UTJECAJ KONCENTRACIJE DIGESTATA U HRANJIVOJ OTOPINI NA PRINOS I KVALITETU VODENE LEĆE U SVRHU PROIZVODNJE BIOPLINA

Matošević, Damir

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:
Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:122978

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Image not found or type unknown

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Damir Matošević, dipl. ing.

UTJECAJ KONCENTRACIJE DIGESTATA U HRANJIVOJ OTOPINI NA PRINOS I KVALITETU VODENE LEĆE U SVRHU PROIZVODNJE BIOPLINA

DOKTORSKA DISERTACIJA

Osijek, 2022.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Damir Matošević, dipl. ing.

UTJECAJ KONCENTRACIJE DIGESTATA U HRANJIVOJ OTOPINI NA PRINOS I KVALITETU VODENE LEĆE U SVRHU PROIZVODNJE BIOPLINA

Doktorska disertacija

Osijek, 2022.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Damir Matošević, dipl. ing.

UTJECAJ KONCENTRACIJE DIGESTATA U HRANJIVOJ OTOPINI NA PRINOS I KVALITETU VODENE LEĆE U SVRHU PROIZVODNJE BIOPLINA

Doktorska disertacija

Mentor: prof. dr. sc. Davor Kralik
Komentor: prof. dr. sc. Irena Rapčan

Povjerenstvo za ocjenu:

1. **dr. sc. Goran Heffer, redoviti profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, predsjednik**
2. **dr. sc. Ivan Plaščak, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član**
3. **dr. sc. Slavko Rupčić, redoviti profesor Fakulteta elektrotehnike, računarstva i informacijskih tehnologija Osijek, član**

Osijek, 2022.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Damir Matošević, dipl. ing.

UTJECAJ KONCENTRACIJE DIGESTATA U HRANJIVOJ OTOPINI NA PRINOS I KVALITETU VODENE LEĆE U SVRHU PROIZVODNJE BIOPLINA

Doktorska disertacija

Mentor: prof. dr. sc. Davor Kralik
Komentor: prof. dr. sc. Irena Rapčan

Javna obrana doktorske disertacije održana je 17. ožujka 2022. godine pred Povjerenstvom za obranu:

1. **dr. sc. Goran Heffer, redoviti profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, predsjednik**
2. **dr. sc. Ivan Plaščak, izvanredni profesor Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, član**
3. **dr. sc. Slavko Rupčić, redoviti profesor Fakulteta elektrotehnike, računarstva i informacijskih tehnologija Osijek, član**

Osijek, 2022.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku **Doktorska disertacija**

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Poslijediplomski sveučilišni (doktorski) studij: Poljoprivredne znanosti
Smjer: Tehnički sustavi u poljoprivredi

UDK:
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Poljoprivreda
Grana:

UTJECAJ KONCENTRACIJE DIGESTATA U HRANJIVOJ OTOPINI NA PRINOS I KVALITETU VODENE LEĆE U SVRHU PROIZVODNJE BIOPLINA

Damir Matošević, dipl. ing.

Doktorska disertacija je izrađena na: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: dr. sc. Davor Kralik, redoviti profesor, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Komentorica: dr. sc. Irena Rapčan, redovita profesorica, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Sažetak doktorske disertacije:

Vodena leća je široko rasprostranjena vrsta sitnih slobodno plivajućih kritosjemenjača, čiji je tipičan predstavnik velika vodena leća (*Spirodela polyrhiza*). Česta je na vodenim površinama kontinentalne Hrvatske, razmnožava se vegetativno i spolno te vrlo brzo povećava biomasu, pa je dobra sirovina za proizvodnju bioplina. Primarni cilj istraživanja je utvrditi mogućnosti kontinuiranog uzgoja velike vodene leće na različitim koncentracijama digestata s ciljem proizvodnje bioplina. Sekundarni cilj je utvrditi zavisnost između različitih koncentracija digestata korištenih za proizvodnju zelene mase vodene leće te kvantitete i kvalitete bioplina dobivenog kroz postupak anaerobne digestije pri termofilnim uvjetima. Pokusima su potvrđene postavljene hipoteze da će koncentracija digestata u hranjivoj otopini utjecati na prinos zelene mase različitih vodenih leća, da se vodene leće mogu kontinuirano uzgajati na otopini digestata i da koncentracija digestata utječe na proizvodnju bioplina i metana. Vodene leće se smatraju poželjnom sirovinom za proizvodnju bioplina, jer usvajaju nitrate iz poljoprivredne proizvodnje, koji zagađuju okoliš, te zbog svoje sposobnosti rasta u eutrofnim uvjetima. Uzgoj ovih biljaka i proizvodnja bioplina vjerojatno bi smanjili iskorištavanje obradivih površina za uzgoj različitih energetskih biljaka te pridonijeti zaštiti okoliša.

Broj stranica: 151
Broj slika: 45
Broj tablica: 46
Broj grafikona: 34
Broj literaturnih navoda: 157
Jezik izvornika: hrvatski
Ključne riječi: vodena leća, digestat, anaerobna digestija, bioplin
Datum obrane: 17.03.2022.

Povjerenstvo za obranu:
1. prof. dr. sc. Goran Heffer - predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Ivan Plaščak - član
3. prof. dr. sc. Slavko Rupčić - član
4. doc. dr. sc. Drago Kraljević – zamjenski član

Rad je pohranjen u: Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici Zagreb, Ul. Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb; Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici Osijek, Europska avenija 24, Osijek; Sveučilištu Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Trg sv. Trojstva 3, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek **PhD thesis**

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
Postgraduate university study: Agricultural scines
Course: Technical systems in agriculture

UDK:
Scientific Area: Biotechnical Sciences
Scientific Field: Agronomy
Branch:

INFLUENCE OF DIGESTATE CONCENTRATION IN NUTRIENT SOLUTION TO THE YIELD AND THE QUALITY OF WATER LENS FOR THE PURPOSE OF BIOGAS PRODUCTION

Damir Matošević, dipl. ing.

Thesis performed at: Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, J. J. Strossmayer University of Osijek
Supervisor: Davor Kralik, PhD, Full Professor, Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek, J. J. Strossmayer University of Osijek
Co-supervisor: Irena Rapčan, PhD, Full Professor, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, J. J. Strossmayer University of Osijek

Summary

Duckweeds are a widespread species of small free-floating angiosperms, whose typical representative is the large duckweed (*Spirodela polyrhiza*). It is common on the water surfaces of continental Croatia, reproduces vegetatively and sexually and increases biomass very quickly, so it is a good raw material for biogas production. The primary goal of the research is to determine the possibilities of continuous cultivation of large duckweed at different concentrations of digestate with the aim of biogas production. The secondary goal is to determine the relationship between different concentrations of digestate used for the production of green mass of duckweed and the quantity and quality of biogas obtained through the process of anaerobic digestion under thermophilic conditions. Experiments have confirmed the hypotheses that the concentration of digestate in the nutrient solution will affect the green mass yield of different duckweeds, that duckweeds can be continuously cultivated in digestate solution and that the concentration of digestate affects biogas and methane production. Duckweeds are considered a desirable raw material for biogas production because they absorb nitrates from agricultural production, which pollute the environment, and because of their ability to grow in eutrophic conditions. The cultivation of these plants and the production of biogas would probably reduce the utilization of arable land for the cultivation of various energy plants and contribute to environmental protection.

Number of pages: 151
Number of figures: 45
Number of tables: 46
Number of graph: 34
Number of references: 157
Original in: Croatian

Key words: duckweeds, digestate, anaerobic digestion, biogas
Date of the thesis defense: 17.03.2022.

Reviewers:
1. Professor Goran Heffer, PhD, president
2. Associate professor Ivan Plaščak, PhD, member
3. Professor Slavko Rupčić, PhD, member
4. Docent Drago Kraljević, PhD, alternate member
Thesis deposited in: National and University Library in Zagreb, Ul. Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb; City and University Library of Osijek, Europska avenija 24, Osijek; Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Trg sv. Trojstva 3, Osijek.

Zahvaljujem se mentoru prof.dr.sc. Davoru Kraliku i komentorici prof. dr.sc. Ireni Rapčan na poticaju i podršci u realizaciji provedbe istraživanja te na pomoći i savjetima u izradi doktorske disertacije.

Također se zahvaljujem Dariji Jovičić, univ. spec. i Dunji Čeple, mag.ing. na stručnoj pomoći prilikom izvođenja laboratorijskih istraživanja.

Veliko hvala na nesebičnoj pomoći u savjetima i financiranju kompletnog istraživanja i školovanja upravi Vibrobetona d.o.o. i obitelji Kuterovac.

PREDGOVOR

Na početku ovoga rada imam potrebu objasniti iz kojeg se razloga netko, tko je u građevinarstvu i logistici pri građevinarstvu proveo 25 godina i izgradio relativno uspješnu karijeru, odluči na poslijediplomski sveučilišni studij pri Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek i još pri tome odabere temu „Utjecaj različitih koncentracija digestata u hranjivoj otopini na prinos i kvalitetu različitih vrsta vodene leće u svrhu proizvodnje bioplina“.

Sve je počelo gospodarskom krizom koja se u Hrvatsku prelila 2009. i značajno pogodila sektor građevinarstva te sve tvrtke iz tog sektora prisilila da traže nova tržišta i nove proizvode. U isto vrijeme pokrenuo se trend projektiranja bioplinskih postrojenja u Hrvatskoj koji je u prvoj fazi bio vrlo ambiciozan i najavljivao izgradnju više od 100 postrojenja od 1 MW (Ministarstvo gospodarstva, Nacionalni akcijski plan za obnovljive izvore energije do 2020. godine, 2010.), većim dijelom u Slavoniji. Potaknuti najavljenom ekspanzijom u navedenom sektoru, istraživali smo tržište sa željom da usvojimo tehnologiju za izradu montažnih armiranobetonskih bazena za potrebe bioplinskih postrojenja. U tom kontekstu, uspostavili smo niz kontakta s proizvođačima opreme za bioplinska postrojenja i s potencijalnim investitorima. Nažalost, dobar dio investitora je odustao od investicija, jednim djelom zbog birokracije, ali većim djelom zbog nemogućnosti ugovaranja dobave sirovine po zagarantiranim cijenama.

Potaknut tom problematikom, u jednom trenutku, pažnju mi privlači vodena leća koja u ljetnim mjesecima u potpunosti prekriva rijeku Bosut i praktično predstavlja veliku količinu besplatne sirovine. Od tada počinje moj interes za vodenu leću i njezin potencijal u proizvodnji bioplina. U početku isključivo na poduzetničkoj razini, kasnije na poticaj prof. Davora Kralika i na znanstvenoj razini, a sada najvećim dijelom kao osobni izazov.

Iskreno se nadam da moja istraživanja neće ostati mrtvo slovo na papiru i da će ipak jednoga dana zaživjeti ideja eksploatacije vodene leće kao sirovine za proizvodnju bioplina u našim krajevima. Moja vizija je izgradnja bioplinskog postrojenja koje bi kao sirovinu koristilo vodenu leću, djelomično prikupljenu s Bosuta, a djelomično uzgojenu u okviru bioplinskog postrojenja.

U ovome trenutku, izgradnja takvoga postrojenja nije održiva zbog nemogućnosti dobivanja statusa povlaštenog proizvođača električne energije, a poduzeća s postojećim bioplinskim postrojenjima ne mogu se prijaviti na natječaje za projekte financirane iz programa zaštite voda i okoliša u kojima bi eksploatacija vodene leće bila sastavni dio (Program LIFE 2020., https://ec.europa.eu/easme/en/section/life/calls-proposals). Za očekivati je da će se zakonodavni okvir prilagoditi situaciji na tržištu te omogućiti realizaciju ovakvih i sličnih projekata.

SADRŽAJ

1. UVOD 1

1.1. PREGLED LITERATURE 5

1.1.1. Vodene leće 5

1.1.2. Taksonomija i morfologija vodenih leća 5

1.1.2.1. Rod *Lemna* 6

1.1.2.2. Rod *Landoltia* 7

1.1.2.3. Rod *Spirodela* 7

1.1.2.4. Rod *Wolffia* 7

1.1.2.5. Rod *Wolffiella* 8

1.1.3. Morfologija i razmnožavanje vodenih leća 9

1.1.4. Stanište vodenih leća 10

1.1.5. Uvjeti za rast vodenih leća 11

1.1.6. Koncentracija minerala u vodenim lećama 12

1.1.7. Kemijski sastav vodenih leća 13

1.1.8. Prinosi suhe tvari vodenih leća 14

1.1.9. Usporedba vodene leće s drugim energetskim biljkama 16

1.1.10. Tehnološki procesi pretvorbe biomase u energiju 17

1.1.10.1. Proces anaerobne digestije 18

1.1.10.2. Vrste supstrata za proizvodnju bioplina 19

1.1.11. Dosadašnja istraživanja 20

1.1.11.1. Istraživanja svojstava i optimalnih uvjeta rasta vodenih leća 21

1.1.11.2. Istraživanja vodenih leća u svrhu proizvodnje hrane ili krmiva 24

1.1.11.3. Istraživanja vodenih leća u svrhu smanjenja onečišćenja otpadnih voda 26

1.1.11.4. Istraživanja vodenih leća u svrhu proizvodnje energije 28

1.1.11.5. Svemirska istraživanja vodenih leća 34

1.2. Cilj istraživanja 36

2. MATERIJAL I METODE 37

2.1. Prikupljanje uzoraka 37

2.1.1. Uzorci vodenih biljaka 37
2.1.1.1. *Lemna minor* 42
2.1.1.2. *Lemna trisulca* 43
2.1.1.3. *Spirodela polyrhiza* 45
2.1.1.5. *Azolla caroliniana* 46
2.1.2. Uzorci digestata 47
2.2. Uzgoj vodene leće 49
2.2.1. Diskontinuirani uzgoj vodene leće 49
2.2.1.1. Preliminarni pokusi diskontinuiranog uzgoja 54
2.2.2. Kontinuirani uzgoj vodene leće 55
2.2.1.1 Preliminarni pokusi kontinuiranog uzgoja 59
2.3. Laboratorijska istraživanja 59
2.3.1. Analiza supstrata 59
2.3.1.1. Određivanje pH-vrijednosti 59
2.3.1.2. Određivanje udjela suhe tvari 60
2.3.1.3. Određivanje pepela i organske tvari 60
2.3.1.4. Određivanje udjela ukupnog dušika 60
2.3.1.5. Određivanje ukupnog organskog ugljika 60
2.3.2. Anaerobna digestija 60
2.3.3. Analiza bioplina 63
2.4. Statistička obrada podataka 64
3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA 65
3.1. Rezultati diskontinuiranog uzgoja 65
3.1.1. Koncentracija digestata 65
3.1.2. Početna masa i ukupni prinos zelene mase vodene leće 66
3.1.3. pH-vrijednost hranjive otopine 68
3.1.4. Temperatura hranjive otopine 69
3.1.5. Prinos zelene mase vodene leće 71
3.1.6. Udio algi u zelenoj masi 72
3.1.7. Udio blijedih biljki među uzgajanim vodenim lećama 75
3.1.8. Udio zaraženih biljki među uzgajanim vodenim lećama 76

3.1.9. Relativni prirast zelene mase vodenih leća 79
3.2. Rezultati kontinuiranog uzgoja 82
3.2.1. Prinos zelene mase 82
3.2.2. Utjecaj osvjetljenja na prinos zelene mase 85
3.3. Anaerobna digestija 87
3.3.1. Analiza uzoraka 87
3.3.2. Rezultati anaerobne digestije 89
3.3.2. Kemijski sastav bioplina 105
4. RASPRAVA 114
4.1. Uzgoj istraživanih vodenih leća 114
4.2. Utvrđivanje bioplinskog potencijala 118
5. ZAKLJUČCI 122
6. POPIS LITERATURE 124
7. SAŽETAK 140
8. SUMMARY 141
9. PRILOG 142
9.1. Popis kratica 142
9.2. Popis slika 143
9.3. Popis tablica 145
9.4. Popis grafikona 147
ŽIVOTOPIS 149
POPIS RADOVA 151

1. UVOD

Ukupna površina kopna na Zemlji iznosi 14.893,90 milijuna hektara, od čega se 4.752 milijuna hektara koristi u poljoprivredi. Prema podacima Organizacije za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda, površina obradivog zemljišta u 2019. godini iznosila je 1.383 milijuna hektara (FAOSTAT, 2021.). Međutim, obradivo zemljište se gubi brzinom većom od 10 milijuna hektara godišnje. Procijenjeno je da će se zahtjev za hranom povećati za 50 %, a za površinom obradivog zemljišta za 10 % do 2030. godine (Godfray i sur., 2010.). Uz zahtjev za hranom povećava se i zahtjev za energijom. Energija je jedan od važnih čimbenika koji upravljaju razvojnim procesom bilo koje zemlje. Ona osigurava poticaj i impuls za društveno-ekonomski razvoj bilo kojeg društva (Mafakheri i Nasiri, 2014.). Sigurna i dostupna opskrba energijom neizbježna je potreba suvremenog društva. Potrošnja energije linearno raste s gospodarskim rastom i industrijskim razvojem (Spalding-Fecher i sur., 2005.). Najveći dio energetskih potreba ispunjavaju neobnovljivi izvori, poput prirodnog plina, ugljena i naftnih derivata (Johansson, 2013.). Prekomjerna potrošnja fosilnih goriva umanjuje raspoloživost resursa za buduće generacije (Lohan i sur., 2012.). Energija na bazi fosilnih goriva je ograničena i stvara sporedne proizvode, poput stakleničkih plinova, koji štetno djeluju na okoliš (Asif i Muneer, 2007.; Lohan i sur., 2012.; Ellabban i sur., 2014.). Transformacija energetske ekonomije zasnovane na ogromnim, skupim zalihama ugljena, nafte i prirodnog plina do čistije i lako dostupne energije vjetra, sunca i biomase pomoći će u usmjeravanju potrošnje energije (Spalding-Fecher i sur., 2000.). Za obnovljive izvore energije smatra se da su moguće rješenje sve većih energetskih izazova, jer su obilni, neiscrpni i ekološki prihvatljivi (Armor, 2014.). Energija dobivena iz biomase ima očite prednosti u odnosu na tradicionalno fosilno gorivo zbog velike količine i obnovljivosti, pa igra ključnu ulogu u energetskoj sigurnosti svijeta. Međutim, važno je uzeti u obzir troškove resursa i okoliša pri provedbi proizvodnje energije iz biomase (Wu i sur., 2018.). Uzgoj biljaka za proizvodnju energije provodi se na obradivim površinama, koje se mogu podijeliti na one pogodne za uzgoj biljaka za hranu i one koje to nisu. Proizvodnja energije od biljaka pogodnih za hranu negativno utječe na cijene hrane, a što se najviše odražava na prehranu stanovništva u najsiromašnijim zemljama svijeta. Pritom se postiže malo ili nikakvo smanjenje emisije stakleničkih plinova. Stoga je preporuka da se za proizvodnju energije dobivene iz biomase koriste izvori biomase iz ostataka pri uzgoju biljaka za hranu, u stočarskoj proizvodnji, u šumarstvu, iz otpada i otpadnih voda iz

kućanstava i industrijskih postrojenja, od algi i drugo. Biotehnologija je tehnologija utemeljena na biologiji. Ova tehnologija koristi stanične i molekularne procese, kako bi razvila tehnologije i proizvode koji pomažu u poboljšanju života i zdravlja našeg planeta, kao što je fermentacija, te upotrebljava biokatalizatore poput enzima te kvasce i druge mikroorganizme da postanu mikroskopska postrojenja za proizvodnju (Shi, 2010.). Pojednostavljuje kemijske procese proizvodnje za 80 % ili više, smanjuje uporabu i oslanjanje na petrokemijske proizvode, koristi bio-goriva za smanjivanje emisije stakleničkih plinova za 52 % ili više, smanjuje uporabu vode i stvaranje otpada te iskorištava puni potencijal biomase tradicionalnih otpadnih proizvoda. Biotehnologija se također koristi za inženjering i prilagođavanje organizma, posebno mikroorganizama, u nastojanju pronalaska održivih načina čišćenja zagađenih okoliša. Uklanjanje širokog spektra zagađivača i otpada iz okoliša apsolutni je uvjet za promicanje održivog razvoja našeg društva s malim utjecajem na okoliš.

Sve veća potražnja za energijom i klimatske promjene koje se događaju u zadnjih dvadesetak godina pokrenule su niz društvenih i političkih promjena koje su omogućile razvoj i omasovljenje tehnologija za korištenje obnovljivih izvora energije, a s ciljem smanjena zagađenja okoliša.

Protokol iz Kyota, EU Direktiva o obnovljivim izvorima energije, EU akcijski plan za biomasu dio su dokumenata koji obavezuju sve zemlje potpisnice na aktivnosti koje imaju za cilj umanjiti onečišćenje prirode i okoliša, umanjiti emisiju stakleničkih plinova, provoditi aktivnosti vezene za zdravlje ljudi, životinja i sigurnost hrane te usporiti rastući trend u potrošnji fosilnih goriva te upozoriti na posljedice energetske i krize ljudskog društva (Cavinato i sur., 2010.). Na ozbiljnost klimatskih promjena upozoravaju i državnici iz cijelog svijeta okupljeni na konferenciji o klimatskim promjenama COP26. Cilj konferencije je da se pronađu i poduzmu mjere koje će spriječiti globalno zatopljenje veće od 1,5 °C (COP26, 2021.).

Zakonom o zaštiti okoliša iz 2007. određena je Strategija održivog razvitka Republike Hrvatske. Održivi razvoj je okvir za oblikovanje politika i strategija kontinuiranog gospodarskog i socijalnog napretka, bez štete za okoliš i prirodne izvore bitne za ljudske djelatnosti u budućnosti (Pavić-Rogošić, 2010.). Osnovni je cilj osigurati održivo korištenje prirodnih izvora na nacionalnoj i međunarodnoj razini. U konceptu održivog razvoja danas nalaze ishodište svi moderni gospodarski i društveni trendovi, jer zaštita okoliša donosi korist u obliku gospodarskog rasta, zapošljavanja i konkurentnosti (Pavić-Rogošić, 2010.).

Punopravnim članstvom u Europskoj Uniji (EU) Republika Hrvatska je preuzela obavezu implementirati ciljeve EU u svoje nacionalne planove. Nacionalnim akcijskim planom o obnovljivim izvorima energije planirano je da će u 2020. godini kruta biomasa (drvna biomasa i biomasa iz poljoprivrede) činiti najveći udio u sektoru obnovljive energije za proizvodnju toplinske energije u Republici Hrvatskoj (MINGO, 2013.). Upravo je u istočnoj Hrvatskoj u Osječko-baranjskoj i Vukovarsko-srijemskoj županiji procjenom utvrđen najveći energetski potencijal biomase (Ćosić i sur., 2011; Voća i Hrkać, 2011.).

Biomasa, posebno ona biljnog podrijetla koju dijelimo na drvnu ili šumsku (ogrjevno drvo, ostatak od sječe šuma i drvne industrije) i poljoprivrednu (uljarice, kukuruz, šećerna repa, slama, trave i alge te ostaci iz biljnogojstva) je, bez sumnje, najizdašniji hrvatski obnovljivi energent. Unatoč tome, Hrvatska ga ne koristi u dovoljnoj mjeri, nego izvozi kao sirovinu umjesto da na tom nacionalnom resursu stvara „dodatnu vrijednost“ (Čupin, 2007.).

Biomasa (uključujući organsku tvar dobivenu iz živih organizama) je najviše iskorišten izvor obnovljive energije i čini 10,2 % globalne opskrbe primarnom energijom (Baratieri i sur., 2008; Mafakheri i Nasiri, 2014.). Širom svijeta postoji mnoštvo biljnih vrsta čija se biomasa može koristiti za dobivanje energije. Vodena biomasa je sveprisutna i raste u različitim okolišnim i klimatskim uvjetima (Wang, 1990.; Skillicorn i sur., 1993.). Vrste vodeni zumbul (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms), vodena zelena salata (*Pistia stratiotes* L.), žabogrizovka (*Limnobium spongia* (Bosc) Steud.), vodena paprat (*Salvinia minima* Baker), paprat komaraca (*Azolla caroliniana* Willd.), meksički lopoč ili vodeni ljiljan (*Nymphaea mexicana* Zucc.), američki lotos (*Nelumbo lutea* (Willd.) Pers.), vodeni špinat (*Ipomoea aquatica* Forssk.), vodene leće (*Lemna sp*. L.) i potočarka (*Rorippa nasturtium-aquaticum* Aiton) pripadaju u tek nekoliko istaknutih vrsta koje nude fleksibilnost u pogledu korisnosti vode i okolišnih zahtjeva za optimalan rast (Vymazal, 2011.). Osim što posjeduju velike energetske vrijednosti, vodene biljke učinkovito se koriste pri obradi otpadnih voda (Bal-Krishna i Polprasert, 2008.; Papadopoulos i Tsihrintzis, 2011.; Verma i Suthar, 2014.). Stoga njihova upotreba može dovesti do razvoja povezanih sustava za obradu otpadnih voda i skupljanje energetske biomase. Korištenje vodenih biljaka kao bioenergetske sirovine često je izvanredna alternativa tradicionalnim energetskim biljkama, jer nudi prikupljanje biljne biomase uporabom resursa otpadnih voda, energetski povoljan kemijski sastav obzirom na ulaganje u uzgoj, potencijalno veću ekonomsku učinkovitost, mali ili nikakav sukob s izvorima hrane, mnogo niže emisije stakleničkih plinova prilikom uzgoja i druge povoljne učinke na okoliš (Solomon, 2010.).

Vodene leće rasprostranjene su u Republici Hrvatskoj na površinama stajačica i rijeka sporog toka poput Bosuta u Vukovarsko-srijemskoj županiji. Na Bosutu su najzastupljenije vrste *Lemna minor* i *Spirodela polyrriza (*Krajnčić i Devidé, 1982.). U Republici Hrvatskoj djeluje 39 bioplinskih postrojenja (HROTE, 2017.), stoga u kontekstu održivog razvoja kao i ostalih navedenih dokumenata, treba uzeti u obzir i napore u istraživanju te uzgoju vodene leće u svrhu njezinog korištenja u proizvodnji bioplina, jer očuvanje okoliša i ekonomska isplativost ne moraju i ne smiju biti suprotstavljeni pojmovi.

1.1. PREGLED LITERATURE

1.1.1. Vodene leće

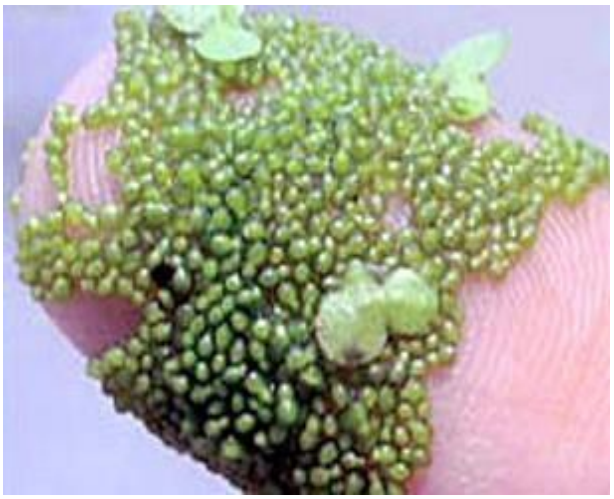
Vodene leće su male, slobodno plivajuće vodene biljke, koje plutaju na vodi ili se nalaze neposredno ispod površine vode. Nazivaju se „super-biljkama“ ili „biljkama budućnosti“, jer mogu pridonijeti rješavanju nekoliko problema suvremenog svijeta. Osim što u mnogim zemljama Azije služe za prehranu ljudi i hranidbu životinja, ove biljke pročišćavaju otpadne vode, proizvode energiju i apsorbiraju ugljični dioksid (CO_2). Prema brzini rasta i prinosu biomase slične su algama. Međutim, tehnologija uzgoja algi susreće se s problemima uzrokovanima nedovoljnom veličinom algi za primjenu jednostavnih i jeftinih tehnologija. Uzgoj vodenih leća ne zahtijeva posebnu i skupu tehnologiju. Mnogi znanstvenici su prepoznali potencijal vodenih leća i posljednjih godina se intenzivirao istraživački napor utvrđivanja potencijala i pronalaženja postupaka za uzgoj i eksploataciju ovih biljaka.

1.1.2. Taksonomija i morfologija vodenih leća

Taksonomija vodenih leća (Hulina, 2011.; Nikolić, 2013.):

- Carstvo (lat. *regnum*) – biljke (lat. *Plantae*)
  - Podcarstvo (lat. *subregnum*) – stablašice (*Magnoliobionta, Embriobionta*)
    - Odjeljak (lat. *phylum*) – sjemenjače (lat. *Magnoliophyta, Spermatophyta*)
      - Pododjeljak (lat. *subphylum*) – kritosjemenjače ili cvjetnjače (lat. *Angiospermae*)
        - Razred (lat. *classis*) – jednosupnice ili monokotiledone biljke (lat. *Lilianae*)
          - Red (lat. *ordo*) – žabočunolike (lat. *Alismatales*)
            - Porodica (lat. *familia*) – kozlačevke (lat. *Lemnaceae*).

Ova porodica, koja se ponekad naziva i *Araceae*, predstavlja skupinu vodenih jednosupnica, čije ekstremno smanjenje broja i veličine organa, vjerojatno povezano s njihovim prilagođenim životnim stilom brzog rasta i širenja, doprinosi poteškoćama u taksonomiji i sistematici. Vrsta *Wolffia angusta*, najmanja kritosjemenjača na svijetu, član je ove porodice. Gledana s gornje strane ova vrsta je veličine 0,5–0,8 mm × 0,2–0,4 mm (Slika 1.), kako navode Appenroth i sur. (2013.).



Slika 1. *Wolffia angusta*

(Izvor: https://www.aquaportail.com/fiche-plante-3603-wolffia-angusta.html)

Intenzivna istraživanja članova ove porodice još od 19. stoljeća, prvo na temelju njihove morfologije, a kasnije ispitivanjem metaboličkih, molekularnih i genomskih podataka (Hartog i van der Plas, 1970.; Landolt, 1986., 1994.; Les i sur., 2002.; Crawford i sur., 2006.), dovela su do podjele ove porodice na dvije podporodice (Appenroth i sur., 2013.) s ukupno pet rodova (Les i sur., 2002.):

1) *Lemnodoideae* – s različitim brojem korijena, sadrži tri roda:
   - *Lemna* – s 14 vrsta,
   - *Landoltia* – s jednom vrstom i
   - *Spirodela* – s dvije vrste;
2) *Wolffiodeae* – bez korijena, sadrži dva roda:
   - *Wolffia* – s 11 vrsta i
   - *Wolffiella* – s 10 vrsta.

1.1.2.1. Rod *Lemna*

Ovo je rod slobodnih plutajućih (na ili neposredno ispod površine vode), brzorastućih vodenih biljaka koje se koriste kao model za proučavanje ekologije zajednice i osnovne biologije biljaka, u eko-toksikologiji i proizvodnji bio-farmaceutika te kao izvor stočne hrane za poljoprivredu i akvakulturu, jer u suhoj tvari sadrže 25–45 % bjelančevina, 4,4 % masti i 8—10 % vlakana. Većina vrsta nije duža od 5 mm. Imaju jedan korjenčić, što ih razlikuje od ostalih rodova ove porodice. U ovaj rod pripadaju vrste: *L. aequinoctialis*, *L. disperma*, *L. ecuadoriensis*, *L. gibba*, *L. japonica*, *L. minor*, *L. minuta*, *L. obscura*, *L.*

perpusilla, L. tenera, L. trisulca, L. turionifera, L. valdiviana i *L. yungensis* (Les i sur., 2002.).

1.1.2.2. Rod *Landoltia*

Godine 1999. D.H. Les i D.J. Crawford su predložili novi rod *Landoltia* koji sadrži samo jednu vrstu, *Landoltia punctata*, na temelju biokemijskih i DNK studija (Les i Crawford, 1999.). Ova vrsta, koja ima više korjenčića (dva do četiri, pa i sedam), izvorno je pronađena u Australiji i južnoj Aziji, ali danas se može naći i u južnim i istočnim državama SAD-a.

1.1.2.3. Rod *Spirodela*

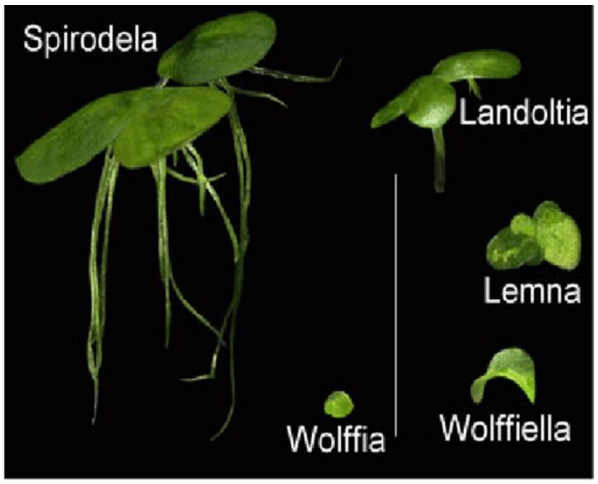
Vrste ovog roda su zelene boje, ali mogu imati crvenu ili smeđu donju stranu. Iz svake steljke (talusa) izlazi 5-12 korjenčića. Uglavnom prezimljuju kao turioni, koji nemaju prostore unutar stanica ispunjene zrakom pa tonu na dno vode. U proljeće se turioni izdižu na površinu i klijaju kako bi započeli novu populaciju. U ovaj rod pripadaju vrste: *S. intermedia* i *S. polyrhiza* (Les i sur., 2002.).

1.1.2.4. Rod *Wolffia*

Vrste ovog roda su najmanje kritosjemenjače koje najbrže rastu. To su, ustvari, slobodno plutajuće steljke, zelene ili žuto-zelene boje, rijetko veće od 1 mm. Nemaju stabljike ni korijena. Sićušni cvijet nastaje u udubini na gornjoj površini biljnog tijela. Ima jedan prašnik i jedan tučak. Razvijaju najmanji plod među cvjetnicama, nalik na mjehur koji se otvara bez cijepanja kada sjeme sazrije. Sjeme je glatko, veličine do 0,5 mm. Jedinke često plutaju zajedno u paru ili oblikuju plutajuće prostirke sa srodnim biljkama, poput vrsta *Lemna* i *Spirodela*. Većina vrsta ima vrlo široku rasprostranjenost na nekoliko kontinenata. Sadrže oko 40 % bjelančevina na osnovi suhe tvari, otprilike jednako kao i soja, što ih čini potencijalnim visoko-bjelančevinastim izvorima hrane za ljude. Tradicionalno se skupljaju iz vode i jedu kao povrće u većem dijelu Azije. U ovaj rod pripadaju vrste: *W. angusta, W. arrhiza, W. australiana, W. borealis, W. brasiliensis, W. columbiana, W. cylindracea, W. elongata, W. globosa, W. microscopia* i *W. neglecta* (Les i sur., 2002.). Različite vrste iz ovog roda nalaze se posvuda kroz većinu umjerenih i suptropskih područja svijeta (Pandey i Verma, 2018.).

1.1.2.5. Rod *Wolffiella*

Vrste roda *Wolffiella* su širine 2-10 mm, bez korijena i imaju lađicu koja im omogućuje da zadrže orijentaciju u vodi. Biljke su ravne, opnaste, izdužene, pojedinačne ili povezane u široke kolonije. Sve vrste imaju zračne komorice. Jednodomne su, a cvjetovi nisu zatvoreni u pup i imaju ili jedan prašnik ili jednu plodnicu. Pelud je oskudna, svega oko 150 peludnih zrnaca po prašniku. Plod sadrži jednu sjemenku, koja je glatka sa spužvastim vanjskim omotačem. U ovaj rod pripadaju vrste: *W. caudata, W. denticulata, W. gladiata, W. hyalina, W. lingulata, W. neotropica, W. oblonga, W. repanda, W. rotunda i W. welwitschii* (Les i sur., 2002.). Izuzev *W. denticulata*, poznate samo iz jedne zbirke u Južnoj Africi, i jednog izvješća o *W. welwitschii* iz Angole, rod *Wolffiella* ekskluzivan je za zapadnu polutku tj. ima najviše ograničenu rasprostranjenost od bilo kojeg roda iz ove porodice. Najzastupljeniji je u tropskim i umjerenim područjima Srednje Amerike, Meksika i juga SAD-a. Rijetkost cvatnje s rezultirajućim sjemenom i odsustvo specijaliziranog oblika prezimljavanja možda su razlozi za ograničenu raspodjelu roda. Slika 2. prikazuje usporedbu vrsta iz različitih rodova porodice *Lemnaceae.*



Slika 2. Različiti rodovi vodene leće
(Izvor: Yang i sur, 2020.)

1.1.3. Morfologija i razmnožavanje vodenih leća

Vegetativni i generativni organi vrsta iz porodice *Lemnaceae* vrlo su reducirani. Nemaju korijena ili je korijen reduciran na nerazgranjene rizoide, koji vise u vodi u obliku tankih sitnih niti, dužine od svega nekoliko milimetara do 14 cm, u ovisnosti o vrsti. Neki botaničari smatraju da je tijelo ovih biljaka nediferencirano poput steljke (talusa), drugi da je nediferencirana stabljika bez ikakvog lišća, dok neki smatraju da je cijelo plutajuće tijelo sastavljeno od stabljike i lista koji su čvrsto spojeni uzdužno. Strukture nalik stabljikama su slične lećastim ili duguljastim listićima duljine do 10 mm. Glavni listić je u promjeru 3-15 mm, debljine od sloja jedne stanice do nekoliko milimetara. Sastoji se od klorenhima, parenhimskih stanica modificiranih da sadrže kloroplaste i provode fotosintezu. Ove stanice su odvojene velikim međustaničnim prostorima (aerenhim) koji su ispunjeni zrakom te osiguravaju plovnost biljaka. Puči se nalaze na gornjoj strani listića. Razmnožavaju se vegetativno dijeljenjem ili rjeđe spolno. Cvjetovi su često funkcionalno i ženski i muški ili rjeđe funkcionalno ženski ili funkcionalno muški. Obično su dva muška i jedan ženski cvijet, osim kod vrsta iz roda *Wolffia* kod kojih je jedan muški i jedan ženski cvijet. Nemaju lapove ni latice te su jedva vidljivi bez povećanja. Plod je vrećica nalik mjehuru koja sadrži jednu ili više sjemenki koje su glatke ili rebraste. Oprašivanje se obavlja uz pomoć vode, vjetra ili kukaca. Pri vegetativnom razmnožavanju, koje je vrlo brzo, stvaraju se pupovi odnosno biljke kćeri u dvije spljoštene vrećice s pupoljcima (*Spirodela, Landoltia* i *Lemna*), u jednoj, spljoštenoj, trokutastoj vrećici (*Wolffiella*) ili u vrećici oblika lijevka (*Wolffia*). Novo formirani frondovi ostaju povezani s majčinskim frondom tijekom početne faze rasta, pa se stoga čini da se biljke sastoje od nekoliko frondova. Svaka biljka proizvodi dvadesetak biljaka kćeri tijekom svog života, koji traje od 10 dana do nekoliko tjedana. Biljke kćeri ponavljaju ovo razmnožavanje, što rezultira eksponencijalnim rastom. Mnoge vrste vodenih leća preživljavaju na niskim temperaturama formiranjem posebnog škrobnog fronda poznatog kao turion. Ovaj frond „preživljavanja“ se formira pri hladnom vremenu i tone na dno vodotoka ili stajaćice gdje ostaje dormantan dok topla voda ne potakne nastavak normalnog rasta. Nekoliko vrsta preživljava na niskim temperaturama bez formiranja turiona. Tijekom zimske sezone frondovi tih vrsta su uvelike reducirani, ali ostaju na površini. Povremeno dolazi do formiranja fronda nalik turionu, ali se biljke nastavljaju sporo reproducirati vegetativno (Hasan i Chakrabarti, 2009.).

1.1.4. Stanište vodenih leća

Vrste iz ove porodice žive u stajaćim i sporo tekućim slatkim vodama, slobodno na površini vode ili neznatno ispod nje, često u golemu mnoštvu. Na Slici 3. vidljivo je mnoštvo vodenih leća na rijeci Bosutu. Razni okolišni čimbenici, poput temperature, pH-vrijednosti i koncentracije hraniva u vodi, kontroliraju rast i preživljavanje vodenih leća. Drugi okolišni čimbenici koji utječu na stope rasta kolonija vodenih leća su prisutnost toksina u vodi, prenapučenost zbog prekomjernog rasta kolonije i natjecanje s drugim biljkama za svjetlost i hraniva (Guha, 1997.).

Tolerancija na temperaturu i temperaturni optimum zavise od vrste vodene leće. Optimalna temperatura za maksimalni rast većine leća iznosi između 17,5 °C i 30 °C (Culley i sur., 1981; Gaigher i Short, 1986.). Iako neke vrste toleriraju temperature blizu smrzavanja, ali stopa rasta biljke opada na niskoj temperaturi. Neke vodene leće pokazuju smanjenje stope rasta na temperaturama ispod 17 °C (Culley i sur., 1981.). Većina vrsta vodenih leća umire ako se temperatura vode poveća iznad 35 °C.



Slika 3. Mnoštvo vodenih leća od obale do obale rijeke Bosut
(Izvor: vlastita fotografija, 2020.)

Za vodene leće se općenito smatra da imaju širok raspon tolerancije na pH-vrijednost. One dobro preživljavaju pri pH od 5 do 9, iako neki autori proširuju ovaj raspon između 3 i 10. Optimalni pH za rast vodenih leća iznosi od 6,5 do 7,5. Udvostručenje biomase u 2–4 dana uočeno je pri razinama pH između 7 i 8 (Culley i sur., 1981.).

Vodene leće preferiraju amonijačni dušik kao izvor dušika i prioritetno će ukloniti amonijak, čak i u prisutnosti relativno visokih koncentracija nitrata. U organski obogaćenim vodama, dušik se koncentrira u amonijačnom (NH_4-N), a ne u nitratnom (NO_3-N) obliku na razinama pH ispod 9, a rast biljaka jednako je učinkovit u anaerobnim i aerobnim vodama (Said i sur., 1979.). Prema rezultatima laboratorijskih pokusa, vodene leće podnose koncentracije elementarnog dušika od čak 375 mg l^{-1} (Rejmánková, 1979.). Fosfor je neophodan za brzi rast i glavni je ograničavajući hranjivi sastojak nakon dušika, iako su njegove kvantitativne potrebe za maksimalni rast općenito niske. Brzorastuće vodene leće u vodi bogatoj hranjivim sastojcima vrlo učinkovito usvajaju fosfor i kalij. Međutim, za brz rast ovih biljaka potrebno je vrlo malo i fosfora i kalija. Rejmánková (1979.) navodi dobar rast vodene leće pri koncentracijama fosfora od 6 do 154 mg l^{-1}. Culley i sur. (1978.), radeći u lagunama s mliječnim otpadom, postižu dvostruku proizvodnju tijekom 2–4 dana pri koncentracijama fosfora većim od 35 mg l^{-1}. Smanjeni rast kod nekih vrsta javlja se tek nakon što se vrijednosti fosfora smanje ispod 0,017 mg l^{-1} (Lüönd, 1980.). Drugi važni minerali u vodi koji podržavaju rast vodenih leća su kalcij, magnezij, natrij, klor i sumpor (Hasan i Chakrabarti, 2009.).

1.1.5. Uvjeti za rast vodenih leća

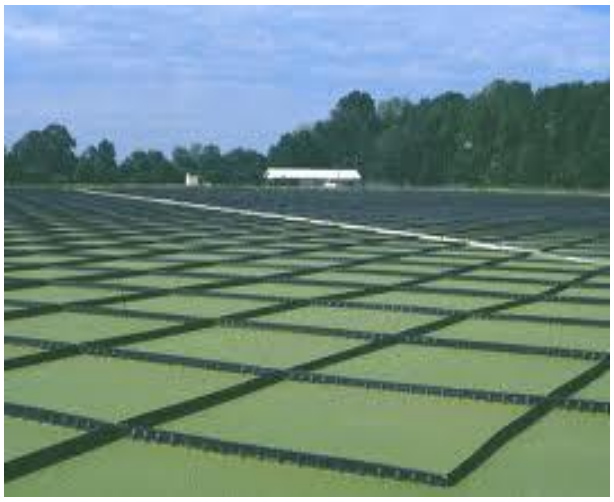
Vodene leće imaju tendenciju biti povezane s plodnim, čak eutrofnim uvjetima. Kada su uvjeti idealni, u smislu temperature vode, pH-vrijednosti, svjetlosti i hranjivih koncentracija koje su potrebne za proizvodnju biomase, leće mogu udvostručiti svoju biomasu svakih 16 sati. Teorijski, ako je rast vodene leće neograničen i u idealnim uvjetima, on postaje eksponencijalan. Biomasa vodene leće površine 10 cm^2 može se povećati do 1 ha (100 milijuna cm^2) u manje od 50 dana, odnosno u 50 dana povećat će svoju masu 10 milijuna puta.

Vodena leća će rasti pri temperaturi vode između 6 i 33 °C. Povećanje stope rasta s temperaturom raste do oko 30 °C, nakon toga se usporava i na temperaturi od 33 °C prestaje. U otvorenim lagunama pri izravnoj Sunčevoj svjetlosti kod vodene leće dolazi do iritacije visokom temperaturom te ju je prilikom uzgoja potrebno prskati sitnim vodenim kapljicama kako bi se ohladio površinski sloj vode.

Pri rasponu pH-vrijednosti od 6,5 do 7,5 amonijak je prisutan u velikoj mjeri kao amonijev ion iz kojeg se najlakše apsorbira dušik. S druge strane, visoka pH-vrijednost

rezultira pojavom amonijaka u otopini koji može biti toksičan, a također može biti izgubljen i isparavanjem (https://www.fao.org/ag/againfo/resources/documents/DW/dw2.htm).

Dubina vode koja je potrebna za rast vodene leće kod umjereno toplih uvjeta je minimalna, ali postoji veliki problem u plitkim barama hladnih i vrućih podneblja gdje se temperatura može brzo varirati ispod ili iznad onih optimalnih za rast. Kako bi vodene leće dobile dovoljno visoku koncentraciju hranjivih tvari te za održavanje povoljne temperature vode, treba biti uspostavljena ravnoteža između volumena i površine. Dubina vode je također kritična za eksploataciju. Dubine veće od oko 0,5 metara predstavljaju problem za berbu vodene leće koračajućim strojevima i ručnom berbom, a u uzgoju na ribnjacima nepraktične su dubine manje od 2 metra. U praksi, dubina vode je postavljena u skladu s potrebama upravljanja, a ne raspoloživim hranjivim tvarima. Na Slici 4. prikazan je set umjetnih bazena pregrađenih plutajućim branama za plantažni uzgoj vodene leće.



Slika 4. Plantaža vrste *Lemna minor*
(Izvor: Iqbal, 1999.)

1.1.6. Koncentracija minerala u vodenim lećama

Vodena leća može koncentrirati i do nekoliko stotina puta više makro- i mikro--minerala nego li je njihova koncentracija u vodi. S druge strane, visoke razine minerala mogu usporiti rast ili u potpunosti eliminirati vodenu leću, stoga se bolji rezultati postižu ukoliko se značajno razrijedi mineralni medij. Mnogo je podataka o iskorištavanju vodene leće za apsorpciju mikro-elemenata koji se mogu akumulirati do toksičnih razina (za stočnu hranu). Međutim, njihova sposobnost koncentracije elemenata u tragovima s vrlo

razrijeđenim medijima može biti velika prednost, gdje se vodena leća koristi kao dodatak životinjskoj hrani. Elementi u tragovima često su manjkavi u glavnim izvorima hrane za stoku. Vodenoj leći potrebno je mnogo hranjivih tvari i minerala kako bi podržavala brzi rast. Općenito sporo razgradivi biljni materijali oslobađaju dovoljno minerala u tragovima za rast koji se često javlja kao koncentracija amonijaka, fosfora, kalija i natrija. To je područje dobro obrađeno u dostupnoj literaturi o zahtjevima vodene leće za dušikom, fosforom i kalijem. U Tablici 1. prikazane su vrijednosti koncentracije različitih makro- i mikro-elemenata u vodenoj otopini, u vodenoj leći i u suhoj tvari biomase vodenih leća (https://www.fao.org/ag/againfo/resources/documents/DW/dw2.htm).

Tablica 1. Koncentracije makro- i mikro-elemenata

Element	Koncentracija		
	u vodenoj otopini (mg l^{-1})	u vodenoj leći (g kg^{-1} suhe tvari)	u 10 t/ha suhe tvari (kg ha^{-1} god^{-1})
N	0,75	60,00	600
P	0,33–3,00	5,00–14,00	56–140
K	100	40,00	400
Ca	360	10,00	100
Mg	72	6,00	60
Na	250	3,25	32
Fe	100	2,40	24

(Izvor: https://www.fao.org/ag/againfo/resources/documents/DW/dw2.htm)

1.1.7. Kemijski sastav vodenih leća

Vodena leća je zbog visokog sadržaja bjelančevina važan izvor hrane za ptice močvarice i životinje, a u nekim dijelovima jugoistočne Azije koristi se i u ljudskoj ishrani. Sadrži više bjelančevina nego soja te se ponekad navodi kao značajan potencijalni izvor ljudske hrane u zemljama u razvoju. Sadržaj sirovih bjelančevina vodene leće uglavnom

zavise o sadržaju dušika u vodi tijekom njezina rasta. Proporcionalno smanjenju i povećanju udjela bjelančevina, smanjuje se odnosno povećava udio drugih komponenti u kemijskom sastavu, prvenstveno ugljikohidrata. Udio hranjivih tvari u vrstama iz porodice *Lemnaceae* prikazan je u Tablici 2.

