

Fitoremedijacijski potencijal vodene leće

Gačić, Darija

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Karlovac University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:948906>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-17**



VELEUČILIŠTE U KARLOVCU
Karlovac University of Applied Sciences

Repository / Repozitorij:

[Repository of Karlovac University of Applied Sciences - Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

VELEUČILIŠTE U KARLOVCU
STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE
PIVARSTVO

Darija Gačić

FITOREMEDIJACIJSKI POTENCIJAL VODENE LEĆE

Završni rad

Karlovac, srpanj 2018.

VELEUČILIŠTE U KARLOVCU
STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Darija Gačić

FITOREMEDIJACIJSKI POTENCIJAL VODENE LEĆE

Završni rad

Mentorica: Cindrić Ines, dipl.ing

Karlovac, srpanj 2018.

ZAHVALA

Posebna zahvala mentorici Cindrić Ines, dipl.ing., na savjetima, strpljenju i stručnoj pomoći bez koje ovaj rad ne bi ugledao svjetlo dana.

Zahvaljujem prijateljima na pomoći i podršci tijekom mojeg školovanja.

Veliko hvala mojim roditeljima i bratu koji su vjerovali u mene i sve mi ovo omogućili.

FITOREMEDIJACIJSKI POTENCIJAL VODENE LEĆE

SAŽETAK

Mliječna industrija važna je grana prehrambene industrije koja je praćena stalnim rastom i razvojem u većini zemalja u svijetu. Paralelno s razvojem mliječne industrije pojavljuje se problem onečišćenja okoliša, a ujedno i nastojanje da se to onečišćenje prevenira ili da se njegove posljedice smanje na najmanju moguću mjeru. Glavni izvor onečišćenja mliječne industrije je otpadna voda koja je bogata organskim tvarima. Iako je riječ o lako biorazgradivom onečišćenju, ukoliko je koncentracija organskih tvari u otpadnoj vodi previsoka, njezino ispuštanje također može dovesti do neželjenih poremećaja u ravnoteži vodnog ekosustava. Posljedice uključuju smanjenje koncentracije kisika u vodotocima, eutrofikaciju vode, smanjenje plodnosti tla te predstavlja potencijalnu opasnost onečišćenja vodozaštićenih područja. Kako bi se spriječilo štetno djelovanje koje bi spomenuta otpadna voda imala na ekosustav potrebno ju je prethodno obraditi. Uklanjanje onečišćivača iz okoliša se uglavnom provodi pomoću skupih konvencionalnih *in situ* i *ex situ* metoda koje se temelje na fizikalnim i kemijskim procesima te iako daju zadovoljavajuće, zakonski propisane rezultate, vrlo često generiraju sekundarni otpad, emisiju stakleničkih plinova, ali i uništavanje strukture tla ili značajne promjene krajobraza. Fitoremedijacija je nova, zelena tehnologija koja koristi biljke i njihove rizosferične mikroorganizme sa ciljem uklanjanja, razgradnje ili asimilacije različitih onečišćivača iz zemljišta i vodnih područja. Ova tehnologija ima prednost u usporedbi s tradicionalnim metodama jer se temelji na prirodnim procesima koristeći jedinstvene ekstraktivne i metaboličke sposobnosti biljaka te slijedeći principe održivog razvoja. Cilj ovog rada bio je ispitati fitoremedijacijski potencijal *Lemna minor* L. na modelnoj otpadnoj vodi zaostaloj nakon proizvodnje sira.

Ključne riječi: Fitoremedijacija, *Lemna minor* L., mliječna industrija, sirutka

PHYTOREMEDIATION POTENTIAL OF DUCKWEED

ABSTRACT

The dairy industry is an important branch of the food industry and is followed by constant growth and development in most countries of the world. Simultaneously with the development of the industry, the problem of pollution has emerged. With it came the tendencies to prevent pollution or to reduce its consequences to minimal effect. The main source of pollution in the dairy industry is waste water which is rich in organic substances. Although such pollutants can be easily biodegraded, if the concentration of organic substances in waste water is too high, its release can lead to undesirable imbalance of the aquatic ecosystem. Consequences include: reduced oxygen concentration in water bodies, water eutrophication, reduction in soil fertility and poses a potential threat to water protection area. In order to halt the harmful effects of waste water on the ecosystem, the waste water should firstly be processed. Removal of environmental pollutants is generally conducted using expensive conventional in situ and ex situ methods, which are based on physical and chemical processes and although they produce sufficient, legally acceptable results, they often generate secondary waste, greenhouse gas emission, damage to soil structure or other significant environmental changes. Phytoremediation is a new, green technology using plants and their rhizosphere microorganisms with the aim to remove, degrade or assimilate different pollutants from the soil and water areas. This technology is an improvement in contrast to the traditional methods as it is established upon natural processes using unique extractive and metabolic abilities of plants. Furthermore it follows the principles of sustainable development. The aim of this study was to test the phytoremediation potential of *Lemna minor* L. on model waste water generated from cheese production.

Keywords: Phytoremediation, *Lemna minor* L., dairy industry, whey cheese

SADRŽAJ

1. UVOD	9
2. TEORIJSKI DIO	10
2.1 Otpadne vode.....	10
2.2 Otpadne vode mliječne industrije.....	10
2.2.2 Sirutka	12
2.2.3 Fitoremedijacija.....	13
2.2.4 Vrste fitoremedijacije.....	14
2.2.5 Biljke za fitoremedijaciju	16
2.2.6 <i>Lemna minor</i> L.	17
3.EKSPERIMENTALNI DIO.....	19
3.1 Kemikalije i uzorci	19
3.2 Instrumenti i uređaji	19
3.3 Uvjeti provođenja pokusa.....	19
3.4 Postupci za određivanje rasta biljke	20
3.5 Metode za analizu vode.....	21
3.6 Određivanje pH i temperature	21
3.7 Određivanje elektrovodljivosti.....	21
3.8 Određivanje alkaliteta	21
3.9 Određivanje taloživih tvari.....	22
3.10 Određivanje suspendiranih tvari cijedenjem kroz filter od staklenih vlakana	22
3.11 Određivanje otopljenog kisika jodometrijskom metodom.....	23
3.12 Određivanje BPK	23
3.13 Određivanje KPK	24
4. REZULTATI.....	25
4.1 Prikaz rezultata.....	26

