



Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer  
Prešernova 34, Ljutomer

# TEHNOLOGIJA PRIDELAVE IN PREHRANSKA VREDNOST MLADE LISTNATE ZELENJAVE, GOJENE NA PLAVAJOČEM SISTEMU

RAZISKOVALNA NALOGA

Področje: TEHNIKA IN TEHNOLOGIJA

**Avtorici:**

Ajda Ivezič, 3. b

Daša Žuman, 3. a

**Mentorice:**

Mag. Nina Žuman, prof.

Prof. dr. Nina Kacjan Maršič

Vesna Vrhovski, univ. dipl. biol.

**Leto izdelave:**

2019/2020

Ljutomer, marec 2020

## Kazalo vsebine

POVZETEK .....	4
ABSTRACT .....	4
ZAHVALA .....	5
1. UVOD .....	6
2. TEORETIČNI DEL .....	7
2.1. Hidroponska tehnika gojenja <sup>(1)</sup> .....	7
2.1.1. Prednosti in slabosti hidroponskega (breztalnega) gojenja rastlin <sup>(2)</sup> .....	7
2.2. Rastlinske vrste, ki smo jih uporabili v poskusu .....	8
2.2.1. Rukvica ( <i>Eruca sativa</i> Mill.) .....	8
2.2.1.1. Morfološke in biološke značilnosti .....	8
2.2.1.2. Rastni dejavniki .....	9
2.2.1.2.a. Tla in kolobar <sup>(6)</sup> .....	9
2.2.1.2.b. Temperatura <sup>(2)</sup> .....	9
Za pravilen razvoj rastlin in za zmanjšanje pojava glivičnih obolenj naj bo v pridelovalnem prostoru 60 do 70 % zračne vlage. ....	9
2.2.1.2.c. Vlaga <sup>(3)</sup> .....	9
2.2.1.2.d. Pridelek .....	9
2.2.2. Špinača ( <i>Spinacia oleracea</i> L.) .....	9
2.2.2.1. Morfološke in biološke značilnosti .....	9
2.2.2.2. Rastni dejavniki <sup>(8)</sup> .....	10
2.2.2.2.a. Tla <sup>(8)</sup> .....	10
2.2.2.2.b. Temperatura <sup>(8)</sup> .....	10
2.2.2.2.c. Vlaga <sup>(8)</sup> .....	10
2.2.2.2.d. Pridelek .....	10
2.2.3.1. Morfološke in biološke značilnosti <sup>(9)</sup> .....	10
2.2.3.2. Rastni dejavniki <sup>(10)</sup> .....	10
2.2.3.2.a. Tla <sup>(10)</sup> .....	10
2.2.3.2.b. Temperatura <sup>(10)</sup> .....	10
2.2.3.2.c. Pridelek .....	11
2.3. Vitamin C <sup>(11)</sup> .....	11
2.3.1. Kemijska struktura vitamina C in biosinteza <sup>(12)</sup> .....	11
2.3.2. Dejavniki, ki vplivajo na vsebnost vitamina C v rastlinah <sup>(13)</sup> .....	11
2.4. Glukozinolati .....	12
2.4.1 Funkcija glukozinolatov v rastlinah .....	12
2.5. HPLC – tekočinska kromatografija visoke ločljivosti <sup>(27)</sup> .....	13
3. EKSPERIMENTALNI DEL .....	15
Raziskava je bila izvedena v obdobju od 7. 10. do 5. 12. 2019. Praktična izvedba poskusa je potekala v steklenjaku na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. ....	15
Poskus sva izvajali s tremi rastlinskimi vrstami, in sicer s špinačo ( <i>Spinacia oleracea</i> L.), z rukvico ( <i>Eruca sativa</i> L.) in mizuno ( <i>Brassica rapa</i> var. <i>nipposinica</i> ( <i>japonica</i> )). ....	15
3.1. Datumi opravil v poskusu .....	16
3.2. Priprava plavajočega hidroponskega sistema .....	17
3.3 Priprava hranilne raztopine .....	18
3.4. Svetlobni režim v rastlinjaku .....	18

3.5. Priprava gojenja v šotnem substratu .....	18
3.6. Izvedba meritev .....	19
3.6.1 Priprava mlade listnate zelenjave za analize .....	19
3.7. Določanje vsebnosti vitamina C v mladi listnati zelenjavi .....	21
3.8. Določanje glukozinolatov v listih mizune in rukvice <sup>(28)</sup> .....	23
4. REZULTATI .....	24
4.a Masa rastline, višina rastline in število listov na posamezno rastlinsko vrsto v odvisnosti od načina gojenja .....	24
4.b Pridelek in suha snov za posamezno rastlinsko vrsto v odvisnosti od načina gojenja .....	27
4.c Vsebnost vitamina C za posamezno rastlinsko vrsto v odvisnosti od načina gojenja .....	30
4.d Vsebnost glukozinolatov v listih mizune in listih rukvice .....	31
5. ZAKLJUČEK .....	36
6. VIRI IN LITERATURA .....	38
Viri slik : .....	40

## Kazalo slik

Slika 1: Eruca sativa mill. v fazi rozete <sup>(1)</sup> .....	8
Slika 2: Spinacia oleracea <sup>(2)</sup> .....	9
Slika 3: Brassica rapa var. nipposinica <sup>(3)</sup> .....	10
Slika 4: Prehajanje med I-aa in I-dha <sup>(4)</sup> .....	11
Slika 5: Osnovna struktura glukozinolatov <sup>(6)</sup> .....	12
Slika 6: Shematski prikaz glavnih sestavnih delov visokoločljivostne tekočinske kromatografije (hplc) <sup>(27)</sup> .....	14
Slika 7: Gojitvene plošče s posajenimi semeni špinače, rukvice in mizune .....	15
Slika 8: Sadika mizune, namenjene gojenju na hidroponskem plavajočem sistemu, presajene v mrežasti lonček in obdane s kameno volno .....	15
Slika 9: Gojitvena plošča tik pred presajanjem v mrežaste lončke .....	15
Slika 10: Postavitev mrežastih lončkov v plastična korita za hitrejše ukoreninjenje .....	16
Slika 11: Pripravljeni plavajoči hidroponski sistem .....	17
Slika 12: Naključni izbor z žrebanjem oštevilčenih listkov .....	17
Slika 13: Postavitev lončkov v stiroporno ploščo .....	17
Slika 14: Lončeni podstavki s šotnim substratom in prikaz posaditve mlade listnate zelenjave v substrat .....	18
Slika 15: Rez mlade listnate zelenjave .....	19
Slika 16: Tehtanje v laboratoriju .....	19
Slika 17: Shranjene porezane rastline v označenih vrečkah .....	19
Slika 18: Polno razvita lista mlade listnate zelenjave (špinača) in označena vrečka za sušenje .....	20
Slika 19: Sušenje listov mlade listnate zelenjave v sušilniku .....	20
Slika 20: Vzorci v eksikatorju po sušenju do konstantne mase .....	20
Slika 21: Ponovno tehtanje vzorcev .....	20
Slika 23: Priprava homogene zmesi z metafosforno kislino .....	21
Slika 22: Rezanje mlade listnate zelenjave .....	21
Slika 24: Stresalnik z vzorcem mlade listnate zelenjave v plastični centrifugi .....	22
Slika 25: Centrifuga znamke eppendorf .....	22
Slika 26: Pripravljene viala .....	22
Slika 27: Supernatant nad goščo .....	22
Slika 28: HPLC sistem .....	23

## Kazalo grafov

Graf 1: Temperatura v steklenjaku v času od setve do pobiranja pridelka (7. 10. 2019 do 5. 12. 2019) .....	16
Graf 2: Povprečne vrednosti s standardnimi odkloni za maso rastlin (g), višino rastlin (cm) in število listov na rastlino pri mizuni ( <i>brassica rapa</i> var. <i>nipposinica</i> ( <i>japonica</i> )) gojeni v substratu in na hidroponu. ....	25
Graf 3: Povprečne vrednosti s standardnimi odkloni za maso rastlin (g), višino rastlin (cm) in število listov na rastlino pri špinači ( <i>spinacia oleracea</i> l.) gojeni v substratu in na hidroponu.....	26
Graf 4: Povprečne vrednosti s standardnimi odkloni za maso rastlin (g), višino rastlin (cm) in število listov na rastlino pri rukvici ( <i>eruca sativa</i> l.), gojeni v substratu in na hidroponu. ....	27
Graf 5: Povprečne vrednosti in standardni odklon za pridelok rastlin mizune, špinače in rukvice, v odvisnosti od tehnike gojenja. ....	28
Graf 6: Suha snov za posamezno rastlinsko vrsto v odvisnosti od tehnike gojenja .....	29
Graf 7: Umeritvena krivulja s standardi za vitamin c.....	30
Graf 8: Povprečna vsebnost in standardni odklon vitamina c (mg/100 g sveže mase) v rastlinah mizune, špinače in rukvice, glede na tehniko gojenja. ....	31
Graf 9: Odstotni delež posameznega glukozinolata v listih mizune in rukvice iz različnih pridelovalnih sistemov .....	33
Graf 10: Povprečna vsebnost posameznih glukozinolatov (s pripadajočim odklonom) v listih mizune in rukvice, pridelane na hidroponu in v substratu .....	34
Graf 11: Povprečna vsebnost (in pripadajoča standardna deviacija) za posamezen glukozinolat v rastlinah mizune in rukvice, pridelane na hidroponskem plavajočem sistemu in v substratu .....	35

## Kazalo tabel

Tabela 1: Vsebnost vitamina c v mg/100 g sveže mlade listnate zelenjave po različnih avtorjih .....	11
Tabela 2: Povprečna masa rastline (g), povprečna višina rastlin (cm) in povprečno število listov/rastlino za rastlinsko vrsto mizuna ( <i>brassica rapa</i> var. <i>nipposinica</i> ( <i>japonica</i> )) glede na tehniko gojenja .....	24
Tabela 3: Povprečna masa rastline (g), povprečna višina rastlin (cm) in povprečno število listov/rastlino za rastlinsko vrsto špinača ( <i>spinacia oleracea</i> l.) glede na tehniko gojenja .....	25
Tabela 4: Povprečna masa rastline (g), povprečna višina rastlin (cm) in povprečno število listov/rastlino rastlinske vrste rukvica ( <i>eruca sativa</i> l.) glede na tehniko gojenja .....	26
Tabela 5: Povprečni pridelok za posamezno rastlinsko vrsto v odvisnosti od tehnike gojenja .....	27
Tabela 6: Suha snov (%) za posamezno rastlinsko vrsto v odvisnosti od tehnike gojenja .....	28
Tabela 7: Vsebnost vitamina c v rastlinah mizune, špinače in rukvice(mg/100 g) .....	30
Tabela 8: Vsebnost posameznih glukozinolatov ( $\mu\text{mol/g}$ suhe mase) v listih mizune, pridelane na hidroponskem plavajočem sistemu in v substratu .....	32
Tabela 9: Vsebnost posameznih glukozinolatov ( $\mu\text{mol/g}$ suhe mase) v listih rukvice, pridelane na hidroponskem plavajočem sistemu in v substratu .....	32

## POVZETEK

V raziskovalni nalogi sva na hidroponskem sistemu gojili listnato zelenjavo in izvedli meritve pridelka, vsebnosti suhe snovi in prehransko pomembnih snovi (vitamina C in glukozinolatov) v posamezni rastlinski vrsti glede na način gojenja. Eksperimentalni del raziskave in meritve sva izvedli na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani v jesensko-zimskem obdobju leta 2019. Na hidroponskem sistemu sva gojili tri različne vrste listnate zelenjave: rukvico (*Eruca sativa* Mill.), špinačo (*Spinacia oleracea* L.) in mizuno (*Brassica rapa* var. *nipposinica* (japonica)). Vse tri sva primerjali z gojenjem v šotnem substratu. Na osnovi rezultatov ugotavljamo, da je imela največji pridelek mizuna, pridelana na hidroponu (1,34 kg/m<sup>2</sup>). Ta je bil trikrat večji v primerjavi z gojenjem v substratu. Tudi špinača in rukvica sta imeli na hidroponskem sistemu večji pridelek, kot je bil pridelek v substratu. Pri špinači je bil petkrat večji (0,94 kg/m<sup>2</sup>) in pri rukvici dvakrat večji (0,66 kg/m<sup>2</sup>). V odstotku suhe snovi se rastline niso pomembno razlikovale glede na sistem gojenja. Vsebnost vitamina C je bila pri špinači višja pri pridelavi v substratu, pri križnicah (mizuni in rukvici) pa višja na hidroponu. Sestava glukozinolatov v listih mizune je bila drugačna kot v listih rukvice. Vsebnost glukozinolatov je v listih rastlin, pridelanih v substratu, večja glede na rastline, pridelane na hidroponskem sistemu.

## ABSTRACT

In the research, we grew leafy vegetables using the hydroponic system and then measured the crop yield and the amounts of both dry material and nutrients (vitamin C and glucosinolates) in different plants taking into consideration the growing conditions. The experimental part of the survey and the measurements were carried out at the Biotechnical Faculty of the University of Ljubljana in the autumn and winter of 2019. Three types of leafy vegetables were grown using the hydroponic system: rocket (*Eruca sativa* Mill.), spinach (*Spinacia oleracea* L.) and mizuna – Japanese mustard (*Brassica rapa* var. *nipposinica* (japonica)). All three were compared to those grown in peat substrate. Based on the results, the largest mizuna crop was found to be hydroponic (1.34 kg/m<sup>2</sup>). It was three times more than that grown in substrate. The spinach and rocket yielded more with the hydroponic system than that grown in substrate. For the spinach, it was five times more (0.94 kg/m<sup>2</sup>), and for the rocket it was twice as much (0.66 kg/m<sup>2</sup>). The amount of dry material did not differ much with either system. The vitamin C content was higher in the spinach grown in the substrate, and in the brassicas (mizuna and rocket) it was higher with the hydroponic system. The composition of glucosinolates in mizuna leaves was different from that in rocket leaves. The amount of glucosinolates is higher in the leaves of plants grown in substrate compared to those grown in the hydroponic system.

## ZAHVALA

Za pomoč pri nastajanju raziskovalne naloge se zahvaljujema mentoricama iz Gimnazije Franca Miklošiča Ljutomer, Nini Žuman, profesorici kemije, in Vesni Vrhovski, profesorici biologije. Še posebej bi se zahvalili prof. dr. Nini Kacjan Maršić z oddelka za agronomijo, Katedre za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, ki nama je s strokovnimi nasveti pomagala pri izvedbi raziskave. Prav tako bi se zahvalili še dr. Maji Mikulič Petkovšek za odlično razlago delovanja HPLC, prof. dr. Tomažu Polaku pa za pomoč pri zapleteni analitiki glukozinolatov, Katji Peršak Hajdinjak za lektoriranje raziskovalne naloge ter Saši Pergarju za lektoriranje povzetka v angleškem jeziku.

# 1. UVOD

Za raziskovalno nalogo v okviru projekta SKOZ sva proučevali tehnologijo gojenja mlade listnate zelenjave na plavajočem sistemu in vpliv tovrstnega gojenja na prehransko vrednost treh vrst listnate zelenjave: špinače, mizune in rukvice.