Tablica 2. Udio hranjivih tvari

Udio hranjivih tvari u *Lemnaceae*, (%) od suhe mase	
bjelančevine	6,80–45,00
masti	1,80–9,20
vlakna	5,70–16.20
ugljikohidrati	14,10–43,60
pepeo	12,00–27,60

(Izvor: Iqbal, 1999.)

1.1.8. Prinosi suhe tvari vodenih leća

Sva prethodno opisana svojstva vodenih leća upućuju na zaključak da ove biljke imaju izuzetno visok potencijal rasta. Međutim, usklađivanje svih elemenata potrebnih za optimalni rast biljaka, zajedno s regenerativnim ciklusima same biljke, povezano je s raznim poteškoćama te iziskuje velike napore. Stoga su i rezultati dobiveni u različitim istraživanjima vrlo raznoliki, te variraju u rasponu od 5–22 t ha^{-1}, pa sve do nevjerojatnih 182,50 t ha^{-1} suhe mase godišnje ostvarenih pri optimalnim uvjetima u Louisiani, SAD. U Tablicama 3. i 4. prikazani su prinosi suhe tvari vodene leće. Ove biljke također mogu igrati ulogu u očuvanju rezervi ukupne količine vode, jer je iz vodene površine prekrivene vodenom lećom manje isparavanje vode u odnosu na isparavanje slobodne (bez vodene leće) vodene površine.

Tablica 3. Prinosi suhe tvari vodene leće u optimalnim uvjetima

Lokacija	Prinos suhe mase ($t\ ha^{-1}\ god^{-1}$)	Literaturni zvor
Louisiana USA	44–55	Mesteyer i sur. (1984.)
Louisiana USA	182,50	National Academy of Science (1976.)
Southern States USA	54	Mbagwu i Adeniji (1988.)
Israel	36–51	Oran i sur. (1987.)

(Izvor: https://www.fao.org/ag/againfo/resources/documents/DW/dw2.htm)

Tablica 4. Prinosi suhe tvari vodene leće na otvorenim vodotocima

Lokacija	Prinos suhe mase ($t\ ha^{-1}\ god^{-1}$)	Literaturni izvor
Thailand	11	Hassan i Edwards (1992.)
Israel	10–17	Porath i sur. (1979.)
Russia	7–8	Rejmankova (1975.)
Uzbekistan	7–15	Taubaev i Abdiev (1973.)
Germany	22	National Academy of Sciences (1976.)
India	22	Rao i Razi (1981.)
Egypt	10	Landolt i sur. (1987.)
Louisiana USA	20	Russoff i sur.(1980.)
Florida USA	14–27	Landolt i sur.(1987.)

(Izvor: https://www.fao.org/ag/againfo/resources/documents/DW/dw2.htm)

1.1.9. Usporedba vodene leće s drugim energetskim biljkama

Usporedba vodene leće s drugim energetskim biljkama (npr. kukuruz, različite vrste algi i druge biljke) može se načiniti prema različitim kriterijima, npr. kemijskom sastavu, prinosu suhe tvari i u ovom slučaju prinosu bioplina, što je prezentirano u Tablicama 5.–7.

Tablica 5. Usporedba prinosa bioplina vodene leće i kukuruzne silaže

Energetska biljka	Prinos bioplina	
	$m^3\ t^{-1}$ suhe tvari	$m^3\ ha^{-1}$
vodena leća	176 (Jain i sur., 1992.)	880–32.032 (Jain i sur., 1992.)
kukuruzna silaža	180 (Mihić i sur., 2013.)	2.700–4.500 (Mihić i sur., 2013.)

Tablica 6. Kemijski sastav energetskih biljaka

Energetska biljka	udio hranjivih tvari u %			
	ulja, masti	bjelančevine	šećer,škrob	pepeo
soja (zrno)	20	40	7	6
kukuruz (zrno)	4	18	63	-
leća	1,80–9,20	6,80–45	14–43	12–27,60

(Izvor: Van Schaik i sur., 2009.)

Tablica 7. Prinosi suhe tvari energetskih biljaka

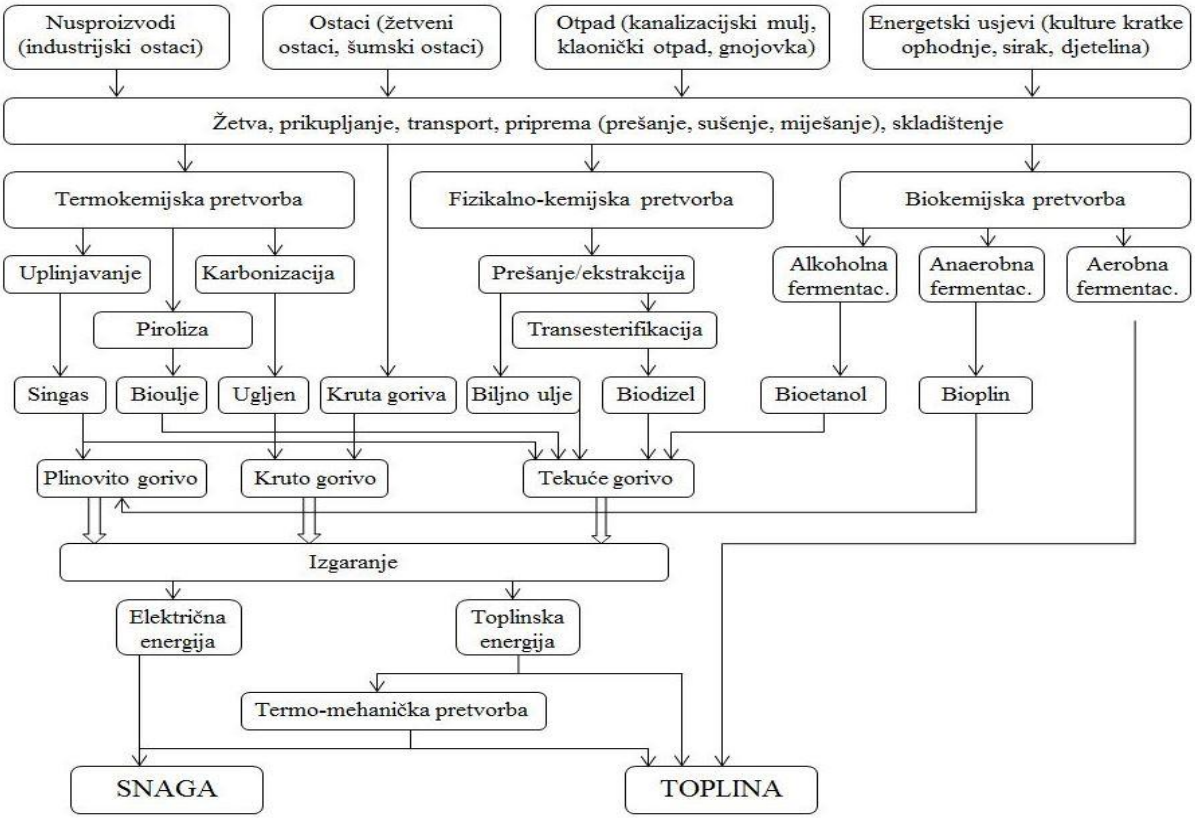
Energetska biljka	Prinos suhe tvari $t\ ha^{-1}\ god^{-1}$
vodena leća	5–182
alge	90–106
kukuruz	15–25
michhantus	30
szarvasi	10–23
sudanska trava	12–18

(Izvor: Van Schaik i sur., 2009.)

1.1.10. Tehnološki procesi pretvorbe biomase u energiju

Tehnološki procesi za pretvorbu biomase u energiju dijele se na dvije vrste: posredno ili neizravno i neposredno ili izravno iskorištavanje biomase. Izravno iskorištavanje biomase je tehnološki jednostavnije, a često i racionalnije. To je postupak pri kojem biomasa, prije prethodne pretvorbe u druge oblike, služi kao gorivo u manjim ložištima (kamini, peći, kotlovi za grijanje) ili velikim energetskim postrojenjima (energane, toplane, elektrane, kogeneracijska postrojenja), a koja paralelno proizvode toplinsku i električnu energiju.

Biomasa često iz nekih fizikalno-kemijskih razloga nije pogodna za izravno iskorištavanje, stoga je nužno najprije tehnološkim postupcima provesti pretvorbu biomase u plinovita i tekuća goriva, a tek u drugom koraku od dobivenih goriva izgaranjem se u ložištima ili u motorima s unutarnjim izgaranjem dobivaju toplinska i električna energija ili mehanički rad (Labudović i Grđan, 2012.). Svi koraci u pretvorbi različitih vrsta biomase, različitim postupcima pretvorbe shematski su prikazani na Slici 5.



Slika 5. Postupci pretvorbe biomase u energiju

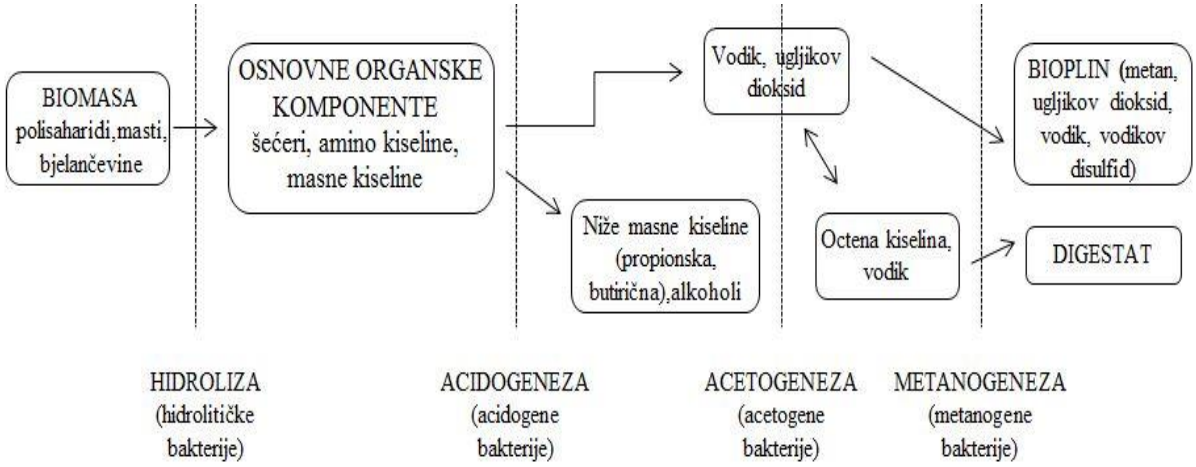
(Izvor: Kaltschmitt i sur., 2007.)

1.1.10.1. Proces anaerobne digestije

Anaerobna digestija široko je rasprostranjen tehnološki postupak u projektima za proizvodnju obnovljivih izvora energije jer u potpunosti prevodi otpad u energiju (Cavinato i sur. 2010.). Prihvaćeno je stajalište da je taj postupak jedan od energetski najučinkovitijih te okolišno i tehnološki prihvatljiv (Weiland, 2010.).

Sam biokemijski proces sastoji se od četiri faze: hidroliza, acidogeneza, acetogeneza i metanogeneza (Gerardi, 2003., Dueblein i Steinhauser, 2008.), kako je prikazano na Slici 6. Tijekom procesa se složeni organski spojevi postupno, uz djelovanje različitih skupina mikroorganizama u anaerobnim uvjetima, razlažu na jednostavnije spojeve i u konačnici nastaju bioplin i digestat.

U postupku metanogeneze odvija se najvažniji dio procesa u kojem pomoću metanogenih mikroorganizama dolazi do proizvodnje metana i ugljičnog dioksida. Oko 70 % metana dolazi od acetata, a ostalih 30 % dolazi od vodika i ugljičnog dioksida (Schink, 1997.).



Slika 6. Faze anaerobne digestije organske biomase

(Izvor: Kaltschmitt i sur., 2007.)

Bioplin je plin koji nastaje procesom anaerobne digestije, a sastoji od metana i ugljičnog dioksida, s malim udjelima amonijaka i sumporovodika te plinovima u tragovima poput dušika, vodika, kisika, ugljičnog monoksida i dr. (Balat i Balat, 2009., Panjičko, 2015.).

Digestat je ostatak supstrata koji nije razgrađen postupkom anaerobne digestije. Sastoji se od nerazgrađenih organskih molekula i mineralnih tvari i bogat je hranjivim tvarima (Panjičko, 2015.) te na taj način predstavlja vrlo vrijedno organsko gnojivo.

Ukoliko se u procesu digestije koristi jedna vrsta supstrata riječ je o digestiji, a ukoliko se u procesu koristi homogena mješavina dvaju ili više supstrata, tada se postupak naziva kodigestija. U praksi je kodigestija najčešći način proizvodnje bioplina (Al-Seadi i sur., 2008.).

1.1.10.2. Vrste supstrata za proizvodnju bioplina

Prikladnost supstrata definira čitav niz svojstava od kojih su neka nužna za provedivost samog postupka, a jedan dio svojstava nužan je za ekonomičnost procesa. Provedivost postupka određena je biokemijskim svojstvima koja definiraju mogućnost provedbe postupka i odnose se na udio lako razgradive organske tvari, metanski potencijal, usitnjenost, udio suhe tvari, pH-vrijednost, C/N omjer te sadržaj makro- i mikro-elemenata (Angelidaki, 2002.).

S druge strane, treba zadovoljiti i svojstva koja omogućavaju ekonomičnost postupka: dostupnost, prikladnost za anaerobnu obradu, dovoljnu količinu, mogućnost skladištenja i slična.

Usitnjenost i homogenost supstrata povećava specifičnu površinu čestica supstrata i time je poželjno svojstvo koje se odražava na povećanu početnu brzinu učinkovitosti procesa razgradnje supstrata (Raposo i sur., 2011.).

Biorazgradivost najviše ovisi o sastavu supstrata s obzirom na udio bjelančevina, lipida i ekstrahiranih ugljikohidrata koji su lakše razgradljivi u odnosu na supstrate bogate lignoceluloznim tvarima kod kojih je razgradnja znatno otežana.

C/N omjer supstrata u digestoru vrlo je važan za stabilnost procesa. Gnojovka, kao najčešći supstrat koji se koristi za anaerobnu digestiju, sadrži tvari neophodne za rast anaerobnih mikroorganizama, jer sadrži visok udio dušika. Zbog niskog sadržaja ugljika, miješa se sa supstratima koji imaju visok udio ugljika, a najčešće su to silaže različitih vrsta energetskih biljaka ili kukuruza, a sve češće i ostacima i otpadom iz prehrambene, poljoprivredne te šumarske proizvodnje. Takvim miješanjem postiže se povoljan C/N omjer (Angelidaki i Ellegaard, 2003., Al Seadi i sur., 2008.). U Tablici 8. prikazani su neki od najčešće korištenih supstrata za anaerobnu digestiju, njihovi prinosi bioplina i literaturni izvori.

Tablica 8. Najčešće korišteni supstrati za anaerobnu digestiju, njihov prinos bioplina i literaturni izvori

Supstrat	Prinos bioplina (m^3 t^{-1})	Literaturni izvori
Različite vrste gnojovke i gnojnice	15–300	Biteco Biogas, 2013; NNFCC, 2017; Schnurer i Jarvis, 2010.
Slama	100–324	NNFCC, 2017; Schnurer i Jarvis, 2010.
Različite vrste trava	20–520	NNFCC, 2017; Schnurer i Jarvis, 2010.
Različite vrste silaže	75–660	NNFCC, 2017.
Različite vrste žitarica	300–658	Biteco Biogas, 2013; NNFCC, 2017; Schnurer i Jarvis, 2010.
Otpad i ostaci iz prerade voća i povrća	200–650	Biteco Biogas, 2013; Schnurer i Jarvis, 2010.
Otpad iz mliječne industrije	567–800	Biteco Biogas, 2013.
Klaonički otpad	600–900	Schnurer i Jarvis, 2010.
Različite vrste ulja	1197–1222	Biteco Biogas, 2013.
Otpad iz domaćinstva	400–600	Schnurer i Jarvis, 2010.

1.1.11. Dosadašnja istraživanja

Vodene leće mnogi nazivaju „super biljkama“ ili „biljkama budućnosti“ zbog njihovih svojstava koja mogu pridonijeti rješavanju više problema, od pročišćavanja otpadnih voda, proizvodnje hrane, proizvodnje energije do apsorpcije CO_2. Po brzini rasta i prinosu biomase slične su algama, ali za razliku od tehnologije uzgoja jednostaničnih algi koja se susreće sa problemima uzrokovanih nedovoljnom veličinom algi, za primjenu jednostavnih i jeftinih tehnologija, uzgoj vodene leće ne zahtjeva specijalnu i skupu tehnologiju. Povijest uzgoja vodene leće je vrlo duga. U mnogim zemljama Azije postoji duga tradicija korištenja vodene leće kao stočne hrane, ali i kao dodataka ljudskoj ishrani. Mnogi su znanstvenici prepoznali potencijal vodene leće i u zadnjih godina svjedočimo intenziviranju istraživačkih radova na utvrđivanju potencijala vodene leće i pronalaženju tehnoloških postupaka za uzgoj i eksploataciju vodene leće.

Različite vidove eksploatacije ove biljke potaknula su istraživanja koja se mogu podijeliti u četiri osnovne skupine, iako se većinom u istraživanjima preklapa više vidova eksploatacije. Dosadašnja istraživanja dijele se na:

1. istraživanja optimalnih uvjeta rasta vodenih leća,
2. istraživanja vodene leće u svrhu proizvodnje hrane ili krmiva,
3. istraživanja vodene leće u svrhu smanjenja onečišćenja,
4. istraživanja vodene leće u svrhu proizvodnje energije i
5. svemirska istraživanja vodene leće.

1.1.11.1. Istraživanja svojstava i optimalnih uvjeta rasta vodenih leća

U cilju učinkovitog uzgoja različitih vrsta vodene leće, kako u svrhu proizvodnje hrane ili krmiva, tako i u svrhu uzgoja vodenih leća kao energetskih biljaka, mnoga se istraživanja bave utvrđivanjem idealnih uvjeta za uzgoj, odnosno određivanjem ograničenja pri uzgoju.

Mwale i Gwaze (2013.) navode da su vodene leće zabilježene u velikom broju geografskih i klimatskih zona, a većina vrsta ipak najviše naseljava tropska i suptropska područja. Ne rastu jedino u pustinjama bez vode i trajno smrznutim predjelima.

Rusoff i sur. (1980.) utvrđuju morfologiju vodenih leća te bilježe da je kod vrsta vodenih leća morfologija vrlo jednostavna, jer nemaju stabljike niti stvarne listove, obično se sastoje od jednog ili nekoliko ravnih ili ovalnih malih „listova“ promjera 2 mm ili manje za vrste *Wolffia*, 6–8 mm za vrste *Lemna* i čak 20 mm za vrste *Spirodela*. Većina vrsta razmnožava se vegetativnim razmnožavanjem i karakterizira ih brz klonski rast. Biljke kćeri imaju dvije vitice sa svake strane uskog kraja i ostaju vezane za matičnu biljku tijekom početne faze rasta. Neke se vrste razmnožavaju i spolnim putem proizvodeći jednostavne cvjetove i sjemenke. Biljke se skupljaju u kolonijama i na površini vode formiraju zelene prostirke. Sasvim je uobičajeno da se plutajuće kolonije sastoje od više vrsta, npr. *Lemna* i *Wolffia*. Vodene leće imaju sposobnost da se proširuju kada ih vjetar otpuše na mjesta bogata hranjivim tvarima.

Hasan i Chakrabarti (2009.) u svome radu definiraju najpovoljniju temperaturu za uzgoj te navode da temperatura i Sunčeva svjetlost uvjetuju rast, koji je maksimalan između 17,5 °C i 30 ºC. Rast je spor pri niskim temperaturama, a biljke imaju tendenciju da odumiru kada se temperatura vode poveća iznad 35 °C. Pri hladnom vremenu mnoge vrste vodenih leća tvore specijaliziranu škrobnu nakupinu (turion) koja tone na dno ribnjaka gdje ostaje uspavana dok topla voda ponovno ne pokrene novi ciklus normalnog rasta. Vodene leće

imaju širok raspon tolerancije na pH-vrijednost i dobro preživljavaju u rasponu ovih vrijednosti od 5 do 9, iako razine tolerancije zavise o vrsti.

Edvards i sur. (1992.) opisuju da se bujanje algi sprječava onemogućavanjem prodiranja svijetlosti u dublje slojeve vodenog stupca. Autori također navode da se uz vodene leće najčešće razvijaju alge iz porodica *Oscilatoria, Odegonium i Microcystis*. Xu i sur. (2012.) ističu da, kako bi se spriječio rast algi, treba nakon svake berbe ostaviti dovoljan broj biljaka leće, kako bi one u jednom sloju prekrile vodenu površinu. S druge strane, metoda koju opisuju ovi autori negativno se odražava na prinos zelene mase. Naime, ukoliko je u početku vodena površina prekrivena jednim slojem biljaka, nove biljke zasjenjuju stare ili se nove razvijaju u sjeni, a gustoća sklopa je jedan od najvažnijih limitirajućih faktora rasta vodene leće, kao što ističu Driever i sur. (2005.). Xu i sur. (2012.) također uspoređuju prinose biomase alge i vodene leće. Autori zaključuju da alge daju veći prinos u odnosu na vodenu leću, ali su i veći tehnološki i energetski zahtjevi prilikom ubiranja i sušenja algi, te daju prednost uzgoju vodene leće kao buduće energetske biljke.

Dingers (1982.) i Edvards i sur. (1987.) navode da gljivične infekcije značajno inhibiraju rast vodenih leća, da su najčešće uzrokovane gljivicama iz porodice *Mylotheciumom* te da ih je moguće staviti pod kontrolu upotrebom fungicida Thane-45 u dozi 7,5 g fungicida u 5 l vode.

Nasuprot navedenom, Landolt i Kandeler (1987.) upozoravaju na sposobnost vodenih leća zbog koje treba oprezno primijeniti pesticide. Tako, npr. *Lemna minor* može akumulirati i do 1000 puta veću koncentraciju DDT-ja nego što se ona nalazi u vodi na kojoj biljka raste. Zbog te sposobnosti treba voditi računa o dozama pesticida ili drugih štetnih spojeva u uzgoju, ovisno o daljnjoj uporabi uzgojene zelene mase. To se prvenstveno odnosi na uporabu vodene leće kao stočne hrane, ali i pri uporabi za proizvodnju bioplina akumulirani štetni spojevi mogu biti toksični za bakterije neophodne za postupak anaerobne digestije.

Nadalje, Driever i sur. (2005.) ukazuju na ograničenja rasta uslijed prevelikog sklopa i pravovremene intervale branja biljaka. Učinak velike gustoće sklopa na brzinu rasta *Lemna minor* proučavan je u laboratorijskim uvjetima na 23 °C u mediju s dovoljno hranjivih sastojaka. Pri visokoj gustoći sklopa, ustanovljeno je nelinearno smanjenje stope rasta u odnosu na porast *Lemne minor* male gustoće. Gustoća sklopa iznad 180 g suhe tvari po m^2 medija uvjetuje negativnu stopu rasta, dok je pri gustoći od 9 g suhe tvari po m^2 medija ostvarena maksimalna relativna brzina rasta.

Rasponom optimalnih uvjeta za rast bavili su se i Leng i sur. (1995.) koji navode da biljke iz porodice vodenih leća mogu rasti u vodi bilo koje dubine, ali ne mogu preživjeti u brzo pokretnoj vodi (više od 0,3 m s^{-1}) ili vodi izloženoj vjetru.

Culley i sur. (1981.), Wedge i Burris (1982.), Islam i Khondker (1991.), Khondker i sur. (1993.) te Körner i sur. (2001.) u svoji radovima definiraju najpovoljnije uvjete rasta vodenih leća. Svi autori navode da vodene leće mogu preživjeti pri ekstremnim vrijednostima temperature, pH-vrijednosti, vodljivosti, dušika i fosfora. Međutim, vrlo su osjetljive po pitanju visokih prinosa pri definiranju raspona optimalnih zahtjeva.

Mnogi od ranije navedenih autora početne podatke pronašli su u istraživanjima Hogdsona (1970.) koji u svom radu iznosi određivanje idealnih uvjeta rasta vodene leće. Utjecaji temperature na rast i razvoj *Lemne minor* na otvorenom proučavani su na istoku Škotske, pomoću četiri vodene kupelji konstruirane za održavanje konstantnih temperatura vode od 12,5 °C, 17,5 °C, 22,5 °C i 27,5 °C. Na početku svakog pokusa, za sve temperaturne tretmane, postavljeno je 134 listića ove vrste u svaki od šest spremnika. Izmjerene su mase korijena i listova zajedno s površinom lista u početnim i završnim uzorcima za izračunavanje tjedne vrijednosti neto asimilacijske stope, omjera površine lista i relativne stope rasta. Rezultati pokazuju da je optimalna temperatura 17,5 °C, iako razlika prirasta pri 12,5 °C i 17,5 °C nije bila značajna. Veće temperature (22,5 °C i 27,5 °C) imaju značajan negativan utjecaj na rast ove vrste vodene leće.

Vegetativno razmnožavanje vodenih leća istražuju Ashbey (1949.), Wangermann (1950.) te Barks i Laird (2015.). Navedeni autori preporučuju minimalno trajanje uzgojnog pokusa od 4 do 6 tjedana. Barks i Laird (2015.) navode da se cikličke promjene u rastu pojavljuju zbog udjela starih odnosno mladih biljaka u koloniji. Kada u koloniji prevladavaju starije biljke, dolazi do smanjivanja veličine novih biljaka. Nasuprot tome, kada u koloniji prevladaju mlade biljke, veličina i broj biljaka se povećavaju. Ovisno o uvjetima rasta ovi ciklusi traju od 4 do 6 tjedana, a razlike u veličini biljaka mogu biti do 30 %.

Landolt i Kandeler (1987.) te Michel i sur. (2020.) ističu utjecaj osvjetljenja na uzgoj vodenih leća odnosno da je nužan određeni minimalni intenzitet osvjetljenja za njihov rast, koji ovisi o vrsti leće.

Vidaković i sur. (2013.) istražuju utjecaj različitih vrsta osvjetljenja na rast *Lemne minor*. Biljke su uzgajane 14 dana u dvije supkulture, na dvjema različitim hranjivim podlogama i pri dvije vrste rasvjete. Tip rasvjete značajnije utječe na rezultate nego sastav hranjive podloge. Tako su broja biljaka, masa svježe tvari te broj kolonija kao i ukupna

površina biljaka bili veći pri fluorescentnoj rasvjeti. Na sadržaj bjelančevina veći učinak ima sastav hranjive podloge. Prema rezultatima autora može se zaključiti da je tijekom pokusa rast bio bolji kod biljaka uzgajanih na fluorescentnoj rasvjeti, dok je fotosintetska učinkovitost bila veća kod biljaka uzgajanih pri LED rasvjeti.

Utjecaj dnevnih oscilacija temperature na brzinu rasta Lemne minor ispituje Novich (2012.). Autorica u svome radu opisuje učinke globalnih klimatskih promjena na stanovništvo, a koji se mogu bolje razumjeti kada se u obzir uključi i varijabilnost okoliša. Postoje snažni teorijski dokazi koji podupiru ideju da fluktuacije okoliša imaju značajan utjecaj na ekološke sustave. U svome radu autorica prati brzinu rasta *Lemna minor* pri konstantnim temperaturama i daje predviđanja o tome kako će *Lemna minor* reagirati na fluktuirajuće temperature na temelju ovog modela. Četiri ispitivanja uspoređuju razliku između stopa rasta pri konstantnim i fluktuirajućim temperaturama kako bi se provjerila predviđanja. Rezultati pokazuju da se samo tretman visokih temperatura s fluktuacijama sinusnih valova značajno podudara s predviđanjima, što može biti posljedica jednostavnosti samog modela predviđanja. Njeni rezultati sugeriraju izradu složenijeg modela u cilju potpunijeg opisa reakcije populacija vodene leće na promjenjivost okoliša.

Cheng i sur. (2002.) u svome istraživanju navode da prirast suhe tvari vodene leće može biti 29 g m^{-2} svaka 2 dana. Preračunato to iznosi 106 t ha^{-1} suhe tvari godišnje, dok kukuruz kao tradicionalna energetska biljka daje 7,85 t/ha^{-1} suhe tvari godišnje. Ciereszko i Barbachowska (2000.) iznose zaključak da nedostatak hranjiva u vodi uvjetuje nakupljanje škroba u stanicama, a ranija istraživanja McLaren i Smith (1976.) navode da se sadržaj škroba u vodenoj leći *Lemna minor* može značajno povećati manipuliranjem uzgojnim uvjetima kao što su pH-vrijednosti, koncentracija fosfata i drugih hranjiva.

1.1.11.2. Istraživanja vodenih leća u svrhu proizvodnje hrane ili krmiva

Ova istraživanja dijele se na istraživanja vezana na proizvodnju hrane za ljude i proizvodnju hrane za životinje. Vodena leća u ishrani ljudi u zapadnom svijetu je nepoznata, ali u južnoj i jugoistočnoj Aziji postoji duga tradicija korištenja određenih vrsta vodene leće u ishrani ljudi. Vodena leća kao hrana za životinje najširu i najdužu tradiciju također ima u zemljama jugoistočne Azije, gdje se koristi za uzgoj svinja, peradi i slatkovodnih riba. U ruralnim regijama tih zemalja čest je integralni uzgoj svinja, vodene leće i šarana.

Mwale i Gwaze (2013.) navode u svome radu da je vodena leća vrlo konkurentan izvor bjelančevina u hranidbi pilića, te da se preporučuje kao dodatak u hranidbi do razine 6 %.

Rusoff i sur. (1980.) bavili su se istraživanjem vodene leće kao dodatku ishrani ljudi, te iznose zaključak i preporuku da se vodene leće koriste kao proteinski koncentrirani dodatak ishrani u uvjetima prehrane bazirane na riži i kukuruzu. U radu iznose podatke o sadržaju proteina u suhoj tvari u trasponu 25,2 do 36,5 %, te opisuju metodu ekstrakcije kojom povećavaju koncentraciju proteina do 44,7 %.

Hasan i Chakrabarti (2009.) u svome radu daju globalan pregled uporabe različitih vrsta vodenih biljaka pogotovo od strane malih poljoprivrednika. Makrofite dijele na plutajuće, potopljeneje i emergentne. Među njima značajno mjesto zauzimaju vodene leće. Rad pokriva aspekte koji se odnose na tehnike uzgoja vodenih leća i tehnike prerade u svrhu korištenja kao hrane za ciljane vrste riba te daje informacije o kemijskom sastavu različitih vrsta vodenih leća, njihovoj klasifikaciji, zemljopisnoj distribuciji i zahtjevima za okoliš.

Vodene leće kao izvora hrane za ljude ispituju i Bhanthumnavin i McGarry (1971.). Oni iznose podatak da se jedna od najmanjih vrsta vodene leće (*Wolffia arrhiza*) generacijama koristila kao hranjivo povrće u Burmi, Laosu i Tajlandu te da ju u tim zemljama još nazivaju vodenim jajima.

Čitav niz autora u 1970-tim godinama bavi se vodenom lećom kao krmivom najčešće u području jugoistočne Azije, a zajedničko svim tim radovima je da navode da u mnogim dijelovima svijeta vodenu leću konzumiraju domaće i divlje ptice, ribe, životinje biljojedi i ljudi (Boyd, 1968., Culley i Epps, 1973., Chang i sur., 1977., Rusoff i sur., 1977., Rusoff i sur., 1978.).

Nešto novija istraživanja bave se kemijskim sastavom vodenih leća te mogućnošću apsorpcije hranjivih tvari iz vode. Veliku pažnju vodene leće privlače zbog visokog udjela bjelančevina i brzog nakupljanja biomase u usporedbi s biljkama koje rastu na tlu te sposobnosti apsorpcije hranjivih i drugih kemikalija (Skillicorn i sur., 1993., Iqbal, 1999., Hasan i Chakrabarti, 2009., Mwale i Gwaze, 2013.).

Izvor bjelančevina u vodenoj leći istraživuju autori Mwale i Gwaze (2013.) te Islam (2002.) koji zaključuju da vodene leće mogu vrlo brzo rasti u malim ribnjacima, jarcima ili močvarama gdje mogu izlučiti velike količine hranjivih sastojaka što biljku čini potencijalnim izvorom bjelančevina za ljude i stoku, a prije svega za perad i ribu.

Mwale i Gwaze (2013.) te Holshof i sur. (2009.) istražuju mogućnosti skladištenja zelene mase vodene leće, koja zbog visokog sadržaja vode (92–95 %) i prilikom berbe velike specifične težine, predstavlja kabastu i brzo pokvarljivu masu. Zbog toga ju je nužno sušiti ukoliko se ne koristi u svježem stanju. Postupak sušenja može biti preskup i neizvodiv,

posebno za male poljoprivrednike. Holshof i sur. (2009.) zaključuju da je potrebno minimalno 30 sati sušenja na 40 °C da bi se vlaga smanjila sa 95 % na 10 %. Stoga preporučuju prirodne ili manje skupe metode (sušenje na suncu i sušenje zrakom). Takvi načini sušenja ne bi trebali smanjiti razinu karotena i ksantofila u biljci, koja je poželjna u sastavu vodene leće namijenjene ishrani životinja.

Cross (1994.) ispituje kombinirani uzgoj vodene leće sa svrhom pročišćavanja otpadnih voda i proizvodnje stočne hrane. Vodene leće su visoko produktivne biljke i po svojoj produktivnosti bliže su onoj algi nego kod nekih drugih viših biljaka. Vodene leće mogu udvostručiti svoju masu svakih 16 do 48 sati u uvjetima optimalne dostupnosti hranjivih tvari, Sunčevog svjetla i temperature vode. Ova svojstva nude velike potencijale i mogućnosti za kombinirani uzgoj vodene leće pri pročišćavanju otpadnih voda i proizvodnji stočne hrane.

Sustavi akvakulture mnogo su produktivniji od klasične poljoprivrede i mogu značajno povećati proizvodnju bjelančevina u odnosu na klasičnu poljoprivredu u pretvorbi ugljikohidrata u bjelančevine kroz standardnu stočarsku ili peradarsku proizvodnju, kako navode Skilicorn i sur. (1993.). Kao i većina vodenih biljaka, vodene leće imaju visoki udio vode, ali njihova suha tvar ima približno istu količinu i kvalitetu bjelančevina kao i sojin obrok. Autori iznose zaključak da je proizvodnja ribe hranjene vodenom lećom značajno produktivnija i lakša za upravljanje od tradicionalnih procesa uzgoja riba u ribnjaku, te bi takvi rezultati mogli utjecati na povećanje rasprostranjenosti vodenih leća i prihvaćanja statusa komercijalnog usjeva.

1.1.11.3. Istraživanja vodenih leća u svrhu smanjenja onečišćenja otpadnih voda

Zbog visokog sadržaja makro- i mikro-minerala u vodenoj leći, koji može biti i do nekoliko stotina puta veći nego u vodi, ove biljke se mogu koristiti kao vrlo učinkovit filter za pročišćavanje otpadnih voda.

Utjecaj vodenih leća uzgajanih na otpadnim vodama ispituje Kesaano (2011.) te navodi da se uporaba vodene leće, kao opcije uklanjanja hranjivih tvari u komunalnim otpadnim vodama, može ostvariti samo redovnom berbom biljaka. Rezultat je biomasa bogata hranjivim sastojcima za koju je potrebno učinkovito upravljanje i zbrinjavanje. Autor razmatra tri alternativne mogućnosti upravljanja biomasom koje bi učinile sustave uklanjanja hranjivih sastojaka utemeljenih na vodenoj leći održivim i prihvatljivim za male zajednice. Opcije su uključivale: uporabu prikupljene biomase vodene leće kao sirovine za

hranu životinjama, anaerobnu digestiju za proizvodnju metana i digestiju biomase za proizvodnju etanola. Vodena leća je, u tim ispitivanjima, sadržavala 21–38 % sirovih bjelančevina, 94–96 % vode, 78,5 % organske tvari i manje od 10 % škroba. Učinak digestora pokazao je prinos od 178,4 l do 164,2 l metana za svakih 159 l zelene mase s udjelom metana od 67,1 do 62,5 %. Uočeni prinos proizvodnje etanola bio je energetski manji od proizvodnje metana. Stoga autor daje uputu da je najracionalnije gospodarenje vodenom lećom za male zajednice putem anaerobne digestije, jer se dobiva izvor energije, a istovremeno se digestat može koristiti kao organsko gnojivo visoke kvalitete.

Ozengin i Elmaci (2007.) istražuju uklanjanje ukupnog dušika iz otpadnih voda te daju podatak da je uporabom vodene leće smanjen sadržaj ukupnog dušika u otpadnim vodama za 86,49 % u roku od 48 sati.

Leng i sur. (1995.) također navode da vodene leće imaju visoku sposobnost apsorpcije minerala, da podnose veliko organsko opterećenje i kao takve se mogu koristiti za obradu otpadnih voda te uklanjanje onečišćenja iz nje.

Oron (1994.) provodi istraživanje na otvorenom, u plitkim lagunama (20 i 30 cm dubine) kako bi procijenio učinkovitost vodene leće vrste *Lemna gibba* kao pročistača kućnih otpadnih voda. Utvrđuje da u odgovarajućim uvjetima kvaliteta sekundarnih otpadnih voda zadovoljava kriterije vode za navodnjavanje. Godišnji prinos suhe tvari tako uzgojene vodene leće, sakupljane dva do tri puta tjedno, iznosio oko 55 t ha^{-1}, s udjelom bjelančevina od 30 %. Stoga se amonijak iz otpadnih voda pomoću vodene leće pretvara u vrijednu biomasu bogatu bjelančevinama, koja se nakon toga može uporabiti za stočnu hranu ili gnojidbu poljoprivrednih usjeva. Ekonomska korist dodatnog sporednog proizvoda biomase smanjuje rashode otpadnih voda u rasponu od 0,020 do 0,050 USD po svakom obrađenom m^3 otpadne vode.

Korištenje vodenih makrofita, kao što je vodena leća, u tretmanu otpadnih voda privuklo je globalnu pozornost posljednjih godina, pa tako i Van der Steena i sur. (1999.) provode istraživanje o naknadnoj obradi otpadnih voda iz pročistača kućne kanalizacije, provedenom u integriranom sustavu laguna. Sustav se sastojao od niza plitkih kanala i bazena za stabilizaciju. Glavni cilj naknadnog tretmana bio je uklanjanje bakterijskih patogena i daljnje poboljšanje kakvoće otpadnih voda. U plitkim stabilizacijskim bazenima može se postići brzo i učinkovito uklanjanje patogena. U tu svrhu testirano je pilot postrojenje s ukupnim vremenom zadržavanja od 4,2 dana. Ovaj sustav sastojao se od 10 laguna u nizu, raspoređenih u tri stupnja. Prva faza sastojala se od dvije lagune s vodenim

lećama, druga faza od tri lagune za stabilizaciju i treća faza od pet laguna ponovno s vodenom lećom. Zasjenjivanje vodene površine u posljednjoj fazi pokazuje da vodena leća može ukloniti praktički sve alge. Stoga je postignuta izvrsna kvaliteta otpadnih voda. Dokazano je da se proizvodnja biomase i obrada otpadnih voda za ponovnu uporabu u navodnjavanju može postići u jednom jednostavnom sustavu.

Čitav se niz autora bavi sličnom tematikom i izvodi slične zaključke. Tako Koles i sur. (1987.), Oron i sur. (1986.), Landolt i Kandeler (1987.) te Gijzen (1997.) navode da vodena leća odumire pri koncentracijama amonijskog dušika iznad 50 mg l^{-1}, da je prilagodljiva širokom rasponu geografskih i klimatskih zona, da raste na zagađenoj i slanoj vodi te eutotrofnim vodama. Osim toga, u usporedbi sa ostalim vodenim biljkama vodena leća je manje osjetljiva na fluktuacije pH-vrijednosti, bolesti i ima visok kapacitet za apsorpciju hranjivih tvari te da je prilagodljiva različitim izvorima otpadnih materijala kao što su digestat, gnojovka, gradski otpad i kuhinjski otpad, čime je potencijalno pogodna vrsta za regeneraciju otpadnih voda iz digestora.

Landesman i sur. (2005.) u svome radu opisuju mogućnost uklanjanja nutrijenata iz svinjske gnojovke te iznose zaključak da vrste vodenih leća iz rodova *Lemna, Spirodela, Landoltia* i *Wolffia* mogu biti uzgajane na otpadnim vodama svinjogojske farme te proizvoditi bjelančevine šest do deset puta brže od soje zasađene na usporedivoj površini. Sličnom temom bave se i Cheng i sur. (2002.) koji također dokazuju uspješno uklanjanje dušika iz gnojnice.

Iqbal (1999.) u svom radu upozorava da je nedjelotvornost suvremenog komunalnog gospodarenja čvrstim otpadom kulminirala te da je izvorište brojnih zdravstvenih i ekoloških problema, kao što su kolera i zagađenje vode.

1.1.11.4. Istraživanja vodenih leća u svrhu proizvodnje energije

Povećanje cijena energenata, strategije održivog razvoja i subvencioniranje obnovljive energije potaknuli su posljednjih godina istraživanja s ciljem utvrđivanja potencijala uzgoja i pronalaženje tehnologija za eksploataciju različitih vrsta vodene leće. Kao i u prethodnoj skupini istraživanja, i u ovim istraživanjima važan segment su ograničenja pri uzgoju te utvrđivanje različitih utjecaja na rast biljaka.

Cui i Cheng (2014.) navode da se vodene leće mogu koristiti za proizvodnju etanola, butanola, bioplina te zaključuju da su ove biljke obećavajući alternativni izvori energije u cilju smanjenja ovisnosti o fosilnim gorivima. Ranije, Xu i sur. (2012.) navode da vodene

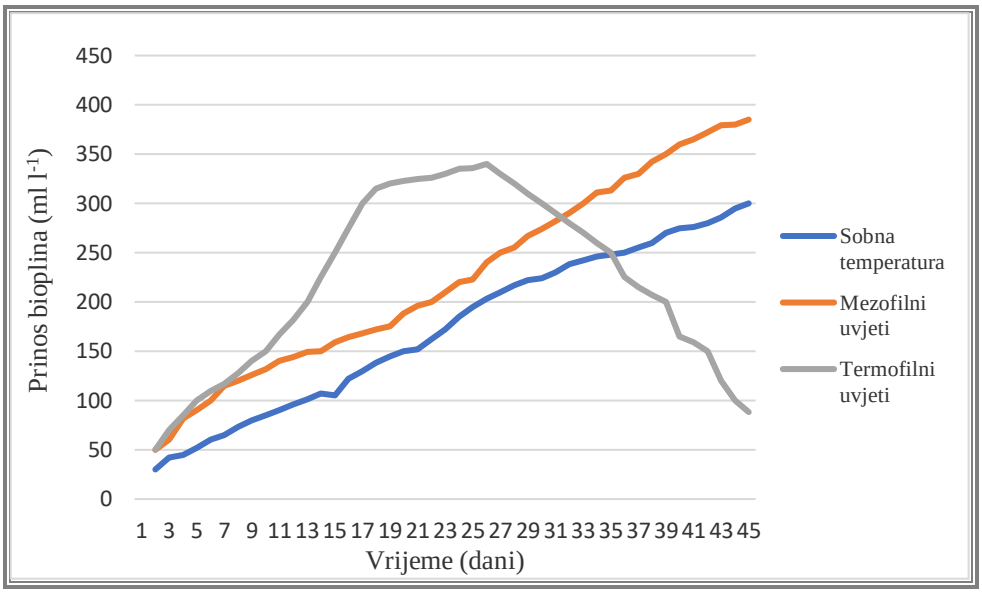
leće daju znatno veći prinos bioplina od većine drugih energetskih biljaka. Uzgojem na otpadnim vodama ostvarili su prinos od 105,9 t h^{-1} godišnje uz udio od 8 % suhe tvari te zaključuju da se proizvodnja etanola od vodene leće može ostvariti u postrojenjima izvorno namijenjenim proizvodnji etanola iz kukuruza.

Ramaraj i Unpaprom (2016.) u svom istraživanju procjenjuju djelovanje temperature digestora na učinkovitost proizvodnje bioplina. Proces anaerobne digestije jedna je od tehnologija koja se koristi za proizvodnju energije. Biomasa vodenih biljaka pojavila se kao alternativa za proizvodnju obnovljivih goriva poput bioplina. Temperatura digestora jedan je, u odnosu na stopu proizvodnje bioplina, od najkritičnijih čimbenika za ekonomski isplativ rad postrojenja. Istraživanje je obavljeno u šaržnim reaktorima volumena 2 litre pri tri temperaturna režima. Pri sobnoj temperaturi (25 °C), mezofilnim uvjetima (35 °C) i termofilnim uvjetima (50 °C) u trajanju od 45 dana. Reaktori su se svakodnevno protresali kako bi se spriječilo stvaranje površinske kore koja može nastati i spriječiti kontakt mikroorganizama i supstrata. Rezultati pokazuju kako je pri 35 °C proizvedeno najviše bioplina i najveća koncentracija metana (64,47 %). U termofilneim uvjetima (50 °C) reaktori su proizveli manje bioplina i manje metana, a najmanji je učinak ostvaren kod reaktora pri sobnoj temperaturi. Pri mezofilnim uvjetima, ostvaren je oko 4 % veći prinos bioplina u odnosu na termofilne uvjete, što je vidljivo iz Tablice 9. i na Grafikonu 1.

Tablica 9. Utjecaj temperature digestije na proizvodnju bioplina

Uvjeti digestije	Temperatura (°C)	Proizvodnja bioplina (ml l^{-1})
Sobna temperatura	25°C	7.863,69 ml l^{-1}
Mezofilni uvjeti	35°C	1.0376,59 ml l^{-1}
Termofilni uvjeti	55°C	9.981,08 ml l^{-1}

(Izvor: Ramaraj i Unpaprom, 2016.)



Grafikon 1. Utjecaj temperature digestije na proizvodnju bioplina
(Izvor: Ramaraj i Unpaprom, 2016.)

U literaturi je opisano više istraživanja provedbe anaerobne digestije vodene leće, te se uglavnom navode mješavine gnojovke i leće u raznim omjerima. Triscari i sur. (2009.) iznose da je anaerobna digestija postala široko raširena metoda pročišćavanja otpadnih voda i gnoja dobivenih iz stočarske proizvodnje. Povećanje proizvodnje bioplina u anaerobnim digesterima, dodavanjem uobičajeno dostupne i nedovoljno korištene biomase, moglo bi pogodovati održivosti anaerobnih digestora na farmama. Vodena leća je uobičajena vodena biljka koja agresivno raste u ribnjacima, lagunama i drugim vodenim površinama koje prihvaćaju slivne vode iz poljoprivrednih površina. Kao takva, vodena leća je lako dostupna biomasa koja se lako može dodati anaerobnim digestorima na farmama. Stoga su istraživanja imala za cilj utvrditi može li se proizvodnja bioplina (metana) povećati digestijom vodene leće (npr. *Landoltia punctata*). Povećanje proizvodnje bioplina i brzina postizanja vršne proizvodnje bioplina ocjenjivani su u serijskim neprekidno miješanim reaktorima na 35 °C. Goveđoj gnojovci dodavane su različite koncentracije vodene leće, a proizvodnja plina praćena je 20–40 dana. Rezultati pokazuju da je dodavanje vodene leće, u rasponu od 0,5 do 2 % (suhe tvari), povećalo proizvodnju metana i ukupnu proizvodnju bioplina. Autori ističu da je dodavanje 2 % praha suhe tvari vodene leće povećalo proizvodnju bioplina za čak 44 % u odnosu na uzorak čiste goveđe gnojovke.

Huang i sur. (2013.) u svom istraživanju miješaju vodenu leću sa svinjskom gnojovkom u omjeru 1:1 i povećavaju proizvodnju bioplina za 63,2 % u odnosu na čistu

gnojovku, dok su Gaur i Suthar (2017.) istražuju proces digestije mješavine vodene leće i otpadnog mulja u omjerima 70:20 i 60:40.

Kovacs i sur. (2013.) navode kako je općenito prihvaćena činjenica tehnologije proizvodnje bioplina da treba izbjegavati supstrate biomase bogate bjelančevinama zbog neizbježne inhibicije procesa, iako sirovine bogate bjelančevinama imaju izvanredan potencijal stvaranja bioplina. Karlsson i sur. (2014.) u svom istraživanju također upozoravaju da sirovine bogate bjelančevinama imaju visok potencijal stvaranja bioplina, međutim takve sirovine često su povezane s poremećajem procesa. Većina poremećaja povezana je s povećanjem koncentracije amonijaka i povećanjem pH-vrijednosti, što stvara toksične uvjete za pravilan rast i razmnožavanje mikroorganizama (Hansen i sur., 1998.). Prilagodba vodene leće na povišenu koncentraciju amonijaka je moguća, ali zahtjeva određeno vrijeme koje ovisi o koncentraciji amonijaka i iznosi od nekoliko dana do nekoliko tjedana (Schnurer i Jarvis, 2010.).

Promjena kemijskog sastava vodenih leća s obzirom na uvjete rasta, dobro je istražena i opisana u literaturi. Većina autora, koji su se bavili istraživanjima vezanim za uzgoj vodenih leća kao energetskih biljaka, manipulaciju uzgojnih uvjeta istražuje upravo s ciljem povećanja sadržaja ugljikohidrata u zamjenu za bjelančevine, dok su istraživanja, koja su provođena s ciljem uzgoja vodene leće kao krmiva, išla su u suprotnom smjeru.

