

OSNOVNA ŠOLA MOZIRJE
ŠOLSKA ULICA 23, 3330 MOZIRJE

MLADI RAZISKOVALCI ZA RAZVOJ ŠALEŠKE DOLINE

RAZISKOVALNA NALOGA

**TEST STRUPENOSTI KLORA NA VODNE BOLHE
(*DAPHNIA MAGNA*)**

Tematsko področje: EKOLOGIJA Z VARSTVOM OKOLJA

Avtorici:

Pia Povše, 8. razred
Ajda Pustinek, 9. razred

Mentorici:

Suzana Pustinek, prof. biol.
mag. Anita Povše, prof. biol. in kem.

Velenje, 2014

Raziskovalna naloga je bila opravljena na Osnovni šoli Mozirje.

Mentorici: Suzana Pustinek, prof. biol.

mag. Anita Povše, prof. biol. in kem.

Datum predavitve:

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD OŠ Mozirje, 2013/2014

KG vodne bolhe / klor / pitna voda / strupenost / strupenostni test

AV POVŠE, Pia / PUSTINEK, Ajda

SA PUSTINEK, Suzana / POVŠE, Anita

KZ 3330 Mozirje, SLO, Šolska ulica 23

ZA OŠ Mozirje

LI 2014

IN **TEST STRUPENOSTI KLORA NA VODNE BOLHE (*DAPHNIA MAGNA*)**

TD Raziskovalna naloga

OP VIII, 28 s., 6 tab., 1 graf, 12 sl., 15 ref.

IJ SL

JI sl

AI Vodne bolhe (*Daphnia magna*) se pogosto uporabljajo kot testni organizmi za določanje strupenosti odpadnih vod. V raziskavi so bile vodne bolhe uporabljene kot testni organizmi za določanje vsebnosti klora v pitni vodi. Biološki test je bil izveden na 8-ih vzorcih vod in na 4-ih vzorcih dodatno klorirane destilirane vode. Klor v vodi je bil določen s setom za določanje klora Chlorine 2. Mejna koncentracija, pri kateri je ostalo 50 % vodnih bolh negibnih po 24-ih urah izpostavljanja vodi, je bila 0,1 mg/l celokupnega klora. Vse vodne bolhe so preživele v vodi iz naravnega izvira in v prefiltrirani vodovodni vodi. Ker se je v raziskavi pokazalo, da se vodne bolhe negativno odzovejo že na zelo nizke koncentracije klora v vodi, bi jih lahko uporabljali tudi za takšne teste.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND OŠ Mozirje, 2013/2014

CX *Daphnia magna* / chlorine / drinking water / toxicity / toxicity test

AU POVŠE, Pia / PUSTINEK, Ajda

AA PUSTINEK, Suzana / POVŠE, Anita

PP 3330 Mozirje, SLO, Šolska ulica 23

PB OŠ Mozirje

PY 2014

TI **THE TEST OF CHLORINE TOXICITY ON *DAPHNIA MAGNA***

DT RESEARCH WORK

NO VIII, 28 p., 6 tab., 1 graf, 12 fig., 15 ref.

LA SL

AL sl / en

AB *Daphnia magna* is the species generally used as test organisms for toxicity of wasted water. In research *Daphnia magna* was used as test organisms for determination of chlorine content in drinking water. The biological test was performed on 8 samples of water and 4 samples of chlorinated distilled water. Chlorine in water was determined with a set Chlorine 2. 0,1 mg/l total chlorine was the limited concentration in which 50% of *Daphnia magna* was immobilised after 24 hours of water exposure. All tested organisms survived in a sample of natural spring and filtrated tap water. *Daphnia magna* is very sensitive species to chlorine so it can also be used for many toxicity tests.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO TABEL.....	VI
KAZALO GRAFOV	VI
KAZALO SLIK.....	VII
SEZNAM OKRAJŠAV.....	VIII
1 UVOD.....	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 VODNE BOLHE	2
2.1.1 Zgradba telesa	2
2.1.2 Razmnoževanje	3
2.1.3 Ekologija.....	4
2.2 BIOLOŠKI TESTI STRUPENOSTI.....	4
2.3 STRUPENOST	6
2.4 STRUPENOSTNI TEST NA VODNE BOLHE	7
3 METODE DELA	9
3.1 GOJENJE VODNIH BOLH	9
3.2 IZBIRA VZORCEV VOD	10
3.3 DOLOČANJE KONCENTRACIJE KLORA S SETOM ZA DOLOČANJE KLORA	10
3.4 MERJENJE pH	12
3.5 TEST STRUPENOSTI KLORA NA VODNE BOLHE	12
4 REZULTATI	14
4.1 REZULTATI MERITEV pH IN CELOKUPNEGA KLORA V VZORCIH VOD	14
4.2 REZULTATI TESTA STRUPENOSTI KLORA NA VODNE BOLHE	15
5 DISKUSIJA	17
6 ZAKLJUČEK.....	23
7 POVZETEK	24
8 A SUMMARY.....	25
9 ZAHVALA.....	26
10 LITERATURA	27

KAZALO TABEL

TABELA 1: KOLIČINE REAGENTOV ZA PRIPRAVO HRANILNE RAZTOPINE.....	7
TABELA 2: IZBRANE VRSTE VOD.....	10
TABELA 3: REZULTATI MERITEV pH IN CELOKUPNEGA KLORA V RAZLIČNIH VZORCIH VOD.	14
TABELA 4: REZULTATI MERITEV pH IN CELOKUPNEGA KLORA RAZLIČNIH DODATNO KLORIRANIH VOD.	15
TABELA 5: ŠTEVILO GIBLJIVIH VODNIH BOLH V RAZLIČNIH VZORCIH VOD.	16
TABELA 6: ŠTEVILO GIBLJIVIH IN PROCENT NEGIBNIH VODNIH BOLH GLEDE NA KONCENTRACIJO CELOKUPNEGA KLORA.	20

KAZALO GRAFOV

GRAF 1: DELEŽ NEGIBNIH VODNIH BOLH V ODVISNOSTI OD KONCENTRACIJE CELOKUPNEGA KLORA.	21
--	----

KAZALO SLIK

SLIKA 1: VODNA BOLHA <i>DAPHNIA MAGNA</i> (FOTO: E. OJSTERŠEK).	2
SLIKA 2: ZGRADBA TELESA VODNE BOLHE (ZGRADBA TELESA, 2014).	3
SLIKA 3: SAMICA NOSI JAJČECA V VALILNIKU MED KOŠEM IN TRUPOM (SAMICA ..., 2014).....	4
SLIKA 4: KOT TESTNI ORGANIZEM ZA CELINSKE VODE SE UPORABLJA TUDI MALA VODNA LEČA (LEMNA MINOR) (MALA VODNA LEČA, 2014).....	5
SLIKA 5: STEKLENICE ZA RAZREDČEVALNE RAZTOPINE (LOBNIK, 2013).	8
SLIKA 6: GOJENJE VODNIH BOLH (FOTO: P. POVŠE).	9
SLIKA 7: SET ZA DOLOČANJE KLORA CHLORINE 2 (FOTO: P. POVŠE).	11
SLIKA 8: MERJENJE pH Z ELEKTRONSKIM pH METROM (FOTO: A. PUSTINEK).	12
SLIKA 9: IZPOSTAVLJANJE VODNIH BOLH RAZLIČNIM VZORCEM VODE (FOTO: A. PUSTINEK). ..	13
SLIKA 10: VODNE BOLHE V GOJITVENEM AKVARIJU (GOJENJE, 2014).	17
SLIKA 11: BARVNA LESTVICA ZA DOLOČANJE CELOKUPNEGA KLORA V VZORCU (FOTO: P. POVŠE).	19
SLIKA 12: VODNA BOLHA V ZELO KLORIRANI VODI ZAČNE RAZPADATI (FOTO: E. OJSTERŠEK). 20	

SEZNAM OKRAJŠAV

OŠ	Osnovna šola
in sod.	in sodelavci
npr.	na primer
oz.	oziroma
mg/l	miligrami na liter

1 UVOD

Voda je pomemben del življenja, vendar pa ni vseeno kakšno vodo pijemo. Vodovodna voda je navadno večkrat testirana, hkrati pa je tudi klorirana, zaradi česar ni uporabna v vsakršne namene. Nekateri organizmi ne prenesejo klora ali pa je lahko za njih celo strupen.