Zanimala naju je uporaba sodobnih postopkov pridelave, kot je hidroponski sistem gojenja, v primerjavi s pridelavo v šotnem substratu. Odločili sva se, da raziščeva in preizkusiva sistem ter ugotoviva, ali se pridelek po količini in prehranski vrednosti razlikuje od klasično pridelane listne zelenjave v zemlji.

Cilj naloge je bil ugotoviti primernost hidroponskega sistema za gojenje listne zelenjave v rastlinjaku tudi v jesensko-zimskem času. V ta namen sva posadili tri vrste zelenjave: rukvico (rukolo), špinačo in mizuno. Prvi dve vrsti sta pri nas že poznani in se že tržno pridelujeta, mizuna pa je novost, ki prihaja iz Azije, kjer jo pridelujejo za tržne namene in samooskrbo na vrtovih. Na osnovi izmerjenih morfoloških parametrov rastlin in količine pridelane biomase ter ovrednotenih nekaterih kakovostnih parametrov (vsebnost vitamina C, suhe snovi, glukozinolatov), pomembnih s prehranskega stališča, smo želeli ugotoviti razlike glede na sistem pridelave.

## Namen in hipoteze

Namen raziskave je bil ugotoviti, kako različni tehnološki postopki pridelave mlade listnate zelenjave vplivajo na količino pridelka in prehransko vrednost špinače, rukvice in mizune.

**Hipoteza 1:** Na hidroponu bo glede na substrat rastlina bolje uspevala (večji pridelek, več listov, večje rastline), saj bodo hranila ves čas na voljo.

**Hipoteza 2:** Vsebnost suhe snovi v listih rastlin, ki bodo rasle na hidroponu, bo manjša kot pri rastlinah, pridelanih v substratu.

**Hipoteza 3:** Rastline, ki bodo rasle na hidroponu, bodo vsebovale več prehransko pomembnih snovi, kot je npr. vitamin C, v primerjavi z rastlinami, pridelanimi v substratu.

**Hipoteza 4:** Rastlinski vrsti mizuna in rukvica se razlikujeta v sestavi posameznih glukozinolatov.

**Hipoteza 5:** Vsebnost glukozinolatov v listih mizune ni enaka vsebnosti glukozinolatov v listih rukvice.

**Hipoteza 6:** Vsebnost glukozinolatov bo v listih rastlin, pridelanih v substratu, večja v primerjavi z rastlinami, pridelanimi na hidroponu.

## 2. TEORETIČNI DEL

### 2.1. Hidroponska tehnika gojenja<sup>(1)</sup>

Beseda hidroponika izvira iz dveh grških besed (hydro – voda in ponos – delo).

Plavajoči sistem je ena od hidroponskih tehnik gojenja. Gre za sistem, kjer so rastline posajene v inertnem substratu (kosmiči kamene volne, perlit, glinopor ...) in usidrane na stiroporne (poliestrske) plošče. Te plošče plavajo v plitkih bazenih, ki so napolnjeni s hranilno raztopino, v kateri se razraščajo korenine. V raztopino dovajamo zrak ali samo kisik, da korenine ne propadejo.

Plavajoči sistemi se uporabljajo tudi za gojenje rezane zelenjave, kot npr. motovilca, rukvice, solate berivke, dišavnic itn. Ker gre za mlade rastline, ki jih režemo v juvenilni fazi, ko so rozete visoke približno 10 cm, jih lahko gojimo kar v gojitvenih ploščah, ki so namenjene vzgoji sadik.

Plavajoči sistem ima nekaj prednosti pred klasičnimi načini gojenja solatnic. Na prvem mestu je enostavno vzdrževanje posevka – zalivanje ni potrebno, dognojevanje ni potrebno, saj hranilno raztopino sproti obnavljamo, in kar je zelo pomembno, nimamo težav s plevelom. Rast rastlin je nekoliko hitrejša v primerjavi z gojenjem v tleh ali v organskih substratih ravno zato, ker so hranila lahko dostopna in rastlina nima težav z občasnim pomanjkanjem ali viškom vode. Spravilo rastline je lahko delovno prijaznejše, ker rastlin ne režemo pri tleh, ampak jih lahko z gojitvenimi ploščami dvignemo na višino delovnih miz, kjer jih porežemo. Listi niso umazani, pomembno pa je, da zelenjavo takoj po spravilu – rezanju, spravimo v ustrezno embalažo. Listna zelenjava, ki je gojena na plavajočem sistemu, vsebuje praviloma več vode oz. ima manj sušine od zelenjave, gojene v tleh.

Plavajoči sistem velja za enega cenejših hidroponskih načinov gojenja, saj je investicija manjša kot pri agregatnih sistemih. V slučaju izpada elektrike, okvare kompresorja ali podobno so posledice manj usodne za rastline, pH raztopine se ohranja dalj časa, ker je volumen raztopine relativno velik, rokovanje z rastlinami je lažje, saj jih lahko vzamemo iz raztopine – prestavimo, izmerimo, porežemo in postavimo nazaj na sistem.

#### 2.1.1. Prednosti in slabosti hidroponskega (breztalnega) gojenja rastlin<sup>(2)</sup>

Prednosti hidroponskega gojenja rastlin:

- rastline lahko gojimo tudi tam, kjer zemlja ni primerna za rast ali je onesnažena,
- visoka intenzivnost pridelovanja,
- manj naporno delo pri obdelovanju, kultiviranju, razkuževanju, zalivanju,
- manjša uporaba zaščitnih sredstev,
- pri hidroponskem pridelovanju porabimo manj vode kot pri klasičnem,
- nadzorovano in usklajeno dodajanje hranil glede na razvoj in potrebe rastline,
- kolobarjenje ni potrebno,
- sistemi so prilagodljivi in primerni tudi za ljubiteljsko gojenje zelenjadnic in okrasnih rastlin.

Pomanjkljivosti hidroponskega pridelovanja:

- visoki začetni stroški,



- potrebne so izkušnje in znanje pri opravljanju del,
- bolezni in škodljivci se lahko hitro razširijo,
- koristnih mikroorganizmov, ki živijo v zemlji, v inertnih substratih ni,
- rastline, ki rastejo v hidroponskem sistemu, reagirajo na dobre in ravno tako na slabe rastne razmere hitreje kot rastline, gojene na klasičen način,
- rastline, ki so na razpolago, niso vedno primerne za hidroponsko gojenje.

## 2.2. Rastlinske vrste, ki smo jih uporabili v poskusu

### 2.2.1. Rukvica (*Eruca sativa* Mill.)

#### Sistematika rukvice

Oddelek:	SPERMATHOPHYTA – semenovke
Pododdelek:	ANGIOSPERMAE – kritosemenke
Razred:	DICOTYLEDONEAE – dvokaličnice
Družina:	BRASSICACEAE – križnice
Rod:	ERUCA – rukvica
Vrsta:	SATIVA – navadna



Slika 1: *Eruca sativa* Mill. v fazi rozete<sup>(1)</sup>

#### 2.2.1.1. Morfološke in biološke značilnosti

Navadna rukvica (*Eruca sativa* Mill.) spada v družino križnic, za katero je značilno, da imajo cvetovi štiri venčne in štiri čašne liste, ki so navzkrižno nameščeni.<sup>(3)</sup>

Je enoletna, sredozemska, zelната rastlina, ki ima značilen, divji rukvici podoben vonj. Njeno steblo je pokončno, robato in v zgornjem delu razraslo. Liste ima nameščene radialno in so podolgovati, v spodnjem delu lirasto narezani. Cela rastlina je dlakava (pokrita z drobnimi dlačicami). Cvetovi so beli ali rumenkasti z vijoličastimi žilicami in so podobni cvetom njivske redkve. Seme je rumeno rjavo ali rahlo rdečkasto, okroglo ali jajčasto, veliko 1,5 do 2 mm.<sup>(4)</sup>

Značilen vonj in okus rukvici dajejo glukozinolati oz. njihovi razgradni produkti, ki so največkrat izotiocianati. V listih rukvice med glukozinolati prevladuje 4-merkaptobutil glukozinolat, v manjši količini pa so prisotni tudi 4-metiltiobutil (glukoaurucin), 4-metilsulfinilbutil (glukorafanin), 5-metiltiopentil in drugi. Ob hidrolizi le-teh pa nastanejo odgovarjajoči izotiocianati.<sup>(5)</sup>

Intenzivnost okusa je v veliki meri odvisna od okoljskih razmer, v katerih so rastline rasle. Značilno je, da so listi rastlin, ki so rasle v toplejših razmerah, bolj pikantni kot listi rastlin, ki so se razvijali ob nižjih temperaturah. Velja tudi, da je okus pri starejših listih močnejši kot pri mlajših. Ob kuhanju listi hitro izgubijo značilen okus, zato so za pripravo kuhanih jedi primernejši starejši listi. Poleg naštetih snovi, ki so odgovorne za okus in vonj rukvice, listi rukvice vsebujejo tudi razmeroma veliko vitamina C (100 do 200 mg/100 g), železa (5 in več mg/100 g) in vlaknin (0,9 g/100 g).<sup>(5)</sup>

Za razliko od listov je v semenu rukvice daleč najbolj zastopan glukozinolat glukoaurucin (več kot 90 % vseh glukozinolatov). Delež glukoaurucina je visok tudi v mladih poganjkih (okoli 80 % vseh

glukozinolatov) rukvice, medtem ko je v odraslih listih njegov delež v skupni količini glukozinolatov veliko manjši.<sup>(5)</sup>

### **2.2.1.2. Rastni dejavniki**

#### 2.2.1.2.a. Tla in kolobar<sup>(6)</sup>

Rukvica je glede tal manj zahtevna vrtnina (raste v skoraj vseh tipih tal), uspešno jo lahko pridelamo na tleh, ki so dobro oskrbljene z organsko snovjo in kalcijem ter so nevtralne s pH vrednostjo med 6,5 do 7,5.

Posevek rukvice lahko zasnujemo tudi z vzgojo sadik. V takem primeru seme rukvice posejemo v gojitvene plošče in sadike presadimo na zaprte hidroponske sisteme ali na gredice, pokrite s črno folijo. Rukvico gojimo tudi v gojitvenih ploščah kot semi-hidroponsko obliko pridelovanja.

#### 2.2.1.2.b. Temperatura<sup>(2)</sup>

Rukvica za vznik in rast potrebuje naslednje temperature:

- za vznik – najnižja temperatura 5 do 6 °C, optimalna od 20 do 25°C.
- za rast – najnižja temperatura 5 do 6 °C, optimalna od 16 do 24°C.

Za pravilen razvoj rastlin in za zmanjšanje pojava glivičnih obolenj naj bo v pridelovalnem prostoru 60 do 70 % zračne vlage.

#### 2.2.1.2.c. Vlaga<sup>(3)</sup>

Pri pomanjkanju vlage so listi izredno aromatični, dišijo po mandeljnih in so tudi bolj dlakavi, kot če rastejo pri primerni vlagi. Pri primerni osvetlitvi se rastline dobro razvijajo, če pa ni dovolj svetlobe, so listi bolj nežni in pretegnjeni, v njih je manj arome.

#### 2.2.1.2.d. Pridelek

Po obliki in zunanem videzu so rastline rukvice podobne rastlinam motovilca, zato lahko tudi pričakujemo, da bo pridelek rukvice podoben pridelku motovilca, to je 0,6–1,0 kg/m<sup>2</sup>.<sup>(7)</sup>

## **2.2.2. Špinača (*Spinacia oleracea* L.)**

### **Sistematika špinače**

Oddelek:	SPERMATHOPHYTA – semenovke
Pododdelek:	ANGIOSPERMAE – kritosemenke
Razred:	DICOTYLEDONEAE – dvokaličnice
Družina:	CHENOPODIACEAE – metlikovke
Rod:	SPINACIA
Vrsta:	OLERACEA



Slika 2: *Spinacia oleracea* <sup>(2)</sup>

### **2.2.2.1. Morfološke in biološke značilnosti**

Špinača je enoletna listnata rastlina. Pridelujemo jo zaradi srednje velikih svetlo do temnozelenih, delno mesnatih listov, ki se razvijajo na nizkem, skrajšanem stebelu.<sup>(2)</sup>

V špinacnih listih je okoli 60 mg/100 g vitamina C, 5 mg/100g vitamina A in drugih vitaminov (kot so B1, B2, B6). Ne smemo je jesti čezmerno, ker je v njej precej kalcijevega oksalata, ki lahko povzroči oksalurijo (čezmerno izločanje oksalne kisline v obliki kristalov kalcijevega oksalata).<sup>(7)</sup>

#### **2.2.2.2. Rastni dejavniki<sup>(8)</sup>**

##### 2.2.2.2.a. Tla<sup>(8)</sup>

Če pridelujemo špinaco v tleh, izberemo globoka ter plodna tla z rahlo kislo do nevtralnimi pH, in sicer od 6,5 do 7,5. V primeru večje kislosti je potrebno apnenje. Za setev špinace izberemo zemljišče na sončnih legah. Na njih dosegamo kvalitetnejše pridelke z manjšo vsebnostjo nitratov v primerjavi s senčnimi legami.

##### 2.2.2.2.b. Temperatura<sup>(8)</sup>

Špinaca je toplotno manj zahtevna vrtnina. Za vznik in rast potrebuje naslednje temperature:

- za vznik – najnižja temperatura 4 °C, optimalna od 20 do 30°C.
- za rast – najnižja temperatura 2 do 4 °C, optimalna od 15 do 18°C

##### 2.2.2.2.c. Vlaga<sup>(8)</sup>

Dobro rast ter dobre pridelke dosežemo pri vlažnosti tal s 60 do 70-odstotno poljsko kapaciteto tal z vodo ter pri 80 do 85-odstotni relativni zračni vlagi.

##### 2.2.2.2.d. Priderek

Priderek špinace je med 1,8–2,0 kg/m<sup>2</sup>.<sup>(8)</sup>

### **2.2.3. Mizuna (*Brassica rapa* var. *nipposinica* (japonica))**

#### **Sistematika Mizuna**

Oddelek: SPERMATHOPHYTA – semenovke  
Pododdelek: ANGIOSPERMAE – kritosemenke  
Razred: DICOTYLEDONEAE – dvokaličnice  
Družina: BRASSICACEAE – križnice  
Rod: BRASSICA  
Vrsta: RAPA varieteta *nipposinica* (japonica)



Slika 3: *Brassica rapa* var. *Nipposinica* <sup>(3)</sup>

#### **2.2.3.1. Morfološke in biološke značilnosti<sup>(9)</sup>**

Mizuna je listnata zelenjadnica, ki oblikuje velike rozete, sestavljene iz med seboj lepo ločenih listov. Listi imajo močno urezano listno ploskev in so veliki do 25 cm, rozete pa lahko v višino zrastejo do 23 cm in v širino 45 cm.

#### **2.2.3.2. Rastni dejavniki<sup>(10)</sup>**

##### 2.2.3.2.a. Tla<sup>(10)</sup>

Sejati jo je potrebno v rodovitno, dobro prerahljano zemljo. Glede na to, za kaj se bo rastlina uporabljala oz. v kateri razvojni fazi se bo obirala, se seje v različne razmake v vrsti.

