naučnom saradniku Laboratorije za materijale, Instituta za nuklearne nauke “Vinča” zahvaljujem na pomoći i interpretaciji rezultata BET analize brušit-aluminosilikatnih materijala.

Dr Ani Kalijadis, naučnom savetniku Laboratorije za materijale, Instituta za nuklearne nauke “Vinča” zahvaljujem na prenetom znanju i savetima koji su značajno doprineli realizaciji ove interdisciplinarne studije.

Pored njih, veliku zahvalnost dugujem profesoru Miloradu Vujičiću na savetima, sugestijama i nesebičnom deljenju znanja.

Zahvaljujem se dr Gordani Andrejić i Urošu Aleksiću saradnicima Odeljenja za radioekologiju i agrohemiju Instituta za primenu nuklearne energije Univerziteta u Beogradu na pomoći pri analizama sadržaja potencijalno toksičnih elemenata u uzorcima zemljišta i biljnog materijala.

Naučnim savetnicama Laboratorije za materijale, Instituta za nuklearne nauke “Vinča” dr Snežani Nenadović i dr Ljiljani Kljajević dugujem posebnu zahvalnost na obezbeđenom materijalu kaolinitske gline koja je korišćena u eksperimentima koji su sprovedeni tokom ove studije.

Hvala svim mojim mladim kolegama koje sam upoznala tokom studija. Njihova mladost, iskrenost, istrajnost, saosećajnost, srdačnost i vedrina su mi ulepšali i osvetlili ceo proces.

Beskrajno hvala mojoj porodici i prijateljima koji su mi uvek bili podrška i koji me bezuslovno vole i prihvataju. Mama, tata, hvala vam od srca, bez vas sve ovo ne bi bilo moguće.

# EFIKASNOST *FESTUCA RUBRA* U FITOSTABILIZACIJI JONA OLOVA U PRISUSTVU BRUŠIT-ALUMINOSILIKATNIH MATERIJALA

## Sažetak

Ova doktorska disertacija prikazuje rezultate analize efikasnosti fitostabilizacije jona olova (Pb) u prisustvu biljne vrste *Festuca rubra* i brušit-aluminosilikatnih materijala. Materijal je sintetisan u skladu sa principima zelene hemije i korišćene su rezidualne sirovine pri čemu je omogućena njihova ponovna upotreba. Rezidualni kaolinitski materijal korišćen je za dobijanje metakaolina i pripremu alkalno aktiviranih aluminosilikatnih materijala kojima je dodato 2 wt%, 4 wt%, 6 wt%, 8 wt% i 10 wt% brušita ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Rezultati dobijeni nakon fizičko-hemijskih analiza brušit-aluminosilikatnih materijala, analiza efikasnosti i mehanizma adsorpcije jona olova iz vodenih rastvora pokazuju da je došlo do procesa geopolimerizacije i da materijali imaju visok potencijal za uklanjanje olova. Drugi deo eksperimenta se odnosio na gajenje *Festuca rubra* u kontrolisanim uslovima u različitim serijama supstrata, u prisustvu/odsustvu olova i brušit-aluminosilikatnih materijala. Nakon određivanja koncentracije olova u supstratu, korenu i nadzemnim delovima biljke, utvrđeno je da sa povećanjem masenog udela brušita u materijalu dolazi do smanjenja translokacionog (TF) i porasta biokoncentracionog (BCF) faktora što ukazuje na pozitivan efekat geopolimera na fitostabilizaciju. Rezultati analiza fizioloških i biohemijskih parametara nadzemnih delova uzoraka biljaka ukazuju na smanjenje sadržaja fotosintetskih pigmenata u uzorcima koje su gajene u supstratu, a koji je prethodno tretiran olovom čime se potvrđuje njegov negativan uticaj na biljke. Dodavanje brušit-aluminosilikatnih materijala u supstrat je, međutim, pokazalo pozitivne rezultate, kroz smanjenje sadržaja prolina i ukupnih fenola i smanjenje antioksidativne aktivnosti.

**Ključne reči:** brušit, aluminosilikatni materijali, uklanjanje olova, fitostabilizacija, *Festuca rubra*

**Naučna oblast:** Biologija

**Uža naučna oblast:** Ekologija, biogeografija i zaštita životne sredine

UDK broj: 504.5

# EFFICIENCY OF *FESTUCA RUBRA* IN PHYTOSTABILIZATION OF LEAD IONS IN THE PRESENCE OF BRUSHITE-ALUMINOSILICATE MATERIALS

## Abstract

This doctoral dissertation presents the results of analysis of phytostabilization efficiency of lead ions (Pb) in the presence of the plant species *Festuca rubra* and brushite-aluminosilicate materials (GPB). The material was synthesized in accordance with green chemistry principles using residual raw materials thus enabling their reuse. Residual kaolinite material was used to obtain metakaolin and prepare alkali-activated aluminosilicate materials to which 2 wt%, 4 wt%, 6 wt%, 8 wt% and 10 wt% brushite ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) were added. The results obtained after physical-chemical analyzes of GPBs and analyzes of the efficiency and mechanisms of Pb ion adsorption from aqueous solution show that the geopolymerization process has occurred and that the materials have a high potential for Pb removal. The second part of the experiment was related to the cultivation of *Festuca rubra* under controlled conditions in different series of substrates, in relation to the presence and absence of Pb and GPBs. After determining the concentration of Pb in the substrate, roots and aerial parts of the plant, it was found that increasing the proportion of brushite in the material, led to a decrease in the translocation factor (TF) and an increase in the bioconcentration factor (BCF), indicating a positive effect of GPBs on phytostabilization. The results of the analysis of the physiological and biochemical parameters of the aerial parts of the plant samples indicate a decrease in the content of photosynthetic pigments in the plant samples grown on the Pb-treated substrate, confirming its negative impact on the plants. However, the addition of GPBs to the substrate showed positive results, as evidenced by a reduction in proline content, total phenols, and antioxidant activity.

**Key words:** brushite, aluminosilicate materials, lead removal, fitostabilization, *Festuca rubra*

**Scientific field:** Biology

**Scientific subfield:** Ecology, biogeography and environmental protection

UDC number: 504.5

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Potencijalno toksični elementi.....	1
1.2. Kontaminacija životne sredine olovom .....	2
1.3. Uticaj potencijalno toksičnih elemenata na fiziološke procese u biljkama.....	3
1.3.1. Uticaj olova na fiziološke procese u biljkama .....	6
1.4. Strategije biljaka kao odgovor na povišene koncentracije potencijalno toksičnih elemenata...7	
1.5. Tehnike fitoremedijacije.....	11
1.6. Asistirana fitoremedijacija .....	14
1.6.1. Primeri asistiranе fitoremedijacije .....	16
1.7. Karakteristike aluminosilikatnih i kalcijum-fosfatnih materijala koji se upotrebljavaju kao neorganski agensi u asistiranoj fitoremedijaciji .....	16
1.7.1. Metakaolin .....	18
1.7.2. Brušit, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .....	18
2. CILJEVI RADA.....	20
3. MATERIJAL I METODE .....	21
3.1. Postupak sinteze brušit-aluminosilikatnih materijala.....	21
3.2. Karakterizacija brušit-aluminosilikatnih materijala .....	23
3.2.1. Rendgenska difrakcija na polikristalnom uzorku (XRPD).....	23
3.2.2. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR).....	23
3.2.3. Skenirajuća elektronska mikroskopija i energetski disperzivna spektroskopija (SEM-EDS) .....	23
3.2.4. Određivanje specifične površine i raspodele pora u brušit-aluminosilikatnim materijalima (BET) .....	23
3.3. Adsorpcija olova na brušit-aluminosilikatnim materijalima .....	24
3.3.1. Uticaj pH vrednosti na efikasnost adsorpcije .....	24
3.3.2. Određivanje brzine adsorpcije (kinetika).....	24
3.3.3. Adsorpcione izoterme .....	25
3.3.4. Određivanje pH vrednosti tačke nultog naelektrisanja.....	25
3.4. Postavka eksperimenta sistema <i>Festuca rubra</i> u prisustvu brušit-aluminosilikatnih materijala .....	25
3.5. Analize supstrata .....	28
3.5.1. Određivanje pH vrednosti supstrata.....	28
3.5.2. Određivanje organskog ugljenika i humusa u supstratu .....	28
3.5.3. Određivanje sadržaja ukupnog azota u supstratu.....	29
3.5.4. Određivanje sadržaja lako pristupačnog fosfora i kalijuma u supstratu .....	30
3.5.5. Određivanje sadržaja pristupačnih oblika kalcijuma i magnezijuma u supstratu.....	30

3.5.6. Određivanje pseudo-ukupnih koncentracija elemenata u supstratu.....	30
3.5.7. Određivanje sadržaja pristupačnih elemenata u supstratu .....	30
3.6. Analize biljnog materijala .....	31
3.6.1. Određivanje sadržaja ukupnog azota u biljnom materijalu .....	31
3.6.2. Određivanje sadržaja fosfora u biljnom materijalu .....	31
3.6.3. Određivanje sadržaja ukupnih elemenata u biljnom materijalu.....	32
3.7. Određivanje fizioloških i biohemijskih parametara u biljnom materijalu.....	32
3.7.1. Određivanje koncentracija pigmenata .....	32
3.7.2. Određivanje sadržaja prolina .....	33
3.7.3. Određivanje sadržaja ukupnih fenola .....	33
3.7.4. Određivanje antioksidativnog kapaciteta.....	33
3.8. Određivanje potencijala <i>Festuca rubra</i> za akumulaciju olova.....	34
3.9. Statistička obrada podataka .....	34
4. REZULTATI.....	35
4.1. Fizičko-hemijske osobine brušit-aluminosilikatnih materijala .....	35
4.1.1. Rezultati analize faznog sastava brušit-aluminosilikatnih materijala metodom rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku (XRPD) .....	35
4.1.2. Analiza funkcionalnih grupa u brušit-aluminosilikatnim materijalima Furijeovom transformacijom u infracrvenom delu spektra (FTIR).....	36
4.1.3. Analiza mikrostrukturnih osobina brušit-aluminosilikatnih materijala pomoću SEM-EDS metode.....	38
4.1.4. Određivanje specifične površine i poroznosti brušit-aluminosilikatnih materijala BET metodom .....	40
4.2. Analize adsorpcije jona olova na brušit-aluminosilikatnim materijalima.....	41
4.2.1. Analize uticaja pH vrednosti na adsorpciju jona olova iz vodenih rastvora.....	41
4.2.2. Analize kinetike adsorpcije jona olova na brušit-aluminosilikatnim materijalima .....	42
4.2.3. Određivanje modela adsorpcionih izoterma.....	46
4.2.4. Određivanje tačke nultog naelektrisanja brušit-aluminosilikatnih materijala .....	49
4.3. Hemijske karakteristike supstrata.....	49
4.4. Koncentracije elemenata u biljnom materijalu.....	56
4.5. Fiziološke i biohemijske analize biljnog materijala .....	65
4.6. Fitoremedijacioni potencijal <i>Festuca rubra</i> .....	69
5. DISKUSIJA .....	70
5.1. Fizičko-hemijske osobine ispitivanih brušit-aluminosilikatnih materijala .....	70
5.2. Efikasnost i mehanizmi adsorpcije olova sa brušit-aluminosilikatnim materijalima.....	71
5.3. Hemijske karakteristike supstrata.....	72
5.4. Koncentracije elemenata u biljnom materijalu.....	75

5.5. Fiziološke i biokemijske analize <i>Festuca rubra</i> .....	78
5.6. Fitoremedijacioni potencijal biljke.....	80
6. ZAKLJUČCI.....	81
7. LITERATURA.....	83
8. PRILOZI .....	97

# 1. UVOD

## 1.1. Potencijalno toksični elementi

Biljkama su za obavljanje osnovnih fizioloških funkcija, rast i razviće potrebni esencijalni elementi, koji se na osnovu koncentracija u kojima su prisutni u biljnim tkivima dele na: makroelemente koji su biljkama neophodni u višim koncentracijama i u koje spadaju: ugljenik (C), vodonik (H), kiseonik (O), kalcijum (Ca), magnezijum (Mg), azot (N), fosfor (P), kalijum (K) i sumpor (S), i mikroelemente koji su biljkama neophodni u nižim koncentracijama i u koje spadaju: gvožđe (Fe), hrom (Cr), bakar (Cu), cink (Zn), mangan (Mn), nikl (Ni), hlor (Cl), bor (B) i molibden (Mo) (Marschner 2011; Singh & Dadhe 2022). Pored ovih elemenata postoje i korisni elementi koji nisu esencijalni za biljku, ali su joj potrebni za pravilan rast, i u njih spadaju: natrijum (Na), silicijum (Si), aluminijum (Al), kobalt (Co) i selen (Se) (Ma i sar. 2023). Tokom poslednjih decenija intenzivno se istražuje prisustvo elemenata u živim organizmima koji su ranije nazivani teškim metalima, iako neki od njih nemaju gustinu od  $5 \text{ g cm}^{-3}$ , a pojedini se čak ni ne mogu klasifikovati kao metali. Stoga se u literaturi sve češće koristi termin potencijalno toksični elementi (PTE) (Ali & Khan 2017). Iako neophodni za preživljavanje, elementi poput bakra (Cu), gvožđa (Fe), mangana (Mn), molibdena (Mo), nikla (Ni) i cinka (Zn), mogu postati toksični ukoliko se nađu u biljkama u povišenim koncentracijama. S druge strane, elementi kao što su olovo (Pb), kadmijum (Cd), arsen (As) i živa (Hg) nemaju za sada poznatu biološku funkciju u biljkama i izuzetno su toksični čak i u veoma niskim koncentracijama (Nieder i sar. 2018; Bansal 2020). Otuda, svi elementi bili oni esencijalni ili neesencijalni za biljku, mogu izazvati fitotoksične efekte kada njihova koncentracija pređe određeni prag, koji zavisi od prirode elementa, biljne vrste i fizičko-hemijskih karakteristika zemljišta (Angulo-Bejarano i sar. 2021).

Prisustvo PTE u zemljištu može biti prirodnog i antropogenog porekla. Prirodnim izvorima se smatraju: matične stene koje sadrže povišene koncentracije PTE (kao što su ultramafiti, kalaminiti), vulkanske erupcije, peščane oluje i vetrom podignuta prašina (Roberts & Proctor 1991; Bizoux i sar. 2004; Rakić i sar. 2021). U većini slučajeva, pomenuti elementi se nalaze u zemljištu u obliku karbonata, sulfida, oksida ili drugih soli (Sarwar i sar. 2017). Ultramafitima se nazivaju stene koje se sastoje pretežno od minerala kao što su olivin, piroksen, amfibolit, serpentinit itd. Iako ultramafitske stene zauzimaju veoma mali procenat kopnene površine Zemlje (oko 3%; Guillot & Hattori 2013), zbog svojih specifičnosti (visok sadržaj Fe, Mg, Ni, Cr, nizak sadržaj Ca) imaju velikog uticaja na floru koja se razvija na zemljištima na njima (Echevarria 2018). Zbog svojih specifičnosti, zemljišta razvijena na ultramafitima karakteriše i specifična flora, a biljke koje su razvile niz adaptacija za opstanak u ovoj nepovoljnoj sredini nazivaju serpentinitofite (Jenny 1980; Chiarucci & Baker 2007) ili ultramafitofite (Jakovljević i sar. 2024). Vulkani takođe predstavljaju jedan od važnih prirodnih izvora PTE, budući da emituju i visoke koncentracije Al, Zn, Pb, Ni, Cu i Hg (Carrera-Beltrán i sar. 2024). Prašina, do čijeg podizanja dolazi usled peščanih oluja iz pustinjskih regija kao što je Sahara, sadrži visoke koncentracije Fe i nešto niže koncentracije Zn, Cd i Pb (Georgakopoulou i sar. 2024). Antropogeni izvori PTE su mnogo raznovrsniji i to su najčešće: nusprodukti industrijskih procesa (sagorevanje fosilnih goriva, industrijski otpad, eksploatacija mineralnih sirovina i prerada rude, naftna i hemijska industrija), poljoprivredna proizvodnja (mineralna i organska đubriva, pesticidi, kanalizaciona voda i mulj) i komunalni otpad (organski, neorganski, elektronski otpad) (Radić Lakoš & Radačić 2010).

Kada se nađe u životnoj sredini u povišenim koncentracijama, većina ovih elemenata se akumulira u zemljištu i sedimentu površinskih voda. Potencijalno toksični elementi moraju biti rastvoreni i nalaziti se u obliku slobodnih jona u zemljištu kako bi bili dostupni biljkama. Veliki udeo PTE u zemljištu je nerastvorljiv i stoga nedostupan za usvajanje od strane biljaka, zbog njihovog snažnog vezivanja za čestice u zemljištu.

Joni metala su čvršće vezani za čestice u zemljištu ukoliko su pH, udeo gline i udeo organske materije viši. Biodostupnost potencijalno toksičnih elemenata u kontaminiranim zemljištima zavisi od fizičkih, hemijskih i bioloških faktora. Fizički (kristalna struktura, penetrabilnost, tip zemljišta, udeo pojedinih frakcija) i hemijski faktori (Eh, pH, koncentracija jona drugih elemenata) stvaraju okvir u kojem biljke i simbiotski mikroorganizmi mogu modifikovati dostupnost PTE oslobađanjem kiseonika, protona i organskih kiselina u zemljište (Ernst 1996). Biljke su razvile određene mehanizme koji dovode do rastvaranja ovih elemenata u zemljištu. Na primer, u ćelijama korena određenih biljaka dolazi do izlučivanja supstanci za mobilizaciju elemenata u rizosferi koje se nazivaju fitosiderofore. Izbacivanje jona vodonika iz ćelija korena može dovesti do zakiseljavanja zemljišta i povećavanja rastvorljivosti PTE. Do ovoga dolazi zato što  $H^+$  joni mogu istiskivati katjone PTE adsorbovane na negativno naelektrisanim česticama koje se nalaze u zemljištu. Otuda niža pH vrednost zemljišta pospešujući njihovu desorpciju dovodi do povećanja koncentracije slobodnih jona PTE u zemljištu. Takođe, rizosferni mikroorganizmi mogu značajno povećati biodostupnost PTE u zemljištu uz pomoć sličnih mehanizama koje koriste i biljke (Rascio & Navari-Izzo 2011).

Kontaminacija zemljišta, vode i vazduha sa PTE predstavlja ozbiljan problem iz razloga što većina ovih hemijskih elemenata ne podleže hemijskoj razgradnji, tako da se njihova koncentracija u životnoj sredini kontinuirano povećava (Bansal 2020; Briffa i sar. 2020). Pored svoje postojanosti u životnoj sredini, oni takođe mogu negativno uticati na biorazgradivost organskih zagađivača (Feng & Ni 2024). Maksimalne dozvoljene koncentracije nekih od toksičnih PTE kao što su Zn, Cr, Pb, Cu, Ni, As, Co, Mo, Cd, i Hg u zemljištu su navedene u tabeli 1 (izvor: Uredba o graničnim vrednostima zagađujućih, štetnih i opasnih materija u zemljištu, „Sl.glasnik RS”, broj 30/2018).

Tabela 1. Granične maksimalne vrednosti zagađujućih, štetnih i opasnih materija u zemljištu ( $mg\ kg^{-1}$ ).

Cink (Zn)	Hrom (Cr)	Olovo (Pb)	Bakar (Cu)	Nikl (Ni)	Arsen (As)	Kobalt (Co)	Molibden (Mo)	Kadmijum (Cd)	Živa (Hg)
140	100	85	36	35	29	9	3	0,8	0,3

## 1.2. Kontaminacija životne sredine olovom

Olovo (Pb) predstavlja jedan od najrasprostranjenijih i najproblematičnijih PTE u životnoj sredini i u većini zemalja u svetu njegova upotreba je strogo kontrolisana. Agencija za toksične supstance i registar bolesti (ATSDR 2012) i Agencija za zaštitu životne sredine Sjedinjenih Država (US EPA) ocenjuju da se Pb nalazi među 20 najštetnijih supstanci. Budući da je gustine veće od  $5\ g\ cm^{-3}$  ( $11,34\ g\ cm^{-3}$ ), Pb spada u teške metale. Njegov najvažniji i najrasprostanjeniji izvor u prirodi je mineral galenit, u kojem se Pb nalazi u obliku olovo-sulfida (PbS) (Martín i sar. 2014).

Zemljišta prirodno bogata Pb, Zn i Cd se nazivaju kalaminska zemljišta (*lapis calaminaris*-rude cinka) (Wójcik i sar. 2017). Antropogene aktivnosti, međutim, mnogo više doprinose povišenim koncentracijama Pb u životnoj sredini (Zhang i sar. 2019). U najčešće izvore Pb u životnoj sredini spadaju: topionice olova, fabrike baterija i akumulatora, lemljenje, upotreba municije i eksploziva, navodnjavanje zemljišta otpadnim vodama, upotreba pesticida, stajskog i veštačkog đubriva, deponovanje jalovine, izlivanje kanalizacionog mulja i nafnih derivata, gasovi koji nastaju usled sagorevanja uglja i fosilnih goriva, nekontrolisano rušenje starih građevina, upotreba starih boja i vodovodnih cevi, itd. (Hernberg 2000; Obeng-Gyasi 2019; El Wartiti i sar. 2022). Takođe, u mnogo ređim slučajevima, zagađenje zemljišta Pb od strane čoveka može biti i slučajno. Uzroci ovakvog tipa zagađenja mogu biti poplave usled kojih dolazi do izlivanja kanalizacije i otpadnih voda i natapanja poljoprivrednih zemljišta istim, kao i saobraćajne nezgode u kojima učestvuju vozila koja prevoze toksične hemikalije (Kelly i sar. 2021).

Olovo se zadržava u zemljištu od 150 do 5000 godina i to prvenstveno u površinskim slojevima zemljišta i sedimenta, a u zavisnosti od hemijskog sastava tla može postati dostupno biljkama u kojima se akumulira i tako uči u lance ishrane (Jabeen i sar. 2009; Briseño-Bugarín i sar. 2024). Osim toga što negativno utiče na sva živa bića i u veoma niskim koncentracijama, Pb je i izuzetno postojano i ne može biti uklonjeno prirodnim procesima (Wani i sar. 2015). Na ovaj način znatno više koncentracije Pb mogu dospeti u žive organizme, gde dolazi do procesa biomagnifikacije (Collin i sar. 2022).

Toksičnost PTE zavisi od mnogih faktora kao što su: vrsta i priroda elementa, biološka uloga elementa, vrsta organizma i period života u kojem je izložen povišenim koncentracijama elementa. Olovo je jedan od najtoksičnijih elemenata i njegov negativan uticaj na žive organizme, naročito čoveka, je poznat još od drevne istorije. Postoji verovanje da je u starom Rimu pravljenje vina u olovnim sudovima dovodilo do trovanja stanovništva, naročito patricija, ovim metalom što je doprinelo padu Rimskog carstva (Hernberg 2000). Mehanizmi koji dovode do remećenja normalnog funkcionisanja ljudskog organizma usled trovanja Pb su: povećana produkcija slobodnih radikala, inhibicija rada enzima koji su deo važnih metaboličkih puteva, akumulacija Pb u ćelijama, ometanje normalnog funkcionisanja transmembranskog transporta drugih dvovalentnih jona itd. (Flora i sar. 2012). Kada se nađe u organizmu, Pb biva raspoređeno po celom telu, pri čemu se najviše akumulira u kostima. Ima štetan uticaj na više organskih sistema, dok se najčešći i primarni simptomi ispoljavaju u vidu neuroloških smetnji, kardiovaskularnih tegoba i problema sa radom bubrega tj. hronične bubrežne insuficijencije (Landrigan 2018). Takođe, dugotrajna izloženost ovom metalu može dovesti do smanjenja plodnosti kod oba pola, povećanog rizika od pobačaja i poremećaja imunskog sistema što na kraju može dovesti do nastanka autoimunih bolesti i malignih tumora (Liao i sar. 2016; Kumar 2018; Vagnoni i sar. 2024). U neurološke simptome nakon intoksikacije Pb spadaju oštećenje mozga, kičmene moždine i perifernog nervnog sistema, naročito kod dece kod kojih i izloženost veoma niskim koncentracijama ovog metala dovodi do problema sa pažnjom, kognitivnih poremećaja, teškoća u učenju, smanjene inteligencije, motoričkih smetnji i hiperaktivnosti. U kardiovaskularne simptome trovanja spadaju hipertenzija, anemija i povećan rizik od infarkta miokarda. Tokom trudnoće, menopauze, perioda laktacije i u slučaju oboljevanja od osteoporoze može doći do povećanja resorpcije kostiju, a time i do porasta koncentracija Pb u krvi, koji je u njima skladišten. Takođe, tokom trudnoće dolazi do prenošenja Pb sa majke na fetus, a takođe može se preneti i tokom dojenja (Lin i sar. 2023). Pored navedenih, simptomi mogu biti i akutni i u njih spadaju: bolovi u stomaku, mučnina, dijareja, glavobolja, delirijum, halucinacije, neurološke smetnje i akutni poremećaji u funkcionisanju bubrega (Rolston 2011).

### **1.3. Uticaj potencijalno toksičnih elemenata na fiziološke procese u biljkama**

Potencijalno toksični elementi koji nemaju poznatu biološku ulogu i nisu neophodni biljkama za preživljavanje mogu da uđu u ćelije kroz različite sisteme transporta, zbog svoje hemijske sličnosti sa jonima esencijalnih elemenata. Kada se nađu u organizmima, ovi elementi izazivaju citotoksične i genotoksične promene koje biljka ispoljava u vidu simptoma fitotoksičnosti. U neke od promena koje su i šematski prikazane (Slika 1) spadaju: stvaranje reaktivnih vrsta kiseonika (ROS), peroksidacija lipida, oštećenja molekula DNK, proteina i ugljenih hidrata, interferencija sa putevima signalne transdukcije i interferencija sa komponentama antioksidativnog sistema (Shahid i sar. 2014). Akumulacija PTE u tkivima utiče negativno na metabolizam organizama, što na kraju dovodi do smanjenja biološke raznovrsnosti na nivou ekosistema.

Produkcija reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) kao posledica izloženosti biljke povišenim koncentracijama PTE, može dovesti do inhibicije enzima, oksidacije proteina, peroksidacije lipida i oštećenja nukleinskih kiselina. Indirektni efekti koji PTE imaju na biomolekule produkcijom ROS-a su toksičniji i brži od direktnog efekta. Reaktivni oblici kiseonika su u osnovi kratkoživeći, nestabilni i hemijski vrlo reaktivni molekuli.

U njih spadaju slobodni radikali nastali od kiseonika, kao što su hidroksilni ( $\text{OH}\cdot$ ), superoksidni anjonski ( $\text{O}_2\cdot^-$ ), peroksilni ( $\text{RO}_2\cdot$ ), i alkoksilni ( $\text{RO}\cdot$ ) radikali, ili neradikalne vrste koje vode poreklo od kiseonika, poput vodonik-peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), organskog hidroperoksida ( $\text{ROOH}$ ) i singletnog kiseonika ( $\frac{1}{2}\text{O}_2$ ). Organele poput mitohondrija, hloroplasta i peroksisoma smatraju se glavnim generatorima ROS-a u biljnim ćelijama. Redukcija  $\text{O}_2$  jednim elektronom stvara anjonski superoksid ( $\text{O}_2\cdot^-$ ). Ovaj anjon je nestabilan i lako se dismutira u  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Za razliku od  $\text{O}_2\cdot^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  je veoma stabilan i sposoban je da inaktivira molekule koji se nalaze u ćeliji. Proizvodnja ROS-a je različita za redoks-aktivne i redoks-neaktivne metale. Redoks-aktivni metali, poput Fe i Cu, katalizuju Haber-Vajs/Fentonove reakcije u kojima se  $\text{H}_2\text{O}_2$  razlaže na  $\text{OH}\cdot$  pri neutralnom pH. Smatra se da je  $\text{OH}\cdot$  najreaktivniji ROS, zbog svoje sposobnosti da pokrene lipidnu peroksidaciju. Nasuprot tome, redoks-neaktivni metali i metaloidi, poput Pb, Cd, As, Hg, Ni i Zn inhibiraju enzimske aktivnosti kao rezultat njihovog visokog afiniteta prema tiolnoj ( $-\text{SH}$ ) grupi u enzimima. Potencijalno toksični elementi, naročito Pb, takođe mogu inaktivirati enzime vezivanjem za karboksilnu grupu ( $-\text{COOH}$ ) prisutnu u proteinima. U normalnim uslovima, optimalni nivo ROS-a se održava pomoću antioksidativnih enzima. Kada su biljke izložene visokim koncentracijama PTE dolazi do neravnoteže između proizvodnje i eliminacije ROS-a, a ta neravnoteža dovodi do fizioloških promena u biljci koje se karakterišu kao „oksidativni stres“ (Gill & Tuteja 2010).

Lipidi su biomakromolekuli i imaju važnu ulogu u različitim biološkim procesima i čine osnovne komponente ćelija. Najvažnije funkcije ovih molekula uključuju obezbeđivanje energije potrebne za odvijanje metaboličkih reakcija, kao i izgradnju membrana koje održavaju integritet i sastav ćelija i njihovih organela. Peroksidacija lipida uzrokuje narušavanje strukture ćelijskih membrana što predstavlja jedan od najštetnijih efekata koje izazivaju PTE u biljkama. Ovaj proces uključuje tri različite faze: inicijacija, progresija i terminacija. Inicijacija peroksidacije lipida izazvana ROS-om varira u zavisnosti od tipa ćelije. Peroksidaciju lipida u fotosintetski aktivnim ćelijama biljaka inicira  $\text{O}_2\cdot^-$ , koji nastaje kao nusprodukt u procesu fotosinteze. U ćelijama tkiva kojima nedostaje hlorofil, peroksidaciju lipida započinje  $\text{OH}\cdot$ , radikal koji nastaje razgradnjom  $\text{H}_2\text{O}_2$ , gde su katalizatori Fe i Cu. Peroksidacija lipida uzrokuje: povećano propuštanje membrane za supstance koje normalno ne prolaze kroz njih osim putem posebnih kanala, smanjenu fluidnost membrane i oštećenja membranskih proteina koja dovode do inaktivacije receptora, enzima i jonskih kanala (Ayala i sar. 2014).

Potencijalno toksični elementi dovode do oštećenja molekula DNK indirektno, posredstvom stvaranja ROS-a. Hidroksilni radikal ( $\text{OH}\cdot$ ) je najreaktivniji i stoga najefikasniji u izazivanju oksidativnih oštećenja svih komponenti molekula DNK. Interakcija ROS sa DNK molekulom dovodi do delecija i modifikacija nukleotidnih baza, prekidanja DNK lanca i oštećenja pirimidinskih dimera. Delecija baza je najčešće oštećenje molekula DNK izazvano PTE. Pored toga, ovi elementi mogu da dovedu do promene ekspresije gena tako što stupaju u interakciju sa cinkovim prstima (*Zinc fingers*) na proteinima, koji se tetraedralno vezuju za cistein (tiolnu grupu) ili histidin (imidazolnu grupu) kako bi održali trodimenzionalnu strukturu DNK. Do oštećenja DNK može doći i zbog grešaka u replikaciji, indukciji transkripcije i narušavanja integriteta ćelijske membrane (Shahid i sar. 2014).

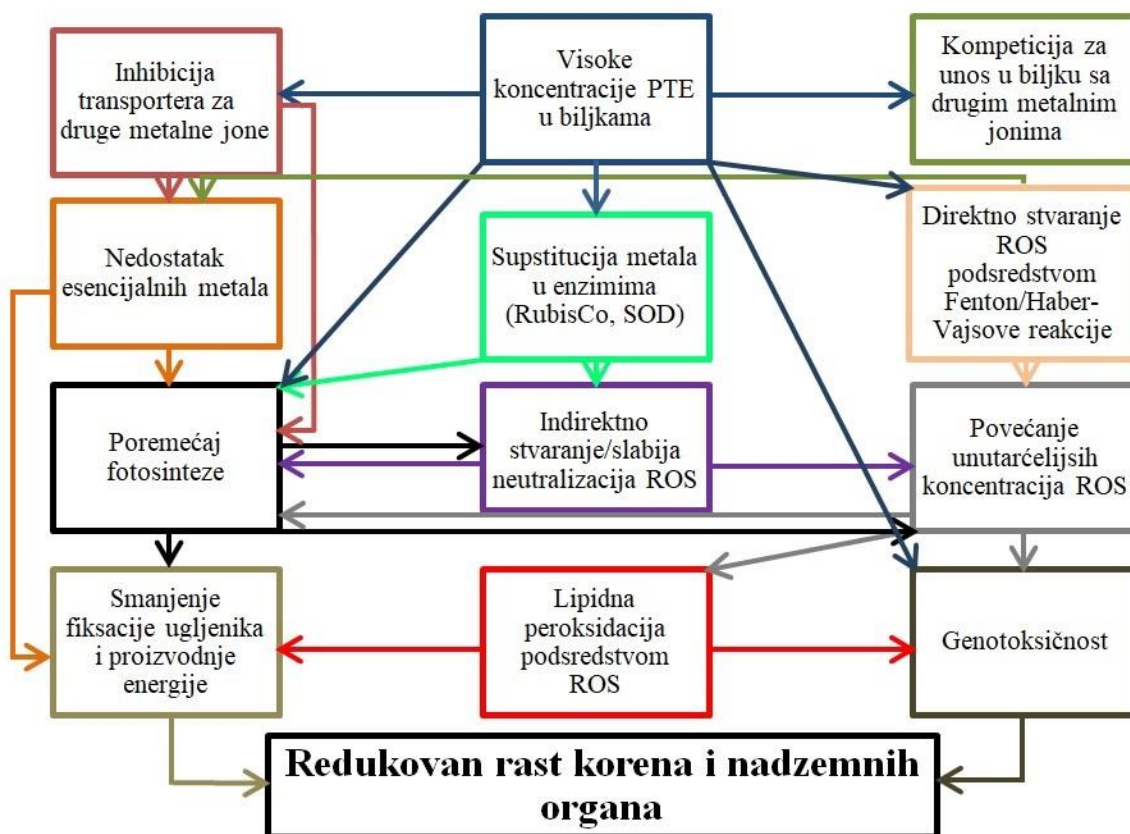
Reaktivne vrste kiseonika stupaju u interakciju sa proteinima, koji su izgrađeni od aminokiselina koje sadrže sumpor i tiolne grupe, i najčešće poseduju bočne grupe aminokiselinskih ostataka sledećih aminokiselina: Cys, Met, His, Arg, Lys, Pro, Tyr i Trp. Istraživanja ukazuju na to da je verovatnije da će do oksidacije doći u onim proteinima koji se nalaze bliže mestu produkcije ROS (Shahid i sar. 2014). Pored ROS, proteini su osetljivi na same jone PTE, naročito tokom procesa savijanja i povišene koncentracije mogu dovesti do supstitucije drugih metalnih kofaktora. Joni PTE stvaraju komplekse sa proteinima vezujući se za  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$  i  $-\text{SH}$  funkcionalne grupe. Kao rezultat njihove strukturne modifikacije ovi biomakromolekuli gube svoju pravilnu funkciju što dovodi do različitih poremećaja u ćelijama biljaka.

Kada se vežu za navedene grupe u proteinima, joni PTE inaktiviraju različite enzimske sisteme ili dovode do promene strukture proteina, što posredno dovodi do promene u katalitičkim svojstvima enzima. To može dovesti do poremećaja u biosintezi hlorofila i oštećenja u fotosistemu II, a zatim i do smanjenja fotosintetske aktivnosti. Posebno se Pb i Cd izdvajaju po tome što ometaju fiksaciju CO<sub>2</sub> i podstiču razgradnju hlorofila, uzrokujući pojavu hloroze i usporen rast biljaka (Mohamed i sar. 2025).

Povišene koncentracije PTE dovode do narušavanja strukture i homeostaze ugljenih hidrata koji predstavljaju izvor energije i ključne biomakromolekuli zbog njihove uloge u izgradnji i u metabolizmu biljaka. Uključeni su u mehanizme odgovora na stres, naročito u puteve transdukcije signala i osmotskog prilagođavanja na uslove u okruženju. Glukoza pojačava ćelijsku odbranu od citotoksičnosti koje uzrokuje H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u biljkama i time doprinosi njihovom opstanku. U uslovima intenzivnog oksidativnog stresa, ROS utiče na strukturu ugljenih hidrata. Na taj način, odbrambeni mehanizmi biljaka su oslabljeni i makromolekuli u biljkama (uključujući glukozu) postaju osetljivi na toksičnost izazvanu PTE (Shahid i sar. 2014).

Efekti PTE na ćelijsku signalizaciju mogu biti direktni, kao rezultat interakcije PTE sa proteinima, koji supstitucijom drugih jona metala na njihovim mestima vezivanja inaktiviraju određene enzime ili menjaju strukturu proteina, ili indirektni podstredstvom stvaranja ROS-a. Potencijalno toksični elementi utiču na ekspresiju gena, transkripciju i aktivaciju brojnih signalnih proteina, uključujući receptore faktora rasta, G-proteine (guanin nukleotid vezujući proteini) i tirozin kinaze. Reaktivne vrste kiseonika mogu aktivirati signalne kaskade MAP kinaze. ROS-MAPK indukovana transdukcija signala izaziva nekoliko ćelijskih oštećenja poput inhibicije hormonske signalizacije i programirane ćelijske smrti u biljkama koje su osetljive na PTE. Nasuprot tome, biljke tolerantne na PTE sposobne su da akumuliraju proteine kao što su hitinaze i proteini toplotnog šoka (HSP) koji ih štite od negativnih uticaja ovih elemenata (Shahid i sar. 2014).

Prisustvo povišenih koncentracija PTE u okruženju može dovesti do problema u usvajanju mikroelemenata, koji su neophodni biljkama za preživljavanje, zbog kompetitivnih odnosa među njima. Jedan od primera za to je kompeticija dvovalentnih jona cinka i gvožđa za unos u ćeliju preko transmembranskih transportera. U uslovima stresa Zn<sup>2+</sup> (nedostatak ili toksičnost), biljke mogu regulisati ekspresiju relevantnih transportera, kako na transkripcionom, tako i na posttranskripcionom nivou. Unošenje cinka kroz ćelijsku membranu najverovatnije je posredovano putem transportera ZIP porodice. Međutim, usvajanje navedenog elementa je moguće i preko drugih transportera sa sličnim afinitetima za različite jone, npr. preko transportera za gvožđe. Uzrok tome leži u sličnosti između ova dva dvovalentna jona kada je u pitanju naelektrisanje i jonski radijus, te zbog toga transporteri ne prave jasnu razliku između ova dva elementa. Usled smanjene koncentracije, biljke regulišu unos Fe<sup>2+</sup> putem negativne povratne sprege, povećanom sintezom transportera, i time povećavaju sadržaj Zn<sup>2+</sup> u biljci. S druge strane, biljke sa nedostatkom Zn<sup>2+</sup> često akumuliraju više Fe<sup>2+</sup>, što je dokaz za kompeticiju. Ovo sve dovodi do narušavanja homeostaze u biljnim ćelijama što može da izazove posledice u biljci na svim nivoima (Küpper & Andresen 2016).



Slika 1. Šematski prikaz uticaja PTE na biljku (Küpper & Andresen 2016).

### 1.3.1. Uticaj olova na fiziološke procese u biljkama

Kada se nađe u povišenim koncentracijama u životnoj sredini, Pb predstavlja ozbiljan problem za biljne vrste, zato što nije deo nijednog metaboličkog puta. Budući da ne spada u esencijalne elemente, u biljkama Pb dovodi do toksičnosti čak i u niskim koncentracijama. Većina biljaka ispoljava simptome fitotoksičnosti već pri koncentracijama Pb od 0,6 do 28,0 mg kg<sup>-1</sup> (Krämer 2010). Fitotoksičan uticaj zavisi od njegove koncentracije, dužine izloženosti i razvojne faze biljke. Najčešći simptomi koje biljka ispoljava nakon intoksikacije Pb su: inhibicija izduživanja korena, smanjen rast nadzemnog dela biljke, smanjena veličina plodova, nastanak nekrotičnih lezija i hloroza listova, smanjenje klijavosti semena i biomase korena i nadzemnog dela same biljke (Cadiz & Davies 1997; Sengar i sar. 2008; Gupta i sar. 2024; Ur Rahman i sar. 2024), dok pored toga Pb utiče negativno i na deobu ćelija i dovodi do lipidne peroksidacije i poremećaja u fotosintezi (Maestri i sar. 2010; Gidlow 2015). Jedan od najizraženijih efekata ovog elementa na biljke primećen je u fotosintetičkom sistemu gde su poremećeni procesi transporta elektrona, što uzrokuje nižu efikasnost transformacije energije fotosistema II (Kumar & Prasad 2015). Mehanizmi koji dovode do nastanka fitotoksičnosti su sledeći: oštećenje ćelijskih membrana, povišena produkcija slobodnih radikala koji dovode do oksidativnog stresa i narušavanja strukture proteina, lipida i DNK u biljnim ćelijama, poremećaji u apsorpciji hranljivih materija kao što su N, P i K, smanjenje transpiracije i poremećaji u osmoregulaciji (Lou i sar. 2017; Zulfiqar i sar. 2019). Prisustvo olova u biljnom tkivu dovodi do značajnog smanjenja koncentracije hlorofila, uz istovremeno povećanje sadržaja prolina i ukupnih fenolnih jedinjenja, što ukazuje na aktivaciju stresnih i odbrambenih mehanizama biljaka (Seregin & Ivanov 2001; Zengin & Munzuroglu 2005; Fattahi i sar. 2021).

Prolin je aminokiselina koja ima višestruku ulogu u odgovoru biljaka na abiotički stres pomoću mehanizama koji omogućavaju: održanje osmotskog potencijala putem osmotskog prilagođavanja, sprečavanje denaturacije enzima i stabilizaciju mehanizama sinteze proteina. Takođe ima ulogu u skladištenju ugljenika i azota, učestvuje u regulaciji pH vrednosti u citosolu i doprinosi neutralizaciji ROS. Stoga je akumulacija prolina očekivan odgovor biljke na stres izazvan povišenim koncentracijama Pb (Sharmila & Pardha Saradhi 2002). Povećana biosinteza fenolnih jedinjenja doprinosi zaštiti biljaka od posledica simptoma fitotoksičnosti koje izazivaju PTE, tako što ih vezuju i formiraju komplekse sa njima što dovodi do smanjenja biodostupnosti PTE. Pored toga oni imaju ulogu signalnih molekula, pospešuju sintezu enzima ili direktno "sakupljaju" ROS i time neutrališu njihove negativne efekte (Rao & Zheng 2025). Biljke koje rastu na podlogama sa visokim koncentracijama Pb usvajaju ovaj element i uglavnom ga zadržavaju u korenu, dok se mali deo prenosi u nadzemne organe (Pourrut i sar. 2011). Unos Pb u ćelije korena zavisi od više faktora, uključujući specijaciju metalnih jona, veličinu čestica u zemljištu, pH vrednost, katjonski izmenjivački kapacitet (CEC), kao i prisustvo eksudata koje luče ćelije korena (Ur Rahman i sar. 2024). Potencijalno toksični elementi u koje spada i Pb ulaze u biljke kroz vršne delove korena, putem simplasta ili apoplasta, zavisno od njihove hemijske prirode. Budući da su brojni biljni transporteri prilagođeni za unos dvovalentnih katjona makroelemenata poput  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$ , mnogi PTE koriste iste ove puteve za ulazak u biljku. Nakon ulaska u koren, ovi joni se mogu transportovati kroz ksilem do nadzemnih delova biljke. Ukoliko i dođe do translokacije jona Pb u izdanak biljke, to se dešava pomoću pasivnih mehanizama sistema membranskih enzima  $\text{H}^+$ /ATP-aza, te se otuda većina ovih jona prvo translocira preko apoplasta kroz endodermis (koji deluje kao prirodna barijera u dubljim tkivima), a zatim se transportuje preko simplasta do vaskularnih tkiva. Pojedine biljne vrste razvile su adaptivne mehanizme u odgovoru na povišene koncentracije ovog elementa.

#### **1.4. Strategije biljaka kao odgovor na povišene koncentracije potencijalno toksičnih elemenata**

Biljke sposobne da žive i reprodukuju se na zemljištima sa povećanom koncentracijom PTE se nazivaju metalofite (Baker & Whiting 2008). U odnosu na odgovor na povišene koncentracije PTE, biljke se mogu podeliti u tri osnovne grupe: ekskludere, indikatore i akumulatore (Baker 1981). Ekskluderi su biljke koje metale i metaloide ne usvajaju uopšte ili ih usvajaju u koren, gde ih zadržavaju, sprečavajući njihov transport u nadzemne delove. Ukoliko se usvoje u koren, PTE se skladište u vakuolama i imobilizuju na hidrofobnim zadebljanjima endoderma korena - Kasparijevim trakama, čime se sprečava njihov transport u nadzemne organe biljke (Seregin i sar. 2007). Indikatori predstavljaju biljne vrste koje ne sprečavaju translokaciju PTE u nadzemne delove biljke, već održavaju njihove koncentracije u nadzemnim tkivima proporcionalnim koncentracijama u zemljištu, dok se akumulatorima smatraju one biljke koje aktivno usvajaju PTE iz zemljišta i transportuju ih u nadzemne delove biljke gde ih skladište, pretežno u listovima, u koncentracijama koje su više od onih u zemljištu. Posebnu kategoriju akumulatora predstavljaju hiperakumulatori, biljke koje imaju sposobnost usvajanja i skladištenja PTE u nekoliko stotina do nekoliko hiljada puta većim koncentracijama od njihove koncentracije u okolnim neakumulatorskim vrstama, a da pritom ne dolazi do pojave simptoma fitotoksičnosti (van der Ent i sar. 2013). Nekoliko je kriterijuma koje biljka treba da ispuni da bi se smatrala hiperakumulatorskom vrstom. Najpre, koncentracije PTE u listovima treba da budu više od propisanih pragova hiperakumulacije, koji su element-specifični i iznose za Mn ( $10000 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Zn ( $3000 \text{ mg kg}^{-1}$ ), As, Ni i Pb ( $1000 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Co, Cr i Cu ( $300 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Cd, Se i Tl ( $100 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (van der Ent i sar. 2013). Pored toga, potrebno je da koncentracije PTE budu više u nadzemnom u odnosu na podzemni deo, kao i da ovaj fenomen bude detektovan u prirodnim uslovima, ne u eksperimentu (van der Ent i sar. 2013). Do sada je detektovano više od 700 vrsta koje poseduju sposobnost hiperakumulacije, pri čemu je najviše hiperakumulatora Ni (521 takson; Reeves i sar. 2018). Sa druge strane samo je 8 vrsta pokazalo sposobnost hiperakumulacije Pb. Među hiperakumulatorima najviše je predstavnika familije Brassicaceae, sa značajnim učešćem vrsta iz familija Asteraceae, Caryophyllaceae, Phyllanthaceae i Violaceae (Reeves i sar. 2018).

Glavnu ulogu u mehanizmima usvajanja PTE, translokacije u listove i sekvestracije u vakuolama ili ćelijskim zidovima hiperakumulatora, ima konstitutivna prekomerna ekspresija gena koji kodiraju transmembranske transportere. U navedene transmembranske transportere spadaju sledeće familije proteina: ZIP (*Zinc-regulated transporter/Iron-regulated transporter Proteins*), HMA (*Heavy Metal Transporting ATP-ases*), YSL (*Yellow-Stripe 1-Like*) i MATE (*Multidrug and Toxin Efflux*) (Rascio & Navari-Izzo 2010).

Istraživanja hiperakumulacije PTE kod biljaka dovela su do čitavog niza hipoteza koje pokušavaju da objasne razloge i moguće adaptivne koristi ovog fenomena. Hipoteza o elementarnoj odbrani (Elemental Defense Hypothesis) smatra se jednom od najznačajnijih, i pretpostavlja da visoke koncentracije elemenata poput Ni, Zn, Co ili Se u biljnim tkivima imaju funkciju zaštite od prirodnih neprijatelja, uključujući biljojede, insekte, patogene i parazite (Boyd & Martens 1994). Takvi elementi mogu delovati toksično, negativno uticati na ukus biljnih delova ili usporiti razvoj organizama koji se njima hrane, čime se smanjuje oštećenje i povećava ukupni fitnes biljke. Hipoteza o kompromisu (Trade-off Hypothesis) nadovezuje se na ovu ideju i predlaže da biljke koje razviju mehanizme odbrane mogu da smanje proizvodnju sekundarnih metabolita, kao što su alkaloidi ili glukozinolati, jer je upotreba PTE kao sredstva odbrane manje energetski zahtevna za produkciju. Neka istraživanja pokazala su da vrste koje hiperakumuliraju PTE često imaju niži nivo organskih odbrambenih jedinjenja, što podržava ovu hipotezu (Fones i sar. 2013). Sa druge strane, hipoteza o toleranciji metala (Metal Tolerance or Disposal Hypothesis) objašnjava hiperakumulaciju kao rezultat prilagođavanja biljaka na visoke koncentracije PTE u zemljištu. Prema ovoj hipotezi, akumulacija PTE pomaže biljkama da prežive u toksičnim uslovima tako što ih skladište u tkivima u kojima ne izazivaju štetne efekte. Na ovaj način one eliminišu štetne materije iz metabolizma odbacivanjem nadzemnih organa u kojima su skladištene visoke koncentracije PTE (Boyd 2004). Hipoteza o otpornosti na sušu (Drought Resistance Hypothesis) ukazuje na korist hiperakumulacije za odvijanje fizioloških procesa, sugerišući da PTE mogu uticati na bilans vode u biljkama i smanjiti njen gubitak tokom sušnih perioda (Cappa & Pilon-Smits 2014). Hipoteza o interferenciji (Elemental Interference or Allelopathy Hypothesis) ističe ekološku prednost hiperakumulatora, jer PTE koji se akumuliraju u nadzemnim organima i korenu mogu dospeti u okolno zemljište i sprečiti rast susednih biljaka, smanjujući tako kompeticiju za resurse. Nasuprot tim adaptivnim objašnjenjima, hipoteza o nenamernom unošenju (Inadvertent Uptake Hypothesis) pretpostavlja da akumulacija PTE nema posebnu funkciju i da predstavlja slučajnu posledicu fizioloških procesa vezanih za ishranu i metabolizam biljaka. Konačno, opšta hipoteza o odbrani (General Defense Hypothesis) obuhvata sve osobine koje omogućavaju biljkama da smanje štetu od prirodnih neprijatelja i istovremeno povećaju sopstvenu sposobnost preživljavanja i reprodukcije. U tom kontekstu, hiperakumulacija PTE može se posmatrati kao specifičan oblik adaptivne hemijske odbrane, koja, iako evoluirala iz drugih funkcionalnih razloga, doprinosi zaštiti biljaka u ekosistemu (Boyd 2007). Najnovija hipoteza o „udruženim efektima“ (Joint Effects Hypothesis), objašnjava da PTE mogu delovati zajedno sa organskim odbrambenim jedinjenjima što dovodi do povećanja efikasnosti biljaka hiperakumulatora u zaštiti (Cappa & Pilon-Smits 2014). Ove hipoteze zajedno čine osnovu savremenih istraživanja o ulozi PTE u ekologiji i evoluciji biljaka, kao i o potencijalnoj primeni ovih mehanizama u fitoremedijaciji i zaštiti životne sredine.

Biljke su tokom evolucije razvile različite mehanizme koji im omogućavaju opstanak na zemljištima koja sadrže visoke koncentracije PTE, tj. metalifernim zemljištima. Povišene koncentracije PTE dovode do odbrambenih odgovora biljke koji se ispoljavaju uz pomoć različitih fizioloških i molekularnih mehanizama (Slika 2) u koje spadaju: vezivanje PTE za ekstracelularne eksudate i komponente ćelijskog zida, sekvestracija PTE iz citoplazme u vakuole, formiranje kompleksa PTE uz pomoć aminokiselina, organskih kiselina, metalotionina i fitohelatina, sinteza antioksidativnih enzima i modifikacija metaboličkih puteva biljke, koji dovode do reparacije oštećenih ćelijskih struktura (Emamverdian i sar. 2015).

Načini na koje ovi mehanizmi dovode do promena važnih fizioloških i biohemijskih procesa uključuju promenu u ekspresiji gena, modifikaciju forme proteina i promene u sastavu metabolita. U glavne mehanizme sprečavanja ulaska PTE u biljnu ćeliju i njihovo zadržavanje u apoplastu spadaju: vezivanje PTE za ćelijski zid, modifikacija jonskih kanala i transportera na ćelijskoj membrani i lučenje eksudata.

- Vezivanje PTE za ćelijski zid korenskih ćelija omogućava ograničavanje njihovog ulaska u biljku. Takođe, u korenu biljke može doći do akumulacije PTE između ćelijskog zida i ćelijske membrane. Divalentni i trovalentni joni metala iz zemljišta se vezuju za ćelije korena zbog prisustva funkcionalnih grupa, kao što su  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$  i  $-\text{SH}$ , u zidovima istih. Najvažnija komponenta ćelijskog zida biljaka je pektin, koji se sastoji od karboksilnih grupa i za njih se mogu vezati pozitivno naelektrisani divalentni i trovalentni joni PTE. Ovo spada u najvažnije mehanizme pomoću kojih biljka toleriše toksičnost Pb (Kushwaha i sar. 2015).

- Zajedno sa ćelijskim zidom, ćelijska membrana funkcioniše kao prva linija odbrane biljke od kontaminacije PTE. Plazma membrana ograničava unos i akumulaciju ovih elemenata inhibirajući njihov ulazak u citoplazmu. Sprečavanje PTE da uđu u ćelije korena, može se postići promenom sposobnosti vezivanja ćelijskog zida za jone PTE ili modifikacijom jonskih kanala i transportera prisutnih na membrani (Kushwaha i sar. 2015).

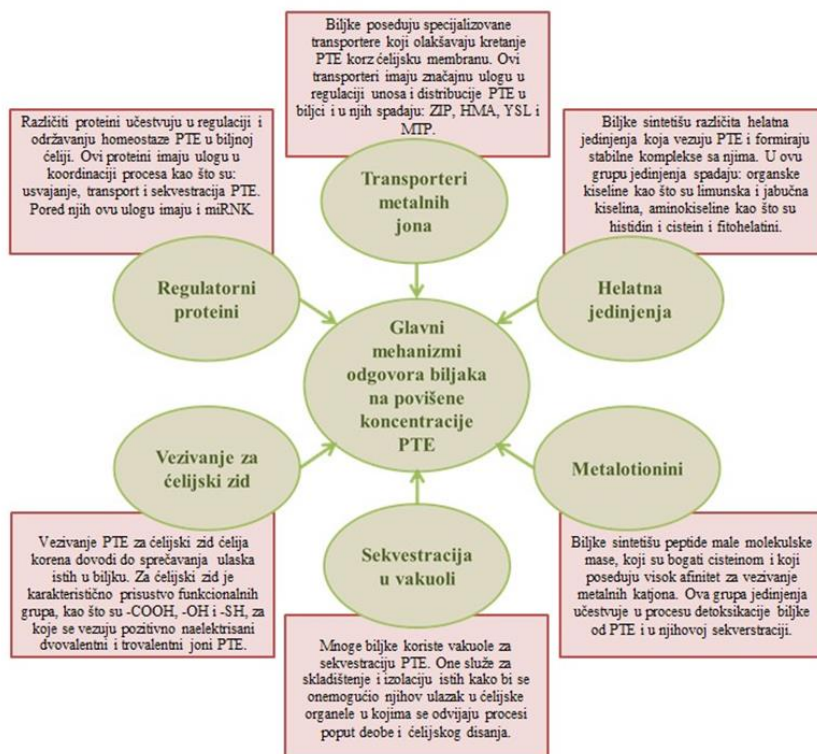
- Koren izlučuje u svoju neposrednu okolinu organska jedinjenja, kao što su: ugljeni hidrati, organske kiseline, prekursori huminskih kiselina, polipeptidi, proteini, aminokiseline, nukleinske kiseline, a takođe i neorganske ligande u koje spadaju:  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  i  $\text{PO}_4^{3-}$ . Eksudati koje luče ćelije korena se mogu klasifikovati u dve kategorije: eksudati velike molekulske mase kao što su: polisaharidi, poliuronska kiselina i ektoenzimi, i eksudati male molekulske mase u koje spadaju organske kiseline, šećeri, fenoli, aminokiseline i peptidi. Oni utiču na rastvorljivost, pokretljivost i dostupnost elementa. Eksudati mogu ograničiti ulazak PTE u biljku imobilizacijom istih u zoni korena ili ih mogu mobilisati i omogućiti pokretljivost istog od korena do nadzemnog dela i posledično povećati njihovu akumulaciju u biljkama. Takođe ove izlučevine utiču na pH zemljišta u rizosferi, čime takođe utiču na mobilnost PTE u zemljištu (Kushwaha i sar. 2015).