Kvaliteto vode lahko preverjamo s fizikalno-kemijskimi analizami in z biološkimi testi. Ekotoksikologija je veda o strupenostnih učinkih snovi na celotno biosfero. Ekotoksikološki testi so biološki testi, ki nam omogočajo ugotoviti ali je določeno okolje strupeno za žive organizme. Za testiranje strupenosti v izbranem okolju lahko izberemo različne organizme. Strupenost snovi v vodi lahko določamo z bakterijami, algami, višjimi rastlinami, ribami, vodnimi bolhami in drugimi organizmi.

Z raziskavo sva želeli ugotoviti vpliv klora v pitni vodi na vodne bolhe (*Daphnia magna*). Želeli sva določiti mejno koncentracijo klora, v kateri vodne bolhe še preživijo. V ta namen sva pripravili vode z različno koncentracijo klora in izvedli test strupenosti klora na vodne bolhe. Biološki test z vodnimi bolhami sva izvedli tudi na pitnih vodah iz različnih virov.

HIPOTEZE:

- ~ Že najmanjša koncentracija klora v vodi pobije vodne bolhe.
- ~ V vodovodni vodi bo ostala večina vodnih bolh normalno gibljivih.
- ~ V destilirani vodi bodo ostale vodne bolhe normalno gibljive.
- ~ Z vodnimi bolhami lahko dokažemo prisotnost že zelo nizkih koncentracij klora v vodi.
- ~ Vodne bolhe so primerni testni organizmi za določanje koncentracij klora v pitni vodi.

2 PREGLED OBJAV

2.1 VODNE BOLHE

Vodne bolhe (*Cladocera*) so red rakov, ki ga uvrščamo v primitiven razred *Branchiopoda*, sestavlja pa ga blizu 1000 danes živečih opisanih vrst, kar je približno polovica vseh znanih vrst *Branchiopodov*. Nekatere vrste so zelo pogoste in razširjene po vsem svetu, med njimi so najbolj znane tiste iz rodu *Daphnia* (Vodne bolhe, 2013).

Po trenutno sprejeti klasifikaciji delimo red v štiri podredove, te v enajst družin, družine pa nato v 80 rodov. Za Slovenijo je znanih okrog 50 vrst. Med pogostejšimi so steklasta vodna bolha (*Daphnia hyalina*), navadna vodna bolha (*Daphnia pulex*) in velika vodna bolha (*Daphnia magna*), vse iz skupine filtratorskih vrst; plenilske so v slovenskih sladkih vodah redkejše (Vodne bolhe, 2013).

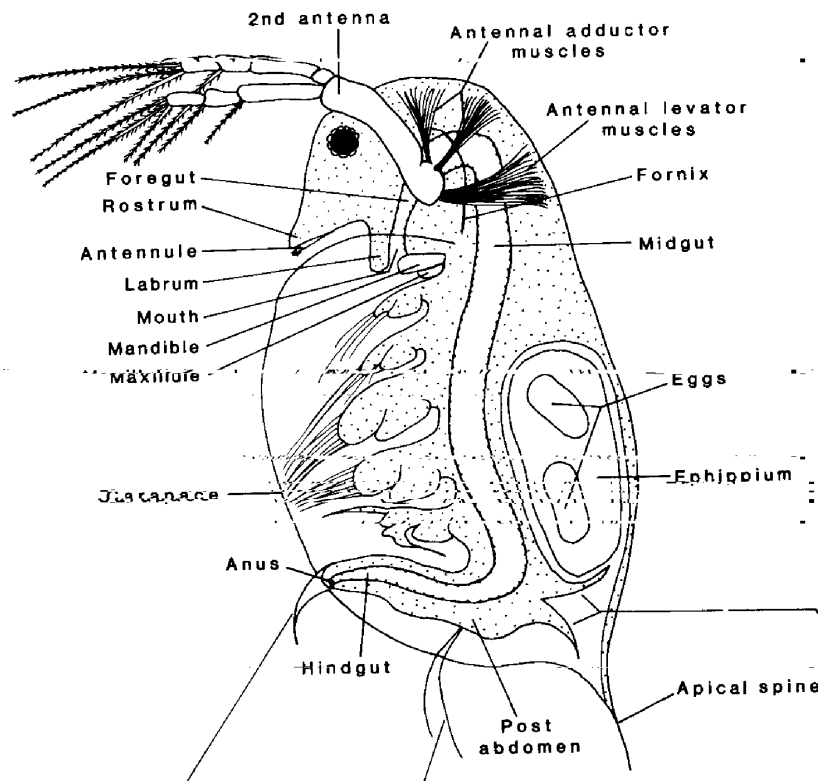


Slika 1: Vodna bolha *Daphnia magna* (Foto: E. Ojsteršek).

2.1.1 Zgradba telesa

Vodne bolhe dosegajo milimeterske velikosti, le malokrat pa se zgodi, da je bolha večja od 1cm. Njihov trup povsem obdaja dvoloputast karapaks, iz katerega moli le glava. Na zadnji strani je navadno podaljšan v trn. Vodne bolhe imajo le eno samo sestavljeno oko, ki leži na sredi glave. Imajo od 5-6 parov okončin, ki ne sodelujejo pri premikanju. Pri premikanju sodelujejo velike razvejane tipalnice. Pri primitivnejših vrstah so noge med seboj enake in nosijo listaste škrge, bolj specializirane vrste pa imajo nekatere od njih prilagojene za določen namen - filtriranje vode ali grabljenje plena. Telo je brezbarvno in prosojno; pigmentirano je samo oko (Vodne bolhe, 2013).

Za vodne bolhe je značilna ciklomorfoza, to je spreminjanje telesne oblike zaporednih generacij. Ta se največkrat pojavi ob prisotnosti plenilcev v okolju. Med ciklomorfozo se navadno daljšata in spet krajšata kapucasti izrastek na glavi in koševa končna ost. Rast bodic sproža prisotnost plenilskih žuželčjih ličink. Podaljšani izrastki so dobra obramba, saj plenilskim ličinkam močno otežujejo požiranje plena (Marc, 2013).



Slika 2: Zgradba telesa vodne bolhe (Zgradba telesa, 2014).

2.1.2 Razmnoževanje

Vodne bolhe se večinoma razmnožujejo nespolno - partenogenetsko. Ličinke, vse ličinke so samice, se razvijejo iz neoplojenih oz. diploidnih jajčec ($2n$). Samica jajčeca nosi v valilniku na hrbtu med košem in trupom. To jim omogoča izredno hitro razmnoževanje, seveda pa samo v obdobju, ko imajo dobre pogoje za življenje (Vodne bolhe, 2013).

