

ŠOLSKI CENTER VELENJE
GIMNAZIJA
Trg mladosti 3, 3320 Velenje

MLADI RAZISKOVALCI ZA RAZVOJ ŠALEŠKE DOLINE

RAZISKOVALNA NALOGA

**OKOLJU PRIJAZNA PROIZVODNJA TOBAKA IN NJEGOVA
TOKSIČNOST ZA ORGANIZEM DAPHNIA MAGNA**

Tematsko področje: EKOLOGIJA Z VARSTVOM OKOLJA

Avtor:
Vid Delopst, 4. letnik

Mentorica:
dr. Nataša Kopušar, univ. dipl. inž. agr.

Velenje, 2013

Raziskovalna naloga je bila opravljena na Gimnaziji Velenje in na inštitutu za ekološke raziskave ERICo.

Mentorica: dr. Nataša Kopusar, univ. dipl. inž. agr.

Datum predstavitve:

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD ŠCV, Gimnazija, šolsko leto 2012/2013
- KG tobak / *Nicotiana tabacum* / okolju prijazna proizvodnja / toksičnost / vodna bolha / *Daphnia magna*
- AV DELOPST, Vid
- SA KOPUŠAR, Nataša
- KZ 3320 Velenje, SLO, Trg Mladosti 3
- ZA ŠCV, Gimnazija
- LI 2013
- IN **OKOLJU PRIJAZNA PROIZVODNJA TOBAKA IN NJEGOVA TOKSIČNOST ZA ORGANIZEM DAPHNIA MAGNA.**
- TD RAZISKOVALNA NALOGA
- OP VII, 42 str., 8 tab., 5 graf., 28 sl., 4 pril., 16 vir.
- IJ SL
- JI sl / en

AI Tobak je v nekaj desetletjih zasvojil precejšen del družbe, posledice so grozljive tako na področju zdravja ljudi kot tudi onesnaževanja okolja. Poleg tobaka lahko v tobačnih izdelkih najdemo še več sto drugih kemičnih snovi. Vnos teh kemikalij se začne že pri sami vzgoji rastlin z različnimi umetnimi gnojili in pesticidi in se nadaljuje v predelavi tobačnih listov. Za potrebe raziskovalne naloge smo na domačem vrtu vzgojili 30 rastlin tobaka vrste *Nicotiana tabacum*, ki se v industriji uporablja za izdelavo tobačnih izdelkov. Ko so rastline dozorele, smo liste posušil in jih fermentiral v fermentatorju domače izdelave. Ugotovitve kažejo, da je v Sloveniji mogoče pridelati in predelati tobak brez uporabe aditivov, ki vplivajo na končni produkt. Drugi del raziskovanja je bil osredotočen predvsem na primerjavo toksičnosti vodne raztopine tobaka, ki ima nizko vsebnost nikotina in je dostopen v maloprodaji ter toksičnosti tobaka, proizvedenega brez mineralnih gnojil, pesticidov in aditivov. Primerjava toksičnosti tobaka je bila izvedena z ugotavljanjem vpliva na smrtnost vodnih bolh *Daphnia magna*. Rezultati kažejo, da je okolju prijazen proizveden tobak, v splošnem manj strupen za vodne bolhe kot kupljen ter industrijsko proizveden West One tobak. Ker tobačni izdelki še vedno dominirajo na svetovnem trgu, naraščajoče povpraševanje pomeni tudi večjo uporabo umetnih gnojil in pesticidov pri pridelavi rastlin tobaka in aditivov v predelavi, ki posredno in neposredno vplivajo na zdravje ljudi in tudi na okolje. Sonaravna proizvodnja tobaka bi lahko pomenila velik korak k izboljšanju obstoječih razmer.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND SCV, High school, school year 2012/2013

CX tobacco / *Nicotiana tabacum* / environmentally friendly production / toxicity /
freshwater flea / *Daphnia magna*

AU DELOPST, Vid

AA KOPUŠAR, Nataša

PP 3320 Velenje, SLO, Trg mladosti 3

PB SCV, High School

PY 2013

TI **ENVIRONMENTALLY FRIENDLY PRODUCTION OF TOBACCO AND ITS
TOXICITY FOR THE ORGANISM DAPHNIA MAGNA.**

DT RESEARCH WORK

NO VII, 42 p., 8 tab., 5 graf., 28 fig., 4 ann., 16 ref.

LA SL

AL sl / en

AB Tobacco has in the last few decades addicted a significant part of society. The consequences are horrifying in terms of public health as well as environmental pollution. In addition to tobacco, hundreds of other chemical substances can be found in tobacco products. These chemicals, are being integrated into the tobacco plants from the beginning of growth through different fertilizers and pesticides, and continue during the processing phase of tobacco leaves. For the purposes of the research, we have used 30 home-grown plants of *Nicotiana tabacum*, which is used in industry for the manufacture of tobacco products. The leaves of the mature plants were dried first and then fermented in a home-made fermentor. The findings show that tobacco can be produced and processed in Slovenia without the use of additives that affect the quality of the final product. The second part of the research was mainly focused on comparing the toxicity of aqueous solutions of tobacco with a low content of nicotine and is available in retail, and the toxicity of tobacco manufactured without chemical fertilizers, pesticides and additives. The toxicity of these two types of tobacco was determined by the comparison of the impact of the two types of water solution on the mortality rate of water fleas *Daphnia magna*. The results show that the tobacco grown on environmentally-friendly way is in general less toxic to water fleas than the purchased industrially manufactured tobacco. The brand used for comparison was West One. Because tobacco products still dominate the global market, the increasing demand also means the increased use of artificial fertilizers and pesticides in cultivation and additives in processing phase of the tobacco. This directly and indirectly affects human health and the environment. Environmentally-friendly production of tobacco could be a major step towards improving the current situation.

KAZALO

1	UVOD	8
1.1	Cilji.....	8
1.2	Hipotezi.....	8
2	PREGLED OBJAV	9
2.1	Kaj je tobak?.....	9
2.1.1	Nikotin.....	10
2.2	Pridelava tobaka.....	11
2.2.1	Vzgoja sadik.....	11
2.2.2	Presajanje sadik na prosto.....	11
2.2.3	Obrezovanje in obiranje.....	12
2.3	Predelava tobačnih listov.....	13
2.3.1	Sušenje tobačnih listov.....	13
2.3.2	Fermentacija.....	15
2.4	Ekološka problematika proizvodnje tobaka.....	16
2.5	Ekološka pridelava.....	17
2.6	Daphnia magna.....	17
3	MATERIAL IN METODE	19
3.1	Vzreja sadik tobaka in presajanje na prosto.....	19
3.2	Obiranje in sušenje listov tobaka.....	20
3.3	Izdelava fermentatorja.....	22
3.4	Fermentacija in shranjevanje tobaka.....	25
3.5	Test strupenosti z vodnimi bolhami D. magna.....	26
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	28
4.1	Proizvodnja OPP tobaka.....	28
4.1.1	Temperatura v času rasti rastlin tobaka.....	28
4.1.2	Temperatura in vlaga v času sušenja tobačnih listov.....	29
4.1.3	Temperatura in vlaga v času fermentacije.....	29
4.2	Rezultati meritev strupenosti.....	30
4.2.1	Meritev strupenosti WEST One tobaka.....	30
4.2.2	Meritev strupenosti okolju prijazno proizvedenega tobaka.....	31
4.2.3	Vrednost LC ₅₀	32
4.3	Razprava.....	33
5	ZAKLJUČEK	36
6	POVZETEK	37
7	ZAHVALA	38
8	PRILOGE	39
9	LITERATURA IN VIRI	41
9.1	Viri slik in grafov.....	42

KAZALO SLIK

Slika 1: <i>Nicotiana tabacum</i>	9
Slika 2: Vzgoja sadik tobaka	11
Slika 3: Zračno sušenje	13
Slika 4: Sušenje nad ognjem	14
Slika 5: Sušenje z vročim zrakom	14
Slika 6: Sušilni skedenj.....	14
Slika 7: Floris sušilnega skednja	14
Slika 8: Sušenje na soncu	15
Slika 9: Fermentacija z metodo "stacking"	16
Slika 10: Fermentator.....	16
Slika 11: Notranjost fermentatorja	16
Slika 12: Vodna bolha (<i>Daphnia magna</i>)	18
Slika 13: Sadika tobaka pred presaditvijo na prosto.	20
Slika 14: Cvet tobaka vrste <i>Nicotiana tabacum</i>	20
Slika 15: Levo sušenje spodnjih, desno sušenje zgornjih in srednjih listov	21
Slika 16: Posušeni listi tobaka.....	21
Slika 17: Vzdolžni prerez fermentatorja (shema).....	22
Slika 18: Notranjost fermentatorja	23
Slika 19: Pokrov fermentatorja (spodnji del)	23
Slika 20: Pokrov fermentatorja (zgornji del).....	24
Slika 21: Lesena mreža za podporo listov	24
Slika 22: Test avtomatskega uravnavanja temperature (levo možnost nadzora vlage).....	25
Slika 23: Odstranjevanje osrednje žile lista tobaka.....	25
Slika 24: Rezanje tobačnih listov	26
Slika 25: OPP tobak v plastičnih vrečkah	26
Slika 26: Količina nikotina v WO tobaku	26
Slika 27: Merilni valji z vodnimi raztopinami tobaka.....	27
Slika 28: OPP tobak, semena tobaka in WO tobak	36

KAZALO TABEL

Tabela 1: Razmerje raztopine tobaka in razredčevalne vode	27
Tabela 2: Časovni pregled proizvodnje OPP tobaka.....	28
Tabela 3: Rezultati meritev strupenosti WO tobaka 1. paralelka.....	30
Tabela 4: Rezultati meritev strupenosti WO tobaka 2. paralelka.....	30
Tabela 5: Rezultati kontrolne meritve 1	30
Tabela 6: Rezultati meritev strupenosti OPP tobaka 1. paralelka	31
Tabela 7: Rezultati meritev strupenosti WO tobaka 2. paralelka.....	31
Tabela 8: Rezultati kontrolne meritve 2	31

KAZALO GRAFOV

Graf 1: Graf dnevni temperatur v času rasti rastlin tobaka na prostem.....	28
Graf 2: Graf dnevni temperatur v času sušenja tobačnih listov	29
Graf 3: Graf relativne vlage v času sušenja tobačnih listov	29
Graf 4: Delež mrtvih <i>D. magna</i> (OPP tobak)	32
Graf 5: Delež mrtvih <i>D. magna</i> (WO tobak).....	32

RAZLAGA OSNOVNIH POJMOV IN KRATIC

Pojmi so povzeti in razloženi po Rand (1995) in Eaton in sod. (2005)

Kontrola – postopek v testu strupenosti s testnimi organizmi, pri katerem so vsi (biotski in abiotski) izpostavitveni pogoji enaki, vendar brez dodane preiskovane snovi. Kontrola nam služi za primerjavo odzivov organizmov v prisotnosti oziroma v odsotnosti preiskovane snovi.

Strupenost (toksičnost) – lastnost snovi, da v stiku z zunanjo površino ali notranjostjo organizma povzroči kvaren oz. neugoden učinek (lokalne ali sistemske poškodbe). Strupenost je rezultat doze oz. izpostavljenosti neki koncentraciji v določenem času, ki je spremenljiva s temperaturo, kemijsko obliko in dostopnostjo.

Razredčevalna voda – vodna raztopina, ki jo uporabljamo za redčenje preiskovane snovi, z namenom pripraviti različne koncentracije preiskovane snovi ter za kontrolo. Njena sestava je natančno določena v ISO standardu (za vodne bolhe: ISO 6341, ISO 10706)

LC (lethal concentration) – koncentracija snovi, ki v določenem času povzroči smrtnost organizmov v izpostavljeni populaciji (npr. 48 h LC₅₀ je koncentracija, ki povzroči smrt 50% izpostavljenih organizmov v 48 urah).

Izpostavljenost – kontakt med preiskovano snovjo, medijem in organizmom.

ALU-folija – aluminijasta folija

LCD-zaslon – (angl. Liquid Cristal Display) ali zaslon s tekočimi kristali, je zaslon, izdelan v tehnologiji tekočih kristalov. Najpogosteje ga srečamo v računalniških zaslonih in televizijskih sprejemnikih.

IR-sijalka – infrardeča sijalka

OPP tobak – okolju prijazno proizveden tobak, je tobak, katerega pridelava in predelava se skušata čimbolj približati ekološki pridelavi in predelavi živil.

GSO – gensko spremenjeni organizmi

1 UVOD

Dejstvo, da je s tobačnimi izdelki zasvojen precejšen delež današnje družbe, bo še dolgo časa držalo in utopično je razmišljati o družbi brez aktivnih kadilcev. Kljub temu, da skušajo mnoge države z uvedbo različnih zakonov zmanjšati število kadilcev, se njihov delež nevdržno povečuje. S tem, ko se državne institucije ubadajo s problematiko uporabe tobačnih izdelkov, je problematika proizvodnje potisnjena na stran. Moderna tobačna industrija je s svojo kvantitativno politiko velik porabnik umetnih gnojil in pesticidov in glede na trenutno stanje, prihodnost ne zglada prav nič obetavna na tem področju.