Međutim, ukoliko PTE ipak dospeju u biljku, fitotoksični efekti se sprečavaju aktiviranjem mehanizama detoksikacije u koje spadaju: sinteza metalotionina, fitohelatina i kompartmentalizacija u vakuole. Takođe, vrlo efikasan mehanizam detoksikacije PTE je hemijska konverzija toksičnih elemenata u manje toksična i isparljiva jedinjenja. U zemljištima koja su zagađena jonima žive, aktivnost mikroba pretvara visokotoksični Hg (II) u organska jedinjenja žive i tako isparavanjem manje toksični oblici Hg ulaze u globalni, biogeochemijski ciklus.

- Metalotionini (MT) su peptidi male molekulske mase, bogati cisteinom, koji pokazuju visok afinitet za vezivanje metalnih katjona, kao što su  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$ . Oni se ne sintetišu samo usled stresa abiotičkog porekla u biljkama, već i tokom njihovog rasta i razvića. Uz pomoć MT biljke sekvstriraju jone PTE kompleksiranjem istih sa više tiolnih grupa u molekulima cisteina. Geni sa kojih se sintetišu MT u ćelijama životinja mogu da se unesu u biljnu DNK uz pomoć tehnologija genetičkog inženjerstva, što može doprineti rezistenciji biljaka na visoke koncentracije PTE. Uz pomoć ovih postupaka u genetički modifikovanim biljnim jedinkama dolazi do imobilizacije i zarobljavanja PTE u korenu i smanjenja akumulacije u nadzemnim delovima biljke (Kaur i sar. 2020). Prekomerna ekspresija MT može povećati toleranciju biljaka na određene PTE, na primer na Cd ili Cu (Sarwar i sar. 2017).

- Joni PTE u citosolu se mogu vezivati za specifične ligande koji imaju visok afinitet za njihovo vezivanje, kao što su fitohelatini (PC). Oni se sintetišu iz glutationa pomoću enzima glutamil-cisteinil-dipeptidil-transpeptidaze (PC sintaza). Fitohelatini pripadaju porodici peptida koji vezuju PTE i imaju strukturu (c-Glu-Cis). U citosolu se PC sintetišu i zatim transportuju u vakuolu u formi kompleksa. Njihova sinteza se brzo indukuje u prisustvu PTE, kao što su Cd, Cu, Zn, Ag, Au, Hg i Pb. Fitohelatini grade komplekse sa  $Cd^{2+}$  jonima uz pomoć tiolne grupe (-SH), a ovaj kompleks se akumulira u vakuoli aktivnošću ABC transportera (Sarwar i sar. 2017). Biljne ćelije su razvile nekoliko strategija za sprečavanje štetnih efekata ROS, a glutation spada u jednu od neenzimskih komponenti antioksidativnog sistema ćelije. U detoksikaciji PTE biljke koriste glutation, direktno kao helator ili kao prekursor fitohelatina, koji predstavljaju ligande sa visokim afinitetom za vezivanje PTE.

- Glavni mehanizam tolerancije biljaka na visoke koncentracije PTE je kompartmentalizacija jona PTE. Ovaj mehanizam podrazumeva sekvestraciju istih u vakuolama, kako bi se onemogućio njihov ulazak u ćelijske organele u kojima se odvijaju procesi poput deobe i ćelijskog disanja. Prekomerna ekspresija prirodnih helatora, kao što su fitohelatini (PC), metalotionini (MT) i organske kiseline, ne samo da olakšava vezivanje i detoksikaciju jona unutar citoplazme, već omogućava i njihovu translokaciju kroz ksilem i skladištenje u vakuolama listova (Sarwar i sar. 2017). Potencijalno toksični elementi se skladište prvenstveno u epidermisu sa ciljem očuvanja parenhimskog tkiva koje učestvuje u fotosintezi (Bhat i sar. 2025).



Slika 2. Šematski prikaz odgovora biljaka na povišene koncentracije potencijalno toksičnih elemenata (Vasilachi i sar. 2023).

## 1.5. Tehnike fitoremedijacije

Povišene koncentracije PTE u životnoj sredini predstavljaju globalni i rastući problem. Jedan od načina za njihovo efikasno uklanjanje, bez dodatnih negativnih efekata po životnu sredinu je i fitoremedijacija. **Fitoremedijacija** (lat. *phyto* - biljka i *remedium* - čistiti, obnoviti) obuhvata skup tehnika koje se zasnivaju na sposobnosti određenih biljaka da samostalno ili u kombinaciji sa zemljišnim mikroorganizmima, uklanjaju, detoksikuju ili imobilizuju kontaminante iz okruženja. U najznačajnije tehnike koje su šematski prikazane na slici 3 spadaju: fitostabilizacija, fitoekstrakcija, fitovolatilizacija, fitofiltracija, fitostimulacija i fitodegradacija (Chatterjee i sar. 2013; Ying 2018). U poređenju sa drugim tehnikama za uklanjanje polutanata, fitoremedijacija je ekonomski i ekološki prihvatljivija opcija. Odabir biljne vrste je jedan od ključnih faktora koji određuje efikasnost fitoremedijacije. Da bi mogla uspešno da se primeni u procesu fitoremedijacije, vrsta treba efikasno da usvaja element od interesa bilo u nadzemni deo biljke (kad se koriste za fitoekstrakciju) bilo u koren (kada se koriste za fitostabilizaciju), da produkuje značajnu količinu biomase i to u kratkom vremenskom periodu, kao i da ima razvijen korenov sistem (Singh i sar. 2017; Nedjimi 2021). Tolerancija na PTE je preduslov za proces fitoremedijacije. Što je biljka otpornija na stres izazvan PTE, to će se više koncentracije istih akumulirati u biljnim tkivima uz minimalne štetne efekte po samu biljku. Potencijal biljke za toleranciju na PTE zavisi od mehanizama poput vezivanja PTE na ćelijskom zidu, aktivnog transporta jona PTE u vakuole, helacije jona PTE sa proteinima i peptidima i stvaranja stabilnih kompleksa (Radić Lakoš & Radačić 2010; Surriya i sar. 2015). Efikasnost pojedinih biljnih vrsta za korišćenje u fitostabilizaciji procenjuje se pomoću TF (translokacioni faktor) i BCF (biokoncentracioni faktor). Translokacioni faktor (TF) predstavlja odnos koncentracije PTE u nadzemnim delovima biljke (i to pre svega listovima) i njegove koncentracije u korenu, dok se biokoncentracioni faktor (BCF) definiše kao odnos koncentracije PTE u korenovima i dostupne koncentracije u zemljištu (Hosseini 2020). Ovi indeksi omogućavaju klasifikaciju biljnih vrsta kao ekstraktora ili ekskludera i selektuju vrstu kao pogodnu za fitoekstrakciju ili fitostabilizaciju. Ukoliko su ispunjeni ostali faktori neophodni za uspešnu fitoremedijaciju, biljke sa visokim vrednostima  $TF > 1$  ili  $BCF > 1$  smatraju se pogodnim za fitoekstrakciju, dok biljke sa  $TF < 1$  mogu biti korišćene za fitostabilizaciju (Pandey & Tiwari 2025).

Fitostabilizacija je tehnika koja omogućava imobilizaciju polutanata u rizosferi ili u podzemnim biljnim organima, čime se sprečava njihovo širenje u zemljištu kao i u nadzemne biljne organe (Lee i sar. 2025). Biljke vrše apsorpciju PTE u korenovom sistemu ili precipitaciju istih u korenskoj zoni. Takođe, one stabilizuju i imobilišu PTE lučenjem eksudata iz korena koji ih vezuju i zadržavaju u lokalizovanom području oko korena. Tako se smanjuje biodostupnost PTE drugim zemljišnim organizmima i sprečava proceđivanje kroz zemljišne slojeve i zagađivanje podzemnih voda (Radić Lakoš & Radačić 2010; Surriya i sar. 2015). Uz pomoć ove tehnike na kontaminiranim zemljištima velike površine smanjuje se erozija izloženog površinskog sloja tla i širenje kontaminanata vetrom, i to vezivanjem podloge korenovim sistemom i zauzimanjem nadzemnim delom biljke. Pored toga, sađenje metal-tolerantnih vrsta biljaka omogućava razvoj vegetacijskog pokrivača na mestima gde je zbog prisustva PTE u koncentracijama koje su letalne za većinu biljnih vrsta, prirodna vegetacija iščezla. Biljke ekskluderi imaju nizak potencijal za ekstrakciju PTE iz zemljišta, ali su vrlo pogodne za korišćenje u fitostabilizaciji. Karakteristike biljnih vrsta koje se koriste u fitostabilizaciji uključuju: toleranciju na visoke koncentracije PTE, visoku produkciju korenske biomase, kao i sposobnost zadržavanja kontaminanata u korenu. Zadržavanjem PTE u podzemnim delovima biljke smanjuje se rizik od ulaska istih u lance ishrane i širenje unutar ekosistema (Ali i sar. 2013; Karaca i sar. 2018). Značajnu ulogu u fitostabilizaciji imaju drvenaste biljne vrste, kod kojih efikasnost značajno unapređuje razvijen korenov sistem. Neki od primera su vrste rodova *Salix* i *Populus*, kod kojih je pokazan potencijal za akumulaciju PTE (Mataruga i sar. 2020a), kao i vrste rodova *Ulmus*, *Juglans* (Mataruga i sar. 2020b). Drveće se koristi u velikoj meri u remedijaciji, ali značajnu ulogu imaju i trave koje fizički stabilizuju podlogu i lokalizuju elemente od interesa (Pulford & Watson 2003; Rabêlo i sar. 2021). Posebno visok potencijal pokazale su vrste rodova *Festuca*, *Chrysopogon*, *Camalagrostis* (Gajić i sar. 2016; Ranđelović i sar. 2018, Rao i sar. 2025).

U procesu fitoekstrakcije biljke apsorbuju PTE iz zemljišta, transportuju ih u nadzemne delove gde ih akumuliraju uglavnom u vakuolama u epidermalnim ćelijama listova. Sekvestracija PTE u vakuolama listova jedan je od načina uklanjanja viška ovih jona iz citosola i može smanjiti njihov uticaj na ćelijske metaboličke procese (Ali i sar. 2013). Zbog translokacije i akumulacije PTE u nadzemnim delovima, hiperakumulatorske vrste su te koje se primarno koriste u procesu fitoekstrakcije. Međutim, budući da su hiperakumulatorske vrste uglavnom nedovoljne biomase da bi se ostvario ekonomski opravdan rezultat, u procesu fitoekstrakcije se sve češće koriste i akumulatorske vrste sa velikom nadzemnom biomasom, kojom se može nadoknaditi manji kapacitet za akumulaciju. Takav je slučaj sa vrstama roda *Brassica* za koje je pokazano da mogu da usvoje značajne koncentracije PTE u svoje nadzemne delove (Zeremski i sar. 2021).

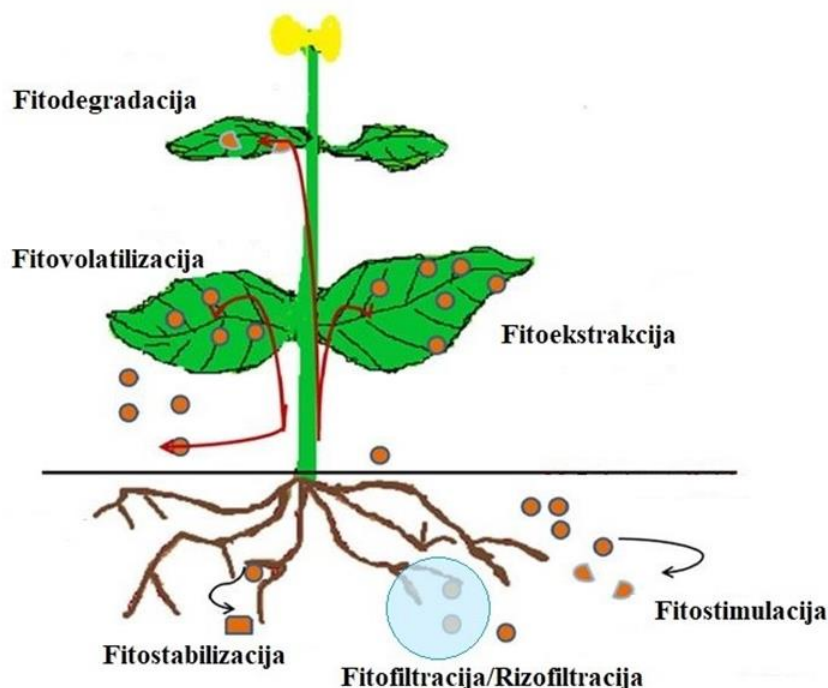
Fitofiltracija/Rizofiltracija podrazumeva uklanjanje organskih i neorganskih zagađivača iz vodene sredine pomoću korenovog sistema i njihovu akumulaciju u korenu. Mehanizmi adsorpcije kontaminanata u zoni korena su sledeći: jonska izmena, mikroprecipitacija, stvaranje kompleksa i površinska adsorpcija. Izlučevine korena i posledično promene u pH vrednosti rizosfere mogu doprineti precipitaciji PTE na površinu korena. Nakon zasićenja PTE, koren ili cela biljka se uklanjaju i odlažu na za to predviđena mesta. Da bi se postigla što veća efikasnost procesa fitofiltracije, potrebno je da biljke koje se koriste proizvode značajnu količinu korenske biomase sa velikom površinom i da stvaraju minimalnu količinu otpada (Radić Lakoš & Radačić 2010; Alagić i sar. 2014).

Neki PTE poput As, Hg i Se mogu se oslobađati u okruženje u gasovitoj fazi. Određene biljne vrste su u stanju da apsorbuju ove elemente iz zemljišta i da ih prevode u gasovitu fazu unutar biljke, a zatim ih preko listova otpuštaju u atmosferu u postupku koji se naziva fitovolatilizacija. Tako se u ćelijama biljaka vrši asimilacija neorganskog Se u organske seleno-aminokiseline: selenocistein (SeCys) i selenometionin (SeMet), a zatim se SeMet metiluje i formira dimetilselenid (DMSe) koji je isparljiv (Grijalbo Fernández i sar. 2015). Međutim, Hg i Se su veoma toksični pa postoje sumnje kada se radi o ovoj tehnici fitoremedijacije zbog potencijalne kontaminacije vazduha ovim hemijskim elementima. Zbog toga treba biti oprezan pri njenom korišćenju, iako njeni zagovornici naglašavaju minimalan uticaj i to samo na zemljište, uz smanjenje mogućnosti erozije, i potrebe za odlaganjem kontaminirane biomase (Radić Lakoš & Radačić 2010; Alagić i sar. 2014).

Fitodegradacija (fitotransformacija) je tehnika koja se zasniva na sposobnosti biljaka i njihovih simbiotskih mikroorganizama da razgrađuju organske zagađivače u zemljištu ili u biljkama, ukoliko dospeju u tkiva. Degradacija polutanata se vrši pomoću enzima koje luče ćelije korena, nakon čega dolazi do usvajanja novonastalih molekula u nadzemne organe biljke i njihovog izbacivanja putem transpiracije. Ovom procesu hemijske modifikacije su podložna organska jedinjenja kao što su razni herbicidi, trihloretilen, metil tert-butil etar, trinitrotoluen itd. Ova složena i otporna jedinjenja ne mogu se razložiti na osnovne molekule (voda, ugljen-dioksid itd.) od strane biljnih enzima, i stoga termin fitotransformacija predstavlja promenu hemijske strukture bez potpunog razlaganja jedinjenja (Pilon-Smits 2005; Gajić i sar. 2020; Nedjimi 2021).

Fitostimulacija (ili rizodegradacija) je tehnika asistiranog fitoremedijacije u kojoj se koriste zemljišni mikroorganizmi koji imaju sposobnost razgradnje organskih kontaminanata. Ovaj proces se odvija unutar rizosfere, zbog čega se proces i naziva rizodegradacija. Pomoću ove fitoremedijacione tehnike biljke oslobađaju ugljene hidrate i kiseline koje stimulišu aktivnost mikroorganizama što rezultira biorazgradnjom organskih zagađivača smanjujući i njihovu toksičnost po okolinu, a tehnika se pokazala efikasnom u razgradnji polihlorovanog bifenila (PCB) i policikličnih aromatičnih ugljovodonika (PAH) (Pilon-Smits 2005; Gajić i sar. 2020; Nedjimi 2021). Prednosti primene tehnika fitoremedijacije u odnosu na konvencionalne fizičke i hemijske metode su: ekološka prihvatljivost, ekonomska isplativost, mogućnost primene *in situ*, mogućnost primene na širok spektar zagađivača životne sredine, kao i mogućnost ponovne upotrebe metala nakon fitoekstrakcije (fitorudarenje).

U procesu fitorudaranja se nakon žetve dobijena biomasa obrađuje sagorevanjem, a metali se ekstrahuju iz pepela. Pored toga, energija oslobođena tokom sagorevanja može biti dalje iskorišćena (van der Ent i sar. 2015). Iako se ova tehnika najčešće koristi u rudarenju Ni, na ovaj način se mogu rudariti i elementi kao što su Au, Zn, Cd, ali i elementi retkih zemalja (REE) koji imaju visoku vrednost zbog mogućnosti njihove primene u proizvodnji električnih vozila, nuklearnih tehnologija, senzora, baterija, itd (Jakovljević i sar. 2021). U ograničenja primene tehnika fitoremedijacije spadaju: dug vremenski period neophodan da bi se zemljište u potpunosti očistilo od zagađivača, mala nadzemna biomasa hiperakumulatora i usvajanje samo određenog, najčešće jednog, elementa, ograničena biodostupnost zagađivača u zemljištu, primenjivost samo na zemljištima koja su umereno kontaminirana, opasnost ulaska PTE u lance ishrane, zavisnost od klimatskih uslova (Singh i sar. 2003).



Slika 3. Tehnike fitoremedijacije.

Od svih navedenih tehnika fitoremedijacije, najčešće primenjivane su fitoe ekstrakcija i fitostabilizacija. Dok se u fitoe ekstrakciji najčešće primenjuju hiperakumulatorske, i nešto ređe akumulatorske vrste, u fitostabilizaciji su se pored drvenastih, kao najefikasnije pokazale biljke iz familije trava.

Jedna od takvih je *Festuca rubra* (Slika 4), višegodišnja zeljasta biljka koja pripada familiji trava (Poaceae). Areal ove vrste obuhvata severnu hemisferu, pri čemu je vrsta široko rasprostranjena u Evropi, u umerenim delovima Azije, Severne Amerike i na severu Afrike (POWO 2025). Karakteriše je intenzivno vegetativno razmnožavanje pomoću rizoma, brz rast i visoka produkcija biomase. Pored toga poseduje razvijen korenov sistem koji prodire do 30 cm u dubinu, dok visina nadzemnog dela biljke iznosi od 30 do 90 cm. Otporna je na visoke i niske temperature, sušu kao i na siromašna i neplodna zemljišta. Iako prilično otporna i prilagodljiva na različitu kiselost zemljišta, optimalna pH vrednost za rast i razviće *Festuca rubra* iznosi od 4,5 do 6 (Gajić i sar. 2020). *Festuca rubra* raste na različitim tipovima staništa, od planinskih livada do urbanih sredina, te se stoga često koristi u mešavinama trave namenjene za parkove i sportske terene. Zbog veoma dobro razvijenog rizoma sadi se na nasipima kako bi se sprečila erozija, a zbog sposobnosti tolerancije visokih koncentracija PTE može se koristiti kao pionirska vrsta za revegetaciju na jalovištima.

Sve ove karakteristike, uz visok potencijal za imobilizaciju različitih PTE čine je kandidatom za efikasnu primenu u fitostabilizaciji (Wyszkowska i sar. 2022; Dradrach i sar. 2020; Deng i sar. 2025). Pored toga, studije su pokazale da *Festuca rubra* poseduje adaptivne mehanizme za povećanu otpornost na stres, uključujući sintezu antocijanina, fenola i askorbinske kiseline, što dodatno doprinosi njenoj sposobnosti za fitostabilizaciju kontaminiranih zemljišta. Dodatno, pokazano je da ova biljna vrsta opstaje u uslovima u visokih koncentracija Pb (Krzyżak i sar. 2006; Gómez i sar. 2020).



Slika 4. *Festuca rubra*

([https://war.wikipedia.org/wiki/Festuca\\_rubra#/media/Paypay:Festuca\\_rubra.JPG](https://war.wikipedia.org/wiki/Festuca_rubra#/media/Paypay:Festuca_rubra.JPG))

## 1.6. Asistirana fitoremedijacija

Iako su brojne prednosti primene fitoremedijacije u smanjenju koncentracije PTE u supstratima, i ova tehnika ima određene nedostatke, vezane pre svega za karakteristike biljaka koje se koriste (Pandey 2021). Jedan od načina za efikasno prevazilaženje ovih nedostataka je asistirana fitoremedijacija. Ona predstavlja unapređeni oblik fitoremedijacije u kojem se efikasnost biljaka u uklanjanju, stabilizaciji ili transformaciji zagađujućih materija povećava primenom dodatnih bioloških, hemijskih ili fizičkih agenasa. Fitostabilizacija se može poboljšati dodavanjem pojedinih organskih i neorganskih agenasa koji stimulišu rast biljaka i smanjuje biodostupnost PTE (Aziz i sar. 2025). Takođe, pored dodavanja različitih aditiva, poboljšanje fitostabilizacije doprinosi i inokulacija zemljišta bakterijskim kulturama koje pospešuju rast biljaka (*plant growth-promoting bacteria-PGPB*).

Neorganski agensi kao što su kreč, kalcijum-fosfati i brojni aluminosilikati (crveni mulj, leteći pepeo, sintetički zeoliti, glina) se koriste za imobilizaciju PTE i poboljšanje kvaliteta zemljišta što doprinosi lakšoj revegetaciji kontaminiranog zemljišta.

Minerali gline poseduju veoma visok katjonski izmenjivački kapacitet (CEC) i njihovo prisustvo u podlozi može dovesti do smanjenja koncentracije rastvorenih PTE u zemljištu. Potencijalno toksičnim elementima se na niskim pH generalno povećava rastvorljivost, dok na visokim pH nastaju hidroksidi PTE i dolazi do precipitacije istih. Obogaćivanje zemljišta krečom se veoma često praktikuje na kiselim zemljištima kako bi se smanjila toksičnost i omogućio bolji rast biljaka. Ovaj postupak pored toga što povećava pH zemljišta, takođe vezuje PTE i čini ih nerastvorljivim, čime se smanjuje njihova dostupnost biljkama. Gline koje su modifikovane različitim jonima kao što su Mn i Fe mogu veoma efikasno vezivati Pb u kontaminiranom zemljištu, smanjujući njegovu pokretljivost i biodostupnost. Treba uzeti u obzir da je Pb slabo rastvorljivo u neutralno ili blago alkalnom zemljištu (pH iznad 6), tako da agensi koji povećavaju pH imaju efekat na smanjenje njegove pristupačnosti biljkama. Jedinjenja koje sadrže P imobilizuju Pb tako što ga hemisorbuju formiranjem kompleksa. Rezultati istraživanja pokazuju da imobilizacija PTE neorganskim agensima i smanjenje dostupnosti, dovodi do smanjenja ili potpunog izostanka simptoma fitotoksičnosti. Mehanizmi adsorpcije opisani su hemijskom precipitacijom, jonskom izmenom i rastom kristala. Istraživanja su pokazala da se u kombinaciji sa organskim agensima kao što je kompost dobijaju bolji rezultati od korišćenja samo neorganskih agenasa (Bolan i sar. 2011).

Budući da su PTE u zemljištu često prisutni u nerastvorljivim i biljkama nedostupnim oblicima, efikasnost fitoremedijacije se može poboljšati upotrebom organskih agenasa koji povećavaju mobilizaciju PTE. Sintetička jedinjenja kao što su HEDTA i EDTA spadaju u helatne agense i imaju potencijal da povećaju kiselost zemljišta, međutim njihova primena je generalno napuštena s obzirom da značajno povećavaju rastvorljivost PTE i dovode do toksičnosti kod biljaka. Helatni agensi predstavljaju hemijska jedinjenja čija struktura omogućava da dva ili više njihovih donorskih atoma istovremeno vežu isti metalni jon, pri čemu se formira jedan ili više prstenova. Ovi molekuli nazivaju se helati, dok se proces formiranja prstenaste strukture označava kao helacija (Flora i sar. 2015). Pored ovih sintetičkih, veoma se često koriste prirodne organske kiseline kao što su limunska kiselina (CA), jabučna kiselina (MA), vinska kiselina (TA) i oksalna kiselina (OA). Takođe, mikroorganizmi imaju sposobnost produkcije određenih vrsta organskih kiselina koje promenom pH vrednosti poboljšavaju rastvorljivost PTE u zemljištu. Međutim, postoje određena ograničenja u ovoj tehnici kao što je rizik od kontaminacije podzemnih voda zbog indukovane mobilizacije PTE i sporo razlaganje sintetičkih organskih kiselina. Na ovaj način, zemljište se dodatno zagađuje, a sam proces fitoekstrakcije postaje neefikasan i kontraproduktivan. S druge strane, organske materije kao što su kanalizacioni mulj, komunalni otpad, kompost, treset, stajnjak, piljevina, i mnogi drugi, pored toga što poboljšavaju fizički kvalitet zemljišta povećavajući mu kapacitet zadržavanja vode, takođe i obezbeđuju biljkama konstantan izvor hranljivih materija sporim razlaganjem. Organski agensi imaju visok kapacitet katjonske izmene i mogu formirati stabilne komplekse sa PTE, čime se smanjuje njihova dostupnost u zemljištima. Pored porasta koncentracije organskih jedinjenja i imobilizacije PTE, oni takođe, mogu da utiču na pH vrednosti zemljišta. Razlog za to može biti stimulacija mikrobne aktivnosti usled snabdevanja mikroorganizama ugljenikom i protonima iz organskih materija, koji posreduju i olakšavaju redukciju PTE (Bolan i sar. 2011).

Zemljišni mikroorganizmi mogu značajno poboljšati rast i opstanak biljaka na više načina, kao što su: povećanje dostupnosti hranljivih materija i promene u morfološkim osobinama korena. Pozitivne interakcije između biljaka i korisnih mikroorganizama u rizosferi mogu dovesti do povećanja biomase biljaka i njihove otpornosti na PTE, što doprinosi fitostabilizaciji. Jedan od ključnih faktora za rast biljaka je dostupnost azota. Mnoge bakterije koje pospešuju rast biljaka (PGPB) su u stanju da fiksiraju azot i tako ga obezbede biljkama. Pored azota, neke bakterije pomažu biljci da bolje apsorbuje fosfor. Bakterije mogu stimulisati unos i drugih elemenata kao što su Mg, Ca, Fe, Mn i Na, čak i kod biljaka koje rastu u prisustvu PTE poput Cd. Bakterije proizvode siderofore koje pomažu biljci pri usvajanju Fe, posebno u uslovima gde su koncentracije ovog elementa niske ili je otežan njegov unos zbog prisustva drugih PTE (Pandita 2022).

Ove bakterije ne samo da pospešuju rast biljaka već i štite biljke od patogena i parazita tako što sprečavaju njihov razvoj u rizosferi zbog kompeticije sa njima (Ruiu 2020). Jedan od glavnih efekata ovih bakterija je pozitivan uticaj na povećanje površine korena produkcijom fitohormona, što omogućava efikasnije usvajanje hranljivih materija, a pored toga oni mogu stimulisati: klijanje semena, rast nadzemnog dela biljke i ekspanziju listova, posredujući u procesima ćelijske deobe i diferencijacije (Alves i sar. 2022). Povećanje površine korena je naročito važno u uslovima gde su hranljive materije ograničene, te PGPB stimulišu rast bočnih korenova, čime stvaraju razgranatiji korenski sistem. Pored toga, ovi mikroorganizmi poboljšavaju fizičke osobine tla, posebno vezano za zadržavanje vode i hranljivih materija (Bolan i sar. 2011).

### **1.6.1. Primeri asistirane fitoremedijacije**

Do danas, brojne studije o primeni različitih materijala u poboljšanju efikasnosti remedijacije pokazale su da tretman zemljišta bentonitom dovodi do smanjenja akumulacije Cd i Pb u korenu i nadzemnim delovima pirinča (*Oryza sativa*) i da dovodi do boljeg opšteg kvaliteta zemljišta (Sun i sar. 2015). Takođe je pokazano da bentonit ima visok potencijal za imobilizaciju i smanjenje dostupnosti Cr u zemljištu (Taghipour & Jalali 2015). Pored toga, utvrđeno je da dodatak bentonita u zemljišta na kojima su gajene biljke *Lolium perenne* i *Festuca rubra*, a koja su kontaminirana sa PTE dovodi do većeg prinosa biljke, povećanja pH vrednosti zemljišta i smanjenja udela PTE u zemljištu (Klik i sar. 2022). Dodavanje halozita, minerala iz grupe kaolinita, dovodi do značajnog povećanja biomase biljke *Festuca rubra* i doprinosi imobilizaciji PTE u zemljištu, dok diatomit dovodi do povećanja koncentracije PTE u korenu biljke i do porasta pH vrednosti zemljišta (Radziemska i sar. 2020). Pored ovih aluminosilikata pokazano je da je dodavanjem kreča i crvenog mulja omogućen uspešniji opstanak *Festuca rubra* na zemljištu kontaminiranom sa PTE, što je veoma značajno za njihovu revegetaciju. Utvrđeno je da ovi neorganski agensi dovode do povećanja pH vrednosti zemljišta, smanjenja rastvorenih i dostupnih koncentracija PTE i do smanjenja usvajanja PTE kao što su Zn, Pb, Ni, Cd i Cu u *Festuca rubra* (Friesl i sar. 2003, Gray i sar. 2006). U istraživanju u kojem je kao model organizam korišćena biljka *Chrysopogon zizanioides* utvrđeno je da minerali gline (palogorskit i bentonit) dovode do smanjenja translokacije PTE u nadzemne organe biljke (Otunola i sar. 2023). Prethodne studije su pokazale da je nivo dostupnog Cd u kiselim zemljištima tretiranim sepiolitom bio znatno niži (Li & Xu 2017). Osim aluminosilikata uočeni su pozitivni uticaji drugih neorganskih materijala. Jedan od njih je dolomit, za koji je pokazano da značajno doprinosi porastu pH vrednosti zemljišta, što je posebno značajno kod smanjenja sadržaja ukupnog Zn u zemljištu (Radziemska i sar. 2017). Takođe je pokazano da kalcedonit i kreč utiču pozitivno na akumulaciju i stabilizaciju Cr u korenu *Festuca rubra* i doprinose povećanju biomase biljaka gajenih na zemljištima koji su obogaćeni ovim materijalima. S druge strane primena dolomita i krečnjaka na zemljištima kontaminiranim navedenim elementom doprinosi porastu pH vrednosti zemljišta i smanjenju ukupnih i dostupnih koncentracija Cr (Radziemska i sar. 2020). Za kreč je takođe poznato da doprinosi porastu pH vrednosti supstrata (Padmavathiamma & Li 2010). Zanimljiva je i sve češća primena biouglja u asistiranoj fitoremedijaciji, međutim to može predstavljati rizik, jer u zavisnosti od vrste sirovine i uslova proizvodnje isti može sadržati visoke koncentracije PTE, kao i poliaromatičnih ugljovodonika (PAH), polihlorovanih bifenila (PCB) i dioksina (Evangelou i sar. 2015).

### **1.7. Karakteristike aluminosilikatnih i kalcijum-fosfatnih materijala koji se upotrebljavaju kao neorganski agensi u asistiranoj fitoremedijaciji**

Udeo silicijum-dioksida, silikata i aluminosilikata u zemljinoj kori iznosi čak 97%. Aluminosilikatima pripadaju jedinjenja u čijem se sastavu Al i Si nalaze u obliku sledećih oksida:  $Al_2O_3$  i  $SiO_2$ . Pored ovih oksida moguće je i prisustvo drugih metala u tragovima, naročito alkalnih i zemnoalkalnih, i velike količine vode. U najzastupljenije i najupotrebljivnije aluminosilikate spadaju zeoliti i gline (Uddin 2008).

Pod glinama se podrazumevaju tvorevine zemljastog odnosno sitnozrnog karaktera najčešće manje od 2  $\mu\text{m}$ , koje u dodiru sa vodom pokazuju različit stepen plastičnosti (Babič 2003). Gline su izgrađene od glinovitih materijala sa primesama drugih minerala kao što su kvarc, feldspati, kalcit, dolomit itd. U minerale glina spadaju filosilikati koji po hemijskom sastavu mogu biti hidrosilikati Mg ili Al (Auerbach i sar. 2004). Gline se obrazuju sedimentnim procesima, kao i procesima raspadanja i hidrotermalnim izmenama nekih vrsta stena (Babič 2003). Minerali glina imaju značajnu ulogu u različitim zemljišnim horizontima i nastaju u procesu raspadanja magmatskih stena, kao produkti transformacije primarnih magmatskih aluminosilikata (feldspata, feldspatoida, itd.). U najkarakterističnije predstavnike glina spadaju kaolinit i monmorijonit (Zoltán 2005).

Minerali glina pripadaju klasi filosilikata i u prirodi se mogu naći u obliku listastih, ljustastih i tabličastih agregata. Filosilikati predstavljaju hidratizane aluminosilikate K, Mg, Na sa značajnim udelom  $-\text{OH}$  grupe u strukturi. Kristalna struktura ovih minerala može biti sačinjena od tetraedarskog sloja, kod kojeg je svaki atom Si okružen sa četiri atoma O i od oktaedarskog sloja gde su atomi Al i Mg povezani sa šest atoma O ili  $-\text{OH}$  grupa. Filosilikati koji nastaju međusobnim povezivanjem tetraedarskih i oktaedarskih struktura se dele na tri osnovna tipa: kaolinit, monmorijonit i hloritni tip. U slučaju kaolinitnog tipa u povezivanju učestvuje jedan tetraedarski i jedan oktaedarski, a u slučaju monmorijonitnog dva tetraedarska i jedan oktaedarski sloj koji se nalazi između njih. Hloritni tip nastaje kada se između dva monmorijonitska sloja nalazi jedan brucitni sloj (Babič 2003).

Kaolinit  $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_2$  se može okarakterisati kao čist hidratizani aluminosilikat bele boje. U njegovoj kristalnoj rešetci ne dolazi do izmene atoma Si i Al, već oni grade naizmenične slojeve. Iz tog razloga u prirodi ne dolazi do bubrenja kaolinita kada dođe u kontakt sa vodom, ali isti poseduje visoku sposobnost retencije vode (Nesse 2000). Takođe, kaolinit poseduje sposobnost jonske izmene što je karakteristično za sve gline. Mineral kaolinit kristališe triklično i pojavljuje se u ljustičastim agregatima. U prirodi pored kaolinita kaolinske gline mogu sadržati i različite primese drugih minerala kao što su: kvarc, feldspati i liskuni. Metakaolin se dobija žarenjem sirovog kaolinita na temperaturama od 500 do 900°C, kako bi se isti dehidratizao i kako bi se otklonile zaostale organske materije (Varga 2007; Abdykirova i sar. 2023; Panesar 2019).

Termin “geopolimer” (GP) je uveo Davidovič, krajem sedamdesetih godina, i u njih spada veliki broj materijala koji podležu alkalnoj aktivaciji (Davidovits 2008). Geopolimeri sintetisani na bazi materijala iz grupe aluminosilikata kao što su kaolinit, bentonit, elektrofilterski pepeo, vulkanski tuf, crveni mulj, diatomejska zemlja i sl. i nastaju kao proizvod reakcije čvrstog aluminosilikata sa rastvorom alkalnog aktivatora, najčešće koncentrovanog alkalnog hidroksida, silikata, karbonata ili sulfata, na ambijentalnoj temperaturi. Geopolimerni materijali karakterišu se izuzetnim mehaničkim i hemijskim svojstvima, uključujući visoku čvrstoću na pritisak, koja može premašiti 90 Mpa nakon 28 dana sazrevanja, kao i savojnu čvrstoću u opsegu od 10 do 15 Mpa. Pored toga, geopolimeri pokazuju visoku otpornost na promene spoljašnjih vremenskih uslova, nisku poroznost i minimalno skupljanje tokom vezivanja (<0,05%), što ih čini pogodnim za različite inženjerske primene. Sinteza geopolimera na bazi metakaolina i letećeg pepela bila je predmet brojnih istraživanja, pri čemu su ovi materijali pokazali visoku otpornost na ekstremne uslove kao što su visoke temperature (otpornost na vatru), cikluse smrzavanja i odmrzavanja, delovanje kiselina, sulfata i morske vode. Ovakve karakteristike čine geopolimere atraktivnom alternativom konvencionalnim cementnim materijalima u zahtevnim građevinskim i infrastrukturnim uslovima (Król & Rožek 2018). Bilo koji materijal koji nastaje reakcijom silikata i alkalnog aktivatora se može nazvati alkalno aktiviranim materijalom i na osnovu udela Ca oni dele se na dve grupe. Prvoj grupi pripadaju materijali koji nastaju alkalnom aktivacijom silikatnih materijala sa visokim udelom Ca, kao što je zgura visoke peći, dok se u drugoj grupi nalaze materijali koji sadrže nizak udeo Ca i u koje spadaju geopolimeri. Povezivanjem silicijuma i aluminijuma koji imaju tetraedarski koordinisane jone, nastaje alkalni aluminosilikatni gel, u čijem slučaju je negativno naelektrisanje aluminosilikatne strukture, zbog prisustva  $\text{Al}^{3+}$  u tetraedarskoj koordinaciji, neutralizovano jonima alkalnih metala. Tokom reakcije dolazi do

formiranja mreže aluminosilikatnog gela koja zavisi od stepena polimerizacije silikatnih jona u rastvoru, a stabilnost i uređenost geopolimera raste sa porastom koncentracije rastvorenih silikatnih jona (Provis 2014; Provis & Deventer 2014). U dosadašnjim istraživanjima pokazano je da geopolimeri predstavljaju materijale koji se intenzivno koriste u procesima adsorpcije metala iz vodenih rastvora (Ivanović 2021; Šuránek i sar. 2023; Karuppaiyan i sar. 2025; Mladenović Nikolić i sar. 2025).

### 1.7.1. Metakaolin

Metakaolin (Slika 5) je amorfni aluminosilikat, visoko reaktivni prirodni pucolan proizveden kalcinacijom i dehidroksilacijom kaolinitne gline na temperaturama između 500°C i 900°C. Metakaolin je višeslojan aluminosilikatni materijal koji se najčešće koristi kao aditiv u cementima, zbog svojih pucolanskih svojstava. Sastoji se od naizmeničnih, izuvijanih silikatnih i aluminijumskih slojeva, sa silicijumom u tetraedarskoj koordinaciji i aluminijumom u formi tetraedarske, pentaedarske ili oktaedarske koordinacije, pri čemu svako mesto pokazuje značajan stepen asimetrije u lokalnom gradijentu električnog polja (Panesar 2019; Walkley & Provis 2019). Metakaolin je porozan material i sastoji se od pločastih čestica sa prosečnom veličinom koja se može kretati od 1 do 20 µm, formirajući ljuspaste agregate.

Specifična težina metakaolina se kreće između 2,20 i 2,60 kg dm<sup>-3</sup>. Iako su glavni sastojci metakaolina silicijum-dioksid i aluminijum-oksidi, njegov sastav varira u zavisnosti od različitih izvora kaolina. Ostale komponente su gvožđe(III)-oksid, kalcijum-oksidi, magnezijum-oksidi i kalijum-oksidi. Pored toga, upotreba metakaolina kao vezivnog sredstva u geopolimernom betonu može smanjiti karbonski otisak koji je kod klasičnog betona veoma visok (Shilar i sar. 2023).



Slika 5. Metakaolin usitnjen u avanu i prosejan kroz sito dimenzije 0,335 mm.

### 1.7.2. Brušit, CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O

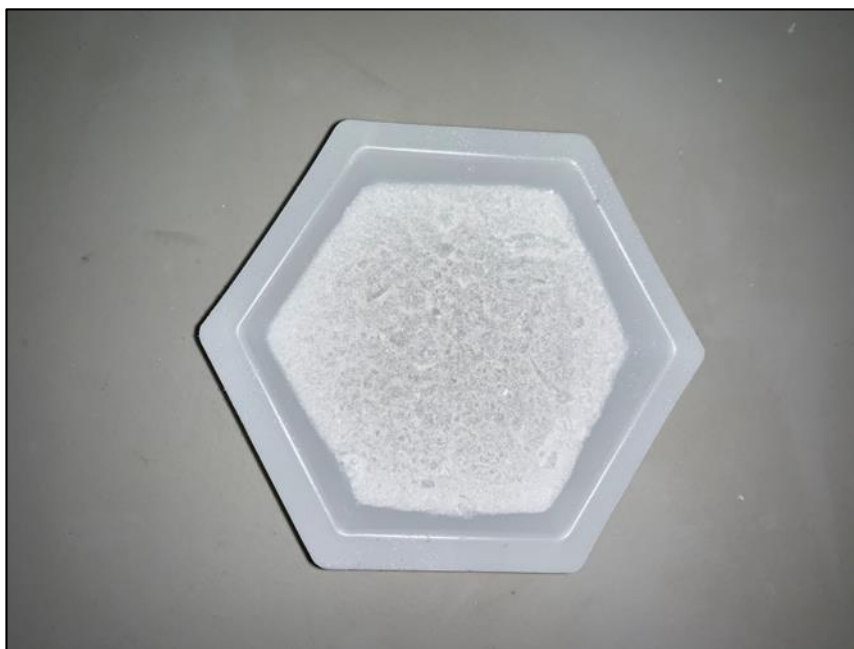
Brušit predstavlja mineral iz grupe kalcijum-fosfata. Kalcijum-fosfati mogu biti prirodni minerali, kao i sintetski dobijeni materijali i ulaze u sastav kostiju, zubne gleđi, mleka itd. i koriste se u proizvodnji fosforne kiseline i đubriva.

Navedeni materijali sadrže jone  $\text{Ca}^{2+}$  koji su kombinovani sa  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  i  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  i dele se na: monokalcijum-fosfat (bezvodni- $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ), dikalcijum-fosfat (monetit- $\text{CaHPO}_4$ , brušit- $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), trikalcijum-fosfat- $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  i oktakalcijum-fosfat pentahidrat- $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Pored toga, kalcijum-fosfati se mogu javljati u obliku dikalcijum-difosfata- $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ , pentakalcijum-trifosfata- $\text{Ca}_5(\text{P}_3\text{O}_{10})_2$ , u slučaju kada se joni  $\text{Ca}^{2+}$  nalaze u kombinaciji sa polifosfatima i u obliku hidroksiapatita- $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ , apatita- $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH}/\text{F}/\text{Cl}/\text{Br})_2$  i tetrakalcijum-fosfata- $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ , u slučaju kada jedinjenja sadrže i druge jone osim kalcijuma i fosfata (Dorozhkin i sar. 2009; Khoroushi i sar. 2016). Brušit se u prirodi javlja u kraškim predelima, u pećinama i jamama, kao precipitat nakon hemijske reakcije između vodenih rastvora fosfata i bikarbonata. Kalcijum-fosfati nastaju na površini zemlje i tokom vremena dospevaju u niže slojeve (Fiore & Laviano 1991). Materijali iz ove grupe nastaju u procesima biomineralizacije, u generalnom smislu kompozitni biomaterijali mogu nastati na više načina i to: *in situ* kroz procese nukleacije kao i procesima kristalizacije u čvrstim vezivnim tkivima. Ovo predstavlja veoma složene višestepene kombinacije različitih procesa, na koje utiču hranljive materije i dinamički uslovi. Proces mineralizacije kostiju (kalcifikacija) je dugotrajna aktivnost tokom celog ljudskog života (Kharissova i sar. 2025). Kalcijum-fosfati se dosta koriste i u industriji kao aditivi u hrani i kao abrazivne komponente u proizvodima za dentalnu higijenu (Medvecky i sar. 2018).

Brušit predstavlja sve interesantniji materijal u oblasti zaštite životne sredine, zbog mogućnosti adsorpcije metala iz vodenih rastvora. Njegove adsorpcione osobine ispitane su u različitim sistemima, gde se može koristiti samostalno ili u obliku hibridnih (organsko-neorganskih) polimera, aerogelova i različitih kompozita (Hernández Maldonado i sar. 2017; Wang i sar. 2022).

Pored adsorpcije metala, minerali iz grupe kalcijum-fosfata mogu se koristiti i za uklanjanje organskih zagađivača iz voda kao i za procese defluorizacije vode, pri čemu nemaju negativnih uticaja na ekosistem (Khan i sar. 2025). Jednostavnim procesima hemijske titracije, koji predstavlja proces sličan nastanku brušita u prirodi dobija se beli mikrokristalni prah homogenog faznog i hemijskog sastava, prikazan na slici 6 (Toshima i sar. 2014).



Slika 6. Sintetisani brušitni materijal.

## 2. CILJEVI RADA

Predmet doktorske disertacije predstavlja ispitivanje uticaja brušit-aluminosilikatnih materijala sa različitim masenim udelima brušita (2 wt%, 4 wt%, 6 wt%, 8 wt% i 10 wt%) na efikasnost fitostabilizacije jona olova od strane vrste *Festuca rubra*. U tu svrhu definisani su sledeći ciljevi i oni obuhvataju:

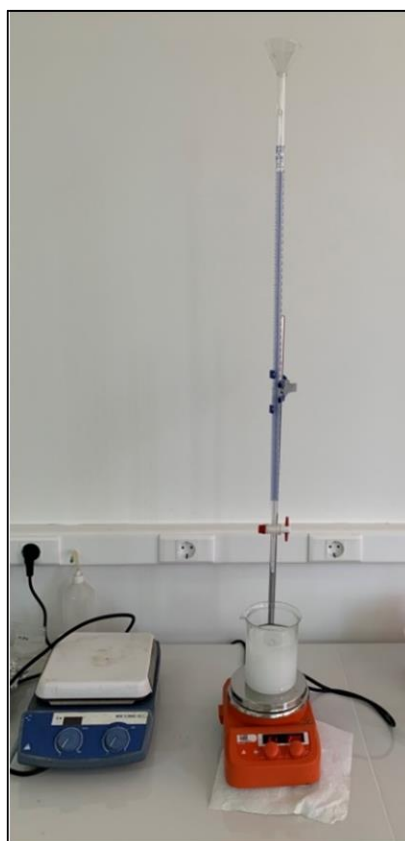
- karakterizaciju novosintetisanih brušit-aluminosilikatnih materijala sa različitim masenim udelom brušita (2 wt%, 4 wt%, 6 wt%, 8 wt% i 10 wt%),
- utvrđivanje efikasnosti i mehanizma adsorpcije jona olova iz vodenog rastvora različitih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala sa različitim masenim udelom brušita (2 wt%, 4 wt%, 6 wt%, 8 wt% i 10 wt%),
- ispitivanje uticaja odabranih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala koji pokazuju zadovoljavajuću efikasnost adsorpcije jona olova iz vodenog rastvora na imobilizaciju jona olova od strane biljke u kontaminiranom supstratu,
- utvrđivanje fitoremedijacionog potencijala uzoraka biljaka gajenih u različitim serijama.
- utvrđivanje fizioloških i biohemijskih markera stresa analizirane biljne vrste.

### 3. MATERIJAL I METODE

Brušit-aluminosilikatni materijali (GPB) pripadaju grupi novosintetisanih geopolimernih materijala. Za njihovo dobijanje korišćen je brušit koji je sintetisan u laboratorijskim uslovima (kalcijum-hidrogenfosfat dihidrat) i metakaolin koji je dobijen od prirodnog materijala kaolinita.

#### 3.1. Postupak sinteze brušit-aluminosilikatnih materijala

Brušit (kalcijum-hidrogenfosfat dihidrat- $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) je dobijen procesom titracije 250 ml 0,2 M rastvora natrijum-hidrogenfosfata monohidrata ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , *p.a.* Kemika, Zagreb) sa 250 ml 0,2 M rastvora kalcijum-acetata monohidrata ( $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , *p.a.*, Sigma Aldrich). Uz neprekidno mešanje na magnetnoj mešalici (LLG-uniSTIRRER 3) brzinom od 300 rpm, u rastvor natrijum-hidrogenfosfata dodavan je rastvor kalcijum-acetata brzinom od 1 kap  $\text{s}^{-1}$ . Postupak sinteze materijala se odvijao u blago kiseljoj sredini ( $\text{pH}=5$ ) i na temperaturi od  $60^\circ\text{C}$  (Mirković i sar. 2016), a prikazan je na slici 7.



Slika 7. Postupak sinteze brušita procesom taložne hemijske titracije.

Nakon sinteze brušita taložnom hemijskom titracijom, dobijena suspenzija je pretočena u plastične kivete od 50 ml i centrifugirana 5 minuta na brzini od 5000 rpm. Precipitat je ispiran i filtriran tri puta destilovanom vodom i jednom etanolom i odložen u sušnicu na 24h na  $60^\circ\text{C}$ . U procesu sinteze ovom metodom izdvojeni supernatant sadrži rastvore acetatnih soli, bez štetnosti po okolinu. Nakon perioda sušenja dobijeno je oko 5,8 g polikristalnog praha čistog brušita (Slika 8).



Slika 8. Sintetisani brušit

Metakaolin koji se koristi kao prekursor za sintezu brušit-aluminosilikatnih geopolimera dobijen je od kaolinitne gline prikupljene iz otvorenog, napuštenog nalazišta u blizini sela Rudovci u Srbiji. Kaolinit je termički obrađen na  $750^{\circ}\text{C}$  tokom tri sata kako bi se uklonila zaostala organska materija. Brzina dostizanja temperature je iznosila  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , a nakon tri sata dobijeni materijal postepeno je hlađen. Potpuno ohlađen metakaolin je zatim mehanički usitnjen u avanu sa tučkom i prosejan kroz sito dimenzije 0,335 mm.

Prilikom sinteze materijala aktivator se koristi za inicijalizaciju procesa geopolimerizacije i njegovim dodavanjem u metakolin dolazi do kidanja Al i Si veza. Aktivator je sintetisan dodavanjem 6 M natrijum-hidroksida u rastvor natrijum-silikata (vodeno staklo,  $d=1.5 \text{ gml}^{-1}$ , Fisher Chemical) u odnosu 1:1,6 uz neprestano mešanje na magnetnoj mešalici (LLG-uniSTIRRER 3) brzinom od 200 rpm u periodu od sat vremena.

Na vagi je odmeren metakaolin i u njega je dodato 0,1 g, 0,2 g, 0,3 g, 0,4 g i 0,5 g brušita, kako bi se dobila serija brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala sa dodatkom 2 wt%, 4 wt%, 6 wt%, 8 wt% i 10 wt% brušita. Dobijeni različiti uzorci su zatim odloženi u obeležene kalupe, poklopljeni i inkubirani u sušnici 48h na  $60^{\circ}\text{C}$ , a zatim ostavljeni da stare 28 dana na sobnoj temperaturi, do završetka procesa geopolimerizacije (Slika 9).



Slika 9. Uzorci brušit-aluminosilikatnih geopolimera sa različitim učešćem brušita – GPB2%, GPB4%, GPB6%, GPB8% i GPB10%.

### 3.2. Karakterizacija brušit-aluminosilikatnih materijala

Za određivanje fizičko-hemijskih osobina novosintetisanih brušit-aluminosilikatnih geopolimera korišćene su sledeće metode: rendgenska difrakcija na polikristalnom uzorku (XRPD), infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR), skenirajuća elektronska mikroskopija sa energetske disperzionom spektroskopijom (SEM-EDS) i definisana je specifična površina kao i raspodela pora materijala pomoću BET metode (Brunauer-Emmett-Teller).

#### 3.2.1. Rendgenska difrakcija na polikristalnom uzorku (XRPD)

Za određivanje faznih osobina i hemijskog sastava novosintetisanih brušit-aluminosilikatnih materijala korišćena je metoda rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku (XRPD). Praškasti uzorci su analizirani na sobnoj temperaturi korišćenjem *Ultima IV* Rigaku difraktometra za prah, opremljenog sa  $\text{CuK}\alpha_{1,2}$  zračenjem. Prilikom snimanja upotrebljivan je napon generatora 40,0 kV i struja jačine 40,0 mA. Ugaoni opseg od  $5^\circ$  do  $60^\circ 2\theta$  korišćen je za sve ispitivane uzorke u režimu neprekidnog skeniranja sa dužinom koraka skeniranja od  $0,02^\circ$  i brzinom skeniranja od  $10^\circ/\text{min}$ , korišćenjem D/TeX Ultra brzog detektora. Za potrebe analize, uzorci su prethodno sprášeni u porcelanskom avanu i postavljeni su na monokristalni silicijumski nosač visoke čistoće. Za identifikaciju faznog sastava korišćen je softver PDXL2 (verzija 2.8.4.0, Rigaku 2011) koji u sebi sadrži referentnu kristalografsku ICDD bazu podataka. Brojevi ICDD kartica koje su korišćene za identifikaciju i faznu analizu su sledeći: brušit: 01-072-0713, kvarc: 01-075-8322, muskovit: 01-074-6686 i albit: 01-089-6427.

#### 3.2.2. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR)

Za određivanje funkcionalnih grupa uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala korišćena je infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR). Uzorci su sprášeni u ahatnom avanu i ravnomerno dispergovani u dehidratisanom KBr (7,5 mg uzorka/150 mg KBr) sa indeksom prelamanja od 1,559 i veličinom čestica 5–20  $\mu\text{m}$ . Brušit-aluminosilikatni materijali su analizirani na sobnoj temperaturi korišćenjem Thermo Scientific Nicolet iS10 FTIR spektrometra u radnom opsegu spektara od 4000 do  $450\text{ cm}^{-1}$ .

