

Macroelements bioavailability from waste water sludge of animal origin

Bioraspoloživost makroelemenata iz otpadnog mulja životinjskog podrijetla

Ivona ĐURAŠIN¹, Valentina ZMEŠKAL¹, Željka ZGORELEC^{2*}, Ana ŠPEHAR³, Nada MAUROVIĆ⁴ and Aleksandra PERČIN²

¹Former student of Graduate study in Agroecology, Faculty of Agriculture University of Zagreb, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia

²University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of General Agronomy, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia, *correspondence: zkgorelec@agr.hr

³Agroproteinka d.d., Strojarska cesta 11, 10361 Sesevski Kraljevac, Croatia

⁴University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Soil Amelioration, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia

Abstract

This research was conducted in order to determine a potential use of waste sludge of animal origin as soil amendment in the relation to the content of macroelements N, P and S and to determine effect of sludge application on the quantity and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.). The experiment was set up in 3 treatments with 3 replications. Treatments included control and two different amounts of animal waste sludge which was used as soil amendment (fertilization) for lettuce. The study investigated crystal green salad sort Posavka because of good accumulation ability to N (nitrophilic plant). Results showed that content of total N in waste animal sludge was 7.48%, total P was 1% and content of total S was 1.55%. Statistical analysis showed no significant difference in yield between the treatments. The content of NO₃⁻ in lettuce was not statistically significant between the treatments and the values were less than those prescribed by the legislation, which lead us to conclusion of safety use of sludge regarding the nitrates. According to the results of test parameters it can be concluded that the animal waste sludge is well provided with macroelements (N, P and S) and suitable for use in agriculture as an amendment for improving soil quality. Certainly, for crops that are not used for human consumption, with additional obligated control of other chemical and microbiological parameter before the use.

Keywords: by-products of animal origin, nitrogen, phosphorus, soil amendment, sulphur

Sažetak

Cilj ovog istraživanja bio je ustanoviti ima li otpadni mulj životinjskog podrijetla potencijala kao poboljšivač tla s obzirom na sadržaj makroelemenata N, P i S, te utvrditi utjecaj mulja na prinos i kvalitetu salate (*Lactuca sativa* L.). Pokus je postavljen u 3 tretmana sa 3 ponavljanja. Tretmani su uključivali kontrolu i dvije različite količine mulja životinjskog otpada koji je bio korišten kao gnojivo za salatu. U istraživanju se koristila kristal salata sorte Posavka zbog dobrih fitoaukumulacijskih svojstava na N (nitrofilna biljka). Rezultati su pokazali da je sadržaj ukupnog N u otpadnom mulju iznosio 7,48%, ukupnog P 1%, a sadržaj ukupnog S 1,55%. Statistička analiza nije pokazala značajne razlike u prinosu između tretmana. Sadržaj NO_3^- u salati nije bio statistički značajan između tretmana i vrijednosti su bile manje od onih propisanih zakonodavstvom, što nas dovodi do zaključka sigurne uporabe mulja u vezi s nitratima. Prema rezultatima testnih parametara možemo zaključiti da je mulj životinjskog podrijetla dobro opskrbljen hranjivim tvarima (N, P i S) i prikladan za uporabu u poljoprivredi kao dodatak za poboljšanje kakvoće tla. Svakako za usjeve koji se ne koriste za ljudsku potrošnju, uz dodatnu obaveznu kontrolu ostalih kemijskih i mikrobioloških parametara prije upotrebe.

Ključne riječi: dušik, fosfor, nusproizvodi životinjskog podrijetla, poboljšivač tla, sumpor

Detailed abstract

Animal sludge is produced through a process of waste water treatment in animal waste treatment plant. In Croatia, the annual production is around 100.000 t of animal by-products (approximately 2 m³ of raw material per day). The sludge is disposed as a raw material in the production of fats, meat bone meal and processed animal proteins. Treatment I was control without any fertilization. Treatment II represented fertilization of soil with animal waste sludge in equivalent of maximal 1.66 t*ha⁻¹ according to Croatian legislative (NN 38/08). Treatment III represented fertilization of soil with amount of animal waste sludge equivalent to plant needs, 100 kgN*ha⁻¹. In this study crystal green salad Posavka was used due to its high ability to absorb nitrogen. The soil had silty loam texture and neutral pH value (7.02). Content of water soluble nitrates in soil was 11.732 mg*kg⁻¹ and total nitrogen was 0.36%. The content of plant available P₂O₅ in soil was 29.7 mg*100 g⁻¹ and the content of plant available K₂O was > 40 mg*100 g⁻¹. Chemical analysis of animal sludge showed acid pH value (5.51). The content of total N (7.48%), total P (1%) and total S (1.55%) in sludge was lower than in mineral fertilizers, but higher than in organic fertilizers. Comparing N and S content in a waste sludge of animal origin with digestate municipal sludge of waste water after vermicomposting, it was found that the waste sludge of animal origin was richer in these macroelements. Statistical analysis showed no significant difference in yield between the treatments and mean values of yield were in range of 19.4 t*ha⁻¹ (treatment III) to 20.7 t*ha⁻¹ (treatment I). In investigated plant material, total nitrogen content ranged from 2.26% (treatment I) to 2.32% (treatment III). The amount of water soluble nitrates in dry leaves of lettuce

was in the range of 287 mg*kg⁻¹ (treatment I and II) to 326 mg*kg⁻¹ (treatment III). The nitrates content in leaves of fresh lettuce was in the range of 1.238 mg*kg⁻¹ (treatment II) to 1.451 mg*kg⁻¹ (treatment III). In analyzed plant material values of water soluble phosphorus (PO₄) were in the range 17.771 mg*kg⁻¹ (treatment III) to 19.468 mg*kg⁻¹ (treatment I). The values of water soluble sulfur (SO₄) in the analyzed plant material were in ranged from 4.424 mg*kg⁻¹ (treatment II) to 4.505 mg*kg⁻¹ (treatment III). All listed values were not statistically significant between the treatments.

