

»MLADI ZA NAPREDEK MARIBORA«

32. SREČANJE

Vpliv mineralnih voda na kalitev semen vrtne kreše (*Lepidium sativum*), vsebnost klorofila v javanskem mahu (*Taxiphyllum barbieri*) in rast gliv kvasovk (*Saccharomyces cerevisiae*)

BIOTEHNOLOGIJA, KMETIJSTVO, ŽIVILSTVO

Raziskovalna naloga

PROSTOR ZA NALEPKO

Avtor: ANA MARIJA OGRIZEK
Mentor: BERNARDA DEVETAK
Šola: II. GIMNAZIJA MARIBOR

Maribor, februar 2015

»MLADI ZA NAPREDEK MARIBORA«

32. SREČANJE

Vpliv mineralnih voda na kalitev semen vrtné kreše (*Lepidium sativum*), vsebnost klorofila v javanskem mahu (*Taxiphyllum barbieri*) in rast gliv kvasovk (*Saccharomyces cerevisiae*)

BIOTEHNOLOGIJA, KMETIJSTVO, ŽIVILSTVO

Raziskovalna naloga

PROSTOR ZA NALEPKO



Maribor, februar 2015

KAZALO VSEBINE

1	UVOD	1
2	TEORETIČNO OZADJE.....	3
2.1	Rogaška Slatina	3
2.2	Mineralna voda.....	4
2.2.1	Magnezij.....	4
2.2.2	Kalcij	5
2.2.3	Natrij in kalij	6
2.2.4	Vloga ostalih elementov	6
2.3	Donat Mg.....	7
2.4	Tempel.....	8
2.5	Mineralna voda iz Kraljevega vrelca.....	9
2.6	Fotosintetska barvila.....	10
2.7	Vrtna kreša (<i>Lepidium sativum</i>)	12
2.8	Javanski mah (<i>Taxiphyllum barbieri</i>).....	13
2.9	Glive kvasovke (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	14
3	LABORATORIJSKI EKSPERIMENTI	15
3.1	Lepidium test	15
3.1.1	Opis poskusa	15
3.1.2	Rezultati	17
3.2	Vpliv mineralnih vod na rast javanskega mahu (<i>Taxiphyllum barbieri</i>).....	22
3.2.1	Opis poskusa	22
3.2.2	Rezultati	23
3.3	Določanje vsebnosti klorofila v javanskem mahu (<i>Taxiphyllum barbieri</i>).....	25
3.3.1	Opis poskusa	25
3.3.2	Rezultati	28

3.4	Vpliv mineralnih voda na razmnoževanje gliv kvasovk (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) ...	30
3.4.1	Opis poskusa	30
3.4.2	Rezultati	32
4	RAZPRAVA	35
5	DRUŽBENA ODGOVORNOST.....	36
6	VIRI IN LITERATURA	37
6.1	Viri slik.....	39

KAZALO GRAFIKONOV

Grafikon 1:	Odvisnost uspešnosti kalitve semen vrtna kreše (<i>Lepidium sativum</i>) od vrste mineralne vode	19
Grafikon 2:	Odvisnost dolžine kalčkov semen vrtna kreše (<i>Lepidium sativum</i>) od vzorca vode	21
Grafikon 3:	Sprememba mase javanskega mahu (<i>Taxiphyllum barbieri</i>) v odvisnosti od mineralne vode	24
Grafikon 4:	Vsebnosti klorofila a in b pri različnih ekstraktih	29

KAZALO SLIK

Slika 1:	Legenda o nastanku vreleca Roitschocrene (<i>občina Rogaška Slatina, 2004</i>)	3
Slika 2:	Centralni položaj Mg ²⁺ v klorofilu a (<i>bio miami</i>)	5
Slika 3:	Donat Mg (<i>Slovenia terme</i>).....	8
Slika 4:	Kraljevi vrelec v Kostrivnici (<i>kraji</i>)	10
Slika 5:	Primerjava klorofila a in b (<i>gimvic, 2003</i>)	11
Slika 6:	Vrtna kreša (<i>Lepidium sativum</i>) (<i>Bakker</i>).....	12
Slika 7:	Javanski mah (<i>Taxiphyllum barbieri</i>) (<i>Aquaticplantcentral</i>)	13
Slika 8:	Kvasovke (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) (<i>wikipediija, 2013</i>)	14
Slika 9:	Optimalne koncentracije kationov, ki vplivajo na rast kvasovk (<i>Walker, 1996</i>).....	14
Slika 10:	Petrijevke na začetku eksperimenta	16

Slika 11: Kaleča semena v petrijevki z navadno vodo po 48 urah.....	17
Slika 12: Kaleča semena v petrijevki z mineralno vodo Tempel po 48 urah.....	17
Slika 13: Kaleča semena v petrijevki z vodo iz Kraljevega vrelnca po 48 urah	18
Slika 14: Kaleča semena vrtna kreše v petrijevki z Donatom Mg po 48 urah	18
Slika 15: Javanski mah po 14 dneh	23
Slika 16: Vzorci po centrifugiranju	27
Slika 17: Spektrofotometer ter program Logger Pro.....	27
Slika 18: Gojišče iz mineralne vode iz Kraljevega vrelnca po 4 dneh.....	32
Slika 19: Gojišče iz navadne vode po 4 dneh.....	32
Slika 20: Gojišče iz mineralne vode Tempel po 4 dneh.....	33
Slika 21: Gojišče iz mineralne vode Donat Mg po 4 dneh.....	33

KAZALO TABEL

Tabela 1: Značilne sestavine Donata Mg	7
Tabela 2: Glavne sestavine Tempela	9
Tabela 3: Glavne sestavine mg/L (ZZVM, 2011)	9
Tabela 4: Uspešnost kalitve vrtna kreše (<i>Lepidium sativum</i>).....	19
Tabela 5: Povprečne dolžine kalčkov semen vrtna kreše (<i>Lepidium sativum</i>)	20
Tabela 6: Spremembe mase javanskega mahu (<i>Taxiphyllum barbieri</i>) po 14 dneh	24
Tabela 14: Volumni ekstraktov po centrifugiranju	26
Tabela 15: Absorbanca ekstraktov pri valovni dolžini 470 nm	28
Tabela 16: Absorbanca ekstraktov pri valovni dolžini 645 nm	28
Tabela 17: Absorbanca ekstraktov pri valovni dolžini 662 nm	28
Tabela 18: Vsebnosti klorofila a in b pri različnih ekstraktih	29

POVZETEK

Mineralne vode vsebuje številne raztopljene mineralne snovi (na primer Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Cl^- , HCO_3^-). V raziskovalni nalogi smo hoteli ugotoviti ali imajo ugoden vpliv na kalitev semen vrtno kreše (*Lepidium sativum*), vsebnost klorofila v javanskem mahu (*Taxiphyllum barbieri*) ter rast pivske kvasovke (*Saccharomyces cerevisiae*). Uporabili smo mineralno vodo iz Kraljevega vrelca, Tempel ter Donat Mg, z magnezijem najbogatejšo naravno mineralno vodo v EU. Vse te vode imajo zelo različno sestavo. Kakor smo zasledili še ni bilo opravljen skoraj nobene podobne raziskave. Rezultati so nam pokazali, da mineralne vode na kalitev semen delujejo inhibicijsko, spodbujajo pa nastajanje klorofila a in b in rast kvasovk. S tem smo delno dokazali našo hipotezo, da imajo ugoden vpliv. Ker pa so bili rezultati najslabši pri mineralni vodi Donat Mg, lahko sklepamo tudi to, da prevelika količina mineralov deluje na obravnavane organizme zaviralno.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem svoji mentorici za njen čas, vso pomoč ter nasvete. Prav tako se zahvaljujem ostalem osebju naše šole, ki je pripomoglo k mojemu raziskovanju. Zahvala gre tudi šolski koordinatorici, za dobro obveščeno o poteku raziskovanja in objavo moje naloge.

Zahvalila bi se tudi Mariji Čakš, nekdanji predsednici krajevne skupnosti Kostivnica, za vse koristne podatke o Kraljevem vrelcu v Spodnji Kostivnici.

1 UVOD

Rogaška Slatina je zaslovela s svojimi zdravilišči, vinom, steklenimi izdelki in predvsem mineralnimi vodami. Donat Mg je z magnezijem najbogatejša voda v EU, saj ga vsebuje kar 1000 mg/L. Ni pa le samo mesto bogato z vodami, temveč tudi okolica. Samo na področju od Kostrivnice do Zgornjega Gabernika (2,5 km) je poznanih okoli 12 vrelecev. Nekateri izmed njih so odprti še danes, večina pa žal ne. Eni imajo zelo bogato zgodovino, iz Kraljevega vrelca so vodo v glinenih posodah izvažali že Rimljani in Kelti.

Dokazano je, da imajo te vode zaradi mineralov pozitiven vpliv na človeka oziroma na njegovo zdravje. Donat Mg se že dalj časa uporablja v terapevtske namene. Prav zaradi teh lastnosti in seveda zaradi zanimanja v naravno danost Rogaške Slatine sem se odločila, da bom preverila kakšen vpliv pa imajo mineralne vode na rastline in glive.

Uporabili bomo tri vrste mineralnih vod, in sicer Donat Mg, Tempel in mineralno vodo iz Kraljevega vrelca, ki se je že polovico stoletja ne polni več, ampak je voda za ljubitelje še vedno na voljo dvakrat na teden, ko je vrelcec odprt. Med seboj se razlikujejo po vsebnosti mineralov. Preverila bom njihov vpliv na kaljenje semen vrtna kreše (*Lepidium sativum*), vsebnost klorofila v javanskem mahu (*Taxiphyllum barbieri*) in rast pivske kvasovke (*Saccharomyces cerevisiae*).

Nisem zasledila, da bi bila na tem področju narejena kakšna podobna raziskava. Nekdo je le raziskoval kakšen vpliv ima mineralna voda, na rast rastline v lončku. Rast je bila počasna, na zemlji so se pojavili beli madeži, ki so predstavljali izločene minerale (The effects of mineral water on plants, 2013). V raziskavi ni bila podana vsebnost mineralov. Možno je, da je rastlini škodila prevelika koncentracija mineralov v vodi.

V nalogi sem si zastavila naslednje raziskovalno vprašanje:

Ali imajo mineralne vode ugoden vpliv na rast rastlin in gliv?

Predvidevam, da ga imajo. Vendar je možno, da lahko prevelika koncentracija katere snovi oziroma minerala na rastline deluje tudi neugodno.

Pri Donatu Mg je to nadpovprečno visoko vsebnost Mg^{2+} (1000 mg/L). Pri vodi iz Kraljevega vrelca pa bi lahko imela neugoden vpliv visoka vsebnost Fe^{2+} (2,0 mg/L) in Na^+ (1000 mg/L).

Tempel bi v nekaterih primerih utegnil delovati najboljše, saj vsebuje veliko različnih mineralov ampak v približno 10x manjših količinah kot Donat Mg. Vpliv posameznih vod na različne organizme bom preučila znotraj treh eksperimentov. Tako bom ugotovila katera voda ima pri posameznem poskusu najboljši vpliv.