#### 3.2.3. Skenirajuća elektronska mikroskopija i energetske disperzivna spektroskopija (SEM-EDS)

Mikrostrukturne osobine brušit-aluminosilikatnih materijala određene su pomoću skenirajućeg elektronskog mikroskopa (SEM). Ovom metodom definisane su morfološke karakteristike izgleda i oblika zrna, a takođe je semikvantitativno određen hemijski sastav pomoću energetske disperzivne spektroskopije (EDS). Odabrani uzorci su napareni sa slojem Au, dok su analize izvedene na JEOL JSM 6390 LV elektronskom mikroskopu na 25 kV koji je uparen sa EDS (Okford Instruments Ks-MakN).

#### 3.2.4. Određivanje specifične površine i raspodele pora u brušit-aluminosilikatnim materijalima (BET)

Određivanje specifične površine kao i raspodele pora se vršilo merenjem adsorpcije i desorpcije azota i to na temperaturi tečnog azota  $T = -196^\circ\text{C}$ , na uređaju Surfer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA), dok je BET metoda (Brunauer-Emmett-Teller) korišćena kako bi se izračunala specifična površina. Ova metoda je zasnovana na pretpostavci da se adsorpcija i desorpcija azota vrši u monomolekulskom sloju.

### 3.3. Adsorpcija olova na brušit-aluminosilikatnim materijalima

Za pripremu vodenih rastvora olova potrebnih za izvođenje adsorpcionih analiza na novosintetisanim brušit-aluminosilikatnim materijalima korišćen je olovo-acetat  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  ( $\geq 99,5\%$ , Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Tokom eksperimenata ispitivan je uticaj različitih parametara, kao što su pH rastvora (4–10), vreme kontakta (10–1440 min) i početnih koncentracija olova ( $10\text{--}200 \text{ mg L}^{-1}$ ). Rezidualne koncentracije jona olova, nakon analiza detektovane su metodom optičke emisije spektrometrije sa indukovano spregnutom plazmom (ICP-OES) (Thermo Fisher Scientific ICAP 7400 duo). ApSORBANCE preko kojih su izračunate rezidualne koncentracije olova su izmerene na talasnoj dužini od 220 do 353 nm. Pored određivanja pH vrednosti u cilju određivanja mehanizma adsorpcije jona olova na brušit-aluminosilikatnim materijalima korišćeni su modeli adsorpcionih izoterma i kinetički modeli. Parametri karakteristični za proces adsorpcije su: adsorpcioni kapacitet i efikasnost adsorpcije. Koncentracija olova koja se adsorbuje do uspostavljanja ravnoteže,  $q_e$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ), izračunata je pomoću sledeće jednačine:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e) \times V}{m}$$

gde je:

$C_0$  – početna koncentracija olova u rastvoru ( $\text{mg dm}^{-3}$ ),

$C_e$  – koncentracija olova nakon dostizanja ravnoteže ( $\text{mg dm}^{-3}$ ),

$m$  – masa adsorbensa (g),

$V$  – zapremina rastvora olovo-acetata ( $\text{dm}^3$ ).

Efikasnost adsorpcije jona olova  $R$  (%) izračunata je pomoću sledeće jednačine:

$$(\%) \text{ uklanjanja} = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100$$

#### 3.3.1. Uticaj pH vrednosti na efikasnost adsorpcije

Za podešavanje različitih pH vrednosti rastvora olovo-acetata neophodnih za izvođenje eksperimenta dodavano je po nekoliko kapi  $0,5 \text{ M HNO}_3$  ili  $0,5 \text{ M NaOH}$  u isti. Nakon podešavanja pH, u 20 ml rastvora olovo-acetata koncentracije  $10 \text{ mg L}^{-1}$  dodato je 50 mg svakog od ispitivanih brušit-aluminosilikatnih uzoraka (GPB2%, GPB4%, GPB6%, GPB8% i GPB10%). Suspenzije različitih uzoraka su zatim mešane na laboratorijskom šejkeru (Stuart SSL 1) na brzini od 170 rpm tokom tri sata na sobnoj temperaturi. Nakon sprovedenih eksperimenata utvrđeno je da je optimalna pH vrednost za uklanjanje Pb kod svih uzoraka 5,5 te će se ona koristiti u narednim eksperimentima.

#### 3.3.2. Određivanje brzine adsorpcije (kinetika)

Za određivanje kinetike adsorpcije u 20 ml rastvora olovo-acetata koncentracije  $10 \text{ mg L}^{-1}$  i pH 5,5 dodato je po 50 mg svakog od ispitivanih brušit-aluminosilikatnih uzoraka (GPB2%, GPB4% i GPB6%) i suspenzije različitih uzoraka su mešane na laboratorijskom šejkeru (Stuart SSL 1) na sobnoj temperaturi u različitim vremenskim periodima. Vremena mešanja su iznosila od 10 do 1440 minuta.

### 3.3.3. Adsorpcione izoterme

Za određivanje mehanizma adsorpcije na granici faza čvrsto-tečno u 20 ml rastvora olovo-acetata različitih koncentracija dodato je po 50 mg svakog od ispitivanih i odabranih brušit-aluminosilikatnih materijala koji su pokazali najbolje rezultate efikasnosti uklanjanja Pb (II) u eksperimentima adsorpcione kinetike (GPB2%, GPB4% i GPB6%) i uzorci su mešani na laboratorijskom šejkeru (Stuart SSL 1) u vremenskom periodu od tri sata na sobnoj temperaturi. Efikasnost uklanjanja GPB2% iznosila je 85%, GPB4% -78% i GPB6% - 62%, dok je za uzorke GPB8% i GPB10% iznosila manje od 50% i stoga su isti isključeni iz daljih istraživanja. Početne koncentracije rastvora olovo-acetata bile u opsegu od 10 do 200 mg L<sup>-1</sup>, a pH vrednost na kojoj su rađeni eksperimenti iznosila je 5,5. Nakon određivanja rezidualnih koncentracija olova u rastvorima eksperimentalno dobijeni rezultati fitovani su teorijskim modelima izotermi - Lengmirovim i Frojndlihovim modelima.

### 3.3.4. Određivanje pH vrednosti tačke nultog naelektrisanja

Vrednosti pH tačke nultog naelektrisanja (pH<sub>PZC</sub>) uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala (GPB2%, GPB4% i GPB6%) su merene na pH metru i određene su pomoću pH drift metode. Za podešavanje različitih pH vrednosti (2, 4, 6, 8, 10 i 12) koje je neophodno za izvođenje ovog eksperimenta korišćeni su 0,1 M NaOH i 0,1 M HCl, koji su dodavani u prethodno pripremljene rastvore 0,01 M NaCl zapremine 25 ml. Nakon podešavanja pH vrednosti dodato je po 75 mg svakog od različitih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala (GPB2%, GPB4% i GPB6%), a konačne pH vrednosti su izmerene nakon 48h na pH metru (Thermo Scientific Orion Star A221). Ceo eksperiment je izveden na sobnoj temperaturi, dok su vrednosti pH<sub>PZC</sub> određene sa grafika u tački gde finalna pH seče pH inicijalnu liniju.

### 3.4. Postavka eksperimenta sistema *Festuca rubra* u prisustvu brušit-aluminosilikatnih materijala

Brušit-aluminosilikatni materijali su nakon sinteze i sprovedenih adsorpcionih eksperimenata primenjeni za ispitivanje akumulacionih sposobnosti *Festuca rubra* u eksperimentalnim uslovima. Uzorci biljaka su gajeni u kontrolisanim uslovima, u komori za gajenje, u različitim serijama. Komercijalno seme (Institut za krmno bilje, Kruševac, Srbija) biljke *Festuca rubra* zasađeno je u komercijalni supstrat (Humel, Ekohum, Kikinda, Srbija) koji je prethodno tretiran olovom koncentracije 750 mg kg<sup>-1</sup>, koji se izvorno nalazilo u obliku jedinjenja olovo-acetata Pb(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Od gore pomenutog reagensa u normalnim sudovima od 250 ml napravljeni su rastvori i dodati u supstrat koji je prethodno prosušen na vazduhu i kome je određena masa suvog zemljišta, kako bi se na kraju dobile željene koncentracije olova. Nakon dodavanja pripremljenog rastvora olovo-acetata supstrat je homogenizovan i odložen na sobnoj temperaturi uz periodično mešanje. Kontrolnu grupu tokom izvođenja ovog eksperimenta predstavljale su serije biljnih uzoraka koje su zasađene i gajene u supstratu bez dodatka olova. U prethodno pripremljeni supstrat dodato je 5% brušit-aluminosilikatnih materijala sa različitim procentima dodatog brušita (GPB2%, GPB4% i GPB6%), ovi uzorci su odabrani nakon ispitivanja adsorpcionih karakteristika materijala. U ovako pripremljen supstrat, dodato je seme *Festuca rubra*, po šemi prikazanoj u tabeli 2 i 3. Nakon što su zasađene, biljke su gajene šest nedelja i zalivane na svaka dva dana, u uslovima dugog dana (svetlost : mrak = 16 sati : 8 sati), na temperaturi od 20°C do 22°C i vlažnosti vazduha 60–70%, pri čemu je za zalivanje korišćena destilovana voda (Slika 10).

Tabela 2. Uzorci supstrata *Festuca rubra* eksperimentalno gajenom u različitim serijama u odnosu na prisustvo/odsustvo olova i brušit-aluminosilikatnih materijala sa različitim udelom brušita.

<b>Oznaka</b>	<b>Uzorak supstrata</b>
<b>kontrola</b>	Netretiran supstrat
<b>GPB2%</b>	Supstrat tretiran GPB2%
<b>GPB4%</b>	Supstrat tretiran GPB4%
<b>GPB6%</b>	Supstrat tretiran GPB6%
<b>Pb</b>	Supstrat tretiran Pb
<b>Pb+GPB2%</b>	Supstrat tretiran Pb i GPB2%
<b>Pb+GPB4%</b>	Supstrat tretiran Pb i GPB4%
<b>Pb+GPB6%</b>	Supstrat tretiran Pb i GPB6%
<b><i>Festuca rubra</i></b>	Netretiran supstrat u kojem je gajena <i>F. rubra</i>
<b>GPB2%+<i>F. rubra</i></b>	Supstrat tretiran GPB2% u kojem je gajena <i>F. rubra</i>
<b>GPB4%+<i>F. rubra</i></b>	Supstrat tretiran GPB4% u kojem je gajena <i>F. rubra</i>
<b>GPB6%+<i>F. rubra</i></b>	Supstrat tretiran GPB6% u kojem je gajena <i>F. rubra</i>
<b>Pb+<i>F. rubra</i></b>	Supstrat tretiran Pb u kojem je gajena <i>F. rubra</i>
<b>Pb+GPB2%+<i>F. rubra</i></b>	Supstrat tretiran Pb i GPB2% u kojem je gajena <i>F. rubra</i>
<b>Pb+GPB4%+<i>F. rubra</i></b>	Supstrat tretiran Pb i GPB4% u kojem je gajena <i>F. rubra</i>
<b>Pb+GPB6%+<i>F. rubra</i></b>	Supstrat tretiran Pb i GPB6% u kojem je gajena <i>F. rubra</i>

Tabela 3. Oznake uzoraka biljnog materijala gajenih u kontrolisanim uslovima.

<b>Oznaka</b>	<b>Uzorak biljnog materijala <i>Festuca rubra</i></b>
<b>Kontrola<sub>(k)</sub></b>	Koren biljke koja je gajena u netretiranom supstratu
<b>GPB2%<sub>(k)</sub></b>	Koren biljke koja je gajena u supstratu tretiranom GPB2%
<b>GPB4%<sub>(k)</sub></b>	Koren biljke koja je gajena u supstratu tretiranom GPB4%
<b>GPB6%<sub>(k)</sub></b>	Koren biljke koja je gajena u supstratu tretiranom GPB6%
<b>Pb<sub>(k)</sub></b>	Koren biljke koja je gajena u Pb tretiranom supstratu
<b>Pb+GPB2%<sub>(k)</sub></b>	Koren biljke koja je gajena u supstratu tretiranom Pb i GPB2%
<b>Pb+GPB4%<sub>(k)</sub></b>	Koren biljke koja je gajena u supstratu tretiranom Pb i GPB4%
<b>Pb+GPB6%<sub>(k)</sub></b>	Koren biljke koja je gajena u supstratu tretiranom Pb i GPB6%
<b>Kontrola<sub>(n)</sub></b>	Nadzemni deo biljke koja je gajena u netretiranom supstratu
<b>GPB2%<sub>(n)</sub></b>	Nadzemni deo biljke koja je gajena u supstratu tretiranom GPB2%
<b>GPB4%<sub>(n)</sub></b>	Nadzemni deo biljke koja je gajena u supstratu tretiranom GPB4%
<b>GPB6%<sub>(n)</sub></b>	Nadzemni deo biljke koja je gajena u supstratu tretiranom GPB6%
<b>Pb<sub>(n)</sub></b>	Nadzemni deo biljke koja je gajena u Pb tretiranom supstratu
<b>Pb+GPB2%<sub>(n)</sub></b>	Nadzemni deo biljke koja je gajena u supstratu tretiranom Pb i GPB2%
<b>Pb+GPB4%<sub>(n)</sub></b>	Nadzemni deo biljke koja je gajena u supstratu tretiranom Pb i GPB4%
<b>Pb+GPB6%<sub>(n)</sub></b>	Nadzemni deo biljke koja je gajena u supstratu tretiranom Pb i GPB6%



Slika 10. Gajenje vrste *Festuca rubra* u kontrolisanim uslovima na zemljištu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.

### 3.5. Analize supstrata

Nakon odvajanja biljnog materijala od zemljišta, uzorci supstrata su osušeni i skladišteni u obeležene papirne vreće u kojima su čuvani do izvođenja analiza. Neposredno pre samih analiza uzorci supstrata su usitnjeni u avanu i homogenizovani, kako bi se odstranili ostaci biljnog materijala.

#### 3.5.1. Određivanje pH vrednosti supstrata

Za određivanje aktivne kiselosti zemljišta odmereno je 10 g osušenog i homogenizovanog supstrata i preliveno sa 25 ml destilovane vode. Pomoću pH metra (Iskra MA 5730) izmerene su pH vrednosti različitih uzoraka supstrata direktno iz suspenzija. Supstituciona kiselost supstrata je određena na isti način, samo što je umesto destilovane vode korišćen 1 M KCl (SRPS ISO 10390:2022 "Zemljište, tretirani biotpad i mulj - određivanje pH vrednosti").

#### 3.5.2. Određivanje organskog ugljenika i humusa u supstratu

Za određivanje organskog ugljenika i sadržaja organske materije na analitičkoj vagi je odmereno 0,45–0,5 g osušenog i homogenizovanog supstrata i u njega je dodato je 10 ml smeše 0,4 N  $K_2Cr_2O_7$  rastvorenog u 48%  $H_2SO_4$ . Dobijena suspenzija je u prisustvu katalizatora ( $Ag_2SO_4 \sim 0,1$  g) zagrevana do ključanja i ostavljena 5 minuta da ključa, a zatim je u istu dodato 30 ml destilovane vode kako bi se omogućila bolja vidljivost prelazne boje. Nakon toga je usledio proces hemijske titracije sa 0,1 N rastvorom Morove soli (amonijum-gvožđe(II)sulfat heksahidrat- $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ ) do prelaska u ljubičastu boju, dok je fenilantranilna kiselina korišćena kao indikator (Tyurin 1965).

Kao referentni uzorak slepe probe korišćen je kvarcni pesak. Sadržaj organskog ugljenika je izračunat pomoću sledeće jednačine:

$$\text{organski ugljenik(\%)} = \frac{(A-B) \times F \times 0,0003 \times 100}{m}$$

gde je:

A – zapremina rastvora Morove soli utrošene za titraciju slepe probe (ml),

B – zapremina rastvora Morove soli utrošene za titraciju uzorka (ml),

F – faktor normaliteta Morove soli koji se određuje titracijom sa 0,1 N rastvorom  $\text{KMnO}_4$

čiji je faktor normaliteta poznat,

0,0003 – 1 ml 0,1 N  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  ekvivalentan je 0,0003 g organskog ugljenika,

m – odmerena masa uzorka supstrata (g).

Sadržaj organske materije u supstratu (SOM) je određen prema sledećoj formuli (Jackson 1958):

$$\text{organska materija(\%)} = \text{organski ugljenik(\%)} \times 1,724$$

### 3.5.3. Određivanje sadržaja ukupnog azota u supstratu

Sadržaj ukupnog azota je određen semimikro-Kjeldalovom metodom po Bremneru (Bremner 1996). Za potrebe ove analize odmereno je 1 g osušenog i homogenizovanog supstrata i pomešano sa 2 ml destilovane vode. Nakon toga je u obeležene kivete dodato po 3 ml koncentrovane sumporne kiseline uz dodatak  $\text{K}_2\text{SO}_4$  i katalizatorske smeše ( $\text{CuSO}_4 + \text{Se}$ ) u odnosu 100:10:1 w/w/w, na temperaturi od  $330^\circ\text{C}$ . Nakon kisele digestije u trajanju od tri sata, sav azot iz uzorka preveden je u amonijačni jon koji se oslobađa destilacijom u prisustvu viška  $\text{NaOH}$ . Destilat je sakupljen u 5 ml rastvora 0,3 M borne kiseline u prisustvu smeše indikatora metil oranž-bromkrezol zelenog. Za određivanje sadržaja ukupnog azota u rastvoru korišćena je zapremina 0,01 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  koja je utrošena na filtraciju, prema formuli :

$$N(\%) = \frac{(A-B) \times 0,28 \times 100}{m}$$

gde je:

A – zapremina utrošene 0,02 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  za titraciju uzorka (ml),

B – zapremina 0,02 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  utrošene za titraciju slepe probe (ml)

0,28 – faktor konverzije (1 ml 0,01 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  utrošen za titraciju vezuje 0,28 mg amonijačnog azota),

m – masa uzorka supstrata (g).

### **3.5.4. Određivanje sadržaja lako pristupačnog fosfora i kalijuma u supstratu**

Koncentracija fosfora u biljkama dostupnom obliku određena je spektrofotometrijski, metodom po Egneru (Egner i sar. 1960). Odmereno je 5 g zemljišta osušenog na sobnoj temperaturi i pomešano sa 10 ml ekstrakcionog rastvora i 90 ml redestilovane vode. Zatim je smeša mešana na rotacionoj mešalici u periodu od dva sata (temperatura  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , brzina rotacije 30 obrtaja/min. Reakciona smeša je u sebi sadržala: 5 ml ekstrakta, 7,5 ml molibdenovog reagensa i 0,5 ml rastvora 1%  $\text{SnCl}_2$  u 1% askorbinskoj kiselini. Apsorbanca uzoraka merena je na spektrofotometru (Shimadzu UV-1800) na talasnoj dužini od 580 nm. Na osnovu apsorbanci standardnih rastvora poznatih koncentracija konstruisana je kalibraciona kriva na osnovu koje je određena koncentracija lako pristupačnih oblika fosfora u uzorcima supstrata.

Uzorci za određivanje pristupačnih koncentracija kalijuma su pripremljeni prema metodi za određivanje pristupačnih koncentracija fosfora. Nakon filtracije, koncentracija kalijuma je merena na atomskom apsorpcionom spektrofotometru (Shimadzu AA-7000) na talasnoj dužini od 766,5 nm. Kalibraciona kriva dobijena nakon merenja apsorbanci standardnih rastvora poznatih koncentracija korišćena je za računanje koncentracija K u uzorcima.

### **3.5.5. Određivanje sadržaja pristupačnih oblika kalcijuma i magnezijuma u supstratu**

Kako bi se odredile pristupačne koncentracije Ca i Mg, odmereno je 2 g osušenog i homogenizovanog supstrata i preliveno sa 100 ml 1 N  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ . Dobijene suspenzije su zatim mešane na rotacionoj mešalici 30 minuta, pri brzini od 30 obrtaja u minuti. Nakon toga je po 2 ml filtrata preneto u normalni sud zapremine 50 ml i u njega je dodat 1 ml  $\text{SrCl}_2$ . Apsorbance uzoraka su određene pomoću AAS, dok su koncentracije navedenih elemenata izračunate na osnovu kalibracionih kriva dobijenih merenjem apsorbanci rastvora uzoraka standarda (van Reeuwijk 2002).

### **3.5.6. Određivanje pseudo-ukupnih koncentracija elemenata u supstratu**

Pseudo-ukupne koncentracije elemenata Fe, Cu, Mn, Ni, Zn, Cr, Cd, Co i Pb u supstratu određene su pomoću metode koja je prilagođena prema Džouns i Kejsu (Jones & Case 1990). Izmereno je 5 g osušenog i homogenizovanog supstrata u koji je dodat po 1 ml redestilovane vode i koji je zatim preliven sa 15 ml  $\text{cHNO}_3$  i inkubiran na temperaturi od  $150^\circ\text{C}$ . Tokom procesa razaranja supstrata uzorcima je tri puta dodavano po 2 ml 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Nakon hlađenja uzorci su kvantitativno preneti u normalne sudove, dopunjeni do zapremine od 50 ml redestilovanom vodom i filtrirani filter papirom veličine 0,45  $\mu\text{m}$ . Apsorbance uzoraka su merene na AAS na različitim talasnim dužinama u zavisnosti od elementa, a koncentracije su izračunate na osnovu kalibracionih kriva dobijenih merenjem apsorbanci rastvora uzoraka standarda.

### **3.5.7. Određivanje sadržaja pristupačnih elemenata u supstratu**

Za potrebe određivanja pristupačnih koncentracija elemenata Fe, Cu, Mn, Ni, Zn, Cr, Cd, Co i Pb, 2–2,5 g osušenog i homogenizovanog supstrata je preliveno sa 50 ml rastvora 1 M amonijum-acetata i 0,01 M EDTA (pH 7,0). Nakon toga uzorci su mešani na rotacionoj mešalici (brzinom od 30 obrtaja/min) tokom 2 sata, a zatim filtrirani uz pomoć filter papira. Apsorbance uzoraka su merene na AAS na različitim talasnim dužinama u zavisnosti od elementa, a koncentracije su izračunate na osnovu kalibracionih kriva dobijenih merenjem apsorbanci rastvora uzoraka standarda, kao i u slučaju određivanja pseudo-ukupnih koncentracija elemenata.

### 3.6. Analize biljnog materijala

Nakon gajenja biljaka u kontrolisanim uslovima uzorkovan je biljni materijal. Nadzemni delovi biljaka su odvojeni od korenova, temeljno oprani česmenskom i destilovanom vodom, osušeni, a zatim odloženi u obeležene papirne vreće za uzorkovanje. Neposredno pre izvođenja analiza, biljni materijal je usitnjen u blenderu. U biljnom materijalu izmerene su ukupne koncentracije N, P, K, Mg, Ca, Pb, Fe, Cu, Mn, Ni, Zn, Cr, Cd i Co.

#### 3.6.1. Određivanje sadržaja ukupnog azota u biljnom materijalu

Za određivanje azota u biljnom materijalu odmereno je 0,18–0,22 g osušenog biljnog materijala i preneto u kivetu za razaranje, gde je preliveno sa 3 ml koncentrovane sumporne kiseline. Nakon toga su uzorci postepeno zagrevani do konačnih 220°C i u njih je u tri navrata dodato po 2 ml 30% vodonik-peroksida, kako bi se na kraju postupka dobio bezbojan ili bledo-žut rastvor. Nakon hlađenja dobijeni rastvori su preneti u erlenmajere, dodato im je 20 ml 10 N NaOH, a zatim su destilovani na aparaturi za parnu destilaciju (Bremner 1996). Zapremina od 35 ml destilata je dodata u erlemajer u koji je prethodno dodato 5 ml borne kiseline i titrovana sa 0,02 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dok nije došlo do prelaska boje rastvora iz zelene u ljubičastu. Procenat azota je izračunat pomoću sledeće formule:

$$N(\%) = \frac{(V_{TU} - V_{T0})}{m} \times 0,28$$

gde je:

$V_{TU}$  – zapremina titra koji je iskorišćen za uzorak (ml),

$V_{T0}$  – zapremina titra koji je iskorišćen za blank (ml),

0,28 – faktor konverzije,

m – odmerena masa uzorka (g).

#### 3.6.2. Određivanje sadržaja fosfora u biljnom materijalu

Za određivanje udela fosfora u biljnom materijalu korišćeni su ekstrakti koji su prethodno pripremljeni za analizu ukupnih elemenata u biljci i od kojih je uzeto je 1–10 ml (u zavisnosti od očekivane količine fosfora) i preneto u normalni sud od 50 ml u koji je zatim dodato 5–10 ml destilovane vode. Nakon toga je u isti sud dodato po 3–5 kapi fenolftaleina. Zatim je dodato 40% NaOH do pojave ružičaste boje, a zatim je dodavan 0,1 M HCl metodom kap po kap, do gubitka boje na isti način. Po završetku neutralizacije dodato je po 0,5 ml rastvora amonijum molibdata i 0,25 ml rastvora kalaj-hlorida, nakon čega su sudovi do crte dopunjeni destilovanom vodom. Dobijeni standardni rastvori pokazuju plavu boju koja nastaje usled stvaranja fosformolibdatskog kompleksa. Merenje je izvršeno tokom 2 sata u toku kojih je plava boja rastvora stabilna. Serije analiziranih i standardnih rastvora su nakon normiranja odložene u mračnu komoru na 30 minuta kako bi se boja razvila u potpunosti, a posle isteka ovog vremena se pristupilo merenju. Merenje apsorbanci se vršilo pomoću spektrofotometra (Shimadzu UV-1800) na talasnoj dužini od 580 nm.

### 3.6.3. Određivanje sadržaja ukupnih elemenata u biljnom materijalu

Sadržaj ukupnih elemenata – Mg, Ca, K, Pb, Fe, Cu, Mn, Ni, Zn, Cr, Cd i Co u biljnom materijalu određen je pomoću metode koja je prilagođena prema Džouns i Kejsu (Jones & Case 1990). Tokom ovog postupka izmereno je od 0,18 do 0,22 g osušenog biljnog materijala i preneto u kivetu za razaranje, gde je zatim preliveno sa 3 ml cc HNO<sub>3</sub> i uz postepeno zagrevanje inkubirano na temperaturi od 125°C oko tri sata do potpunog razaranja. Tokom procesa razaranja supstrata uzorcima je tri puta dodavano po 2 ml 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Nakon hlađenja uzorci su kvantitativno preneti u normalne sudove, dopunjeni do zapremine od 50 ml redestilovanom vodom i filtrirani filter papirom veličine 0,45 μm. Apsorbance uzoraka su merene na AAS, na različitim talasnim dužinama, u zavisnosti od elementa koji je meren, a koncentracije su izračunate na osnovu kalibracionih kriva dobijenih merenjem apsorbanci rastvora uzoraka standarda. Koncentracije K su očitane emisijom korišćenjem atomskog apsorpcionog spektrofotometra.

### 3.7. Određivanje fizioloških i biohemijskih parametara u biljnom materijalu

Odgovor biljaka na stres izazvan olovom u prisustvu brušit-aluminosilikatnih materijala određen je pomoću fizioloških i biohemijskih analiza. U fiziološke i biohemijske parametre koji su analizirani u ovom radu spadaju: određivanje koncentracije pigmenata (Chl *a*, Chl *b*, Chl *a+b* i Car) i sadržaja ukupnih fenola i prolina u nadzemnim delovima biljnih uzoraka i određivanje antioksidativnog kapaciteta biljke.

#### 3.7.1. Određivanje koncentracija pigmenata

Za ekstrakciju fotosintetičkih pigmenata, odmereno je od 10 do 15 mg svežih biljnih uzoraka koji su pre toga zamrznuti i skladišteni na temperaturi od -70°C. Biljni uzorci su zatim preneti u obeležene mikrotube i u svaki je dodato po 2 ml 96% etanola u porcijama, a zatim su inkubirani u termošejkeru (10 min na 70°C) i centrifugirani (10 min na 10000 rpm). Nakon centrifugiranja, dobijeni supernatant je prenet u kvarcnu kivetu i apsorbance dobijenih ekstrakata su izmerene na spektrofotometru (Multiskan Sky Microplate Spectrophotometer Thermo Fisher Scientific), na talasnim dužinama od 470, 648 i 664 nm. Koncentracije hlorofila *a*, hlorofila *b* i karotenoida izračunate su prema formulama koje navodi Lichtenthaler (1987):

$$\text{Chl } a+b = 5,24 \times A_{664} + 22,24 \times A_{648} \quad \text{koncentracije ukupnih hlorofila } (\mu\text{g ml}^{-1})$$

$$\text{Chl } a = 13,36 \times A_{664} - 5,19 \times A_{648} \quad \text{koncentracija hlorofila } a \text{ } (\mu\text{g ml}^{-1})$$

$$\text{Chl } b = 27,43 \times A_{648} - 8,12 \times A_{664} \quad \text{koncentracija hlorofila } b \text{ } (\mu\text{g ml}^{-1})$$

$$\text{Car } x+c = (1000 \times A_{470} - 2,13 \times A_{648} - 97,64 \times C_b) / 209 \quad \text{koncentracija karotenoida } (\mu\text{g ml}^{-1})$$

Koncentracija pigmenata izražena je prema sledećoj formuli po gramu sveže mase biljnog materijala:

$$C[\text{mg g}^{-1}] = C[\text{mg L}^{-1}] \times V[\text{ml}] \times r$$

gde je:

*r* – razblaženje ekstrakata,

*V* – zapremina dobijenog ekstrakta,

*m* – odmerena masa biljnog materijala.

Izolacija fotosintetičkih pigmenta iz biljnih uzoraka izvođena je pri redukovanom osvetljenju da bi se izbegla fotodegradacija pigmenta.

### 3.7.2. Određivanje sadržaja prolina

Za određivanje koncentracije prolina odmereno je po 0,1 g nadzemnih delova svežih uzoraka, u koje je dodato po 0,5 ml 3% sulfosalicilne kiseline i koji su zatim homogenizovani u homogenizatoru (Tissue lyser II, Qiagen) na 300 rpm u trajanju od 5 min. Nakon toga je homogenizovani biljni material centrifugiran na brzini od 15000 rpm u trajanju od 5 minuta i odmereno je 100  $\mu$ l izdvojenog supernatanta i preneto u nove, obeležene mikrotube. Prethodno je pripremljena smeša u čijem se sastavu nalazilo: 200  $\mu$ l glacijalne sirćetne kiseline, 100  $\mu$ l 3% sulfosalicilne kiseline i 200  $\mu$ l kiselog ninhidrinskog reagensa i u nju su prebačeni uzorci, koji su zatim vorteksovani i inkubirani na temperaturi od 96°C u trajanju od jednog časa. Reakcija je prekinuta na ledu, nakon čega je u mikrotube sa reakcionom smešom i ekstraktima dodat po 1 ml toluena. Smeša sa toluenom je mešana na vorteksu kako bi se izdvojile faze, a apsorbance obojene frakcije sa toluenom merena je na 520 nm. Apsorbance za sve uzorke su određene na spektrofotometru, dok su sva merenja izvedena na mikrotitar pločama, a kao slepa proba je korišćen toluen (Ábrahám i sar. 2010). Kalibraciona kriva na osnovu koje su računata koncentracije konstruisana je u opsegu od 10 do 500  $\mu$ g ml<sup>-1</sup> prolina.

### 3.7.3. Određivanje sadržaja ukupnih fenola

Od nadzemnih delova biljnih uzoraka koji su prethodno bili skladišteni na -70°C je odmereno oko 0,1 g, nakon čega su potopljeni u etanol i inkubirani tokom 24 časa na sobnoj temperaturi. Tokom prvog i poslednjeg sata inkubacije, uzorci su inkubirani u ultrazvučnom kupatilu kako bi se poboljšala efikasnost ekstrakcije. Sadržaj ukupnih fenola u uzorcima nadzemnih delova biljke određen je korišćenjem modifikovane Folin-Ciocalteu metode (Singleton & Rossi 1965). Ova kolorimetrijska metoda se zasniva na merenju redukcionog kapaciteta fenolnih jedinjenja u reakciji sa Folin-Ciocalteu (FC) reagensom, koji sadrži fosfomolibdenski/fosfovolframov kompleks kao hromoforu. U baznoj sredini, koju obezbeđuje natrijum-karbonat, dolazi do transfera elektrona sa fenolnih jedinjenja na FC reagens, što rezultira formiranjem intenzivne plave boje. Intenzitet boje je proporcionalan koncentraciji ukupnih fenola i meri se spektrofotometrijski. Za potrebe izvođenja ove analize pripremljeni su uzorci tako što je 300  $\mu$ l razblaženog FC reagensa (1,5 ml FC reagensa u 13,5 ml destilovane vode) dodato u obeležene mikrotube, nakon čega je u iste dodat uzorak (60  $\mu$ l), dok je za slepu probu umesto uzorka dodat etanol. Smeše su inkubirane 6 minuta na sobnoj temperaturi, nakon čega je dodato 250  $\mu$ l 7,5% rastvora Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, i iste su inkubirane dodatna 2 sata na sobnoj temperaturi, u mraku. Po završetku inkubacije, uzorci su preneti na mikrotitracione ploče, a apsorbance je izmerena na spektrofotometru na talasnoj dužini od 740 nm. Dobijene koncentracije ukupnih fenola izračunate su na osnovu standardne krive dobijene korišćenjem galne kiseline kao standarda, a rezultati su izraženi kao miligrami ekvivalenta galne kiseline po mililitru uzorka (mg GAE/ml).

### 3.7.4. Određivanje antioksidativnog kapaciteta

Antioksidativni kapacitet biljnih ekstrakata određen je korišćenjem DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) metode, koja se zasniva na sposobnosti antioksidativnih jedinjenja da neutrališu stabilne slobodne radikale prisutne u DPPH rastvoru (Blois 1958). Ova hromoforna supstanca, karakteristične ljubičaste boje, pokazuje maksimum apsorpcije na talasnoj dužini od 517 nm. Prisustvom antioksidanasa u analiziranim uzorcima dolazi do davanja elektrona DPPH radikalu, što dovodi do smanjenja intenziteta ljubičaste boje i samim tim pada vrednosti izmerenih apsorbaneci. Ekstrakti korišćeni u ovoj analizi identični su onima koji su korišćeni za određivanje ukupnih fenolnih jedinjenja. DPPH rastvor je pripremljen rastvaranjem 1,44 mg DPPH u 36 ml metanola. Nakon pripreme rastvora u mikrotube zapremine 1,5 ml odmereno je po 540  $\mu$ l ovog rastvora, nakon čega je dodato 60  $\mu$ l prethodno pripremljenih ekstrakta uzoraka nadzemnih delova biljke.

Kao slepa proba korišćen je etanol, kao i u prethodnoj analizi. Reakcione smeše inkubirane su 30 minuta na sobnoj temperaturi u uslovima bez svetlosti. Nakon inkubacije, uzorci su preneti na mikrotitracione ploče i izmerena je apsorbancija na talasnoj dužini od 517 nm na spektrofotometru (a rezultati su izraženi kao procenat inhibicije DPPH radikala).

Antioksidativna aktivnost izražena je kao procenat inhibicije DPPH radikala prema sledećoj formuli:

$$\text{Inhibicija DPPH radikala (\%)} = \frac{(A_{sp} - A_{uz}) \times 100}{A_{sp}}$$

gde je:

$A_{sp}$  – izmerena apsorbancija slepe probe,

$A_{uz}$  – izmerena apsorbancija biljnog uzorka.

### 3.8. Određivanje potencijala *Festuca rubra* za akumulaciju olova

Za procenu efikasnosti uklanjanja jona olova iz supstrata, određivanje potencijala za njihovu akumulaciju u biljnim tkivima i fitoremedijacionog potencijala izračunati su bioakumulacioni (BAF), biokoncentracioni (BCF) i translokacioni faktor (TF) u različitim uzorcima, uz pomoć sledećih jednačina (Li i sar. 2023):

$$\text{BAF} = \frac{[\text{Olovo}]_{\text{nadzemni deo}}}{[\text{Olovo}]_{\text{zemljište}}}$$

$$\text{BCF} = \frac{[\text{Olovo}]_{\text{koren}}}{[\text{Olovo}]_{\text{zemljište}}}$$

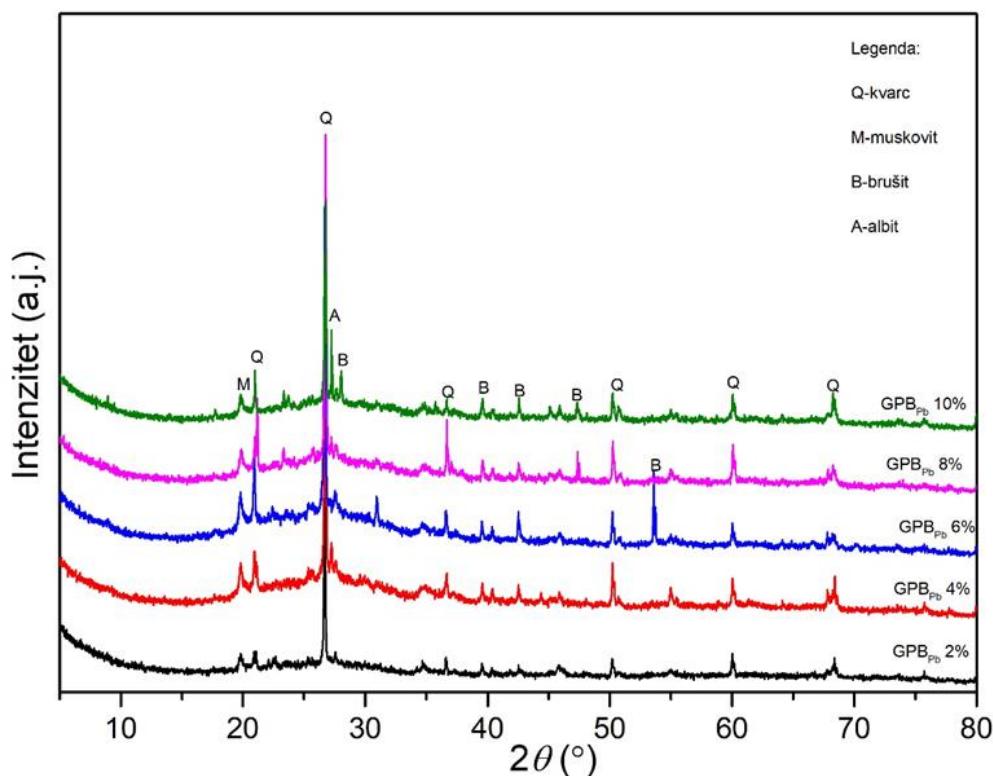
$$\text{TF} = \frac{[\text{Olovo}]_{\text{nadzemni deo}}}{[\text{Olovo}]_{\text{koren}}}$$

### 3.9. Statistička obrada podataka

Koncentracije analiziranih elemenata u uzorcima supstrata i biljnog materijala prikazane su kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija. Normalnost raspodele ispitana je Shapiro–Wilk testom, nakon čega je za analizu razlika između posmatranih parametara primenjen neparametrijski Kruskal–Wallis test praćen Dunn-ovim *post hoc* testom. Za utvrđivanje povezanosti među parametrima u supstratu i biljnom materijalu korišćena je Spirmanova rang korelacija ( $\rho$ ). Sve statističke analize sprovedene su u softverima XISTAT (verzija 2020.1.1) i Statistica 7.0 (StatSoft 2004).



Na slici 12 prikazani su rezultati rendgenske difrakcije urađeni na uzorcima prahova koji su osušeni nakon adsorpcije Pb iz vodenih rastvora. Jasno se vidi da ne postoji drastična razlika u rendgenskim difraktogramima praha materijala pre i nakon adsorpcije. Na prikazanim difraktogramima materijala na slici 12 nije identifikovana nova faza, što ukazuje na činjenicu da je Pb uvezano najverovatnije u amorfni matriks materijala, pri čemu nije došlo do promene faznog sastava ili formiranja nove faze. Takođe jasno se može uočiti nešto veći šum samih difrakcionih linija, što ukazuje na inkorporiranost Pb u amorfni matriks ovih materijala ukazujući najverovatnije na hemisorpcione osobine materijala. Ovaj fenomen se može objasniti postojanjem vodoničnih veza u strukturi brušita duž b-ose, gde se verovatno vezuju joni Pb u strukturi koji zauzima mesto između tetraedarskih i oktaedarskih pozicija (Mirković i sar. 2024). Nešto viši fon, ukazuje i na unakrsno umrežavanje Pb u amorfni geopolimerni matriks (Đukić i sar. 2022). Rezultati takođe potvrđuju činjenicu da ovi materijali imaju izuzetnu stabilnost u vodenim rastvorima, odnosno ne dolazi do promene u njihovom faznom sastavu.

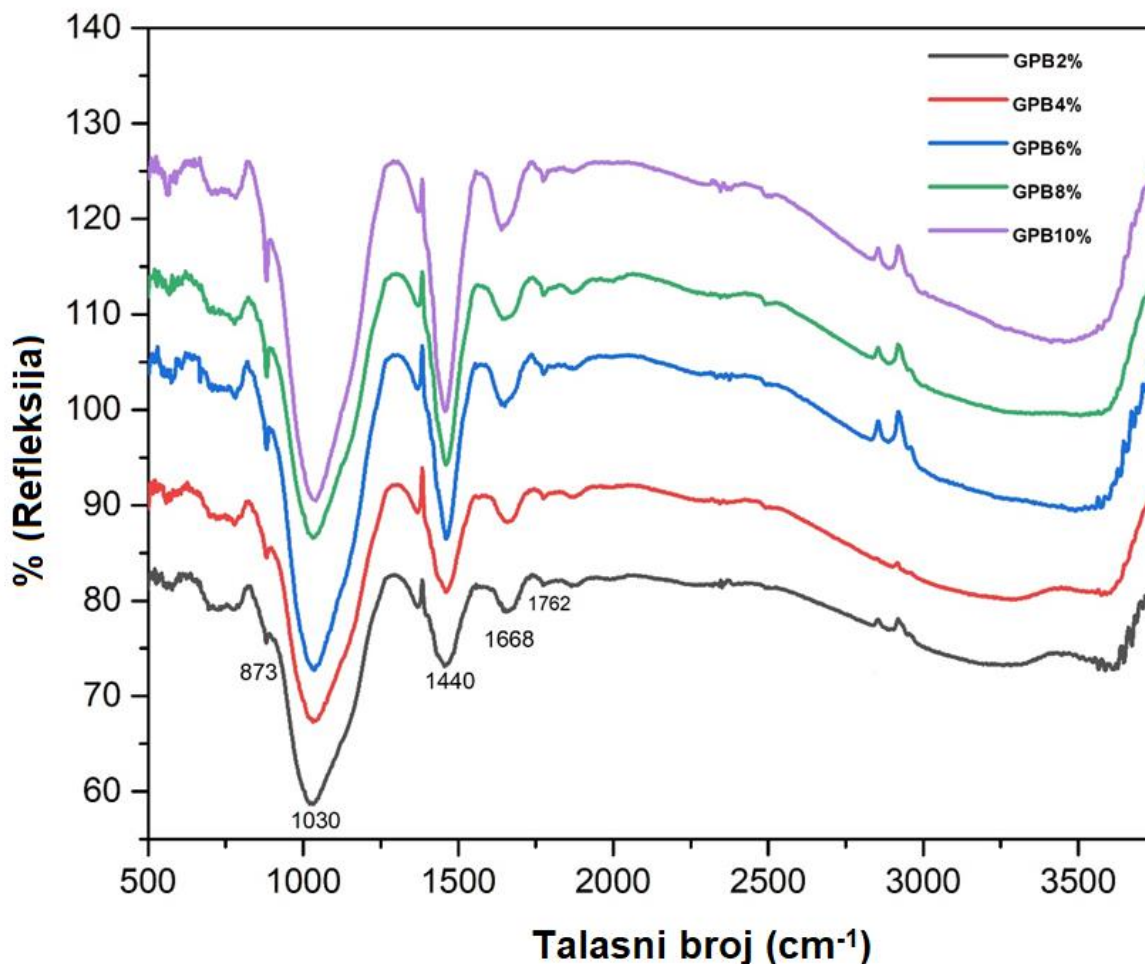


Slika 12. Difraktogrami prahova brušit-aluminosilikatnih materijala nakon adsorpcije Pb u vodenim rastvorima:  $GPB_{Pb}2\%$ ,  $GPB_{Pb}4\%$ ,  $GPB_{Pb}6\%$ ,  $GPB_{Pb}8\%$  i  $GPB_{Pb}10\%$  (Đukić i sar. 2022).

#### 4.1.2. Analiza funkcionalnih grupa u brušit-aluminosilikatnim materijalima Furijeovom transformacijom u infracrvenom delu spektra (FTIR)

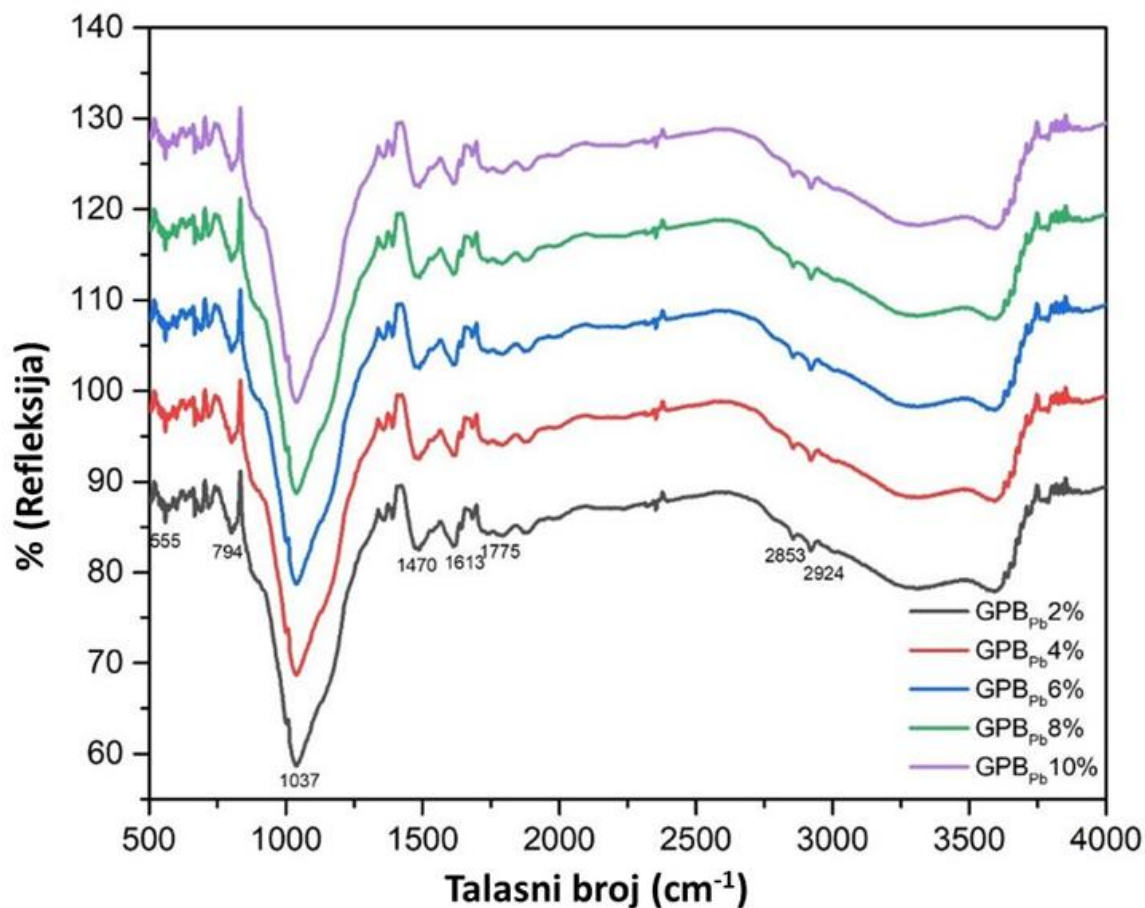
FTIR analiza urađena je za sintetisane uzorke i za uzorke materijala nakon adsorpcionih eksperimenata. Rezultati FTIR analiza sintetisanih uzoraka materijala  $GPB_{Pb}2\%$ ,  $GPB_{Pb}4\%$ ,  $GPB_{Pb}6\%$ ,  $GPB_{Pb}8\%$  i  $GPB_{Pb}10\%$  prikazani su na slici 13. Vibracione trake koje su detektovane u blizini  $3500$  i  $1670\text{ cm}^{-1}$  povezane su sa prisustvom slobodnih ili adsorbovanih molekula vode u svim uzorcima koji su vezani za Si-O funkcionalnu grupu (Đukić i sar. 2022). Traka koja se javlja na oko  $560\text{ cm}^{-1}$  karakteristična je za brušit-aluminosilikatne geopolimerne materijale i može se pripisati vibracijama molekula -P-O-Al-O- (Đukić i sar. 2022).

Na oko  $712\text{ cm}^{-1}$  detektovana je traka koja pripada vibracijama koje se javljaju usled Si–O–Al savijanja i ukazuje da materijal većinski čini geopolimerna struktura čak i nakon dodavanja brušita. Traka detektovana na  $873\text{ cm}^{-1}$  se može pripisati Si–O–Si vibracijama. Široka rastegnuta traka na oko  $1030\text{ cm}^{-1}$  može biti povezana sa inkorporacijom  $\text{PO}_4$  tetraedra u sistem geopolimera i formiranja –Si–O–Si–O–Al–O–Si–O–P–O– mreže (Đukić i sar. 2022). Traka koja se pojavljuje na oko  $1440\text{ cm}^{-1}$  ukazuje na formiranje necentrične karbonatne grupe koja nastaje nakon što se  $\text{Na}^+$  iz alkalnog rastvora veže za  $\text{CO}_2$  iz vazduha, a intenzitet ovih traka je veći u IC spektrima GPB10%, GPB8% i GPB6% (Đukić i sar. 2022).



Slika 13. FTIR spektri brušit-aluminosilikatnih materijala (GPB2%, GPB4%, GPB6%, GPB8% i GPB10%) (Đukić i sar. 2022).

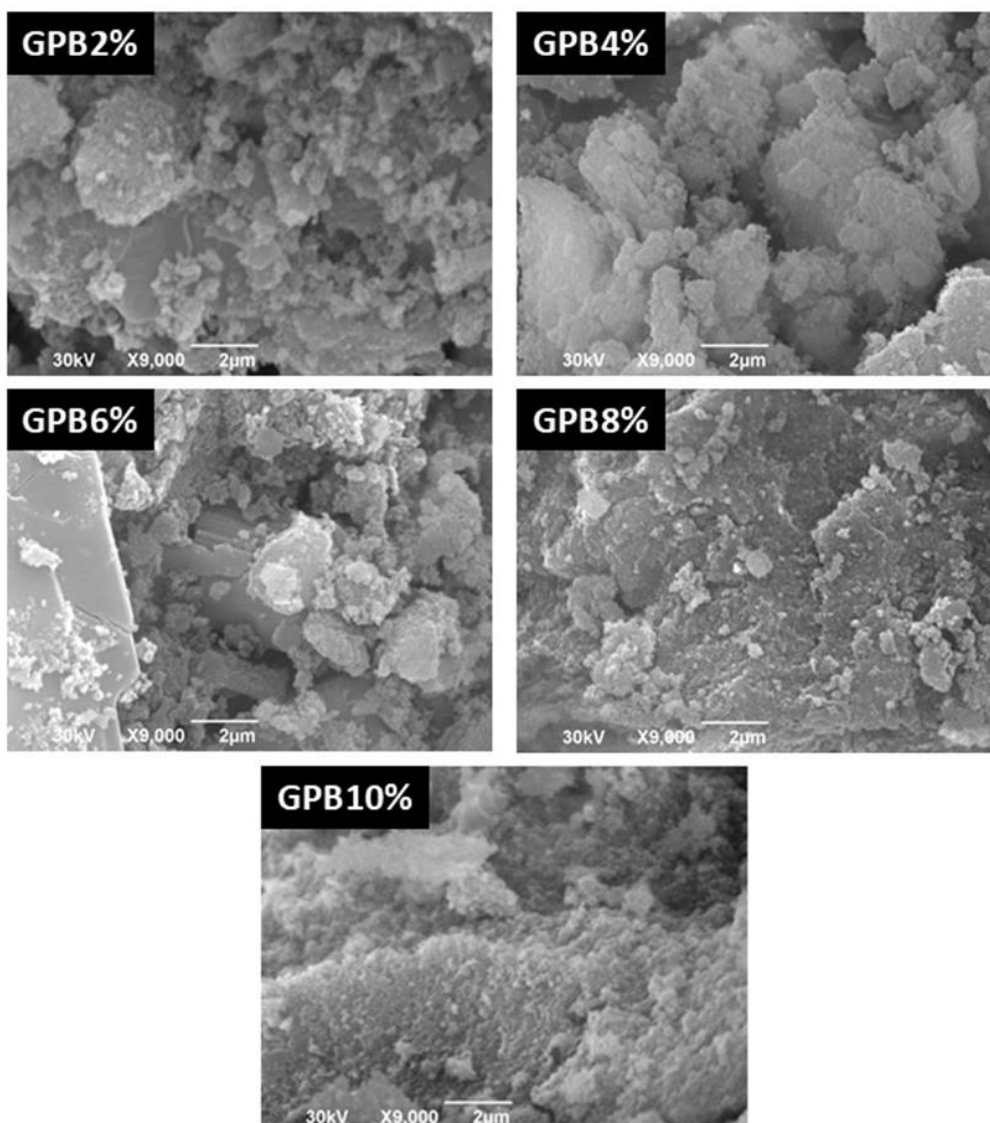
Na slici 14 prikazani su FTIR spektri materijala nakon adsorpcije Pb iz vodenih rastvora. Prema dobijenim FTIR spektrima za prikazane materijale, traka na oko  $1440\text{ cm}^{-1}$  pripada formiranju necentrične karbonatne grupe i  $\text{Na}^+$  iz alkalnog rastvora vezanog za  $\text{CO}_2$  iz vazduha. Intenzitet ovih traka je veći u IR spektrima GPB10%, GPB8% i GPB6%. Ovaj veći intenzitet je povezan sa većom količinom Ca u sistemu koji privlači  $\text{CO}_2$  iz atmosfere (Slika 13). Nakon adsorpcije Pb, odgovarajuća traka je manje intenzivna i pomerila se na  $1470\text{ cm}^{-1}$  (Slika 14), zbog formiranja olovo-karbonata. Štaviše, Pb može lako da zameni ili  $\text{Na}^+$  ili  $\text{Ca}^{2+}$  zbog većeg afiniteta za karbonatne jone. Široka rastegnuta traka na oko  $1030\text{ cm}^{-1}$ , povezana sa uključivanjem tetraedarskih jedinica  $\text{PO}_4$  u geopolimernom matriksu, gde nakon ulaska Pb u sistem dolazi do blagog pomeranja ove trake. Ovo može ukazivati na to da je adsorpcija katjona Pb dovela do ugradnje jona Pb u amorfnu geopolimernu matriku, u svim uzorcima (Slika 14). Ovi rezultati u skladu su sa dobijenim rezultatima rendgenske difrakcije prikazanih na slici 12. Međutim, i dalje postoji mnogo očuvanih funkcionalnih grupa u GPB materijalima nakon procesa adsorpcije i inkorporacije jona Pb u strukturu.



Slika 14. FTIR spektri brušit-aluminosilikatnih materijala: GPB<sub>Pb</sub>2%, GPB<sub>Pb</sub>4%, GPB<sub>Pb</sub>6%, GPB<sub>Pb</sub>8% i GPB<sub>Pb</sub>10% nakon adsorpcionih eksperimenata (Đukić i sar. 2022).