Koliko ljudi, ne glede na to, ali so kadilci ali ne, se vpraša, kako je proizveden tobak, ki je na voljo v maloprodaji in koliko aditivov vsebuje, da še dodatno privlači porabnika? In koliko ljudi sploh pozna proces pridelave tobačnih izdelkov? Po mojem mnenju je številka pri obeh odgovorih zelo majhna. Potrošnike zanima le končni produkt in ne proces pri katerem je le ta nastal. Če se v današnji družbi borimo za ohranjanje okolja v smislu zmanjšanja uporabe fosilnih goriv, izpustov CO₂ in v smislu povečanja proizvodnje živil brez sintetičnih gnojil in pesticidov, potem moramo svoj boj nadaljevati tudi pri proizvodnji tobačnih izdelkov.

*»If we don't think about future generations,
they will never forget us.«*

Henrik Tikkanen

Prevod: »Če ne bomo mislili na bodoče generacije, nas ne bodo nikoli pozabile.«

1.1 Cilji

- Preučiti in pridobiti izkušnje s pridelavo rastlin tobaka *Nicotiana tabacum*.
- Preučiti metodo predelave tobačnih listov s fermentacijo.
- Izdelati lasten fermentator z uporabo cenovno ugodnih materialov.
- Proizvesti OPP tobak.
- Primerjati OPP tobak s tobakom iz komercialno dostopnih cigaret z najnižjo možno vsebnostjo nikotina.
-

1.2 Hipotezi

1. V Sloveniji je mogoče uspešno gojiti tobak vrste *Nicotiana tabacum* na prostem, brez uporabe kemično-sintetičnih sredstev za varstvo rastlin in lahko-topnih mineralnih gnojil.
2. Vrednost LD₅₀ bo pri OPP tobaku višja kot pri tobaku komercialno dostopnih cigaret z najnižjo možno vsebnostjo nikotina.

2 PREGLED OBJAV

2.1 Kaj je tobak?

(Povzeto po Bohinc, 1992)

Znanstvena klasifikacija

Kraljestvo: *Plantae* (rastline)

Deblo: *Magnoliophyta* (kritosemenke)

Razred: *Magnoliopsida* (dvokaličnice)

Red: *Solanales* (razhudnikovci)

Družina: *Solanaceae* (razhudnikovke)

Rod: *Nicotiana* (Linne)



Slika 1: *Nicotiana glauca*

Rod tobak (*Nicotiana*) spada v družino razhudnikovk. Cvetovi različnih vrst tobaka so različno obarvani: beli rumeni, zelenkasti, rdečkasti ali rdeči. Razvrščeni so v metličasta socvetja. V Južni Ameriki jim prinašajo pelod čebele, čmrlji, metulji z dolgimi rilčki ter celo kolibriji. Ena sama rastlina daje 40.000 semen ali še več, to pa je dovolj, da posejemo z njimi en hektar zemlje, kar zelo zmanjša stroške v načrtnem sejanju in kasnejšem pridelovanju tobaka. Vrste tobaka gojijo marsikje tudi kot lepotne rastline, bodisi zaradi lepih cvetov, bodisi zaradi panaširanih listov.

Rod *Nicotiana* obsega okrog 60 vrst, katere so več ali manj enoletnice. Večina jih raste v Ameriki, nekatere na Sudanskih otokih, v Avstraliji in na otokih Tihega oceana. Mnogoletna selekcija je razdelila vrste še na mnogo podvrst in sort, zaradi česar se je tudi botaničnemu sistematiku težko znajti, posebej zaradi mnogo križancev med njimi.

Kemična sestava

- Listi:
 - Alkaloidi oz. dušikove heterociklične baze: nikotin (0,3–10 %, največ pred cvetenjem), nikotein, nikotelin, nikotimin, nikotirin, nikotoin, nornikotein, nikotizin, anabazin, anatabin, pirolidin, 1-metilpirolin in še več kot 70 drugih.
 - Organske kisline: citronska, jabolčna, jantarna, glikolna, piruvična, pirolidin-2-očetna kislina, 2-piperidin karboksilna kislina in druge.
 - Nitrozamin, 2 % ogljikovih hidratov in njihovih derivatov (škrob, celuloza, sladkorji, aminosladkorja glukozamin in galaktozamin, gume), smole, eterično olje s terpeni, maščobe, steroli, voski, flavonski glikozidi s kvercetinom in kemferolom, pektaza, pektinaza.
 - Kalijeve, kalcijeve, magnezijove, arzenove, berilijeve in talijeve soli.
 - Radioaktivni izotopi kalija, rubidija, stroncija, cezija, radia, svinca in polonija.
- Cvetovi:
 - eterično olje
- Seme:
 - 35–40 % maščobnega olja (gliceridi linilne in oljne kisline), ni nikotina.
- Tobačni dim:
 - Več tisoč spojin, med njimi vse sestavine tobaka razen nekaterih nehlapnih anorganskih soli.
 - 40–100-krat večja koncentracija alkaloidov kot v listih
 - Ogljik, ogljikov dioksid in monoksid, dušikovi oksidi, amoniak, silikoni, razni ogljikovodiki, formaldehid, acetaldehid, metanol, akrolein, piridin, cianidi, ogljikov disulfid, furanovi derivati, tiofen, prosti radikali.

Zdravilnost

Liste so v Evropi prejšnjih stoletij uporabljali proti garjam in drugim kožnim boleznim ter glavobolu. V južni Etiopiji pljuvajo prežvečene liste v gobec živini, ki ji to ugaja, verjetno pa uničuje tudi črevesne zajedavce.

Strupenost

Najvažnejša strupena snov v tobaku je nikotin, nikotein je še močnejši strup, a ga je precej manj.

2.1.1 Nikotin

Rastline tobaka se najpogosteje uporabljajo zaradi visoke vsebnosti nikotina; v zreli rastlini se 64 % nikotina nahaja v listih, 18 % v stebelu, 13 % v koreninah in 5 % v cvetu. Med zorenjem, količina nikotina v rastlini narašča, zaradi česar pridelovalci tobačne liste obirajo v poznem stadiju rasti (Andrianov in sod., 2010).

Nikotin je tekoči alkaloid, ki se nahaja v rastlinah iz družine razhudnikovk, zlasti v različnih vrstah tobaka in v koki. V manjših količinah pa tudi v paradižniku, krompirju, jajčevcih in papriki. Pri tobakovcu predstavlja nikotin 0,6–3 % mase posušene rastline. Biosinteza poteka v koreninah tobakovca in se skladišči v listih. Pri rastlinah ima vlogo obrambe pred rastlinojedci. Nikotin je nevrotoksin in je bil zaradi svojih lastnosti v preteklosti v uporabi kot

insekticid. Danes se v te namene še vedno uporabljajo njegovi derivati. Nikotin v nizkih koncentracijah pri sesalcih deluje stimulatивно, kar je eden od glavnih razlogov razvoja zasvojenosti pri kajenju tobaka (Smoking and..., 2013).

2.2 Pridelava tobaka

2.2.1 Vzgoja sadik

Semena tobaka raztresemo po površini rahlo navlažene prsti. Zaradi potreb po svetlobi, semen ne pokrijemo z zemljo. V Virginiji gredice, da bi vzpodbudili hitrejšo rast začetnih rastlin, gnojijo z lesnim pepelom in živalskim gnojem (najpogosteje konjskim gnojem v prahu). V kolikor semena kalimo zunaj, je potrebno prve poganjke zaščititi pred zmrzaljo, saj setev poteka ob koncu februarja, zaradi tega se večina tobačnih pridelovalcev odloči za kalitev v rastlinjakih in celo v posebnih posodah. Semena tobaka so izredno majhna (< 1 mm) zaradi tega je posamezna setev zelo otežena, saj ne smejo biti preveč na kupu, ker bi to onemogočalo nadaljnjo rast začetnim rastlinam (Starting and..., 2013).

Semena začno kaliti po 7–10 dneh. Pri nekaterih sortah tobaka lahko kalitev traja tudi do 2 tedna. Podlaga mora biti stalno vlažna, vendar ne mokra, nikoli pa se ne sme popolnoma izsušiti (Starting and..., 2013). Pri zalivanju semen moramo biti zelo pazljivi. Prevelika količina vode lahko izkorenini drobne sadike in povzroči odmrtje. Najboljši način za zalivanje je z uporabo podstavka, saj se zemlja počasi sama navlaži, odvečna voda ostane v podstavku, listi rastline pa suhi. Tak način zalivanja je možen samo pri kalitvi v posebnih posodah z luknjičastim dnom. V kolikor uporaba podstavka ni možna, je najboljši način zalivanja drobnih sadik z uporabo razpršilke, saj ta ne poškoduje rastlin, zagotovi pa potrebno vlažnost.



Slika 2: Vzgoja sadik tobaka

2.2.2 Presajanje sadik na prosto

Praden presadimo sadike, moramo zagotoviti ustrezno podlago za nadaljnjo rast. Tobak je zelo velik porabnik zemeljskih hranil. Če ga gojimo stalno na istem mestu, bo v nekaj letih popolnoma izčrpal hranljive elemente zemlje. Zaradi tega se pri vzgoji tobaka priporoča kolobarjenje, pri čemer vsako 3. leto polje počiva vsaj eno leto ali več. Tobak pri svoji rasti potrebuje veliko dušika in kalija. Zadostno količino le-teh lahko dosežemo z dobrim kompostom ali naravnim gnojem. Mnogo velikih podjetij pa se raje odloča za uporabo

umetnih gnojil, ki jih mora biti, zaradi potreb tobaka, zelo veliko in s tem zelo onesnažujejo okolje (Starting and..., 2013).

Sadike tobaka posadimo v vrsto približno 50–80 cm narazen, razmik med posameznimi vrstami pa naj bo približno 100 cm. Sadike temeljito zalijemo in v kolikor v naslednjih dneh ni dežja, moramo sadike zalivati še vsak večer, dokler rastline ne postanejo samostojne. Presajanje na prosto lahko opravimo ročno, kot so to počeli v starih časih, ali pa mehanično, saj so v poznem 19. stoletju avtomatizirali proces s stroji (npr. New Holland Transplanter), ki v eni potezi naredijo luknjo, jo zalijejo in vanjo vstavijo rastlino (Cultivation of..., 2013).

Korenine tobaka rastejo zelo hitro. Koreninski sistem je precej velik, saj poleg glavnih korenin obsega še na tisoče majhnih lasnih korenin, ki rastejo blizu površja in služijo kot dovodne korenine, saj zelo hitro vsrkavajo vodo. Za boljši izkoristek teh korenin skrbi tudi struktura listov, saj z žlebičasto oblikovanimi listnimi žilami omogočajo zbiranje že rahlega dežja ob stebelu navzdol (Starting and..., 2013).

Po presaditvi moramo tobaku zagotoviti nemoteno rast in odstranjevati ves plevel, ki začne rasti okoli naših rastlin. V začetku je okoli rastlin priporočeno rahljati zemljo, saj s tem okrepiamo njihov koreninski sistem in posredno celotno rastlino. Po 3–4 tednih od presaditve, moramo prenehati z vsemi globljimi posegi v okolici rastlin, v nasprotnem primeru lahko zelo poškodujemo njihove korenine. Odstranjevanje plevela pa na tej fazi ni več potrebno, oziroma se precej zmanjša, saj imajo rastline tobaka zelo velike liste ki onemogočajo rast nižjim rastlinam, saj jim jemljejo večino svetlobe (Starting and..., 2013).

2.2.3 Obrezovanje in obiranje

Ko se rastlina bliža času cvetenja, se koncentracija nikotina povečuje, med cvetenjem in razvojem cvetov pa drastično pade. To lastnost mnogi pridelovalci izkoristijo z odstranjevanjem popkov cvetov, še preden se ti dokončno razvijejo. S tem ohranijo visoko koncentracijo nikotina v rastlini. Kljub temu pa določenega števila rastlin ne obrežejo in si tako zagotovijo semena za prihodnje leto (Cultivation of..., 2013).

V času rasti je za bolj zdravo rastlino in posledično boljši končni produkt potrebno sproti odstranjevati liste, ki so poškodovani ali kažejo kakršne koli znake neproduktivnosti. S tem bo rastlina svoja hranila porabljala za rast in ne za zdravljenje poškodovanih listov.

Proti koncu poletja in v začetku jeseni tobak dozori. Listi se navadno obarvajo rumeno. Zrelost tobaka pa lahko preverimo tudi tako, da upognemo list. V kolikor se list tobaka prelomi oziroma ga ni mogoče upogniti brez poškodb, tobak še ni dosegel stopnje zrelosti za obiranje, če pa se list prožno usloči, je tobak dovolj zrel.

