

**FAKULTETA ZA VARSTVO OKOLJA**

DIPLOMSKO DELO

**ODVISNOST POLARIZACIJE OD PRISOTNOSTI ZELENIH  
ALG**

Matic Mravljak

VELENJE, 2022



**FAKULTETA ZA VARSTVO OKOLJA**

DIPLOMSKO DELO

**ODVISNOST POLARIZACIJE OD PRISOTNOSTI  
ZELENIH ALG**

Matic Mravljak

Varstvo okolja in ekotehnologije

Mentor: doc. dr. Andrej Meglič

VELENJE, 2022



Številka: 726-19/2019-2  
Datum: 28. 9. 2020

Na podlagi Diplomskega reda izdajam naslednji

### SKLEP O DIPLOMSKEM DELU

Študent Visoke šole za varstvo okolja **Matic Mravljak** lahko izdela diplomsko delo z naslovom v slovenskem jeziku:

**Odvisnost polarizacije od prisotnosti zelenih alg.**

Naslov diplomskega dela v angleškem jeziku:  
**Polarization dependence of green algae presence.**

Mentor: **doc. dr. Andrej Meglič.**

Diplomsko delo mora biti izdelano v skladu z Diplomskim redom VŠVO.

Pouk o pravnem sredstvu: zoper ta sklep je dovoljena pritožba na Senat VŠVO v roku 8 delovnih dni od prejema sklepa.



Prof. dr. Boštjan Pokorný  
dekan

Visoka šola za varstvo okolja  
Trg mladosti 7 | 3320 Velenje  
t: 03 898 64 10 | f: 03 89864 13 | e: info@vsvo.si  
[www.vsvo.si](http://www.vsvo.si)





### Izjava o avtorstvu

Podpisani/a MATIC MRAVLJAK, z vpisno številko 34170045, študent/ka dodiplomskega /  
poddiplomskega (obkrožite) študijskega programa Varstvo okolja in ekotehnologije,  
sem avtor/ica diplomskega dela z naslovom Odvisnost polarizacije od prisotnosti zelenih alg, ki sem ga  
izdelal/a pod mentorstvom doc. dr. Andreja Megliča.

S svojim podpisom zagotavljam, da:

- je predloženo delo moje avtorsko delo, torej rezultat mojega lastnega raziskovalnega dela;
- da oddano delo ni bilo predloženo za pridobitev drugih strokovnih nazivov v Sloveniji ali tujini;
- da so dela in mnenja drugih avtorjev, ki jih uporabljam v predloženem delu, navedena oz. citirana v skladu z navodili FVO;
- da so vsa dela in mnenja drugih avtorjev navedena v seznamu virov, ki je sestavni element predloženega dela in je zapisan v skladu z navodili FVO;
- se zavedam, da je plagiatorstvo kaznivo dejanje;
- se zavedam posledic, ki jih dokazano plagiatorstvo lahko predstavlja za predloženo delo in moj status na FVO;
- je diplomsko delo jezikovno korektno in da je delo lektoriral/a Valentina Hrastnik;
- da dovoljujem objavo diplomskega dela v elektronski obliki na spletni strani FVO;
- da sta tiskana in elektronska verzija oddanega dela identični.

V Velenju, dne \_\_\_\_\_

---

\_\_\_\_\_  
podpis avtorja/ice



## **ZAHVALA**

Zahvaljujem se mentorju doc. dr. Andreju Megliču  
za pomoč in vodenje pri opravljanju diplomskega dela.  
Zahvaljujem se tudi vsem ostalim profesorjem na  
Fakulteti za varstvo okolja, ki so me usmerjali v času študija.

Posebna zahvala velja tudi  
moji družini, ki mi je omogočila študij,  
ter partnerki za vso podporo.



## IZVLEČEK

V sklopu diplomske naloge smo preverjali odvisnost stopnje polarizacije od prisotnosti zelenih alg v vzorcih vode. Zelene alge so prisotne v mnogih ekosistemih na Zemlji. Glede na njihovo številčnost in vpletenost v naravne procese lahko delujejo kot potencialni indikatorji kakovosti in stanja okolja oziroma kot sredstvo za ugotavljanje dodatnih informacij glede razmer v ekosistemu.

Preverjanje kakovosti okolja s pomočjo polarimetričnih študij lahko uvrščamo med novodobne metode za preverjanje fizikalnih, kemijskih in bioloških okoljskih parametrov. V tej smeri so se začele v 20. stoletju razvijati preiskave, ki se osredotočajo na pridobivanje informacij o stopnji polarizacije svetlobe, ki se odbija od vodnih teles.

S polarimetrično kamero, dodatno opremljeno z modrim, zelenim in rdečim filtrom, smo merili stopnjo polarizacije vzgojene kulture zelenih alg vrste *Chlorella vulgaris*. Rezultate smo primerjali z vzorci vode in celulognega prahu, za kontrolo smo uporabili vodovodno vodo. Stopnjo polarizacije smo preverjali pod različnimi koti, ob različnih ekspozicijah in pri različnih svetlobnih pogojih. Poskuse smo izvedli v laboratoriju, ob prisotnosti umetne svetlobe, ter na prostem, ob prisotnosti naravne svetlobe.

Po analizi rezultatov smo ugotovili, da je stopnja polarizacije vzorca vode nižja, če so v vzorcu prisotne alge. Razlike so bile največje v modrem in zelenem delu spektra, najmanjše pa v rdečem delu spektra. V primeru vzorca z belim celulognim prahom je bila stopnja polarizacije enaka po celotnem spektru, ne glede na uporabljen filter. Razlike so bile tudi glede na svetlobne pogoje. V laboratoriju smo večje razlike v stopnji polarizacije med vodo in vzorcem s kulturo zelenih alg dosegli v primeru dodatne difuzne osvetlitve. V naravnih pogojih je bila stopnja polarizacije višja, če je bila kamera postavljena pod Brewsterjevim kotom glede na vodno gladino, ohranil pa se je trend, da je bila stopnja polarizacije pri vodovodni vodi višja kot pri vodi s kulturo alg ali celulognem prahu.

**Ključne besede:** stopnja polarizacije svetlobe, zelene alge, *Chlorella vulgaris*, oddaljeno spremeljanje fitoplanktona

## ABSTRACT

This diploma thesis is based on measurements of the degree of polarization in association with water samples of green algae. Green algae are present in many ecosystems on Earth. Considering their involvement in the natural processes they can be used as a potential indicator of the quality of the environment, or as a means of determining additional information regarding the well-being of the ecosystem.

Checking the quality of the environment with the help of polarimetric studies can be classified as a modern method for checking physical, chemical, and biological environmental parameters. In this direction, investigations began to develop in the 20th century, focusing on obtaining information on the degree of polarization of light reflected from water bodies.

With a polarimetric camera equipped with interchangeable blue, green and red filter, we measured the degree of polarization of different water samples with added pre-grown *Chlorella vulgaris* algae culture. The results were compared with water containing cellulose dust and tap water was used as a control. The degree of polarization was checked at different angles, at different exposures and under different lighting conditions. The experiments were carried out in the laboratory, in the presence of artificial light, and outdoors, in the presence of natural light.

After analysing the results, we found that the degree of polarization was lower in samples containing green algae. The differences were greatest in the blue and green part, and the smallest in the red part of the light spectrum. In the case of the sample with white cellulose powder, the degree of polarization was the same throughout the spectrum, regardless of the filter used. Differences in the degree of polarization were also observed when comparing the results of measurements under different lighting conditions. In the laboratory, greater differences in the degree of polarization between water and a sample with green algae culture were achieved in the case of additional diffuse lighting. Under natural conditions, the degree of polarization was higher when the camera was placed at Brewster's angle relative to the water surface; however, the trend of higher degree of polarization in the tap water compared to water with algal culture or cellulose powder was maintained.

**Keywords:** degree of polarization, green algae, *Chlorella vulgaris*, remote monitoring of phytoplankton

## KAZALO

1	UVOD .....	1
1.1	Nameni, cilji in hipoteze.....	1
2	PREGLED LITERATURE .....	2
2.1	Fitoplankton.....	2
2.1.1	Zelene alge .....	2
2.1.2	Zelena alga <i>Chlorella vulgaris</i> .....	3
2.2	SPREMLJANJE FITOPLANKTONA V VODNEM TELESU .....	7
2.2.1	Standardne metode za spremljanje fitoplanktona .....	7
2.2.2	Fluorescanca .....	8
2.3	Polarizacija.....	9
2.3.1	Polarizirana svetloba .....	10
2.3.2	Stopnja polarizacije svetlobe .....	11
2.3.3	Brewsterjev kot .....	11
2.3.4	Raziskave s pomočjo polarimetričnih tehnik .....	12
3	MATERIALI IN METODE .....	13
3.1	Oprema .....	13
3.1.1	Laboratorijski inventar.....	13
3.1.2	Kamere, leče, svetila, programska oprema .....	13
3.2	Gojenje zelenih alg.....	14
3.3	Polarimetrična kamera .....	15
3.4	Izvedba poskusov .....	17
3.4.1	Meritve stopnje polarizacije z umetno osvetlitvijo .....	18
3.4.2	Meritve stopnje polarizacije z naravno osvetlitvijo .....	19
4	Rezultati in diskusija.....	20
4.1	Stopnja polarizacije pri različnih koncentracijah alg .....	20
4.2	Stopnja polarizacije v naravnih razmerah.....	22
5	Povzetek .....	25
6	Viri .....	27

Slika 1: Zelena alga <i>C. vulgaris</i> pod mikroskopom .....	4
Slika 2: Shema celice zelene alge <i>C. vulgaris</i> (Jeran in sod., 2020).....	4
Slika 3: Razmnoževanje zelene alge <i>C. vulgaris</i> : a) zgodnja faza celične rasti, b) pozna faza celične rasti, c) faza delitve kloroplasta, d) zgodnja faza delitve protoplastov, e) pozna faza delitve protoplastov, f) faza zorenja hčerinske celice in g) faza nastanka samostojnih celic (Safi in sod. 2014).....	5
Slika 4: Standardne metode za spremljanje fitoplanktona: A - Secchi disk, B – mreža za vzorčenje fitoplanktona. ....	7
Slika 5: Fluorescenca: A – shema poteka energetskega preskoka elektrona, ki preide v vzbujeno stanje, B – Stokesov premik.....	8
Slika 6: Ročni senzor fluorescence klorofila a. Modra vzbujevalna svetloba izstopa iz senzorja pod kotom. Organizmi, ki imajo CHL, oddajo svetlobo rdeče barve, bližje ko so senzorju, večji je signal. ....	9
Slika 7: Polarizacija svetlobe ob stiku z vodno površino. ....	10
Slika 8: Shema loma svetlobe pod Brewsterjevim kotom. ....	11
Slika 9: Normalizirane transmitance uporabljenih barvnih filterov.....	13
Slika 10: Bučka s kulturo vzgojenih alg. ....	14
Slika 11: Polarimetrična kamera: A - posamezen slikovni senzor, B – štirje sosednji slikovni senzorji s polarizacijskimi filteri, postavljenimi pod različnimi koti ( $0^\circ$ , $45^\circ$ , $90^\circ$ in $135^\circ$ ).....	15
Slika 12: Štiri slike, posnete s polarimetrično kamero, s polarizacijskimi filteri, postavljenimi pod različnimi koti. ....	15
Slika 13: Nihanje jakosti posamezne slikovne točke v odvisnosti od kota polarizacije .....	16
Slika 14: Površina, iz katere je bila izračunana povprečna stopnja polarizacije. ....	17
Slika 15: Vzorčna tabela s polarizacijskimi filteri, nameščenimi pod različnimi koti.....	17
Slika 16: Postavitev poskusa s polarimetrično kamero ter kulturo alg v časi, oblepljeni s črno folijo in magnetnim mešalom, ki je skrbelo za homogenost vzorca.....	18
Slika 17: Fotografija postavitve poskusa v laboratoriju. ....	19
Slika 18: Slikovni prikaz stopnje polarizacije, merjene pri vodi in treh različnih koncentracijah zelene alge <i>C. vulgaris</i> . Pred polarimetrično kamero .....	20
Slika 19: Stolpični prikaz stopnje polarizacije s standardnim odklonom pri analizah vzorcev vode in treh različnih koncentracij alg.....	21
Slika 20: Slikovni rezultati stopnje polarizacije pri vzorcih vode, z alg in z celuloznem prahu pri izbranih ekspozicijah. ....	22
Slika 21: Stolpični prikaz stopnje polarizacije in standardnega odklona ob izbranih ekspozicijah meritev vzorcev vode, alg in celuloznega prahu.....	24
Preglednica 1: Sestava Jaworski medija (JM) za gojenje fitoplanktonskih organizmov .....	14
Preglednica 2: Postopek meritev in izbrane ekspozicije. ....	19
Preglednica 3: Stopnja polarizacije (DOP) pri uporabi barvnih filterov in različnih koncentracij zelenih alg in vode .....	21
Preglednica 4: Stopnja polarizacije (DOP) v naravi ob izbranih ekspozicijah – brez filtra .....	23
Preglednica 5: Stopnja polarizacije (DOP) v naravi ob izbranih ekspozicijah – moder filter ..	23
Preglednica 6: Stopnja polarizacije (DOP) v naravi ob izbranih ekspozicijah – zelen filter....	23
Preglednica 7: Stopnja polarizacije (DOP) v naravi ob izbranih ekspozicijah – rdeč filter .....	23
Priloga A: Koda za analizo stopenj polarizacije, napisana v programu MatLab (MathWorks, ZDA).....	31

## 1 UVOD

Obstajajo standardne metode za določevanje prisotnosti alg in ostalih organizmov v vodnih telesih. Te se preverjajo v skladu z direktivo EU o vodah (Direktiva 2000/60/ES), ki navaja obvezna ocenjevanja ekološkega stanja voda.

Te metode so standardizirane in obsegajo meritve koncentracije klorofila *a*, določevanje celokupnega biovolumena fitoplanktona in vrstne sestave. Za ugotavljanje bistrosti vode in s tem posredno ocenjevanje prisotnosti raznih organskih in anorganskih snovi v njej, uporabljamo Secchi disk. Dodatno se za beleženje kakovosti voda ugotavljajo tudi fizikalno-kemijski parametri vode, kot so: temperatura, pH ter električna prevodnost.

Večina metod ima omejene možnosti celovitega prostorskega in časovnega spremljanja vodnega telesa, zato so se razvile metode daljinskega zaznavanja. Te metode temeljijo predvsem na analizi fluorescence fotosintetskih pigmentov tistih organizmov, ki se najpogosteje pojavljajo v raznih vodnih telesih (Kubiak, 2016).

Tovrstni senzorji se uporabljajo na različne načine. Lahko se uporabljam ročno ali nameščajo statično na merilne postaje, ladijske boje, tovorne ali potniške ladje in na raziskovalna plovila. Delujejo tudi kot del večnamenskih merilnih naprav, kjer dopolnjujejo skupke informacij z ostalimi senzorji za spremljanje fizikalno-kemičnih parametrov vode. (Rozina, 2019).

V diplomskem delu smo se osredotočili na ocenjevanje prisotnosti zelenih alg s pomočjo polarimetričnega slikanja.