#### 4.1.3. Analiza mikrostrukturnih osobina brušit-aluminosilikatnih materijala pomoću SEM-EDS metode

Mikrostrukturne karakteristike brušit-aluminosilikatnih materijala su prikazane na slici 15. Brušit se u svim uzorcima odlikuje pločastim prizmatičnim oblikom zrna sa pravilnim monokliničnim oblicima. Veća zrna koja su identifikovana u geopolimernom matriksu su veličine između 1  $\mu\text{m}$  i 2  $\mu\text{m}$ . Geopolimerni matriks uzoraka sačinjen je od agregata gline budući da ista predstavlja aglomerat različitih fino-zrnastih minerala. Aglomerati se sastoje od sitnozrnastih čestica koje variraju u veličini ispod 1  $\mu\text{m}$ . SEM mikrografije novosintetisanih brušit-aluminosilikatnih materijala ukazuju na postojanje sfernih aglomerata amornog sitnojuspastog izgleda, što ukazuje na formiranje geopolimernog matriksa u celom uzorku. Jasno se mogu videti i nepromenjena mineralna zrna brušita. Na uzorku GPB2% jasno se vide prizmatična zrna brušita u potpunosti očuvana, uz prisustvo jasno vidljive geopolimerne matrice oko njih, kao što je prikazano na slici 15. U ovom slučaju, brušit nije potpuno inkorporiran u matricu. Kao što se može videti na slici 15, površina materijala GPB4% i GPB6% sastoji se od zrna prekrivenih, u većem obimu, sa amornom geopolimernom matricom. Naime, što je veći procenat brušita u uzorku, dolazi do veće povezanosti čestica matriksa. Rezultati EDS analiza dobijenih materijala prikazani su u tabeli 4. Rezultati pokazuju da sadržaj Ca i P raste pravilno sa dodatkom sadržaja brušita u geopolimernu matricu, osim u uzorku GPB2%, gde je sadržaj Ca viši. Na osnovu EDS semikvantitativne analize izračunati odnos Si:Al:Na iznosi približno 2:1:1 (Tabela 4).



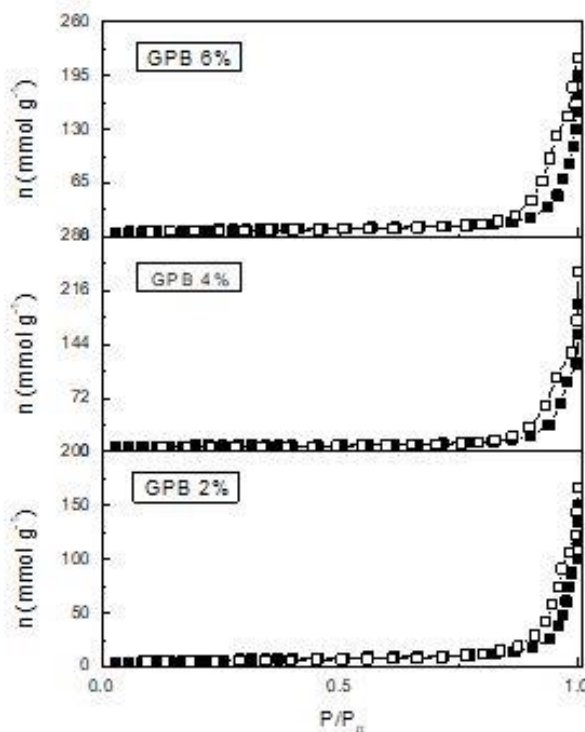
Slika 15. SEM mikrografije različitih brušit-aluminosilikatnih uzoraka. GPB2%-gore levo, GPB4%-gore desno, GPB6%-u sredini levo, GPB8%-u sredini desno i GPB10%-dole (Đukić i sar. 2022).

Tabela 4. Rezultati masenih udela elemenata u u različitim uzorcima brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala dobijenih pomoću EDS (Đukić i sar. 2022).

Uzorak/ element	GPB2% wt%	GPB4% wt%	GPB6% wt%	GPB8% wt%	GPB10% wt%
Na	27,62	27,02	27,44	26,94	27,62
Al	26,67	26,52	26,48	26,08	26,02
Si	42,71	42,68	42,86	41,94	41,83
P	0,64	0,72	0,79	0,96	0,99
K	0,67	0,45	0,48	0,86	0,57
Ca	0,86	0,93	1,02	1,72	1,90
Fe	0,83	1,68	0,93	1,50	1,07
Ukupno	100	100	100	100	100

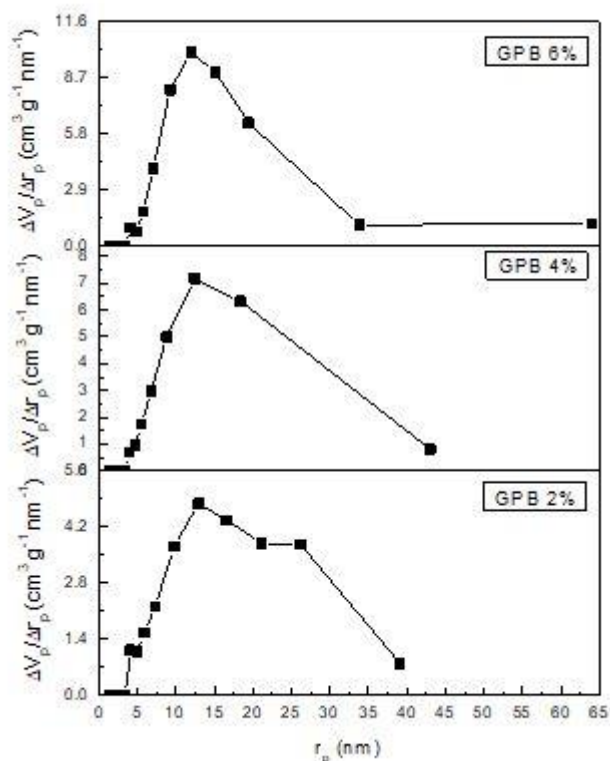
#### 4.1.4. Određivanje specifične površine i poroznosti brušit-aluminosilikatnih materijala BET metodom

Pore se na osnovu oblika i dimenzija prečnika ili rastojanja između zidova mogu klasifikovati na: makropore, mezopore i mikropore. Izoterme adsorpcije azota za uzorke brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala, kao količina  $N_2$  adsorbovanog na  $-196^\circ\text{C}$ , prikazani su na slici 16. Prema IUPAC klasifikaciji, izoterme spadaju u tip IV sa H3 histerezisnom petljom koja je karakteristična za mezoporozne materijale. Specifična površina svih uzoraka, izračunata pomoću BET (Brunauer-Emmett-Teller) jednačine, i iznosi između  $20$  i  $27\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$ , a srednji radijus pora,  $r_{\text{med}}$  je  $\sim 11\text{ nm}$  za sva tri uzorka.



Slika 16. Izoterme adsorpcije tečnog azota na različitim uzorcima brušita-aluminosilikatnih materijala (GPB2%, GPB4% i GPB6%) (Đukić i sar. 2022). Obojeni kvadrati označavaju adsorpciju, a prazni desorpciju.

Distribucija veličine i raspodele pora uzoraka brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala prikazana je na slici 17. Može se videti da za sve uzorke radijus pora leži između  $4$  i  $45\text{ nm}$ , što ukazuje da su sva tri uzorka potpuno mezoporozna (prema IUPAC klasifikaciji: mikropore  $2\text{ nm}$ , mezopore  $2\text{--}50\text{ nm}$  i makropore  $50\text{ nm}$ ), kao posledica aglomeracija čestica (Sing i sar. 1985).



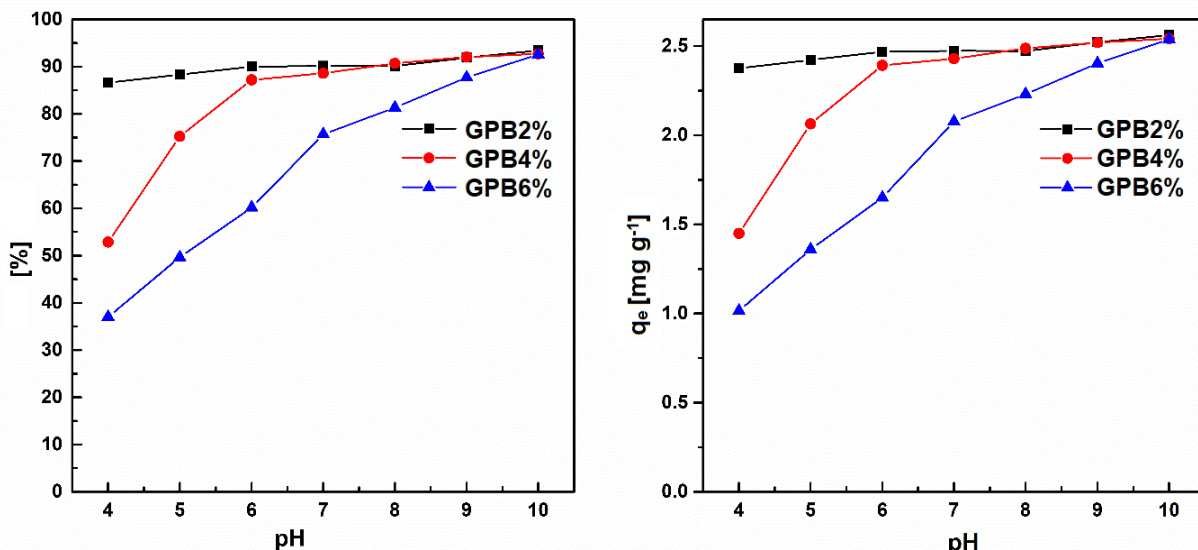
Slika 17. Veličina i raspodela pora na različitim uzorcima brušit-aluminosilikatnih materijala (GPB2%, GPB4% i GPB6%) (Đukić i sar. 2022).

## 4.2. Analize adsorpcije jona olova na brušit-aluminosilikatnim materijalima

Analize adsorpcije jona olova na brušit-aluminosilikatnim materijalima obuhvataju rezultate eksperimenata ispitivanja uticaja pH vrednosti, adsorpcione kinetike i adsorpcionih izoterma. Zbog lakšeg razumevanja adsorpcionih efekata ovih materijala, prvo su urađene adsorpcione studije uklanjanja Pb iz vodenih rastvora. Materijali koji su pokazali najveću efikasnost uklanjanja olova, korišćeni su u narednim eksperimentima sa *Festuca rubra*.

### 4.2.1. Analize uticaja pH vrednosti na adsorpciju jona olova iz vodenih rastvora

Uticaj pH na adsorpciju Pb od strane brušit-aluminosilikatnih materijala (GPB2%, GPB4% i GPB6%) prikazan je na slici 18. Vrednosti pH ispod 4,0 nisu uzete u obzir tokom ovog eksperimenta jer oslobađanje  $\text{Ca}^{2+}$  iz strukture GPB može biti značajno u takvim uslovima. Efikasnost uklanjanja je najveća za pH vrednosti iznad 7,0 za sve ispitivane GPB. Međutim, u alkalnim uslovima dolazi do hidrolize Pb usled stvaranja precipitata olovnog hidroksida. Stoga se takvi rezultati ne mogu uzeti u obzir. Blago kiseli uslovi su dokazano optimalni za takve sisteme, posebno za GPB2%, kao što je prikazano na slici 18. Dobijeni rezultati pokazali su da je optimalna pH vrednosti za uklanjanje olova iz vodenih rastvora, za sve materijale 5,5, te je ona i korišćena u narednim eksperimentima adsorpcije.



Slika 18. Uticaj pH vrednosti na efikasnost adsorpcije jona olova na različitim uzorcima brušit-aluminosilikatnih materijala (GPB2%, GPB4% i GPB6%). (vreme kontakta = 180 min,  $C_{Pb} = 6,86 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $V = 20 \text{ mL}$ ,  $m = 50 \text{ mg}$ ) (Đukić i sar. 2022).

#### 4.2.2. Analize kinetike adsorpcije jona olova na brušit-aluminosilikatnim materijalima

Efikasnost uklanjanja i kapacitet adsorpcije Pb u funkciji trajanja kontakta prikazani su na slikama 19 i 20. Ravnoteža adsorpcije je postignuta nakon 120 minuta za sve ispitivane uzorke brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala. Najveći procenat uklanjanja jona Pb iz vodenih rastvora (85%) je dostignut nakon dodavanja GPB2%. Nakon 120 minuta dolazi do uravnoteženja sistema, pri čemu nisu detektovane značajne promene u efikasnosti uklanjanja Pb te se dobijeni rezultati nakon 120 min mogu smatrati zanemarljivim, zbog zasićenja dostupnih mesta za vezivanje na materijalu. Kako bi se stekao bolji uvid u mehanizme adsorpcije i parametre kinetike adsorpcije, korišćeni su kinetički modeli pseudo-prvog i pseudo-drugog reda, dok su linearizovani oblici ovih modela izraženi sledećim formulama:

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - \frac{k_1}{2,303} \times t$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e}$$

gde je:

$t$  – vreme trajanja procesa adsorpcije (min),

$q_t$  – adsorpcioni kapacitet brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala ( $\text{mg g}^{-1}$ ),

$q_e$  – kapacitet adsorbensa pri dostizanju ravnoteže ( $\text{mg g}^{-1}$ ),

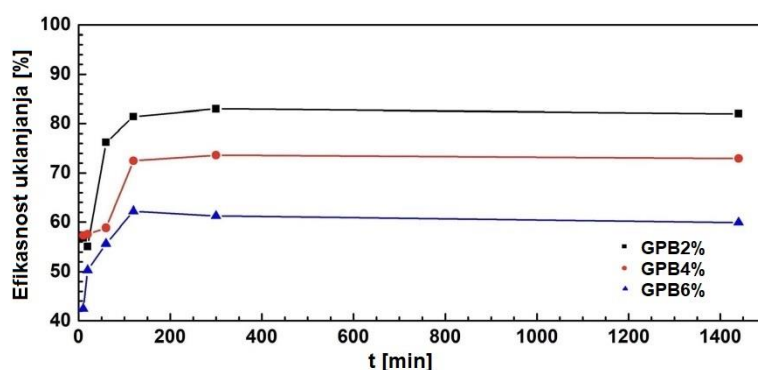
$k_1$  – konstanta brzine adsorpcije za kinetički model pseudo-prvog reda ( $\text{min}^{-1}$ ),

$k_2$  – konstanta brzine adsorpcije za kinetički model pseudo-drugog reda ( $\text{g (mg min)}^{-1}$ ).

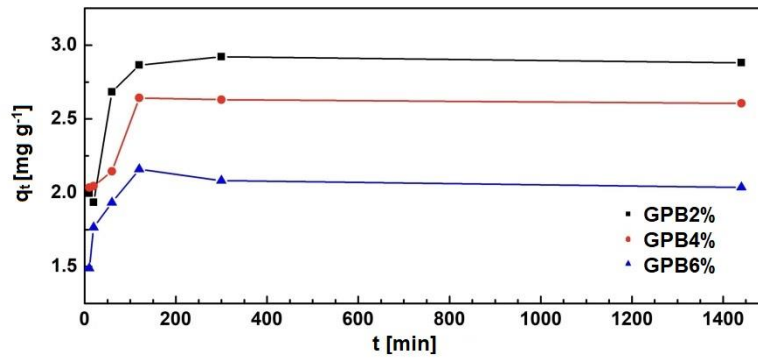
Linearizovani oblici kinetičkih modela pseudo-prvog i pseudo-drugog reda prikazani su na slikama 21 i 22, dok su parametri dobijeni korišćenjem kinetičkih modela prikazani u tabeli 5. Dobijeni koeficijent korelacije je veći kod modela pseudo-drugog reda (Tabela 5), što ukazuje da je hemisorpcija potencijalni mehanizam adsorpcije kod brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala. Uprkos činjenici da kinetički model pseudo-drugog reda može na odgovarajući način da opiše eksperimentalne podatke kinetike adsorpcije, ovaj model ne može u potpunosti da objasni mehanizam adsorpcije.

Tabela 5. Modeli kinetike adsorpcije jona olova na različitim uzorcima brušit-aluminosilikatnih materijala (GPB2%, GPB4% i GPB6%).

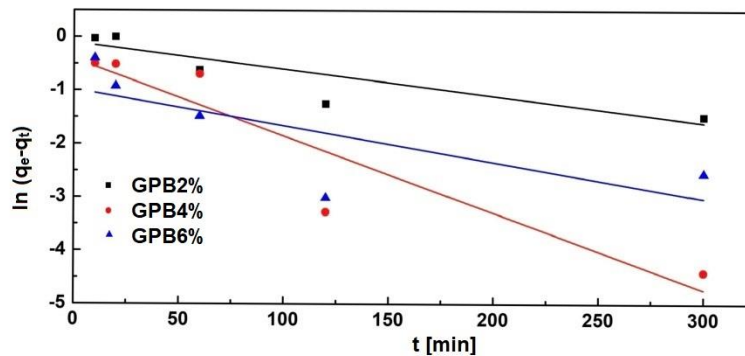
Uzorak	Model	Parametar	Vrednost
GPB2%	Pseudo-prvi red	$k_1$	-0,0050
		$q_e$	0,9014
		$R^2$	0,8660
	Pseudo-drugi red	$k_2$	0,0428
		$q_e$	2,9949
		$R^2$	1,0000
GPB4%	Pseudo-prvi red	$k_1$	-0,0144
		$q_e$	1,5083
		$R^2$	0,8250
	Pseudo-drugi red	$k_2$	0,0542
		$q_e$	2,6923
		$R^2$	0,9997
GPB6%	Pseudo-prvi red	$k_1$	-0,0068
		$q_e$	0,3755
		$R^2$	0,3976
	Pseudo-drugi red	$k_2$	0,1422
		$q_e$	2,1169
		$R^2$	0,9999



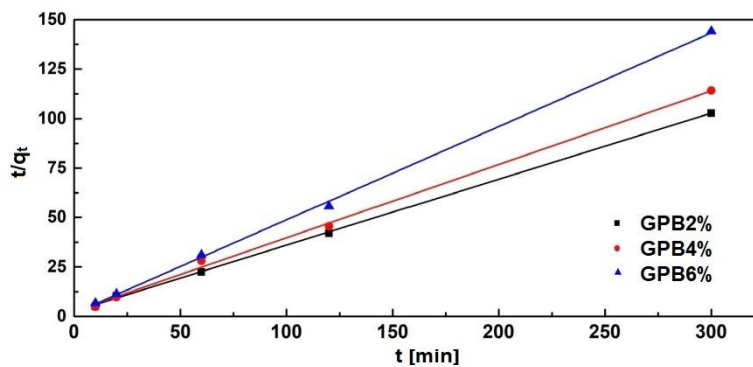
Slika 19. Efikasnost uklanjanja olova u funkciji vremena kontakta kod različitih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala GPB2%, GPB4% i GPB6% (pH = 5,5,  $C_{Pb} = 8,8 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $V = 20 \text{ mL}$ ,  $m_{\text{adsorbensa}} = 50 \text{ mg}$ ) (Đukić i sar. 2022).



Slika 20. Kapacitet adsorpcije olova u zavisnosti od vremena kontakta kod različitih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala GPB2%, GPB4% i GPB6% ( $\text{pH} = 5,5$ ,  $C_{\text{Pb}} = 8,8 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $V = 20 \text{ mL}$ ,  $m_{\text{adsorbensa}} = 50 \text{ mg}$ ) (Đukić i sar. 2022).



Slika 21. Linearizovani oblik kinetičkog modela pseudo-prvog reda kod različitih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala GPB2%, GPB4% i GPB6% ( $\text{pH} = 5,5$ ,  $C_{\text{Pb}} = 8,8 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $V = 20 \text{ mL}$ ,  $m_{\text{adsorbensa}} = 50 \text{ mg}$ ) (Đukić i sar. 2022).



Slika 22. Linearizovani oblik kinetičkog modela pseudo-drugog reda kod različitih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala GPB2%, GPB4% i GPB6% ( $\text{pH} = 5,5$ ,  $C_{\text{Pb}} = 8,8 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $V = 20 \text{ mL}$ ,  $m_{\text{adsorbensa}} = 50 \text{ mg}$ ) (Đukić i sar. 2022).

Kinetički modeli pseudo-prvog i pseudo-drugog reda ne prikazuju uticaj međučestične difuzije koja može značajano uticati na kinetičke parametre. Zbog toga je korišćen model međučestične difuzije, radi identifikacije mogućih reakcionih puteva i mehanizama adsorpcije i linearizovana transformacija ovog modela je predstavljena sledećom jednačinom:

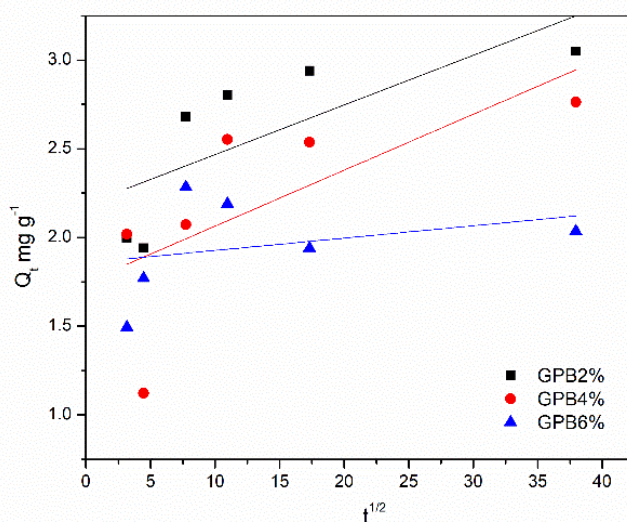
$$q_t = k_p \times t^{1/2} + C$$

gde je:

$k_p$  – konstanta brzine modela međučestične difuzije ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{1/2}$ ),

$C$  – konstanta povezana sa debljinom graničnog sloja ( $\text{mg g}^{-1}$ ).

Međučestična difuzija predstavlja korak koji ograničava brzinu u procesu adsorpcije ako zavisnost  $q_t$  u funkciji  $t^{1/2}$  prolazi kroz nulu. Na slici 23 prikazan je grafik linearnog fitovanja modela međučestične difuzije, gde se može uočiti da prava fitovanja kod svih ispitivanih uzoraka ne prolazi kroz nulu što znači da međučestična difuzija nije jedini korak koji kontroliše brzinu adsorpcije već postoji granični sloj otpora između adsorbensa i adsorbata. Niska vrednost korelacionog koeficijenta  $R^2$  prikazanih u tabeli 6, kod svih uzoraka pokazuje da ovaj model ne opisuje dobro proces adsorpcije olova na ispitivanim uzorcima.



Slika 23. Model međučestične difuzije kod različitih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala GPB2%, GPB4% i GPB6% ( $\text{pH} = 5,5$ ,  $C_{\text{Pb}} = 8,8 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $V = 20 \text{ mL}$ ,  $m_{\text{adsorbensa}} = 50 \text{ mg}$ ).

Tabela 6. Vrednosti koeficijenta korelacije, konstanti brzine međučestične difuzije i debljine graničnog sloja kod različitih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala (GPB2%, GPB4% i GPB6%).

Uzorci	$R^2$	$k_p$ ( $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{1/2}$ )	$C$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )
GPB2%	0,7550	0,0279	2,19
GPB4%	0,6889	0,0315	1,75
GPB6%	0,3120	0,0070	1,86

### 4.2.3. Određivanje modela adsorpcionih izotermi

Kapacitet adsorpcije Pb pri dostizanju ravnoteže kod GPB2%, GPB4% i GPB6% je prikazan na slici 24, dok su Lengmirovi i Frojndlihoivi modeli izotermi ispitani kako bi se dobili podaci o ravnoteži adsorpcije i njihovi linearizovani oblici su prikazani na slikama 25 i 26. Lengmirov model izotermi opisuje adsorpciju monosloja na homogenoj površini adsorbensa. Linearizovani oblik Lengmirovog modela izotermi se određuje uz pomoć sledeće jednačine:

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_m} + \left( \frac{1}{q_m K_L} \right) \times \frac{1}{C_e}$$

Frojndlihov model izotermi opisuje višeslojnu adsorpciju na adsorbensu čija je površina heterogena. Linearizovani oblik Frojndlihovog modela izotermi se određuje pomoću sledeće jednačine:

$$\ln q_e = \ln K_F + 1/n \times \ln C_e$$

gde je:

$q_e$  – kapacitet adsorbensa pri dostizanju ravnoteže ( $\text{mg g}^{-1}$ ),

$q_m$  – maksimalni kapacitet adsorbensa ( $\text{mg g}^{-1}$ ),

$C_e$  – koncentracija olova u rastvoru nakon dostizanja ravnoteže ( $\text{mg dm}^{-3}$ ),

$K_L$  – konstanta Lengmirovog modela izotermi ( $\text{dm}^3 \text{mg}^{-1}$ ),

$K_F$  – konstanta Frojndlihovog modela izotermi ( $\text{L mg}^{-1}$ ),

$1/n$  – faktor heterogenosti koji zavisi od heterogenosti površine adsorbensa,

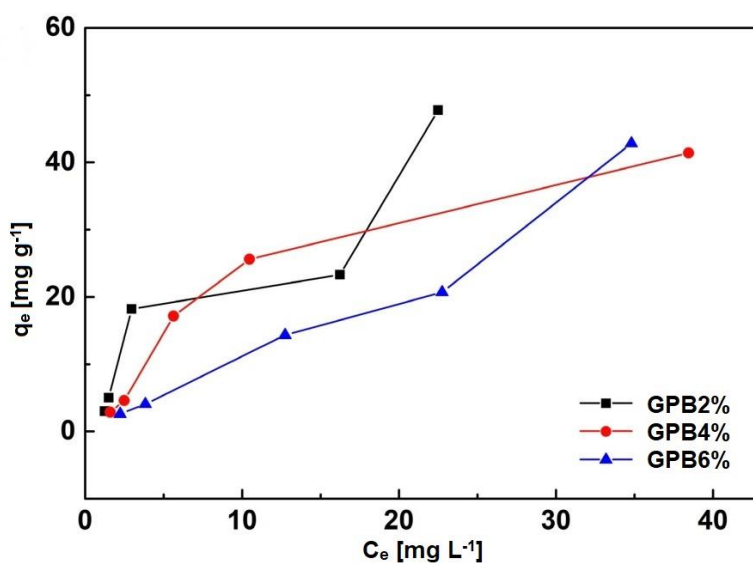
$\alpha_L$  – parametar koji se odnosi na energiju adsorpcije i dobija se iz linearno „fitovanog“ grafika.

$K_L/\alpha_L$  predstavlja teorijski kapacitet zasićenja monosloja. Adsorpcija je povoljna ako je vrednost  $1/n$  manja od 1 i veća od 0.

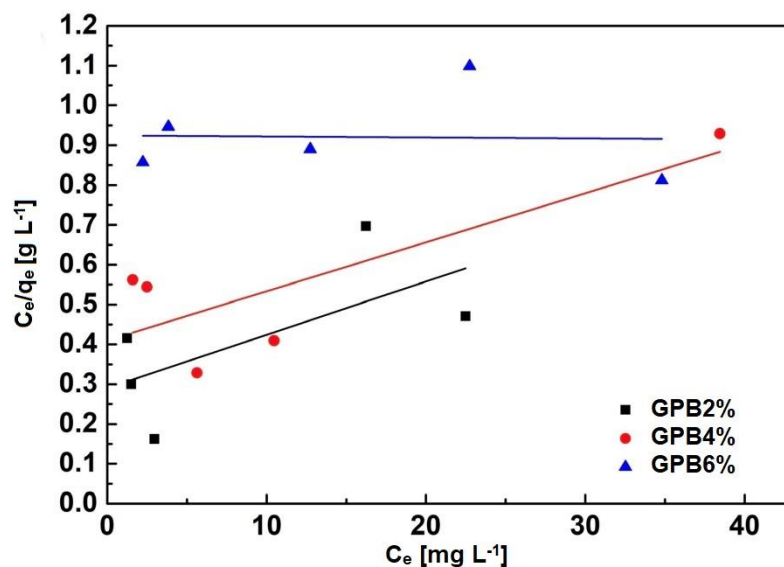
Parametri izotermi adsorpcije Pb prikazani su u tabeli 7, u kojoj se iz dobijenih vrednosti  $R^2$  može videti da Frojndlihov model izotermi vernije opisuje proces adsorpcije Pb na GPB. Kod svih ispitivanih uzoraka vrednost parametra  $1/n$  je između 0 i 1, što potvrđuje da je proces adsorpcije povoljan.

Tabela 7. Modeli adsorpcionih izotermi za različite uzorke brušit-aluminosilikatnih materijala (GPB2%, GPB4% i GPB6%).

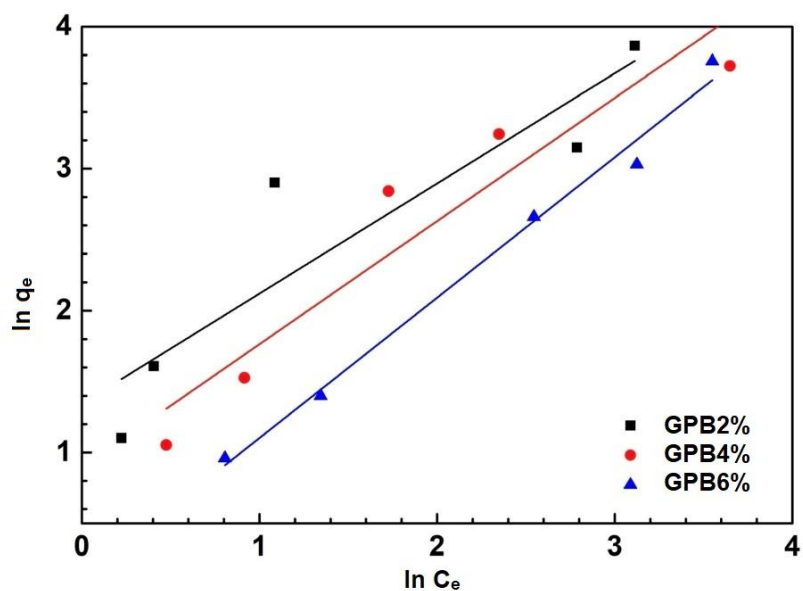
Uzorak	Model	Parametar	Vrednost
GPB2%	Langmuir	$K_L$	3,4447
		$\alpha_L$	0,0462
		$q_m$	74,627
		$R^2$	0,4340
	Freundlich	$K_F$	3,8359
		$1/n$	0,7757
GPB4%	Langmuir	$K_L$	2,4402
		$\alpha_L$	0,0300
		$q_m$	81,301
		$R^2$	0,6716
	Freundlich	$K_F$	2,4493
		$1/n$	0,8670
GPB6%	Langmuir	$K_L$	1,0814
		$\alpha_L$	-0,0002
		$R^2$	0,0009
		Freundlich	$K_F$
	$1/n$		0,9889
			$R^2$



Slika 24. Kapacitet adsorpcije olova pri dostizanju ravnoteže kod različitih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala GPB2%, GPB4% i GPB6% (vreme kontakta = 120 min,  $C_{Pb} = 8,8, 13,9, 48,5, 74,6, 142,1 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $V = 20 \text{ mL}$ ,  $m_{\text{adsorbensa}} = 50 \text{ mg}$ ) (Đukić i sar. 2022).



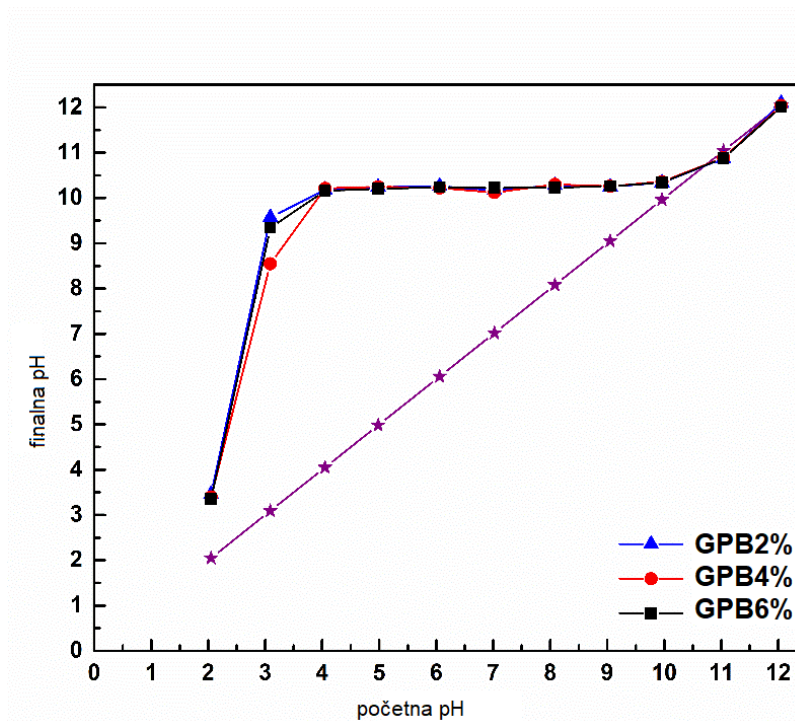
Slika 25. Linearizovani oblik Lengmirovog modela izoterme kod različitih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala GPB2%, GPB4% i GPB6% (vreme kontakta = 120 min,  $C_{Pb} = 8,8, 13,9, 48,5, 74,6, 142,1$  mg L<sup>-1</sup>,  $V = 20$  mL,  $m_{adsorbensa} = 50$  mg) (Đukić i sar. 2022).



Slika 26. Linearizovani oblik Frojndlihovog modela izoterme kod različitih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala GPB2%, GPB4% i GPB6% ( $pH = 5,5$ ,  $C_{Pb} = 8,8$  mg L<sup>-1</sup>,  $V = 20$  mL,  $m_{adsorbensa} = 50$  mg) (Đukić i sar. 2022).

#### 4.2.4. Određivanje tačke nultog naelektrisanja brušit-aluminosilikatnih materijala

Rezultati određivanja tačke nultog naelektrisanja za sledeće uzorke: GPB2%, GPB4% i GPB6% prikazani su na grafikonu (Slika 27).  $pH_{PZC}$  je mera kiselosti/baznosti adsorbensa i njegovog površinskog naelektrisanja. Dobijene vrednosti  $pH_{PZC}$  svih ispitivanih uzoraka iznose oko 10,7.



Slika 27.  $pH_{PZC}$  vrednosti različitih uzoraka brušit-aluminosilikatnih materijala GPB2%, GPB4% i GPB6% (Đukić i sar. 2022).

#### 4.3. Hemijske karakteristike supstrata

Analizirane hemijske karakteristike supstrata prikazane su u tabelama 8–11.

Kiselost supstrata u serijama uzoraka koji nisu tretirani brušit-aluminosilikatno geopolimernim materijalom varira u manjoj meri. U kontrolnom uzorku supstrata u koji nije dodat ovaj materijal pH vrednost je neutralna  $pH=7,09$ . Dodatkom brušit-aluminosilikatnih geopolimera pH vrednost se smanjuje sa povećanjem procenta brušita u materijalu. Vrednost pH varira u malom opsegu od 6,55 do 6,59, dok je najniža pH vrednost izmerena u uzorku koji sadrži GPB6%. U serijama uzoraka koji su tretirani Pb, kiselost supstrata varira u opsegu od 6,81 do 7,17. Najniža vrednost zabeležena je u uzorku u kojem je pored Pb dodat i GPB2%, a najviša u uzorku bez dodatog brušit-aluminosilikatnog geopolimernog materijala. U uzorcima supstrata u kojima je gajena biljka, pH vrednost raste sa dodatkom brušita u geopolimerni materijal i na olovom tretiranom i na netretiranom supstratu. Na supstratu koji nije tretiran Pb na kojem je gajena biljka, pH vrednost varira u opsegu od 7,56 do 7,69 dok je pH vrednost supstrata koji je prethodno tretiran Pb, pH u opsegu od 7,57 do 7,78. Najviša pH vrednost izmerena je u uzorku supstrata koji je tretiran Pb, zatim GPB6% i na kojem je gajena *Festuca rubra* i iznosi 7,78 (Tabela 8).

Najveći sadržaji organskog ugljenika detektovani su u kontrolnom uzorku (33,4%) i u uzorku koji je prethodno tretiran Pb (36,4%). Ovaj procenat opada sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih geopolimera, međutim sa porastom brušita u materijalu ne dolazi do pravilnog smanjenja procenta organskog ugljenika u supstratu. Najniži procenat organskog ugljenika (24,3%) dobijen je u uzorku supstrata tretiranom Pb i GPB4% (Tabela 8). Dodatak Pb dovodi do nepravilne varijacije u količini organskog ugljenika u uzorcima supstrata. Najveći sadržaj organske materije izmeren u uzorku supstrata koji je prethodno tretiran Pb i on iznosi 62,8 g kg<sup>-1</sup>, a najniži u uzorku tretiranom Pb i GPB4% i iznosi 41,9 g kg<sup>-1</sup> (Tabela 8).

Procenat N nepravilno varira u svim uzorcima supstrata, pri čemu uzorci supstrata u kojima je gajena *Festuca rubra* sadrže veći udeo ovog elementa (Tabela 8). U uzorcima supstrata u kojima je gajena biljka, sadržaj N varira u opsegu od 2,28% do 2,64%, dok se u uzorcima supstrata u kojem nije gajena biljka vrednosti kreću od 2,04% do 2,40%. Najniži procenat N (2,04) izmeren je u uzorku supstrata koji je prethodno tretiran Pb, dok je najviši procenat (2,64) izmeren u uzorku u kojem je gajena *Festuca rubra* i u koji je dodat samo GPB2%.

Koncentracije P su niže i u olovom tretiranim i netretiranim uzorcima supstrata u kojima je gajena biljka u odnosu na uzorke supstrata u kojima nije rasla *Festuca rubra*. Sa druge strane nije primećena povezanost između dobijenih vrednosti i dodatka brušit-aluminosilikatnih materijala. U uzorcima u kojima nije gajena biljka koncentracije P se nalaze u opsegu 10200–14151 mg kg<sup>-1</sup>, dok u uzorcima supstrata u kojima je gajena *Festuca rubra* koncentracije variraju u opsegu 7550–10700 mg kg<sup>-1</sup> (Tabela 8). Najviša koncentracija P izmerena je u kontrolnom supstratu i iznosi 14151 mg kg<sup>-1</sup>, dok je najniža koncentracija ovog elementa izmerena u olovom tretiranom uzorku supstrata u kojem je gajena *Festuca rubra* i kojem je prethodno dodat GPB2% (7550 mg kg<sup>-1</sup>; Tabela 8).

Kao i za P, najniže lako pristupačne koncentracije K izmerene su u uzorcima supstrata u kojima je gajena biljka i to u uzorku s dodatkom Pb, gde je izmerena vrednost 14800 mg kg<sup>-1</sup>. Koncentracije K u uzorcima supstrata u kojima je gajena *Festuca rubra* variraju u opsegu 14800–19500 mg kg<sup>-1</sup>, dok u se u uzorcima u kojima nije gajena biljka nalaze u opsegu 20500–23900 mg kg<sup>-1</sup>. Takođe, nisu primećena pravilna variranja u koncentracijama između netretiranih uzoraka i uzoraka koji su prethodno tretirani brušit-aluminosilikatnim materijalima. Iz tabele 8 se može videti da je najviša koncentracija ovog elementa izmerena u uzorku supstrata koji je prethodno tretiran Pb, i to 23900 mg kg<sup>-1</sup>.

Tabela 8. Hemijska svojstva analiziranog supstrata (prikazane kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija, za n=3). Različita slova u tabeli označavaju statistički značajne razlike među uzorcima ( $p < 0,05$ ).

Uzorak	pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>KCl</sub>	C [%]	SOM [g kg <sup>-1</sup> ]	N [%]	P [mg kg <sup>-1</sup> ]	K [mg kg <sup>-1</sup> ]
<b>Kontrola</b>	7,09 abc	6,82 ab	33,4 $\pm$ 4,5 ab	57,6 $\pm$ 7,74 ab	2,24 $\pm$ 0,02 ab	14151 $\pm$ 611 a	22600 $\pm$ 3500 ab
<b>GPB2%</b>	6,59 abc	6,36 a	30,0 $\pm$ 1,6 ab	51,8 $\pm$ 2,7 ab	2,34 $\pm$ 0,04 b	11000 $\pm$ 459 a	20900 $\pm$ 543 ab
<b>GPB4%</b>	6,56 ab	6,37 ab	29,5 $\pm$ 2,9 ab	50,8 $\pm$ 5,0 ab	2,33 $\pm$ 0,12 ab	10300 $\pm$ 1910 a	20500 $\pm$ 2580 ab
<b>GPB6%</b>	6,55 a	6,36 a	28,7 $\pm$ 1,9 ab	49,4 $\pm$ 3,3 ab	2,40 $\pm$ 0,05 ab	13300 $\pm$ 873 a	22400 $\pm$ 473 ab
<b>Pb</b>	7,17 abc	6,91 ab	36,4 $\pm$ 1,6 b	62,8 $\pm$ 2,8 b	2,04 $\pm$ 0,21 a	11700 $\pm$ 712 a	23900 $\pm$ 422 b
<b>Pb+GPB2%</b>	6,81 abc	6,59 ab	31,0 $\pm$ 2,3 ab	53,5 $\pm$ 3,9 ab	2,24 $\pm$ 0,07 ab	10200 $\pm$ 1960 a	21500 $\pm$ 793 ab
<b>Pb+GPB4%</b>	7,06 abc	6,78 ab	24,3 $\pm$ 1,0 a	41,9 $\pm$ 1,8 a	2,07 $\pm$ 0,04 a	12900 $\pm$ 45,4 a	23200 $\pm$ 762 ab
<b>Pb+GPB6%</b>	6,89 abc	6,62 ab	29,7 $\pm$ 2,0 ab	51,1 $\pm$ 3,5 ab	2,11 $\pm$ 0,10 a	12000 $\pm$ 2130 a	22100 $\pm$ 1460 ab
<b><i>F. rubra</i></b>	7,56 abc	6,80 ab	30,8 $\pm$ 1,1 ab	53,0 $\pm$ 1,9 ab	2,58 $\pm$ 0,04 ab	8790 $\pm$ 1150 a	15800 $\pm$ 916 a
<b>GPB2%+<i>F. rubra</i></b>	7,60 abc	6,93 ab	33,1 $\pm$ 1,7 ab	57,1 $\pm$ 3,0 ab	2,64 $\pm$ 0,01 ab	9450 $\pm$ 1720 a	18500 $\pm$ 420 ab
<b>GPB4%+<i>F. rubra</i></b>	7,69 abc	6,90 ab	30,0 $\pm$ 2,1 ab	51,8 $\pm$ 3,7 ab	2,57 $\pm$ 0,04 ab	9270 $\pm$ 364 a	19100 $\pm$ 488 ab
<b>GPB6%+<i>F. rubra</i></b>	7,62 abc	6,94 ab	29,1 $\pm$ 0,7 ab	50,2 $\pm$ 1,1 ab	2,51 $\pm$ 0,03 ab	8730 $\pm$ 1500 a	17100 $\pm$ 309 ab
<b>Pb+<i>F. rubra</i></b>	7,57 abc	6,99 ab	32,9 $\pm$ 2,2 ab	56,8 $\pm$ 3,9 ab	2,41 $\pm$ 0,02 ab	8260 $\pm$ 999 a	14800 $\pm$ 231 a
<b>Pb+GPB2%+<i>F. rubra</i></b>	7,77 bc	7,07 b	31,1 $\pm$ 1,4 ab	53,6 $\pm$ 2,4 ab	2,28 $\pm$ 0,08 ab	7550 $\pm$ 1080 a	17300 $\pm$ 582 ab
<b>Pb+GPB4%+<i>F. rubra</i></b>	7,77 bc	7,08 b	31,3 $\pm$ 1,1 ab	53,9 $\pm$ 2,0 ab	2,34 $\pm$ 0,03 ab	10700 $\pm$ 1660 a	19500 $\pm$ 2490 ab
<b>Pb+GPB6%+<i>F. rubra</i></b>	7,78 c	7,06 ab	32,8 $\pm$ 0,4 ab	56,5 $\pm$ 0,7 ab	2,40 $\pm$ 0,09 ab	8740 $\pm$ 1690 a	17800 $\pm$ 1390 ab

U uzorcima supstrata uočeno je variranje i u dostupnim koncentracijama Mg i Ca (Tabela 9). Koncentracije Mg u uzorcima supstrata variraju u opsegu od 2030 mg kg<sup>-1</sup> do 3310 mg kg<sup>-1</sup>. Najviša koncentracija (3310 mg kg<sup>-1</sup>) izmerena je u uzorku supstrata koji je tretiran sa GPB6%. Nije primećena povezanost porasta koncentracija navedenih elemenata sa udelom dodatog brušita u brušit-aluminosilikatnim materijalima. Takođe, između uzoraka supstrata koji su tretirani i netretirani Pb razlika nije statistički značajna. Izmerene koncentracije Ca iznose od 6580 mg kg<sup>-1</sup> do 11400 mg kg<sup>-1</sup>, i više su u uzorcima u kojima nije gajena *F. rubra*. Najviša koncentracija ovog elementa (11400 mg kg<sup>-1</sup>) izmerena je u uzorku supstrata u koji je dodat GPB4%.

Tabela 9. Dostupne koncentracije magnezijuma i kalcijuma u uzorcima supstrata izražene u mg kg<sup>-1</sup> (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija, za n=3). Statistički značajne razlike među uzorcima su označene različitim slovima (p < 0,05).

Uzorak	Mg	Ca
<b>Kontrola</b>	2730±272 a	10100±446 ab
<b>GPB2%</b>	2030±112 a	11000±479 ab
<b>GPB4%</b>	2180±72 a	11400±195 b
<b>GPB6%</b>	3310±186 a	10400±1850 ab
<b>Pb</b>	2860±91 a	10100±1690 ab
<b>Pb+GPB2%</b>	3050±97 a	10900±313 ab
<b>Pb+GPB4%</b>	2710±107 a	6580±1430 ab
<b>Pb+GPB6%</b>	3230±560 a	11200±264 a
<b><i>F. rubra</i></b>	2980±145 a	8820±236 ab
<b>GPB2%+<i>F. rubra</i></b>	3230±213 a	8460±104 ab
<b>GPB4%+<i>F. rubra</i></b>	2880±35 a	8630±426 ab
<b>GPB6%+<i>F. rubra</i></b>	2900±283 a	9400±639 ab
<b>Pb+<i>F. rubra</i></b>	2920±153 a	9210±413 ab
<b>Pb+GPB2%+<i>F. rubra</i></b>	3050±315 a	9000±381 ab
<b>Pb+GPB4%+<i>F. rubra</i></b>	2860±178 a	8980±864 ab
<b>Pb+GPB6%+<i>F. rubra</i></b>	2820±26 a	8930±178 ab

Pseudo-ukupne koncentracije Pb u uzorcima supstrata u kojima nije gajena biljka značajno opadaju sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih materijala (Tabela 10). Smanjenje koncentracija Pb u uzorcima odgovara povećanju procenta brušita u navedenim materijalima (Pb = 2260 mg kg<sup>-1</sup>, Pb + GPB2% = 2010 mg kg<sup>-1</sup>, Pb + GPB4% = 1850 mg kg<sup>-1</sup>, Pb + GPB6% = 1840 mg kg<sup>-1</sup>).

Isti trend opadanja pseudo-ukupnih koncentracija Pb sa porastom procenta brušita u materijalima uočava se i uzorcima supstrata u kojima je gajena *Festuca rubra*. Naime, u serijama u kojima je gajena biljka su primećene manje razlike u koncentraciji Pb (Pb + *F.rubra* = 1860 mg kg<sup>-1</sup>, Pb + GPB2% + *F.rubra* = 1810 mg kg<sup>-1</sup>, Pb + GPB4% + *F.rubra* = 1810 mg kg<sup>-1</sup>, Pb + GPB6% + *F.rubra* = 1700 mg kg<sup>-1</sup>). U uzorcima supstrata koji nisu tretirani Pb, prisustvo ovog elementa detektovano je u tragovima u odnosu na olovom tretirane uzorke supstrata (Tabela 10). S druge strane, za pristupačne koncentracije Pb u kontrolnim uzorcima i u uzorcima supstrata u kojima je gajena *F. rubra* nije pokazana sledljivost u padu koncentracije Pb u odnosu na prisustvo brušit-aluminosilikatnih materijala i procenta dodatog brušita u njima. Koncentracije Pb u svim uzorcima supstrata koji je prethodno tretiran Pb variraju u opsegu od 213 mg kg<sup>-1</sup> u uzorku Pb + GPB2% do 349 mg kg<sup>-1</sup> koliko je izmereno u uzorku supstrata koji je tretiran samo Pb. U uzorcima supstrata u kojem je gajena biljka pristupačne koncentracije variraju u opsegu 296–338 mg kg<sup>-1</sup> (Tabela 11).

Pseudo-ukupne koncentracije Fe se ne razlikuju značajno među uzorcima supstrata i izmerene su vrednosti u opsegu od 19000 mg kg<sup>-1</sup> do 20200 mg kg<sup>-1</sup>. Razlike pristupačnih koncentracija Fe u uzorcima supstrata su veće, i u uzorcima koji nisu i koji jesu tretirani Pb je primećen porast koncentracije.

Pseudo-ukupne i pristupačne koncentracije Cu variraju u uskom opsegu u uzorcima supstrata nezavisno od tretmana, dok su više koncentracije detektovane u uzorcima u kojima je gajena *F. rubra*. Pseudo-ukupne koncentracije se kreću u opsegu od 28,0 do 47,2 mg kg<sup>-1</sup> (Tabela 10), dok pristupačne koncentracije variraju u opsegu od 1,54 mg kg<sup>-1</sup> do 5,73 mg kg<sup>-1</sup> (Tabela 11).

Nije primećeno statistički značajno variranje u pseudo-ukupnim i pristupačnim koncentracijama Mn između različito tretiranih uzoraka supstrata (Tabela 10). Pseudo-ukupne koncentracije Mn se nalaze u opsegu od 522 mg kg<sup>-1</sup> do 556 mg kg<sup>-1</sup>, a pristupačne od 89,5 mg kg<sup>-1</sup> do 155 mg kg<sup>-1</sup>. Uočen je pad pristupačnih koncentracija Mn u uzorcima supstrata koji je prethodno tretiran Pb i u kojem je gajena *F. rubra* (Tabela 11) sa dodatkom materijala i on odgovara povećanju udela brušita u brušit-aluminosilikatnim materijalima. Ove koncentracije variraju u opsegu od 91,4 mg kg<sup>-1</sup> u uzorku Pb + GPB6% + *F. rubra* do 109 mg kg<sup>-1</sup> koja je izmerena u uzorku Pb + *F.rubra*.

Pseudo-ukupne i pristupačne koncentracije Ni variraju među uzorcima supstrata u uskom opsegu, osim za uzorak supstrata u koji je tretiran Pb i GPB6% u kojem je gajena biljka i u kojem pseudo-ukupna koncentracija Ni iznosi 72 mg kg<sup>-1</sup> (Tabela 10). Takođe, nije primećen jasan trend unutar različitih serija i pseudo-ukupne koncentracije Ni se kreću u opsegu od 7,78 mg kg<sup>-1</sup> do 72 mg kg<sup>-1</sup>, sa pristupačnim koncentracijama Ni u opsegu od 0,44 mg kg<sup>-1</sup> do 2,45 mg kg<sup>-1</sup> (Tabela 10 i 11). U slučaju sadržaja pristupačnog Ni niže koncentracije su izmerene u uzorcima supstrata u kojima je gajena *Festuca rubra* (Tabela 11).

Kod pseudo-ukupnih i pristupačnih koncentracija Zn nisu uočena izražena variranja u koncentracijama ovog elementa u različitim uzorcima supstrata. Pseudo-ukupne koncentracije Zn se kreću u opsegu od 2330 mg kg<sup>-1</sup> do 2640 mg kg<sup>-1</sup>, dok se pristupačne koncentracije Zn kreću u opsegu od 49,6 mg kg<sup>-1</sup> do 64,6 mg kg<sup>-1</sup>.

Primećuje se pad pristupačnih koncentracija ovog elementa u uzorcima supstrata tretiranih Pb u kojem je gajena biljka, sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih materijala, koji odgovara udelu brušita u materijalima. Međutim, razlike u koncentracijama nisu značajne, što se može videti u tabelama 10 i 11.

Rezultati ukazuju na porast pseudo-ukupnih koncentracija Cr nakon dodavanja brušit-aluminosilikatnih materijala u svim ispitivanim serijama, dok su pristupačne koncentracije Cr u supstratu ispod nivoa detekcije. Koncentracije ovog elementa variraju u opsegu od 3,22 mg kg<sup>-1</sup> do 8,39 mg kg<sup>-1</sup>. Što se tiče koncentracija Cd i Co u supstratu, one variraju u opsegu 0,06–1,92 mg kg<sup>-1</sup> i kod pseudo-ukupnih i kod pristupačnih koncentracija elemenata (Tabela 10 i 11).

Tabela 10. Pseudo-ukupne koncentracije elemenata u uzorcima supstrata izražene u mg kg<sup>-1</sup> (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija, za n=3). Različitim slovima su označene statistički značajne razlike među uzorcima (p < 0,05).