5. RASPRAVA.....	27
6. ZAKLJUČAK	29
7. LITERATURNI POPIS.....	30
8. POPIS PRILOGA.....	32

1. UVOD

Mliječna industrija je najveći onečišćivač u prehrambenoj industriji s obzirom na količinu otpadne vode koju proizvodi. Otpadnu vodu mliječne industrije karakterizira promjenjiv volumen i visoka koncentracija organskih tvari (proteini, ugljikohidrati, masti) izražena kao BPK, KPK, te visoka koncentracija dušika i fosfora te fizikalni parametri izraženi kao ukupne suspendirane krutine, boja, mutnoća, pH vrijednost i elektrovodljivost. Zbog visoke koncentracije organskog opterećenja koja nosi otpadna voda mliječne industrije, zahtjeva prethodnu obradu kako bi se spriječilo njeno štetno djelovanje na ekosustav. Budući da postupak obrade otpadne vode osim tradicionalnih procesa uključuje i nove tehnologije kao što su membranski procesi riječ je o visokim investicijskim troškovima, ali i troškovima održavanja, stoga je za male proizvođače nužno pronaći ekonomski prihvatljiviju tehnologiju koja se odlikuje visokim stupnjem učinkovitosti obrade otpadne vode. Kao jedna od metoda pokazala se fitoremedijacija, koja se kao alternativna ekološki prihvatljiva metoda prvenstveno odlikuje ekonomskom prihvatljivošću i neinvazivnošću. Fitoremedijacija se definira kao ekološki prihvatljiva tehnologija koja koristi biljke za razgradnju, asimilaciju, metabolizam ili detoksifikaciju različitih onečišćivača iz okoliša. U eksperimentalnom dijelu ispitan je fitoremedijacijski potencijal *Lemne minor* L. na modelnoj otpadnoj vodi zaostaloj nakon proizvodnje sira. (Susarla i sur. 1999.)

2. TEORIJSKI DIO

2.1 Otpadne vode

Otpadne vode su vode koje su korištene u nekom procesu gdje je narušena njihova kvaliteta zbog čega ne mogu biti ponovno korištene ili ispuštene u okoliš prije odgovarajuće obrade. Bilo koje fizičko, kemijsko ili biološko svojstvo koje utječe na prikladnost vode za ekosustav ili ljudsku uporabu je varijabla kvalitete vode, a izraz kvaliteta vode odnosi se na prikladnost vode za određenu svrhu. Kvaliteta vode je od egzistencijalnog značaja budući da život ljudi, životinja i biljaka ovisi o tome. (Boyd 2015.)

2.2 Otpadne vode mliječne industrije

Mljekarska industrija koristi značajne količine vode. Otpadne vode proizašle iz tehnoloških procesa mljekarske industrije mogu se podijeliti u tri glavne vrste: rashladne vode, otpadne vode nastale nakon čišćenja i sanitarne otpadne vode. Rashladna voda se koristi za hlađenje mlijeka i mliječnih proizvoda u posebnim hladilima ili kondenzatorima. Tijekom hlađenja nastaju pare i kondenzat koji ulazi u sastav rashladne otpadne vode. Otpadna voda nakon čišćenja nastaje prilikom pranja opreme koja je bila u kontaktu sa mliječnim proizvodima. Dodatno, u sastav otpadne vode nakon čišćenja ulaze razne nečistoće poput prolivenog mlijeka, jogurta, sirutke i sl. te različita curenja iz cijevi i voda nakon CIP-a. Navedena otpadna voda sadrži oko 90% organskih krutina koje dolaze od mlijeka i proizvodnih ostataka poput jogurta, voćnih koncentrata, komadića sira, sirutke, kreme, starter kulture i sl. Od navedenih, sirutka je zastupljena u najvećoj količini i glavni je onečišćivač mliječne industrije. Sanitarna otpadna voda uključuje vodu nakon korištenja toaleta, tuširanja, umivaonika te vodu iz kuhinje (perilica za suđe i sl.). Dodatno, nusproizvodi proizvodnog procesa poput sirutke mogu se svrstati u odvojenu vrstu otpadne vode ako se prikuplja pojedinačno. (Tsachev 1982.)

U otpadnim vodama mljekarske industrije primarno nalazimo biorazgradive organske sastojke izražene kao:

1. BPK₅ – biokemijska potrošnja kisika – određivanje koncentracije otopljenog kisika u ispitivanom uzorku vode ili otpadne vode prije i nakon pet dana pri 20°C u tami.
2. KPK – kemijska potrošnja kisika – metoda za određivanje koncentracije okidabilnih sastojaka u otpadnoj vodi, a sastojci koji se oksidiraju su organskog podrijetla → pokazatelj

onečišćenja otpadne vode organskim sastojcima.

Poznata je činjenica da otpadne vode podrijetlom iz proizvodnje sira stvaraju veću količinu onečišćenja nego proizvodnja mlijeka i fermentiranih mliječnih proizvoda. Naime KPK vrijednosti otpadne vode kod proizvodnje sira kreću se od 5000 do 15000 mg O₂/L uslijed miješanja otpadnih voda sa sirutkom, dok opterećenje koje nosi KPK iz proizvodnje mlijeka se kreće od 2500 do 6500 mg O₂/L. (Cloete i Muyima 1997.)

Tablica 1. Sastojci otpadne mliječne industrije (Glancer, Šoljan 2001.)

SASTOJCI	KONCENTRACIJA (mg/L)
Ukupna suha tvar	3000-30000
KPK – vrijednost	2500-25000
BPK – vrijednost	2000-18500
Ukupni dušik	20-120
Ukupni fosfor	5-15
Laktoza	1000-2200
Bjelančevine	80-450
Suspendirane čestice	120-450

Iz tablice 1. vidljivo je da je riječ o lako biorazgradivom onečišćenju visokog opterećenja, stoga je takvu otpadnu vodu neophodno pročistiti do stupnja koji je određen normama u Pravilniku o izmjeni i dopuni Pravilnika o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda. (Pravilnik o izmjeni i dopuni Pravilnika o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda, Narodne novine br.:27, 11.03.2015.). Ispuštanje neobrađenih voda koje nose visoke koncentracije lako razgradivog onečišćenja ima za posljedicu drastično smanjenje koncentracije kisika u vodotocima što dovodi do truljenja organskog materijala uzrokujući neugodan miris (nastaju štetni plinovi poput metana i sumporovodika). Suspendirani otpad poput koaguliranog mlijeka, čestica sira i sl. pak uzrokuje obojenje vode te se talože poput mulja i štetno djeluju na proces fotosinteze. Dodatno, otpadne vode iz mliječne industrije sadrže dušik, fosfor i kloride. Fosfor može ubrzati eutrofikaciju vode, a znak toga je pretjeran rast algi. Povećana koncentracija dušika također uzrokuje pretjeran rast algi u vodi koje dovode do zamućenja i blokiranja prolaska sunčevih zraka. Zbog blokiranja prolaska sunčevih zraka proces fotosinteze je onemogućen, a to znači nemogućnost nastajanja nusproizvoda tog

procesa, kisika. Smanjenju koncentracije otopljenog kisika dodatno doprinosi pomor nastalih algi jer bakterije koje ih razlažu koriste otopljen kisik u vodi. Kako život bez kisika nije moguć, dolazi do smanjenja biljne i životinjske raznolikosti. S druge strane, otpadna voda negativno utječe na strukturu tla, smanjuje mu plodnost te može dospjeti i u podzemne vode što je izrazito opasno budući da se ta voda koristi za piće. (Moore 2009.)

