

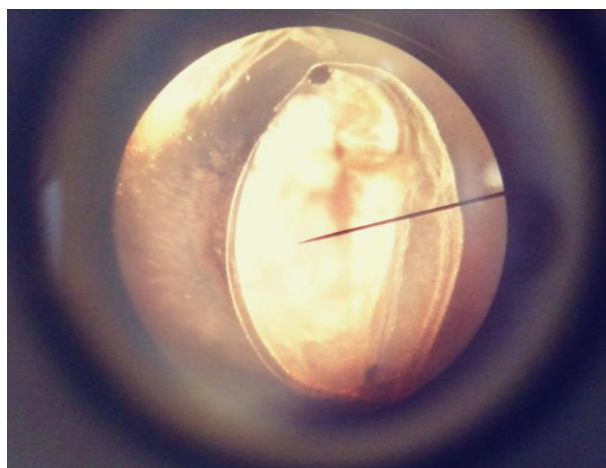
Osnovna šola Gustava Šiliha Laporje
Laporje 31 · 2318 Laporje
Telefon: 02 829 58 50 · Faks: 02 829 58 53
www.os-laporje.si · group1.osmbgs@guest.arnes.si



LAHKO Z VODNIMI BOLHAMI DOKAŽEMO, DA JE VODNI KEFIR ZDRAVILEN?

Biologija

Raziskovalna naloga



Avtorja: Damjan Dovnik, 8. a

Zala Klančnik, 8. a

Mentorica: Barbara Čretnik, prof.

Laporje, 2018

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujeva najini mentorici Barbari Čretnik, ki nama je pomagala, naju usmerjala in nama dajala podrobna navodila, ter lektorici Boženi Ferenčina Brence, ki si je vzela čas za lektoriranje najine naloge. Zahvaljujeva se tudi donatorjema ge. Olgi Golob Wertl in g. Lovru Arnušu s sodelavci, biologu in raziskovalcu, zaposlenem na Zavodu za varovanje zdravja Maribor. Hvala tudi najinim staršem, ki so naju podpirali in spodbujali.

KAZALO

1 UVOD.....	5
2 TEORETIČNI UVOD.....	6
2.1 Vodni kefir.....	6
2.2. Vodne bolhe.....	7
2.3 Vodne bolhe kot bioindikatorji.....	8
3 EKSPERIMENTALNI DEL.....	9
3.1. Raziskovalne metode.....	9
3.2 Materiali.....	9
4 REZULTATI IN RAZPRAVA.....	12
5 ZAKLJUČEK.....	16
6 LITERATURA IN VIRI.....	17

KAZALO SLIK

Slika 1: Fermentacija vodnega kefirja.....	6
Slika 2: Vodna bolha (Daphnia sp.).....	7
Slika 3: Razvojni krog vodnih bolh.....	8
Slika 4: Gojenje vodnih bolh v akvariju.....	9
Slika 5: Število vodih bolh v odvisnosti od koncentracije raztopine vodnega kefirja.....	13

KAZALO TABEL

Tabela 1: Postopek eksperimentalnega dela na fotografijah.....	11
Tabela 2: pH raztopin vodnega kefirja in kontrole (prvi in zadnji dan poizkusa).....	12
Tabela 3: Odstotna koncentracija vodnega kefirja (prvi dan eksperimenta, 22. 1. 2018).....	12
Tabela 4: Število živih bolh v različnih raztopinah vodnega kefirja od 22. 1. 2018 do 12. 2. 2018.	13

POVZETEK

Za to raziskovalno nalogo sva se odločila, ker sva slišala za ljudi, ki ne morejo prebavljati mlečnega kefirja in zato pijejo vodni kefir, poleg tega ga pijejo ljudje po svetu in pravijo, da je vodni kefir zdravilen. Namen najine raziskovalne naloge je bil raziskati in ugotoviti, ali je vodni kefir res zdravilen in če je to možno dokazati z vodnimi bolhami. Pri tem sva se naučila skrbeti za kefirjeva zrna in pridelati vodni kefir. Naučila sva se gojiti vodne bolhe. Pri eksperimentu sva uporabila vodne bolhe, ki sva jih poskusila razmnoževati v različnih raztopinah vodnega kefirja. Najino raziskovalno vprašanje je bilo: Ali se bodo vodne bolhe hitreje razmnoževale v raztopini z vodnim kefirjem ali brez kefirja? Domnevala sva, da se bodo vodne bolhe hitreje razmnoževale v raztopini z vodnim kefirjem. Če vodni kefir ugodno vpliva na prebavo celic, presnovo vodnih bolh, potemtako se bodo celice nekoliko hitreje delile, kar bo pozitivno vplivalo na nespolno razmnoževanje vodnih bolh, zato bo več potomcev. Hipotezo sva ovrgla, saj se vodne bolhe v raztopini z 1 ml (2 %) vodnega kefirja niso hitreje razmnoževale kot vodne bolhe v kontroli. Razmnoževanje vodnih bolh je potekalo enako hitro. Število potomcev oz. vodnih bolh pa je bilo v raztopini 2 % vodnega kefirja višje od tistih v kontroli – vse do 15. dneva eksperimenta, ko so vodne bolhe v raztopini s kefirjem zaradi sekundarne fermentacije in drugih dejavnikov poginile. Ker vodni organizmi bolj intenzivno sprejemajo vodo skozi škrge in celične membrane, skupaj z njo pa tudi strupene snovi, je smrtnost višja, kot pri ne-vodnih organizmih. Ugotovila sva, da sva na nek način izvajala test strupenosti vodnega kefirja za vodne bolhe. Dokazala sva, da vodni kefir pozitivno vpliva na naše zdravje, saj je pozitivno vplival tudi na razmnoževanje vodnih bolh, ker je bilo število potomcev višje kot v kontroli. Svoj poizkus bi lahko izboljšala tako, da bi vsakodnevno vodne bolhe prestavila v svežo raztopino vodnega kefirja iste koncentracije in bi se tako izognila sekundarni fermentaciji. Poskus bi bilo potrebno ponoviti tudi na večjem številu osebkov.