V naravi se vodne bolhe razmnožujejo tudi spolno. To se dogaja s prehodom letnih časov. Takrat živali doživljajo nekakšen stres oziroma dražljaj, kar je posledica fizikalno kemijskih pogojev v naravi, ki jim narekuje izleganje jajčec. Pri veliki vodni bolhi so te spremembe posledica krajšega dne, pomanjkanja hrane in zgostitve populacije. Iz pravih haploidnih jajčec se izvalijo samčki, ki nato oplodijo preostala jajčeca in tako se mešanje genov nadaljuje (Sket s sod., 2003).



Slika 3: Samica nosi jajčeca v valilniku med košem in trupom (Samica ..., 2014).

2.1.3 Ekologija

Večina vrst vodnih bolh živi v sladkovodnih ekosistemih, nekatere pa tudi v morjih in oceanih. Po habitatu se ločujejo na planktonske in bentoške, po načinu prehrane pa na filtratorje in plenilce. Največja razlika je, da imajo plenilske vrste veliko bolj razvite oči kot filtratorske. Zaradi hitrega razmnoževanja so precej številčne in posledično tudi pomemben vir hrane za ribe, ličinke žuželk in druge vodne plenilce. To izkoriščajo tudi ribogojci, ki vodne bolhe posebej gojijo za hrano ribam. Vodne bolhe so tudi bioindikatorji za ugotavljanje toksičnosti v vodi raztopljenih snovi ali onesnaženosti, predvsem vrste iz rodu *Daphnia*, ki so najboljše raziskane (Vodne bolhe, 2013).

2.2 BIOLOŠKI TESTI STRUPENOSTI

Kvaliteto vode, sedimenta, tal, hrane ter stanje rastlin in živali merimo s fizikalno-kemijskimi analizami in z ekotoksikološkimi (biološkimi) testi. Ekotoksikologija je veda o strupenostnih učinkih snovi na celotno biosfero ter o usodi snovi v okolju. Ekotoksikološki testi so biološki testi, ki nam omogočajo ugotoviti, ali je določeno okolje strupeno za žive organizme. Šele ko ugotovimo strupenost, nadaljujemo z fizikalno-kemijskimi analizami in poiščemo snovi, ki so jo zakrivilo. Poleg tega, da nam tak celosten pristop prihrani veliko časa in denarja, je nujno potreben za ugotovitev dejanskega stanja okolja (Lobnik, 2013).

Rezultat kemijskih analiz so večinoma koncentracije snovi, ki jih primerjamo s predpisanimi mejnimi vrednostmi. Vendar te analize same po sebi ne omogočajo ocene učinkov onesnaževanja na živi svet, saj lahko prihaja do negativnih vplivov tudi, če noben od izmerjenih parametrov ne presega mejnih vrednosti. Razlogov je več:

- a. strupenost lahko povzročajo snovi, ki v kemijsko analizo niso vključene,
- b. snovi, katerih koncentracije ne presegajo mejnih vrednosti, so lahko v medsebojnih kombinacijah ali v določenih okolijskih razmerah izredno strupene,
- c. strupeni so lahko tudi razgradni ali pretvorbeni produkti snovi,
- d. ni jasna količina snovi, ki je biološko dostopna,
- e. ni jasen vpliv na živo naravo,
- f. ob spremembah razmer v okolju lahko pride do aktivacije snovi ali sproščanja snovi akumuliranih v zemlji ali sedimentu v velikih koncentracijah v okolje (Lobnik, 2013).

Z biološkimi testi dobimo hiter, zanesljiv, nedvoumen ter celovit odgovor o škodljivem delovanju toksičnih snovi, zato biotesti že desetletja pridobivajo na pomenu, kot pokazatelji stanja v okolju. Vedno več bioloških testov je mednarodno standardiziranih in so del državnih zakonodaj. Za testiranje strupenosti v izbranem okolju je potrebno vedno izbrati primerno skupino biotestov, ki v najboljšem primeru vključujejo organizme iz različnih trofičnih nivojev: bakterije (npr. *Vibrio fischeri*), alge (celinske vode - *Scenedesmus subspicatus*, morje - *Dunaliella tertiolecta*, morski sediment - *Skeletonema costatum*), višje rastline (*Lemna minor*), nevretenčarji (*Daphnia magna*), vretenčarji (ribe) (Lobnik, 2013).



Slika 4: Kot testni organizem za celinske vode se uporablja tudi mala vodna leča (*Lemna minor*) (Mala vodna leča, 2014).

2.3 *STRUPENOST*

Strupenost oz. toksičnost opredelimo kot lastnost določene kemijske spojine, da v stiku z zunanjo površino oz. notranjostjo organizma povzroči lokalne ali sistemske poškodbe. Glede na čas trajanja so te lahko akutne, subkronične ali kronične. Kdaj je določena spojina za posamezno vrsto organizmov toksična je odvisno od načina kontakta spojine z osebkom, od koncentracije te spojine v okolju ter od pogostosti izpostavitve organizma škodljivemu delovanju določene kemikalije, pa tudi od fizioloških faktorjev posameznika. Navedeni dejavniki določajo vrednosti ti. toksičnih doz (TD) in letalnih doz (LD). Toksične in letalne doze so mejne koncentracije, ki povzročajo smrtnost, karcinogene, neoplastigene in teratogene efekte, kakor tudi druga obolenja pri ljudeh in živalih. Metode, s katero bi lahko določali strupenost na celotnem področju ocenjevanja onesnaženosti okolja, ni. Razviti so testi, ki so primerni za ugotavljanje stanja le v posameznih specifičnih vzorcih. Poznamo teste, ki so uporabni v vodnem okolju, teste za strupenostno stanje onesnaženosti zraka, itd. V monitoringu odpadnih vod najpogosteje uporabljamo strupenostni test na vodne bolhe, ki je standardiziran ter v mnogih državah obvezen del monitoringa odpadnih vod (Lobnik, 2013).

Strupenost je stopnja škodljivega delovanja neke snovi na organizem. Za vse snovi, s katerimi se sreča organizem, velja pravilo, da je pravi odmerek tisti, ki loči zdravilno učinkovino od strupa. To pomeni, da je škoda na organizmih odvisna od koncentracije snovi ter časa izpostavitve. Koncentracije kemikalij v vodi merimo z inštrumenti, strupenost pa lahko ugotovimo samo s testi na živih organizmih, saj naprava, s katero bi merili strupenost, ne obstaja (Jorgensen, 2010). Vsi posamezniki znotraj populacije organizmov se na prisotnost kemikalije v svojem okolju ne odzovejo enako. Odstopanja pri osebkih so opazna tako pri koncentraciji, kot času izpostavitve. Nekateri posamezniki se odzovejo pri nižjih koncentracijah, drugi pri višjih, nekateri prej, nekateri kasneje, nekateri pa sploh ne. Normalna porazdelitev odgovora na kemikalijo ima sigmoidno obliko. To pomeni, da majhen del populacije občuti strupenost že pri najnižjih koncentracijah, drugi pa pri najvišjih. Med tema ekstremoma koncentracij pa se nahaja večina. Zaradi takega odziva organizmov so toksikološki testi izvedeni z določenim razponom koncentracij kemikalije (Jorgensen, 2010).

Teste strupenosti vedno izvajamo v zaprtih sistemih pod laboratorijskimi pogoji. Temperatura in svetloba sta definirani, prostor/medij, v katerem se nahaja testni organizem prav tako (Marc, 2013).

2.4 STRUPENOSTNI TEST NA VODNE BOLHE

Strupenost določamo oz. merimo z reakcijo vodnih bolh na prisotne toksične snovi v okolju. Parameter ki ga merimo je efektivna koncentracija EC_{50} pri kateri je v 24-ih urah imobiliziranih 50% izpostavljenih vodnih bolh. Bolhe, ki po 15 sekundah drezanja ne plavajo (se ne premikajo), upoštevamo kot imobilizirane, kljub temu da premikajo okončine. Na osnovi koncentracije EC_{50} (24h) sklepamo o stanju oz. kakovosti vzorca (Lobnik, 2013).