Uzorak	Pb	Fe	Cu	Mn	Ni	Zn	Cr	Cd	Co
<b>kontrola</b>	5,05±0,50 a	19700±327 a	30,7±2,1 a	544±8 a	8,99±0,76 a	2420±40 a	3,22±0,20 a	0,13±0,02 a	1,36±0,20 ab
<b>GPB2%</b>	8,31±1,09 ab	19800±184 a	28,6±2,8 a	546±4 a	11,1±0,9 a	2430±23 a	6,34±1,53 ab	0,10±0,04 a	1,78±0,26 ab
<b>GPB4%</b>	10,3±0,4 ab	19600±751 a	33,0±8,6 a	540±20a	10,2±0,2 a	2420±93 a	5,43±0,59 ab	0,08±0,01 a	1,45±0,01 ab
<b>GPB6%</b>	6,99±0,31 ab	20000±574 a	28,0±1,5 a	552±16 a	9,61±0,43 a	2450±71 a	4,86±0,01 ab	0,07±0,02 a	1,34±0,02 ab
<b>Pb</b>	2260±237 b	19700±667 a	31,1±0,8 a	543±16 a	9,55±0,15 a	2410±82 a	3,64±0,07 ab	0,17±0,02 a	1,64±0,07 ab
<b>Pb+GPB2%</b>	2010±56 ab	19400±922 a	32,3±0,2 a	535±24 a	11,5±0,2 a	2370±114 a	6,96±0,25 ab	0,17±0,00 a	1,87±0,06 b
<b>Pb+GPB4%</b>	1850±68 ab	19700±1020 a	31,5±0,5 a	543±27 a	11,3±0,2 a	2410±125 a	6,94±0,57 ab	0,19±0,02 a	1,92±0,10 b
<b>Pb+GPB6%</b>	1840±47 ab	19800±382 a	43,9±1,5 a	547±10 a	9,12±1,75 a	2430±46 a	6,73±0,20 ab	0,17±0,01 a	0,21±0,00 a
<b><i>F. rubra</i></b>	5,01±0,25 a	20200±223 a	46,9±2,2 a	556±6 a	7,83±0,32 a	2480±27 a	5,68±0,25 ab	0,13±0,01 a	1,18±0,06 ab
<b>GPB2%+<i>F. rubra</i></b>	10,1±0,9 ab	19000±545 a	44,3±1,9 a	525±16 a	9,11±0,53 a	2330±67 a	8,25±1,22 b	0,13±0,02 a	1,28±0,15 ab
<b>GPB4%+<i>F. rubra</i></b>	10,3±0,4 ab	19500±778 a	47,2±1,1 a	537±20 a	8,53±0,07 a	2390±96 a	6,96±0,12 ab	0,12±0,01 a	1,13±0,06 ab
<b>GPB6%+<i>F. rubra</i></b>	8,14±1,92 ab	19000±143 a	43,5±0,4 a	522±3 a	8,59±0,37 a	2330±17 a	7,73±1,39 ab	0,09±0,01 a	1,08±0,13 ab
<b>Pb+<i>F. rubra</i></b>	1860±151 ab	20000±378 a	46,5±1,1 a	554±9 a	7,78±0,55 a	2460±47 a	5,92±0,44 ab	0,18±0,02 a	1,29±0,10 ab
<b>Pb+GPB2%+<i>F. rubra</i></b>	1810±15 ab	19800±844 a	45,3±0,2 a	542±22 a	8,83±0,03 a	2430±104 a	8,39±0,64 b	0,17±0,02 a	1,37±0,08 ab
<b>Pb+GPB4%+<i>F. rubra</i></b>	1810±28 ab	20000±61 a	31,7±1,6 a	550±1 a	10,9±0,8 a	2460±7 a	6,47±1,12 ab	0,19±0,02 a	1,43±0,08 ab
<b>Pb+GPB6%+<i>F. rubra</i></b>	1700±66 ab	20000±295 a	39,3±0,6 a	549±9 a	72,0±0,7 a	2640±5 a	6,57±0,29 ab	0,17±0,02 a	1,32±0,06 ab

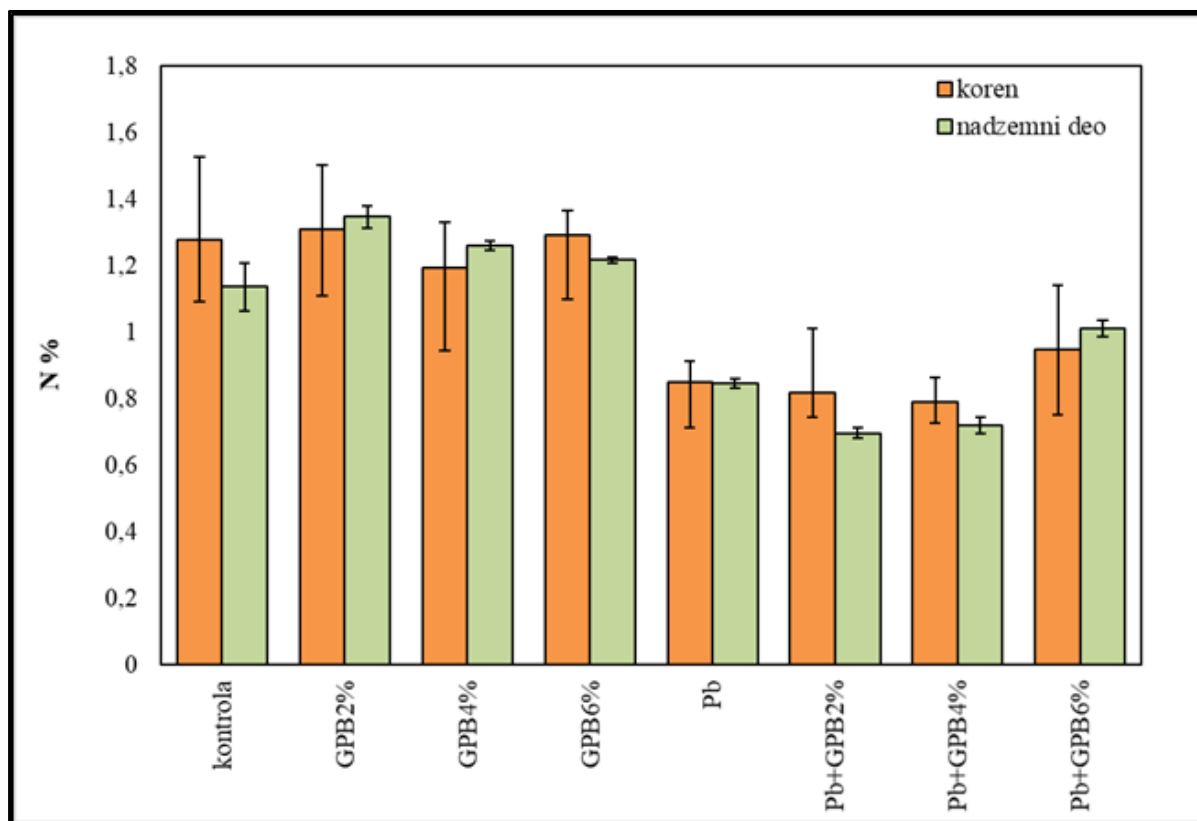
Tabela 11. Pristupačne koncentracije elemenata u različitim uzorcima supstrata izražene u mg kg<sup>-1</sup> (prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija, za n=3). Različita slova u tabeli (a i b) označavaju statistički značajne razlike među uzorcima (p < 0,05).

Uzorak	Pb	Fe	Cu	Mn	Ni	Zn	Cr	Cd	Co
<b>kontrola</b>	1,62±0,34 ab	106±4 a	2,44±0,13ab	131±4 a	2,15±0,02 ab	60,4±0,4 a	<LOD a	0,26±0,03a	1,67±0,33 b
<b>GPB2%</b>	2,03±0,44 ab	138±3 a	2,59±0,03 ab	146±6 a	1,81±0,18 a	63,5±0,9 a	1,71±0,05 b	0,11±0,02 a	0,98±0,16 ab
<b>GPB4%</b>	1,89±0,45 ab	156±9 a	2,32±0,10 ab	155±10 a	2,02±0,16 ab	62,0±0,4 a	0,78±0,05 ab	0,12±0,02 a	1,20±0,21 ab
<b>GPB6%</b>	2,77±0,65 ab	160±13 a	2,51±0,07 ab	151±5 a	2,09±0,18 ab	59,1±0,2 a	<LOD a	<LOD a	0,80±0,15 ab
<b>Pb</b>	349±50 ab	133±6 a	2,01±0,08 ab	144±3 a	2,45±0,15 b	64,6±3,1 a	<LOD a	0,06±0,01 a	0,78±0,14 ab
<b>Pb+GPB2%</b>	213±22 ab	159±3 a	2,06±0,35 ab	148±2 a	2,04±0,03 ab	61,8±1,0 a	<LOD a	0,15±0,03 a	0,63±0,13 ab
<b>Pb+GPB4%</b>	232±9 ab	156±8 a	1,54±0,30 a	149±5 a	1,80±0,09 ab	50,1±1,5 a	<LOD a	0,12±0,01 a	0,25±0,04 a
<b>Pb+GPB6%</b>	233±7 ab	155±4 a	1,98±0,11 ab	148±3 a	1,04±0,15 ab	56,8±1,4 a	<LOD a	0,22±0,05 a	0,49±0,10 ab
<b><i>F. rubra</i></b>	1,06±0,07 ab	158±9 a	3,86±0,16 ab	90,0±2,0 a	0,53±0,10 ab	51,5±0,5 a	<LOD a	0,15±0,00 a	0,42±0,11 ab
<b>GPB2%+<i>F. rubra</i></b>	1,16±0,20 ab	145±6 a	3,58±0,12 ab	97,6±6,0 a	0,44±0,04 ab	51,4±2,3 a	<LOD a	0,18± 0,02 a	0,68±0,03 ab
<b>GPB4%+<i>F. rubra</i></b>	1,09±0,24 ab	149±1 a	3,59±0,13 ab	101±2 a	0,56±0,05 ab	51,5±2,3 a	<LOD a	0,19±0,01 a	0,54±0,22 ab
<b>GPB6%+<i>F. rubra</i></b>	0,09±1 a	105±1 a	4,43±0,01 ab	89,5±3,5 a	0,67± 0,01ab	50,6±1,2 a	<LOD a	0,20±0,00 a	0,46±0,01 ab
<b>Pb+<i>F. rubra</i></b>	310±6 ab	104±4 a	5,02±0,46 ab	109±2 a	0,58± 0,26ab	61,6±2,6 a	<LOD a	0,22±0,02 a	0,66±0,10 ab
<b>Pb+GPB2%+<i>F. rubra</i></b>	338±6 b	103±5 a	5,18±0,04 ab	105±2 a	0,54±0,04 ab	55,8±0,1 a	<LOD a	0,24±0,02 a	0,84±0,28 ab
<b>Pb+GPB4%+<i>F. rubra</i></b>	296±15 ab	96,2±4,9 a	5,73±0,01 b	94,5±3,4 a	0,62±0,11 ab	50,6±3,0 a	<LOD a	0,23±0,01 a	0,74±0,33 ab
<b>Pb+GPB6%+<i>F. rubra</i></b>	301±11 ab	92,3±11,5 a	5,36±0,38 ab	91,4±5,0 a	0,62±0,20 ab	49,6±3,0 a	<LOD a	0,24±0,01 a	0,73±0,10 ab

#### 4.4. Koncentracije elemenata u biljnom materijalu

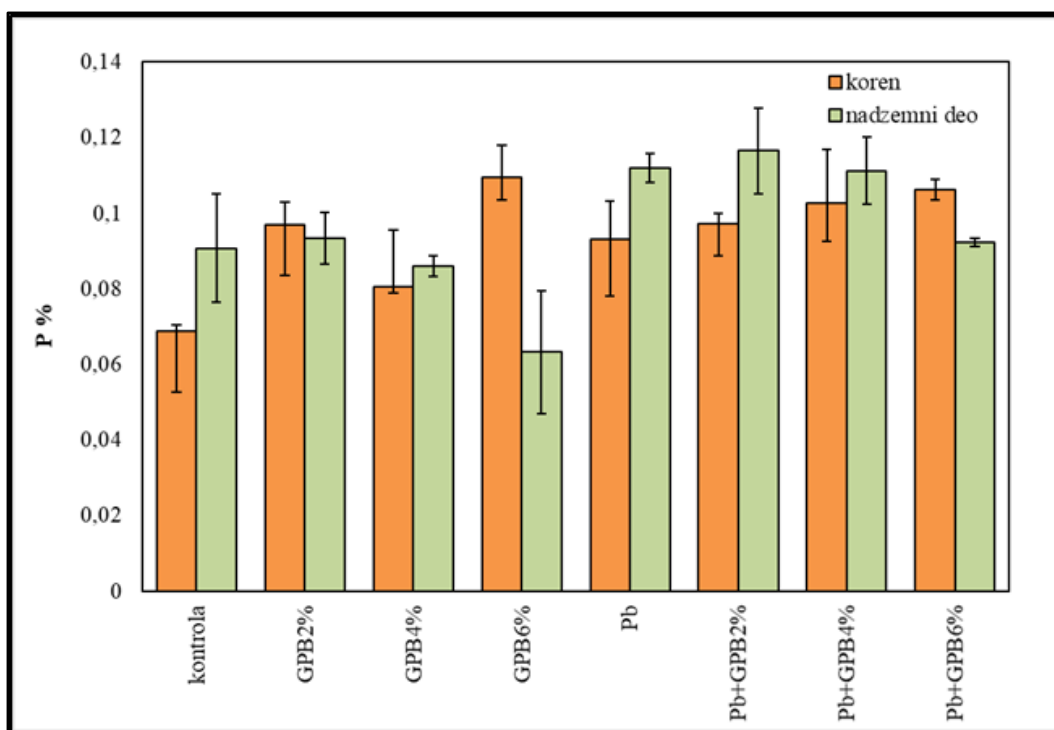
Sadržaj analiziranih elemenata N, P, K, Mg, Ca, Fe, Cu, Mn, Ni, Zn, Cr, Cd, Co i Pb u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* je prikazan na sledećim grafikovima 28–41, kao i u prilogima 1 i 2.

Vrednosti udela N u uzorcima korenova i nadzemnih delova *Festuca rubra* variraju u uskom opsegu kao što je prikazano na grafikonu (Slika 28). Kod uzoraka tretiranih Pb uočava se niži procenat N. Najveći udeo ovog elementa detektovan je u nadzemnom delu biljke koja je gajena u supstratu tretiranom GPB2% (1,35%), dok najniži procenat N sadrži uzorak nadzemnog dela *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom Pb i GPB2% (0,7%; Prilog 2).



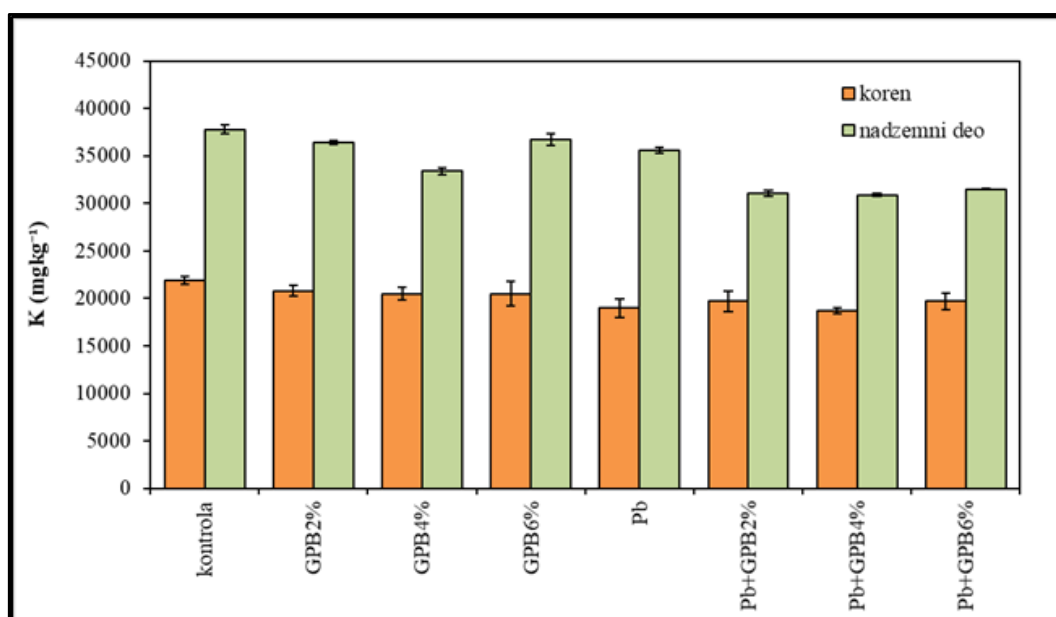
Slika 28. Procenat azota u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.

Udeo P se značajno ne razlikuje među različito tretiranim biljnim uzorcima i varira u opsegu od 0,06% do 0,12% (Slika 29). Takođe, nije primećena pravilnost između i unutar serija eksperimenata, osim u slučaju uzorka korena biljke koja je gajena u supstratu tretiranom Pb gde je detektovan porast udela P sa dodatkom brušita u brušit-aluminosilikatnim materijalima. Udeo P je veći u nadzemnim delovima biljaka koje su gajene u supstratu koji je prethodno tretiran Pb, sa najvećim vrednostima zabeleženim u uzorku koji je dodatno tretiran i GPB2% (0,12%; Prilog 2).



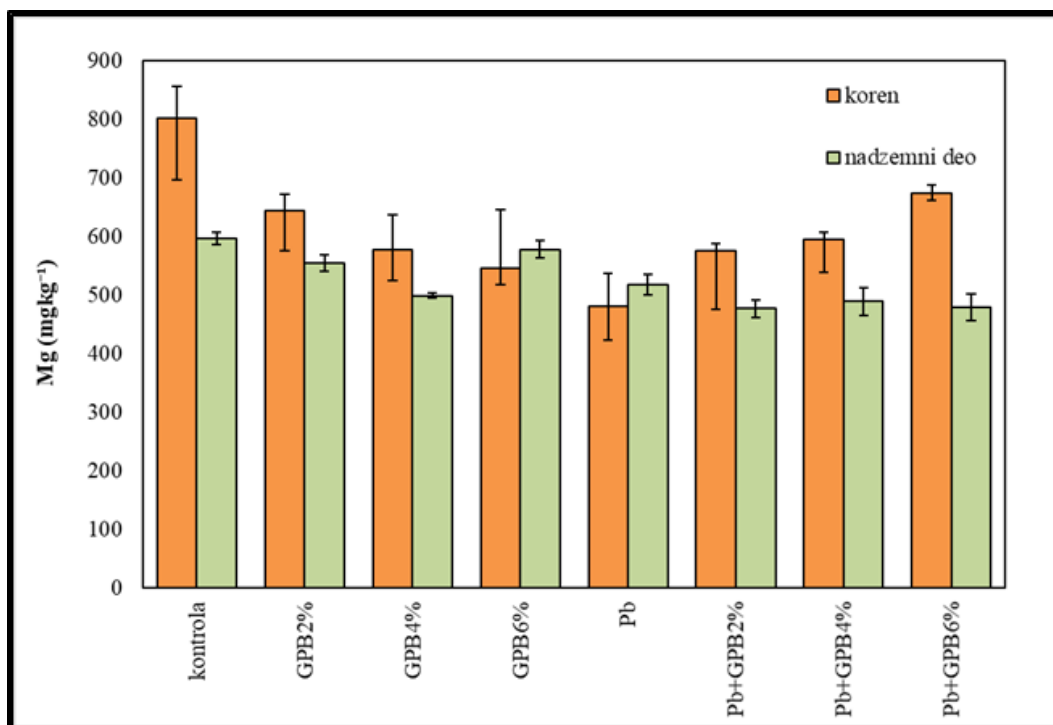
Slika 29. Procenat fosfora u korenu i nadzemnom delu različitih uzoraka *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.

Kada su u pitanju koncentracije K evidentna je razlika među različitim delovima biljke. Skoro dvostruko veće koncentracije K izmerene su u uzorcima nadzemnih delova u odnosu na korenove. Koncentracije K u nadzemnim delovima iznose 30900–37800 mg kg<sup>-1</sup>, dok su koncentracije ovog elementa u korenu 18700–21900 mg kg<sup>-1</sup> (Slika 30; Prilog 1 i 2). Najviše koncentracije izmerene su u kontrolnom uzorku, dok su najniži sadržaj K detektovan u biljci koja je gajena u supstratu tretiranom Pb i GPB4%.



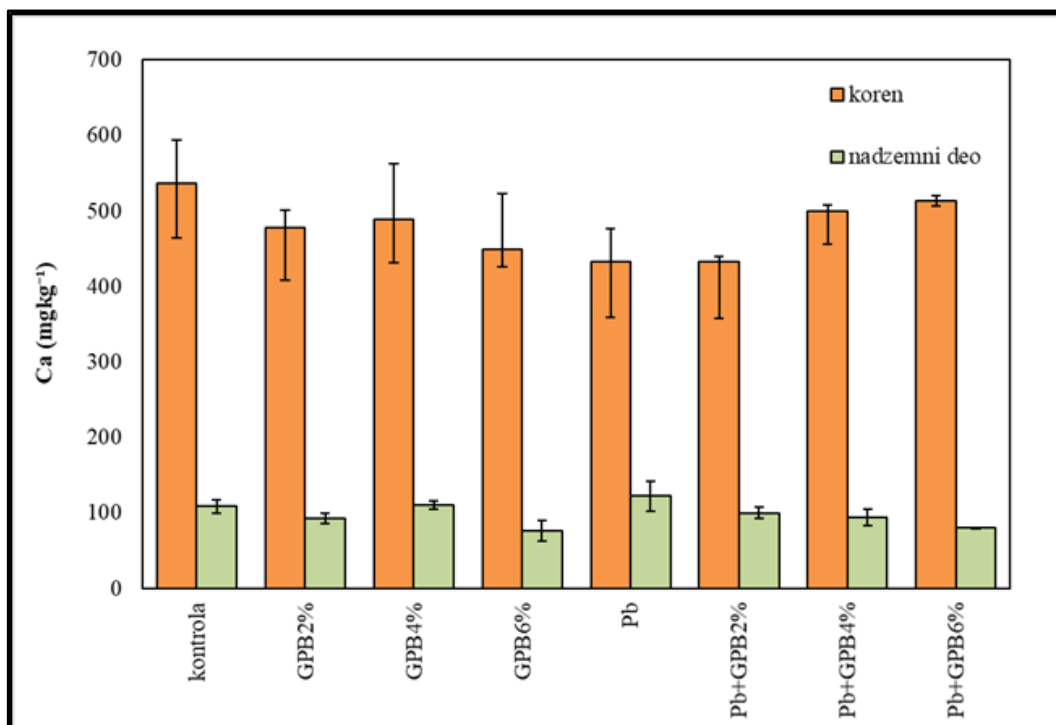
Slika 30. Koncentracije kalijuma u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.

Koncentracije Mg u korenovima i nadzemnim delovima biljnih uzoraka imaju približne vrednosti koje se kreću u opsegu od 477 mg kg<sup>-1</sup> do 675 mg kg<sup>-1</sup>, osim u slučaju korena kontrolnog uzorka biljke u kome su izmerene značajno više koncentracije ovog elementa (kontrola = 803 mg kg<sup>-1</sup>; Slika 31) (Prilog 1 i 2). Pad koncentracije ovog elementa uočava se u uzorcima korenova biljaka koje su gajene na zemljištu sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala i prati udeo dodatog brušita (kontrola = 803 mg kg<sup>-1</sup>, GPB2% = 644 mg kg<sup>-1</sup>, GPB4% = 578 mg kg<sup>-1</sup>, GPB6% = 546 mg kg<sup>-1</sup>). U uzorcima korenova biljaka koje su gajene u supstratu koji je prethodno tretiran Pb primećen je obrnut trend (Pb = 480 mg kg<sup>-1</sup>, Pb + GPB2% = 576 mg kg<sup>-1</sup>, Pb + GPB4% = 596 mg kg<sup>-1</sup>, Pb + GPB6% = 675 mg kg<sup>-1</sup>).

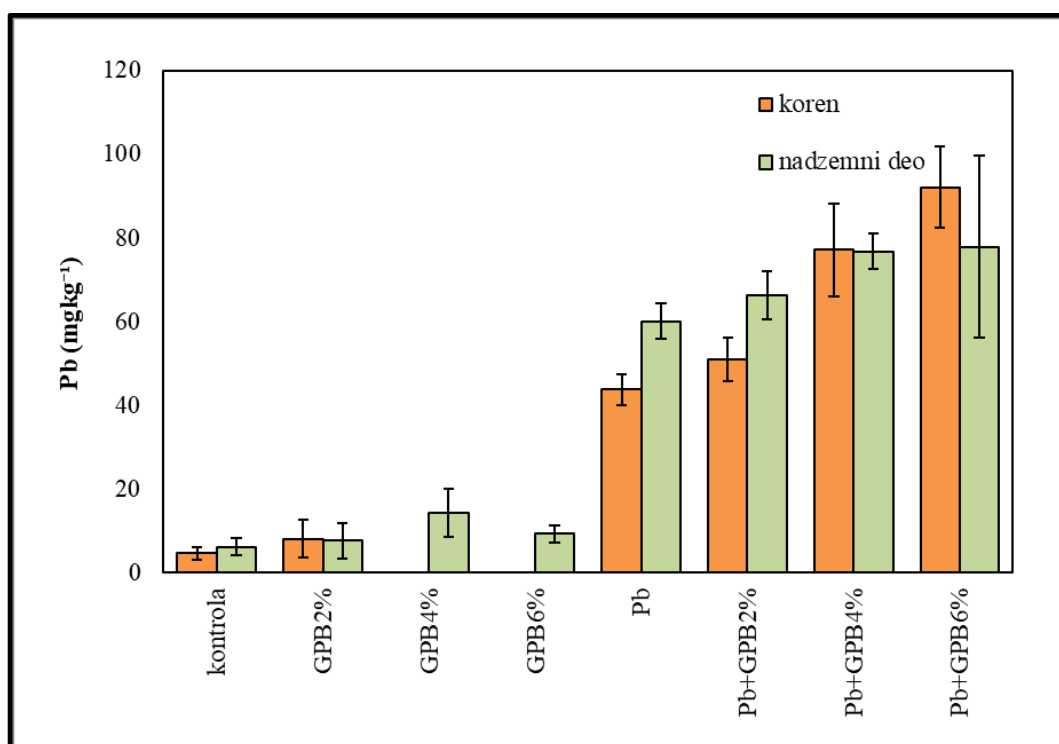


Slika 31. Koncentracije magnezijuma u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.

Koncentracije Ca se veoma razlikuju između uzoraka korenova i nadzemnih delova (Slika 32). U uzorcima korenova su zabeležene oko 5 puta više koncentracije ovog elementa i one se kreću u opsegu između 433 mg kg<sup>-1</sup> i 537 mg kg<sup>-1</sup>, dok se koncentracije u uzorcima nadzemnih organa kreću između 76,6 mg kg<sup>-1</sup> i 122 mg kg<sup>-1</sup> (Prilog 1 i 2). Najviša koncentracija Ca (537 mg kg<sup>-1</sup>) izmerena je u korenu kontrolnog uzorka. Trend porasta koncentracije ovog elementa u uzorcima gajenim u supstratu sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih materijala primećen je jedino u uzorcima korena biljaka gajenim u supstratu tretiranom Pb i prati porast procenta dodatog brušita.



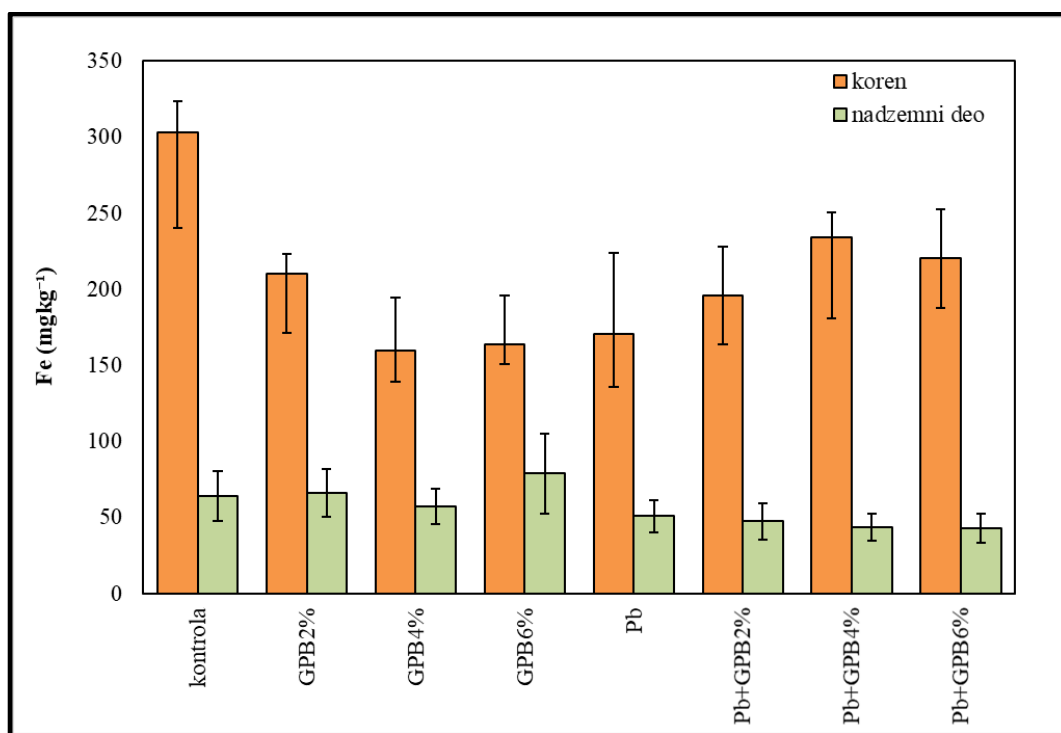
Slika 32. Koncentracije kalcijuma u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.



Slika 33. Koncentracije olova u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.

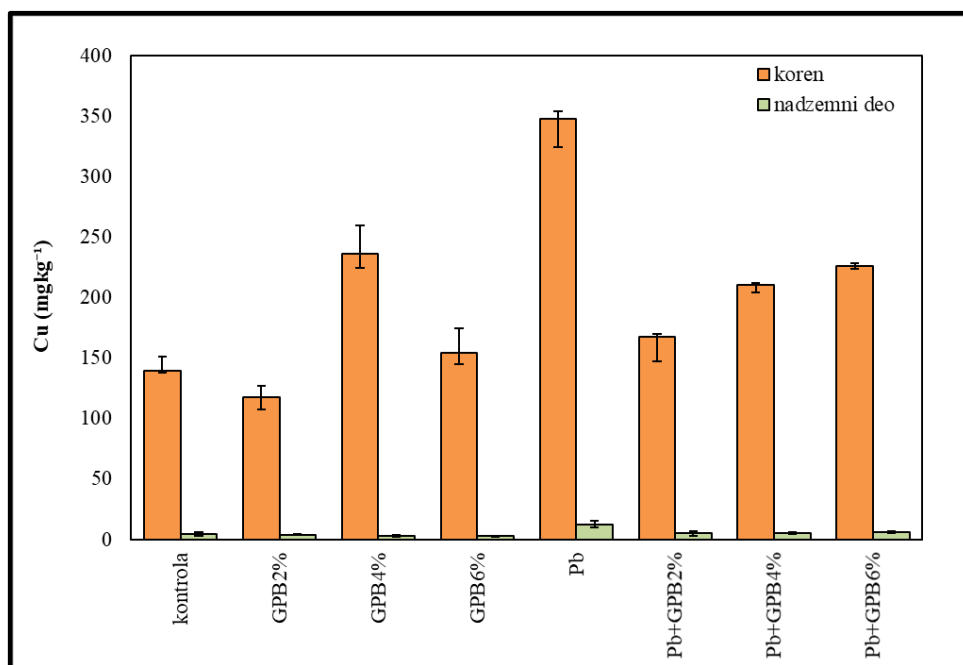
Koncentracije Pb u biljkama koje su gajene na zemljištu netretiranom Pb su znatno niže u odnosu na koncentracije Pb u uzorcima koji su gajeni u supstratu koji je tretiran Pb, što se uočava i na slici 33. Što se tiče korena *Festuca rubra* gajenih u olovom netretiranom supstratu, koncentracije su detektovane u dva od četiri uzorka Pb i iznose  $4,57 \text{ mg kg}^{-1}$  i  $7,99 \text{ mg kg}^{-1}$ , dok se u uzorcima nadzemnih delova biljaka nalaze u opsegu  $6,09\text{--}14,3 \text{ mg kg}^{-1}$  (Prilog 1 i 2). Kod biljaka koje su gajene u olovom tretiranom supstratu, uočljiv je trend porasta koncentracije ovog elementa u biljci sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala, koji prati porast udela brušita u njima ( $\text{Pb} < \text{Pb} + \text{GPB}2\% < \text{Pb} + \text{GPB}4\% < \text{Pb} + \text{GPB}6\%$ ). Međutim, u slučaju nadzemnog dela, porast koncentracije u okviru serije je blaži ( $\text{Pb} = 60,1 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $\text{Pb} + \text{GPB}2\% = 66,4 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $\text{Pb} + \text{GPB}4\% = 76,7 \text{ mg kg}^{-1}$  i  $\text{Pb} + \text{GPB}6\% = 77,9 \text{ mg kg}^{-1}$ ), dok je u slučaju korena porast koncentracija izraženiji i izmerene vrednosti Pb u uzorku biljke koja je gajena u supstratu sa dodatim GPB6% su više nego udvostručene nego u uzorku biljke koja je gajena u supstratu bez dodatog materijala ( $\text{Pb} = 43,7 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $\text{Pb} + \text{GPB}2\% = 50,9 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $\text{Pb} + \text{GPB}4\% = 77,1 \text{ mg kg}^{-1}$  i  $\text{Pb} + \text{GPB}6\% = 92,1 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Prilog 1 i Prilog 2).

Što se tiče sadržaja Fe u biljnim uzorcima, koncentracije se izrazito razlikuju između korenova i nadzemnih organa. Koncentracije u korenovima su od oko 2 puta, izmereno u uzorku biljke gajene na zemljištu koje je tretirano sa GPB6%, do oko 5 puta viši, što je zabeleženo u kontrolnom uzorku (Slika 34). Uočava se nagli pad koncentracija Fe u uzorcima korenova biljaka gajenih na zemljištu tretiranom samo brušit-aluminosilikatnim geopolimernim materijalom, dok je sa druge strane primećen blagi porast ovog elementa u uzorcima koji su gajeni u supstratu koji je tretiran Pb i brušit-aluminosilikatnim materijalima. Koncentracije u uzorcima korenova se nalaze u opsegu od  $160 \text{ mg kg}^{-1}$  do  $303 \text{ mg kg}^{-1}$ , dok se u nadzemnim delovima biljke kreću od  $43,1 \text{ mg kg}^{-1}$  do  $78,9 \text{ mg kg}^{-1}$ . Najviša koncentracija Fe izmerena je u korenu kontrolnog uzorka i ona iznosi  $303 \text{ mg kg}^{-1}$  (Prilog 1 i 2).

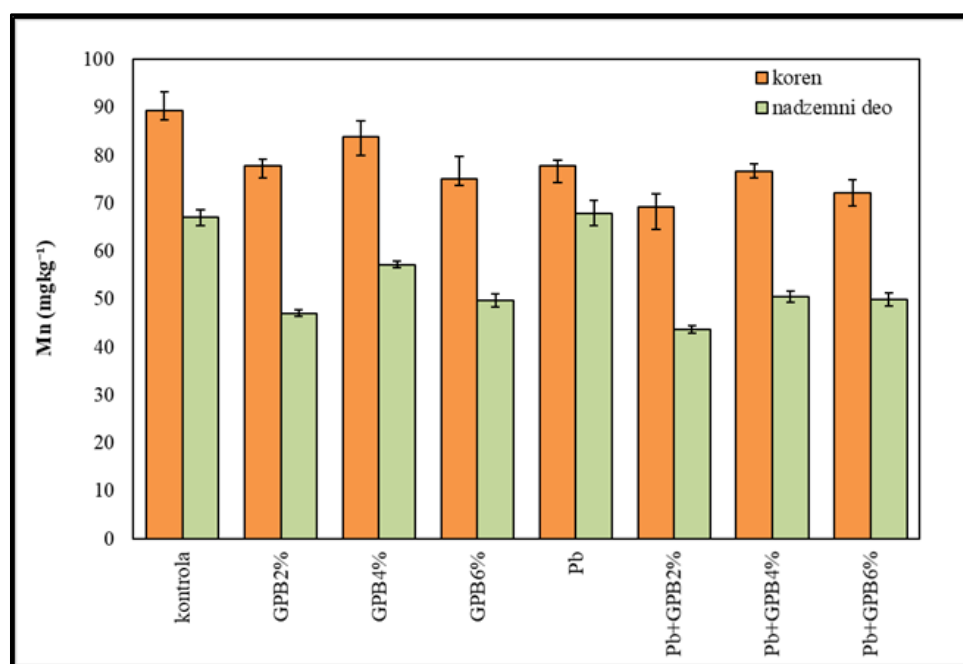


Slika 34. Koncentracije gvožđa u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.

Koncentracije Cu u nadzemnim delovima biljke zanemarljive su u odnosu na koncentracije ovog elementa u korenovima i nalaze se u opsegu od 2,7 mg kg<sup>-1</sup> do 12,5 mg kg<sup>-1</sup> (Slika 35). Primećen je blagi porast u nadzemnim delovima uzorka biljaka koje su gajene u supstratima tretiranim Pb u odnosu na uzorke sa olovom netretiranih supstrata. Koncentracije Cu u uzorcima korenova variraju rangom od 118 mg kg<sup>-1</sup> do 348 mg kg<sup>-1</sup> i nije primećena izrazita pravilnost u njihovom porastu ili smanjenju u zavisnosti od prisustva brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala u supstratu (Prilog 1 i 2). U uzorku korena biljke koja je gajena u supstratu tretiranom samo Pb izmerena je maksimalna koncentracija (348 mg kg<sup>-1</sup>), kao u njenom nadzemnom delu (12,5 mg kg<sup>-1</sup>).



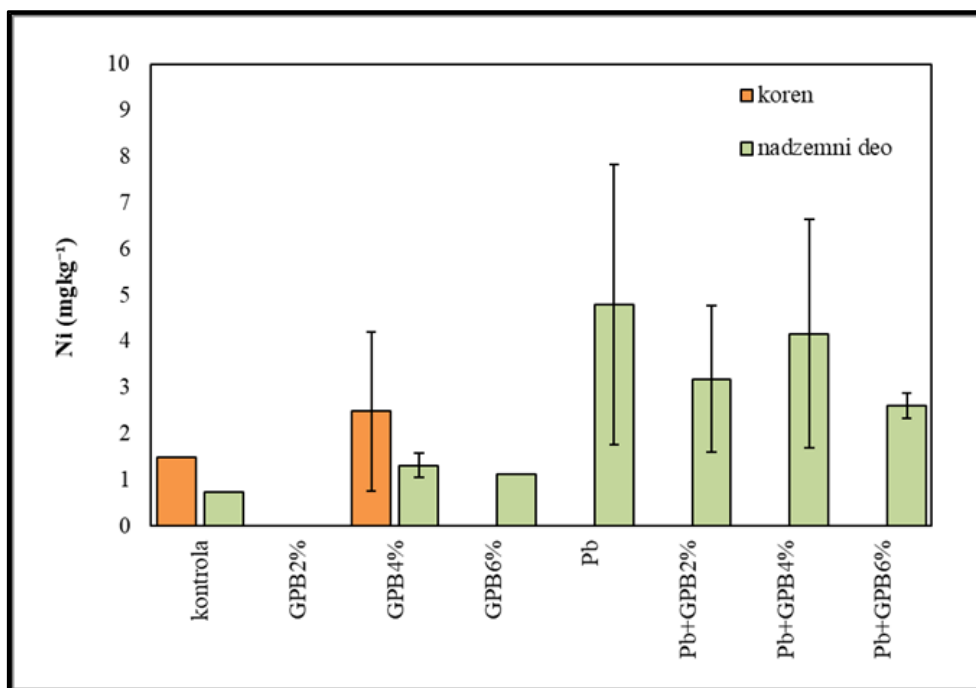
Slika 35. Koncentracije bakra u korenu i nadzemnom delu uzoraka *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.



Slika 36. Koncentracije mangana u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.

Koncentracije Mn u uzorcima korenova se nalaze u opsegu od 69,3 mg kg<sup>-1</sup> do 89,4 mg kg<sup>-1</sup>, dok se koncentracije u uzorcima nadzemnih delova nalaze u opsegu od 43,6 mg kg<sup>-1</sup> do 67,9 mg kg<sup>-1</sup> (Prilog 1 i 2). Primećen je pad koncentracije ovog elementa u nadzemnim delovima biljaka koje su gajene i u olovom netretiranim i tretiranim uzorcima supstrata, nakon dodavanja brušit-aluminosilikatnih materijala (Slika 36).

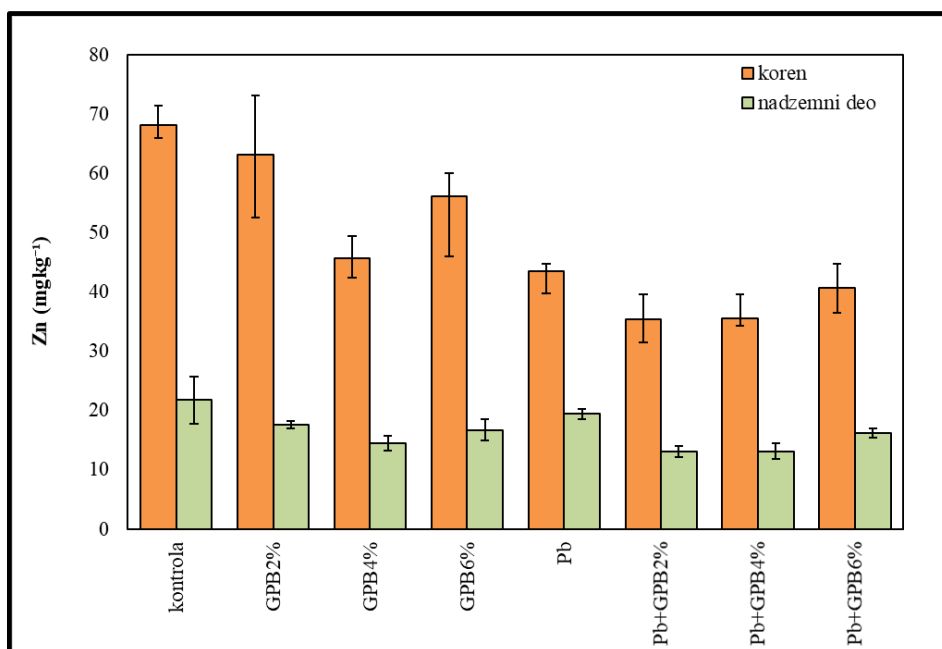
U svim uzorcima biljnog materijala izmerene su niske koncentracije Ni kao što je prikazano na grafikonu (Slika 37). Detektovane koncentracije u nadzemnim delovima biljke variraju u opsegu od 0,74 mg kg<sup>-1</sup> do 4,79 mg kg<sup>-1</sup>, koja je izmerena u biljci gajenom u supstratu tretiranom samo Pb. Što se tiče uzoraka korenova, Ni je detektovan u kontrolnom uzorku (1,48 mg kg<sup>-1</sup>) i u uzorku biljke koja je rasla na supstratu tretiranom GPB4% (2,48 mg kg<sup>-1</sup>) (Prilog 1 i 2).



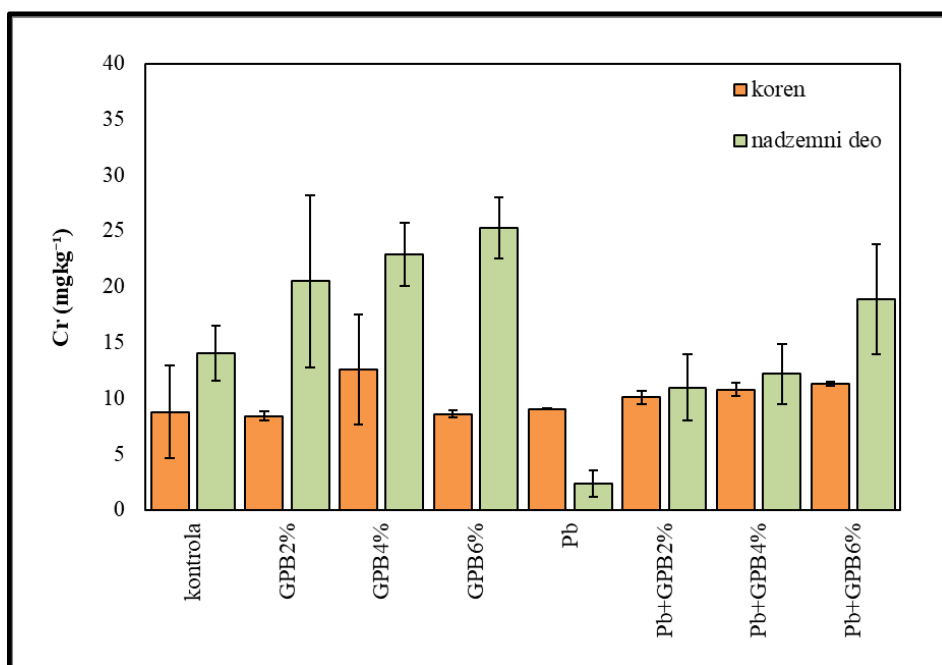
Slika 37. Koncentracije nikla u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.

Koncentracije Zn variraju među biljnim uzorcima, bez jasne pravilnosti u odnosu na tretman brušit-aluminosilikatnim materijalima. Koncentracije ovog elementa opadaju u biljkama gajenim na zemljištima tretiranim Pb i onim tretiranim Pb i geopolimerima (Slika 38). Izmerene koncentracije Zn u uzorcima korena su nekoliko puta veće od onih u uzorcima nadzemnih delova i nalaze se u opsegu od 35,4 mg kg<sup>-1</sup> do 68,2 mg kg<sup>-1</sup>, što je i maksimalna koncentracija, a detektovana je u kontrolnom uzorku (Prilog 1). Koncentracije ovog elementa u nadzemnim delovima biljke se kreću od 13,1 mg kg<sup>-1</sup> do 21,8 mg kg<sup>-1</sup> (Prilog 2).

U korenu biljnih uzoraka koncentracije Cr se kreću u uskom opsegu 8,41–12,6 mg kg<sup>-1</sup> i u uzorcima koji su gajeni u supstratu koji je prethodno tretiran Pb evidentiran je porast Cr po dodavanju brušit-aluminosilikatnih materijala. U nadzemnim delovima biljke koncentracije Cr variraju u opsegu od 2,36 mg kg<sup>-1</sup> do 25,3 mg kg<sup>-1</sup> (Prilog 2). Kod ovih uzoraka je takođe primećen porast koncentracije Cr sa dodavanjem brušit-aluminosilikatnih materijala i kod tretiranih i kod olovom netretiranih serija i u skladu je sa porastom brušita u istim (Slika 39).

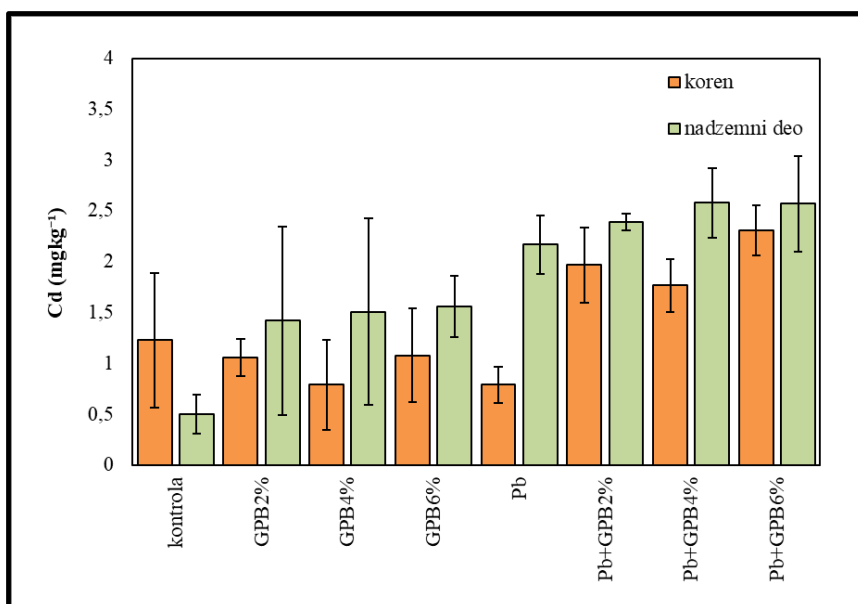


Slika 38. Koncentracije cinka u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.



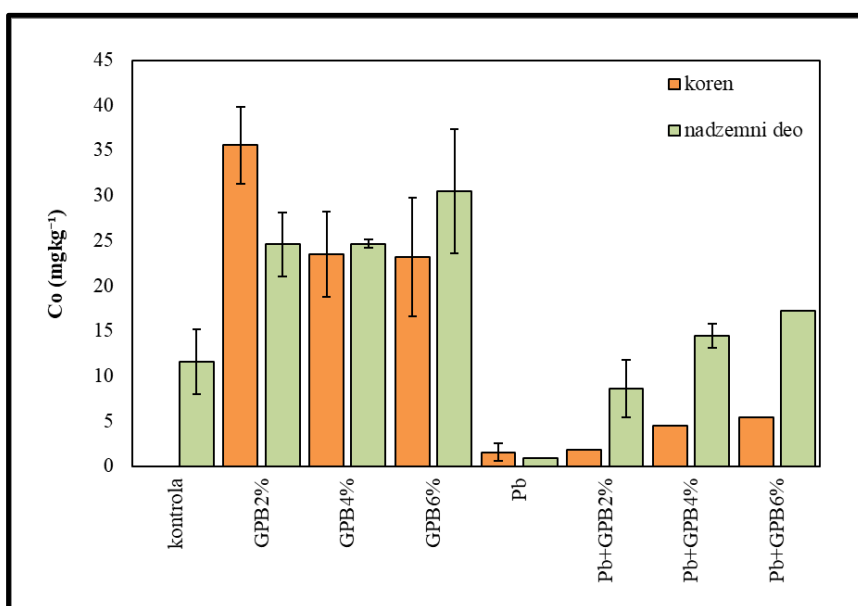
Slika 39. Koncentracije hroma u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.

Izmerene su niske koncentracije Cd u svim analiziranim uzorcima (Slika 40; Prilog 1 i 2). U uzorcima nadzemnih delova primećen je porast koncentracije ovog elementa nakon dodavanja brušit-aluminosilikatnih materijala koji odgovara porastu udela brušita u njima. Takođe, među ovim uzorcima izmerene su više koncentracije Cd u seriji koja je tretirana Pb. Koncentracije u uzorcima nadzemnog dela biljke koja je gajena u supstratu bez Pb variraju u opsegu 0,50–1,56 mg kg<sup>-1</sup>, a u uzorcima *F. rubra* sa supstrata tretiranog Pb izmerene koncentracije su u opsegu 2,17–2,58 mg kg<sup>-1</sup>. U uzorcima korena koncentracije variraju u opsegu od 0,79 mg kg<sup>-1</sup> do 2,31 mg kg<sup>-1</sup>.



Slika 40. Koncentracije kadmijuma u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.

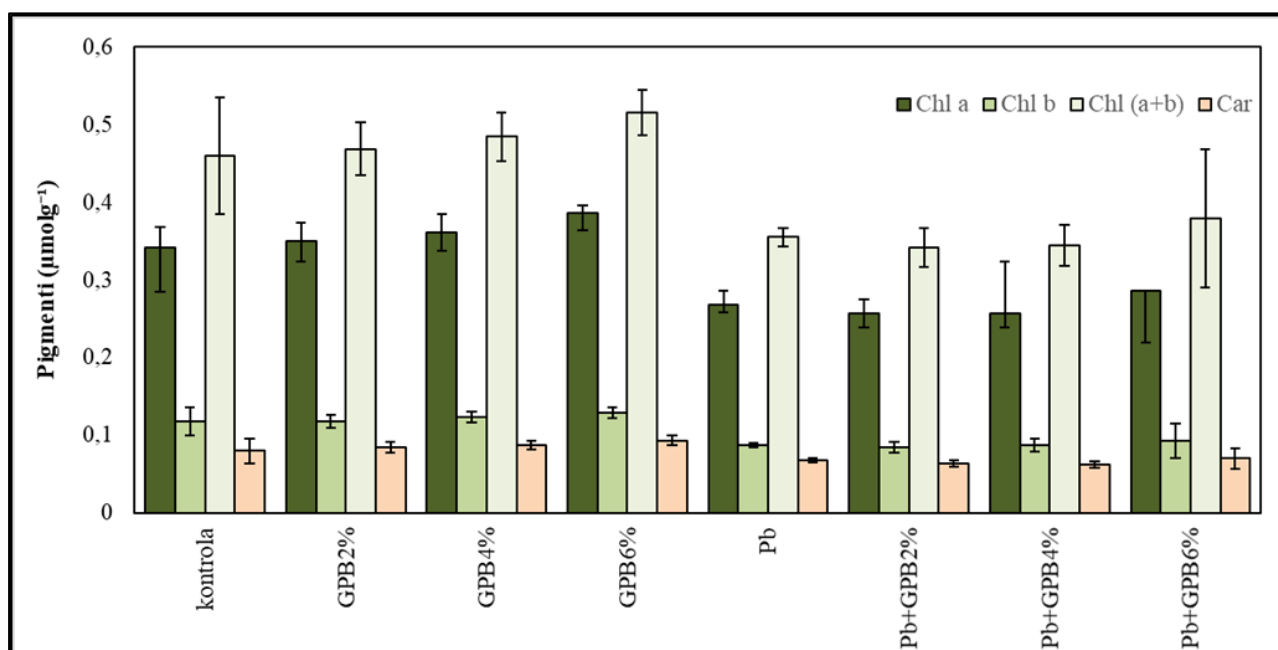
Koncentracije Co variraju između različitih serija kao što je prikazano na grafikonu (Slika 41). U uzorcima *Festuca rubra* koja je gajena u supstratu tretiranom Pb izmerene su niže koncentracije ovog elementa u odnosu na uzorke sa supstrata bez Pb i u nadzemnom delu i u korenu, osim za kontrolni uzorak. Takođe, u ovoj seriji primećen je porast koncentracije u uzorcima biljaka koje su gajene u supstratu sa brušit-aluminosilikatnim materijalima i odgovara porastu udela brušita u njima. U uzorcima korenova koncentracije variraju 1,58–5,44 mg kg<sup>-1</sup> kod biljaka koje su rasle na supstratu koji je tretiran Pb, dok se kod biljaka sa zemljišta bez Pb koncentracije nalaze u opsegu 23,2–35,6 mg kg<sup>-1</sup> (Prilog 1). Jedino je u korenu kontrolnog uzorka koncentracija ispod praga detekcije. Koncentracije Co nadzemnog dela se kreću od 0,90 mg kg<sup>-1</sup> do 17,26 mg kg<sup>-1</sup> u seriji sa supstrata Pb i od 11,6 mg kg<sup>-1</sup> do 30,5 mg kg<sup>-1</sup> u seriji sa supstrata bez Pb (Prilog 2).



Slika 41. Koncentracije kobalta u korenu i nadzemnom delu *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima.