Ključne besede: vodne bolhe, vodni kefir, razmnoževanje, fermentacija, bioindikatorji

ABSTRACT

We have decided for this research paper on the basis of the fact that some people cannot digest dairy kefir and because of that they drink water kefir. What is more, many people around the world drink water kefir and it is said to be healing. The purpose of our research paper was to research and to find out whether water kefir is truly healing and if this could be proven with water fleas. While researching, we learnt how to take care of kefir grains and how to make water kefir. Furthermore, we learnt how to grow water fleas. For the experiment, water fleas, which we tried to reproduce in different solutions of water kefir, were used. Our experimental question was: Will water fleas reproduce faster in the solution with water kefir or without it? Our presumption was that they will reproduce faster in the solution with water kefir. Additionally, we presumed that if water kefir has a positive effect on the digestion of cells and metabolism of water fleas, the cells will therefore divide a bit quicker, which will have effect on asexual reproduction of water fleas and result in more offspring. The hypothesis was disproved because water fleas in the solution with 1 ml (2 %) of water kefir did not reproduce faster than the water fleas under control. The reproduction was equally fast. However, the number of offspring in the solution with 2 % of water kefir was larger than the one of the water fleas under control – up to the 15th day of the experiment, when the water fleas in the solution with kefir perished due to secondary fermentation and other factors. Water microorganisms receive water more intensively through gills and cell membranes and along with water also toxic substances. That is why the mortality rate is higher than with microorganisms that do not live in water. We concluded that we actually tested the toxicity of water kefir for water fleas. We proved that water kefir is healing for our health since it had a positive effect on the reproduction of water fleas; the number of offspring was higher than the one of the water fleas under control. We could improve our experiment by putting water fleas into a fresh solution of water kefir of the same concentration every day and in this way, we would avoid secondary fermentation. Furthermore, the experiment should be repeated with a larger number of water fleas.

Key words: water fleas, water kefir, reproduction, fermentation, bioindicators

1 UVOD

Za raziskavo sva se odločila, ker sva slišala za ljudi, ki pijejo vodni kefir. Verjamejo, da se jim bo/je zvišal imunski sistem. Vodni kefir velja za zelo zdravilnega, nikjer pa nisva našla dokaza, da je to res. "Vodni kefir vsebuje encime, hranila v lahko prebavljivi obliki, amino kisline, minerale (fosfor, magnezij, kalcij), vitamine iz skupine B, C, K in ogromno število probiotikov ter velja za funkcionalno hranilo. Pripisujejo mu lastnosti najboljšega antioksidativnega probiotičnega napitka, ki naj bi zdravil glavobole in migreno, odpravljal nespečnost, uravnaval holesterol, raztapljal žolčne kamne, krepil pljuča in dihala, zdravil astmo in kašelj, odpravljal zasluzenost dihalnih poti, uravnaval telesno težo, prebavo, zniževal raven krvnega sladkorja, krepil ožilje,boljšal koncentracijo, upočasnjeval staranje, preprečeval raka ..." (Mrzel, 2015).

Matjaž Boštar je raziskoval, ali mlečni kefir zavira črevesni tumor podgan. Ugotovil je, da se je črevesna mikroflora spremenila, le zdravilnega učinka mlečnega kefirja ne more dokazati (Boštar, 2006).

Glavni namen najine raziskovalne naloge je bil raziskati in ugotoviti, ali je vodni kefir res zdravilen. Raziskala sva, kako pridelati vodni kefir in kako gojiti vodne bolhe. Pri eksperimentu sva uporabila vodne bolhe, ki sva jih poskusila razmnoževati v različnih raztopinah vodnega kefirja.

Raziskovalno vprašanje:

Ali se bodo vodne bolhe hitreje razmnoževale v raztopini z vodnim kefirjem ali brez kefirja?

Hipoteza:

Menila sva, da se bodo vodne bolhe hitreje razmnoževale v raztopini z vodnim kefirjem.

2 TEORETIČNI UVOD

2.1 Vodni kefir

Ni povsem jasno, od kod izvirajo kefirjeva zrna. Nekateri verjamejo, da izvirajo iz Mehike. Leta 1800 bi naj uporabili kefirjeva zrna za fermentacijo pijače iz kaktusa opuncije. Nekateri trdijo, da kefirjeva zrna izvirajo iz Tibeta ("The origin of water kefir", b. d.).

Vodni kefir spada med pijače, ki nastanejo s fermentiranjem (presnovni proces, ki pretvori sladkor v kisline ali alkohol) in ima visoko vsebnost vitaminov, mineralov in drugih hranil, ki blagodejno vplivajo na naše zdravje. Kefir naredimo tako, da v skledo natočimo 2 litra trde (lahko mineralne) vode, pet žlic sladkorja in okoli 6 žlic kefirjevih zrn (scooby - symbiotic colony of bacteria and yeast). Prozorni, želatinasti kristalčki, sestavljeni iz mlečnokislinskih bakterij in kvasovk, ki živijo v ustvarjalnem sožitju, predelajo dodana sladila v lahko prebavljiva hranila, številne encime, koristne kisline ter bakterije (Mrzel, 2015).



Slika 1: Fermentacija vodnega kefirja, OŠ Laporje, Laporje. 8. januar 2018.

Vodni kefir okrepi našo koristno črevesno floro, kar se odrazi z dobro prebavo in presnovo, posledično pa krepkim imunskim sistemom, ki nas ohranja zdrave in krepke. Fermentirane pijače, posebej pa kefirji, spadajo med najbolj učinkovite antioksidante in se jim pripisuje tudi pomlajevalni učinek na naše telo. Beseda kefir izvira iz arabske besede »kaif« ki pomeni počutiti se dobro oziroma ugodje (Mrzel, 2015).