##### 2.2.3.2.b. Temperatura<sup>(10)</sup>

Najbolje uspeva v hladnejšem vremenu, zato se jo seje zgodaj spomladi in pobira pred poletjem ali pa se jo seje konec poletja in pobira jeseni in zgodaj pozimi. Rastlina prenese tudi nižje

temperature, zato se v zimskem času prideluje v visokih tunelih, toplih gredah ali neogrevanih rastlinjakih.

### 2.2.3.2. c. Pridelek

Pridelek lahko vrednotimo enako kot za špinačo, to je 1,8–2,0 kg/m<sup>2</sup>.<sup>(7)</sup>

## 2.3. Vitamin C<sup>(11)</sup>

Vitamin C ali askorbinska kislina spada med vodotopne vitamine in je od vseh vodotopnih vitaminov najboljši antioksidant, ki pa ga naše telo ni sposobno sintetizirati, zato ga je potrebno v telo vnesti s primerno izbiro hrane. Vsebnost vitamina C v sadju in zelenjavi je odvisna od vrste sadja ali zelenjave, sorte, klimatskih razmer, stopnje zrelosti in genetskega izvora.

### 2.3.1. Kemijska struktura vitamina C in biosinteza<sup>(12)</sup>

Vitamin C je obstojen v dveh oblikah, in sicer kot L-askorbinska kislina (L-AA), ki je močan reducent, in kot L-dehidroaskorbinska kislina (L-DHA), ki je oksidirana oblika L-AA. Reverzibilna oksidacijsko-redukcijska reakcija med L-AA in L-DHA je pomembna fizikalno-kemijska lastnost vitamina C. Pogoj za realizacijo pretvorbe sta prisotnost toplote in kisika ali pa pri pretvorbi iz ene v drugo obliko sodelujejo encimi (slika 4).



Slika 4: Prehajanje med L-AA in L-DHA<sup>(4)</sup>

### 2.3.2. Dejavniki, ki vplivajo na vsebnost vitamina C v rastlinah<sup>(13)</sup>

Vitamin C je ena od pomembnejših spojin, ki vplivajo na prehransko kakovost zelenjave in sadja. Njegova vsebnost se razlikuje glede na vrsto in sorto rastline, rastno sezono, glede na klimatske razmere, zrelost, način obiranja, postopke predelave, intenziteto svetlobe in načina pridelave ter skladiščenja. Višje koncentracije vitamina C v zelenjavi najdemo pri večji intenziteti svetlobe v času rasti ter manjši uporabi dušikovih gnojil. Askorbinska kislina se sintetizira iz sladkorjev, ki nastanejo v procesu fotosinteze, zato zunanji deli sadja in zelenjave, ki so izpostavljeni večji intenziteti svetlobe, vsebujejo več vitamina C kot notranji deli. Raziskave so pokazale, da visoka stopnja uporabe dušikovih gnojil zmanjšuje vsebnost vitamina C pri mnogih pridelkih. Pri rastlinah nastane vitamin C najpogosteje iz D-glukoze z več zaporednimi encimskimi reakcijami.

Vrsta listnate zelenjave	Vitamin C sveže zelenjave (FW) v mg/100 g
Špinača	53 <sup>(3)</sup>
Rukvica	110–190 <sup>(3)</sup>
Mizuna	60 <sup>(14)</sup>

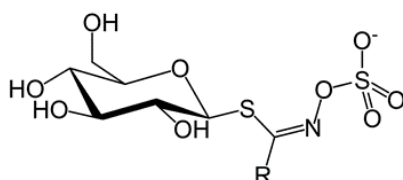
Tabela 1: Vsebnost vitamina C v mg/100 g sveže mlade listnate zelenjave po različnih avtorjih

## 2.4. Glukozinolati

V naravi je bilo identificiranih in iz rastlinskih tkiv izoliranih ter opisanih več kot 120 različnih glukozinolatov,<sup>(15)(18)</sup> ki imajo zelo heterogeno kemijsko zgradbo. Za vse je značilna osnovna struktura, ki vsebuje  $\beta$ -tioglukozno skupino, žveplo oksin in različne stranske verige. Zaradi kompleksne kemijske zgradbe avtorji glukozinolate razvrščajo po različnih kriterijih. Spadajo med sekundarne metabolite, ki vsebujejo dušik in izvirajo iz aminokislin.<sup>(17)</sup>

Glukozinolati so najbolj poznani sekundarni metaboliti v rastlinah, ki vsebujejo žveplo. V zadnjem obdobju se jim posveča veliko pozornosti, saj imajo njihovi razgradni produkti veliko pozitivnih učinkov na človeški organizem, kot je na primer močna antikancerogena aktivnost. Najdemo jih izključno v dvokaličnicah, z najvišjimi koncentracijami v družinah Resedaceae, Capparidaceae in Brassicaceae.<sup>(15)</sup>

Glukozinolati imajo zelo podobno osnovno strukturo, ki je sestavljena iz  $\beta$ -D-glukopiranoznega ostanka, povezanega preko žvepla na (Z)-cis-N-hidroksiaminosulfatni ester, z zelo heterogeno kemijsko zgradbo. Med seboj se razlikujejo po različni stranski verigi (R), ki je lahko ena izmed mnogih aminokislin.



Slika 5: Osnovna struktura glukozinolatov<sup>(5)</sup>

Na podlagi R-skupine jih delimo v tri osnovne kategorije: alifatske, indolne (heterociklične) in aromatske, oziroma še nekoliko podrobneje po kemijski strukturi stranskih verig: veriga z žveplom, alifatska ravna veriga, alifatska razvejana veriga, olefinska veriga z ravno oziroma razvejano strukturo ali s hidroksilno skupino, alifatska ravna ali razvejana veriga s strukturo alkohola, alifatska ravna veriga z okso skupino, aromatska veriga, hidroksi alkilna veriga, indolna veriga ter večkrat glikozilirana veriga in druge.<sup>(15)(19)</sup>

Vsebnost glukozinolatov daje značilen okus vsem križnicam, pridelanim za namen solat, kot je na primer rukvica (vrste Eruca in Diplotaxis), ki vsebuje 4-metiltiobutil glukozinolat.<sup>(15)</sup>

### 2.4.1 Funkcija glukozinolatov v rastlinah

Vsebnost glukozinolatov v tkivih zelenjave iz rodu Brassica je približno 1 % suhe mase,<sup>(15)(20)</sup> vendar se lahko približa tudi 10 % v semenih nekaterih rastlin, v katerih glukozinolati lahko predstavljajo polovico vsega žvepla, ki je v semenu.<sup>(15)</sup>

Na vsebnost glukozinolatov v vrtninah vpliva več dejavnikov. Njihova vsebnost je odvisna od vrste in sorte rastline, vrste tal, vremenskih razmer med rastjo, stresnih dejavnikov, kot sta pomanjkanje vode in gostota setve, in od načina pridelovanja ter drugih dejavnikov.<sup>(3)</sup>

Glukozinolati so v vseh delih rastlin, vendar v različnih količinah. Največ jih je v semenih in brstih.<sup>(21)</sup> Večino skupnih glukozinolatov v vseh rastlinah predstavlja le eden ali štiri značilni glukozinolati, ostali so zastopani v sledovih,<sup>(22)</sup> v eni rastlini pa jih je lahko do 15 različnih. Na vsebnost glukozinolatov vplivajo tudi vrsta tkiva, fiziološka starost in zdravstveno stanje rastlin.

Na vsebnost glukozinolatov v rastlini in razmerja med različnimi vrstami glukozinolatov v posameznih delih rastline vpliva tudi stres, saj lahko infekcije, poškodbe, intenziteta svetlobe, ekstremne temperature in drugi ekološki dejavniki vplivajo na povečanje ali zmanjšanje posameznih glukozinolatov, kar pa istočasno predstavlja zaščito oziroma odgovor rastline na stresne razmere.<sup>(16)(19)(23)</sup>

Poleg značilnih senzoričnih lastnosti (specifičen vonj in pekoč okus) so bili v zadnjih letih hidrolitični produkti glukozinolatov, kot je na primer sulforafan, identificirani kot spojine, odgovorne za znižanje tveganja raka pri ljudeh, ki so uživali hrano, bogato s križnicami.<sup>(16)</sup>

Številne epidemiološke študije, ki povezujejo pojavnost rakavih obolenj z načinom prehranjevanja, so dokazale, da je znižana pogostost raka na različnih organih v pozitivni korelaciji z uživanjem kapusnic oz. njihovih aktivnih komponent.<sup>(24)</sup> Mnoge učinkovine v hrani lahko spremenijo potek kancerogeneze v različnih točkah od deaktivacije primarnih kancerogenov, korektur že okvarjenih celic, popravi poškodovane DNK do potencialnega zaviranja ponovne pojave rakastega obolenja.<sup>(25)</sup>

Mehanizem preventivnega delovanja še vedno ni popolnoma razjasnjen, vendar rezultati raziskav kažejo, da glukozinolati oz. njihovi razgradni produkti lahko uravnavajo aktivnost encimov faze I in II, ki predstavljajo prvo linijo zaščite človeškega organizma pred kancerogeni oz. ksenobiotiki. Poleg tega zavirajo rast tumorskih celic in stimulirajo apoptozo (programirano celično smrt).<sup>(22), (26)</sup>

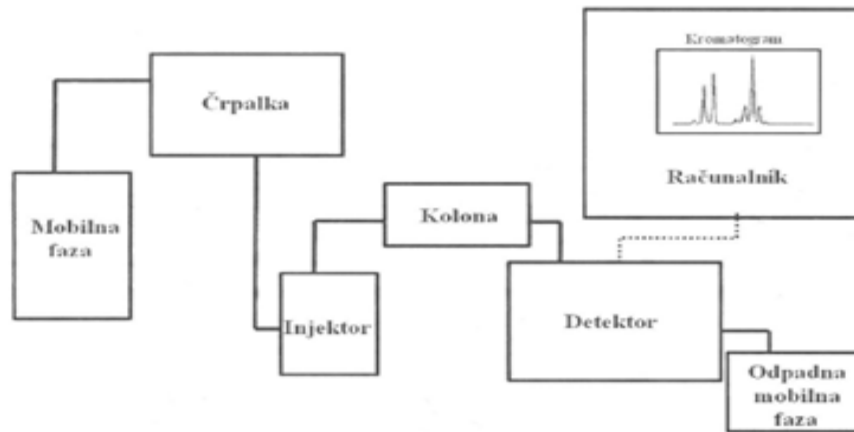
## **2.5. HPLC – tekočinska kromatografija visoke ločljivosti<sup>(27)</sup>**

Omenjena metoda HPLC (High Performance Liquid Chromatography) je danes ena najpomembnejših separacijskih tehnik v analiznih laboratorijih za določevanje različnih snovi v vzorcu.

Kromatografija je fizikalna metoda ločitve posameznih komponent vzorca, ki jih zaznamo z ustreznim detektorjem. Posamezne komponente vzorca se ločijo na osnovi njihovih različnih fizikalnih in kemijskih interakcij z mobilno in s stacionarno fazo. Molekule vzorca na poti skozi kolono pri HPLC prehajajo med mobilno fazo, ki je tekočina majhne viskoznosti, in stacionarno fazo, ki je trdna snov. Mobilna faza potuje skozi stacionarno fazo v določeni smeri. Kromatografski proces, ki pri tem nastaja, je rezultat ponavljajočega se dejanja sorpcije in desorpcije s stacionarno fazo, ki se vrši med potovanjem komponent vzdolž kolone. Do ločitve pride zaradi razlik v porazdelitvenih konstantah posameznih komponent vzorca, ki so posledica različnih termodinamskih lastnosti topljencev. Topljenci, ki imajo večjo afiniteto do mobilne faze, pridejo hitreje iz kolone kot topljenci, ki se dlje časa zadržijo v stacionarni fazi. Močnejše kot so sile med molekulami topljenca in molekulami v stacionarni fazi, počasneje se topljenec eluira. Čas, ko se molekule zadržujejo v mobilni in stacionarni fazi, imenujemo retencijski čas ( $R_t$ ). Ta je za določeno komponento značilen in njegovo vrednost lahko uporabimo pri konstantnem pretoku za njeno identifikacijo.

Zelo pomembna je izbira stacionarne in mobilne faze. Mobilna faza pri tekočinski kromatografiji je tekočina nizke viskoznosti. Stacionarne faze so porozni mikro delci iz različnih snovi. Najpomembnejši so silikagel, hidrooksidi, porozni organski polimeri, lasersko obdelan aluminij in porozni grafit.

Kromatogram iz HPLC separacije vsebuje večje število informacij. Iz števila pikov je mogoče razbrati, koliko različnih snovi je v preiskovalnem vzorcu. V primeru uporabe standardov je možna identifikacija snovi v vzorcu, iz velikosti in površine pika pa se lahko izračuna vsebnost snovi v vzorcu.



Slika 6: Shematski prikaz glavnih sestavnih delov visokoločljivostne tekočinske kromatografije (HPLC)<sup>(27)</sup>



### 3. EKSPERIMENTALNI DEL

Raziskava je bila izvedena v obdobju od 7. 10. do 5. 12. 2019. Praktična izvedba poskusa je potekala v steklenjaku na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Poskus sva izvajali s tremi rastlinskimi vrstami, in sicer s špinačo (*Spinacia oleracea* L.), z rukvico (*Eruca sativa* L.) in mizuno (*Brassica rapa* var. *nipposinica* (japonica)).

Vse tri rastlinske vrste sva posejali v gojitvene plošče velikosti 50 x 32 cm, s 84 setvenimi vdolbinami. Plošče sva napolnili s šotnim substratom Neuhaus N3, ki je primeren za gojenje sadik. V vdolbine sva vstavili po 6–8 semen in jih prekrili s tanko plastjo substrata. Rastline so vzniknile 7 do 8 dni po setvi.



Slika 7: Gojitvene plošče s posajenimi semeni špinače, rukvice in mizune

Osemnajst in enaindvajset dni po setvi (25. in 28. 10. 2019) sva sadike, namenjene gojenju na hidroponskem plavajočem sistemu, presadili v mrežaste lončke velikosti 5 cm (premer) x 7 cm (višina). Pri presajanju sva izvedli redčenje sadik tako, da sva v posamezen mrežast lonček posadili po 6 zdravih sadik in jih obdali z kameno volno (Grodan, Danska).



Slika 8: Sadika mizune, namenjene gojenju na hidroponskem plavajočem sistemu, presajene v mrežasti lonček in obdane s kameno volno



Slika 9: Gojitvena plošča tik pred presajanjem v mrež



Za boljše ukoreninjenje sva lončke zložili v plastična korita, v katerih je bila voda z raztopljenimi hranilnimi snovmi, v 50-odstotni koncentraciji od standardne hranilne raztopine, ki je bila kasneje v bazenu. Tako sva vzpodbudili rast korenin skozi mrežast lonček in razrast le-teh v hranilno raztopino. S tem sva rastline pripravili za kasnejši hidroponski sistem.