Cui i sur. (2011.) istražuju mogućnosti uzgoja vrste *Spirodela polyrhiza* te iznose rezultate da su biljke uzgojene na 5 °C imale 114 % više škroba od onih uzgojenih na 25 °C. Poboljšanje kemijskog sastava vodenih leća bio je interes Chenga i Stompa (2009.) koji istražuju mogućnosti manipuliranja uvjetima rasta u uzgoju iste vrste vodene leće u svrhu povećanja sadržaja škroba. Jednostavnim postupkom prebacivanja vrste *Spirodela polyrhiza* iz otopine bogate hranjivim tvarima na vodovodnu vodu tijekom pet dana, sadržaj škroba se povećao s 20 % na 45,8 % (u suhoj tvari). Slični se učinci postižu i snižavanjem temperature otopine (bez prebacivanja leće u drugu otopinu). Postoje razni načini manipulacije uvjetima rasta u uzgoju vodenih leća, a zajedničko je svima da se u jednoj fazi rasta nekoliko dana prije branja vodena leća podvrgne jednom od nepovoljnih uvjeta rasta (izgladnjivanje, niska temperatura, manje osvjetljenje). Kombinirajući različite utjecaje Xiao i sur. (2013.) uspijevaju postići 52,9 % škroba u suhoj tvari vodene leće. Većina autora u svojim radovima dodatno navodi da se uslijed rasta u nešto nepovoljnijim uvjetima ukupna zelena masa smanjuje, ali se apsolutna količina škroba povećava. Tako McLaren i Smith (1976.) navode da se nakon šest dana izloženosti inhibitorskim uvjetima zelena masa smanjila za oko 60 %,

ali se u isto vrijeme ukupan sadržaj škroba povećao za 220 %. Sadržaj škroba značajno pogoduje preradi vodene leće u bioetanol, ali i proizvodnji bioplina, pa je škrobom bogata sirovina poželjnija od one bogate bjelančevinama (Kovacs i sur., 2013.).

Strom (2010.) u svom istraživanju uspoređuje tretman komunalnih otpadnih voda različitim vrstama vodenih biljaka (vodeni zumbul, vodena leća, alga) te potencijal proizvodnje bioplina od istih biljaka. Iznosi zaključak da je od svih vodenih biljaka korištenih u obradi otpadnih voda najbolje rezultate ostvarila *Lemna minor* koja je apsorbirala 2 g ukupnog dušika po m^2 uzgojne površine na dan. *Lemna minor* ostvarila je i najveći prinos bioplina od svih promatranih vodenih biljaka.

Yadav i sur. (2017.) ukazuju na probleme lignocelulozne staničnih zidnih stijenki pri postupku anaerobne digestije te daju rezultate kemijskih analiza vodenih leća koje su vrlo povoljne za proizvodnu bioplina. Također navode da zbog kompliciranе strukture lignocelulozne biljne stijenke, biljke s visokim udjelom lignocelulozne strukture nisu široko prihvaćene kao sirovina za proizvodnju bioplina anaerobnom digestijom. Alternativa tome je korištenje vodenih biljnih materijala kao sirovine za proizvodnju bioplina. U tom kontekstu vodena leća može se pokazati kao obećavajući novi izvor energije za bioenergiju. Analiza svojstva *Lemne minor* pokazuje da isparljiva tvar vodene leće iznosi 84,44 ± 0,2 % sa sadržajem lignina 12,2 %, što je vrlo ohrabrujuće za proizvodnju bioplina. Kodigestacija vodene leće (DW) s goveđim gnojem (CD) u različitim omjerima (90:10, 75:25, 50:50), u anaerobnim šaržnim digestorima, provedena je na temperaturi od 37 °C u trajanju od 55 dana. Otkriveno je da je kumulativna proizvodnja bioplina za CD (100 %), DW/CD (90:10), (75:25) i (50:50) iznosila 11.620, 11.305, 11.695 i 12.070 ml, što ukazuje na to da vodena leća može biti potencijalna lignocelulozna sirovina ako se miješa s goveđim gnojem u optimalnom omjeru (1:1). Koncentracija metana u bioplinu iz kodigestirane sirovine usporediva je s onom bioplina iz čiste goveđe gnojovke.

Da je vodena leća dobra dopunska sirovina u proizvodnji bioplina dokazali su Clark i Hillman (1996.) koji zaključuju da je vodena leća lako dostupna biomasa i predstavlja vrlo dobru dopunsku sirovinu za proizvodnju bioplina. U laboratorijskim anaerobnim digestorima, koristeći vodenu leću kao dodatnu sirovinu i koristeći polu-kontinuirane digestore, autori bilježe povećanje proizvodnje plina za oko 44 %. Istražuju i odnos između postignute razine poboljšanja i razdoblja zadržavanja digestora. Ispitivanja pokazuju da je na šaržnim digestorima obogaćena gnojovka vodenom lećom značajno poboljšala brzinu

razvoja mikroorganizama. Uzorcima koji nisu obogaćeni vodenom lećom trebalo je 40 dana da dosegnu vrhunsku proizvodnju metana u odnosu na 15 dana uz dodanu vodenu leću.

Ogunwande i sur. (2018.) ispituju prinos plina kod primjene *Lemne minor* i *Eichhornie crassipes* (vodeni zumbul) kao sirovine za fermentaciju. Rezultati pokusa proizvodnje bioplina pokazuju da je *Lemna minor* značajno povoljnija sirovina za proizvodnju bioplina u odnosu na vodeni zumbul.

Zhao i sur. (2012.) ispituju vodenu leću kao izvorom biomase za proizvodnju energije. Autori navode da su vodene leće vodene biljke koje se brzo razmnožavaju i imaju potencijal za dekontaminaciju tokova otpadnih voda iz prerade hrane, a također imaju i mali sadržaj lignina. Stoga bi mogle pružiti pogodan izvor biomase za pretvaranje u biogoriva. U svom radu navode da biomasa vodene leće može biti enzimski saharificirana za proizvodnju glukoze i drugih šećera koji potiču iz staničnih zidova koji bi se digestijom mogli pretvoriti u etanol ili iskoristiti kao kemikalije u industrijskoj proizvodnji. Enzimska probavljivost ispitana je na preparatima staničnih zidova vodene leće obrađenima u alkoholu, koji su netopivi u vodi. Unutar njih glukoza čini 25,4 % (suha tvar), koja je nastala iz celuloze i neceluloznih glukana, uključujući škrob.

Cui i sur. (2011.) istražuju mogućnosti uzgoja vrste *Spirodela polyrhiza* te iznose rezultate da su biljke uzgojene na 5 °C imale 114 % više škroba od onih uzgojenih na 25 °C. Veća količina svjetla s nižim temperaturama povećava sadržaj škroba. Uzgoj vodene leće s visokim udjelom škroba u svrhu proizvodnje bioetanola ispitan je kao nova tehnologija za dopunu proizvodnje etanola na bazi kukuruza. U jesenskim klimatskim uvjetima Sjeverne Karoline, stopa akumulacije biomase suhe tvari ove vrste vodene leće uzgojene u ribnjaku uz korištenje razrijeđene svinjske gnojovke bila je 12,4 g m^{-2} dan^{-1}. Jednostavnim prijenosom biljaka u bunarsku vodu u trajanju od 10 dana, sadržaj škroba povećao se za 64,9 %, što je rezultiralo visokim godišnjim prinosom škroba od 970,23 kg ha^{-1}. Nakon enzimske hidrolize i digestije biomase vodene leće s visokim udjelom škroba u digestoru postignuto je 94,7 % od maksimalne teoretske pretvorbe škroba. Prinos etanola od vodene leće dostigao je 661,26 l ha^{-1}, što je oko 50 % više od proizvodnje etanola na bazi kukuruza, a što vodenu leću čini konkurentnim izvorom škroba za proizvodnju etanola.

Poboljšanje kemijskog sastava vodenih leća bio je interes Chenga i Stompa (2009.) koji istražuju mogućnosti manipuliranja u uzgoju vrste *Spirodela polyrhiza* u svrhu povećanja sadržaja škroba. Prebacivanjem ove vrste iz bogate otopine na destiliranu vodu količina škroba se povećava s oko 20 % na oko 45,8 % u roku od 5 dana. Vodene leće su

vodene biljke koje plutaju i koje ne samo da imaju mogućnost pročišćavanja otpadnih voda, već se smatraju i potencijalnim energetskim usjevima, koje se zbog svoje izvrsne sposobnosti rasta i akumulacije škroba mogu iskoristiti za proizvodnju bioetanola. Sadržaj škroba u vodenoj leći može se povećati manipulacijom uvjeta rasta, uključujući intenzitet svjetla, fotoperiod, temperaturu, pH-vrijednost i razinu hranjivih tvari u mediju za uzgoj. Lokalna vrsta vodene leće *Spirodela polyrrhiza* pokazuje u Sjevernoj Karolini veliki potencijal za proizvodnju škroba. Uzgajana je na otpadnim lagunama koje su bogate hranjivim sastojcima. Istraženi su utjecaji temperature, razine hranjivih sastojaka i fotoperioda na sadržaj škroba u biljci. Rezultati pokazuju da se, smanjenjem temperature s 25 °C na 5 °C, sadržaj škroba u biljci znatno povećao. Uz uklanjanje hranjivih sastojaka, sadržaj škroba mogao bi se povećati za 59,3 % u roku od četiri dana pri temperaturi uzgoja od 5 °C. Fotoperiodni test je također pokazuje da duži fotoperiodie pogoduju akumulaciji škroba u biljkama.

Xiao i sur. (2013.) postižu najveći sadržaj škroba u vodenoj leći od 52,9 %. Vodene leće su nova bioenergetska kultura s velikim potencijalom za akumuliranje škroba. Tri uvjeta za uzgojnu površinu koja utječu na povećanje akumuliranja škroba su sklop, učestalost ubiranja i opskrba hranjivim tvarima. Različite učestalosti ubiranja rezultiraju različitim stopama rasta. Međutim, njihova biomasa ima gotovo isti sastav. Dodatak CaO ili mikro--elemenata dramatično povećava rast vodene leće. U vodi u ribnjaku bez opskrbe mineralima, vodena leća postiže najveći udio škroba od 52,9 % s najnižom stopom rasta, što je najveći sadržaj škroba u vodenoj leći zabilježen u literaturi. Sadržaj škroba negativno je povezan sa stopom rasta, sadržajima bjelančevina i fosfora, što upućuje na zaključak da se visoka stopa rasta i visok sadržaj škroba u vodenim lećama teško mogu istovremeno postići. Prema ovoj sustavnoj studiji, predložen je operativni postupak za skupljanje vodene leće s visokim škrobom, što je otvorilo put širokoj eksploataciji i primjeni vodene leće u bioenergiji i hrani za životinje.

1.1.11.5. Svemirska istraživanja vodenih leća

Tvrdnju da su vodene leće „super biljke“ ili „biljke budućnosti“ potvrđuju svemirska istraživanja. Kronološki gledano, ova istraživanja su najnovija, iako neki podaci navode da se još ranih 1980-tih godina prošlog stoljeća NASA bavila istraživanjima iskorištavanja vodene leće u eventualnim lunarnim bazama.

Bluem i Paris (2001.) u svome članku navode da se većina bioregenerativnih sustava za održavanje života u svemirskim istraživanjima zasniva na gravitacijskim postrojenjima, jer većina biljaka pokazuju poremećaje rasta i stvaranja sjemena u uvjetima mikro- - gravitacije. Čak i kada bi se biljke koristile za rast u lunarnoj ili marsovskoj bazi, smanjena gravitacija inducirala bi smanjenu produktivnost u odnosu na gravitaciju Zemlje. Jedan od pogodnih kandidata za rast u uvjetima mikro-gravitacije je i vrsta vodene leće *Wolffia arrhiza* iz razloga minimalnog negativnog utjecaja na rast i razmnožavanje biljaka.

Yuan i Xu (2016.) daju preciznije podatke o tome da se vodene leće smatraju jednom od najatraktivnijih vrsta viših biljaka u ispunjenju zahtjeva za održavanje života posade u svemirskim misijama. Dvije vrste vodenih leća, *Lemna aequinoctialis* i *Wolffia globosa,* usporedno su proučavane s naglaskom na učinke simuliranih uvjeta mikro-gravitacije. Primijećeno je značajno povećanje relativne stope rasta biljaka u simuliranim uvjetima mikrogravitacije, prosječno 32 % zavrstu *Lemna aequinoctialis* i 12 % za vrstu *Wolffia globosa* u odnosu na kontrolu. Sadržaj škroba značajno je veći u uvjetima mikro-gravitacije kod vrste *Lemna aequinoctialis,* dok je sadržaj škroba kod vrste *Wolffia globosa* u uvjetima mikrogravitacije bio stabilan. Zaključak je da, uzimajući u obzir rast, promjene u strukturi i sadržaju škroba, simulirani uvjeti mikro-gravitacije nemaju značajan štetni utjecaj na rast promatranih vrsta vodene leće.

Escobar i Escobar (2017.) u svom radu navode poželjne karakteristike biljaka za svemirska istraživanja. Jedne od najatraktivnijih viših biljaka za dugotrajnu životnu podršku u svemirskim istraživanjima su biljke iz porodice vodenih leća. Navedeno potvrđuju sljedeće činjenice: preferirano unošenje amonijaka kao izvora dušika (što ih čini privlačnim za preradu otpada), brz i ujednačen rast vegetativnim pupoljkom (neograničena nespolna proizvodnja), mogućnost rasta u širokom rasponu uvjeta (temperatura, opterećenje hranjivim tvarima, ravnoteža hranjivih tvari i pH-vrijednost), sposobnost rasta na tankim filmovima vode (što omogućuje veće područje rasta u manjem volumenu), 100 % dnevni indeks berbe visoko hranjivih materijala (10–45 % bjelančevina). Sve ovo dodatno potvrđuju rezultati provedeni kroz brojne orbitalne pokuse koji uključuju plutajuće i potopljene vodene leće, u kojima je utvrđivan utjecaj mikro-gravitacije na rast i reprodukciju biljaka za potrebe svemirskih istraživanja.

1.2. Cilj istraživanja

Cilj istraživanja se, u odnosu na prvobitnu „poduzetničku ideju“ postupno mijenjao kroz postupke preliminarnih istraživanja i proširivanja početnih znanja iz ovog uskog područja. Prvobitna ideja bila je utvrditi potencijal proizvodnje bioplina od mješavine vodenih biljaka prikupljenih na rijeci Bosut. U tim mješavinama vodenih biljaka najveći dio zelene mase pripada upravo vodenim lećama. Prikupljanjem informacija iz literature zaključeno je da vodena leća prikupljena u prirodi jako oscilira u svojoj kvaliteti i količini na godišnjoj razini. Također, rast tih biljaka je izrazito sezonskog karaktera s izraženim razlikama kemijskog sastava. Visok udio vode u zelenoj masi ograničava mogućnosti skladištenja zelene mase, a trošak sušenja je vrlo visok. Svi ti argumenti uvjetovali su da se definira cilj istraživanja i da se fokus rada prenese s biljaka prikupljenih u prirodi na biljke uzgojene u kontroliranim uvjetima.

Planirano istraživanje i njegovi ciljevi podijeljeni su u dvije osnovne faze rada.

U prvoj fazi istraživanja cilj je utvrditi utjecaj različitih koncentracija digestata u hranjivoj otopini i intenziteta osvjetljenja na uzgoj nekoliko vrsta vodene leće (*Lemna minor, Spirodela polyrhiza, Lemna trisulca*). Istraživanje uzgoja provest će se kroz dvije vrste pokusa: diskontinuirani i kontinuirani.

U drugoj fazi istraživanja zelena masa uzgojenih i prikupljenih različitih vrsta vodene leće podvrgnut će se anaerobnoj digestiji u svrhu proizvodnje bioplina. Cilj ove faze je utvrditi količinu i kemijski sastav bioplina, dobivenog od pojedinih supstrata kojeg čine goveđa gnojovka uz dodatak zelene mase vodenih leća.

Na temelju preliminarnih istraživanja i informacija iz dostupne literature, postavljene su sljedeće hipoteze:

1. koncentracija digestata utječe na prinos zelene mase,
2. istraživane vrste vodene leće mogu se kontinuirano uzgajati na otopini digestata i
3. koncentracija digestata utječe na proizvodnju bioplina i metana po jedinici mase vodene leće.

2. MATERIJAL I METODE

Ukupan istraživački rad podijeljen je u više dijelova, a neki od tih dijelova se još dijele na nekoliko faza. Prvi dio sastoji se od niza uzgojnih pokusa u kojima se obavlja uzgoj različitih vrsta vodene leće na različitim koncentracijama digestata kao hranjive podloge. Uz promjene hranjive podloge eksperimentira se i s različitim postupcima uzgoja (diskontinuirani i kontinuirani), različitim razinama osvjetljenja (površinska i pozadinska) te cirkulacijom hranjiva (s cirkulacijom i bez cirkulacije). U radu će se predstavit reprezentativni pokusi i to iz svake kategorije po jedan pokus.

Dakle, istraživački rad dijeli se na:

- Prikupljanje uzoraka.
- Uzgoj vodene leće:
    1. diskontinuirani uzgoj i
    2. kontinuirani uzgoj.
- Aktivnosti u laboratoriju za biomasu:
    1. priprema supstrata,
    2. anaerobna digestija i
    3. analiza bioplina.
- Statistička analiza.

Postupak istraživanja proveden je u posebno pripremljenom priručnom laboratoriju, na lokaciji koja je omogućila odgovarajuće prostorne i tehničke uvjete te kontroliranu provedbu uspješnih pokusa koji su predstavljeni u okviru ove disertacije.

Dio istraživanja anaerobne digestije te kemijske analize supstrata i bioplina proveden je u Laboratoriju za biomasu i obnovljive izvore energije na Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijeku.

2.1. Prikupljanje uzoraka

2.1.1. Uzorci vodenih biljaka

Vodene leće, iako raširene na vodama kontinentalne Hrvatske, izraženo su sezonske biljke i u pojedinim mjesecima ih se ne može se naći (Rauš i sur., 1978.). Početkom vegetacije pojavljuju se često u relativno čistim kolonijama, ali se vremenom te kolonije različitih vrsta vodenih leća pomiješaju. U godinama kada su uvjeti za rast vodenih leća vrlo povoljni, u kratkom vremenskom razdoblju prekriju kompletnu vodenu površinu, a

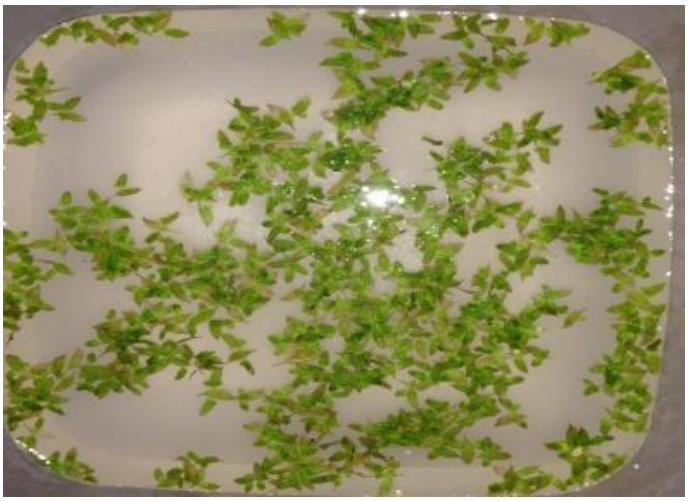
dominaciju preuzima najinvazivnija vrsta. U slučaju rijeke Bosut, dominaciju preuzima vrsta *Spirodela polyrhiza*, dok ostale vrste svoje stanište pronalaze u manjim enklavama uz obalu ili u pritokama Bosuta. Zbog sezonske dostupnosti vodenih leća u prirodi i niza pokusa koji su se odvijali tijekom cijele godine, neovisno o sezonskom rastu vodenih leća, bilo je nužno formirati matičnu koloniju različitih vrsta vodenih leća koje su služile kao rasadnik početne količine biljaka prilikom formiranja pokusa (Slike 7.–9.).



Slika 7. Kolonija vrste *Lemna minor*
(Izvor: vlastita fotografija, 2016.)



Slika 8. Kolonija vrste *Spirodela polyrhiza*
(Izvor: vlastita fotografija, 2016.)



Slika 9. Kolonija vrste *Lemna trisulca*
(Izvor: vlastita fotografija, 2016.)

Rijeka Bosut i nekoliko lokalnih pritoka tijekom travnja i svibnja prepuni su kolonija različitih vrsta vodene leće. U pravilu su u to doba kolonije vrlo zdrave i relativno čiste od prisutnosti drugih vrsta vodene leće, a posebno čiste kolonije formiraju vrste *Lemna minor* i *Spirodela polyrhiza*. Za razliku od ove dvije vrste, vrsta *Lemna trisulca* na lokacijama u okruženju, uglavnom u početku vegetacije, formira mješovitu koloniju s vrstom *Wolffia arrhiza*, a kasnije se ove dvije vrste povlače pred invazivnijim rastom vrsta *Lemna minor* ili *Spirodela polyrhiza*.

Zbog dostupnosti i raširenosti vrsta u početnim diskontinuiranim uzgojnim pokusima, korištene su tri vrste vodenih leća*: Lemna minor*, *Spirodela polyrhiza* i *Lemna trisulca*. Uzorci vrste *Lemna minor* prikupljeni su iz rijeke Bosut na lokaciji „Sopot“, 5 km uzvodno od Vinkovaca, što je vidljivo na Slikama 10. i 11., a uzorci vrste *Spirodela polyrhiza* na lokaciji „Krnjaš“ (ušće potoka Nevkoš u rijeku Bosut, Slike 12. i 13.). Uzorci vrste *Lemna trisulca* prikupljeni su na pritoku Nevkoš na lokaciji „Leskovac“ (Slike 14. i 15.). Sve tri vrste su detaljno očišćene od primjesa drugih biljnih vrsta te su uklonjene oštećene i bolesne biljke.



Slika 10. Lokacija „Sopot“

(Izvor: vlastita fotografija, 2018.)



Slika 11. Lokacija „Sopot“

(Izvor: vlastita fotografija, 2018.)



Slika 12. Lokacija „Krnjaš“

(Izvor: vlastita fotografija, 2018.)



Slika 13. Lokacija „Krnjaš“

(Izvor: vlastita fotografija, 2018.)



Slika 14. Lokacija „Leskovac“

(Izvor: vlastita fotografija, 2018.)



Slika 15. Lokacija „Leskovac“

(Izvor: vlastita fotografija, 2018.)

Uz uzorke biljaka uzimani su i uzorci vode s njihovih izvornih staništa. Voda je profiltrirana preko filter-papira te su uzorcima biljaka i vode napunjeni bazeni volumena 14 litara. Voda je u bazenima mijenjana svakih 10 dana, a bazeni su, dok su vremenski uvjeti dozvoljavali, držani na otvorenom sjenovitom prostoru. Nakon toga bazeni s biljakama su smješteni u kontrolirane uvjete osvjetljenja i temperature. Prikupljene biljke su na taj način mogle rasti i razvijati se nekoliko mjeseci.

Sve tri promatrane biljne vrste determinirane su na osnovi literaturnih podataka relativno lako zbog izražene razlike u boji i obliku. Više pažnje u determinaciji zahtijevala je jedino vrsta *Lemna minor* zbog sličnosti s vrstom *Lemna gibba* u ranoj fazi vegetacije i u manjoj mjeri miješanja ove dvije vrste. Međutim, razlike između vrsta *Lemna minor* i *Lemna gibba* postaju sve izraženije kako biljke napreduju u rastu.

2.1.1.1. *Lemna minor*

Vrsta *Lemna minor* (L.) je mala vodena leća. Porijeklo vuče iz tropskih dijelova Afrike, Azije, Europe i sjeverne Amerike. Rasprostranjena je posvuda od slatkovodnih ribnjaka i sporo-pokretnih vodotoka do močvara i bara po svim kontinentima osim na Arktiku (Daubs, 1965.). To je plutajuća slatkovodna vodena biljka s jednim, dva ili tri listića, svaki sa jednim korijenom koji slobodno visi u vodi (Slike 16. i 17.). Kako listići rastu sve više, biljka se dijeli i listić postaje odvojena jedinka. Korijen je dug 10–20 mm. Listovi su ovalni, 1–8 mm dugi i 0,6–5 mm široki, svijetlozelene boje, s tri (rijetko pet) vidljivih žilica. Unutar listića nalaze se 10–20 zračnih komorica promjera 0,1–0,25 mm koji biljci omogućavaju plutanje. Kao i ostale vrste vodenih leća, razmnožavaju se uglavnom vegetativno, dijeljenjem, a cvijet formiraju vrlo rijetko. Formirani cvijet je promjera oko 1 mm, oblika čašice koja ima tučak s jednom plodnicom i dva prašnika. Sjeme je 1 mm dugo, rebraste površine s vidljivih 8–15 rebara. Raste u vodi s visokim razinama nutrijenata i vrijednošću pH između 5 i 9 (optimalno između 6,5 i 7,5) te temperaturi između 6 °C i 33 °C (Wiersema, 1995.). Formira kolonije koje se vrlo brzo šire te često formiraju „tepih“ koji u potpunosti prekriva vodenu površinu. *Lemna minor* je važan izvor hrane za mnoge ribe i ptice, jer je vrlo bogata bjelančevinama i masnoćama. S druge strane barske ptice su važne u širenju ove biljke na nova staništa. Korijen je ljepljiv što omogućuje da se biljka održi na nogama i perju ptica dok lete s jedne bare na drugu. Često se uzgaja kao dekorativna biljka u akvarijima i manjim ribnjacima kako u hladnovodnim tako i u tropskim uvjetima.



Slika 16. *Lemna minor*
(Izvor: vlastita fotografija, 2017.)



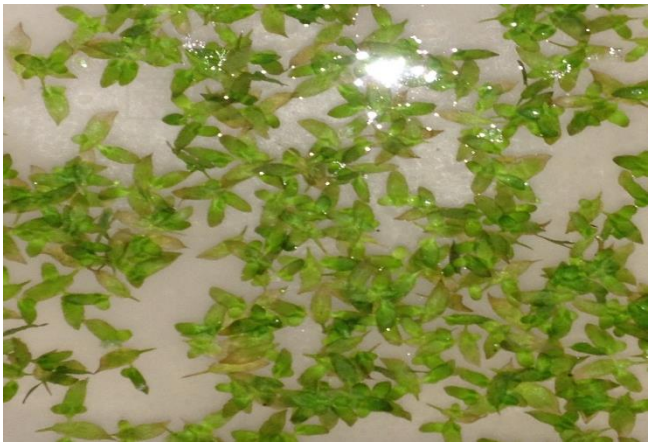
Slika 17. *Lemna minor*
(Izvor: vlastita fotografija, 2021.)

Lemna minor strukturno je prilagođena za brzi rast. To joj omogućuje da se raširi na površini vode vrlo brzo. Na taj način nadvlada konkurentne biljke te formira debeli prekrivač preko površine vode čime zaklanja Sunčevu svjetlost drugim biljnim vrstama ispod površine vode te dodatno eliminira konkurenciju. Uz prilagodbu u natjecanju u osvijetljenosti, ona se natječe s konkurentnim biljkama i u apsorpciji okolnih hranjivih resursa što je više moguće, tako da u kratkom vremenu akumulira što više povoljnih uvjeta za rast i reprodukciju.

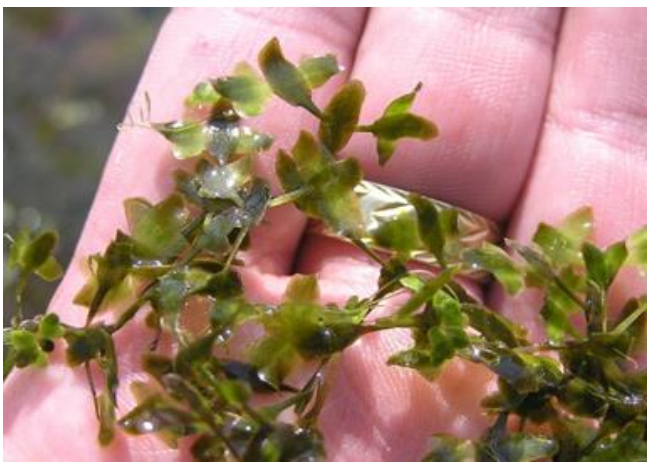
2.1.1.2. *Lemna trisulca*

Lemna trisulca (L.) još je poznata kao zvjezdasta vodena leća ili bršljanska vodena leća. Formira veliku zapletenu masu, jer jedinke ostaju povezane u velikom broju. Za razliku

od drugih vrsta vodene leće ona je potopljena, a ne plutajuća biljka, osim za vrijeme cvjetanja i oplodnje. Od svih vrsta vodenih leća ova vrsta je najduža (5,0–20,0 mm), kako je prikazano na Slikama 18. i 19. Obje strane listića su ravne, a zračne komorice se nalaze samo u središnjem dijelu. Često je bez korijena, a kada je prisutan, onda je dugačak i s istaknutim vrhom. Cvjetni pup je otvoren. Plod je vrećica koja sadrži jednu rebrastu sjemenku. Ova je vrsta široko rasprostranjena u umjerenim klimatskim područjima Azije (Bangladeš, Kina, Tajvan, Indija, Indonezija, Brunei, Japan, Malezija, Mianmar, Papua Nova Gvineja, Pakistan, Filipini), zatim širom Europe, Oceanije, Sjeverne i Južne Amerike, rijetko u tropima, a gotovo je nema u Južnoj Americi (Tanakaa i sur. 2016.).



Slika 18. *Lemna trisulca*
(Izvor: vlastita fotografija, 2017.)



Slika 19. *Lemna trisulca*
(Izvor: Filipov, 2007.)

2.1.1.3. *Spirodela polyrhiza*

Vrsta *Spirodela polyrhiza* (L.) poznata pod nazivom velika vodena leća je višegodišnja vrsta koja obično raste u gustim kolonijama tvoreći prostirku na vodenoj površini. Rasprostranjena je širom svijeta u mnogim slatkovodnim staništima. Svaka biljka ima gladak okrugli list nalik ravnom disku, promjera 5–10 mm. List je s gornje strane svijetlo zelen, a s donje strane crvenkastosmeđe ili ljubičaste boje (Slike 20. i 21.). S donje strane biljke vidljivo je više korjenčića, najčešće 5–12. Proizvodi vrećicu koja sadrži muške i ženske cvjetove karakteristične za rod. Plod ima neupadljiva krilca, a sjeme je blago stisnuto, glatko ili sitno mrežasto. U umjerenim klimatskim područjima, lisnati dio biljke odumire u jesen, a biljka u obliku pupoljaka (turiona) tone na dno gdje i prezimi. Pupoljak za prezimljavanje, kao i u slučaju vrste *Lemna minor,* ima sposobnost da u hladnijim uvjetima formira stanice bogate škrobom (udio do 60 %) velike specifične težine, što omogućuje pupoljcima da potonu na dno. Pupove (turione) formira tijekom svih godišnjih doba, ali obilnije u jesen. Ova vrsta se nalazi u određenoj mjeri tijekom cijele godine u većini umjerenih i tropskih područja svijeta, osim što je ograničeno rasprostranjena u Africi, a nije uočena u Južnoj Americi. *Spirodela polyrhiza* se pokazala kao idealna sirovina za biogoriva zbog svoje sposobnosti brzog rasta kada je u izravnom kontaktu s hranjivim medijima (Wang i sur. 2011.).



Slika 20. *Spirodela polyrhiza*
(Izvor:vlastita fotografija 2017.)



Slika 21. *Spirodela polyrhiza*
(Izvor: https://www.inaturalist.org/photos/84368175)

2.1.1.5. *Azolla caroliniana*

Biljke iz roda *Azolla* (porodica *Salviniaceae*, nepačkovke) su vodene paprati, a Vukičević (1992.) u okviru svoga rada navodi da je u vodotocima Vojvodine, pa između ostalih i u slivu rijeke Bosut, od biljaka iz roda *Azolla* zastupljena samo vrsta *Azolla caroliniana* (Lamarck). *Azolla* ili „algapaprat“ je mala, nježna, jednogodišnja, plutajuća vodena biljka, veličine 1–2 cm. Porijeklom je iz tropske i suptropske Amerike. Formira guste kolonije često pomiješane sa zajednicama različitih vrsta vodenih leća (Slike 22. i 23.).



Slika 22. Rijeka Bosut prekrivena vrstom *Azolla caroliniana*
(Izvor: vlastita fotografija, 2018.)



Slika 23. *Azolla caroliniana*
(Izvor: vlastita fotografija, 2018.)

Specifičnost ovih paprati je simbioza s modro-zelenom algom *Anabaena azollae* koja ovisno o svjetlosti mijenja svoju boju od zelene do tamnocrvene. Karakteristično je za nju da se pojavljuje povremeno, kada naglo buja i često u potpunosti prekrije vodenu površinu. Širi se kao i vodena leća ornitohorijom odnosno na nogama barskih ptica (Panjković, 2005).

Azolla caroliniana naknadno je uvedena u dio istraživanja vezan za utvrđivanje biopliskog potencijala. Razlog naknadnog uvrštavanja u istraživanje je što se krajem 2018. godine na rijeci Bosutu pojavila nakon završetka vegetacije *Spirodele polyrhize* i u kratkom roku zauzela cjelokupnu vodenu površinu. Pojava iste u lokalnim vodotocima, u doba godine kada istraživanih vrsta vodene leće praktično više nema, može produžiti sezonu iskorištavanja vodenih biljaka kao zamjenske ili dodatne sirovine u bioplinskim postrojenjima.

2.1.2. Uzorci digestata

Kod odabira uzoraka digestata, presudna je bila, kao i kod odabira uzoraka vodenih leća, dostupnost i pristupačnost u okruženju, odnosno mogućnost relativno jednostavnog uzimanja manjih količina digestata. Iz tog razloga, obavljen je uvid u tehničke karakteristike većine bioplinskih postrojenja u okruženju. Za ova istraživanja važno je da na postrojenju postoji mogućnost ispusta reprezentativnog uzorka tekuće frakcije digestata (Slika 24.).



Slika 24. Ventil za ispuštanje tekuće frakcije digestata
(Izvor: vlastita fotografija, 2021.)

Uz navedene tehničke detalje utvrđena je sirovinska baza za pojedina bioplinska postrojenja. Iako su sva razmatrana bioplinska postrojenja, koja su analizirana, kao osnovnu sirovinu koristila kukuruznu silažu, te u većoj ili manjoj mjeri goveđu gnojovku, pojedina postrojenja kao dopunsku sirovinu koriste različite vrste supstrata (stajnjak peradi, svinjsku gnojovku, otpad iz plastenika, otpad iz šećerane i slično). Zbog jednostavne sirovinske baze (goveđa gnojovka i kukuruzna silaža) te zbog tehničkog detalja koji je omogućavao jednostavno uzimanje uzorka tekuće frakcije digestata odabrano je bioplinsko postrojenje „Ovčara“ kod Vukovara (Slika 25.).



Slika 25. Bioplinsko postrojenje „Ovčara“
(Izvor: vlastita fotografija, 2016.)

Uzorci su skupljani u više navrata i prije korištenja za pripremu hranjive otopine za uzgoj vodene leće procijeđeni kroz cijedilo dimenzije otvora 0,5 mm kako bi se uklonili zaostali dijelovi krute frakcije digestata. Procijeđeni uzorci analizirani su na sadržaj ukupnog dušika u Laboratoriju za biomasu i obnovljive izvore energije Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Ukupni dušik određen je Kjeldahl-ovom metodom (Büchi sustav za digestiju K–437, Büchi jedinica za destilaciju B-324, Švicarska) (EN13654–1). Procijeđeni digestat je čuvan u hermetički zatvorenim posudama volumena 20 l u hladnjaku na temperaturi oko 4 °C.

2.2. Uzgoj vodene leće

Uzgoj vodene leće odvijao se u dva neovisna uzgojna pokusa. U prvom uzgojnom pokusu uzgoj leće izveden je sa svrhom da se smanje rasponi koncentracije digestata u hranjivoj otopini i da se uže definiraju vrste vodenih leća koje su povoljnije za uzgoj. To je diskontinuirani uzgoj, jer je digestat u hranjivu otopinu dodan samo na početku pokusa. Iz tog razloga, biljke su u početku intenzivnije rasle, a u nastavku se intenzitet smanjivao. Drugi uzgojni pokus (kontinuirani) izveden je u znatno modificiranoj opremi u odnosu na prvi. Cilj je pokusa bio utvrditi mogućnost kontinuiranog rasta vodene leće na hranjivoj otopini na bazi digestata. U skladu s literaturnim navodima oba uzgojna pokusa trajala su 30 dana.

2.2.1. Diskontinuirani uzgoj vodene leće

Za potrebe provedbe diskontinuiranog uzgojnog pokusa posebno je pripremljen priručni laboratoriji (Slika 26.). Za uzgoj su korištene tri vrste vodenih leća, svaka u hranjivim otopinama s osam koncentracija digestata u tri ponavljanja. U ovome pokusu korištene su *Lemna minor, Spirodela polyrhiza* i *Lemna trisulca* prema matrici vidljivoj u Tablici 10.



Slika 26. Priručni laboratorij za diskontinuirani uzgojni pokus
(Izvor: vlastita fotografija, 2016.)

Tablica 10. Matrica uzgojnog pokusa s tri biljne vrste na osam različitih hranjivih podloga u tri ponavljanja

	Lemna minor (LM)			*Lemna trisulca* (LT)			*Spirodela polyrhiza* (SP)		
Koncentracija 1	LM1-1	LM1-2	LM1-3	LT1-1	LT1-2	LT1-3	SP1-1	SP1-2	SP1-3
Koncentracija 2	LM2-1	LM2-2	LM2-3	LT2-1	LT2-2	LT2-3	SP2-1	SP2-2	SP2-3
Koncentracija 3	LM3-1	LM3-2	LM3-3	LT3-1	LT3-2	LT3-3	SP3-1	SP3-2	SP3-3
Koncentracija 4	LM4-1	LM4-2	LM4-3	LT4-1	LT4-2	LT4-3	SP4-1	SP4-2	SP4-3
Koncentracija 5	LM5-1	LM5-2	LM5-3	LT5-1	LT5-2	LT5-3	SP5-1	SP5-2	SP5-3
Koncentracija 6	LM6-1	LM6-2	LM6-3	LT6-1	LT6-2	LT6-3	SP6-1	SP6-2	SP6-3
Koncentracija 7	LM7-1	LM7-2	LM7-3	LT7-1	LT7-2	LT7-3	SP7-1	SP7-2	SP7-3
Koncentracija 8	LM8-1	LM8-2	LM8-3	LT8-1	LT8-2	LT8-3	SP8-1	SP8-2	SP8-3

Hranjiva podloga na kojoj su biljke uzgajane je mješavina vode i digestata u koncentracijama prikazanim u Tablici 10. Iz digestata je uklonjen kruti dio cijeđenjem kako bi ga se moglo pomoću pipete precizno dodavati u staklenke. Pokus je izveden tako što su tri istraživane vrste vodene leće uzgajane u osam različitih hranjivih omjera, a sve je provedeno u tri ponavljanja. Dakle, svaka biljna vrsta je uzgajana u 24 posude, a cjelokupni diskontinuirani uzgojni pokus je izveden u ukupno 72 posude.

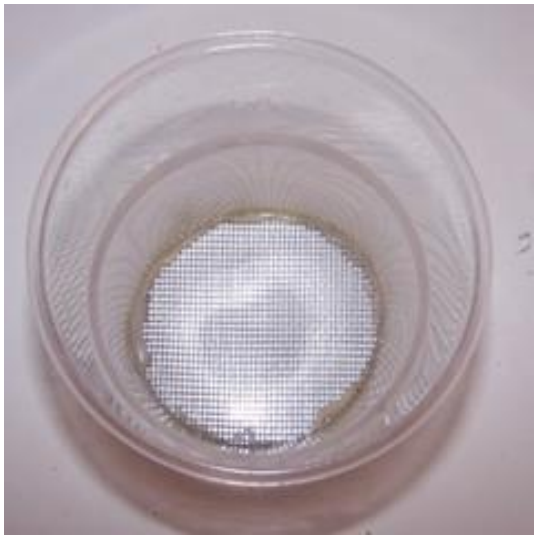
U posude je samo na početku pokusa dodana zadana količina digestata. Svakih deset dana dodavana je destilirana voda do razine početne količine hranjive otopine. Prije početka pokusa utvrđena je koncentracija dušika u digestatu.

Posude za uzgoj su staklenke volumena 1,7 l, visine 155 mm i promjera u grlu 88 mm (Slika 27.), dok je volumen hranjive otopine u svakoj staklenci iznosio 1,4 l. Radi efikasnijeg i za biljku manje stresnog vaganja (bez okretanja), u svaku staklenku umetnut je PVC umetak koji je načinjen od PVC čaše volumena 0,5 l (površine na razini uzgoja 50 cm^2) kojoj je uklonjeno dno te na njegovo mjesto zalijepljena mrežica sa otvorima 1×1 mm (Slika 28.).



Slika 27. Staklenka

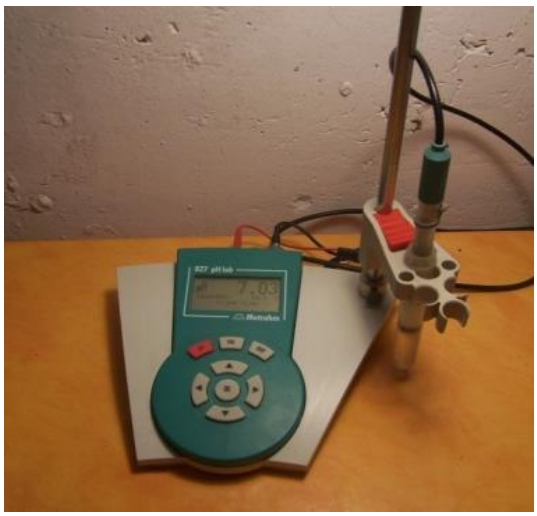
(Izvor: vlastita fotografija, 2016.)



Slika 28. PVC umetak

(Izvor: vlastita fotografija, 2016.)

Svaki PVC umetak je izvagan, kako bi se odredila tara, te je standardiziran postupak ocjeđivanja umetka. Standardizirani postupak ocjeđivanja se sastojao od ispiranja korjenčića biljaka u destiliranoj vodi te postavljanja PVC umetka zajedno s biljkama u praznu staklenku na cijeđenje u trajanju od 60 sekundi. Ispiranjem se uklanjao dio taloga digestata koji se hvatao na korjenčiće biljaka, a mogao je utjecati na prividno povećanje mase biljaka. Na taj način postignut je vrlo brz i dovoljno precizan način vaganja zelene mase, bez nepotrebnog okretanja biljaka. Zelena masa vagana je svaki drugi dan, a svaki četvrti dan vagano je i skupljano 50 % zelene mase. Prilikom postupka vaganja mjerena je temperatura supstrata, pH-vrijednost te temperatura i vlaga zraka u prostoriji. Također je vođena evidencija o udjelu zaraženih biljaka i udjelu blijedih biljaka. Mjerenje temperature i pH-vrijednosti hranjive otopine obavljeno je pomoću pH metra METROHM 827 pH lab, opremljenim staklenom elektrodom Mettler Toledo (EN13037) (Slika 29.), a vaganje zelene mase digitalnom vagom GIBERTINI Europe 1700 (Slika 30.).



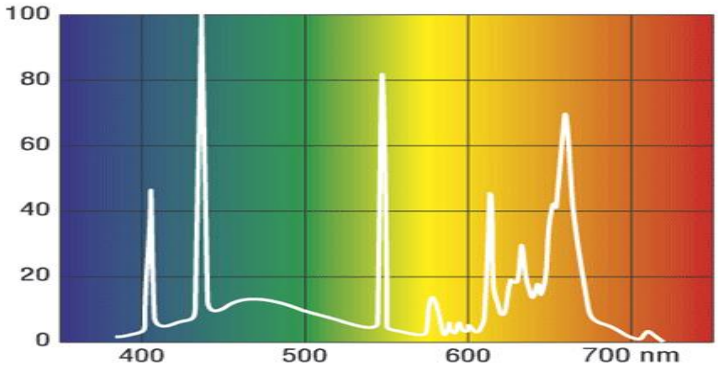
Slika 29. pH metar
(Izvor: vlastita fotografija, 2016.)



Slika 30. Digitalna vaga

(Izvor: vlastita fotografija, 2016.)

Pokus je proveden u uvjetima stabilne temperature i bez pristupa dnevnog svjetla. Za rasvjetu je korišten umjetni izvor svjetlosti: 12 komada T5 neonskih žarulja snage 54 W, duljine 1047 mm, proizvođača SYLVANIA grolux, posebno prilagođene za uzgoj vodenog bilja, s naglašenim plavim i crvenim dijelom spektra (Grafikon 2.). Neonske žarulje opremljene su sjenilom izrađenim od inox lima visokog stupnja refleksije i postavljene su 90 mm iznad površine vode u posudama. Satnim mehanizmom regulirano je vrijeme osvjetljenja:, 15 sati svjetla i 9 sati tame.



Grafikon 2. Spektar osvjetljenja

(Izvor: https://zoolight.eu/product-eng-2462-T5-SYLVANIA-GROLUX-8500K.html)

Prostorija za uzgoj opremljena je ventilacijskim sustavom sa satnim mehanizmom koji je svaka tri sata, u trajanju od 30 minuta, u potpunosti izmijenjivao zrak u prostoriji. Podaci

o uzgoju su arhivirani, a uzgojena zelena masa je evidentirana te propisno skladištena u hladnjaku na temperaturi -18 °C.

2.2.1.1. Preliminarni pokusi diskontinuiranog uzgoja

U postupku preliminarnog istraživanja provedena su četiri diskontinuirana uzgojna pokusa vodene leće. Pokusi su obustavljani, jer su rezultirali odumiranjem biljaka. Rezultati neuspjelih pokusa pomogli su u donošenju zaključaka koji su omogućili provedbu uspješnih pokusa.

Utvrđeno je da su ograničavajući faktori ove vrste uzgoja: bolesti, alge i temperatura hranjive otopine. Smanjenje indirektnog osvjetljenja imalo je pozitivan utjecaj na uzgoj biljaka, a ono je provedeno zasjenjenjem PVC mrežicama i oblaganje staklenki aluminijskom folijom. Razlike u rastu vodenih leća vidljive su na Slikama 31. i 32.



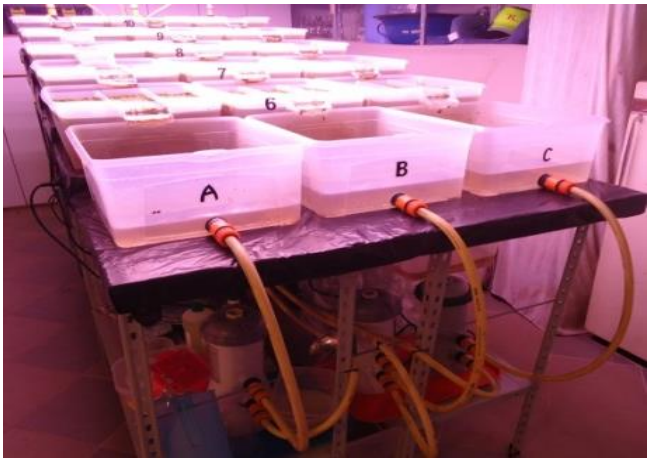
Slika 31. Uzgoj vrste *Spirodela polyrhiza* (bez zasjenjenja, pozadinsko zasjenjenje, površinsko zasjenjenje)
(Izvor: vlastita fotografija, 2017.)



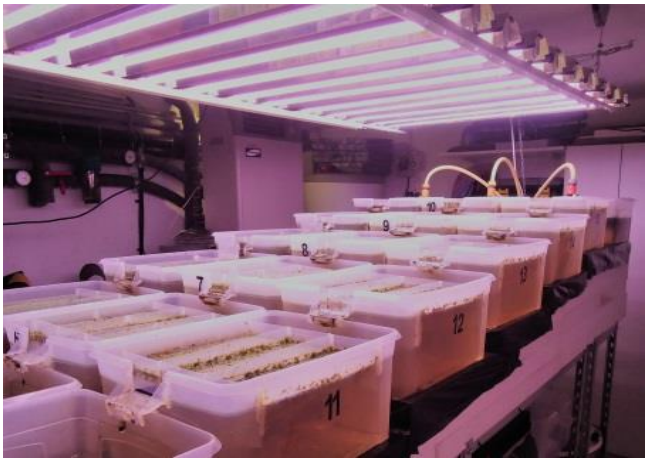
Slika 32. Uzgoj vrste *Lemna minor* (bez zasjenjenja, pozadinsko zasjenjenje, površinsko zasjenjenje)
(Izvor: vlastita fotografija, 2017.)

2.2.2. Kontinuirani uzgoj vodene leće

Kontinuirani uzgoj vodenih leća proveden je u modificiranom laboratoriju kao i diskontinuirani uzgoj. Kontrolom uvjeta uzgoja u zatvorenom prostoru maksimalno se pokušalo simulirati prirodne uvjete. Prethodni diskontinuirani uzgojni pokus pokazao je vrste vodene leće najpovoljnije za uzgoj i najprihvatljivije koncentracije digestata. Za potrebe kontinuiranog uzgojnog pokusa izrađeno je 15 preljevnih bazena od PVC posuda, svaki volumena 14 l, opremljenih cirkulacijskim crpkama, grijačima za vodu i umjetnom rasvjetom (Slike 33.–35.). Digestat je iz istog izvora i istog sastava kao i u diskontinuiranom uzgoju. Rasvjeta je izvedena kao i u prethodnom pokusu, ali je prilagođena s ciljem reguliranja udaljenosti od posuda, odnosno intenziteta osvjetljenja vodene površine na kojoj se provodi pokus.



Slika 33. Sustav crpki i preljevnih bazena
(Izvor: vlastita fotografija, 2017.)

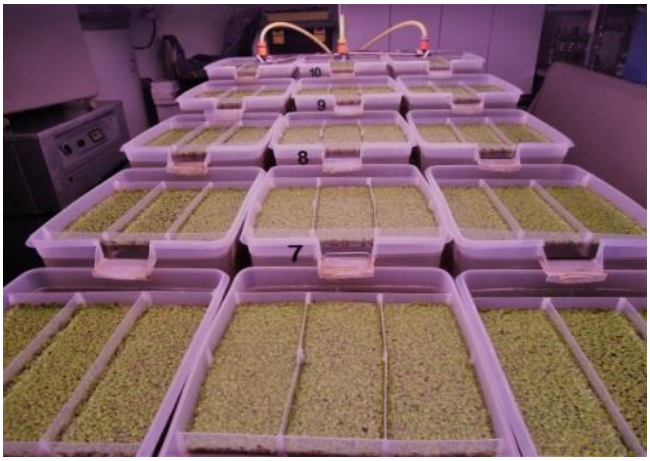


Slika 34. Sustav bazena i osvjetljenje
(Izvor: vlastita fotografija, 2017.)