PRIPRAVA HRANILNE VODE

Za gojenje testnih organizmov se uporablja standardna vodna raztopina. Hranilno raztopino za vodne bolhe pripravimo po mednarodnem standardu (ISO 6341, 1996). Mednarodni standard opisuje metodo za določanje akutne strupenosti na vodni bolhi vrste *Daphnia magna* (*Cladocera*, *Crustacea*) zaradi kemikalij, ki so topne v vodi ali prisotne v obliki suspenzije. Strupenost se lahko določa tudi v prečiščenih ali neprečiščenih izpustih kanalizacije ter površinskih in podzemnih vodah (Marc, 2012).

Tabela 1: Količine reagentov za pripravo hranilne raztopine.

Raztopina	Kemikalije	Koncentracija [g/l]
1	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	117,6
2	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	49,3
3	$NaHCO_3$	25,9
4	KCl	2,3

Redčevalna voda mora imeti $pH 7,8 \pm 0,2$. Za pripravo vseh štirih raztopin in redčevalne vode uporabimo destilirano ali deionizirano vodo. Gojitveni medij pripravimo tako, da damo 5 ml vsake raztopine iz tabele 1 v 0,5 litra destilirane vode in ga nato dopolnimo z destilirano vodo do oznake enega litra. Tako pripravljeno redčevalno raztopino prelijemo v aeracijsko posodo in vanjo za 1 uro potopimo aeracijsko črpalko (*Daphnia magna* ..., 2013).



Slika 5: Steklenice za razredčevalne raztopine (Lobnik, 2013).

Za točno opredelitev strupenosti potrebujemo tudi kontrolo. To je vzporedna testna skupina organizmov, katera ni izpostavljena testni snovi (onesnaževalu). Ostali pogoji izvedbe testa pa ostajajo enaki. Z njo se prepričamo, da osnovni pogoji v testih ne vplivajo na dobljene rezultate (Marc, 2013).

3 METODE DELA

3.1 GOJENJE VODNIH BOLH

Pri pripravi vzorcev za testne organizme sva imeli največ težav s tem, kje kupiti vodne bolhe. Nazadnje sva jih kupili v trgovini Aquareja. Na spletni strani te trgovine sva si temeljito prebrali vse, kar je bilo potrebno vedeti o gojenju. Na vsake 2 dni sva jih hranili z algo *Spirulino*, ki sva jo dali na noževno konico in stresli v vodo. S hrano nisva smeli pretiravati, saj bi v nasprotnem primeru hrana začela gniti in bi vodnim bolham odvzemala kisik, nove vode pa jim nisva mogli nastaviti, ker bi v njej lahko poginile. Vzorce vodnih bolh sva razdelili v dve posodi, ki sva jih postavili na pisalno mizo. Razdelili sva jih zato, ker se pri gojenju vodnih bolh lahko zgodi, da naenkrat pogine cela populacija vodnih bolh. To se nama je v eni od posod tudi naredilo, ampak k sreči sva imeli še drugo, zato sva lahko nemoteno gojili vodne bolhe. Vzdrževali sva temperaturo vode in sicer med 20 in 22 °C.



Slika 6: Gojenje vodnih bolh (Foto: P. Povše).

3.2 IZBIRA VZORCEV VOD

Predvidevali sva, da vode iz različnih virov vsebujejo različno količino klor. Temu primerno sva izbrali vzorce vod.

Tabela 2: Izbrane vrste vod.

ŠT. VZORCA	VZOREC VODE
1	vodovodna voda 1
2	vodovodna voda 2
3	vodovodna voda 3
4	destilirana voda 1
5	voda iz toplotne črpalke
6	voda iz izvira
7	voda iz plastenke
8	prefiltrirana voda

Vzorci vodovodne vode so bili odvzeti iz treh različnih vodovodnih omrežij, in sicer vzorec 1 iz vodovodnega omrežja Gornji Dolič, vzorec 2 iz vodovodnega omrežja v Velenju in vzorec 3 v Mozirju. Analizirali sva tudi kupljeno destilirano vodo in vodo iz toplotne črpalke, saj sva za ta vzorca predvidevali, da ne smeta vsebovati klor. Celokupni klor in pH sva izmerili tudi v vodi iz plastenke in v vodi, ki je bila prefiltrirana skozi Brita filter.

Dodatno sva pripravili še štiri vzorce vod, ki so vsebovali različne koncentracije klor. Te vzorce sva pripravili iz destilirane vode z dodajanjem pripravljenega klorovega granulata za bazene. Granulat vsebuje več kot 50% aktivnega klor, je pH nevtralen in hitro topen. Pripravljeni vzorec sva trikrat redčili, pri čemer sva gledali na to, da je zadnji vzorec vseboval najnižjo možno še določljivo koncentracijo klor.

3.3 DOLOČANJE KONCENTRACIJE KLORA S SETOM ZA DOLOČANJE KLORA

Pri pH vrednosti med 5 in 6 klor reagira z N,N-dietil-1,4-fenildiaminom (DPD) in tvori rdeče/vijolično obarvanje. Ob prisotnosti jodovih ionov se lahko določi vsebnost vsega klor (prostega in vezanega). Test za klor se nahaja v priročnem paketu Chlorine 2 za takojšnjo

uporabo. Območje določitve klora v tem paketu je od 0,1 do 2,0 mg/l vzorca. Paket vsebuje tri posodice, v katerih so različni reagenti, ki jih dodajamo postopno do obarvanja. Ko pride do obarvanja, določimo jakost in odtenek barve ter tako približno določimo vrednost raztopljenega klora v vodi (navodila v paketu Chlorine 2).



Slika 7: Set za določanje klora Chlorine 2 (Foto: P. Povše).

S pomočjo brizge, ki je priložena setu, sva odmerili 5 ml vzorca vode v eno od priloženih čaš. V drugo čašo pa sva dali tri kapljice reagenta Cl₂-1, dodali sva še tri kapljice reagenta Cl₂-2. Celotni zmesi sva dodali še 5 ml vode z brizgalko, zaprli čašo in jo pretresli. Čašo sva nato odprli in jo postavili na krogec označen s črko B na primerjalnem listu, ki je priložen setu in vsebuje barvne lestvice, ki ustrezajo koncentraciji klora. Nad barvo je napisana koncentracija klora, ki jo vsebuje zmes. Na krogec označen s črko A sva postavili prvo čašo. Koncentracijo klora sva določili tako, da sva premikali čaši po lestvici, dokler nisva našli enake oziroma najbolj podobne barve.

OLOČANJE CELOKUPNEGA KLORA V VZORCU

V čašo sva dali tri kapljice reagenta $\text{Cl}_2\text{-3}$ in mu dodali 5 ml vode. Zaprli sva čašo in jo dobro pretresli. Potem sva počakali dve minuti in jo odprli. Čašo sva zopet postavili na oznako B, prvo čašo v kateri pa je bilo 5ml vzorca vode pa na oznako A. S pomočjo primerjalnega lista sva določili količino celokupnega klora.

Po preizkusu sva odpadke izlili v odtok, saj kemikalije niso škodljive za okolje.

3.4 MERJENJE pH

Najprej sva vzorce vod nalili v čaše in izmerili pH. Pri tem sva uporabili elektronski pH merilec.



Slika 8: Merjenje pH z elektronskim pH metrom (Foto: A. Pustinek).