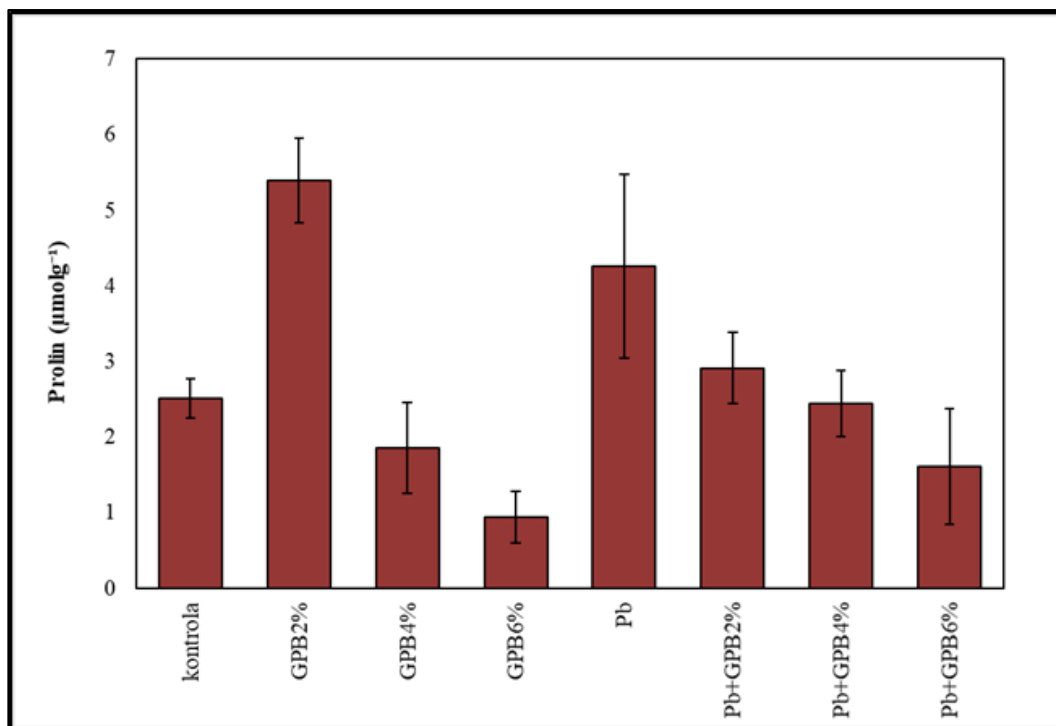
#### 4.5. Fiziološke i biohemijske analize biljnog materijala

U uzorcima eksperimentalno gajenih *Festuca rubra* određene su koncentracije sledećih pigmentata: hlorofila a (Chl *a*), hlorofila b (Chl *b*), ukupnih hlorofila (Chl *a+b*) i karotenoida (Car) (Slika 42). Pad koncentracije svih pigmentata se uočava u biljnim uzorcima gajenim na zemljištu koje je tretirano Pb. U uzorcima nadzemnih organa biljaka gajenih na zemljištu bez Pb koncentracije hlorofila a se nalaze u opsegu od 0,34  $\mu\text{mol g}^{-1}$  do 0,39  $\mu\text{mol g}^{-1}$ , dok se u uzorcima gajenim u supstratu koji je prethodno tretiran Pb koncentracije hlorofila a nalaze u opsegu od 0,26  $\mu\text{mol g}^{-1}$  do 0,29  $\mu\text{mol g}^{-1}$  (Prilog 3). Koncentracije hlorofila b se nalaze u opsegu od 0,12  $\mu\text{mol g}^{-1}$  do 0,13  $\mu\text{mol g}^{-1}$  kod uzoraka gajenih u supstratu bez Pb, a kod uzoraka gajenih u supstratu tretiranom Pb od 0,08  $\mu\text{mol g}^{-1}$  do 0,09  $\mu\text{mol g}^{-1}$ . Izmerene koncentracije ukupnih hlorofila su u opsegu od 0,46  $\mu\text{mol g}^{-1}$  do 0,51  $\mu\text{mol g}^{-1}$  u biljakama koje su rasele na zemljištu bez Pb i 0,34  $\mu\text{mol g}^{-1}$  do 0,38  $\mu\text{mol g}^{-1}$  kod uzoraka sa olovom tretiranog zemljišta. Nadzemni delovi biljaka sa zemljišta bez Pb sadrže koncentracije karotenoida u opsegu od 0,08  $\mu\text{mol g}^{-1}$  do 0,09  $\mu\text{mol g}^{-1}$ , dok su izmerene koncentracije u biljkama sa zemljišta tretiranog Pb u opsegu od 0,06  $\mu\text{mol g}^{-1}$  do 0,07  $\mu\text{mol g}^{-1}$ . Porast koncentracija svih pigmentata uočava se sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih materijala u obe serije. Najviše koncentracije svih analiziranih pigmentata izmerene su u uzorku koji je gajen na zemljištu bez Pb, prethodno tretiranom GPB6%.



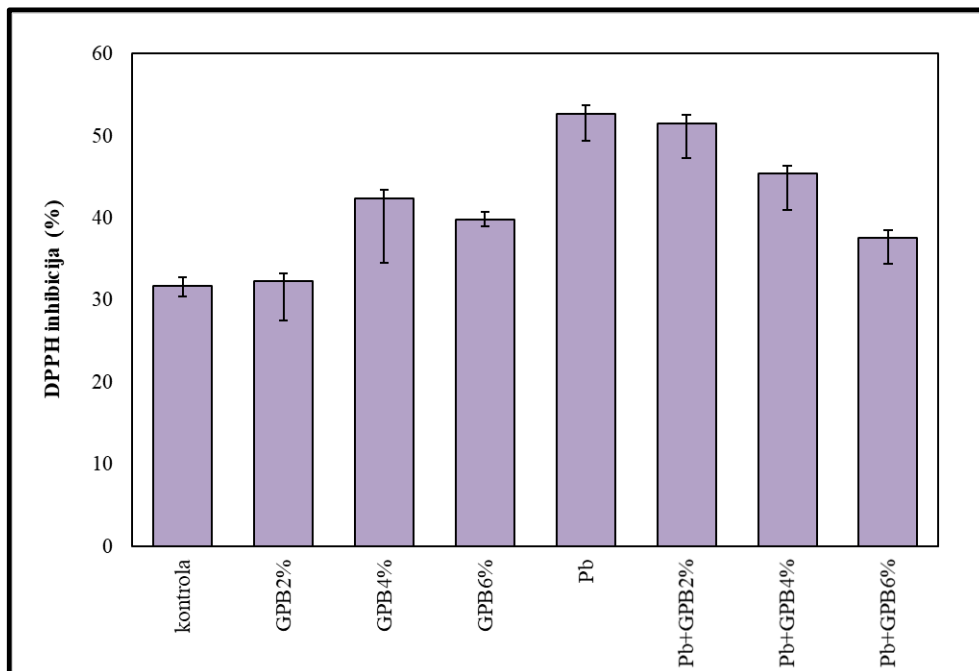
Slika 42. Koncentracije Chl *a*, Chl *b*, Chl (*a+b*) i Car u nadzemnim delovima *Festuca rubra* tretiranih olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima u različitom procentu.

Koncentracije prolina se razlikuju između biljaka sa supstrata tretiranog i netretiranog Pb. Opseg u kojem su izmerene koncentracije prolina u biljnim uzorcima gajenim na zemljištu bez Pb iznosi od  $0,94 \mu\text{mol g}^{-1}$  do  $5,39 \mu\text{mol g}^{-1}$  koliko je izmereno u nadzemnom delu biljke koja je gajena u supstratu sa GPB2% (Prilog 3). Koncentracije prolina izmerene u biljkama sa supstrata koji je prethodno tretiran Pb kreću se u opsegu od  $1,61 \mu\text{mol g}^{-1}$  do  $4,26 \mu\text{mol g}^{-1}$ . Kod ovih uzoraka evidentiran je značajan pad koncentracije prolina sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih materijala koji odgovara udelu dodatog brušita u materijalu ( $\text{Pb} > \text{Pb} + \text{GPB2\%} > \text{Pb} + \text{GPB4\%} > \text{Pb} + \text{GPB6\%}$ ) (Slika 43; Prilog 3).

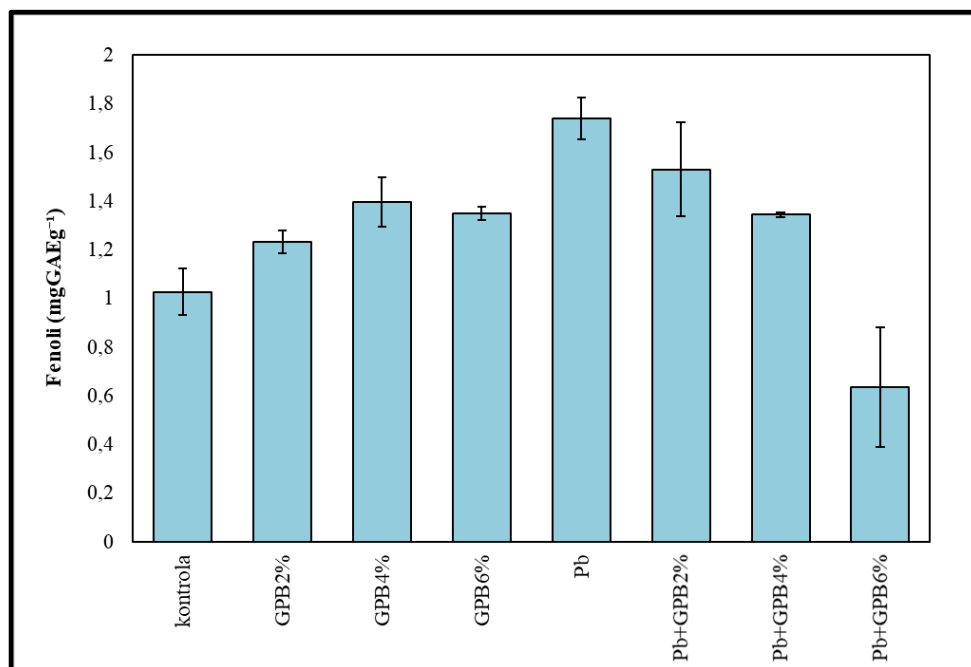


Slika 43. Koncentracije prolina u nadzemnim delovima *Festuca rubra* tretiranih olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima u različitim procentima.

Što se tiče antioksidativnog kapaciteta, odnosno efikasnosti inhibicije DPPH kod različito tretiranih biljaka, kao i sadržaja ukupnih fenola u njima, rezultati analiza se u potpunosti poklapaju, što se može videti sa grafikona (Slika 44 i 45). Procenat inhibicije DPPH u biljkama gajenim na zemljištu bez Pb je niži od procenta u biljkama sa supstrata koji je prethodno tretiran Pb, i nalazi se u opsegu od 31,7% do 42,4%. Primećuje se blagi porast inhibicije DPPH sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih materijala. Sa druge strane efikasnost inhibicije DPPH u uzorcima biljaka gajenih u supstratu tretiranom Pb se kreće u rangu od 37,5% do 52,7% i evidentan je pad procenta sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih materijala. Identičan trend je primećen i u slučaju koncentracije ukupnih fenola u biljnim uzorcima, a koncentracije ovih jedinjenja u analiziranim uzorcima se kreću u opsegu od  $1,03 \text{ mgGAE g}^{-1}$  do  $1,40 \text{ mgGAE g}^{-1}$  za biljke sa supstrata bez Pb i  $0,64 \text{ mgGAE g}^{-1}$  do  $1,74 \text{ mgGAE g}^{-1}$  za biljke sa supstrata tretiranog Pb (Prilog 3). Maksimalne koncentracije fenola i maksimalni procenat inhibicije DPPH detektovani su u uzorcima biljaka koje su gajene na zemljištu koje je tretirano Pb i u koje nisu dodati brušit-aluminosilikatni materijali.



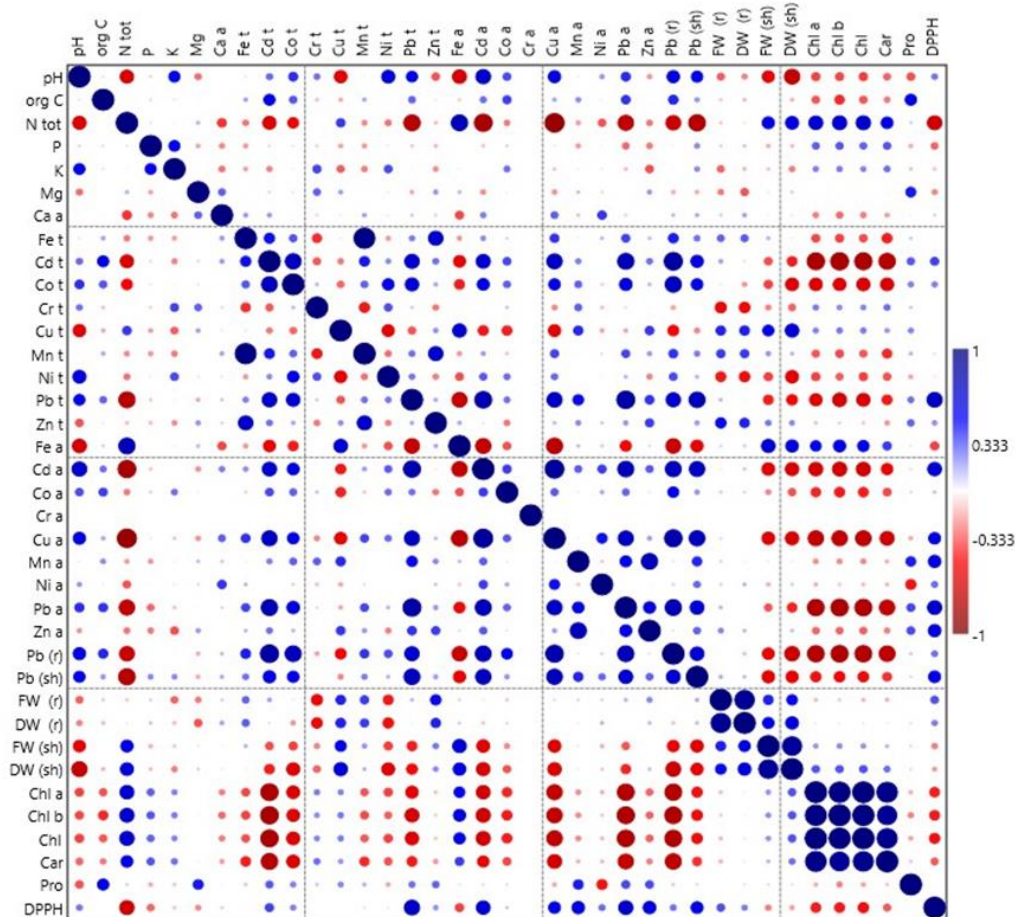
Slika 44. Procenat inhibicije DPPH u nadzemnim delovima uzoraka *Festuca rubra* tretiranih olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima u različitom procentu.



Slika 45. Koncentracije ukupnih fenola u nadzemnim delovima uzoraka *Festuca rubra* tretiranih olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima u različitom procentu.

Za utvrđivanje odnosa među analiziranim fizičko-hemijskim karakteristikama supstrata, koncentracija elemenata i biohemijskih markera stresa u *Festuca rubra* korišćena je Spirmanova korelacija rangova, a rezultati su prikazani na slici 46 i u Prilogu 4.

Sadržaj N u supstratu pozitivno je korelisan sa sadržajem pristupačnog Fe u supstratu, kao i sa sadržajem Chl *a*, Chl *b*, Chl *a+b*, Car i količinom biomase, dok se negativna korelacija uočava u odnosu sa sadržajem pristupačnih Cu, Cd i Pb i pseudo-ukupnih Pb, Co i Cd u supstratu, sadržajem Pb u korenu i nadzemnom delu biljke i koncentracijama DPPH. Pored sadržaja P i K, pozitivno su korelisani sadržaji pseudo-ukupnih Mn, Fe i Zn u supstratu. Izražen je i antagonizam između sadržaja pseudo-ukupnog i pristupačnog Pb i sadržaja fotosintetskih pigmenata, dok je pozitivna korelacija ovog elementa u supstratu primećena sa procentom inhibicije DPPH, ukupnih fenola i prolina što ukazuje na njegov negativan uticaj na fotosintetske procese i izazivanje oksidativnog stresa kod biljke. Koncentracije Pb u biljci su pozitivno korelisane sa pseudo-ukupnim i pristupačnim koncentracijama Pb u supstratu, procentom inhibicije DPPH u nadzemnim delovima biljke i kiselooću zemljišta, dok je primećena njihova negativna korelacija u odnosu na sadržaj N, količinu biomase i sadržaj fotosintetskih pigmenata u biljci (Đukić i sar. 2025).



Slika 46. Korelogram fiziko-hemijskih karakteristika supstrata, koncentracija elemenata i biohemijskih markera stresa kod *Festuca rubra*. Plava boja označava pozitivnu korelaciju, crvena boja negativnu korelaciju, dok je praznim poljima predstavljena korelacija koja nije statistički značajna ( $p > 0.05$ ); t-pseudo-ukupna koncentracija elemenata, a-pristupačna koncentracija elemenata, r-koren, sh-nadzemni deo, FW-sveža biomasa, DW-suva biomasa (Djukić i sar. 2025).

#### 4.6. Fitoremedijacioni potencijal *Festuca rubra*

Vrednosti bioakumulacionog, biokoncentracionog i translokacionog faktora za *Festuca rubra* eksperimentalno gajenu u različitim tretmanima prikazani su u tabeli 12. Primećuje se porast vrednosti BAF i BCF sa dodatkom geopolimernih materijala u supstratu, koji prati povećanje udela brušita u brušit-aluminosilikatnom materijalu. U slučaju BCF najviša vrednost je pokazana u biljnom uzorku, gajenom u supstratu sa GPB6% i iznosi 0,31, dok je najniža pokazana u uzorku biljke gajene na supstratu bez dodatka GPB (0,14). Što se tiče BAF dodavanjem brušit-aluminosilikatnih materijala porast je manji, a najviše vrednosti su zabeležene kod uzoraka supstrata tretiranim GPB4% i GPB6% i iznose 0,26 (Tabela 12). Sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala uočava se trend pada TF sa porastom udela dodatog brušita u materijalu. Najviša vrednost TF dobijena je u biljnom uzorku koji je gajen u supstratu u koji nisu prethodno dodati brušit-aluminosilikatni materijali i iznosi 1,37, dok je najniža vrednost dobijena u uzorku koji je gajen na zemljištu sa GPB6% i iznosi 0,84. Biokoncentracioni i bioakumulacioni faktori ne prelaze 1 ni u jednom ispitivanom uzorku. Vrednosti TF su više od 1 u uzorcima *Festuca rubra* koja je gajena u supstratu kome nisu dodati brušit-aluminosilikatni materijali (1,37) i u uzorku sa supstrata u kojem je dodat GPB2% (1,30).

Tabela 12. Bioakumulacioni (BAF), biokoncentracioni faktori (BCF) i translokacioni faktori (TF) biljnih uzoraka gajenih u različitim serijama supstrata.

Uzorak	BAF	BCF	TF
Pb	0,19	0,14	1,37
Pb+GPB2%	0,20	0,15	1,30
Pb+GPB4%	0,26	0,26	0,99
Pb+GPB6%	0,26	0,31	0,84

## 5. DISKUSIJA

### 5.1. Fizičko-hemijske osobine ispitivanih brušit-aluminosilikatnih materijala

Brušit korišćen za potrebe ovog istraživanja dobijen je pomoću procesa hemijske taložne titracije, u skladu sa ekološki prihvatljivom procedurom sinteze koju su prethodno opisali Mirković i saradnici (Mirković i sar. 2016). U eksperimentalnoj proceduri korišćena je visokokvalitetna kaolinitna glina, poreklom iz napuštenih ležišta u okolini lokaliteta Rudovci koji pripadaju opštini Lazarevac u Srbiji. Detaljnije fizičko-hemijske karakteristike korišćenog kaolinita prethodno su opisali Nenadović i saradnici (Nenadović i sar. 2017). Kako bi se dobio metakaolin koji služi kao prekursor novosintetisanih geopolimerih materijala, sirovi kaolinit je podvrgnut termičkoj obradi na temperaturi od 750°C tokom jednog sata. Ovaj postupak je sproveden sa ciljem uklanjanja rezidualnih nečistoća i organske materije, kao i aktivacije za dalje hemijske reakcije (Kanuchova i sar. 2014; Muftah Menshaz i sar. 2017). Pokazano je da metakaolin doprinosi mehaničkim svojstvima i pozitivno utiče na čvrstoću materijala (Shi i sar. 2022). Reakcija između alkalnog aktivatora i aluminosilikata, u koje spada i metakaolin, tokom sinteze geopolimera se odvija u više sukcesivnih i delimično preklapajućih faza: rastvaranje, reorganizacija, kondenzacija, kristalizacija i očvršćavanje. Faze rastvaranja i reorganizacije Al i Si često se odvijaju istovremeno i u značajnoj meri zavise od sastava aktivatora, temperature i trajanja reakcije (Onutai i sar. 2023). Nakon početnih faza sledi kondenzacija, pri kojoj dolazi do nukleacije i formiranja primarnih gelastih struktura. U narednoj fazi dolazi do polikondenzacione polimerizacije, gde se oligomeri međusobno povezuju formirajući trodimenzionalnu mrežu, uz istovremeno eliminisanje molekula vode. Ove reakcije rezultuju očvršćavanjem paste i formiranjem stabilne, amorfne ili semikristalične geopolimerne strukture (Mavilia i sar. 2024). Rastvor koji je korišćen kao alkalni aktivator je pripremljen mešanjem natrijum-silikata i 6M rastvora NaOH u masenom odnosu 1:1,6. Nakon termičke obrade kaolinitne gline i dobijanja metakaolina, dodat je čist brušit kako bi se dobili sledeći uzorci brušit-aluminosilikatnih materijala: GPB2%, GPB4%, GPB6%, GPB8% i GPB10%. Nakon homogenizacije, smeši je dodat prethodno pripremljeni aktivator kako bi se inicirala reakcija geopolimerizacije. Dobijene smeše su presute u konične kalupe i odložene na sobnoj temperaturi, u periodu od 28 dana. Nakon sinteze, uzorci su podvrgnuti daljoj karakterizaciji, a nakon fizičko-hemijskih strukturnih analiza ovi uzorci su korišćeni u adsorpcionim eksperimentima za uklanjanje Pb iz vodenih rastvora pre postavljanja eksperimenata sa *Festuca rubra*. Fazni sastav materijala ispitan je i nakon adsorpcionih eksperimenata i uzorci su obeleženi kao: GPB<sub>Pb</sub>2%, GPB<sub>Pb</sub>4%, GPB<sub>Pb</sub>6%, GPB<sub>Pb</sub>8% i GPB<sub>Pb</sub>10%. Rezultati ispitivanja brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala ukazuju na uspešnu inkorporaciju brušita u metakaolinsku matricu putem procesa alkalne aktivacije. Na osnovu rezultata rendgenske difrakcije, jasno je da su svi sintetisani uzorci zadržali karakteristične kristalne pikove kvarca, što ukazuje da ovaj mineral ostaje strukturno neizmenjen tokom procesa geopolimerizacije. Pojava amorfne faze u opsegu šuma između 20–40° 2θ na rendgenskim difraktogramima praha potvrđuje reorganizaciju primarnih minerala kao i metakaolina što dovodi do formiranja nove amorfne geopolimere matrice, čime je izvršena uspešna aktivacija materijala. Sa povećanjem udela brušita, dolazi do kompetitivne potrošnje alkalnog aktivatora, i inkorporacije brušita u geopolimerni matriks, na šta ukazuje smanjenje intenziteta pikova ove faze. Glavna razlika između uzorka GPB2% i drugih uzoraka je oštar i uzak pik na oko 27° 2θ, koji pripada natrijum tekto-alumotrisilikatu, odnosno albitu (NaAlSi<sub>3</sub>O<sub>8</sub>). Razlog tome može biti preferentna orijentacija zrna albita u ovom uzorku, međutim treba uzeti u obzir i da se u pomenuti uzorak dodaje najveća količina alkalnog aktivatora u odnosu udeo dodatog brušita. Intenzitet pika koji pripada albitu se podjednako smanjuje u drugim uzorcima što se može objasniti manjim doprinosom Na<sup>+</sup>, Al<sup>3+</sup> i Si<sup>4+</sup> u geopolimeru. Pretpostavka je da tokom procesa geopolimerizacije u drugim uzorcima dolazi do veće potrošnje ovih elemenata iz alkalnog aktivatora, što ukazuje na smanjenje pikova i smanjenje njihovih intenziteta u drugim uzorcima.

Albit se vrlo često menja različitim termodinamičkim procesima u prirodi, a takođe ima nizak stepen strukturnog uređenja (Zheng i sar. 2023). Evidentno je da se intenziteti pikova koji pripadaju brušitu smanjuju povećanjem njegove koncentracije što može biti rezultat njegove inkorporacije u amorfnu matricu usled procesa geopolimerizacije. Rezultati rendgenske difrakcije uzoraka nakon procesa adsorpcije Pb iz vodenih rastvora nisu ukazali na strukturnu promenu već postojećih faza. Takođe, nije došlo do formiranja novih faza u uzorcima. Nešto veći šum koji je identifikovan kod uzoraka snimljenih nakon adsorpcije ukazuje da se Pb ugradio kako delimično u strukturu brušita tako i u amorfni matriks najverovatnije umrežavanjem (Đukić i sar. 2022; Mirković i sar. 2024). Rezultati rendgenske difrakcije ukazali su da su ovi materijali u pogledu faznog sastava izuzetno stabilni u vodenim rastvorima.

FTIR spektroskopska analiza dodatno potvrđuje semikristalično uređenje i prisustvo amorfne matriksne faze u uzorku. Prisustvo karakterističnih traka koje ukazuju na Si–O–Al, Si–O–Si i P–O–Al veze jasno svedoče o formiranju kompleksne geopolimere mreže. Trake koje pripadaju vibracijama PO<sub>4</sub> tetraedara u osnovnoj strukturi ukazuju na moguću inkorporaciju u Al–Si mrežu. Prisustvo karbonatnih grupa u uzorcima sa većim sadržajem brušita (GPB6%, GPB8%, GPB10%) i njihov izraženiji intenzitet u IR spektrima potvrđuje povećanu količinu Ca, koji učestvuje u reakciji sa CO<sub>2</sub> iz atmosfere, i dovodi do formiranja karbonata (Đukić i sar. 2022). Rezultati pokazuju da materijal sadrži Si–O funkcionalnu grupu i vezane molekule vode u strukturi, što je karakteristično za minerale gline (Abbasi i sar. 2025). Rezultati XRD i FTIR za uzorke ispitane nakon adsorpcije Pb ukazuju da se mehanizam hemisorpcije verovatno dogodio na strukturnom nivou ugradnjom jona Pb u amorfnu matricu GPB materijala.

Mikrostrukturna analiza koja je prikazana na SEM mikrografijama pokazuje jasne promene sa povećanjem sadržaja brušita. Dok GPB2% uzorak zadržava netransformisana brušitna zrna u jasno definisanoj geopolimernoj matrici, uzorci GPB4% i GPB6% pokazuju veću integraciju brušita u amorfnu matricu, što ukazuje na progresivno uključivanje brušita u reakciju geopolimerizacije. Kvarcna faza identifikovana XRPD metodom se nalazi inkorporirana između međusobno povezanih čestica gline u samom matriksu. Sitnozrna tekstura matriksa i prisustvo sfernih aglomerata potvrđuju formiranje geopolimera, uz istovremeno očuvanje delimične kristalne prirode, što je i u skladu sa rezultatima rendgenske difrakcije. Rezultati EDS analize pokazuju porast sadržaja Ca i P sa povećanjem masenog udela brušita u uzorcima, što potvrđuje njegovo aktivno učešće u formiranju nove hemijske strukture, a odnos Si:Al:Na približno iznosi 2:1:1. Ovaj odnos odgovara tipičnoj geopolimernoj formuli, što potvrđuje da je došlo do željene polimerizacije uz očuvanje delimičnog strukturnog uređenja pojedinih faza. Rezultati BET analize dodatno potvrđuju mezoporoznu prirodu materijala, što je značajan parametar za njihovu potencijalnu primenu u oblasti adsorpcije, za koju je materijal i korišćen. Specifična površina u opsegu od 20–27 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, zajedno sa prosečnim radijusom pora od oko 11 nm, pokazuje da svi uzorci zadovoljavaju kriterijume koji su potrebni da bi se novosintetisani brušit-aluminosilikati svrstali u mezoporozne materijale. Raspodela veličina pora dodatno potvrđuje da je proces aglomeracije čestica rezultirao poroznom strukturom, koja može doprineti funkcionalnosti konačnog materijala.

## 5.2. Efikasnost i mehanizmi adsorpcije olova sa brušit-aluminosilikatnim materijalima

Analize efikasnosti adsorpcije jona Pb na brušit-aluminosilikatnim materijalima sa različitim udelom brušita pokazale su da najvišu efikasnost uklanjanja ovog elementa iz vodenih rastvora ima uzorak GPB2% i ona iznosi 87%. Rezultati ukazuju na to da dodavanje brušita u geopolimer dovodi do smanjenja efikasnosti adsorpcije, tako da efikasnost uklanjanja iznosi 78% kada je u pitanju uzorak GPB4% i 62% kada je u pitanju uzorak GPB6%. Efikasnost uklanjanja Pb kada su korišćeni GPB8% i GPB10% je znatno niža i iznosi manje od 50%, te su stoga GPB8% i GPB10% isključeni iz daljih istraživanja. Takođe je potvrđena visoka efikasnost samog metakaolina i geopolimera dobijenog na bazi metakaolina u adsorpciji Pb, Zn, Ni, Mn i Co (Trivunac i sar. 2016; Kara i sar. 2017, 2018).

Pored toga pokazano je da efikasnost uklanjanja jona Pb i Cr iz rastvora pomoću modifikovanih geopolimerno-cementnih kompozitnih materijala opada sa povećanjem odnosa  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$  koji se nalaze u sastavu materijala. Takođe, sa povećanjem udela šupljina u agregatima primećeno je smanjenje efikasnosti uklanjanja Pb i Cr (Chen i sar. 2019). Rezultati istraživanja pokazuju da je i sam kaolinit, kao i drugi minerali gline, pogodan za upotrebu kao adsorbens za uklanjanje PTE iz vodenih rastvora (Otunola & Ololade 2020).

U ovom radu je pokazan i ispitan, proces adsorpcije Pb na sintetisanim GPB materijalima. Studija je pokazala da ovi materijali poseduju visoku efikasnost uklanjanja, pri čemu je ravnoteža adsorpcije postignuta u roku od 120 minuta za sve analizirane uzorke. Rezultati dobijeni obradom podataka dobijenih nakon eksperimenata kinetike i adsorpcionih izoterma ukazuju na to da je mogući mehanizam uklanjanja Pb hemisorpcija u formi jednog sloja, na heterogenoj površini i ovi rezultati su u skladu sa prethodnim istraživanjima (Eleraky i sar. 2025). Eksperimenti pH zavisnosti pokazali su da je optimalna pH vrednost za uklanjanje Pb kod svih uzoraka 5,5 i ona je korišćena za ostale adsorpcione eksperimente. Uticaj pH na adsorpciju Pb od strane brušit-aluminosilikatnih materijala pokazuje da je efikasnost uklanjanja najveća kada su pH vrednosti rastvora iznosile iznad 7,0 za sve ispitivane uzorke, što je posledica pojave taloženja hidroksida olova te su iz ovog razloga dobijeni lažno pozitivni rezultati za  $\text{pH} > 7$ . Ranija istraživanja pokazala su najvišu efikasnost uklanjanja Pb od strane geopolimera koji je sintetisan na bazi metakaolina na pH između 4 i 5, dok u slučaju metakaolina ona iznosi između 5 i 6. To ukazuje na činjenicu da dodavanje brušita u geopolimer dovodi do veće efikasnosti na višim pH (Trivunac i sar. 2016).

Vrednosti  $\text{pH}_{\text{PZC}}$  iznose iznad 10 za sve uzorke ukazuju na veći afinitet za vezivanje katjona odnosno pozitivno naelektrisanih čestica. Rezultati dobijeni BET metodom u kojima je pokazano da su uzorci dominantno mezoporozni, u skladu su sa rezultatima dobijenim u prethodnim istraživanjima (Trivunac i sar. 2016).

### 5.3. Hemijske karakteristike supstrata

U uzorcima supstrata, koji nisu tretirani Pb, pH vrednost ostaje u granicama neutralnosti. Analiza kiselosti u različitim serijama uzoraka supstrata, ukazuje na to da u prisustvu brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala ne dolazi do narušavanja kiselinsko-bazne ravnoteže u supstratu. Dodatkom GPB materijala dolazi do blagog smanjenja pH vrednosti, koja prati porast procenta brušita u uzorcima. Izmerene vrednosti kod svih uzoraka se nalaze u opsegu od blago kiselih do neutralnih pH, što može ukazivati na relativnu stabilnost materijala zbog odsustva izraženijeg zakiseljavanja podloge. Ovo se može objasniti prisustvom brušita, koji je najstabilniji u blago kiselim sredinama (Dorozhkin i sar. 2009). U uzorcima supstrata koji je tretiran Pb, takođe je primećen pad pH vrednosti sa dodavanjem brušit-aluminosilikatnih materijala. Sa druge strane, u uzorcima supstrata u kojima je gajena biljka primećen je trend blagog porasta pH vrednosti sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih materijala koji je u skladu sa udelom brušita. Ovo je pokazano i kod uzoraka bez Pb i kod onih koji su prethodno tretirani Pb. U oba slučaja pH vrednosti supstrata u svim uzorcima su neutralne do blago bazne. Dobijeni rezultati se slažu sa rezultatima dobijenim u prethodnim istraživanjima, gde je utvrđeno da aluminosilikati dovode do porasta pH vrednosti zemljišta kada se koriste u asistiranoj fitoremedijaciji (Gray i sar. 2006; Radziemska i sar. 2020; Klik i sar. 2022). Takođe, rezultati analize efikasnosti adsorpcije jona Pb iz vodenih rastvora na brušit-aluminosilikatnim materijalima pokazuju da se najviša efikasnost imobilizacije ovog elementa odvija u uslovima kada su pH vrednosti rastvora više od 7 (Đukić i sar. 2022). Rezultati ove studije ukazuju na to da brušit-aluminosilikatni geopolimerni materijali ne samo da ne narušavaju pH ravnotežu supstrata, već u prisustvu biljaka mogu doprineti poboljšanju pH supstrata, što je posebno značajno u kontekstu remedijacije zagađenih zemljišta i fitostabilizacije PTE.

Na osnovu sadržaja organske materije pokazano je da svi uzorci spadaju u klasu veoma jako humoznih zemljišta što je i očekivano s obzirom da je za potrebe ovih istraživanja korišćen komercijalni supstrat (Tyurin 1965). Ipak, postoje razlike između različitih uzoraka koji su tretirani Pb i brušit-aluminosilikatnim materijalima (Tabela 7). Najviši procenat ukupnog organskog ugljenika zabeležen je u uzorku supstrata koji je prethodno tretiran Pb, kao i u kontrolnom uzorku, što ukazuje na očuvanu organsku komponentu supstrata u odsustvu brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala. Sa dodatkom navedenih materijala dolazi do smanjenja sadržaja organskog ugljenika, ali ta promena ne pokazuje jasan linearan trend u zavisnosti od procenta brušita, za razliku od uočenih rezultata dobijenih nakon analiza pH vrednosti. Rezultati su u skladu sa očekivanjem, s obzirom da je u supstrat prethodno dodato 5% geopolimernih materijala koji spadaju u neorganske agense.

Prema udelu ukupnog N u uzorcima supstrata, utvrđeno je da pripadaju klasi zemljišta bogatim ovim elementom i u skladu je sa očekivanim rezultatima zato što je tokom eksperimenta korišćen komercijalni supstrat. Sadržaj ukupnog N pokazuje nepravilnu distribuciju među uzorcima, bez jasno izraženog trenda u odnosu na prisustvo brušit-aluminosilikatnih materijala i tretman Pb. Ipak, uočeno je da uzorci supstrata u kojima je gajena *F. rubra* u proseku sadrže veći procenat N. Ovi rezultati sugerišu na potencijalni doprinos ostataka biljne biomase korena u povećanju sadržaja ukupnog N u supstratu. Kao i u slučaju N, sadržaj lako pristupačnog P varira bez jasne korelacije sa dodatkom materijala, naročito u uzorcima u kojima je gajena biljka. Međutim za razliku od N u ovim uzorcima detektovane su niže koncentracije P, što može ukazivati na njegovo usvajanje od strane biljke. Ipak, u kontrolnim uzorcima u kojima nije gajena biljka, uočen je trend porasta koncentracije P sa povećanjem sadržaja brušita, pri čemu je najviša vrednost zabeležena u uzorku sa GPB6%. Ovaj nalaz potvrđuje da brušit, kao kalcijum-fosfatni materijal, može doprineti povećanju sadržaja ukupnog P u supstratu (Noruzi i sar. 2023). Sličan obrazac uočen je i kada je u pitanju sadržaj lako pristupačnog K. Najniže koncentracije ovog makroelementa detektovane su u uzorcima u kojima je gajena biljka, što i u ovom slučaju može ukazivati na potrošnju ovog elementa od strane biljke. U oba slučaja svi uzorci supstrata pripadaju klasi zemljišta dobro snabdevenih P i K, što je i očekivano zbog upotrebe supstratne smeše.

Dostupne koncentracije Mg i Ca, slično N, P i K, pokazuju varijacije među ispitivanim uzorcima supstrata. U većini slučajeva nije uočena korelacija između sadržaja ovih elemenata i procenta brušita u geopolimernim materijalima, što sugeriše da dodatak geopolimernih materijala nema značajan uticaj na biodostupnost Mg i Ca, što može biti korisno u kontekstu očuvanja esencijalnih makroelemenata u supstratu prilikom njihove primene u remedijaciji kontaminiranih zemljišta.

Rezultati jasno pokazuju da dodatak brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala utiče na smanjenje pseudo-ukupnih koncentracija Pb u uzorcima supstrata, što je potvrđeno rezultatima adsorpcije Pb ovim materijalima iz vodenih rastvora (Đukić i sar. 2022). Uočeno je smanjenje sadržaja pseudo-ukupnog Pb povećanjem procenta dodatog brušita u geopolimernim materijalima, što ukazuje na efikasnu imobilizaciju metala unutar geopolimerne matrice, što potkrepljuju rezultati koji pokazuju visoku efikasnost adsorpcije Pb na kalcijum-fosfatnim jedinjenjima kojima pripada brušit (Iconaru i sar. 2018; Cui i sar. 2024; Mirković i sar. 2024). Najviša pseudo-ukupna koncentracija Pb zabeležena je u uzorku bez dodatka GPB, dok je najniža u uzorku sa GPB6%. Sličan trend opadanja sadržaja pseudo-ukupnog Pb je zabeležen i u uzorcima u kojima je gajena *Festuca rubra*, iako su razlike među vrednostima manje izražene (Tabela 10). Prisustvo biljke može doprineti dodatnom smanjenju koncentracija ovog metala u supstratu kroz proces fitostabilizacije, tako što se oni zadržavaju u korenskom sistemu ili imobilizuju u zoni korena i samim tim se smanjuje njihova biodostupnost. Razlike su manje, što ukazuje da dominantni efekat na smanjenje sadržaja pseudo-ukupnog Pb ima dodatak geopolimernih materijala, dok biljka ima sekundarni uticaj. S druge strane, što se tiče pristupačnih koncentracija Pb, i u ovom slučaju je utvrđeno smanjenje koncentracija ovog

elementa u prisustvu materijala u supstratu. U supstratima koji nisu bili prethodno tretirani, Pb je detektovano u tragovima, što potvrđuje da glavni izvor ovog elementa u analiziranim uzorcima potiče od tretmana Pb. Ovi rezultati dodatno potvrđuju da brušit-aluminosilikatni geopolimeri imaju potencijal za remediaciju supstrata bogatih PTE, ali i da treba dodatno ispitati njihovu efikasnost u redukciji frakcije elemenata koja je biodostupna.

Analizom pseudo-ukupnih koncentracija Fe u uzorcima supstrata utvrđeno je da nema značajnih razlika između tretiranih i netretiranih uzoraka, što ukazuje da dodatak brušit-aluminosilikatnih geopolimera, tretman Pb ili prisustvo biljke *Festuca rubra* ne utiču značajno na pseudo-ukupne koncentracije ovog elementa u zemljištu. Međutim, u pogledu pristupačnih koncentracija Fe, rezultati pokazuju jasnije promene. U uzorcima supstrata u kojem nisu gajene biljake, pristupačne koncentracije ovog elementa rastu sa povećanjem udela brušita u materijalu, što može biti posledica hemijske interakcije između komponenata geopolimera i jedinjenja koja se nalaze u supstratu, čime se povećava rastvorljivost Fe. Ovo se može objasniti nižom pH sa dodavanjem materijala i većom dopstupnošću Fe (Colombo i sar. 2014). Nasuprot tome, u uzorcima u kojima je gajena *Festuca rubra*, pristupačne koncentracije Fe opadaju sa porastom procenta brušita u geopolimerima. Ovakav trend može ukazivati na to da biljka, zajedno sa prisustvom geopolimera, efikasnije vezuje Fe u manje dostupne forme ili da dolazi do kompetitivne adsorpcije drugih jona, poput Pb, što može smanjiti biodostupnost jona Fe (Oruçoglu 2022). Najniže pristupačne koncentracije ovog elementa detektovane su u uzorcima supstrata tretiranog Pb i GPB6% i u kome je gajena biljka, dok je najviša vrednost zabeležena u netretiranom supstratu u kojem je gajena *Festuca rubra*. Iako sadržaj pseudo-ukupnog Fe ostaje stabilan, pristupačni oblici ovog elementa pokazuju osetljivost na tretmane, pri čemu prisustvo biljaka i dodatak GPB imaju suprotan efekat, s tim da biljka smanjuje, a geopolimer povećava njegovu dostupnost. Povišene pseudo-ukupne i pristupačne koncentracije Cu u supstratu u kojem je gajena biljka mogu ukazivati na ostatke biljnog materijala u supstratu, jer se Cu zadržava i imobilizuje u korenu biljke (Gajić i sar. 2016).

Pseudo-ukupne koncentracije Mn u analiziranim uzorcima supstrata ne razlikuju se statistički značajno između tretiranih i netretiranih serija. Detektovane vrednosti se nalaze u prilično uskom opsegu, što ukazuje na uniformnost pseudo-ukupnih koncentracija ovog elementa bez obzira na dodatak brušit-aluminosilikatnih geopolimera, prisustvo Pb ili prisustvo *Festuca rubra*. S druge strane, kada su u pitanju pristupačni oblici Mn, uočen je slab antagonizam između pristupačnih koncentracija ovog elementa i sadržaja brušita u geopolimernim materijalima, ali samo u uzorcima koji su prethodno tretirani Pb i u kojima je gajena biljka. Ove razlike, iako kvantitativno male, mogu ukazivati na određene interakcije između biljke, geopolimernog materijala i prisutnog Pb, koje potencijalno utiču na dostupnost Mn u supstratu. Mogući mehanizmi uključuju kompetitivnu adsorpciju jona na površini geopolimera ili formiranje manje rastvorljivih kompleksa sa komponentama dodatih materijala.

Analiza pseudo-ukupnih koncentracija Ni u supstratima pokazuje odsustvo jasne korelacije između različitih tretmana kao što su dodatak brušit-aluminosilikatnog materijala, tretman Pb ili uzgoj biljke *Festuca rubra*. Međutim, kada se razmatraju pristupačni oblici Ni, koji su relevantniji za potencijalnu fitotoksičnost, uočeno je da se najniže vrednosti ovog elementa nalaze u uzorcima u kojima je gajena *F. rubra*, što sugerise mogućnost usvajanja ovog elementa od strane biljke ili potencijalne promene hemijske ravnoteže u rizosferi koje umanjuju njegovu dostupnost (Pusz i sar. 2021). Ovi rezultati ukazuju na ograničen uticaj dodatka geopolimernih materijala i Pb na sadržaj pseudo-ukupnog i pristupačnog sadržaja Ni u supstratu. Međutim, prisustvo biljke se pokazuje kao značajan faktor u smanjenju sadržaja pristupačnog Ni, što bi moglo biti posledica procesa koji su vezani za fitoremedijaciju.

U analiziranim uzorcima supstrata, pseudo-ukupne i pristupačne koncentracije Zn nisu pokazale značajne varijacije među tretiranim serijama i kontrolnom grupom, što ukazuje na njegovu stabilnost u sistemu, bez obzira na prisustvo brušit-aluminosilikatnih geopolimera ili tretman Pb. Zabeležen je slab antagonizam između koncentracija Zn i procenta brušita u materijalu u uzorcima u kojima je gajena *Festuca rubra*, što može ukazivati na delimičnu imobilizaciju pristupačnih oblika Zn u prisustvu brušita u geopolimernim aditivima. Stoga brušit-aluminosilikatni materijali mogu biti korisni za primenu na kontaminiranim zemljištima. Slični rezultati su pokazani i u prethodnim istraživanjima u kojima su korišćeni aluminosilikati za obogaćivanje zemljišta na kojima je uzgajana *Festuca rubra* (Friesl i sar. 2003)

Rezultati analiza pseudo-ukupnih i pristupačnih koncentracija Cr rezultati pokazuju porast koncentracija ovog elementa nakon dodavanja materijala, što je suprotno rezultatima prethodnih analiza u kojima je korišćen bentonit (Sun i sar. 2015).

#### **5.4. Koncentracije elemenata u biljnom materijalu**

U seriji supstrata koji je prethodno tretiran Pb uspešno su opstale sve zasađene biljke, što potvrđuje da je odabrani model organizam adekvatan, a dobijeni rezultati u skladu sa prethodnim istraživanjima (Atkins i sar. 1982; Wong 1982). Koncentracije Pb se nalaze u opsegu vrednosti koje su karakteristične za trave koje su gajene na zemljištima kontaminiranim Pb (Kabata-Pendias 2011). Analiza rezultata pokazuje jasan trend porasta koncentracije Pb u biljkama proporcionalno udelu brušita u brušit-aluminosilikatnim geopolimernim materijalima, tako da se najviše vrednosti beleže i u korenu i u nadzemnom delu biljke gajene u supstratu koji je tretiran materijalom koji sadrži sa 6% brušita. Ovo ukazuje na to da dodatak brušita u geopolimerni materijal može uticati na povećanu akumulaciju Pb u biljci. Koncentracija Pb u korenu navedenog uzorka je više nego dvostruko veća u poređenju sa koncentracijom u biljci koja je rasla na supstratu bez dodatka geopolimernog materijala. S druge strane, koncentracije Pb u nadzemnim organima pokazuju samo blagi porast, što može ukazivati na ograničenu translokaciju ovih jona iz korena u nadzemne delove biljke (Ur Rahman i sar. 2024). Ovi rezultati se razlikuju od rezultata dobijenih u prethodnim istraživanjima u kojima su korišćeni aluminosilikatni materijali i *Festuca rubra*. Dodavanje bentonita, hajlozita i crvenog mulja dovodi do pada koncentracije različitih PTE, između ostalog i Pb u zemljištu, dok s druge strane dijamit pospešuje akumulaciju ovih elemenata u korenu biljke (Radziemska i sar. 2020; Klik i sar. 2022). Rezultati dobijeni u prethodnim studijama ukazuju da postoje varijacije u mehanizmima u zavisnosti od toga koji je materijal korišćen. Koncentracije Pb u korenu biljke gajene u supstratu tretiranom ovim elementom potvrđuju princip uočen u drugim studijama, međutim u nadzemnim organima one su više u odnosu na prethodne rezultate (Gómez i sar. 2016, 2020; Pusz i sar. 2021), čak i više od onih u korenovima kod većine uzoraka. Međutim, pokazano je da fosfati utiču na akumulaciju Pb u nadzemnim delovima *Festuca rubra*, čime se može objasniti i porast koncentracija ovog elementa nakon dodavanja brušit-aluminosilikatnih materijala, a koji odgovara porastu brušita u njima (Simon 2005). Dodavanje brušit-aluminosilikatnih materijala u supstrat i povećanje udela brušita dovodi do približavanja koncentracija Pb u korenovima i nadzemnim organima. U uzorcima biljaka koje su gajene u supstratima tretiranim GPB4% i GPB6% sadržaj Pb u nadzemnom delu je manji od njegovog sadržaja u korenu. Ovo pokazuju i vrednosti translokacionog faktora (TF), koji potvrđuju da brušit u geopolimernim materijalima pojačava apsorpciju Pb u korenskom sistemu, ali smanjuje njegov prelazak u nadzemne organe. Ovo može biti značajno iz perspektive fitostabilizacije, gde je cilj maksimalno vezivanje i zadržavanje PTE u zoni korenovog sistema, čime se smanjuje rizik od unosa istih u mreže ishrane. Brušit-aluminosilikatni geopolimerni materijali utiču na mobilnost i akumulaciju Pb u biljkama, potencijalno regulišući fitotoksični uticaj Pb na biljke i dalje širenje unutar ekosistema.

Analiza sadržaja N u različitim delovima biljke *Festuca rubra* pokazuje da se udeo ovog elementa ne razlikuje značajno između korena i nadzemnih delova, sa ravnomernom distribucijom u biljci. Ovo je u skladu sa očekivanjima jer N predstavlja ključni nutrijent koji je neophodan za sintezu proteina i drugih važnih biomolekula, pa se uglavnom ravnomerno transportuje unutar biljke. Međutim, tretman supstrata Pb dovodi je do smanjenja sadržaja N u biljkama. Ovo može biti posledica toksičnog dejstva Pb na metaboličke procese u biljkama, uključujući smanjenu sposobnost azotne asimilacije i metabolizma (Wu i sar. 2008). S druge strane, dodatak brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala, kao i varijacije u procentu brušita u supstratu, nemaju značajan uticaj na sadržaj N, što može ukazivati na to da ovi materijali ne remete azotni metabolizam biljke ili nisu u dovoljnoj meri uticali na dostupnost N u supstratu.

Koncentracije P se ne razlikuju značajno među različitim uzorcima, osim u korenovima biljaka gajenih u olovom tretiranim supstratima, gde je detektovan porast koji odgovara porastu udela brušita u brušit-aluminosilikatnim materijalima. Ovakvi rezultati se mogu objasniti prisustvom P u brušitu, te stoga povećanim usvajanjem od strane biljke kada se isti nalazi u višim koncentracijama u materijalima. Rezultati merenja koncentracija K ukazuju na to da nema značajnih razlika između biljaka koje su gajene u supstratima prethodno tretiranim Pb i onima koje su rasle na netretiranim supstratima. Ovo sugeriše da K u svim uslovima ostaje stabilan i nije podložan promenama izazvanim kontaminacijom ili dodatkom geopolimernih materijala. S druge strane, jasno je uočljiva razlika u koncentracijama K između različitih delova biljke. Nadzemni delovi biljaka sadrže gotovo dvostruko više K u odnosu na koren. Ovakav raspored je očekivan i u skladu sa fiziološkim procesima koji se odvijaju u biljkama, jer K ima ključnu ulogu u metaboličkim procesima koji se odvijaju u listovima, uključujući fotosintetske procese, regulaciju otvaranja i zatvaranja stoma, sintezu proteina i održavanje ćelijskog turgora (Marschner 2011). Zbog toga, njegova viša koncentracija u nadzemnim delovima reflektuje aktivniju metaboličku funkciju i ovi nalazi ukazuju da, iako tretman supstrata Pb ne utiče na ukupnu akumulaciju K, prirodna distribucija ovog makroelementa u biljci ostaje očuvana, što pokazuje postojanje otpornosti biljaka u uslovima povećane koncentracije PTE u sredini.

Koncentracija Mg u korenovima i nadzemnim delovima biljnih uzoraka pokazuju približne vrednosti, osim u slučaju korena kontrolnog uzorka biljke, gde je zabeležena značajno viša koncentracija ovog elementa. Ova povišena vrednost u kontrolnom uzorku ukazuje na to da prisustvo brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala utiče na smanjenje sadržaja Mg u korenu biljke, što se može objasniti visokim stepenom jonske izmene Ca prisutnog u brušit-aluminosilikatnim materijalima sa Mg u supstratu, ili smanjenim sadržajem ovog elementa zbog manjeg udela komercijalnog supstrata usled dodavanja geopolimernih materijala u njega (Manimel Wadu i sar. 2013). U uzorcima korena biljaka gajenih na zemljištu koje nije tretirano Pb i sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih materijala evidentiran je pad koncentracije Mg u korelaciji sa povećanjem procenta brušita u materijalima. Ovaj trend ukazuje da dodatak brušita može imati negativan uticaj na akumulaciju Mg u biljkama, što bi moglo biti povezano sa smanjenom koncentracijom ovog elementa u supstratu usled interakcije sa geopolimernim materijalima. Suprotno tome, u uzorcima korena biljaka gajenih u supstratu prethodno tretiran Pb, primećen je obrnuti trend, gde koncentracije Mg rastu sa povećanjem udela brušita. Ovaj suprotni efekat koji brušit ima može biti posledica složenijih hemijskih i biohemijskih procesa koji se odvijaju u tretiranom supstratu, gde brušit-aluminosilikatni materijali mogu delovati kao faktori koji posredno olakšavaju dostupnost Mg ili smanjuju toksičnost Pb. Jedan od mehanizama može biti jonska izmena između P iz brušita i Mg iz zemljišta, kojom se omogućava veća akumulacija ovog elementa (Manimel Wadu i sar. 2013).

Analiza koncentracija Ca pokazuje izražene razlike između uzoraka korena i nadzemnih delova biljaka. Najviša koncentracija Ca izmerena je u korenu kontrolnog uzorka, što može ukazivati na veću sposobnost korenovog sistema da akumulira ovaj element. Iako su uočene varijacije u koncentracijama Ca među svim uzorcima, trend porasta koncentracije sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih materijala primetan je isključivo u uzorcima korenova biljaka koje su gajene u supstratima tretiranim Pb. Ovaj porast odgovara porastu brušita u materijalu, što sugerira da brušit-aluminosilikatni materijali mogu uticati na dostupnost i akumulaciju Ca u korenskom sistemu biljaka pod stresom koji je izazvan od strane Pb. Unos Pb u biljne ćelije može se odvijati pasivno kroz apoplast, i u tom slučaju ono prolazi kroz ćelijske zidove i ekstracelularni prostor, ili aktivno preko  $Ca^{2+}$  kanala. Budući da je utvrđena kompeticija  $Pb^{2+}$  sa  $Ca^{2+}$  za iste transportne puteve, prisustvo Pb utiče na unos Ca kod *Festuca rubra* i njegov dalji prenos kroz biljku (Kumar & Prasad 2018; Blanco i sar. 2021).

Koncentracije Fe u biljnim uzorcima pokazuju izražene razlike između uzoraka korenova i nadzemnih delova biljaka, slično kao i kod Ca, dok pored toga koncentracije Fe u korenu variraju u širokom rasponu. Evidentan je nagli pad koncentracije Fe u uzorcima biljaka gajenih u supstratu koji nije tretiran Pb i sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala, što može ukazivati na smanjenu dostupnost ili akumulaciju Fe na geopolimernim materijalima. Ovo potkrepljuju prethodne studije koje ukazuju na to da kaolinit, prekursor za dobijanje metakaolina, poseduje visoku efikasnost adsorpcije Fe (Kamel i sar. 2004). Na to ukazuje i pad sadržaja pristupačnih oblika Fe u supstratu na kojem je gajena biljka nakon dodavanja brušit-aluminosilikatnih materijala i u skladu je sa povećanjem udela brušita u materijalu. Nasuprot tome, u uzorcima gde je supstrat prethodno tretiran Pb, primećen je blagi porast koncentracije Fe u korenovima nakon dodatka brušita, što može ukazivati na složeniji uticaj interakcije zagađivača i geopolimernih materijala na dostupnost ovog mikroelementa i kompeticiju jona Fe i Pb za mesta za vezivanje na materijalu. Kompeticija između ova dva elementa za mesta vezivanja na uzorku modifikovanog kaolinita je evidentirana u prethodnim studijama, pri čemu je uočen veći afinitet adsorbensa prema  $Pb^{2+}$  jonima (Lawal i sar. 2024).