Obiranje je možno na dva načina. Po starejši metodi, pri tleh z usločenim rezilom odrežemo celo rastlino. Druga, novejša metoda obiranja je bila razvita v 19. stoletju. Tobak so začeli obirati postopoma, tako da so s stebela rastline rezali posamezne liste, med tem ko so ti dozorevali. Ta način obiranja se v večini uporablja še danes, saj se z njim poveča količina končnega produkta. Liste obiramo od tal proti vrhu. Prvi listi, čisto pri tleh, se imenujejo »sand lugs«, saj so polni peska in zemlje. So najmanj kvalitetni listi in nadaljnje delo z njimi je precej zahtevno. Ti listi služijo za proizvodnjo najcenejšega tobaka, saj je koncentracija

nikotina v njih zelo majhna. Navadno se listi obrezujejo trikrat v celotnem obdobju dozorevanja (Tobacco leaf..., 2013).

Tobačne liste so včasih povezali v snope in jih prenašali v skladišča. Z industrijsko revolucijo so pri obiranju začeli uporabljati transportne vagončke na katerih so moški upravljali naprave, ki so avtomatsko trgali liste z rastlin in jih vezali v snopiče. Dandanes velika tobačna polja obdelujejo z eno samo napravo, čeprav so nekatera opravila (obiranje cvetov, trganje manjših, poškodovanih listov) še vedno izključno ročno delo. Kljub mehanizaciji pa se nekateri pridelovalci redkih in kvalitetnih sort tobaka še vedno poslužujejo ročnega pridelovanja, saj je tako mogoče zelo podrobno nadzorovati kvaliteto (Tobak, 2013).

2.3 Predelava tobačnih listov

2.3.1 Sušenje tobačnih listov

Tobačni listi vsebujejo približno 90 % vode. Zato je potrebno liste pred nadaljnjo predelavo najprej posušiti oziroma dehidrirati. Med sušenjem bodo listi spremenili barvo iz zelene najprej v rumeno, nato v rjavo (Virginia). Pri nekaterih vrstah pa se barva spremeni iz zelene takoj v rjavo (Havanna) (Curing of tobacco, 2013). Sušenje tobaka najpogosteje poteka po enem izmed spodaj naštetih načinov.

Zračno sušenje

Tobačne liste obesimo v dobro prezračevanem prostoru, kjer se sušijo 4–8 tednov. Zračno sušen tobak ima običajno nizko vsebnost sladkorja, kar daje tobačnemu dimu lahek, gladek in polsladek okus. Ti tobačni listi imajo ponavadi visoko vsebnost nikotina. Zračno sušeni tobačni listi se uporabljajo za proizvodnjo cigar in Burley tobaka (Curing of tobacco, 2013).



Slika 3: Zračno sušenje

Sušenje nad ognjem

Tobačne liste obesimo v prostoru z ognjiščem, kjer mora les stalno tleti. Sušenje traja od 3 do 10 dni, odvisno od procesa in tobaka. Tako sušen tobak je izredno aromatičen, ima nizko vsebnost sladkorja in visoko vsebnost nikotina. Nad ognjem sušeni tobačni listi se uporabljajo za proizvodnjo tobaka za pipe, za žvečenje in proizvodnjo njuhanca (Curing of tobacco, 2013).



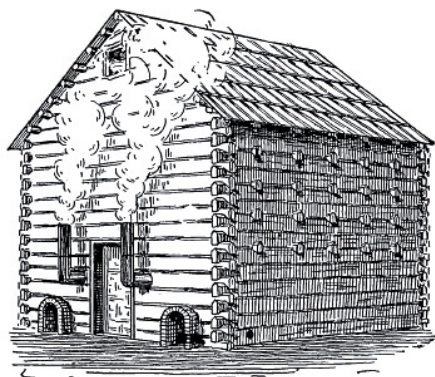
Slika 4: Sušenje nad ognjem

Sušenje z vročim zrakom

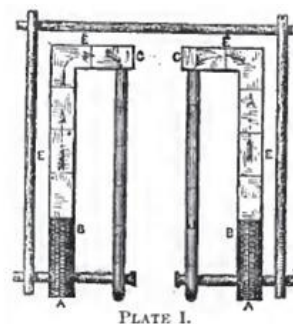
Prvotno so tobačne liste pred sušenjem obešali na palice, ki so jih kasneje obesili na vzdolžne tramove v sušilnih skednjih, tak način predpriprave je v nekaterih državah še vedno v uporabi v večini pa se je zadeva že precej modernizirala v prid večje kvantitete produkta. V sušilnem prostoru morajo biti pri tleh prepletene cevi, ki so povezane z zunanjo pečjo. Dim iz peči potuje po ceveh (izoliran od tobačnih listov) in tako postopoma ogreje zrak v prostoru na približno 40 °C, če temperatura preseže želeno, zmanjšamo kurjavo v peči (Tobacco leaf..., 2013). Sušenje je poteka približno 1 teden. Postopek je precej podobno fermentaciji vendar gre pri tem sušenju zgolj za odstranitev vode iz tobačnih listov in ne za razpad beljakovin. Tako sušen tobak ima visoko vsebnost sladkorja in srednjo do visoko vsebnost nikotina. Uporablja se predvsem za izdelavo kvalitetnejšega cigaretnege tobaka (Curing of tobacco, 2013).



Slika 5: Sušenje z vročim zrakom



Slika 6: Sušilni skedenj



Slika 7: Tloris sušilnega skednja

Sušenje na soncu

Tobačne liste sušimo nepokrite direktno na soncu. Za največji izkoristek sonca jih nanizamo na vrv, med posameznimi listi pa pustimo približno 1 cm prostora. Na soncu sušen tobak ima nizko vsebnost sladkorja in nikotina ter se uporablja za proizvodnjo cigaret. Te metode sušenja se pri predelavi orientalskega tobaka najbolj poslužujejo v Turčiji, Grčiji in državah Mediterana (Curing of tobacco, 2013).



Slika 8: Sušenje na soncu

2.3.2 Fermentacija

To je proces pri katerem se iz tobačnih listov sprosti amoniak in tako naredi končni produkt bolj sladek in aromatičen. Lahko jo izvedemo tako, da liste zložimo v večje kupe imenovane »pylons«, kjer v sredini naraste temperatura in vlažnost, ali pa uporabimo posebne komore z grelcem in vlažilcem. Pri povišani temperaturi in vlažnosti encimi v listih začno fermentirati. Po listih lahko razpršimo kvašeno raztopino, ni pa nujno, kajti listi že vsebujejo naravne encime za fermentacijo. Ta postopek imenujemo tudi utrjevanje oziroma zorenje (Ang: curing) tobaka (Tobacco leaf..., 2013).

Začetki fermentacije tobaka segajo v obdobje, ko so tobak iz Amerike v Evropo prevažali z ladjami, ki so imele pod palubo kupe tobačnih listov. Med potjo, ki je trajala tudi nekaj tednov in kasneje v pristaniščih, čakajoč na razložitev, so se v kupih listov ustvarili ustrezni pogoji za fermentacijo. Ko so tobačni listi prispeli na cilj, so mornarji ugotovili, da imajo prijetno aromo in sladek okus. Ko so ugotovili, kaj je vzrok, so načrtno začeli s fermentacijo vseh uvoženih listov tobaka (Tobacco leaf..., 2013).

»Stacking«

Metodo fermentacije s skladanjem tobačnih listov uporabljajo večinoma veliki proizvajalci. Skladi tobačnih listov, ki tehtajo okoli 50 kg, zavijejo v juto in jih pustijo »poteti«. Notranja temperatura mora biti pozorno spremljana. Ko doseže 60 °C, sklade razderejo, da sprostijo katran in amoniak in jih nato ponovno sestavijo. Ta postopek ponavljajo dokler temperatura znotraj sklada ne doseže 45 °C. Glavne listne žile in peclje nato odstranijo, listne ploskve pa shranijo v hladnejšem prostoru (18 °C) in jih pustijo starati od 6 tednov do 6 let. Za izdelavo cigar se uporabijo cele listne ploskve, za cigaretni tobak pa jih je potrebno še razrezati (Tobacco leaf..., 2013).



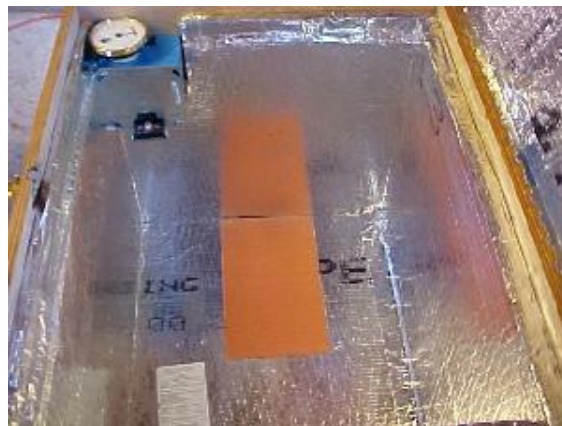
Slika 9: Fermentacija z metodo "stacking"

Fermentiranje v fermentatorju

To metodo fermentacije uporabljajo manjši proizvajalci saj celoten potek ni odvisen od količine tobačnih listov. Fermentator je majhna izolirana posoda z umetnima viroma toplote in vlage, ki pomagata stimulirati fermentacijo. Mora imeti tudi pokrov, ki je med fermentacijo zaprt in po možnosti tudi zračnike, s katerimi grobo nadzorujemo parametre znotraj fermentatorja. Temperatura in vlaga morata biti skrbno nadzorovana (temperatura 45–60 °C, relativna vlažnost 65–70 %), fermentator pa mora delovati 24 ur/dan. Fermentacija traja približno od 4 do 6 tednov. Temu sledi odstranitev listnih žil in pecljev in nato kratko obdobje staranja od 4 do 6 tednov ali dlje. Po staranju pa so listne ploskve pripravljene za nadaljnjo predelavo (razrez, zvijanje cigar, ipd.) (Tobacco leaf..., 2013).



Slika 10: Fermentator



Slika 11: Notranjost fermentatorja

2.4 Ekološka problematika proizvodnje tobaka

Tobačna proizvodnja zahteva uporabo velike količine pesticidov. Tobačna podjetja uporabljajo do 16 ločenih skupin pesticidov samo v obdobju med sajenjem semen v rastlinjakih in presajanjem mladih rastlin na polja. Uporaba pesticidov se je poslabšala z željo po proizvodnji večje količine pridelka v krajšem času, zaradi zmanjševanja tržne vrednosti tobaka. Pesticidi pogosto škodujejo pridelovalcem, ker se ti ne zavedajo negativnih učinkov na zdravje in pravilnega varnostnega protokola za delo s pesticidi. Ti pesticidi, kot tudi sintetična gnojila, na koncu končajo v tleh, vodah in posledično prehranjevalnih verigah.

Zgodnja izpostavljenost pesticidom lahko poveča vseživljenjsko tveganje nastanka raka, kot tudi škoduje živčnemu in imunskemu sistemu (Cultivation of..., 2013).

Tobak je večji porabnik hranilnih snovi, kot so fosfor, kalij, dušik, iz tal kot katerikoli drug večji pridelek. To pomeni, da je njegova rast na srednje rodovitnih področjih v veliki meri odvisna od gnojil. Nekateri mineralni dodatki na Floridi, ki se uporabljajo za proizvodnjo fosfatov za tobačne rastline v ZDA, vsebujejo radioaktiven uran, radij, vodik 210 in polonij 210 ter radon. Radioaktivni dim tobaka obogatenega na ta način, se odlaga v pljučih in oddaja sevanje tudi, če kadilec preneha s kajenjem. Kombinacija rakotvornega katrana in sevanja v občutljivem organu, kot so pljuča, povečuje tveganje za nastanek raka in drugih obolenj (Cultivation of..., 2013).

2.5 Ekološka pridelava

»Ekološka pridelava je v splošnem okolju prijazna. Spoštuje naravne sisteme in cikle ter krepi zdravje tal, vode, rastlin in živali in ravnovesje med njimi. Prispeva k visoki ravni biotske raznovrstnosti ter odgovorno izkorišča energijo in naravne vire (npr. vodo, tla, organske snovi in zrak). Spoštuje stroge standarde dobrega počutja živali in zlasti zadovoljuje vrstno-specifične vedenjske potrebe živali. Pri tem uporablja naravne snovi in postopke, ki ne škodujejo okolju, zdravju ljudi in rastlin, ali zdravju in dobremu počutju živali. Ob vsem tem si prizadeva za pridelavo visoko kakovostnih proizvodov« (Jazbec, 2011).

»Ekološka pridelava je osnovana na ekoloških sistemih, ki uporabljajo naravne vire: uporabljajo žive organizme in mehanske postopke pridelave, rastline gojijo v zemlji, se ukvarjajo z živinorejo ali z ribogojstvom, v skladu z načelom trajnostnega izkoriščanja ribolovnih virov. Pri tem je prepovedana uporaba gensko spremenjenih organizmov (GSO) in proizvodov, pridelanih iz ali z GSO. Pri pridelavi je prav tako prepovedana uporaba ionizirajočega sevanja (ki ga sicer pri v konvencionalni pridelavi uporabljajo za uničevanje škodljivih mikroorganizmov v živilih)« (Jazbec, 2011).