Svetlobna telesa, kot so sonce ali žarnica, na nitko sevajo nepolarizirano svetlobo, kjer so vektorji fotonov razporejeni naključno. Fotoni se ob prehodu skozi atmosfero zaletavajo ob majhne delce in molekule v atmosferi, kar povzroči njihovo sisanje. Najbolj se sipajo fotoni v UV spektru, najmanj pa v rdečem delu spektra. Sisanje je odvisno tudi od kota vektorja, tako da je ob vzhodu in zahodu pas z najvišjo stopnjo polarizacije preko zenita opazovalca (Rossel, 1993).

Polariziran vzorec nastane tudi pri odboju svetlobe od nekovinskih ravnih površin, kot so gladine vodnih teles, površine rastlinskih listov ali živalskih teles (Cronin in sod., 2003). Del svetlobe, ki se od objekta ne odbije zrcalno, se lahko absorbira v objekt ali pa se odbije difuzno. Stopnjo polarizacije odbite svetlobe tako določa razmerje med zrcalno ter difuzno odbito svetlogo (Ilič, 2018). Stopnja polarizacije od vode odbite svetlobe pa je lahko odvisna od fizikalnih, kemijskih in bioloških parametrov vode.

### 1.1 NAMENI, CILJI IN HIPOTEZE

Namen naloge je bil pripraviti primerne vzorce za analizo odvisnosti polariziranosti svetlobe od prisotnosti zelenih alg ter priprava in uspešna izvedba metode za preverjanje odvisnosti polarizacijske svetlobe od prisotnosti zelenih alg v omenjenih vzorcih. Meritve smo opravljali v kontroliranem okolju v laboratoriju ter na prostem ob sončni svetlobi. Po opravljenih analizah smo podatke medsebojno primerjali glede na merjeni vzorec, uporabo barvnega filtra ter kraja izvedbe.

Cilj naloge je bil pridobiti znanje o polarizaciji ter ugotoviti, kako prisotnost zelenih alg vpliva na stopnjo polarizacije v vzorcih.

Hipoteza 1: S pomočjo stopnje polarizacije lahko določimo prisotnost zelenih alg v vodnem telesu.

Hipoteza 2: Stopnja polarizacije je obratno sorazmerna s koncentracijo zelenih alg.

## 2 PREGLED LITERATURE

### 2.1 FITOPLANKTON

Fitoplankton sestavljajo fotoavtotrofi, ki pripadajo različnim taksonomskim skupinam. Večinoma gre za alge, med fitoplankton pa običajno prištevamo tudi bakteriplankton, ki je sposoben vršiti fotosintezo, na primer cianobakterije. Fitoplankton je ključen pri ustvarjanju kisikove atmosfere in primarne produkcije. Zaradi hitre industrializacije in urbanizacije se povečuje obremenjevanje vodnih teles. Največkrat sta vzroka prekomerne obremenitve neurejeno odvajanje komunalnih vod ter izpiranje in iztekanje gnojil s kmetijskih površin.

Posledica je prekomerna razrast fitoplanktona, kar imenujemo cvetenje. Do cvetenja prihaja v oceanih, braktičnih in celinskih vodah. Cvet lahko tvorijo različni rodovi alg, dinoflagelatov, diatomej in cianobakterij, ki so še posebej problematične zaradi toksinov (Sedmak, 2006). Cvet preprečuje prodiranje svetlobe v globino, vpliva na fizikalne in kemične lastnosti vode ter na biodiverziteto.

Do cvetenja jezer prihaja predvsem v poletnih in jesenskih mesecih. Povečana je zlasti koncentracija biogenih elementov, kot sta dušik in fosfor (Hłuszyk in Stankiewicz, 1998). V odpadnih vodah sta dušik in fosfor zastopana v obliki fosfatov, nitratov, amonijaka oziroma organskega dušika.

#### 2.1.1 Zelene alge

Zelene alge so raznolike in vseprisotne v vodnih ter kopenskih habitatih. Nastale so z združitvijo evkariontske gostiteljske celice in cianobakterije, ki je postala stabilno integrirana in se spremeniла v plastid. Omenjena simbioza se je najverjetneje zgodila pred 1,5 milijarde let in zaznamovala izvor prvih kisikovih fotosintetskih evkariontov (Leliaert in sod., 2012).

V osnovi so zelene alge fotoavtotrofni organizmi, ki s fotosintezo pretvarjajo svetlobno energijo v kemično. V procesu fotosinteze porabljamogljkov dioksid in vodo, proces pa omogočajo pigmenti, med katerimi prevladuje klorofil. Kot odpadni produkt procesa nastajata kisik (Juran in sod., 2020).

Pripisujemo jim številne značilnosti, med katerimi so nekatere skupne tudi s kopenskimi rastlinami. Kloroplasti so obdani z dvojno membrano ter vsebujejo klorofil *a* in *b* ter pomožne pigmente. Njihov glavni rezervni polisaharid je škrob. Večina zelenih alg ima trdne celične stene, sestavljene iz celuloze (Leliaert in sod., 2012).

Do sedaj je bilo opisanih in analiziranih približno 40.000 vrst. Posamezne vrste zelenih alg so med seboj zelo različne, tako morfološko kot fiziološko. Velikostno segajo od najmanjšega znanega prostoživečega evkarionta do večjih večceličnih oblik. Naseljujejo vse vrste voda: od sladkovodnih do slanih, od zelo kislih do bazičnih, od prosojnih do motnih. Razlog za njihovo variabilnost je prilaganje različnim habitatom z različnimi koncentracijami hrani in svetlobe. Te koncentracije so odvisne od fizikalnih značilnosti habitatov, kot so: transparentnost, tok vode, temperatura, prevodnost itd. (Flores in Barone, 2009).

Zelene alge so še posebej raznolike in številčne v sladkovodnih okoljih, v katerih ob pretiranem vnosu hrani lahko tvorijo cvet. Znane so tudi v morskih okoljih. Zelene morske alge so pogoste v večjih obalnih habitatih in lahko tvorijo tudi obsežne prosto plavajoče cvetove, imenovane zelena plimovanja (Leliaert in sod., 2012). Alge, lebdeče na vodni površini, spadajo med neustonske, prosto plavajoče in jih imenujemo planktonske, pritrjene na različne površine pa bentoške (Jeran in sod., 2020). Nekatere vrste zelenih alg so prilagojene na ekstremna okolja, kot so: vroče ali mrzle puščave, slani habitati, kisle vode, vode z ekstremnimi koncentracijami kovin, globoke morske vode. Poznamo tudi vrste, ki so izključno prilagojene samo na kopenske habitate ali pa so razvile izključno heterotrofni življenjski slog kot paraziti ali prostoživeče vrste (Leliaert in sod., 2012). Pojavljajo in razmnožujejo se lahko tudi v zelo majhnih ekosistemih, kot so drevesne luknje, majhni tolmini, mahovine; pa vse do večjih jezer, rek, morij ali ledenikov. Torej različne vrste zelenih alg lahko najdemo pravzaprav v vseh podnebnih pasovih od severnega pola do ekvatorja in južnega pola (Flores in Barone, 2009).

Razmnožujejo se lahko nespolno ali spolno. Osnova nespolnega razmnoževanja je mitoza; v ugodnih pogojih iz ene celice s celično delitvijo nastaneta dve celici. V primeru nitastih alg se nitasta steljka podaljšuje, nekatere vrste pa se razmnožujejo s trosi oziroma sporami, ki so lahko običkane. Tip spolnega razmnoževanja je odvisen od vrste; poznamo izogamijo, anizogamijo in oogamijo. Preživijo lahko tudi v suhih okoljih, v katerih se ob spolnem razmnoževanju razvije zigota z večplastno steno; lahko miruje več časa in je odporna na neugodne razmere (Jeran in sod. 2020).

Združbe zelenih alg sestavljajo veliko število vrst, ki so povezane s fizikalnimi, kemičnimi in biološkimi procesi ekosistemov. Zaradi številnosti in njihove vključenosti v različne procese predstavljajo pomembno orodje za spremljanje kakovosti in sprememb v okolju (Flores in Barone, 2009).

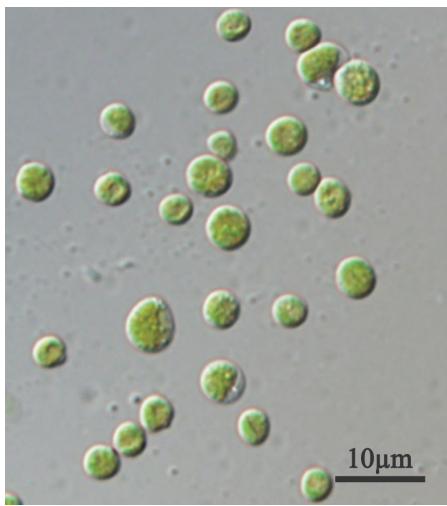
## 2.1.2 Zelena alga *Chlorella vulgaris*

*Chlorella vulgaris* je vrsta zelenih mikroskopskih enoceličnih alg, njene posamezne celice imajo premer od 2 do 10 µm.

### 2.1.2.1 Znanstvena klasifikacija *C. vulgaris*

Domena: evkarionti (Eukaryota)  
Kraljestvo: rastline (Plantae)  
Deblo: zelene alge (Chlorophyta)  
Razred: Trebouxiophyceae  
Red: Chlorellales  
Družina: Chlorellaceae  
Rod: *Chlorella*  
Vrsta: *Chlorella vulgaris*

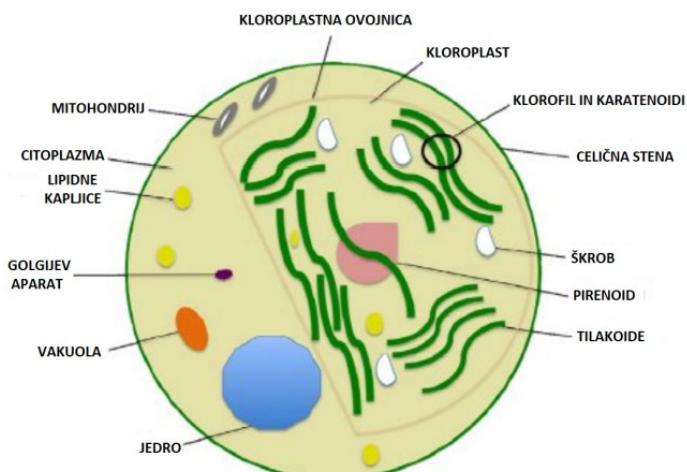
Prvi jo je leta 1890 opisal nizozemski mikrobiolog Martinus Willem Beijerick. Ime izvira iz grške besede chloros, kar pomeni zeleno in latinske pripone ella, ki opisuje njeno mikroskopsko velikost. Ocenjuje se, da je na zemlji prisotna od predkambrija pred 2,5 milijarde let (Safi in sod., 2014).



Slika 1: Zelena alga *C. vulgaris* pod mikroskopom.

#### 2.1.2.2 Celica *C. vulgaris*

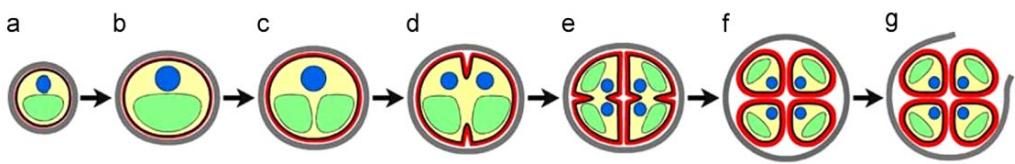
Večino celice *C. vulgaris* zapoljuje en kloroplast, v katerem nastajajo škrobna zrna, ob stresnih pogojih pa se v citoplazmi tvorijo lipidne kapljice. V celici so prisotni tudi drugi organeli: jedro, vakuola, golgijev aparat in mitohondriji. Celico obdaja celična stena, katere debelina je odvisna od samega razvoja celice in se giblje nekje od 2 nm do 17 nm, lahko tudi do 21 nm (Jeran in sod., 2020).



Slika 2: Shema celice zelene alge *C. vulgaris* (Jeran in sod., 2020).

#### 2.1.2.3 Razmnoževanje *C. vulgaris*

Razmnoževanje *C. vulgaris* poteka nespolno preko avtosporulacije (Jeran in sod., 2020). V optimalnih pogojih lahko v okvirno 24 urah v celici nastanejo štiri hčerinske celice s svojo celično steno. Ko te dozorijo, se celična stena materinske celice pretrga in omogoči samostojno bivanje hčerinskim celicam, ki kot prvo hrano porabijo ostanke materinske celice (Safi in sod. 2014).



Slika 3: Razmnoževanje zelene alge *C. vulgaris*: a) zgodnja faza celične rasti, b) pozna faza celične rasti, c) faza delitve kloroplasta, d) zgodnja faza delitve protoplastov, e) pozna faza delitve protoplastov, f) faza zorenja hčerinske celice in g) faza nastanka samostojnih celic (Safi in sod. 2014).

#### 2.1.2.4 Optimalni pogoji za rast

Na rast *C. vulgaris* vpliva več dejavnikov, ki jih v grobem lahko razdelimo na dve skupini. Prva skupina dejavnikov se nanaša na hranične vrednosti okolja oziroma kemijsko sestavo medija. Med hraničnimi elementi je najpomembnejša prisotnost ogljika in dušika, sledijo fosfor, silicij, kovine (žezezo, baker, cink) ter vitaminji. Med omenjenimi faktorji je v nekaterih raziskavah tudi pritegnilo pozornost razmerje med najbolj pomembnima elementoma ogljikom in dušikom. Razmerje med elementoma naj bi vplivalo na presnovni metabolizem alge. Druga skupina dejavnikov so fizikalni dejavniki okolja, kot so pH, temperatura, intenzivnost in trajanje svetlobe ter pretok vode (Daliry in sod., 2017).

*C. vulgaris* za uspešno rast potrebuje zadosten vir svetlobe. Najbolj učinkovita je svetloba bele barve, v kateri so prisotni vsi spektri valovne dolžine svetlobe. Prisotnost vseh spektrov barv je pomembna, saj le-ti različno vplivajo na rast in razvoj celic: modra svetloba omogoča, da se celice razvijejo, rdeča spodbuja, da se celice delijo hitreje, zelena pa prodre globje v kulturo. Raziskave kažejo, da je energetsko učinkovitejše intervalno osvetljevanje, saj alge rastejo nekoliko bolj pospešeno kot pri stalnem osvetljevanju (Jeran in sod., 2020). Čeprav se celice alg lahko delijo v svetlem ali temnem delu cikla, ugotovitve kažejo, da se pri *C. vulgaris* delitev celic poveča v temnem delu (Daliry in sod., 2017).

Raste lahko v širokem pH območju, in sicer od pH 4 do pH 10 (Jeran in sod., 2020). Za najbolj optimalno rast potrebuje nekoliko bazično okolje, kjer je idealen pH med 9 in 10 (Daliry in sod., 2017).

Najbolj optimalna temperatura za gojenje *C. vulgaris* je okoli 30 °C, raste lahko tudi pri temperaturah od 16 do 35 °C. Pri nižjih temperaturah od 16 °C se razvoj celic upočasni, pri višjih od 35 °C pa lahko začnejo propadati (Jeran in sod., 2020).

Za učinkovito rast alg je pomembno tudi mešanje oziroma ustrezni pretok medija, v katerem raste, saj zagotavlja enakomerno izpostavljenost alg svetlobi, hranigom in omogoča boljšo izmenjavo plinov (Jeran in sod., 2020).

#### 2.1.2.5 Načini gojenja in rasti *C. vulgaris*

Znani so trije presnovni mehanizmi in s tem povezani načini gojenja *C. vulgaris*, in sicer avtotrofna, heterotrofna in miksotrofna rast.