2.2.2 Sirutka

Sirutka je žućkasta tekućina nastala kao nusprodukt prilikom proizvodnje sira. Razlikuju se dvije vrste sirutke, a to su tekuća sirutka i sirutka u prahu (suha). Tekuća sirutka postoji kao slatka i kisela sirutka. Slatka sirutka se dobiva prilikom proizvodnje tvrdih sireva, a pH vrijednost joj iznosi oko 5,6. Kisela sirutka se dobiva prilikom proizvodnje svježih sireva poput kravljeg, a pH joj nije viši od 5,1.



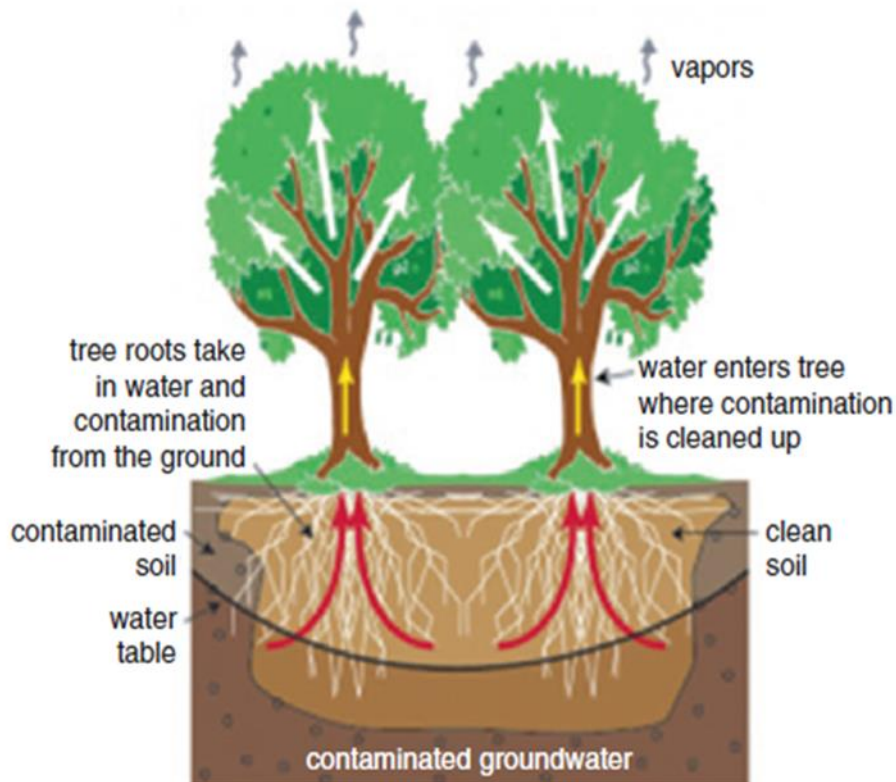
Slika 1. Prikaz sirutke, izvor: Dragica I. (2014.) <http://alternativa-zav.com/index.php/clanak/article/sirutka>, pristupljeno 15.05.2018.

Sastav sirutke ovisi o tehnološkoj proizvodnji sira i kakvoći upotrijebljenog mlijeka. Njena količina, odnosno volumen ovisi o tipu korištenog mlijeka: kravlje, ovčje, bivolje i sl. Najveći dio sirutke je voda, ugljikohidrati, većinom laktoza, proteini te masti i mineralne tvari. (Tsachev 1982.) Sirutka je visoko vrijedna namirnica kojoj se uklanjanjem vode produžuje

vijek trajanja. Otpadna voda dobivena dehidratacijom sa sobom donosi još uvijek visoke koncentracije lako razgradivog onečišćenja te ju je prije ispuštanja u prijamnike potrebno obraditi.

2.2.3 Fitoremedijacija

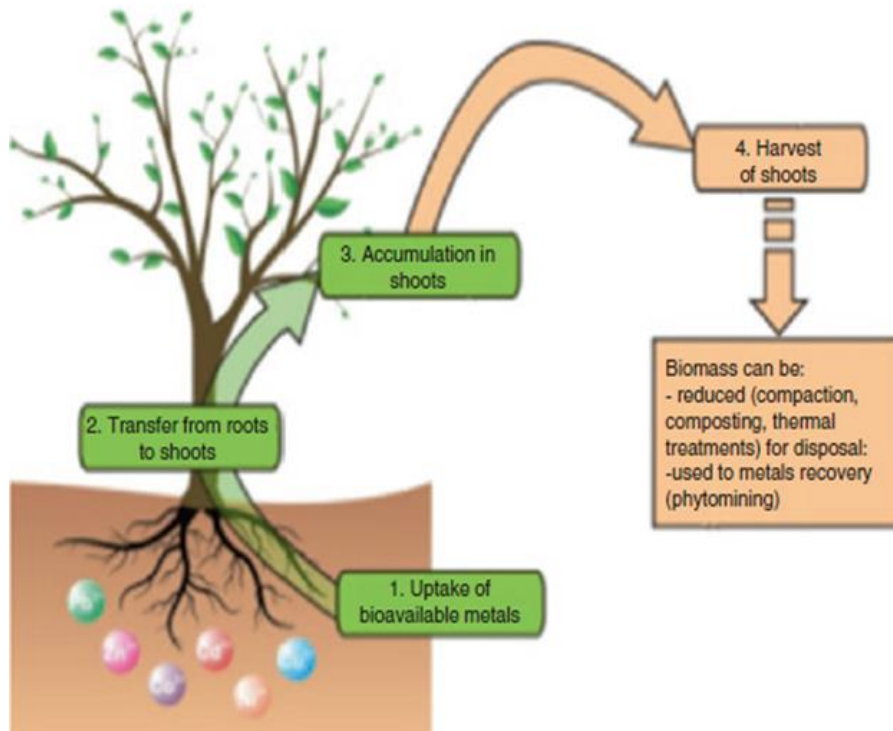
Fitoremedijacija je ekološki prihvatljiva metoda koja koristi biljke za razgradnju, asimilaciju ili detoksifikaciju različitih onečišćivača u ekosustavu. Osim biljaka, u fitoremedijaciji sudjeluju i mikroorganizmi (koji se nalaze u korijenu biljke i pomažu pri razgradnji onečišćivača) te ponekad gljive (povećavaju aktivnu površinu korijena biljke dok neke vrste biljaka ne mogu rasti i razvijati se bez njih). Kako bi proces bio uspješan od iznimne je važnosti odabrati podobnu biljku za određeni onečišćivač i onečišćeno područje. Kada je biljka odabrana, odabire se jedna od dvije strategije korištenja bilja u tu svrhu. Jedna od njih je sadnja bilja na onečišćeno područje kako bi se uklonio ciljani onečišćivač. Druga strategija je okružiti podzemlje koje je onečišćeno biljkama kako bi se spriječilo daljnje širenje onečišćivača, a to se postiže zbog formiranja hidrostatske barijere formirane od strane korijena biljke. Osim ekonomičnosti, visoke efikasnosti i ekološke prihvatljivosti još jedna prednost kod primjene ovih strategija je da ne dolazi do oštećenja tla. (Kvesitadze i sur. 2006., Ansari i sur. 2017., Öztürk i sur. 2015.)