»Uporaba surovin, ki ne izvirajo iz kmetijskega gospodarstva, je omejena. Surovine, ki so izjemoma dovoljene, morajo biti iz ekološke pridelave, naravne ali naravno pridobljene snovi. Prepovedana je uporaba kemično-sintetičnih pesticidov in umetnih mineralnih gnojil, za dodajanje organskih in (slabo topnih) mineralnih gnojil je potrebno dovoljenje kontrolne organizacije, ki opravi laboratorijsko analizo tal in določi, katero hranilo je potrebno dodati. Uporaba kemično sintetiziranih surovin je strogo omejena na izjemne primere. Uporaba sintetičnih snovi za pospeševanje ali zaviranje rasti rastlin oziroma živali (npr. rastni regulatorji, hormoni) ni dovoljena« (Jazbec, 2011).

2.6 *Daphnia magna*

Rake *D. magna* imenujemo tudi vodne bolhe. To ime so dobili po značilnem gibanju v vodi, ki spominja na gibanje navadnih bolh (*Siphonaptera*). *D. magna* so majhni sladkovodni raki, ki zrastejo 5–6 mm. Razen glave jim celoten trup obdaja dvodelni karaplaks (zunanji skelet oz. ščit). Vrh glave imajo eno sestavljeno in pigmentirano oko, telo pa je brezbarvno in prozorno. Na glavi imajo 2 para anten. Prve so majhne s škrkami, druge pa so velike in razvejane ter služijo za gibanje. Na hrbtne strani med hrbtom in košem je valilnik, kamor vodne bolhe odlagajo jajčeca (Ruppert in Barnes, 1994).

Vodne bolhe se večino leta razmnožujejo nespolno. V populaciji so večinoma samice, do pojava samcev pride le ob neugodnih razmerah. Ko se v populaciji pojavijo samci, se vodne bolhe razmnožujejo spolno. Takemu načinu razmnoževanja pravimo ciklična partenogeneza (USEPA, 2002).

Partenogeneza je vrsta nespolnega razmnoževanja, pri kateri pride do razvoja zarodka iz jajčne celice brez oploditve. Pri partenogenezi vodnih bolh so vir genskega materiala mladičev izključno samice, za razliko od spolnega razmnoževanja, kjer polovico genskega materiala prispevajo samci. Takšna oblika nespolnega razmnoževanja omogoča laboratorijsko pridobitev velikega števila klonov samic z majhno gensko variabilnostjo in ponovljivimi testnimi rezultati (Eaton in sod., 1998).

Vodne bolhe so zelo priljubljene v akutnih in kroničnih testih strupenosti, predvsem zaradi kratkega življenjskega cikla (od 40 do 56 dni), nezahtevnosti za gojenje in občutljivosti na kemikalije. Pri akutnih testih strupenosti vodne bolhe izpostavimo vodnim vzorcem in po 24 ali 48 urah opazujemo težave pri gibanju, negibnost oziroma neodzivnost na dražljaje in/ali smrtnost. Rezultate akutne strupenosti predstavimo z vrednostma $EC_{50(24\text{ h}/48\text{ h})}$ in $LC_{50(24\text{ h}/48\text{ h})}$ (Grayman in sod., 2001).



Slika 12: Vodna bolha (*Daphnia magna*)

3 MATERIAL IN METODE

3.1 Vzreja sadik tobaka in presajanje na prosto

Sejanje (24. marec 2012)

Najprej smo si pripravili posebno posodo, v katero smo dali vrtno zemljo in jo rahlo navlažili. Nato smo po vrhnji plasti zemlje posuli semena tobaka *Nicotiana tabacum* sorte Virginia gold. Semen nismo ročno prekrili z zemljo, ampak smo jih z razpršilko za vodo malenkost navlažili, pri čemer so se same malenkost pogreznile v zemljo. Tako pripravljena semena smo pustil v sobi na okenski polici, kjer je bila povprečna dnevna temperatura 21 °C.

Kalitev (29. Marec–4. april 2012)

Po petih dneh redne oskrbe z vodo (pršenje z razpršilko dvakrat dnevno) so prva semena že skalila. Po desetih dneh je večina semen že skalila in razvila prve pare listov.

Presajanje v platoje (14. april 2012)

Ko so sadike dosegle velikost 4 cm, smo jih presadili v stiroporne in plastične platoje. Vse luknje smo zapolnili z vlažno vrtno zemljo in nato v posamezno luknjo platoja presadili po eno sadiko tobaka. S tem smo omogočili sadikam razvijanje njihovega koreninskega sistema. Platoji morajo imeti na dnu luknjice, ki omogočajo odtekanje vode, saj lahko sicer korenine sadik ob preveliki količini vode začno gniti in posledično bo celotna rastlina propadla. Platoje smo pustili v sobi z dnevno svetlobo in povprečno dnevno temperaturo 21 °C.

Presajanje na prosto (5. maj 2012)

Po treh tednih rasti v platojih so sadike tobaka dosegle višino le okoli 13 cm (rastline tobaka ob zadostni količini vode rastejo precej hitreje), vendar so vse razvile izredno močne koreninske sisteme. Ker v mesecu maju jutranje zmrzali ni bilo več, smo sadike presadili na prosto, na domači vrt. Preden rastline izpostavimo zunanjim podnebnim dejavnikom, jih moramo vsaj en dan prej aklimatizirati. Najbolje jih je čez noč pustiti pri odprtem oknu, naslednji dan pa jih prestavimo na prosto, a jih imamo do večera v zavetrju, zvečer pa lahko pričnemo s presaditvijo. Pri presajanju na prosto moramo upoštevati, da bodo odrasle rastline potrebovale dovolj prostora za rast (vsaj 50 x 50 cm), da bodo potrebovale dovolj svetlobe, zato jih moramo posaditi na mesto, ki je cel dan obsijano s soncem. Zemlja mora biti dovolj bogata s hranili, sicer jo lahko pred presajanjem sadik obogatimo z naravnim gnojem ali kompostom. Ker smo imeli na voljo le 8 m² prostora, smo na vrtu posadili 30 sadik tobaka, pri čemer smo vsaki sadiki zagotovili 0,25 m² (50 x 50 cm) prostora za rast. Ko smo sadike posadili v zemljo, smo vsako posebej še močno zalil, da se je vrtna zemlja dobro oprijela korenin sadike. Pri vsaki smo ob stebelu zapičil še 50 cm dolgo leseno palico debeline 2 x 2 cm, s katero smo pred vetrom zaščitili stebela rastlin, dokler se le ta niso dovolj okrepila (1 mesec od presaditve na prosto). Sadike moramo ob večji odsotnosti dežja zaliti, vendar to opravilo počnemo le pozno popoldan, ko se zemlja nekoliko ohladi, sicer lahko poškodujemo korenine tobaka.



Slika 13: Sadika tobaka pred presaditvijo na prosto (Foto: V. Delopst)

Odstranitev cvetov (20. julij 2012)

Dva meseca in pol po presaditvi na prosto, so prve rastline tobaka začele proizvajati cvetove oziroma prehajati v reproduktivno stanje. Ker so cvetovi in posledično semena zelo velik porabnik nikotina, se večja podjetja, ki se ukvarjajo s pridelavo tobaka, poslužujejo odstranjevanja cvetov oziroma popkov (ang. topping), s katerim povečajo nivo nikotina v listih in tudi maso listov, posledično se to kaže v večji donosnosti na hektar. To metodo smo tudi sami uporabili in s tem rastline iz reproduktivnega stanja vrnil v vegetativno. Po določenem času so rastline razvile nove cvetove in tudi te je bilo potrebno odstraniti.



Slika 14: Cvet tobaka vrste *Nicotiana glauca* (Foto: V. Delopst)

3.2 Obiranje in sušenje listov tobaka

Obiranje spodnjih listov (7. september 2012)

Približno 4 mesece od presaditve so spodnji listi rastlin začeli rumeneti, zato smo se odločili za prvo obiranje. Prvi listi pri tleh so bili zelo umazani od zemlje, ki se je na njih nabrala ob deževjih, zato teh listov nismo obirali. Ostale liste smo z rastlin rezali s škarpami, saj nismo

hoteli poškodovati stebela, sicer pa lahko liste tudi odtrgamo. Obirali smo samo največje liste, ki so kazali znake zorenja, ali so že bili zreli (ko smo jih prepognili, se niso prelomili). Obrane liste lahko povežemo v snope in jih obesimo v prostor, kjer jih posušimo, ali pa jih nanizamo na vrvico. Zaradi lažjega nadzora in opazovanja sušenja smo uporabili metodo nizanja, pri kateri smo liste enega za drugim nanizali na vrv in jih obesili v sušilnico (rastlinjak z odprtimi vrati in strešnim oknom), kjer so se zaščiteni pred soncem sušili le na zraku.

Obiranje srednjih in vrhnjih listov (27. september 2012)

20 dni po prvem obiranju listov so tudi osrednji in nekateri vrhnji listi rastlin tobaka začeli rumeneti, kar je bil znak zrelosti za drugo obiranje. Postopek je bil enak prvemu, količina obranih listov pa je bila precej večja, saj smo obrali vse dovolj zrele liste ne glede na njihovo velikost in mesto rasti. Tudi te liste smo nanizali na vrv in jih dali sušiti na zrak v sušilnici. Lahko bi srednje in vrhnje liste obirali ločeno in v različnem času, vendar smo se zaradi dolžine nadaljnjega sušenja in bližanja jutranje zmrzali odločili za enotno obiranje.



Slika 15: Levo sušenje spodnjih, desno sušenje zgornjih in srednjih listov (Foto: V. Delopst)

Konec sušenja listov (27. oktober 2012)

Konec sušenja je zaznamovala sprememba barve pri vseh listih iz zelene najprej v rumeno in nato v rjavo. V tem času so se tudi popoldanske temperature precej znižale. Listi so med sušenjem izgubili večino svoje teže zaradi dehidracije. Kljub temu pa je vlažnost jesenskega zraka poskrbela za elastičnost listov. Liste smo pobrali ob koncu sušenja in jih shranili v temen in suh prostor, kjer so počakali na fermentacijo. Če je prostor prevlažen, bo na listih začela rasti plesen, če pa je presuh, se bodo listi izsušili in se bodo med rezanjem zdrobili. Najboljši pogoji so v vinskih kletih s temperaturo 10–14 °C in relativno vlago 60–70 %.



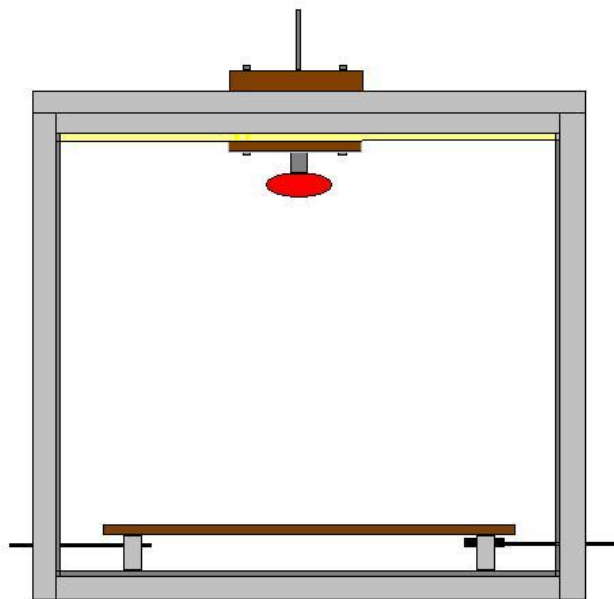
Slika 16: Posušeni listi tobaka (Foto: V. Delopst)

3.3 Izdelava fermentatorja

Za fermentacijo tobanih listov smo se odločili izdelati cenovno ugoden fermentator. Sicer so fermentatorji dostopni tudi na trgu, vendar njihove vrednosti presegajo 1000 €. Doma izdelan fermentator mora za potrebe fermentacije imeti izolirano okolje, vir toplote, vir vlage, merilnik temperature in merilnik vlage. To so osnovne komponente vsakega fermentatorja.

Pri izdelavi smo uporabili naslednje materiale:

- izolirano okolje → 4 cm debele plošče stiropora (ekspandiran polistiren) in ALU-folija
- vir toplote → infrardeča žarnica 100 W
- vir vlage → ročna razpršilka vode in demineralizirana voda
- merilnik temperatura → senzor temperature povezan z LCD zaslonom
- merilnik vlage → senzor za merjenje vlage in temperature povezan z LCD zaslonom



Slika 17: Vzdolžni prerez fermentatorja (Shema: V. Delopst)

Izdelava škatle iz stiropora

Iz 4 cm debelega stiropora smo izrezali 7 plošč (4x P1, 2x P2, 1x P3) in iz njih izdelali stiroporasto škatlo s pokrovom.