3.5 TEST STRUPENOSTI KLORA NA VODNE BOLHE

Testni organizmi so mlade vodne bolhe, stare do 3 dni. S kapalko sva vsak dan mlade vodne bolhe prestavljali v drugo gojitveno posodo. S tem sva po določenem času dobili genetsko povsem enake vodne bolhe, saj so se le-te razmnoževale partenogenetsko. Dve uri pred začetkom testa sva mlade vodne bolhe še zadnjič nahranili. Med samim testom jih 24 ur nisva hranili.

Od vsakega vzorca vode sva z merilnim valjem odmerili dvakrat po 20 ml vode, ki sva jo nalili v petrijevki. S plastično kapalko sva nato dali v vsako petrijevko po pet mladih vodnih

bolh. Paziti sva morali, da sva z vsakim zajemom bolh zajeli majhno količino vode, da ne bi onesnažili vzorca.

Za vsak vzorec vode sva naredili dve seriji in s tem zagotovili ponovljivost rezultata. Poleg tega sva izvedli tudi kontrolo z vodo, v kateri sva gojili vodne bolhe.

Po štiriindvajsetih urah inkubacije bolh v vzorcih vod sva prešteli gibljive vodne bolhe. Gibljivost je bila definirana kot sposobnost plavanja živali v roku 15 sekund po rahlem tresenju petrijevke. Vodne bolhe, ki se v tem času niso odzivale, so bile opredeljene kot negibne. Negibnost je bila mišljena, tudi če so živali premikale samo antene.

Iz dobljenih rezultatov sva izdelali graf, v katerem sva prikazali odstotek negibnih vodnih bolh v odvisnosti od koncentracije celokupnega klora v vzorcih vod.



Slika 9: Izpostavljanje vodnih bolh različnim vzorcem vode (Foto: A. Pustinek).

4 REZULTATI

4.1 REZULTATI MERITEV pH IN CELOKUPNEGA KLORA V VZORCIH VOD

Vsebnost celokupnega klora je bila najvišja v dveh vzorcih vodovodnih vod, in sicer iz vodovodnega omrežja na območju Velenja in Mozirja. Vse analizirane vode so imele pH v mejah, ki so ustrezne za gojenje vodnih bolh. Najnižji pH je imela prefiltrirana vodovodna voda. Temperature vzorcev vod so bile med 20 in 22⁰ C.

Rezultati meritev so podani v tabeli 3.

Tabela 3: Rezultati meritev pH in celokupnega klora v različnih vzorcih vod.

VZOREC VODE	pH	CELOKUPNI KLOR (mg/l)
VODOVODNA VODA 1	6,4	0,1
VODOVODNA VODA 2	6,3	0,2
VODOVODNA VODA 3	6,5	0,2
DESTILIRANA VODA	6,8	<0,1
VODA IZ TOPLOTNE ČRPALKE	6,7	<0,1
VODA IZ IZVIRA	6,3	<0,1
VODA IZ PLASTENKE	6,1	0,1
PREFILTRIRANA VODA	5,8	<0,1

Tabela 4: Rezultati meritev pH in celokupnega klora različnih dodatno kloriranih vod.

VZOREC VODE	pH	CELOKUPNI KLOR (mg/l)
VZOREC1	2,9	2,0
VZOREC 2	5,6	1,2
VZOREC 3	6,2	0,4
VZOREC 4	6,4	<0,1

Za boljšo primerjavo in pregled sva pripravili tudi dodatno klorirano destilirano vodo. Klorirali sva jo z granulami za kloriranje bazenske vode. Vzorec 1 je imel največjo vsebnost celokupnega klora, in sicer 2,0 mg/l. Z redčenjem sva pripravili različne koncentracije celokupnega klora v vzorcih. S spreminjanjem koncentracije celokupnega klora se je spreminjal tudi pH vzorcev vod. Najnižji pH je imel vzorec 1, ki je imel hkrati tudi največjo vsebnost klora. Takšen pH ni ugoden za gibljivost in preživetje vodnih bolh. Ostali vzorci kloriranih destiliranih vod so imeli pH bolj ugoden za preživetje vodnih bolh, zato sva lahko pri ostalih vzorcih izločili negativen učinek neustreznega pH na samo gibljivost vodnih bolh.

4.2 REZULTATI TESTA STRUPENOSTI KLORA NA VODNE BOLHE

Za vsak vzorec vode sva izvedli test strupenosti v dveh paralelah – petrijevkah. V vsako petrijevko sva dali 20 ml posameznega vzorca vode ter nato dodali 5 približno enako starih in velikih vodnih bolh. Vodne bolhe sva izpostavljali vsakemu vzorcu 24 ur. Po preteku tega časa sva vsako petrijevko na rahlo potresli in prešteli gibljive vodne bolhe v vzorcu. Rezultati testa so podani v tabeli 5.

Za primerjavo sva test strupenosti opravili tudi z razredčevalno tekočino, v kateri sva sicer gojili vodne bolhe. Kot sva pričakovali, so v tej tekočini ostale vse vodne bolhe normalno gibljive.

Tabela 5: Število gibljivih vodnih bolh v različnih vzorcih vod.

VZOREC VODE	ŠTEVILO GIBLJIVIH VODNIH BOLH PETRIJEVKA 1	ŠTEVILO GIBLJIVIH VODNIH BOLH PETRIJEVKA 2
VODOVODNA VODA 1	1	3
VODOVODNA VODA 2	1	2
VODOVODNA VODA 3	1	0
DESTILIRANA VODA	4	4
VODA IZ TOPLOTNE ČRPALKE	2	4
VODA IZ IZVIRA	5	5
VODA IZ PLASTENKE	3	3
PREFILTRIRANA VODA	5	5
VZOREC 1	0	0
VZOREC 2	0	0
VZOREC 3	0	0
VZOREC 4	0	2
RAZREDČEVALNA TEKOČINA	5	5

Najmanj gibljivih vodnih bolh je bilo v vzorcih dodatno klorirane destilirane vode. Prav tako so bili rezultati gibljivosti vodnih bolh slabi tudi za vzorca vodovodne vode 2 in 3. Oba vzorca sta vsebovala 0,2 mg/l celokupnega klora, kar je več kot ostali vzorci vod. Poleg razredčevalne tekočine, sta na gibljivost vodnih bolh najugodnejše vplivala vzorca vode iz izvira in prefiltrirana vodovodna voda, saj so v teh vzorcih ostale gibljive vse vodne bolhe.

5 DISKUSIJA

Biološki testi predstavljajo dobro dopolnilo fizikalno-kemijskim analizam, saj z njimi dobimo zelo hiter in zanesljiv vpogled vplivov škodljivih snovi na okolje in organizme v okolju. Nekatere snovi so lahko za organizme strupene v kombinaciji z drugimi snovmi. Prav tako pa vsak živ organizem drugače reagira na snovi v okolju, zato so biološki testi toliko bolj pomembni.

Z mednarodno standardiziranimi biološkimi testi lahko spremljamo stanje površinskih vod za določitev onesnaženja zaradi kmetijstva, industrije in kanalizacije. Prav tako lahko z njimi spremljamo in ugotavljamo onesnaženje virov pitne vode, pregledujemo strupenost površinskih vod okoli vodnih zajetij, testiramo vstopne in izstopne vode v čistilnih napravah in spremljamo vsebnost strupov v industrijskih vodah. Poleg testiranja vod so biološki testi uporabni tudi za testiranje sedimenta, onesnaženosti zemlje, spremljanje procesov na smetiščih, odkrivanje zakopanih nevarnih odpadkov ipd.



Slika 10: Vodne bolhe v gojitvenem akvariju (Gojenje, 2014).

V monitoringu odpadnih vod najpogosteje uporabljamo strupenostni test na vodne bolhe, ki je standardiziran ter v mnogih državah obvezen del monitoringa odpadnih vod (Lobnik, 2013).