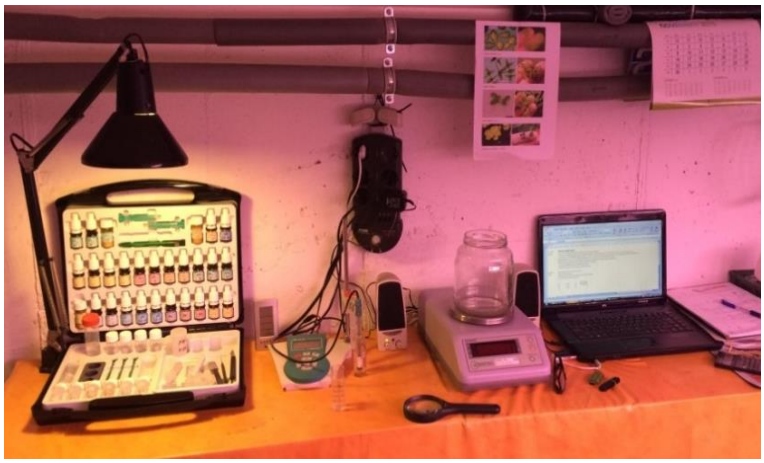


Slika 35. Sustav bazena i pozadinskog zasjenjenja
(Izvor: vlastita fotografija, 2017.)

Vrsta *Spirodela polyrhiza* je uzgajana u bazenima koji su imali protočnu vodu (Slika 36.) i u koju je periodično dodavan digestat nakon kontrole sadržaja dušika. Kontrola dušika izvedena je priručnim priborom izvorno namijenjenim kontroli kvalitete vode u akvarijima (Slika 37.).



Slika 35. Uzgoj vrste *Spirodela polyrhiza*
(Izvor: vlastita fotografija, 2017.)



Slika 37. Pribor za utvrđivanje sadržaja dušika u hranjivoj otopini
(Izvor: vlastita fotografija, 2017.)

Spirodela polyrhiza je uzgajana u tri uzgojne linije, svaka na različitoj koncentraciji hranjiva, u kontroliranim laboratorijskim uvjetima, pri umjetnom osvjetljenju. Svaka uzgojna linija postavljena je u pet kaskadno smještenih bazena, svaki volumena 14 l, s regulacijom temperature hranjive otopine te kontinuiranom umjetno proizvedenom cirkulacijom. Svaki bazen je podijeljen površinskim PVC pregradama koje su omogućile nesmetanu cirkulaciju hranjive otopine i formirale su tri jednake uzgojene jedinice površine 200 cm² (K1-1, K1-2, K1-3, K2-1 itd.) na pet razina udaljenosti (etaža) od izvora svjetlosti (Tablica 11.).

Tablica 11. Intenzitet osvijetljenja po razinama udaljenosti

Etaža	Intenzitet osvjetljenja
1	15000 lx
2	20000 lx
3	24000 lx
4	29000 lx
5	33000 lx

U Tablici 12. prikazana je matrica uzgoja. Cirkulacija je uspostavljena pomoću tri bazenske cirkulacijske crpke snage 50 W svaka i ventilom prigušenog kapaciteta za regulaciju protoka oko 5 litara u minuti. Intenzitet osvjetljenja iznosio je u rasponu od 15 do

33 klx, ovisno o visini etaže, dok je osvjetljenje trajalo 14 sati svjetla odnosno tama 10 sati tijekom jednog dana.

Tekuća faza digestata nabavljena je iz bioplinskog postrojenja „Ovčara“ kod Vukovara te je dodatno procijeđena pomoću sita veličine otvora 0,5 mm, kako bi se izdvojili zaostali dijelovi krute faze digestata. Uzgoj vodene leće trajao je 30 dana. Početna je količina biljaka iznosila 20 g po bazenu, a branje vodene leće obavljeno je u razdobljima od pet dana i to u trenutku potpune pokrivenosti vodene površine bazena lećom.

Tablica 12. Matrica uzgoja

SP 80			**SP 60**			**SP 40**		
Koncentracija 80 ml/14 l			Koncentracija 60 ml/14 l			Koncentracija 40 ml/14 l		
O1K1-1	O1K1-2	O1K1-3	O1K2-1	O1K2-2	O1K2-3	O1K3-1	O1K3-2	O1K3-3
O2K1-1	O2K1-2	O2K1-3	O2K2-1	O2K2-2	O2K2-3	O2K3-1	O2K3-2	O2K3-3
O3K1-1	O3K1-2	O3K1-3	O3K2-1	O3K2-2	O3K2-3	O3K3-1	O3K3-2	O3K3-3
O4K1-1	O4K1-2	O4K1-3	O4K2-1	O4K2-2	O4K2-3	O4K3-1	O4K3-2	O4K3-3
O5K1-1	O5K1-2	O5K1-3	O5K2-1	O5K2-2	O5K2-3	O5K3-1	O5K3-2	O5K3-3

Temperatura zraka u prostoriji održavana je klimatizacijskim uređajem na 24 °C, a prema potrebi hranjiva otopina je zagrijavana pomoću bazenskih grijača, snage 25 W, svaki ugrađen u pojedini bazen i podešen na temperaturu 20 °C. Na bazene su, zbog smanjenja pozadinskog osvjetljenja i pregrijavanja otopine uslijed intenzivnog osvjetljenja, postavljenje reflektirajuće površine. Kao i u pokusu diskontinuiranog uzgoja, dobiveni podatci su arhivirani, a prikupljena zelena masa pohranjena na temperaturi -18 °C.

Prisustvo algi te blijedih i zaraženih vodenih leća u oba uzgoja (diskontinuirani i kontinuirani) redovito je praćena i evidentirana prilikom svakog vaganja zelene mase. Površina pokrivenosti bazena blijedim i zaraženim biljkama procijenjivana je korištenjem mjerne mrežice otvora 1×1 mm, te zadebljanim uzdužnim i poprečnim nitima svakih 10 mm. Udio ovakvih biljaka izračunat je omjerom površine koju su zauzimale i ukupne uzgojne površine.

2.2.1.1 Preliminarni pokusi kontinuiranog uzgoja

U preliminarnim istraživanjima provedeno je sedam pokusa kontinuiranog uzgoja koji su prekidani u različitim fazama uzgoja zbog uočenih pogrešaka. Rezultati tih pokusa doveli su do zaključaka koji su omogućili provedbu uspješnih pokusa kontinuiranog uzgoja.

Zasjenjivanje svih bočnih i sekundarnih površina, koje nisu bile u funkciji uzgoja vodene leće, znatno je smanjilo pojavu algi, a uspostava cirkulacije hranjive otopine je omogućila ujednačenje temperature i koncentracije hranjiva u svim slojevima hranjive otopine.

2.3. Laboratorijska istraživanja

Laboratorijska istraživanja provedena su u Laboratoriju za biomasu i obnovljive izvore energije Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek.

Rad u laboratoriju podijeljen je na tri dijela:

1. Analiza supstrata prije i nakon digestije,
2. Anaerobna digestija i
3. Analiza bioplina.

2.3.1. Analiza supstrata

Prilikom fizikalno-kemijskih analiza supstrata provedene su sljedeće analize:

- određivanje pH-vrijednosti,
- određivanje udjela suhe tvari,
- određivanje udjela pepela i organske tvari,
- određivanje ukupnog dušika i
- određivanje organskog ugljika.

2.3.1.1. Određivanje pH-vrijednosti

Određivanje pH-vrijednosti obavljeno je ranije i na uzorcima digestata, a u ovoj fazi provedeno je na uzorku gnojovke i ostalih pokusnih uzoraka pripremljenih za anaerobnu digestiju. Korišten je pH-metar Methrom i kombinirane staklene elektrode Methrom (Mettler Toledo Five Easy, Švicarska) na sobnoj temperaturi. Prije mjerenja, elektroda je baždarena pomoću standardnih puferskih otopina (pH 4,01 i pH 7,00) (EN13037).

2.3.1.2. Određivanje udjela suhe tvari

Udio suhe tvari određen je sušenjem 100 g svježe tvari uzorka u sušioniku na 75 °C tijekom 24 sata, a zatim dodatna tri sata na temperaturi od 105 °C (Memmert UFE 600, Njemačka) do konstantne mase (APHA, 1998). Izračun ukupne suha tvar u uzorku izvršen je prema sljedećoj jednadžbi:

ukupna suha tvar (%) = [neto masa suhe tvari (g) / neto svježi uzorak (g)] × 100

2.3.1.3. Određivanje pepela i organske tvari

Ukupan sadržaj pepela i organske tvari određen je postupkom žarenja na 550 °C tijekom 3–4 sata u mufolnoj peći (EN13039:1999). Za postupak su korišteni uzorci suhe tvari dobiveni ranije opisanim postupkom. Izračun je obavljen prema sljedećim jednadžbama:

pepeo (%) = [1 – neto masa pepela nakon žarenja (g) / neto suhi uzorak (g)] × 100

organska tvar (%) = [neto masa pepela nakon žarenja (g) / neto suhi uzorak (g)] × 100

2.3.1.4. Određivanje udjela ukupnog dušika

Ukupni dušik određen je Kjeldahl-ovom metodom (Büchi sustav za digestiju K-437, Büchi jedinica za destilaciju B-324, Švicarska) pri čemu je homogeni uzorak prokuhavan u koncentriranoj sumpornoj kiselini u cilju prevođenja dušika u amonijev sulfat. Dodatkom amonijeve lužine oslobađa se amonijak koji je predestiliran u standardiziranu otopinu kiseline. Preostali višak kiseline određen je titracijom s natrijevom lužinom (EN13654-1).

2.3.1.5. Određivanje ukupnog organskog ugljika

Ukupni organski ugljik u uzorku određen je oksidacijom otopinom smjese kalijevog dikromata i sumporne kiseline pri 135°C. Dikromatni ion, koji otopinu boji u narančasto, reducira se do Cr^{3+} iona koji otopinu boji u zeleno. Intenzitet zelene boje u uzorcima mjeren je spektrofotometrijski pri λ = 585 nm (UV-VIS spektrofotometar Cary 50, Varian, Australija) (HRN ISO14235:1994).

2.3.2. Anaerobna digestija

Proces anaerobne digestije proveden je šaržno pri termofilnim uvjetima (T=55 °C) tijekom 30 dana. Korištena oprema se sastoji od dvije vodene kupelji, od kojih svaka ima 24

mjesta u koja se postavljaju reaktorske boce. Anaerobna digestija provedena je u staklenim reaktorskim bocama volumena 1 dm^3. Supstrati i svježa goveđa gnojovka su odvagani u reaktorske boce i homogenizirani. Reaktorske boce su potom hermetički zatvorene i postavljene u termostatirane vodene kupelji. Ove boce su povezane preko gumene cijevi s plastičnim menzurama (V=2 dm^3), napunjenim prezasićenom otopinom NaCl (u kojoj se bioplin ne otapa). Proizvedeni bioplin iz reaktorskih boca odlazi u menzure, a što se odvija po načelu istiskivanja tekućine (Slike 38. i 39.). Proizvodnja bioplina svakodnevno je praćena očitavanjem istisnutog volumena otopine NaCl iz graduiranih menzura, a zbroj svih ukupnih volumena dnevne proizvodnje bioplina činio je kumulativnu proizvodnju bioplina. Uzorkovanje i analiza sastava proizvedenog bioplina provedeni su svaki dan do početka faze metanogeneze, a nakon započete faze metanogeneze svaki treći dan.



Slika 38. Aparatura za provedbu anaerobne digestije

(Izvor: vlastita fotografija, 2018.)



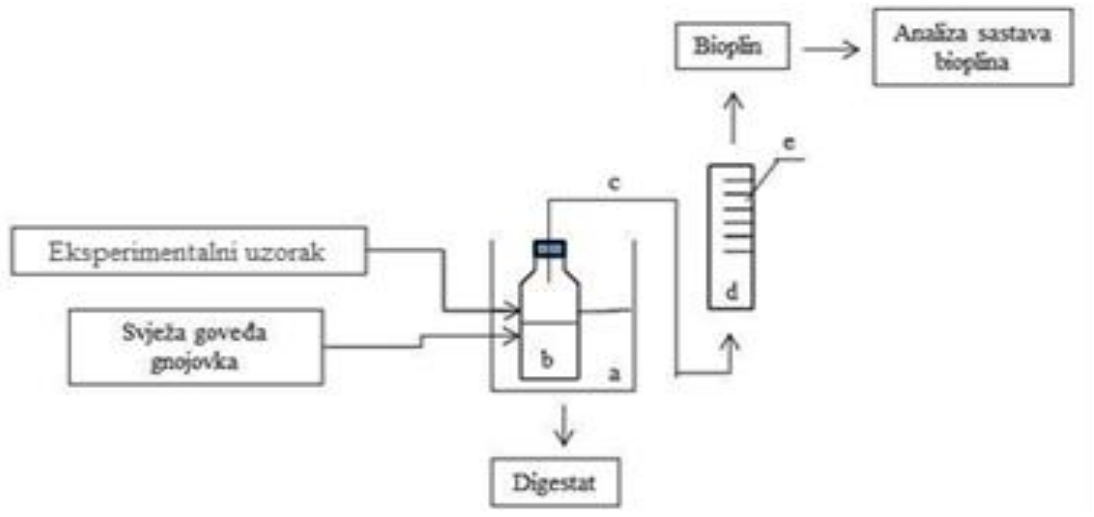
Slika 39. Reaktorske boce u termostatiranoj vodenoj kupelji

(Izvor: vlastita fotografija, 2018.)

Radni volumen u reaktorskoj boci iznosio je 500 cm^3, a omjer supstrat/inokulum 1/2,4. Sve pokusne skupine uzoraka pripremljene su u tri ponavljanja uz kontrolnu skupinu. Dakle, ukupno 21 reaktorska boca s pripremljenim uzorkom:

- kontrolna skupina – svježa goveđa gnojovka 500 g,
- svježa goveđa gnojovka 475 g + *Spirodela polyrhiza* (prikupljena na Bosutu) 25 g,
- svježa goveđa gnojovka 475 g + *Lemna minor* (prikupljena na Bosutu) 25 g,
- svježa goveđa gnojovka 475 g + *Azolla caroliniana* (prikupljena na Bosutu) 25 g,
- svježa goveđa gnojovka 475 g + *Spirodela polyrhiza* (uzgoj 40 ml dig./posudi) 25 g,
- svježa goveđa gnojovka 475 g + *Spirodela polyrhiza* (uzgoj 60 ml dig./posudi) 25 g i
- svježa goveđa gnojovka 475 g + *Spirodela polyrhiza* (uzgoj 80 ml dig./posudi) 25 g.

Kako bi se održala stalna homogenost pokusne smjese tijekom anaerobne digestije, svi reaktori su lagano ručno miješani pet puta dnevno. Digestija je završila na dan kada je dnevna proizvodnja bioplina činila manje od 1 % ukupno proizvedenog bioplina. Prije i nakon provedene anaerobne digestije određene su fizikalno-kemijske karakteristike pokusnih uzoraka: pH vrijednost, udio suhe tvari, udio organske tvari, udio pepela, ukupni organski ugljik te ukupni dušik. Slika 40. prikazuje shematski prikaz provedbe šaržnog procesa anaerobne digestije.



Slika 40. Shematski prikaz provedbe šaržnog procesa anaerobne digestije: a) termostatirana vodena kupelj (*n*=2), b) reaktorska boca (*n*=48), c) gumeno crijevo, d) prezasićena otopina NaCl, e) menzura za prikupljanje bioplina (*n*=48)
(Izvor: prilagođeno iz Kovačić, 2017.)

2.3.3. Analiza bioplina

Proizvedeni bioplin koji je uzorkovan za analizu kemijskog sastava prikupljan je u plastične boce (V=0,25 dm^3) potpuno napunjene prezasićenom otopinom NaCl, grlom okrenutim prema dolje preko gumenog crijeva spojenog na gornji izlazni ventil menzure. Otvaranjem ventila na menzuri bioplin je ispuštan u plastičnu bocu. Kada je prikupljeno dovoljno uzorka, boca je zatvorena tako da je stalno zaronjena ispod razine slane otopine. U boci je uvijek ostavljena manja količina tekućine, kako ne bi došlo do gubitka bioplina.

Plin za analizu prenesen je, pomoću spojenih posuda, iz plastične boce u plinsku biretu (prethodno napunjenu prezasićenom otopinom NaCl) primjenom podtlaka stvorenog istjecanjem prezasićene otopine NaCl-a. Bireta je spojena s ventilom za uzorkovanje pomoću kojeg se plin uvodi u plinski kromatograf Varian 3900, SAD (Slika 41.). Plinski kromatograf je sadržavao jedan TCD detektor, a plinovi nositelji bili su helij (čistoće 5,0) i sintetski zrak (bez ugljikovodika). Detektor je radio pri temperaturi od 150 °C i referentnom protoku 1 ml min^{-1}. Na instrumentu je instalirana jedna kolona (10×1/8" od nehrđajućeg čelika, Restek SN: C14030) koja je radila na referentnom tlaku od 1 bara. Udjeli CH_4, CO_2 i N_2 su određeni prema modificiranoj metodi (HRN ISO 6974-4:2000).



Slika 41. Uređaj za analizu kemijskog sastava bioplina
(Izvor. vlastita fotografija, 2017.)

2.4. Statistička obrada podataka

Za statističku analizu korišten je statistički program MedCalc Statistical Software Version 17.9.7 (MedCalc Software Bvba, Ostend, Belgium; http://www.medcalc.org, 2017).

Kategorijski podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Numerički podatci opisani su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom u slučaju raspodjela koje slijede normalnu, a u ostalim slučajevima medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Razlike kategorijskih varijabli testirane su χ^2 testom, te po potrebi Fisherovim egzaktnim testom. Razlike normalno raspodijeljenih numeričkih varijabli testirane su analizom varijance (ANOVA).

3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

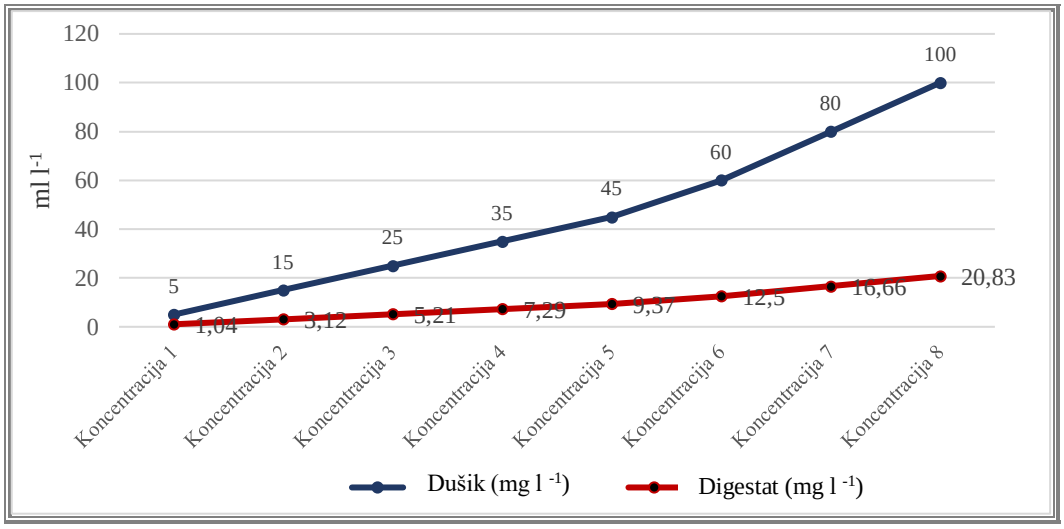
3.1. Rezultati diskontinuiranog uzgoja

3.1.1. Koncentracija digestata

Istraživanje je provedeno na tri vrste vodene leće (*Lemna minor*, *Spirodela polyrhiza* i *Lemna trisulca*) tijekom 30 dana, uz osam različitih koncentracija hranjiva. Vrijednosti udjela dušika u hranjivoj otopini kreću se od 5 mg l^{-1} do 100 mg l^{-1}, a digestata od 1,04 ml l^{-1} do 20,83 ml l^{-1} (Tablica 13. i Grafikon 3.).

Tablica 13. Udio dušika i digestata u hranjivoj otopini u odnosu na postavljene koncentracije

Lemna minor, Lemna trisulca, Spirodela polyrhiza	Udio dušika (N) [mg l^{-1}]	Udio digestata [ml l^{-1}]
Koncentracija 1	5	1,04
Koncentracija 2	15	3,12
Koncentracija 3	25	5,21
Koncentracija 4	35	7,29
Koncentracija 5	45	9,37
Koncentracija 6	60	12,50
Koncentracija 7	80	16,66
Koncentracija 8	100	20,83



Grafikon 3. Udio dušika i digestata u hranjivoj otopini prema postavljenim pokusima

3.1.2. Početna masa i ukupni prinos zelene mase vodene leće

Značajno veća početna masa vrste *Lemna trisulca* uočena je kod koncentracije 8, aritmetičke sredine 4,41 g (standardne devijacije 0,18) (P=0,03). Ukupni prinos zelene mase i prinos zelene mase s početnom masom najveći su kod vrste *Spirodela polyrhiza*, a najmanji kod vrste *Lemna trisulca*, u slučaju svih promatranih koncentracija (Tablica 14.).

Tablica 14. Početna masa i ukupni prinos zelene mase vodene leće u odnosu na vrstu

	Aritmetička sredina (standardna devijacija)			P*
	Lemna minor	*Spirodela polyrhiza*	*Lemna trisulca*	
Početna masa (g)				
Koncentracija 1	2,64 (0,61)	3,03 (0,73)	2,1 (0,45)	0,25
Koncentracija 2	1,92 (0,33)	3,08 (0,4)	3,2 (1,06)	0,11
Koncentracija 3	2,5 (1,15)	3,07 (0,29)	2,45 (0,4)	0,53
Koncentracija 4	2,55 (0,9)	3,02 (0,53)	2,16 (0,74)	0,45
Koncentracija 5	2,28 (0,26)	2,04 (0,31)	3,57 (1,79)	0,24
Koncentracija 6	1,88 (0,61)	2,24 (0,19)	2,46 (0,18)	0,26
Koncentracija 7	2,72 (0,44)	2,26 (0,12)	3,14 (1,2)	0,40
Koncentracija 8	3,12 (0,6)	2,02 (1,19)	4,41 (0,18)	**0,03**
Ukupni prinos zelena mase (g)				
Koncentracija 1	59,42 (1,04)	71,61 (8,75)	30,5 (1,69)	**<0,001**
Koncentracija 2	58,23 (2,65)	68,78 (6,18)	39,35 (1,61)	**<0,001**
Koncentracija 3	65,64 (7,26)	79,73 (2,7)	46,1 (7,66)	**0,002**
Koncentracija 4	71,6 (5,83)	80,99 (11,19)	45,56 (9,39)	**0,008**
Koncentracija 5	70,54 (2,87)	82,97 (9,02)	52,97 (14,22)	**0,03**
Koncentracija 6	80,73 (14,17)	96,36 (12,99)	45,61 (3,91)	**0,004**
Koncentracija 7	90,68 (9,2)	91,42 (19,72)	47,17 (3,17)	**0,008**
Koncentracija 8	98,17 (8,81)	99,26 (10,39)	47,63 (2,67)	**<0,001**
Ukupna masa (početno+ubrano) (g)				
Koncentracija 1	62,06 (1,15)	74,64 (8,82)	32,6 (1,26)	**<0,001**
Koncentracija 2	60,15 (2,96)	71,86 (6,58)	42,54 (2,62)	**0,001**
Koncentracija 3	68,13 (8,34)	82,81 (2,86)	48,55 (7,68)	**0,002**
Koncentracija 4	74,15 (5,32)	84,01 (11,71)	47,72 (9,84)	**0,008**
Koncentracija 5	72,82 (2,74)	85,01 (8,73)	56,54 (16,01)	**0,04**
Koncentracija 6	82,61 (14,48)	98,6 (13,16)	48,07 (3,95)	**0,005**
Koncentracija 7	93,4 (9,64)	93,68 (19,8)	50,31 (4,13)	**0,009**
Koncentracija 8	101,29 (9,33)	101,28 (11,19)	52,04 (2,84)	**0,001**

*ANOVA

Uočena je značajna je razlika u prinosu *Lemna minor i Lemna trisulca*, te između *Lemna trisulca* i *Spirodela polyrhiza*, dok nema značajne razlike u ukupnom prinosu zelene mase između *Lemna minor* i *Spirodela polyrhiza* (Tablica 15.).

Tablica 15. Razlike u početnoj masi i prinosu zelene mase između vrsta vodenih leća

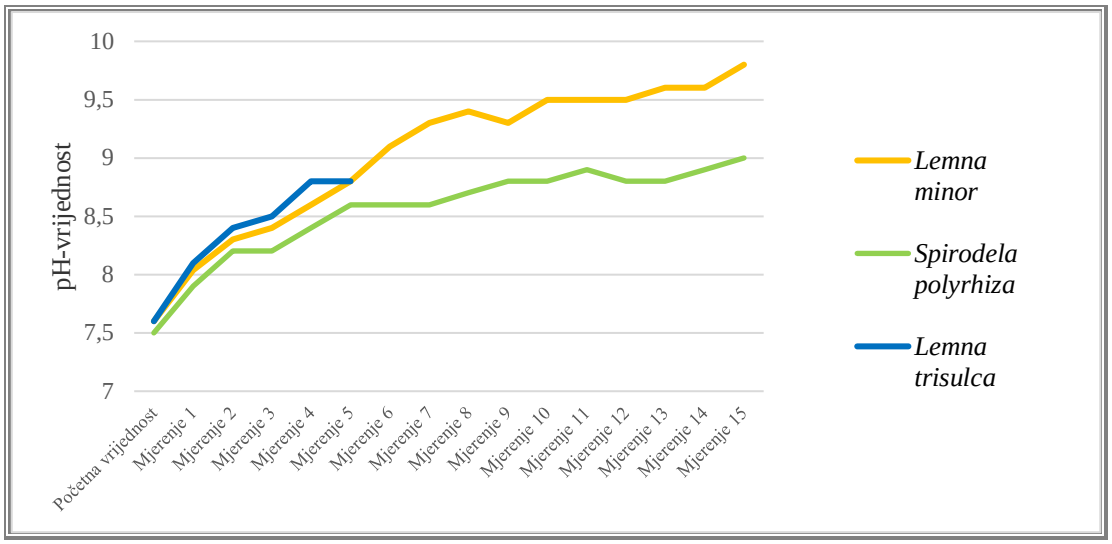
	*P vrijednosti (95 % interval pouzdanosti)		
	Lemna minor vs. Lemna trisulca	*Lemna minor vs. Spirodela polyrhiza*	*Lemna trisulca vs. Spirodela polyrhiza*
Početna masa (g)			
Koncentracija 1	0,95 (-1,1 – 2,2)	>0,99 (-2,1 – 1,2)	0,33 (-0,7 – 2,6)
Koncentracija 2	0,18 (-3,1 – 0,5)	0,25 (-2,9 – 0,7)	>0,99 (-1,7 – 1,9)
Koncentracija 3	> 0,99 (-1,9 – 1,9)	>0,99 (-2,5 – 1,4)	0,98 (-1,3 – 2,6)
Koncentracija 4	>0,99 (-1,7 – 2,5)	>0,99 (-2,6 – 1,6)	0,68 (-1,2 – 2,9)
Koncentracija 5	0,55 (-4,1 – 1,5)	>0,99 (-2,6 – 3,1)	0,38 (-4,4 – 1,3)
Koncentracija 6	0,35 (-1,6 – 0,5)	0,88 (-1,4 – 0,67)	>0,99 (-1,2 – 0,8)
Koncentracija 7	>0,99 (-2,4 – 1,6)	>0,99 (-1,5 – 2,4)	0,58 (-1,1 – 2,9)
Koncentracija 8	0,27 (-3,3 – 0,8)	0,39 (-0,9 – 3,2)	**0,03** (0,3 – 4,5)
Ukupni prinos zelene mase (g)			
Koncentracija 1	**0,001** (15 – 42,8)	0,08 (-26,1 – 1,7)	**<0,001** (-55,9 – (-28,1))
Koncentracija 2	**0,003** (8,2 – 29,6)	0,05 (-21,2 – 0,2)	**<0,001** (-40,1 – (-18,7))
Koncentracija 3	**0,03** (2,7 – 36,4)	0,10 (-30,9 – 2,8)	**0,002** (-50,5 – (-16,8))
Koncentracija 4	**0,04** (1,7 – 50,4)	0,76 (-33,7 – 14,9)	**0,009** (-59,8 – (-11,1))
Koncentracija 5	0,22 (-8,8 – 44,1)	0,52 (-14,1 – 38,9)	**0,03** (-56,5 – (-3,5))
Koncentracija 6	**0,03** (4,7 – 65,5)	0,43 (-46,0 – 14,8)	**0,005** (-81,1 – (-20,4))
Koncentracija 7	**0,02** (9,4 – 77,6)	> 0,99 (-34,8 – 33,3)	**0,02** (-78,3 – (-10,2))
Koncentracija 8	**0,001** (29,0 – 72,1)	>0,99 (-22,6 – 20,4)	**0,001** (30,1 – 73,1)
Ukupna masa (početno + ubrano) (g)			
Koncentracija 1	**0,001** (15,5 – 43,4)	0,08 (-26,5 – 1,3)	**<0,001** (-55,9 – (-28,1))
Koncentracija 2	**0,008** (5,7 – 29,5)	0,05 (-23,6 – 0,18)	**0,001** (-41,2 – (-17,4))
Koncentracija 3	**0,04** (1,5 – 37,7)	0,11 (-32,8 – 3,4)	**0,002** (-52,3 – (-16,1))
Koncentracija 4	**0,04** (1,3 – 51,5)	0,73 (-34,9 – 15,2)	**0,009** (11,2 – 61,4)
Koncentracija 5	0,33 (-12,3 –44,8)	0,63 (-40,7 – 16,4)	0,05 (-57,0 – 0,11)
Koncentracija 6	**0,02** (8,4 – 77,8)	0,42 (-46,9 – 14,9)	**0,005** (-81,5 – (-19,6))
Koncentracija 7	**0,02** (8,4 – 77,8)	> 0,99 (-35,0 –34,4)	**0,02** (8,7 – 78,1)
Koncentracija 8	**0,001** (26,3 – 72,3)	> 0,99 (-22,9 – 23,0)	**0,001** (-72,2 – (-26,2))

*ANOVA (PostHoc Bonferroni)

U Tablicama 14.–23. te u Grafikonima 4.–6. vidljivo je da su podaci o mjerenjima vezanim za vodenu leću *Lemna trisulca* ostvareni do 5. mjerenja. Nakon tog mjerenja vrsta je odumrla, a što je vjerojatno uvjetovano zamućenošću hranjive otopine i posljedično smanjenjem fotosinteze.

3.1.3. pH-vrijednost hranjive otopine

Tijekom trideset dana praćene su i pH-vrijednosti hranjive otopine. Značajno niže vrijednosti utvrđene su kod leće *Spirodela polyrhiza*, u odnosu na ostale vrste leća (Grafikon 4. i Tablica 16.). Iz razloga navedenih u predhodnom poglavlju podaci o uzgoju vrste *Lemna trisulca* su vođeni do 5. mjerenja.



Grafikon 4. pH-vrijednosti hranjive otopine prema mjerenjima kod promatranih leća

Tablica 16. Mjere sredine i raspršenja pH-vrijednosti hranjive otopine u odnosu na vrstu leće prema mjerenjima

pH-vrijednost	Aritmetička sredina (standardna devijacija)			P*
	Lemna minor	*Spirodela polyrhiza*	*Lemna trisulca*	
Početna vrijednost	7,6 (0,03)	7,45 (0,15)	7,6 (0,05)	**0,006**
Mjerenje 1	8,04 (0,05)	7,88 (0,04)	8,05 (0,03)	**<0,001**
Mjerenje 2	8,3 (0,05)	8,16 (0,15)	8,38 (0,02)	**<0,001**
Mjerenje 3	8,38 (0,05)	8,2 (0,13)	8,54 (0,05)	**<0,001**
Mjerenje 4	8,56 (0,13)	8,42 (0,08)	8,8 (0,15)	**<0,001**
Mjerenje 5	8,83 (0,18)	8,59 (0,09)	8,82 (0,14)	**0,01**
Mjerenje 6	9,1 (0,28)	8,6 (0,22)	-	**0,001**
Mjerenje 7	9,32 (0,26)	8,6 (0,25)	-	**<0,001**
Mjerenje 8	9,36 (0,14)	8,68 (0,25)	-	**<0,001**
Mjerenje 9	9,34 (0,09)	8,81 (0,15)	-	**<0,001**
Mjerenje 10	9,50 (0,12)	8,82 (0,32)	-	**<0,001**
Mjerenje 11	9,49 (0,14)	8,88 (0,26)	-	**<0,001**
Mjerenje 12	9,45 (0,17)	8,79 (0,31)	-	**<0,001**
Mjerenje 13	9,58 (0,23)	8,79 (0,38)	-	**<0,001**
Mjerenje 14	9,63 (0,25)	8,93 (0,33)	-	**<0,001**
Mjerenje 15	9,84 (0,31)	9,01 (0,38)	-	**<0,001**

*ANOVA;†Studentov t test

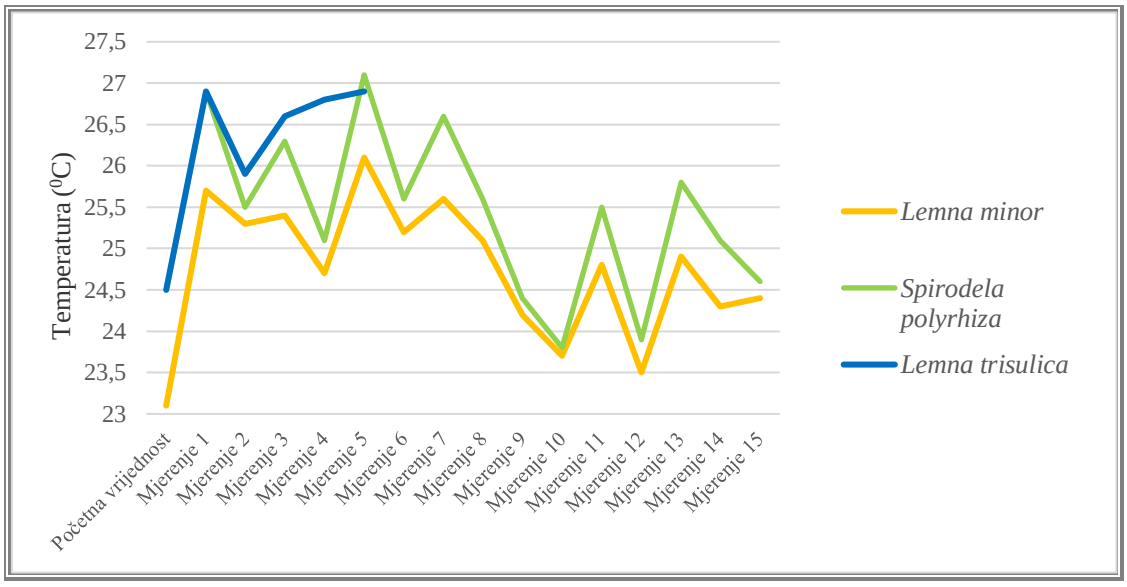
3.1.4. Temperatura hranjive otopine

Tijekom trajanja pokusa, kod leće *Spirodela polyrhiza* utvrđene su značajno više temperature hranjive otopine nego kod *Lemna minor*. Značajne razlike su prisutne u većini mjerenja (Tablica 17., Grafikon 5.).

Tablica 17. Mjere sredine i raspršenja temperature hranjive otopine u odnosu na vrstu leće prema mjerenjima

Temperatura (°C)	Aritmetička sredina (standardna devijacija)			P*
	Lemna minor	*Spirodela polyrhiza*	*Lemna trisulca*	
Početna vrijednost	23,05 (0,48)	24,46 (0,38)	24,46 (0,37)	**<0,001**
Mjerenje 1	25,74 (0,27)	26,85 (0,52)	26,91 (0,54)	**<0,001**
Mjerenje 2	25,26 (0,42)	25,51 (0,51)	25,93 (0,73)	0,09
Mjerenje 3	25,41 (0,33)	26,33 (0,47)	26,56 (0,73)	**0,001**
Mjerenje 4	24,74 (0,40)	25,10 (0,36)	26,78 (0,74)	**<0,001**
Mjerenje 5	26,07 (0,56)	27,05 (0,74)	26,85 (0,92)	**<0,001**
Mjerenje 6	25,16 (0,59)	25,60 (0,71)	-	**0,02**†
Mjerenje 7	25,63 (0,59)	26,63 (0,73)	-	**<0,001**
Mjerenje 8	25,13 (0,60)	25,63 (0,64)	-	**0,008**†
Mjerenje 9	24,15 (0,41)	24,39 (0,47)	-	0,06†
Mjerenje 10	23,74 (0,49)	23,82 (0,54)	-	0,57†
Mjerenje 11	24,77 (0,53)	25,53 (0,65)	-	**<0,001**
Mjerenje 12	23,51 (0,26)	23,93 (0,29)	-	**<0,001**
Mjerenje 13	24,85 (0,52)	25,76 (0,72)	-	**<0,001**
Mjerenje 14	24,34 (0,47)	25,09 (0,57)	-	**<0,001**
Mjerenje 15	24,35 (0,56)	24,57 (0,68)	-	0,23†

*ANOVA;†Studentov t test



Grafikon 5. Vrijednosti temperature hranjive otopine prema mjerenjima kod promatranih leća

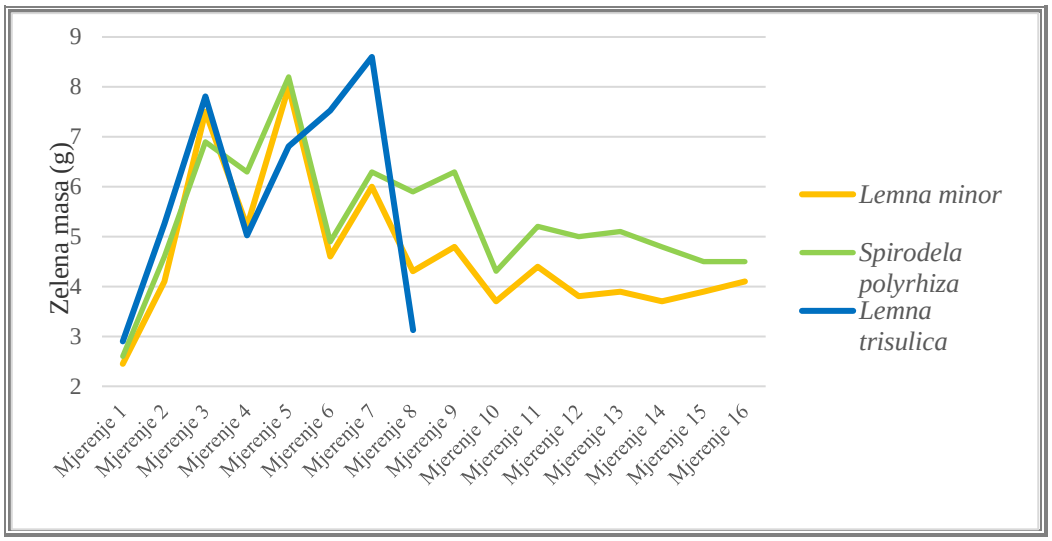
3.1.5. Prinos zelene mase vodene leće

Prinos zelene mase vodene leće *Spirodela polyrhiza* tijekom trajanja pokusa značajno je veći nego prinos kod vrste *Lemna minor*, dok je početkom pokusa u nekoliko mjerenja *Lemna trisulca* imala značajno veći prinos od ostalih leća. Značajne razlike su prisutne u većini mjerenja (Tablica 18. i Grafikon 6.).

Tablica 18. Mjere sredine i raspršenja prinosa zelene mase u odnosu na vrstu vodene leće prema mjerenjima

Prinos zelene mase (g)	Aritmetička sredina (standardna devijacija)			P*
	Lemna minor	*Spirodela polyrhiza*	*Lemna trisulca*	
Mjerenje 1	2,45 (0,70)	2,6 (0,68)	2,94 (1,07)	0,13
Mjerenje 2	4,09 (0,79)	4,6 (0,87)	5,25 (1,12)	**<0,001**
Mjerenje 3	7,52 (1,23)	6,85 (0,97)	7,81 (1,49)	**0,03**
Mjerenje 4	5,19 (0,58)	6,32 (1,57)	5,03 (1,13)	**<0,001**
Mjerenje 5	8,02 (1,22)	8,17 (1,83)	6,81 (1,39)	**0,005**
Mjerenje 6	4,62 (1,01)	4,91 (0,96)	7,53 (2,34)	**<0,001**
Mjerenje 7	6,01 (1,7)	6,31 (1,6)	8,6 (2,79)	**<0,001**
Mjerenje 8	4,30 (1,11)	5,86 (1,67)	3,12 (0,6)	**<0,001**
Mjerenje 9	4,78 (1,96)	6,28 (1,86)	-	**0,009**†
Mjerenje 10	3,68 (0,92)	4,27 (1,22)	-	0,06†
Mjerenje 11	4,36 (1,58)	5,18 (2,03)	-	0,13†
Mjerenje 12	3,81 (1,24)	5,0 (1,36)	-	**0,003**†
Mjerenje 13	3,95 (1,51)	5,05 (1,85)	-	**0,03**†
Mjerenje 14	3,66 (1,34)	4,8 (1,64)	-	**0,01**†
Mjerenje 15	3,87 (1,46)	4,46 (1,67)	-	0,21†
Mjerenje 16	4,07 (1,62)	4,45 (1,67)	-	0,43†

*ANOVA;†Studentov t test



Grafikon 6. Vrijednosti prinosa zelene mase vrsta vodenih leća u odnosu na mjerenja

3.1.6. Udio algi u zelenoj masi

U prva dva mjerenja kod sve tri vrste leće utvrđena je prisutnost manje od 10 % algi. Značajno više algi je bilo kroz sva slijedeća mjerenja (do 7. mjerenja), kod leće *Lemna trisulca* ($P < 0{,}001$). Od 7. mjerenja na dalje, podjednak je udio algi kod *Lemna minor* i *Spirodela polyrhiza*, dok je u 11. i 12. mjerenju značajno više algi prisutno kod leće *Spirodela polyrhiza* (Tablice 19.–20.). Na Slikama 42. i 43. vidljive su karakteristične pojave i širenje algi.

Tablica 19. Prisutnost algi u zelenoj masi u odnosu na vrstu leće po mjerenjima (1.–7.)

Prisutnost algi	Broj (%) u odnosu na vrstu leće			P*
	Lemna minor	*Spirodela polyrhiza*	*Lemna trisulica*	
Mjerenje 1 – manje od 10 %	24 (100)	24 (100)	24 (100)	-
Mjerenje 2 – manje od 10 %	24 (100)	24 (100)	24 (100)	-
Mjerenje 3 – manje od 10 % 20–40 % 40–60 %	24 (100) 0 0	12 (50) 12 (50) 0	6 (25) 11 (46) 7 (29)	**<0,001**
Mjerenje 4 – manje od 10 % 20–40 % 40–60 %	22 (92) 2 (8) 0	10 (42) 13 (54) 1 (4)	2 (8) 5 (21) 17 (71)	**<0,001**
Mjerenje 5 – manje od 10 % 20–40 % 40–60 % 60–80 % više od 80 %	20 (83) 4 (17) 0 0 0	10 (42) 7 (29) 7 (29) 0 0	0 3 (13) 3 (13) 10 (41,7) 8 (33,3)	**<0,001**
Mjerenje 6 - manje od 10 % 20–40 % 40–60 % 60–80 % više od 80 %	15 (63) 9 (38) 0 0 0	6 (25) 10 (42) 7 (29) 1 (4,2) 0	0 3 (13) 3 (13) 10 (41,7) 8 (33,3)	**<0,001**
Mjerenje 7 – manje od 10 % 20–40 % 40–60 % 60–80 % više od 80 %	13 (54) 11 (46) 0 0 0	5 (21) 10 (42) 8 (33) 1 (4,2) 0	0 0 3 (13) 13 (54,2) 8 (33,3)	**<0,001**

*Fisherov egzaktni test

Tablica 20. Prisutnost algi u odnosu na vrstu leće po mjerenjima (8.–15.)

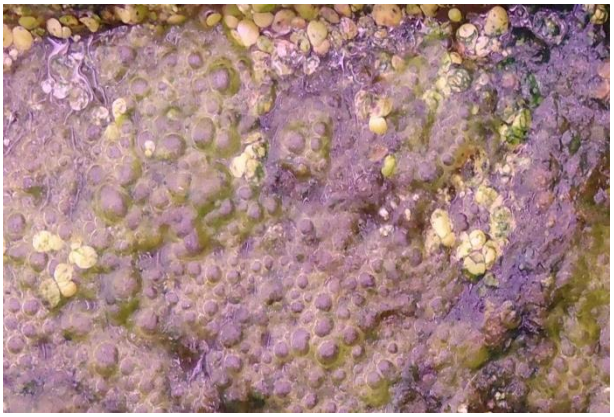
Prisutnost algi	Broj (%) u odnosu na vrstu leće			P*
	Lemna minor	*Spirodela polyrhiza*	*Lemna trisulica*	
Mjerenje 8 – manje od 10 % 20–40 % 40–60 % 60–80 %	12 (50) 8 (33) 4 (17) 0	7 (29) 6 (25) 10 (42) 1 (4,2)		0,14
Mjerenje 9 – manje od 10 % 20–40 % 40–60 % 60–80 %	10 (42) 11 (46) 2 (8) 1 (4)	6 (25) 9 (38) 8 (33) 1 (4,2)		0,10
Mjerenje 10 – manje od 10 % 20–40 % 40–60 % 60–80 %	7 (29) 10 (42) 7 (29) 0	3 (13) 9 (39) 10 (43) 1 (4,3)		0,38
Mjerenje 11 – manje od 10 % 20–40 % 40–60 % 60–80 %	4 (17) 13 (54) 5 (21) 2 (8,3)	0 10 (43) 12 (52) 1 (4,3)		**0,04**
Mjerenje 12 – manje od 10 % 20–40 % 40–60 % 60–80 %	5 (21) 12 (50) 5 (21) 2 (8,3)	3 (13) 4 (17) 14 (61) 2 (8,7)		**0,03**
Mjerenje 13 – manje od 10 % 20–40 % 40–60 % 60–80 %	4 (17) 8 (33) 10 (42) 2 (8,3)	0 7 (30) 14 (61) 2 (8,7)		0,25
Mjerenje 14 – manje od 10 % 20–40 % 40–60 % 60–80 %	3 (13) 7 (29) 9 (38) 5 (20,8)	1 (4) 8 (35) 9 (39) 5 (21,7)		0,86
Mjerenje 15 – manje od 10 % 20–40 % 40–60 % 60–80 %	10 (42) 11 (46) 2 (8) 1 (4)	6 (25) 9 (38) 8 (33) 1 (4,2)		0,67

*Fisherov egzaktni test



Slika 42. Pojava algi

(Izvor: vlastita fotografija, 2018.)



Slika 43. Dominacija algi

(Izvor: vlastita fotografija, 2018.)

3.1.7. Udio blijedih biljki među uzgajanim vodenim lećama

Udio blijedih biljki manji od 10 % utvrđen je u prvih sedam mjerenja kod svih vrsta leće, bez značajne razlike u broju blijedih biljki u odnosu na vrstu leće. U zadnjem mjerenju, kad su se uspoređivale samo leće *Lemna minor i Spirodela polyrhiza,* utvrđeno je da ima 60–80 % blijedih biljki više kod *Lemna minor* (Tablica 21.).

Tablica 21. Raspodjela blijedih biljki u odnosu na vrstu leće po mjerenjima

Blijede biljke	Broj (%) blijedih biljki			P*
	Lemna minor	*Spirodela polyrhiza*	*Lemna trisulca*	
Mjerenje 1– manje od 10 %	24 (100)	24 (100)	24 (100)	-
Mjerenje 2– manje od 10 %	24 (100)	24 (100)	24 (100)	-
Mjerenje 3– manje od 10 %	24 (100)	24 (100)	24 (100)	-
Mjerenje 4– manje od 10 %	24 (100)	24 (100)	24 (100)	-
Mjerenje 5– manje od 10 %	24 (100)	24 (100)	24 (100)	-
Mjerenje 6– manje od 10 %	24 (100)	24 (100)	24 (100)	-
Mjerenje 7– manje od 10 %	24 (100)	24 (100)	24 (100)	-
Mjerenje 8 – manje od 10 % 20–40 %	19 (79) 5 (21)	24 (100) 0		0,05
Mjerenje 9 – manje od 10 % 20–40 %	18 (75) 6 (25)	18 (75) 6 (25)		>0,99
Mjerenje 10 – manje od 10 % 20–40 %	17 (71) 7 (29)	14 (61) 9 (39)		0,47
Mjerenje 11 – manje od 10 % 21–40 % 41–60 %	17 (71) 7 (29) 0	12 (52) 7 (30) 4 (17)		0,10
Mjerenje 12 – manje od 10 % 21–40 % 41–60 %	16 (67) 3 (13) 5 (21)	11 (48) 6 (26) 6 (26)		0,34
Mjerenje 13 – manje od 10 % 21–40 % 41–60 %	12 (50) 2 (8) 10 (42)	9 (39) 7 (30) 7 (30)		0,19
Mjerenje 14 – manje od 10 % 21–40 % 41–60 % 61–80 %	11 (46) 2 (8) 7 (29) 4 (16,7)	10 (43) 6 (26) 7 (30) 0		0,13
Mjerenje 15 – manje od 10% 21–40 % 41–60 % 61–80 %	10 (42) 5 (21) 3 (13) 6 (25)	9 (39) 5 (22) 9 (39) 0		**0,03**

*Fisherov egzaktni test

3.1.8. Udio zaraženih biljki među uzgajanim vodenim lećama

Udio zaraženih biljki manji od 10 % utvrđen je samo u prvom i drugom mjerenju. Do 7. mjerenja leća *Lemna trisulca* imala je značajno više zaraženih biljki u odnosu na ostale dvije vrste (više od 80 %), dok je u ostalim mjerenjima značajno više zaraženih utvrđeno

kod leće *Sporodela polyrhiza* u odnosu na *Lemna minor*, a samo u posljednjem mjerenju *Lemna minor* ima značajno više zaraženih u odnosu na *Spirodela polyrhizu* (Tablica 22. i Tablica 23.).