- P1 = 49,5 x 51,5 cm
- P2 = 49,5 x 57,5 cm
- P3 = 49,5 x 51,5 cm

Za dno smo uporabili ploščo P2, ki je predstavljal končno dolžino in širino škatle. Na njo smo navpično postavili 4 plošče P2. Vse stike plošč smo zlepili z lesnim lepilom zunanje spoje pa še dodatno oblepili z lepilnim trakom. Za pokrov škatle smo kot osnovo uporabili ploščo P2, kateri smo dodali še ploščo P3 (mora biti na sredini, da lahko gladko sede v notranjost škatle) za dodatno izolacijo, kajti vroč zrak se dviguje, zaradi česar se največ toplote izgubi na vrhu škatle.

Dodatna izolacija notranjosti

Za dodatno izolacijo smo uporabili aluminijasto folijo, s katero smo obdali vse notranje stene ter dno. Posamezne dele folije pa smo skupaj povezali z lepilnim trakom iz aluminijaste folije. Na spodnjo stran pokrova smo prilepili plast temperaturno odpornega materiala, ki je zaradi bližine infrardeče žarnice varovala stiropor pred visoko temperaturo.



Slika 18: Notranjost fermentatorja (Foto: V. Delopst)

Montaža vira toplote in vlage

Za vir toplote smo izbrali cenovno ugodno infrardečo 100 W žarnico. Na sredini pokrova smo na spodnji in zgornji strani namestili po eno leseno ploščico (20 x 20 cm), med seboj pa smo ju povežal s štirimi vijaki. Lesena plošča na spodnji strani pokrova nam je služila za montažo keramičnega grla za žarnico. Zgornja plošča pa je držala spodnjo na mestu. Skozi obe plošči smo izvrtali luknjo za električni vodnik žarnice, povezali smo ga z avtomatskim stikalom, ki je vklopilo in izklopilo žarnico glede na temperaturo znotraj fermentatorja (vklop je povzročil padec temperature za 5 °C, izklop pa dosežena nastavljena temperatura) in je bilo povezano z LCD zaslonom. Stikalo je imelo tudi možnost regulacije črpalke za vodo glede na vlažnost znotraj fermentatorja, ker pa je sistem pršenja vode zelo drag smo se odločil za ročno dodajanje vode z ročno razpršilko za vode, pri kateri je ena razpršitev pomenila dvig vlažnosti za 1,5 % (ugotovitev z večkratnim poskušanjem). Spodnjo leseno ploščo smo nato še prekrili z ALU-folijo.



Slika 19: Pokrov fermentatorja (spodnji del) (Foto: V. Delopst)



Slika 20: Pokrov fermentatorja (zgornji del) (Foto: V. Delopst)

Izdelava lesene mreže za podporo listov in namestitvev merilnikov temperature in vlage

Za boljši pretok zraka znotraj fermentatorja smo se odločil izdelati leseno mrežo, s katero smo dvignil kup tobačnih listov od tal. Za izdelavo smo uporabili 17 lesenih palic (2x L1, 2x L2, 7x L3, 6x L4) debeline 1 cm.

- L1 = 39 x 1,5 cm
- L2 = 45 x 1,5 cm
- L3 = 39 x 1 cm
- L4 = 45 x 1 cm

Ogrodje smo sestavili v obliki pravokotnika iz dveh L1 in dveh L2 lesenih palic. Skupaj smo jih povezali z nerjavečimi žablji. Na to ogrodje smo nato pribili še ostale lesene palice z enakomernimi razmiki. Na mrežo smo namestili senzor temperature ter senzor temperature in vlage. Mrežo smo v fermentatorju postavili na 4 kocke stiropora z robom 5 cm.



Slika 21: Lesena mreža za podporo listov (Foto: V. Delopst)

3.4 Fermentacija in shranjevanje tobaka

Fermentacija (5. 12. 2012–22. 1. 2013)

Po končani izdelavi fermentatorja in uspešnem testu vseh sestavnih delov smo lahko začeli fermentirati posušene liste tobaka. Naložili smo jih na leseno mrežo na dnu tobaka in jih pokrili s folijo, ki se uporablja za peko peciva, in je preprečevala prekomerno izsuševanje listov blizu vira toplote (IR-sijalke). Med fermentacijo je bilo potrebno ročno uravnavati vlago s pomočjo digitalnega merilnika vlage. Temperaturo je bila avtomatsko nadzorovana in uravnavana.



Slika 22: Test avtomatskega uravnavanja temperature (levo možnost nadzora vlage) (Foto: V. Delopst)

Rezanje tobačnih listov in shranjevanje v plastične vrečke (23. 1. 2013)

Po končani fermentaciji smo tobačne liste za 24 ur prestavili v klet s temperaturo 10–14 °C in relativno vlago 60–70 %, kjer so se ohladili. Nato smo listom odstranili glavne žile, ker so za nadaljnjo predelavo neprimerne, liste pa smo nato razrezali s kovinskim izdelovalcem rezancev (1 mm). Končni produkt smo zapakirali v plastične vrečke s patentiranim zapiranjem, ki so zagotovile ohranjanje ustrezne vlažnosti tobaka.



Slika 23: Odstranjevanje osrednje žile lista tobaka



Slika 24: Rezanje tobačnih listov (Foto: V. Delopst)



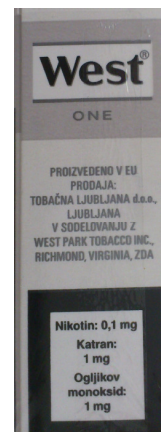
Slika 25: OPP tobak v plastičnih vrečkah (Foto: V. Delopst)

3.5 Test strupenosti z vodnimi bolhami *D. magna*

Za testiranje smo uporabili dve različni vrsti tobaka in sicer, okolju prijazno proizveden (OPP) tobak in tobak iz cigaret One znamke WEST. V maloprodaji, so to cigarete z najnižjo vsebnostjo nikotina (0,1 mg). Kultura vodnih bolh uporabljena za testiranje izvira iz podjetja ERICo, Velenje. Vodne bolhe so bile gojene v steklenih akvarijih z modificiranim medijem (razredčevalna voda) pri sobni temperaturi (21 °C). Testiranje smo opravili vzporedno na dveh vzorcih vsakega tobaka (dve paralelki), spodaj pa je navedeni material uporaben le za meritev enega vzorca vsakega tobaka.

Material

- OPP tobak
- Cigarete WEST One
- 2 merilna valja (1000 ml)
- Pipeta
- 15 posodic (50 ml)
- pH lističi
- 75 srednje velikih vodnih bolh *D. magna*
- razredčevalna voda (voda v kateri sem gojil vodne bolhe)

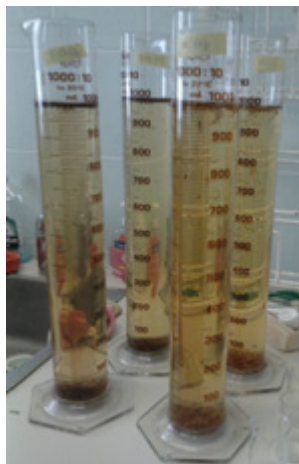


Slika 26: Količina nikotina v
WO tobaku
(Foto: V. Delopst)

Postopek

Najprej smo želeli ugotoviti, koliko tobaka (masa) je v eni cigareti. Odtehtali smo tobak treh cigaret WEST One in izračunali povprečno vrednot, ta je znašala 0,60 g/cigareto. Nato smo pripravili po dva 0,60 gramaska vzorca OPP in WEST One tobaka.

V štiri merilne valje smo natočili po 1000 ml vodovodne vode (pH 7,0). Nato smo v njih dali po en vzorec tobaka in jih primerno označili (OPP₁, OPP₂, WEST₁, WEST₂). Tobak smo pustili namakati 12 ur in raztopino nato precedili, da smo odstranili vse delce tobaka, ostala pa nam je čista vodna raztopina tobaka.



Slika 27: Merilni valji z vodnimi raztopinami tobaka (Foto: V. Delopst)

Z vodno raztopino tobaka in razredčevalno vodo smo pripravili razredčitve, v katere smo naselil bolhe. Za opazovanje smo uporabili posodice volumna 50 ml, zato smo izračunali potrebno količino raztopine tobaka in razredčevalne vode za želene razredčitve.

Tabela 1: Razmerje raztopine tobaka in razredčevalne vode

Razredčitve [%]	Raztopina tobaka [ml]	Razredčevalna voda [ml]
100	50	0
75	37,5	12,5
50	25	25
40	20	30
30	15	35
20	10	40
10	5	45
0 (kontrola)	0	50

Razredčitve smo pripravili za vse 4 vzorce tobaka, posodice pa predhodno potrebno označili. Pred naselitvijo vodnih bolh smo izmeril še pH vrednosti posameznih raztopin in s tem preverili ustreznost pH okolja za naselitev vodnih bolh. V vsako posodico smo nato dali 5 vodnih bolh, pri transportu pa smo si pomagali s plastično pipeto, ki smo jo po vsakem transportu dobro sprali v posodici z vodo in s tem preprečili kontaminacijo gojišča vodnih bolh.

Testiranje smo izvedeli z opazovanjem vzorcev z vodnimi bolhami po 3, 14 in 24 urah. Opazovanje je temeljilo na ugotavljanju težav pri gibanju, negibnost oz. odzivnost na dražljaje in/ali smrtnost. Vsa opažanja smo sproti zapisovali v tabelo.

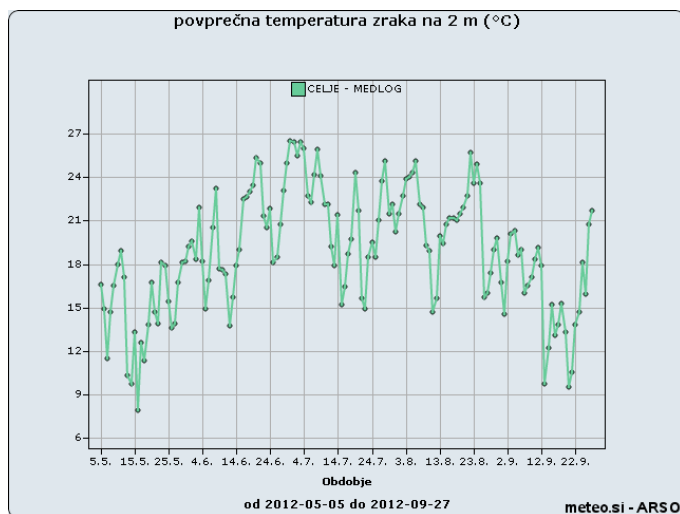
4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 Proizvodnja OPP tobaka

Tabela 2: Časovni pregled proizvodnje OPP tobaka

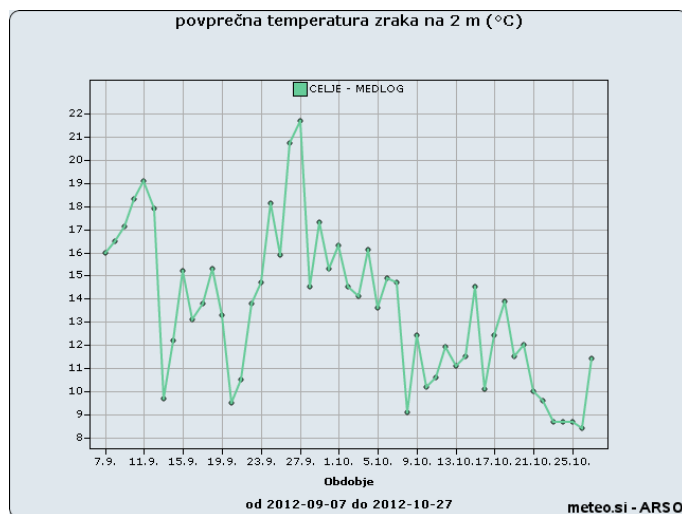
Postopek proizvodnje OPP tobaka	Časovno obdobje postopka	Čas proizvodnje	
Sejanje semen v posode (v hiši)	24. 3. 2012	Pridelava (cca. 6 mesecev)	10 mesecev
Kalitev semen	29. 3. – 4. 4. 2012		
Presaditev v platoje (v hiši)	14. 4. 2012		
Aklimatizacija na zunanje okolje	4. 5. 2012		
Presaditev na prosto	5. 5. 2012		
Odstranjevanje cvetov	20. 7. 2012		
1. Obiranje in sušenje listov	7. 9. 2012	Predelava (cca. 4 mesece)	
2. Obiranje in sušenje listov	27. 9. 2012		
Konec sušenja listov	27. 10. 2012		
Fermentacija	5. 12. 2012 – 22. 1. 2013		
Rezanje in shranjevanje	23. 1. 2013		

4.1.1 Temperatura v času rasti rastlin tobaka

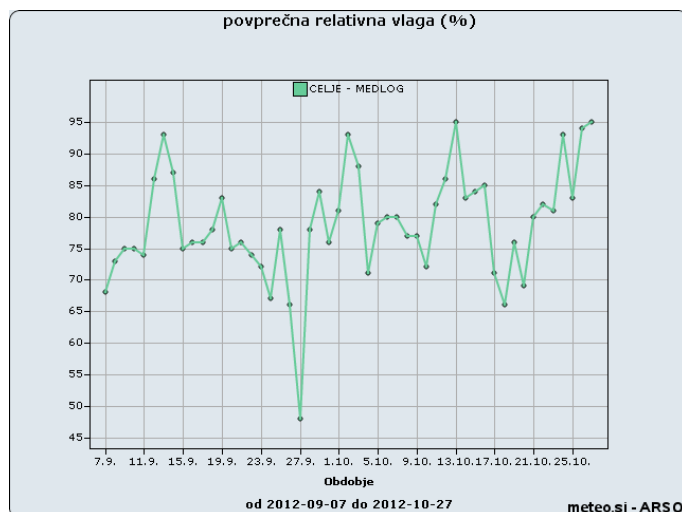


Graf 1: Graf dnevni temperatur v času rasti rastlin tobaka na prostem

4.1.2 Temperatura in vlaga v času sušenja tobaknih listov



Graf 2: Graf dnevni temperatur v času sušenja tobaknih listov



Graf 3: Graf relativne vlage v času sušenja tobaknih listov

4.1.3 Temperatura in vlaga v času fermentacije

Temperatura znotraj fermentatorja je bila 24 ur/dan avtomatsko regulirana in konstantno med 50 in 55 °C. Edini motnji sta se zgodili ob dveh daljših izpadih elektrike (27. December - 1 ura, 14. januar - 3 ure), vendar je, zahvaljujoč dobri izolaciji notranjega okolja, temperatura v obeh primerih ostala nad 45 °C, kar je optimalna vrednost za fermentacijo.