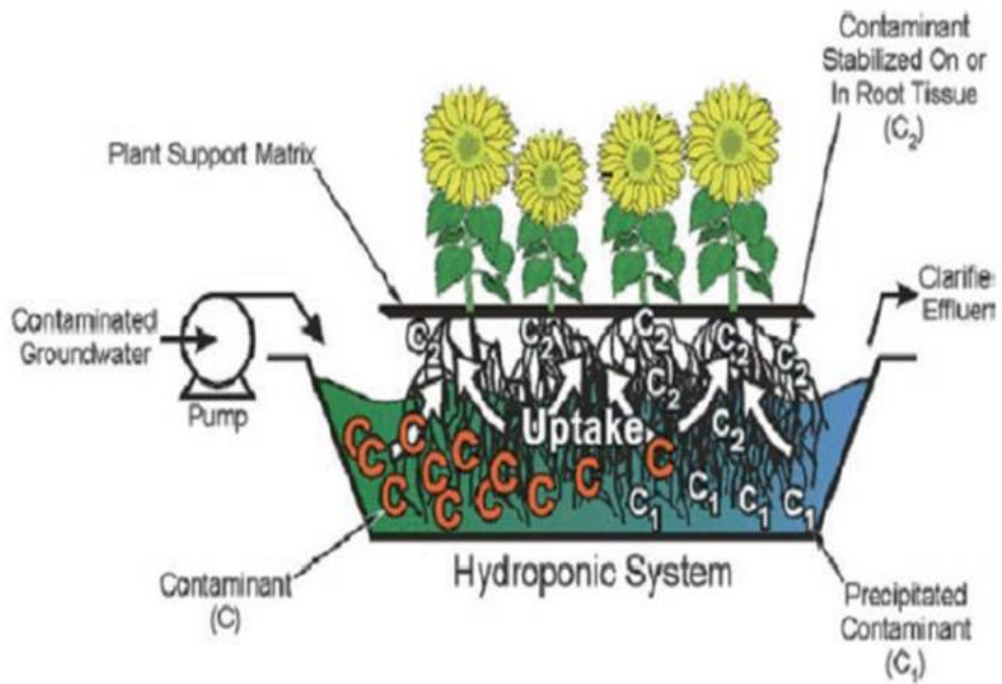
Slika 2. Mehanizam fitoremedijacije, izvor: USEPA (2000.) Introduction to phytoremediation

2.2.4 Vrste fitoremedijacije

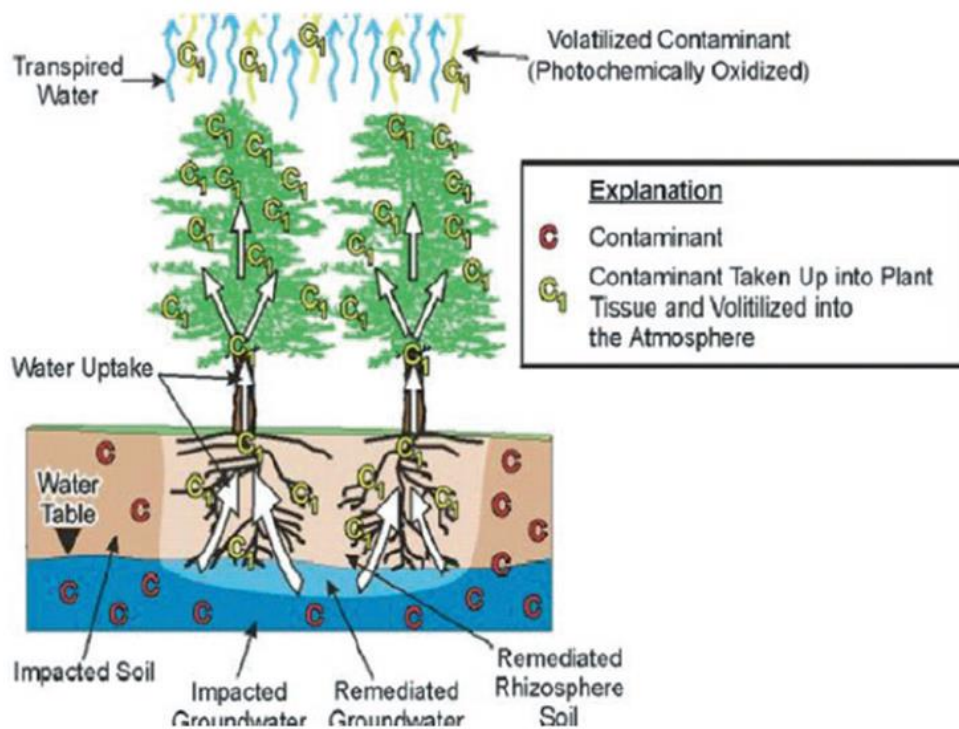
Postoji nekoliko načina pročišćavanja tla ili vode ovisno o vrsti i količini onečišćivača, mjestu koje je onečišćeno i tipu biljke. To su fitostabilizacija, fitofiltracija/rizofiltracija, fitovolatilizacija, fitoekstrakcija, fitotransformacija i fitostimulacija. Kod fitostabilizacije biljka korijenskim sustavom stabilizira onečišćivanje i sprječava njihovo otjecanje. Fitofiltracija/rizofiltracija uključuje filtriranje vode kroz korijensku masu radi uklanjanja otrovnih tvari, a otrovi se akumuliraju u korijenu. Primjenom fitovolatilizacije biljke vežu štetne tvari iz tla u sebe te ih ispuštaju u atmosferu kroz lišće. Kod fitoekstrakcije biljka procesom hiperakumulacije akumulira onečišćivače i redistribuira ih u nadzemne dijelove. Korištenjem metode fitotransformacije biljka kemijski izmjenjuje onečišćivač u netoksičnu tvar. Fitostimulacija je poznata kao rizosferna degradacija, a zasniva se na povećanju mikrobiološke aktivnosti u svrhu razgradnje onečišćivača dodavanjem određenih tvari u tlo.



Slika 3. Mehanizam fitoekstrakcije, izvor: USEPA (2000) Introduction to phytoremediation



Slika 4. Mehanizam rizofiltracije (Ensley 2000.)



Slika 5. Mehanizam fitovolatilizacije, USEPA (2000) Introduction to phytoremediation

2.2.5 Biljke za fitoremedijaciju

Kako bi se fitoremedijacija mogla provesti, potrebno je odabrati pogodnu biljku za određeni onečišćivač koji se nalazi na određenom području npr. voda ili tlo. Odabrana biljka mora zadovoljiti određene uvjete kako bi proces bio uspješan. Mora biti neinvazivna vrsta koju životinje ne vole jesti. Odabire se prema njoj sposobnosti izdvajanja onečišćenja iz okoliša, prilagođenosti na klimu, kompatibilnosti sa područjem, dubini do koje korijen prodire, brzini rasta, jednostavnosti sadnje i održavanja.

2.2.6 *Lemna minor* L.