Tablica 22. Raspodjela zaraženih biljki u odnosu na vrstu leće po mjerenjima

Zaražene biljke	Broj (%) zaraženih biljaka			P*
	Lemna minor	*Spirodela polyrhiza*	*Lemna trisulca*	
Mjerenje 1 – manje od 10 %	24 (100)	24 (100)	24 (100)	-
Mjerenje 2 – manje od 10 %	24 (100)	24 (100)	24 (100)	-
Mjerenje 3 – manje od 10 % 20–40 %	24 (100) 0	14 (58) 10 (42)	24 (100) 0	**<0,001**
Mjerenje 4 – manje od 10 % 20–40 %	24 (100) 0	14 (58) 10 (42)	24 (100) 0	**<0,001**
Mjerenje 5 – manje od 10 % 21–40 % 41–60 % 61–80 % više od 80 %	20 (83) 4 (17) 0 0 0	14 (58) 8 (33) 2 (8) 0 0	2 (8) 4 (17) 6 (25) 4 (16,7) 8 (33,3)	**<0,001**
Mjerenje 6 – manje od 10 % 21–40 % 41–60 % 61–80 % više od 80 %	20 (83) 4 (17) 0 0 0	13 (54) 8 (33) 2 (8) 1 (4,2) 0	2 (8) 4 (17) 6 (25) 4 (16,7) 8 (33,3)	**<0,001**
Mjerenje 7 – manje od 10 % 21–40 % 41–60 % 61–80 % više od 80 %	20 (83) 4 (17) 0 0 0	13 (54) 8 (33) 2 (8) 1 (4,2) 0	0 0 3 (13) 6 (25) 15 (62,5)	**<0,001**
Mjerenje 8 – manje od 10 % 21–40 % 41–60 % 61–80 %	20 (83) 4 (17) 0 0	13 (54) 8 (33) 2 (8) 1 (4,2)	0 0 3 (100) 0	**<0,001**

*Fisherov egzaktni test

Tablica 23. Raspodjela zaraženih biljki u odnosu na vrstu leće po mjerenjima

Zaražene biljke	Broj (%) zaraženih biljaka			P*
	Lemna minor	*Spirodela polyrhiza*	*Lemna trisulca*	
Mjerenje 9 - mnaje od 10 % 21–40 % 41–60 % 61–80 %	20 (83) 4 (17) 0 0	10 (42) 12 (50) 1 (4) 1 (4,2)		**0,008**
Mjerenje 10 – manje od 10 % 21–40 % 41–60 %	17 (71) 7 (29) 0	11 (46) 12 (50) 1 (4)		0,14
Mjerenje 11 – manje od 10 % 21–40 % 41–60 %	16 (67) 8 (33) 0	7 (30) 13 (57) 3 (13)	0 0 3 (13)	**0,02**
Mjerenje 12 – manje od 10 % 21–40 % 41–60 % 61–80 %	0 24 (100) 0 0	5 (22) 14 (61) 3 (13) 1 (4,3)	 - - -	**0,001**
Mjerenje 13 – manje od 10% 21–40 % 41–60 % 61–80 %	0 18 (75) 6 (25) 0	7 (30) 11 (48) 4 (17) 1 (4,3)	 - - -	**0,009**
Mjerenje 14 21–40 % 41–60 %	 18 (75) 6 (25)	 14 (61) 9 (39)	 - -	0,36
Mjerenje 15 21–40 % 41–60 % 61–80 %	 6 (25) 12 (50) 6 (25)	 13 (57) 10 (43) 0	 - - -	**0,01**

*Fisherov egzaktni test

Na Slikama 44. i 45. vidljiv je početak razvoja bolesti biljaka i njezino širenje na druge biljke.



Slika 44. Pojava bolesti
(Izvor: vlastita fotografija 2018.)



Slika 45. Širenje bolesti
(Izvor: vlastita fotografija 2018.)

3.1.9. Relativni prirast zelene mase vodenih leća

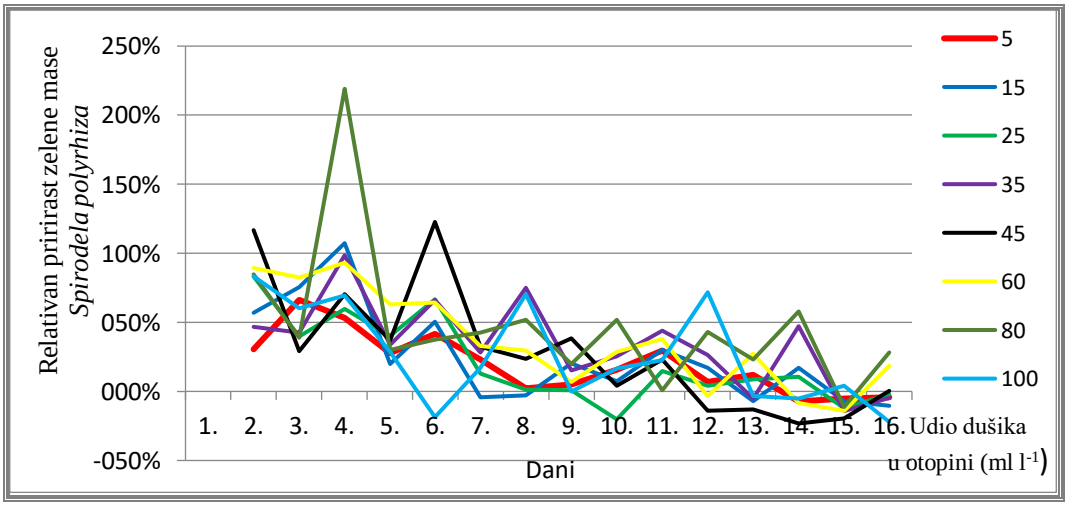
Iako su u prethodnim poglavljima prezentirani statistički obrađeni podaci, zbog specifičnosti uvjeta uzgoja i zbog svrhe ove faze istraživanja, uz te podatke jednako su važni i pojedini statistički neobrađeni podaci. Svrha ove faze istraživanja bila je utvrditi koje koncentracije digestata i koje vrste vodenih leća mogu biti najbolji kandidati za sljedeću fazu istraživanja (kontinuirani uzgoj). Zbog toga su važni podaci o maksimalnim prinosima u pojedinom segmentu uzgoja, a koji se nakon statističke obrade manje ističu ili su se uprosječili, zbog neujednačenog rasta u ponavljanjima, odnosno izraženo neujednačenog

rasta kroz trajanje pokusa. U Tablicama 24. i 25. te na Grafikonima 7. i 8. predstavljeni su podaci na način da su korišteni najbolji rezultati iz svake uzgojne grupe od tri ponavljanja.

Zbog ranije obrazloženog razloga odumiranja vodene leće (*Lemna trisulca*) u ranoj fazi uzgojnog pokusa (nakon 5. mjerenja) u nastavku istraživanja ta vrsta vodene leće nije korištena.

Tablica 24. Relativan prirast zelene mase *Spirodela polyrhiza* po danima

Udio dušika (mg l^{-1})	*Spirodela polyrhiza*, prirast zelene mase u odnosu na prethpdno mjerenje (%)															
	17.08.2014.	19.08.2014.	21.08.2014.	23.08.2014.	25.08.2014.	27.08.2014.	29.08.2014.	31.08.2014.	02.09.2014.	04.09.2014.	06.09.2014.	08.09.2014.	10.09.2014.	12.09.2014.	14.09.2014.	16.09.2014.
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.
5		31%	66%	53%	28%	42%	23%	2%	5%	16%	30%	7%	12%	-7%	-5%	-4%
15		57%	75%	**107%**	20%	50%	-4%	-3%	21%	7%	30%	17%	-7%	17%	-7%	-10%
25		83%	40%	60%	40%	66%	13%	1%	1%	-20%	15%	4%	9%	10%	-12%	-2%
35		47%	43%	99%	34%	66%	28%	75%	15%	25%	44%	26%	-5%	47%	-14%	-5%
45		**117%**	29%	71%	37%	**123%**	32%	24%	38%	4%	23%	-14%	-13%	-23%	-20%	0%
60		89%	82%	93%	63%	64%	33%	30%	7%	28%	38%	-3%	27%	-9%	-14%	18%
80		85%	39%	**219%**	30%	38%	43%	52%	20%	52%	1%	43%	23%	58%	-11%	28%
100		83%	60%	70%	29%	-18%	17%	70%	0%	17%	23%	72%	-3%	-5%	4%	-22%



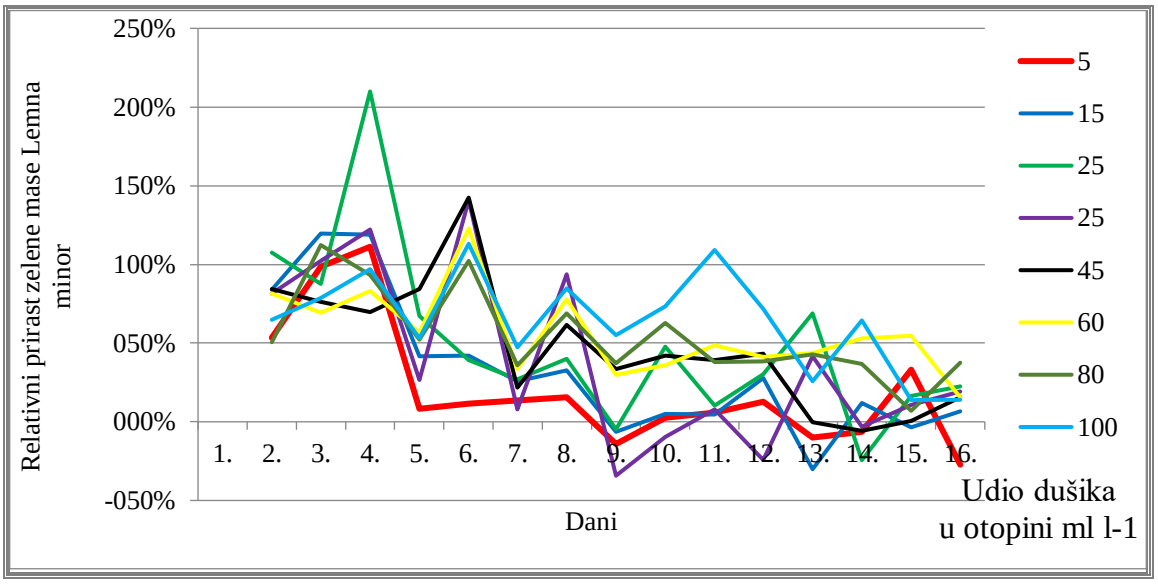
Grafikon 7. Relativni prirast vrste *Spirodela polyrhiza* po danima

Prikazan je relativan porast, odnosno pad mase u odnosu na prethodno mjerenje. Najznačajniji podaci u Tablicama 24. i 25. označeni su zelenom bojom, dakle u prvih 6

mjerenja. U obje je tablice primjetno je značajno povećanje u četvrtom mjerenju kod obje biljne vrste.

Tablica 25. Relativni prirast vrste *Lemna minor* po danima

Udio dušika	*Lemna minor*, prirast zelene mase u odnosu na prethodno mjerenje (%)															
	17.08.2014	19.08.2014	21.8.2014	23.08.2014	25.08.2014	27.08.2014	29.08.2014	31.08.2014	02.09.2014	04.09.2014	06.09.2014	08.09.2014	10.09.2014	12.09.2014	14.09.2014	16.09.2014
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.
5		54%	99%	111%	8%	11%	14%	16%	-14%	2%	6%	13%	-10%	-7%	33%	-27%
15		84%	120%	119%	41%	42%	26%	33%	-7%	5%	5%	28%	-30%	12%	-3%	7%
25		108%	88%	210%	67%	39%	27%	40%	-5%	48%	10%	30%	69%	-24%	16%	23%
35		82%	102%	122%	27%	141%	8%	94%	-34%	-10%	8%	-24%	42%	-3%	11%	19%
45		84%	76%	70%	84%	142%	22%	62%	34%	42%	39%	43%	-%	-6%	1%	16%
60		81%	69%	83%	57%	123%	33%	78%	29%	36%	49%	41%	44%	53%	55%	15%
80		51%	112%	93%	52%	102%	36%	69%	37%	63%	38%	39%	43%	37%	7%	38%
100		65%	79%	97%	53%	113%	48%	85%	55%	73%	109%	72%	26%	65%	14%	14%



Grafikon 8. Relativni prirast vrste *Lemna minor* po danima

Relativni pokazatelji prirasta u pojedinim fazama pokusa pokazuju visoke potencijale uzgoja. Najbolji relativni prirast uočen je kod *Spirodela polyrhiza* u hranjivoj podlozi s 80

mg dušika po litri hranjive otopine (219 %, što je približno 2,7 g na 50 cm² dnevno odnosno 1.970 t h^{-1} god $^{-1}$ zelene mase), ali je visokih prirasta većih od 100 % ipak najviše kod *Lemne minor,* što je vidljivo u Tablici 25.

3.2. Rezultati kontinuiranog uzgoja

3.2.1. Prinos zelene mase

Biljke su na početku i na kraju pokusa imale podjednaku boju i podjednaku veličinu lista te, ukupno gledajući, izgledale su zdravo i u dobroj kondiciji kao i na početku uzgoja. U Tablici 26. prikazane su koncentracije digestata (u ml u 14 l i u ml na l) i ukupnog dušika (u mg l).

Tablica 26. Koncentracije digestata i ukupnog dušika u pojedinim hranjivim otopinama

	Koncentarcije digestata	Koncentracije digestata	Koncentracije ukupnog dušika
SP 80	80 ml 14 l^{-1}	5,71 ml l^{-1}	29,61 mg l^{-1}
SP 60	60 ml 14 l^{-1}	4,29 ml l^{-1}	22,25 mg l^{-1}
SP 40	40 ml 14 l^{-1}	2,86 ml l^{-1}	14,83 mg l^{-1}

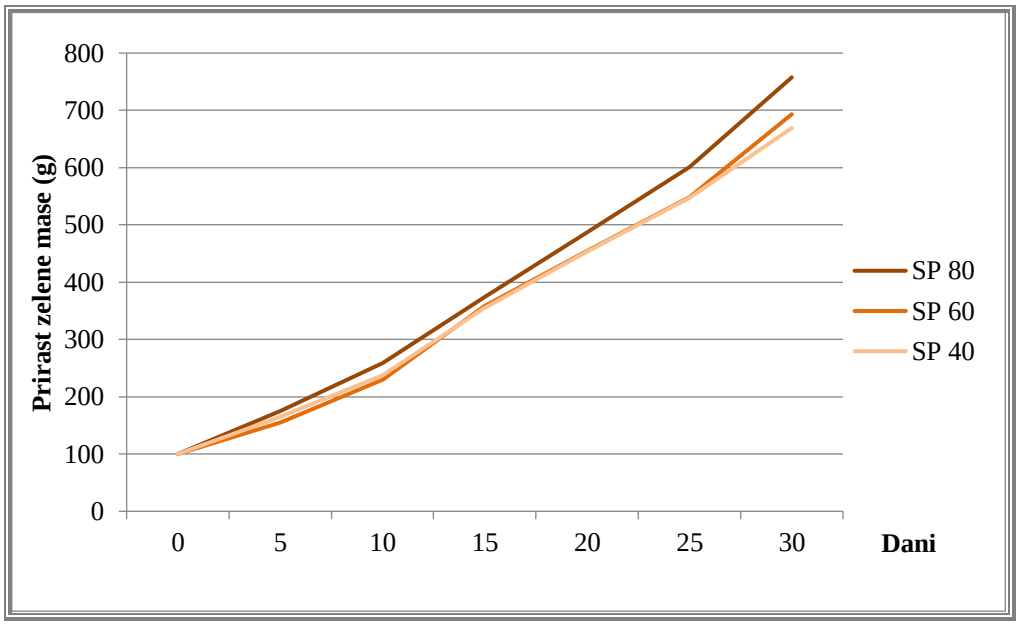
Tekuća frakcija digestata korištena za uzgoj vodene leće analizirana je prije pokusa, a vrijednosti su prikazane u Tablici 27.

Tablica 27. Rezultati analize digestata (tekuće frakcije)

pH-vrijednost	8,13
Suha tvar (%)	8,95
Organska tvar (%)	72,88
Organski ugljik (%)	38,00
Ukupni dušik (%)	0,516
Specifična težina (g dm^{-3})	1005,00

Rezultati prirasta zelene mase prikazani su Tablicom 28. Najveći prirast zelene mase zabilježen je kod najveće koncentracije digestata u hranjivoj otopini i iznosi 658 g zelene

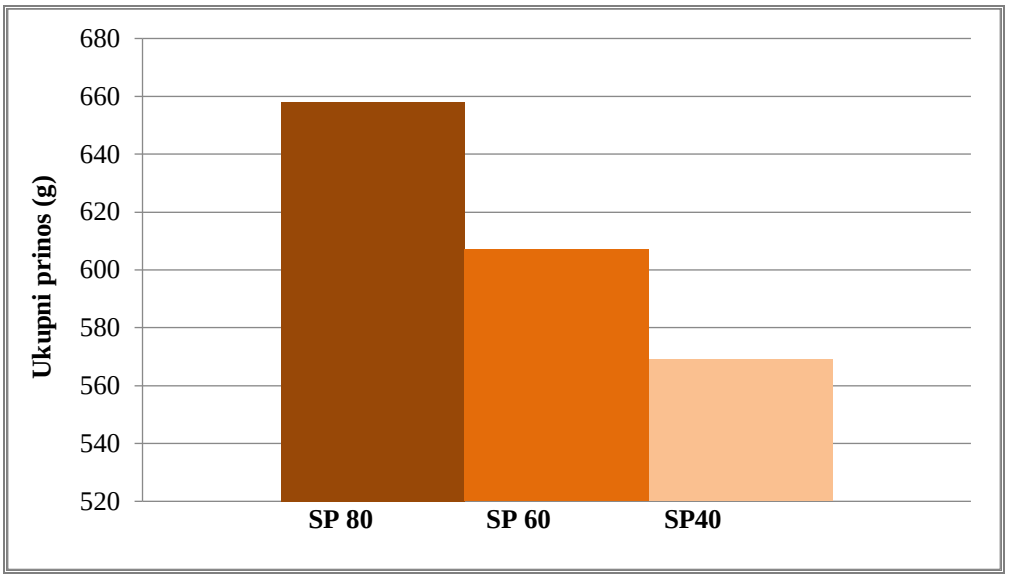
mase uzgojene kroz 30 dana na površini od 200 cm², uz koncentraciju 80 ml digestata na 14 l vode, odnosno 29,61 mg l^{-1} ukupnog dušika. U početnoj fazi rasta leće razlike u prirastu zelene mase bile su manje izražene, dok je u drugom dijelu pokusa izraženija razlika u korist bogatijih hranjivih otopina. Kumulativni prikaz uzgoja zelene mase vidljiv je na Grafikonu 9. Gotovo linearna krivulju ukazuje na izostanak mogućeg eksponencijalnog rasta, ali pokazuje ujednačen prirast tijekom cijelog pokusa i mogućnost kontinuiranog uzgoja vodene leće. U promatranom razdoblju od 30 dana, na hranjivoj otopini s koncentracijom digestata 80 ml 14 l^{-1} (SP 80), uzgojeno je 658 g zelene mase biljaka, na koncentraciji 60 ml 14 l^{-1} (SP 60) uzgojeno je 607 g i na koncentraciji 40 ml 14 l^{-1} (SP 40) 569 g zelene mase, što je prikazano na Grafikonu 10.



Grafikon 9. Kumulativni prikaz prirasta zelene mase vrste *Spirodela polyrhiza* po danima pokusa

Tablica 28. Prirast zelene mase vrste *Spirodela polyrhiza*

Trajanje uzgoja (dan)	**Sadržaj digestata u hranjivoj otopini**			Intenzitet osvjetljenja (000 lx)
	80 ml 14 l^{-1}	**60 ml 14 l^{-1}**	**40 ml 14 l^{-1}**	
0 Početno stanje zelene mase (g)	20	20	20	13
	20	20	20	16
	20	20	20	19
	20	20	20	24
	20	20	20	33
5 Ubrano zelene mase (g)	15,6	12,9	13	13
	14,2	13,5	13,7	16
	14,9	13	12	19
	14,9	16	13	24
	15,9	13,8	13,4	33
10 Ubrano zelene mase (g)	12,7	14,1	14,9	13
	17,9	15,2	13,7	16
	19,8	15,1	15,2	19
	16,5	18,3	14,5	24
	16,1	12,3	14,4	33
15 Ubrano zelene mase (g)	24,8	24,5	24	13
	23,5	27,2	24,5	16
	22,3	25,3	23,1	19
	18,6	26,9	21,3	24
	26,2	24,3	25	33
20 Ubrano zelene mase (g)	22,1	19,3	17,9	13
	19,8	19,8	18,2	16
	23,2	22,1	18,9	19
	22,1	22,1	22,1	24
	26,2	13,2	21,1	33
25 Ubrano zelene mese (g)	24,6	17	21,8	13
	20,3	19,2	17,7	16
	19,2	18	17,4	19
	23,4	18,7	18,7	24
	26,3	20,2	17,6	33
30 Ubrano zelene mase (g)	35	27	21	13
	31	31	24,7	16
	29,3	30,3	25,3	19
	29	27,7	25,7	24
	32,3	29,3	25,7	33
Ukupno (g)	658	607	569	



Grafikon 10. Ukupan prinos vrste *Spirodela polyrhiza* na različitim koncentracijama digestata

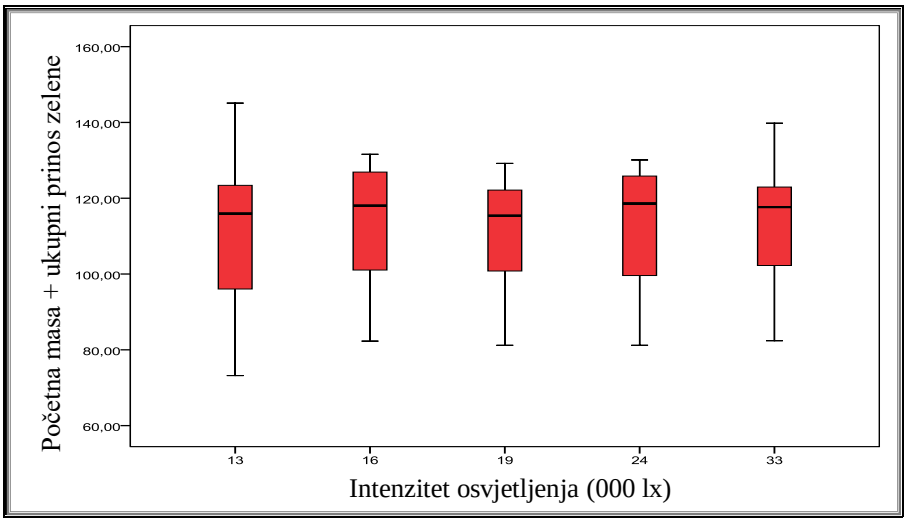
3.2.2. Utjecaj osvjetljenja na prinos zelene mase

Zbog stepenasto postavljenih bazena za uzgoj i vodoravno postavljene rasvjete bilježen je prinos zelene mase na uzgojnim linijama s različitim koncentracijama hranjiva te istodobno razlike u prirastu zelene mase u odnosu na intenzitet osvjetljenja. Rezultati ne pokazuju značajne razlike u prinosu zelene mase u odnosu na intenzitet umjetnog osvjetljenja (Grafikon 2.) u rasponu 15000-33000 lx (Tablica 29., Grafikon 11.).

Tablica 29. Ukupni prinos zelene mase (zajedno s početnom masom) vrste *Spirodela polyrhiza* u odnosu na intenzitet osvjetljenja

Spirodela polyrhiza	Medijan (interkvartilni raspon)	Minimum - maksimum	P
Početna masa (g) – svi intenziteti osvjetljenja	20		-
Ukupno ubrano (g)			
Intenzitet osvjetljenja 13000 lx	96 (70 - 104,3)	53,2 - 125,1	0,96
Intenzitet osvjetljenja 16000 lx	98,1 (75 - 107,1)	62,3 - 111,6	
Intenzitet osvjetljenja 19000 lx	95,4 (77,5 - 103,6)	61,2 - 109,2	
Intenzitet osvjetljenja 24000 lx	98,6 (75 - 106,2)	61,2 - 110,1	
Intenzitet osvjetljenja 33000 lx	97,7 (78,6 - 103,8)	62,4 - 119,8	

*Kruskal Wallisov test



Grafikon 11. Ukupni prinos (zajedno s početnom vrijednosti) zelene mase vrste *Spirodela polyrhiza* u odnosu na intenzitet osvjetljenja

Nema statistički značajne razlike u prinosu zelene mase s obzirom na intenzitet osvjetljenja i mjerenja (Tablica 30).

Tablica 30. Ukupni prinos zelene mase (zajedno s početnom masom) u odnosu na intenzitet osvjetljenja i mjerenja

	Medijan (interkvartilni raspon) prinosa zelene mase (g) prema intenzitetu svijetla					P*
	13000 lx	16000 lx	19000 lx	24000 lx	33000 lx	
Mjerenje 1	5 (4,7 - 5,7)	5,4 (4,9 - 6,1)	6,3 (5,5 - 8,2)	7 (4,7 - 8,1)	4 (1,5 - 5,7)	0,25
Mjerenje 2	13,1 (11,8 - 5,4)	13,2 (12,7 - 5,2)	13,3 (12,3 - 14,2)	14,4 (13,3 - 15,9)	14,2 (12,1 - 14,7)	0,50
Mjerenje 3	12,2 (7,8-12,6)	12,5 (11,4-15,5)	14,5 (13 - 19)	13,1 (12,3 - 16)	13,1 (12,2 - 15,8)	0,29
Mjerenje 4	13,8 (11,6 - 15,8)	15,5 (13,9 - 17,3)	15,8 (14,3 - 19,3)	16,3 (15,1 - 18)	14,3 (12,5 - 15,3)	0,08
Mjerenje 5	15,7 (15,4 - 16,7)	17,1 (15,8 - 18)	17,8 (13,5 - 17,9)	16,6 (15,1 - 18,1)	15,8 (15,5 - 16,4)	0,70
Mjerenje 6	24,9 (22 - 26,7)	25,8 (21,5 - 29,1)	25,4 (21,2 - 26,2)	21,4 (19,9 - 26,3)	24,5 (22,4 - 28,1)	0,47
Mjerenje 7	21,8 (18 - 24)	20,6 (16,3 - 21,3)	17,3 (15,1 - 18,8)	19,6 (16,9 - 23,8)	20,6 (17,8 - 23,1)	0,13
Mjerenje 8	26,5 (22,3 - 32,5)	29,5 (27,3 - 31,8)	29 (26,3 - 31)	29 (25 - 30,8)	30,5 (29 - 35)	0,45

*Kruskal Wallisov test

3.3. Anaerobna digestija

3.3.1. Analiza uzoraka

Prikupljeni uzorci prije postupka digestije su analizirani na udio suhe tvari, organske tvari, organskog ugljika, dušika i pH-vrijednosti. U Tablicama 31. i 32. prikazani su rezultati analize pripremljenih supstrata za provedbu anaerobne digestije, sastavljenih od 95 % goveđe gnojovke uz dodatak 5 % zelene mase.

Tablica 31. Analiza supstrata prije digestije

Naziv uzorka	suha tvar (%)	suha tvar (g kg^{-1})	organska tvar (%)	organska tvar (g kg^{-1})	organski ugljik (%)	organski ugljik (g kg^{-1})	dušik (%)	Dušik (g kg^{-1})	pH
gnojovka	4,63	46,30	81,16	37,58	39,95	18,50	0,17	1,70	7,15
Spirodela polyrhiza 80 ml	5,22	52,21	82,78	43,22	38,60	20,15	0,12	1,20	7,14
Spirodela polyrhiza 60 ml	5,42	54,19	82,22	44,56	39,17	21,23	0,13	1,30	7,15
Spirodela polyrhiza 40 ml	5,05	50,55	81,42	41,15	38,93	19,68	0,16	1,60	7,14
Spirodela polyrhiza	5,24	52,38	76,99	40,33	37,87	19,84	0,12	1,20	7,19
Lemna minor	5,23	52,32	82,14	42,98	38,90	20,35	0,16	1,60	7,14
Azolla caroliniana	5,44	54,36	82,21	44,70	39,12	21,27	0,15	1,50	7,21

Kada se promatraju rezultati analize svih uzoraka, odstupanja su relativno mala i bez izražene razlike zbog koje bi se mogao izdvojiti neki od uzoraka. Također, kada se promatraju vrijednosti analize prije digestije i nakon digestije, primjetno je značajnije smanjenje svih vrijednosti, osim pH-vrijednosti koje rastu nakon digestije.

Tablica 32. Analiza supstrata nakon digestije

naziv uzorka	suha tvar (%)	suha tvar (g kg^{-1})	organska tvar (%)	organska tvar (g kg^{-1})	organski ugljik (%)	organski ugljik (g kg^{-1})	dušik (%)	dušik (g kg^{-1})	pH
gnojovka	3,04	30,42	68,62	20,88	34,61	10,53	0,13	0,00	8,02
Spirodela polyrhiza 80 ml	3,41	34,10	68,74	23,44	34,60	11,80	0,10	0,00	8,12
Spirodela polyrhiza 60 ml	3,40	33,98	70,55	23,98	34,07	11,58	0,13	0,00	8,06
Spirodela polyrhiza 40 ml	3,39	33,86	70,20	23,79	34,76	11,76	0,11	0,00	8,02
Spirodela polyrhiza	3,47	34,69	67,73	23,50	33,41	11,58	0,09	0,00	8,09
Lemna minor	3,45	34,54	68,73	23,75	33,74	11,65	0,13	0,00	8,04
Azolla caroliniana	3,24	32,39	70,30	22,77	34,75	11,25	0,12	0,00	8,03

U Tablici 33. prikazani su rezultati analize prikupljenih uzoraka zelene mase. Tu se uočavaju izraženije razlike. Najveći udio suhe tvari je utvrđen kod *Spirodela polyrhiza* prikupljene u prirodi (11,19 %), a najniži je kod *Azolla caroliniana* (5,77 %). Za vrijednosti udjela organske tvari najveći udio se uočava kod *Azolla caroliniana* (86,57 %), a najniži kod *Spirodela polyrhiza* prikupljene u prirodi (64,26 %).

Tablica 33. Analiza uzoraka zelene mase vodenih biljaka

Naziv uzorka (samo zelena masa)	**suha tvar (%)**	**organska tvar (%)**	**pH**
Spirodela polyrhiza – 80 ml	8,63	79,92	7,31
Spirodela polyrhiza –60 ml	8,93	84,14	7,16
Spirodela polyrhiza – 40 ml	8,05	82,23	7,02
Spirodela polyrhiza	11,19	64,26	7,67
Lemna minor	8,32	80,00	7,39
Azolla caroliniana	5,77	86,57	6,97

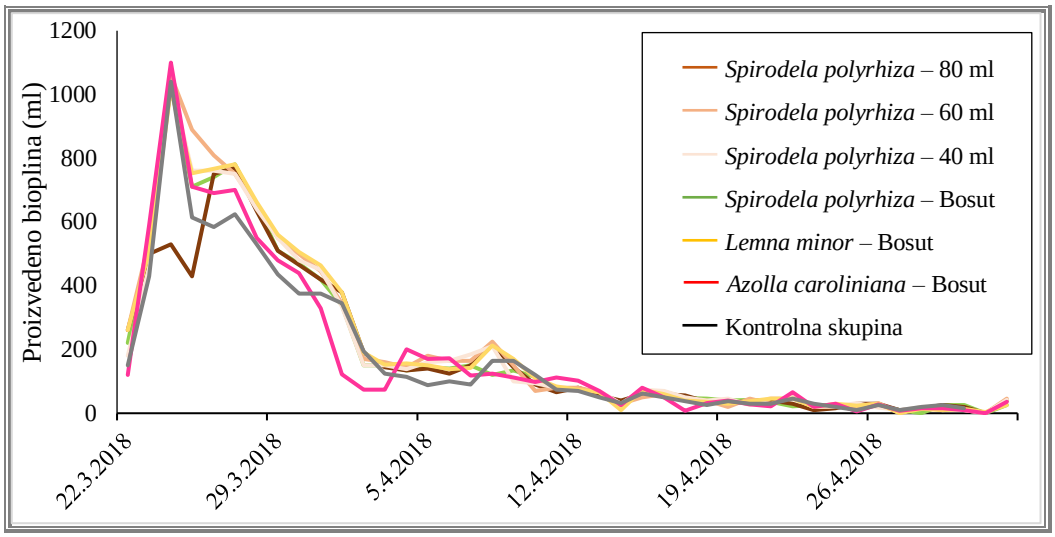
3.3.2. Rezultati anaerobne digestije

U Tablici 34. prikazane su vrijednosti prikupljenog bioplina po danima, dok je u Tablici 35. prikazana kumulativna proizvodnja bioplina po pojedinim vrstama supstrata. Podaci u navedenim tablicama prikazani su i na Grafikonima 12.–15. Istraživanja su provedena u tri ponavljanja. U pojedinim je slučajevima došlo do propuštanja na spojevima menzure i gumene cijevi i nekontroliranog istjecanja bioplina. Zbog navedenog razloga utvrđene su smanjene količine dobivenog bioplina, a koje nisu uvjetovane sastavom supstrata ili mikrobiološke aktivnosti tijekom postupka. Takvi podaci izuzeti su iz daljnje analize. Stoga su u obradi i analizi korišteni podaci iz dva ponavljanja, kod kojih nije uočeno istjecanje bioplina. Prikazani rezultati predstavljaju aritmetičku sredinu.

Tablica 34. Proizvodnja bioplina različitih vrsta vodenih biljaka u različitim supstratima po danima

Datum	Proizvodnja bioplina (ml), (95 % gnojovka + 5 % vodena leća)						
	Kontrolna skupina	*Spirodepla polyrhiza* – 80 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 60 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 40 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – Bosut	*Lemna minor* – Bosut	*Azolla caroliniana* – Bosut
22.3.2018.	150,00	260,00	260,00	180,00	220,00	260,00	120,00
23.3.2018.	430,00	500,00	540,00	455,00	540,00	506,67	590,00
24.3.2018.	1040,00	530,00	1060,00	1040,00	1025,00	1016,67	1100,00
25.3.2018.	615,00	430,00	890,00	760,00	710,00	753,33	710,00
26.3.2018.	585,00	750,00	810,00	760,00	740,00	766,67	690,00
27.3.2018.	625,00	770,00	750,00	750,00	780,00	780,00	700,00
28.3.2018.	530,00	635,00	650,00	640,00	650,00	663,33	550,00
29.3.2018.	435,00	510,00	550,00	550,00	510,00	560,00	480,00
30.3.2018.	375,00	465,00	500,00	480,00	470,00	506,67	440,00
31.3.2018.	375,00	420,00	445,00	450,00	420,00	463,33	330,00
1.4.2018.	345,00	380,00	345,00	335,00	340,00	380,00	122,50
2.4.2018.	195,00	190,00	170,00	150,00	150,00	190,00	75,00

Nastavak Tablice 34. s prethodne stranice:							
3.4.2018.	125,00	145,00	160,00	150,00	150,00	153,33	75,00
4.4.2018.	115,00	135,00	145,00	137,50	135,00	156,67	200,00
5.4.2018.	87,50	140,00	180,00	160,00	145,00	150,00	170,00
6.4.2018.	100,00	125,00	165,00	165,00	140,00	138,33	172,50
7.4.2018.	90,00	150,00	165,00	185,00	150,00	141,67	117,50
8.4.2018.	165,00	215,00	225,00	210,00	120,00	213,33	125,00
9.4.2018.	165,00	145,00	150,00	100,00	135,00	170,00	112,50
10.4.2018.	120,00	90,00	70,00	95,00	115,00	110,00	97,50
11.4.2018.	75,00	65,00	80,00	80,00	75,00	85,00	112,50
12.4.2018.	70,00	80,00	80,00	70,00	80,00	75,00	102,50
13.4.2018.	50,00	55,00	65,00	70,00	60,00	66,67	70,00
14.4.2018.	32,50	40,00	30,00	30,00	20,00	10,00	25,00
15.4.2018.	62,50	60,00	50,00	75,00	70,00	73,33	80,00
16.4.2018.	50,00	60,00	60,00	70,00	67,50	60,00	50,00
17.4.2018.	37,50	55,00	45,00	50,00	47,50	40,00	7,50
18.4.2018.	25,00	35,00	40,00	40,00	45,00	36,67	32,50
19.4.2018.	37,50	30,00	20,00	45,00	40,00	30,00	40,00
20.4.2018.	30,00	40,00	45,00	25,00	42,50	38,33	27,50
21.4.2018.	30,00	40,00	30,00	47,50	35,00	45,00	22,50
22.4.2018.	45,00	30,00	50,00	47,50	22,50	46,67	65,00
23.4.2018.	30,00	10,00	20,00	20,00	25,00	20,00	20,00
24.4.2018.	20,00	15,00	20,00	22,50	25,00	30,00	30,00
25.4.2018.	10,00	30,00	22,50	32,50	25,00	23,33	5,00
26.4.2018.	25,00	30,00	32,50	17,50	25,00	30,00	27,50
27.4.2018.	10,00	10,00	0,00	10,00	10,00	0,00	7,50
28.4.2018.	20,00	15,00	20,00	20,00	0,00	13,33	15,00
29.4.2018.	25,00	25,00	20,00	10,00	25,00	10,00	15,00
30.4.2018.	15,00	20,00	10,00	10,00	25,00	13,33	10,00
1.5.2018.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,33	0,00
2.5.2018.	25,00	40,00	45,00	42,50	25,00	26,67	35,00

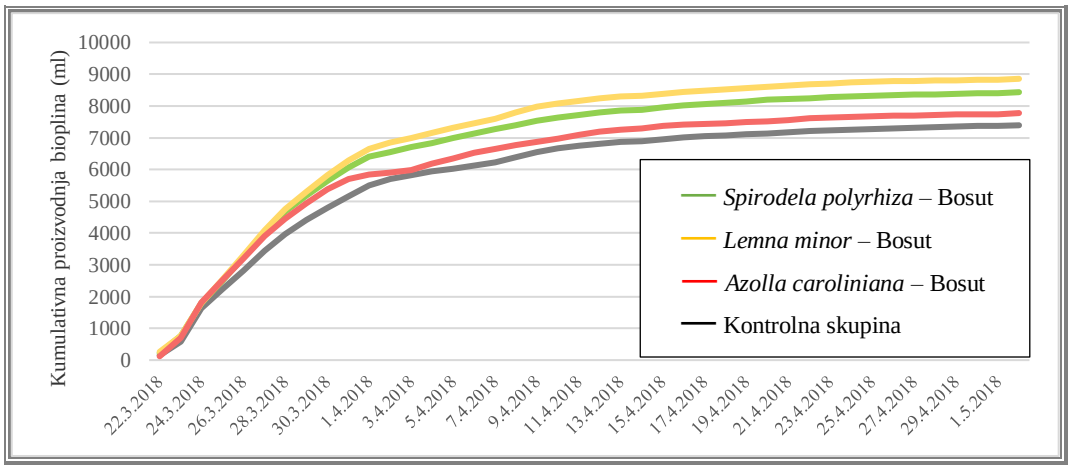


Grafikon 12. Proizvodnja bioplina iz različitih vrsta supstrata po danima

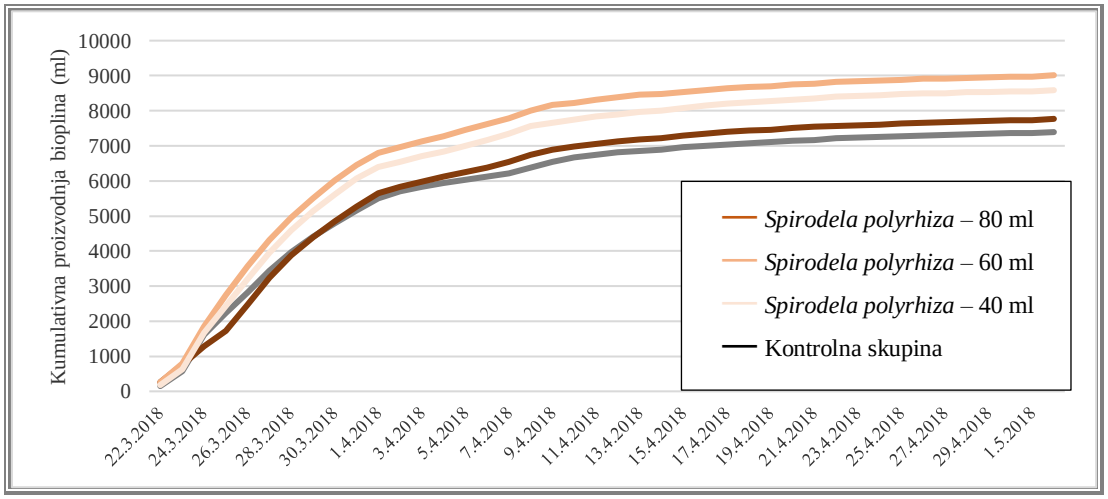
Tablica 35. Kumulativna proizvodnja bioplina iz različitih vrsta supstrata

Datum	Kumulativna količina bioplina (ml) (95 % gnojovka + 5 % vodena leća)						
	Kontrolna skupina	*Spirodepla polyrhiza* – 80 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 60 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 40 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – Bosut	*Lemna minor* – Bosut	*Azolla caroliniana* – Bosut
22.3.2018.	150,00	260,00	260,00	180,00	220,00	260,00	120,00
23.3.2018.	580,00	760,00	800,00	635,00	760,00	766,67	710,00
24.3.2018.	1620,00	1290,00	1860,00	1675,00	1785,00	1783,33	1810,00
25.3.2018.	2235,00	1720,00	2750,00	2435,00	2495,00	2536,67	2520,00
26.3.2018.	2820,00	2470,00	3560,00	3195,00	3235,00	3303,33	3210,00
27.3.2018.	3445,00	3240,00	4310,00	3945,00	4015,00	4083,33	3910,00
28.3.2018.	3975,00	3875,00	4960,00	4585,00	4665,00	4746,67	4460,00
29.3.2018.	4410,00	4385,00	5510,00	5135,00	5175,00	5306,67	4940,00
30.3.2018.	4785,00	4850,00	6010,00	5615,00	5645,00	5813,33	5380,00
31.3.2018.	5160,00	5270,00	6455,00	6065,00	6065,00	6276,67	5710,00
1.4.2018.	5505,00	5650,00	6800,00	6400,00	6405,00	6656,67	5832,50
2.4.2018.	5700,00	5840,00	6970,00	6550,00	6555,00	6846,67	5907,50

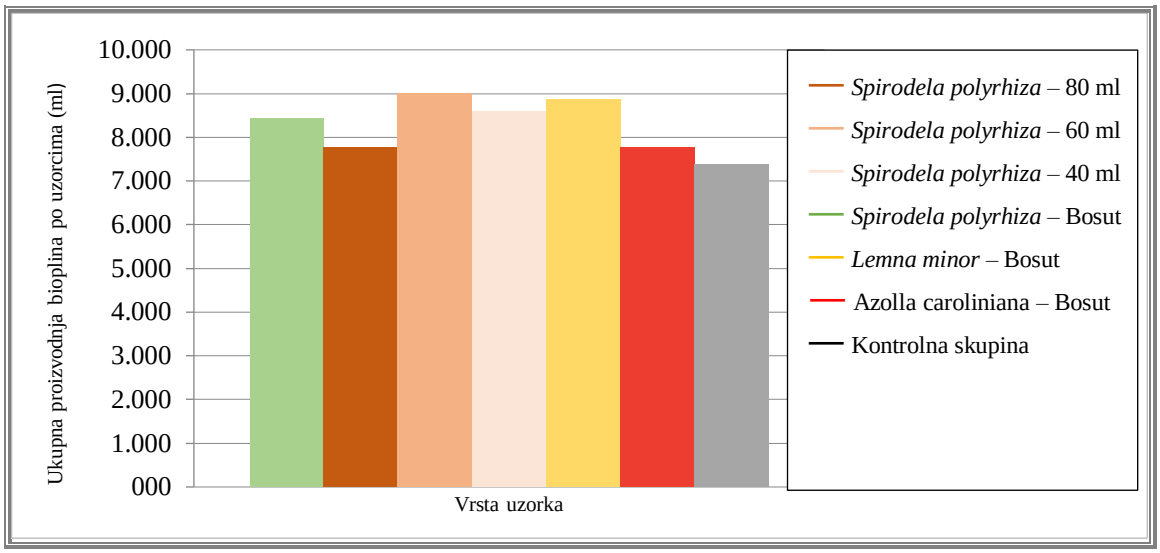
Nastavak Tablice 35. s prethodne stranice:							
3.4.2018.	5825,00	5985,00	7130,00	6700,00	6705,00	7000,00	5982,50
4.4.2018.	5940,00	6120,00	7275,00	6837,50	6840,00	7156,67	6182,50
5.4.2018.	6027,50	6260,00	7455,00	6997,50	6985,00	7306,67	6352,50
6.4.2018.	6127,50	6385,00	7620,00	7162,50	7125,00	7445,00	6525,00
7.4.2018.	6217,50	6535,00	7785,00	7347,50	7275,00	7586,67	6642,50
8.4.2018.	6382,50	6750,00	8010,00	7557,50	7395,00	7800,00	6767,50
9.4.2018.	6547,50	6895,00	8160,00	7657,50	7530,00	7970,00	6880,00
10.4.2018.	6667,50	6985,00	8230,00	7752,50	7645,00	8080,00	6977,50
11.4.2018.	6742,50	7050,00	8310,00	7832,50	7720,00	8165,00	7090,00
12.4.2018.	6812,50	7130,00	8390,00	7902,50	7800,00	8240,00	7192,50
13.4.2018.	6862,50	7185,00	8455,00	7972,50	7860,00	8306,67	7262,50
14.4.2018.	6895,00	7225,00	8485,00	8002,50	7880,00	8316,67	7287,50
15.4.2018.	6957,50	7285,00	8535,00	8077,50	7950,00	8390,00	7367,50
16.4.2018.	7007,50	7345,00	8595,00	8147,50	8017,50	8450,00	7417,50
17.4.2018.	7045,00	7400,00	8640,00	8197,50	8065,00	8490,00	7425,00
18.4.2018.	7070,00	7435,00	8680,00	8237,50	8110,00	8526,67	7457,50
19.4.2018.	7107,50	7465,00	8700,00	8282,50	8150,00	8556,67	7497,50
20.4.2018.	7137,50	7505,00	8745,00	8307,50	8192,50	8595,00	7525,00
21.4.2018.	7167,50	7545,00	8775,00	8355,00	8227,50	8640,00	7547,50
22.4.2018.	7212,50	7575,00	8825,00	8402,50	8250,00	8686,67	7612,50
23.4.2018.	7242,50	7585,00	8845,00	8422,50	8275,00	8706,67	7632,50
24.4.2018.	7262,50	7600,00	8865,00	8445,00	8300,00	8736,67	7662,50
25.4.2018.	7272,50	7630,00	8887,50	8477,50	8325,00	8760,00	7667,50
26.4.2018.	7297,50	7660,00	8920,00	8495,00	8350,00	8790,00	7695,00
27.4.2018.	7307,50	7670,00	8920,00	8505,00	8360,00	8790,00	7702,50
28.4.2018.	7327,50	7685,00	8940,00	8525,00	8360,00	8803,33	7717,50
29.4.2018.	7352,50	7710,00	8960,00	8535,00	8385,00	8813,33	7732,50
30.4.2018.	7367,50	7730,00	8970,00	8545,00	8410,00	8826,67	7742,50
1.5.2018.	7367,50	7730,00	8970,00	8545,00	8410,00	8830,00	7742,50
2.5.2018.	7392,50	7770,00	9015,00	8587,50	8435,00	8856,67	7777,50



Grafikon 13. Kumulativan prikaz proizvodnje bioplina od supstrata na bazi vodenih biljaka prikupljenih u prirodi



Grafikon 14. Kumulativan prikaz proizvodnje bioplina na bazi uzgojene vrste *Spirodela polyrhiza*



Grafikon 15. Ukupna proizvodnja bioplina iz različitih vrsta supstrata

Radi bolje usporedbe s literaturnim podacima rezultati proizvedenog bioplina ml g^{-1} zelene mase preračunati su i iskazani u količini ml g^{-1} suhe tvari (Tablica 36.).