Slika 10: Postavitev mrežastih lončkov v plastična korita za hitrejše ukoreninjenje

### 3.1. Datumi opravil v poskusu

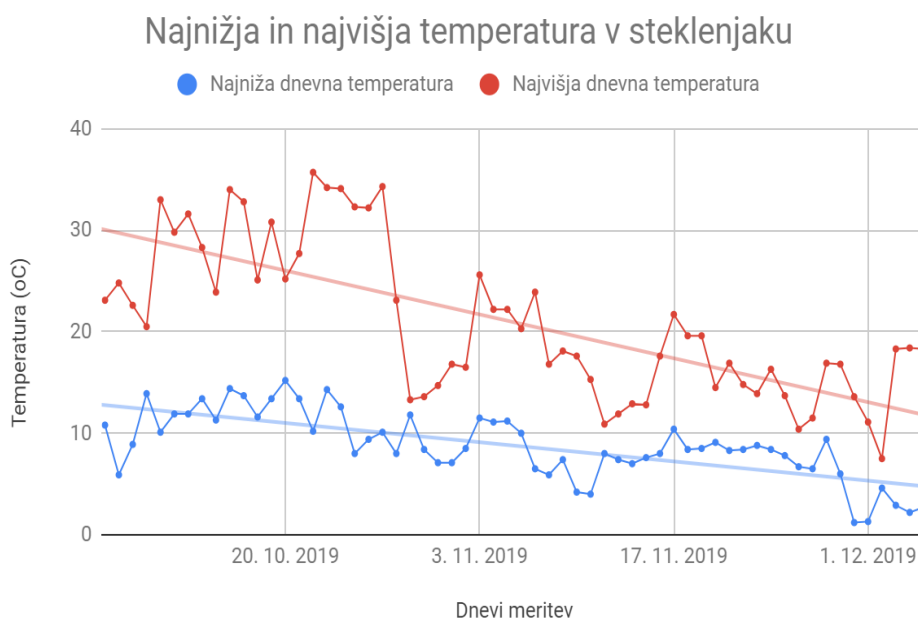
Setev: 7. 10. 2019

Presajanje sadik v mrežaste lončke: 25. in 28. 10. 2019

Postavitev rastlin na sistem: 9. 11. 2019

Pobiranje pridelka: 3. in 5. 12. 2019

Temperatura v rastlinjaku: glej Graf 1



Graf 1: Temperatura v steklenjaku v času od setve do pobiranja pridelka (7. 10. 2019 do 5. 12. 2019)

### 3.2. Priprava plavajočega hidroponskega sistema

Na gojitveni mizi, velikosti 1,5 m (širina) in 10 m (dolžina), smo na sredini mize razprostrli gumirano folijo svetlo modre barve in oblikovali bazen. Folija je segala čez rob mize, ob straneh pa je bila ovita v leseno lato, ki je prestavljala rob bazena. Bazen smo do višine 4 cm napolnili z vodo. Velikost bazena je bila: 1,5 m (širina), 4 m (dolžina) in 4 cm (globina). Skupaj smo tako imeli v bazenu 240 l vode. V vodo smo nato odmerili koncentrat hranilne raztopine, ki smo ga pripravili po recepturi po Reshu (2016) za listnato zelenjavo. V dveh kotih bazena sva postavili še dve črpalki, ki sta hranilno raztopino ves čas poganjali v krogu, tako da je ta krožila po celotnem sistemu. Stiroporne plošče sva postavili na vodno gladino in jih podložili s podstavki, da smo naredili odmik mrežastih loncev od hranilne raztopine in s tem omogočili, da so korenine dobile zrak in tako niso bile cele potopljene v vodo.



Slika 11: Pripravljeni plavajoči hidroponski sistem

V stiroporne plošče, velikosti 1 m x 1,5 m, sva naredili 18 lukenj (po širini na 12,5 cm, po dolžini na 15 cm). Mrežaste lončke s sadikami rukvice, mizune in špinače sva po naključnem izboru postavili v stiroporne plošče. Naključni izbor sva izvedli z žrebanjem oštevilčenih listkov. V vsako ploščo sva postavili 18 lončkov – 6 lončkov je predstavljalo eno rastlinsko vrsto. Poskus smo izvedli v 4 ponovitvah, vsaka stiroporna ploskev je predstavljala eno ponovitev.



Slika 12: Naključni izbor z žrebanjem oštevilčenih listkov



Slika 13: Postavitev lončkov v stiroporno ploščo

### 3.3 Priprava hranilne raztopine

Hranilno raztopino smo skupaj s pedagoško mentorico pripravili iz soli, namenjenih za hidroponiko. Pripravili smo jo po recepturi, ki jo navaja Resh (1999), in je primerna za gojenje listnate zelenjave. Najprej smo pripravili koncentrat, in sicer tako, da smo v eni 10-litrski posodi pripravili raztopino kalcijevega nitrata, raztopino vseh ostalih soli pa v drugi 10-litrski posodi. Koncentrata morata biti ločena med seboj, saj bi prišlo do obarjanja, če bi pomešali koncentrat kalcijevega nitrata s solmi, kot so sulfati in fosfati, tako bi nastal netopen kalcijev sulfat ali kalcijev fosfat. Zato je eno od pomembnih pravil pri pripravi hidroponske hranilne raztopine, da se koncentradi pripravljajo v dveh ločenih posodah (posoda A in posoda B). V prilogi je preglednica z navedenimi solmi, ki smo jih uporabili pri pripravi koncentrata hranilne raztopine. Koncentrat smo pripravili tako, da smo koncentracijo 100-krat povečali. To je pomenilo, da smo v bazen za vsakih 100 l vode dodali po 1 l koncentrata iz posode A in 1 l koncentrata iz posode B. Poleg tega smo dodali tudi mikroelemente, ki smo jih pripravili ravno tako v koncentrirani obliki in na vsakih 100 l vode, v vodo dodali po 100 ml koncentrata mikroelementov. Z merilnim instrumentom za merjenje pH in električne prevodnosti hranil v hranilni raztopini smo izmerili pH in EC. pH je bil med 5 in 6, električna prevodnost pa se je gibala med 1,4 in 1,8 mS/cm (priloga 1).

### 3.4. Svetlobni režim v rastlinjaku

V rastlinjaku smo imeli v času trajanja poskusa vklopljene visokotlačne natrijeve svetilke (HPS), ki imajo moč 400 W in imajo jakost svetlobnega toka med 15 do 20  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ .<sup>(29)</sup> Luči so bile vklopljene 10 ur, 14 ur pa je bila tema.

### 3.5. Priprava gojenja v šotnem substratu

Pripravili sva si tudi 12 lončnih podstavkov, ki sva jih napolnili s šotnim substratom. V vsakem izmed njih pa je bilo po 1 kg le-tega. V posameznem podstavku je bilo 6 sadilnih mest, v vsako sadilno mesto pa so bile posajene po 4 rastline. Podstavke s sadikami sva po naključnem izboru postavili na mizo ob bazen. Rastline v podstavku sva zalili z 1,5 l vode.



Slika 14: Lončni podstavki s šotnim substratom in prikaz posaditve mlade listnate zelenjave v substrat



### 3.6. Izvedba meritev

#### 3.6.1 Priprava mlade listnate zelenjave za analize

V tehnološki zrelosti sva pridelek porezali, in sicer po 58 dneh (3. 12. 2019) mizuno in rukvico, in po 60 dneh (5. 12. 2019) špinačo. Pridelek s posameznega sadilnega mesta substrata in hidropona sva dali v vrečko. Za eno rastlinsko vrsto, ki je rasla na hidroponu/substratu, sva napolnili po 6 vrečk za vsako ponovitev (torej 24 vrečk). Skupaj sva tako imeli 3 rastlinske vrste, pri vsaki 6 sadilnih mest in 4 ponovitve, kar zneso 72 vrečk (Slika 20). Enako sva v 72 vrečk dali pridelek, pobran s sadilnih mest rastlin, ki so rasle v substratu. Vrečke s pridelkom sva nato odnesli v laboratorij. Tam sva pridelek stehali, izmerili višino ter prešteli število listov posamezne rastline (št. pravih in zakrnelih listov).



Slika 15: Rez mlade listnate zelenjave



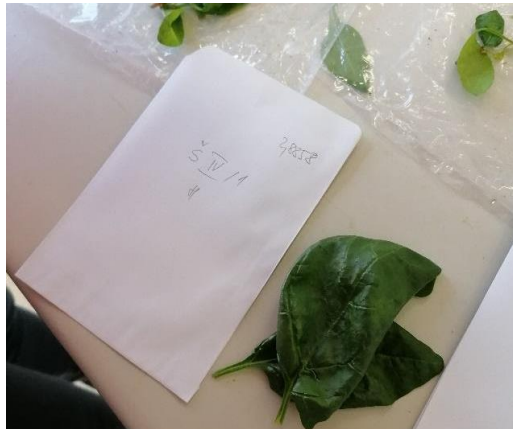
Slika 16: Tehtanje v laboratoriju



Slika 17: Shranjene porezane rastline v označenih vrečkah

Za določitev vsebnosti suhe snovi sva vsaki rastlini odrezali dva polno razvita lista, ju stehali na analizni tehtnici in dali v papirnato vrečko. Vsaka vrečka je bila označena tako, da je na njej pisala vsebina vzorca in masa prazne vrečke ter polne vrečke. Te vrečke sva nato v sušilniku sušili na

105 °C do konstantne teže. Po sušenju sva vzorce ohladili v eksikatorju (slika 23), saj bi drugače rastlinski vzorci ponovno vsrkali vlago. Ohlajene vzorce sva po sušenju ponovno tehtali. Stehtali sva maso polne suhe vrečke (masa vrečke in suhe snovi), nato odšteli maso prazne vrečke in izračunali maso suhe snovi.



Slika 18: Polno razvita lista mlade listnate zelenjave (špinača) in označena vrečka za sušenje



Slika 19: Sušenje listov mlade listnate zelenjave v sušilniku



Slika 20: Vzorci v eksikatorju po sušenju do konstantne mase



Slika 21: Ponovno tehtanje vzorcev

### 3.7. Določanje vsebnosti vitamina C v mladi listnati zelenjavi

Vitamin C v mladi listnati zelenjavi zaščitimo pred oksidacijo z dodatkom 2-odstotne metafosforne kisline ( $\text{HPO}_3$ ) ter njeno vsebnost določimo z uporabo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (HPLC).

#### Priprava 2-odstotne metafosforne kisline

Zatehtamo 20 g  $\text{HPO}_3$ , katere kristale smo zdrobili v terilnici. Zatehtano snov dodamo v čašo, v kateri je že 400 ml destilirane vode, dobro premešamo in kvantitativno prenesemo v 1000-mililitrsko bučko in jo z destilirano vodo dopolnimo do oznake.

Mlado listnato zelenjavo narežemo s keramičnim nožem in zatehtamo približno 1,8 g na analizni tehtnici znamke KERN. Nato jo prenesemo v terilnico in takoj zalijemo z 8 ml 2-odstotne metafosforne kisline. Metafosforna kislina deluje kot antioksidant in prepreči oksidacijo, saj se tako askorbinska kislina ne oksidira v dehidroaskorbinsko kislino. Prav tako se oksidacija pospeši, če rastlinsko tkivo režemo s kovino, zato pri rezanju uporabljamo keramični nož, snov prenašamo s plastičnimi spatulami in uporabljamo terilnico.

Mlado listnato zelenjavo, ki smo jo prelili z metafosforno kislino, v terilnici s pestilom zgenetemo v homogeno zmes. Nato homogeno vsebino prenesem v 12-mililitrsko plastično centrifugirko, ki je oštevilčena in dobro zaprta. Nato jo za 30 minut postavimo na stresalnik, da se celoten vitamin C ekstrahira v metafosforno kislino. Postopek ponovimo za vse vzorce mlade listnate zelenjave.



Slika 22: Rezanje mlade listnate zelenjave



Slika 23: Priprava homogene zmesi z metafosforno kislino

Ko je zadnji vzorec na stresalniku 30 minut, pripravljene vzorce vstavimo v centrifugo znamke Eppendorf, ki je ohlajena na 4 °C, centrifugiramo 7 minut z 9000 vrtljajev/minuto.





Slika 24: Stresalnik z vzorcem mlade listnate zelenjave v plastični centrifugi

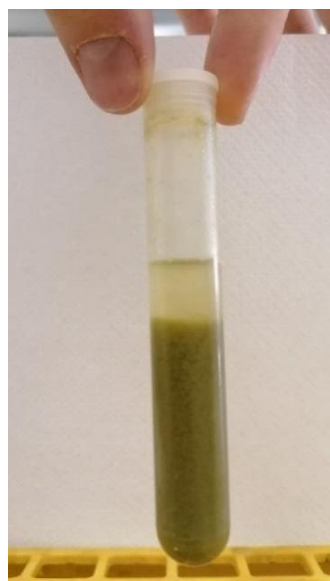


Slika 25: Centrifuga znamke Eppendorf

Po končanem centrifugiranju popolnoma bister supernatant, ki je nad goščo, s pomočjo brizge odvajamo vzorcu in ga prefiltriramo v vialo (1,5 ml), ki je označena z napisom imena vzorca, s pomočjo 0,2  $\mu\text{m}$  filtra (znamke CROMAFIL).



Slika 26: Pripravljene viale



Slika 27: Supernatant nad goščo

Sledila je analiza na HPLC sistemu UltiMate 3000. Temperatura kolone je bila 25  $^{\circ}\text{C}$  in za identifikacijo je bila uporabljena valovna dolžina 245 nm. Vzorci v vialah so bili v avtomatskem vzorčevalcu na temperaturi 10  $^{\circ}\text{C}$  zaradi stabilnosti vzorcev. Pretok mobilne faze je bil 0,6 ml/min. Za mobilno fazo je bila uporabljena 0,004 M žveplova (VI) kislina. Volumen injiciranja 10  $\mu\text{L}$ .



Slika 28: HPLC sistem

### 3.8. Določanje glukozinolatov v listih mizune in rukvice<sup>(28)</sup>

Vzorci listov smo zatehtali v količini ( $4 \pm 0,001$  g) in prelili z 10 ml metanola (MeOH), ki smo mu dodali 1 % mravljinčne kisline (HCOOH) (ohlajen na  $-18$  °C) in homogenizirali z ultraturaxom eno minuto pri 10000 obratih/minuto. Po filtraciji homogenata (filter papir črni trak) smo filtrat prenesli v 1,5 ml mikrocentrifugirko in centrifugirali 10 minut pri 16000 obratih/minuto (Eppendorf mikrocentrifuga 5415 D). Supernatant smo prefiltrirali skozi  $0,45$   $\mu$ m celulozno-acetatni filter v 1,5 ml vialo in še isti dan analizirali z LC/MS.

HPLC analize so bile izvedene s sistemom Agilent 1100 pri temperaturi  $25$  °C. Pri pretoku  $0,25$  ml na minuto in volumnom injiciranju  $10$   $\mu$ L. Za detekcijo je bil uporabljen masni spektrometer Micromass Quattro micro API (Waters) z elektrosprejonizacijo. Detekcija na masnem detektorju je potekala v SIR (Selected Ion Recording) načinu:

sinigrin ([M-H] = 358,20); glukobrazicin ([M-H] = 447,13); neoglukobrazicin ([M-H] = 477,19); 4-hidroksiglukobrazicin ([M-H] = 463,19); glucoalizin ([M-H] = 450,19); progointrin ([M-H] = 388,10); glukobrazikanapin ([M-H] = 386,41); glukonapin ([M-H] = 372,09); glukonasturtin ([M-H] = 422,19); glukonapoleiferin ([M-H] = 402,41).