Lemna minor L. ili vodena leća je plutajuća biljka, makrofit, široko rasprostranjena u svijetu. Egzistira na površini vode u obliku gustog filma. Jedna jedinka sadrži od jedan do četiri listića ovalnog oblika, a na svakom se nalazi korijen koji visi u vodi. Dužina korijena je cca 1 – 2 cm, a listić je 1- 8 mm dug i 0.6 – 5 mm širok. Ispunjena je zrakom što joj omogućava da pluta na vodi.



Slika 6. Vodena leća (Skillicorn i sur., 1993.)

Pripada botaničkoj obitelji Lemnaceae, klasi viših biljaka. Podnosi niske temperature zbog sposobnosti tzv. škrobnog preživljavanja. Na taj način, tijekom hladnih dana, dolazi do formiranja tzv. turiona (zimski pupoljak) koji se taloži na dno npr. bare ili močvare, gdje ostaje dok se temperatura ne povisi za normalan rast i razvoj. Odlikuje se intenzivnim rastom (vegetativno razmnožavanje), potrebno je otprilike 30-40 sati za novu biljku, može u potpunosti prekriti cijelu močvaru u nekoliko tjedana, a tome pogoduju temperature od 6°C do 33°C pri pH 5.5 – 7.5. Sposobna je ograničiti fotosintezu pa je potrebno spriječiti njeno nagomilavanje jer u suprotnom uskraćuje glavni izvor kisika i izaziva pomor vodenog svijeta.

Koristi se za pročišćavanje industrijskih otpadnih voda jer ima sposobnost vezanja nutrijenata kao što je dušik, fosfor i ugljik koje koristi za sintezu proteina. Dodatno, može vezati organske spojeve koje može direktno asimilirati u obliku ugljikohidrata i različitih aminokiselina. Sposobna je vezati i ukloniti teške metale poput olova, kadmija, žive, broma,

kositra te arsena iz ekosustava. Zbog svega navedenog vodena leća je izrazito pogodna za fitoremedijaciju. (Skillicorn i sur. 1993.)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

Materijali i metode

3.1 Kemikalije i uzorci

Indikatori: metil orange, fenolftalein, $c(\text{KCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$, $c(\text{HCl}) = 0,5 \text{ mol/l}$, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 4 \text{ mol/l}$, $c(\frac{1}{6} \text{KIO}_3) = 10 \text{ mmol/l}$, $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 10 \text{ mmol/l}$, $c(\text{MgSO}_4) = 0,1 \text{ mol/l}$, $c(\text{I}) = 0,005 \text{ mol/l}$, otopine soli: fosfati ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), manganov sulfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), kalcijev klorid (CaCl_2), željezni (III) klorid heksahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), $c(\text{NaOH}) = 0,5 \text{ mol/l}$, $c(\text{Na}_2\text{SO}_3) = 0,5 \text{ mol/l}$, standardna otopina glukoze, feroin, $c(\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{S}) = 1 \text{ mol/l}$, $c(\text{Ag}_2\text{SO}_4) = 4 \text{ mol/l}$, $c(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) = 0,004 \text{ mol/l}$, $c[(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}] = 0,12 \text{ mol/l}$, $c(\text{KC}_8\text{H}_5\text{O}_4) = 2,0824 \text{ mol/l}$, $c(\text{AgNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$, $c(\text{K}_2\text{CrO}_4) = 0,5 \text{ mol/l}$.

3.2 Instrumenti i uređaji

pH metar Hach – Lange, Njemačka, konduktometar Hach – Lange, Njemačka, Analitička vaga, Satorisus, Njemačka, inkubator Hach – Lange, Njemačka, mufolna peć, filter od staklenih vlakana, automatska bireta po Scelbahu, graduirane pipete od 1, 5, 25 ml, eksikator, alkoholni termometar, boca po Buchneru za vakuum filtraciju, boca po Winkleru od 300 ml, aparatura sa povratnim hladilom, električno kuhalo, Erlenmeyerove tikvice.

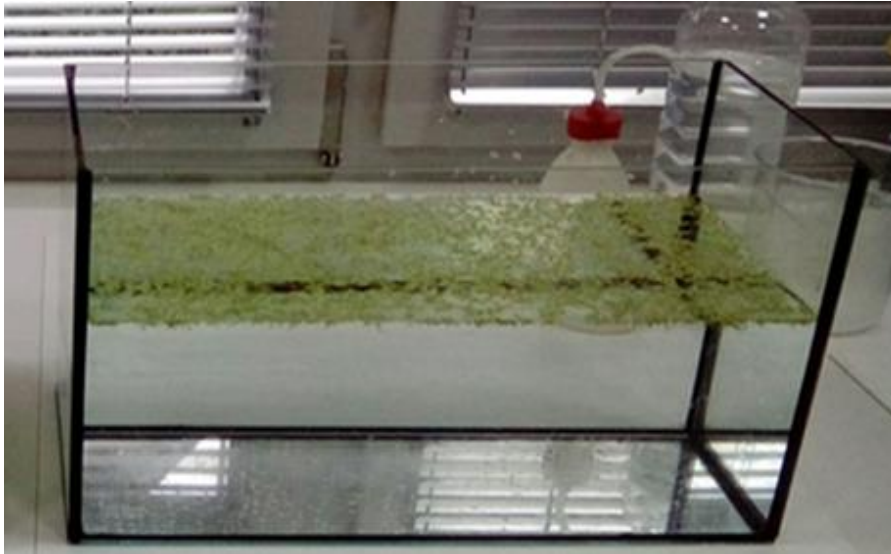
3.3 Uvjeti provođenja pokusa

Eksperimentalni dio završnog rada proveden je upotrebom akvarija (15 L), bez dodatka nutrijenata, u uvjetima produženog dana (16 sati svjetla, 8 sati mraka) pod fluorescentnom lampom ($90 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) i temperaturi od 24°C . Akvarij je bio napunjen modelnom otpadnom vodom mliječne industrije koja je simulirana razrjeđenjem sirutke razrijeđene destiliranom vodom u omjeru 1:30. U modelnu otopinu stavljeno je 50 zdravih kolonija vodene leće sa 2-3 lista. Pokus je proveden u trajanju od 7 dana.

Pokusi su provedeni u tri replike te su uključivali kontrolne probe:

A) *Lemna minor* L., postavljena u samo vodu

B) samo razrijeđenu sirutku bez biljke



Slika 7. Prikaz akvarija sa uzorkom i vodenom lećom (Autor: Cindrić Ines)

3.4 Postupci za određivanje rasta biljke

A) Izgled biljke određen je promatranjem boje biljke tijekom sedam dana, dok je duljina korijena mjerena izravno korištenjem ravnala uzimajući u obzir najdulji izdanak.

B) Prirast broja biljaka određen je brojenjem jedinki kroz period od 7 dana. Dobiveni podatci uvršteni su u sljedeći izraz (Ensley i sur. 1994):

$$\text{Prirast broja biljaka} = \frac{\text{broj biljaka}_{n\text{-tog dana}} - \text{broj biljaka}_{1.\text{ dana}}}{\text{broj biljaka}_{1.\text{ dana}}}$$

Pri čemu je n – broj dana određivanja

C) Prirast mase svježe tvari određen je vaganjem svježih biljaka sa točnošću na 4 decimale.