Uvod

Prema Uredbi (EZ) br. 1069/2009, nusproizvodi životinjskog podrijetla (NŽP) su čitava tijela ili dijelovi tijela životinja, proizvodi životinjskog podrijetla ili drugi proizvodi dobiveni od životinja, koji nisu namijenjeni prehrani ljudi. Ovisno u procijenjenom riziku za zdravlje ljudi i životinja, životinjski nusproizvodi se dijele na tri kategorije (kategorija 1, 2 i 3) te se sukladno tome obrađuju ili uništavaju u uređajima koji su namijenjeni za uništavanje ili obradu konkretne kategorije životinjskih nusproizvoda (Heruc, 2012). Tijekom termičke obrade nusproizvoda životinjskog podrijetla nastaju otpadne vode, a kao nusproizvod pročišćavanja otpadnih voda nastaje otpadni mulj životinjskog podrijetla (Romac i sur., 2013; Agroproteinka d.d., 2014). Muljem treba gospodariti kao sirovinom (npr. N, P, K, S i ostale hranjive tvari) i kao poboljšivačem tla, što je u skladu s aktualnim razmišljanjem Europske unije (EU) ugrađenim u razne politike, kao što je inicijativa o učinkovitom korištenju resursa u sklopu strategije EU 2020. U sklopu politike o otpadu, ukidanje statusa otpada daje mogućnost da kompostirani mulj bude prepoznat kao gnojivo ili poboljšivač tla. Pravilnikom NN 38/08 propisano je da je godišnje dopušteno koristiti najviše 1,66 tona suhe tvari otpadnog mulja po hektaru poljoprivrednog tla. Istim pravilnikom propisano je da se mulj mora koristiti na način da se uzimaju u obzir potrebe biljaka za prihranjivanjem, očuva kakvoća tla (održa ili poboljšaju njegove fizikalne i biološke osobine) te očuva kakvoća površinskih i podzemnih voda. Šeremet (2016) navodi neke prednosti korištenja mulja u poljoprivredi: smanjeni troškovi proizvodnje, odnosno povoljnije zbrinjavanje mulja, smanjenje korištenja mineralnih gnojiva, hranjive tvari se vraćaju u tlo, poboljšana plodnost i struktura tla, obogaćivanje organskim tvarima, poboljšanje fizikalnih svojstava tla, održavanje optimalne vlažnosti, smanjenje mogućnosti erozije i drugo. Prema podacima iz plana gospodarenja otpadom Republike Hrvatske za razdoblje 2017. do 2022. godine (NN 3/17) postojeći uređaji za pročišćavanje komunalnih otpadnih voda godišnje proizvode oko 35.000 – 40.000 tona suhe tvari otpadnog mulja, od čega se na nacionalnoj razini približno 2.000 tona mulja godišnje koristi u poljoprivredne svrhe, a 1.000 tona mulja godišnje se kompostira. Preostali mulj uglavnom se odlaže na odlagališta.

Otpadni mulj životinjskog podrijetla pokazao se zanimljivim za istraživanje, budući da ga ima dosta, ima određeni energetski potencijal te se može pretvoriti u bioplin. Sve više se koristi u poljoprivredi (šumarstvo, cvjećarstvo i sl.) kao poboljšivač tla. Provedena su neka istraživanja o kvaliteti mulja i potencijalu za upotrebu u poljoprivrednoj proizvodnji. Upotreba mulja u poljoprivredi temelji se na sadržaju hraniva u mulju. Wong i Su (1997) ukazuju na to da se otpadni mulj u poljoprivredi

koristi mnogo godina i predstavlja dobar izvor hraniva poput N i P, koji su prijeko potrebni za rast biljaka. Međutim i dalje postoji dilema bi li se otpadni mulj trebao koristiti u poljoprivrednoj proizvodnji. Velik problem za ljudsko zdravlje predstavljaju nitrati, ali također i neki patogeni mikroorganizmi, organska onečišćenja (npr. farmaceutici) te teški metali koji mogu biti prisutni u otpadnom mulju, akumulirati se u biljkama i na taj način narušiti zdravlje ljudi i/ili životinja. Ljudska potrošnja, odnosno konzumacija lisnatog povrća uzgajanog na tlu koje je prihranjeno otpadnim muljem može predstavljati zdravstveni rizik zbog povećanih koncentracija teških metala u povrću, što može dovesti do teških oboljenja kod ljudi i životinja. Na biljnu sposobnost akumulacije nitrata i teških metala utječu tip tla, okolišni i poljoprivredni uvjeti, ali i količina i vrsta primjene otpadnog mulja.

Stoga se pretpostavilo da će gnojidba salate otpadnim muljem životinjskog podrijetla pozitivno utjecati na prinos i kvalitetu salate s naglaskom na istraživanje sadržaja N, P i S. Cilj ovoga rada bio je utvrditi karakteristike otpadnog mulja životinjskog podrijetla, njegov potencijal kao poboljšivača tla s obzirom na navedene makroelemente, te utjecaj otpadnog mulja životinjskog podrijetla na prinos i kvalitetu salate.