Vsebnost posameznih glukozinolatov smo določili s primerjavo retenzijskih časov in m/z glukozinolatov v certificiranem referenčnem vzorcu (CRM BCR-367) ter standarda sinigrina (Fluka).



## 4. REZULTATI

### 4.a Masa rastline, višina rastline in število listov na posamezno rastlinsko vrsto v odvisnosti od načina gojenja

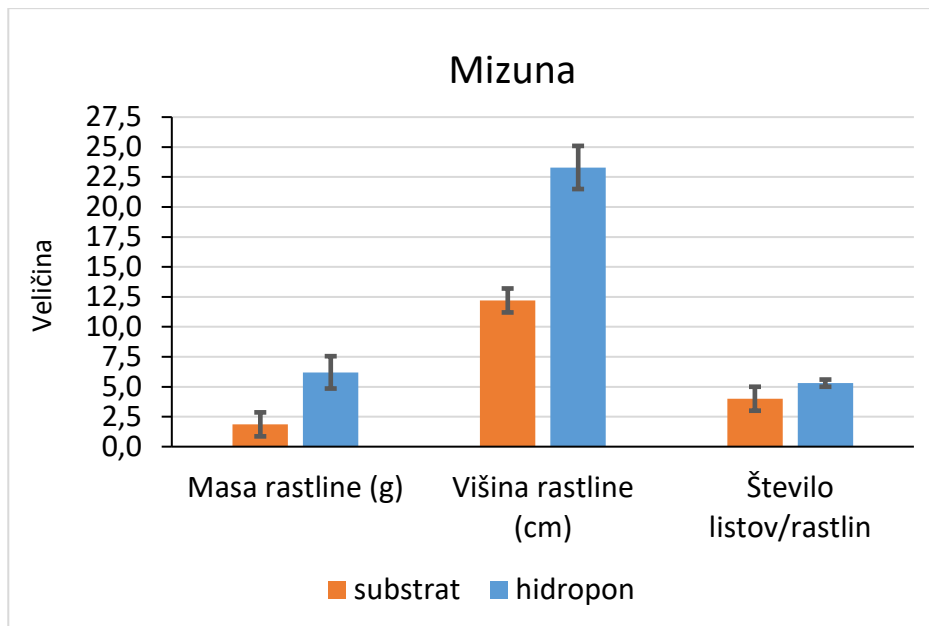
Za vsako rastlinsko vrsto, mizuno (*Brassica rapa* var. *nipposinica* (*japonica*)), rukvico (*Eruca sativa* L.) in špinajo (*Spinacia oleracea* L.), so v tabeli prikazane povprečna masa rastlin na ponovitev, povprečna višina in število listov rastline, odvisno od tehnike gojenja v substratu in hidroponu.

#### - Rastlinska vrsta MIZUNA

Rastlinska vrsta	Tehnika	Ponovitev	Masa rastline (g)	Višina rastline (cm)	Število listov/rastlino
MIZUNA	substrat	1	2,1	12,6	4
		2	1,7	11,2	4
		3	1,9	12,7	4
		4	1,8	12,2	4
Povprečje			1,9	12,2	4
Standardni odklon			0,4	1,0	0
MIZUNA	hidropon	1	6,1	24,1	5,0
		2	4,0	25,0	5,0
		3	7,6	20,8	5,5
		4	7,1	23,3	5,5
Povprečje			6,2	23,3	5,3
Standardni odklon			1,4	1,8	0,3

Tabela 2: Povprečna masa rastline (g), povprečna višina rastlin (cm) in povprečno število listov/rastlino za rastlinsko vrsto mizuna (*Brassica rapa* var. *nipposinica* (*japonica*)) glede na tehniko gojenja

V tabeli 3 so prikazani rezultati meritev rastlin mizune pri dveh tehnikah gojenja. Iz rezultatov vidimo, da so rastline mizune, gojene na substratu, dosegle le 30% mase rastlin, gojenih na hidroponu. Prav tako so rastline, gojene na substratu, dosegle le 50% višine rastlin, gojenih na hidroponu. Razlike se pojavijo tudi v številu listov na rastlino, ki je na hidroponu večje. Vse to je bilo pričakovano, saj v literaturi piše, da listna zelenjava, ki je gojena na plavajočem hidroponskem sistemu, raste hitreje, ker ima vsa potrebna hranila in vodo stalno na razpolago, vsebuje praviloma tudi več vode in je zato tudi njena masa večja.<sup>(1)</sup>



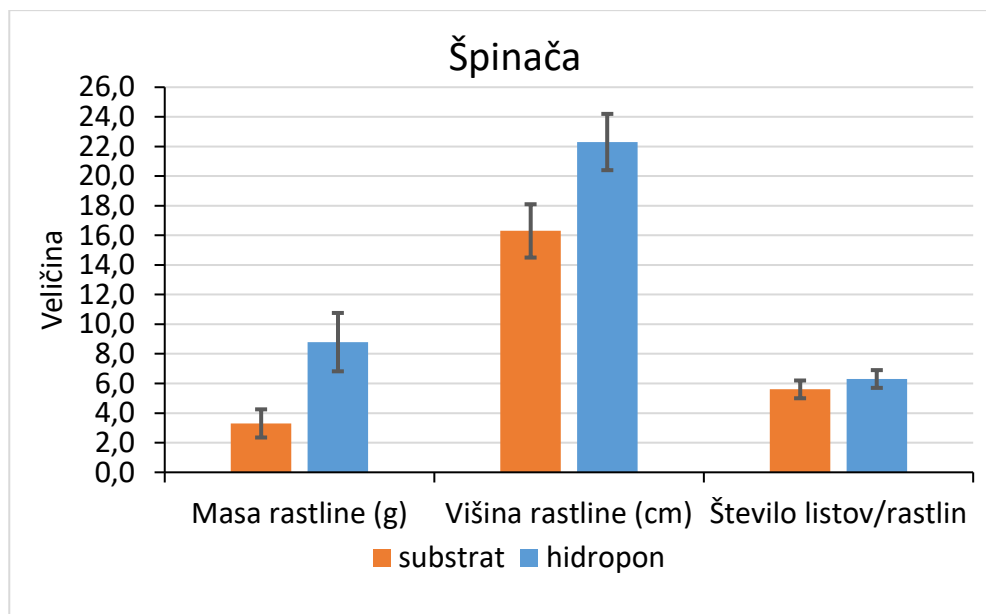
Graf 2: Povprečne vrednosti s standardnimi odkloni za maso rastlin (g), višino rastlin (cm) in število listov na rastlino pri mizuni (*Brassica rapa* var. *nipposinica* (japonica)) gojeni v substratu in na hidroponu.

### - Rastlinska vrsta ŠPINAČA

Rastlinska vrsta	Tehnika	Ponovitev	Masa rastline (g)	Višina rastline (cm)	Število listov/rastlino
ŠPINAČA	substrat	1	2,8	14,7	5,7
		2	2,9	16,2	5,8
		3	3,6	18,2	5,3
		4	3,9	16,2	5,8
		<b>Povprečje</b>		<b>3,3</b>	<b>16,3</b>
<b>Standardni odklon</b>			<b>0,5</b>	<b>1,4</b>	<b>0,2</b>
ŠPINAČA	hidropon	1	7,8	22,3	6,4
		2	9,5	22,7	5,9
		3	7,0	20,8	5,9
		4	10,9	23,4	7,0
		<b>Povprečje</b>		<b>8,8</b>	<b>22,3</b>
<b>Standardni odklon</b>			<b>2,0</b>	<b>1,9</b>	<b>0,6</b>

Tabela 3: Povprečna masa rastline (g), povprečna višina rastlin (cm) in povprečno število listov/rastlino za rastlinsko vrsto špinača (*Spinacia oleracea* L.) glede na tehniko gojenja

V tabeli 3 so prikazani rezultati meritev rastlin špinače, pri dveh tehnikah gojenja. Iz rezultatov vidimo, da je pri gojenju na hidroponu povprečna masa špinače prav tako kot pri mizuni večja, in sicer za kar za 167% (ali pa: da so rastline, gojene na substratu dosegle le 37,5% mase rastlin, gojenih na hidroponu), prav tako višina rastline (večja za 37%), kjer pa ni tako velike razlike kot pri mizuni. Pri številu listov, v substratu in hidroponu ni razlike.



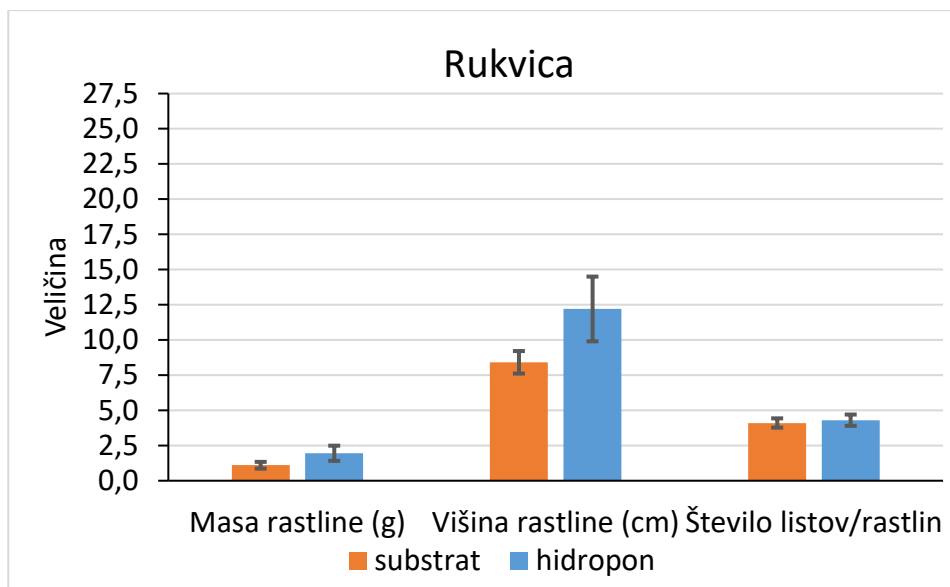
Graf 3: Povprečne vrednosti s standardnimi odkloni za maso rastlin (g), višino rastlin (cm) in število listov na rastlino pri špinači (*Spinacia oleracea* L.) gojeni v substratu in na hidroponu.

#### - Rastlinska vrsta RUKVICA

Rastlinska vrsta	Tehnika	Ponovitev	Masa rastline (g)	Višina rastline (cm)	Število listov/rastlino
RUKVICA	substrat	1	0,9	7,6	3,8
		2	0,9	7,9	4,2
		3	1,2	8,8	4
		4	1,4	9,3	4,3
		<b>Povprečje</b>		<b>1,1</b>	<b>8,4</b>
<b>Standardni odklon</b>			<b>0,2</b>	<b>0,8</b>	<b>0,3</b>
RUKVICA	hidropon	1	2,2	13,2	4,5
		2	1,4	11,9	4
		3	2,2	10,1	4,2
		4	2,1	13,6	4,3
		<b>Povprečje</b>		<b>2,0</b>	<b>12,2</b>
<b>Standardni odklon</b>			<b>0,5</b>	<b>2,3</b>	<b>0,4</b>

Tabela 4: Povprečna masa rastline (g), povprečna višina rastlin (cm) in povprečno število listov/rastlino rastlinske vrste rukvica (*Eruca sativa* L.) glede na tehniko gojenja

V tabeli 4 so prikazani rezultati meritev rastlin rukvice pri dveh tehnikah gojenja. Iz rezultatov vidimo, da je pri gojenju na hidroponu povprečna masa rukvice prav tako kot pri mizuni in špinači večja, in sicer za 81%, prav tako so bile rastline višje (za 45%), kjer pa ni tako velike razlike kot pri mizuni in je bolj podobna rasti špinače. V številu listov rukvice skoraj ni razlik glede na tehniko gojenja.



Graf 4: Povprečne vrednosti s standardnimi odkloni za maso rastlin (g), višino rastlin (cm) in število listov na rastlino pri rukvici (*Eruca sativa* L.), gojeni v substratu in na hidroponu.

#### 4.b Pridelek in suha snov za posamezno rastlinsko vrsto v odvisnosti od načina gojenja

Pridelek za posamezno rastlinsko vrsto smo izračunali odvisno glede na tehniko gojenja, in sicer:

a) za hidropon izračunamo iz števila sadilnih mest/enoto površine:

- stiroporna plošča (0,5 m x 1 m) = 0,5 m<sup>2</sup> ima 18 sadilnih mest
- na 1 m<sup>2</sup> je 36 sadilnih mest

Torej maso, ki smo jo izmerili za posamezno sadilno mesto, pomnožimo s 36 in dobimo maso na 1 m<sup>2</sup>.

b) za substrat izračunamo iz števila sadilnih mest/enot površine:

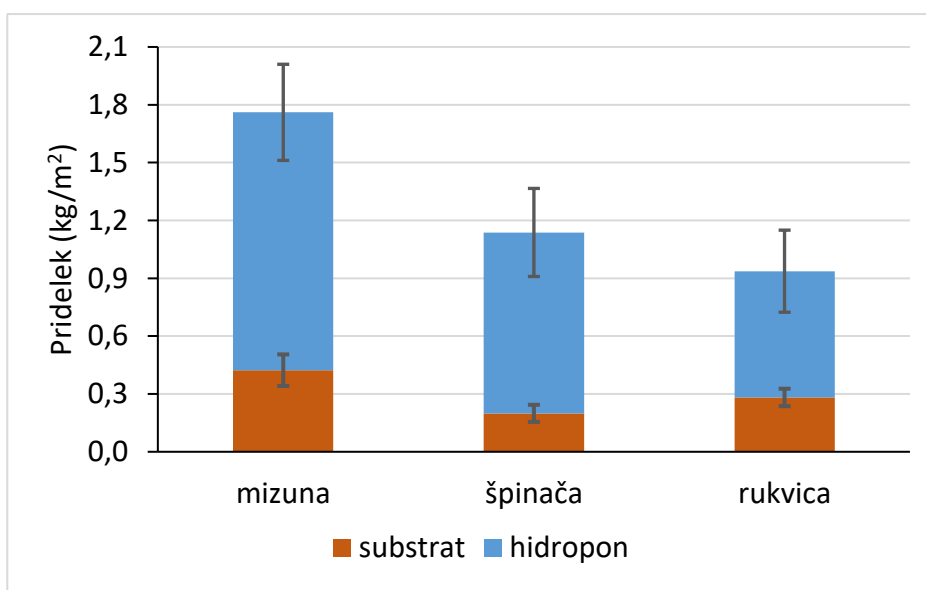
- premer plastičnega krožnika za gojenje je 32 cm, na 1 m<sup>2</sup> imamo 9 krožnikov, na vsakem po 6 sadilnih mest
- na 1 m<sup>2</sup> je 54 sadilnih mest

Torej maso, ki smo jo izmerili za posamezno sadilno mesto, pomnožimo s 54 in dobimo maso na 1 m<sup>2</sup>.