Za avtotrofne načine gojenja je značilna uporaba ogljikovega dioksida kot vira ogljika in prisotnost svetlobe za potek fotosinteze, ki zagotavlja vir energije. Možna je uporaba odprtih ali zaprtih sistemov gojenja.

Heterotrofna rast poteka v odsotnosti svetlobe in z dovajanjem organskega ogljika. Viri ogljika, ki se uporabljajo za gojenje *C. vulgaris*, so lahko glukoza, acetat, glicerol ali glutamat (Safi in sod., 2014). Pri omenjenem načinu rasti je možna večja stopnja rasti in večja koncentracija lipidov celicah, ki nastajajo kot posledica gojenja v odsotnosti svetlobe (Jeran in sod., 2020).

Rast celic v primeru mikrotrofne rasti ni eksistenčno odvisna samo od svetlobe ali samo od hranil, saj svojo energijo tvorijo tudi s pomočjo organskega ogljika v kombinaciji s svetlobo. V tem primeru gre za zmožnost alg kombiniranja heterotrofnega in avtotrofnega načina rasti (Safi in sod., 2014).

#### 2.1.2.6 Uporaba *C. vulgaris* v prehrani

*C. vulgaris* je ena redkih mikroalg, ki jo lahko najdemo na tržišču kot prehransko dopolnilo, barvilo in emulzijo hrane. Visoka vsebnost beljakovin s prisotnostjo esencialnih hranil je pritegnila pozornost znanstvenikov med prvo svetovno vojno kot nizkocenovni in kakovostni vir hrane. Po industrijski revoluciji je prevzela vlogo prehranskega dopolnila zlasti v Nemčiji, na Kitajskem in Japonskem, v ZDA ter Evropi. Izkazalo se je tudi, da zaradi visoke vsebnosti beljakovin lahko v živilski industriji deluje kot emulgator. Polisaharidi, kot so agar in alginati iz *C. vulgaris*, se uporabljajo za zgoščevanje in želiranje. Kot naravno barvilo izboljša stabilnost in teksturo barvil (Tiong in sod., 2020) V njej najdemo devet esencialnih in pet neesencialnih aminokislin in pomembne vitamine, kot so B1, B2, B12, K, E in C ter nikotinsko kislino. Njena hranilna vrednost znaša okvirno 3 12,5 kJ/g, vsebuje 55 % beljakovin in 15 % ogljikovih hidratov (Jeran in sod., 2020).

Poleg tega je uporaba *C. vulgaris* ob prehrani živali pokazala zaščitni učinek proti težkim kovinam in drugim škodljivim spojinam z redukcijo oksidativnega stresa oziroma s povečanjem antioksidativne aktivnosti v organizmih testiranih živali (Safi in sod., 2014).

#### 2.1.2.7 Uporaba *C. vulgaris* v medicini

*C. vulgaris* se v medicinske namene uporablja predvsem na Japonskem. Vsebuje lutein in zeaksantin, ki sta antioksidanta in varujeta celice pred prostimi radikali. Linolenska kislina v etanolnih izvlečkih *C. vulgaris* kaže protibakterijsko delovanje v primerih kožnih okužb z bakterijama *Staphylococcus aureus* in *Salmonella typhi* (Tiong Kai Ru in sod., 2020).

#### 2.1.2.8 Uporaba *C. vulgaris* v okoljskem inženirstvu

*C. vulgaris* lahko pri gojenju v fotobioreaktorju za čiščenja odpadnih vod fiksira do 74 % v vodi raztopljenega ogljikovega dioksida, 45-97 % dušika, 28-96 % fosfatov ter zmanjša kemijsko potrebo po kisiku za 61-86 %. S tem jo uvrščamo med potencialne mikroorganizme za bioremediacijo v tekstilnih, komunalnih, kmetijskih odpadnih vodah in odplakah (Jeran in sod., 2020). Poleg odstranjevanja organskih hranil je *C. vulgaris* uporabna tudi za odstranjevanje težkih kovin v gojišču. V eni izmed raziskav (Reyes in sod., 2022) so *C. vulgaris* za sedem dni izpostavili trem različnim koncentracijam svinca, in sicer: 1 mg/l, 3 mg/L in 5 mg/l. Po sedmih dneh so bile končne koncentracije svinca v vzorcih: 0,1453 mg/l, 0,4144 mg/l in v zadnjem 0,5305 mg/L. Iz omenjenih rezultatov so ugotovili, da je uporabna za odstranjevanja svinca v vodi in kot potencialni organizem za bioremediacijo vode, saj se ne glede na različne koncentracije svinca njena potencialna rast in biomasa v vzorcih ni razlikovala. Poleg tega so ugotovili, da lahko znatna količina aminokislin v *C. vulgaris* ob gnojenju drugih rastlin deluje kot sredstvo za olajšanje prodiranja in absorbცije mikrohranil skozi različne dele rastlin. Tako se poveča rast in vsebnost hranil pridelka ter s tem deluje kot biognojilo. Izboljša tudi lastnosti tal, kot sta zadrževanje vlage in prezračevanje. V primerjavi s kemičnimi gnojili izboljšuje kmetijski pridelek z manjšim negativnim vplivom na okolje (Tiong in sod., 2020).

#### 2.1.2.9 Uporaba *C. vulgaris* za biogoriva

Mikroalge so eden izmed potencialnih alternativnih virov za biogoriva, saj ne predstavljajo konkurenco hrani in za rast ne potrebujejo njiv. Trenutno so proizvodni stroški še vedno visoki, uporaba pa se ne more primerjati z običajnim gorivom. Tako pridelava iz mikroalg ugodno

tekmuje z ostalimi pridelki (soja, koruza, seme ogrščice ...) zaradi njihovega potenciala za proizvodnjo 10-20-krat več olja v krajšem časovnem obdobju (Safi in sod., 2014).

Kot že omenjeno ima *C. vulgaris* zmožnost kopičenja večjih količin lipidov v celici, zlasti pri gojenju v miksotrofnih pogojih. Njen mastno kislinski profil se je izkazal kot primeren za proizvodnjo oksidativno stabilnega biodizla, katerega lastnosti so skladne s standardi, ki jih navajajo svetovne organizacije za produkcijo dizla, petroleja in biodizla. Po ekstrakciji lipidov je preostanek materiala bogat z beljakovinami, ogljikovimi hidrati in manjšimi količinami lipidov. Te je možno porabiti s hitro pirolizo v reaktorju za pridobivanje bio olja in bio oglja (Safi in sod., 2014).

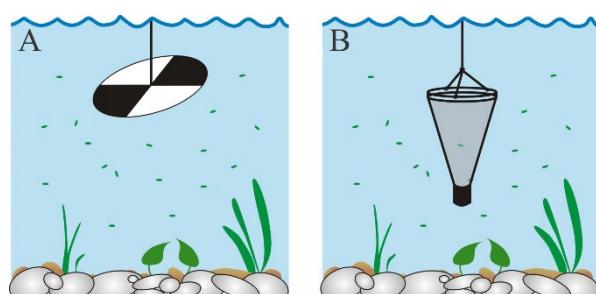
## 2.2 SPREMLJANJE FITOPLANKTONA V VODNEM TELESU

### 2.2.1 Standardne metode za spremljanje fitoplanktona

Določitev fitoplanktona je v skladu z okvirno direktivo EU o vodah (Direktiva 2000/60/ES) obvezna za ocenjevanje ekološkega stanja vode.

Standardne metode vključujejo oceno transparentnosti vode s pomočjo Secchi diska, vzorčenje fitoplanktona za določitev vrstne sestave, določitev biovolumna in koncentracije klorofila *a*.

Secchi disk je okrogel disk z belimi in črnimi polji in se spusti navpično v vodno telo, ob tem se opazuje izginotje njegove plošče, ki je ob spuščanju usmerjena vodoravno. V vodno telo se spušča do izginotja, globina izginotja diska pa je obratno sorazmerna s povprečno količino organskih in anorganskih materialov vzdolž njegove poti v vodi. Metoda Secchi diska je v uporabi še danes in je ena izmed redkih metod, pri katerih se še uporablja vizualni občutek izvajalca (Preisendorfer, 1986).

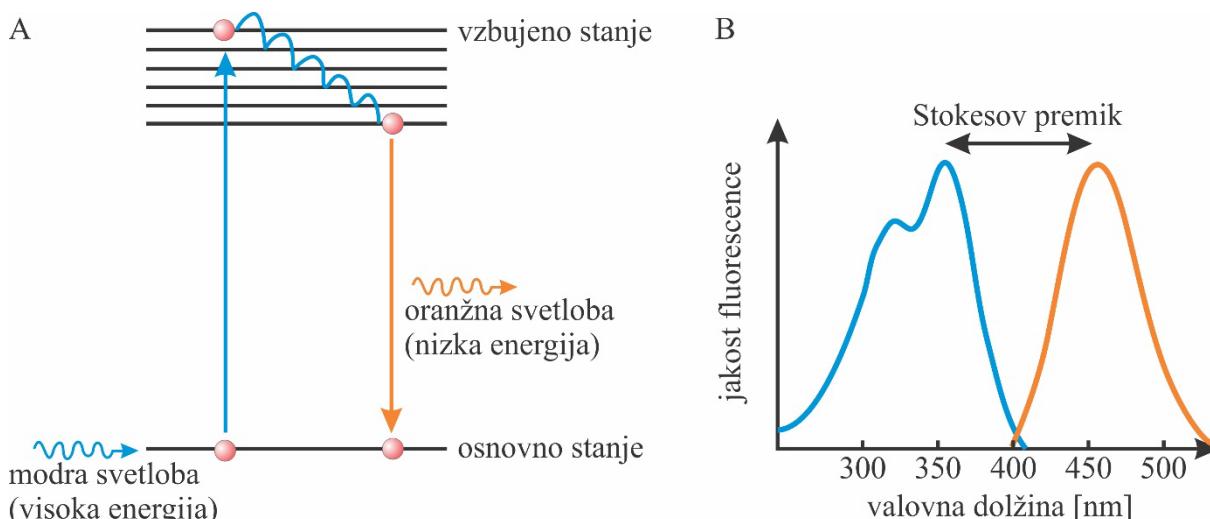


Slika 4: Standardne metode za spremljanje fitoplanktona: A - Secchi disk, B – mreža za vzorčenje fitoplanktona.

Klorofil *a* je primaren fotosintetski pigment in je prisoten v vseh fitoplanktonskih organizmih (Wetzel, 2001). Njegova koncentracija je povezana s celotnim biovolumnom fitoplanktona in ne omogoča razlikovanja med različnimi skupinami fitoplanktona, na primer med algami in cianobakterijami. Slednje omogoča taksonomska klasifikacija, ki ima določene omejitve, predvsem dolgorajno analizo, potrebo po visoko usposobljenih kadrih ter visoke stroške. Poleg tega rezultati kažejo le stanje v času vzorčenja na določenem mestu. V Sloveniji se tako standardni monitoring fitoplanktona izvaja štirikrat letno. Zaradi dnevnih, sezonskih in vremenskih migracijskih vzorcev lahko tovrstno vzorčenje da zavajajoče podatke (Walsby in sod., 2004). Posebej problematična so vodna telesa, kjer prihaja do cvetenja cianobakterij. To je povezano z neprijetnimi vonjavami, občasno pa prihaja tudi do zastrupitev živali (Sedmak in sod., 1994; Lürling in Faassen, 2013). V takšnih primerih so potrebne metode, ki omogočajo enostavnejše spremljanje vodnega telesa z višjo časovno in prostorsko ločljivostjo.

## 2.2.2 Fluorescenza

Atom snovi, ki fluorescira, pri osvetlitvi s kratkovalovno svetlogo sprejme kvant svetlobne energije. Elektron atomskega ovoja, ki sprejme to energijo, preide v vzbujeno stanje. Elektron nato še med pobudilnim sevanjem skoči nazaj v osnovno stanje. Pri tem odda odvečno energijo v obliki svetlobnega kvanta. Ker se del energije potroši znotraj mnogoatomskega sistema snovi, ima oddani svetlobni kvant manj energije kot sprejeti in posledično daljšo valovno dolžino. Ta premik imenujemo Stokesov premik.

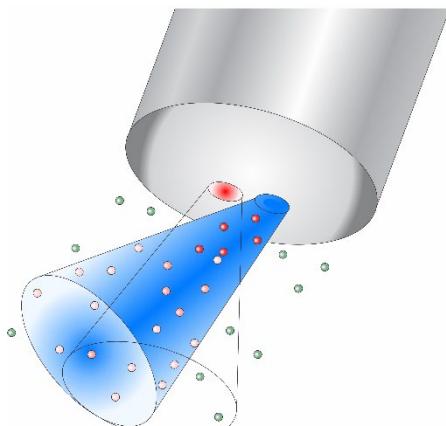


Slika 5: Fluorescenza: A – shema poteka energetskega preskoka elektrona, ki preide v vzbujeno stanje, B – Stokesov premik.

Fotosintezni organizmi imajo zelo ambivalenten odnos do svetlobe. Kot oksigeni fotoavtotrofi jo potrebujejo za svoj obstoj, hkrati se ob preveliki količini svetlobe tvorijo škodljive reaktivne kisikove zvrsti, ki so stranski produkti fotosinteze. Svetlobna energija, ki jo zbere sistem zbiralcev energije, se odvede za fotosintezo v fotokemičnih reakcijah kot toplota in kot fluorescencija. (Rozina, 2019)

Emisija, merjena pri 685 nm, ob ekscitaciji med 430 in 480 nm, je sprejeta kot merilo vsebnosti klorofila a v algah (Gregor in Maršálek, 2004; Whitton, 2012; Simis in sod., 2012). Metoda torej temelji na merjenju fluorescence klorofila a ali drugih fotosintetskih pigmentov v živih fitoplanktonskih celicah.

V preteklosti so fluorescenco merili v laboratoriju, tehnološki napredek pa je v zadnjih letih omogočil merjenje fluorescence na vodnem telesu. Takšne senzorje fluorescence lahko uporabljamo za ročno merjenje, lahko so del stacionarnih merilnih postaj, nameščeni na boje ali priključeni na raziskovalna plovila ali na tovorne in potniške ladje (Ruokanen in sod., 2003, Ghadouani in Smith, 2005; Seppälä in sod., 2007; Lepistö in sod., 2008 in 2010, 2009; Anttila in sod., 2012). V številnih poskusih se je dokazalo, da lahko na osnovi meritve fluorescence zanesljivo ugotavljamo prisotnost in koncentracijo tako alg kot cianobakterij. Slednje imajo pomožna fotosintezna barvila, ki fluorescira pri drugih valovnih dolžinah kot klorofil a (Kong in sod., 2013; Kasinak in sod., 2015; Zamyadi in sod., 2016). Poleg podatka o prisotnosti nam tovrstne meritve fluorescence celo dajejo vpogled v fiziološko stanje cianobakterij (Sedmak in sod., 2009; Ding in sod., 2013; Meglič in sod., 2016). Merjenje fluorescence klorofila in fikocianina omogoča hitro odkrivanje sprememb planktonske populacije (Bastien in sod., 2011; Seppälä in sod., 2007).