Tablica 36. Proizvodnja bioplina s obzirom na dodatak suhe tvari vodenih biljaka

Vrsta suhe tvari	bioplina (ml g^{-1} ST)
Spirodela polurhiza uzgojena na otopini SP 80	346,35
Spirodela polyrhiza uzgojena na otopini SP 60	892,38
Spirodela polyrhiza uzgojena na otopini SP 40	777,52
Spirodela polyrhiza prikupljena na rijeci Bosutu	504,83
Lemna minor prikupljena na rijeci Bosutu	881,62
Azolla caroliniana prikupljena na rijeci Bosutu	523,22

Statistički obrađeni podaci, uz visoku razinu značajnosti (P< 0,001), ukazuju na to da ukupnu količinu bioplina (ml) najviše proizvodi *Lemna minor*, aritmetičke sredine 8856,7 ml i standardne devijacije 0,2 ml, najmanje *Azolla caroliniana*. Najveća količina bioplina (ml) po 1 g zelene mase također nastaje kod *Lemna minor*, aritmetičke sredine 73,4 ml i sdandardne devijacije 0,1 ml, te najmanja kod *Azolla caroliniana*. Količina metana (ml) po 1g zelene mase najveća je također kod leće *Lemna minor* aritmetičke sredine 41,3 ml i standardne devijacije od 0,1 ml, a najmanja kod *Azolla caroliniana*. (Tablica 37.).

Tablica 36. Ukupne količine bioplina, bioplina po 1 g zelene mase, te količine metana po 1 g zelene mase u odnosu na vrstu leće

		Aritmetička sredina (standardna devijacija)	P*
Ukupne količine bioplina (ml)			
Kontrolni uzorak		7392,5 (0,7)	**<0,001**
Spirodepla polyrhiza	80 ml digestata u posudi	7769,5 (0,7)	
Spirodepla polyrhiza	60 ml digestata u posudi	9014,9 (0,6)	
Spirodepla polyrhiza	40 ml digestata u posudi	8587,5 (0,7)	
Spirodepla polyrhiza		8434,0 (0,6)	
Lemna minor		8856,7 (0,2)	
Azolla caroliniana		7392,5 (0,4)	
Količina bioplina (ml) po 1g zelene mase (vodena leća)			**<0,001**
Spirodepla polyrhiza	80 ml digestata u posudi	29,9 (0,2)	
Spirodepla polyrhiza	60 ml digestata u posudi	79,7 (0,1)	
Spirodepla polyrhiza	40 ml digestata u posudi	62,6 (0,1)	
Spirodepla polyrhiza		56,5 (0,1)	
Lemna minor		73,4 (0,1)	
Azolla caroliniana		30,2 (0,1)	
Količina metana (ml) po 1g zelene mase (vodena leća)			**<0,001**
Spirodepla polyrhiza	80 ml digestata u posudi	16,8 (0,2)	
Spirodepla polyrhiza	60 ml digestata u posudi	40,8 (0,1)	
Spirodepla polyrhiza	40 ml digestata u posudi	34,9 (0,2)	
Spirodepla polyrhiza		32,9 (0,2)	
Lemna minor		41,3 (0,1)	
Azolla caroliniana		17,5 (0,1)	

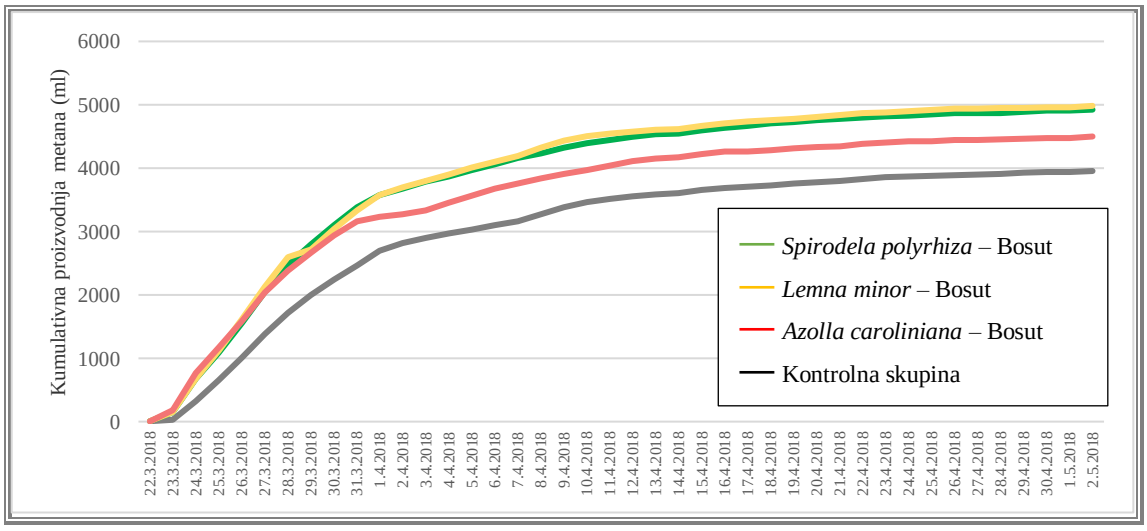
*ANOVA (PostHoc Student-Newman-Keuls test); statistički su značajne ($P < 0,001$) i sve kombinacije između parova vodenih leća

Uz prezentirane rezultate o ostvarenim prinosima u proizvodnji bioplina, još značajniji su podaci o proizvodnji metana po pojedinim uzorcima supstrata. Rezultati prikazani u Tablici 38. predstavljaju kumulativnu količinu proizvedenog metana po pojedinim vrstama supstrata po danima. Isti podaci prezentirani su i u Grafikonima 16. i 17.

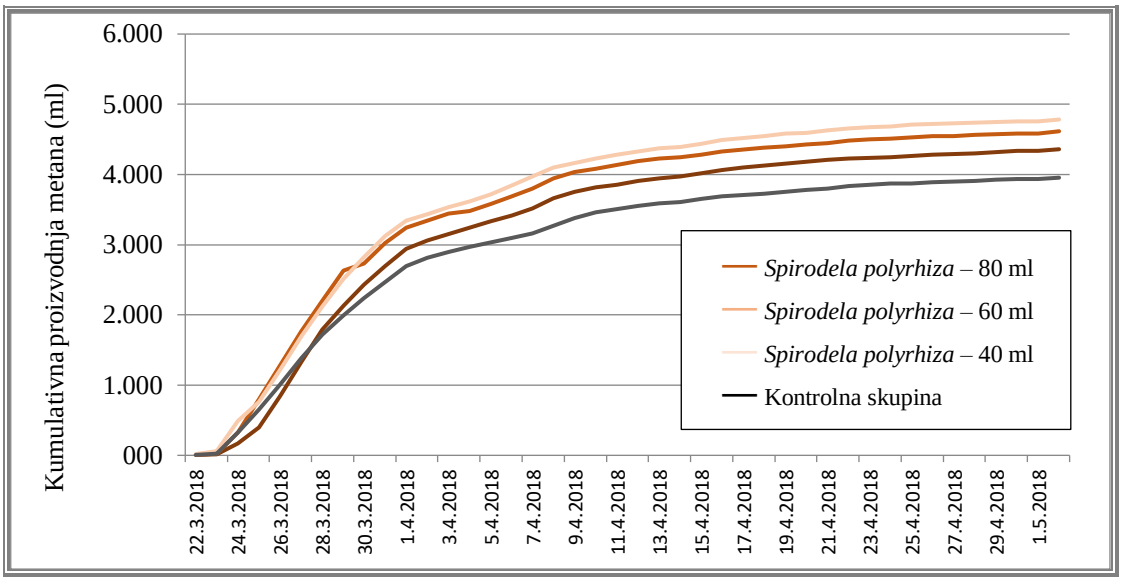
Tablica 38. Kumulativna proizvodnja metana različitih supstrata po danima pokusa

Vodene biljke							
Datum	Kontrolna skupina	*Spirodepla polyrhiza* – 80 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 60 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 40 ml	*Spirodepla polyrhiza* – Bosut	*Lemna minor* – Bosut	*Azolla caroliniana* – Bosut
22.3.2018.	6,88	5,90	7,66	17,86	5,94	7,41	4,764
23.3.2018.	26,59	17,25	23,57	63,01	149,058	145,6793	184,36
24.3.2018.	322,63	171,30	328,18	489,38	673,4138	671,9399	768,3133
25.3.2018.	654,51	396,33	794,39	762,29	1092,243	1122,961	1174,575
26.3.2018.	1007,56	843,48	1281,93	1215,41	1551,635	1613,091	1589,748
27.3.2018.	1381,37	1331,51	1760,96	1691,58	2054,54	2126,591	2035,788
28.3.2018.	1715,41	1794,61	2200,66	2118,06	2475,025	2592,184	2379,648
29.3.2018.	1996,50	2126,21	2629,83	2511,53	2802,037	2712,099	2667,264
30.3.2018.	2237,33	2426,98	2734,96	2820,93	3105,312	3040,689	2941,839
31.3.2018.	2467,02	2697,81	3023,41	3122,52	3379,026	3334,674	3160,266
1.4.2018.	2697,99	2943,74	3244,38	3340,48	3580,102	3575,898	3232,553
2.4.2018.	2815,25	3060,36	3345,79	3434,29	3681,262	3699,062	3276,931
3.4.2018.	2894,20	3154,79	3446,19	3530,20	3784,732	3799,22	3330,951
4.4.2018.	2969,26	3245,29	3477,53	3620,84	3871,672	3902,353	3452,031
5.4.2018.	3029,71	3335,73	3581,03	3721,14	3967,358	4006,723	3562,145
6.4.2018.	3096,13	3416,71	3686,22	3842,77	4061,466	4098,369	3675,133
7.4.2018.	3159,65	3519,55	3794,28	3970,53	4156,386	4187,633	3752,095
8.4.2018.	3269,93	3659,73	3941,63	4103,42	4232,322	4322,055	3833,97
9.4.2018.	3380,22	3754,27	4039,86	4166,70	4319,982	4431,744	3906,447
10.4.2018.	3459,87	3812,77	4084,48	4228,02	4394,655	4502,72	3969,259
11.4.2018.	3509,65	3855,02	4135,46	4279,66	4443,525	4542,214	4042,323
12.4.2018.	3555,95	3907,02	4187,66	4325,46	4495,653	4577,061	4108,891
13.4.2018.	3589,03	3942,77	4230,07	4371,25	4534,749	4608,037	4154,353
14.4.2018.	3610,52	3968,77	4249,64	4390,88	4548,062	4614,853	4170,944
15.4.2018.	3651,80	4015,05	4284,52	4441,46	4594,656	4664,834	4224,034
16.4.2018.	3684,83	4061,34	4326,38	4488,68	4639,586	4705,728	4257,216

Nastavak Tablice 38. s prethodne stranice:							
17.4.2018.	3709,60	4103,77	4357,77	4522,40	4671,204	4732,991	4262,193
18.4.2018.	3726,11	4130,77	4385,67	4549,38	4701,735	4757,853	4283,838
19.4.2018.	3754,10	4151,11	4399,15	4579,19	4728,874	4778,195	4310,478
20.4.2018.	3776,50	4178,24	4429,46	4595,75	4757,708	4804,188	4328,793
21.4.2018.	3798,89	4205,37	4449,68	4627,21	4781,455	4834,701	4343,778
22.4.2018.	3832,49	4225,71	4483,36	4658,67	4796,72	4866,344	4387,068
23.4.2018.	3854,88	4232,49	4496,84	4671,92	4813,848	4880,016	4400,774
24.4.2018.	3868,14	4242,80	4510,50	4686,82	4830,975	4900,524	4421,333
25.4.2018.	3874,76	4263,43	4525,88	4708,34	4848,103	4916,475	4424,76
26.4.2018.	3891,33	4284,05	4548,09	4719,94	4865,23	4936,983	4443,605
27.4.2018.	3897,96	4290,92	4548,09	4726,56	4872,081	4936,983	4448,745
28.4.2018.	3911,21	4301,24	4561,75	4739,81	4872,081	4946,097	4459,025
29.4.2018.	3927,78	4318,42	4575,42	4746,44	4889,209	4952,933	4469,304
30.4.2018.	3937,74	4332,17	4582,25	4753,07	4906,336	4962,048	4476,157
1.5.2018.	3937,74	4332,17	4582,25	4753,07	4906,336	4964,327	4476,157
2.5.2018.	3954,33	4359,67	4615,77	4783,09	4923,266	4982,497	4499,401

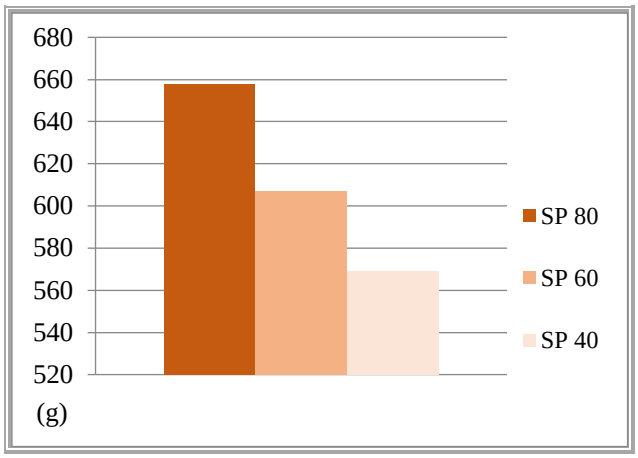


Grafikon 16. Kumulativni prikaz proizvodnje metana od vodenih biljka prikupljnih u pririodi



Grafikon 17. Kumulativni prikaz proizvodnje metana od uzgojene *Spirodele polyrhize*

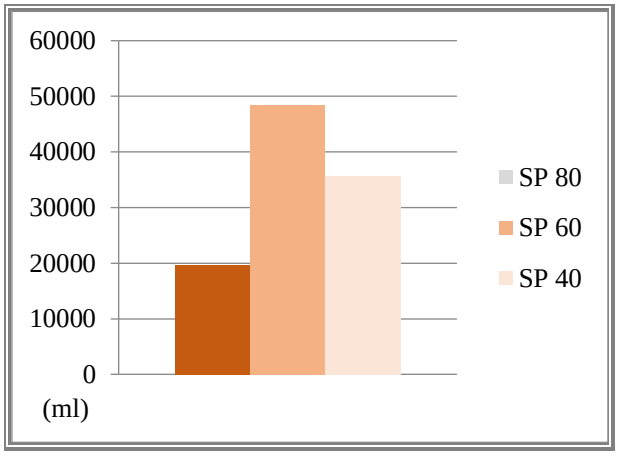
U svrhu jasnije prezentacije podataka, u narednim tablicama i slikama prikazani su rezultati oblikovani prema uzgojnoj površini. Zelena masa uzgojena je na površini od 200 cm² i taj je prinos prikazan Tablicom 39. i Grafikonom 18. Tablicama 40. i 41. te Grafikonima 19. i 20. prikazan je ostvareni prinos bioplina, odnosno metana s uzgojne površine od 200 cm², pri različitim uvjetima koncentracije digestata u hranjivioj otopini. Prinos zelene mase vodene leće najveći je kod leće uzgajane na najbogatijoj hranjivoj podlozi, dok je značajno veći prinos bioplina i metana ostvaren iz vodene leće uzgojene na srednje bogatoj hranjivoj podlozi. Prinos bioplina i metana, ostvaren iz vodene leće uzgojene na najsiromašnijoj hranjivoj podlozi, značajno je veći od prinosa iz vodene leće uzgojene na najbogatijoj hranjivoj podlozi. Takvi rezultati opravdani su znatnim promjenama u kemijskom sastavu vodenih leća, ovisno o hranjivoj podlozi.



Grafikon 18. Prinos zelene mase (g 200 cm^{-2})

Tablica 39. Prinos zelene mase (g 200 cm^{-2})

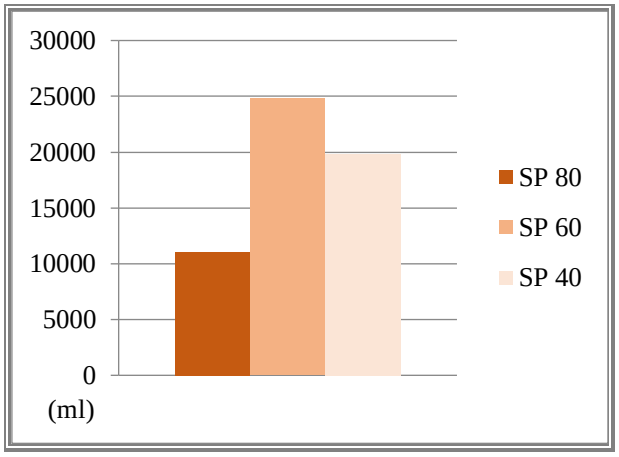
Prinos zelene mase (g) po jed površine		
SP 80	SP 60	SP 40
658,00	607,00	569,00



Grafikon 19. Prinos bioplina (ml 200 cm^{-2})

Tablica 40. Prinos bioplina (ml 200 cm^{-2})

Prinos bioplina (ml) po jedinici površine		
SP 80	SP 60	SP 40
19664,33	48368,8	35610,87



Grafikon 20. Prinos metana (ml 200 cm^{-2})

Tablica 41. Prinos metana (ml 200 cm^{-2})

Prinos CH_4 po jedinici površine		
SP 80	SP 60	SP 40
11033,45	24765,32	19834,63

U Tablicama 42. i 43. prikazani su podaci o prinosima bioplina i metana iz dijela dodane zelene mase vodenih biljaka (5 %) u supstratu dobiveni izračunom.

Tablica 42. Kumulativna proizvodnja bioplina (vodene biljke) za 25 ml uzorka

Datum	Vodene biljke						
	Kontrolna skupina	*Spirodepla polyrhiza* – 80 ml	*Spirodepla polyrhiza* – 60 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 40 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – Bosut	*Lemna minor* – Bosut	*Azolla caroliniana* – Bosut
22.3.2018.	7,50	117,50	117,50	37,50	77,50	117,50	0,00
23.3.2018.	29,00	209,00	249,00	84,00	209,00	215,67	159,00
24.3.2018.	81,00	0,00	321,00	136,00	246,00	244,33	271,00
25.3.2018.	111,75	0,00	626,75	311,75	371,75	413,42	396,75
26.3.2018.	141,00	0,00	881,00	516,00	556,00	624,33	531,00
27.3.2018.	172,25	0,00	1037,25	672,25	742,25	810,58	637,25
28.3.2018.	198,75	98,75	1183,75	808,75	888,75	970,42	683,75
29.3.2018.	220,50	195,50	1320,50	945,50	985,50	1117,17	750,50
30.3.2018.	239,25	304,25	1464,25	1069,25	1099,25	1267,58	834,25
31.3.2018.	258,00	368,00	1553,00	1163,00	1163,00	1374,67	808,00
1.4.2018.	275,25	420,25	1570,25	1170,25	1175,25	1426,92	602,75
2.4.2018.	285,00	425,00	1555,00	1135,00	1140,00	1431,67	492,50
3.4.2018.	291,25	451,25	1596,25	1166,25	1171,25	1466,25	448,75
4.4.2018.	297,00	477,00	1632,00	1194,50	1197,00	1513,67	539,50
5.4.2018.	301,38	533,88	1728,88	1271,38	1258,88	1580,54	626,38
6.4.2018.	306,38	563,88	1798,88	1341,38	1303,88	1623,88	703,88
7.4.2018.	310,88	628,38	1878,38	1440,88	1368,38	1680,04	735,88
8.4.2018.	319,13	686,63	1946,63	1494,13	1331,63	1736,63	704,13
9.4.2018.	327,38	674,88	1939,88	1437,38	1309,88	1749,88	659,88
10.4.2018.	333,38	650,88	1895,88	1418,38	1310,88	1745,88	643,38
11.4.2018.	337,13	644,63	1904,63	1427,13	1314,63	1759,63	684,63

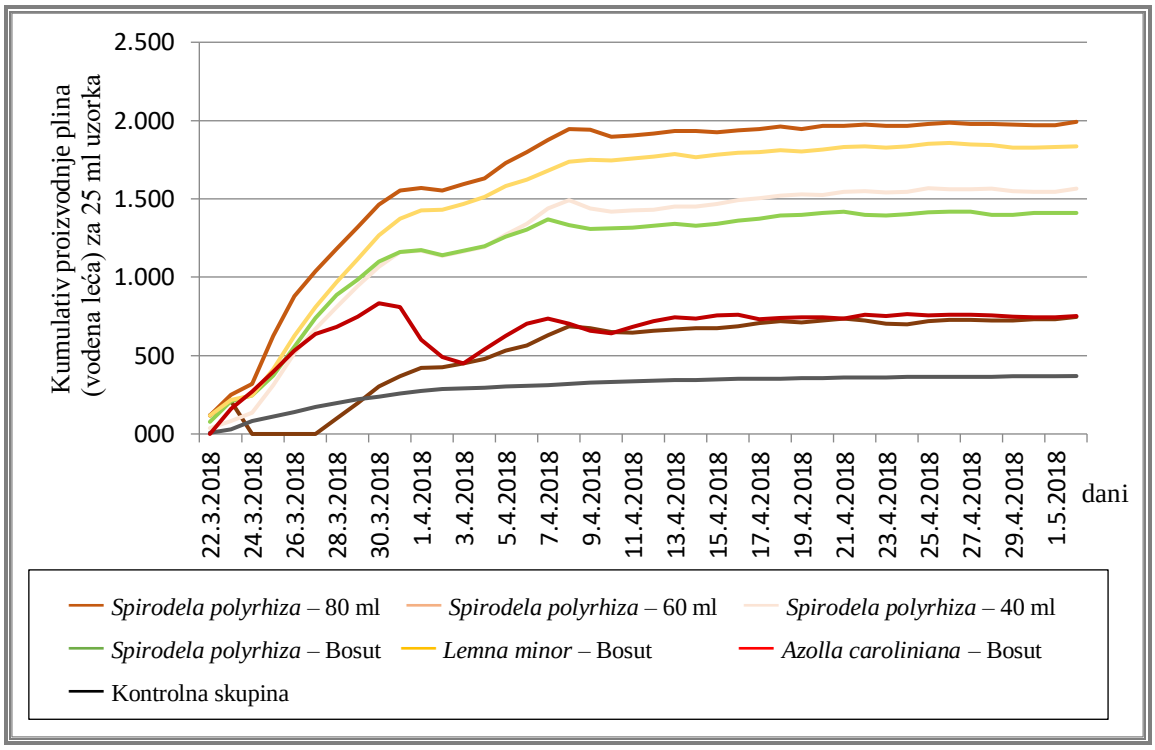
Nastavak Tablice 42. s prethodne stranice:							
12.4.2018.	340,63	658,13	1918,13	1430,63	1328,13	1768,13	720,63
13.4.2018.	343,13	665,63	1935,63	1453,13	1340,63	1787,29	743,13
14.4.2018.	344,75	674,75	1934,75	1452,25	1329,75	1766,42	737,25
15.4.2018.	347,88	675,38	1925,38	1467,88	1340,38	1780,38	757,88
16.4.2018.	350,38	687,88	1937,88	1490,38	1360,38	1792,88	760,38
17.4.2018.	352,25	707,25	1947,25	1504,75	1372,25	1797,25	732,25
18.4.2018.	353,50	718,50	1963,50	1521,00	1393,50	1810,17	741,00
19.4.2018.	355,38	712,88	1947,88	1530,38	1397,88	1804,54	745,38
20.4.2018.	356,88	724,38	1964,38	1526,88	1411,88	1814,38	744,38
21.4.2018.	358,38	735,88	1965,88	1545,88	1418,38	1830,88	738,38
22.4.2018.	360,63	723,13	1973,13	1550,63	1398,13	1834,79	760,63
23.4.2018.	362,13	704,63	1964,63	1542,13	1394,63	1826,29	752,13
24.4.2018.	363,13	700,63	1965,63	1545,63	1400,63	1837,29	763,13
25.4.2018.	363,63	721,13	1978,63	1568,63	1416,13	1851,13	758,63
26.4.2018.	364,88	727,38	1987,38	1562,38	1417,38	1857,38	762,38
27.4.2018	365,38	727,88	1977,88	1562,88	1417,88	1847,88	760,38
28.4.2018.	366,38	723,87	1978,88	1563,88	1398,88	1842,21	756,37
29.4.2018.	367,63	725,12	1975,13	1550,13	1400,13	1828,46	747,62
30.4.2018.	368,38	730,88	1970,88	1545,88	1410,88	1827,54	743,38
1.5.2018.	368,38	730,88	1970,88	1545,88	1410,88	1830,88	743,38
2.5.2018.	369,63	747,13	1992,13	1564,63	1412,13	1833,79	754,63

Tablica 43. Kumulativna proizvodnja metana (vodene biljke) za 25 ml uzorka

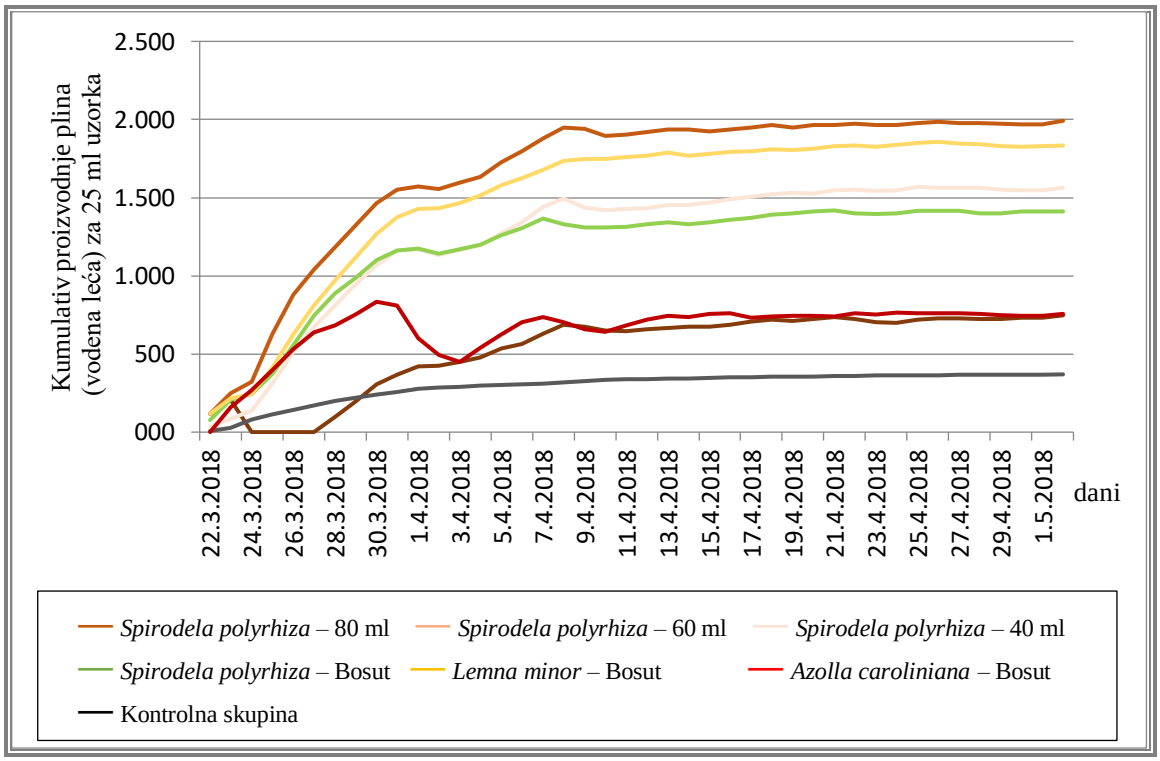
Datum	Vodene biljke						
	Kontrolna skupina	*Spirodepla polyrhiza* – 80 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 60 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 40 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* - Bosut	*Lemna minor* - Bosut	*Azolla caroliniana* - Bosut
22.3.2018.	0,34	0,00,	1,13	11,33	0,00	0,88	0,00
23.3.2018.	1,33	0,00	0,00	37,75	123,79	120,42	159,10
24.3.2018.	16,13	0,00	21,68	182,88	366,92	365,44	461,82
25.3.2018.	32,73	0,00	172,61	140,51	470,45	501,17	552,79
26.3.2018.	50,38	0,00	324,75	258,22	594,45	655,91	632,57
27.3.2018.	69,07	19,20	448,65	379,28	742,23	814,29	723,48
28.3.2018.	85,77	164,98	571,03	488,42	845,39	962,55	750,01
29.3.2018.	99,83	229,54	733,15	614,85	905,36	815,42	770,59
30.3.2018.	111,87	301,51	609,50	695,47	979,85	915,23	816,38
31.3.2018.	123,35	354,14	679,74	778,86	1035,36	991,01	816,60
1.4.2018.	134,90	380,65	681,29	777,38	1017,01	1012,80	669,46
2.4.2018.	140,76	385,88	671,30	759,80	1006,78	1024,58	602,45
3.4.2018.	144,71	405,31	696,70	780,71	1035,25	1049,73	581,46
4.4.2018.	148,46	424,49	656,73	800,04	1050,88	1081,56	631,24
5.4.2018.	151,49	457,50	702,80	842,91	1089,13	1128,50	683,92
6.4.2018.	154,81	475,39	744,90	901,45	1120,15	1157,05	733,81
7.4.2018.	157,98	517,88	792,61	968,87	1154,72	1185,97	750,43
8.4.2018.	163,50	553,29	835,19	996,98	1125,88	1215,62	727,53
9.4.2018.	169,01	543,06	828,66	955,49	1108,77	1220,54	695,24
10.4.2018.	172,99	525,89	797,60	941,15	1107,78	1215,84	682,38
11.4.2018.	175,48	520,85	801,30	945,49	1109,36	1208,05	708,15
12.4.2018.	177,80	528,86	809,50	947,30	1117,50	1198,91	730,74
13.4.2018.	179,45	533,19	820,49	961,68	1125,18	1198,46	744,78
14.4.2018.	180,53	538,77	819,64	960,88	1118,07	1184,86	740,95

Nastavak Tablice 43. s prethodne stranice:							
15.4.2018.	182,59	545,84	815,31	972,25	1125,44	1195,62	754,82
16.4.2018.	184,24	560,75	825,79	988,09	1139,00	1205,14	756,63
17.4.2018.	185,48	579,65	833,65	998,29	1147,09	1208,87	738,08
18.4.2018.	186,31	590,96	845,87	1009,58	1161,93	1218,05	744,03
19.4.2018.	187,71	584,71	832,75	1012,79	1162,48	1211,80	744,08
20.4.2018.	188,82	590,57	841,79	1008,07	1170,03	1216,51	741,12
21.4.2018.	189,94	596,42	840,73	1018,26	1172,51	1225,75	734,83
22.4.2018.	191,62	584,85	842,50	1017,81	1155,86	1225,48	746,21
23.4.2018.	192,74	570,36	834,70	1009,78	1151,71	1217,88	738,64
24.4.2018.	193,41	568,07	835,77	1012,09	1156,25	1225,79	746,60
25.4.2018.	193,74	582,40	844,85	1027,32	1167,08	1235,45	743,73
26.4.2018.	194,57	587,28	851,32	1023,17	1168,46	1240,22	746,84
27.4.2018.	194,90	587,86	845,02	1023,50	1169,02	1233,92	745,68
28.4.2018.	195,56	585,58	846,10	1024,15	1156,43	1230,44	743,37
29.4.2018.	196,39	587,03	844,02	1015,05	1157,81	1221,54	737,91
30.4.2018.	196,89	591,32	841,40	1012,22	1165,49	1221,20	735,31
1.5.2018.	196,89	591,32	841,40	1012,22	1165,49	1223,48	735,31
2.5.2018.	197,72	603,06	859,16	1026,48	1166,66	1225,89	742,79

Grafikoni 21. i 22. grafički prikazuju variranje izračunate podatke o prinosima po danima.

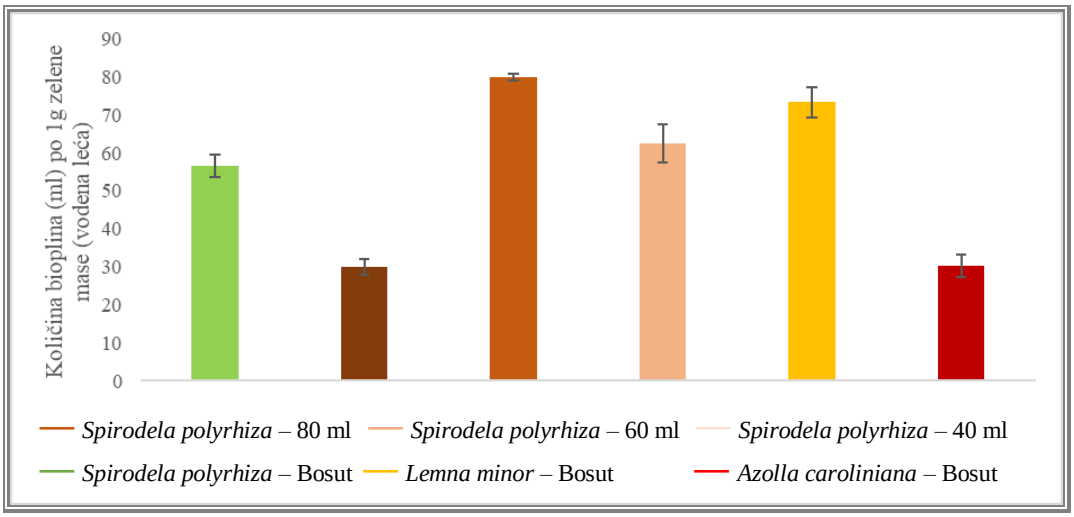


Grafikon 21. Kumulativna proizvodnja bioplina (vodene biljke) za 25ml uzorka

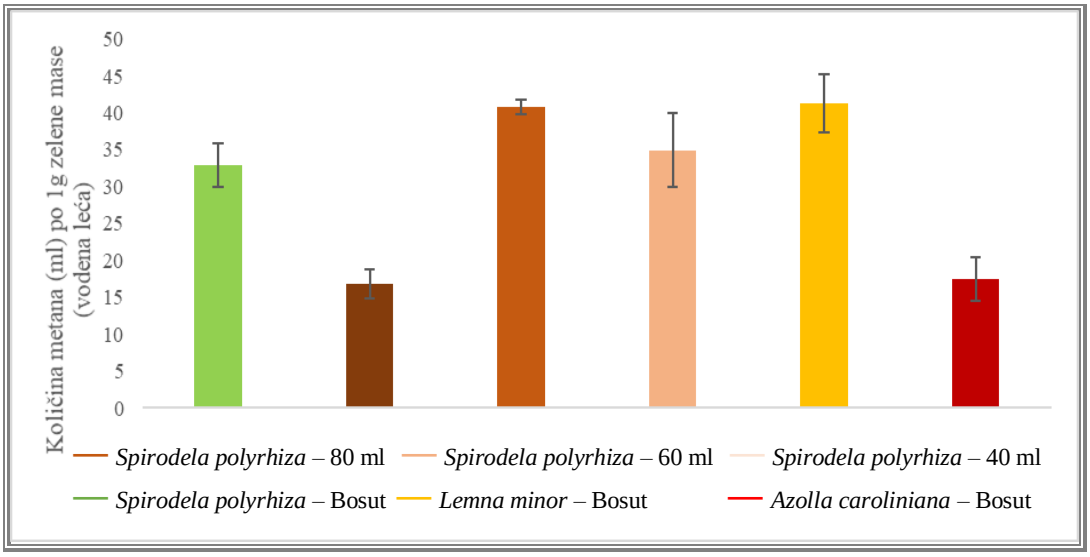


Grafikon 22. Kumulativna proizvodnja metana (vodene biljke) za 25ml uzorka

Na Grafikonima 23. i 24. prikazani su podaci o proizvodnja bioplina, odnosno metana, po 1gramu zelene mase koji su također dobiveni matematičkim izračunom.



Grafikon 23. Ukupna proizvodnja bioplina (ml g^{-1} zelene mase)



Grafikon 24. Ukupna proizvodnja metana (ml g^{-1} zelene mase)

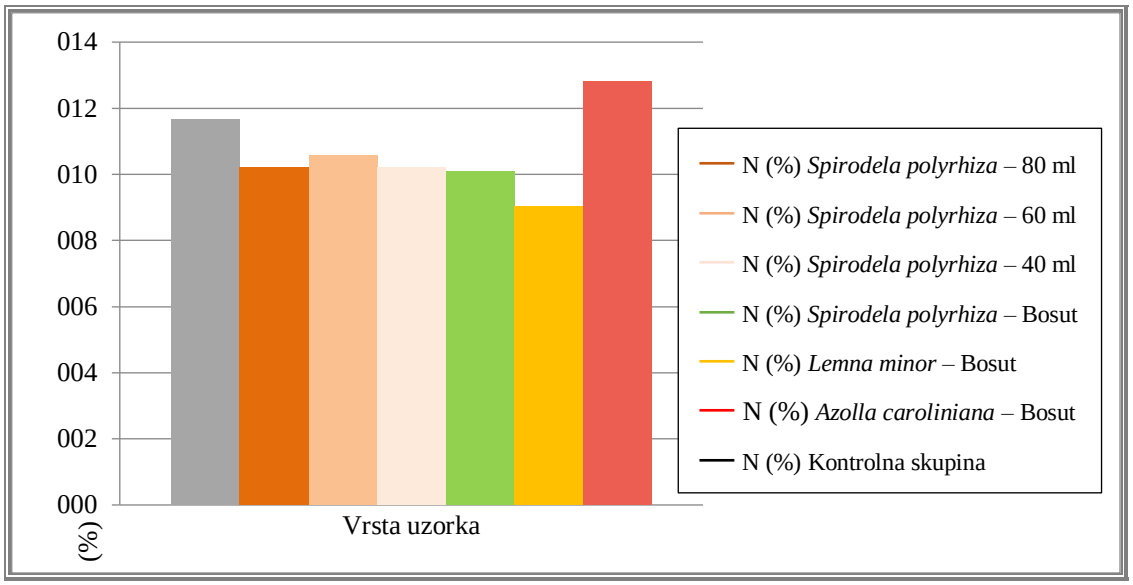
3.3.2. Kemijski sastav bioplina

Podaci u priloženim tablicama predstavljaju aritmetičku sredinu izmjerenih vrijednosti. U Tablici 44. predstavljen je relativni sadržaj dušika (N) za pojedine uzorke tijekom postupka anaerobne digestije.

Tablica 44. Sadržaj dušika (N) u bioplinu (%)

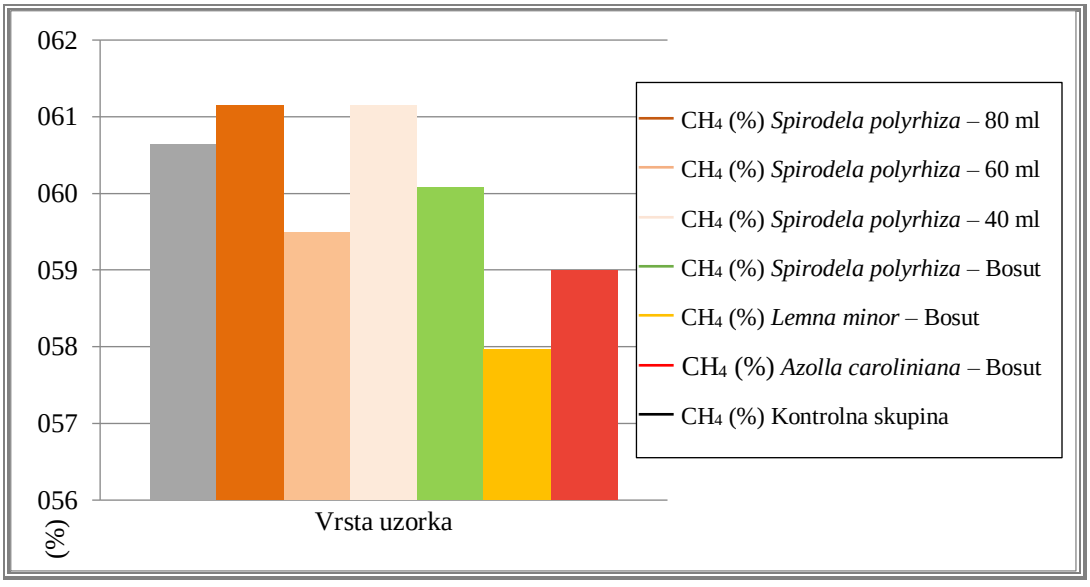
Vodene biljke						
kontrolna skupina	*Spirodepla polyrhiza* – 80 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 60 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 40 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – Bosut	*Lemna minor* – Bosut	*Azolla caroliniana* – Bosut
82,27	75,85	74,08	51,30	76,14	51,91	74,84
34,97	36,01	31,93	15,57	34,45	32,43	31,93
10,72	10,98	9,18	36,06	10,72	9,34	11,86
5,09	3,85	2,73	3,86	3,66	2,88	8,34
5,48	1,83	1,44	2,05	1,72	1,67	4,14
2,01	1,76	2,48	1,75	1,29	1,70	2,25
1,79	1,42	1,84	1,75	1,49	1,75	7,53
3,20	1,71	0,63	2,29	1,72	0,59	7,47
3,10	1,56	2,72	2,68	2,73	2,18	6,25
2,45	1,99	2,10	1,85	2,31	3,09	3,14
10,69	9,16	10,79	8,05	12,37	6,63	14,13
10,64	7,27	9,66	8,84	5,59	7,57	15,49
10,24	5,70	7,70	7,96	3,73	7,71	10,01
8,55	7,09	4,45	10,62	7,97	5,55	12,99
8,14	8,82	8,95	9,83	7,81	7,57	8,29
5,23	3,74	5,41	3,85	5,27	5,69	8,53
8,42	5,06	0,00	6,97	7,07	6,68	0,00
5,16	6,83	7,32	7,16	5,85	6,02	7,37
5,72	7,44	7,62	7,81	6,09	6,67	5,55
7,45	7,68	8,39	7,79	6,32	7,66	7,04
12,65	7,96	8,66	9,01	7,12	7,92	8,88
11,48	9,44	9,91	12,55	9,20	10,11	11,87
12,52	11,41	15,04	14,74	11,15	14,56	13,87

Grafikon 25. prikazuje podatke o prosječnom relativnom sadržaju dušika u pojedinom uzorku.



Grafikon 25. Sadržaj dušika (N) u bioplinu (%)

U Grafikonu 26. i Tablici 45. prikazani su podaci o prosječnom relativnom sadržaju metana (CH_4) prema vrstama vodene leće odnosno sva mjerenja prema vrstama za isti plin za pojedine uzorke tijekom postupka anaerobne digestije.



Grafikon 26. Sadržaj metana (CH_4) u bioplinu (%)

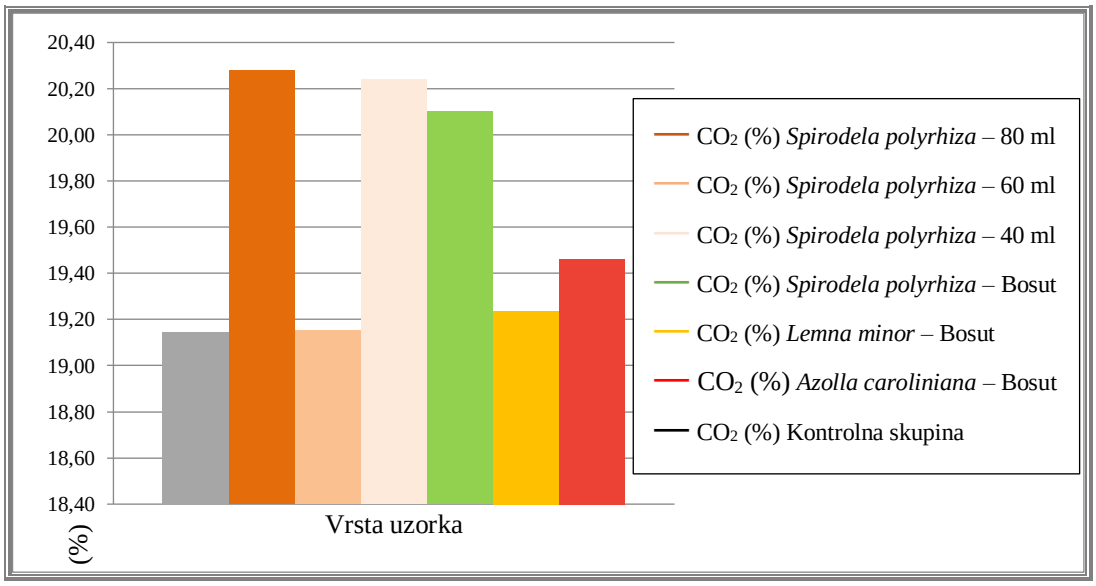
Tablica 45. Sadržaj metana (CH_4) u bioplinu (%)

Vodene biljke						
Kontrolna skupina	*Spirodepla polyrhiza* – 80 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 60 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 40 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – Bosut	*Lemna minor* – Bosut	*Azolla caroliniana* – Bosut
4,59	2,27	2,95	9,92	2,70	2,85	3,97
28,47	29,07	28,74	41,00	26,50	27,29	30,44
53,97	52,33	52,38	35,91	51,16	51,76	53,09
60,35	59,62	60,19	59,62	58,99	59,87	57,22
59,81	63,38	63,87	63,49	62,08	63,93	60,17
63,03	72,93	67,65	66,64	64,48	65,83	63,72
64,62	65,02	78,03	71,54	64,69	70,19	62,52
64,22	64,68	21,03	64,46	64,12	21,41	59,92
61,25	64,48	64,82	67,02	64,53	64,85	62,40
66,95	64,72	64,05	65,06	65,17	63,45	66,19
60,13	61,38	59,65	62,54	59,14	63,48	59,01
63,16	65,13	62,75	63,94	67,44	64,82	59,17
65,27	67,03	21,61	65,92	68,98	65,32	72,03
69,09	64,60	57,50	62,69	64,40	65,83	60,54
66,42	64,79	63,75	73,72	65,99	69,58	64,77
70,58	68,56	65,49	69,06	67,22	66,25	65,50
66,84	65,20	0,00	63,28	63,28	63,01	0,00
66,38	65,00	63,73	64,55	64,93	64,52	64,42
66,15	65,00	65,24	65,42	65,16	46,46	64,95
66,05	77,14	69,76	67,45	66,56	68,16	66,36
74,65	67,82	67,37	66,23	67,85	67,81	66,60
66,28	68,74	68,33	66,34	68,51	68,36	68,53
66,36	67,47	74,49	70,62	67,72	68,14	66,41

Uz sadržaje dušika (N) i metana (CH_4) kemijskom analizom utvrđen je i sadržaj ugljični dioksida (CO_2), koji je određen istom medodologijom kao dušik i metan, a čiji je relativno sadržaj za pojedine uzorke kroz tijek postupka anaerobne digestije prikazan u Tablici 46 odnosno prosječni relativni sadržaj u pojedinom uzorku Grafikonom 27.

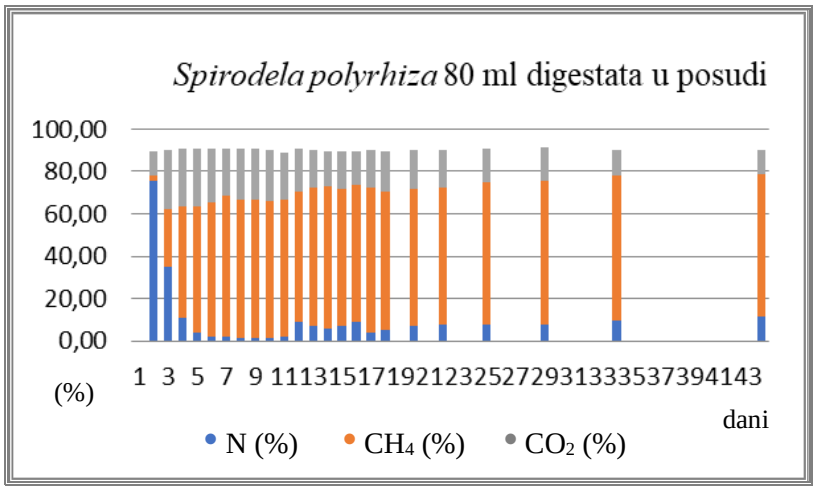
Tablica 46. Sadržaj ugljičnog dioksida (CO_2) u bioplinu (%)

Vodene biljke						
Kontrolna skupina	*Spirodepla polyrhiza* – 80 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 60 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – 40 ml digestata u posudi	*Spirodepla polyrhiza* – Bosut	*Lemna minor* – Bosut	*Azolla caroliniana* – Bosut
9,52	11,53	12,27	28,20	11,34	11,32	11,05
27,66	33,40	32,33	35,19	30,12	30,93	28,49
25,77	27,29	29,26	18,22	28,55	29,32	25,32
25,02	27,06	27,56	27,29	27,90	27,90	24,82
25,68	25,35	25,55	25,43	26,74	25,04	26,32
25,40	25,50	23,09	23,06	24,74	23,49	24,77
24,10	24,05	9,63	26,16	24,29	24,17	24,19
23,07	24,15	25,65	23,98	24,86	8,19	22,85
26,01	24,30	23,56	24,93	23,06	24,90	22,72
21,42	24,48	24,83	24,00	23,43	24,24	21,31
19,63	19,91	19,86	19,87	18,82	20,33	17,08
16,53	17,80	17,85	17,60	17,21	17,96	15,28
15,01	16,74	5,70	15,60	16,77	16,36	19,84
13,51	17,96	19,16	14,49	17,20	18,34	16,52
15,12	16,06	16,75	17,94	15,73	15,94	17,51
14,28	17,79	18,97	16,91	17,25	17,67	15,55
17,42	19,44	0,00	19,27	19,20	19,90	0,00
20,33	18,17	19,20	18,22	19,80	19,35	17,79
18,02	17,48	17,02	16,53	18,71	16,65	19,31
16,09	18,84	15,84	16,21	16,83	15,04	17,12
17,39	15,66	14,85	15,50	16,49	14,94	15,07
12,55	12,22	11,95	11,10	12,50	11,64	14,94
10,86	11,20	10,37	9,82	10,72	8,83	10,33

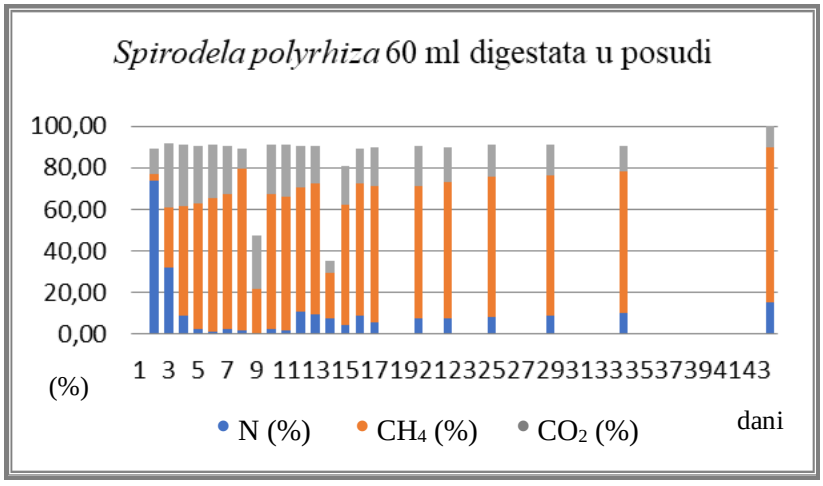


Grafikon 27. Sadržaj ugljičnog dioksida (CO_2) u bioplinu (%)

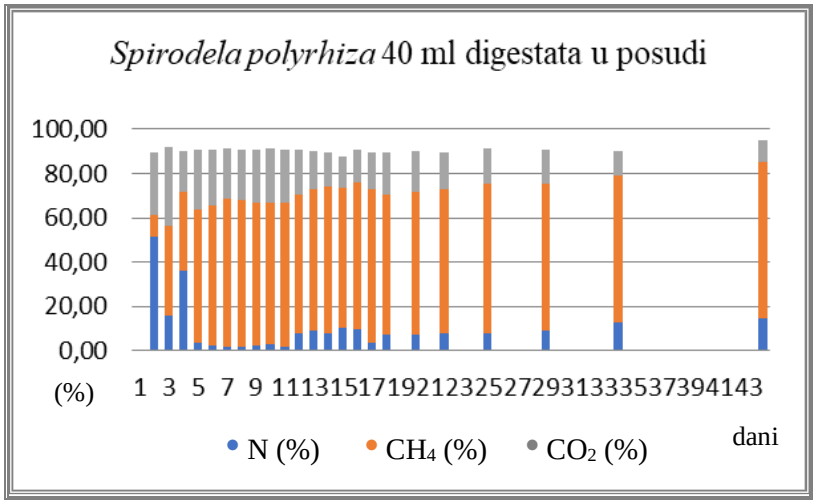
Na Grafikonima 28.–34. prikazani su udjeli pojedinih promatranih plinova po pojedinom uzorku kroz postupak anaerobne digestije. Mjerenjem je utvrđeno da je kod svih uzoraka u početna dva mjerenja zamjetan povećan udio dušika u sastavu bioplina (82–34 %). Od 4. do j11.mjerenja udio dušika se kreće u rasponu od 1,5 % do 5,5 %, a u ostalim mjerenjima udio je približno 10 %. Udio metana je u prvom mjerenju kod svih uzoraka najniži (2,3–9,7 %), kroz 2. i 3. mjerenje raste te kod većine uzoraka dostiže vrhunac u između 4. i 10. mjerenja gdje se kreće u rasponu od 63 % do 78 %. U nastavku digestije udio je ujednačen kod svih uzoraka i približno iznosi 65 %. Udio ugljičnog dioksida nema izražene oscilacije, kao u slučaju udjela dušika i metana, ali i njegov udio varira. U prvom mjerenju, kod svih uzoraka, taj udio je najmanji, u 2. ili 3. mjernju najveći, a u nastavku postupka se postupno smanjuje.