2 TEORETIČNO OZADJE

V tem poglavju bom najprej na kratko opisala mesto Rogaška Slatina iz katerega seveda prihajajo vse v raziskavi uporabljene mineralne vode. Nato bom predstavila mineralne vode nasploh ter vpliv raznih kemijskih elementov v njih na delovanje organizmov. Na koncu bom še omenila sestavo, zdravilne lastnosti ter zgodovino vsake uporabljene mineralne vode posebej ter lastnosti vrtno kreše (*Lepidium sativum*), javanskega mahu (*Taxiphyllum barbieri*) in pivske kvasovke (*Saccharomyces cerevisiae*).

2.1 Rogaška Slatina

Rogaška Slatina je priljubljeno turistično mesto, znano po zdravilišču, mineralnih vodah, vinu ter proizvodnji kristalnih izdelkov. Leži v Spodnjem Obsotelju na severovzhodu Slovenije, v bližini meje s Republiko Hrvaško. Območje Rogaške Slatine je bilo poznano že v časih Rimljanov in Keltov (na to pričajo najdbe keltskih kovancev, bronaste igle). Slatinska mineralna voda je bila v virih prvič omenjena leta 1572, vendar je bila njena zdravilna moč znana že prej. Sčasoma se je povpraševanje po njej zelo povečalo, zato so jo začeli sistematično raziskovati ter polniti. Leta 1869 je bila rogaška mineralna voda tretja najbolj prodajana na svetu. Pomemben zgodovinski in kulturni simbol Rogaške Slatine je Pegaz, krilati konj Apolona, boga sonca in zdravilstva. Nastanek prvega vrelna si po mitologiji iz 17. stoletja razlagajo tako, da naj bi Apolon Pegazu naročil, naj na mesto, ki ga bo označilo nebeško znamenje, udari s kopitom. To se je tudi zgodilo in s tem je Pegaz odprl vrelca Roitschocrene.



Slika 1: Legenda o nastanku vrelna Roitschocrene (občina Rogaška Slatina, 2004)

»Tu, kjer stojiš, je vir zdravja in resnična božja moč. Namesto Hippocrene¹ pij Roitschocrene rogaški vrelec, ki je pred teboj«. (Vardjan F., 2004)

2.2 Mineralna voda

Mineralna voda je voda mineralnega izvora, ki vsebuje različne minerale (soli, sulfatne spojine). Zaradi svojih fizikalno-kemijskih lastnosti, na poteh v zemeljski notranjosti, intenzivno raztaplja kamnine. Tako nastajajo raztopine, ki se med seboj razlikujejo po količini in raznovrstnosti mineralnih snovi. Razlike so odvisne od podzemeljskega okolja, globine poti ter časa zadrževanja pod zemljo. Lahko je gazirana (s kemijsko reakcijo) ali pa negazirana (brez kemijske reakcije). Uporablja se za terme, javna kopališča ter za pitje. V sestavi prevladujejo kationi (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}), anioni (Cl^- , HCO_3^- , SO_4^{2-}) ter nekateri spremljevalni elementi (Sr^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , F^- , I^- , Br^- , SiO_3^{2-}). Neonesnaženost mineralnih voda je posledica velikih globin iz katerih prihajajo. Sestava, temperatura in druge pomembne lastnosti naravne mineralne vode so stalne oziroma v okviru naravnih nihanj. Naravna mineralna voda lahko ima prehranske in fiziološke učinke.

Kot vemo mineralne vode vsebujejo veliko raztopljenih mineralnih snovi. Majhne količine teh snovi so potrebne za rast večine celic. Ampak v primeru, da bi pa rastlino v lončku zalivali z mineralno vodo, bi to nanjo vplivalo negativno. Ker polpropustna membrana rastlinskih koreninskih celic lahko vsrkava le vodo ter minerale v omejenih količinah, bi le ti ostajali v zemlji. K dodatnem kopičenju pa bi še pripomogla evaporacija vode iz prsti. Takšne velike količine pa bi na rastlino začele delovati inhibicijsko, ker bi onemogočale prevzem vode. (povz. po The effects of mineral water on plants, 2013)

2.2.1 Magnezij

Magnezij (*magnesium*) je osmi najpogostejši kemični element in sestavlja okoli 2 % Zemljine skorje. Večinoma se pojavlja kot ion Mg^{2+} . Pojavlja se v vseh celicah, v vseh tipih organizmov. ATP (adenin trifosfat), glavni vir energije v celicah, je lahko biološko aktiven le, če je vezan na magnezijev ion. Ima pa tudi pomembno vlogo pri stabilnosti polifosfatnih spojin v celicah, vključno s tistimi, ki so povezane s sintezo DNA in RNA. Mg^{2+} je priznan kot signalni ion, ki aktivira ter tudi posreduje pri številnih biokemičnih reakcijah. Pomanjkanje magnezija lahko prizadene organizem, kar je še posebej opazno pri enoceličnih organizmih kot so bakterije in kvasovke, kjer se nizka raven magnezija kaže kot manjša rast

¹ Hippocrene je vrelec, ki ga je Pegaz odprl z udarcem v legendi iz grške mitologije.

celic. Za rastline je pomemben zaradi fotosinteze. Brez magnezija, ki ima centralni položaj na klorofilu, le-ta ne more vezati sončne energije. Biološke membrane so nepropustne za magnezij ter druge ione, tako da morajo za njihov transport v celico poskrbeti razni proteini. Njegovo pomanjkanje se kaže kot znižanje stopnje fotosinteze. Za celice je pa lahko tudi toksičen, če se pojavlja v prevelikih količinah, še posebej v sušnem obdobju. (povz. po Jahnen, Ketteler, 2012)

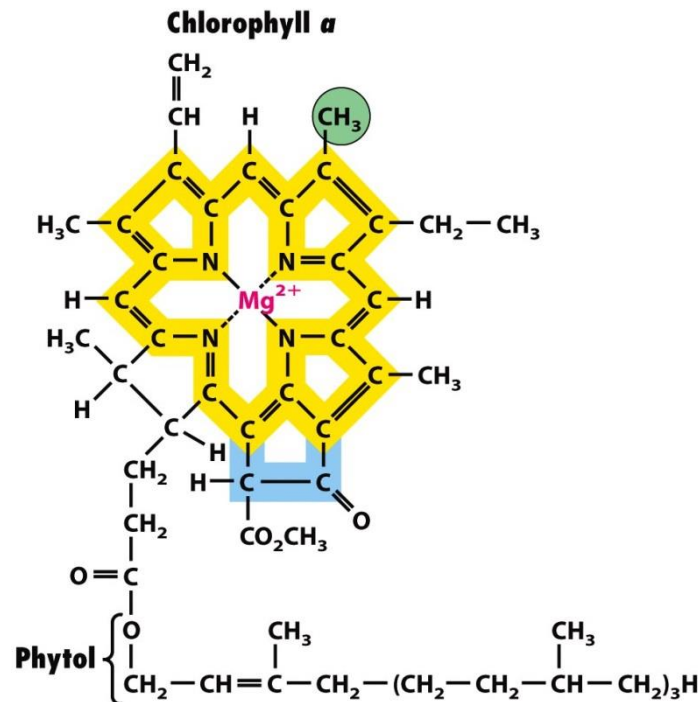


Figure 12-31
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Slika 2: Centralni položaj Mg^{2+} v klorofilu a (*bio miami*)

2.2.2 Kalcij

Kalcijevi ioni igrajo osrednjo vlogo v fiziologiji in biokemiji organizmov in celic. Imajo pomembno nalogo pri prenosu signalov, krčenju mišičnih celic ter oploditvi. Ca^{2+} je pomemben pri nastajanju delitvenega vretena. Brez njega torej sploh ne bi prišlo do mitotske delitve celic. Ca^{2+} ioni so bistvena sestavina rastlinskih celičnih sten in celičnih membran ter se uporabljajo kot kationi za uravnoteženje organskih anionov v vakuoli. Nujen je za stabilizacijo prepustnosti celične membrane. Presežek v prsti lahko privede do alkalnih pogojev ali visokega pH. Njegova toksičnost lahko povzroči blokiranje železa, kalija, magnezija, mangana, tako da rastlina posledično trpi za pomanjkanjem hranilnih snovi. (povz. po Bootman, Lipp, 2001)

Kalcijevi ioni imajo pri rasti kvasovk posebno vlogo. V raziskavi iz leta 1975 so dokazali, da Ca^{2+} spodbuja rast kvasovk. Ob dodatku 500 $\mu\text{g/ml}$ CaCl_2 je bila rast kvasovk skoraj za 3x večja kot v gojišču brez kalcija. (povz. po Lotan, 1976)

2.2.3 Natrij in kalij

Za rastline je natrij (Na^+) hranilo, ki pomaga pri regeneraciji fosfoenolpiruvata² in sintezi klorofila. Presežek natrija v prsti pa lahko omejuje privzem vode, kar pa lahko povzroči venenje rastline. Pri živalih Na^+ igra raznoliko in pomembno vlogo v mnogih fizioloških procesih. Je bistveno hranilo, ki uravnava količino krvi, krvni tlak, osmotsko ravnotežje in pH.

Kalij je po marsičem podoben natriju, le da se v celicah pojavlja v večjih količinah. Ima pomembno vlogo pri vzdrževanju normalnega volumna celice (vakuole), prenašanju živčnih signalov, vzdrževanju normalne polarnosti celic, prenosu hranil, aktivaciji encimov, sodeluje pa tudi pri krčenju mišic. Pomembno funkcijo ima tudi pri fotosintezi ter dihanju. V vseh živalskih celicah ter nekaterih rastlinskih poteka aktivni prenos (črpalka kalija in natrija). Transportni proteini izkoriščajo ATP, da prenesejo natrij iz celice proti koncentracijskem gradientu. Enako pa se na drugi strani dogaja aktivni prenos kalija v celico. (povz. po Pharmacorama, 2007)

2.2.4 Vloga ostalih elementov

Hidrogenkarbonat (HCO_3^-) – pomaga pri prebavi, ureja pH v želodcu in črevesju. Skupaj z $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ tvori soli. Pri segrevanju se izloči kot $\text{NaCO}_3/\text{Mg}(\text{CO}_3)_2/\text{Ca}(\text{CO}_3)_2$.

Železo (Fe^{2+}) - je del hemoglobina in ima zato pomembno vlogo pri prenašanju kisika, prisoten je tudi v nekaterih reakcijah, ki katalizirajo reakcije celične oksidacije. Veliko vlogo ima tudi pri sintezi klorofila.

Sulfat (SO_4^-) – ima vlogo pri sintezi proteinov (npr. keratina).

Klorid (Cl^-) – ima podobno vlogo kot Na^+ in K^+ .

²Fosfoenolpiruvat je vključen v biosintezi različnih aromatskih spojin in ogljikovih spojin.

2.3 Donat Mg

Donat Mg je naravna mineralna voda z veliko vsebnostjo magnezija, ki je bila naključno odkrita leta 1908. Med preurejanjem vrelnih zajetij sredi zdraviliškega parka, jih je presenetil vrelec visoko mineralizirane vode. Zaradi svoje posebnosti, so jo morali na novo poimenovati. Ime je dobila po bližnji Donački gori. Prepoznavni simbol Donata je grški bog Apolon.