Prirast mase svježe tvari računat je izrazom (Ensley i sur. 1994):

$$\text{Prirast mase biljaka (mg)} = \frac{\text{masa svježe tvari}_{7.\text{ dana}} - \text{masa svježe tvari}_{1.\text{ dana}}}{\text{masa svježe tvari}_{1.\text{ dana}}}$$

3.5 Metode za analizu vode

3.6 Određivanje pH i temperature

HRN ISO 105230:1998 en

Mjerenju pH vrijednosti prethodi kalibracija uređaja puferom poznate pH vrijednosti. Kada je uređaj kalibriran, elektroda se ispire destiliranom vodom te se uranja u uzorak. Na ekranu uređaja uz pH piše i temperatura uzorka. Mjerenje se obavlja dva puta, a pH vrijednost se izražava na dvije decimale.

3.7 Određivanje elektrovodljivosti

ISO 7888:1985

Određivanje elektrovodljivosti provodi se uranjanjem elektrode u uzorak i očitavanjem vrijednosti sa instrumenta. Za precizno određivanje, mjerenje se provodi pri temperaturi uzorka $25^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Rezultat se izražava u mS/m.

3.8 Određivanje alkaliteta

HRN ISO 105230:1998 en

Iz utroška HCl prilikom titracije računa se „p“ i „m“ vrijednost. U Erlenmeyerovu tikvicu otpipetira se 100 ml uzorka, dodaje 1-2 kapi metil – oranža te se titrira sa HCl do prvog prijelaza boje u narančastu. Dobivena vrijednost predstavlja „m“ vrijednost. „p“ vrijednost se dobiva na isti način samo što se umjesto metil – oranža koristi fenolftalein. Korištena formula za izračun vrijednosti:

$$„m“ = \frac{V(\text{HCl}) - C(\text{HCl})}{V(\text{uzorka})}$$

$$„p“ = \frac{V(\text{HCl}) - C(\text{HCl})}{V(\text{uzorka})}$$

Pri čemu je:

$V(\text{HCl})$ – utrošak koncentracije

$V(\text{uzorka})$ – volumen uzorka

$c(\text{HCl})$ – koncentracija klorovodične kiseline

3.9 Određivanje taloživih tvari

HRN ISO 105230:1998 en

1000 ml uzorka se ulijeva u Imhoffov lijevak. Nakon određenog vremena očitava se volumen istaloženih tvari i zapisuje.

3.10 Određivanje suspendiranih tvari cijedenjem kroz filter od staklenih vlaknaca

HRN ISO 11923:1998 en (ISO 11923:1997)

500 ml uzorka sirutke se filtrira preko prethodno izvaganog filtra od staklenih vlaknaca korištenjem boce po Büchneru za vakuum filtraciju. Nakon filtracije, filter se suši na 105°C i važe. Dobiveni rezultat se izražava u mg/l. Suspendirana tvar se računa iz jednadžbe:

$$\text{suspendirana tvar} = \frac{(A-B)}{V}$$

gdje:

A - predstavlja masu filtra nakon filtriranja u mg

B - predstavlja masu filtra prije filtracije u mg

V - volumen uzorka

3.11 Određivanje otopljenog kisika jodometrijskom metodom

HR EN 25813:1998 (ISO 5813:1983; EN 25813:1992)

Specijalnu bocu po Winkleru napuniti preko crijeva koje seže do dna boce i pustiti da se istjecanjem promijene dva do tri volumena boce, sve dok u boci ne bude mjehurića. Odmah zatim se doda 1 ml otopine mangan (II) sulfata i 2 ml alkalnog reagensa jodidnog azida. Po završetku boca se zatvara pazeći da ne ostane mjehurić zraka. Boca se promućka okretanjem gore dolje te se ostavi oko pet minuta da se nastali talog slegne. Uzorak se zatim ponovno promućka tako da se homogenizira. Ovim postupkom vrši se vezanje kisika u uzorku. Nakon toga, polako se doda 1,5 mL sulfatne kiseline te se boca zatvara i mućka dok se talog ne otopi. Alikvotni dio uzorka se prenese u Erlenmeyerovu tikvicu i titrira otopinom natrijevog tiosulfata, koristeći otopinu škroba kao indikator koji se dodaje pri završetku titracije. Količina otopljenog kisika izražena u miligramima kisika po litri, računa se prema jednadžbi:

$$\gamma(\text{O}_2) = \frac{M \cdot V_2 \cdot C \cdot f}{4 \cdot V_1}$$

pri čemu je:

M – relativna masa kisika

V_1 – volumen u ml uzorka

V_2 – volumen u ml otopine natrijeva tiosulfata korištenog za titraciju uzorka ili alikvotnog dijela

c – koncentracija otopine natrijeva tiosulfata u mmol/L

f – se računa iz jednadžbe $f = \frac{V_0}{V_0 \cdot V'}$ gdje je

V_0 – volumen Winklerove boce u ml

V' – suma volumena otopine mangan (II) sulfata (1 ml) i alkalnog reagensa jodidnog azida (2 ml)

3.12 Određivanje BPK

HRN ISO 5815:1998 en (ISO 5815:1989)

BPK se određuje bez nitrifikacijske suspenzije, sa nitrifikacijskom suspenzijom te se paralelno radi i slijepa proba. Određivanje BPK bez nitrifikacijske suspenzije – temperatura uzorka se podesi na 20°C i dobro promućka da se izbjegne moguća saturacija kisikom. Otopina za nacjepljivanje se ulije u bocu po Winkleru, te se lagano promješa da se uklone mjehurići zraka. Određivanje BPK sa nitrifikacijskom suspenzijom – temperatura uzorka se podesi na 20°C i promućka. Poznati volumen se ulije u bocu po Winkleru, doda se 2 ml otopine alitiouree po litri razrijeđenog uzorka te se nadopuni do oznake otopinom za nacjepljivanje. Slijepa proba se radi paralelno sa uzorkom koristeći se otopinom za nacjepljivanje. Svakom od pripremljenih otopina pomoću gumenog crijeva se napuni boca po Winkleru uz istjecanje vode. Boce se podijele u dvije serije tako da svaki uzorak i slijepa proba budu u pojedinoj seriji. Prva serija se inkubira na tamnom mjestu pet dana i na temperaturi 20°C ± 1°C. u drugoj seriji se odmah odredi koncentracija otopljenog kisika u svakom uzorku i slijepoj probi, koristeći jodometrijsku metodu. Nakon inkubacije od pet dana, koncentraciju otopljenog kisika u prvoj seriji odrediti isto jodometrijskom metodom.