Dominantna akumulacija Cu u korenskom sistemu, uz zanemarljive koncentracije u nadzemnim delovima, ukazuje na ograničenu translokaciju ovog elementa u biljci, što je karakteristično za Cu kao mikroelement (Wong i sar. 1994; Wairich i sar. 2022). Takođe, koncentracije Cu izmerene u biljnim uzorcima su visoke u poređenju sa ovim elementom u supstratu i primećena je njegoza izražena akumulacija u korenu biljke (Deng i sar. 2025). Maksimalna koncentracija Cu u korenu zabeležena je u uzorku korena biljke koja je gajena u supstratu tretiranom Pb bez dodatka brušit-aluminosilikatnih materijala, dok je u nadzemnim delovima iste biljke, koncentracija Cu znatno niža. Nije uočen jasan trend porasta ili pada koncentracije Cu u zavisnosti od prisustva brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala u supstratu i udela brušita u materijalima. Odsustvo izraženog trenda može ukazivati na to da ovi materijali nemaju značajan uticaj na akumulaciju ili dostupnost Cu biljci. S druge strane, uticaj aluminosilikatnih materijala na smanjenje dostupnosti Cu je pokazana prethodnim studijama upotrebom palogorskita i crvenog mulja (Gray i sar. 2006; Liu i sar. 2024).

Koncentracije Mn, kao i većine ispitanih mikroelemenata, pokazuju neujednačeno variranje između biljnih uzoraka. Najviše koncentracije zabeležene su u korenu kontrolnog uzorka. Koncentracije ovog elementa u nadzemnim delovima biljke su niže od koncentracija u korenovima. Zapažen je blagi pad koncentracija Mn u nadzemnim delovima biljaka gajenih u supstratima sa ili bez Pb, nakon dodavanja brušit-aluminosilikatnih materijala. Ovaj pad može ukazivati na smanjenu translokaciju Mn unutar biljke, što je i pokazano kod uzoraka supstrata Pb na kojima je gajena biljka i u skladu je sa udelom brušita u materijalima, što se poklapa sa rezultatima ranijih istraživanja u kojem su rađene analize sa *Chrysopogon zizanioides* i bentonitom (Otunola i sar. 2023). Ovi rezultati sugeriraju da tretman supstrata brušit-aluminosilikatnim geopolimernim materijalima može uticati na distribuciju Mn unutar biljke, ali bez jasne korelacije sa procentom dodatog brušita.

Koncentracije Zn u biljnim uzorcima pokazuju varijabilnost, ali bez izraženih pravilnosti u zavisnosti od tretmana supstrata brušit-aluminosilikatnim materijalima. Uočava se blagi pad koncentracija Zn u biljkama koje su gajene kako u supstratima tretiranim Pb, tako i na onima bez Pb, sa dodatkom geopolimernih materijala. Koncentracije Zn u korenovima *Festuca rubra* su izrazito više u odnosu na nadzemne delove biljke. Analize koncentracija pokazuju niže vrednosti u poređenju sa vrednostima prethodnih istraživanja sa *Festuca rubra*, što je naročito izraženo kada se uporede nadzemni delovi biljke, što se može objasniti kompeticijom za unos ovog elementa u biljku i translokaciju u nadzemne delove sa drugim dvovalentnim jonima poput Pb (Pusz i sar. 2021). Ovakva raspodela ukazuje na veću sposobnost korena za ograničenu translokaciju Zn.

Porast koncentracija Cr i Cd je primećen u korenovima i u nadzemnim organima biljnih uzoraka nakon dodavanja brušit-aluminosilikatnih materijala, bez obzira na tretman supstrata Pb, a koji prati udeo brušita u materijalu. Iako se ovi rezultati samo delimično slažu sa rezultatima prethodnih istraživanja, u kojima je pokazano da aluminosilikatni materijali dovode do porasta koncentracija ovih elemenata u korenovima i pada u nadzemnim delovima biljaka, rezultati se poklapaju sa porastom koncentracija u supstratu u kojem je *Festuca rubra* gajena (Friesl i sar. 2003; Klik i sa 2022). Takođe, ovi rezultati ukazuju na potencijal za korišćenje ispitivanog sistema *Festuca rubra* i brušit-aluminosilikatnih materijala za imobilizaciju navedenih jona u kontaminiranim zemljištima.

U uzorcima *Festuca rubra* gajenoj u supstratu koji je tretiran Pb uočene su niže koncentracije Co u nadzemnom delu i korenu u odnosu na biljke koje su gajene u supstratu koji nije tretiran Pb, što ukazuje na to da Pb može smanjiti usvajanje Co od strane biljke. Razlog za to može biti kompeticija dvovalentnih jona  $Pb^{2+}$  i  $Co^{2+}$  (Fritioff & Greger 2006).

## 5.5. Fiziološke i biohemijske analize *Festuca rubra*

Rezultati analize pigmenata, hlorofila a (Chl *a*), hlorofila b (Chl *b*), ukupnih hlorofila (Chl *a+b*) i karotenoida (Car), ukazuju na statistički značajan pad koncentracija u biljkama koje su gajene u supstratima tretiranim Pb, u odnosu na one koje su rasle na netretiranom zemljištu (Prilog 3). Koncentracije hlorofila a u uzorcima biljaka sa netretiranog supstrata više su od koncentracija detektovanih u biljkama gajenim u supstratu koji je tretiran Pb. Slična je tendencija zabeležena i u slučaju hlorofila b i ukupnih hlorofila. Koncentracije karotenoida su takođe bile niže u uzorcima gajenim u supstratu koji je tretiran Pb u poređenju sa biljkama koje su rasle na netretiranim supstratima. Negativna korelacija koncentracije hlorofila i karotenoida sa sadržajem Pb u biljci može biti posledica uticaja Pb na sintezu hlorofila inhibiranjem ključnih enzima u biosintetskom putu, što dovodi do oštećenja hloroplasta i do porasta koncentracije ROS. Smanjenje koncentracije karotenoida dodatno utiče na sposobnost biljke da neutralizuje ROS, čime se pojačava oksidativni stres i oštećenje ćelija (Kolaksazov i sar. 2024). Važno je istaći da su dodaci brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala u oba tipa supstrata doveli do porasta koncentracija svih ispitivanih pigmenata, što ukazuje na to da brušit-aluminosilikatni geopolimerni materijali ne remete proces fotosinteze u biljci, čak je i podstiču u izvesnoj meri. Najizraženiji porast pigmenata primećen je kod uzoraka sa dodatkom GPB6% na supstratu bez Pb, što sugeriše da viši udeo brušita može doprineti poboljšanju fiziološkog stanja biljaka (Djukic i sar. 2025).

Analiza koncentracije prolina u nadzemnim delovima biljaka pokazuje statistički značajne razlike između uzoraka gajenih u supstratima sa i bez Pb, i u skladu su sa rezultatima prethodnih istraživanja (Prlog 3; Vázquez-de-Aldana i sar. 2013). Prolin je poznat po svom osmoprotektivnom efektu i često se akumulira u biljkama kao odgovor na različite stresne uslove, uključujući abiotske stresore poput PTE i suše (Bandurska & Józwiak 2010). U biljkama gajenim u supstratima tretiranim Pb, koncentracije prolina su generalno bile više. Ovaj porast je u skladu sa odgovorom biljaka na stres indukovano od strane PTE, gde se prolin nakuplja kao zaštitni faktor, pomažući u stabilizaciji proteina i membrana, kao i u neutralizaciji ROS-a (Spormann i sar. 2023; Hemadri Reddy i sar. 2024).

Primećen je statistički značajan pad koncentracija prolina sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih geopolimera u tretiranim supstratima, koji prati udeo brušita u materijalima (Prilog 3). Ovaj trend ukazuje da brušit-aluminosilikatni materijali mogu pozitivno uticati na smanjenje stresa kod biljaka koji je izazvan prisustvom visokih koncentracija Pb, verovatno dovodeći do poboljšanja uslova za rast biljaka. Dobijeni rezultati imaju značajan doprinos razvoju efikasnih strategija za fitoremedijaciju zagađenih zemljišta, jer pružaju uvid u mehanizme kojima biljke odgovaraju na prisustvo PTE i uticaj brušit-aluminosilikatnih materijala na fiziološke procese u njima.

Analize antioksidativnog kapaciteta u koje spadaju efikasnost inhibicije DPPH i sadržaj ukupnih fenola u nadzemnim delovima biljaka pokazuju uzajamnu povezanost ova dva parametra. Procenat inhibicije DPPH odražava sposobnost biljaka da neutrališu slobodne radikale. Rezultati pokazuju da je on niži u biljkama gajenim na netretiranom zemljištu u poređenju sa biljkama sa supstrata tretiranog Pb. Međutim, kod biljaka sa olovom netretiranih supstrata primećuje se porast antioksidativnog kapaciteta sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih materijala, što može ukazivati na stimulativni efekat ovih materijala na produkciju antioksidativnih jedinjenja u biljkama tj. na njegov negativan uticaj na fotosintetske procese i izazivanje oksidativnog stresa kod biljke. Suprotno tome, u biljkama koje su gajene u supstratima tretiranim Pb, procenat inhibicije DPPH opada nakon dodavanja brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala i prati udeo brušita u geopolimeru. Ovaj trend sugerise da dodatak brušit-aluminosilikatnih materijala u zemljište obogaćeno sa PTE može smanjiti oksidativni stres u biljkama. Smanjenje antioksidativnog kapaciteta je direktno povezano sa udelom brušita u materijalima, što ukazuje na njegov potencijal u modifikaciji biohemijskih reakcija biljaka pod stresom izazvanim PTE. Sličan trend je uočen i kod koncentracija ukupnih fenola koji se smatraju ključnim sekundarnim metabolitima sa antioksidativnim svojstvima. Koncentracije fenola u biljkama sa netretiranog supstrata su niže od koncentracija u biljkama koje su gajene u supstratu koji je tretiran Pb. Maksimalne koncentracije ukupnih fenola, koje ukazuju na statistički značajno odstupanje (Prilog 3), detektovane su u nadzemnim delovima biljaka koje su gajene na zemljištu prethodno tretiranom Pb, kao i u slučaju procenta inhibicije DPPH, što ukazuje na pojačanu biosintezu fenolnih jedinjenja kao odgovor na metal-indukujući stres. Koncentracije ukupnih fenola u biljnim uzorcima koje su gajene u kontaminiranom supstratu se smanjuju sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih materijala i to u skladu sa udelom dodatog brušita. Detektovana najniža vrednost, koja pokazuje statističko značajno odstupanje i koja je niža čak i od vrednosti izmerene u kontroli, izmerena je u uzorku biljke gajene na supstratu tretiranom Pb u koju je dodato GPB6% (Prilog 3). Dobijeni rezultati ukazuju da prisustvo Pb u supstratu izaziva oksidativni stres u biljkama, što dovodi do povećanja antioksidativnog kapaciteta i akumulacije fenola potvrđujući rezultate prethodnih istraživanja (Pourrut i sar. 2011; Fryzova i sar. 2018). Dodavanje brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala ima dvostruki efekat: u supstratima koji nisu tretirani Pb može stimulisati blagi porast antioksidativnih jedinjenja, dok u Pb-tretiranim supstratima smanjuje oksidativni stres i samim tim antioksidativni odgovor biljaka.

Olovo značajno utiče na sintezu hlorofila ometajući aktivnost enzima koji sadrže SH-grupe i koji su ključni za biosintezu ovih pigmenata (Roychoudhury & Chakraborty 2020). Dodatno,  $Pb^{2+}$  u uslovima metal-indukovanog stresa može zameniti centralni  $Mg^{2+}$  jon u molekulu hlorofila, čime se narušava njegova struktura i inhibira dalja sinteza (Küpper i sar. 1996). Ovi negativni efekti Pb potvrđeni su i u eksperimentima sa *F. rubra*, gde je kontaminacija supstrata Pb dovela do značajnog pada koncentracija hlorofila i karotenoida u biljnim uzorcima. Pored toga, promene u sadržaju prolina i fenola, kao i smanjena efikasnost inhibicije slobodnih radikala, upućuju na to da dodavanje brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala, može značajno ublažiti stres izazvan PTE. U prisustvu ovih materijala zabeležen je pad koncentracija navedenih biohemijskih indikatora stresa, koji je bio najizraženiji kod uzoraka biljaka gajenih u supstratu sa GPB6%, gde su vrednosti bile niže čak i od rezultata dobijenih analizom kontrolnog uzorka biljke koja je gajena u netretiranom supstratu.

## 5.6. Fitoremedijacioni potencijal biljke

Vrednosti biokoncentracionog (BCF) i translokacionog faktora (TF) jasno ukazuju na promene u sposobnosti biljaka da akumuliraju i transportuju Pb unutar biljke u prisustvu brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala. Najviša vrednost TF zabeležena je u uzorku biljke koja je gajena u supstratu kome nisu dodati geopolimerni materijali, dok je najniža vrednost zabeležena u biljkama gajenim u supstratu u koji je prethodno dodat GPB6%. U kontrolnom uzorku i uzorku biljke koja je gajena u supstratu sa GPB2% indeks TF je iznosio iznad 1 što je u suprotnosti sa rezultatima analize *Festuca arudinacea* kod koje TF bio mnogo niži (0,09) (Albornoz i sar. 2016). Međutim, primetan je jasan trend pada vrednosti TF sa povećanjem procenta brušita u brušit-aluminosilikatnim geopolimerima koji su prethodno dodati u supstrat, što znači da sa većim udelom brušita raste potencijal da se ograniči translokacija, verovatno smanjujući pokretljivost elemenata, što može biti korisno u slučajevima zagađenih zemljišta gde je cilj sprečavanje prenosa PTE u nadzemne organe. Suprotno tome, biokoncentracioni faktor (BCF) pokazuje tendenciju porasta sa dodatkom brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala u supstratu i u korelaciji je sa procentom brušita, dok je rast bioakumulacionog faktora (BAF) manjeg stepena. Najviša vrednost BCF zabeležena kod biljaka gajenih u supstratu sa GPB6%, dok je najniža vrednost registrovana u uzorku biljaka sa supstrata bez geopolimernih materijala. Porast BCF može ukazivati na efikasniju apsorpciju ili akumulaciju elemenata u korenskom sistemu biljaka kada su prisutni brušit-aluminosilikatni geopolimerni materijali. Ovo je interesantno jer pokazuje da iako je transport elemenata u nadzemne organe smanjen, njihova ukupna akumulacija u korenu može biti povećana, što može ukazivati na indukciju zaštitnog mehanizma, karakterističnog za biljke ekskludere, što pojačava efikasnost fitostabilizacije. Unos Pb od strane biljaka raste proporcionalno sa sadržajem ovog elementa u zemljištu, naročito onog dela koji im je lako pristupačan, što potvrđuje postojanje jake pozitivne korelacije između koncentracije Pb u zemljištu i njegovog sadržaja u biljnom tkivu. Biljke pogodne za fitostabilizaciju bi trebalo da imaju TF manji od 1, a što je i pokazano kod *Festuca rubra* nakon dodavanja brušit-aluminosilikatnih materijala sa 4% i 6% brušita, i njihov pozitivan uticaj (Redziemska i sar. 2017). Iako je BCF manji od 1 u svim uzorcima, primećen je njegov porast sa dodatkom geopolimernih materijala. Rezultati ove studije jasno naglašavaju pozitivan uticaj udela brušita u materijalima na efikasnost fitostabilizacije jona Pb od strane ispitivane biljke. Smanjenje TF može doprineti smanjenju unosa Pb u nadzemne organe biljaka, sprečavajući time širenje ovog toksičnog elementa. To se posebno odnosi na cvetove, i potencijalno negativan uticaj na polinatore (Đukić i sar. 2025). S druge strane, povećanje BCF i akumulacija Pb u korenu može omogućiti stabilizaciju ili njegovo vezivanje na nivou korenskog sistema.

## 6. ZAKLJUČCI

Analiza novosintetisanih materijala i eksperiment u kojem je gajena *Festuca rubra* u različito tretiranim supstratima, doveli su do sledećih zaključaka:

Na osnovu rezultata karakterizacije brušit-aluminosilikatnih materijala sa različitim udelom dodatog brušita može se zaključiti da je došlo do alkalne aktivacije i procesa geopolimerizacije metakaolina i delimične ili potpune ugradnje brušita u geopolimerni matriks.

Rezultati dobijeni analizama efikasnosti i mehanizama adsorpcije jona Pb iz vodenih rastvora na brušit-aluminosilikatnim materijalima pokazuju da su navedeni materijali pogodni za upotrebu kao aditivi u svrhu poboljšanja fitostabilizacije. Veoma visoka efikasnost je detektovana kod geopolimera u kojima je udeo brušita iznosio 2%, 4% i 6%, i to navedenim redosledom, te su ovi materijali korišćeni u daljim istraživanjima. Potencijalni mehanizam adsorpcije je utvrđen kod svih uzoraka i predstavlja najverovatnije hemisorpciju koja je generalno stabilnija od fizisorpcije, jer u istoj dolazi do stvaranje hemijskih veza između adsorbensa i adsorbata, što rezultuje čvršćim i trajnijim vezivanjem. Prilikom mehanizma hemisorpcije joni  $Pb^{2+}$  se ugrađuju u geopolimerni matriks uz pomoć jonske izmene sa  $Ca^{2+}$ , koji se nalazi u sastavu brušita. Dobijeni rezultati takođe podržavaju primenu ovih materijala u zemljištu, zbog njihove veće stabilnosti i manje opasnosti od desorpcije Pb usled promena u uslovima okruženja.

Analize pH supstrata pokazuju da se kiselost nalazi u okviru vrednosti optimalnih za uklanjanje jona Pb iz vodenih rastvora pomoću brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala. Najefikasnije uklanjanje Pb zabeleženo je kod GPB2%, GPB4% i GPB6%, pri pH vrednostima iznad 7. U supstratu tretiranom Pb i navedenim geopolimernim materijalima i korišćenim za gajenje *F. rubra*, pH vrednost se povećavala proporcionalno sa sadržajem brušita, što ukazuje na bolju adsorpciju  $Pb^{2+}$  i pozitivan efekat ovih materijala na njegovu stabilizaciju. Povećanje alkaliteta zemljišta u sistemu geopolimer i *F. rubra* doprinosi fitostabilizaciji PTE.

Brušit-aluminosilikatni materijali korišćeni u ovom istraživanju pokazuju različit uticaj na sadržaj makroelemenata u biljkama gajenim u supstratu tretiranom Pb. Uočen je porast koncentracija P u nadzemnim delovima biljke, naročito u prisustvu GPB2%, dok N i K pokazuju varijacije u odnosu na prisustvo materijala. Porast koncentracije N koji ima pozitivan uticaj na biljku primećen je kod GPB6%. Što se tiče mikroelemenata, uticaj GPB je uglavnom bio zanemarljiv, izuzev kada su u pitanju Cu i Mn, gde se beleži nešto izraženiji pozitivan uticaj na akumulaciju ovih elemenata. Dodatna prednost upotrebe ovih materijala je veći kapacitet zadržavanja vode, što doprinosi njenoj boljoj dostupnosti biljkama, zahvaljujući prisustvu gline u strukturi geopolimera.

Pokazano je da brušit-aluminosilikatni materijali efikasno stabilizuju Pb tako što ga inkorporiraju u svoju strukturu, a rezultati analize biljnih uzoraka ukazuju na dodatne uticaje ovih materijala kada se nađu u supstratu. Naime, i pored očekivane niske translokacije Pb u nadzemne delove biljke usled njegovog vezivanja u korenu, koncentracije Pb u nadzemnim delovima *Festuca rubra* bile su više u uzorcima gajenim u supstratu bez GPB i sa GPB2% nego u korenu, dok je sa povećanjem brušita u materijalu primećeno smanjenje vrednosti translokacionog faktora. Ovo ukazuje na pozitivan efekat geopolimera na fitostabilizaciju, budući da je glavni cilj ove tehnike zadržavanje elemenata u višku u korenu i sprečavanje njegovog daljeg širenja kroz biljku.

Rezultati eksperimenata ukazuju na smanjenje sadržaja fotosintetskih pigmenata u uzorcima biljaka koje su gajene u supstratu koji je prethodno tretiran Pb, što potvrđuje njegov negativan uticaj na fiziološke procese koje se odvijaju u biljci. Pored toga, detektovane su i više koncentracije prolina, ukupnih fenola i veća antioksidativna aktivnost u nadzemnim delovima biljnih uzoraka. Smanjenje sadržaja prolina i ukupnih fenola nakon dodavanja brušit-aluminosilikatnih geopolimernih materijala

u supstrat ukazuju na to da materijal pozitivno utiče na smanjenje stresa izazvanog prisustvom PTE u biljkama. Njihove koncentracije bile su niže u uzorcima sa GPB6% čak i u poređenju sa uzorcima iz supstrata koji nisu tretirani Pb, potvrđujući efikasnost ovih materijala i pozitivan uticaj brušita u aluminosilikatnom matriksu.

Rezultati ove studije pokazuju da se upotreba brušit-aluminosilikatnih materijala sa različitim koncentracijama dodatog brušita može smatrati efikasnom u imobilizaciji jona Pb kako u samom supstratu, tako i u *Festuca rubra*. Vrednosti biokoncentracionog (BCF) i translokacionog faktora (TF) potvrđuju značajan doprinos ovih materijala u fitostabilizaciji jona Pb. Dodatno, poboljšana svojstva zemljišta izražena su kroz povećane koncentracije makroelemenata u uzorcima biljnih tkiva naročito N, P i K.

Pored pokazanog pozitivnog efekta primene brušit-aluminosilikatnih materijala na toleranciju Pb od strane *Festuca rubra*, ova studija ukazuje na brojne druge pozitivne efekte primene ovog materijala u fitoremedijaciji. Metakaolin korišćen u ovim istraživanjima, dobijen je od kaolinita iz napuštenih ležišta, dok je brušit dobijen sintezom u skladu sa principima zelene hemije. Otuda, pored toga što za sintezu brušit-aluminosilikatnih materijala nije izvršen štetan uticaj na okolinu, napuštenoj sirovini koja je korišćena u ovom procesu je pronađena nova primena. S druge strane fitoremedijacija je ekološki prihvatljiva i ekonomski isplativa tehnika, sa minimalnim štetnim uticajem na samo zemljište u poređenju sa konvencionalnim fizičko-hemijskim metodama. Od tehnika koje spadaju u fitoremedijaciju, posebno je favorizovana fitostabilizacija u slučaju veoma toksičnih i slabopokretljivih elemenata kao što je Pb, prvenstveno jer se na ovaj način sprečava njegov ulazak u lance ishrane i dalje širenje u ekosistemu. Pored toga prednost je što se ova tehnika može primeniti na velikim površinama koje su kontaminirane Pb. Biljke iz familije trava su veoma pogodne u fitostabilizaciji PTE, a vrsta *Festuca rubra* se pokazala kao uspešna u imobilizaciji jona Pb iz zemljišta koje je zagađeno ovim elementom. Kako je ono veoma štetno po životnu sredinu i teško se uklanja iz okruženja, rezultati dobijeni ovim istraživanjima ukazuju na mogućnost dalje implementacije ovog sistema *in situ* za dekontaminaciju zemljišta. Rezultati takođe nagoveštavaju da brušit-aluminosilikatni materijali mogu predstavljati efikasnu strategiju za ublažavanje efekata zagađenja u zemljištima kontaminiranim Pb. Njihova primena može poboljšati dostupnost nutrijenata i smanjiti toksičnost metala, što se odražava i na očuvanje pigmentnog sastava, efikasnost procesa fotosinteze i na smanjenje oksidativnog stresa.

Istraživanja prikazana u ovoj doktorskoj disertaciji predstavljaju nov pravac u oblasti zaštite životne sredine, i doprinose novim saznanjima o uklanjanju PTE iz zemljišta i zagađenih voda korišćenjem netoksičnih materijala dobijenih ekološkim postupcima sinteze zajedno sa adekvatnim biljnim vrstama, predstavljajući osnovu za buduća istraživanja iz oblasti ekologije i nauke o materijalima.

## 7. LITERATURA

- Abbasi, M., Hosseinpour, I., Salimi, M., Astaneh, A. G., & Payan, M. (2025). A comparative study on stabilization efficiency of kaolinite and montmorillonite clays with fly ash (FA) and rice husk ash (RHA)-based geopolymers. *Journal of Materials Research and Technology*, 36, 2332–2347. doi: 10.1016/j.jmrt.2025.03.234.
- Abdykirova, G., Abdulvaliyev, R., Akhmadiyeva, N., & Imangaliyeva, L. (2023). Study on the kaolin clay beneficiation ability. *Metallurgy*, 62(1), 158–160. ISSN: 0543-5846.
- Ábrahám, E., Hourton-Cabassa, C., Erdei, L. & Szabados, L. (2010). Methods for determination of proline in plants. In R. Sunkar (Ed.), *Plant stress tolerance* (317–331). Humana Press. doi: 10.1007/978-1-60761-702-0\_20.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2012).
- Alagić, S., Nujkić, M., & Dimitrijević, M. (2014). Strategije biljaka u borbi protiv fitotoksičnih koncentracija metala kao ključni preduslov uspješne fitoremedijacije: Ekskluderi i hiperakumulatori, deo II. *Zaštita Materijala*, 55(4), 435–440. doi: 10.5937/ZasMat1404435A.
- Albornoz, C., Larsen, K., Landa, R., Quiroga, M. A., Najle, R., & Marcovecchio, J. (2016). Lead and zinc determinations in *Festuca arundinacea* and *Cynodon dactylon* collected from contaminated soils in Tandil (Buenos Aires Province, Argentina). *Environmental Earth Sciences*, 75(6), 488. doi: 10.1007/s12665-016-5513-9.
- Ali, H., & Khan, E. (2017). What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of the term ‘heavy metals’—proposal of a comprehensive definition. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 100, 1–25. doi: 10.1080/02772248.2017.1413652.
- Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications. *Chemosphere*, 91, 869–881. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.01.075.
- Alves, A. R. A., Yin, Q., Oliveira, R. S., Silva, E. F., & Novo, L. A. B. (2022). Plant growth-promoting bacteria in phytoremediation of metal-polluted soils: Current knowledge and future directions. *Science of the Total Environment*, 838(4), 156435. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.156435.
- Angulo-Bejarano, P. I., Puente-Rivera, J., & Cruz-Ortega, R. (2021). Metal and Metalloid Toxicity in Plants: An Overview on Molecular Aspects. *Plants*, 10(4), 635. doi: 10.3390/plants10040635.
- Atkins, D. P., Trueman, I. C., & Clarke, C. B. (1982). The evolution of lead tolerance by *Festuca rubra* on a motorway verge. *Environmental Pollution (Series A)*, 27, 233–241. doi: 10.1016/0143-1471(82)90028-9.
- Auerbach, S. M., Carrado, K. A., & Dutta, P. K. (2004). *Handbook of Layered Materials*, Marcel Dekker, Inc, New York, Basel. ISBN: 0-8247-5349-6.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 360438. doi: 10.1155/2014/360438.
- Aziz, R. A., Salleh, M. N., Saleh, M., Gopinath, S., & Giap, S. G. (2025). Sustainable yield improvements in paddy cultivation using silicon-enhanced zeolite. *Sustainable Futures*, 10, 101413. doi:10.1016/j.sftr.2025.101413.
- Babić, D. (2003). *Mineralogija*, Cicero, Beograd. ISBN: 868185108X/ 9788681851081.
- Baker, A. J. M. & Whiting, S. (2008). Metallophytes — A Unique Biodiversity and Biotechnological Resource in the Care of the Minerals Industry. In A. B. Fourie, M. Tibbett, I. Weiersbye, & P. Dye (Eds.), *Mine Closure 2008* (13–20), Australian Centre for Geomechanics, Perth. doi: 10.36487/ACG\_repo/852\_2.
- Baker, A. J. M. (1981). Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, 3, 643–654. doi: 10.1080/01904168109362867.

- Bandurska, H., & Józwiak, W. (2010). A comparison of the effects of drought on proline accumulation and peroxidases activity in leaves of *Festuca rubra* L. and *Lolium perenne* L. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 79(2), 111–116. doi: 10.5586/asbp.2010.015.
- Bansal, O. P. (2020). Health risks of potentially toxic metals contaminated water In J. K. Nduka & M. N. Rashed (Eds.), *Heavy Metal Toxicity in Public Health*, IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.92141.
- Bhat, B. A., Rather, M. A., Bilal, T., Nazir, R., Qadir, R. U., & Mir, R. A. (2025). Plant hyperaccumulators: A state-of-the-art review on mechanism of heavy metal transport and sequestration. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1631378. doi: 10.3389/fpls.2025.1631378.
- Bizoux, J. P., Brevers, F., Meerts, P., Graitson, E., & Mahy, G. (2004). Ecology and conservation of Belgian populations of *Viola calaminaria*, a metallophyte with a restricted geographical distribution. *Belgian Journal of Botany*, 137, 91–104. doi: 10.2307/20794541.
- Blanco, A., Pignata, M. L., Lascano, H. R., Salazar, M., & Rodriguez, J. (2021). Lead uptake and translocation pathways in soybean seedlings: The role of ion competition and transpiration rates. *Environmental Science and Pollution Research International*, 28(16), 20624–20636. doi: 10.1007/s11356-020-11901-x.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200. doi:10.1038/1811199a0.
- Bolan, N.S., Park J.H., Robinson, B., Naidu, R., & Huh, K.Y. (2011). Phytostabilization: A green approach to contaminant containment. *Advances in Agronomy*, 12, 145–204. doi: 10.1016/B978-0-12-385538-1.00004-4.
- Boyd, R. S. (2004). Ecology of metal hyperaccumulation. *New Phytologist*, 162(3), 563–567. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01079.x.
- Boyd, R. S. (2007). The defense hypothesis of elemental hyperaccumulation: Status, challenges and new directions. *Plant and Soil*, 293(1–2), 153–176. doi: 10.1007/s11104-007-9240-6.
- Boyd, R. S., & Martens, S. N. (1994). Nickel Hyperaccumulated by *Thlaspi montanum* Var. *montanum* Is Acutely Toxic to an Insect Herbivore. *Oikos*, 70(1), 21–25. doi.org: 10.2307/3545694.
- Bremner, J. M. (1996). Nitrogen-total. In D. L. Sparks (Ed.), *Methods of soil analysis part 3: chemical methods* (1085–1122). Madison: Soil and Science Society of America, Inc., American Society of Agronomy, Inc. doi: 10.2136/sssabookser5.3.c37.
- Briffa, J., Sinagra, E., & Blundell, R. (2020). Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 6(9), e04691. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04691.
- Briseño-Bugarín, J., Araujo-Padilla, X., Escot-Espinoza, V. M., Cardoso-Ortiz, J. Flores de la Torre, J. A., & López-Luna, A. (2024). Lead (Pb) Pollution in Soil: A Systematic Review and Meta-Analysis of Contamination Grade and Health Risk in Mexico. *Environments*, 11 (3), 43. doi: 10.3390/environments11030043.
- Cadiz, N. M., & Davies, M. S. (1997). Effects of Cadmium, Lead and Zinc on Root Meristem, Root Hair Formation, Xylogenesis and Development of Lateral Root Primordia in *Ocimum sanctum* L. and *Festuca rubra* L. CV. Merlin. In A. Altman, & Y. Waisel (Eds.), *Biology of Root Formation and Development*. Basic Life Sciences, 65 (275–276), Springer, Boston, MA. doi: 10.1007/978-1-4615-5403-5\_56.
- Cappa, J. J., & Pilon-Smits, E. A. H. (2014). Evolutionary aspects of elemental hyperaccumulation. *Planta*, 239, 267–275. doi: 10.1007/s00425-013-1983-0.
- Carrera-Beltrán, L., Gavilanes-Terán, I., Idrovo-Novillo, J., Valverde, V. H., Rodríguez-Pinos, A., Paredes, C., Signes-Pastor, A. J., & Carbonell-Barrachina, A. A. (2024). Environmental pollution by heavy metals within the area influenced by the Tungurahua volcano eruption – Ecuador. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 270, 115919. doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115919.
- Chatterjee, S., Mitra, A., Datta, S., & Veer, V. (2013). Phytoremediation Protocols: An Overview. In D. K. Gupta (Ed.), *Plant-based remediation processes*. Soil Biology, 35, (1-18), Springer-Verlag Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-35564-6\_1.

- Chen, X., Niu, Z., Zhang, H., Guo, Y., Liu, M., & Zhou, M. (2019). Study on the metakaolin-based geopolymer pervious concrete (MKGPC) and its removal capability of heavy metal ions. *International Journal of Pavement Engineering*, 22(8), 1–12. doi:10.1080/10298436.2019.1667499.
- Chiarucci, A., & Baker, A. J. (2007). Advances in the ecology of serpentine soils. *Plant and soil*, 293, 1–2. doi: 10.1007/s11104-007-9268-7.
- Collin, S. M., Venkatraman, S. K., Vijayakumar, N., Kanimozhi, V., Arbaaz, S. M., Stacey, R. G. S., Anusha, J., Choudhary, R., Lvov, V., Tovar, G. I., Senatov, F., Koppala, S., & Swamiappan, S. (2022). Bioaccumulation of lead (Pb) and its effects on human: A review. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 7(2), 100094. doi: 10.1016/j.hazadv.2022.100094.
- Colombo, C., Palumbo, G., He, J. Z., Pinton, R., & Cesco, S. (2014). Review on iron availability in soil: Interaction of Fe minerals, plants, and microbes. *Journal of Soils and Sediments*, 14(3), 538–548. doi: 10.1007/s11368-013-0814-z.
- Cui, H., Xu, Z., Guo, T., Hu, S., Xia, R., Zhang, S., Wang, Y., & Zhou, J. (2024). Calcium Hydroxide–Phosphate-Modified Fly Ash Enhances the Adsorption and Stabilization of Soil Lead and Cadmium. *Agronomy*, 14(12), 2905. doi: 10.3390/agronomy14122905.
- Davidovits, J. (2008) *Geopolymer Chemistry and Applications*. Geopolymer Institute, Saint-Quentin. ISBN: 9782954453118.
- Deng, L., Yin, M., Yang, S., Wang, X., Chen, J., Miao, D., Yin, G., Zhai, S., Su, Y., Wu, C., & Ren, Z. (2025). Assessment of metal residues in soil and evaluate the plant accumulation in copper mine tailings of Dongchuan, Southwest China. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1528723. doi: 10.3389/fpls.2025.1528723.
- Djukić, D., Mirković, M., Andrejić, G., Aleksić, U., Mišljenović, T., Vujičić, M., & Jakovljević, K. (2025). Green solution for lead pollution: Phytoremediation with *Festuca rubra* and brushite–aluminosilicate geopolymer material. *Plant Biosystems – An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology*, 159(3), 448–457. doi: 10.1080/11263504.2025.2485975.
- Dorozhkin, S. V. (2009). Calcium Orthophosphate Cements and Concretes. *Materials*, 2(1), 221–291. doi: 10.3390/ma2010221.
- Dradrach, A., Karczewska, A., & Szopka, K. (2020). Arsenic accumulation by red fescue (*Festuca rubra*) growing in mine affected soils—Findings from the field and greenhouse studies. *Chemosphere*, 248, 126045. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.126045.
- Đukić, D., Krstić, A., Jakovljević, K., Butulija, S., Andjelković, L., Pavlović, V., & Mirković, M. (2022). Brushite-Metakaolin Composite Geopolymer Material as an Effective Adsorbent for Lead Removal from Aqueous Solutions. *Sustainability*, 14(7), 4003. doi: 10.3390/su14074003.
- Echevarria, G. (2018). Genesis and behaviour of ultramafic soils and consequences for nickel biogeochemistry. In A. van der Ent, G. Echevarria, A.J.M. Baker, & J. L. Morel (Eds.) *Agromining: Farming for metals*, 135–156. doi: 10.1007/978-3-319-61899-9\_8.
- Egner, H., Riehm, H., & Domingo, W. R. (1960). Untersuchung Über Die Chemische Bodenanalyse Als Grundlage Für Die Beurteilung Des Nährstoffzustandes Der Böden. 2, Chemische Extraktionsmethoden Zur Phosphor Und Kaliumbestimmung. *Annals of the Royal Agricultural College of Sweden* 26, 199–215.
- El Wartiti, M., Enneffah, W., Bouatia, M., Rachid, J., Mina, A., & Yassir, B. (2022). Risk management related to the presence of lead in drinking water: a literature review. *International Journal of Advanced Research*, 10(3), 1027–1031. doi: 10.21474/IJAR01/14487.
- Eleraky, M.I., Razeq, T.M.A., Hasani, I.W., & Fahim, Y.A. (2025). Adsorptive removal of lead, copper, and nickel using natural and activated Egyptian calcium bentonite clay. *Scientific Reports*, 15, 13050. doi: 10.1038/s41598-025-95184-7.
- Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhbardoran, F., & Xie, Y. (2015). Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. *The Scientific World Journal*, 756120. doi: 10.1155/2015/756120.

- Ernst, W. H. O. (1996). Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. *Applied Geochemistry*, 11(1–2), 163–167. doi: 10.1016/0883-2927(95)00040-2.
- Evangelou, M. W. H., Fellet, G., Ji, R., & Schulin, R. (2015). Phytoremediation and biochar application as an amendment. In A. Ansari, S. Gill, R. Gill, G. Lanza, & L. Newman (Eds.), *Phytoremediation* (253–263). Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-319-10395-2\_17.
- Fattahi, B., Arzani, K., Souri, M. K., & Barzegar, M. (2021). Morphophysiological and phytochemical responses to cadmium and lead stress in coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Industrial Crops and Products*, 171, 113979. doi:10.1016/j.indcrop.2021.113979.
- Feng, J. R., & Ni, H. G. (2024). Effects of heavy metals and metalloids on the biodegradation of organic contaminants. *Environmental Research*, 246, 118069. doi: 10.1016/j.envres.2023.118069.
- Fiore, S., & Laviano, R. (1991). Brushite, hydroxylapatite, and taranakite from Apulian caves (southern Italy): New mineralogical data. *American Mineralogist*, 76, 1722–1727.
- Flora, G., Gupta, D., & Tiwari, A. (2012). Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdisciplinary Toxicology*, 5(2), 47–58. doi: 10.2478/v10102-012-0009-2.
- Flora, G., Mittal, M., & Flora, S. J. S. (2015). Medical countermeasures—Chelation therapy. In S. J. S. Flora (Ed.), *Handbook of arsenic toxicology* (589–626). Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-418688-0.00026-5.
- Fones, H. N., Eyles, C. J., Bennett, M. H., Smith, J. A. C., & Preston, G. M. (2013). Uncoupling of reactive oxygen species accumulation and defence signalling in the metal hyperaccumulator plant *Noccaea caerulescens*. *New Phytologist*, 199(3), 916–924. doi.org: 10.1111/nph.12354.
- Friesl, W., Lombi, E., Horak, O., & Wenzel, W. W. (2003). Immobilization of heavy metals in soils using inorganic amendments in a greenhouse study. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 166(2), 191–196. doi: 10.1002/jpln.200390028.
- Fritioff, Å., & Greger, M. (2006). Uptake and distribution of Zn, Cu, Cd, and Pb in an aquatic plant *Potamogeton natans*. *Chemosphere*, 63(2), 220–227. doi.org: 10.1016/j.chemosphere.2005.08.018.
- Fryzova, R., Pohanka, M., Martinkova, P., Cihlarova, H., Brtnicky, M., Hladky, J., & Kynicky, J. (2018). Oxidative stress and heavy metals in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 245, 129–156. doi: 10.1007/398\_2017\_7.
- Gajić, G., Djurdjević, L., Kostić, O., Jarić, S., Mitrović, M., Stevanović, B., & Pavlović, P. (2016). Assessment of the phytoremediation potential and an adaptive response of *Festuca rubra* L. sown on fly ash deposits: Native grass has a pivotal role in ecorestoration management. *Ecological Engineering*, 93, 250–261. doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.05.021.
- Gajić, G., Mitrović, M., & Pavlović, P. (2020). Feasibility of *Festuca rubra* L. native grass in phytoremediation. In V. C. Pandey, & D. P. Singh (Eds.), *Phytoremediation Potential of Perennial Grasses* (115–164). Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-817732-7.00006-7.
- Georgakopoulou, V. E., Taskou, C., Diamanti, A., Beka, D., Papalexis, P., Trakas, N., & Spandidos, D. A. (2024). Saharan dust and respiratory health: Understanding the link between airborne particulate matter and chronic lung diseases (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 28, 460–469. doi: 10.3892/etm.2024.12750.
- Gidlow, D. A. (2015). Lead toxicity. *Occupational Medicine*, 65, 348–356. doi: 10.1093/occmed/kqv018.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909–930. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016.
- Gómez, J., García, S., Esteban, E., Zornoza, P., & Carpena, R. O. (2020). The role of root organic acids in the tolerance of *Festuca rubra* to zinc, lead and cadmium. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 102(7–8), 399–414. doi: 10.1080/02772248.2020.1791866.
- Gómez, J., Yunta, F., Esteban, E., Carpena, R. O., & Zornoza, P. (2016). Use of radiometric indices to evaluate Zn and Pb stress in two grass species (*Festuca rubra* L. and *Vulpia myuros* L.).

- Environmental Science and Pollution Research*, 23(23), 23239–23248. doi: 10.1007/s11356-016-7546-8.
- Gray, C. W., Dunham, S. J., Dennis, P. G., Zhao, F. J., & McGrath, S. P. (2006). Field evaluation of in situ remediation of a heavy metal contaminated soil using lime and red-mud. *Environmental Pollution*, 142(3), 530–539. doi: 10.1016/j.envpol.2005.10.017.
- Grijalbo Fernández, L., Fernández-Pascual, M., Gutiérrez Mañero, F. J., & Lucas García, J. A. (2015). Phytoremediation of Contaminated Waters to Improve Water Quality In: A. Ansari, S. Gill, R. Gill, G. Lanza, & L. Newman (Eds.), *Phytoremediation* (11-26). Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-319-10969-5\_2.
- Guillot, S., & Hattori, K. (2013). Serpentinites: essential roles in geodynamics, arc volcanism, sustainable development, and the origin of life. *Elements*, 9(2), 95–98. doi:10.2113/gselements.9.2.25.
- Gupta, M., Dwivedi, V., Kumar, S., Patel, A., Niazi, P., & Yadav, V. K. (2024). Lead toxicity in plants: mechanistic insights into toxicity, physiological responses of plants and mitigation strategies. *Plant Signaling & Behavior*, 19(1), 2365576. doi: 10.1080/15592324.2024.2365576.
- Hemadri Reddy, S., Al-kalbani, H., Al-Qalhati, S., Al-Kahtani, A. A., Al Hoqani, U., Hejaz Azmi, S. N., Kumar, A., Kumar, S., & Settaluri, V. S. (2024). Proline and other physiological changes as an indicator of abiotic stress caused by heavy metal contamination. *Journal of King Saud University - Science*, 36(8), 103313. doi:10.1016/j.jksus.2024.103313.
- Hernández Maldonado, J. A., Torres García, F. A., Salazar Hernández, M. M., & Hernández Soto, R. (2017). Removal of chromium from contaminated liquid effluents using natural brushite obtained from bovine bone. *Desalination and Water Treatment*, 95, 262–273. doi:10.5004/dwt.2017.21480.
- Hernberg, S. (2000). Lead Poisoning in a Historical Perspective. *American journal of industrial medicine*, 38(3), 244–254. doi: 10.1002/1097-0274(200009)38:3<244::aid-ajim3>3.0.co;2-f.
- Hosseini, N. S., Sobhanardakani, S., Cheraghi, M., Lorestani, B., & Merrikhpour, H. (2020). Heavy metal concentrations in roadside plants (*Achillea wilhelmsii* and *Cardaria draba*) and soils along some highways in Hamedan, west of Iran. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(12), 13301–13314. doi: 10.1007/s11356-020-07874-6.
- Iconaru, S. L., Motelica-Heino, M., Guegan, R., Beuran, M., Costescu, A., & Predoi, D. (2018). Adsorption of Pb (II) Ions onto Hydroxyapatite Nanopowders in Aqueous Solutions. *Materials*, 11(11), 2204. doi: 10.3390/ma11112204.
- Ivanović, M. (2021). *Uticaj termodinamičkih parametara na sintezu poroznih silikatnih materijala i njihova funkcionalna primena*. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu.
- Jabeen, R., Ahmad, A., & Iqbal, M. (2009). Phytoremediation of heavy metals: physiological and molecular mechanisms. *Botanical Review*, 75, 339–364. doi: 10.1007/s12229-009-9036-x.
- Jakovljević, K., Mišljenović, T., van der Ent, A., Baker, A.J., Invernón, V.R., & Echevarria, G. (2024). “Mining” the herbarium for hyperaccumulators: Discoveries of nickel and zinc (hyper) accumulation in the genus *Noccaea* (*Brassicaceae*) through X-ray fluorescence herbarium scanning. *Ecological Research*, 39(4), 450–459. doi: 10.1111/1440-1703.12448.
- Jakovljević, K., Randelović, D., & Mišljenović, T. (2021). Phytoremediation of Mine Waste Disposal Sites: Current State of Knowledge and Examples of Good Practice. In Joshi S. J., Deshmukh A., & Sarma H. (Eds.) *Biotechnology for Sustainable Environment* (223–250). Springer, Singapore. doi: 10.1007/978-981-16-1955-7\_9.
- Jenny, H. (1980). *The soil resource. Origin and behavior*. Springer-Verlag, New York. ISSN: 0070-8356.
- Jones, J. B., & Case, V. W. (1990). Sampling, handling, and analyzing plant tissue samples. *Soil testing and plant analysis*, 3, 389–427. ISBN: 0-89118-793-6.
- Kabata-Pendias, A. (2011). *Trace elements in soils and plants (forth edition)*. Academic Press. ISBN: 9780429192036.

- Kamel, M. M., Ibrahim, M. A., Ismael, A. M., & El-Motaleeb, M. A. (2004). Adsorption of some heavy metal ions from aqueous solutions by using kaolinite clay. *Assiut University Bulletin for Environmental Research*, 7(1), 101–110.
- Kanuchova, M., Kozakova, L., Drabova, M., Sisol, M., Estokova, A., Kanuch, J., & Skvarla, J. (2014). Monitoring and characterization of creation of geopolymers prepared from fly ash and metakaolin by X-ray photoelectron spectroscopy method. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 34(3), 841–849. doi: 10.1002/ep.12068.
- Kara, I., Tunc, D., Sayın, F., & Akar, S. T. (2018). Study on the performance of metakaolin based geopolymer for Mn(II) and Co(II) removal. *Applied Clay Science*, 161, 184–193. doi: 10.1016/j.clay.2018.04.027.
- Kara, İ., Yılmaz, D., & Akar, S. T. (2017). Metakaolin based geopolymer as an effective adsorbent for adsorption of zinc(II) and nickel(II) ions from aqueous solutions. *Applied Clay Science*, 139, 54–63. doi: 10.1016/j.clay.2017.01.008.
- Karaca, O., Cameselle, C., & Reddy, K. R. (2018). Mine tailing disposal sites: Contamination problems, remedial options and phytocaps for sustainable remediation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 17, 205–228. doi: 10.1007/s11157-017-9453-y.
- Karuppaiyan, J., Mullaimalar, A., & Jeyalakshmi, R. (2025). The adsorption performance optimization of alkali-activated metakaolin geopolymeric microsphere on dye in fixed-bed column. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 22, 1913–1929. doi: 10.1007/s13738-025-03267-z.
- Kaur, D., Singh, A., Kumar, A., & Gupta, S. (2020). Genetic engineering approaches and applicability for the bioremediation of metalloids. In D. K. Tripathi, V. P. Singh, D. K. Chauhan, S. Sharma, S. M. Prasad, N. K. Dubey, & N. Ramawat (Eds.), *Plant life under changing environment* (207–235). doi: 10.1016/B978-0-12-818204-8.00010-2.
- Kelly, T. J., Verhoef, A., Watts, M. J., & Sizmur, T. (2021). The impact of increased flooding occurrence on the mobility of potentially toxic elements in floodplain soil – A review. *Science of The Total Environment*, 754, 142040. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.142040.
- Khan, M. I., Sufian, S., Shamsuddin, R., Farooq, M., & Saafie, N. (2025). Synergistic adsorption of methylene blue using ternary composite of phosphoric acid geopolymer, calcium alginate, and sodium lauryl sulfate. *Environmental Science and Pollution Research*, 32, 19313–19332. doi: 10.1007/s11356-024-33573-7.
- Kharissova, O. V., Peña Méndez, Y., Kharisov, B. I., Nikolaev, A. L., Dorozhkin, S. V., Nocado Mena, D., & Ortega García, B. (2025). Biomineralization of calcium phosphates in nature. *Nano-Structures & Nano-Objects*, 41, 101425. doi: 10.1016/j.nanoso.2024.101425.
- Khoroushi, M., Khademi, A. A., Ebrahimi Dastgardi, M., & Abdollahi, M. (2016). Nanobiomaterials in endodontics. In A. M. Grumezescu (Ed.), *Nanobiomaterials in dentistry* (389–424). William Andrew Publishing. doi: 10.1016/B978-0-323-42867-5.00014-X
- Klik, B., Holatko, J., Jaskulska, I., Gusiatin, M. Z., Hammerschmidt, T., Brtnicky, M., Liniauskienė, E., Baltazar, T., Jaskulski, D., Kintl, A., & Radziemska, M. (2022). Bentonite as a functional material enhancing phytostabilization of post-industrial contaminated soils with heavy metals. *Materials*, 15(24), 8331. doi: 10.3390/ma1523833.
- Kolaksazov, M., Vasileva, I., & Katova, A. (2024). Photosynthetic activity and antioxidant capacity of perennial forage grasses. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*, 70(1), 12–26. doi:10.2478/agri-2024-0002.
- Krämer, U. (2010). Metal hyperaccumulation in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 517–534. doi: 10.1146/annurev-arplant-042809-112156.
- Król, M., & Rožek, P. (2018). The effect of calcination temperature on metakaolin structure for the synthesis of zeolites. *Clay Minerals*, 53(4), 657–663. doi:10.1180/clm.2018.49.
- Krzyżak, J., Lane, T., & Czerwińska, A. (2006). The potential use of *Festuca* cultivars and lignite for phytostabilization of heavy metal polluted soils. In L. Simeonov, & E. Chirila (Eds.), *Chemicals as intentional and accidental global environmental threats (NATO Security through Science Series)* (366–367). Springer. doi:10.1007/978-1-4020-5098-5\_30.

- Kumar, A., & Prasad, M. N. V. (2015). Lead-induced toxicity and interference in chlorophyll fluorescence in *Talinum triangulare* grown hydroponically. *Photosynthetica*, 53, 66–71. doi: 10.1007/s11099-015-0091-8.
- Kumar, A., & Prasad, M. N. V. (2018). Plant-lead interactions: Transport, toxicity, tolerance, and detoxification mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 166, 401–418. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.09.113.
- Kumar, S. (2018). Occupational and Environmental Exposure to Lead and Reproductive Health Impairment: An Overview. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 22(3), 128–137. doi: 10.4103/ijoem.IJOEM\_126\_18.
- Küpper, H., & Andresen, E. (2016). Mechanisms of metal toxicity in plants. *Metallomics*, 8(3), 269–285. doi: 10.1039/c5mt00244c.
- Küpper, H., Küpper, F., & Spiller, M. (1996). Environmental relevance of heavy metal substituted chlorophylls using the example of water plants. *Journal of Experimental Botany*, 47(2), 259–266. doi:10.1093/jxb/47.2.259.
- Kushwaha, A., Rani, R., Kumar, S., & Gautam, A. (2015). Heavy metal detoxification and tolerance mechanisms in plants: Implications for phytoremediation. *Environmental Reviews*, 24(1), 39–51. doi: 10.1139/er-2015-0010.
- Landrigan, P. J. (2018). Lead and the heart: an ancient metal's contribution to modern disease. *The Lancet Public Health*, 3(4), 156–157. doi: 10.1016/S2468-2667(18)30043-4.
- Lawal, J. A., Olaremu, A. G., Odeyemi, O. T., Omeiza, F. S., & Sanni, I. (2024). Competitive adsorption of Fe<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, and Zn<sup>2+</sup> ions from multi-metal ion solution on ammonium oxalate modified kaolinite clay. *Journal of Chemical Society of Nigeria*, 49(4), 518–527. doi:10.46602/jcsn.v49i3.991.
- Lee, Y. Y., Cho, K. S., & Yun, J. (2025). Phytoremediation Strategies for Co-Contaminated Soils: Overcoming Challenges, Enhancing Efficiency, and Exploring Future Advancements and Innovations. *Processes*, 13(1), 132. doi: 10.3390/pr13010132.
- Li, J., & Xu, Y. (2017). Use of clay to remediate cadmium contaminated soil under different water management regimes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 141, 107–112. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.03.021.
- Li, Y., Song, Y., Zhang, J., & Wan, Y. (2023). Phytoremediation competence of composite heavy-metal-contaminated sediments by intercropping *Myriophyllum spicatum* L. with two species of plants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(4), 3185. doi: 10.3390/ijerph20043185.
- Liao, L. M., Friesen, M. C., Xiang, Y. B., Cai, H., Koh, D. H., Ji, B. T., Yang, G., Li, H. L., Locke, S. J., Rothman, N., Zheng, W., Gao, Y. T., Shu, X. O., & Purdue, M. P. (2016). Occupational Lead Exposure and Associations with Selected Cancers: The Shanghai Men's and Women's Health Study Cohorts. *Environmental Health Perspectives*, 124(1), 97–103. doi: 10.1289/ehp.1408171.
- Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350–382. doi: 10.1016/0076-6879(87)48036-1.
- Lin, Y. C., Chang, W. H., Li, T. C., Iwata, O., & Chen, H. L. (2023). Health Risk of Infants Exposed to Lead and Mercury Through Breastfeeding. *Exposure and Health*, 15, 255–267. doi: 10.1007/s12403-022-00485-1.
- Liu, Q., Ding, Y., Lai, Y., Long, Y., Shi, H., & Liu, M. (2024). The Immobilization Mechanism of Inorganic Amendments on Cu and Cd in Polluted Paddy Soil in Short/Long Term. *Toxics*, 12(2), 157. doi: 10.3390/toxics12020157.
- Lou, Y., Zhao, P., Wang, D., Amombo, E., Sun, X., Wang, H., & Zhuge, Y. (2017). Germination, Physiological Responses and Gene Expression of Tall Fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) Growing under Pb and Cd. *PLoS ONE*, 12(1), e0169495. doi: 10.1371/journal.pone.0169495.