Donat Mg se je v začetku stekleničil v veliki polnilnici v Rogaški Slatini, ki je bila zgrajena 1904. Danes to mineralno vodo v Rogaški Slatini polni DROGA KOLINSKA, d. d. (distributer za Slovenijo: Atlantic Trade d. o . o.).

Po sestavi je Donat Mg magnezijeva-natrijeva-hidrogenkarbonatna-sulfatna-kislina. Zanj je značilna izredno visoka mineralizacija, več kot 13 g raztopljenih rudninskih snovi v litru. Vrednost pH Donata Mg je 6,5.

Tabela 1: Značilne sestavine Donata Mg

SESTAVINE	VSEBNOST (mg/L)
Magnezij (Mg^{2+})	1000
Natrij (Na^+)	1700
Kalcij (Ca^{2+})	380
Hidrogenkarbonat (HCO_3^-)	7800
Sulfat (SO_4^{2-})	2100
Klorid (Cl^-)	75
Ogljikov dioksid (CO_2)	min. 3500

Donat Mg že več kot 100 let uporablja v terapevtske in preventivne namene pri naslednjih stanjih:

- **Zaprto** → Zaradi svoje hiperozmolarnosti je naravno ozmotsko odvajalo. Sulfatni ioni na podlagi osmoze iz celic črevesne stene odtegnejo vodo in volumen vsebine v črevesju se poveča. To povzroči pritisk na črevesno steno in izzove peristaltiko oziroma gibanje. Magnezij pa še samo dodatno draži črevesne hormone.

- **Zgaga** → Donat Mg ima sposobnost nevtralizirati kislino nastalo v želodcu (HCl in pepsin). To mu omogoča velika vsebnost hidrogenkarbonata, ki ima veliko sposobnost vezanja kislin.
- **Sladkorna bolezen** → Magnezij je pomemben za ravnovesje glukoze v telesu in ima vlogo sekundarnega prenašalca za učinkovitost inzulina. Zato je Donat Mg zelo priporočljiv tudi za diabetike.

Sam magnezij je eden najpomembnejših mineralov našega časa in zelo pomaga ohranjati zdravje. Priporočen dnevni odmerek za odrasle znaša 375 mg (3-4 dl Donata Mg). Nujno potreben je pri intenzivni rasti, nosečnosti ter dojenju. Prispeva k zmanjšanju utrujenosti, izčrpanosti, ravnovesju elektrolitov, sproščanju energije pri presnovi, k ohranjanju zdravih kosti ter zob in ima pomembno vlogo pri sintezi beljakovin in delitvi celic. (povz. po DonatMg)



Slika 3: Donat Mg (Slovenia terme)

2.4 Tempel

Tempel je najmineralizirana mineralna voda. Vrelec Tempel, imenovan tudi »Glavni vrelec« je bil znan že leta 1680. Ob njem je nastala najstarejša slatinska polnilnica. Leta 1884 so 35 metrov stran uredili nov studenec po imenu Styria. Oba sta usahnila leta 1952. Zdaj mineralno vodo Tempel polni DROGA KOLINSKA, d. d. (distributer za Slovenijo: Atlantic Trade d. o. o.).

Tabela 2: Glavne sestavine Templa

SESTAVINE	VSEBNOST (mg/L)
Magnezij (Mg^{2+})	100
Natrij (Na^+)	120
Kalcij (Ca^{2+})	95
Hidrogenkarbonat (HCO_3^-)	920
Sulfat (SO_4^{2-})	200
Ogljikov dioksid (CO_2)	min. 3500

2.5 Mineralna voda iz Kraljevega vreleca

Kraljevi vrelec je bil znan že v časih Keltov in Rimljanov. Leta 1857 ga je obnovil Ignac Novak. Ob obnovi so bili lastniki vreleca Gotscherji, ki so vodo v posebnih glinenih posodah prodajali v Egipt in okoliške lekarne kot zdravilno vodo. Zadnji lastniki so bili Kupnikovi. Nato je bil vrelec 35 let zaprt in ponovno obnovljen leta 2006. Kraljevi vrelec je globok 24 metrov, do globine 18 metrov je klesan v kamen. Za črpanje vode je vgrajena mehanska batna črpalka. Izvirna voda ima konstantno temperaturo 12°C. Prvo kemično analizo vode je leta 1870 naredil dr. J. Gottlieb in jo uvrstil med alkalne slatine. Ponovna analiza je bila narejena leta 2006 in kasneje leta 2011. Ugotovili so, da ima voda večinoma še vedno enake značilnosti kot jih je imela leta 1870. Ta mineralna voda spada v skupino mineralnih slatin z mineralizacijo okoli 9 g/L. Njen pH je 6,4. (povz. po Čakš, 2012)

Tabela 3: Glavne sestavine mg/L (ZZVM, 2011)

SESTAVINE	VSEBNOST (mg/L)
Magnezij (Mg^{2+})	110
Natrij (Na^+)	1000
Kalcij (Ca^{2+})	190
Hidrogenkarbonat (HCO_3^-)	4100
Sulfat (SO_4^{2-})	2,6
Železo (Fe^{2+})	2,0
Klorid (Cl^-)	39
Kalij (K^+)	22



Slika 4: Kraljevi vrelec v Kostrivnici (kraji)

2.6 Fotosintetska barvila

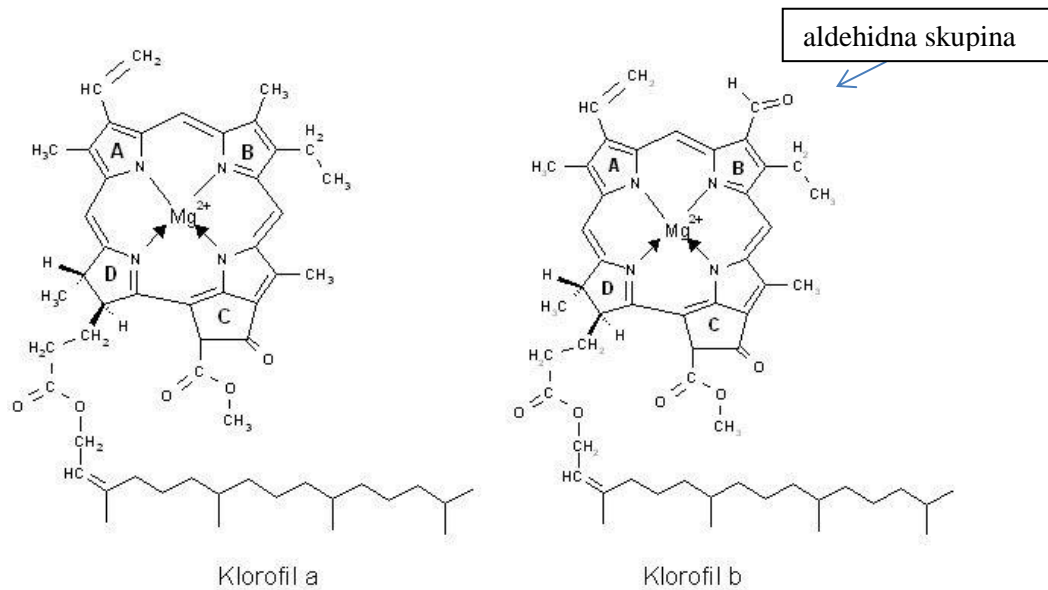
Klorofil je zeleno barvilo, zelo pomembno v procesu fotosinteze, kjer se ogljikov dioksid v zelenih tkivih s pomočjo svetlobe reducira do sladkorja, istočasno se pa voda v procesu fotolize oksidira in se sprosti molekula O_2 . Fotosinteza v rastlinah najbolje poteka pri pH 8, saj je le-ta najugodnejši pH za delovanje $RuBisCO^3$. Klorofil je zeleno barvilo večine rastlin, alg in nekaterih bakterij (modrozelenih cepljivk). Absorbira rdeči (550-700 nm) in modri (400-480 nm) del spektra, zelenega pa odbija, zaradi tega imajo rastline značilno zeleno barvo. Nahajajo se v notranjih membranah kloroplastov, kot del beljakovinskih kompleksov, ki jim pravimo fotosistemi. Ob ustrezni valovni dolžini se magnezijev ion vzbudi, odda elektron naslednji molekuli v fotosistemu, kjer se le-ta vključi v elektronsko transportno verigo. Tako se energija na koncu porabi za izgradnjo ATP. Vsi klorofili so zeleno barvilo, med seboj se razlikujejo le po malih odtenkih. Večinoma ni posebnih povezav med intenzivnostjo fotosinteze in vsebnostjo klorofila.

Klorofil a ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$) je modro-zeleno barvilo, ki se pojavlja v organizmih, ki izvajajo fotosintezo, predvsem v višjih rastlinah, zelenih ter rdečih algah. Najbolje se absorbira pri valovni dolžini 400-450 nm in 650-700 nm.

³ $RuBisCO$ – ribuloza-1,5-bifosfat karboksilaza je encim, ki je prisoten v prvem koraku ogljikove fiksacije.

Klorofil b ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$) je rumeno-zeleno barvilo, ki se pojavlja le v rastlinah in v zelenih algah. Dobro se absorbira pri valovni dolžini 450-500 nm in 600-650 nm. (povz. po Biology – online)

Med seboj se razlikujeta po funkcionalni/pripeti skupini. Klorofil a ima pripeto metilno ($-CH_3$) skupino, molekula klorofila b pa alhidno ($-CHO$) skupino. Klorofil a je zato zaradi manjše polarnosti kot klorofil b, bolje topen v nepolarnih topilih. (povz. po Projekti gimvic)



Slika 5: Primerjava klorofila a in b (gimvic, 2003)

2.7 Vrtna kreša (*Lepidium sativum*)

Vrtna kreša (*Lepidium sativum*) je rastlina, ki zelo hitro raste. Ni zahtevna, dobro lahko namreč uspeva v vsaki zemlji, lahko pa zraste tudi brez vode. Ker je visoko občutljiva za fitotoksične snovi, je primerna za biološke poskuse, kot so ocene stanja tal, vode in okolja. Izvira iz Male Azije, Mezopotamije in Perzije. Poznali so jo že stari Egipčani, v Evropo pa se je razširila z Grki in Rimljani. Vrtna kreša zraste od 30 do 60 cm visoko, njeni spodnji listi so rahlo nazobčani, drugače pa so listi močno deljeni in imajo obliko rozete. V socvetju so beli cvetovi iz štirih cvetnih listov. Rdečerjavo seme ob kaljenju izloča sluz, da se zaščiti pred izsušitvijo. Cveti od junija do julija, seme dozori do avgusta in obdrži kalivost od 3 do 5 let. Dobro raste pri temperaturi od 10 do 15°C. (povz. po Černe, 1996)



Slika 6: Vrtna kreša (*Lepidium sativum*) (Bakker)

2.8 Javanski mah (*Taxiphyllum barbieri*)

Javanski mah (*Taxiphyllum barbieri*) je vodna rastlina. Dolgo časa je bil poimenovan z napačnim imenom *Vesicularia dubyana*. Izvira iz jugovzhodne Azije, Indije in Filipinov. Je temno zelene barve, ob določenih pogojih ima tudi svetlo zelene, rjave in rdeče odtenke. Nima razvitih pravih korenin. Na nitkah ima polno majhnih listkov, ki mu dajejo videz mahov. Zelo hitro raste in ni zahteven za vzdrževanje. Lahko raste v vodi, na kopnem ali pa delno v vodi ter delno na kopnem. V vodi je značilne zelene barve, na kopnem pa se pogosto pojavlja v rjavih in rdečih barva. Tudi osvetlitev vpliva na njegovo barvo, pri šibki osvetlitvi je namreč barva mahu temno zelena, lahko pa se pojavijo tudi odtenki rjave barve. V višino zraste do 10 cm, v širino pa je njegova rast neomejena. Primeren pH za njegovo rast je od 5 – 9.