Biološka potrošnja kisika nakon pet računa se pomoću slijedeće jednadžbe:

$$\text{BPK}_5 = [(C_1 - C_2) - \frac{V_t - V_e}{V_t} \cdot (C_3 - C_4)] \cdot \frac{V_t}{V_e} \text{ gdje je:}$$

C_1 – koncentracija otopljenog kisika u uzorku u mg O₂/l

C_2 – koncentracija otopljenog kisika i za isti uzorak nakon pet dana u mg O₂/l

C_3 – koncentracija otopljenog kisika za slijepu probu u mg O₂/l

C_4 – koncentracija otopljenog kisika za slijepu probu nakon pet dana u mg O₂/l

V_e – volumen uzorka vode korišten za pripravu testiranih otopina u ml

V_t – ukupni volumen testirane otopine u mL

3.13 Određivanje KPK

HRN ISO 105230:1998 en

U tikvicu aparature prenese se 10 ml uzorka te se doda 5 ml otopine kalijeva dikromata. Dodaju se kuglice za vrenje i promućka. Zatim se lagano doda 15 ml otopine srebrni sulfat – sulfatna kiselina i odmah se pričvrsti tikvica na aparaturu sa povratnim hladilom. Otopina se zagrijava do vrenja i lagano kuha na temperaturi vrenja 110 minuta. Tikvica se zatim ohladi hladnom vodom na oko 60°C, a hladilo se ispere malim volumenom vode. Hladilo se potom ukloni i otopina se razrijedi do 75 ml te se hladi na sobnu temperaturu. Količina nereduciranog dikromata odredi se tiracijom otopinom amonijeva (II) sulfata uz 2 do 3 kapi feroina kao indikatora. Promjena boje predstavlja završnu točku titracije. Paralelno se određuje KPK vrijednost za slijepu probu, pri čemu se umjesto uzorka uzme 10 ml destilirane vode.

4. REZULTATI

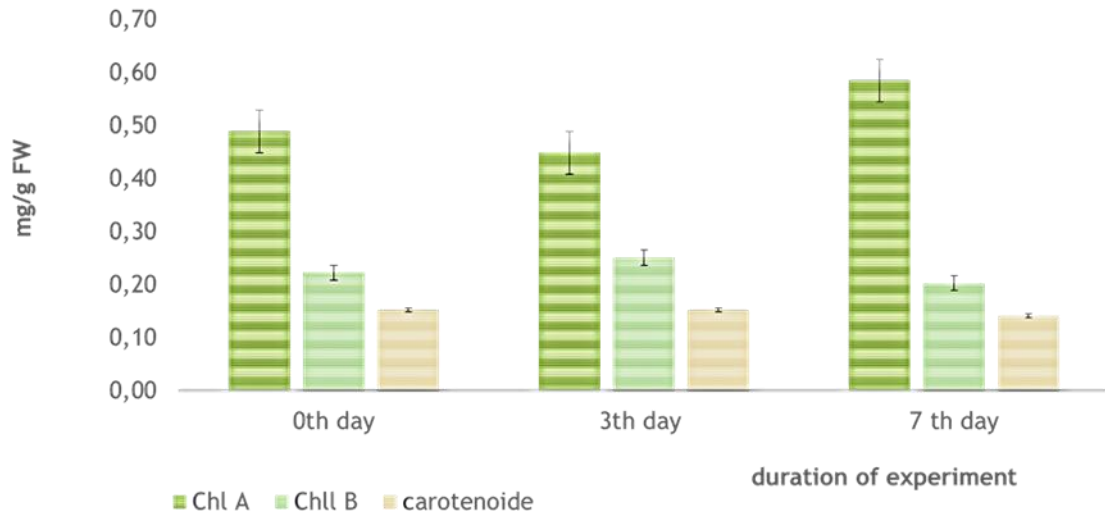
4.1 Prikaz rezultata

Tablica 2. Rast biljke nakon primjene uvjeta

Parametri	7-i dan
Rast biljke	1,7
Vlažna masa (mg)	0,75
Dužina korijena (mm)	2,2

Tablica 3. Fizikalno kemijski parametri onečišćivača prije i nakon fitoremedijacijskog tretmana

Parametri	0 dan (sirov uzorak, sirutka)	7-i dan
Temperatura (°C)	24,50	25,10
pH	5,67	6,74
Konduktivitet (μ S/cm)	1,16	0,42
Otopljeni kisik (mg/l)	1,94	4,27
Alkalitet (mg/l) CaCO ₃	850,00	410,00
Ukupno suspendirane tvari (mg/l)	2.300,00	874,00
BPK (mg/l)	1.497,00	89,82
KPK (mg/l)	2.170,00	195,30
Kloridi (mg/l)	177,00	56,64



Slika 8. Grafički prikaz koncentracije klorofila tijekom trajanja fitoremedijacije

5. RASPRAVA

Cilj ovog rada je prikazati fitoremedijacijski potencijal *Lemne minor* L., za obradu otpadne vode mliječne industrije. Prikupljeni uzorak periodički je analiziran u laboratorijskim uvjetima u trajanju od sedam dana kako bi se prikazale promjene fizikalno kemijskih svojstava vode. Fizikalno – kemijska svojstva analiziranih uzorka uključuju promjene u pH vrijednosti, elektrovodljivosti, alkalitetu, suspendiranim tvarima, BPK i KPK vrijednostima te kloridima. Postotak promjene (povećanje / smanjenje) fizikalno – kemijskih svojstava između nultog i sedmog dana je također izračunat.

Iz tablice 3. vidljivo je da pH vrijednost korištene modelne otopine prije obrade fitoremedijacijom bio blago kiseo i iznosio je 5,67. Nakon tretmana (sedmi dan), pH se povisio na skoro neutralnu vrijednost i iznosio je 6,74. Postotna promjena, porast pH vrijednosti iznosi 18,8 %. Može se protumačiti da do porasta pH vrijednosti dolazi zbog apsorpcije nutrijenata i ostalih soli od strane biljke ili istovremenog otpuštanja H⁺ iona i unosa metalnih iona jer suspendirane krutine u otpadnoj vodi mogu sadržavati različite tipove onečišćivača poput nutrijenata, teških metala i organskih komponenata. Maheswari i Murugesan [13]. Dipu i suradnici [8] također su dokazali porast pH vrijednosti koristeći vodenu leću za tretman otpadne vode mliječne industrije. Elektrovodljivost pokazuje pad vrijednosti sa početnih 1,16 μS/cm na 0,42 μS/cm. Postotna promjena, pad elektrovodljivosti iznosi 63,79 %. Kumar i suradnici [11] su također zabilježili pad elektrovodljivosti, ali u njihovom radu je korištena *Pistia* sp., a postotna promjena iznosi 129,54 % nakon 12 dana. Trivedi i Gudekar [9] također bilježe pad elektrovodljivosti nakon četiri dana, postotna promjena iznosi 55,71 %, ali su koristili *Eichhornia* sp., dok Mahmood radeći sa *Eichhornia* sp., bilježi pad od 55,71 %, ali tek nakon 12 dana tretmana. Ako se uzme u obzir da je njihov uzorak na samom početku sadržavao manju koncentraciju suspendiranih tvari te je koncentracija BPK bila niža, može se reći da vodena leća ima bolji fitoremedijacijski potencijal za tretman otpadne vode mliječne industrije. Koncentracija ukupno suspendiranih tvari se često koristi za izražavanje stupnja onečišćenja ili količine nečistoća prisutnih u otpadnoj vodi. U ovom istraživanju je zapažena visoka koncentracija ukupno suspendiranih tvari u sirutki, ali je zabilježen velik pad sa početnih 2300 mg/L na 874 mg/L. Postotna promjena, pad iznosi 62 %. Rezultat se poklapa sa istraživanjem od Kumar A. i suradnici [10] koji iznosi 59,4% gdje je također korištena vodena leća. Za BPK i KPK vrijednost je zabilježena visoka koncentracija, ali i veliki pad. BPK sirutke iznosi 1497 mg/L, a na kraju tretmana, sedmi dan, iznosi 89,82 mg/L. Postotna promjena, pad za BPK iznosi 94%. KPK