Materijali i metode

Pokus je proveden u kontroliranim uvjetima u plastičnim posudama u otvorenom stakleniku. Za postavljanje pokusa koristile su se pokusne posude zapremnine 0,00723 m³. Za postavljanje pokusa korišteno je tlo uzeto s pokušališta Agronomskog fakulteta (Zavod za povrćarstvo) i presadnice kristal salate sorte Posavka. Za gnojidbu salate koristio se otpadni mulj životinjskog podrijetla dobiven iz postrojenja Agroproteinka d.d. Presadnice salate su ručno presađene u plastične posude na način da su u svaku posudu zasađene dvije presadnice salate. Pokus je postavljen u latinski kvadrat (Slika 1). Tretmani II i III predstavljali su dvije različite količine otpadnog mulja životinjskog podrijetla koji je bio korišten u gnojidbi salate.

Tretman (I) – kontrola (čisto tlo, negnojeno)

Tretman (II) – tlo + 9 g otpadnog mulja životinjskog podrijetla – ekvivalent maksimalno dozvoljenoj količini otpadnog mulja prema Pravilniku o gospodarenju otpadnim muljem (1,66 t*ha⁻¹)

Tretman (III) – tlo + 6,5 g otpadnog mulja životinjskog podrijetla – ekvivalent količini otpadnog mulja izračunat prema potrebama biljke, za gnojidbu salate dušičnim mineralnim gnojivom (KAN) u količini od 100 kg N*ha⁻¹

Ciklus vegetacije trajao je 42 dana, od 22. svibnja do 2. srpnja 2015. godine. Od dana postavljanja pokusa do završetka vegetacije salata je svaki treći dan bila zalijevana, a tlo je bilo prorahljeno malenim grabljicama.



Figure 1. Experiment scheme (photo: Ivona Đurašin)

Slika 1. Prikaz pokusa (foto: Ivona Đurašin)

Uzorkovanje salate obavljeno je na način da su obje glavice salate iz jedne plastične posude činile jedan uzorak. Berba salate obavljena je ručno, a odmah nakon berbe određen je prinos. Nakon toga slijedilo je pranje listova salate destiliranom vodom te priprema za sušenje u sušioniku na temperaturi od 70 °C, do konstantne mase. Otpadni mulj uzorkovan je direktno poslije obrade centrifugiranja u biološkom uređaju za pročišćavanje otpadnih voda. Tlo i mulj su prije postavljanja pokusa homogenizirani i uzeti su zasebni prosječni uzorci za analizu. Uzorci mulja i tla zrakosuhom su se sušili u laboratorijskom stakleniku. Nakon sušenja uzorci su bili samljeveni i prosijani kroz sito Ø 2 mm i homogenizirani te su pripremljeni za kemijsku analizu. Priprema uzoraka tla, mulja i salate te popis svih metoda koje su korištene za analizu istraživanih parametara prikazani su u Tablici 1.

Table 1a. List of parameters and methods used in the study
 Tablica 1a. Popis parametara i metoda korištenih u istraživanju

Parameter Parametar	Method Metoda	Protocol/Norm Protokol/Norma	Matrix Matriks
Drying/grinding/sieving/homogenizing Sušenje/mljevenje/prosijavanje/homogeniziranje	Preparation of samples for physical and chemical analysis Drying: air-dried (soil and sludge); 70 °C (plant material) Priprema uzoraka za fizikalne i kemijske analize Sušenje: zraku suho (tlo i otpadni mulj); 70 °C (biljni materijal)	HRN ISO 11464:2006	Soil, sludge, plant material Tlo, otpadni mulj, biljni materijal
Soil texture Tekstura tla	Determination of the particle size distribution (texture) in the mineral part of the soil - sieving and sedimentation method Određivanje raspodjele veličine čestica (mehaničkog sastava) u mineralnom dijelu tla – metoda prosijavanja i sedimentacije	HRN ISO 11277:2004	Soil Tlo
w(DM), w(H ₂ O)[%] w(ST), w(H ₂ O)[%]	Determination of dry matter (DM) and moisture contents - gravimetric method Određivanje suhe tvari i sadržaja vlage - gravimetrijska metoda	HRN ISO 11465:2004	Soil, sludge, plant material Tlo, otpadni mulj, biljni materijal

Table 1b. List of parameters and methods used in the study
 Tablica 1b. Popis parametara i metoda korištenih u istraživanju

Parameter Parametar	Method Metoda	Protocol/Norm Protokol/Norma	Matrix Matriks
pH _{KCl}	Determination of pH in 0.1 M CaCl ₂ , 1 M KCl, H ₂ O at 1:2.5 (m/v) for soil and 1:5 (m/v) for sludge Određivanje pH vrijednosti u 0,1 M CaCl ₂ , 1 M KCl, H ₂ O u omjeru 1:2.5 (m/v) za tlo i 1:5 (m/v) za otpadni mulj	HRN ISO 10390:2004	Soil, sludge Tlo, otpadni mulj
Plant available (P and K) _{AL} [mg*100 g ⁻¹] Biljci pristupačni (P i K) _{AL} [mg*100 g ⁻¹]	AL method - extraction with ammonium lactate acetic acid 1:20 (m/v) AL metoda - ekstrakcija sa amonij laktat octenom kiselinom 1:20 (m/v)	Škorić, 1982	Soil, sludge Tlo, otpadni mulj
TP [% DM] TP [% ST]	Extraction of elements soluble in aqua regia Ekstrakcija elemenata topljivih u zlatotopci	HRN ISO 11466:2004	Sludge Otpadni mulj
TP [% DM] TP [% ST]	Determination of trace elements in the soil extract by method inductively coupled plasma - atomic emission spectrometry (ICP - AES) Određivanje elemenata u tragovima u ekstraktu tla metodom induktivno spregnute plazme - atomske emisijske spektrometrije (ICP-AES)	HRN ISO 22036:2011	Sludge Otpadni mulj