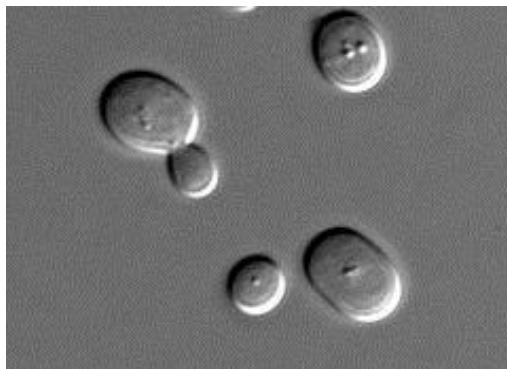
Sistematika: Plantae (Haeckel, 1866 – rastline) - Viridaeplantae (Cavalier-Smith, 1981 – zelene rastline) - Bryophyta (A. Braun in Ascherson, 1860 – mahovi) - Musci (Linnaeus, 1753; Cavalier-Smith, 1998) - Bryatae (Cavalier-Smith, 1998) - Bryopsida (pravi mahovi) – Hypnales – Hypnaceae – *Taxiphyllum* - *barbieri* (Cardot & Coppey in Coppey; Iwatsuki, 1982). (povz. po aquanubis, 2007)



Slika 7: Javanski mah (*Taxiphyllum barbieri*) (*Aquaticplantcentral*)

2.9 Glive kvasovke (*Saccharomyces cerevisiae*)

Glive kvasovke spadajo v kraljestvo gliv. Zelo hitro rastejo, zato so primerne za razne poskuse. Poznane so bile že v času Egipčanov, kjer so sodelovali pri izdelavi piva, kruha... So enocelični organizmi, ki se lahko združujejo v večje enote. Velike so do nekaj 10 mikrometrov. Zmožne so anaerobne in aerobne rasti. Pri anaerobnih pogojih lahko oksidirajo sladkorje in jih pretvorijo v etanol in ogljikov dioksid.



Slika 8: Kvasovke (*Saccharomyces cerevisiae*) (wikipedija, 2013)

Pomembno vlogo pri rasti kvasovk imajo minerali. Podobno kot pri drugih celicah, delovanje celice ne bi potekalo brez makroelementov magnezija in kalija. Mikroelementi, kot so Ca, Fe, Ni, Ag, Li itd., ki se v celici pojavijo v večji koncentraciji kot 100 Mm, pa na kvasovke delujejo toksično. (povz. po Walker, 1996)

Table 3.3. Optimum concentrations of cations stimulating yeast growth.

Cation	Concentration
H ⁺	1.0 μM (pH 6.0)
K ⁺	2-4 mM
Mg ²⁺	2-4 mM
Mn ²⁺	2-4 μM
Ca ²⁺	< μM
Cu ²⁺	1.5 μM
Fe ²⁺	1-3 μM
Zn ²⁺	4-8 μM
Ni ²⁺	10-90 μM
Mo ²⁺	1.5 μM
Co ²⁺	0.1 μM
B ⁺	0.4 μM

Slika 9: Optimalne koncentracije kationov, ki vplivajo na rast kvasovk (Walker, 1996)

Za primerjavo bi bila po preračunih optimalna vsebnost Mg²⁺ približno 0,04 mg/L, Fe²⁺ 0,056 mg/L, Ca²⁺ pa 0,08 mg/L.

3 LABORATORIJSKI EKSPERIMENTI

3.1 Lepidium test

Pri tem eksperimentu smo raziskali vpliv različnih vzorcev mineralnih vod (Tempel, Donat Mg, mineralna voda iz Kraljevega vrelnca) na kalitev semen vrtna kreše (*Lepidium sativum*).

Po zbiranju literature ter pred izvedbo tega eksperimenta sem si zastavila naslednjo raziskovalno vprašanje:

Kako različni vzorci mineralnih vod vplivajo na kalitev semen vrtna kreše?

Hipoteza: Kalitev semen vrtna kreše bo najuspešnejša pri vzorcu mineralne vode Tempel.

Odvisna spremenljivka: učinkovitost kalitve semen vrtna kreše (*Lepidium sativum*)

Neodvisna spremenljivka: vrsta mineralne vode

Kontrolirane spremenljivke: čas (48 ur)

Nekontrolirane spremenljivke: tlak, osvetljenost

3.1.1 Opis poskusa

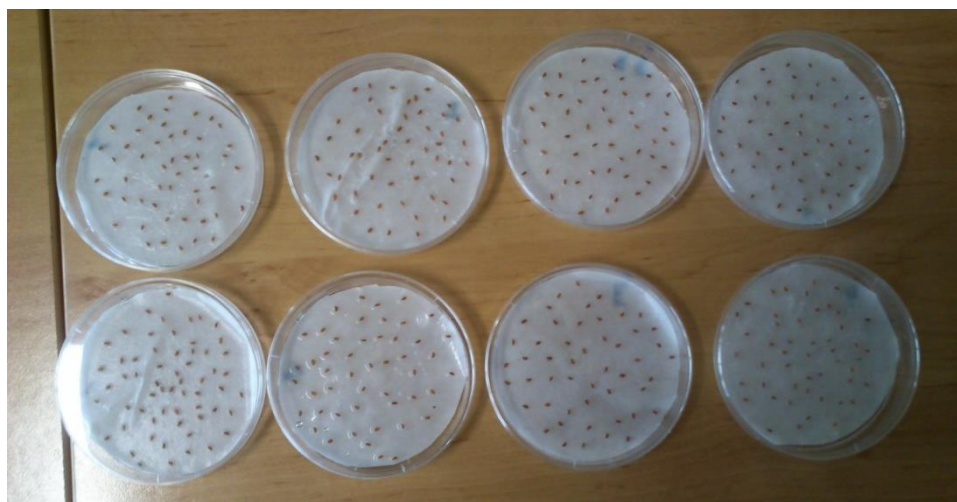
V poskusu je bil uporabljen naslednji material:

- 8 petrijevk,
- semena vrtna kreše,
- filtrirni papir,
- kapalke,
- navadna voda,
- mineralna voda Donat,
- mineralna voda Tempel,
- mineralna voda iz Kraljevega vrelnca,
- milimetrski merilni papir ($\pm 0,5$ mm).

Štiri petrijevke smo označili s številkami 1, 2, 3 in 4. V petrijevko s številko 1 smo dali filtrirni papir, nanj s kapalko nanesti 2 ml mineralne vode iz Kraljevega vrelnca ter po njem

enakomerno razporedili 50 semen vrtno kreše. Postopek je bil nato enak, le da smo v petrijevko s številko 2 dali mineralno vodo Tempel, v naslednjo s številko 3 mineralno vodo Donat Mg v zadnjo s številko 4 pa navadno vodo.

Ves da postopek smo nato še enkrat ponovili, tako da smo imeli na koncu pripravljene po dve petrijevke z enako vsebino. Petrijevki s številko 4 sta služili za kontrolna vzorca.



Slika 10: Petrijevke na začetku eksperimenta

Vseh 8 petrijevok smo nato hranili na istem mestu 48 ur. Po tem času smo s pomočjo milimetrskega papirja ($\pm 0,05$ mm) izmerili dolžino kalčkov semen ter jih zapisali v tabelo.

Čez 14 dni smo skoraj enak poskus ponovili še enkrat. Edina razlika je bila to, da smo mineralno vodo Donat zaradi velike vsebnosti Mg (1000 mg/L) razredčili na 90 %. Razlike so bile majhne.

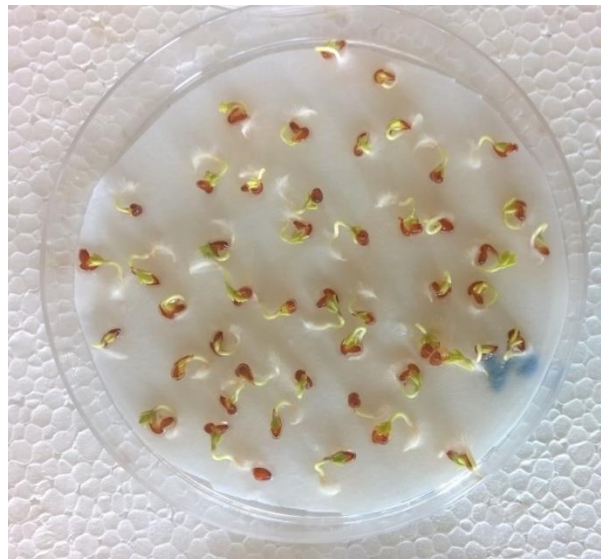
3.1.2 Rezultati

Vidno je, da so vsa semena, ki so rasla na navadni vodi vzknila. So svetle barve, kalčki pa so rahlo porasli z dlačicami, kar jih verjetno ščiti pred mrazom. Povprečne dolžine kalčkov po obeh ponovitvah je bilo $15,61 \pm 0,05$ mm.



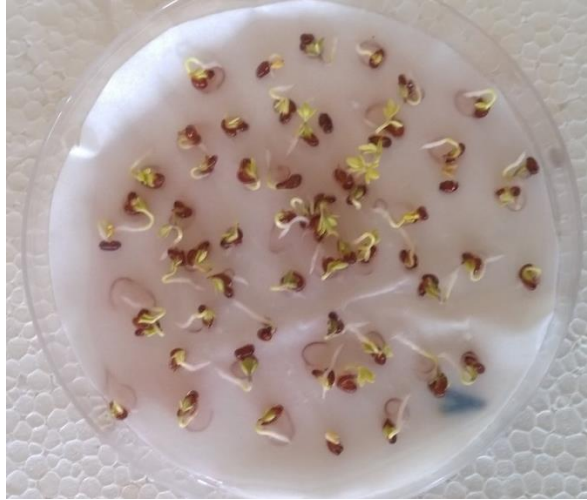
Slika 11: Kaleča semena v petrijevki z navadno vodo po 48 urah

Vzknila so skoraj vsa semena, vizualno so podobna tistim pri navadni vodi. Malo so temnejša, krajša, ampak še bolj porasla z dlačicami. Njihova povprečna dolžina je bila $12,75 \pm 0,05$ mm.



Slika 12: Kaleča semena v petrijevki z mineralno vodo Tempel po 48 urah

Povprečno nista vzkli 2 semeni. Vsa so potemnela, pojavili so se tudi temnorjavi madeži okoli njih, ki so posledica večje količine železa (po podatkih iz analize leta 2011 2 mg/L). Povprečna dolžina semen je bila $7,44 \pm 0,05$ mm.