Iz tega je sledila tudi najina odločitev, da uporabiva velike vodne bolhe (*Daphnia magna*) kot testne organizme za določanje koncentracije klora v pitni vodi. Z raziskavo sva želeli določiti tisto koncentracijo celokupnega klora, ki še omogoča preživetje testnih organizmov. Na ta način bi lahko z gojenjem vodnih bolh hitro določili morebitno povečanje klora v pitni vodi. Osnovno predvidevanje je bilo, da pitna voda ne vsebuje drugih onesnažil.

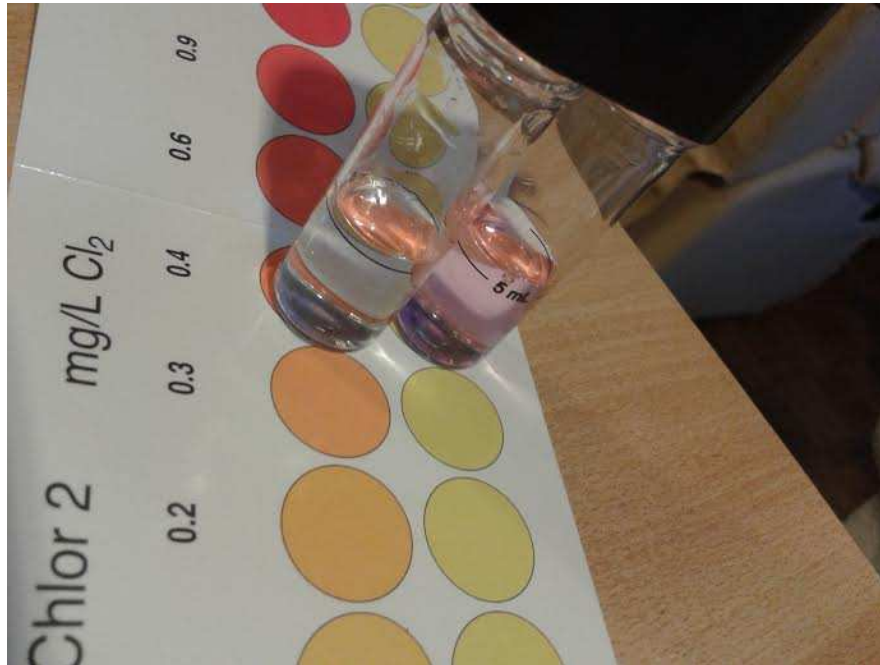
Na prvo oviro sva naleteli že pri nakupu testnih organizmov, saj jih nisva mogli dobiti niti na Biotehniški fakulteti v Ljubljani, niti v različnih trgovinah z malimi živalmi. Nazadnje sva jih dobili v trgovini, ki oskrbuje akvariste. Zahtevno je bilo tudi gojenje vodnih bolh, saj lahko že ob manjših spremembah pogojev poginejo. Gojili sva jih v razredčevalni vodi, ki sva jo dobili skupaj z vodnimi bolhami. Vodne bolhe sva hranili s spirulino, in sicer vsaka dva dni. V času poskusa so bili testni organizmi na stalni temperaturi med 20 in 22°C in postavljeni na osvetljenem prostoru, vendar ne na direktnem soncu.

Za raziskavo sva izbrali tri vzorce vodovodnih vod iz različnih omrežij, za katere sva vedeli, da so zagotovo klorirani. Zaradi primerjave sva izbrali še vzorce vod, ki naj ne bi bili klorirani, in sicer destilirano vodo, vodo iz toplotne črpalke (kondenzirana zračna vlaga), vodo iz plastenke, prefiltrirano vodovodno vodo (filter naj bi po navodilih proizvajalca odstranil klor in ostale snovi) in izvirska vodo. Ker sva želeli ugotoviti, kako višje koncentracije klora vplivajo na gibljivost vodnih bolh, sva pripravili štiri vzorce dodatno klorirane destilirane vode. Zavedava se, da kloriranje pitne vode ne poteka po enakem postopku in z enakimi kemikalijami, kot kloriranje vode za bazene, ki sva ga midve izvedli. Natančnega podatka o načinu kloriranja pitne vode nisva mogli dobiti, saj je tudi na spletnih straneh Nacionalnega inštituta za javno zdravje podana le splošna razlaga.

Za vsak vzorec vode sva izvedli dva primerjalna testa strupenosti z vodnimi bolhami. Zelo pomembno se nama je zdelo, da izvedeva tudi kontrolni test, pri katerem sva v dveh petrijevkah izpostavili vodne bolhe razredčevalni tekočini, v kateri sva jih sicer gojili. Na ta način sva zagotovili pregled nad tem, da ostali pogoji niso vplivali na gibljivost in smrtnost vodnih bolh.

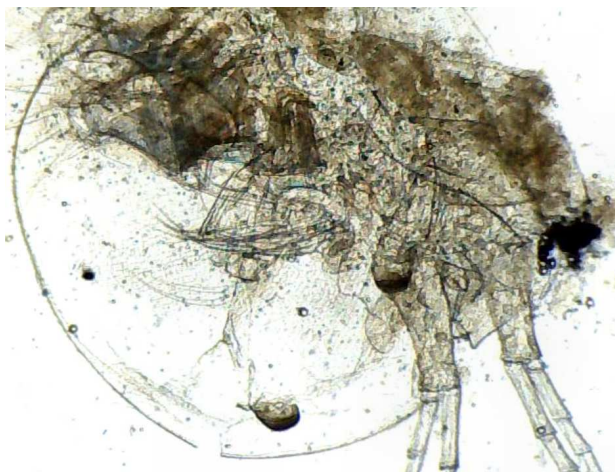
Klor v vzorcih sva določali s setom za določanje klora. Set vsebuje barvno lestvico, s pomočjo katere sva določili koncentracijo klora. Ker se pri tem setu koncentracija klora določa samo s primerjavo barve vzorca in barvne lestvice, se nama zdi, da je tako določena

koncentracija premalo natančna. Za resnejše analize bi bilo nujno določiti celokupni klor z natančnejšimi kemijskimi analizami.



Slika 11: Barvna lestvica za določanje celokupnega klor v vzorcu (Foto: P. Povše).

Po pričakovanjih so vse vodne bolhe poginile v vodah, ki so vsebovale več kot 0,4 mg/l celokupnega klor. V najbolj koncentriranem vzorcu so vodne bolhe začele celo razpadati. Pri tem sva si zastavili vprašanje, kam odteka voda iz javnih bazenov, prav tako pa je zanimivo tudi vprašanje kam izlivajo bazensko vodo lastniki privatnih bazenov. Po priporočilih proizvajalcev klorirnih sredstev je idealna vsebnost klor od 0,6 - 1 mg/l, kar je za vodne bolhe že smrtna koncentracija. Verjetno takšna koncentracija klor negativno vpliva tudi na ostale organizme in okolje.



Slika 12: Vodna bolha v zelo klorirani vodi začne razpadati (Foto: E. Ojsteršek).