Table 1c. List of parameters and methods used in the study
 Tablica 1c. Popis parametara i metoda korištenih u istraživanju

Parameter Parametar	Method Metoda	Protocol/Norm Protokol/Norma	Matrix Matriks
TS [% DM] TS [% ST]	Determination of total sulfur by dry combustion method (elemental analysis) - 50 mg plant material / 100 mg soil and sludge	HRN ISO 15178:2005	Soil, sludge, plant material
	Određivanje ukupnog sumpora metodom suhog spaljivanja (elementarna analiza) - 50 mg biljnog materijala / 100 mg tla i otpadnog mulja		Tlo, otpadni mulj, biljni materijal
CEC KIK	Determination of the effective cation exchange capacity and bases saturation level using barium chloride solution	HRN ISO 11260:2004	Soil
	Određivanje stvarnog kapaciteta zamjene kationa i stupnja zasićenosti bazama s otopinom barijeva klorida		Tlo
Anion and cation extraction Ekstrakcija aniona i kationa	Water extract of soil in ratio 1:10 (<i>m/v</i>)	ONORM L 1092-93	Soil
	Vodeni ekstrakt tla u omjeru 1:10 (<i>m/v</i>)		Tlo
Anion and cation extraction Ekstrakcija aniona i kationa	Water extract of plant material in ratio 1:1000 (<i>m/v</i>)	Svecnjak and Rengel, 2006	Plant material
	Vodeni ekstrakt biljnog materijala u omjeru 1:1000 (<i>m/v</i>)		Biljni materijal

Table 1d. List of parameters and methods used in the study
 Tablica 1d. Popis parametara i metoda korištenih u istraživanju

Parameter Parametar	Method Metoda	Protocol/Norm Protokol/Norma	Matrix Matriks
F ⁻ , Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , Br ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻ [mg*kg ⁻¹]	Determination of fluoride, chloride, nitrite, bromide, orthophosphate, nitrate and sulfate by liquid ionic chromatography method Određivanje sadržaja fluorida, klorida, nitrita, bromida, ortofosfata, nitrata i sulfata metodom tekuće ionske kromatografije	HRN EN ISO 10304-1:1998	Soil, plant material Tlo, biljni materijal
Li ⁺ , Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ [mg*kg ⁻¹]	Determination of Li ⁺ , Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , by liquid ionic chromatography method Određivanje sadržaja Li ⁺ , Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , metodom tekuće ionske kromatografije	HRN EN ISO 14911:2001	Soil, plant material Tlo, biljni materijal

Varijabilnost između tretmana za sve ispitivane parametre testirana je analizom varijance (One – way, ANOVA) i ukoliko je bilo potrebno, adekvatnim post – hoc (Fisher LSD) t – testom. U svim testovima razina značajnosti bila je 5%. Svi dobiveni rezultati analizirani su u računalnom programu SAS 9.1. (SAS Inst. Inc.).

Preciznost i točnost analiza bile su uključene u istraživanje. Preciznost analiza kontrolirana je ponavljanjem analize pojedinih uzoraka (3 puta) i bila je zadovoljavajuća (RSD < 3%). Točnost analiza kontrolirana je pomoću referentnog materijala (RM, Wepal, Wageningen) IPE 100/3.2011 i bila je zadovoljavajuća. Relativna pogreška mjerenja ovisno o ispitivanom parametru kretala se od 1% (N-NO₃) do 19% (N-NH₄).

Tlo

Rezultati ispitivanja pokazali su da je tlo neutralne pH_{KCl} vrijednosti (7,02) i praškasto – ilovaste teksture (72% praha, 18,4% pijeska i 9,6% gline). Vrlo je bogato dušikom (0,36%), a zastupljenost nitrata je 11.732 mg*kg⁻¹. Udio ukupnog ugljika (C) u tlu bila je 1,7%, vodika (H) 2,23% i sumpora (S) 0,079%. Vrijednost biljci pristupačnog kalija (K₂O) bila je > 40 mg*100 g⁻¹ tla, a fosfora (P₂O₅) je iznosila 29,7 mg*100 g⁻¹ tla, te se zaključuje da je tlo vrlo bogato opskrbljeno fosforom i kalijem. Sadržaj vodotopivih klorida iznosio je 734 mg*kg⁻¹, nitrita 3 mg*kg⁻¹, sulfata 2.602 mg*kg⁻¹ i fosfata 41 mg*kg⁻¹. Zastupljenost natrija u tlu bila je 345 mg*kg⁻¹, amonij iona 15 mg*kg⁻¹, kalija 618 mg*kg⁻¹ te magnezija 710 mg*kg⁻¹. Vodotopivi fluorid, bromid, litij i kalcij također su analizirani, a dobivene vrijednosti su bile ispod granice detekcije instrumenta (<LOD). Kationski izmjenjivački kapacitet (KIK) iznosio je 16,8 cmol**kg⁻¹. Zamjenjivi Na⁺ iznosio je 1,04 cmol**kg⁻¹, K⁺ 2,42 cmol**kg⁻¹, Ca²⁺ 29,30 cmol**kg⁻¹ i Mg²⁺ 8,01 cmol**kg⁻¹.