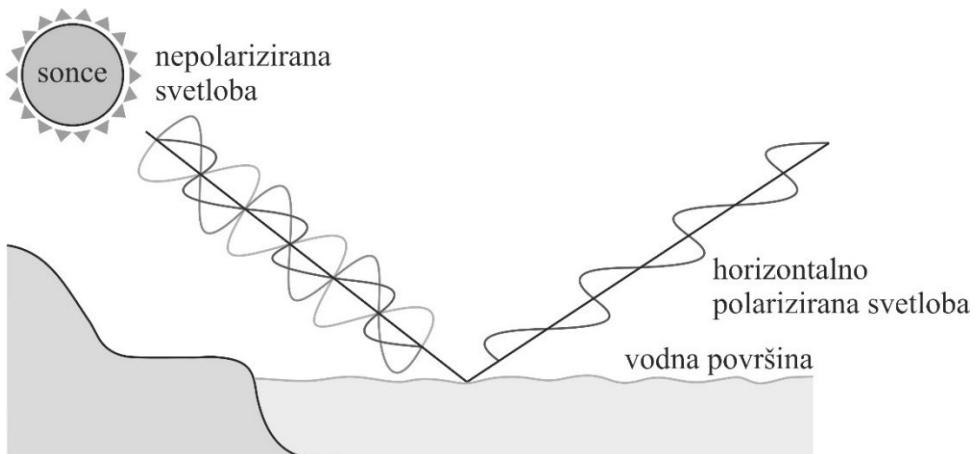
Slika 6: Ročni senzor fluorescence klorofila a. Modra vzbujevalna svetloba izstopa iz senzorja pod kotom. Organizmi, ki imajo CHL, oddajo svetljobo rdeče barve, bližje ko so senzorju, večji je signal.

Primerjava fluorescence z biomaso je pokazala visoko korelacijsko (Gregor, 2007; Izydorczyk in sod., 2005; Macário in sod., 2015). Za pravilno vrednotenje signala senzorjev fluorescence se je potrebno zavedati nekaterih omejitev; na signal vpliva neenakomerna porazdelitev zaradi prisotnosti kolonij, prisotnost bioloških in mineralnih delcev v vodi ali fiziološko stanje cianobakterij in alg (McQuaid in sod., 2011; Zamyadi in sod., 2012; Chang in sod., 2012). Odstopanja se pojavljajo tudi zaradi neustrezne umeritve senzorjev (Bowling in sod., 2012; Song in sod., 2013).

### 2.3 POLARIZACJA

Svetloba je elektromagnetno sevanje različnih valovnih dolžin. Vidna svetloba niha na valovnih dolžinah med 400 in 800 nanometrov. Človeško oko ne zaznava vseh lastnosti svetlobe, zaznava lahko dve: intenzivnost in barvo. Jakost sevanja določa intenzivnost svetlobe, valovna dolžina sevanja pa barvo (Smith, 2008).

Polarizacija svetlobe opisuje del svetlobnega sevanja iste usmerjenosti, ki se ob stiku z neko površino lahko odbija pod različnimi koti in z različno jakostjo. Naravna svetloba je lahko popolnoma polarizirana, delno polarizirana ali popolnoma nepolarizirana. Polarizirana svetloba je redko vidna s prostim očesom, lahko pa jo zaznavajo nekatere živali (Smith, 2008). Svetloba se ob stiku z naravnimi in umetnimi materiali polarizira do neke določene mere, ki je odvisna od dejavnikov, kot so: fazni kot sevanja, medij, skozi katerega potuje, in material, s katerim je v interakciji. Svetlobo lahko polarizirajo tudi polarizacijski filtri, ti prepuščajo le določene žarke iste usmerjenosti, v splošnem pa se uporabljajo za filtriranje že polarizirane svetlobe, ki se odbija s površin in ima isto usmerjenost. S filtri lahko tako preprečimo učinek bleščanja, kar naše oko ali kamera zaznava zaradi močnih snopov polarizirane svetlobe (Smith, 2008).



Slika 7: Polarizacija svetlobe ob stiku z vodno površino.

Leta 1669 je danski matematik Erasmus Bartholinus prvi znanstveno opisal polarizacijo svetlobe. Z uporabo minerala kalcita je odkril učinek dvojnega loma svetlobe, saj je svetlobni žarek preko polariziranega stanja potoval v dve različni smeri. Leta 1672 pa je Christiaan Huygens nadgradil omenjene ugotovitve z valovno teorijo svetlobe in s tem popolnoma fizikalno opisal zakon odboja, loma in polarizacijske učinke dvojnega loma. Bil je tudi prvi, ki je pravilno določil, da svetloba počasneje potuje v gostejših medijih, kot je na primer voda (Foster, 2017).

Ključni napredki za razumevanje polarizacije v odvisnosti od okolja in materialov so se odvili v zgodnjem 19. stoletju. Sprva z odkritjem, kako popolnoma filtrirati polarizirano svetlobo, Etienna-Luisa Malusa, znan je tudi po odkritju, da je svetloba lahko delno polarizirana (Smith, 2008). Opazil je, da je svetloba, ki se odbija od vode, postala popolnoma polarizirana z določenega vpadnega kota in da je kot povezan z lomnim količnikom vode (Foster, 2017). Njegove ugotovitve je nadgradil in izpopolnil Sir David Brewster; odkril je nevtralno točko polarizacije na nebu in formuliral zakon (tj. Brewsterjev zakon), ki povezuje smer loma svetlobe z vpadnim kotom, za ugotavljanje jakosti povzročene polarizacije (Smith, 2008). Temelje za polarimetrično optiko je v tem času postavil tudi francoski matematik Francois Argo, izumitelj prvega polarizacijskega filma in odkritelj krožne oziroma rotacijske polarizacije (Foster, 2017).

Zgodnje 20. stoletje se je začelo s ključnimi in pomembnimi odkritji na področju polarimetrije. Med prvimi so bile ugotovite, kako se odražata odbojnost (barva) in hrapavost materiala na odboj (polarizirane) svetlobe, čemur pravimo Umov učinek. Umovo odkritje je pripomoglo k dokazovanju razlike v stopnji polarizacije glede na stik z naravnimi ali umetnimi materiali. Verjetno najvplivnejše odkritje 20. stoletja s področja polarizacije je prvi listnatni polarizacijski film, ki je omogočil učinkovitejše meritve svetlobne polarizacije in s tem postavil temelje za nadaljnja odkritja in izdelavo fotografiskih filtrov. Izdelal ga je Edwin H. Land leta 1928 (Smith, 2008).

Pred nekaj več kot pol stoletja so bila tudi odkritja polarizacije svetlobe pod vodno gladino, ki so pomagala razumeti, kako pojav polarizacije za svoje potrebe uporabljajo morske živali. Med leti 1954 in 1956 so se začele najzgodnejše meritve polariziranega podvodnega polja in občutljivosti stanja polarizacije od sončne svetlobe (Kattawar in sod., 2016).

### 2.3.1 Polarizirana svetloba

Svetloba je snop več linearно polariziranih elektromagnetnih valovanj, pri katerih njihova usmeritev ni predpostavljena, lahko so različna in nihajo nepredvidljivo. To je značilno za nepolarizirano svetobo. Tako je svetloba, ki izvira iz svetlobnega telesa kot je sonce ali žarnica z žarilno nitko, nepolarizirana in se ogromno število atomov, ki oddajajo svetobo, giblje

nekoherentno in imajo naključno porazdelitev orientacijskega polja. Ko nastane prednostna usmerjenost električnega polja, ampak ni popolnoma koherentna, govorimo o delno polarizirani svetlobi. Odstotek celotne jakosti polja, ki je polariziran, je znan kot stopnja polarizacije (Foster, 2017).

### 2.3.2 Stopnja polarizacije svetlobe

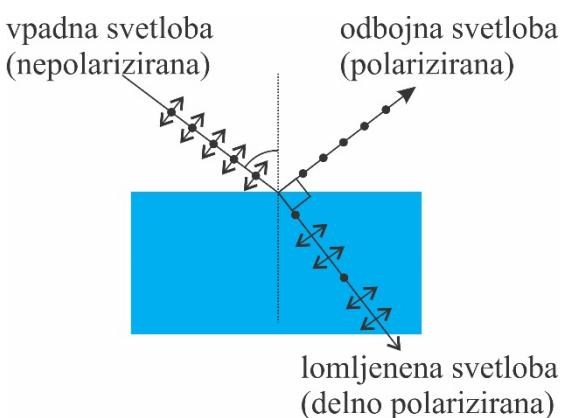
George Stokes je opredelil vidike svetlobe in se po njem imenujejo Stokesovi vektorji. Nanašajo se na polarizirano sevanje v smislu intenzivnosti, stopnje polarizacije in obliko polarizirane elipse. Te ugotovitve pomagajo matematično opisati polarizirano stanje svetlobe (Smith, 2008).

S pomočjo Stokesovih vektorjev je mogoče izračunati stopnjo polarizacije ki jo označujemo s kratico DOP, iz angleščine "Degree of polarization". Stopnja polarizacije (DOP) je količina za opisovanje deleža svetlobe, ki je po odboju od neke površine polariziran. Tako ima popolnoma polariziran val količino 1 ali 100 % in popolnoma nepolariziran val DOP 0 ali 0 %. Večinoma so valovi delno polarizirani z vrednostmi med 0 in 1 oziroma 0 % in 100 % (Foster, 2017).

Stopnja polarizacije je odvisna od obodnega kota svetlobe na površino, lomnih količnikov medija, skozi katerega potuje, in materiala, s katerim prihaja v stik (Medmrežje 1).

### 2.3.3 Brewsterjev kot

Svetloba, ki se odbija od ravne površine, je pogosto delno polarizirana. Površine, ki odbijajo polarizirano svetobo, so ravna vodna gladina, steklo, plastika, kovina ali celo beton. Pomembna lastnost odbite polarizirane svetlobe je, da je stopnja polarizacije odvisna od vpadnega kota svetlobe, pri čemer lahko opazimo naraščajoče količine polarizacije pri zmanjševanju vpadnih kotov. Ko opazujemo vpad nepolarizirane svetlobe na ravno površino, obstaja edinstven kot, iz katerega so vsi odbiti valovi polarizirani v eno samo ravnino. Ta kot se običajno imenuje Brewsterjev ali redko tudi polarizacijski kot. To je vpadni kot, pri katerem je odbjena svetloba popolnoma polarizirana. Brewsterjev kot je prav tako odvisen od lomnega količnika za določen medij, pri čemer je za steklo - zrak Brewsterjev kot okvirno  $56^\circ$  in za zrak-voda okvirno  $53^\circ$  (Abramowitz, 2017).



Slika 8: Shema loma svetlobe pod Brewsterjevim kotom.

Ko vpadni kot svetlobe doseže približno  $53^\circ$  (blizu Brewsterjevega kota), stopnja polarizacije doseže svojo največjo vrednost 1 oziroma 100 %, kar pomeni, da je odbita svetloba popolnoma linearno polarizirana. Smer polarizacije je v tem primeru pravokotna na vpadni kot svetlobe (Guanhua in sod., 2013).

### 2.3.4 Raziskave s pomočjo polarimetričnih tehnik

Satelitski senzorji, ki merijo stopnjo polarizacije svetlobe, so močno orodje za spremljanje vodnih ekosistemov. Podajajo lahko informacije glede kvalitete vode, kroženja ogljika ali prisotnosti organizmov. Dejanska barva oceana, opredeljena po spektralnem sevanju svetlobe, ki izstopa skozi morsko gladino, je dober indikator pigmentov fitoplanktona (npr. klorofila *a*) in pokazatelj vsebnosti delcev (npr. organskega ogljika). Te informacije so bile sprva pridobljene z izkoriščanjem jakosti svetlobe ne glede na njeno polarizacijo, kar pa je bilo do neke mere omejeno zaradi šibkosti svetlobnih signalov ob neugodnih vremenskih razmerah ali težavnosti merjenja zaradi nepredvidljivosti vodne gladine. Zaradi izboljšanja zmogljivosti in natančnosti opazovanja so se v zadnjem času začele tudi razvijati preiskave, osredotočene na izkoriščanje informacij polarizirane svetlobe, ki zapušča vodna telesa. V to smer so se začeli razvijati novi instrumenti in algoritmi, s katerimi lahko pridobivamo dodatne informacije glede celinskih in morski vodnih ekosistemov, ki bazirajo na pionirskeh ugotovitvah prejšnjih stoletij (Kattawar in sod., 2016).

Mnogi raziskovalci so se poleg polarizacije za pridobivanje Stokesovih vektorjev osredotočali tudi na polarizirano svetlobo, ki prihaja z neba, se odbija s površine vode in je s tem dodatno polarizirana, ko zapušča vodno gladino. Pojavilo se študije o zaznavanju polarizirane svetlobe z Brewsterjevega kota, kjer je svetloba, ki prihaja z neba, po odboju pravzaprav 100 % polarizirana, kar omogoča sistematično omejenost zgornje meje stopnje polarizacije, občutljive na koncentracijo delcev v vodi in njeno turbidnost. Nekatere raziskave so demonstrirale, da lahko prihajajoča polarizacija z oceana daje različne podatke o anorganskih ali organskih delcih (Foster, 2017). Polarizacija je bila uporabljena v študijih atmosfere in daljinskega zaznavanja oceana za zmožnosti pridobivanja informacije o sipanju mikrodelcev aerosola, porazdelitvi, velikosti in obliki delcev ter njihovi koncentraciji (El Habashi, 2018).

Konec 20. stoletja je bil zaznamovan s prvimi polarimetričnimi študijami s pomočjo kamer, poslanih v vesolje. Leta 1984 je posadka Space Shuttle posnela serijo fotografij za polarimetrično študijo manjšega atola Shark Bay. Sledi razvoj slikovne naprave POLDER (angl. "Polarization and Directionality of the Earth's Reflectance"), ki so jo v sodelovanju razvili Francozi in Japonci. Prva različica te strojne opreme je letela v vesolju osem mesecev (avgust 1996–junij 1997) in drugič devet mesecev (december 2002–oktober 2003). POLDER je zagotovil ene izmed prvih globalnih meritev spektra in usmerjenosti ter polariziranosti sončnega sevanja, ki ga odbija zemeljska atmosfera (Smith, 2008). Ostale naprave, poslane v orbito, so bile Multi-viewing, Multi-channel, Multi-polarization, Imager (3MI) s strani ESA/Eumetstat in Second Generation Global Imager (SGLI) s strani Japanese Global Change Observation Mission (GCOM-C). V prihodnjih letih bo NASA v vesolje poslala plovilo PACE, (angl. "Plankton Aerosol Clouds and ocean Ecosystem"). Instrument naj bi vseboval večkotne polarimetrične senzorje za pridobivanja podatkov za boljše razumevanje ekologije in biokemičnih procesov oceana in atmosfere (El Habashi, 2018).