TEHNOLOGIJA	Pridelek (kg/m <sup>2</sup> )		
	Mizuna	Špinača	Rukvica
Substrat	0,42	0,20	0,28
Standardni odklon	0,08	0,04	0,05
Hidropon	1,34	0,94	0,66
Standardni odklon	0,25	0,23	0,21

Tabela 5: Povprečni pridelek za posamezno rastlinsko vrsto v odvisnosti od tehnike gojenja

V tabeli 6 je prikazan pridelek za posamezno rastlinsko vrsto in iz tabele razberemo, da je imela največji pridelek mizuna na hidroponu, in sicer približno 1,34 kg/m<sup>2</sup>, in je v primerjavi z gojenjem na substratu skoraj trikrat večji. Tudi ostali dve vrsti rastlin sta na hidroponu imeli večji pridelek glede na substrat, in sicer pri špinači petkrat večji in pri rukvici dvakrat večji. Razlog za to je, da so imele rastline na hidroponskem sistemu konstantno na razpolago vodo in hranilne snovi, raztopljeni v njej.<sup>(1)</sup> V substratu sicer pridelki niso tako visoki, kot navaja literatura. Razlog za manjši pridelek je verjetno tudi zaradi časa gojenja, saj smo rastline gojili v zimskem času in so bile temperature v steklenjaku nižje (dnevne okoli 15 °C in nočne okoli 5 °C), kot bi bile, če bi rastline gojili v zgodnje pomladanskem obdobju, ko so dnevi že daljši in rastne razmere ugodnejše za rast obravnavanih rastlin.



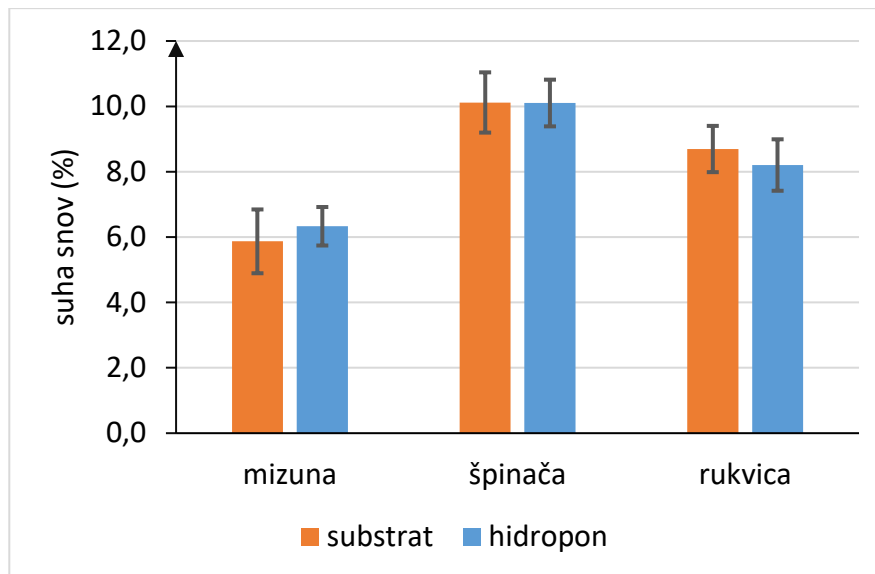
Graf 5: Povprečne vrednosti in standardni odklon za pridelek rastlin mizune, špinače in rukvice, v odvisnosti od tehnike gojenja.

#### Suha snov za posamezno rastlinsko vrsto

Po tehtanju mas svežih in posušenih rastlinskih vrst sva izračunali procent suhe snovi za posamezno rastlinsko vrsto.

TEHNOLOGIJA	Suha snov (%)		
	Mizuna	Špinača	Rukvica
Substrat	5,9	10,1	8,7
Standardni odklon	1,0	0,9	0,7
Hidropon	6,3	10,1	8,2
Standardni odklon	0,6	0,7	0,8

Tabela 6: Suha snov (%) za posamezno rastlinsko vrsto v odvisnosti od tehnike gojenja



Graf 6: Suha snov za posamezno rastlinsko vrsto v odvisnosti od tehnike gojenja

Iz tabele in grafa je razvidno, da so se rastlinske vrste razlikovale med seboj v vsebnosti suhe snovi. Največ suhe snovi je vsebovala špinača, v povprečju 10%, sledi rukvica (8,5%), najmanj suhe snovi pa je imela mizuna (6%). Ugotovili smo tudi, da se je delež suhe snovi (%) pri vseh treh rastlinskih vrstah le malo razlikoval glede na tehniko gojenja. V literaturi je zapisano, da ima listna zelenjava, ki je gojena na plavajočem sistemu, manj sušine od zelenjave, gojene v tleh.<sup>(1)</sup> Delno bi lahko majhen vpliv tehnike gojenja na vsebnost suhe snovi v našem poskusu pripisali slabšim rastnim razmerah v času trajanja poskusa. Nižja dnevna in nočna temperatura in slabša osvetlitev sta zadostovali za počasno rast rastlin, tako v substratu, kot tudi na hidroponu. Namreč, v ugodnih rastnih razmerah, ko je toplote in svetlobe dovolj na razpolago, je fotosintetska aktivnost rastlin velika, sprejem hranil dober in rast rastlin bujna, V takih rastnih razmerah pridejo prednosti hidroponskega sistema glede dostopnosti vode in hranil, pred gojenjem v tleh, bolj do izraza. Rastline, gojene na hidroponu, so večje in imajo večjo biomaso glede na rastline gojenje v tleh, kar je delno tudi posledica večje vsebnosti vode v celicah hitrorastočih tkiv.<sup>(2)</sup>

## 4.c Vsebnost vitamina C za posamezno rastlinsko vrsto v odvisnosti od načina gojenja

### Izračun vsebnosti vitamina C

S standardi smo določili umeritveno krivuljo

$$y = 1370,2 x$$

x: koncentracija vitamina C

y: površina spektroskopskega vrha vzorca pri ustrezni koncentraciji

S pomočjo umeritvene krivulje smo izračunali vsebnost vitamina C v vzorcu zelenjave:

vsebnost vitamina C (mg / ml) = površina spektroskopskega vrha / 1370, 2

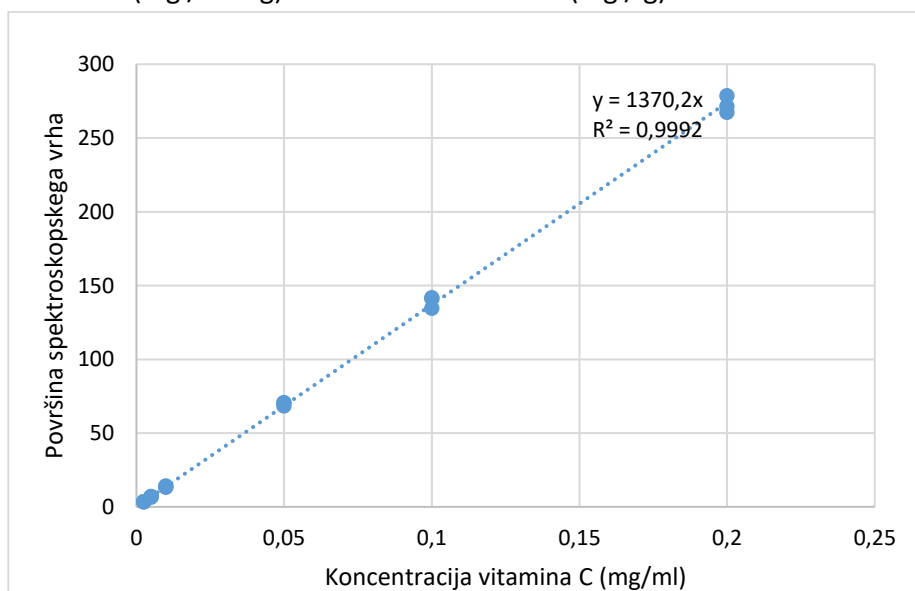
vsebnost vitamina C (mg / 8 ml) = (mg / ml) \* V(met)

V (met): 8 ml metafosforne kisline

vsebnost vitamina C (mg / g) = vsebnost vitamina C (mg / 8 ml) / m(vz)

m (vz): masa zatehte vzorca (g)

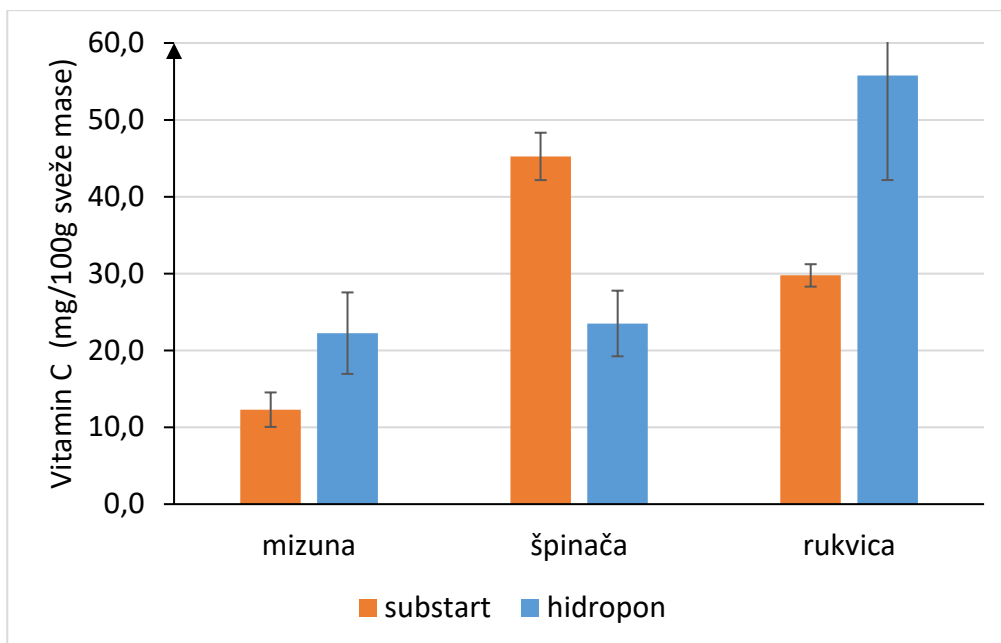
vsebnost vitamina C (mg / 100 g) = vsebnost vitamina C (mg / g) \*100



Graf 7: Umeritvena krivulja s standardi za vitamin C

TEHNOLOGIJA	Vitamin C (mg/100 g sveže mase)		
	Mizuna	Špinača	Rukvica
Substrat	12,3	45,2	29,8
Standardni odklon	2,2	3,1	1,5
Hidropon	22,2	23,5	55,8
Standardni odklon	5,3	4,3	13,6

Tabela 7: Vsebnost vitamina C v rastlinah mizune, špinače in rukvice(mg/100 g)



Graf 8: Povprečna vsebnost in standardni odklon vitamina C (mg/100 g sveže mase) v rastlinah mizune, špinače in rukvice, glede na tehniko gojenja.

Vsebnost vitamina C je bila v rastlinah mizune, špinače in rukvice nižja od vsebnosti, ki smo jih našli zapisane v literaturi. Opazimo, da je vrednost vitamina C pri špinači v substratu višja kot na hidroponu in se najbolj približa zapisani vrednosti v literaturi, ki je 53 mg/100 g sveže mase. Iz tega izhajava, da s prehranskega stališča špinača ni najprimernejša za gojenje na hidroponu, kljub temu da je pridelok kar petkrat večji. Pri križnicah pa vidimo, da je vsebnost vitamina C na hidroponu višja kot v substratu, torej so s prehranskega stališča primernejše za gojenje na hidroponu.

#### 4.d Vsebnost glukozinolatov v listih mizune in listih rukvice

V tabeli 9 so prikazane vsebnosti posameznih glukozinolatov, ki smo jih izmerili v listih mizune in rukvice, pridelane na hidroponskem plavajočem sistemu in v substratu. Ugotavljava, da se sestava glukozinolatov v listih mizune razlikuje od sestave v listih rukvice. V mizuni sva ugotovili prisotnost petih pomembnejših glukozinolatov: glukonapin, glukoerucin, glukonasturtiin, glukorafanin in glukobrasicin, v rukvici pa samo 3 pomembne glukozinolate: glukoerucin, glukorafanin in glukobrasicin. V mizuni je največ glukorafanina, sledi glukonapin, glukobrasicin, glukonasturtiin in najmanj je glukoerucina. V rukvici pa je podobno kot v mizuni največ glukorafanina, sledi glukoerucin, najmanj pa je glukobrasicina.



**- MIZUNA**

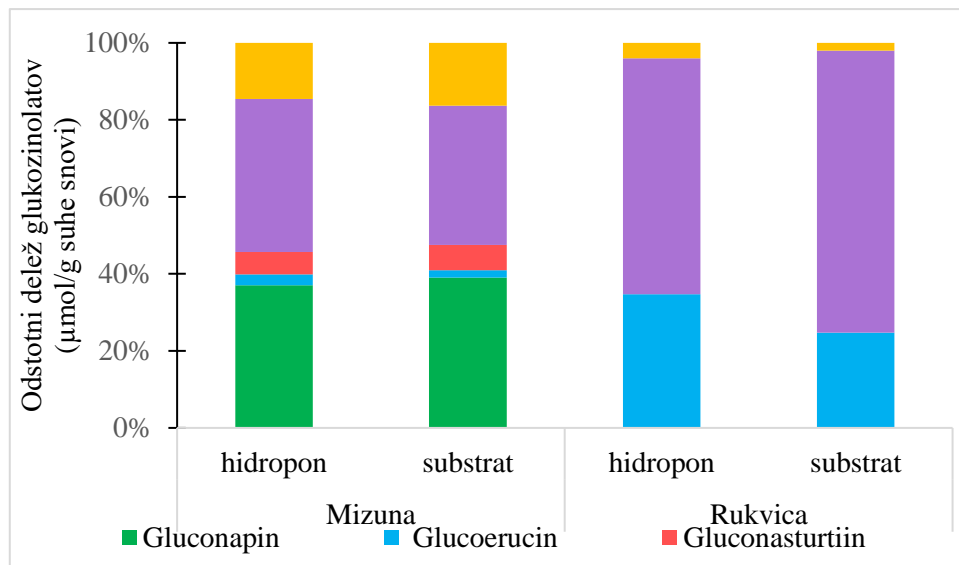
<b>HIDROPON</b>	Vsebnost glukozinolatov ( $\mu\text{mol/g}$ suhe mase)				
Ponovitev	Glukonapin	Glukoerucin	Glukonasturtiin	Glukorafanin	Glukobrasicin
1	5,0	0,5	1,1	3,7	2,1
2	5,1	0,2	0,6	4,6	1,8
3	4,6	0,1	0,5	3,4	1,8
4	3,5	0,7	0,6	7,8	1,6
<b>Povprečje</b>	<b>4,6</b>	<b>0,4</b>	<b>0,7</b>	<b>4,9</b>	<b>1,8</b>
Standardni odklon	0,8	0,3	0,3	2,0	0,2
<b>SUBSTRAT</b>	Vsebnost glukozinolatov ( $\mu\text{mol/g}$ suhe mase)				
Ponovitev	Glukonapin	Glukoerucin	Glukonasturtiin	Glukorafanin	Glukobrasicin
1	8,0	0,3	1,4	8,0	3,2
2	7,9	0,5	1,4	9,2	4,5
3	6,7	0,3	1,1	3,9	2,9
4	6,4	0,3	1,0	5,8	1,6
<b>Povprečje</b>	<b>7,5</b>	<b>0,4</b>	<b>1,2</b>	<b>6,7</b>	<b>3,0</b>
Standardni odklon	0,8	0,1	0,2	2,3	1,2