sirotke prije tretmana je iznosio 2170 mg/L, a na kraju tretmana 195,30 mg/L, a postotna promjena, pad za KPK iznosi 91%. Smanjenje koncentracije BPK i KPK vrijednosti rezultira povećanjem koncentracije otopljenog kisika sa početnih 1,94 mg/L, a na kraju tretmana iznosi 4,27 mg/L. Postotna promjena, povećanje koncentracije kisika iznosi 55%. Deshumkh i suradnici [5] su također zabilježili pad koncentracije BPK i KPK vrijednosti, ali su koristili vodeni zumbul *Eichhornia crassipes*. za isto istraživanje. Postotna vrijednost, pad za KPK iznosi 75%, a za BPK 85%, ali nakon 15 dana te se sa sigurnošću može reći da vodena leća ima veću i bržu sposobnost smanjena BPK i KPK vrijednosti otpadne vode i da je proces brži. Smanjenje BPK i KPK vrijednosti pripisuje se mnogim razlozima. Vodene biljke obilježava jedinstvena karakteristika prijenosa kisika iz gornjeg dijela biljke u uronjeni dio biljke. Na taj način se povećava koncentracija otopljenog kisika u otpadnoj vodi. Hartman i Eldowney [10]. Prijenos kisika od strane vodene biljke u zonu biljnog korijenja ima značajnu ulogu u poticanju rasta aerobnih bakterija u zoni korijenja i potiče razgradnju ugljika otpadne vode. Reddy i Debusk [15]. Štoviše, visoka koncentracija suspendiranih krutina u uzorku može povećati mikrobiološku aktivnost kao dodatni supstrat na korijenima biljke.

6. ZAKLJUČAK

Fitoremedijacijski potencijal vodene leće pokazao se vrlo uspješan za tretman otpadne vode mliječne industrije. Iz rezultata se može zaključiti da primjenom vodene leće na otpadnu vodu mliječne industrije se poboljšava njena kvaliteta te se smanjuju vrijednosti fizikalno kemijskih parametara na željene vrijednosti. Rezultati pokazuju pomak pH vrijednosti na neutralnu razinu što je esencijalno za ravnotežu u ekosustavu. Značajnu ulogu ima u smanjivanju KPK vrijednosti. Zapaženo je smanjenje vrijednosti od 91% u sedam dana. Također je zabilježena vrijednost, pad elektrovodljivosti koji iznosi 63,79%, ukupno suspendirane tvari 62% i BPK vrijednost 89,82% dok je zabilježen porast koncentracije otopljenog kisika i iznosi 55%. Međutim, za optimalne rezultate potrebno je prvo obraditi otpadnu vodu prije fitoremedijacijskog tretmana, a jedini nedostatak koji bi se mogao navesti je vrijeme trajanja postupka.

7. LITERATURNI POPIS

1. ANSARI A.A., GILL S., LANZA G., GILLS R., NEWMAN L. (2017.): Phytoremediation, management of environmental contaminants, volume 5., Springer, str. 264-269, 489-491
2. ASHRAF M., OZTURK M., AHMAD S.(2010.): Plant adaptation and phytoremediation, Springer, str. 13-31, 184-185, 358-364
3. BOYD C. (2015.): Water quality, Springer, str. 13-14
4. CLOETE T. E., MUYIMA N. Y. O. (1997.): The key to the desing of biological wastewater treatment systems, International association on water quality, Cambridge
5. DESHUMKH B. N., JADHAV M. V., RAHANE V. R. (2015.): Use of phytoremediation for treatment of dairy industry waste water for analysis of COD and BOD str. 1-5
6. DRAGICA I. (2014.): Sirutka, <http://alternativa-za-vas-.com/index.php/clanak/article/sirutka>, pristupljeno dana: 15.05.2018.
7. EPA (2009.): Nutrient control desing manual, Environmental protection agency, Ohio, str. 18-21
8. GNANA T. S., ANJU A., DIPU S. (2011): Phytoremediation of dairy effluent by constructed wetland technology str. 263-277
9. GUDEKAR R., TRIVEDI S. (1987.): Treatment of textile industry waste using water hyacinth str. 103-106
10. HARTMAN M., ELDFOWNEY W. (1993.): Pollution, ecology and biotechnology str. 174-189
11. KUMAR A., DIPU S. (2010.): Phytoremediation of dairy effluent by constructed wetlands technology using wetland macrophytes str. 90-99
12. KVESITADZE G., KHATISASHVILI G., SADUNISHVILI T., RAMSDEN J. (2006.): Biochemical mechanisms of detoxification in higher plants, Springer, str. 9-41, 196-197
13. MAHESWARI S., MURUGESAN A. G. (2009.): Biosorption of as from aqueous solution using *Aspergillus fumigatus* isolated from arsenic contaminated site str. 294-301

14. MAHMOOD Q., ZHENG P., ISLAM E. HAYAT Y. (2005.): Lab scale studies on water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) for bio treatment of textile wastewater str. 83-88
15. REDDY K., DEBUSK T. (1987.): Utilization of aquatic plants in water pollution control str. 61-79
16. SKILLICORN P., SPIRA W., JOURNEY W. (1993.): Duckweed aquaculture str. 13-20
17. SUSARLA S., MEDINA V.F., MCCUTCHEON S. C. (2002.): Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination str. 647-658
18. TSACHEV T. (1982.): Dairy industry wastewater treatment in industrial wastewater treatment, State publishing house technique str. 239–241
19. HRN ISO 105230:1998 en – Analiza odpadne vode

8. POPIS PRILOGA

8.1 Popis slika

Slika 1. Prikaz sirutke	14
Slika 2. Mehanizam fitoremedijacije	16
Slika 3. Mehanizam fitoekstrakcije	17
Slika 4. Mehanizam rizofiltracije.....	17
Slika 5. Mehanizam fitovolatizacije	18
Slika 6. Vodena leća	19
Slika 7. Prikaz akvarija sa uzorkom i vodenom lećom.....	22
Slika 8. Grafički prikaz koncentracije klorofila tijekom trajanja fitoremedijacije	30

8.2 Popis tablica

Tablica 1. Sastojci otpadne vode mliječne industrije	12
Tablica 2. Rast biljke nakon primjene uvjeta	29
Tablica 3. Fizikalno kemijski parametri onečišćivača prije i nakon fitoremedijacije.....	29