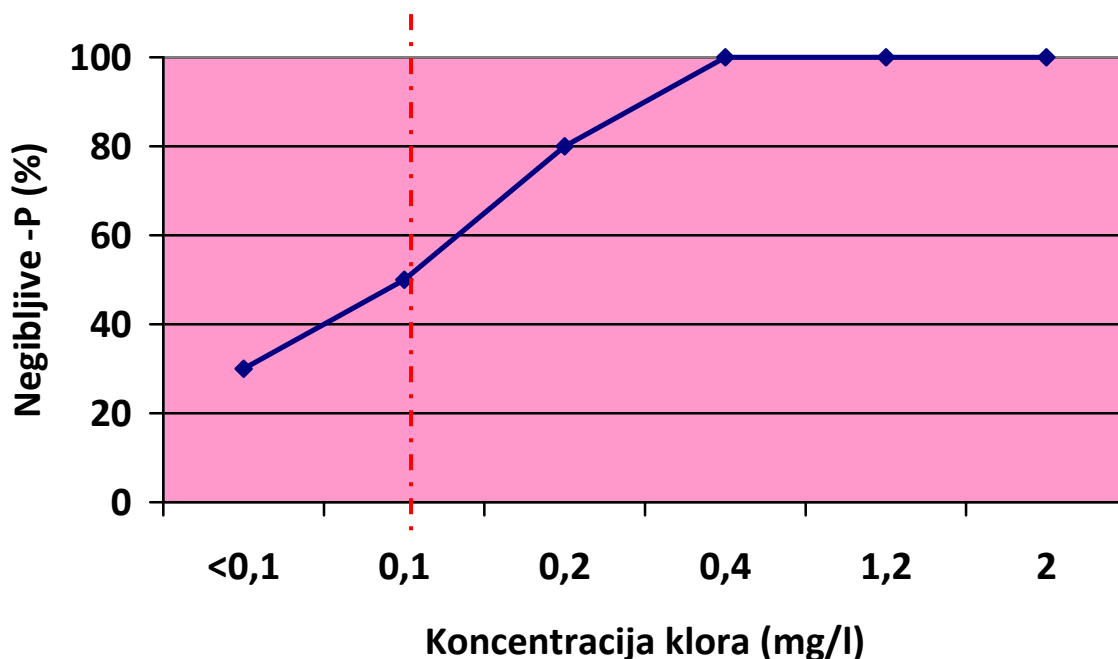
Ugotovili sva, da se z manjšanjem koncentracije celokupnega klora povečuje število preživelih in gibljivih vodnih bolh. Prva koncentracija pri kateri sva opazili gibljive vodne bolhe je bila 0,2 mg klora na liter vode. Efektivna koncentracija EC_{50} pri kateri je ostalo v 24 urah negibljivih 50 % izpostavljenih vodnih bolh, je bila 0,1 mg celokupnega klora na liter vode. To koncentracijo sva določili kot mejno koncentracijo klora za preživetje vodnih bolh. Kot sva pričakovali pa je pri nižji koncentraciji klora preživel bistveno več vodnih bolh. Podatki za primerjavo gibljivosti vodnih bolh s koncentracijo klora so podani v tabeli 6 in grafu 1.

Tabela 6: Število gibljivih in procent negibnih vodnih bolh glede na koncentracijo celokupnega klora.

konc. klora mg/l	Število gibljivih vodnih bolh v petrijevki št.										T	P %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
<0,1	4	4	2	4	5	5	5	5	0	2	3,6	30
0,1	1	3	3	3	/	/	/	/	/	/	2,5	50
0,2	1	2	1	0	/	/	/	/	/	/	1,0	80
0,4	0	0	/	/	/	/	/	/	/	/	0	100
1,2	0	0	/	/	/	/	/	/	/	/	0	100
>2,0	0	0	/	/	/	/	/	/	/	/	0	100

T- število gibljivih vodnih bolh pri vsaki koncentraciji po končanem testu

P - % negibnih vodnih bolh



Graf 1: Delež negibnih vodnih bolh v odvisnosti od koncentracije celokupnega klor.

Na grafu sva z rdečo črto označili mejno koncentracijo EC_{50} , pri kateri po 24 urah preživi 50% testnih organizmov.

V testiranih vodah, ki so imele vsebnost klor manj kot 0,1 mg/l je ostalo gibljivih največ vodnih bolh. Izjema je bila voda, ki sva jo sami pripravili z dodajanjem pripravljenega klorovega granulata. Vzrok je verjetno v tem, da klorov granulata vsebuje še druge snovi, ki so negativno vplivale na vodne bolhe. Kljub pričakovanjem, v destilirani vodi niso ostale gibljive vse vodne bolhe, zato morava ovreči eno hipotezo. Tudi v vodi iz plastenke je ostalo gibljivih le 60 % vodnih bolh. Predvidevava, da ta voda vsebuje tudi nekatere minerale ali pa je bila v tej vodi premajhna koncentracija kisika. Koncentracija kisika v vodi je dejavnik, ki je zelo pomemben za preživetje vodnih bolh, vendar ga nisva mogli meriti, saj nisva imeli ustreznih pripomočkov. Podobno lahko sklepava tudi o vodi iz toplotne črpalke. Ker je to kondenzirana zračna vlaga, ne bi smela vsebovati nobenih drugih onesnažil, prav tako pa tudi ne klor. Zato je za 50 % gibljivost vodnih bolh kriv nek drug dejavnik, po najinih predvidevanjih vsebnost kisika v vodi.

Na procent gibljivih vodnih bolh lahko vpliva tudi pH vode, zato sva pri obdelavi rezultatov upoštevali tudi ta podatek. Voda v kateri sva gojili vodne bolhe je imela pH 6,7, kar je primerljiva vrednost z ostalimi vzorci vod. Zanimivo je, da je imela prefiltrirana vodovodna voda najnižji pH (5,8) vendar so v njej ostale gibljive vse vodne bolhe. Prav tako sva predvidevali, da na rezultate testa z vodnimi bolhami lahko vplivajo tudi drugi minerali v

vodi. Vodovodna voda vsebuje hidrogenkarbonatne ione, voda iz izvira pa lahko vsebuje tudi druge minerale, kot npr. železove spojine.

Iz rezultatov raziskave lahko vidimo, da so vodne bolhe izredno občutljivi organizmi, saj so poginili ali ostali negibni že pri zelo nizkih koncentracijah klora v vodi. Te koncentracije so bile tako nizke, da jih niti človek z vonjem ne more zaznati. Zdi se nama, da bi bilo smiselno preizkusiti teste strupenosti klora tudi na drugih organizmih, kot so alge, vodna leča, triopsi idr. Tudi sami sva želeli uporabiti triopse saj sva v literaturi zasledili, da so zelo občutljivi na klor, vendar jih žal nisva mogli kupiti, ker ni bilo ponudnikov. Problem pri testnih organizmih je, da so občutljivi na zelo veliko zunanjih dejavnikov in da imajo tudi svoj življenjski cikel. Pri vodnih bolhah skrajšanje dneva pomeni signal za prehod na spolno razmnoževanje in odlaganje jajčec, saj se s tem zavarujejo, da v naravi preživijo zimo. V umetnem okolju pa se lahko zgodi, da naenkrat pogine vsa populacija čeprav ne spremenimo nobenih gojitvenih pogojev.

Pri uporabi bioloških testov se nama je odprlo tudi vprašanje o etičnosti takšnih testov. Opravka imamo namreč z živimi organizmi, zato se nama ne zdi prav, da jih izpostavljammo različnim škodljivim vplivom. Mogoče bi bilo najbolje, da se biološki testi izvajajo le na vzorcih, ki so predhodno kemijsko analizirani in so že vnaprej definirani kot neškodljivi. Z biološkimi testi lahko samo še prikažemo dejanski vpliv na žive organizme.

6 ZAKLJUČEK

Biološki testi so zelo uporabni za preverjanje kakovosti in onesnaženosti voda. Obstaja veliko bioloških testov, ki jih je smiselno kombinirati s fizikalno-kemijskimi analizami. Tako dobimo najbolj celosten vpogled na vpliv različnih snovi ali njihovih kombinacij na organizme in biosfero.