Tabela 8: Vsebnost posameznih glukozinolatov ( $\mu\text{mol/g}$  suhe mase) v listih mizune, pridelane na hidroponskem plavajočem sistemu in v substratu

**- RUKVICA**

<b>HIDROPON</b>	Vsebnost glukozinolatov ( $\mu\text{mol/g}$ suhe mase)		
Ponovitev	Glukoerucin	Glukorafanin	Glukobrasicin
1	1,8	3,2	0,2
2	1,6	2,8	0,2
3	3,3	4,4	0,2
4	1,3	3,3	0,2
<b>Povprečje</b>	<b>2,0</b>	<b>3,4</b>	<b>0,2</b>
Standardni odklon	1,3	1,0	0,1
<b>SUBSTRAT</b>	Vsebnost glukozinolatov ( $\mu\text{mol/g}$ suhe mase)		
Ponovitev	Glukoerucin	Glukorafanin	Glukobrasicin
1	1,4	5,2	0,2
2	2,0	5,7	0,2
3	1,6	4,7	0,1
4	1,8	4,5	0,1
<b>Povprečje</b>	<b>1,7</b>	<b>5,0</b>	<b>0,2</b>
Standardni odklon	0,3	0,7	0,1

Tabela 9: Vsebnost posameznih glukozinolatov ( $\mu\text{mol/g}$  suhe mase) v listih rukvice, pridelane na hidroponskem plavajočem sistemu in v substratu



Graf 9: Odstotni delež posameznega glukozinolata v listih mizune in rukvice iz različnih pridelovalnih sistemov

Iz grafa 9 je razvidno, da se odstotni delež posameznega glukozinolata v posamezni rastlinski vrsti glede na sistem pridelave ni razlikoval. V listih mizune je delež glukonapina in glukorafanina približno enak, medtem ko je v listih rukvice največji delež glukorafanina, nekoliko manj je glukoerucina, najmanj pa glukobrasicina.

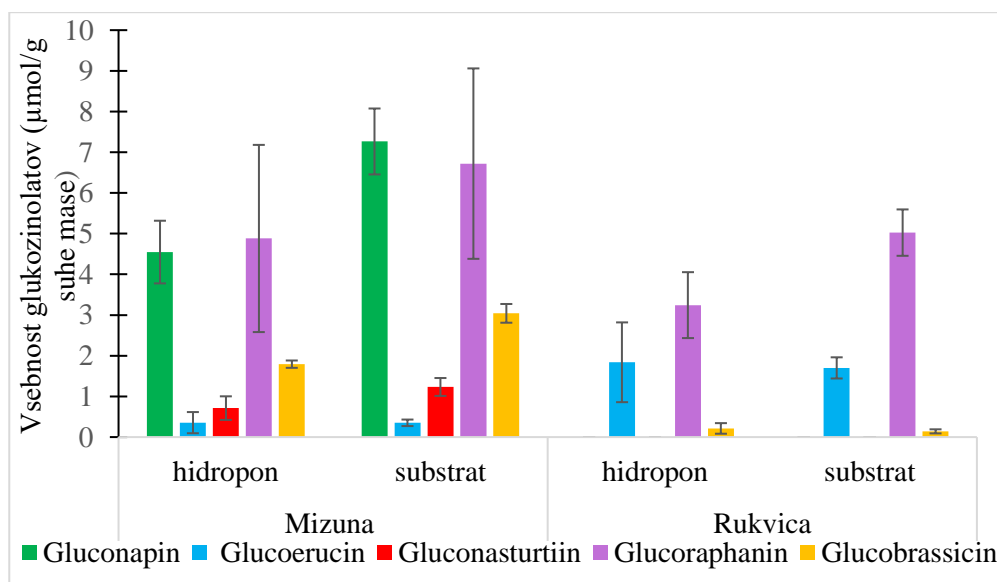
O podobni količini in strukturi glukozinolatov v listih mizune so poročali že Hill in sodelavci (1987),<sup>(30)</sup> ki so proučevali vsebnost glukozinolatov v listih različnih azijskih križnic (pak čoi, mizuna, listna gorčica, listnati ohrovt), ki so jih gojili na prostem, na polju in vzorčili tiste rastlinske dele, ki so užiti. Ugotovili so, da je skupna vsebnost glukozinolatov v mizuni 139  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  sveže mase, kar bi pomenilo, če preračunamo na suho maso in upoštevamo, da je delež suhe snovi v mizuni 6,5 %, da so v listih mizune izmerili skupaj 9  $\mu\text{mol}/\text{g}$  suhe mase, kar je primerljivo z našimi rezultati. Skupna vsebnost glukozinolatov v mizuni, pridelani v substratu, je bila 18,8  $\mu\text{mol}/\text{g}$  suhe mase, in v mizuni, pridelani na hidroponu, 12,4  $\mu\text{mol}/\text{g}$  suhe mase. Hill in sodelavci (1987)<sup>(30)</sup> opisujejo, da so v listih mizune določili različne glukozinolate: glukonapin, glukorafanin, glukonasturtiin in glukobrasicin, vendar sta večji delež (skupno 70 %) sestavljala glukonapin in glukorafanin. Podobno sestavo glukozinolatov v listih mizune smo ugotovili tudi v naši raziskavi (Tabela 9), saj je večji delež glukozinolatov pripadal prav tema dvema glukozinolatoma (vsakega je bilo med 30 in 40 %).

O vsebnosti glukozinolatov v rukvici pa poročajo Aires in sodelavci (2018),<sup>(31)</sup> ki so proučevali biokemijsko sestavo štirih različnih solatnic (zelenolistno in rdečelistno solato, vrtno krešo in rukvico) v fazi mladih listov (baby-leaf salad). Ker jih je zanimala vsebnost snovi z antioksidativnim delovanjem, so proučili sestavo spojin, ki pripadajo polifenolom in glukozinolatom. Vsebnost glukozinolatov so določili le v vrtni kreši in rukvici, kajti le ti dve rastlinski vrsti pripadata družini križnic, kjer najdemo glukozinolate. V rukvici so določili 3 različne glukozinolate: glukorafanin, glukonasturtiin in glukobrasicin, skupaj 7,8  $\mu\text{mol}/\text{g}$  suhe mase. Skupna vrednost glukozinolatov je zelo podobna vrednosti, ki smo jo izmerili v naši nalogi, saj

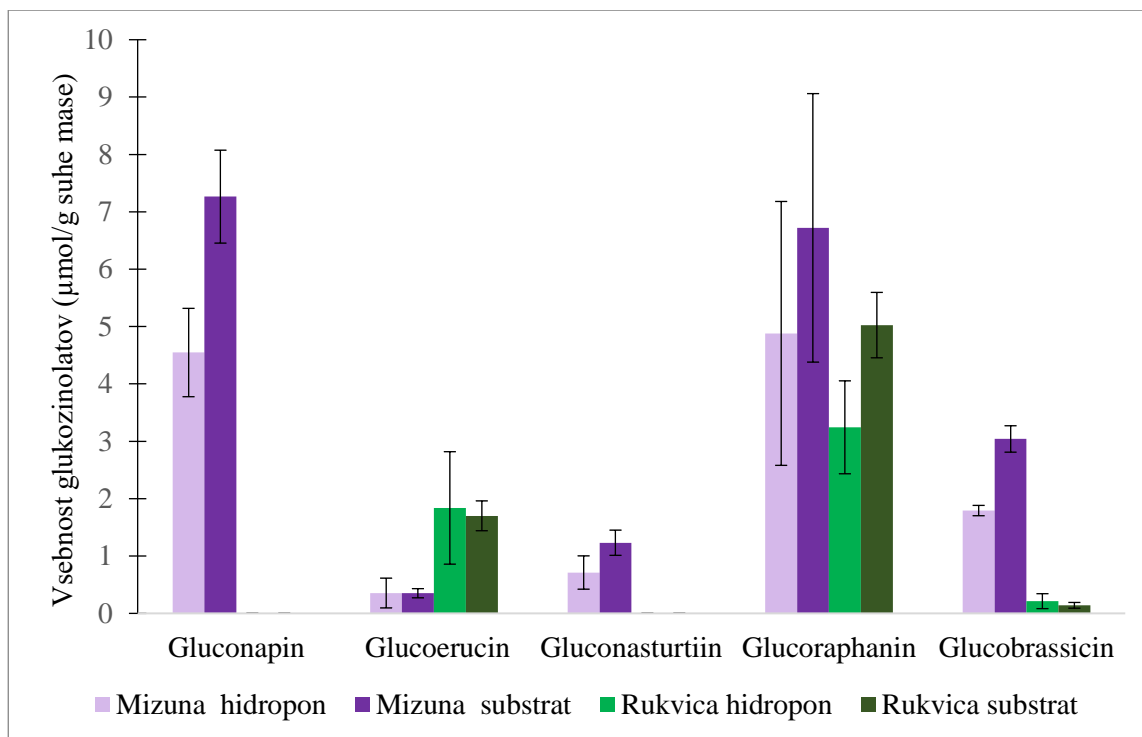
smo v listih rukvice, pridelane na substratu, izmerili 6,9  $\mu\text{mol/g}$  suhe mase, v rukvici iz hidropona pa 5,6  $\mu\text{mol/g}$  suhe mase. Struktura glukozinolatov pa je se je v našem primeru nekoliko razlikovala od rezultatov raziskave Aires in sod. (2018),<sup>(31)</sup> saj smo v listih rukvice določili glukorafanin, glukoerucin in glukobrasicin.

Tudi Chun in sodelavci (2013)<sup>(32)</sup> so proučevali vsebnost glukozinolatov v različnih vrstah rukvice (kultivirani in divji), ki so jih gojili v rastlinjaku, v plastičnih lončkih, napolnjenih z vermikulitom in redno namakanih ter dognojevanih z vodotopnim mineralnim gnojilom. Po 69 dneh po setvi so rastline pobrali, jih izmerili in listni material liofilizirali ter pripravili za analize. V listih kultivirane rukvice so ugotovili podobno strukturo glukozinolatov, kot smo ji določili v naši nalogi. Med najpomembnejšimi so določili glukorafanin in glukoerucin, glukobrasicin in dimer 4-merkato-butil (tega je bilo 50 % od celotne količine glukozinolatov), kar sovпада tudi z našimi rezultati, le da nismo ugotovili prisotnosti dimera. Skupna vsebnost glukozinolatov, ki so jo določili v kultivirani rukvici, je bila 17  $\mu\text{mol/g}$  suhe mase, kar je bilo več, kot je bilo ugotovljeno v naši raziskavi.

V naši raziskavi naju je tudi zanimalo, kako sistem pridelovanja vpliva na vsebnost in sestavo glukozinolatov v listih mizune in rukvice. Iz grafa 10 je razvidno, da je sistem pridelovanja vplival na vsebnost nekaterih posameznih glukozinolatov v listih mizune in rukvice. V listih mizune, pridelane v substratu, sva izmerili večjo vsebnost glukorafenina, glukonapina, glukobrasicina in glukonasturtiina glede na liste mizune, pridelane v hidroponskem sistemu. Na vsebnost glukoerucina sistem pridelave mizune ni imel vpliva. Pri rukvici pa sva ugotovili, da je sistem pridelave vplival le na vsebnost glukorafanina, ki je bila v listih, pobranih na substratu, večja glede na liste rukvice, pobrane na hidroponskem plavajočem sistemu. Na vsebnost ostalih dveh glukozinolatov (glukoerucin in glukobrasicin) sistem pridelave ni imel vpliva.



Graf 10: Povprečna vsebnost posameznih glukozinolatov (s pripadajočim odklonom) v listih mizune in rukvice, pridelane na hidroponu in v substratu



Graf 11: Povprečna vsebnost (in pripadajoča standardna deviacija) za posamezen glukozinolat v rastlinah mizune in rukvice, pridelane na hidroponskem plavajočem sistemu in v substratu

Tudi iz grafa 11 je razvidno, da sta se rastlinski vrsti mizuna in rukvica razlikovali v vsebnosti posameznih glukozinolatov. Glukonapin in glukonasturtiin smo ugotovili le v listih mizune, kjer je sistem gojenja pomembno vplival na njuno vsebnost. Obeh glukozinolatov je bilo več v listih mizune iz substrata glede na hidropon. Glukoerucin smo ugotovili pri obeh rastlinskih vrstah, le da ga je bilo v listih rukvice nekajkrat več kot v listih mizune. Sistem gojenja pa ni imel vpliva na vsebnost glukoerucina v listih mizune in rukvice.

Glukorafanin smo določili v obeh rastlinskih vrstah in ugotovili, da način gojenja vpliva na njegovo vsebnost. Pri obeh vrstah so rastline iz substrata imele več glukorafanina glede na rastline iz hidropona.

Glukobrasicin je bil prisoten v obeh rastlinskih vrstah, le da ga je bilo v listih mizune 3–4-krat več kot v listih rukvice. Sistem gojenja je vplival na njegovo vsebnost predvsem pri mizuni, kjer smo več glukobrasicina izmerili v listih rastlin, pridelanih na substratu, glede na hidropon.

Na osnovi zbranih in analiziranih rezultatov ugotavljamo, da ima sistem pridelave pomemben vpliv na vsebnost glukozinolatov. Za večino glukozinolatov, ki smo jih določili v listih mizune in rukvice, velja, da so listi rastlin, pridelanih na substratu, imeli več glukozinolatov glede na liste rastlin, pridelanih na hidroponskem plavajočem sistemu.

## 5. ZAKLJUČEK

V kraju, v katerem živiva, je podjetje, ki prideluje solato, za katero v opisu pravijo, da je: "Okusna in zdrava, polna hranilnih snovi, ter dalj časa sveža in hrustljava," (<http://www.panorganic.si/ziva/>) in jo gojijo v rastlinjaku z najsodobnejšo tehnologijo (NFT-sistem pridelave po načelu hidroponske tehnologije). Ker naju je zanimalo, kako deluje hidroponski sistem in kako dosežejo kakovost solate tudi v zimskem času, sva se odločili raziskati pridelavo vrtnin z modernimi tehnološkimi postopki in visoko prehransko vrednostjo.

Pred začetkom raziskave sva si postavili več hipotez in jih z rezultati potrdili ali ovrgli.

**Hipoteza 1:** Na hidroponu bo rastlina bolje uspevala (večji pridelek, več listov, večje rastline), saj bodo hranila na voljo ves čas.