Vlago smo v fermentatorju regulirali ročno z vodno razpršilko in demineralizirano vodo. Pred fermentacijo smo izračunali, da relativna vlažnost v fermentatorju vsako uro pada približno za 1 %, posamezna razpršitev vode pa jo dvigne za 1,5 %. S temi ugotovitvami smo lahko s pomočjo digitalnega merilnika vlage, dnevno brez težav ohranjali konstantno relativno vlažnost med 65 in 70 %. Padci pod spodnjo optimalno mejo (65 %) so se dogajali redko in to samo v nočnem času, nikoli pa ni vrednost relativne vlage padla za več kot 2 % po spodnjo mejo ali preseгла zgornjo mejo.

4.2 Rezultati meritev strupenosti

4.2.1 Meritev strupenosti WEST One tobaka

Tabela 3: Rezultati meritev strupenosti WO tobaka 1. paralelka

1. PARALELKA		Po 3 urah		Po 14 urah		Po 24 urah	
Vzorec tobaka	Razredčitev [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]
WO ₁	100	0	0	0	0	0	0
WO ₁	75	0	0	0	0	0	0
WO ₁	50	4	90	0	0	0	0
WO ₁	40	5	100	0	0	0	0
WO ₁	30	5	100	1	20	1	20
WO ₁	20	5	100	4	80	3	60
WO ₁	10	5	100	5	100	5	100

Tabela 4: Rezultati meritev strupenosti WO tobaka 2. paralelka

2. PARALELKA		Po 3 urah		Po 14 urah		Po 24 urah	
Vzorec tobaka	Razredčitev [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]
WO ₂	100	0	0	0	0	0	0
WO ₂	75	0	0	0	0	0	0
WO ₂	50	4	90	0	0	0	0
WO ₂	40	5	100	0	0	0	0
WO ₂	30	5	100	3	60	1	20
WO ₂	20	5	100	3	60	3	60
WO ₂	10	5	100	5	100	5	100

Tabela 5: Rezultati kontrolne meritve 1

		Po 3 urah		Po 14 urah		Po 24 urah	
Vzorec tobaka	Razredčitev [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]
Kontrola ₁	0	5	100	5	100	5	100

4.2.2 Meritev strupenosti okolju prijazno proizvedenega tobaka

Tabela 6: Rezultati meritev strupenosti OPP tobaka 1. paralelka

1. PARALELKA		Po 3 urah		Po 14 urah		Po 24 urah	
Vzorec tobaka	Razredčitev [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]
OPP ₁	100	0	0	0	0	0	0
OPP ₁	75	0	0	0	0	0	0
OPP ₁	50	5	100	0	0	0	0
OPP ₁	40	5	100	0	0	0	0
OPP ₁	30	5	100	2	40	2	40
OPP ₁	20	5	100	5	100	5	100
OPP ₁	10	5	100	5	100	5	100

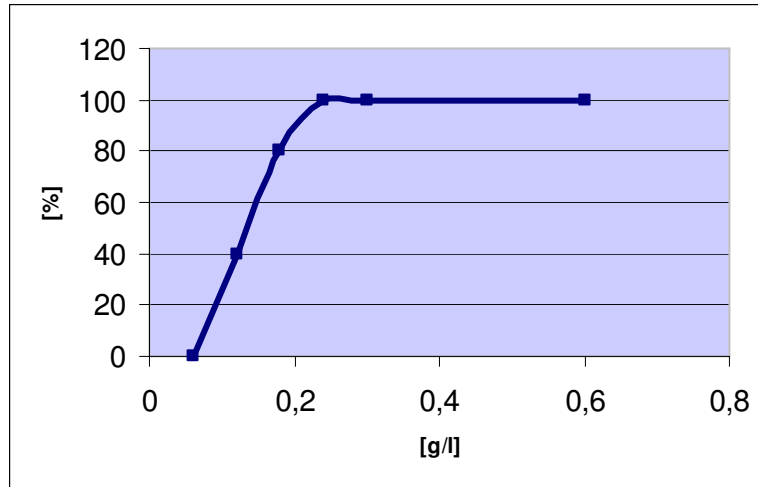
Tabela 7: Rezultati meritev strupenosti WO tobaka 2. paralelka

2. PARALELKA		Po 3 urah		Po 14 urah		Po 24 urah	
Vzorec tobaka	Razredčitev [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]
OPP ₂	100	0	0	0	0	0	0
OPP ₂	75	0	0	0	0	0	0
OPP ₂	50	5	100	0	0	0	0
OPP ₂	40	5	100	1	20	0	0
OPP ₂	30	5	100	4	80	4	80
OPP ₂	20	5	100	5	100	5	100
OPP ₂	10	5	100	5	100	5	100

Tabela 8: Rezultati kontrolne meritve 2

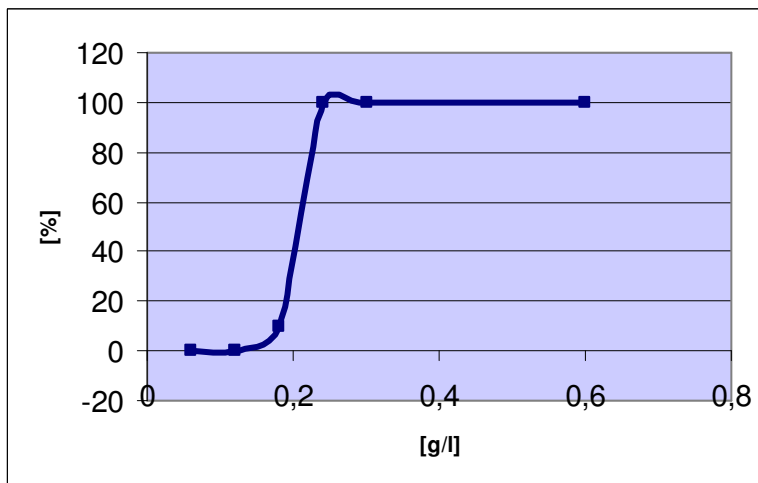
		Po 3 urah		Po 14 urah		Po 24 urah	
Vzorec tobaka	Razredčitev [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]	Št. preživelih	Delež preživelih [%]
Kontrola ₂	0	5	100	5	100	5	100

4.2.3 Vrednost LC₅₀



Graf 4: Delež mrtvih D. magna (OPP tobak) (Foto: V. Delopst)

Vrednost LC₅₀ OPP tobaka: **210 mg/l**



Graf 5: Delež mrtvih D. magna (WO tobak) (Foto: V. Delopst)

Vrednost LC₅₀ WEST One tobaka: **140 mg/l**

4.3 Razprava

Vsaka raziskava temelji na ideji. Tudi naša raziskovalna naloga ni izjema. Ideja, ki nas je posledično pripeljala do raziskovalne naloge, je bila pravzaprav plod različnih informacij, s katerimi nas dandanes neprekinjeno zasipajo mediji. Ti na eni strani poudarjajo sonaravno življenje, kot je na primer kupovanje in uporaba ekološko pridelane hrane. Na drugi strani pa nepreklicno opozarjajo na nevarnosti razvad industrijske dobe, kot je kajenje, pijančevanje, ipd. V obstreljevanju z vsemi temi informaciji pa sta se ti dve strani pomešali in nastala je ideja o reševanju problema kajenja z okolju prijazno proizvodnjo tobaka. Sprva smo tej ideji namenili le nasmeh na obrazu. Ampak čez nekaj dni smo, zaradi človeške radovednosti in želje po iskanju odgovorov na svoja vprašanja, začeli bolj intenzivno razmišljati o njeni realizaciji. Po nekaj prebranih člankih na spletu nas je stvar tako pritegnila, da smo se odločili narediti raziskovalno nalogo prav na to temo.

Preden smo bolj podrobno določili predmet naše raziskave smo se morali informirati. Za nas, kot nekadilce in nepoznavalce tobaka, je bila to ena izmed težjih nalog pri celotnem raziskovanju. Literature je bilo zelo malo, zato je breme našega informiranja prevzel internet, medij pred katerim svarijo vsi učitelji in profesorji, da ga je treba jemati izredno kritično. Toda druge opcije ni bilo. Ko smo preučili večino člankov o proizvodnji tobaka in si ogledali nekaj dokumentarnih oddaj, smo dobili precej podrobno sliko celotnega procesa proizvodnje tobaka, od semena do končnega produkta – tobaka v tobačnih izdelkih. Na prvi pogled zapleten proces je v tako postal razumljiv in po tehtnem premisleku smo ugotovili, da je izvedljiv tudi v Sloveniji (ugodna temperatura in padavine) in posledično tudi v mojem kraju – Velenju. Postavili smo si dve hipotezi in začeli z raziskovanjem. Odločili smo se celotno proizvodnjo tobaka izvesti doma, vendar se pri tem izogniti uporabi kemično-sintetičnih sredstev za varstvo rastlin in lahko-topnih mineralnih gnojil.

Imeli sem srečo, da smo semena tobaka že imeli v lasti, saj smo pred nekaj leti, na šolskem izletu v botaničnem vrtu kupili sadiko tobaka *Nicotiana glauca* sorte Virginia Gold, ki nam je v poletnih mesecih cvetela in ob koncu cvetenja smo dobili ogromno semen, velikih kot makova zrna. S kalitvijo semen smo začeli ob koncu meseca marca 2012, prve rastlinice smo po nekaj tednih posamezno presadili v platoje, kjer so si okrepile koreninski sistem. Ko je minila možnost jutranje zmrzali smo 30 rastlin presadili na domači vrt, ki je bil prejšnjo jesen pognojen z naravnim konjskim gnojem. Rastline tobaka smo zalivali le ob večdnevni sušah, pri čemer smo uporabljali le deževnico. Vse rastline so uspešno rasle (brez znakov bolezni) vse do začetka jeseni, ko so spodnji listi začeli dozorevati – rumeneti. To je bil znak zrelosti za obiranje, ki smo ga izvedeli v dveh delih. Z obranim listjem je bil postopek pridelave končan.

Sušenje tobačnih listov je pomenilo začetek predelave. Sušilnico je sicer predstavljal vrtni rastlinjak, vendar je odlično opravil svojo nalogo. Liste je ščitil pred direktnim soncem, odprta vrata in strešno okno pa sta omogočala pretok toplega popoldanskega zraka. Po končanem sušenju, ki je trajalo dober mesec dni, smo liste shranili v kletne prostore (temperatura 10–14 °C, vlaga 60–70 %) in začeli z izdelovanjem fermentatorja za nadaljnjo predelavo posušenih listov imenovano fermentacija. S tem procesom se iz listov sprosti amoniak, zaradi česar je končni produkt bolj sladek in aromatičen. Fermentator smo zaradi omejenih sredstev, izdelali iz cenovno ugodnih materialov, zaradi česar smo morali namesto avtomatskega sistema za uravnavanje vlage, uporabiti alternativo, ki je bila preprosta ročna razpršilka vode, napolnjena z demineralizirano vodo. Temperaturo je uravnavalo avtomatsko

električno stikalo. Fermentacija je potekala mesec in pol pri temperaturi med 50 in 55 °C in relativni vlažnosti med 65 in 70 %. Po končani fermentaciji smo tobačnim listom odstranili glavno žilo, preostali del lista pa narezali na 1 mm dolge trakce v strojčku za izdelavo rezancev. Končni produkt – OPP tobak (brez dodatnih aditivov) smo shranili v vrečke s patentiranim zapiranjem, kjer je ohranil svojo vlažnost.