Slika 13: Kaleča semena v petrijevki z vodo iz Kraljevega vrelca po 48 urah

V tem vzorcu je bilo tudi največ nevzklitih semen, pri prvi ponovitvi kar 32 v eni petrijevki in 30 v drugi, pri drugi ponovitvi pa 24 v petrijevki 1, 25 pa v petrijevki 2. Najslabše uspevanje semen v Donatu Mg je verjetno posledico izjemno visoke vsebnosti mineralov v tej mineralni vodi. Vemo pa, da lahko ogromna količina neke snovi deluje na tako majhne strukture toksično. Semena so postala temno rjava (tako kot pri prejšnji). Povprečna dolžina kalčkov je bila le $3,25 \pm 0,05$ mm.



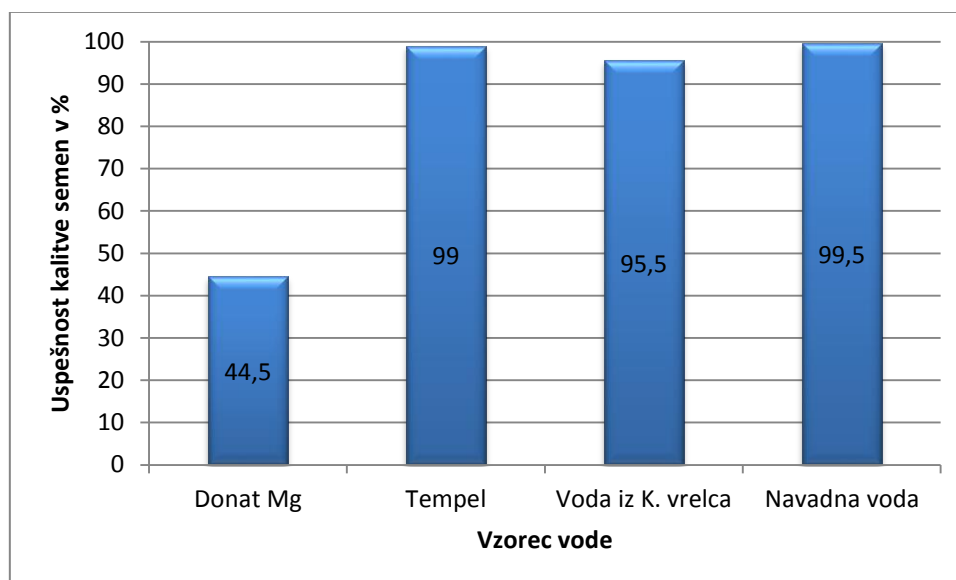
Slika 14: Kaleča semena vrtna kreše v petrijevki z Donatom Mg po 48 urah

Kalitev je bila najbolj uspešna v navadni vodi, skoraj 100 %. Najslabša, le 45,5 % pa je bila v Donatu Mg. Podatke lahko najdete v sledeči tabeli.

Tabela 4: Uspešnost kalitve vrtna kreše (*Lepidium sativum*)

Vzorec vode	DONAT Mg				TEMPEL				VODA IZ KRALJEVEGA VRELCA				NAVADNA VODA			
	1		2		1		2		1		2		1		2	
Ponovitev	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Petrijevka	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Število nevezklitih semen	32	30	24	25	1	1	0	0	1	1	2	5	2	0	0	0
Število vezklitih semen	18	20	26	25	49	49	50	50	49	49	48	45	48	50	50	50
Uspešnost kalitve v %	44,5				99				95,5				99,5			

Grafikon 1: Odvisnost uspešnosti kalitve semen vrtna kreše (*Lepidium sativum*) od vrste mineralne vode



Najdaljši kalčki so zrastle v petrijevkah z navadno vodo, torej v kontrolnih petrijevkah. Med mineralnimi vodami, pa so semena najboljše klila v Templu, skoraj za polovico slabše v petrijevki z vodo iz Kraljevega vrelnca, najslabše pa v Donatu Mg. Najslabša kalitev je posledica prevelike vsebnosti mineralnih snovi Donata Mg.

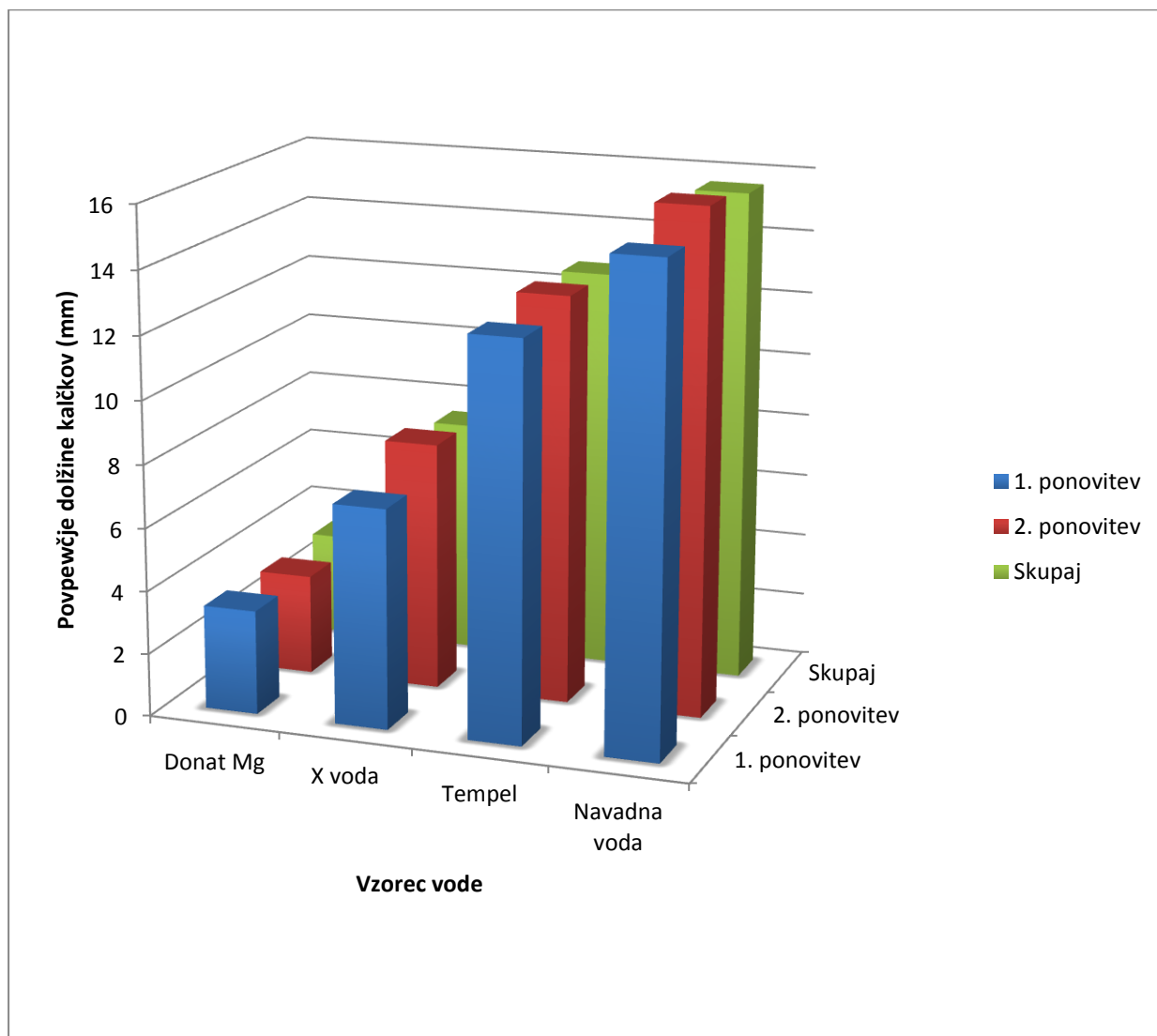
Rezultati so potrdili našo hipotezo, saj je bila kalitev najuspešnejša v mineralni vodi Tempel. Ta namreč vsebuje veliko različnih mineralnih snovi, vendar ne v tako veliki količini, kot preostali dve mineralni vodi. Kljub temu pa je bilo razvidno, da mineralne vode zavirajo kalitev.

V tej tabeli so prikazane le povprečne vrednosti dolžine kalčkov, vse meritve pa lahko najdete pod prilogami 1, 2, 3 in 4.

Tabela 5: Povprečne dolžine kalčkov semen vrtno kreše (*Lepidium sativum*)

Vzorec vode	DONAT Mg		TEMPEL		VODA IZ KRALJEVEGA VRELCA		NAVADNA VODA	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Petrijevka	1	2	1	2	1	2	1	2
Povprečje dolžine kalčkov semen vrtno kreše (mm, ± 0,05 mm)	3,31	3,18	12,56	12,94	6,98	7,89	15,24	15,97
Povprečje po obeh ponovitvah (mm, ± 0,05 mm)	3,25		12,75		7,44		15,61	

Grafikon 2: Odvisnost dolžine kalčkov semen vrtnice (*Lepidium sativum*) od vzorca vode



3.2 Vpliv mineralnih vod na rast javanskega mahu (*Taxiphyllum barbieri*)

Pri tem eksperimentu smo raziskali vpliv različnih vzorcev mineralnih voda na spremembo mase javanskega mahu, ki je 14 dni rasel v njih (*Taxiphyllum barbieri*).

Po zbiranju literature ter pred izvedbo tega eksperimenta sem si zastavila naslednjo **raziskovalno vprašanje**:

Kako različne mineralne vode vplivajo na spremembo mase javanskega mahu?

Hipoteza: Sprememba mase bo največja pri javanskem mahu, ki bo rasel v mineralni vodi Donat Mg.

Odvisna spremenljivka: masa javanskega mahu

Neodvisna spremenljivka: vrsta mineralne vode

Kontrolirane spremenljivke: čas, volumen vode

Nekontrolirane spremenljivke: tlak, osvetljenost

3.2.1 Opis poskusa

V poskusu je bil uporabljen naslednji material:

- 8 erlenmajeric,
- javanski mah ($8 \times 2 \pm 0,01$ g),
- navadna voda (kontrolni vzorec),
- mineralna voda Donat Mg,
- mineralna voda Tempel,
- mineralna voda iz Kraljevega vrelnca,
- elektronska tehtnica,
- petrijevka.

Erlenmajerice smo najprej oštevilčili. Pripravili smo po dve erlenmajerici z enako vsebino. V prve dve smo nalili 200 ml mineralne vode Tempel, v druge dve 200 ml Donata Mg, v tretji dve 200 ml vode iz Kraljevega vrelnca ter v zadnji dve po 200 ml navadne vode (kontrolna vzorca). Nato smo v vsako dali 2 g javanskega mahu, ki smo ga odtehtali z elektronsko

tehtnico. Na koncu smo jih pokrili s gazo, da bi preprečili preveliko izhlapevanje. Po 14 dneh (pri enakih pogojih – temperatura, svetlost,...) smo ponovno stehali javanski mah.

3.2.2 Rezultati

Po 14 dneh je bilo opaznih že kar nekaj sprememb. Na spodnji sliki lahko vidimo, da je v skrajno levi erlenmajerici (voda Donat Mg) mah porjavel ter da se je izločilo ogromno magnezijevega hidrogenkarbonata ($Mg(CO_3)_2$). Tudi v drugi (z leve strani) je opazna sprememba barve iz zelene na rjavo ter bela oborina, verjetno $NaCO_3$, saj v mineralni vodi iz Kraljevega vrelnca prednjačijo natrijevi kationi (Na^+). V preostalih dveh (Tempel ter navadna voda) pa je mah večinoma ohranil svojo barvo.