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 OPREMA

##### 3.1.1 Laboratorijski inventar

Bučka za gojenje alg (2 l)

Čaše

Viale

Magnetni mešalnik

Črna aluminijasta folija

Svetleča aluminijasta folija

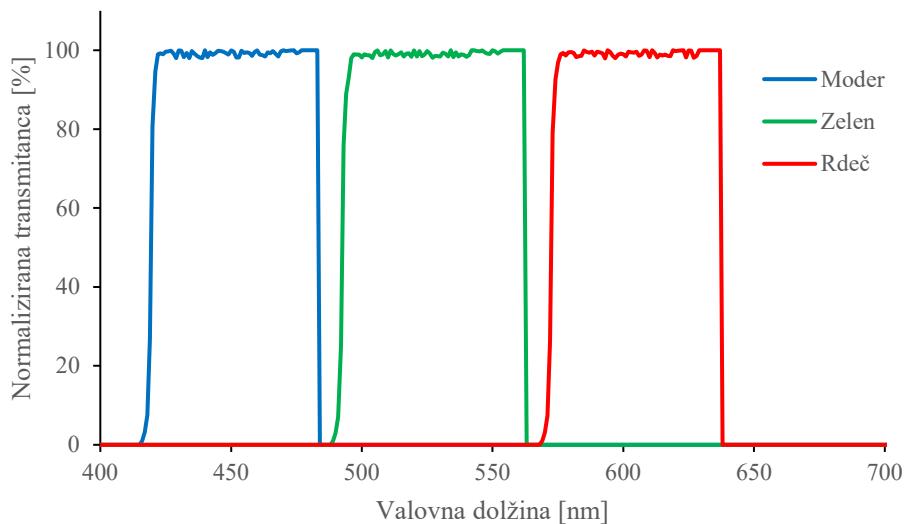
Prijemalke

Stojala

##### 3.1.2 Kamere, leče, svetila, programska oprema

Za merjenje stopnje polarizacije smo uporabili programsko opremo ArenaView 10 in kamero Lucio phx0505-PC (Lucid Vision Labs, Kanada), ki je bila povezana z nameščeno programsko opremo na prenosnem računalniku. Pred kamero sta bili nameščeni leči UV 2,5-0086 in Quartz lens: 25 mm/F2,8 (Thor Labs, Nemčija) ter izmenljivi interferenčni barvni filtri (Thor Labs, Nemčija) s prepustnostmi (srednja vrednost) pri 450 nm, 525 nm in 600 nm. S slednjimi smo hoteli preveriti, če lahko z merjenjem stopnje polarizacije pri različnih valovnih dolžinah pridobimo dodatne informacije o vzorcu ter ločimo zelene alge od delcev, v našem primeru celuloznega prahu.

Del poskusov smo opravili v laboratoriju. Za osvetlitev smo uporabili reflektor WASP / 28 V, DC / 10A (Hive lightning, ZDA).



Slika 9: Normalizirane transmitante uporabljenih barvnih filterov.

### 3.2 GOJENJE ZELENIH ALG

Kultura zelene alge (SAG 211-11b) *Chlorella vulgaris* je bila pridobljena od SAG - Culture Collection of Algae at Göttingen University. Kulturo smo gojili v 50 ml suspenziji medija Jaworski (Thompson in sod., 1988) v 100 ml steklenih bučkah, nato smo jo prenesli v 2 l steklene bučko. Vse laboratorijske kulture smo gojili pri sobni temperaturi, izpostavljene sončni svetlobi in naravnemu dnevno-nočnemu ritmu. Bučke s kulturami smo vsakodnevno premešali za zagotavljanje boljše izmenjave plinov ter enakomerne izpostavljenosti alg sončni svetlobi.

Preglednica 1: Sestava Jaworski medija (JM) za gojenje fitoplanktonskih organizmov

Snov	Koncentracija [g/100 ml]
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	2,0
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1,24
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	5,0
$\text{NaHCO}_3$	1,59
$\text{NaNO}_3$	3,0
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$	3,6
EDTAFeNa	0,225
EDTANa <sub>2</sub>	0,225
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,248
$\text{MgCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	0,139
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$	0,10
biotin	0,004
cianokobalamin	0,004
tiamin HCl	0,004

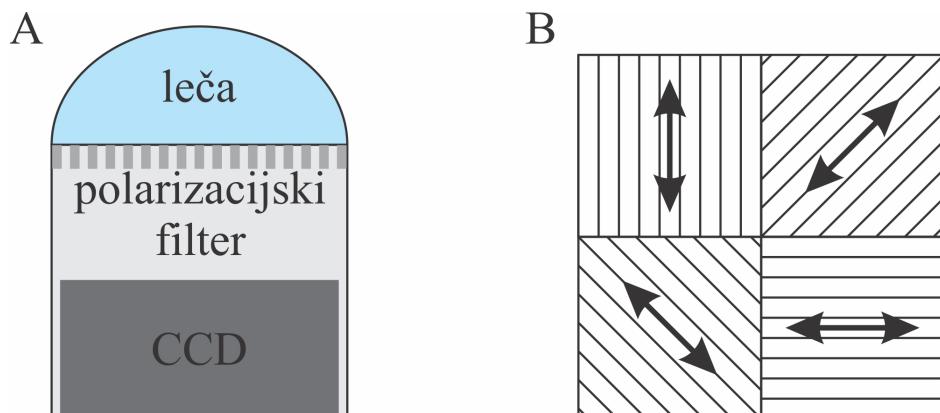
pH medija je bil 7,3.



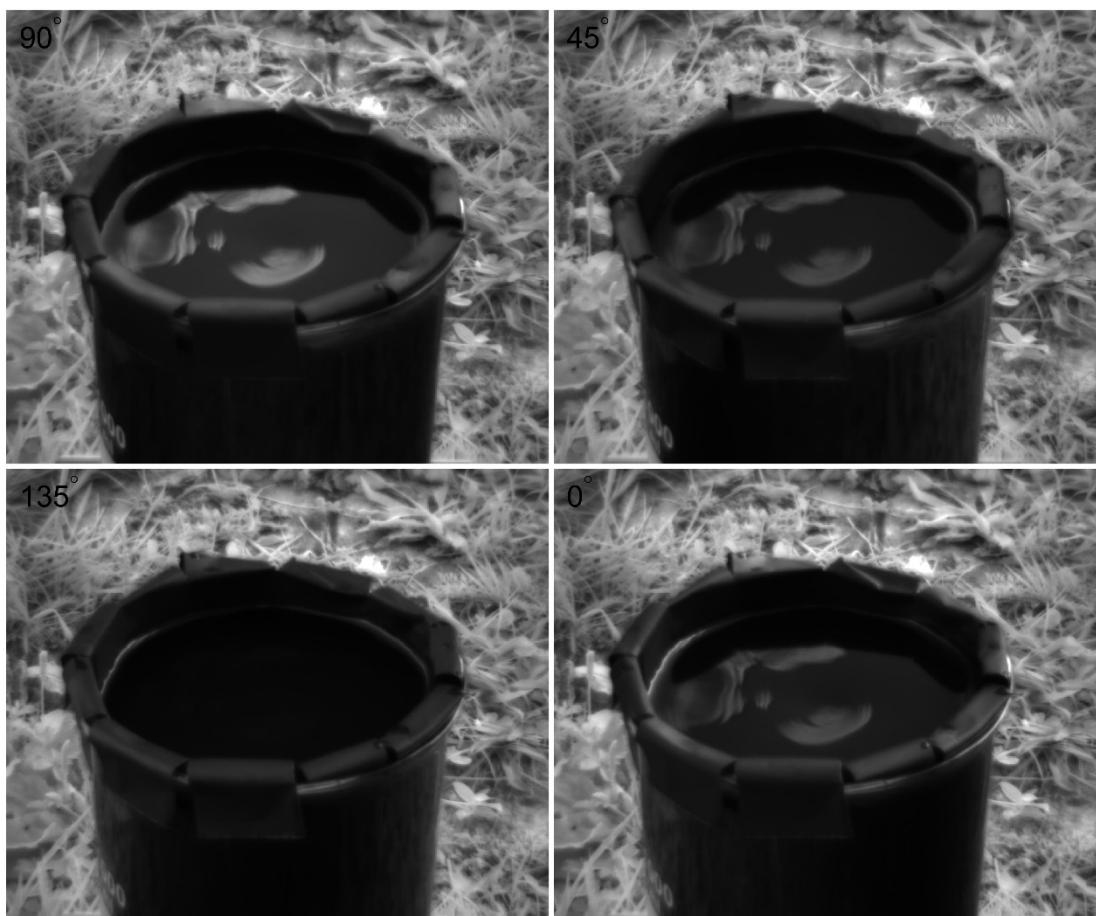
Slika 10: Bučka s kulturo vzgojenih alg.

### 3.3 POLARIMETRIČNA KAMERA

Polarimetrična kamera je v osnovi CCD (angl."Charge Coupled Device") kamera, nad vsakim slikovnim senzorjem pa je nameščen polarizacijski filter. Polarizacijski filtri so nameščeni s štirih kotov:  $0^\circ$ ,  $45^\circ$ ,  $90^\circ$  in  $135^\circ$ . Vsaka dobljena slika je tako sestavljena iz štirih podslik, vsaka je zajeta z določenega kota polarizatorja.

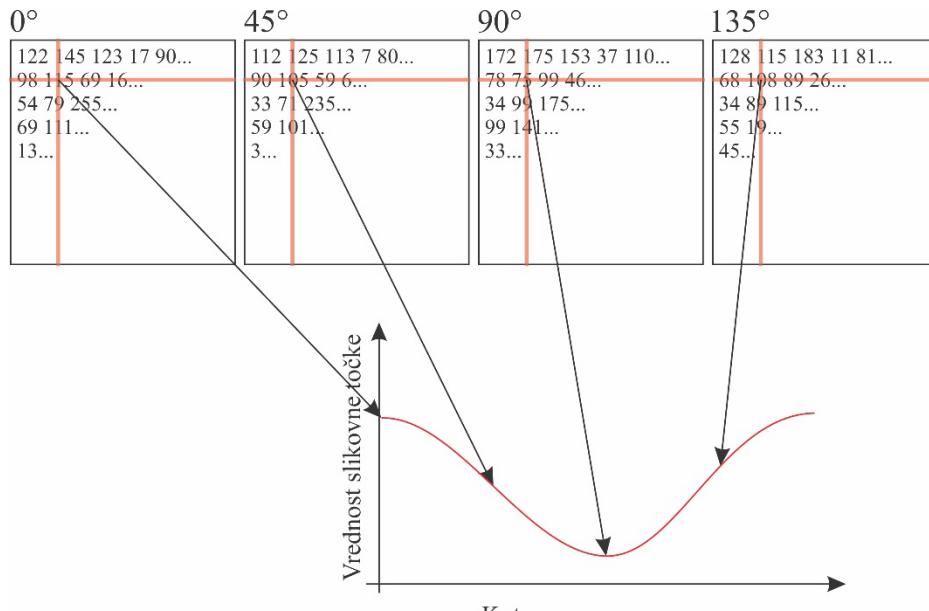


Slika 11: Polarimetrična kamera: A - posamezen slikovni senzor, B – štirje sosednji slikovni senzorji s polarizacijskimi filterji, postavljenimi pod različnimi koti ( $0^\circ$ ,  $45^\circ$ ,  $90^\circ$  in  $135^\circ$ ).



Slika 12: Štiri slike, posnete s polarimetrično kamero, s polarizacijskimi filterji, postavljenimi pod različnimi koti.

Nihanju jakosti v odvisnosti od kota polarizacije za vsako slikovno točko lahko prilagodimo kosinusno funkcijo.



Slika 13: Nihanje jakosti posamezne slikovne točke v odvisnosti od kota polarizacije

Iz parametrov prilagojene funkcije lahko izračunamo stopnjo polarizacije, lahko pa jo, kot smo to storili v našem primeru, izračunamo s pomočjo Stokesovih vektorjev (Qui in sod., 2021):

$$I = F_{0^\circ} + F_{90^\circ} \quad \dots(1)$$

$$Q = F_{0^\circ} - F_{90^\circ} \quad \dots(2)$$

$$U = F_{45^\circ} - F_{135^\circ} \quad \dots(3)$$

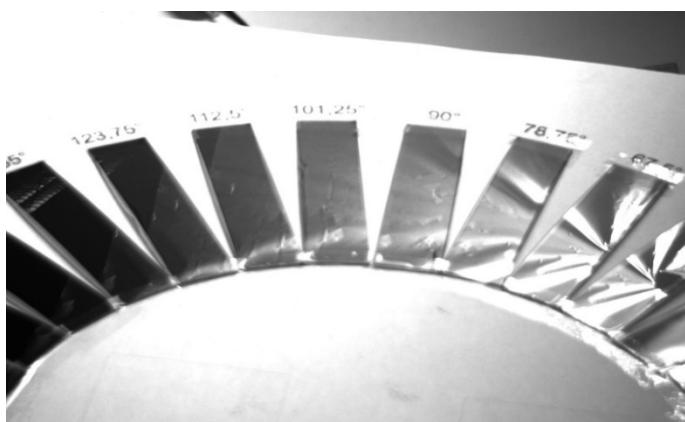
$$DOP = \frac{\sqrt{Q^2 + U^2}}{I} \quad \dots(4)$$

Na vsaki sliki smo označili pravokotno območje, na sredini vodne površine, kot prikazuje slika 13. Iz izbranega območja smo izračunali povprečno stopnjo polarizacije ter standardni odklon.



Slika 14: Površina, iz katere je bila izračunana povprečna stopnja polarizacije.

Za kontrolo merjenja in rezultatov smo uporabljali vzorčno tablico s polarizacijskimi filterji, nameščenimi pod umerjenimi koti.



Slika 15: Vzorčna tabela s polarizacijskimi filterji, nameščenimi pod različnimi koti.

### 3.4 IZVEDBA POSKUSOV

Stopnjo polarizacije smo merili v laboratorijskih pogojih s pomočjo umetne razsvetljave in v naravnih pogojih ob prisotnosti sončne svetlobe. Merili smo kulturo zelenih alg *C. vulgaris*. v 1000 ml čaši, ki smo jo, da bi preprečili odboje od stekla, z notranje strani oblekli s črno aluminijasto folijo. Pod čašo smo dali magnetno mešalo, ki je skrbelo za homogenost vzorca.

Za kontrolni vzorec smo pri obeh sklopih merjenj uporabili 1000 ml vodovodne vode.

Stopnjo polarizacije smo merili brez uporabe barvnega filtra pred polarimetrično kamero ter z uporabo modrega, zelenega in rdečega barvnega filtra.



Slika 16: Postavitev poskusa s polarimetrično kamero ter kulturo alg v časi, oblepljeni s črno folijo in magnetnim mešalom, ki je skrbelo za homogenost vzorca.

### 3.4.1 Meritve stopnje polarizacije z umetno osvetlitvijo

V laboratoriju smo poskušali simulirati naravne pogoje osvetljenosti vodnega telesa. Glavna osvetlitev, ki je predstavljala neposredno sončno osvetlitev, je bila narejena s pomočjo reflektorja WASP, usmerjenega v ploščo, prevlečeno z aluminijasto folijo. Drugi vir je bila navadna halogenska žarnica, usmerjena na vodno gladino in je simulirala difuzno svetlubo z neba. Merilno kamero smo namestili na stojalo in jo usmerili v isti ravnini z aluminijasto ploščo pod kotom  $53^\circ$  (Brewsterjev kot).



Slika 17: Fotografija postavitve poskusa v laboratoriju.

Meritve smo opravili z modrim, zelenim in rdečim barvnim filtrom. Za vsak barvni filter smo naredili meritve ob prisotnosti ozziroma odsotnosti drugega vira svetlobe. Prvi vzorec je bila prvotna kultura alg, za drugi vzorec smo prvotno kulturo redčili z vodo v razmerju 1 : 10 in za tretji vzorec 1 : 100. Koncentracija zelenih alg v neredčenem vzorcu je bila  $2,7 \cdot 10^5 \pm 0,3 \cdot 10^5$  celic/ml.