Ker nam je uspelo v domačem kraju pridelati in tudi predelati tobak vrste *N. tabacum* na okolju prijazen način, lahko potrdimo našo prvo hipotezo: »V Sloveniji je mogoče uspešno gojiti tobak vrste *Nicotiana tabacum* na prostem, brez uporabe kemično-sintetičnih sredstev za varstvo rastlin in lahko-topnih mineralnih gnojil.« To pomeni, da lahko tobak v Sloveniji uspešno uspeva tudi brez umetnih gnojil in ostalih sintetičnih sredstev, čeprav ta ne leži v območju subtropskega vlažnega podnebja, kot države, ki so največje pridelovalke tobaka. Je pa zaradi podnebja v Sloveniji, onemogočen dvojni pridelek na leto, saj se temperature pozimi spustijo pod ničlo, države, ki so večje pridelovalke tobaka pa lahko tobak gojijo skozi celo leto. To močno vpliva na donosnost in posledično tudi na ceno tobačnih izdelkov, ki je v potrošniški družbi ključnega pomena. Zaradi manjše količine pridelka, bi lahko bila cena OPP tobaka v Sloveniji precej višja od ostalih tobačnih izdelkov. Upoštevati moramo tudi, da je bila pridelovalna površina v našem primeru izredno majhna v primerjavi z velikimi plantažami tobaka. Zaradi te ugotovitve se nam poraja novo vprašanje. Kako bi se rastline tobaka obnašale v večjem številu in obsegu? Na večjih površinah bi se med velikim številom rastlin začela borba za svetlobo in vodo, kar bi lahko povzročilo propad nekaterih rastlin, v kolikor ne bi uporabili umetnih sredstev za povečanje odpornosti.

Drugi del raziskovanja je temeljil na primerjavi toksičnosti OPP tobaka in cigaretnega tobaka dostopnega v maloprodaji. Odločili smo se za test strupenosti za vodne bolhe *Daphnia magna*. Za primerjalni tobak smo uporabili znamko WEST One, katere tobak ima najnižjo vsebnost nikotina (0,1 mg). Uporabili smo po dve raztopini (dve paralelki) vsake vrste tobaka in nato pripravili vzorce različnih razredčin, v katere smo naselili vodne bolhe. Zaradi omejenega števila razpoložljivih vodnih bolh smo v vsako razredčitev naselili 10 organizmov v dveh paralelkah (5 v vsaki paralelki), kar ocenjujemo, da je za bolj utemeljeno trditev premalo. Menimo, da bi bilo potrebno poskus večkrat ponoviti z večjim številom organizmov. Za test toksičnosti smo uporabili 150 organizmov. ($7 \times 2 \times 2 \times 5 + 2 \times 5 = 150$; 7 razredčitev, 2 obravnavanji, 2 paralelki, v vsaki paralelki 5 organizmov plus dve kontroli po 5 organizmov). Po 3 urah od naselitve bolh v vzorce, je v koncentracijah 50 % ali manj, večina le teh še živela, poginile pa so vse bolhe v 100 in 75 % razredčitvah. V raztopinah OPP tobaka so se bolhe v manjših razredčitvah (50 in 40 %) gibale nekoliko počasneje kot pri večjih razredčitvah, v raztopinah WO tobaka pa je v manjših razredčitvah (50% in 40%) večina vodnih bolh mirovala pri dnu posodic, so pa vseeno živele in se tudi odzvale na dražljaje. Že na tej fazi opazovanja je bilo mogoče videti, da kupljen WO tobak slabše vpliva na življenje bolh kot OPP tobak.

Po 14 urah je večina vodnih bolh v 50 in 40 % razredčitvah umrla – preživela je le ena v 40 % razredčitvi OPP₂ raztopine tobaka. Poginilo je tudi nekaj bolh v 30 % razredčitvah v vseh vzorcih tobaka in 3 bolhe v 20 % razredčitvi WO tobaka. Opaziti je bilo mogoče razliko v stanju preživelih vodnih bolh, namreč vse preživele bolhe v vzorcih OPP tobaka so normalno, živahno plavale, drugače pa je veljalo za vodne bolhe v vzorcih WO tobaka, saj so te večinoma mirovale na dnu posod in tudi na dražljaje so se le delno odzivale.

Zadnje preverjanje vzorcev smo opravili 24 ur po naselitvi vodnih bolh. V tem času so poginile vse vodne bolhe v vseh vzorcih 50 in 40 % razredčitev. Poginile so tudi 4 vodne

bolhe v obeh vzorcih 30 % razredčitve raztopine WO tobaka in 2 v obeh vzorcih 20 % razredčitve WO tobaka. Vse ostale preživele so večinoma mirovale na dnu posodic. Pri OPP tobaku pa je zgodba popolnoma drugačna. V 30% razredčitvah raztopine OPP tobaka so skupaj v obeh vzorcih poginile 4 vodne bolhe, preostalih 6 pa je upočasnjeno plavalo v posodicah. V 20 in 10 % razredčitvah raztopine OPP tobaka pa je v obeh vzorcih vseh 5 vodnih bolh zelo živahno plavalo in niso kazale nobenih znakov zastrupitve.

Na podlagi teh ugotovitev smo izračunali vrednosti LC_{50} za obe vrsti tobaka, pri izračunu pa smo zaradi majhnega števila testiranih vodnih bolh moral združiti podatke paralelk, da smo dobili bolj natančne rezultate. Vrednost LC_{50} tobaka WO je bila 140 mg/l, OPP tobaka pa 210 mg/l. Upoštevati moramo, da so tudi ti rezultati zaradi manjšega obsega celotnega eksperimenta zgolj približki in da bi za boljše natančnost morali uporabiti več paralelk z več organizmi. Klub temu, pa lahko v okviru te raziskave potrdimo tudi našo drugo hipotezo: »Vrednost LD_{50} bo pri OPP tobaku višja kot pri tobaku komercialno dostopnih cigaret z najnižjo možno vsebnostjo nikotina.« Vrednost LC_{50} WO tobaka je natanko za $\frac{1}{3}$ nižja od LC_{50} vrednosti OPP tobaka. Glede na rezultate lahko trdimo, da so bile v splošnem raztopine OPP tobaka za vodne bolhe 33,3 % manj strupene kot raztopine WO tobaka.

Ena od možnosti razlage je, da OPP tobak vsebuje manj nikotina kot WO tobak, glede na to, da nikotin deluje kot obramba (insekticid), ki ga rastline tobaka proizvajajo za zaščito pred naravnimi škodljivci, teh pa v našem okolju niso imele. Vseeno mora tudi klima našega podnebja rastlinam dovolj ustrezati, da lahko normalno rastejo in pri tem ne proizvajajo prekomernih količin nikotina. To možnost bi bilo mogoče zelo hitro in cenovno ugodno preveriti s testom obeh vrst tobakov na rednih kadilcih, pri katerem bi morali povedati, kateri od tobakov se jim zdi »močnejši«, vendar pa je ta opcija zaradi pravno legalnih zakonov, ki prepovedujejo ponujanje tobačnih izdelkov z neznano količino nikotina, nemogoča.

Druga možna razlaga je prisotnost/odsotnost različnih aditivov, kot so ojačevalci vonja, okusa, barve, ohranjevalci vlažnosti ipd., ki so posledica kvantitativne proizvodnje velikih tobačnih tovarn. Vsi ti dodatki so lahko sami po sebi nenevarni, vendar v medsebojni prisotnosti tvorijo spojine, ki povečajo toksičnost celotnega tobačnega izdelka in zaradi tega, se je lahko OPP tobak izkazal kot manj strupen kot industrijsko proizveden WO tobak.

S to raziskovalno nalogo ne želimo nikogar spodbujati h kajenju ali iskati zdravega načina kajenja, ki dokazano ne obstaja. Želimo le prikazati, da je OPP tobak lahko tudi ena izmed rešitev za okoljske probleme, kot je onesnaževanje podtalnice, saj je tobačna industrija velik porabnik kemično-sintetičnih sredstev za varstvo rastlin in lahko-topnih mineralnih gnojil. Želimo prikazati, da je OPP tobak vsaj enakovreden, če ne tudi boljši od tobaka, ki je trenutno dostopen v maloprodaji. V ta namen je bil za primerjavo uporabljen kupljen tobak z najnižjo vsebnostjo nikotina, a se je tekom raziskave vseeno izkazal za bolj toksičnega od OPP tobaka. Vse ugotovitve odpirajo nova vprašanja, ki so lahko predmet nadaljnjih bolj specifičnih raziskav.

5 ZAKLJUČEK

- V rod tobak (*Nicotiana*) spada več kot 60 različnih vrst tobaka, od katerih se za potrebe tobačne industrije najbolj uporablja vrsta *Nicotiana tabacum*.
- Tobak sicer uspeva na področjih z višjimi letnimi temperaturami in zadostnimi količinami dežja (S in J Amerika, J Azija, Avstralija) vendar ga lahko gojimo, v toplejši polovici leta, tudi v Sloveniji.
- Rastline tobaka se uporabljajo predvsem zaradi visoke vsebnosti nikotina, ki je nevrotoksin in je bil zaradi svojih lastnosti v preteklosti v uporabi kot insekticid.
- Proizvodnja tobaka poteka v dveh delih; pridelava rastlin tobaka in predelava tobačnih listov.
- Naše ugotovitve kažejo, da je pridelava mogoča tudi brez uporabe kemično-sintetičnih sredstev za varstvo rastlin in lahko-topnih mineralnih gnojil.
- Pridelava je potekala na manjši površini, za bolj natančne ugotovitve pa bi morali izvesti še pridelavo na večji površini.
- Glavna dela predelave sta sušenje in fermentacija, katero smo izvedli v doma izdelanem fermentatorju iz cenovno ugodnih materialov.
- Končni produkt – okolju prijazno proizveden tobak smo s testom strupenosti za organizem *Daphnia magna* primerjali z industrijsko proizvedenim tobakom z najnižjo vsebnostjo nikotina (0,1 mg) znamke WEST One.
- Ugotovili smo, da je OPP tobak za 33,3 % manj toksičen od WO tobaka, vendar je zaradi manjše količine testiranih vzorcev to zgolj približek.
- V nadaljnjih raziskavah bi lahko ugotavljali, s pridobitvijo ustreznih dovoljenj, še odziv ljudi na OPP tobak ter določali natančne vsebnosti različnih kemijskih spojin v OPP tobaku.



Slika 28: OPP tobak, semena tobaka in WO tobak (Foto: V. Delopst)

6 POVZETEK

Tobak je v nekaj desetletjih zasvojil precejšen del družbe, posledice so grozljive tako na področju zdravja ljudi kot tudi onesnaževanja okolja. Poleg tobaka lahko v tobačnih izdelkih najdemo še več sto drugih kemičnih snovi, ki povečajo učinek nikotina pri kajenju in posredno zvišujejo nivo zasvojenosti med posamezniki. Vnos teh kemikalij se začne že pri sami vzgoji rastlin z različnimi umetnimi gnojili in se nadaljuje v predelavi tobačnih listov. Ravno zaradi teh dejstev smo se odločili raziskati okolju prijazno proizvodnjo tobaka.

Na domačem vrtu smo, brez uporabe umetnih gnojil in pesticidov, vzgojili 30 rastlin tobaka vrste *Nicotiana tabacum*, ki se v industriji uporablja za izdelavo tobačnih izdelkov. Ko so rastline dozorele, smo liste posušil in jih fermentirali v fermentatorju domače izdelave. Ugotovili smo, da je v Sloveniji mogoče pridelati in predelati tobak brez uporabe aditivov, ki vplivajo na končni produkt.

Drugi del raziskovanja je bil osredotočen predvsem na primerjavo toksičnosti vodne raztopine tobaka, ki ima nizko vsebnost nikotina in je dostopen v maloprodaji ter toksičnostjo tobaka vzgojenega brez mineralnih gnojil, pesticidov in aditivov. Primerjavo toksičnosti tobaka smo izvedli z ugotavljanjem vpliva na smrtnost vodnih bolh *Daphnia magna*. Naše ugotovitve kažejo, da je OPP tobak v splošnem manj strupen za vodne bolhe kot kupljen WO tobak.

Tobačni izdelki še vedno dominirajo na svetovnem trgu. Naraščajoče povpraševanje po teh izdelkih pa pomeni tudi večjo uporabo umetnih gnojil in pesticidov pri gojenju tobaka in aditivov v predelavi, ki posredno vplivajo na zdravje ljudi in tudi na okolje. Sonaravna proizvodnja tobaka bi lahko pomenila velik korak k izboljšanju obstoječih razmer.