Za pripravo vodnega kefirja uporabljamo le nereaktivne materiale, kot so steklo, plastika, les ali nerjaveče jeklo. V stekleno posodo za vlaganje nalijemo vodo, v njej raztopimo sladkor, nato dodamo še kefirjeva zrnca. Premešamo, pokrijemo s krpo, ki prepušča zrak in jo pritrdimo z elastiko, da preprečimo dostop mušicam. Steklenico pustimo na sobni temperaturi od 24 do 48 ur, medtem nekajkrat premešamo. Dlje pustimo vodni kefir, manj sladkorja bo vseboval, povečala pa se bo vsebnost alkohola, ki pa ne preseže 1-3 % (1 % alkohola vsebuje tudi zelo zrelo sadje). Kefir precedimo in popijemo ali shranimo v steklenici, kjer poteče druga fermentacija. Kefirjeva zrna temeljito operemo in že so pripravljena za naslednji vodni kefir. Zrna pa lahko tudi shranimo v sladki vodi v hladilniku do enega tedna ali pa jih celo zamrznemo (Mrzel, 2015).

Kefirjeva zrna, scoby so starter kultura, ki jo potrebujemo za izdelavo kefirja. Prozorni, želatinski kristalčki, sestavljeni iz mlečnokislinskih bakterij in kvasovk, ki živijo v ustvarjalnem sožitju, v procesu fermentacije predelajo naravna sladila, dodana vodi, v enostavna, lahko prebavljiva hranila, številne encime, koristne kisline ter bakterije (Mrzel, 2015).

Marko Verce, biotehnolog in doktorski študent na Vrije Universiteit Brussel, pravi: "V enem gramu zrn za vodni kefir je lahko desetine milijonov kvasovk in več kot sto milijonov celic različnih vrst mlečnokislinskih bakterij! Zrna običajno vsebujejo tudi druge mikroorganizme, npr. vrste očetnokislinskih bakterij in bifidobakterij, vrstna sestava kefirnih zrn pa se lahko razlikuje od gospodinjsva do gospodinjsva (Ausec, 2015)".

2.2. Vodne bolhe

Vodne bolhe so znana hrana v akvaristiki. Imajo manj beljakovin, a so bogate z vlakninami, ki so prav tako pomembne pri prehrani rib. Vodne bolhe spadajo med rake, točneje v razred Branchiopoda, ki ga sestavlja več kot 1000 vrst primitivnih rakov. Sam rod vodnih bolh sestavlja preko 650 vrst, v Sloveniji je prisotnih približno 50 vrst. Večina je velika od 0.2 mm do 6 mm. Prepoznamo jih po sestavljenem očesu, ki je sredi glave. Telo je brez pigmenta. Razlike v barvnih odtenkih pa so lahko posledice povečane količine hemoglobina, kadar začne v vodi primanjkovati kisika. Ravno zaradi sposobnosti sinteze dodatnega hemoglobina lahko preživijo v okoljih revnih, s kisikom. Sintezo vzpodbudijo višje temperature ali povečana gostota bolh v okolju (Novak, b. d.).

Daphnia magna je najbolj pogosto gojena vrsta vodnih bolh. Samci zrastejo do 2 mm, samice pa do 3,5 mm. Najbolj primerna temperatura vode znaša med 18 °C in 22 °C. Potrebujemo trdo vodo (Novak, b. d.).

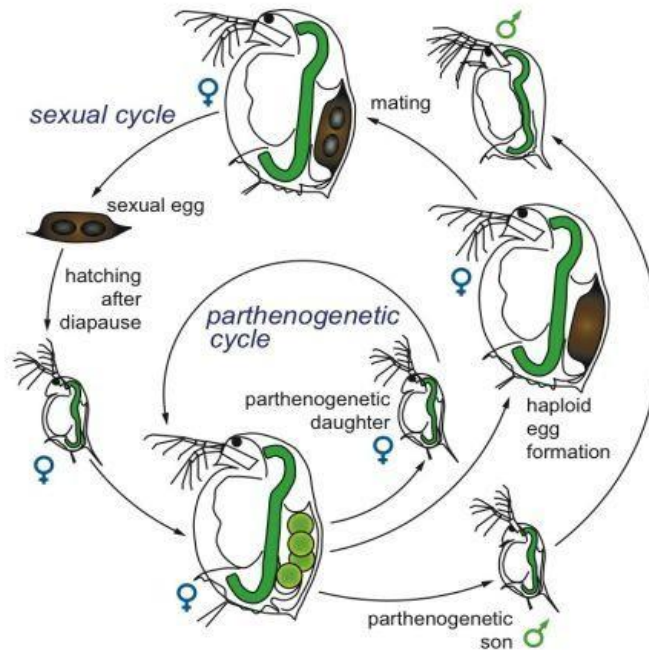


Slika 2: Vodna bolha (*Daphnia* sp.). (Novak, b. d.)

Večina vrst živi v sladkovodnih ekosistemih, posamezne pa v morjih in oceanih. Po habitatu se vodne bolhe ločujejo na planktonske in bentoške, po načinu prehrane pa na filtratorje in plenilce. Plenilske vrste imajo kavljaste noge, s katerimi grabijo plen, pogosto pa tudi zmanjšan ali celo popolnoma zakrnel koš, ki prekriva samo valilnik jajčec pri samicah. Imajo tudi bolj razvite oči kot filtratorske ("Vodne bolhe", 2017).