### 3.4.2 Meritve stopnje polarizacije z naravno osvetlitvijo

Meritve stopnje polarizacije smo opravili zunaj, na sončni svetlobi. Ker je ob preveč ali premalo osvetljeni sliki preračunavanje stopnje polarizacije zaradi nasičenih slikovnih točk nenatančno, smo vse meritve naredili ob izbranih eksponicijah, za katere smo sklepali, da bodo podale najbolj uporabne rezultate merjenja.

Sprva smo meritve stopnje polarizacije opravili brez barvnih filtrov, nato z rdečim, modrim in zelenim barvnim filtrom. Meritve smo opravili z naključnega kota in za primerjavo rezultatov tudi z Brewsterjevega kota.

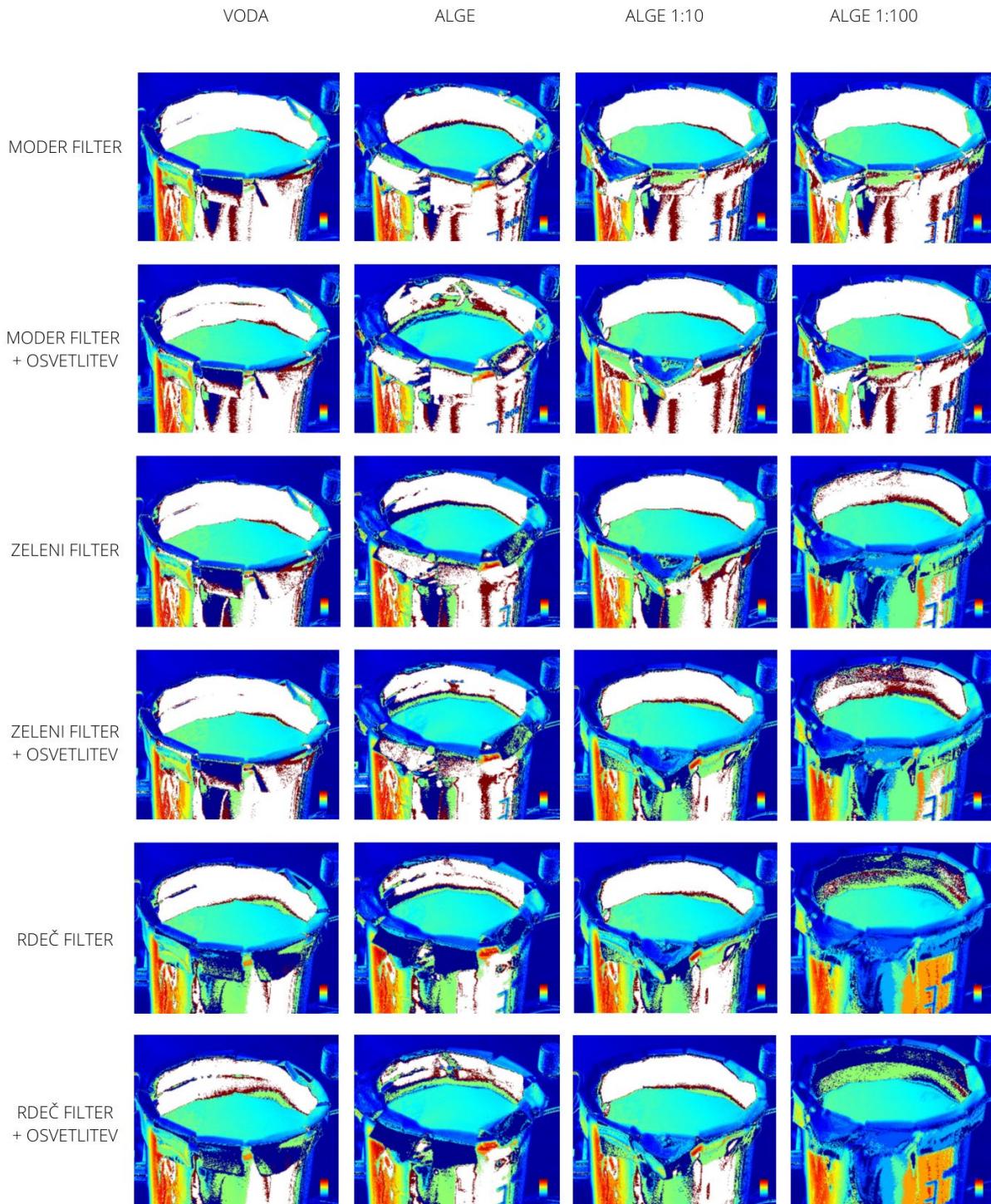
Merili smo samo pri eni koncentraciji zelenih alg ( $2,7 \cdot 10^5 \pm 0,3 \cdot 10^5$  celic/ml), smo pa poleg tega pomerili tudi vzorec vode, ki smo ji primešali fin bel celulozni prah (Allergy Research Group, ZDA). Vzorec z vodovodno vodo je ponovno predstavljal kontrolni vzorec.

Preglednica 2: Postopek meritev in izbrane ekspozicije.

Način merjenja	Izbrana ekspozicija
Brez filtra	5 ms, 10 ms, 20 ms
Brez filtra, Brewsterjev kot	10 ms, 20 ms
Moder filter	45 ms, 90 ms, 180 ms
Zelen filter	45 ms, 90 ms, 180 ms
Rdeč filter	45 ms, 90 ms, 180 ms

## 4 REZULTATI IN DISKUSIJA

### 4.1 STOPNJA POLARIZACIJE PRI RAZLIČNIH KONCENTRACIJAH ALG



Slika 18: Slikovni prikaz stopnje polarizacije, merjene pri vodi in treh različnih koncentracijah zelene alge *C. vulgaris*. Pred polarimetrično kamero smo namestili filter, ki je prepustjal svetlobo v modrem, zelenem in rdečem delu spektra. Svetlobni vir, ki je direktno osvetljeval površino, je bil vedno vklopljen, dodajali (+ OSVETLITEV) pa smo mu še difuzen vir.

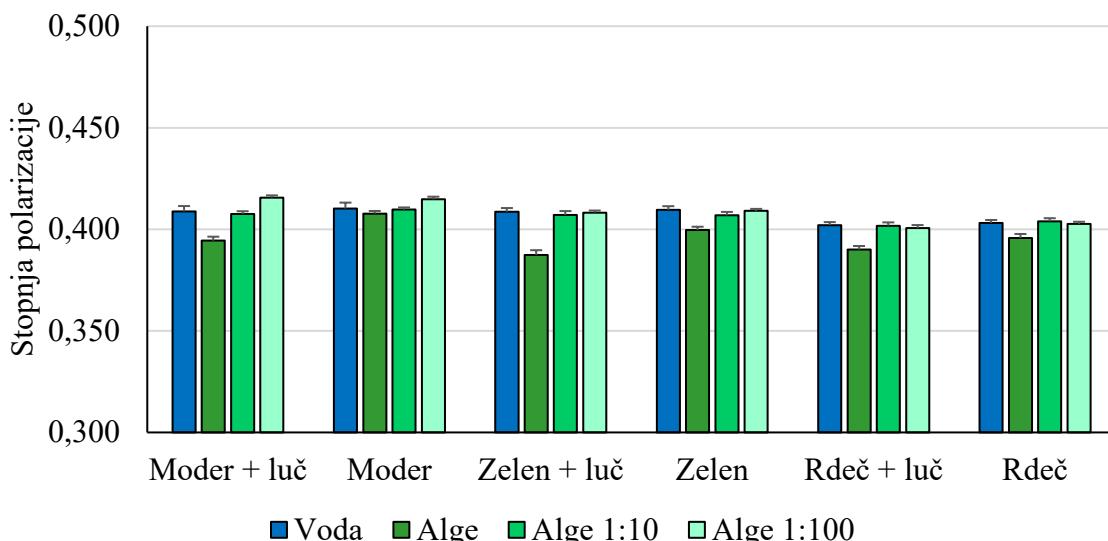
Slika 18 prikazuje rezultate merjenj stopnje polarizacije ob uporabi barvnih filtrov in prisotnosti dveh osvetlitev. V primeru zapisa "+ OSVETLITEV" gre za uporabo reflektorske svetlobe z

dodatkom svetlobe halogenske žarnice, v primerih brez zapisa pa smo meritve opravili brez halogenske žarnice. Za vzorec smo uporabili tri različne koncentracije alg, kjer smo originalni vzorec alg (ALGE) redčili v načinu 1 : 10 in 1 : 100. Za kontrolni vzorec smo uporabili navadno vodovodno vodo. Barve naraščajo v barvnem spektru od hladnih proti toplejšim barvam z naraščanjem stopnje polarizacije. Temno rdeča barva v tem primeru prikazuje najvišjo in temno modra najnižjo stopnjo polarizacije.

*Preglednica 3: Stopnja polarizacije (DOP) pri uporabi barvnih filterov in različnih koncentracij zelenih alg in vode. Prikazano je povprečje in standardni odklon.*

Stopnja polarizacije	Moder + luč	Moder	Zelen + luč	Zelen	Rdeč + luč	Rdeč
<b>Voda</b>	$0,409 \pm 0,003$	$0,410 \pm 0,003$	$0,409 \pm 0,002$	$0,410 \pm 0,002$	$0,402 \pm 0,001$	$0,403 \pm 0,001$
<b>Alge</b>	$0,394 \pm 0,002$	$0,408 \pm 0,001$	$0,387 \pm 0,002$	$0,400 \pm 0,002$	$0,390 \pm 0,002$	$0,396 \pm 0,002$
<b>Alge 1 : 10</b>	$0,408 \pm 0,001$	$0,410 \pm 0,001$	$0,407 \pm 0,002$	$0,407 \pm 0,002$	$0,402 \pm 0,002$	$0,404 \pm 0,002$
<b>Alge 1 : 100</b>	$0,416 \pm 0,001$	$0,415 \pm 0,001$	$0,408 \pm 0,001$	$0,409 \pm 0,001$	$0,401 \pm 0,002$	$0,403 \pm 0,001$

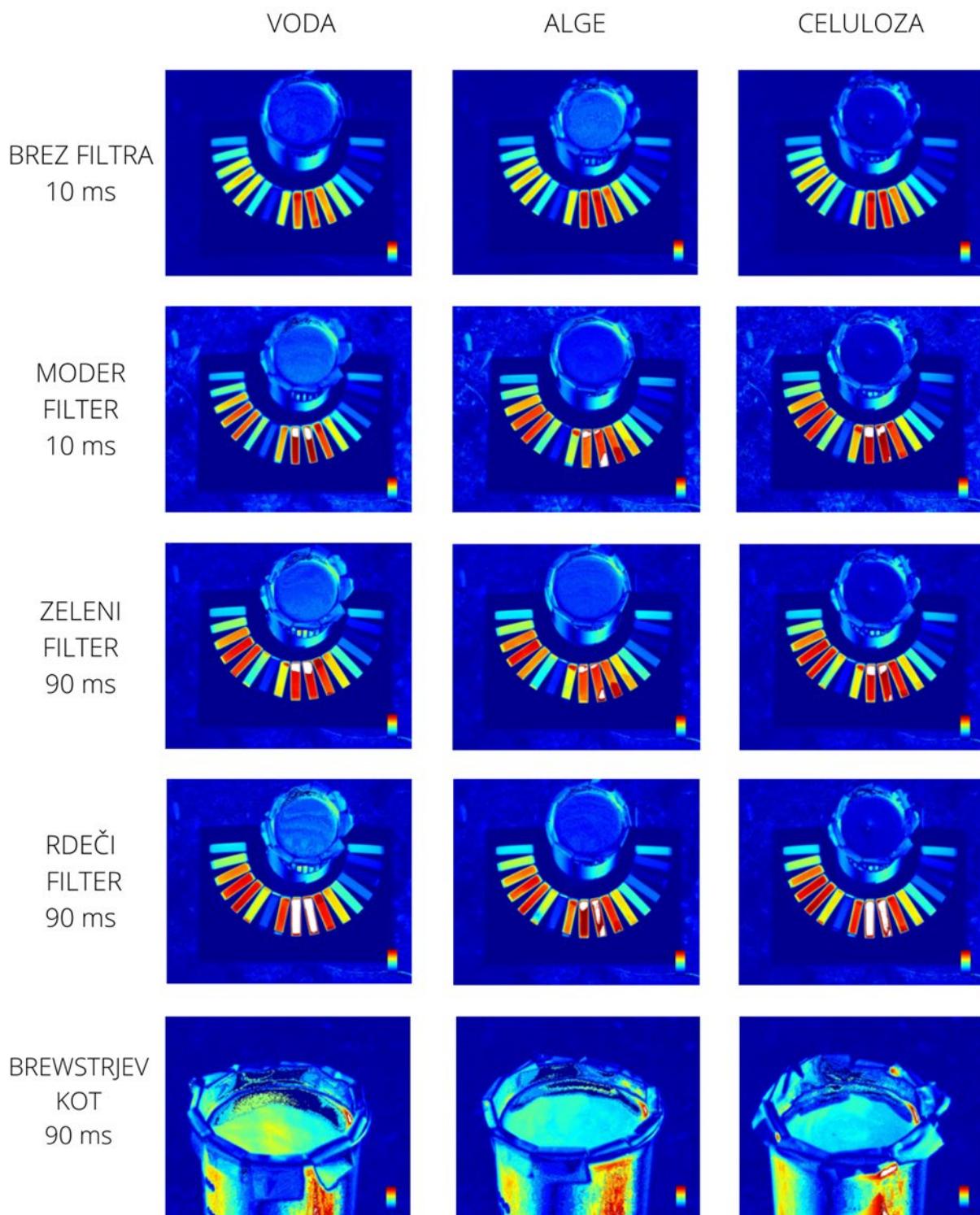
Stopnja polarizacije je bila najvišja v primeru vodovodne vode ter nižja v primeru kulture zelenih alg. Opazili smo, da je stopnja polarizacije naraščala z redčenjem vzorca alg. Razlike med vzorci so bile največje, ko sta bila pred polarimetrično kamero moder in zelen filter, najmanjše pa ob uporabi rdečega filtra. Dodatni difuzni vir svetlobe je imel na stopnjo polarizacije vodovodne vode majhen vpliv, je pa povečal razlike v primeru visokih koncentracij *C. vulgaris*.



Slika 19: Prikaz povprečne stopnje polarizacije s standardnim odklonom pri analiziranih vzorcih vode in treh različnih koncentracij alg

Zaradi razlik v stopnji polarizacije med vodo in kulturo zelenih alg lahko potrdimo našo prvo hipotezo, da je s pomočjo stopnje polarizacije možno zaznati zelene alge v vodnem vzorcu. Ker se stopnja polarizacije spreminja s koncentracijo alg, lahko poleg detekcije s pomočjo polarimetričnega slikanja sklepamo na koncentracijo.

#### 4.2 STOPNJA POLARIZACIJE V NARAVNIH RAZMERAH



Slika 20: Slikovni rezultati stopnje polarizacije pri vzorcih vode ter vode z algami in celuloznem prahu pri izbranih ekspozicijah.

Slika 19 prikazuje rezultate merjenj stopnje polarizacije ob naravni svetlobi. Stopnjo polarizacije smo merili ob izbranih ekspozicijah. Stopnjo polarizacije smo preverjali tudi pod naključnim kotom (prve štiri vrstice) in pod Brewsterjevim kotom, kjer so rezultati prikazani v zadnji spodnji vrstici. V vseh primerih smo uporabili isti vzorec alg. Vzorec s celulozo in vodo pa smo uporabili za preverjanje stopnje polarizacije ob prisotnosti snovi, ki je drugačna od alg. Za kontrolni vzorec smo uporabili navadno vodovodno vodo.