7 ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem:

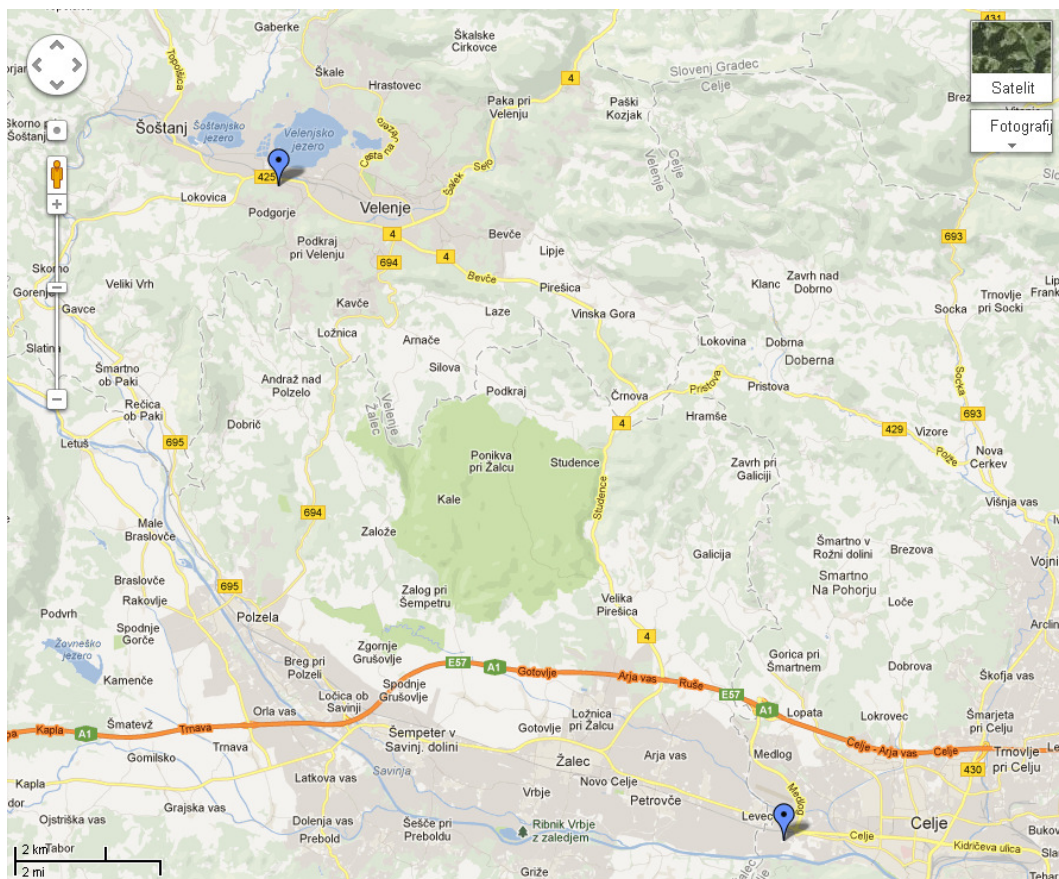
- Mentorici dr. NATAŠI KOPUŠAR za strokovno pomoč, nasvete in vzpodbudo pri delu.
- Podjetju ERICo za dovoljenje izvedbe testiranja v njihovih prostorih z njihovo opremo.
- Staršem in prijateljem, ki so me vzpodbudno podpirali pri raziskovalnem delu.
- KAJI KOSAR za lektoriranje raziskovalne naloge.
- Profesorici NATAŠI MAKOVECKI za pomoč pri prevodu izvlečka v angleški jezik.

8 PRILOGE

Priloga A

Mesto proizvodnje OPP tobaka (zgoraj levo) in mesto izvajanja meritev temperature in vlažnosti zraka (spodaj desno) (stran 24 in 25)

Vir: <https://maps.google.si/maps?hl=sl&tab=w1>



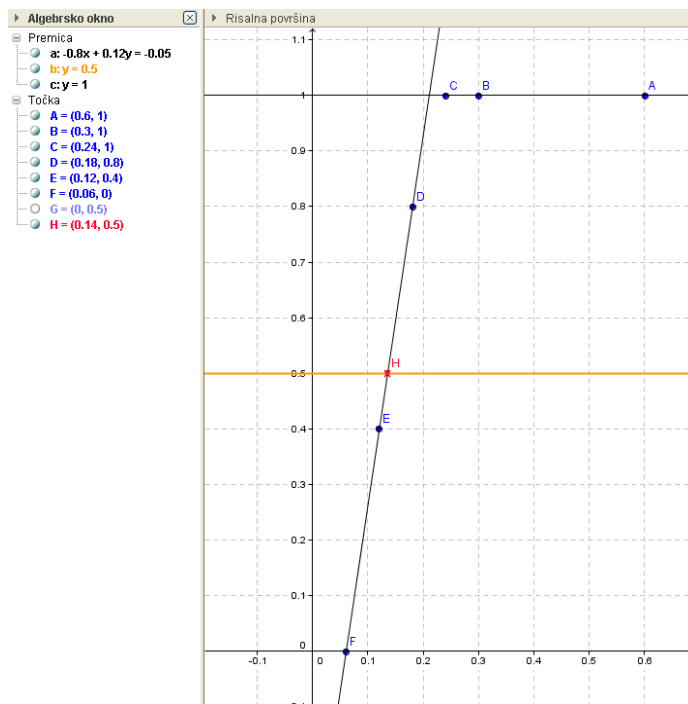
Priloga B

Tabela pH vrednosti vzorcev razredčitev posameznih vodnih raztopin tobaka, za ugotovitev ustreznosti okolja za naselitev vodnih bolh.

Rezredč. [%]	Vzorec	pH	Vzorec	pH	Vzorec	pH	Vzorec	pH
100	WO ₁	7,0	WO ₂	7,0	OPP ₁	6,9	OPP ₂	6,9
75	WO ₁	6,8	WO ₂	6,8	OPP ₁	6,9	OPP ₂	6,9
50	WO ₁	6,7	WO ₂	6,7	OPP ₁	6,9	OPP ₂	6,9
40	WO ₁	6,7	WO ₂	6,7	OPP ₁	6,9	OPP ₂	6,9
30	WO ₁	6,6	WO ₂	6,6	OPP ₁	6,8	OPP ₂	6,8
20	WO ₁	6,8	WO ₂	6,8	OPP ₁	6,9	OPP ₂	6,9
10	WO ₁	6,8	WO ₂	6,8	OPP ₁	6,9	OPP ₂	6,8
0	kontrola	6,9			kontrola	6,9		

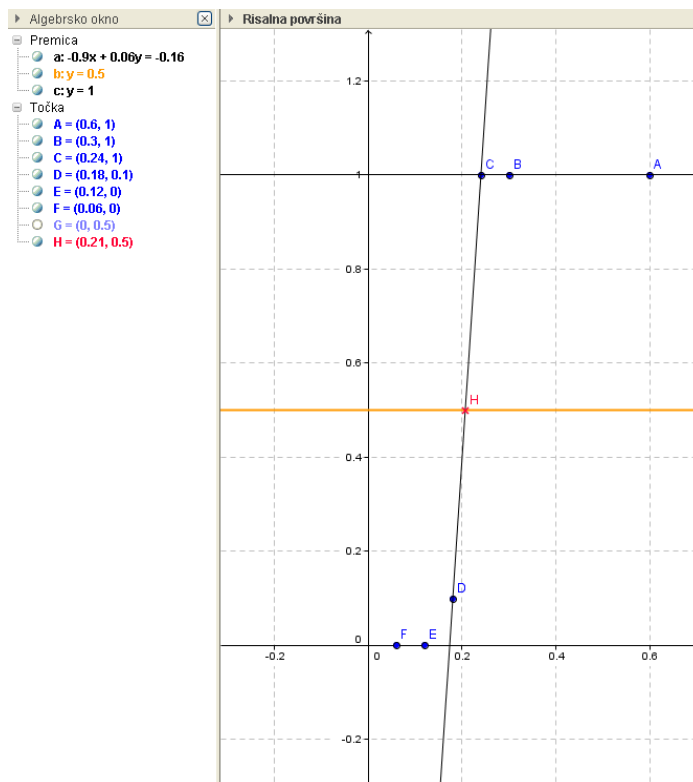
Priloga C

Prikaz LC₅₀ vrednosti West One cigaretnega tobaka v programu GeoGebra



Priloga Č

Prikaz LC₅₀ vrednosti OPP tobaka v programu GeoGebra



9 LITERATURA IN VIRI

- Andrianov V, Borisjuk N, Pogrebnyak N, Brinker A, Dixon J, Spitsin S, Flynn J, Matyszczyk P, Andryszak K, Laurelli M, Golovkin M, Koprowski H. 2010. Tobacco as a production platform for biofuel: overexpression of Arabidopsis DGAT and LEC2 genes increases accumulation and shifts the composition of lipids in green biomass. *Plant Biotech J* 8.
- Bohinc P., Koren lečen koren strupen, Državna založba Slovenije, Ljubljana 1992.
- Cultivation of tobacco http://en.wikipedia.org/wiki/Cultivation_of_tobacco (22. 2. 2013).
- Curing of tobacco http://en.wikipedia.org/wiki/Curing_of_tobacco (22. 2. 2013).
- Eaton A.D., Clesceri L.S., Rice W.E., Greenberg E.A. 2005. Standard methods for the examination of water & wastewater. 21st edition. American Public Health Association, Washington.
- Grayman W.M., Deininger R.A., Males R.M., AWWA Research Foundation. 2001. Biomonitoring of raw water sources. V: Design of early and predictive source-water monitoring systems. Awwa Research Foundation and American Water Works Association, Denver.
- ISO 6341; 1996. Water quality- Determination of the inhibition of the mobility of Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea)- Acute toxicity test. International Organisation for Standardisation, Geneva.
- ISO 10706; 2000. Water quality- Determination of long term toxicity of substances to Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea). International Organisation for Standardisation, Geneva.
- Jazbec K. 2011. O ekološki pridelavi in označevanju ekoloških proizvodov http://www.ekoslovenija.si/EKO_SLOVENIJA,,hrana/zdrava_prehrana&showNews=N_EWSLEXKLT5232011141528&cPage=23 (22. 2. 2013).
- Rand M.G.. 1995. Fundamentals of aquatic toxicology. Effects, environmental fate, and risk assesment. 2nd edition. Ecological Services Inc, Florida.
- Ruppert E.E., Barnes R.D. 1994. Crustaceans. V: Invertebrate Zoology. 6th edition. Brooks/Cole Pub Co, South Melbourne.
- Smoking and tobacco control monograph no. 9 http://dccps.nci.nih.gov/tcrb/monographs/9/m9_3.PDF (22. 2. 2013).
- Starting and growing tobacco from seeds http://www.newhopeseed.com/tobacco_growing.html (22. 2. 2013).

- Tobacco leaf harvesting, curing and fermenting <http://www.leafonly.com/tobacco-leaf-harvesting-curing-and-fermenting.php> (22. 2. 2013).
- Tobak <http://sl.wikipedia.org/wiki/Tobak> (22. 2. 2013).
- USEPA. 2002. Methods for measuring acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. 5th edition. US Environmental Protection Agency, Office of Water, EPA-821-R-02-012, Washington.

9.1 Viri slik in grafov

Slika 1: http://commons.wikimedia.org/wiki/Nicotiana_tabacum_BlancouseFormat=mobile (22. 2. 2013).

Slika 2: <http://www.pharmaceutical-technology.com/projects/medicago-facility/medicago-facility2.html> (22. 2. 2013).

Slika 3: <http://cigarettesreporter.com/methods-curing-tobacco/> (22. 2. 2013).

Slika 4: <http://cigarettesreporter.com/methods-curing-tobacco/> (22. 2. 2013).

Slika 5: <http://usslave.blogspot.com/2011/03/types-of-tobacco.html> (22. 2. 2013).

Slika 6: <http://fairtradetobacco.com/showthread.php?1193-flue-curing-with-a-POTBELLY-stove-is-it-possible.html> (22. 2. 2013).

Slika 7: <http://fairtradetobacco.com/showthread.php?1193-flue-curing-with-a-POTBELLY-stove-is-it-possible.html> (22. 2. 2013).

Slika 8: <http://cigarettesreporter.com/methods-curing-tobacco/> (22. 2. 2013).

Slika 9: <http://www.reuters.com/article/2012/02/15/ozabs-zimbabwe-tobacco-idAFJ0E81E07720120215> (22. 2. 2013).

Slika 10: <http://www.seedman.com/wkiln.html> (22. 2. 2013).

Slika 11: <http://www.seedman.com/wkiln.htm> (22. 2. 2013).

Slika 12: <http://www.appslabs.com.au/images/Daphnia%20with%20young%201.jpg> (22. 2. 2013).

Graf 1: <http://meteo.arso.gov.si/met/sl/app/webmet/> (22. 2. 2013).

Graf 2: <http://meteo.arso.gov.si/met/sl/app/webmet/> (22. 2. 2013).

Graf 3: <http://meteo.arso.gov.si/met/sl/app/webmet/> (22. 2. 2013).