Slika 15: Javanski mah po 14 dneh

Razlika po 14 dneh se je pojavila tudi v masi. Sprememba mase je bila največja pri mineralni vodi Tempel, povečala se je v povprečju kar za $1,875 \pm 0,01$ g. Najmanjša pa je bila pri navadni vodi, kjer se je povečala le za $0,67 \pm 0,01$ g. Rezultati so prikazani v spodnji preglednici.

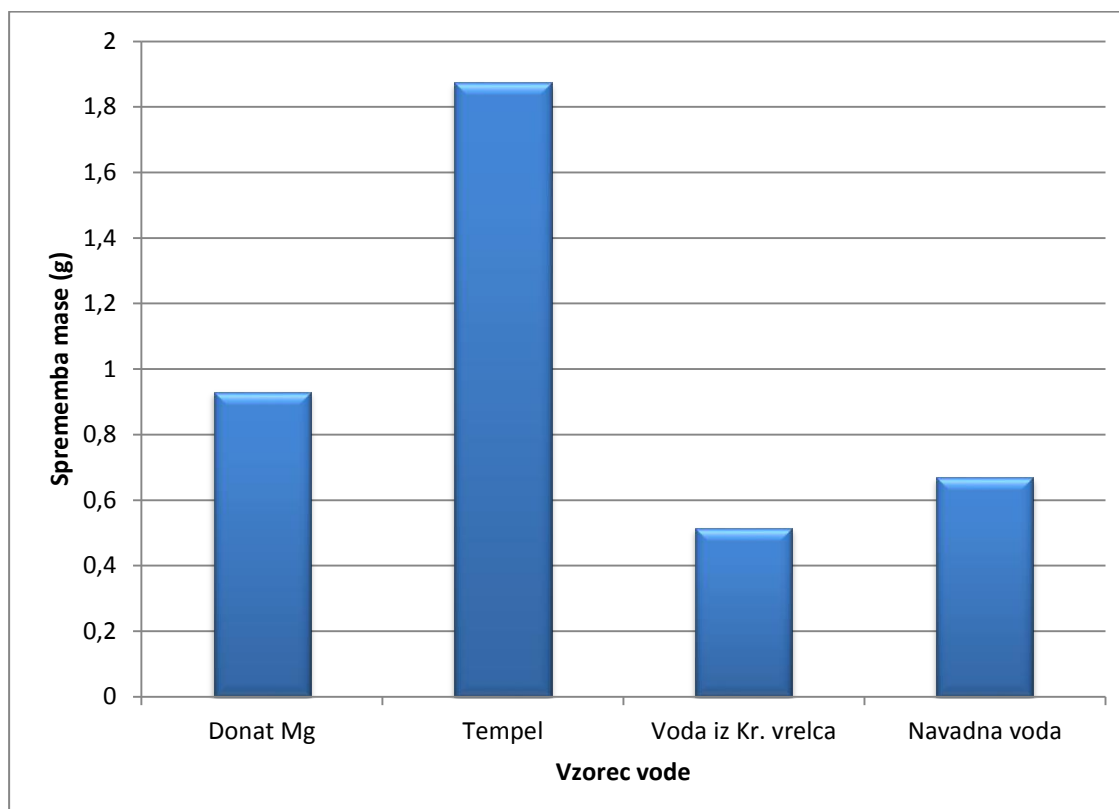
Dobljeni rezultati so zavrnilo našo hipotezo, da se bo največja sprememba mase javanskega mahu (*Taxiphyllum barbieri*) pojavila pri mineralni vodi Donat Mg. Na to smo sklepali zato, ker ima Mg^{2+} bistveno vlogo pri fotosintezi, je centralni atom klorofila. Drugače povedano fotosinteza ne more potekati ob njegovem pomanjkanju. Ampak sprememba mase je bila največja pri mineralni vodi Tempel. Ti rezultati bi lahko bili posledica napak pri merjenju,

nekontroliranih spremenljivk (osvetljenost) ali poškodovanosti mahu. Najverjetnejša razlaga pa je, da je rast ovirala velika vsebnost Mg^{2+} v Donatu Mg (1000 mg/L).

Tabela 6: Spremembe mase javanskega mahu (*Taxiphyllum barbieri*) po 14 dneh

	Donat Mg		Tempel		Voda iz kraljevega vrelnca		Navadna voda	
Δ mase javanskega mahu (g) \pm 0,01	1,01	0,85	1,90	1,85	0,62	0,41	0,63	0,71
Povprečje (g) \pm 0,01	0,93		1,875		0,515		0,67	

Grafikon 3: Sprememba mase javanskega mahu (*Taxiphyllum barbieri*) v odvisnosti od mineralne vode



3.3 Določanje vsebnosti klorofila v javanskem mahu (*Taxiphyllum barbieri*)

Pri tem eksperimentu smo raziskali vpliv različnih vzorcev mineralnih vod na vsebnost klorofila v javanskem mahu (*Taxiphyllum barbieri*). Uporabili smo metodo Lichtenhalerja in Buschmanna iz leta 2001. S pomočjo spektrofotometra ter programa Logger Pro smo izmerili absorbanco ekstraktov pri različnih valovnih dolžinah ter na podlagi pridobljenih podatkov izračunali vsebnost klorofila a in klorofila b.

Po zbiranju literature ter pred izvedbo tega eksperimenta sem si zastavila naslednjo **raziskovalno vprašanje:**

Kako različne mineralne vode vplivajo na vsebnost fotosintetskih barvil v javanskem mahu?

Hipoteza: Največ klorofila bo prisotnega v javanskem mahu iz mineralne vode iz Kraljevega vrelnca.

Odvisna spremenljivka: vsebnost fotosintetskih barvil

Neodvisna spremenljivka: vrsta mineralne vode

Kontrolirane spremenljivke: volumen ekstrakta, svetloba

Nekontrolirane spremenljivke: tlak, temperatura

3.3.1 Opis poskusa

V poskusu je bil uporabljen naslednji material:

- Javanski mah iz vseh štirih vod,
- petrijevka,
- elektronska tehtnica,
- terilnica s pestilom,
- 4 x 8 ml 100 % acetona,
- pipeta,
- čaša,
- 4 epruvete za centrifugiranje,
- centrifuga,
- spektrofotometer (Spectrovis Plus),

- programska oprema Logger Pro,
- kivete,
- merilni valj.

$$kl_a = \frac{c_a \cdot V}{m} = \frac{(11,24 A_{662} - 2,04 A_{645}) \cdot V}{m} \quad (1)$$

$$kl_b = \frac{c_b \cdot V}{m} = \frac{(20,13 A_{645} - 4,19 A_{662}) \cdot V}{m} \quad (2)$$

c_a = koncentracija klorofila a

c_b = koncentracija klorofila b

A = absorbanca pri izbrani valovni dolžini

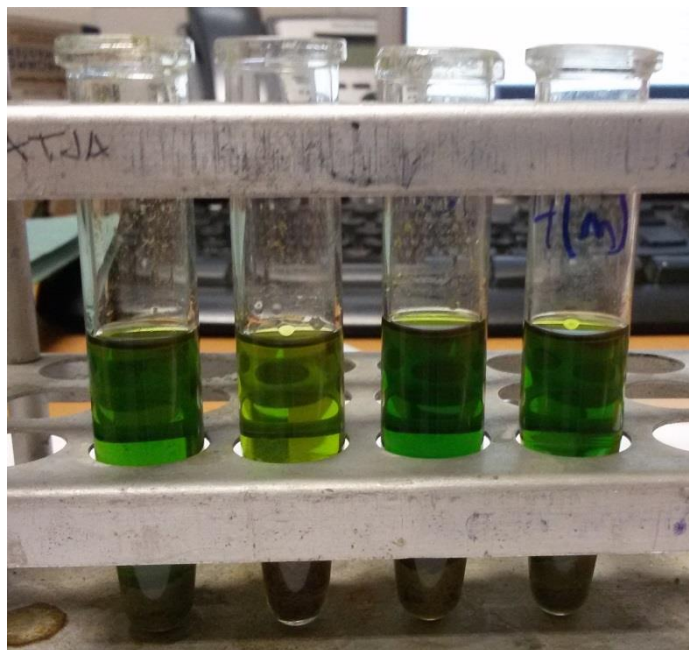
V = volumen ekstrakcijskega medija (mL)

m = masa vzorca (g)

Pripravili smo 4 ekstrakte iz javanskega mahu (uporabljen je bil mah iz eksperimenta 2.2). Postopek je bil za vse enak, razlika je bila edino v okoliščinah rasti javanskega mahu (rastli so v Donatu Mg, Templu, mineralni vodi iz kraljevega vrelnca ter navadni vodi). Najprej smo na elektronski tehtnici odtehtali 1 g izbranega javanskega mahu. Vzorec smo nato strelili v terilnici, nanj odpipetirali 8 ml 100 % acetona ter še nekaj časa mešali. Prelili smo ga v epruveto za centrifugiranje. Enako smo naredili še za preostale tri vzorce. Vse 4 ekstrakte smo nato centrifugirali pri 4000 rpm in 4°C. Nato smo izmerili volumen vzorcev.

Tabela 7: Volumni ekstraktov po centrifugiranju

Vrsta ekstrakta	Tempel	Donat	Voda iz Kr. vrelnca	Navadna voda
Volumen (ml)	5,3	4,7	5,3	5,0



Slika 16: Vzorci po centrifugiranju

Nato smo s spektrofotometrom izmerili absorbanco ekstraktov pri valovnih dolžinah 470 nm, 645 nm in 662 nm. Iz pridobljenih podatkov smo nato iz zgoraj napisanih enačb izračunali vsebnost klorofila a ter klorofila b.



Slika 17: Spektrofotometer ter program Logger Pro

3.3.2 Rezultati

Pri valovni dolžini 470 nm je bila največja absorbcija pri ekstraktu mahu iz mineralne vode iz Kraljevega vrelnca, najnižja pa pri Donatu Mg.

Tabela 8: Absorbanca ekstraktov pri valovni dolžini 470 nm

Vrsta vode	Tempel	Donat	Voda iz Kr. Vrelnca	Navadna voda
Absorbanca	1,834	1,530	1,924	1,869

Pri naslednjih dveh tabelah je razvidno, da so absorbcije primerljive s tabelo 15. V obeh je leta najvišja pri ekstraktu mineralne vode iz Kraljevega vrelnca in najnižje pri Donatu Mg.