Otpadni mulj

Kemijskom analizom uzorka mulja utvrđeno je da je mulj slabo kisele pH_{KCl} vrijednosti (5,51) s postotkom vlage od 5,93%. Prema dobivenim rezultatima u otpadnom mulju najviše je bio zastupljen ukupni C sa 42,1%. Udio ukupnog H iznosio je 19,8%, S 1,55% te N 7,48%.

Rezultati i rasprava

Udio S u otpadnom mulju (1,55%) pokazao se većim u odnosu na udio S u digestatu mulja komunalnih otpadnih voda nakon vermikompostiranja (0,44%), prema istraživanju koje je proveo Mudri (2013). Isto tako, udio N u otpadnom mulju iznosio je 7,48%, dok je udio N u digestatu mulja otpadnih voda nakon vermikompostiranja bio 4,09% (Mudri, 2013), što ukazuje na to da je otpadni mulj životinjskog podrijetla 1,8 puta bogatiji dušikom, odnosno 4,3 puta bogatiji sumporom u odnosu na vermikompostirani mulj otpadnih voda. Uspoređujući sadržaj ukupnog P u otpadnom mulju (1%) i sadržaj ukupnog P u digestatu mulja otpadnih voda, koji je nakon vermikompostiranja iznosio 1,6% (Mudri, 2013), vidljivo je da je 0,6% manje P u

otpadnom mulju životinjskog podrijetla. S druge strane, uspoređujući zastupljenost ukupnog N u otpadnom mulju životinjskog podrijetla (7,48%) s udjelom N u mineralnim gnojivima, vidi se da je u otpadnom mulju životinjskog podrijetla 3,5 puta manje zastupljen N u usporedbi s ASN-om (amonijev sulfonitrat), koji sadrži 26% N, 3,6 puta manje od KAN-a (kalcijev amonijev nitrat), koji sadrži 27% N, 4,1 puta manje od UREA-e ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, amidni oblik N), koja sadrži 46% N (Petrokemija Kutina, 2017), ali i da je sadržaj N u otpadnom mulju životinjskog podrijetla veći od onog u organskim gnojivima. Vrijednosti se kreću od 0,5% u krutom stajskom gnoju do 3% u gnoju peradi (Mihalić, 1988; NN 56/08). Sadržaj ukupnog P u otpadnom mulju životinjskog podrijetla iznosio je 1%, što je manje od udjela P u kombiniranim mineralnim NPK i NP gnojivima, u kojima se udio P kreće od 6% do 20% (Petrokemija Kutina, 2017).

Biljni materijal

Utvrđeni prosječni prinosi salate iznosili su $20,7 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ (tretman I), $20 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ (tretman II) i $19,4 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ (tretman III) i nije bilo statistički značajnih razlika između tretmana. Prinos salate u prosjeku bude od $20 - 40 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ (Lončarić i sur., 2015) i prema tome je vidljivo da su prinosi u ovom pokusu dosta niski. Kako bi se postigao što veći prinos, proizvođači često primjenjuju veliku količinu dušičnog gnojiva, što dovodi do akumulacije nitrata i smanjenja kvalitete uzgajane kulture. Višak dušika može biti štetan za ljude i okoliš. Prevelik sadržaj nitrata u tlu može dovesti do tzv. luksuzne konzumacije dušika s mogućim negativnim posljedicama (Butorac i sur., 1988; Lazarević i Stojić, 1988; Fabek i sur., 2012). Castro i sur. (2009) tvrde da pretjerana gnojidba gnojivima bogatim dušikom može dovesti do kumulativne razine nitrata u biljkama, koja prelazi maksimalnu dozvoljenu koncentraciju te je konzumacija takvog povrća opasna za ljudsko zdravlje. Salata spada u grupu nitrofilnih biljaka te je prilikom ishrane dušikom sklona akumulaciji nitrata, pa posebno treba voditi računa o gnojidbi dušikom (Durman i Ćustić, 1990). Konzumacijom salate koja u sebi sadrži previše nitrata, u ljudskom tijelu (kod odraslih i djece) može doći do methemglobinemije, kao i do nastanka nitrozamina koji imaju izuzetno štetan utjecaj na ljudsko zdravlje (Zgorelec, 2006; Šarkanj i sur., 2010). Tamme i sur. (2010) ukazuju na to da je sadržaj nitrata u povrću jedan od najvažnijih faktora karakterizacije kvalitete povrća. Tipično, lisnato povrće sadrži veće koncentracije nitrata u odnosu na korjenasto povrće i povrće koje ima plodove. Castro i sur. (2009) došli su do zaključka da je primjena otpadnog mulja u gnojidbi salate dovela do povećanja sadržaja N i P te organske tvari u tlu, koji će se s vremenom pretvoriti u biljci pristupačne oblike. Također su utvrdili da količina nitrata u listovima salate ne ovisi o sezoni usjeva, već o vrsti i dozi gnojiva, odnosno količini primjene otpadnog mulja.

Količina nitrata (Tablica 2) u suhoj tvari salate iznosila je $287 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (tretman I i tretman II) i $326 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (tretman III), dok je prosječna količina nitrata u listovima svježe salate iznosila $1.430 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (tretman I), $1.238 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (tretman II) i $1.451 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (tretman III). Prema Pravilniku o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 146/12) najveća dopuštena količina NO_3^- za svježiju salatu iznosi $3.000 \text{ mgNO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$ s obzirom na rok i način uzgoja, što ukazuje na to da su

dobivene vrijednosti bile 2x niže od najmanje dopuštene količine propisane Pravilnikom za navedeni rok i način uzgoja. U svome istraživanju Castro i sur. (2009) tretirali su salatu sa otpadnim muljem te su utvrdili da se sadržaj nitrata u listovima salate kretao u rasponu od 940 mg*kg^{-1} – 1.832 mg*kg^{-1} između sezona usjeva.