To hipotezo sva **potrdili**, saj je iz rezultatov meritev razvidno, da je pri gojenju na hidroponu povprečna masa vseh treh rastlinskih vrst večja. Pri mizuni je večja za 70 %, pri špinači za 62 % in pri rukvici za 44 %. Kot je bilo pričakovano, je listna zelenjava, gojena na hidroponu, vsebovala več vode in imela posledično tudi večjo maso. Enako je z višino, saj so rastline, ki so bile gojene na hidroponskem sistemu, v višino merile več kot tiste v substratu. Rastline mizune so bile večje za kar 50 %, rastline špinače za 27 % in rastline rukvice za 31 %. Razlike so se pojavile tudi v številu listov, saj so imele rastlinske vrste na hidroponu več listov kot tiste iz substrata.

Prav tako lahko iz rezultatov vidimo, da so pridelki posamezne rastlinske vrste večji na hidroponu. Največji pridelek je bil pri mizuni (približno 1,34 kg/m<sup>2</sup>), sledi špinača (približno 0,94 kg/m<sup>2</sup>) s petkrat večjim pridelkom in nato še rukvica (približno 0,66 kg/m<sup>2</sup>), ki je imela dvakrat večji pridelek.

Razlog za to je, da so imele rastline na hidroponskem sistemu ves čas na razpolago vodo in hranilne snovi. V substratu in na hidroponu sicer pridelki niso tako visoki kot navaja literatura, vendar predvidevamo, da so na to vplivale ekološke razmere v času rasti (rastline smo gojili v zimskem času, ko je potrebno zaradi slabše osvetlitve rastline dosvetljevati, kar v celoti ne nadomesti sončnega sevanja, ki ga rastline prejmejo v obdobju ustrežnejših rastnih razmer, npr. spomladi).

**Hipoteza 2:** Vsebnost suhe snovi v listih rastlin, ki bodo gojene na hidroponu, bo manjša kot vsebnost suhe snovi v listih rastlin, pridelanih v substratu.

Ta hipoteza je bila **delno potrjena**. V rastlinah mizune, rukvice in špinače ni bilo večjih razlik v vsebnosti suhe snovi glede na sistem pridelave. Razlike so bile le med posamezno vrsto. V literaturi lahko zasledimo, da ima listna zelenjava, ki je gojena na plavajočem sistemu, manj sušine oziroma več vode od zelenjave, gojene v tleh.

**Hipoteza 3:** Rastline, ki bodo rasle na hidroponskem sistemu, bodo vsebovale več prehransko pomembnih snovi, kot je npr. vitamin C.

Ta hipoteza je bila le **delno potrjena**, saj je pri mizuni in rukvici vitamina C na hidroponu več kot v substratu, pri špinači pa je ravno obratno. Zato ta hipoteza ne velja za vse uporabljene rastlinske vrste in zato hipoteza tudi ni popolnoma potrjena, ampak samo delno. S prehranskega stališča lahko sklepamo, da so rastline iz družine križnic primernejše za gojenje na hidroponu.

**Hipoteza 4:** Rastlinski vrsti mizuna in rukvica se razlikujeta v sestavi posameznih glukozinolatov. Razvidno je, da sta se rastlinski vrsti mizuna in rukvica razlikovali v vsebnosti posameznih glukozinolatov. Gluconapin in glukonasturtiin sva ugotovili le v listih mizune, v listih rukvice pa ne, zato lahko našo četrto hipotezo **potrdimo**.

**Hipoteza 5:** Vsebnost glukozinolatov v listih mizune ni enaka vsebnosti glukozinolatov v listih rukvice.

Glukobrasicin je bil prisoten v obeh rastlinskih vrstah, le da ga je bilo v listih mizune 3–4-krat več kot v listih rukvice. Zato ugotavljamo, da na osnovi izmerjenih vrednosti posameznih glukozinolatov v listih mizune in rukvice, pridelane na hidroponskem sistemu in v substratu, našo peto hipotezo **potrdimo**, saj sva ugotovili, da se rastlinski vrsti razlikujeta v vsebnosti posameznih glukozinolatov.

**Hipoteza 6:** Vsebnost glukozinolatov se bo v posamezni rastlinski vrsti razlikovala glede na sistem pridelave. Vsebnost glukozinolatov bo v listih rastlin, pridelanih v substratu, večja glede na rastline, pridelane na hidroponskem sistemu.

Na osnovi zbranih in analiziranih rezultatov ugotavljava, da ima sistem pridelave pomemben vpliv na vsebnost glukozinolatov. Za večino glukozinolatov, ki smo jih določili v listih mizune in rukvice, velja, da so imeli listi rastlin, pridelanih v substratu, več glukozinolatov v primerjavi z listi rastlin, pridelanih na hidroponskem plavajočem sistemu. Na osnovi zbranih ugotovitev lahko našo šesto hipotezo **potrdimo**.

Raziskava je pokazala, da so s stališča pridelovalca vse tri rastlinske vrste primerne za gojenje na hidroponu, saj dajo večji pridelek na kvadratni meter kot tiste, gojene v substratu. Pri večjem pridelku je tudi večji zaslužek.

Rastline družine križnic imajo na hidroponu več vitamina C na svežo maso. Vendar iz izračunanega standardnega odklona se lahko približamo vrednostim vitamina C pridelanem v substratu. Vrednost vitamina C namreč na hidroponu variira zaradi različne razvrstitve vzorcev (rastline niso bile deležne iste količine hranil zaradi kroženja hranilne raztopine).

Za prehransko pomembne glukozinolate pa v celoti velja, da predstavljajo pomemben vir v zdravi prehrani. Sodobne prehranske smernice poudarjajo vnos tistih naravnih snovi v telo, ki prispevajo k dobremu imunskemu sistemu. V tem pogledu je pomembno uživati zadostne količine tistih vrtnin, ki vzdržujejo ustrezno ravnotežje v prehrani. V tehnološkem pogledu ima tako prednost pridelava rukvice in mizune v sistemu pridelave v substratu.

V času raziskovanja sva obogatili svoje znanje s področja ved o življenju, tako v pridelavi kot pri analizi teh živil, saj je naloga vsebinsko posegla na področji kmetijske in živilske stroke.

V celoti je raziskava pokazala, da lahko s sodobnimi tehnološkimi postopki pridelave vrtnin zagotovimo prehransko visoko vredne vrtnine tudi v jesensko-zimskem obdobju.

Svoje delo bova poskušali promovirati tudi preko projekta SKOZ in z objavo članka v reviji Raziskovalni reflektor, ki jo izdaja naša gimnazija. Nadalje bi lahko na hidroponskem sistemu poskusili gojiti še katere druge rastlinske vrste in bi ugotavljali, ali se po analizah podatki kaj razlikujejo od rezultatov analiz pri rastlinah, ki sva jih gojili sedaj.

## 6. VIRI IN LITERATURA

1. Jakše M., Kacjan Maršič N. Zbornik simpozija, Novi izzivi v poljedelstvu 2008: Pridelava zelenjave na plavajočih mizah, str. 208.  
[http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2722/Zbornik\\_simpozija\\_2008.pdf](http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2722/Zbornik_simpozija_2008.pdf) , povzeto dne 15. 2. 2020.
2. Osvald J. in Kogoj Osvald M. Vrtnarstvo: Splošno vrtnarstvo in zelenjadarstvo. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 2005.
3. Černe M. Rukvica ali rukola. Kmetovalec, 2000, 68, 11: 8–11.
4. Grlič L. Užitne divje rastline. Cankarjeva založba, 1980, str. 326.
5. Ugrinović K. Kaj jemo, ko jemo rukolo. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije, 2006: 1-1  
<https://kvarkadabra.net/2006/02/rukola/>, povzeto dne 25. 1. 2020.
6. Osvald J, Kogoj - Osvald M. Integrirano pridelovanje zelenjave. Ljubljana: Kmečki glas, 2003, str. 295.
7. Mihajlovič B. M. Zdravljenje s sadjem in z zelenjavo. Ljubljana: Kmečki glas, 1997, str. 364.
8. Osvald J., Kogoj - Osvald M. Pridelovanje zelenjave na vrtu, Ljubljana, Kmečki glas, 1994.
9. The Royal Horticultural Society, Mizuna & mibuna: <https://www.rhs.org.uk/advice/grow-your-own/vegetables/mizuna-mibuna>, povzeto dne 15. 2. 2020.
10. Pesjak E. Gojenje listnatih azijskih vrtnin na hidroponskem sistemu. Dipl. delo (VS). Ljubljana: Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 2019.
11. Medić - Šarić M., Buhač I., Bradamante V. Vitamini in minerali. Zagreb: Gorenjski tisk, 2002, str. 342.
12. Smirnoff N. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Annals of Botany*, 1996, 78, 6: str. od 661 do 669.
13. Lee S. K., Kader A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 2000, 20, 3: str. od 207 do 220.
14. Kopta T., Pokluda R. Determination of Ascorbic Acid Content of Leafy Asian Vegetables during Storage. Department of Vegetable Science and Floriculture. Faculty of Horticulture in Lednice Mendel University of Agriculture and Forestry Brno Czech Republic. *Acta Hort.* 877, ISHS 2010, str. od 1123 do 1128.
15. Fahey J. W., Zalcmann A. T., Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 2001, 56: str. od 5 do 51.
16. Verkerk R., Dekerr M. Glucosinolates. V: *Bioactive compounds in foods*. Gilbert J., Šenyuva H. Z. (eds.). Oxford, Blackwell Publishing, UK, 2008, str. od 31 do 51.
17. Zenk M. H., Juenger M. Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 2007, 68: str. od 2757 do 2772.
18. Falk KL. , Vogel C., Textor S., Bartram S., Hick A., Pickett JA., Gershenzon J., *Phytochemistry.*, Glucosinolate biosynthesis: demonstration and characterization of the condensing enzyme of the chain elongation cycle in *Eruca sativa*, 2004, Apr; 65 (8): str. od 1073 do 1084.

19. Požrl T. Vpliv kisikove atmosfere na metabolične spremembe sveže narezanega pakiranega zelja. Dokt. disertacija. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2009.
20. Rosa E. A. S., Heaney R. K. , Carlos A. M. Portas C. A. M., Fenwick G. R. Changes in glucosinolate concentrations in brassica crops (*B. oleracea* and *B. napus*) - throughout growing seasons, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1996, 71: str. od 237 do 244.
21. Bellostas N., Kachlicki P., Sørensen J. C., Sørensen H. Glucosinolate profiling of seeds and sprouts of *B. oleracea* varieties used for food. *Scientia Horticulturae*, 2007, 114: str. od 234 do 242.
22. Kusznierevicz B., Bartoszek A., Wolska L., Drzewiecki J., Gorinstein S., Namieśnik J. Partial characterization of white cabbages (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) from different regions by glucosinolates, bioactive compounds, total antioxidant activities and proteins. *LWT-Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 2008, 41: str. od 1 do 9.
23. Chen S., Andreasson E. Update on glucosinolate metabolism and transport. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2001., 39: str. od 743 do 758.
24. Moreno D. A., Carvajal M., López-Berenguer C., García-Viguera C. Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2006, 41: str. od 1508 do 1522.
25. Thomson C. A., Green T. L. Cruciferous vegetables and cancer prevention. V: *Functional foods and nutraceuticals in cancer prevention*. Watson R. R. (ed.). Iowa State, Iowa State Press, 2003, str. od 263 do 286.
26. Smith T. K., Mithen R., Johnson I. T. Effects of brassica vegetable juice on the induction of apoptosis and aberrant crypt foci in rat colonic mucosal crypts in vivo. *Carcinogenesis*, 2003, 24: str. od 491 do 495.
27. Mikulič Petkovšek M. Bioaktivne snovi v sadju in zelenjavi: Laboratorijske vaje za študente 2. letnika hortikulture MSC. Univerza v Ljubljani: Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 2015.
28. Požrl T., Ciglič B., Demšar L., Hribar J., Polak T., *Journal of Chemistry Volume*, 2015.
29. Bučinel, Matej. 2011. Razsvetljava za gojenje rastlin: diplomsko delo. Ljubljana.
30. Hill C. B. and Williams P. H. Variation in Glucosinolates in Oriental Brassica' Vegetables. Department of Plant Pathology. University of Wisconsin. Madison. WI. 53706 Diana G. Carlson and H. L. Tookey Agricultural Research Service. U. s. Department of Agriculture. Northern Regional Research Center. Peoria. IL 61604. 1987
31. Aires, A., Marques, E., Carvalho R., Rosa E.A.S., Saavedra, M. J. Evaluation of Biological Value and Appraisal of Polyphenols and Glucosinolates from Organic Baby-Leaf Salads as Antioxidants and Antimicrobials against Important Human Pathogenic Bacteria, *Journal of American Society for Horticultural Science*, 2018, 112(2): str. od 309 do 313.
32. Jin-Hyuk Chun, Mariadhas Valan Arasu, Yong-Pyo Lim, and Sun-Ju Kim *Hort. Environ. Biotechnol*, 2013, 54(3): str. od 206 do 213.
33. Resh, H. M. 2012. *Hydroponic food production: a definitive guidebook for the advanced home gardener and the commercial hydroponic grower*. CRC Press, str: 525.



## Viri slik :

1. <https://www.etsy.com/nz/listing/539222975/rucola-50-seeds-eruca-sativa-rucoli>, povzeto 16. 2. 2020.
2. <https://naturalhealingroom.com/shop/herbs-spices/herbs-a-to-z/herbs-s-u-herbs-a-to-z/spinach-powder-spinacia-oleracea/>, povzeto dne 10. 2. 2020.
3. [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/cd/Mizuna\\_001.jpg/240px-Mizuna\\_001.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/cd/Mizuna_001.jpg/240px-Mizuna_001.jpg), povzeto dne 15. 2. 2020.
4. Smirnoff N. 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Annals of Botany*, 78, 6: 661–669.
5. Robertson A. A. B., Batting N. P. 1999. Synthesis of deuterium labelled desulfolucosinolates as internal standards for LC-MS analysis. *Tetrahedron*, 55: 13269–13284.

## PRILOGA 1: Sestava hranilne raztopine po Resh-u<sup>33</sup>

Makroelementi			koncentracije makroelementov v ppm (mg/l)						
soli	mg/l	g/1000L	N-NO <sub>3</sub>	N-NH <sub>4</sub>	PO <sub>4</sub> <sup>4-</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	820		140				200		
KNO <sub>3</sub>	180		25			70			
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	312					140			58
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	205			25	55				
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	435,6							40	52,8
			165	25	55	210	200	40	110,8

V 10 l kanto pripravimo koncentrat za pripravo hranilne raztopine za 10 x polnjenje bazenov 100 L. Polnimo v konc. 1L koncentrata/100L vode premešamo

Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> pripravimo ločeno v kanti A, ostale elemente pa v drugi kanti (B)!

zatehtane			koncentracije mikroelementov v ppm (mg/l)						
soli	mg/l	g/1000L	Mn	Zn	B	Cu	Mo	Fe	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86	2,86			0,5				
MnSO <sub>4</sub> *4H <sub>2</sub> O	2,03	2,03	0,5						
ZnSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	0,44	0,44		0,1					
CuSO <sub>4</sub> *5H <sub>2</sub> O	0,393	0,393				0,1			
Mo Klorid	0,12	0,12					0,05		
Fe.kelat	50	50							5
mg/l			0,5	0,1	0	0,1	0,05	5	

Pripravimo koncentrat 1l, nato vsakič v bazen (100 l) odmerimo 0,1 dcl (100 ml) koncentrata) ... imamo za 100 polnjenj