Tabela 9: Absorbanca ekstraktov pri valovni dolžini 645 nm

Vrsta vode	Tempel	Donat	Voda iz Kr. vrelnca	Navadna voda
Absorbanca	1,862	1,158	2,006	1,915

Tabela 10: Absorbanca ekstraktov pri valovni dolžini 662 nm

Vrsta vode	Tempel	Donat	Voda iz Kr. vrelnca	Navadna voda
Absorbanca	1,866	1,602	1,920	1,890

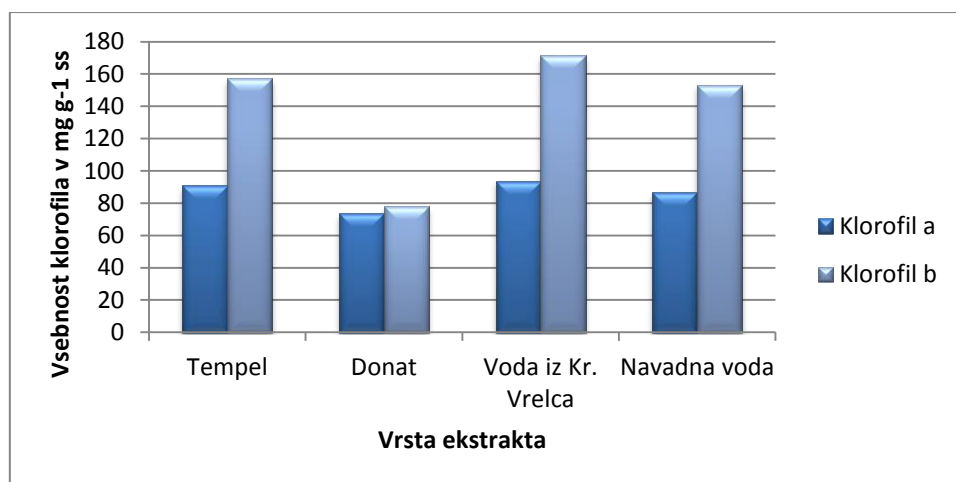
Iz pridobljenih podatkov smo nato po enačbah (poglavje 3.3.1) izračunali vsebnost klorofila a in klorofila b. Največ obeh vrst klorofilov vsebuje ekstrakt mahu iz mineralne vode iz Kraljevega vrelnca, najmanj pa ekstrakt iz Donata Mg. Iz tabele je razvidno tudi, da je bistveno več klorofila b kot klorofila a. kar pa je nepričakovano, saj naj bi bilo več klorofila a kot b. Mogoče je to zaradi tega, ker je javanski mah v tem primeru vodna rastlina.

Rezultati predstavljeni v spodnji tabeli ter grafikonu so potrdili našo hipotezo, da bo največ klorofila prisotnega v javanskem mahu iz mineralne vode iz Kraljevega vrelnca.

Tabela 11: Vsebnosti klorofila a in b pri različnih ekstraktih

Vrsta ekstrakta	Tempel	Donat	Voda iz Kr. vrelnca	Navadna voda
Klorofil a [mg g ⁻¹ ss]	91,03	73,53	93,62	86,69
Klorofil b [mg g ⁻¹ ss]	157,22	78	171,38	153,15

Grafikon 4: Vsebnosti klorofila a in b pri različnih ekstraktih



3.4 Vpliv mineralnih voda na razmnoževanje gliv kvasovk (*Saccharomyces cerevisiae*)

Pri tem eksperimentu smo raziskali vpliv različnih vzorcev mineralnih voda na razmnoževanje gliv kvasovk na trdem gojišču.

Po zbiranju literature ter pred izvedbo tega eksperimenta sem si zastavila naslednjo **raziskovalno vprašanje:**

Kako mineralne vode vplivajo na razmnoževanje kvasovk?

Hipoteza: Mineralne vode ugodno vplivajo na razmnoževanje kvasovk.

Odvisna spremenljivka: število kolonij

Neodvisna spremenljivka: vrsta mineralne vode

Kontrolirane spremenljivke: čas, gojišče, gliva

Nekontrolirane spremenljivke: tlak

3.4.1 Opis poskusa

V poskusu je bil uporabljen naslednji material:

- 4 čaše,
- kvasni ekstrakt,
- pepton,
- glukoza (Wasserfrei),
- agar,
- navadna voda,
- Donat Mg,
- mineralna voda Tempel,
- mineralna voda iz Kraljevega vrelca,
- grelnik vode,
- elektronska tehtnica,
- žlička,
- steklena palčka,

- 250 ml vode,
- 0,2 g kvasovk,
- avtomatska pipeta 10 – 100 μL ,
- stresalnik,
- 8 petrijevok,
- gorilnik,
- spatula Drigalski (hokejka).

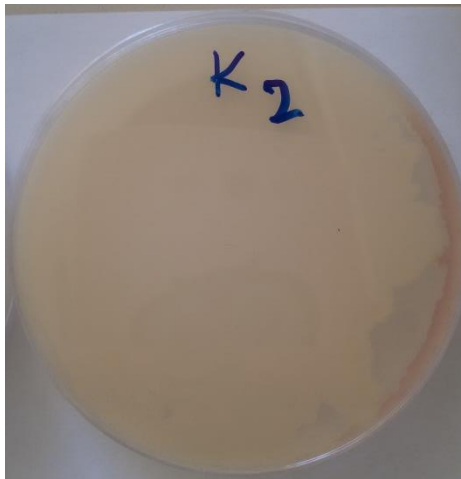
Najprej smo pripravili 4 različna gojišča za kvasovke. Ta so se med seboj razlikovala le v eni komponenti, in sicer v mineralnih vodah (v vsakem gojišču je bilo 50 ml druge vode). Drugače pa smo za posamezno gojišče potrebovali 0,25 g peptona, 0,25 g kvasnega ekstrakta, 1,25 g agarja in 0,5 g glukoze. Vsebino smo v čašah zavreli s pomočjo grelnika in občasno mešali s stekleno palčko. Vsebino ene čaše smo nato sterilizirali v avtoklavu in porazdelili v dve petrijevke. Na koncu smo imeli pripravljenih osem petrijevok. Pustili smo jih, da se je gojišče strdilo.

Nato smo pripravili tekočo glivno kulturo in sicer tako, da smo v 250 ml vode vmešali 0,2 g kvasa. To kulturo smo nato razredčili. V 5 malih epruвет smo nalili 9 mL fiziološke raztopine. V prvo epruветo smo prenesli 1 mL prej pripravljene kulture ter dobro pretresli s stresalnikom. Tako smo dobili koncentracijo 10^{-1} . Iz te epruветe smo nato prenesli 1 mL v naslednjo epruветo ter spet pretresli (dobili smo koncentracijo 10^{-2}). Postopek smo ponovili še 3x, tako da smo na koncu dosegli redčitev 10^{-5} . Po 100 μL smo s spatulo razmazali po trdem gojišču štirih petrijevok. V druge štiri pa smo razmazali po 100 μL nerazredčene kulture.

3.4.2 Rezultati

Po štirih dneh rasti smo ugotovili, da so se kvasovke tako zelo razrastle, da ne bo možno prešteti števila kolonij. Opazne pa so bile kar velike razlike med posameznimi gojišči. Podala bom samo rezultate tistih vzorcev, pri katerih je bila uporabljena nerazredčena kultura. Razlike so bile namreč pri tej bolj izrazite.

Rast je bila najuspešnejša v gojišču iz mineralne vode iz Kraljevega vrelca. Vidimo lahko, da je skoraj celotna površina agarja porasla s kvasovkami. Ob desnem robu je opazen tudi rdeč madež, ki je posledica velike vsebnosti železa (2 mg/L). Sklepamo lahko, da je imelo le-to dober vpliv na rast kvasovk.



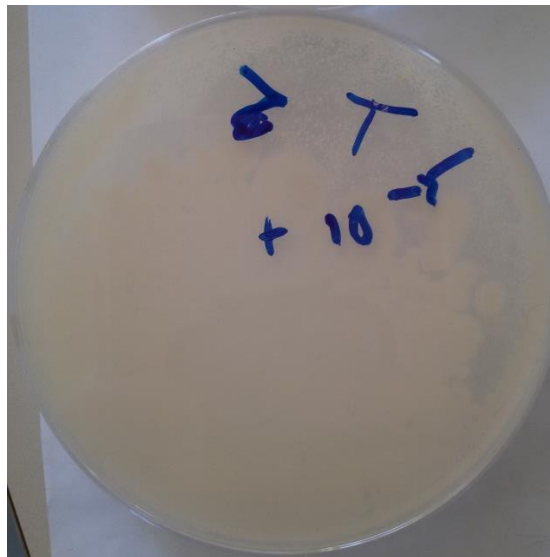
Slika 18: Gojišče iz mineralne vode iz Kraljevega vrelca po 4 dneh

Nato se je največ kvasovk razvilo na navadnem gojišču. Vidimo pa lahko, da kvasovke niso tako zelo goste kot pri prejšnjem.



Slika 19: Gojišče iz navadne vode po 4 dneh

Nekoliko manj kvasovk se je razvilo na gojišču iz mineralne vode Tempel. Na spodnji strani so kvasovke zelo goste, na zgornji pa jih marsikje ni (pikice od zgoraj so posledice ogljikovega dioksida).



Slika 20: Gojišče iz mineralne vode Tempel po 4 dneh

Najmanj kvasovk pa se je razvilo na gojišču, pripravljenem iz mineralne vode Donat Mg. Zgostitev kolonij lahko vidimo le na desni strani.



Slika 21: Gojišče iz mineralne vode Donat Mg po 4 dneh

Lestvica uspešnosti razvoja kvasovk na gojišču iz posamezne mineralne vode:

1. mineralna voda iz Kraljevega vrelnca
2. navadna voda
3. Tempel
4. Donat Mg

Pri tem poskusu smo preverjali kakšen vpliv imajo mineralne vode na razmnoževanje kvasovk. Predpostavljali smo, da imajo ugoden vpliv. Tudi naši rezultati so potrdili to hipotezo. Pri vodi iz Kraljevega vrelnca je bila gostota kvasovk celo večja kot pri navadni vodi. tudi pri Tempelu se je razvilo ogromno kvasovk. Edino pri gojišču iz mineralne vode Donat Mg rast ni bila uspešna, kar pa je mogoče posledica nenatančne izvedbe poskusa, oziroma še bolj verjetno nadpovprečno velike vsebnosti Mg^{2+} (1000 mg/L).

4 RAZPRAVA

S temi raziskavami smo potrdili hipotezo, da imajo mineralne vode dokaj ugoden vpliv na rastline in glive kvasovke. Pri vseh eksperimentih se ni namreč izkazalo, da so mineralne vode, še posebej Donat Mg najboljša rešitev.

Kalitev semen vrtno kreše je bila najuspešnejša pri navadni vodi, najslabša pa pri Donatu Mg. Kalitev pri Templu je bila za malenkost slabša kot pri navadni vodi. Iz tega lahko sklepamo, da je mineralna sestava mineralnih voda zavirala kalitev vrtno kreše (*Lepidium sativum*). Več mineralnih snovi je voda vsebovala, tem slabša je bila kalitev. Ta poskus je ovrgel mojo hipotezo in potrdil dejstvo, da preveč mineralnih snovi zavira kalitev semen. Možno pa je tudi to, da je na kalitev vplival rahlo kisel pH vod in velika vsebnost CO₂.

Pri naslednjem poskusu je bila rast javanskega mahu (*Taxiphyllum barbieri*) najuspešnejša v mineralni vodi Tempel. Predvidevala sem, da bo v Donatu Mg, ampak se moja hipoteza žal ni potrdila. Najverjetneje je, da je rast spet zavirala prevelika količina Mg²⁺. Opazno pa je bilo tudi, da je javanski mah v Donatu Mg spremenil barvo na rjavo. Na podlagi tega sem nato postavila hipotezo za naslednji poskus.