Vodne bolhe se večji del leta razmnožujejo nespolno, natančneje gre za partenogenezu. Ličinke, ki so vse po vrsti samice, se razvijejo iz neoplojenih diploidnih jajčec, ki jih samica nosi v valilniku na hrbtu med košem in trupom. Tak način jim omogoča izredno hitro razmnoževanje v obdobju, ko je dovolj hrane. Ob ustreznih pogojih v okolju, ki nakazujejo konec sezone (kratek dan, pomanjkanje hrane, velika gostota populacije ipd.), začne samica leči haploidna jajčeca. Iz njih se razvijejo samci, ki oplodijo preostala jajčeca. Ta se obdajo z nepropustnim ovojem in tako zaščitena preživijo zimo ali

sušo. Značilen za vodne bolhe je tudi pojav ciklomorfoze - spreminjanje telesne oblike zaporednih generacij. Ob prisotnosti plenilcev v okolju se iz generacije v generacijo daljšajo trnasti izrastki skeleta, kar plenilcem otežuje požiranje. Ciklomorfozo sprožijo kemijski signali - snovi, ki jih izločajo plenilci ("Vodne bolhe", 2017).



Slika 3: Razvojni krog vodnih bolh. (Novak, b. d.)

2.3 Vodne bolhe kot bioindikatorji

Pia Povše in Ajda Pustinek sta v raziskovalni nalogi Test strupenosti na vodne bolhe (*Daphnia magna*) ugotovili, da vodne bolhe ne prenašajo dobro kloru, saj jih je 50 % poginilo (letalna doza). Ostale bolhe, ki niso bile izpostavljene kloru, pa so preživele v vodi iz naravnega izvira. Vodne bolhe so potemtakem bioindikatorji onesnaženosti voda. Bioindikator je organizem, ki ga uporabljamo za oceno stanja določenega ekosistema (Povše, Pustinek, 2014).

3 EKSPERIMENTALNI DEL

Kefirjeva zrnca za vodni kefir nama je podarila ga. Olga Golob Wertl. Vodne bolhe in hrano zanje je daroval g. Lovro Arnuš s sodelavci, biolog in raziskovalec, ki je zaposlen na Zavodu za varovanje zdravja Maribor.

3.1. Raziskovalne metode

Pri pisanju raziskovalne naloge sva uporabila različne metode raziskovalnega dela. V uvodnem delu sva uporabila metodo dela z viri in literaturo. Večji del raziskovalne naloge je predstavljalo eksperimentalno delo. Eksperimentalno delo je potekalo v naravoslovni učilnici v januarju in februarju 2018. Temperatura naravoslovne učilnice je bila okoli 21 °C. V sklepnem delu sva uporabila metodo analize in sinteze.

Pri analiziranju in pisanju raziskovalne naloge sva potrebovala računalniško opremo, računalniške programe Microsoft Word, Microsoft PowerPoint, Adobe Reader.

Pri eksperimentalnem delu sva najprej naredila načrt eksperimenta.

3.2 Materiali

Za pripravo vodnega kefirja sva potrebovala:

- 5-litrski stekleni vrč
- večje plastično cedilo
- stekleno čašo (500 ml)
- leseno kuhalnico
- beli kristalni sladkor

Kefir sva enkrat na teden odlila, dolila sva vodo iz pipe in dodala 3 kuhalnice belega kuhinjskega sladkorja. Steklenico s kefirjem sva hranila v predalu učilnice.

Za gojenje vodnih bolh sva potrebovala:

- stekleni akvarij (50 l)
- vodne bolhe *Daphnia magna*
- plastične kapalke
- univerzalne pH lističe
- hrano za vodne bolhe (enocelične zelene alge *Spirulline* v tabletkah)



Slika 4: Gojenje vodnih bolh v akvariju, OŠ Laporje, Laporje. 8. januar 2018.

Za eksperiment sva potrebovala:

- 15 čaš (100 ml)
- kapalke
- vodne bolhe Daphnia magna
- merilni valj
- napravo za merjenje alkohola (areometer)
- pH lističe
- termometer
- pladenj

OPIS POSTOPKA EKSPERIMENTA

Pet tednov sva gojila vodni kefir. Ker sva dobila zamrznjena kefirjeva zrna, je bilo potrebnega več časa, da se je začela fermentacija.

Vodne bolhe sva gojila 1 mesec in pol, preden sva pričela z eksperimentom. V tem času sva ugotovila, kakšne razmere potrebujejo za življenje.

Iz akvarija, kjer sva gojila vodne bolhe, sva odfiltrirala 1 l akvarijske vode. V 14 100-ml čaš sva nalila 50 ml vode iz akvarija. Plastično kapalko sva odrezala, da ne bi poškodovala vodnih bolh, ko sva jih lovila in dajala v čaše. V vsako čašo sva dala 5 vodnih bolh. Pazila sva, da sva zajela enako velike, mlade vodne bolhe. Precedila sva vodni kefir, da ni vseboval kefirjevih zrn. V prvo čašo nisva dodala vodnega kefirja, ker je bila namenjena kontroli. V drugo čašo sva dala 1 ml vodnega kefirja, ki sva ga zmerila s kapalko, v tretjo čašo 3 ml, v četrto 5 ml, v peto 7 ml, v šesto 10 ml, v sedmo 12 ml, v osmo 14 ml, v deveto 16 ml, v deseto 18 ml, v enajsto 20 ml, v dvanajsto 30 ml, v trinajsto 40 ml, v štirinajsto 50 ml in v petnajsto čašo 50 ml 100 % vodnega kefirja. Čaše sva označila, da sva se izognila morebitnim napakam.

Izmerila sva pH kefirja in vseh raztopin vodnega kefirja. Merjene pH sva ponovila na zadnji dan, ko sva z eksperimentom zaključila. Podatke sva vnesla v tabelo 2.

V merilnem valju sva izmerila, koliko alkohola vsebuje vodni kefir in njegovo temperaturo. Kefir je imel sobno temperaturo (21 °C). Stopnje alkohola pa nisva uspela izmeriti, ker je imel aerometer, ki sva ga uporabila, skalo alkohola od 10 % alkohola naprej, stopnja alkohola v vodnem kefirju pa je bila nižja.