Preglednica 4: Stopnja polarizacije (DOP) v naravi ob izbranih ekspozicijah – brez filtra. Prikazano je povprečje in standardni odklon.

	Brewster 10 ms	Brewster 20 ms	5 ms	10 ms	20 ms
<b>Voda</b>	$0,478 \pm 0,038$	$0,386 \pm 0,031$	$0,226 \pm 0,004$	$0,208 \pm 0,004$	$0,196 \pm 0,002$
<b>Alge</b>	$0,389 \pm 0,004$	$0,377 \pm 0,006$	$0,151 \pm 0,002$	$0,144 \pm 0,002$	$0,142 \pm 0,002$
<b>Celuloza</b>	$0,349 \pm 0,024$	$0,359 \pm 0,008$	$0,075 \pm 0,008$	$0,071 \pm 0,009$	$0,069 \pm 0,008$

Preglednica 5: Stopnja polarizacije (DOP) v naravi ob izbranih ekspozicijah – moder filter. Prikazano je povprečje in standardni odklon.

	45 ms	90 ms	180 ms
<b>Voda</b>	$0,209 \pm 0,01$	$0,195 \pm 0,003$	$0,195 \pm 0,195$
<b>Alge</b>	$0,132 \pm 0,003$	$0,132 \pm 0,002$	$0,129 \pm 0,129$
<b>Celuloza</b>	$0,060 \pm 0,005$	$0,063 \pm 0,007$	$0,064 \pm 0,007$

Preglednica 6: Stopnja polarizacije (DOP) v naravi ob izbranih ekspozicijah – zelen filter. Prikazano je povprečje in standardni odklon.

	45 ms	90 ms	180 ms
<b>Voda</b>	$0,209 \pm 0,004$	$0,189 \pm 0,003$	$0,200 \pm 0,002$
<b>Alge</b>	$0,178 \pm 0,004$	$0,172 \pm 0,002$	$0,169 \pm 0,001$
<b>Celuloza</b>	$0,069 \pm 0,007$	$0,065 \pm 0,008$	$0,063 \pm 0,008$

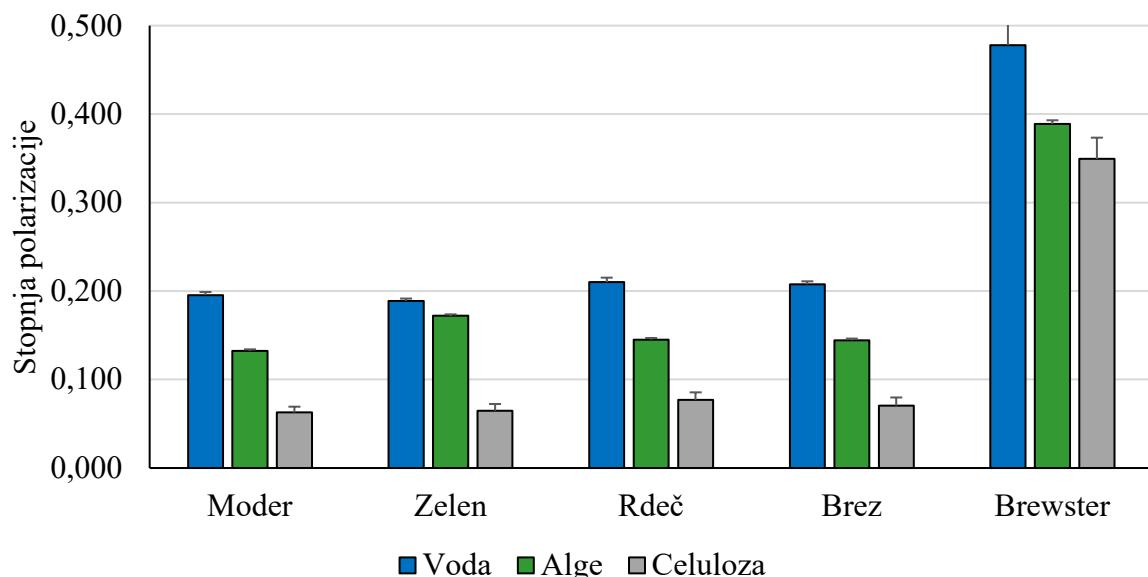
Preglednica 7: Stopnja polarizacije (DOP) v naravi ob izbranih ekspozicijah – rdeč filter. Prikazano je povprečje in standardni odklon.

	45 ms	90 ms	180 ms
<b>Voda</b>	$0,240 \pm 0,005$	$0,210 \pm 0,005$	$0,205 \pm 0,003$
<b>Alge</b>	$0,172 \pm 0,005$	$0,145 \pm 0,002$	$0,149 \pm 0,002$
<b>Celuloza</b>	$0,079 \pm 0,006$	$0,077 \pm 0,009$	$0,076 \pm 0,007$

Po opravljenih meritvah smo opazili veliko razlik v stopnji polarizacije. Le-ta je bila v primeru Brewsterjevega kota okvirno dvakrat večja glede na rezultate meritev pod drugimi koti, kar je razvidno iz rezultatov v preglednici 4. Opazili smo, da različne ekspozicije niso občutno vplivale na razlike v rezultatih ozioroma se je v nekaterih primerih stopnja polarizacije z višanjem ekspozicijskega časa zmanjšala (v enem primeru za 0,03 DOP, v ostalih za 0,02 in 0,01 DOP ali sploh ne). Po pregledu rezultatov glede na uporabo filtrov smo opazili nekoliko povišano stopnjo polarizacije pri meritvah vzorca z algami in z uporabo zelenega filtra. Pri ostalih vzorcih nismo opazili bistvenih razlik v rezultatih glede na uporabo filtrov. Prav tako smo opazili, da je stopnja polarizacije v primeru uporabe celuloze najnižja in ne niha za več kot 0,02 DOP.

Podobno kot pri poskusih v laboratoriju je bila stopnja polarizacije višja pri uporabi vodovodne vode kot tista pri vzorcu z algami. Največje razlike v stopnji polarizacije smo opazili v primeru uporabe alg glede na različne barvne filtre ob uporabi zelenega filtra.

Po analizi oziroma primerjavi rezultatov ugotavljamo, da je stopnja polarizacije podobna ne glede na izbrano ekspozicijo, so pa velike razlike glede na kot med kamero in vodno površino. Ugotavljamo tudi, da je stopnja polarizacije pri algha glede na uporabljen barvni filter različna, medtem ko je v primeru vzorcev s celulozo podobna med filtri.



Slika 21: Prikaz povprečne stopnje polarizacije in standardnega odklona ob izbranih ekspozicijah meritev vzorcev vode, alg in celuloznega prahu

## 5 POVZETEK

V diplomski nalogi smo proučevali vpliv prisotnosti zelenih alg v vzorcih vode na stopnjo polarizacije. Zelene alge so prisotne v mnogih ekosistemih na Zemlji in predstavljajo nepogrešljiv člen v mnogih prehranjevalnih verigah. Poleg koristi lahko predstavljajo tudi nevarnost, ki se pojavi v obdobjih prekomernega cvetenja, ko zaradi prekomerne porabe kisika slabo vplivajo na ostale organizme.

Zaradi škodljivih posledic je nujno spremjanje stanje vodnih teles, da bi pravočasno zaznali tveganje in ukrepali. Standardne metode, ki so tudi predpisane v zakonodaji, ne dajejo rezultatov v realnem času, spremenjanje fitoplanktonske populacije pa je dinamičen proces. Zato so se poleg standardnih metod za preverjanje prisotnosti fitoplanktona v vodnih telesih začele razvijati tudi novejše metode. Mednje štejejo metode, ki izkoriščajo fluorescenčne in polarizacijske svetlobne signale za ugotavljanje prisotnosti alg in cianobakterij.

V okviru diplomske naloge smo vzgojili kulturo zelenih alg vrste *Chlorella vulgaris* za pripravo testnih vzorcev. Stopnjo polarizacije smo merili z uporabo polarizacijske kamere brez ali z modrim, zelenim ali rdečim interferenčnim filtrom. Merjenja smo opravili v laboratoriju ob umetni svetlobi ter na prostem v prisotnosti naravne svetlobe. Merili smo vzorec navadne vodovodne vode, vzorec treh različnih koncentracij alg in vzorec vode, ki smo mu primešali fin bel celulozni prah. Ker se svetlobne razmere v naravi hitro spreminja, je ob preveč ali premalo osvetljeni sliki preračunavanje stopnje polarizacije zaradi nasičenih slikovnih točk nenatančno, zato smo vse zunanje meritve naredili ob različnih časih ekspozicije.

Ugotovili smo, da je stopnja polarizacije vzorca vode nižja, če so v vzorcu prisotne alge. Rezultati (Preglednica 3) dodatno kažejo, da je stopnja polarizacije obratno sorazmerna s koncentracijo alg v vzorcu. Razlike so bile največje ob uporabi modrega in zelenega filtra pred polarimetrično kamero, najmanjše pa ob uporabi rdečega filtra. Pričakovano je bila stopnja polarizacije pri belem celuloznem prahu enaka ne glede na uporabljen filter (Preglednice 4, 5, 6 in 7). Razlike v stopnji polarizacije so bile tudi glede na svetlobne pogoje. V laboratoriju smo večje razlike v stopnji polarizacije med vodo in vzorcem s kulturo zelenih alg dosegli v primeru dodatne difuzne osvetlitve. V naravnih pogojih je bila stopnja polarizacije višja, če je bila kamera postavljena pod Brewsterjevim kotom glede na vodno gladino, ohranil pa se je trend, da je bila stopnja polarizacije pri vodovodni vodi višja kot pri vodi s kulturo alg ali celuloznom prahu.

## SUMMARY

In the diploma thesis, we studied the influence of green algae presence on the degree of polarization in water samples. Green algae are present in many ecosystems on Earth and represent an indispensable link in many food chains. In addition to the benefits, they can also represent a danger that occurs during periods of excessive flowering, due to excessive consumption of oxygen that can result as a bad effect on other organisms.

Due to the harmful consequences, it is necessary to monitor the state of water bodies in order to detect the risk in time and take action. Standard methods, which are also prescribed in legislation, usually do not give results in real time as changing the phytoplankton population is a dynamic process. Therefore, in addition to standard methods for checking the presence of phytoplankton in water bodies, newer methods have also begun to be developed. These include methods that utilize fluorescence and polarization light signals to determine the presence of algae and cyanobacteria.

As part of the diploma thesis, we grew a culture of green algae known as *Chlorella vulgaris* and used the species for the preparation of test samples. The degree of polarization was measured using a polarization camera with and without a blue, green or red interference filter. The measurements were made in the laboratory under artificial light and outdoors in the presence of natural light. We measured a sample of ordinary tap water, a sample of three different concentrations of algae and a sample of water mixed with fine white cellulose powder. Since the light conditions in nature change rapidly, the recalculation of the degree of polarization due to saturated image points is imprecise, so in the case of an over- or under-exposed image, we also made all external measurements at different exposure times.

We found that the degree of polarization in a water sample is lower if algae is present in the sample. The results (Table 3) further show that the degree of polarization is inversely proportional to the concentration of algae in the sample. The differences were greatest when blue and green filters were used in front of the polarimetric camera, and smallest when the red filter was used. As expected, the degree of polarization for the white cellulose powder was the same regardless of the filter used (Tables 4, 5, 6 and 7). There were also differences in the degree of polarization depending on the lighting conditions. In the laboratory, greater differences were shown in the degree of polarization between water samples and a sample with green algae culture, when exposed to an additional diffuse lighting. Under natural conditions, the degree of polarization was higher when the camera was placed at Brewster's angle relative to the water surface, and the trend was maintained that the degree of polarization was higher in tap water than in water with algal culture or cellulose powder.

## 6 VIRI

- Abramowitz, M., Long, C. J., Parry Hill, M. J., Davison W. M. (2017): Polarized Light Microscopy: Brewster's Angle. Medmrežje: <https://micro.magnet.fsu.edu/primer/java/polarizedlight/brewster/index.html> (21.7.2022)
- Anttila S., Ketola M., Vakkilainen K., Kairesalo T. (2012). Assessing temporal representativeness of water quality monitoring data. Journal of Environmental Monitoring, št. 14, str. 589-595.
- Bastien C., Cardin R., Veilleux E., Deblois C., Warren A., Laurion I. (2010). Performance of phycocyanin probes for the monitoring of cyanobacteria. Journal of Environmental Monitoring, št. 13, str. 110-118.
- Bowling L., Ryan D., Holliday J., Honeyman G. (2012). Evaluation of in situ fluorometry to determine cyanobacterial abundance in the Murray and lower Darling rivers, Australia. River Research and Applications, št. 8, str. 1059-1071.
- Chang, M.H., Das, D., Varde, P.V., Pecht, M., (2012). Light emitting diodes reliability review. Microelectronics Reliability, št. 52, str. 762-782.
- Coronado Reyes, J. A., Salazar Torres, J. A., Juarez Campos, B., Gonzalez Hernandez, J. C. (2022). Chlorella vulgaris, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review. Food Science and Technology. Campinas, št. 42, str. 1-11.
- Cronin, W. T., Shashar, N., Caldwell L. R., Marshal, J., Cheroske, G. A., Chiou, T. (2003). Polarization Vision and Its Role in Biological Signaling. Integrative and Comparative Biology. Ovxford. 2003. št. 43, str. 549 – 558.
- Daliry, S., Hallajisani, A., Mohammadi Roshandeh, Nouri, J., H., Golzary, A., (2017), Investigation of optimal condition for Chlorella vulgaris microalgae growth. Global Journal of Environmental Science and Management. Tehran, 2017, 3, št. 2, str. 217-230.
- Ding Y., Song L., Sedmak B. (2013). UVB radiation as a potential selective factor favoring microcystin producing bloom forming cyanobacteria. PLOS One, 8, št. 9. str. 1 – 11.
- Direktiva Evropskega parlamenta in sveta 2000/60/ES o določitvi okvira za ukrepe Skupnosti na področju vodne politike. Ur. I. ES, št. 327/1, 22.12.2000, 15/Zv. 5, str. 275-345.
- El Habashi, A., (2018). Doktorska disertacija: Remote sensing over coastal and open oceans: Retrieval of water constituents from scalar and polarimetric observations. Graduate Faculty in Engineering, New York, 2018.
- Foster, R., (2017). Doktorska disertacija: The polarization of light in coastal and open oceans: reflection and transmission by the air-sea interface and application for the retrieval of water optical properties. Graduate Faculty in Engineering, New York, 2017.
- Gregor J., Maršalek B. (2004). Freshwater phytoplankton quantification by chlorophyll a: a comparative study of in vitro, in vivo and in situ methods. Water Research, 38, št. 3, str. 517-522.
- Gregor J., Maršalek B., Šipkova H. (2007). Detection and estimation of potentially toxic cyanobacteria in raw water at the drinking water treatment plant by in vivo fluorescence method. Water Research, 41, št. 1, str. 228-234.

Guanhua, Z., Wujian, X., Chunyue, N., Huijie, Z. (2013). The polarization patterns of skylinght reflected off wave water surface. *Optics Express*. Washington, 2013, 21, št. 26, str. 32549-32565.

Hluszyk H., Stankiewicz A. (1998). Slovar ekologije. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 166.

Ilić, M. (2018). Doktorska disertacija: Spektralne Značilnosti Akromatskega in Polarizacijskega Vida pri Višjih Dvokrilcih (Diptera: Brachyera). Univerza v Ljubljani, Biotehniška Fakulteta. Ljubljana 2018.