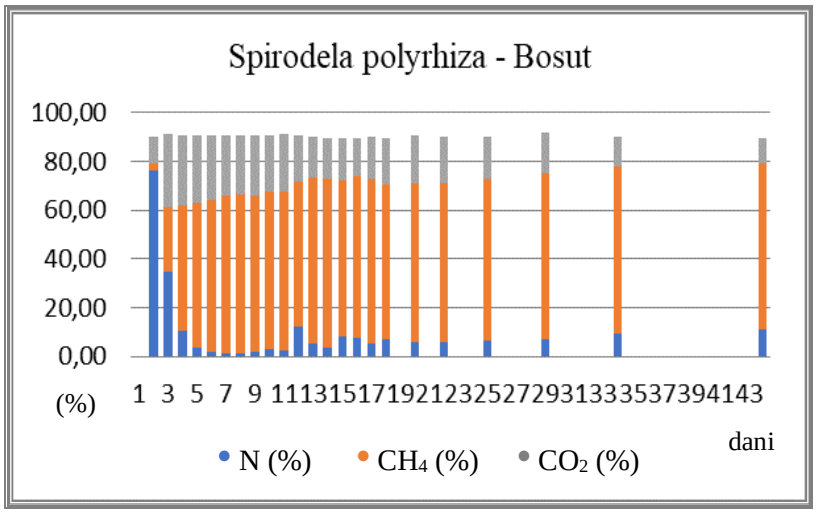
Grafikon 28. Kemijski sastav bioplina, *Spirodela polyrhiza* 80 ml



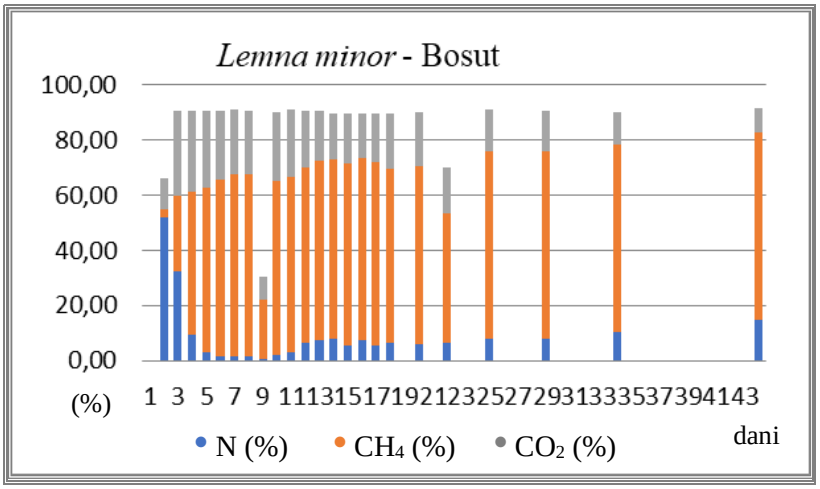
Grafikon 29. Kemijski sastav bioplina, *Spirodela polyrhiza* 60 ml



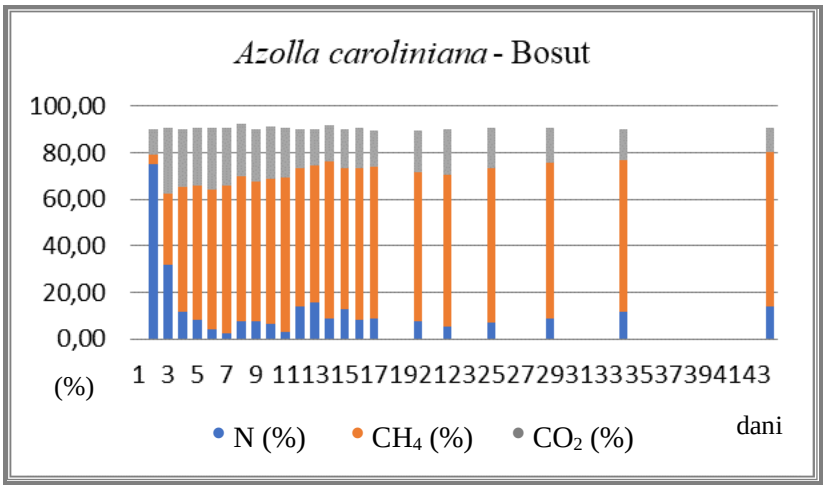
Grafikon 30. Kemijski sastav bioplina, *Spirodela polyrhiza* 40 ml



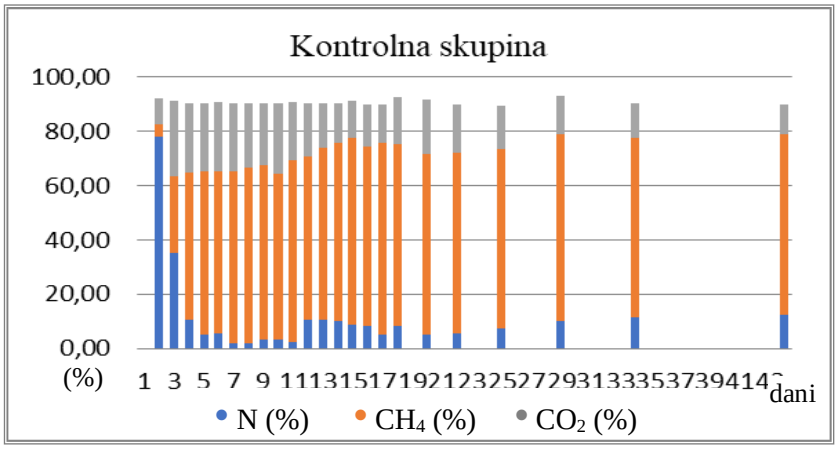
Grafikon 31. Kemijski sastav bioplina, *Spirodela polyrhiza* – Bosut



Grafikon 32. Kemijski sastav bioplina, *Lemna minor* – Bosut



Grafikon 33. Kemijski sastav bioplina, *Azolla caroliniana* – Bosut



Grafikon 34. Kemijski sastav bioplina, kontrolna skupina

4. RASPRAVA

4.1. Uzgoj istraživanih vodenih leća

Koncentracija ukupnog dušika u diskontinuiranom i kontinuiranom uzgoju određena je u iznosu od 5 do 100 mg l^{-1}, odnosno od 14,83 do 29,61 mg l^{-1} hranjive otopine. Ove vrijednosti su usporedive navodima Culley i sur. (1981.) koji iznose podatak da je optimalna količina dušika za prinos bio mase vodenih leća u rasponu 20–30 mg l^{-1}. Caicedo i sur. (2000.) proveli su istraživanje o utjecaju pH–vrijednosti i sadržaju dušika u hranjivoj otopini na brzinu rasta vrste *Spirodela polyrhiza*. Provodili su uzgoj na tri vrste hranjivih otopina s sadržajem dušika 20, 50 i 100 mg dušika po litri otopine te pri 4 različite pH–vrijednosti (4,7, 5,7, 7,4 i 8,5). Pratili su relativnu brzinu rasta u zadanim uvjetima te navode da je najveću relativnu brzinu rasta Spirodela polyrhiza ostvarila uzgajana pri sadržaju dušika od 20 mg l^{-1} i pri pH–vrijednosti od 5,7. Najlošiji rezultati ostvareni su kod pH–vrijednosti 8,5 pri udjelu dušika od 50 i100 mg l^{-1} gdje je došlo do odumiranja biljaka. Na temelju istraživanja donose zaključak da pH-vrijednost veća od 8 ima izražen inhibitorski utjecaj.

Prinos biomase u diskontinuiranom uzgoju iznosio je za vrstu *Lemna minor* od 58,23 g do 98,17 g na 50 cm^2, a za vrstu *Spirodela polyrhiza* bio je nešto veći i iznosio je od 68,78 g do 99,22 g na 50 cm^2, dok je najslabiji prinos ostvaren pri uzgoju vrste *Lemna trisulca*, a koji je iznosio od 30,50 g do 52,97 g na 50 cm^2. U slučaju vrsta *Lemna minor* i *Spirodela polyrhiza* najbolji rezultati ostvareni su pri uzgoju na hranjivim otopinama s najvećim udjelom digestata, dok je u slučaju vrste *Lemna trisulca* najbolji rezultat ostvaren kod Koncentracije 5., vjerojatno iz razloga nešto niže zamućenosti hranjive otopine u odnosu na otopine s većim udjelom digestata. Zbog ne mogućnosti uspješnog uzgoja i nepotpunih rezultata, ta biljna vrsta nije usporediva s literaturnim podacima.

Preračunavanjem su dobiveni rezultati uzgoja suhe tvari, na bazi površine od jednog hektara u trajanju jedne godine, usporedivi s literaturnim podacima.

Spirodela polyrhiza ostvarila je prinos suhe tvari od 86 do 125 t ha^{-1} god^{-1}, a *Lemna minor* prinos suhe tvari od 73 do 123 t ha^{-1} god^{-1}. Masteyer i sur. (1984.) iznose rezultate uzgoja vodene leće u rasponu od 44 do 55 t ha^{-1} god^{-1} suhe tvari. Mbagwu i Adeniji (1988.) navode 54 t ha^{-1} god^{-1} suhe tvari, a Oran i sur. (1987.) od 36 do 51 t ha^{-1} god^{-1}. Navedeni autori ostvarili su nešto niže rezultate od rezultata u ovome istraživanju, ali Cheng i sur. (2002.) navode podatak da prirast vodene leće može biti 29 g m^{-2} suhe tvari svaka 2 dana.

Preračunato, to iznosi 106 t $ha^{-1}god^{-1}$ suhe tvari, u odnosu na kukuruz koji daje 7,85 t ha^{-1} god^{-1} suhe tvari.

Ukupni rezultati ostvareni u diskontinuiranom pokusu značajno se razlikuju od rezultata koji su ostvareni u pojedinim segmentima pokusa. U mjerenju broj 4, u vodenoj otopini s 25 mg dušika po litri hranjive otopine, postignuto je povećanje zelene mase od 210 % kod vrste *Lemna minor*, a u mjerenju broj 4 i otopini s 80 mg dušika po litri hranjive otopine postignuto je povećanje zelene mase od 219 % kod vrste *Spirodela polyrhiza*. Preračunato na cjelogodišnji uzgoj u navedenom obimu, količina odgovara iznosu od 1970 t ha^{-1} god^{-1} zelene mase vrste *Spirodela polyrhiza* i 1880 t ha^{-1} god^{-1} zelene mase vrste *Lemna minor*. Prosječan sadržaj vode kod vodenih leća kreće u rasponu od 92 do 95 % (Timmerman i Hoving, 2016.) te na osnovu toga se dolazi do količine suhe tvari u rasponu od 157,68 do 98,5 t ha^{-1} god^{-1} za vrstu *Spirodela polyrhiza,* a za vrstu *Lemna minor* suhe tvari u rasponu od 150,4 do 94 t ha^{-1} god^{-1}.

Oba postignuta rezultata usporediva su s izvješćem National Academy of Science (1976.) gdje se iznosi rezultat da je moguće uzgojiti 182,50 t suhe tvari vodene leće po hektaru godišnje.

Visoke stope rasta vodene leće, koje su ostvarene u pojedinim mjerenjima diskontinuiranog uzgoja, nisu ostvarene u kontinuiranom uzgoju. Najbolji prinos zelene mase ostvaren u kontinuiranom uzgoju je kod vrste *Spirodela polyrhiza* (SP 80) i iznosio je 658 g tijekom 30 dana na 1000 cm^2 uzgojne površine. Preračunato u tone suhe tvari po hektaru u godini dana vrijednosti se kreću u rasponu od 63,17 do 39,48 t ha^{-1} suhe tvari godišnje, a što je približno 2,4 puta manje od potencijalnog rezultata ostvarenog u diskontinuiranom pokusu. Slični su rezultati navedeni i u literaturi. Prilikom uzgoja vodene leće *Lemna gibbla*, u plitkim lagunama s razrijeđenim komunalnim otpadnim vodama Oron (1994.) je ostvario prinos od 55 t ha^{-1} god^{-1} suhe tvari.

Abuaku i sur. (2009.) objavili su rezultate istraživanja uzgoja *Lemne minor* na više tretmana, između ostalih i na vodenoj otopini digestata. Ostvarili su prinos od 7,91 g suhe tvari tijekom uzgoja u trajanju 21 dan na uzgojnoj površini od 353,40 cm^2. Preračunato u t ha^{-1} god^{-1} suhe tvari, to iznosi 38,94 t ha^{-1} god^{-1} suhe tvari vodene leće *Lemna minor*. U uzgoju, osim primjene različitih koncentracija ukupnog dušika, autor istražuje i uzgoj u tretmanu aeriranja hranjive otopine i bez aeriranja. Udio ukupnog dušika u navedenim istraživanjima iznosio je od 260 do 42 mg l^{-1}, što je znatno veći udio u odnosu na kontinuirani uzgoj (14,83–29,61 mg l^{-1}), a donje vrijednosti usporedive su s koncentracijama ukupnog

dušika u diskontinuiranom uzgoju (5–100 mg l^{-1}). Najbolji rezultat uzgoja ostvaren je u postupku aeriranja pri najvećoj koncentraciji ukupnog dušika i iznosi 260 mg l^{-1}, tj. preračunato 38,94 t ha^{-1} god^{-1}, što je značajno niže od prinosa ostvarenog u diskontinuiranom uzgoju *Lemne minor* (73–123 t $ha^{-1}god^{-1}$), ali je usporedivo s rezultatima kontinuiranog uzgoja (63,17–39,48 t $ha^{-1}god^{-1}$). Ukoliko se rezultat prinosa vodene leće *Spirodela polyrhiza* umanji za 5 %, koliko je bio manji prinos vodene leće *Lemna minor* u odnosu na vrstu *Spirodela polyrhiza* u diskontinuiranom pokusu, dodatno se približava rezultatu ostvarenom od strane Abuaku i suradnika koji je iznosio 60,01–37,50 t $ha^{-1}god^{-1}$. Rezultat uzgoja pri istoj koncentraciji ukupnog dušika, ali bez postupka aeriranja, značajno je niži. Ostvaren je prinos od 2,64 g suhe tvari naprama prinosu od 7,91 g suhe tvari ostvarenom u aeriranom uzgoju. Primjena djelomičnog aeriranja hranjive otopine u kontinuiranom uzgoju pozitivno se odrazila na održivost uzgoja, ali zbog značajno nižeg udjela ukupnog dušika u hranjivoj otopini ostvareni su manji prinosi u odnosu na diskontinuirani uzgoj.

Pri diskontinuiranom uzgoju svih vrsta vodenih leća početne pH-vrijednosti hranjivih otopina bile su blago alkalne (pH 7,45–7,60), a po završetku istraživanja dostigle su visoku alkalnu vrijednost (pH 9,84–9,01). Skillicorn i sur. (1993.) te Islam i Khondker (1991.) ističu da Spirodela polyrhiza najbolje raste u rasponu pH-vrijednosti od 6,5 do 7,5. Podatci iz Tablice 17. ukazuju na pad rasta vodenih leća *Lemna minor* i *Spirodela polyrhiza* u diskontinuiranom uzgoju nakon 5. mjerenja, što se poklapa sa porastom pH-vrijednosti iznad 8,5, navedenim u Tablici 19. Takvi rezultati su u skladu s podatcima Korner i sur. (2001.) koji navode da je gornja granica pH-vrijednosti za rast vodene leće 8,7. Prema Leng i sur. (1995.), povećanje pH-vrijednosti direktno je povezano s bujanjem algi jer je pad vrijednosti CO_2, kao produkt disanja algi, jedan od faktora naglog povećanja pH-vrijednosti.

Pri kontinuiranom uzgoju pH–vrijednost kretala se u znatno nižim vrijednostima između 7,7 i 8,1. Uspostavljanjem cirkulacije hranjive otopine te prelijevanjem iste iz bazena u bazen ostvaren je efekt aeriranja. Elphicha i sur. (2005.) istraživali su postupak aeriranja vodenih otopina različitim mješavinama zraka i ugljičnog dioksida te zaključuju da se povećavanjem udjela CO_2 u hranjivoj otopini smanjuje pH–vrijednost, te da postupak aeriranja može biti uspješna metoda u održavanju pH–vrijednosti u zadanim okvirima. U svome radu iznose podatke o aeriranju ribnjaka. Kroz postupak koji je trajao 96 sati i aeriranjem provođenim zrakom, održavala se pH-vrijednost na razini 8,1 što je upravo pH–vrijednost ostvarena u kontinuiranom uzgoju. Aeriranjem mješavina zraka s povišenim udjelom CO_2 dodatno su snižavane pH–vrijednosti. Pri 1 % CO_2 u zraku pH–vrijednost se

stabilizirala na 7,5, a pri koncentraciji CO_2 od 5 % u zraku pH–vrijednost se stabilizirala na 7.

U ovom istraživanju u oba uzgojna pokusa temperatura je održavana u temperaturnom rasponu 23–28 °C, što je u skladu s navodima Hasan i Chakrabarti (2009.) koji u svom radu navode da je optimalna temperatura za rast vodenih leća između 17,5 °C i 30 ºC. Wedge i Burris (1982.) preciznije definiraju temperaturu i navode da je optimalna temperatura rasta vodene leće 30 °C, što je za nekoliko stupnjeva više od temperature koja je korištena u ovom istraživanju. U kontinuiranom uzgoju pri istoj temperaturi prostora i pri istom intenzitetu osvjetljenja, ali uslijed cirkulacije otopine, temperatura se kretala u rasponu od 21 do 24 °C. Ta je činjenica povoljno utjecala na održivost uzgoja, zbog manje pojave bolesti i bujanja algi.

Prilikom oba uzgojna pokusa praćen je intenzitet pojave algi koje su u diskontinuiranom uzgoju imale izraženiji utjecaj u odnosu na kontinuirani pokus, gdje je pojava algi bila znatno manje izražena. U diskontinuiranom uzgoj kod sve tri uzgajane vodene leće početni udio algi je bio manji od 10 % ukupne zelene mase. Kod vrste *Lemna minor* alge tek u zadnjem mjerenju značajnije utječu na ukupnu količinu zelene mase. Pri uzgoju vrste *Spirodela polyrhiza* dominacija algi dolazi ranije, od 8. mjerenja, a kod vrste *Lemna trisulca* ta dominacija prisutna je već u 4. mjerenju. Kod svih uzoraka povećanje udjela algi u ukupnoj zelenoj masi povezana je sa povećanjem pH–vrijednosti i padom relativnog dnevnog prirasta. Takve rezultate potvrđuju Li i sur. (2020.) koji kao i Driever i sur. (2005.) te Xu i sur. (2012.) uspoređuju primjenu vodenih leća i algi u postupku pročišćavanja otpadnih voda sa svinjogojske farme. Li i suradnici navode da su obje biljne vrste vrlo efikasne u postupku regeneracije otpadnih voda, ali upozoravaju na brži rast algi (pogotovo u toplijim klimatskim područjima) u odnosu na vodenu leću, veću moć apsorpcije nutrijenata i na tehnološki složeniji postupak prikupljanja zelene mase te stoga daju prednost vodenim lećama. Kod uzgoja nužno je preventivno djelovati u smjeru smanjenja razvoja algi u cilju kontinuiranog procesa uzgoja vodene leće.

Edvards i sur. (1992.) opisuju da se bujanje algi sprječava na način da se onemogući prodiranje svijetlosti u dublje slojeve vodenog stupca. U svom istraživanju uzgajali su vodene leće *Lemna minor* i *Spirodela polyrhiza* u otvorenim lagunama površine 200 m^2, a kao osnovni problem u uzgoju ističu pojavu algi. U 1. pokusu početna količina leće bila je dovoljna za prekrivanje 50 % vodene površine. Pokus je završio dominacijom algi koje su se omatale oko korjenčića leće, što je kao posljedicu imalo smežuravanje listića leće i u

konačnici odumiranje biljke. U drugom pokusu tretirali su lagunu otopinom bakrenog sulfata, što je uklonilo prisutnost algi, ali znatnu utjecalo i na stanje vodenih leća koje su promijenile boju u svjetlo zelenu do žućkastu i znatno usporile rast. U trećem pokusu početna količina leće je bila dovoljna da prekrije 75 % vodene površine te je leća već u roku dva dana u potpunosti prekrila vodenu površinu. Metoda primjene veće početne količine vodenih leća korištena je u kontinuiranom uzgojnom pokusu, čime se uspješno otklonio prekomjeran razvoj algi.

U diskontinuiranom uzgoju korišten je intenzitet osvjetljenja od 33000 lx, a u kontinuiranom uzgoju zbog kaskadno postavljenih bazena za uzgoj vodene leće u rasponu od 13000 do 33000 lx. Praćenjem rasta biljaka u kontinuiranom uzgoju nije uočena značajna razlika u prinosu s obzirom na raspon osvjetljenja koji je bio primijenjen (13000-33000 lx) (Tablica 30.). Navodi o osvjetljenju koji su pronađeni u literaturi primijenjeni su na ova istraživanja. Tako, Landolt i sur. (1987.) navode da je minimalni intenzitet osvjetljenja za uzgoj vodene leće *Lemne minor* 16000 lx, dok Michael i sur. (2020.) navode da je intenzitet Sunčevog zračenja 126000 lx. Budući da vodena leća raste najvećim dijelom na nezasjenjenoj površini vode, poželjan intenzitet osvjetljenja treba tražiti između navedenih vrijednosti.

4.2. Utvrđivanje bioplinskog potencijala

Supstrati pripremljeni za provedbu digestije analizirani su prije i poslije postupka digestije. Udio suhe tvari najmanji je u kontrolnoj grupi (goveđoj gnojovki) i iznosi 4,63 % prije digestije i 3,04 % nakon digestije. Kod ostalih uzoraka udio suhe tvari je nešto veći i kreće se u rasponu od 5,06 % do 5,44 % prije digestije, odnosno u rasponu od 3,24 % do 3,47 % nakon digestije. Najniža vrijednost udjela organske tvari prije digestije utvrđena je kod vrste *Spirodela polyrhiza* prikupljene u prirodi (76,99 %), a najviša je kod *Spirodela polyrhiza* uzgajane na najbogatijem hranjivu (82,78 %). Udio organske tvari nakon digestije najmanji je kod vrste *Spirodela polyrhiza* iz prirode, a najveći kod *Spirodela polyrhiza* uzgojene na srednjoj koncentraciji digestata. Udio organskog ugljika kod promatranih uzoraka prije digestije kreće se u rasponu od 37,87 % do 39,95 %, a nakon digestije u rasponu od 33,41 % do 34,76 %. Udio dušika blago oscilira i najviše ga sadržava kontrolna grupa prije digestije (0,17 %) te nakon digestije (0,13 %). pH-vrijednost prije digestije kreće se u

rasponu od 7,14 do 7,19, dok se nakon digestije vrijednost povećava i zadržava u rasponu od 8,02 do 8,12.

Sikora i sur. (2017.) u svome radu analiziraju supstrat na bazi vodene leće *Lemna minor* prije i nakon fermentacije te iznose podatak o 1,62 % dušika u suhoj tvari supstrata prije digestije i 0,84 % poslije digestije. Preračunati rezultati istraživanja, za potrebe ove disertacije, o sadržaju dušika u suhoj tvari supstrata od *Lemna minor* iznose 3,06 % dušika prije digestije i 2,23 % nakon digestije, što je značajno više nego u rezultatima istraživanja Sikore i sur. (2017.) koji također navode da udio dušika u vodenim lećama ovisi o udjelu dušika u hranjivoj podlozi. Iz toga se može zaključiti da su vodene leće, korištene u istraživanjima za potrebe ove disertacije, rasle na hranjivoj podlozi sa značajno većim udjelom dušika. Autori također navode da digestijom biljaka s visokim udjelom dušika nastaje i digestat bogat dušikom, što je vrlo poželjno svojstvo digestata kao sirovine za gnojidbu biljka.

Svi prikupljeni uzorci vodenih biljaka (*Lemna minor, Spirodela polyrhiza* i *Azolla caroliniana*) mješani su s goveđom gnojovkom u omjeru 5 % vodenih biljaka i 95 % gnojovke. Najveći dnevni prinos bioplina ostvaren je 3. dana digestije za većinu uzoraka, osim uzorka s dodatkom *Spirodela polyrhiza* uzgojene na hranjivoj otopini s najvećim sadržajem dušika. (SP 80). *Spirodela polyrhiza* SP 60 ostvarila je rezultat od 1060 ml bioplina, *Spirodela polyrhiza* SP 40 1040 ml, *Spirodela polyrhiza* sa Bosuta 1025 ml, *Lemna minor* sa Bosuta 1016 ml, *Azolla caroliniana* 1100 ml i Kontrolna grupa s čistom gnojovkom 1040 ml bioplina. *Spirodela polyrhiza* SP 80 maksimum proizvodnje bioplina ostvaruje 6-tog dana digestije i to na značajno nižoj razini od 770 ml bioplina, ali ga na toj razini zadržava nešto duže od ostalih uzoraka. Storm (2010.) u svome radu daje rezultate provedenog postupka digestije između ostalih vrsta vodenih biljka i *Lemne minor*. Krivulja proizvodnje bioplina po danima vrlo je usporediva proizvodnji bioplina od supstrata s dodatkom *Spirodele polyrhize* SP 80, dakle vrh proizvodnje nešto kasni u odnosu na druge supstrate (5. dan, 460 ml), ali se zadržava na toj razini nešto duže. U obrazloženju manje proizvodnje bioplina od očekivane, kao razlog autor navodi varijacije kemijskog sastava vodenih leće, ovisno o uvjetima rasta.

Najveća ukupna količina proizvedenog bioplina dobivena je od vrste *Spirodela polyrhiza* uzgojene na otopini SP 60 (892,38 ml g^{-1} suhe tvari), a odmah slijedi *Lemna minor* prikupljena u prirodi 881,60 ml g^{-1} suhe tvari), dok je najmanja količina bioplina ostvarena kod *Spirodela polyrhiza* SP 80 (346,35 ml g^{-1} suhe tvari), što je vidljivo u Tablici 47.

Većina autora navodi znatno manje rezultate ostvarene količine bioplina. Clark i Hillman (1996.) u postupku anaerobne digestije vodene leće navode količinu bioplina od 150 ml g^{-1} suhe tvari. Van Schaik i sur. (2009.) navode sličnu vrijednost. Od jedne tone vodene leće *Lemna minor* moguće je proizvesti 176 m3 bioplina, odnosno količina bioplina od 176 ml g^{-1} suhe tvari vrste *Lemna minor*. Preračunavanjem je dobivena količina bioplina od 1760 do 5280 m^3 $ha^{-1}god^{-1}$, uz 60 % sadržaja metana. Odnosno, to je od 12672 do 38016 MJ $ha^{-1}god^{-1}$ električne energije i od 22810 do 68429 MJ ha^{-1} god^{-1} toplinske energije. Značajno bolje rezultate prezentira Strom (2010.) u svom radu gdje opisuje uzgoj različitih vodenih biljaka, a među njima i vodene leće *Lemna minor* na otpadnim vodama odlagališta komunalnog otpada grada Hardsudden u Švedskoj. Navodi rezultat proizvodnje bioplina od vrste *Lemna minor* u iznosu 768 ml g^{-1} suhe tvari. Pantawong i sur. (2015.) istraživali su potencijal proizvodnje bioplina od vodene salate i postigli količinu bioplina od 24 ml g^{-1} suhe tvari, ali visokog sadržaja metana od približno 67 %. Mathew i sur. (2015.) također su proveli istraživanje s ciljem utvrđivanja potencijala proizvodnje bioplina od različitih plutajućih vodenih biljaka na slivovima rijeka u zapadnom Bengalu, Indija. Postigli su količinu od 552 do 671 ml bioplina po 1 g suhe tvari vodenih biljka, uz sadržaj od oko 60 % metana.

Proizvodnja bioplina u provedenom istraživanju najlošija je u eksperimentalnoj grupi SP 80 (*Spirodela polyrhiza* uzgojena na najbogatijem hranjivu). Uočena je znatno manja proizvodnja u 3., 4., 5., 6., i 7. danu digestije u odnosu na druge uzorke. Uzrok tome vjerojatno je nešto veći sadržaj bjelančevina u sastavu tako uzgojene leće *Spirodela polyrhiza*. Kovacz i sur. (2013.) proveli su istraživanja proizvodnje bioplina od sirovina bogatih bjelančevinama. Oba istraživana supstrata pokazuju dugi početni period prilagodbe procesa i proizvodnja bioplina vrhunac dostiže tek 15. dan digestije, a minimalno trajanje digestije određeno je na 16 tjedana.

Kemijski sastav bioplina praćen je tijekom cijelog postupka anaerobne digestije s obzirom na tri komponente: dušik (N), ugljični dioksid (CO_2) i metan (CH_4).

Kod svih uzoraka na početku procesa primjetan je povećani sadržaj dušika u prva dva mjerenja, nakon čega naglo pada, te u prosjeku tek nakon desetog mjerenja počinje rasti. Rast udjela nastavlja se do kraja pokusa. Najveći udio dušika od 82,27 % zabilježen je u kontrolnoj grupi u prvom mjerenju, prosječno 11,65 %, a najmanji udio kod *Lemne minor* prosječno 9,04 %. Početni visoki sadržaj dušika uvjetovan je dušikom iz zraka koji je ostao u bioreaktoru nakon punjenja, kao i oslobađanjem amonijaka iz gnojovke. Isto obrazloženje

za početno visoki sadržaj dušika u svojim istraživanjima naveli su i Andara i sur. (1999.), koji su provodili bioplinsko istraživanje svinjske gnojovke te su u postupku pratili sadržaj metana, ugljičnog dioksida i dušika. U svojim istraživanjima su također zabilježili u prva dva dana početni visoki sadržaj dušika (>80 %) koji u nastavku postupka značajno pada.

Oscilacije udjela ugljičnog dioksida manje su u odnosu na oscilacije udjela dušika. Najniže su na početku procesa, u prvom mjerenju (u prosijeku za sve uzorke na oko 21 %), nakon čega se značajno povećavaju (u prosjeku za sve uzorke na oko 32 %). Poslije početnog skoka vrijednosti, u nastavku procesa se smanjuju i završavaju na prosječnoj vrijednosti oko 10 %. Najveći prosječni udio CO_2 očitan je kod leće *Spirodela polyrhiza*, uzgojene na hranjivoj podlozi SP 80 (20,28 %), a najmanji kod *Spirodela polyrhiza*, uzgojene na najsiromašnijoj hranjivoj podlozi SP 40 (19,15 %). Ramaraj i Unapaprom (2016.) iznose vrlo usporedive rezultate. U svom istraživanju uspoređuju rezultate digestije *Lemne sp.* pri različitim temperaturama procesa (15–25 °C, 35–37 °C i 50–60 °C). Pri mezofilnim uvjetima digestije maksimalni udio CO_2 u bioplinu javlja se 9. dan (43 %) i zadržava se u nastavku postupka u rasponu od 40 do 30 %, što je vrlo usporedivo s rezultatima provedenih istraživanja u svrhu ove disertacije.

Udio metana je onaj dio kemijskog sastava koji je najznačajniji. Udio metana na samom početku procesa kod uzoraka kretao se u rasponu od oko 2,27 % do 10 %, u trećem mjerenju kod većine uzoraka prelazi 50 %, u petom 60 %, te u nastavku procesa postepeno raste kod nekih uzoraka i preko 77,14 % (*Spirodela polyrhiza* SP 80). Prosječno najveće koncentracije metana ostvarene su kod uzoraka *Spirodela polyrhiza* SP 80 i SP 40, a najniža prosječna koncentraciju kod uzorka leće *Lemna minor* (57,96 %).

Ostvareni rezultati u skladu su s očekivanjima i literaturnim podatcima. Kesaano (2011.) navodi rezultat sastava metana od 67,1 % do 62,5 % za reaktor sa svježom vodenom lećom. Yadav i sur. (2016.) također su ostvarili komparativni rezultat od 63,3 % do 64,3 % metana prilikom anaerobne digestije mješavine vodenih leća.

5. ZAKLJUČCI

Kroz provedbu niza pokusa, u sklopu istraživanja uzgoja različitih vrsta vodene leće na različitim koncentracijama digestata u hranjivoj otopini, te istraživanjem bioplinskog potencijala vodene leće i naknadnom obradom prikupljene zelene mase postupkom anaerobne digestije, dobivena je velika količina podataka. Nakon statističke obrade podataka iz istraživanja i usporedbe s podatcima iz literature doneseni su sljedeći zaključci koji potvrđuju postavljene hipoteze:

1. *Lemna trisulca* nije se pokazala kao adekvatna vrsta vodene leće za uzgoj na hranjivoj otopini koja je na bazi digestata. Biljka je u ranoj fazi uzgojnog pokusa odumirala vjerojatno iz razloga nedovoljnog intenziteta svjetla koje dopire do biljke uslijed zamućenosti hranjive otopine. *Lemna trisulca* je potopljena biljka, za razliku od vrste *Lemna minor* i *Spirodela polyrhiza* koje su plutajuće biljke.
2. Sprječavanjem bočnog osvjetljenja zasjenjenjem, te površinskog osvjetljenja dubljih slojeva vode gušćim početnim sklopom uzgajanih biljaka, brzina razmnožavanja algi je značajno usporena, što je omogućilo kontinuirani uzgoj vodenih leća.
3. Osiguranjem reguliranog protoka hranjive otopine u kaskadnim bazenima stvorili su se preduvjeti ujednačenije temperature otopine te ujednačenija koncentracija hranjivih tvari u slojevima hranjive otopine, a što je povoljno djelovalo na uzgoj vodenih leća.
4. Provedbom diskontinuiranog uzgojnog pokusa utvrđeno je da je najuspješnija vrsta za uzgoj *Spirodela polyrhiza,* kod koje su ostvareni najbolji rezultati ukupnog prinosa zelene mase.
5. U istom pokusu primjenjeno je pet intenziteta osvjetljenja, te je zaključeno da nema značajne razlike u prinosu zelene mase u odnosu na primjenjene različite intenzitete osvjetljenja.
6. Postupkom provedbe anaerobne digestije najveća proizvodnja bioplina i metana ostvarena je kod uzorka s dodatkom vrste *Spirodela polyrhiza,* uzgojene na hranjivoj otopini SP 60, s koncentracijom digestata od 4,29 ml l^{-1}.
7. Najveći udio metana u bioplinu (61,15 %) evidentiran je kod dva uzorka s dodatkom vrste *Spirodela polyrhiza,* uzgojene na koncentracijama digestata od 2,86 i 5,71 ml l^{-1}.

8. Preračunavanjem dobivenih rezultata, te iskazanih po jedinici površine, najveći prinos zelene mase ostvarila je *Spirodela polyrhiza,* uzgajana na najbogatijoj hranjivoj otopini SP 80, s koncentracijom digestata od 5,71 ml l^{-1}, te ista činjenica potvrđuje prvu hipotezu, da koncentracije digestata utječe na prinos zelene mase.
9. Ostvareni su sljedeći rezultati u prinosu bioplina po pojedinim vrstama vodenih biljka (ml kg^{-1} ST):

Spirodela polurhiza uzgojena na otopini SP 80	346,35 l kg^{-1} ST
Spirodela polyrhiza uzgojena na otopini SP 60	892,38 l kg^{-1} ST
Spirodela polyrhiza uzgojena na otopini SP 40	777,52 l kg^{-1} ST
Spirodela polyrhiza prikupljena na Bosutu	504,83 l kg^{-1} ST
Lemna minor prikupljena na Bosutu	881,62 l kg^{-1} ST
Azolla caroliniana prikupljena na Bosutu	523,22 l kg^{-1} ST

   Ostvareni rezultati potvrđuju treću hipotezu da koncentracija digestata ima utjecaja na proizvodnju metana.
10. Rezultati kontinuiranog uzgojnog pokusa potvrđuju drugu hipotezu da je kontinuirani uzgoj vodene leće na hranjivoj otopini vode i digestata moguć. Kontinuirano visoke priraste zelene mase nije lako postići. Potrebno je uložiti dodatne napore u svrhu rješavanja problema pri uzgoju. Uočena prepreka pri brzom rastu vodene leće je pojava biljnih bolesti te pojava bujanja algi, koje se pojavljuju kao konkurencija biljnim vrstama u uzgoju.

Obzirom na utvrđene činjenice, potrebno je nastaviti istraživanja vezana na uzgoj i eksploataciju vodene leće, kako bi se pronašla optimalna proizvodno-tehnološka rješenja. Pravilna upotreba zaštitnih sredstava (algicida i fungicida) te primjena tehnika manipuliranja u uzgoju radi prilagodbe kemijskog sastava, preduvjeti su koje treba ostvariti kako bi se vodenu leću prihvatilo kao jednako vrijednu energetsku biljku, u odnosu na konvencionalne energetske biljke današnjice.

6. POPIS LITERATURE

1. Abuaku, E., Frimpong, K.A., Osei, B.A., Vestraete, W. (2009.): Bio--Recovery of N and P from an Anaerobic Digester Effluent: The Potential of Duckweed. West African Journal of Applied Ecology, 10(1), 153-162. doi:10.4314/wajae.v10i1.45711
2. Al Seadi, T., Rutz, D., Prassl, H., Köttner, M., Finsterwalder, T., Volk, S., Janssen, R. (2008.): Priručnik za bioplin. Intelligent Energy for Europe. BiG East Biogas for Eastern Europe.
3. Andara, A. R., Esteban, J. M. L., (1999.): Kinetic study of the anaerobic digestion of the solid fraction of piggery slurries, Biomass and bioenergy, 17(5), pp 435-443 ref. 15, doi: 10.1016/S0961-9534(99)00059-8
4. Angelidaki, I. (2002.): Environmental Biotechnology 12133. Environment and Resources DTU, Danmarks Tekniske Universitet, Lyngby, Denmark.
5. Angelidaki, I., Ellegaard, L. (2003.): Codigestion of manure and organic wastes in centralized biogas plants. Status and future trends. Appl Biochem Biotech 109(1-3), 95.
6. APHA (American Public Health Association), (1998.): Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (20th ed.). Washington DC, USA
7. Appenroth, K.J., Borisjuk, N., Lam, E. (2013.): Telling duckweed apart: Genotyping technologies for the *Lemnaceae*. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 19(1): 1-10., doi: 10.3724/SP.J.1145.2013.00001
8. Aquaportail.com, https://www.aquaportail.com/fiche-plante-3603-wolffia-angusta.html, (Datum pristupa: 04.11.2021.)
9. Armor, J.N. (2014.): Key questions, approaches, and challenges to energy today: Catalysis Today 236, 171-181, doi: 10.1016/j.cattod.2013.12.029
10. Ashbey, A. (1949.): Studies in the Morphogenesis of Leaves. III. Preliminary Observations on Vegetative Growth in *Lemna minor*. The New Phytologist 48(3), 374-381.
11. Asif, M., Muneer, T. (2007.): Energy supply, its demand and security issues for developed and emerging economies. Renewable and Sustainable Energy Reviews 11(7), 1388-1413, doi: 10.1016/j.rser.2005.12.004,

12. Balat, M., Balat, H. (2009.): Biogas as a renewable energy source - a review. Energ Source *Part A* 31(14), 1280-1293.
13. Bal-Krishna, K.C., Polprasert, C. (2008.): An integrated kinetic model for organic and nutrient removal by duckweed-based wastewater treatment (DUBWAT) system. Ecological Engineering 34(3), 243-250.
14. Baratieri, M., Baggio, P., Fiori, L., Grigiante, M. (2008.): Biomass as an energy source: thermodynamic constraints on the performance of the conversion process. Bioresource technology 99(15), 7063-7073. doi: 10.1016/j.biortech.2008.01.006
15. Barks, P. M., Laird, R. A., (2015.) Data from: Senescence in duckweed: age-related declines in survival, reproduction, and offspring quality, Dryad, Dataset, doi: 10.5061/dryad.t938n
16. Bhanthumnavin, K.B., Mcgarry, M.G. (1971.): *Wolffia arrhiza* as a Possible Source of Inexpensive Protein. Nature 232, page 495 (1971), Thailand
17. Biteco Biogas. URL: http://www.biteco-energy.com/biogas-yield/ (Datum pristupa: 04.11.2018.)
18. Bluem, V., Paris, F. (2001.): Aquatic modules for bioregenerative life support systems based on the C.E.B.A.S. biotechnology. doi:10.1016/S0094-5765(01)00025-X, Acta Astronautica, Volume 48, Issues 5–12, March–June 2001, Pages 287-297, ELSEVIER, Netherlands
19. Boyd, C.E. (1968.): Fresh-Water Plants: A Potential Source of Protein. Economic Botany 22(4), (Oct. - Dec., 1968), pp. 359-368 (10 pages), Published By: Springer, https://www.jstor.org/stable/4252996. New York USA
20. Caicedo, J., R., Van der Steen, N., o., Arce, o., Gijzen, H., J. (2000.): Effect of total ammonia nitrogen concentration and pH on growth rates of duckweed (*Spirodela polyrhiza*), Elsevier Science Ltd, Great Britain, PII: S0043-1354(00)00128-7
21. Cavinato, C., Fatone, F., Bolzonella, D., Pavan, P. (2010.): Thermophilic anaerobic co-digestion of cattle manure with agro-wastes and energy crops: Comparison of pilot and full scale experiences. Bioresource Technology 101(2), 545-550., doi:10.1016/j.biortech.2009.08.043

22. Chang, S.M., Yang, C.C., Sung, S.C. (1977.): The cultivation and the nutritional value of *Lemnaceae*. Bull. Inst. Chem., Acad. Sin., 24: 19-30.
23. Cheng, J., Landesman, L., Bergmann, B.A., Classen, J.J., Howard, J.W., Yamamoto, Y.T., (2002.): Nutrient removal from swine lagoon liquid by *Lemna minor*. Transactions of the ASAE. Americal Society of Agricultural Engineers, 45(4), 1003-1010., doi:10.13031/2013.9953
24. Cheng, J.J., Stomp, A. (2009.): Growing duckweedto recover nutrients from wastewaters and for production of fuel ethanol and animal feed. Clean Journal 37 (1), 17-26.
25. Ciereszko, I., Barbachowska, A. (2000.): Sucrose metabolism in leaves and roots of bean (*Phaseolus vulgaris L.*) during phosphate deficiency. Journal of Plant Physiology, 156, 640-644.
26. Clark, P.B., Hillman, P.F. (1996.): Enhancement of Anaerobic Digestion Using Duckweed *(Lemna minor*) Enriched with Iron. doi:org/10.1111/j.1747-6593.1996.tb00015.x, Water and Environment Journal 10(2), 92-95.
27. COP26: Rezolucija Europskog parlamenta od 21. listopada 2021. o Konferenciji UN-a o klimatskim promjenama 2021. u Glasgowu, u Ujedinjenoj Kraljevini (COP26)
28. Crawford, D.J., Landolt, E., Les, D.H., Kimball, R.T. (2006.): Speciation in duckweeds (*Lemnaceae*): Phylogenetic and ecological inferences. Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany, 22(1), članak 19.
29. Cross, J.W. (1994.): Duckweed as a primary feedstock for acqa culture,in:charms of duckweed. Missouri botanical gardens, Animal feed resources information system, http://www.mobot.org/jwcross/duckweed/Fish.htm, (Datum pristupa: 07. 09. 2019.)
30. Cui, W., Xu. J., Cheng, J.J., Stomp, A.M. (2011.): Starch Accumulation in Duckweed for Bioethanol Production. Biological Engineering 3(4), 187--197, doi:10.13031/2013.37123
31. Cui, W., Cheng, J.J. (2014.): Growing duckweed for biofuel production. Plant Biology, 17(1), 16-23, doi.10.1111/plb.12216

31. Culley, D.D., Epps, A.E. (1973.): Use of duckweeds for waste treatment and animal feed. J. Water Pollut. Control Fed. 45, 337–347

32. Culley, D.D., Gholson, J.H., Chisolm, T.S., Sdandifer, L.C., Eppa, E.A. (1978.): Water quality renovation of animal waste lagons utilizing aquatic plants. EPA-600/2-78-153 Oklahoma USA

33. Culley, D.D., Rejmnkov, E., Event, J., Frye, J.B. (1981.): Production, chemical quality and use of duckweeds (*Lemnaceae*) in aquaculture, waste management and animal feeds. Journal of the World Mariculture Society, 12, 27-49. doi:10.1111/j.1749-7345.1981.tb00273.x

35. Ćosić, B., Stanić, Z., Duić, N. (2011.): Geographic distribution of economic potential of agricultural and forest biomass residual for energy use. Case study Croatia. Energy 36(4), 2017-2028.

34. Čupin, N. (2007.): Uloga lokalne zajednice u korištenju obnovljivih izvora energije. Zbornik radova 2. stručnog skupa s međunarodnim sudjelovanjem „Obnovljivi izvori energije u Republici Hrvatskoj (energija biomase, bioplina i biogoriva)“, 217-222.

35. Daubs, E.H. (1965.): A Monograf of *Lemnaceae.* The University of Illinois Press. Urbana, Illinois, USA. V. 34

36. Dinges, R. (1982.): Natural systems for water pollution con-trol. Van Nostrand Reinhold. New York, Journal of Environmental Quality 11(4), 722-722, doi:10.2134/jeq1982.00472425001100040037x

37. Driever, S.M., Van Nes, E.H., Roijackers, R.M.M. (2005.): Growth limitation of *Lemna minor* due to high plant density. Aquatic Botany 81(3), 245-251, doi:10.1016/j.aquabot.2004.12.002

38. Dueblein, D., Steinhauser, A. (2008.): Biogas from Waste and Renewable Resources. An Introduction, Wiley vchisbn: 978-3-527-32798-0, doi: 10.1002/9783527632794

39. Edvards, P., Polprasert, C., Wee, K.L. (1987.): Re-source recover and health aspects of sanitation. AIT Research Report 205, page 324.

40. Edwards, P., Hassan, M.S., Chao, C.H., Pacharaprakiti, C. (1992.): Cultivation of duckweeds in septage-loaded earthen ponds. Bioresour Technol 40, 109-117.