Kefir sva tudi poskusila. Bil je sladek z nekaj mehurčkov, vonj je imel po kislem in bil je motno bele barve. Ko sva vse to izvedla, sva nato morala vsak dan prešteti število živih vodnih bolh. Vsak dan sva jih nahranila z zelenimi algami v tabletkah, ki sva jih raztopila v vodi (pol tabletko v 50 ml vode iz pipe). V vsako čašo sva dala po 3 kapljice raztopljene hrane, razen ob petkih. Takrat sva vodnim bolham dala 5 kapljic raztopljene hrane v vsako čašo, saj jih med vikendom nisva hranila. Ta proces je potekal 3 tedne. Poizkus sva nastavila 22. 1. 2018 in ga izvajala do 12. 2. 2018. Med vikendom in praznikom (Prešernov dan) vodnih bolh nisva štela.

Tabela 1: Postopek eksperimentalnega dela na fotografijah.

	
<p>Filtriranje vodnega kefirja in pridobivanje vzorca vodnih bolh.</p>	<p>Merjenje koncentracije alkohola.</p>
	
<p>Merjenje temperature vodnega kefirja.</p>	<p>Štetje vodnih bolh in dodajanje vodnega kefirja po načrtu.</p>
	
<p>Merjenje pH raztopin vodnega kefirja.</p>	<p>Mrtve vodne bolhe v desni čaši.</p>

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

Z aerometrom nisva uspela izmeriti stopnje alkohola v vodnem kefirju, ker je bila stopnja alkohola prenizka oz. je bil aerometer premalo natančen. Iz literature je razvidno, da vsebuje vodni kefir od 1 % do 3 % alkohola, kar je odvisno od stopnje fermentacije (Merzel, 2015).

Tabela 2: pH raztopin vodnega kefirja in kontrole (prvi in zadnji dan poizkusa).

	kontr ola	1 ml	3 ml	5 ml	7 ml	10 ml	12 ml	14 ml	16 ml	18 ml	20 ml	30 ml	40 ml	50 ml	100 %
1. dan	7	7	7	7	7	7	6	6	6	5	5	4	4	4	4
zadnji	7	7	7	6	5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Iz tabele 2 je razvidno, da je bil pH vodnega kefirja prvi dan eksperimenta 4, kar dokazuje, da so pri procesu fermentacije nastale tudi kisline. pH akvarijske vode (kontrola) je bil 7. Čaše, ki so vsebovale od 1 do 10 ml vodnega kefirja, so imele pH 7. Višja je bila koncentracija kefirja, nižji je bil pH raztopine. Raztopine, ki so vsebovale od 30 ml do 50 ml vodnega kefirja, so imele pH 4. pH 100 % vodnega kefirja je bil 4. Kjer rezultatov ni, smo čaše izpraznili, ker so vodne bolhe poginile.

Postopoma se je pH vodnega kefirja začel nižati (raztopini z 5 in 7 ml), kar pomeni, da se je začel kisati, ker je potekla fermentacija, in vodne bolhe so poginile. Nastale so kisline (verjetno mlečna in etanojska kislina) in verjetno še kaj drugega, kar pa ne znava dokazati. Vodne bolhe v raztopini z 3 in 5 ml vodnega kefirja so na koncu poizkusa poginile, čeprav je bil pH raztopine 7. Tekočina v raztopinah vodnega kefirja se je proti koncu poskusa obarvala v motno belo, kot vodni kefir. Čaše niso bile v sterilnem okolju in verjetno so se v raztopinah razvili tudi drugi mikroorganizmi ali pa so potekali kakšni drugi procesi.

Zanimalo naju je, kolikšen je masni delež oz. koncentracija vodnega kefirja v različnih raztopinah. Masni delež topljenca nam pove, kolikšen delež celotne raztopine predstavlja masa topljenca. Je brez enote. Vrednost masnega deleža je med 0 in 1. Včasih ga izražamo v odstotkih. Takrat je njegova vrednost med 0 in 100 %. Govorimo o masnem deležu v odstotkih ali odstotni raztopini.

$w(\text{topljenca}) = m(\text{topljenca}) / m(\text{raztopine})$

$w(\text{vodnega kefirja}) = m(\text{vodnega kefirja}) / m(\text{raztopine})$

$m(\text{raztopine}) = m(\text{vodnega kefirja}) + m(\text{akvarijske vode})$

$m(\text{akvarijske vode}) = 50 \text{ ml}$

(Sajovic, 2014)

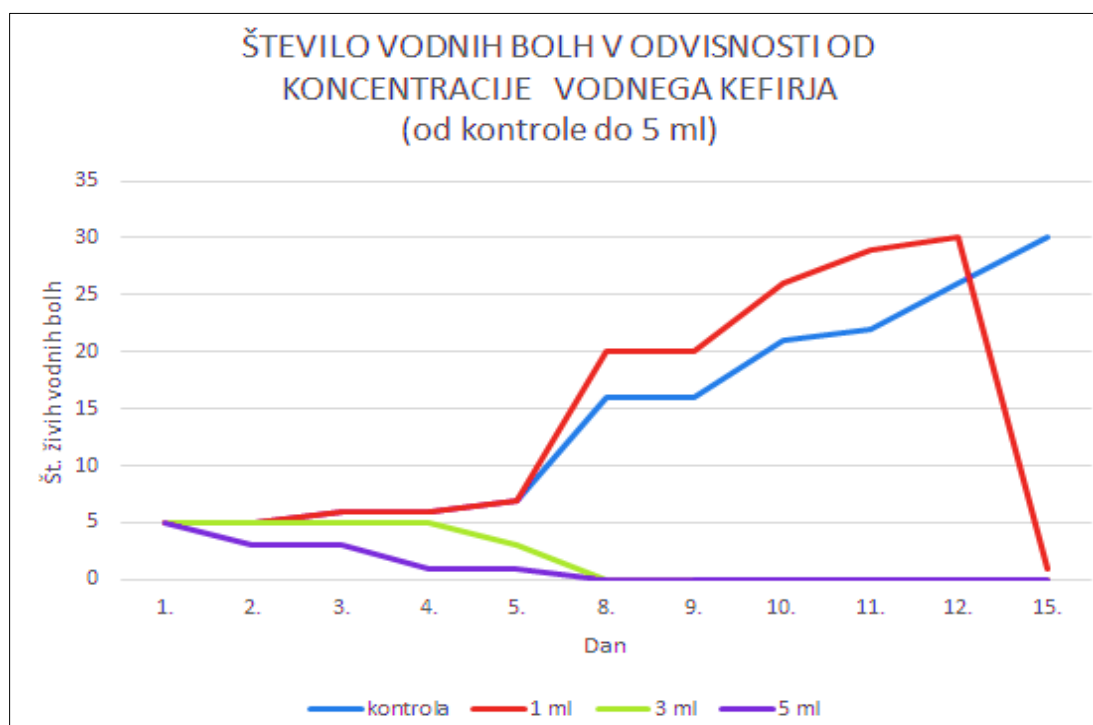
Tabela 3: Odstotna koncentracija vodnega kefirja (prvi dan eksperimenta, 22. 1. 2018).

kont- rola	1ml	3 ml	5 ml	7 ml	10 ml	12 ml	14 ml	16 ml	18 ml	20 ml	30 ml	40 ml	50 ml
0 %	2 %	5,6 %	9,1 %	12,3 %	16,6 %	18,3 %	21,8 %	24,2 %	26,4 %	28,5 %	37,5 %	44,4 %	50 %

Rezultate eksperimenta, tj. število živih bolh v različnih raztopinah vodnega kefirja, sva zapisala v tabeli 4 in so predstavljeni tudi v grafu (slika 5).

Tabela 4: Število živih bolh v različnih raztopinah vodnega kefirja od 22. 1. 2018 do 12. 2. 2018.

	22.jan	23.jan	24.jan	25.jan	26.jan	29.jan	30.jan	31.jan	1.feb	2.feb	5.feb	6.feb	7.feb	9.feb	12.feb
Kontrola	5	5	6	6	7	16	16	21	22	26	30+	30+	30+	30+	30+
1 ml	5	5	6	6	7	20	20	26	29	30	1	0	0	0	0
3 ml	5	5	5	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 ml	5	3	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7 ml	5	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ml	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12 ml	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14 ml	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16 ml	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18 ml	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20 ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30 ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40 ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50 ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



Slika 5: Število vodnih bolh v odvisnosti od koncentracije raztopine vodnega kefirja.

Ko sva opazovala vodne bolhe v vodnem kefirju, sva opazila, da so po prvem dnevu vse bolhe, ki so bile v čaši z več kot dvajsetimi ml raztopine vodnega kefirja (28,57 % koncentraciji vodnega kefirja), umirjeno plavale na vrhu in po nekaj urah poginile. Vodne bolhe v najbolj koncentrirani raztopini vodnega kefirja so bile negibne že po dveh urah. Smrt vodnih bolh je bila verjetno posledica spremembe pH raztopine, ker sva akvarijski vodi dodala kisel vodni kefir.

Ugotovila sva, da se vodne bolhe dobro razmnožujejo v trdi vodi pri temperaturi okrog 20 °C in pri pH 7. Ko sva gojila vodne bolhe, nama je dvakrat večina bolh poginila, prvič med novoletnimi počitnicami, ker niso bile nahranjene 5 dni, drugič pa zaradi pregrevanja vode. Kisika nisva dovajala, občasno sva dodala le trdo vodo. V akvariju so bili še vodni polži, ki so se prehranjevali z mrtvimi vodnimi bolhami in njihovimi levi. Na tak način sva poskrbela, da voda ni bila preveč umazana in ni prihajalo do gnitja (za ravnovesje).

Drugi dan so bile žive vodne bolhe v kontroli v vodnih raztopinah z 2-16,6 % koncentracijo vodnega kefirja. Do osmega dneva eksperimenta so poginile vse vodne bolhe, razen v kontroli in v 2 % raztopini vodnega kefirja. Ugotovila sva, da sva na nek način izvajala tudi test strupenosti vodnega kefirja za vodne bolhe. Na preživetje vodnih bolh verjetno vpliva še koncentracija alkohola etanola, ki je nastal kot produkt fermentacije.

Tanja Čelhar, biologinja z Inštituta za raziskovanje Krasa, je zapisala: "Kemijski dejavniki, ki vplivajo na strupenost, so pH in trdota vode, temperatura in raztopljeni kisik ter biološki dejavniki. Sprememba pH deluje na vodne organizme posredno in neposredno, pri čemer je posredni vpliv spremembe pH bolj pomemben, ker povzroči znatne spremembe v kemizmu vode. Pri tem se spremeni tudi strupenost mnogih snovi. Vsak organizem ima tolerančno območje temperature, ki je odvisno od njegove razvojne stopnje, genetskih in ekoloških vplivov. Temperatura zunaj tega območja povzroči smrt organizma. Vzrok smrti pri neprimerni temperaturi je izguba osmoregulacije, sledijo spremembe v celičnih encimih, lipidnih membranah in obarjanje proteinov. Višje temperature vplivajo na koncentracijo raztopljenega kisika na dva načina: znižajo topnost kisika v vodi in koncentracijo raztopljenega kisika zaradi povečane biokemijske razgradnje organskih snovi. Zato vodni organizmi bolj intenzivno sprejemajo vodo skozi škrge in celične membrane, skupaj z njo pa tudi strupene snovi. Ker se koncentracija organskih snovi v vodi stalno spreminja, ne poznamo koncentracije niti vsebnosti organskih snovi. Na strupenost vplivajo tudi biološki dejavniki, ki so določeni z občutljivostjo vrst in osebkov znotraj ene vrste. Občutljivost različnih vrst je povzročena z načinom življenja, prehranjevanja, razmnoževanja, metabolizma in drugim. Razlike v občutljivosti med osebki iste vrste določajo fiziološko stanje, dedni faktor, dnevna in sezonska nihanja, starost organizmov, razvojna stopnja in velikost. Pomembna je tudi prilagoditev na določene razmere v okolju." (Čelhar, b. d.)

Ugotovila sva, da za gojenje vodnih bolh ni primerna raztopina, ki vsebuje več kot 1 ml oz. 2 % vodnega kefirja. Vzrok je v previsoki kislosti, saj so bolhe množično umirale tam, kjer je bil pH manjši od 7 (v več kot 16,66 % raztopini vodnega kefirja). Vodne bolhe v kontroli in v raztopini z 1 ml vodnega kefirja so se razmnoževale. Osmi dan je bilo v kontroli 16 vodnih bolh, v raztopini z 1 ml vodnega kefirja pa 20 vodnih bolh (4 bolhe več kot v kontroli), dvanajsti dan eksperimenta je bilo v kontrolni čaši 26 živih vodnih bolh, v čaši z 1 ml vodnega kefirja pa 30. Čez vikend je prišlo v čaši z vodnim kefirjem do ponovne fermentacije (ali do drugih procesov), zato je preživela samo 1 vodna bolha. V kontroli se je pa število vodnih bolh tako povečalo, da jih nisva uspela več prešteti, zato sva zapisala 30+. Tudi v preostalih čašah je število vodnih bolh upadalo. Ponovno sva izmerila pH raztopin in ugotovila, da se je pH raztopin iz pH 7 znižal na pH 4, kar nakazuje na to, da se je vodni kefir začel kisati (druga fermentacija). Fermentacija je razgradnja organskih spojin zaradi delovanja mikroorganizmov in njihovih encimov, ki pretvorijo sladkor v kisline, pline in alkohol. Odvija se v kvasovkah in bakterijah, pa tudi v mišičnih celicah.

V osnovi proces fermentacije opišemo z reakcijo: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$ ("Fermentacija (biokemija)", 2017). Fermentacijske procese prištevamo med najstarejše načine konzerviranja hrane.

Mleko se tudi skisa zaradi mlečnokislinskih bakterij, zato nastanejo jogurt, kislo mleko in drugi mlečni proizvodi. Pri proizvodnji vina in piva poteče alkoholno vrenje, ker zaradi kvasovk (prisotnih v zraku in na površini sadja) nastanejo alkohol (etanol), ogljikov dioksid in energija. Pri oksidaciji etanola nastane etanal in nazadnje v etanojska kislina, ki ima kisel pH.

Zgradba zrna vodnega kefirja je verjetno podobna zrnu mlečnega kefirja. V sredini zrna mlečnega kefirja so kvasovke, ki jih obdajajo mlečnokislinske bakterije. Pri proizvodnji kefirja potečeta mlečno-kislinska in alkoholna fermentacija. Prva reakcija poteče brez, druga ob prisotnosti kisika. Pri mlečno-kislinskem vrenju encimi glukoza pretvorijo v mlečno kislino, aldehyd in ogljikov dioksid. Pri alkoholnem vrenju encimi kvasovk glukoza pretvorijo v etanol in ogljikov dioksid ter energijo (Bizjak, 2003). Encim alkohol-dehidrogenaza pri živalih skrbi za alkoholno razstrupljanje. Le-ta encim je pri fermentaciji katalizator nasprotne reakcije. Pri kvasovkah in številnih bakterijah encim alkohol-dehidrogenaza piruvat, ki nastane v procesu glikolize, pretvori v acetaldehyd (etanal) in ogljikov dioksid, etanal pa se s pomočjo alkohol-dehidrogenaze pretvori v etanol (Alkohol-dehidrogenaza, 2013).

Zaradi sekundarne fermentacije – po navadi poteče v steklenicah ob prisotnosti kvasovk in sladkorja (Alič, 2017) – se je koncentracija kislin v čaši povečala, kar je bilo razvidno iz pH, ki se je nižal. Verjetno se je povečala tudi koncentracija etanala in etanola. Vsi ti dejavniki so vplivali na kemizem vode, le-ta pa na vodne bolhe. Na koncu so preživele le vodne bolhe v kontroli.

5 ZAKLJUČEK

Namen najine raziskovalne naloge je bil raziskati in ugotoviti, ali je vodni kefir res zdravilen, na primeru vodnih bolh. Raziskala sva, kako pridelati vodni kefir in kako gojiti vodne bolhe. Ugotovila sva, da vodnega kefirja ni težko pridelati. Potrebuješ kefirjeva zrna in se držiš navodil. Pri gojenju vodnih bolh sva imela več težav, ker so nama dvakrat poginile. Za gojenje potrebujejo ustrezne razmere, kot so sobna temperatura, ki ne sme nihati, trda voda, ki ima pH 7, primerno osvetljenost, zadostno hranjenje (ne preveč in ne premalo); dovajanje kisika ni nujno potrebno. Zaželeno je, da so v akvariju še vodni polži, ki se hranijo z odmrli vodnimi bolhami.

Ali lahko z vodnimi bolhami dokažemo, da je vodni kefir zdravilen?

Pri eksperimentu sva uporabila vodne bolhe, ki sva jih poskusila razmnoževati v različnih raztopinah vodnega kefirja. Najino raziskovalno vprašanje je bilo:

Ali se bodo vodne bolhe **hitreje** razmnoževale v raztopini z vodnim kefirjem ali brez kefirja?

Poznava citostatike, zdravila, ki zavirajo prebavo celic in se uporabljajo pri zdravljenju rakavih bolnikov. Zaradi počasnejše prebave se rakave celice (ki se sicer delijo zelo hitro) in zdrave celice delijo počasneje. Če obstajajo snovi, ki pospešijo prebavo celic in vplivajo na razmnoževanje, sva sklepala, da obstajajo snovi, ki prebavo pospešujejo.

Domnevala sva, da se bodo, če vodni kefir ugodno vpliva na prebavo celic, presnovo vodnih bolh, celice nekoliko hitreje delile, kar bo pozitivno vplivalo na razmnoževanje vodnih bolh, zato bo več potomcev. Domnevala sva, da se bodo vodne bolhe hitreje razmnoževale v raztopini z vodnim kefirjem. Na vzorcu vodnih bolh, ki sva ga uporabila, sva ugotovila, da vodni kefir ne pospeši razmnoževanja vodnih bolh, ampak je rezultat lahko nekoliko večje (25 %) število potomcev. Ker sva eksperiment izvajala na vzorcu 5 vodnih bolh, je rezultat relevanten, vendar bi bilo potrebno eksperiment ponoviti z večjim številom vodnih bolh.

Hipotezo sva ovrgla, saj se vodne bolhe v raztopini z 1 ml (2 %) vodnega kefirja niso hitreje razmnoževale kot v vodne bolhe v kontroli. Razmnoževanje vodnih bolh je potekalo enako hitro. Število potomcev oz. vodnih bolh je bilo v 2 % raztopini višje od tistih v kontroli – vse do petnajstega dneva eksperimenta, ko so vodne bolhe v raztopini s kefirjem (verjetno) zaradi sekundarne fermentacije poginile. Sicer bi se vodne bolhe verjetno množile še naprej. **Verjameva, da vodni kefir pozitivno vpliva na naše zdravje, saj je pozitivno vplival tudi na razmnoževanje vodnih bolh (število potomcev je bilo višje kot v kontroli). Res pa je, da je vodni kefir v raztopini s koncentracijo vodnega kefirja, ki je višja od 2 %, za vodne bolhe usoden, ker je pH raztopine kisel ali pa vsebuje preveč alkohola.**

Svoj poizkus bi lahko izboljšala tako, da bi vsakodnevno vodne bolhe prestavila v svežo raztopino vodnega kefirja iste koncentracije in bi se tako izognila ponovnemu alkoholnemu vrenju.

Poizkus bi lahko naredila tudi drugače. V čaše bi namesto vodnega kefirja lahko dala kefirjeva zrna, jih prelila z akvarijsko vodo in dodala vodne bolhe. Zanimivo bi bilo opazovati rezultate. Namesto vodnih bolh bi lahko uporabila ribe zebrice. Ali je vodni kefir zdravilen, bi lahko ugotovila tudi s pomočjo hrčkov. Hrčke bi razdelila na polovico. Prvi polovici bi dala piti vodo, drugi polovici pa vodni kefir. Živali bi morale biti ločene, da se ne poškodujejo. Hranila bi jih enako. Zanimalo bi naju, ali skupina, ki pije vodni kefir, živi dlje, in je torej bolj zdrava. Res pa je, da je življenjska doba hrčkov bistveno daljša od življenjske dobe in razmnoževalnega cikla vodnih bolh.

6 LITERATURA IN VIRI

- Alič, V. (februar 2017). Odpiramo vinski slovar: kaj so selekcionirane kvasovke? Pridobljeno 20. februar 2018., od <https://www.ovinu.si/181?cookietime=1520321659>
- Alkohol-dehidrogenaza. (9. april 2013). V Wikipedija, prosta enciklopedija. Pridobljeno od <https://sl.wikipedia.org/wiki/Alkohol-dehidrogenaza>
- Ausec, L. (september 2015). Meta PHoDcast zapisi 01: Marko Verce, biotehnolog. Pridobljeno 18. december 2017., od <https://metinalista.si/meta-phodcast-zapisi-01-marko-verce-biotehnolog/>
- Bizjak, M. [et al.] (2003) Biotehnoška proizvodnja kefirja. Ljubljana: Biotehniška fakulteta.
- Boštar, M. (2006). Vpliv kefirja na črevesno mikrobnno združbo in kancerogenezo eksperimentalno induciranih črevesnih tumorjev na podganah. Ljubljana: Biotehniška fakulteta.
- Čelhar, T. (1996). Ocenjevanje strupenosti odpadne vode s testnimi organizmi - vodnimi bolhami *Daphnia magna*. *Annales*, september 1996 (9), 115-120.
- Fermentacija (biokemija). (29. avgust 2017) V Wikipedija, prosta enciklopedija. Pridobljeno od [https://sl.wikipedia.org/wiki/Fermentacija_\(biokemija\)](https://sl.wikipedia.org/wiki/Fermentacija_(biokemija))
- Mrzel, K. (julij 2015). Vodni kefir, naravni pomlajevalec. Pridobljeno 18. december 2017., od <http://dobrojutro.rtvlo.si/svetujemo/vodni-kefir-naravni-pomlajevalec-tekst-in-nasveti-katje-mrzel-raziskovalke-okusov>
- Novak, I. (b. d.). Vodne bolhe. [Fotografija s spleta]. Pridobljeno 18. december 2017 od <http://www.aquareja.si/izdelek/45/vodne-bolhe>
- Povše, P., Pustinek, A. in Pustinek S. (2014). Test strupenosti klora na vodne bolhe (*Daphnia magna*). Mozirje: Osnovna šola Mozirje.
- Sajovic, I. [et al.] (2014). Kisline in baze, Rastopine, Masni delež. Zmazek B. (ur.), *Kemija 8. e-učbenik za kemijo v 8. razredu osnovne šole. - El. knjiga. - Ljubljana: Zavod Republike Slovenije za šolstvo.* Pridobljeno 18. december 2017., od <http://eucbeniki.sio.si/kemija8/1232/index2.html>
- The origin of water kefir. (b. d.). Pridobljeno 18. februarja 2018. od <https://www.culturesforhealth.com/learn/water-kefir/origin-water-kefir/>
- Vodne bolhe. (15. oktober 2017). V Wikipedija, prosta enciklopedija. Pridobljeno od https://sl.wikipedia.org/wiki/Vodne_bolhe#%C5%BDivljenje