Maseni udjeli ukupnog ugljika, dušika i sumpora u istraživanoj salati kreću se u prirodnim vrijednostima, kao i maseni udjeli ostalih ispitivanih vodotopivih iona (Tablica 2) prema Mengeli Kirkbyu, (1987). U analiziranom biljnom materijalu vrijednosti vodotopivog fosfora (PO_4) u suhoj tvari iznosile su $19.468 \text{ mg*kg}^{-1}$ (tretman I), $18.412 \text{ mg*kg}^{-1}$ (tretman II) i $17.771 \text{ mg*kg}^{-1}$ (tretman III). Vrijednosti nitrita (NO_2^-), bromida (Br^-) i litija (Li^+) su bile ispod granice detekcije instrumenta (<LOD). U Tablici 2 prikazani su rezultati kemijske analize biljnog materijala u suhoj tvari (ST) ispitivanih parametara.

Table 2. The results of chemical analyzes of plant material in dry matter

Tablica 2. Rezultati kemijske analize biljnog materijala u suhoj tvari

Treatment/unit Tretman/jedinica	Mean value in dry matter \pm RSD % (n = 3) Srednja vrijednost u ST \pm RSD % (n = 3)				
%	C	H	N	S	
I	$40,5^A \pm 1,2$	$3,63^A \pm 0,7$	$2,26^A \pm 16$	$0,142^A \pm 11$	
II	$40,9^A \pm 0,8$	$3,63^A \pm 0,2$	$2,28^A \pm 7$	$0,157^A \pm 8$	
III	$40,6^A \pm 0,1$	$3,61^A \pm 0,8$	$2,32^A \pm 1$	$0,150^A \pm 13$	
mg*kg^{-1}	NH_4^+	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}
I	$132^A \pm 75$	$1.989^A \pm 20$	$41.413^A \pm 4$	$2.702^A \pm 15$	$8.418^A \pm 16$
II	$118^A \pm 76$	$1.755^A \pm 9$	$40.394^A \pm 1$	$2.789^A \pm 8$	$8.373^A \pm 9$
III	$134^A \pm 78$	$1.763^A \pm 6$	$40.573^A \pm 1$	$3.150^A \pm 6$	$9.518^A \pm 10$
mg*kg^{-1}	F^-	Cl^-	NO_3^-	SO_4^{2-}	PO_4^{3-}
I	$4.321^A \pm 8$	$9.381^A \pm 2$	$287^A \pm 27$	$4.490^A \pm 12$	$19.468^A \pm 5$
II	$3.342^B \pm 13$	$8.178^B \pm 4$	$287^A \pm 29$	$4.424^A \pm 18$	$18.412^A \pm 7$
III	$3.119^B \pm 10$	$7.700^B \pm 8$	$326^A \pm 21$	$4.505^A \pm 4$	$17.771^A \pm 2$

*The mean values marked with same letter in the same column are not statistically significant (SAS 9.1. $P < 0.05$) (n = 3). *Srednje vrijednosti označene istim slovom u istom stupcu nisu statistički značajne (SAS 9,1. $P < 0,05$) (n = 3).

Značajna razlika zabilježena je za fluoride (F⁻) i kloride (Cl⁻), gdje su statistički veće vrijednosti utvrđene kod kontrolnog tretmana I u odnosu na ostala dva (II i III). Svi ostali ispitivani parametri nisu se statistički značajno razlikovali.

Nakon svega iznesenoga, teško je točno odrediti koja je najpovoljnija količina primijenjenog otpadnog mulja, zbog relativno visoke koncentracije hraniva u kontrolnom tlu, i ne utvrđene razlike između prinosa i sadržaja nitrata u listovima svježih salata ovisno o tretmanu, no svakako se može zaključiti kako odgovarajuća primjena otpadnog mulja ne predstavlja opasnost od pretjerane količine nitrata, ali i ostalih ispitivanih iona u listovima salate niti u jednoj od varijanata gdje je primijenjen mulj.

Prema istraživanju Sönmez i Bozkurt (2006) kod primjene otpadnog mulja za gnojidbu salate, analiza je pokazala povećanu koncentraciju N, P, K, Mg i Cd u listovima dok gnojidba otpadnim muljem nije značajno utjecala na koncentraciju Ca, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni i Zn. Zaključeno je da se otpadni mulj može primjenjivati za uzgoj povrća jer se pokazalo da su upotrebom otpadnog mulja povećani prinosi i poboljšana kvaliteta tla. U istraživanju koje su proveli Pascual i sur. (2004) primjena visokih doza otpadnog mulja nije utjecala na udio teških metala u tlu usvojenih od biljke, kao razloge navode pojavu suše, koja je smanjila stupanj mineralizacije otpadnog mulja u tlu i samim time spriječila prijelaz metala u biljci pristupačne oblike. Tandir i sur. (2004) zaključuju da je dugoročnom primjenom otpadnog mulja došlo do povećanja sadržaja Zn i Cu u površinskom dijelu tla te je njihov sadržaj u salati i kupusu bio iznad praga toksičnosti. Ukazuju i na to da sadržaj teških metala u otpadnom mulju ograničava njegovu primjenu na tlo i zahtijeva praćenje kako bi se osigurao optimalan prinos usjeva i kako bi se očuvalo ljudsko i životinjsko zdravlje kroz hranidbeni lanac.