Vsebnost klorofila a in b v javanskem mahu smo določili po enačbah Lichtenhalerja in Buschmanna. Največ klorofila je bilo prisotnega v mahu iz mineralne vode iz Kraljevega vrelca, ta pa vsebuje magnezij in železo, ki imata velik pomen pri nastajanju klorofila. S tem smo potrdili našo hipotezo, da bo največ klorofila prisotnega ravno v tej vodi.

Pri zadnjem poskusu smo preverjali kakšen vpliv imajo mineralne vode na rast gliv kvasovk (*Saccharomyces cerevisiae*). Celoten eksperiment ni potekal tako, kot sem si sprva zamislila, saj po štirih dneh na gojišču ni bilo posameznih kolonij, ampak so se kvasovke razrasle skoraj po celotni površini. Pri ponovni izvedbi takšnega poskusa bi bilo potrebno uporabiti manjšo koncentracijo kvasne kulture in gojišča preveriti prej kot po štirih dneh. Potrdili smo hipotezo, da bodo mineralne vode ugodno vplivale na rast kvasovk. Najugodnejši vpliv je imela voda iz Kraljevega vrelca, najslabšega oziroma zaviralnega pa Donat Mg .

Po teh posameznih poskusih lahko vidimo, da so mineralne vode, razen Donata Mg v večini imele ugoden vpliv. S tem lahko potrdimo našo hipotezo in podkrepimo dejstvo, da prevelika koncentracija mineralov škodi. Raziskave so pokazale, da bi lahko mineralno vodo, ki bi jo redčili z navadno vodo, uporabili za gojenje hidroponik in tako prihranili stroške za minerale, ki jih potrebujejo za gojenje hidroponik.

5 DRUŽBENA ODGOVORNOST

V mojem raziskovanju sem uporabila načela družbene odgovornosti. Dela sem se lotila resno, zaupala sem ljudem, ki so mi bili pripravljeni pomagati. To sta bili predvsem moja mentorica in avtorica knjige *Kostrivnica skozi čas*. Vsi podatki v tej raziskovalni nalogi so prikazani jasno in v celoti. Pridobljeni podatki, da mineralne vode zaviralno vplivajo na kalitev semen vrtno kreše ne pomenijo, da imajo mineralne vode neugoden vpliv na vse organizme. Dokazano je namreč, da na človeško telo delujejo dobro, predvsem Donat Mg. Ugotovitev, da bi lahko te mineralne vode uporabili za gojenje hidroponik, bi imela velik doprinos tudi k družbi. S tem bi se namreč prihranili stroški za minerali, ki se potrebujejo za gojenje. To bi pa bilo v času sedanje krize vsekakor koristno.

6 VIRI IN LITERATURA

- AQUANUBIS. *Javanski mah*. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <<http://www.aquanubis.com/forum/rastline/javanski-mah-t2521.html>>. [8. 1. 2015, 22:22].
- BIOLOGY – ONLINE. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://www.biology-online.org/dictionary/Chlorophyll_a>. [citirano 19. 1. 2015, 21:40].
- BOOTMAN, M., LIPP, P. 2001. *Calcium Signalling and Regulation of Cell Function*. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/celular/programacell_arquivos/Calcium%20Signalling%20and%20regulation%20of%20cell%20function.pdf>. [citirano 5. 1. 2015, 21:06].
- ČAKŠ, M. *Kostrivnica skozi čas*. Podplat: samozal. M. Čakš, 2012.
- ČERNE, M. Vrtna kreša. *Naša žena*. 1996, številka 1.
- DAMON A., MCGONEGAL R., TOSTO P., WARD W. *Biology : higher level (plus standard level options) : developed specifically for the IB diploma*. Harlow : Pearson, 2009.
- DONATMG. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <<http://www.donatmg.eu/sl>>. [citirano 26. 12. 2014, 18:24].
- FIJALKOWSKI K., JANECKAB. 2008. *Using Lepidium as a Test of Phytotoxicity from Lead/Zinc Spoils and Soil Conditioners*. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4020-8257-3_14>. [citirano 7. 1. 2015, 21:05].
- JAHNEN, W., KETTELER, M. 2012. *Magnesium basics*. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://ckj.oxfordjournals.org/content/5/Suppl_1/i3.full#xref-ref-3-1>. [citirano 7. 1. 2015, 17:01].
- JERŠE, K. *Vsebnost klorofila v listih koruze (Zea mays L.) nekaterih novih LJ – Križancev*. Ljubljana, 2012. Dostopno na URL naslovu: <http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dv1_jerse_katarina.pdf>. [citirano 1. 2. 2015, 15:09].

LEBOEUF, N. *The effects of mineral water on plants*. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <<http://www.gardenguides.com/101273-effects-mineral-water-plants.html>>. [citirano 5. 1. 2015, 20:12].

LOTAN R., BERDICEVSKY I., MERZBACH D., GROSSOWICZ N. *Effect of calcium ions on growth and metabolism of saccharomyces*. Journal of general microbiology. 1976. Str 76-80.

N.P.O. Green, G.W. Stout, D.J. Taylor. *Biological science. 1, Organisms, energy and environment*. Cambridge University Press, 1988.

PHARMACORAMA. *Potassium – biological functions*. 2007. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <<http://www.pharmacorama.com/en/Sections/Potassium-2.php>>. [citirano 31. 1. 2015, 15.01].

PROJEKTI GIMVIC. [Online]. *Klorofil a in b*. Dostopno na URL naslovu: <<http://projekti.gimvic.org/2003/2c/jesenskolistje/klor%20a.html>>. [citirano 19. 1. 2015, 21:58].

WALKER G. M.. *Yeast : Psysiology and biotechnology*. 1996, England.

WIKIPEDIJA. *Saccharomyces cerevisiae*. 2013. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://sl.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae>. [citirano 2. 2. 2015, 18:08].

ZAVOD ZA ZDRAVSTVENO VARSTVO MARIBOR. *Poročilo o meritvah na terenu*. Maribor, 2011.

6.1 Viri slik

AQUATICPLANTCENTRAL. *Javanski mah*. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <<http://www.aquaticplantcentral.com/forumapc/plantfinder/images/Hypnaceae/Javamoss.jpg>> . [citirano 29. 1. 2015, 20:19].

BAKKER. *Vrtna kreša*. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://www.bakker.si/is-bin/intershop.static/WFS/org-19si-Site/org/sl_SI/XL/15344.jpg>. [citirano 7. 1. 2015, 21:10].

BIO MIAMI. *Klorofil a*. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <<http://www.bio.miami.edu/tom/courses/protected/MCB6/ch12/12-31.jpg>>. [citirano 26. 1. 2015, 19:39].

GIMVIC. *Klorofil a in b*. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <<http://projekti.gimvic.org/2003/2c/jesenskolistje/.KATI4.jpg>>. [citirano 19. 1. 2015, 22:06].

KRAJI. *Kraljevi vrelec*. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <http://kraji.eu/PICTURES/korosko_savinjska/rogaska_slatina_z_okolico/kraljevi_vrelec/DSC_4159_kraljevi_vrelec.jpg>. [citirano 26. 12. 2014, 19:01].

OBČINA ROGAŠKA SLATINA. 2004. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <https://encrypted-tbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcTyna5fnmT5hCM2og-RcUcWoOfI_XbhIhRfTcBpKWEhnPWf4nJkEw>. [citirano 26. 12. 2014, 16:11].

SLOVENIA-TERME. *Donat Mg*. [Online]. Dostopno na URL naslovu: <<http://slovenia-terme.ru/image/Rogaska/DONAT.png>>. [citirano 26. 12. 2014, 18:45]

0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0

PRILOGA 2: Dolžine kalčkov semen pri navadni vodi

Dolžina kalčkov semen vrtna kreše [mm ± 0,05]			
1. PONOVI TEV		2. PONOVI TEV	
0	18	15	19
0	16	21	16
20	11	20	20
18	9	22	19
20	11	14	21
14	17	18	15
14	16	17	16
17	18	16	15
11	16	22	16
12	12	13	17
12	14	19	21
18	18	18	20
15	19	18	18
20	16	20	16
14	17	20	15
16	15	17	19
17	21	11	16
16	14	13	21
15	18	18	17
15	16	20	15
15	11	12	12
14	15	19	13
15	17	12	9
14	20	17	16

16	17	20	15
16	16	16	11
12	13	15	17
15	15	17	21
11	20	18	17
12	18	15	16
16	18	15	14
15	15	17	21
13	17	16	18
16	17	19	13
12	18	9	19
18	12	6	15
15	16	18	8
13	18	19	15
13	21	15	6
12	16	18	20
16	15	14	18
6	16	8	14
15	18	6	15
14	18	20	7
7	15	11	8
17	15	18	16
17	16	19	10
15	10	20	16
11	18	18	13
12	15	21	12

PRILOGA 3: Dolžine kalčkov semen pri vodi iz Kraljevega vrelca

Dolžina kalčkov semen vrtno kreše [mm ± 0,05]			
1. PONOVI TEV		2. PONOVI TEV	
0	0	0	0
5	8	0	0
6	9	9	0
7	8	11	0
8	7	8	0
8	10	11	10
9	11	9	10
9	6	6	9
5	9	10	11
7	6	6	6
7	7	7	7

8	8	8	7
6	6	11	8
7	6	9	10
6	10	9	9
7	5	11	11
6	10	10	10
10	8	7	8
7	6	11	6
10	7	5	7
8	7	7	10
6	6	8	11
6	8	8	6
9	8	7	11
8	10	10	8
7	8	11	9
8	6	9	10
5	7	6	10
6	6	7	8
8	7	11	9
7	6	9	6
5	7	9	8
7	7	8	7
5	8	7	5
7	6	8	8
7	5	6	7
9	7	8	9
5	8	3	10
5	10	5	7
7	6	6	9
5	5	8	7
6	8	3	9
7	10	5	4
4	9	6	3
5	7	6	2
3	9	7	6
6	6	8	8
6	7	10	7
4	5	5	6
6	3	8	8

PRILOGA 4: Dolžine kalčkov semen pri Templu

Dolžina kalčkov semen vrtno kreše [mm ± 0,05]			
1. PONOVI TEV		2. PONOVI TEV	
0	8	18	20
16	9	15	17
19	10	14	16
16	11	15	6
14	13	14	9
12	14	17	18
18	10	15	17
12	14	14	15
11	11	13	10
14	14	10	20
13	8	8	17
9	15	15	16
14	14	10	7
13	13	14	18
15	16	17	11
12	15	14	15
15	13	13	17
10	13	5	20
12	12	15	15
15	9	16	14
14	10	12	12
15	8	15	11
13	7	13	17
12	10	15	16
10	13	18	12
15	12	5	14
7	10	6	16
14	9	9	12
18	10	7	18
15	12	6	10
13	11	8	9
15	10	14	8
10	15	13	9
11	13	8	14
13	14	18	4
9	13	11	20
8	14	4	18
17	12	15	12
13	16	12	3

17	14	13	16
9	15	15	14
13	13	17	14
15	17	7	16
11	15	8	14
9	10	10	8
10	12	6	17
5	15	8	15
9	16	15	10
16	13	18	12
13	0	14	13