Izydorczyk K., Tarczynska M., Jurczak T., Mrowczynski J., Zalewski M. (2005). Measurement of phycocyanin fluorescence as an online early warning system for cyanobacteria in reservoir intake water. *Environmental Toxicology*, 20, št. 4, str. 425-430.

Jeran, M., Božič, D., Iglič, A., Kralj-Iglič, V. (2020) Chlorella Vulgaris in druge (mikro)alge kot model pri prenosu interdisciplinarnega znanja v aplikativno rabo. Kemija v šoli in družbi. Ljubljana. Biteks. 2020. št. 1. str. 1-8

Kasinak J. M. E., Holt B. M., Chislock M. F., Wilson A. E. (2015). Benchtop fluorometry of phycocyanin as a rapid approach for estimating cyanobacterial biovolume. *Journal of Plankton Research*, 37, št. 1, str. 248-257.

Kattawar, G. W., Yang, P., You, Y., Bi, L., Xie, Y., Huang, X., Hioki, S. (2016). Light Scattering Reviews 10: Polarization of light in the atmosphere and ocean. Berlin, Springer, str. 3-39.

Kong, Y., Lou, I., Zhang, Y., Lou, C. U., Mok, K. M. (2013). Using an online phycocyanin fluorescence probe for rapid monitoring of cyanobacteria in Macau freshwater reservoir. *Hydrobiologia*, št. 741, str. 33-49.

Kubiak K.A., Kotlarz J., Mazur A.M. (2016): Monitoring cyanobacteria blooms in freshwater lakes using remote sensing methods. *Polish Journal of Environmental Studies*, 25, št. 1, str.27- 35.

Leliaert, F., Smith, D. R., Moreau, H., Herron, M. D., Verbruggen, H., Delwiche, C. F., De Clerck, O. (2012). Phylogeny and Molecular Evolution of the Green Algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*. London, Taylor & Francis, str. 1- 46.

Lepistö A., Huttula T., Koponen S., Kallio K., Lindfors A., Tarvainen M., Sarvala J. (2010). Monitoring of spatial water quality in lakes by remote sensing and transect measurements. *Aquatic ecosystem health & management*, 13, št. 2, str. 176-184.

Lürling M., Faassen E. (2013). Dog poisoning associated with a *Mycrocystis aeruginosa* bloom in the Netherlands. *Toxins*, 5, št. 3, str. 556-567.

Macário I. P. E., Castaro B. B., Nunes M. I. S., Antunes S. C., Pizarro C., Coelho C., Gonçalves F., de Figueiredo D. R. (2015). New insight towards the establishment of phycocyanin concentration thresholds considering species-specific variability of bloom-forming cyanobacteria. *Hydrobiology*, 757, št. 1, str. 155-165.

McQuaid N., Zamyadi A., Prevost M., Bird D. F., Dorner S. (2011). Use of in vivo phycocyanin fluorescence to monitor potential microcystin-producing cyanobacterial biovolume in a drinking water source. *Journal of Environmental Monitoring*, št. 13, str. 455-463.

Medmrežje1:[https://www.deshbandhucollege.ac.in/pdf/resources/1585621907\\_PS-IV-Waves\\_and\\_Optics-1.pdf](https://www.deshbandhucollege.ac.in/pdf/resources/1585621907_PS-IV-Waves_and_Optics-1.pdf) (26.07.2022)

Meglič A., Pecman A., Rozina T., Leštan D., Sedmak B. (2016). Electrochemical inactivation of cyanobacteria and microcystin degradation using boron doped diamond anode (BDDA): a potential tool in cyanobacterial bloom control. Jurnal of environmental science, št. 53, str. 248-261.

Naselli Flores L., Barone, R. (2009). Green Algae. Encyclopedia of Inland Waters. Oxford. 2009. št. 1, str. 166–173.

Preisendorfer, R. W. (1986). Secchi disk science: Visual opticks of natural waters. Limnology and oceanography. Washington, 1986, 31, št. 5, str. 909-026.

Qui, S., Fu, Q., Wang, C., Heidrich, w., (2021). Linear Polarization Demosaicking for Monochrome and Colour Polarization Focal Plane Arrays. Computer graphics forum, št. 40. str. 77-89.

Rossel, S. (1993). Navigation by Bees Using Polarized Skylight. Comparative Biochemistry and Physiology: Part A. London. 1993. št. 104, str. 695 – 708.

Rozina, T. (2019). Doktorska disertacija: Kvantitativno in kvalitativno določanje cianobakterij v vodnem telesu z uporabo svetlobe različnih valovnih dolžin. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta. Ljubljana, 2019.

Ruokanen L., Kaitala S., Fleming V., Maunula P. (2003). Alg@line—joint operational unattended phytoplankton monitoring in the Baltic Sea. Elsevier Oceanography Series, št. 69, str. 519-522.

Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P., Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of Chlorella vulgaris: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2014. št. 35. str. 265-278.

Sedmak B. (2006). Toksične cianobakterije: prebivalstvo proti vodi - medsebojna pretnja. Toxic cyanobacteria: population against water - a mutual threat. Ujma, št. 20, str. 137-143.

Sedmak B., Kosi G., Kolar B. (1994). Cyanobacteria and their relevance. Periodicum Biology, št. 96, str. 428-430.

Seppälä J., Ylöstalo P., Kaitala S., Hällfors S., Raateoja M., Maunula P. (2007). Ship-of-opportunity based phycocyanin fluorescence monitoring of the filamentous cyanobacteria bloom dynamics in the Baltic See. Estuarine, Costal and Shelf Science, 73, št. 3-4, str. 489-500.

Simis S. G. H., Huot Y., Babin M., Seppälä J., Metsamaa L. (2012). Optimization of variable fluorescence measurement of phytoplankton communities with cyanobacteria. Photosynthesis Research, 112, št. 1, str. 13-30.

Smith, P., The Uses of a Polarimetric Camera. Naval Postgraduate School. (2008). California.

Song, K., Li, L., Tedesco, L., Clercin, N., Hall, B., Li, S., Shi, K., Liu, D., Sun, Y. (2013). Remote estimation of phycocyanin (PC) for inland waters coupled with YSI PC fluorescence probe. Environmental Science and Pollution Research, št. 20, str. 5330-5340.

Tiong Kai Ru, I., Yik Sung, Y., Jusoh, M., Abdul Wahid, M. E., Nagappan, T. (2020). Chlorella vulgaris: a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts. *Applied Phycology*. London: Taylor and Francis, 2020, št. 1, str. 1 – 10.

Walsby A. E., Ng G., Dunn C., Davis P.A. (2004). Comparison of the depth where *Planktothrix rubescens* stratifies and the depth where the daily insolation supports its neutral buoyancy. *New Phytologist*, 162, št. 1, str. 133-145.

Whitton, B. A. (2012). Ecology of cyanobacteria II. V: Their diversity in space and time. Whitton B. A. (ur.). Dordrecht, Springer. str. 677-705.

Zamyadi A., McQuaid N., Prevost M., Dorner S. (2012). Monitoring of potentially toxic cyanobacteria using an online multi-probe in drinking water sources. *Journal of Environmental Monitoring*, 14, št. 2, str. 579-558.

PRILOGA A

KODA ZA ANALIZO STOPENJ POLARIZACIJE, NAPISANA V PROGRAMU MATLAB (MATHWORKS, ZDA).

```
function output=Import_voda

persistent pathname

% Izbor slike
if isempty(pathname) == 1;
    [filename, pathname] = uigetfile( ...
        {'*.tif;*.jpg;*.png;*.bmp','All Image Files'}, ...
        'MultiSelect', 'off');
elseif isempty(pathname) == 0;
    [filename, pathname] = uigetfile( ...
        {[pathname,'*.tif;*.jpg;*.png;*.bmp']}, ...
        'MultiSelect', 'off');
end

fp=char(pathname);
fn=char(filename);
pathfile=[fp fn];

% Branje slike
F=imread(pathfile);

if numel(size(F)) >= 3
    F=rgb2gray(F);
else
    F=F;
end

% Izhodni podatki
output.pathname=pathname;
output.filename=filename;
output.F=F;

function output=DOP2x2_voda(Im);

fp=char(Im.pathname);
fn=char(Im.filename);
pathfile=[fp fn];

Si=size(Im.F);

F90=Im.F(1:Si(1)./2,1:Si(2)./2);
F45=Im.F(1:Si(1)./2,1:Si(2)./2+1:Si(2));
F135=Im.F(Si(1)./2+1:Si(1),1:Si(2)./2);
F0=Im.F(Si(1)./2+1:Si(1),Si(2)./2+1:Si(2));

figure('Name','2x2 raw image','NumberTitle','off')
set(gcf,'PaperUnits','centimeters','PaperSize',[20.9840 29.6774],...
    'PaperPosition',[0.49 4.84 20.00 20.00],'PaperType','A4');
subplot('Position',[0.05 0.95 0.9 0.05])
```

```
axis([0 1 0 1])
text(0.5,
0.1,pathfile,'VerticalAlignment','bottom','HorizontalAlignment','center','FontSize',12,'FontName
','Arial CE');
axis off
subplot('Position',[0.05 0.05 0.9 0.9])
dbi=20;
Fa:uint8(ones(Si(1)+dbi, Si(2)+dbi)*256);
Fa(1:Si(1)./2,1:Si(2)./2)=F90;
Fa(1:Si(1)./2, Si(2)./2+1+dbi:Si(2)+dbi)=F45;
Fa(Si(1)./2+1+dbi:Si(1)+dbi,1:Si(2)./2)=F135;
Fa(Si(1)./2+1+dbi:Si(1)+dbi, Si(2)./2+1+dbi:Si(2)+dbi)=F0;
imshow(Fa)
otx=60;
oty=100;
text(otx,oty,'90^{\circ}', 'FontSize',14,'FontName','Arial CE','Color',[1.0 1.0 1.0]);
text(otx+dbi+Si(2)./2,oty,'45^{\circ}', 'FontSize',14,'FontName','Arial CE','Color',[1.0 1.0 1.0]);
text(otx,oty+dbi+Si(1)./2,'135^{\circ}', 'FontSize',14,'FontName','Arial CE','Color',[1.0 1.0 1.0]);
text(otx+dbi+Si(2)./2,oty+dbi+Si(1)./2,'0^{\circ}', 'FontSize',14,'FontName','Arial CE','Color',[1.0
1.0 1.0]);

% Izračun stopnje polarizacije
I=double(F0)+double(F90);
Q=double(F0)-double(F90);
U=double(F45)-double(F135);
DoLP22=sqrt(Q.^2+U.^2)./I;

AoP22=atand((U./Q)./2);
indices = find(AoP22<0);
AoP22(indices) = AoP22(indices)+180;

F90e=abs(cos(deg2rad(AoP22)-pi/2));
F45e=abs(cos(deg2rad(AoP22)-pi/4));
F135e=abs(cos(deg2rad(AoP22)-3*pi/4));
F0e=abs(cos(deg2rad(AoP22)));

le=F0e+F90e;
Qe=F0e-F90e;
Ue=F45e-F135e;
DoLP22e=sqrt(Qe.^2+Ue.^2)./le;
DoLP22n=DoLP22/DoLP22e;

% Slika stopnje polarizacije
figure('Name','DoLP 2x2','NumberTitle','off')
set(gcf,'PaperUnits','centimeters','PaperSize',[20.9840 29.6774],...
'PaperPosition',[0.49 6.48 20.00 20.00*(Si(1)./Si(2))],'PaperType','A4');
h=subplot('Position',[0 0 1 1]);
surf(flipud(DoLP22),'EdgeColor','none','LineStyle','none');
view(h,[0 90]);
zlim(h,[0 1])
xlim(h,[0 2448])
ylim(h,[0 2048])
axis off
colormap(h,jet);caxis([0 1])
c=colorbar('location','east','Position',[0.9 0.05 0.04 0.12],...
```

```
'Ticks',[0           1],'TickLabels',{'0','1'},'AxisLocation','out','FontSize',10,'FontName','Arial  
CE','Color',[0 0 0]);  
print(['DOP_',Im.filename],'-jpeg','-r300')  
  
figure  
imshow(F90)  
hold on  
[a1,b1]=ginput(1);  
a1=round(a1);  
b1=round(b1);  
ofs=200;  
patch([a1-ofs  a1+ofs  a1+ofs  a1-ofs  a1-ofs],[b1-ofs  b1-ofs  b1+ofs  b1+ofs  b1-  
ofs],'r','FaceAlpha',.3,'EdgeAlpha',.3);  
lzs=DoLP22(b1-ofs:b1+ofs,a1-ofs:a1+ofs,:);  
DoLP=mean(mean(lzs));  
  
% Slika kota polarizacije  
figure('Name','AoP 2x2','NumberTitle','off')  
set(gcf,'PaperUnits','centimeters','PaperSize',[20.9840 29.6774],...  
    'PaperPosition',[0.49 6.48 20.00 20.00*(Si(1)./Si(2))],'PaperType','A4');  
h=subplot('Position',[0 0 1 1]);  
surf(flipud(AoP22),'EdgeColor','none','LineStyle','none');  
view(h,[0 90]);  
zlim(h,[0 180])  
xlim(h,[0 2448])  
ylim(h,[0 2048])  
axis off  
colormap(h,jet);caxis([0 180])  
axis off
```

```
% Legenda  
h=axes('Position',[0.9 0.1 0.05 0.05]);  
ODM=0;  
SK=100;  
theta=(0:180)*pi/180;  
r=(0:1:SK)';  
value=repmat([0 (1:180)],size(r,1),1);  
[THETA,R]=meshgrid(theta,r);  
[X,Y]=pol2cart(THETA,R);  
surf(X,Y,(value),'edgecolor','none');  
theta=(0+180:180+180)*pi/180;  
[THETA,R]=meshgrid(theta,r);  
[X,Y]=pol2cart(THETA,R);  
hold on  
surf(X-ODM,Y,(value),'edgecolor','none');  
text(0,SK,180,'90\circ','HorizontalAlignment','Center','VerticalAlignment','Bottom','FontSize',10  
,'FontName','Arial CE','Color',[0.0 0.0 0.0]);  
text(SK,0,180,'  
0\circ','HorizontalAlignment','Left','VerticalAlignment','Middle','FontSize',10,'FontName','Arial  
CE','Color',[0.0 0.0 0.0]);
```

```
text(0,-SK,180,'-  
90\circ','HorizontalAlignment','Center','VerticalAlignment','Top','FontSize',10,'FontName','Arial  
CE','Color',[0.0 0.0 0.0]);  
text(-SK,0,180\circ  
'','HorizontalAlignment','Right','VerticalAlignment','Middle','FontSize',10,'FontName','Arial  
CE','Color',[0.0 0.0 0.0]);  
colormap(h,jet);caxis([0 180])  
view(h,[0 90]);  
zlim(h,[0 180])  
axis off  
Izs=AoP22(b1-ofs:b1+ofs,a1-ofs:a1+ofs,:);  
AoP=mean(mean(Izs));  
  
% Izvodni podatki  
output.pathname=Im.pathname;  
output.filename=Im.filename;  
output.F90=F90;  
output.F45=F45;  
output.F135=F135;  
output.F0=F0;  
output.DoLP22=DoLP22;  
output.DoLP22n=DoLP22n;  
output.AoP22=AoP22;  
output.DoLP=DoLP;  
output.AoP=AoP;
```