Zaključak

Količina nitrata u listovima svježih salata kretala se u rasponu od 1.238 mg*kg⁻¹ do 1.451 mg*kg⁻¹, što ukazuje na to da su dobivene vrijednosti 2x niže od najmanje dopuštene količine propisane Pravilnikom (NN 146/12) za navedeni rok i način uzgoja. Prema dobivenim rezultatima zaključujemo da dobivene vrijednosti ispitivanih parametara pokazuju da je mulj bogat makroelementima (N, P i S) te može biti povoljan za primjenu u poljoprivredi kao poboljšivač tla, svakako za kulture koje se ne koriste za ljudsku prehranu. Mogao bi se iskoristiti kao gnojivo za ukrasno bilje, vrtove, travnjake i/ili energetske kulture, gdje ne predstavlja opasnost za zdravlje ljudi i životinja. Treba uzeti u obzir da teški metali, organska onečišćenja i prisutnost mikroorganizama u otpadnom mulju životinjskog podrijetla nisu analizirani te bi prije upotrebe mulja svakako trebalo analizirati i te parametre kako bi se ustanovila potpuna sigurnost primjene mulja. Ukoliko se analizom utvrdi da je mulj preopterećen teškim metalima ili farmaceuticima, ne smije se koristiti u poljoprivredi. Primjena mulja mora biti ispravna i ne smije narušiti kvalitetu tla.

Zahvala

Zahvala doc. dr. sc. B. Benku i doc. dr. sc. S. Fabek Uher na ustupljenom tlu.

Literatura

- Agroproteinka d.d. (2014) Zahtjev za utvrđivanje objedinjenih uvjeta zaštite okoliša Agroproteinke d.d. sukladno Uredbi o postupku utvrđivanja objedinjenih uvjeta zaštite okoliša (NN 114/08) – rev 4. Sažetak za informiranje javnosti. [Online] Zagreb: Hrvatski centar za čistiju proizvodnju. Dostupno na: http://www.mzoip.hr/doc/zahtjev_za_utvrdivanje_objedinjenih_uvjeta_zastite_okolisa_57.pdf [Accessed October 5, 2015].
- Butorac, A., Redžepović, S., Bašić, F. (1988) Neka aktualna pitanja „prometa“ organske tvari u tlu. Poljoprivredne aktivnosti, 30, (1-2), 461-474.
- Castro, E., Mañas, M. P., De Las Heras, J. (2009) Nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa* L.) after fertilization with sewage sludge and irrigation with treated wastewater. Food Additives and Contaminants, 26 (2), 172–179.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1080/02652030802425334>
- Durman, P., Čustić, M. (1990) Utjecaj gnojidbe dušikom na prinos i koncentraciju nitrata u salati uzgajanoj u stakleniku. Znanstveni rad. Agronomski glasnik: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva, 52 (6), 361-368.
- Fabek, S., Toth, N., Radojčić Redovniković, I., Herak Čustić, M., Benko, B., Žutić, I. (2012) The effect of nitrogen fertilization on nitrate accumulation, and the content of minerals and glucosinolates in broccoli cultivars. Food Technology and Biotechnology journal, 50 (2), 183–191.
- Heruc, Z. (2012) Cjelovit sustav zbrinjavanja nusproizvoda životinjskog podrijetla kao preduvjet održive i sigurne proizvodnje hrane i zaštite zdravlja ljudi i životinja. In: Harapin, I., Zbornik radova 5. hrvatskog veterinarskog kongresa. Tuheljske Toplice, Hrvatska, 10.-13. listopada 2012., Tiskara Zelina d. d., 117-123.
- HRN EN ISO 10304-1 (1998) Kakvoća vode – Određivanje otopljenih fluorida, klorida, nitrita, ortofosfata, bromida, nitrata i sulfata pomoću ionske tekućinske kromatografije - 1. dio. Metoda za slabo zagađene vode.
- HRN EN ISO 14911 (2001) Kakvoća vode - Određivanje otopljenih Li⁺, Na⁺, NH₄⁺, K⁺, Mn²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺ ionskom kromatografijom - Metoda za vode i otpadne vode.
- HRN ISO 10390 (2004) Kakvoća tla – Određivanje pH vrijednosti.
- HRN ISO 10694 (2004) Kakvoća tla - Određivanje organskoga i ukupnog ugljika suhim spaljivanjem (elementarna analiza).
- HRN ISO 11260 (2004) Kvaliteta tla - Određivanje stvarnog kapaciteta zamjene kationa i stupnja zasićenosti bazama s otopinom barijeva klorida.