Velike vodne bolhe (*Daphnia magna*) se že uporabljajo v monitoringih kot testni organizmi, vendar so standardizirani testi prilagojeni le za analiziranje odpadnih vod. Ker se je v raziskavi pokazalo, da se vodne bolhe negativno odzovejo na zelo nizke koncentracije klora v vodi, bi jih lahko uporabljali tudi za takšne teste.

V kolikor bi takšne teste želeli standardizirati, bi bilo potrebno narediti še podrobnejše fizikalno-kemijske analize in natančnejše meritve vsebnosti klora. Meriti bi bilo potrebno tudi druge parametre, kot so vsebnost kisika, trdota vode, prevodnost vode ipd. Zanimivo bi bilo primerjati tudi odzive drugih bioindikatorjev iz različnih trofičnih nivojev, saj se lahko različno razviti organizmi različno odzivajo na strupene snovi v okolju.

Eden od možnih vidikov uporabe testa strupenosti klora na vodne bolhe je tudi testiranje bazenskih vod pred izpusti v okolje. Poleg velikih, javnih bazenov, se je v zadnjem času močno povečala uporaba manjših, zasebnih bazenov, ki prav tako vsebujejo klorirano vodo. Izpusti te vode v okolje niso kontrolirani, zato se lahko dela večja škoda. Mogoče bi bilo v prihodnje dobro raziskati obseg te težave in morda bodo prav testi z vodnimi bolhami pripomogli k določanju strupenosti odpadne bazenske vode.

Biološki testi z vodnimi bolhami in tudi drugimi bioindikatorji lahko imajo zelo širok spekter uporabe in so lahko za ljudi zelo dober pokazatelj stanja v okolju.

7 POVZETEK

Pitna voda je voda, ki v naravnem ali predelanem stanju vsebuje minimalne količine onesnažil, ki so zdravju povsem neškodljiva. Praviloma velja, da nobena voda brez predhodne obdelave ni pitna. Najpogosteje uporabljen postopek za dezinfekcijo pitne vode je kloriranje. Klor uniči bakterije in nekatere viruse. Po kloriranju ostane v pitni vodi določena koncentracija prostega preostalega klora, ki ga lahko zaznamo z značilnim vonjem po kloru.

Z raziskovalno nalogo sva želeli določiti mejno koncentracijo klora v pitni vodi, v kateri bi lahko testni organizmi ostali normalno gibljivi. V ta namen sva kot testne organizme uporabili vodne bolhe *Daphnia magna*, za katere se je v različnih raziskavah pokazalo, da so občutljive na prisotnost klora v vodi.

Vzeli sva 8 različnih vzorcev vod, ki sva jim s pomočjo seta za določanje klora, določili koncentracijo celokupnega klora v vzorcu. Dodatno sva pripravili različno klorirane vzorce vod. Na vseh vzorcih sva opravili test strupenosti na vodne bolhe. Za primerjavo sva opravili test strupenosti tudi na vzorcu vode, v kateri sva gojili vodne bolhe.

Rezultati raziskave so pokazali, da vodne bolhe preživijo samo ob najmanjši koncentraciji klora. Mejna koncentracija, pri kateri je ostalo 50 % vodnih bolh negibnih po 24-ih urah izpostavljanja vodi, je bila 0,1 mg/l prostega preostalega klora. Zanimivo je, da so vse vodne bolhe preživele v vodi iz naravnega izvira in v prefiltrirani vodovodni vodi.

8 A SUMMARY

Drinking water is water which contains the minimum quantity of harmless pollutants in a natural and processing state. Usually, no water is potable without prior treatment. The most commonly used procedure is chlorination. Chlorine destroys bacteria and viruses. After the chlorination there's a determined concentration of total chlorine which can be detected because of its typical smell of chlorine.

In our research paper we wanted to show a determined concentration of chlorine in which test organisms would stay mobile. We used *Daphnia magna* as test organisms because they are very sensitive on the presence of chlorine in water.

We took 8 different samples of water and we determined concentration of free chlorine with a special set for chlorine determination. We also prepared 4 different samples of chlorinated distilled water. On those samples we did the toxicity test on *Daphnia magna*. We did the toxicity test for the comparison on a sample of water we used to cultivate the *Daphnia magna* in.

The results showed that *Daphnia magna* only survives in the minimum concentration of chlorine. 0,1 mg/l total chlorine was the limited concentration in which 50% of *Daphnia magna* was immobilised after 24 hours of water exposure. It's also interesting that all of the *Daphnia magna* survived in water from natural spring and in filtered tap water.

9 ZAHVALA

Iskreno bi se radi zahvalili najinima mentoricama, mag. Aniti Povše in Suzani Pustinek, za pomoč, svetovanje, podporo in potrpežljivost z nama pri izdelavi raziskovalne naloge. Radi bi se zahvalili tudi prodajalcu, ki nama je prodal vodne bolhe in Evi Ojsteršek za slike, ki jih je za naju naredila s svojim mikroskopom. Učiteljici Saši Karče se zahvaljujemo za pregled angleških prevodov. Na koncu bi se radi zahvalili tudi najinima družinama za podporo pri izdelovanju raziskovalne naloge.

10 LITERATURA

- ~ Coe, M. 1995. Oxfordova ilustrirana enciklopedija žive narave. DZS, Ljubljana.
- ~ *Daphnia magna* acute toxicity test. Laboratory work no. 5. Laboratory of Ecotoxicology and LCA. Department of Environmental Chemistry, ICT Prague (10.9.2013).
- ~ Gojenje vodnih bolh
<http://dudo-kemol.blogspot.com/2011/08/daphnia.html> (1.2.2014).
- ~ ISO 6341. 1996. Water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*) – acute toxicity test. International Organization for Standardization, Geneva.
- ~ Jorgensen, S. E. 2010. Ecotoxicology: A derivative of encyclopedia of ecology. Academic press, Amsterdam: str. 59, 61, 62.
- ~ Kloriranje pitne vode. Nacionalni inštitut za javno zdravje. Pogosta vprašanja o pitni vodi.
<http://www.ivz.si> (12.11.2013).
- ~ Lobnikar, A. 2013. Strupenostni test na vodne bolhe *Daphnia magna*. Okoljska analitika. Navodila za vaje pri predmetu Analizna kemija. Univerza v Mariboru. Fakulteta za strojništvo.
- ~ Mala vodna leča
<http://images.search.conduit.com/ImagePreview/?q=lemna%20minor&ctid=CT2504091&searchsource=15&CUI=UN90192588347078419&start=0&pos=21> (1.2.2014).
- ~ Marc, M. 2012. Strupenost in estrogenost organskih UV – filtrov na vodne organizme. Diplomsko delo. Univerza v Novi Gorici. Fakulteta za znanosti o okolju, Nova Gorica.
- ~ Samica vodne bolhe z jajčeci
en.wikipedia.org (15.1.2014).
- ~ Sket, B., Gogala, M., Kuštor, V. 2003. Živalstvo Slovenije. Tehniška založba Slovenije, Ljubljana: str. 193, 194.

- ~ Tajnšek, T. K., Tkalec, Ž. 2011. Primerjava različnih vrst voda s testom na vodne bolhe. Raziskovalna naloga. Šolski center Celje. Srednja šola za kemijo, elektrotehniko in računalništvo, Celje.
- ~ The direct toxicity assessment of aqueous environmental samples using the juvenile *Daphnia magna* immobilisation test (2007). Methods of the Examination of Waters and Associated Materials. Environment Agency (10.9.2013).
- ~ Vodne bolhe
http://sl.wikipedia.org/wiki/Vodne_bolhe (23.10.2013).
- ~ Zgradba telesa vodne bolhe
m.ztopics.com (15.1.2014).