- Ma, J., Zhao, F., Rengel, Z., & Cakmak, I. (2023). Chapter 8 - Beneficial elements, *Marschner's Mineral Nutrition of Plants (Fourth Edition)*, Academic Press, New York. doi: 10.1016/B978-0-12-819773-8.00012-5.
- Maestri, E., Marmiroli, M., Visioli, G., & Marmiroli, N. (2010). Metal tolerance and hyperaccumulation: costs and trade-offs between traits and environment. *Environmental and Experimental Botany*, 68, 1–13. doi:10.1016/j.envexpbot.2009.10.011.
- Manimel Wadu, M. C. W., Michaelis, V. K., Kroeker, S., & Akinremi, O. O. (2013). Exchangeable calcium/magnesium ratio affects phosphorus behavior in calcareous soils. *Soil Science Society of America Journal*, 77(6), 2004–2013. doi: 10.2136/sssaj2012.0102.
- Marschner, P. (2011). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 3rd Edition, Academic Press, London. ISBN: 9780123849069.
- Martín, F., Simón, M., García, I., Romero, A., & González, V. (2014). Pollution of Pb in Soils Affected by Pyrite Tailings: Influence of Soil Properties. *Environmental Risk Assessment of Soil Contamination*, InTech, London, UK. doi: 10.5772/57270.
- Mataruga, Z., Jarić, S., Kostić, O., Marković, M., Jakovljević, K., Mitrović, M., & Pavlović, P. (2020b). The potential of elm trees (*Ulmus glabra* Huds.) for the phytostabilisation of potentially toxic elements in the riparian zone of the Sava River. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(4), 4309–4324. doi: 10.1007/s11356-019-07173-9.
- Mataruga, Z., Jarić, S., Marković, M., Pavlović, D., Mitrović, M., Jakovljević, K., Mitrović, M., & Pavlović, P. (2020a). Evaluation of *Salix alba*, *Juglans regia* and *Populus nigra* as biomonitors of PTEs in the riparian soils of the Sava River. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192(1), 131. doi: 10.1007/s10661-020-8085-9.
- Mavilia, G., Caccamo, M. T., Mavilia, L., & Magazù, S. (2024). XRD, FTIR and Raman characterizations of metakaolin geopolymers. *Modern Concepts in Material Science*, 5(4), 000620. doi:10.33552/MCMS.2024.05.000620.
- Medvecky, L., Stulajterova, R., Giretova, M., Mincik, J., Vojtko, M., Balko, J., & Briancin, J. (2018). Effect of tetracalcium phosphate/monetite toothpaste on dentin remineralization and tubule occlusion in vitro. *Dental Materials*, 34(3), 442–451. doi: 10.1016/j.dental.2017.11.022.
- Mirković, M. M., Pašti Lazarević T. D., Došen, A. M., Čebela, M. Ž, Rosić, A. A., Matović, B. Z., & Babić, B. M. (2016). Adsorption of malathion on mesoporous monetite obtained by mechanochemical treatment of brushite, *RSC Advances*, 6(15), 12219–12225. doi: 10.1039/C5RA27554G.
- Mirković, M., Krstić, A., Đukić, D., Pavlović, V., Sari Yilmaz, M., Bracanović, I., & Kalijadis, A. (2024). Microcrystalline brushite material as efficient adsorbent of lead and nickel from water. *Proceedings of the 17th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry*, 333–336. ISBN: 978-86-82475-45-3.
- Mladenović Nikolić, N., Kandić, A., Potočnik, J., Latas, N., Ivanović, M., Nenadović, S., & Kljajević, Lj. (2025). Microstructural Analysis and Radiological Characterization of Alkali-Activated Materials Based on Aluminosilicate Waste and Metakaolin. *Gels*, 11(1), 57. doi: 10.3390/gels11010057.
- Mohamed, H. I., Ullah, I., Toor, M. D., Tanveer, N. A., Din, M. M. U., Basit, A., Sultan, Y., Muhammad, M., & Rehman, M. U. (2025). Heavy metals toxicity in plants: Understanding mechanisms and developing coping strategies for remediation: A review. *Bioresources and Bioprocessing*, 12(1), 95. doi: 10.1186/s40643-025-00930-4.
- Muftah Menshaz, A. A., Megat Johari, M. A., & Ahmad, Z. A. (2017). Characterization of metakaolin treated at different calcination temperatures. *AIP Conference Proceedings*, 1892(1), 020028. doi: 10.1063/1.5005659.
- Nedjimi, B. (2021). Phytoremediation: a sustainable environmental technology for heavy metals decontamination, *SN Applied Sciences*, 3, 286. doi: 10.1007/s42452-021-04301-4.
- Nenadović, S. S., Kljajević, L. M., Nešić, M. A., Petković, M. Ž., Trivunac, K.V., & Pavlović, V. B. (2017). Structure analysis of geopolymers synthesized from clay originated from Serbia. *Environmental Earth Sciences*, 76, 79. doi: 10.1007/s12665-016-6360-4.

- Nesse, W. D. (2000). *Introduction to mineralogy*. New York: Oxford University Press, 254–255. doi: 10.1007/978-94-024-1222-2\_8.
- Nieder, R., Benbi, D. K., & Reichl, F. X. (2018). Role of Potentially Toxic Elements in Soils. *Soil Components and Human Health*, 375–450. doi:10.1007/978-94-024-1222-2\_8.
- Noruzi, M., Hadian, P., Soleimanpour, L., Ma'mani, L., & Shahbazi, K. (2023). Hydroxyapatite nanoparticles: An alternative to conventional phosphorus fertilizers in acidic culture media. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10, 71. doi: 10.1186/s40538-023-00437-0.
- Obeng-Gyasi, E. (2019). Sources of lead exposure in various countries. *Reviews on Environmental Health*, 34(1), 25–34. doi: 10.1515/reveh-2018-0037.
- Onutai, S., Osugi, T., & Sone, T. (2023). Alumino-Silicate Structural Formation during Alkali-Activation of Metakaolin: In-Situ and Ex-Situ ATR-FTIR Studies. *Materials*, 16(3), 985. doi: 10.3390/ma16030985.
- Oruçoglu, E. (2022). Competitive adsorption processes at clay mineral surfaces: A coupled experimental and modeling approach. *ACS Earth and Space Chemistry*, 6(1), 1–11. doi:10.1021/acsearthspacechem.1c00323.
- Otunola, B. O., & Ololade, O. O. (2020). A review on the application of clay minerals as heavy metal adsorbents for remediation purposes. *Environmental Technology & Innovation*, 18, 100692. doi: 10.1016/j.eti.2020.100692.
- Otunola, B. O., Aghoghovwia, M. P., Thwala, M., & Ololade, O. O. (2023). A mesocosm study on the use of clay minerals to improve heavy metal phytoremediation capacity of vetiver grass (*Chrysopogon zizanioides* L. Roberty). *South African Journal of Science*, 119(11/12), 15882. doi: 10.17159/sajs.2023/15882.
- Otunola, B. O., Aghoghovwia, M. P., Thwala, M., Gómez-Arias, A., Jordaan, R., Hernandez, J. C., & Ololade, O. O. (2023). Improving capacity for phytoremediation of Vetiver grass and Indian mustard in heavy metal (Al and Mn) contaminated water through the application of clay minerals. *Environmental Science and Pollution Research*, 30, 53577–53588. doi: 10.1007/s11356-023-26083-5.
- Padmavathiamma, P. K., & Li, L. Y. (2010). Effect of Amendments on Phytoavailability and Fractionation of Copper and Zinc in a Contaminated Soil. *International Journal of Phytoremediation*, 12(7), 697–715. doi: 10.1080/15226510903353179.
- Pandey, K., & Tiwari, K. K. (2025). Study on EDTA-assisted phytoremediation of heavy metal contaminated soil by *Portulaca oleracea*. *The Holistic Approach to Environment*, 15, 1–11. doi: 10.33765/thate.15.1.1.
- Pandey, V.C. (2021). *Assisted Phytoremediation*, Elsevier. ISBN: 9780128230831.
- Pandita, D. (2022). Plant growth promoting bacteria (PGPB): Applications and challenges in bioremediation of metal- and metalloid-contaminated soils. In T. Aftab, & K. Hakeem (Eds.), *Metals and Metalloids in Soil–Plant–Water Systems* (485–500). Academic Press. doi:10.1016/B978-0-323-91675-2.00002-0.
- Panesar, D. K. (2019). 3 - Supplementary cementing materials. In S. Mindess (Ed.), *Woodhead Publishing Series in Civil and Structural Engineering, Developments in the Formulation and Reinforcement of Concrete (Second Edition)*, Woodhead Publishing, 55–85. doi:10.1016/B978-0-08-102616-8.00003-4.
- Pilon-Smits, E. (2005). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56(1), 15–39. doi: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144214.
- Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P., & Pinelli, E. (2011). Lead Uptake, Toxicity, and Detoxification in Plants. In D. Whitacre (Ed.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 213 (113–136). doi: 10.1007/978-1-4419-9860-6\_4.
- POWO. 2025. Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Available at: <http://www.plantsoftheworldonline.org/>.
- Provis, J. & Deventer, J. (2014). Alkali Activated Materials: State-of-the-Art Report, *RILEM TC 224-AAM*, Springer. doi:10.1007/978-94-007-7672-2.

- Provis, J. L. (2014). Geopolymers and other alkali activated materials: Why, how, and what? *Materials and Structures*, 47(1), 11–25. doi:10.1617/s11527-013-0211-5.
- Pulford, I. D., & Watson, C. (2003). Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. *Environment International*, 29(4), 529–540. doi: 10.1016/S0160-4120(02)00152-6.
- Pusz, A., Wiśniewska, M., & Rogalski, D. (2021). Assessment of the accumulation ability of *Festuca rubra* L. and *Alyssum saxatile* L. tested on soils contaminated with Zn, Cd, Ni, Pb, Cr, and Cu. *Resources*, 10, 46. doi: 10.3390/resources10050046.
- Rabêlo, F. H. S., Vangronsveld, J., Baker, A. J. M., van der Ent, A., & Alleoni, L. R. F. (2021). Are grasses really useful for the phytoremediation of potentially toxic trace elements? A review. *Frontiers in Plant Science*, 12, 778275. doi: 10.3389/fpls.2021.778275.
- Radić Lakoš, T., & Radačić, M. (2010). *Upotreba hiperakumulatora teških metala u remedijaciji onečišćenig tla*. Veleučilište u Šibeniku, Šibenik. ISBN: 978-9958-640-06-3.
- Radziemska, M., Beś, A., Gusiatin, Z. M., Cerdà, A., Jeznach, J., Mazur, Z., & Brtnický, M. (2020). Assisted phytostabilization of soil from a former military area with mineral amendments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 192, 110304. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.109934.
- Radziemska, M., Beś, A., Gusiatin, Z. M., Sikorski, Ł., Brtnicky, M., Majewski, G., Liniauskienė, E., Pecina, V., Datta, R., Bilgin, A., & Mazur, Z. (2020). Successful outcome of phytostabilization in Cr(VI) contaminated soils amended with alkalizing additives. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(17), 6073. doi: 10.3390/ijerph17176073.
- Radziemska, M., Vaverková, M. D., & Baryła, A. (2017). Phytostabilization—Management strategy for stabilizing trace elements in contaminated soils. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(9), 958. doi: 10.3390/ijerph14090958.
- Rakić, T., Jakovljević, K., Sabovljević, A., Mišljenović, T., & Sabovljević, M. (2021). *Metalofite: Biologija i primena u fitoremedijaciji*, Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd. ISBN: 978-86-7078-171-9.
- Randelović, D., Jakovljević, K., Mihailović, N., & Jovanović, S. (2018). Metal accumulation in populations of *Calamagrostis epigejos* (L.) Roth from diverse anthropogenically degraded sites (SE Europe, Serbia). *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(4), 183. doi: 10.1007/s10661-018-6514-9.
- Rao, M. J., & Zheng, B. (2025). The Role of Polyphenols in Abiotic Stress Tolerance and Their Antioxidant Properties to Scavenge Reactive Oxygen Species and Free Radicals. *Antioxidants*, 14(1), 74. doi:10.3390/antiox14010074.
- Rao, R., Sachdev, S., & Baudh, K. (2025). *Chrysopogon zizanioides* (Vetiver grass): A marvel for the restoration of degraded ecosystems. *Environmental Sustainability*, 1–20. doi: 10.1007/s42398-025-00380-w.
- Rascio, N., & Navari-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180, 169–181. doi: 10.1016/j.plantsci.2010.08.016.
- Reeves, R. D., Baker, A. J. M., Jaffré, T., Erskine, P. D., Echevarria, G., & van der Ent, A. (2018). A global database for plants that hyperaccumulate metal and metalloid trace elements. *New Phytologist*, 218(2), 407–411. doi:10.1111/nph.14907.
- Roberts, B. A., & Proctor, J. (1991). *The ecology of areas with serpentinized rocks: a world view*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. ISBN: 0792309227/ 9780792309222.
- Rolston, D. D. (2011). Uncommon sources and some unusual manifestations of lead poisoning in a tropical developing country. *Tropical Medicine and Health*, 39(4), 127–132. doi: 10.2149/tmh.2011-01.
- Roychoudhury, A., & Chakraborty, S. (2020). Cellular and molecular phytotoxicity of lead and mercury. In M. Faisal, Q. Saquib, A. A. Alatar, & A. Al-Khedhairi (Eds.), *Cellular and molecular phytotoxicity of heavy metals* (373–387). Springer Nature. doi :10.1007/978-3-030-45975-8.

- Ruiu, L. (2020). Plant-Growth-Promoting Bacteria (PGPB) against Insects and Other Agricultural Pests. *Agronomy*, 10(6), 861. doi: 10.3390/agronomy10060861.
- Sarwar, N., Imran, M., Shaheen, M. R., Ishaque, W., Kamran, M. A., Matloob, A., Rehim, A., & Hussain, S. (2017). Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. *Chemosphere*, 171, 710–721. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.12.116.
- Sengar, R. S., Gautam, M., Sengar, R. S., Garg, S. K., Sengar, K., & Chaudhary, R. (2008). Lead stress effects on physiobiochemical activities of higher plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 196, 73–93. doi: 10.1007/978-0-387-78444-1\_3.
- Seregin, I. V., & Ivanov, V. B. (2001). Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 48(4), 523–544. doi: 10.1023/A:1016719901147.
- Seregin, I., Kozhevnikova, A., Davydova, M., Bystrova, E., Schat, H., & Ivanov, V. (2007). Role of root and shoot tissues of excluders and hyperaccumulators in nickel transport and accumulation. *Doklady Biological Sciences*, 415, 295–297. doi: 10.1134/S0012496607040138.
- Shahid, M., Pourrut, B., Dumat, C., Nadeem, M., Aslam, M., & Pinelli, E. (2014). Heavy-metal-induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 232, 1–44. doi: 10.1007/978-3-319-06746-9\_1.
- Sharmila, P., & Pardha Saradhi, P. (2002). Proline accumulation in heavy metal stressed plants: An adaptive strategy. In M. N. V. Prasad, & K. Strzałka (Eds.), *Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants* (179–199). Springer. doi.org: 10.1007/978-94-017-2660-3\_7.
- Shi, X., Zha, Q., Li, S., Cai, G., Wu, D., & Zhai, C. (2022). Experimental study on the mechanical properties and microstructure of metakaolin-based geopolymer modified clay. *Molecules*, 27(15), 4805. doi: 10.3390/molecules27154805.
- Shilar, F. A., Ganachari, S. V., Patil, V. B., Bhojaraja, B. E., Khan, T. M. Y., & Almakayeel, N. (2023). A review of 3D printing of geopolymer composites for structural and functional applications. *Construction and Building Materials*, 400, 132869. doi: 10.1016/j.conbuildmat.2023.132869.
- Simon, L. (2005). Stabilization of metals in acidic mine spoil with amendments and red fescue (*Festuca rubra* L.) growth. *Environmental Geochemistry and Health*, 27(4), 289–300. doi: 10.1007/s10653-004-5977-5.
- Sing, K. S. W., Everett, D. H., Haul, R. A. W., Moscou, L., Pierotti, R. A., Rouquérol, J., & Siemieniewska, T. (1985). Reporting Physisorption Data for Gas/Solid Systems with Special Reference to the Determination of Surface Area and Porosity. *Pure and Applied Chemistry*, 57, 603–619. doi: 10.1351/pac198557040603.
- Singh, H., Verma, A., Kumar, M., Sharma, R., Gupta, R., Kaur, M., & Sharma, S.K. (2017). Phytoremediation: A Green Technology to Clean Up the Sites with Low and Moderate Level of Heavy Metals. *Austin Biochemistry*, 2(2), 1012.
- Singh, O. V., Labana, S., Pandey, G., Budhiraja, R., & Jain, R. K. (2003). Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61(5–6), 405–412. doi: 10.1007/s00253-003-1244-4.
- Singh, P., & Dadhe, B. (2022). Essential Mineral Nutrients for Plant Growth: Nutrient Functions and Deficiency Symptoms. *Hi-tech Crop Production and Pest Management*, Biotech Books, New Delhi, India. ISBN: 978-81-7622-500-7.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. doi:10.5344/ajev.1965.16.3.144.

- Spormann, S., Nadais, P., Sousa, F., Pinto, M., Martins, M., Sousa, B., Fidalgo, F., & Soares, C. (2023). Accumulation of Proline in Plants under Contaminated Soils—Are We on the Same Page? *Antioxidants*, 12(3), 666. doi: 10.3390/antiox12030666.
- SRPS ISO 10390:2022 "Zemljište, tretirani biootpad i mulj - određivanje pH vrednosti"
- StatSoft (2004) STATISTICA (data analysis software system), version 7.0., www.statsoft.com.Tulsa, USA.
- Sun, Y., Li, Y., Xu, Y., Liang, X., & Wang, L. (2015). In situ stabilization remediation of cadmium (Cd) and lead (Pb) co-contaminated paddy soil using bentonite. *Applied Clay Science*, 105–106, 200–206. doi: 10.1016/j.clay.2014.12.031.
- Šuránek, M., Melichová, Z., Mirković, M. M., Ivanović, M., Pavlović, V. B., Kljajević, L., & Nenadović, S. (2023). The Study of Cu(II) Adsorption onto Synthetically Modified Geopolymers. *Sustainability*, 15(4), 2869. doi: 10.3390/su15042869.
- Surriya, O., Saleem, S. S., Waqar, K., & Kazi, A. G. (2015). Phytoremediation of soils: Prospects and challenges. In K. R. Hakeem, M. Sabir, M. Öztürk, & A. R. Mermut (Eds.), *Soil remediation and plants* (1–36), Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-799937-1.00001-2.
- Taghipour, M., & Jalali, M. (2015). Effect of clay minerals and nanoparticles on chromium fractionation in soil contaminated with leather factory waste. *Journal of Hazardous Materials*, 297, 127–133. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.04.067.
- Toshima, T., Hamai, R., Tafu, M., Takemura, Y., Fujita, S., Chohji, T., Tanda S., Li S., & Qin, G. W. (2014). Morphology control of brushite prepared by aqueous solution synthesis. *Journal of the Asian Ceramic Societies*, 2(1), 52–56. doi:10.1016/j.jascr.2014.01.004.
- Trivunac, K., Kljajević, L. M., Nenadović, S., Gulicovski, J., Mirković, M., Babić, B., & Stevanović, S. (2016). Microstructural characterization and adsorption properties of alkali-activated materials based on metakaolin. *Science of Sintering*, 48(2), 209–220. doi: 10.2298/SOS1602209T.
- Tyurin, I.V. (1965). *Agrochemical methods of soil analysis*, Nauka, Moscow.
- Uddin, F. (2008). Clays, Nanoclays, and Montmorillonite Minerals. *Metallurgical and Materials Transactions A*, 39, 2804–2814. doi:10.1007/s11661-008-9603-5.
- United States Environmental Protection Agency (EPA)
- Ur Rahman, S., Qin, A., Zain, M., Mushtaq, Z., Mehmood, F., Riaz, L., Naveed, S., Ansari, M. J., Saeed, M., Ahmad, I., & Shehzad, M. (2024). Pb uptake, accumulation, and translocation in plants: Plant physiological, biochemical, and molecular response: A review. *Heliyon*, 10(6), e27724. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e27724.
- Uredba o graničnim vrednostima zagađujućih, štetnih i opasnih materija u zemljištu, „Sl.glasnik RS”, broj 30/2018.
- Vagnoni, G., Bortolotti, E., Checchi, S., Saieva, C., Berti, G., Doccioni, C., & Caini, S. (2024). Lead (Pb) in biological samples in association with cancer risk and mortality: A systematic literature review. *Cancer Epidemiology*, 92, 102630. doi: 10.1016/j.canep.2024.102630.
- van der Ent, A., Baker, A. J. M., Reeves, R. D., Pollard, A. J., & Schat, H. (2013). Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant and Soil*, 362(1–2), 319–334. doi:10.1007/s11104-012-1287-3.
- van der Ent, A., Baker, A. J., Reeves, R. D., Chaney, R. L., Anderson, C. W., Meech, J. A., Erskine, P. D., Simonnot, M. O., Vaughan, J., Morel, J. L., Echevarria, G., Fogliani, B., Qiu, R., & Mulligan, D. R. (2015). Agromining: Farming for metals in the future? *Environmental Science & Technology*, 49(8), 4773–4780. doi: 10.1021/es506031u.
- van Reeuwijk, L.P. (2002). *Procedures for soil analysis. Technical Paper 9*, 6th Edition, 2002, International Soil Reference and Information Centre, Wageningen, the Netherlands.
- Varga, G. (2007). The structure of kaolinite and metakaolinite. *Epitoanyag - Journal of Silicate Based and Composite Materials*, 59, 6–9. doi :10.14382/epitoanyag-jsbcm.2007.2.
- Vasilachi, I. C., Stoleru, V., & Gavrilescu, M. (2023). Analysis of Heavy Metal Impacts on Cereal Crop Growth and Development in Contaminated Soils. *Agriculture*, 13(10), 1983. doi: 10.3390/agriculture13101983.

- Vázquez-de-Aldana, B. R., García-Ciudad, A., García-Criado, B., Vicente-Tavera, S., & Zabalgogeoazcoa, I. (2013). Fungal endophyte (*Epichloë festucae*) alters the nutrient content of *Festuca rubra* regardless of water availability. *PLoS ONE*, 8(12), e84539. doi: 10.1371/journal.pone.0084539.
- Wairich, A., De Conti, L., Lamb, T. I., Keil, R., Neves, L. O., Brunetto, G., Sperotto, R. A., & Ricachenevsky, F. K. (2022). Throwing Copper Around: How Plants Control Uptake, Distribution, and Accumulation of Copper. *Agronomy*, 12(5), 994. doi:10.3390/agronomy12050994.
- Walkley, B., & Provis, J. L. (2019). Solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy of cements. *Materials Today Advances*, 1, 100007. doi: 10.1016/j.mtadv.2019.100007.
- Wang, Q., Zuo, W., Tian, Y., Kong, L., Cai, G., Zhang, H., Li, L., & Zhang, J. (2022). Flexible brushite/nanofibrillated cellulose aerogels for efficient and selective removal of copper(II). *Chemical Engineering Journal*, 450(3), 138262. doi: 10.1016/j.cej.2022.138262.
- Wani, A. L., Ara, A., & Usmani, J. A. (2015). Lead toxicity: a review. *Interdisciplinary Toxicology*, 8(2), 55–64. doi: 10.1515/intox-2015-0009.
- Wójcik, M., Gonnelli, C., Selvi, F., Dresle, S., Rostański, A., & Vangronsveld, J. (2017). Chapter One - Metallophytes of Serpentine and Calamine Soils – Their Unique Ecophysiology and Potential for Phytoremediation. *Advances in Botanical Research*, 83, 1–42. doi: 10.1016/bs.abr.2016.12.002.
- Wong, M. H. (1982). Metal cotolerance to copper, lead, and zinc in *Festuca rubra*. *Environmental Research*, 29, 42–47. doi: 10.1016/0013-9351(82)90004-4.
- Wong, Y. S., Lam, E. K. H., & Tam, N. F. Y. (1994). Physiological effects of copper treatment and its uptake pattern in *Festuca rubra* cv. Merlin. *Resources, Conservation and Recycling*, 11(1–4), 311–319. doi: 10.1016/0921-3449(94)90098-1.
- Wu, X., Liu, C., Qu, C., Huang, H., Liu, X., Chen, L., Su, M., & Hong, F. (2008). Influences of lead (II) chloride on the nitrogen metabolism of spinach. *Biological Trace Element Research*, 121(3), 258–265. doi: 10.1007/s12011-007-8046-y.
- Wyszkowska, J., Boros-Lajszner, E., & Kucharski, J. (2022). Calorific value of *Festuca rubra* biomass in the phytostabilization of soil contaminated with nickel, cobalt and cadmium which disrupt the microbiological and biochemical properties of soil. *Energies*, 15(9), 3445. doi: 10.3390/en15093445.
- XLSTAT (2020) Statistical Software for Excel. <https://www.xlstat.com>
- Ying, G. G. (2018). Chapter 14 - Remediation and Mitigation Strategies, In B. Maestroni, & A. Cannavan (Eds.), *Integrated Analytical Approaches for Pesticide Management (207–217)*, Academic Press. ISBN: 978-0-12-816155-5.
- Zengin, F. K., & Munzuroglu, O. (2005). Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 47(2), 157–164. ISSN: 0001-5296.
- Zeremski, T., Ranđelović, D., Jakovljević, K., Marjanović Jeromela, A., & Milić, S. (2021). *Brassica* species in phytoextractions: real potentials and challenges. *Plants*, 10(11), 2340. doi: 10.3390/plants10112340.
- Zhang, Y. H., Hou, D. Y., O'Connor, D., Shen, Z. T., Shi, P. L., Ok, Y. S., Tsang, D. C. W., Wen, Y., & Luo, M. N. (2019). Lead contamination in Chinese surface soils: source identification, spatial-temporal distribution and associated health risks. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 49(15), 1386–1423. doi: 10.1080/10643389.2019.1571354.
- Zheng, X., Zhang, C., Ma, H., Yang, H., Zhao, Y., & Liu, B. (2023). Effect of albite on shrinkage and carbonation resistance of alkali-activated slag. *Construction and Building Materials*, 409, 134141. doi: 10.1016/j.conbuildmat.2023.134141.
- Zoltán, A., & Richard B. W. (2005). *Bentonite, Kaolin and Selected Clay Minerals*, WHO, Geneva. ISBN: 9241572310.

Zulfiqar, U., Farooq, M., Hussain, S., Maqsood, M., Hussain, M., Ishfaq, M., Ahmad, M., & Anjum, M. Z. (2019). Lead toxicity in plants: Impacts and remediation. *Journal of Environmental Management*, 15(250), 109557. doi: 10.1016/j.jenvman.2019.109.

## 8. PRILOZI

Prilog 1. Koncentracije elemenata u uzorcima korena *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima (prikazane kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija, za n=3). Različita slova u tabeli (a i b) označavaju statistički značajne razlike ( $p < 0,05$ ).

Element	kontrola	GPB2%	GPB4%	GPB6%	Pb	Pb+GPB2%	Pb+GPB4%	Pb+GPB6%
N [%]	1,28 $\pm$ 0,19 a	1,31 $\pm$ 0,20 a	1,19 $\pm$ 0,25 a	1,29 $\pm$ 0,19 a	0,85 $\pm$ 0,14 a	0,82 $\pm$ 0,07 a	0,79 $\pm$ 0,06 a	0,95 $\pm$ 0,20 a
P [%]	0,07 $\pm$ 0,02 a	0,10 $\pm$ 0,01 a	0,08 $\pm$ 0,00 a	0,11 $\pm$ 0,01 a	0,09 $\pm$ 0,02 a	0,10 $\pm$ 0,01 a	0,10 $\pm$ 0,01 a	0,11 $\pm$ 0,00 a
K [mg kg <sup>-1</sup> ]	21900 $\pm$ 418 ab	20800 $\pm$ 557ab	20500 $\pm$ 658ab	20500 $\pm$ 1290ab	19000 $\pm$ 973ab	19700 $\pm$ 1090ab	18700 $\pm$ 301 a	19700 $\pm$ 885 ab
Mg [mg kg <sup>-1</sup> ]	803 $\pm$ 106 b	644 $\pm$ 67 ab	578 $\pm$ 54 ab	546 $\pm$ 29 ab	480 $\pm$ 58 ab	576 $\pm$ 100 ab	596 $\pm$ 58 ab	675 $\pm$ 13 ab
Ca [mg kg <sup>-1</sup> ]	537 $\pm$ 73 a	478 $\pm$ 70 a	488 $\pm$ 57 a	449 $\pm$ 23 a	433 $\pm$ 74 a	433 $\pm$ 75 a	499 $\pm$ 44 a	513 $\pm$ 7 a
Pb [mg kg <sup>-1</sup> ]	4,57 $\pm$ 1,52 ab	7,99 $\pm$ 4,54 ab	<LOD a	<LOD a	43,7 $\pm$ 3,7 ab	50,9 $\pm$ 5,1 ab	77,1 $\pm$ 11,1 ab	92,1 $\pm$ 9,8 b
Fe [mg kg <sup>-1</sup> ]	303 $\pm$ 63 b	210 $\pm$ 39 ab	160 $\pm$ 20 ab	164 $\pm$ 13 ab	171 $\pm$ 35 ab	196 $\pm$ 32 ab	234 $\pm$ 53 ab	220 $\pm$ 32 ab
Cu [mg kg <sup>-1</sup> ]	140 $\pm$ 2 ab	118 $\pm$ 10 ab	237 $\pm$ 12 ab	155 $\pm$ 9 ab	348 $\pm$ 24 b	168 $\pm$ 2 ab	211 $\pm$ 6 ab	226 $\pm$ 2 ab
Mn [mg kg <sup>-1</sup> ]	89,4 $\pm$ 2,0 b	77,7 $\pm$ 2,5 ab	83,8 $\pm$ 3,8 ab	75,1 $\pm$ 1,4 ab	77,8 $\pm$ 3,5 ab	69,3 $\pm$ 4,8 ab	76,6 $\pm$ 1,3 ab	72,2 $\pm$ 2,8 ab
Ni [mg kg <sup>-1</sup> ]	1,48 $\pm$ a	<LOD a	2,48 $\pm$ 1,72 a	<LOD a	<LOD a	<LOD a	<LOD a	<LOD a
Zn [mg kg <sup>-1</sup> ]	68,2 $\pm$ 2,2 b	63,1 $\pm$ 10,6 ab	45,7 $\pm$ 3,3 ab	56,2 $\pm$ 10,1 ab	43,5 $\pm$ 3,7 ab	35,4 $\pm$ 3,9 ab	35,6 $\pm$ 1,3 ab	40,7 $\pm$ 4,2 ab
Cr [mg kg <sup>-1</sup> ]	8,81 $\pm$ 4,14 ab	8,41 $\pm$ 0,41 ab	12,6 $\pm$ 4,9 ab	8,61 $\pm$ 0,34 ab	9,08 $\pm$ 0,04 ab	10,1 $\pm$ 0,6 ab	10,8 $\pm$ 0,6 ab	11,3 $\pm$ 0,2 b
Cd [mg kg <sup>-1</sup> ]	1,23 $\pm$ 0,66 a	1,06 $\pm$ 0,18 a	0,79 $\pm$ 0,44 a	1,08 $\pm$ 0,46 a	0,79 $\pm$ 0,18 a	1,97 $\pm$ 0,37 a	1,77 $\pm$ 0,26 a	2,31 $\pm$ 0,25 a
Co [mg kg <sup>-1</sup> ]	<LOD a	35,6 $\pm$ 4,3 a	23,5 $\pm$ 4,7 a	23,2 $\pm$ 6,6 a	1,58 $\pm$ 0,97 a	1,81 $\pm$ 0,01 a	4,52 $\pm$ a	5,44 $\pm$ a

Prilog 2. Koncentracije elemenata u uzorcima nadzemnog dela *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima (prikazane kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija, za n=3). Različita slova u tabeli (a i b) označavaju statistički značajne razlike ( $p < 0,05$ ).

Element	kontrola	GPB2%	GPB4%	GPB6%	Pb	Pb+GPB2%	Pb+GPB4%	Pb+GPB6%
N [%]	1,14 $\pm$ 0,07 a	1,35 $\pm$ 0,03 a	1,26 $\pm$ 0,01 a	1,22 $\pm$ 0,01 a	0,85 $\pm$ 0,01 a	0,70 $\pm$ 0,02 a	0,72 $\pm$ 0,02 a	1,01 $\pm$ 0,02 a
P [%]	0,09 $\pm$ 0,01 a	0,09 $\pm$ 0,01 a	0,09 $\pm$ 0,00 a	0,06 $\pm$ 0,02 a	0,11 $\pm$ 0,00 a	0,12 $\pm$ 0,01 a	0,11 $\pm$ 0,01 a	0,09 $\pm$ a
K [mg kg <sup>-1</sup> ]	37800 $\pm$ 462 b	36400 $\pm$ 194 ab	33400 $\pm$ 366 ab	36700 $\pm$ 602 ab	35600 $\pm$ 346 ab	31100 $\pm$ 308 ab	30900 $\pm$ 161 ab	31500 $\pm$ 33 ab
Mg [mg kg <sup>-1</sup> ]	597 $\pm$ 11 ab	555 $\pm$ 14 ab	499 $\pm$ 5 ab	578 $\pm$ 15 ab	518 $\pm$ 17 ab	477 $\pm$ 15 ab	489 $\pm$ 24 ab	479 $\pm$ 22 a
Ca [mg kg <sup>-1</sup> ]	109 $\pm$ 9 a	92,7 $\pm$ 6,2 a	110 $\pm$ 6 a	76,6 $\pm$ 13,5 a	122 $\pm$ 20 a	100 $\pm$ 7 a	94,1 $\pm$ 10,7 a	79,9 $\pm$ 0,8 a
Pb [mg kg <sup>-1</sup> ]	6,09 $\pm$ 2,08 ab	7,61 $\pm$ 4,27 ab	14,3 $\pm$ 5,8 ab	9,20 $\pm$ 2,12 ab	60,1 $\pm$ 4,2 ab	66,4 $\pm$ 5,8 ab	76,7 $\pm$ 4,2 ab	77,9 $\pm$ 21,8 ab
Fe [mg kg <sup>-1</sup> ]	64,0 $\pm$ 16,7 ab	66,1 $\pm$ 15,9 ab	57,4 $\pm$ 11,5 ab	78,9 $\pm$ 26,4 ab	50,9 $\pm$ 10,7 ab	47,4 $\pm$ 11,9 ab	43,6 $\pm$ 8,8 ab	43,1 $\pm$ 9,5 a
Cu [mg kg <sup>-1</sup> ]	4,51 $\pm$ 1,47 ab	3,99 $\pm$ 0,25 ab	3,00 $\pm$ 0,69 a	2,70 $\pm$ 0,46 a	12,5 $\pm$ 2,6 ab	5,03 $\pm$ 1,92 ab	5,31 $\pm$ 0,67 ab	6,33 $\pm$ 0,63 ab
Mn [mg kg <sup>-1</sup> ]	67,0 $\pm$ 1,7 ab	47,0 $\pm$ 0,7 a	57,2 $\pm$ 0,7 ab	49,7 $\pm$ 1,4 ab	67,9 $\pm$ 2,6 ab	43,6 $\pm$ 0,8 a	50,5 $\pm$ 1,1 ab	49,9 $\pm$ 1,4 ab
Ni [mg kg <sup>-1</sup> ]	0,74 $\pm$ a	<LOD a	1,31 $\pm$ 0,26 a	1,12 $\pm$ 0,00 a	4,79 $\pm$ 3,03 a	3,18 $\pm$ 1,58 a	4,16 $\pm$ 2,48 a	2,61 $\pm$ 0,27 a
Zn [mg kg <sup>-1</sup> ]	21,8 $\pm$ 4,0 ab	17,6 $\pm$ 0,6 ab	14,5 $\pm$ 1,2 ab	16,7 $\pm$ 1,8 ab	19,4 $\pm$ 0,8 ab	13,1 $\pm$ 0,9 a	13,1 $\pm$ 1,3 ab	16,3 $\pm$ 0,8 ab
Cr [mg kg <sup>-1</sup> ]	14,1 $\pm$ 2,5 ab	20,5 $\pm$ 7,8 ab	22,9 $\pm$ 2,8 ab	25,3 $\pm$ 2,7 ab	2,36 $\pm$ 1,18 a	11,0 $\pm$ 3,0 ab	12,2 $\pm$ 2,7 ab	18,9 $\pm$ 5,0 ab
Cd [mg kg <sup>-1</sup> ]	0,50 $\pm$ 0,19 a	1,42 $\pm$ 0,93 a	1,51 $\pm$ 0,92 a	1,56 $\pm$ 0,30 a	2,17 $\pm$ 0,29 a	2,39 $\pm$ 0,08 a	2,58 $\pm$ 0,34 a	2,57 $\pm$ 0,47 a
Co [mg kg <sup>-1</sup> ]	11,6 $\pm$ 3,6 a	24,6 $\pm$ 3,6 a	24,7 $\pm$ 0,4 a	30,5 $\pm$ 6,9 a	0,90 $\pm$ 0,00 a	8,64 $\pm$ 3,20 a	14,5 $\pm$ 1,3 a	17,26 $\pm$ a

Prilog 3. Koncentracije jedinjenja biomarkera stresa u uzorcima nadzemnog dela *Festuca rubra* gajene u supstratu tretiranom olovom i brušit-aluminosilikatnim materijalima (prikazane kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija, za n=5). Različita slova u tabeli (a, b i c) označavaju statistički značajne razlike ( $p < 0,05$ ).

Jedinjenje	kontrola	GPB2%	GPB4%	GPB6%	Pb	Pb+GPB2%	Pb+GPB4%	Pb+GPB6%
<b>Chl a</b> [ $\mu\text{mol g}^{-1}$ ]	0,34 $\pm$ 0,06 ab	0,35 $\pm$ 0,03 ab	0,36 $\pm$ 0,02 ab	0,39 $\pm$ 0,02 b	0,27 $\pm$ 0,01 ab	0,26 $\pm$ 0,02 a	0,26 $\pm$ 0,02 a	0,29 $\pm$ 0,07 ab
<b>Chl b</b> [ $\mu\text{mol g}^{-1}$ ]	0,12 $\pm$ 0,02 ab	0,12 $\pm$ 0,01 ab	0,12 $\pm$ 0,01 ab	0,13 $\pm$ 0,01 b	0,09 $\pm$ 0,00 a	0,08 $\pm$ 0,01 a	0,09 $\pm$ 0,01 a	0,09 $\pm$ 0,02 ab
<b>Chl(a+b)</b> [ $\mu\text{mol g}^{-1}$ ]	0,46 $\pm$ 0,07 ab	0,47 $\pm$ 0,03 ab	0,48 $\pm$ 0,03 ab	0,51 $\pm$ 0,03 b	0,35 $\pm$ 0,01 a	0,34 $\pm$ 0,02 a	0,34 $\pm$ 0,03 a	0,38 $\pm$ 0,09 ab
<b>Car</b> [ $\mu\text{mol g}^{-1}$ ]	0,08 $\pm$ 0,02 ab	0,08 $\pm$ 0,01 ab	0,09 $\pm$ 0,01 ab	0,09 $\pm$ 0,01 b	0,07 $\pm$ 0,00 ab	0,06 $\pm$ 0,00 a	0,06 $\pm$ 0,00 a	0,07 $\pm$ 0,01 ab
<b>Prolin</b> [ $\mu\text{mol g}^{-1}$ ]	2,51 $\pm$ 0,26 abc	5,39 $\pm$ 0,56 c	1,85 $\pm$ 0,60 ab	0,94 $\pm$ 0,35 a	4,26 $\pm$ 1,21 bc	2,91 $\pm$ 0,47 abc	2,44 $\pm$ 0,43 abc	1,61 $\pm$ 0,77 ab
<b>DPPH inhibicija</b> [%]	31,7 $\pm$ 1,3 a	32,3 $\pm$ 4,7 a	42,4 $\pm$ 7,9 ab	39,8 $\pm$ 0,8 ab	52,7 $\pm$ 3,3 b	51,5 $\pm$ 4,2 b	45,4 $\pm$ 4,4 ab	37,5 $\pm$ 3,1 ab
<b>Fenoli</b> [mgGAE g <sup>-1</sup> ]	1,03 $\pm$ 0,09 a	1,23 $\pm$ 0,05 a	1,40 $\pm$ 0,10 a	1,35 $\pm$ 0,03 a	1,74 $\pm$ 0,09 b	1,53 $\pm$ 0,19 a	1,34 $\pm$ 0,01 a	0,64 $\pm$ 0,25 c

Prilog 4. Spirmanova rang korelacija za fizičko-hemijske karakteristike supstrata, koncentracije elemenata i biohemijskih markera stresa u *Festuca rubra*, statistička značajnost ( $p > 0.05$ ); t- pseudo-ukupna koncentracija elementa, a-pristupačna koncentracija elemenata, r-koren, sh-nadzemni deo, FW-sveža masa, DW-suva masa (Djukić i sar. 2025).

	pH	org C	N tot	P	K	Mg	Ca a	Fe t	Cd t	Co t	Cr t	Cu t	Mn t	Ni t	Pb t	Zn t	Fe a	Cd a	Co a	Cr a	Cu a	Mn a	Ni a	Pb a	Zn a	Pb (r)	Pb (sh)	FW (r)	DW (r)	FW (sh)	DW (sh)	Chl a	Chl b	Chl	Car	Pro	DPPH	
<b>pH</b>	0.00	0.07	-0.62	0.09	0.51	-0.29	0.03	0.07	0.30	0.41	0.28	-0.59	-0.04	0.61	0.51	-0.35	-0.65	0.68	0.35	0.00	0.57	0.05	0.21	0.42	-0.21	0.58	0.52	-0.33	-0.25	-0.55	-0.71	-0.38	-0.37	-0.38	-0.31	-0.35	0.27	
<b>org C</b>	0.07	0.00	0.01	-0.09	0.07	-0.03	-0.02	0.18	0.52	0.34	-0.13	-0.17	0.17	-0.03	0.31	-0.06	-0.11	0.29	0.38	0.00	0.17	0.23	-0.05	0.40	0.01	0.43	0.21	-0.11	-0.14	-0.02	-0.15	-0.34	-0.43	-0.34	-0.27	0.52	-0.02	
<b>N tot</b>	-0.62	0.01	0.00	0.07	0.03	0.15	-0.41	-0.27	-0.62	-0.50	0.01	0.39	-0.24	-0.28	-0.76	-0.14	0.76	-0.83	-0.27	0.00	-0.89	-0.20	-0.34	-0.72	-0.28	-0.69	-0.77	-0.12	-0.06	0.56	0.60	0.64	0.66	0.67	0.54	0.10	-0.67	
<b>P</b>	0.09	-0.09	0.07	0.00	0.51	-0.18	-0.24	-0.21	-0.09	-0.07	-0.10	-0.19	-0.21	0.05	-0.12	-0.14	0.00	-0.13	0.09	0.00	-0.06	-0.21	-0.03	-0.30	-0.27	-0.03	0.23	0.09	0.12	-0.17	-0.14	0.32	0.33	0.31	0.33	-0.17	-0.31	
<b>K</b>	0.51	0.07	0.03	0.51	0.00	-0.02	-0.28	-0.19	-0.25	0.04	0.37	-0.33	-0.27	0.36	0.03	-0.23	-0.05	-0.01	0.29	0.00	-0.12	0.04	0.05	-0.14	-0.35	-0.04	0.23	-0.31	-0.15	-0.13	-0.26	0.25	0.26	0.24	0.28	-0.13	-0.12	
<b>Mg</b>	-0.29	-0.03	0.15	-0.18	-0.02	0.00	0.31	0.02	-0.09	0.07	0.31	0.19	0.00	0.06	-0.18	0.21	0.14	-0.23	-0.05	0.00	-0.22	0.13	-0.09	-0.03	0.20	-0.17	-0.18	-0.27	-0.34	0.06	0.10	0.00	0.02	0.02	-0.04	0.46	-0.24	
<b>Ca a</b>	0.03	-0.02	-0.41	-0.24	-0.28	0.31	0.00	0.20	0.20	0.01	-0.09	0.05	0.18	-0.06	0.11	0.09	-0.37	0.26	-0.01	0.00	0.32	-0.13	0.40	0.09	0.02	0.13	0.16	0.10	0.18	-0.04	0.05	-0.26	-0.30	-0.26	-0.20	0.04	0.09	
<b>Fe t</b>	0.07	0.18	-0.27	-0.21	-0.19	0.02	0.20	0.00	0.47	0.34	-0.42	-0.06	0.97	-0.21	0.25	0.67	-0.21	0.22	-0.10	0.00	0.40	-0.05	0.14	0.37	0.13	0.45	0.28	0.31	0.32	0.15	0.04	-0.37	-0.38	-0.35	-0.45	0.11	0.03	
<b>Cd t</b>	0.30	0.52	-0.62	-0.09	-0.25	-0.09	0.20	0.47	0.00	0.73	-0.33	-0.27	0.46	0.23	0.67	0.28	-0.55	0.66	0.36	0.00	0.71	0.25	0.00	0.76	0.28	0.85	0.57	0.18	0.07	-0.36	-0.45	-0.81	-0.83	-0.81	-0.76	0.33	0.38	
<b>Co t</b>	0.41	0.34	-0.50	-0.07	0.04	0.07	0.01	0.34	0.73	0.00	0.14	-0.31	0.31	0.53	0.62	0.17	-0.46	0.55	0.32	0.00	0.53	0.32	-0.11	0.58	0.14	0.75	0.53	-0.06	-0.21	-0.38	-0.61	-0.60	-0.59	-0.61	-0.60	0.25	0.25	
<b>Cr t</b>	0.28	-0.13	0.01	-0.10	0.37	0.31	-0.09	-0.42	-0.33	0.14	0.00	-0.01	-0.46	0.35	0.10	-0.27	0.00	0.03	0.12	0.00	-0.24	0.32	-0.13	-0.08	-0.03	-0.19	0.00	-0.51	-0.50	-0.25	-0.32	0.26	0.23	0.24	0.29	0.12	-0.01	
<b>Cu t</b>	-0.59	-0.17	0.39	-0.19	-0.33	0.19	0.05	-0.06	-0.27	-0.31	-0.01	0.00	-0.02	-0.56	-0.34	0.22	0.63	-0.46	-0.44	0.00	-0.56	0.43	-0.18	-0.18	0.40	-0.50	-0.25	0.44	0.44	0.51	0.63	0.25	0.27	0.26	0.21	0.24	0.01	
<b>Mn t</b>	-0.04	0.17	-0.24	-0.21	-0.27	0.00	0.18	0.97	0.46	0.31	-0.46	-0.02	0.00	-0.29	0.28	0.67	-0.21	0.19	-0.13	0.00	0.37	-0.03	0.07	0.37	0.20	0.40	0.26	0.39	0.39	0.21	0.15	-0.34	-0.36	-0.33	-0.43	0.15	0.07	
<b>Ni t</b>	0.61	-0.03	-0.28	0.05	0.36	0.06	-0.06	-0.21	0.23	0.53	0.35	-0.56	-0.29	0.00	0.27	-0.26	-0.35	0.33	0.29	0.00	0.30	0.01	0.02	0.14	-0.25	0.35	0.15	-0.46	-0.48	-0.38	-0.60	-0.38	-0.32	-0.38	-0.35	-0.18	0.06	
<b>Pb t</b>	0.51	0.31	-0.76	-0.12	0.03	-0.18	0.11	0.25	0.67	0.62	0.10	-0.34	0.28	0.27	0.00	0.16	-0.70	0.79	0.28	0.00	0.70	0.49	-0.02	0.83	0.40	0.67	0.74	0.14	0.03	-0.45	-0.49	-0.58	-0.64	-0.62	-0.46	0.28	0.71	
<b>Zn t</b>	-0.35	-0.06	-0.14	-0.14	-0.23	0.21	0.09	0.67	0.28	0.17	-0.27	0.22	0.67	-0.26	0.16	0.00	0.17	-0.06	-0.28	0.00	0.14	0.23	0.11	0.21	0.38	0.01	0.20	0.48	0.44	0.26	0.23	-0.13	-0.11	-0.12	-0.21	0.31	0.22	
<b>Fe a</b>	-0.65	-0.11	0.76	0.00	-0.05	0.14	-0.37	-0.21	-0.55	-0.46	0.00	0.63	-0.21	-0.35	-0.70	0.17	0.00	-0.71	-0.35	0.00	-0.75	0.13	-0.12	-0.51	0.08	-0.69	-0.56	0.09	0.10	0.63	0.58	0.49	0.56	0.53	0.39	0.06	-0.38	
<b>Cd a</b>	0.68	0.29	-0.83	-0.13	-0.01	-0.23	0.26	0.22	0.66	0.55	0.03	-0.46	0.19	0.33	0.79	-0.06	-0.71	0.00	0.39	0.00	0.87	0.32	0.38	0.74	0.33	0.74	0.71	-0.06	-0.13	-0.59	-0.63	-0.64	-0.66	-0.66	-0.53	-0.08	0.64	
<b>Co a</b>	0.35	0.38	-0.27	0.09	0.29	-0.05	-0.01	-0.10	0.36	0.32	0.12	-0.44	-0.13	0.29	0.28	-0.28	-0.35	0.39	0.00	0.00	0.33	-0.06	0.17	0.31	-0.07	0.50	0.21	-0.12	-0.10	-0.24	-0.34	-0.43	-0.46	-0.45	-0.36	0.08	0.12	
<b>Cr a</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
<b>Cu a</b>	0.57	0.17	-0.89	-0.06	-0.12	-0.22	0.32	0.40	0.71	0.53	-0.24	-0.56	0.37	0.30	0.70	0.14	-0.75	0.87	0.33	0.00	0.00	0.04	0.47	0.70	0.19	0.82	0.73	0.08	-0.02	-0.59	-0.62	-0.72	-0.72	-0.72	-0.65	-0.17	0.55	
<b>Mn a</b>	0.05	0.23	-0.20	-0.21	0.04	0.13	-0.13	-0.05	0.25	0.32	0.32	0.43	-0.03	0.01	0.49	0.23	0.13	0.32	-0.06	0.00	0.04	0.00	-0.12	0.52	0.75	0.06	0.43	0.09	0.04	-0.06	-0.06	-0.23	-0.24	-0.24	-0.24	-0.16	0.45	0.58
<b>Ni a</b>	0.21	-0.05	-0.34	-0.03	0.05	-0.09	0.40	0.14	0.00	-0.11	-0.13	-0.18	0.07	0.02	-0.02	0.11	-0.12	0.38	0.17	0.00	0.47	-0.12	0.00	0.00	0.00	-0.03	0.09	0.30	0.09	0.14	-0.17	-0.12	-0.16	-0.12	-0.14	-0.15	-0.47	0.29
<b>Pb a</b>	0.42	0.40	-0.72	-0.30	-0.14	-0.03	0.09	0.37	0.76	0.58	-0.08	-0.18	0.37	0.14	0.83	0.21	-0.51	0.74	0.31	0.00	0.70	0.52	0.00	0.00	0.55	0.75	0.64	0.14	-0.01	-0.34	-0.44	-0.78	-0.81	-0.79	-0.71	0.36	0.66	
<b>Zn a</b>	-0.21	0.01	-0.28	-0.27	-0.35	0.20	0.02	0.13	0.28	0.14	-0.03	0.40	0.20	-0.25	0.40	0.38	0.08	0.33	-0.07	0.00	0.19	0.75	-0.03	0.55	0.00	0.07	0.31	0.24	0.14	0.00	0.13	-0.31	-0.31	-0.32	-0.26	0.36	0.59	
<b>Pb (r)</b>	0.58	0.43	-0.69	-0.03	-0.04	-0.17	0.13	0.45	0.85	0.75	-0.19	-0.50	0.40	0.35	0.67	0.01	-0.69	0.74	0.50	0.00	0.82	0.06	0.09	0.75	0.07	0.00	0.64	-0.03	-0.13	-0.54	-0.68	-0.78	-0.80	-0.79	-0.74	0.11	0.28	
<b>Pb (sh)</b>	0.52	0.21	-0.77	0.23	0.23	-0.18	0.16	0.28	0.57	0.53	0.00	-0.25	0.26	0.15	0.74	0.20	-0.56	0.71	0.21	0.00	0.73	0.43	0.30	0.64	0.31	0.64	0.00	0.16	0.13	-0.58	-0.56	-0.47	-0.49	-0.49	-0.41	0.08	0.55	
<b>FW (r)</b>	-0.33	-0.11	-0.12	0.09	-0.31	-0.27	0.10	0.31	0.18	-0.06	-0.51	0.44	0.39	-0.46	0.14	0.48	0.09	-0.06	-0.12	0.00	0.08	0.09	0.09	0.14	0.24	-0.03	0.16	0.00	0.91	0.44	0.49	-0.14	-0.11	-0.15	-0.16	0.02	0.35	
<b>DW (r)</b>	-0.25	-0.14	-0.06	0.12	-0.15	-0.34	0.18	0.32	0.07	-0.21	-0.50	0.44	0.39	-0.48	0.03	0.44	0.10	-0.13	-0.10	0.00	-0.02	0.04	0.14	-0.01	0.14	-0.13	0.13	0.91	0.00	0.52	0.59	-0.05	-0.05	-0.06	-0.05	-0.08	0.26	
<b>FW (sh)</b>	-0.55	-0.02	0.56	-0.17	-0.13	0.06	-0.04	0.15	-0.36	-0.38	-0.25	0.51	0.21	-0.38	-0.45	0.26	0.63	-0.59	-0.24	0.00	-0.59	-0.06	-0.17	-0.34	0.00	-0.54	-0.58	0.44	0.52	0.00	0.89	0.21	0.23	0.22	0.15	0.08	-0.26	
<b>DW (sh)</b>	-0.71	-0.15	0.60	-0.14	-0.26	0.10	0.05	0.04	-0.45	-0.61	-0.32	0.63	0.15	-0.60	-0.49	0.23																						

## **BIOGRAFIJA AUTORA**

Dunja D. Đukić je rođena 14.11.1992. godine u Zrenjaninu, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, smer Molekularna biologija i fiziologija je upisala 2011. godine. Osnovne akademske studije je završila 2015. godine sa prosečnom ocenom 7,97, a master studije na modulu Genetičko inženjerstvo i biotehnologija 2016. godine sa prosečnom ocenom 9,67. Doktorske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu je upisala 2019. godine, smer Ekologija, studijski program Ekologija biljaka i fitogeografija. Eksperimentalni deo istraživanja je sproveda u Laboratoriji za materiale, Instituta za nuklearne nauke „Vinča“, u statusu volontera. Autor ili koautor je 5 naučnih radova u međunarodnim časopisima i 9 saopštenja sa skupova od međunarodnog značaja.

**Прилог 1.**

**Изјава о ауторству**

Потписани-а \_\_\_\_\_ Дуња Д. Ђукић \_\_\_\_\_

број индекса \_\_\_\_\_ Е3003/2019 \_\_\_\_\_

**Изјављујем**

да је докторска дисертација под насловом

Ефикасност *Festuca rubra* у фитостабилизацији јона олова у присуству брушит-алуминосиликатних материјала

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Београду, \_\_\_\_\_

**Потпис аутора**

\_\_\_\_\_

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије  
докторског рада**

Име и презиме аутора \_\_\_\_\_ Дуња Д. Ђукић \_\_\_\_\_

Број индекса \_\_\_\_\_ Е3003/2019 \_\_\_\_\_

Студијски програм \_\_\_\_\_ Екологија/ Екологија биљака и фитогеографија \_\_\_\_\_

Наслов рада Ефикасност *Festuca rubra* у фитостабилизацији јона олова у присуству брушит-  
алуминосиликатних материјала \_\_\_\_\_

Ментори \_\_\_\_\_ Др Миљана Мирковић, виши научни сарадник \_\_\_\_\_

Универзитет у Београду–Институт за нуклеарне науке „Винча“–Институт од \_\_\_\_\_  
националног значаја за Републику Србију, Лабораторија за материјале \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Др Ксенија Јаковљевић, научни саветник \_\_\_\_\_

Универзитет у Београду–Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“– \_\_\_\_\_

Институт од националног значаја за Републику Србију, Одељење за екологију \_\_\_\_\_

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

У Београду, \_\_\_\_\_

**Потпис аутора**

\_\_\_\_\_

### Прилог 3.

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Ефикасност *Festuca rubra* у фитостабилизацији јона олова у присуству брушит-алуминосиликатних материјала

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

У Београду, \_\_\_\_\_

**Потпис аутора**

\_\_\_\_\_

**1. Ауторство** - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

**2. Ауторство – некомерцијално** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

**3. Ауторство - некомерцијално – без прераде.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

**4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

**5. Ауторство – без прераде.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

**6. Ауторство - делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.