41. Ellabban, O., Abu-Rub, H., Blaabjerg, F. (2014.): Renewable energy resources: current status, future prospects and their enabling technology. Renewable and Sustainable Energy Reviews 39, 748-764. doi:10.1016/j.rser.2014.07.113
42. Elpich, J. R., Bailey, H. C., Hindle, A., Bortold, S. E., (2009.): Aeration with carbon dioxide-supplemented air as a method to control pH drift in toxicity tests with effluents from wastewater treatment plants, Environmental Toxicology, doi.org/10.1897/04-360R1.1.
43. EN13037: Determination of pH. 1999. (2011.)
44. EN13039: Determination of organic matter content and ash. 1999. (2011.)
45. EN13654-1: Determination of Kjeldahl Nitrogen in soil, biowaste and sewage sludge.
46. Escobar, C., Escobar, A. (2017.): Duckweed: A Tiny Aquatic Plant with Enormous Potential for Bioregenerative Life Support Systems. International Conference on Environmental Systems, http://hdl.handle.net/2346/73062. (Datum pristupa: 10.02.2020.)
47. Filippov, P. (2007.): https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9c/Lemna_trisulca1.JPG, (Datum pristupa 05.12.2021.).
48. Food and Agricultural Organization (FAO), (1999.): Duckweed: a tiny aquatic plant with enormous potential for agriculture and environment http://www.fao.org/ag/AGAinfo/resources/documents/DW/Dw2.htm accessed on 06/30/2010 (Datum pristupa: 14.09.2019.).
49. Food and agriculture dana (FAOSTAT), https://www.fao.org/faostat/en/#home, (Datum pristupa: 20.11.2021.)
50. Gaigher, I.G., Short, R. (1986.): An evaluation of duckweed (*Lemnaceae*) as a candidate for aquaculture in South Africa. Aquaculture 1980 Report Series, 15, ur. R. D. Wamsley i J. G. Wan (Canberra, ACT: CSIRO), 81-90.
51. Gaur, R. Z., Suthar, S. (2017.): Nutrient scaling of duckweed (spirodela polyrhiza) biomass in urban wastewater and its utiliy in anaerobic co--digestion. Process safety and environmental protection, 107, 138-146., doi:10.1016/j.psep.2017.02.005.

52. Gerardi, M.H. (2003.): Nitrification and Denitrification in the Activated Sludge Process. ISBN 0-471-06508-0, New York USA
53. Gijzen, H.J. (1997.): Duckweed based wastewater treatment for rational resource recovery. In: Proc. VII Congreso Nacional de Biotecnologia y Bioingenieria, II Symposio Internacional sobre Ingenieria de Bioprocesos, Mazatlan, Mexico, 8-12 September 1997, page 39
54. Godfray, H.C.J., Beddington, J.R., Crute, I.R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J.F., Pretty, J., Robinson. S,, Thomas, S.M., Toulmin, C. (2010.): Food security: The challenge of feeding 9 billion people. Science 327(5967), 812-818., doi: 10.1126/science.1185383
55. Guha, R. (1997.): Duckweeds. ENVIS Newsletter, Indian Institute of Science. Bangalore, 5-9.
56. Hansen, K.A., Angelidaki, I., Ahring, B.K. (1998.): Anaerobic digestion of swine manure: inhibition by ammonia, Department of Environmental Science and Engineering. Technical University of Denmark, Building 115, DK-2800Lyngby, Denmark Water Research Volume 32, Issue 1, January 1998, Pages 5-12, doi: 10.1016/S0043-1354(97)00201-7
57. Hartog, C.D., Van Der Plas, F. (1970.): A synopsis of the *Lemnaceae.* Blumea, 18, 355-368.
58. Hasan, M.R., Chakrabarti, R. (2009.): Floating aquatic macrophytes – duckweeds. In: Use of algae and aquatic macrophytes as feed in small-scale aguaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 29-50. ISBN : 9789251064207
59. Hogdson, G.L. (1970.): Effects of Temperature on the Growth and Development of *Lemna minor*, under Conditions of Natural Daylight. Annals of Botany, Volume 34, Issue 2, March 1970, Pages 365–381, doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a084375
60. Holshof, G., Hoving, I.E., Peeters, E.T.H.M. (2009.): Duckweed from waste to animal feed . Rapport 306, Wageningen UR Livestock Research, http://edepot.wur.nl/142216, (Datum pristupa: 17.11.2019.)
61. HRN ISO14235 (1994.): Kakvoća tla - određivanje organskog ugljika sulfokromnom oksidacijom, Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

62. Hrvatski operator tržišta energije (HROTE) (2017.), URL: http://www.hrote.hr/, (Datum pristupa: 28.10.2018.).
63. Huang, W., Zhang, D., Xia, W. (2013.): Anaerobic fermentation of duckweed and swine manure in a plug-flow anaerobic digestion system: Chinese Journal of Environmental Engineering 7(1), 323-328,
64. Hulina, N. (2011.): Više biljke stablašice. Golden-marketing – Tehnička knjiga, Zagreb.
65. Iqbal, S. (1999.): Duckweed akvaculture – potentials, possibilites and limitations for combined wastewater treatment and animal feed production in developing countries. SANDEC Report No. 6/99.91 p.
66. Islam, A.K.M.N., Khondker, M. (1991.): Preliminary limnological investigations of some polluted waters covered by duckweeds. Bangladesh Journal of Botany 20(1), 73-75,
67. Islam, K.M.S. (2002.): Feasibility of duckweed as poultry feed-A review. Indian Journal of Animal Sciences 72 (6): 486-491. Department of Animal Nutrition, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh 2202 Bangladesh
68. Jain, S.K., Gujral, G.S., Jha, N.K., Vasudevan, P. (1992.): Production of biogas from *Azolla pinnata* R.Br and *Lemna minor* L.: effect of heavy metal contamination. Bioresource technology 41 (3), 273-277.
69. Johansson, B. (2013.): Security aspects of future renewable energy systems – A short overview. Energy 61: 598-605. doi: 10.1016/j.energy.2013.09.023
70. Kaltschmitt, M., Streicher, W., Wiese, A. (2007.): Renewable Energy: Technology. Economics and Environment. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
71. Karlsson, H., Borjesson, P., Hansson, P.A., Ahlgren, S. (2014.): Ethanol production in biorefineries using lignocellulosic feedstock – GHG performance, energy balance and implications of life cycle calculation methodology. Journal of Cleaner Production 83, 420-427., doi: 10.1016/j.jclepro.2014.07.029.
72. Kessano, M. (2011.): Sustainable Management of Duckweed Biomass Grown for Nutrient Control in Municipal Wastewaters. Master's Thesis, Civil and Environmental Engineering, Utah State University, Logan, UT,

USA, https://digitalcommons.usu.edu/etd/879, (Datum pristupa: 14.10.2020.).

73. Khondker, M., Islam, A.K.M.N., Nahar, N. (1993.): A premilinary sdudy on the growth rate of *Spirodela polyrhiza*. Dhaka Uniezity Journal of Biology sciences, 2(2), 197-200.
74. Koles, S.M., Petrell, R.J., Bagnall, L.O. (1987.): Duckweed culture for reduction of ammonia, phosphorous and suspended solids from algal-rich water. In Aquatic plants for water treatment and resource recovery. Reddy, K. R., and W. H. Smith eds. Magnolia, Orlando, FL. pp. 796-774.
75. Körner, S., Das, S.K., Veenstra, S., Vermaat, J.E., (2001.):, The effect of pH variation at the ammonium/ammonia equilibrium in wastewater and its toxicity to *Lemna gibba*: Aquatic Botany 71(1), 71-78., doi: 10.1016/S0304-3770(01)00158-9.
76. Kovačić, Đ., (2017.). Razvoj procesa predobrade lignoceluloznih materijala toplinom i električnim poljem u svrhu primjene u proizvodnji bioplina anaerobnom kodigestijom s govođom gnojovkom, doktorska disertacija, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku i Institut Ruđer Bošković Zagreb.
77. Kovacs, E., Wirth, R., Maroti, G., Bagi, Z., Rakhely, G., Kovacs, K. (2013.): Biogas Production from Protein-Rich Biomass. Fed-Batch Anaerobic Fermentation of Casein and of Pig Blood and Associated Changes in Microbial Community Composition, doi: 10.1371/journal.pone.0077265, Plos one.
78. Krajnčić, B., Devidé, Z. (1982.): Rasprostranjenost vodenih leća (*Lemnaceae*) u sjevernoj Hrvatskoj. Acta Botanica Croatica, 41, 1, 175-180.
79. Labudović, B., Grđan, M. (2012.): Osnove primjene biomase. Energetika Marketing, Zagreb, Hrvatska.
80. Landesman, L., Parker, N.C., Fedler, C.B., Konikoff, M. (2005.): Modeling duckweed growth in wastewater treatment systems. Livestock Res Rural Dev 17(6),1-8.
81. Landolt, E. (1986.): The family of *Lemnaceae* – a mnographic study. Vol. 1, Biosystematic investigations in the family of duckweeds (*Lemnaceae*). Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der Eidgenössische Technische Hochschule, Stiftung Rübel, Zürich.

82. Landolt, E., Kandeler, R. (1987.): The Family of *Lemnaceae* monographic study Veroffentlichungen Des Geobotanischen Instates der Edg. Tech.Hoghschle,Stiftung Ruebel, Zuerich, page 638.

83. Leng, R.A., Stambolie, J.H., Bell, R. (1995.): Duckweed - a potential high--protein feed resource for domestic animals and fish. Livestock Research for Rural Development 7 (1) Centre for Duckweed Research & Development University of New England Armidale, NSW 2351.

84. Les, D.H., Crawford, D.J. (1999.): *Landoltia (Lemnaceae*), a New Genus of Duckweeds. Missouri Botanical Garden Press 9(4), 530-533., doi: 10.2307/3392157

85. Les, D.H., Crawford, D.J., Landolt, E., Gabel, J.D., Kimball, R.T. (2002.): Phylogeny and systematics of *Lemnaceae*, the duckweed family. Systematic Botany, 27(2), 221-240.

86. Li, X., Wu, S., Yang, C., Zeng, G. (2020.): Microalgal and duckweed based constructed wetlands for swine wastewater treatment, Elsevier, Bioresource Technology, doi: 10.1016/j.biortech.2020.123858.

87. LIFE (2020.): Projekt LIFE – Jačanje kapaciteta za nacionalnu kontakt točku LIFE18 CAP/HR/000001, HR NCP LIFE, Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja

88. Lohan, S.K., Dixit, J., Modasir, S., Ishaq, M. (2012.):, Resource potential and scope of utilization of renewable energy in Jammu and Kashmir, India. Renewable Energy 39(1), 24-29., doi: 10.1016/j.renene.2011.08.033

89. Lüönd, A. (1980.): Effects of nitrogen and phosphorus upon the growth of some *Lemnaceae*. 118-141, u: E. Landolt, *Biosystematic Investigations in the Family of Duckweeds (Lemnaceae)*. Zurich, Veroffentlichungen des Geobotanisches Institut der Eidgenössische Technische Hochschule, Zaklada Ruebel.

90. Mafakheri, F., Nasiri, F. (2014.): Modeling of biomass-to-energy supply chain operations: applications, challenges and research directions. Energy Policy 67, 116-126., doi: 10.1016/j.enpol.2013.11.071

91. Mathew, K., Bhui, I., Banerjee, S.N., Goswami, R., Chakraborty, A.K., Shome, A., Balachandran, S., Chaudhury, S. (2015.): Biogas production

from locally available aquatic weeds of Santiniketan through anaerobic digestion. Clean Technology Environmental Policy, 17, 1681-1688.

92. Mbagwu, I.G., Adeniji, H.A. (1988.): The nutritional content of duckweed (*Lemna paucicostata hegelm*.) in the Kainji Lake area, Nigeria. Aquatic Botany 29(4), 357-366., doi: 10.1016/0304-3770(88)90079-4
93. McLaren, J.S., Smith, H. (1976.): The efect of abscisicacidon growth, photosynthetic rate andcarbohydrate metabolism in *Lemna minor L*. New phytologist, 76, 11-20.
94. MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; (2017.)
95. Michel, P. R., Danvers, E. J., Wilfrido, M., (2020.): A conversion guide: solar irradiance and lux illuminance, Journal of Measurements in Engineering, Vol. 8, Issue 4, 2020, p. 153-166. doi: 10.21595/jme.2020.21667
96. Mihić, Đ., Kralik, D., Matošević, D., Jovičić, D. (2013.): Korištenje biomase vodene leće (*Lemna minor*) uzgojene u ribnjaku za proizvodnju bioplina. Hrvatska akvakultura u Europskoj uniji - sadašnjost i budućnost / Ministarstvo poljoprivrede, 25-25.
97. Mwale, M., Gwaze, F. (2013.): Characteristics of duckweed and its potential as feed source for chickens reared for meat production: A review. Scientific research and essays 8(18), 689-697.
98. Nacionalni akcijski plan za obnovljive izvore energije do 2020. godine. Ministarstvo gospodarstva, poduzetništva i obrta (MINGO), Zagreb, (2013.).
99. National Academy of Sciences - National Research Council (1976.), 'Making aquatic weeds useful: Some perspectives for developing countries' Washington, D.C. Waste water treatment using aquatic weeds, Chapter 13:115-174
100. Nikolić, T. (2013.): Sistematska botanika - raznolikost i evolucija biljnog svijeta. Alfa d.d., Zagreb, 1-882. (Engl. title: Systematic Botany - Diversity and Evolution of Plants), ISBN: 978-953-297-412-6
101. NNFCC, The Bioeconomy Consultants. URL: http://www.nnfcc.co.uk/, (Datum pristupa: 17.11.2020.).

102. Novich, E. (2012.): Predicting *Lemna minor* growth rate response to temperature fluctuations. DigitalCommons@University of Nebraska – Lincoln,

103. Ogunwande, G.A., Adanikin, B.A., Adesanwo, O.O. (2018.): Comparative evaluation and kinetics of biogas yield from duckweed (*Lemna minor*) co-digested with water hyacinth *(Eichhornia crassipes*). Ife Journal of Science vol. 20, no. 3, doi: 10.4314/ijs.v20i3.18

104. Oron, G. (1994.): Duckweed culture for wastewater renovation and biomass production. Agric. Water Manag. 26, 27–40.

105. Oron, G., Porath, D., Wildschut, L.R., (1986.): Wastewater treatment and renovation by different duckweed species. J Environ Eng 112:247–263, T. Ohi-Toma, New or noteworthy plant collections from Myanma

106. Ozengin, N., Elmaci, A. (2007.): Performance of duckweed (*Lemna minor L.)* on different types of wastewater treatment. J Environ Biol. 2007 Apr;28(2):307-14, PMID: 17915771

107. Pandey, A., Verma, R.K. (2018.): Nutritional composition, Taxonomical and phytoremediation status of Duckweed (*Wolffia*): Review. Annals of Plant Science 7(1): 1938-1931, doi: 10.21746/aps.2018.7.1.13

108. Panjičko, M. (2015.): Razvoj procesa proizvodnje bioplina anaerobnom digestijom pivske komine kao monosupstrata. Doktorski rad. Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije.

109. Panjković, B. (2005.): Akvatična i semiakvatična vegetacija apatinskog i Monoštorskog rita. Doktorska disertacija, PMF, Departman za biologiju, Univerzitet u Novom Sadu

110. Pantawong, R., Chuanchai, A., Thibunrat, P., Unpaprom, Y. (2015.): Experimental Investigation of Biogas Production from Water Lettuce, Pistia stratiotes L. Emer Life Sci Res (2015)1(2): 41-46

111. Papadopoulos, F.H., Tsihrintzis, A.A. (2011.): Assessment of a full-scale duckweed pond system for septage treatment. Environmental Technology 32(7-8): 795-804. doi: 10.1080 / 09593330 .2010. 514009

112. Pavić-Rogošić, L. (2010.): Održivi razvoj. Dostupno na: www.odraz.hr/media/ 21831/odrzivi razvoj.pdf (Datum pristupa: 22.05.2020.)

113. Ramaraj, R., Unpaprom, Y. (2016.): Effect of temperature on the performance of biogas production from Duckweed. Chemistry Research Journal, 1(1), 58-66.

114. Rao, R.R., Razi, B.A. (1987.): A synoptic flora of Mysore district. Today & Tomorrow's prints and publishers, New Delhi, 1981, pp. 20-22.

115. Raposo, F., De la Rubia, M.A., Fernández-Cegrí, V., Borja, R. (2011.): Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. Renewable & Sustainable Energy Reviews 16: 861-877.

116. Rauš, Đ., Šegulja, N., Topić, J. (1978.): Investigations of the Swamp and Water Vegetation in the Lowland Woods of Slavonia (Croatia). Acta Botanica Croatica, 37(1), 131-147.

117. Rejmankova, E. (1975.): Comparison of *Lemna gibba* and *Lemna minor* from the production viewpoint. Aquatic Botany 1, 423-427., doi: 10.1016/0304-3770(75)90042-X

118. Rejmánková, E. (1979.): The function of duckweeds in fish pond ecosystem. PhD Thesis. Department of Hydrobotany, Třeboň, Czechoslovakia.

119. Rusoff, L.L., Blakeney, E.W., Culley, D.D. (1980.): Duckweeds (*Lemnaceae* family): a potential source of protein and amino acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28, 848–850., doi: 10.1021/jf60230a040

120. Rusoff, L.L., Gantt, D.T., Williams, D.M., Gholson, J.H. (1977.): Duckweed - a potential feedstuff for cattle. Journal of Dairy Science, 60, 161.

121. Rusoff, L.L., Zeringue, S.P., Achacaso, S.S., Culley, D.D. (1978.): Feeding value of duckweed (an aquatic plant, family *Lemnaceae*) for ruminants. J. Dairy Sci. 61:186.

122. Said, M.Z., Culley, D.D., Standifer, L.C., Epps, E.A., Myers, R.W., Bonney, S.A. (1979.): Effect of harvest rate, waste loading & stocking density on the yield of duckweeds. Proceedings of the World Mariculture Society, 10: 769-780.

123. Schink, B. (1997.): Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. Microbiol Mol Biol Rev 61:262–280

124. Schnurer, A., Jarvis, A., (2010.): Microbiological Handbook for Biogas Plants, Swedish Waste Management U2009:03 Swedish Gas Centre Report 207, pp: 13-138

125. Shi, W. (2010.): Biotechnology: healing, fueling, and feeding the world. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology 9: 311–314. doi: 10.1016/j.jclepro.2009.10.002,

126. Sikora, J., Niemiec M., Szelag-Sikora A. (2017.): Evaluation of the chemical comosition of raw common duckweed (Lemna minor L) and pulp after methane fermentation. Jurnal of Elementology, Poland, doi: 10.5601/jelem.2017.22.21444

127. Skilicorn, P., Spira, W., Journey, W. (1993.): Duckweed Aquaculture. A new aquatic farming system for developing countries. The World Bank, Washington, DC. ISBN: 082132067X

128. Solomon, B.D. (2010.): Biofuels and sustainability. Annals of the New York Academy of Sciences 1185: 119-134.

129. Spalding-Fecher, R., Williams, A., Van Horen, C. (2000.): Energy and environment in South Africa: charting a course to sustainability. Energy for Sustainable Development 4(4): 8-17.

130. Spalding-Fecher, R., Winkler, H., Mwakasonda, S. (2005.): Energy and the World Summit on Sustainable Development: What next?. Energy Policy, 33(1):99-112, doi: 10.1016/S0301-4215(03)00203-9, University of Cape Town, Private Bag, Rondebosch 7701, South Africa

131. Strom, E. (2010.): Leachate treatment and anaerobic digestion using aquatic plants and algae. Master's Thesis, Linköping University, Stockholm

132. Sylvania GROLUX T5 8500K, https://zoolight.eu/product-eng-2462-T5-SYLVANIA-GROLUX-8500K.html, (Datum pristupa: 04.11.2021.).

133. Tanakaa, N., Tomab, T.O., Muratac, H., Aungd, M.M., Murata, J. (2016.), New or Noteworthy Plant Collections from Myanmar. (9), J. Jpn. Bot. 91 Suppl.: 99–111

134. Taubaev, T.T., Abdiev, M. (1973.): Duckweeds of water reservoirs in Uzbekistan and their use in agriculture. Fan, Taskent. pp. 87.

135. Timmerman, M., Hoving, I. (2016.): Purifying manure effluents with duckweed, Wageningen UR Livestock Research, Corpus ID: 114805989

136. Triscari, P., Henderson, S., Reinhold, D. (2009.): Anaerobic digestionof dairy manure combined with duckweed (*Lemnaceae*). ASABE Annual International Meeting, Reno, Nevada, USA, 0955765

137. Van der Steen, P., Brenner, A., Oron, G. (1999.): Post-treatment of UASB reactor effluent in an integrated duckweed and stabilization pond system. Water Research 33(3), 615-620.

138. Van Schaik, C.M., Nieuwenhuis, R., Maring, L. (2009.): Naar nieuwe ketens voor het benutten van eendenkroos, Utrecht, Niderland.

139. Verma, R., Suthar, S. (2014.): Synchronized urban wastewater treatment and biomass production using duckweed *Lemna gibba* L. Ecological Engineering 64, 337-343. doi: 10.1016/j.ecoleng.2013.12.055

140. Vidaković, Ž., Sorić, S., Babić, M., (2013.): Growth and photosynthesis of *Lemna minor* L. exposed to different light conditions and sucrose supplies. Acta Bot. Croat. 72 (2), 211–219, 2013, doi: 10.2478/v10184-012-0018-4

141. Voća, N., Hrkać, I. (2011.): Potentail analysis of postharvest residues for energy utilization in Croatia. Journal of Food, Agriculture and Environment 9(2), 568-571.

142. Vukičević, E. (1992.): Familija *Azollaceae.* U: Sarić, M., (ed.), Flora Srbije. Tom I, Srpska 20. akademija nauka i umetnosti, Beograd, 96-98

143. Vymazal, J. (2011.): Plants used in constructed wetlands with horizontal subsurface flow. Review. Hydrobiology 674: 133-156. doi: 10.1007/s10750-011-0738-9

144. Wang, W. (1990.): Literature review on duckweed toxicity testing. Environmental research 52(1): 7-22. doi: 10.1016/S0013-9351(05)80147-1

145. Wang, W., Kerstetter, R.A., Michael, T.P. (2011.): Evolution of Genome size in Duckweeds (*Lemnaceae*). Journal of Botany, article ID 570319, 9 pages, doi: 10.1155/2011/570319

146. Wangermann, E. (1950.): A Study of the Cycle of Ageing and Rejuvenation in the Vegetative Life History of *Lemna minor* L. The University of Manchester (United Kingdom). ProQuest Dissertations Publishing, 1950. 28356194.

147. Wedge, R. M., Burris, J. E., (1982.): Effects of light and temperature on duckweed photosynthesis. Aquatic Botany, 13, 133-140., doi: 10.1016/0304-3770(82)90047-X

148. Weiland, P. (2010.): Biogas production: current state and perspectives. Applied Microbiology and Biotechnology 85, 849-860.

149. Wiersema, J.H. (1995.): Taxonomic information on cultivated plants in the usda/ars germplasm resources information network (GRIN). doi:10.17660/ActaHortic.1995.413.16,

150. Wu, Y., Zhao, F., Liu, S., Wang, L., Qui, L., Alexandrov, G., Jothiprakash, V. (2018.): Bioenergy production and environmental impacts. Geoscience Letters 5: članak 14. doi: 10.1186/s40562-018-0114-y

151. Xiao, Y., Fang, Y., Zhang, G., Zhao, H. (2013.): Culturing duckweed in the field for starch accumulation. Industrial Crops and Products, 48, 183-190. doi: 10.1016/j.indcrop.2013.04.017

152. Xu, J., Zhao, H., Stomp, A.M., Cheng, J.J. (2012.): The production of duckweed as a source of biofuels. Biofuels 3(5), 589-601. doi: 10.4155/bfs.12.31

153. Yadav, D., Barbora, L., Bora, D., Mitra, S., Rangan, L., Mahanta, P. (2016.): An assessment of duckweed as a potential lignocellulosic feedstock for biogas production. International Biodeterioration & Biodegradation, Elsevier, doi: 10.1016/j.ibiod.2016.09.007

154. Yadav, D. Barbora, L., Bora, D., Mitra, S., Rangan, L., Mahanta, P. (2017.): An assessment of duckweed as a potential lignocellulosic feedstock for biogas production. International Biodeterioration and Biodegradation, 119, SI, 253-259.

155. Yang, J., Hu, S., Li, G., Khan, S. (2020.): Transformation Development in Duckweeds, In book: The Duckweed Genomes (pp.143-155), doi:10.1007/978-3-030-11045-1_15

156. Yuan, J., Xu, K., (2016.): Effects of simulated microgravity on the performance of the duckweeds *Lemna aequinoctialis* and *Wolffia globosa*. Aquatic Botany 137, 65-71., doi: 10.1016/j.aquabot.2016.11.010

157. Zhao, H., Appenroth, K., Landesman, L., Salmena, A.A., Lam, E. (2012.): Duckweed rising at Chengdu: summary of the 1st International Conference

on Duckweed Application and Research. Plant molecular Biology, 78, 627-632., doi.org/10.1007/s11103-012-9889-y

7. SAŽETAK

Cilj istraživanja bio je utvrditi mogućnost uzgoja različitih vrsta vodene leće na različitim koncentracijama digestata, kao hranjive otopine, te utvrditi potencijal proizvodnje bioplina postupkom anaerobne digestije od različitih vrsta vodene leće ili istih vrsta, ali uzgojenih pri različitim koncentracijama digestata. Istraživački rad sastojao se od dva uzgojna pokusa i anaerobne digestije uzgojene i prikupljene u prirodi zelene mase te analize dobivenog bioplina. U prvom pokusu (diskontinuirani uzgoj) uzgajane su tri vrste vodene leće (*Lemna minor, Spirodela polyrhiza i Lemna trisulca*) na osam različitih hranjivih otopina na bazi digestata. Udio dušika u hranjivoj otopini kretao se u rasponu od 5 do 100 mg l^{-1} hranjive otopine. Pokus je trajao 30 dana uz početno dodavanje digestata u hranjivu otopinu. U drugom pokusu (kontinuirani uzgoj) uzgajana je jedna vrsta vodene leće (*Spirodela polyrhiza*) na tri koncentracije digestata u hranjivoj otopini. Udio dušika u hranjivoj otopini kretao se u rasponu od 2,8 do 5,7 ml l^{-1}, a pokus je trajao 30 dana. Proces anaerobne digestije proveden je šaržno, pri termofilnim uvjetima (55 °C), tijekom 30 dana u omjeru 95 % goveđa gnojovka + 5 % supstrati (vodena leća). Prikupljeni plin je analiziran. U diskontinuiranom uzgoju *Spirodela polyrhiza* je ostvarila bolji prinos biomase, ali manji relativni dnevni prirast biomase od vrste *Lemna minor*. U kontinuiranom uzgoju na najbogatijoj hranjivoj otopini uzgojeno je 15,64 % više zelene mase u odnosu na najsiromašniju hranjivu otopinu. Procesu digestije podvrgnuti su uzorci dobiveni u kontinuiranom uzgoju i uzorci vodenih biljaka prikupljeni u prirodi (*Spirodela polyrhiza, Lemna minor i Azolla caroliniana*). Proizvodnja bioplina kretala se u rasponu od 892,38 do 346,35 ml g^{-1} suhe tvari vodene biljke. Najveći prinos je ostvaren je kod vrste *Spirodela polyrhiza* uzgojene na srednje bogatoj hranjivoj otopini SP 60, a najlošiji prinos kod iste vrste uzgojene na najbogatijoj hranjivoj otopini SP 80. Sadržaj metana u pokusnim skupinama ostvaren je u iznosu oko 60 %. Najveći prinos zelene mase ostvarila je vrsta *Spirodela polyrhiza* uzgojena na najbogatijoj hranjivoj otopini (SP 80). Kod ove vrste je zabilježen najveći prinos bioplina na srednje bogatoj otopini (SP 60) te najveći prinos metana na najsiromašnijoj otopini (SP 40). Provedena istraživanja potvrdila su postavljene hipoteze da koncentracija digestata značajno utječe na prinos zelene mase uzgajanih vodeni leća, da se vodena leća može uspješno kontinuirano uzgajati na hranjivoj otopini na bazi digestata i da koncentracija digestata utječe na proizvodnju metana.

Ključne riječi: vodena leća, digestat, anaerobna digestija, bioplin

8. SUMMARY

The aim of the study was to determine the possibility of growing different types of water lentils at different concentrations of digestate, as nutrient solutions, and to determine the potential of biogas production by anaerobic digestion from different types of water lentils or the same species but grown at different concentrations of digestate. The research work consisted of two breeding experiments and anaerobic digestion of green mass cultivated and collected in nature and analysis of the obtained biogas. In the first experiment (discontinuous cultivation), three species of ducweeds (*Lemna minor, Spirodela polyrhiza* and *Lemna trisulca*) were cultivate on eight different digestate-based nutrient solutions. The nitrogen content of the nutrient solution ranged from 5 to 100 mg of l^{-1} solution. The experiment lasted for 30 days with the initia addition of digestate in the nutrient solution. In the second experiment (continuous cultivation), one species of duckweed (*Spirodela polyrhiza*) was cultivated at three concentrations of digestate in the nutrient solution. The nitrogen content of the nutrient solution ranged from 2.8 to 5.7 ml l^{-1}, and the experiment lasted 30 days. The process of anaerobic digestion is carried out in batches, under thermophilic conditions (55 °C), for 30 days in the ratio of 95 % bovine manure + 5 % substrates (duckweeds). The collected gas was analyzed. In discontinuous cultivation, *Spirodela polyrhiza* achieved better biomass yieldy, but lower relative daily biomass growth than *Lemna minor*. In continuous cultivation, 15.64 % more green mass was cultivated on the richest nutrient solution compared to the poorest nutrient solution. Samples obtained in continuous cultivation and samples of aquatic plants collected in nature (*Spirodela polyrhiza, Lemna minor* and *Azolla caroliniana*) were subjected to the process of digestion. Biogas production ranged from 892.38 to 346.35 ml of g^{-1} dry matter of the aquatic plant. The highest yield was achieved in the species *Spirodela polyrhiza* cultivated on medium--rich nutrient solution SP 60, and the worst yield in the same species cultivated on the richest nutrient solution SP 80. The highest yield of green mass was achieved by species *Spirodela polyrhiza* cultivated on the richest nutrient solution (SP 80). This species recorded the highest yield of biogas in the medium-rich solution (SP 60) and the highest yield of methane in the poorest solution (SP 40). The conducted research confirmed the hypotheses that digestate concentration significantly affects the green mass yield of cultivated duckweeds, that duckweeds can be successfully cultivated continuously on digestate-based nutrient solution and that digestate concentration affects methane production.

Key words: duckweeds, digestate, anaerobic digestion, biogas.

9. PRILOG

9.1. Popis kratica

1. Program LIFE……..…… Francuski, L'Instrument Financier pour l'Environnement
2. CD …….……..Engleski, kratica od cow dung, (goveđa gnojevka)
3. DW ……..…..Engleski, kratica od duckweed, (pačiji korov – vodena leća)
4. EU ……...….Europska unija
5. MINGO ……..... Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja RH
6. HROTE…….....Hrvatski operater tržišta energije
7. DNK……..….. Deoksiribonukleinska kiselina
8. SAD ……...…. Sjedinjene Američke države
9. FAO …… Engleski, Food and Agriculture Organization
10. NNFCC……...… Engleski, National Non-Food Crops Centre
11. LED ……..… Engleski, Light-Emitting Diode
12. NASA ……...….. Engleski, National Aeronautics and Space Administration
13. LM ……..…… *Lemna minor*
14. LT …… *Lemna trisulca*
15. SP …… *Spirodela polyrhiza*
16. SP 80 …… Hranjiva podloga za uzgoj *Spirodele polyrhize* sa 80ml digestata/14 l vode
17. SP 60 …… Hranjiva podloga za uzgoj *Spirodele polyrhize* sa 60ml digestata/14 l vode
18. SP 40 …..... Hranjiva podloga za uzgoj *Spirodele polyrhize* sa 40ml digestata/14 l vode
19. K1, K2, K3 ….. Koncentracija 1, Koncentracija 2 , Koncentracija 3 (hranjive podloge)
20. O1K1-1 ……..… Osvjetljenje 1, Koncentracija 1, 1 ponavljanje
21. O5K2-3 ……..… Osvjetljenje 5, Koncentracija 2, 3 ponavljanje
22. APHA ……...… Engleski, American Public Health Association
23. TCD ……... Engleski, Thermal Conductivity Detector
24. ANOVA ……. Engleski, Analysis of variance
25. DDT ……. Engleski, dichloro-diphenyl-trichloroethane
26. ST ……..…….. Suha tvar
27. ZM …….. Zelena masa

9.2. Popis slika

Slika 1. *Wolffia angusta* (Izvor: https://www.aquaportail.com/fiche-plante-3603-wolffia-angusta.html), str. 6.
Slika 2. Različiti rodovi vodene leće (Izvor: Yang i sur. 2020.), str. 8.
Slika 3. Mnoštvo vodenih leća od obale do obale rijeke Bosuta, (Izvor: vlastita fotografija, 2020.), str. 10.
Slika 4. Plantaža vrste *Lemna minor* (Izvor: Iqbal 1999.), str. 12.
Slika 5. Postupci pretvorbe biomase u energiju (Izvor: Kaltschmitt i sur. 2007.), str. 17.
Slika 6. Faze anaerobne digestije organske biomase (Izvor: Kaltschmitt i sur. 2007.), str. 18.
Slika 7. Kolonija vrste *Lemna minor* (Izvor: vlastita fotografija, 2016.), str. 38.
Slika 8. Kolonija vrste *Spirodela polyrhiza* (Izvor: vlastita fotografija, 2016.), str. 38.
Slika 9. Kolonija vrste *Lemna trisulce* (Izvor: vlastita fotografija, 2016.), str. 39.
Slika 10. Lokacija „Sopot“ (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 40.
Slika 11. Lokacija „Sopot“ (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 40.
Slika 12. Lokacija „Krnjaš“, (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 40.
Slika 13. Lokacija „Krnjaš“ (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 41.
Slika 14. Lokacija „Leskovac“ (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 41.
Slika 15. Lokacija „Leskovac“ (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 41.
Slika 16. *Lemna minor* (Izvor: vlastita fotografija, 2017.) str. 43.
Slika 17. *Lemna minor* (Izvor: vlastita fotografija, 2021.) str. 43.
Slika 18. *Lemna trisulca* (Izvor: vlastita fotografija, 12.06.2017.), str. 44.
Slika 19. *Lemna trisulca* (Izvor: vlastita fotografija, 12.06.2017.), str. 44.
Slika 20. *Spirodela polyrhiza* (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 45.
Slika 21. *Spirodela polyrhiza* (Izvor: https://www.inaturalist.org/photos/84368175), str. 46.
Slika 22. *Azolla caroliniana*, (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 46.
Slika 23. *Azolla caroliniana* (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 47.
Slika 24. Ventil za ispuštanje tekuće frakcije digestata (Izvor: vastita fotografija, 2016.), str. 48.
Slika 25. Biolinsko postrojenje „Ovčara“ (Izvor: vlastita fotografija, 2016.), str. 48.
Slika 26. Priručni laboratorij za diskontinuirani uzgojni pokus (Izvor: vlastita fotografija, 2016.), str. 50.
Slika 27. Staklenka 1,7 l, (Izvor: vlastita fotografija, 2016), str. 51.

Slika 28. PVC umetak (Izvor: vlastita fotografija, 2016), str. 51.

Slika 29. pH metar (Izvor: vlastita fotografija, 2016.), str. 52.

Slika 30. Digitalna vaga (Izvor: vlastita fotografija, 2016.), str. 53.

Slika 31. Uzgoj vrste *Spirodela polyrhiza* (bez zasjenjenja, pozadinsko zasjenjenje, površinsko zasjenjene), (Izvor: vlastita fotografija, 2016.), str. 54.

Slika 32. Uzgoj vrste *Lemna minor* (bez zasjenjenja, pozadinsko zasjenjenje, površinsko zasjenjene), (Izvor: vlastita fotografija, 2016.), str. 54.

Slika 33. Sustav pumpi i preljevnih bazena (Izvor: vlastita fotografija, 2017.), str. 55.

Slika 34. Osvjetljenje bazena (Izvor: vlastita fotografija, 2017.), str. 55.

Slika 35. Uzgoj vrste *Spirodela polyrhiza* (Izvor: vlastita fotografija, 2017.), str. 56.

Slika 36. Sustav bazena i pozadinskog zasjenjenja (Izvor: vlastita fotografija 2017.), str. 56.

Slika 37. Pribor za utvrđivanje sadržaja dušika u hranjivoj otopini, (Izvor: vlastita fotografija, 2017.), str. 57.

Slika 38. Aparatura za provedbu anaerobne digestije (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 61.

Slika 39. Reaktorske boce u termostatiranoj vodenoj kupelji (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 61.

Slika 40. Shematski prikaz provedbe šaržnog procesa anaerobne digestije (Izvor: prilagođeno iz Kovačić, 2017.), str. 62.

Slika 41. Uređaj za analizi keijskog sastava bioplina (Izvor: vlastita fotografija, 2017.), str. 63

Slika 42. Pojava algi (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 75.

Slika 43. Dominacija algi (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 75.

Slika 44. Pojava bolesti (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 77.

Slika 45. Širenje bolesti (Izvor: vlastita fotografija, 2018.), str. 78.

9.3. Popis tablica

Tablica 1. Koncentracije makro- i mikro-elemenata (Izvor: https://www.fao.org/ag/againfo/resources/documents/DW/dw2.htm), str. 13.
Tablica 2. Udio hranjivih tvari (Izvor: Iqbal 1999.), str. 14.
Tablica 3. Prinosi suhe tvari vodene leće u optimalnim uvjetima (Izvor: https://www.fao.org/ag/againfo/resources/documents/DW/dw2.htm), str. 14.
Tablica 4. Prinosi vodene leće na otvorenim vodotocima (Izvor: https://www.fao.org/ag/againfo/resources/documents/DW/dw2.htm), str. 15.
Tablica 5. Usporedba prinosa bioplina vodene leće i kukuruzne silaže, str. 16.
Tablica 6. Kemijski sastav energetskih biljaka (Izvor: Van Schaik 2009.), str. 16.
Tablica 7. Prinosi suhe tvari energetskih biljaka (Izvor: Van Schaik 2009.), str. 16.
Tablica 8. Najčešće korišteni supstrati za anaerobnu digestiju, njihov prinos bioplina i literaturni izvori, str. 19.
Tablica 9. Utjecaj temperature digestije na proizvodnju bioplina, str. 29.
Tablica 10. Matrica uzgojnog pokusa sa tri biljne vrste na osam različitih hranjivih podloga u tri ponavljanja, str. 50.
Tablica 11. Intenzitet osvijetljenja po etažama, str. 57.
Tablica 12. Matrica uzgoja, str. 58.
Tablica 13. Udio dušika i digestata u odnosu na postavljene koncentracije, str. 65.
Tablica 14. Početna masa i ukupni prinos zelene mase u odnosu na vrstu, str. 66.
Tablica 15. Razlike u početnoj masi i prinosima zelene mase između vrsta leća, str. 67.
Tablica 16. Mjere sredine i raspršenja pH vrijednosti u odnosu na vrstu leće prema mjerenjima, str. 69.
Tablica 17. Mjere sredine i raspršenja temperature (0 °C) u odnosu na vrstu leće prema mjerenjima, str. 70.
Tablica 18. Mjere sredine i raspršenja prinosa zelene mase (g) u odnosu na vrstu leće prema mjerenjima, str. 71.
Tablica 19. Prisutnost algi u odnosu na vrstu leće po mjerenjima 1.–7., str. 73.
Tablica 20. Prisutnost algi u odnosu na vrstu leće po mjerenjima 8.–15., str. 74.
Tablica 21. Raspodjela blijedih biljki u odnosu na vrstu leće po mjerenjima, str. 76.
Tablica 22. Raspodjela zaraženih biljki u odnosu na vrstu leće po mjerenjima, str. 77.
Tablica 23. Raspodjela zaraženih biljki u odnosu na vrstu leće po mjerenjima, str. 78.
Tablica 24. Relativan prirast zelene mase *Spirodela polyrhiza* po danima, str. 80.

Tablica 25. Relativni prirast vrste *Lemna minor* po danima, str. 81.
Tablica 26. Koncentracije digestata i ukupnog dušika u pojedinim hranjivim otopinama, str. 82.
Tablica 27. Rezultati analize digestata, str. 82.
Tablica 28. Prirast zelene mase vrste *Spirodela polyrhiza*, str. 84.
Tablica 29. Ukupni prinos zelene mase vrste *Spirodela polyrhiza* u odnosu na intenzitet svjetla, str. 85.
Tablica 30. Ukupni prinos zelene mase u odnosu na intenzitet svijetla i mjerenja, str. 86.
Tablica 31. Analiza supstrata prije digestije, str. 87.
Tablica 32. Analiza supstrata poslije digestije, str. 88.
Tablica 33. Analiza uzoraka zelene mase vodenih biljaka, str. 88.
Tablica 34. Proizvodnja bioplina različitih vrsta vodenih biljaka u različitim supstratima po danima, str. 89.
Tablica 35. Kumulativna proizvodnja bioplina iz različitih vrsta supstrata, str. 91.
Tablica 36. Proizvodnja bioplina s obzirom na dodatak suhe tvari vodenih biljaka, str. 9.
Tablica 37. Ukupne količine bioplina, bioplina po 1 g zelene mase, te količina metana po 1 g zelene mase u odnosu na vrstu leće, str. 95.
Tablica 38. Kumulativna proizvodnja metana od različitih supstrata po danima pokusa, str. 96.
Tablica 39. Prinos zelene mase (g 200 cm^{-2}), str. 99.
Tablica 40. Prinos bioplina (ml 200 cm^{-2}), str. 99.
Tablica 41. Prinos metana (ml 200 cm^{-2}), str. 99.
Tablica 42. Kumulativna proizvodnja bioplina (vodene biljke) za 25 ml uzorka, str. 100.
Tablica 43. Kumulativna proizvodnja metana (vodene biljke) za 25 ml uzorka, str. 102.
Tablica 44. Sadržaj dušika (N) u bioplinu (%), str. 106.
Tablica 45. Sadržaj metana (CH_4) u bioplinu (%), str. 107.
Tablica 46. Sadržaj ugljičnog dioksida (CO_2) u bioplinu (%), str. 109.

9.4. Popis grafikona

Grafikon 1. Utjecaj temperature digestije na proizvodnju bioplina (Izvor: Ramaraj 2016.), str. 29.

Grafikon 2. Spektar osvjetljenja, (Izvor: https://zoolight.eu/product-eng-2462-T5-SYLVANIA-GROLUX-8500K.html), str. 53.

Grafikon 3. Udio dušika i digestata prema postavljenim pokusima, str. 65.

Grafikon 4. pH–vrijednosti prema mjerenjima kod promatranih leća, str. 68.

Grafikon 5. Vrijednosti temperature hranjive otopine (0 °C) prema mjerenjima kod promatranih leća, str. 70.

Grafikon 6. Vrijednosti prinosa zelene mase vrsta leća u odnosu na mjerenja, str. 72.

Grafikon 7. Relativni prirast vrste *Spirodela polyrhiza* po danima, str. 80.

Grafikon 8. Relativni prirast vrste *Lemna minor* po danima, str. 81.

Grafikon 9. Kumulativni prikaz prirasta zelene mase vrste *Spirodela polyrhiza* po danima pokusa (g), str. 83.

Grafikon 10. Ukupan prinos vrste *Spirodela polyrhiza* pri različitim koncentracijama digestata, str. 85.

Grafikon 11. Ukupni prinos (zajedno s početnom vrijednosti) zelene mase vrste *Spirodela polyrhiza* u odnosu na intenzitet svjetla, str. 85.

Grafikon 12. Proizvodnja bioplina iz različitih vrsta supstrata po danima, str. 90.

Grafikon 13. Kumulativni prikaz proizvodnje bioplina supstrata na bazi vodenih biljaka prikupljenih u prirodi, str. 93.

Grafikon 14. Kumulativni prikaz proizvodnje bioplina na bazi uzgojene vrste *Spirodela polyrhiza*, str. 93.

Grafikon 15. Ukupna proizvodnja bioplina iz različitih vrsta supstrata, str. 94.

Grafikon 16. Kumulativni prikaz proizvodnje metana od vodenih biljka prikupljnih u pririodi, str. 97.

Grafikon 17. Kumulativni prikaz proizvodnje metana iz uzgojene vrste *Spirodela polyrhiza*, str. 98.

Grafikon 18. Prinos zelene mase (g 200 cm^{-2}), str. 99.

Grafikon 19. Prinos bioplina (ml /200 cm^{-2}), str. 99.

Grafikon 20. Prinos metana (ml 200 cm^{-2}) , str. 99.

Grafikon 21. Kumulativna proizvodnja bioplina (vodena leća) za 25ml uzorka, str. 104.

Grafikon 22. Kumulativna proizvodnja metana (vodena leća) za 25ml uzorka, str. 104.

Grafikon 23. Ukupna proizvodnja bioplina (ml g^{-1} zelene mase), str. 105.
Grafikon 24. Ukupna proizvodnja metana (ml g^{-1} zelene mase), str. 105.
Grafikon 25. Sadržaj dušika (N) u bioplinu (%), str. 107.
Grafikon 26. Sadržaj metana (CH_4) u bioplinu (%), str. 107.
Grafikon 27 Sadržaj ugljičnog dioksida (CO_2) u bioplinu (%), str. 110.
Grafikon 28. Kemijski sastav bioplina, *Spirodela polyrhiza* 80, str. 111.
Grafikon 29. Kemijski sastav bioplina, *Spirodela polyrhiza* 60, str. 111.
Grafikon 30. Kemijski sastav bioplina, *Spirodela polyrhiza* 40, str. 111.
Grafikon 31. Kemijski sastav bioplina *Spirodela polyrhiza*-Bosut, str. 112.
Grafikon 32. Kemijski sastav bioplina *Lemna minor*-Bosut, str. 112.
Grafikon 33. Kemijski sastav bioplina *Azolla caroliniana*-Bosut, str. 112.
Grafikon 34. Kemijski sastav bioplina kontrolne skupine, str. 113.

ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODACI

Ime i prezime: DAMIR MATOŠEVIĆ
Adresa stanovanja: Matije Gupca 44, 32281 Ivankovo
e-mail: damir.matosevic@vibrobeton.net
Mob: + 385 99 357-4419
Datum rođenja: 22. 05. 1968.
Mjesto rođenja: Privlaka

OBRAZOVANJE

Osnovna škola: 1975. - 1983.
Srednja škola: 1983. - 1987. Tehnička škola "R. Bošković" Vinkovci
Fakultet: 1988. - 1994.
Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Sveučilište J. J. Strossmayera, Osijek – dipl. ing. polj. meh.
2013.-Trenutno
Poslijediplomski doktorski studij,
Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Tehnički sustavi u poljoprivredi
Naknadno obrazovanje: 2005 - 2006. Ekonomski fakultet Osijek
Menadžment i financije
2003. - 2004. Kolumna, škola stranih jezika
Osposobljavanje za pilota bespilotnih letjelica 2020. Pri HACZ, C2
Informatika: MS office, Auto CAT, ARDU

RADNO ISKUSTVO

• **Progrid d.o.o. Vinkovci** – direktor, 2021.- trenutno
- djelatnost: prikupljanje prostornih podataka sustavom bespilotnih letjelica

• **Vibrobeton d.o.o. Jastrebarsko** – prokurist, vod. pod. Vinkovci 2011. – 2021.
- djelatnost proizvodnja i montaža armirano betonske konstrukcije

• **Koring d.o.o. Vinkovci** – direktor 2016. – 2021.
- djelatnost: ugostiteljstvo i proizvodnja tradicionalnih suhomesnatih proizvoda

• **Vibrobeton d.d. Vinkovci** – član uprave za logistiku i proizvodnju 2006. – 2011.
- djelatnost: izvođenje građevinskih radova,

proizvodnja armirano betonske konstrukcije

proizvodnja betonske galanterije

• **Konstrukcije d.o.o. Vinkovci** - direktor 2008. – 2010.

- djelatnost: proizvodnja armirano betonske

• **Euroasfalt d.o.o. Županja** - tehnički direktor 2004. – 2008.

- djelatnost. proizvodnja i ugradnja asfaltnih mješavina

• **Veko d.o.o. Vukovar** – direktor 2005.- 2008.

- djelatnost: cestovni prijevoz roba, izvođenje građevinskih radova, proizvodnja al i PVC stolarije, usluge održavanja strojeva i opreme

• **Vibrobeton d.d. Vinkovci** – voditelj sektora logistike 1995. - 2005.

- djelatnost: održavanje, mehanizacija, transport, skladištenje

POPIS RADOVA

1. Matošević, D., Kralik, D., Rapčan I., Jovičić, D. (2019.): Potencijal najčešćih plutajućih vodenih biljaka sliva rijeke Bosuta u proizvodnji bioplina, Krmiva 61, 2019., Zagreb, 2:57-63.
2. Matošević, D., Kralik, D., Rapčan I., Jovičić, D. (2019.): Utjecaj koncentracije digestata prilikom uzgoja na kvalitetu bioplina dobivenog anaerobnom digestacijom vodene leće *(Spirodela polyrhiza).* Poljoprivreda, Osijek, 25:2019 (2) 71-78.
3. Matošević, D., Kralik, D., Spajić, R., Jovičić, D. (2017.): Utjecaj osvjetljenja pri uzgoju vodene leće *(Spirodela polyrhiza)* na različitim koncentracijama digestata. Zbornik sažetaka 24. međunarodnog savjetovanja, Krmiva, Opatija, 2017., 106.-107.
4. Kovačić, Đ., Kralik, D., Matošević, D., Jovičić, D. (2015.): Mogućnosti korištenja biomase vodene leće *(Lemna minor)* u proizvodnji bioplina. Krmiva 2014., Zagreb, 57--62.
5. Matošević, D., Kralik, D., Rapčan, I., Popović, B., Jovičić, D. (2014.): Uzgoj vodene leće. Zbornik sažetaka 4. znanstveno–stručnog skupa „Okolišno prihvatljiva proizvodnja kvalitetne i sigurne hrane“, Osijek, 2014., 31-32.
6. Mihić, Đ., Kralik, D., Matošević, D., Jovičić, D. (2013): Korištenje biomase vodene leće *(Lemna minor)* uzgojene u ribnjaku za proizvodnju bioplina. Zbornik sažetaka 9. međunarodnog gospodarsko–znanstvenog skupa o ribarstvu „Hrvatska akvakultura u Europskoj uniji – sadašnjost i budućnost“, Vukovar, 2013., 25.