- HRN ISO 11277 (2004) Kakvoća tla - Određivanje raspodjele veličine čestica (mehaničkog sastava) u mineralnom dijelu tla - Metoda prosijavanja i sedimentacije.
- HRN ISO 11465 (2004) Kakvoća tla - Određivanje suhe tvari i sadržaja vode na osnovi mase - Gravimetrijska metoda.
- HRN ISO 11466 (2004) Kakvoća tla – Ekstrakcija elemenata topljivih u zlatotopci.
- HRN ISO 13878 (2004) Kakvoća tla - Određivanje sadržaja ukupnog dušika suhim spaljivanjem ("elementarna analiza").
- HRN ISO 15178 (2005) Kakvoća tla - Određivanje ukupnog sumpora suhim spaljivanjem.
- HRN ISO 11464 (2006) Kakvoća tla - Priprema uzorka za fizikalno-kemijske analize.
- HRN ISO 22036 (2011) Određivanje elemenata u tragovima u ekstraktu tla metodom induktivno spregnute plazme - atomske emisijske spektrometrije (ICP-AES).
- Lazarević, Lj., Stojić, B. (1988) Gnojidba povrća i cvijeća, Ina – Petrokemija. Kutina.
- Lončarić, Z., Parađiković, N., Popović, B., Lončarić, R., Kanisek, J. (2015) Gnojidba povrća, organska gnojiva i kompostiranje. Osijek: Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
- Mengel, K., Kirkby, E. A. (1987) Principles of plant nutrition. 4th edition. Bern: International Potash Institute.
- Mihalić, V. (1988) Opća proizvodnja bilja, III dopunjeno izdanje. Zagreb: Školska knjiga.
- Mudri, N. (2013) Vermikompostiranje digestata od mulja otpadnih voda. Diplomski rad, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- NN 3/17 (2017) Plan gospodarenja otpadom Republike Hrvatske za razdoblje od 2017. do 2022. godine. [Online] Narodne novine. Available at: http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/full/2017_01_3_118.html [Accessed February 15, 2017].
- NN 38/08 (2008) Pravilnik o gospodarenju muljem iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda kada se mulj koristi u poljoprivredi. [Online] Narodne novine. Available at: http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008_04_38_1307.html [Accessed October 5, 2015].
- NN 56/08 (2008) Pravilnik o dobroj poljoprivrednoj praksi u korištenju gnojiva. [Online] Narodne novine. Available at: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008_05_56_1937.html [Accessed February 28, 2018].
- NN 146/12 (2012) Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih kotaminanata u hrani. [Online] Narodne novine. Available at: http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2012_12_146_3162.html [Accessed March 28, 2016].

- ONORM L 1092-93 (1993) Chemische Boden unter suchungen – Extraktion wasser löslicher Elemente und Verbindungen.
- Pascual, I., Antolín, M. C., García, C., Polo, A., Sánchez-Díaz, M. (2004) Plant availability of heavy metals in a soil amended with a high dose of sewage sludge under drought conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 40, 291–299. DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s00374-004-0763-1>
- Petrokemija Kutina (2017) Cjenik mineralnih gnojiva. [Online] Available at: <http://www.petrokemija.hr/portals/0/Cjenici/Cjenik01012017.pdf> [Accessed April 13, 2017].
- Petrokemija Kutina (2017) Glasnik. [Online] Petrokemija Kutina. Available at: <http://www.petrokemija.hr/Portals/0/Glasnik/Glasnik%20br%201%202017g.pdf> [Accessed April 13, 2017].
- Romac, G., Šoštarec, D., Belamarić Šaravanja, M. (2013) Tehničko – tehnološko rješenje postojećeg postrojenja Agroproteinka d.d. [Online] Zagreb: Hrvatski centar za čistiju proizvodnju. Available at: http://www.mzoip.hr/doc/tehnicko-tehnolosko_rjesenje_54.pdf [Accessed October 5, 2015].
- SAS (2003) The SAS system for Microsoft Windows release 9.1. 4th edition. Cary, NC: SAS institute Inc.
- Sönmez, F., Bozkurt, M. A. (2006) Lettuce grown on calcareous soils benefit from sewage sludge. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science*, 56 (1), 17-24. DOI: <https://dx.doi.org/10.1080/09064710510005813>
- Svecnjak, Z., Rengel, Z. (2006) Nitrogen utilization efficiency in canola cultivars at grain harvest. *Plant and Soil*, 283, 299–307.
- Šarkanj, B., Klapčić, D., Vasić – Rački, Đ., Delaš, F., Galić, K., Katalenić, M., Dimitrov, N., Klapec, T. (2010) Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani. Osijek: Hrvatska agencija za hranu (HAH), 113-146.
- Šeremet, D. (2016) Mogućnosti zbrinjavanja viška aktivnog mulja iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda. Završni rad. Zagreb: Prehrambeno – biotehnološki fakultet.
- Tamme, T., Reinik, M., Roasto, M., Meremäe, K., Kiis, A. (2010) Nitrate in leafy vegetables, culinary herbs, and cucumber grown under cover in Estonia: content and intake. *Food Additives and Contaminants*, 3 (2), 108–113. DOI: <https://dx.doi.org/10.1080/19440041003725944>
- Tandi, N. K., Nyamangara, J., Bangira, C. (2004) Environmental and potential health effects of growing leafy vegetables on soil irrigated using sewage sludge and effluent: A case of Zn and Cu. *Journal of Environmental Science and Health. Part B – Pesticides, Food Contaminant, and Agricultural Wastes*, B39 (3), 461-471.
- Uredba (EZ) 1069/2009 (2009) Europskog parlamenta i Vijeća. [Online] Available at: <http://publications.europa.eu/hr/publication-detail/-/publication/bdb425ef-1cd9-4051-bf11-7461132a4564/language-hr> [Accessed April 2, 2016].

Wong, J. W. C., Su, D. C. (1997) The growth of *Agropyron elongatum* in an artificial soil mix from coal fly ash and sewage sludge. *Bioresource Technology*, 59 (1), 57-62.

Zgorelec, Ž. (2006) Utjecaj gnojidbe i biljnog pokrova na gubitak dušika s vodom iz tla. Magistarski rad. Zagreb: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije.