

24. SREČANJE MLADIH RAZISKOVALCEV OSNOVNIH IN SREDNJIH ŠOL



Naslov naloge: **ČUDEŽ MIKROBOV- MYRKL**

Raziskovalna naloga na področju: **FARMACIJA, MEDICINA ALI ZDRAVSTVO**



Avtorja naloge:

Pia Bracar, 9.r, OŠ Kungota

Aljaž Ul, 9.r, OŠ Kungota

Mentorica: Zdenka Keuc, OŠ Kungota

Marec 2024, Zg. Kungota

Kazalo vsebine

1 UVOD	6
1.1 Namen raziskave	7
1.2 Metode dela	8
2 TEROETIČNI PREGLED.....	9
2.1 Poraba alkoholnih pijač v Sloveniji	9
2.2 Probiotiki in vsebnost <i>Bacillus</i> sevov.....	9
2.3 Študija opravljena s prehranskim dopolnilom seva <i>Bacillus</i> (t. i. AB001)	11
2.3.1 Rezultati študije	12
2.3.2 Myrkl® kapsule	14
2.4 Škodljivi učinki uživanja alkohola	15
2.5 Redoks reakcije.....	15
2.5.1 Oksidacijsko število	15
2.6 Redoks reakcije	16
2.6.1 Redoks reakcije v organski kemiji	18
2.7 Oksidacija alkoholov.....	19
3 PRAKTIČNI DEL	20
3.1 Organigram poskusa	20
3.2 Kemikalije in pripomočki	20
3.3 Praktično delo.....	21
3.3.1 Priprava raztopin	21
3.3.2 Oksidacija etanola v s kislino raztopino $K_2Cr_2O_7$ v kislem mediju	22
3.4 Meritve in rezultati meritev	22
3.4.1. Reakcija Myrkl® z vodo in etanolom.....	23
3.4.2 Merjenje pH nastalega produkta	25
3.4.3 Dokaz produkta reakcije med etanolom in dikromatom ter raztopino Myrkl®	25
3.4.4 Določitev količine etanola, ki jo lahko presnovijo mikroorganizmi ene kapsule Myrkl®	27
3.5 Zaključki laboratorijskih poskusov	29
3.6 Anketa	32
3.6.1 Rezultati ankete	32
4 ZAKLJUČKI	38
5 VIRI	41
Priloga 1 – Anketa	43

Kazalo grafov

Graf 1. Poprečna dnevna poraba alkohola glede na vrsto alkoholne pijače (NIJZ, 2023).....	9
Graf 2. Povprečne koncentracije alkohola v krvi po peroralnem zaužitju alkohola	12
Graf 3. Povprečne koncentracije alkohola v izdihanem zraku po peroralnem zaužitju alkohola	13
Graf 4. Anketiranci po spolu (skupaj za vse starostne skupine)	33
Graf 5. Anketiranci po letih starosti in spolu	33
Graf 6. Pitje alkohola med anketiranci	34
Graf 7. Kdaj so anketiranci prvič poskusili alkohol.....	34
Graf 8. Kako pogosto najmlajši anketiranci pijejo alkohol.....	35
Graf 9. Kakšno vrsto alkohola pijete/ste poskusili	35
Graf 10. Mesto uživanja alkohola	36
Graf 11. Ali imajo anketiranci pomisleke glede pitja alkohola.....	36
Graf 12. Poznavanje posledic pitja alkohola.....	37
Graf 13. Uživanje »tabletk« za hitro razgradnjo alkohola	37

Kazalo preglednic

Preglednica 1. Kromatne in dikromatne vrste kot oksidanti (Filipović in Lipanović, 1995).....	19
Preglednica 2. Dodatek $K_2Cr_2O_7/H^+(aq)$ etanolu in kontroli	22
Preglednica 3. Dodatek Myrkl® etanolu in destilirani vodi.....	23
Preglednica 4. pH raztopin, ki smo jih preiskovali	25
Preglednica 5. Dokaz produkta reakcije med etanolom in dodanim sredstvom	26

Kazalo slik

Slika 1. <i>Bacillus Licheniformis</i>	10
Slika 2. Myrkl® kapsule	14
Slika 3. Oksidacija primarnega alkohola.....	18
Slika 4. Oksidacijsko število ogljika v organskih spojinah (Filipović in Lipanović, 1995)	19
Slika 5. Oksidacija primarnega in sekundarnega alkohola ter aldehida (Filipović in Lipanović, 1995)	19
Slika 6. Oksidacija etanola	22
Slika 7. Reakcija etanola z dikromatnimi ioni z etanolom (levo) ter z deionizirano vodo (desno).....	23
Slika 8. Raztopina Myrkl®	23
Slika 9. Reakcija Myrkl® in etanol	24
Slika 10. Strukturna formula L – cisteina	24
Slika 11. Reakcija vodne raztopne Myrkla s kislom raztopno kalijevega dikromata(VI).....	24

Slika 12. pH produkta med Myrkl® in etanolom. Moder lakmusov papir ostane moder; reakcija z indikatorjem metiloranžem pokaže rumeno obarvanje; kontrolna epruveta je oranžne barve.	25
Slika 13. Reakcija med NaHCO_3 in produktom oksidacije etanola s $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{H}^+$	26
Slika 14. Primerjava med reakcijo z NaHCO_3 pri oksidaciji etanola z dikromatnimi ioni in produkta reakcije etanola z Myrkl®	26
Slika 15. Kvantitativen poskus – količina sproščenega CO_2 ob dodatku etanola	27
Slika 16. Reakcija baritovice, $(\text{Ba}(\text{OH})_2)$, z ujetim plinom (CO_2) in nastanek oborine BaCO_3 (levo)	27
Slika 17. Nastanek oborine BaCO_3	29
Slika 18. Presesalna buča za uvajanje CO_2 v baritovico	31

POVZETEK

Z raziskovalno nalogo sva želela preučiti delovanje Myrkl® kapsul, ki so prisotne na slovenskem trgu od leta 2023. Poleg vitamina B12 so v kapsuli prisotni še mikroorganizmi *Bacillus Subtilis* in *Bacillus Coagulans* ter fermentirani riževi otrobi. Prisotni mikroorganizmi lahko kot prehranski substrat uporabijo alkohol in zanimalo naju je kako učinkoviti so pri tem. Preko lab. poskusov sva ugotovila, da se etanol v prisotnosti (0,640 g) ene kapsule Myrkl® mikroorganizmov v 48% razgradi v CO₂. Myrkl® mikroorganizmi ne zmorejo v celoti presnoviti večjih količin alkohola naenkrat, vendar to zagotovo ni odvisno samo od mikroorganizmov, ampak tudi fizioloških dejavnikov. V anketi, ki je omejena na študijo primera OŠ Kungota, sva ugotovila, da je 87 % devetošolcev že uživalo alkohol in več kot polovica prvič pred svojim 12. letom. Uživanje alkohola med najinimi vrstniki ni pogosto, prevladujejo pa žgane pijače. Med mladimi je veliko manj pomislekov glede pitja alkohola kot pri starejših, čeprav priznavajo, da posledic pitja alkohola ne poznajo dobro. Vrstniki pijejo alkohol za sprostitev v družbi in med njimi je 40% takšnih, ki bi Myrkl® kapsule tudi preizkusili za zmanjšanje opitosti.

Število besed: 178

Ključne besede: Myrkl®, razgradnja alkohola

ABSTRACT

It was aimed to examine the functioning of Myrkl® capsules, which had been present on the Slovenian market since 2023. In addition to vitamin B12, the capsules also contained microorganisms of *Bacillus Subtilis* and *Bacillus Coagulans*, as well as fermented rice bran. The present microorganisms could also utilize alcohol as a nutritional substrate, and they were interested in their effectiveness in doing so. Through laboratory experiments, it was found that ethanol, in the presence of Myrkl® microorganisms, was degraded into CO₂ by 48%, while the remainder remained unknown. Myrkl® microorganisms could not completely metabolize large amounts of alcohol at once, but this was certainly not solely dependent on the microorganisms in the Myrkl® capsules, but rather on various physiological factors. It was discovered that the reaction rate depended on the concentration of the enzyme, but not on the substrate concentration. In a survey limited to the case study of Kungota Elementary School, it was found that 87% of ninth graders had already consumed alcohol, with more than half doing so for the first time before the age of 12. Alcohol consumption among their peers was not common, but spirits were predominant. Young people had far fewer concerns about drinking alcohol compared to older individuals, although they admitted to not being well aware of the consequences of alcohol consumption. Peers drank alcohol for relaxation in social settings, and 40% of them would also consider trying Myrkl® capsules.

Number of words: 223

Key terms: Myrkl®, alcohol degradation

1 UVOD

Uživanje alkoholnih pijač je družbeno najbolj sprejeta in tudi najbolj razširjena droga, ki povzroča odvisnost. V mnogih okoljih je alkohol zelo sprejemljiv sopotnik praznovanj in družabnih dogodkov. Splošno se sprejema kot legitimna pot za praznovanje posebnih priložnosti ali zgolj za sprostitev po napornem delovnem dnevu. Uživanje alkohola, v zmernih količinah, se v našem kulturnem okolju običajno dojema kot neškodljiva dejavnost. Velikokrat je opijanje celo splošno družbeno sprejeto.

Ker učinki pitja alkohola za posameznike niso povsem enaki, je zelo težko določiti mejo med neškodljivim in škodljivim uživanjem alkohola, čeprav je konstantno pitje alkohola izjemno rizičen dejavnik, ki lahko sproži telesne poškodbe. Na sledenje vplivajo tudi drugi dejavniki, kot so genetika, rasa, čustveno zdravje in okolje (Guo in Ren, 2007). Zato pitje alkohola, kot problem, zaznavamo samo pri ljudeh, ki so redno opiti in pri tistih, ki pod vplivom alkohola izvajajo družbeno nesprejemljiva dejanja (nasilje, vožnja pod alkoholom, uživanje alkohola v času nosečnosti itd.). Shramko s sod. (2019) poroča, da 3,3 milijona ljudi letno na svetu umre zaradi zlorabe alkohola, kar predstavlja skoraj 5 % vseh smrti.

Slovenski nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ, 2022) poroča, da je bilo za obdobje 2018 - 2019 neposrednih in posrednih stroškov, zaradi škodljivega in tveganega pitja alkohola, za 105.172.807,00 EUR na leto, kar predstavlja 3 % vseh izdatkov za zdravstveno varstvo v Sloveniji. Ekonomsko breme škodljivega in tveganega pitja alkohola je torej veliko. Zato je vlaganje v preventivo ravnanje posameznikov zelo pomembno. Slovenija spada po porabi alkohola na prebivalca v sam svetovni vrh. (NIJZ, 2023).

Podatki NIJZ (2023) kažejo, da se najini vrstniki, stari 15 in več let, opijejo vsaj enkrat mesečno, kar nas po podatkih Eurostata (statističnega urada Evropske unije) uvršča na 7. mesto med 45. evropskimi državami. Po izračunih NIJZ je registrirana poraba alkohola v letu 2021 v Sloveniji znašala 10,62 litra čistega alkohola na odraslega prebivalca, starega 15 in več let (Ministrstvo za zdravje, 2023).

Raziskava HBSC (*Health Behaviour in School-Aged Children*) iz leta 2018 je pokazala, da je alkoholne pijače v življenju že kdaj pilo 15 % 11-letnikov, 40 % 13-letnikov, 71 % 15-letnikov in kar 86 % 17-letnikov. Iz tega lahko zaključimo, da se že vzpostavljena regulativa na področju dostopnosti alkoholnih pijač mladoletnim v praksi pomanjkljivo izvaja (Ministrstvo za zdravje, 2023). Spoznanja iz kampanje »*Skriti kupec*« (2018 – 2019) kažejo, da lahko v praksi mladoletno osebo enostavno opravijo nakup alkoholne pijače, saj jim v praksi v več kot 90 % uspe izvesti nakup alkoholne pijače kljub neizpolnjevanju in ne izkazovanju polnoletnosti (Ministrstvo za zdravje, 2023).

Zadnji dostopen podatek za pogostost visokega tveganega mesečnega opijanja, za mlade med 15. in 25. letom v Sloveniji, je dostopen za leto 2022 in dosega 24,7 %, kar pomeni, da je vsak četrti slovenski mladostnik mesečno vsaj 1-krat opit.

Strategije za zmanjšanje škodljivih posledic zlorabe alkohola se osredotočajo na zaščitne splošne strategije, ki temeljijo na "omejitvah" ali omejevanju porabe ter "izogibanju" alkoholu na splošno ali v specifičnih situacijah z alkoholom. V to kategorijo sodijo akcije: 40 dni brez alkohola, Otroci za varnost v prometu, Varno brez alkohola v prometu itd. Glede na prej predstavljene podatke, kampanje proti uživanju alkohola ne dosegajo ciljev, ki jih želimo. Zato se zdi, da je ena od možnih alternativ razvoj učinkovine, ki bi zavirala absorpcijo zaužitega alkohola v kri ali pa povzročila njegov hiter razpad v človeku neškodljive produkte. To je uspelo podjetju De Faire Medical AB (Stockholm, Švedska, www.defairemedical.com), ki je razvilo probiotično enkapsulirano prehransko dopolnilo, sestavljeno iz sevov *Bacillus* (t. i. AB001), vitamina B₁₂ in L-cisteina. Bakterije, ki se sproščajo iz kapsul, so odporne na želodčno kislino in se naselijo v zgornjem delu prebavnega trakta. Tukaj naj bi ostale približno en dan, preden jih telo delno izloči skozi blato. Bakterijski sevi prednostno presnavljajo etanol direktno v CO₂ in vodo, s čimer se zmanjša nadaljnja absorpcija alkohola iz prebavnega trakta. Posledično se pričakuje manjša absorpcija alkohola v telesu, in zmanjšanje poškodb organov zaradi presnovnih produktov alkohola ter seveda nižja opitost. Kapsule so na voljo tudi na slovenskem trgu, pod imenom Myrkl® v vseh lekarnah in tudi spletnih lekarnah. Zanje ne potrebujemo recepta, kupijo jih lahko tudi mladoletniki. Poudariti velja, da s ene oglašujejo kot prehransko dopolnilo za »brezskrbno pitje« alkohola, vendar večina uporabnikov posega po njih ravno zaradi tega.

1.1 Namen raziskave

Avtorja te raziskave živiva v okolju, kjer je vino »hrana« in promocija kulturnega pitja vina izjemno močna. Prihajava iz okolja kjer so v letu 1983 okronali tudi prvo vinsko kraljico, v letu 2023 pa že 20. po vrsti. Kmalu je to postal zgled tudi za druge vinorodne okoliše in od leta 1996 kronamo tudi slovensko vinsko kraljico. Posledično je kulturno (t.i. socialno) pitje alkohola zelo pogosto in celo zaželeno. Zato sva s to raziskavo želela na ravni laboratorijskega poskusa preučiti:

1. v kolikšni meri so najini vrstniki in starejši seznanjeni z možnostjo uporabe Myrkl® kapsule in kakšno je njihovo mnenje o tej novi »preventivi« (1. del raziskave) .

2. ali mikroorganizmi v kapsuli dejansko delujejo na način, da se etanol relativno hitro pretvori v ogljikov dioksid, CO₂, in vodo, mikroorganizmi pa delujejo tudi v pH pogojih želodčnega soka (2. del raziskave).

Učinkovitost kapsul Myrkl® sva preučevala »*in vitro*« ter njihovo razgradno moč primerjala z enim najmočnejših anorganskih oksidantov, to je 0,1 M K₂Cr₂O₇/H⁺(aq).

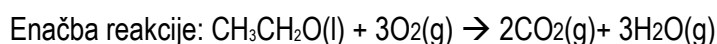
1.2 Metode dela

Za prvi del raziskave sva sestavila anketo, ki sva jo dala v reševanje vsem devetošolcem naše šole, vsem zaposlenim ter sorodnikom in sosedom. Skupaj sva obdelala 75 anket. Želela sva preučiti v kolikšni meri je pitje alkohola že prisotno v najini generaciji, kakšen odnos imajo najini vrstniki do alkohola in kolikšen »potencial« uporabe imajo Myrkel® kapsule med njimi. Rezultate ankete sva povezala z rezultati praktičnega dela v laboratoriju, kjer sva:

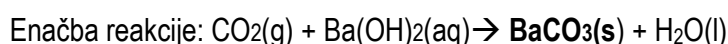
1. Kvalitativno preučila delovanje kapsul Myrkl® v primerjavi z delovanjem 0,1 M K₂Cr₂O₇/H⁺(aq).
2. Izmerila količino CO₂, ki se sprosti ob delovanju vsebine ene kapsule Myrkl® in 1 mL čistega etanola.

Za določitev mase etanola, ki ga vsebina ene kapsule Myrkl®, lahko razgradi, sva izhajala iz naslednjih predpostavk:

1. Etanol se pri popolni oksidaciji pretvori v ogljikov dioksid in vodo. Iz enega mol etanola dobimo 2 mol ogljikovega dioksida.



2. Sproščeni ogljikov dioksid uvajamo v baritovico Ba(OH)₂(aq), pri čemer nastane bela oborina karbonata:

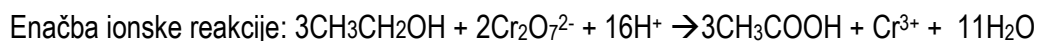


Množina nastale oborine je enaka množini nastalega ogljikovega dioksida.

$$\mathbf{n(\text{CO}_2) = n(\text{BaCO}_3) = 2n(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH})}$$

Torej, če bomo izmerili maso BaCO₃, ki se bo izločila kot oborina pri reakciji, bomo lahko izračunali množino ogljikovega dioksida, ki se je sprostil pri oksidaciji etanola. Ker bo količina etanola znana, bomo lahko izračunali kapaciteto ene kapsule Myrkl®.

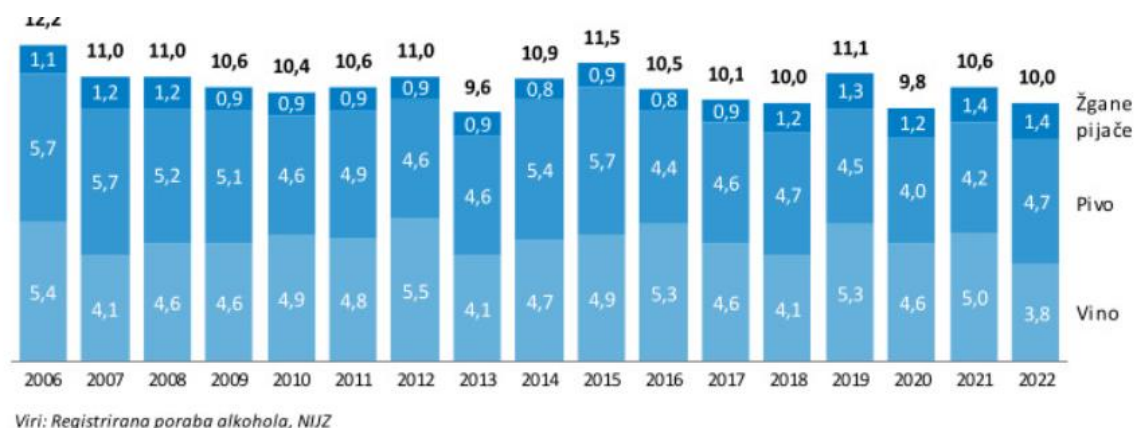
Za primerjavo bomo uporabili dikromatane(VI) ione v kislem mediju. Oranžna barva dikromatnega(VI) iona se v času oksidacije spremeni v zeleno (nastanek Cr(III) iona).



2 TEROETIČNI PREGLED

2.1 Poraba alkoholnih pijač v Sloveniji

Registrirana poraba alkohola se izračuna kot poraba čistega alkohola (v litrih), na prebivalca starega 15 let in več. Pri izračunu se upoštevajo podatki o industrijski proizvodnji alkoholnih pijač (vino, pivo in žgane pijače), podatki o proizvodnji s kmetij, podatki o uvozu in izvozu ter podatki o zalogah alkoholnih pijač (NIJZ, 2023). Iz grafa 1 vidimo, da se je v letu 2022 v Sloveniji popilo največ piva (4,7 litrov čistega alkohola), sledilo je vino (3,8 litra) in nato žgane pijače (1,4 litra). Na grafu 1 opazimo, da je v zadnjih desetih letih v porastu uživanje žganih pijač (z višjo vsebnostjo etanola) in trend padanja uživanja vina (z nižjo vsebnostjo etanola).



Graf 1. Poprečna dnevna poraba alkohola glede na vrsto alkoholne pijače (NIJZ, 2023)

V letu 2022 je, po podatkih NIJZ, 0,9% mladostnikov med 15. in 24. letom vsak dan redno uživalo alkoholne pijače.

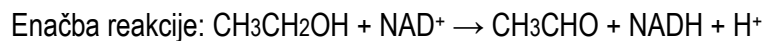
2.2 Probiotiki in vsebnost *Bacillus* sevov

Ker redno uživanje alkohola predstavlja potencialen vir zdravstvenih težav, so težnje po razvoju »čudežne kapsule«, prisotne že nekaj časa. V letu 2022 je bil, z namenom zmanjšanja absorpcije alkohola iz

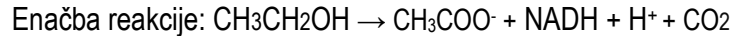
črevesnega trakta in omilitve morebitnih zdravstvenih tveganj, razvit probiotični prehranski dodatek (t.i. AB001), ki je leta 2023 prišel na trg pod imenom Myrkl® (Pfutzner s sod., 2022).

Probiotiki so živi mikroorganizmi, za katere se trdi, da prinašajo koristi za zdravje. Pomembni so za prebavo, imunski sistem in druge vidike telesnega delovanja. Običajno vključujejo določene seve koristnih bakterij, ki naj bi pomagale ohranjati ravnovesje mikroorganizmov v prebavilih ter imele pozitivne učinke na prebavni sistem in celotno zdravje. Vendar je treba opozoriti, da učinki probiotikov niso vedno enako učinkoviti za vsakega posameznika in se razlikujejo glede na vrsto probiotika, količino in druge dejavnike.

Myrkl® vsebuje seve *Bacillus*, bakterije, ki ima sposobnost presnove etanola v ogljikov dioksid. To je mogoče zaradi prisotnosti encimov, t.i. dehidrogenaz, ki so odgovorni za metabolizem etanola. Encim je prisoten v tako v želodcu kot jetrih in v večini primerov katalizira oksidacijo etanola v acetaldehid (etanal), kot je prikazano v spodnji enačbi kemijske reakcije.



Encim ima funkcijo razgradnje etanola, prisotnega v prebavnem traktu in obenem sploh omogoča uživanje alkoholnih pijač. Nastali acetaldehid (etanal), CH_3CHO , je za organizem bolj toksičen kot je alkohol in se nadalje običajno pretvori v očetno kislino oz. acetatni ion, sprošča se CO_2 .



Nekatere bakterije iz rodu *Bacillus* imajo presenetljive metabolne sposobnosti. Muras s sod. (2021) poroča o uporabi *Bacillus licheniformis* v proizvodnji bioaktivnih spojin za kmetijstvo, prehrambno industrijo, biomedicino, farmacevtsko industrijo, proizvodnjo biogoriv, bioremediacijo in številne druge namene uporabe. *B. licheniformis* se lahko dodaja tudi kot dodatek krmi za živali, saj nima (dokazanih) toksičnih potencialov. Vendar Muras s sod. (2022) opozarja, da so nekateri probiotiki, ki vsebujejo to bakterijo, obravnavani tudi kot nevarni. Gre za možnost prenosa genov za odpornost na antibiotike. Zato široka variabilnost bioloških aktivnosti in genetskih značilnosti te vrste zahteva previdnost.



Slika 1. *Bacillus Licheniformis* (vir: <https://www.indiamart.com/proddetail/bacillus-licheniformis-200-bs-g-22463161155.html?pos=1>)

2.3 Študija opravljena s prehranskim dopolnilom seva *Bacillus* (t. i. AB001)

Pfutzner in sod. (2022) so izvedeli študijo, katere namen je bil oceniti za koliko se zmanjša absorpcija etanola v kri in kolikšna je raven alkohola v izdihanem zraku, ob pitju določene količine alkohola, po enem tednu uživanja prehranskega dopnila z mikroorganizmi imenovanimi AB001 (*Bacillus*), v primerjavi s placebo pri zdravih prostovoljcih. Preučili so tudi kognitivne funkcije testirancev pred in eno uro po zaužitju alkohola.

AB001 vsebuje naravno fermentirane riževe otrobe, ki vsebuje *Bacillus subtilis*, *B. coagulans*, *L-cistein in dekstrin*. Pomožne snovi so še: magnezijev stearat, kalcijev fosfat in kalijev fosfat. Ena kapsula (800 mg) vključuje fermentirane riževe otrobe v količini 560 mg, *L-cistein* v količini 200 mg, dekstrin v količini 4 mg ter pomožne snovi v količini 36 mg.

Placebo, ki so ga Pfutzner in sod. (2022) uporabil v zgoraj omenjeni študiji, je vseboval 800 mg riževe moke.

Primarni cilj študije je bil ugotoviti vpliv AB001 na raven alkohola v krvni plazmi, po zaužitju visoko alkoholne pijače (v primerjavi s placebo), po 7 dneh jemanja prehranskega dopnila. Sekundarni cilji so vključevali ugotavljanje vpliva AB001 na rezultate testa alkohola v izdihanem zraku, kognitivne funkcije prostovoljcev ter oceno (resnih) neželenih dogodkov.

Izbrani prostovoljci so bili zdrave osebe, starejše od 18 let, kavkaškega porekla. Skupina je zajemala 24 prostovoljcev. Glavna izključitvena merila so bila:

- prisotnost zasvojenosti z alkoholom,
- akutna ali kronična bolezen,
- znane alergije na probiotična prehranska dopnila,
- nosečnost ali dojenje ter
- redno uživanje drugih prehranskih dopnil.

Prostovoljcem v sedmih dneh pred poskusi ni bilo dovoljeno uživati alkohola. 2-krat dnevno so skozi 7 dni uživali ali placebo ali AB001. Po enem tednu so zaužili lahek zajtrk, nato pa 0,3 g alkohola/kg telesne mase v obliki močnega alkoholnega napitka (vodka). Opravljen je bil test izdihanega zraka (Dräger Alcotest 3820, Dräger Safety AG, Lübeck, Nemčija) in odvzem krvi za merjenje alkohola (fotometrična metoda), ob časovnih točkah 0 min, 15 min, 30 min, 45 min, 60 min, 90 min, 120 min, 180 min, 240 min, 300 min in 360 min.

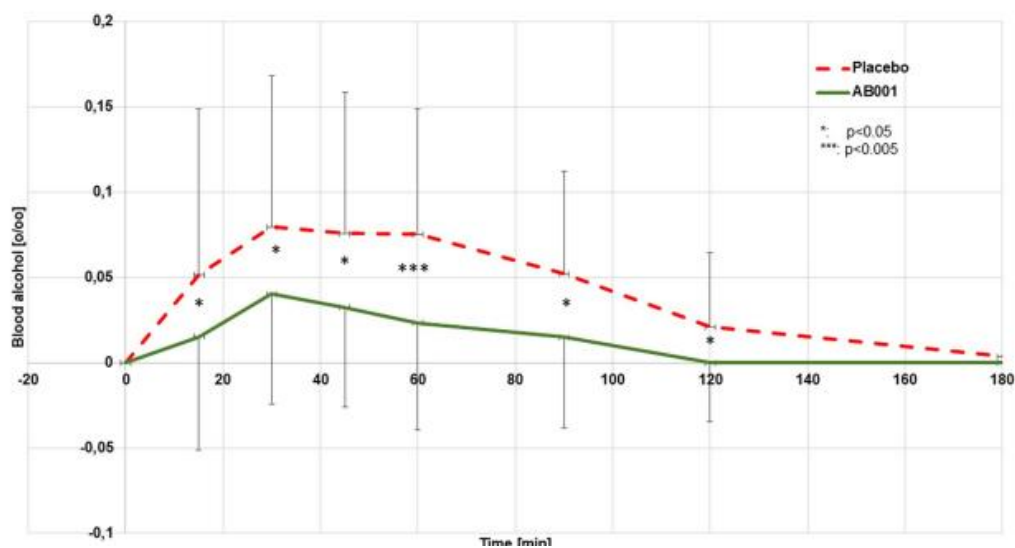
Pred zaužitjem alkohola¹ in po 60 minutah so prosili udeležence, da opravijo test povezovanja števil (test kognitivnih sposobnosti). Čas, potreben za dokončanje testa, je bil dokumentiran. Poskus je potekal vsaj 120 minut in se je končal, ko alkohola v testirančevem izdihanem zraku ni bilo več.

24 zdravih prostovoljcev (13 moških, 11 žensk) so opisali z naslednjimi značilnostmi:

- povprečna starost $25,4 \pm 7,7$ let (obseg: od 18 do 55 let)
- indeks telesne mase (BMI) $23,6 \pm 2,5$ kg/m² (obseg: od 19,1 kg/m² do 29,1 kg/m²).

2.3.1 Rezultati študije

Povprečne koncentracije alkohola v krvi, po enem tednu rednega prehranskega dopolnjevanja z dvema kapsulama Myrkl® na dan z ali s placebom so prikazane na grafu 2. Celoten poskus so ponovili 2-krat. Kot vidimo iz grafa 2, po 180 minutah, v primeru Myrkl® ni bilo mogoče več zaznati merljive ravni alkohola v krvi.



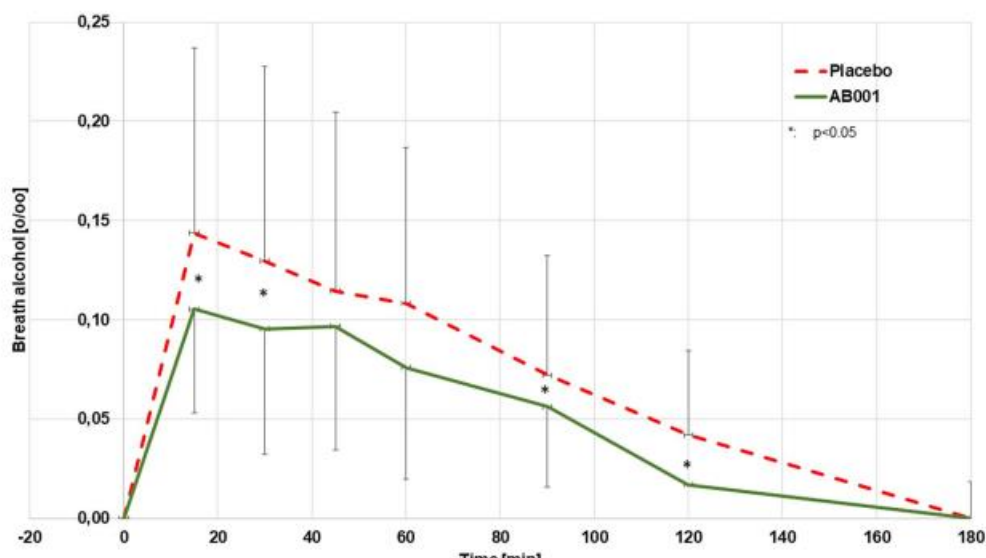
Graf 2. Povprečne koncentracije alkohola v krvi po peroralnem zaužitju alkohola (0,3 g/kg telesne mase, N=24)

Na splošno je bila količina zaužitega alkohola nizka (od 47 mL do 89 mL močnega alkoholnega napitka s 40 % alkohola) in ni privedla do merljivih koncentracij alkohola v krvi pri nobenem od obeh poskusov pri šestih testirancih (25%). Od preostalih udeležencev štirje niso pokazali koncentracije alkohola v krvi nad

¹ Količino alkohola, ki je bila dana v tej študiji, je določila IRB v procesu odobritve študije. Vprašanje je, kaj bi se zgodilo, če bi bila količina alkohola višja (opomba avtorjev).

0,1 ‰ (>0,124 g/L) z AB001 ali placebom (kar predstavlja 17 % celotne populacije). Koncentracije alkohola v izdihanem zraku nad 0,1 ‰ (>0,124 g/L) so bile zaznane pri osemnajstih (18) udeležencih (75%).

Povprečne koncentracije alkohola v izdihanem zraku so prikazane na grafu 3. V nobenem od posameznih eksperimentov ni bilo mogoče zaznati merljive ravni alkohola v izdihanem zraku nad 180 minutami.



Graf 3. Povprečne koncentracije alkohola v izdihanem zraku po peroralnem zaužitju alkohola (0,3 g/kg telesne mase, N=24).

Zaužitje 0,3 g alkohola/kg telesne mase ni vplivalo na kognitivno funkcijo testirancev. Raziskovalci niso opazili razlik v testu kognitivne funkcije, opravljenem na začetku (AB001 proti Placebu: $21,6 \pm 6,8$ sekund proti $23,0 \pm 8,2$ sekund, nesignifikantno) ali 60 minut po zaužitju alkohola ($22,4 \pm 7,7$ sekund proti $22,7 \pm 5,6$ sekund, nesignifikantno).

Prehranski dodatki so bili dobro prenašani, v tej študiji ni bilo poročil o neželenih dogodkih ali resnih neželenih dogodkih.

Vidimo, da je zmanjšanje absorpcije alkohola v kri po enem tednu jemanja AB001 v primerjavi s placebom veliko, več kot 70%. Tudi delež alkohola v izdihanem zraku je bil za približno 30% nižji pri tistih prostovoljcih, ki so jemali Myrkl®, v primerjavi s placebom. Dobro je znano, da je med izdihanim zrakom in alkoholom v krvi visoka korelacija, vendar so rezultati merjenja alkohola v izdihanem zraku bolj občutljivi na fiziološke posebnosti posameznika (npr. telesna temperatura in temperatura izdihanega zraka) (Jones, 2000), saj je mogoče, da je končna vsebnost alkohola v izdihanem zraku najbolj odvisna od količine alkohola, ki se absorbira v zgornjem prebavnem traktu, to je v ustni sluznici in želodcu. To bi lahko

pojasnilo, zakaj je merjeni učinek z AB001, ki je aktiven samo v prebavnem traktu, bolj izrazit v krvnih preiskavah kot v testih izdihanega zraka.

Količina zaužitega alkohola (0,3 g/kg telesne mase) ni privedla do merljivih pomembnih koncentracij alkohola v krvi pri desetih udeležencih, torej kar 42 % testirancev. To potrjuje tudi dejstvo, da zaužita količina alkohola ni vplivala na kognitivno funkcijo testirancev.

Kljub majhnemu testnemu vzorcu prostovoljcev ($N=24$) so raziskovalci zaključili, da Uživanje AB001, kot prehranskega dopolnila, lahko pomaga preprečiti poškodbe jeter in drugih organov, ki so znane kot posledica rednega uživanja alkohola, ter zmanjša negativni medicinski in ekonomski vpliv družbenega pitja na posameznika in družbo. Poudarili so, da ta izdelek ni namenjen zdravljenju zasvojenosti z alkoholom.

2.3.2 Myrkl® kapsule- predstavitev



Slika 2. Myrkl® kapsule

Myrkl® kapsule smo naročili preko *lekarnar.com*. Na njihovi spletni strani je zapisano, da gre za produkt, ki vsebuje MYRKL mikroorganizme, vitamin B₁₂ in L-cistein. Oglašuje se kot prehransko dopolnilo, ki prispeva k boljšemu delovanju imunskega in živčnega sistema, prispeva k sproščanju energije pri presnovi ter prispeva k normalnemu psihološkemu delovanju. Dodajajo, da je primerno tudi za vegane in vegetarijance in je proizveden na Švedskem. Med mikroorganizmi so navedeni: *Bacillus subtilis* (5000 CFU**) in *Bacillus coagulans* (5000 CFU**) ter fermentirani riževi otrobi. Priporočljiv odmerek je 2 MYRKL kapsuli na dan s kozarcem vode.

Takoj smo opazili, da se prehransko dopolnilo ne promovira za razgradnjo alkohola. Preverili smo delovanje *Bacillus subtilis* in *Bacillus coagulans*, ki sta glavni sestavini kapsul. Huang s sod (2021) navaja, da je *Bacillus coagulans*, zaradi svoje visoke okoljske tolerance in koristnih učinkov na izboljšanje gastrointestinalnih bolezni, v letu 2021 pritegnil veliko pozornosti. Preučevali so njegovo uporabnost za razgradnjo alkohola in dobili potrditev, da je tudi ta sev izjemno učinkovit pri odstranjevanju alkohola pri

ljudeh. Tudi sev *Bacillus subtilis* se je v raziskavi Huang s sod. (2021) izkazal kot zelo učinkovit pri akutni poškodbi jeter, povzročeni zaradi prekomernega uživanja alkohola.

2.4 Škodljivi učinki uživanja alkohola

Strupenost uživanje alkohola, ki vodi do poškodb notranjih organov (v osredju so jetra), se ne omejuje neposredno na toksičnost etanola, ampak njegovega glavnega presnovnega produkta, acetaldehida oz. etanala. Alkohol povzroča tudi oksidativni stres, kopičenje etilnih estrov maščobnih kislin in druge zdravstvene težave (Choi s sod., 2015). Etilni estri maščobnih kislin prispevajo k poškodbam srca, jeter in trebušne slinavke (Vonlaufen s sod., 2007; Re in Wold, 2008). To pomeni, da prekomerno uživanje alkohola lahko vodi tudi poškodb omenjenih organov in ne samo jeter, kot je splošno prepričanje.

Acetaldehid povzroča motnje v delovanju mitohondrijev, kar pomeni kopičenje acetaldehida v telesu. Poleg tega vpliva ali spreminja strukturo in funkcijo beljakovin in encimov v telesu (Lieber s sod., 1975).

V nadaljevanju bomo zapisali nekaj osnov o reakcijah oksidacije in redukcije, saj presnova etanola v našem telesu poteka preko redoks reakcij.

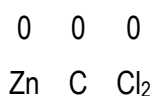
2.5 Redoks reakcije

2.5.1 Oksidacijsko število

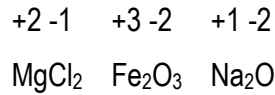
Za razumevanje redoks reakcij moramo vedeti kaj je oksidacijsko število in ga znati določiti. Določimo ga na osnovi pravil, ki temeljijo na dejstvu, da je vsota oksidacijskih števil vseh atomov v molekuli enaka nič, v ionih pa mora biti enaka naboju iona. Na osnovi oksidacijskega števila sestavljamo formule spojin, v katerih so atomi v stehiometričnem razmerju. Oksidacijsko število zapišemo nad simbolom elementa, medtem ko se pri pisanju imen kemijskih spojin oksidacijsko število označuje z rimsko številko v oklepaju, na primer ogljikov(IV) oksid (t.i. Stockov način)

Pri določanju oksidacijskega števila nekega elementa je pomembno upoštevati naslednja pravila:

1. Oksidacijsko število atoma v elementarnem stanju je nič, saj je elektronska gostota enakomerno razporejena (Filipović in Lipanović, 1995).



2. Oksidacijsko število monokationskih ionov v ionskih spojinah je enako naboju iona; lahko je pozitivnega ali negativnega predznaka, ki se postavi pred število, za razliko od naboja iona, kjer se predznak postavi za število.



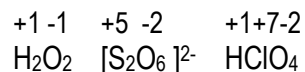
V kovalentnih spojinah ima atom z večjo elektronegativnostjo negativno, atom z manjšo elektronegativnostjo pa pozitivno oksidacijsko število. Na primer fluor s svojo maksimalno elektronegativnostjo ima v svojih spojinah oksidacijsko število -1, kisik -2, medtem ko imajo atomi kovin pozitivno oksidacijsko število. Primer:



3. Vodik ima v spojih z nekovinami in polkovinami vedno oksidacijsko število +1; le v spojini s kovinami (kovinski hidridi) ima oksidacijsko število -1 (Filipović in Lipanović, 1995).



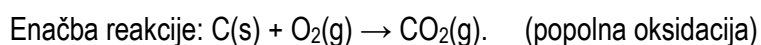
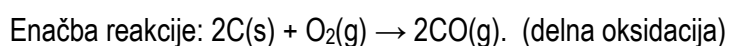
4. Istovrstni atomi, ki so povezani skupaj kot skupina v neki kompleksni molekuli ali ionu, imajo enako oksidacijsko število, celotna skupina istovrstno povezanih atomov pa se obravnava kot ena entiteta in oksidacijsko število se enakomerno razporedi. To je imenovano povprečno ali srednje oksidacijsko število (Filipović in Lipanović, 1995).



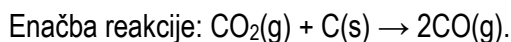
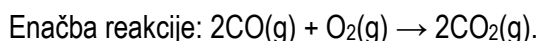
2.6 Redoks reakcije

L. Lavosier je kemijske spojine s kisikom imenoval oksidi, reakcijo združevanja s kisikom pa oksidacijo.

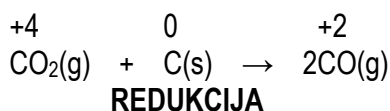
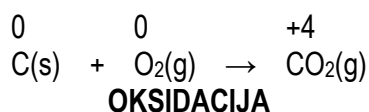
Primer: oksidacija ogljika v ogljikovega(II) oksid in ogljikov(IV) oksid:



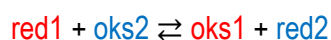
Z nadaljnjo oksidacijo ogljikovega(II) oksida nastane ogljik(IV) oksid. Če del kisika ogljikovemu(IV) oksidu odvzamemo, ponovno dobimo ogljikov(II)oksid (Filipović in Lipanović, 1995):



Pretvorba ogljikovega(IV) oksida nazaj v ogljikov(II) oksid vodi do reakcije redukcije (grško "reducere" = vrniti nazaj). Iz tega lahko sklepamo, da je redukcija obratni proces oksidacije. Snov, ki veže kisik, se oksidira, medtem ko se snov, ki sprošča kisik, reducira.



Reakcije oksidacije in redukcije niso omejene le na reakcije spajanja s kisikom oziroma odvzemanja kisika, temveč vedno gledamo spremembo oksidacijskega števila (Filipović in Lipanović, 1995). Oksidacijsko število elementa se pri oksidaciji poveča, pri redukciji pa zmanjša. Če posplošimo, ni reakcije oksidacije, če ni istočasne redukcije in obratno. Reducent prenese elektrone na oksidanta in s tem samega sebe oksidira, oksidant pa se pri tem reducira. Redoks reakcijo lahko na splošno prikažemo v naslednjem obliki:



Reducenti so v periodnem sistemu elementov na levi strani in so donorji elektronov (npr. Li, Na itd.), medtem ko so tisti z večjo elektronegativnostjo (nekovine) oksidanti ali akceptorji elektronov. Močni oksidanti imajo veliko afiniteto do elektronov. Zato so kovine (zaradi nizke elektronegativnosti) močni reducenti, medtem ko je fluor, zaradi svoje visoke elektronegativnosti, najmočnejše oksidacijsko sredstvo. Oksidacijska moč halogenov raste v vrsti: $\text{I}_2 < \text{Br}_2 < \text{Cl}_2 < \text{F}_2$

Ravno obratno pa je z redukcijsko sposobnostjo. Jodidni ion je najmočnejši reducent med halogenidi ioni. Redukcijska moč raste v naslednjem vrstnem redu: $\text{F}^- < \text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^-$

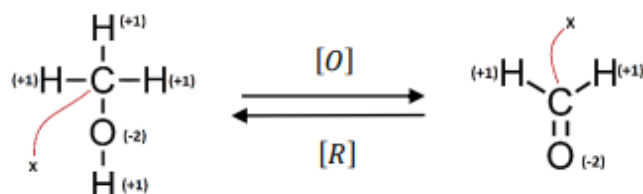
Podoben vrstni red lahko postavimo tudi kovinah. S poznavanjem relativnih oksidacijskih in redukcijskih moči redoks sistemov lahko predvidimo, ali je določena redoks reakcija sploh mogoča.

2.6.1 Redoks reakcije v organski kemiji

Reakcije oksidacije in redukcije organskih spojin lahko prikažemo z izračunavanjem oksidacijskega števila ogljikovega atoma, ki se oksidira ali reducira. Pravila, ki se uporabljajo pri določanju oksidacijskih števil za organske spojine, so podobna tistim, ki se uporabljajo pri anorganskih spojinah, in sicer:

1. Vodikov atom ima oksidacijsko število +1, ko je vezan na ogljikov atom ali neki bolj elektronegativen atom.
2. Atomu kisika, bodisi da je vezan z enojno ali dvojno vezjo, se pripisuje oksidacijsko število -2, razen če je vezan z drugim atomom kisika.

Prikaz izračuna oksidacijskega števila ogljikovega atoma je oksidacija metanola v metanal. Oksidacijsko število ogljikovega atoma v molekuli bomo označili z X. Glede na to, da mora biti vsota oksidacijskih števil vseh atomov enaka nič, lahko izračunamo oksidacijska števila ogljikovih atomov. Z oznako [O] smo označili reakcijo oksidacije in z oznako [R] reakcijo redukcije.

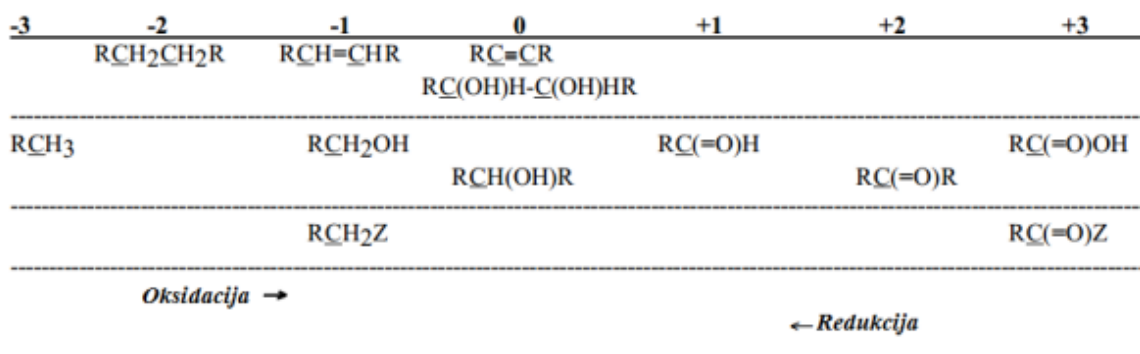


Slika 3. Oksidacija metanola v metanal

Izračun oksidacijskega števila za:

- za ogljik v metanolu: $+1 + 1 + 1 - 2 + 1 + X = 0$ $+2 + X = 0$ **$X = -2$**
- za ogljik v metanalu: $+1 + 1 - 2 + X = 0$ $+2 - 2 + X = 0$ **$X = 0$**

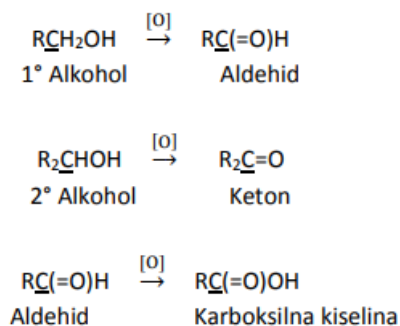
Povečanje oksidacijskega števila (iz -2 na 0) na ogljikovem atomu pomeni, da se ta oksidira. Torej lahko sklepamo, da je prišlo do oksidacije metanola v metanal. Podobne izračune uporabljamo tudi za druge organske spojine, na podlagi katerih jih nato razvrstimo v različne oksidacijske stopnje, prikazane na sliki 4.



Slika 4. Oksidacijsko število ogljika v organskih spojinah (Filipović in Lipanović, 1995)

2.7 Oksidacija alkoholov

V primeru oksidacije alkohola v aldehyd lahko oksidacijsko sredstvo predstavlja spojina kroma v oksidacijskem stanju +6. Med reakcijo se krom reducira v oksidacijsko stanje +3, kar kaže, da prejema elektrone iz alkohola, potem ko je ta oksidiran v aldehyd.



Slika 5. Oksidacija primarnega in sekundarnega alkohola ter aldehyda (Filipović in Lipanović, 1995)

Z oksidacijo sekundarnih alkoholov dobimo ketone, z oksidacijo primarnih alkoholov pa aldehyde. Oksidacija aldehydov privede do nastanka karboksilnih kislin. Kot oksidacijsko sredstvo se velikokrat uporabljajo kromati, prikazani v preglednici 3.

Preglednica 1. Kromatne in dikromatne vrste kot oksidanti (Filipović in Lipanović, 1995)

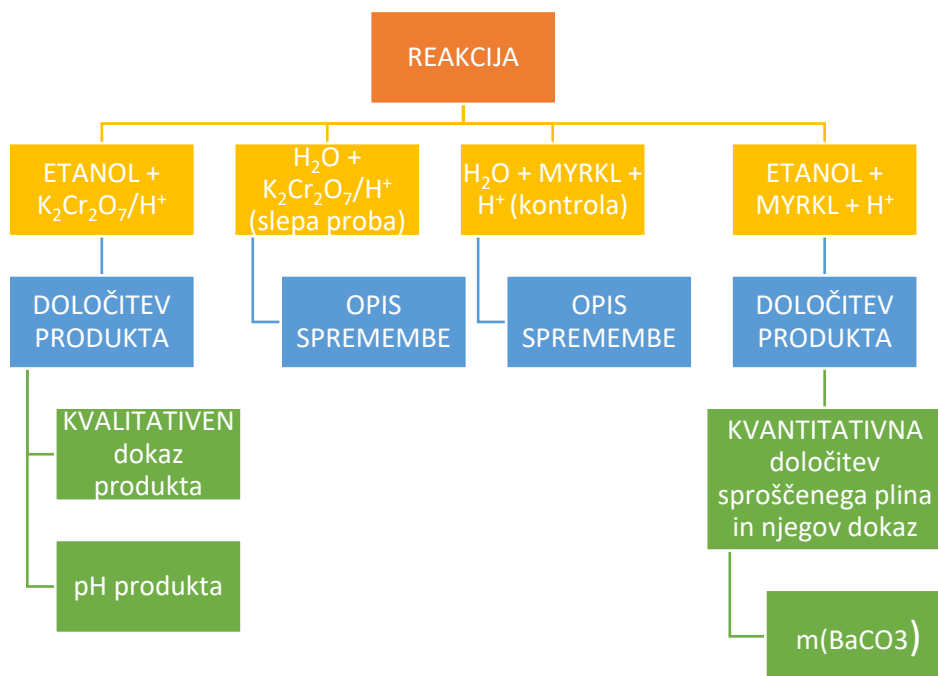
Kromatne vrste	Dikromatne vrste
H_2CrO_4	$\text{H}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$
HCrO_4^-	HCr_2O_7^-
CrO_4^{2-}	$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$

Dikromatni ion ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) je v kislinskih raztopinah zelo močno oksidacijsko sredstvo, bolj kot v bazičnih raztopinah. Reakcije oksidacije primarnih alkoholov praviloma ne moremo zaustaviti na stopnji aldehida, ampak z uporabo Cr(VI) reagentov nadalje oksidirajo v karboksilne kisline. Napredovanje oksidacije lahko spremljamo glede na barvo reagenta, ki se spreminja od rumeno-oranžne do zelene barve.

Poleg Cr(VI) reagentov obstajajo še drugi oksidanti, ki lahko oksidirajo alkohole in aldehide (npr.: manganove(VII) spojine, vodikov peroksid, NaClO itd.)

3 PRAKTIČNI DEL

3.1 Organigram poskusa



Organigram 1. Načrt praktičnega dela (laboratorijski del)

3.2 Kemikalije in pripomočki

- Etanol, 98% (Riedel-de Haën)
- H_2SO_4 , konc. (Riedel-de Haën)
- $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, p.a. (Riedel-de Haën)
- NaHCO_3 , p.s (Sigma Aldrich)
- 30 % HCl (Riedel-de Haën)
- indikator metiloranž

- moder lakmusov papir
- Deionizirana voda (<2 $\mu\text{S}/\text{cm}$), šolski laboratorij
- Myrkl® kapsule
- Merilne bučke različnih prostornin
- Steklene palčke
- epruvete in stojala za epruvete
- balončki
- Pasteurjeve pipete, 3,00 mL ($\pm 0,05$ mL)
- trske in vžigalice
- merilne pipete (5 mL)
- tehtnica, Kern ($\pm 0,001$ g)

3.3 Praktično delo

3.3.1 Priprava raztopin

Naprej smo si pripravili kislno raztopino kalijevega dikromata, ki je zahtevala pripravo 5 M raztopine žveplove(VI) kisline in pripravo 0,1 M raztopino kalijevega dikromata. Obe raztopini smo nato zmešali v razmerju 2 : 1.

Priprava raztopine žveplove(VI) kisline, 5 M H_2SO_4

$w(\text{H}_2\text{SO}_4) = 96\%$

$\rho_r = 1,18 \text{ g/mL}$

Izračun:
$$V_r = \frac{c \times M \times V}{\rho \times w} = \frac{5 \text{ mol} \times 98 \text{ g} \times 0,25 \text{ L} \times \text{mL}}{\text{L} \times \text{mol} \times 1,18 \text{ g} \times 0,96} = \mathbf{108,1 \text{ mL}}$$

V 250 mL merilno bučko smo nalili cca 100 mL deionizirane vode in nato previdno dolivali konc. H_2SO_4 . Reakcija je močno eksotermna, zato smo merilno bučko vmes hladili pod tekočo vodo. Na koncu smo do oznake na vratu merilne bučke dolili še deionizirano vodo.

Priprava raztopine kalijevega dikromata, 0,1 M $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

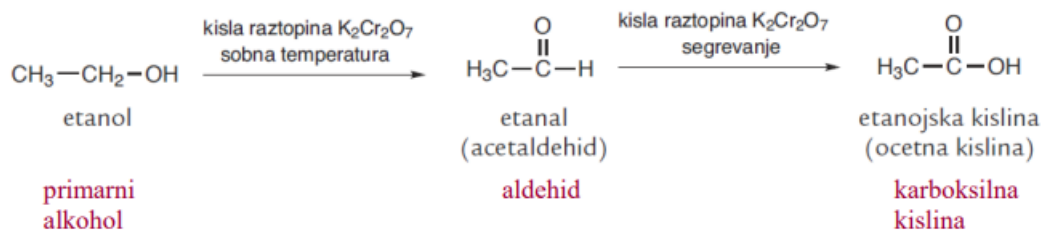
Izračun:

$$c = \frac{n}{V} = \frac{m}{M \times V} \rightarrow m(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) = c \times M \times V = 0,1 \frac{\text{mol}}{\text{l}} \times 295,84 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 0,100 \text{ L} = \mathbf{2,95 \text{ g}}$$

2,95 g kalijevega dikromata smo zatehtali v 100 mL merilno bučko, raztopili v 20 mL deionizirane vode, dobro premešali in do oznake na vratu 100 mL merilne bučke dolijli deionizirano vodo.

Nato smo s 50 mL polnilno pipeto v 250 mL bučko odmerili 2 x 50 mL 5M H₂SO₄ in z drugo merilno pipeto dodali še 50 mL 0,1 M K₂Cr₂O₇. Vse skupaj smo dobro premešali in tako pripravili reagent, intenzivne oranžne barve.

3.3.2 Oksidacija etanola v s kislom raztopino K₂Cr₂O₇ v kislem mediju



Slika 6. Oksidacija etanola

S segrevanjem aldehida in kisle raztopine kalijevega dikromata reakcijo nekoliko pospešimo. Pri sobni temperaturi prav tako poteče, le počasneje.

3.4 Meritve in rezultati meritev

V dve ločeni epruveti smo s pomočjo merilne pipete odmerili 5 mL etanola in dodali 1 mL kisle raztopine kalijevega dikromata. Opažanja smo zapisali v preglednico 2.

Preglednica 2. Dodatek K₂Cr₂O₇/H⁺(aq) etanolu in kontroli

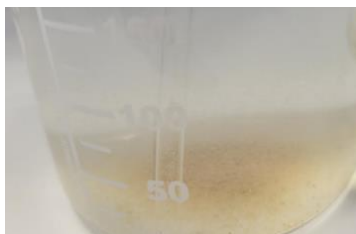
Snov	opažanja	razlaga
Deionizirana voda (slepi vzorec)	Oranžna barva K ₂ Cr ₂ O ₇ /H ⁺ (aq) se je nekoliko posvetlila.	Sprememba odtenka barve je povezana z razredčenjem raztopine.
Etanol	Oranžna barva K ₂ Cr ₂ O ₇ /H ⁺ (aq) se v manj kot 1 min spremenila v zelenomodro.	Potekla je reakcija oksidacije etanola.



Slika 7. Reakcija etanola z dikromatnimi ioni z etanolom (levo) ter z deionizirano vodo (desno)

3.4.1. Reakcija Myrkl® z vodo in etanolom

Vzeli smo eno kapsulo Myrkl®, ji dolili 250 mL deionizirane vode, zmes dobro premešali in dobili heterogeno zmes, v kateri so plavali posamezni rjavi delci, ki so se sčasoma posedli na dno (fermentirani riževi otrobi).



Slika 8. Raztopina Myrkl®

Preglednica 3. Dodatek Myrkl® etanolu in destilirani vodi

Snov	Opažanja	Razlaga
Deionizirana voda (slepi vzorec) + Myrkl®	Heterogena raztopina rjavih delcev	Myrkl® kapsula je heterogena zmes <i>L</i> -cisteina (aminokislina), vitamina B12 in mikroorganizmov. Vitamin B12 je v vodi dobro topen ² . Aminokislina <i>L</i> -cistein je nepolarne narave in je zato hidrofobne aminokislina ³ . Pomožne snovi, prisotne v Myrkl kapsuli, so v vodi slabo topne, z izjemo kalijevega fosfata(V).
Raztopina etanola + Myrkl®	Opažimo izhajanje mehurčkov (slika 9). Z gorečo trsko smo se približali epruveti in goreča trska je takoj ugasnila.	Poteče kemijska reakcija. Sprošča se CO ₂ , saj goreča trska takoj ugasne.

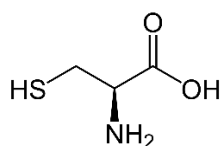
² Podatek smo preverili na : <https://www.nutris.org/prehrana/abc-prehrane/vitamini/123-vitamin-b12.html> (povzeto 3.1. 2024)

³ Podatek smo pridobili iz: UPAC-IUBMB Joint Commission on Biochemical Nomenclature. »Nomenclature and Symbolism for Amino Acids and Peptides«. Recommendations on Organic & Biochemical Nomenclature, Symbols & Terminology etc. Pridobljeno 7. 1. 2024.



Slika 9. Reakcija Myrkl® in etanol

L-cistein ima strukturno formulo prikazano na sliki 10. Vsebuje hidrogensulfidno, *-HS*, funkcionalno skupino, ki ga dela manj polarnega. Ta funkcionalna skupina je zelo dovzetna za oksidacijo.



Slika 10. Strukturna formula *L* – cisteina

O tem smo se prepričali tudi sami. V nadaljevanju smo s pipeto v epruveto nalili 2 mL heterogene raztopine Myrkl® in ji dodali 0,5 mL 0,1M raztopine $K_2Cr_2O_7$. Po 15 minutah smo opazili, da je v epruveti z raztopino Myrkla in $K_2Cr_2O_7$ prešlo iz oranžne v svetlo zeleno barvo, iz česar lahko sklepamo, da je prišlo do oksidacije *L*-cisteina. Oksidacija je bila precej počasnejša kot oksidacija etanola. Pri tem iz dveh cisteinov nastane disulfidni derivat cistin, ki igra pomembno strukturno vlogo v mnogih proteinih³.



Slika 11. Reakcija vodne raztopne Myrkla s kislno raztopno kalijevega dikromata(VI) (levo pred reakcijo in desno po reakciji).

3.4.2 Merjenje pH nastalega produkta

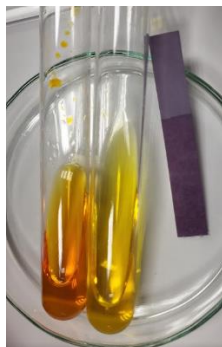
V ločene epruvete smo odmerili 2 mL vode, 2 mL etanola, 2 mL vodne raztopine Myrkl® in s pomočjo modrega lakmus papirja ter kasneje indikatorja metiloranža določili pH raztopin. Rezultate smo vpisali v preglednico 4.

Preglednica 4. pH raztopin, ki smo jih preiskovali

Preiskovana raztopina	Moder lakmusov papir	Metiloranž	pH
Destilirana voda (slepi vzorec)	Ni sprememb	Svetlo oranžna barva	~7
Etanol	Ni sprememb	Svetlo oranžna barva	~7
Produkt oksidacije etanola z dikromatom	Rdeča barva	Rdeča barva	< 7
Vodna raztopina Myrkl®	Ni sprememb	Svetlo oranžna barva	~7
Produkt reakcije Myrkl® in etanol	Ni sprememb	Rumena barva	>7

Pri reakciji etanola z dikromatnimi(VI) ioni smo pričakovali nastanek kisline, zato je bila reakcija obeh indikatorjev pričakovana.

Pri reakciji Myrkl® raztopine in etanola pa je končna raztopina imela bazičen pH. Ker ima metiloranž preskok barve med 3.1 – 4.4 (iz rdeče preko oranžne v rumeno) bi lahko bil končni produkt tudi rahlo kisel, vendar moder lakmusov papir ni spremenil barve, kar pomeni, da je končni produkt oksidacije etanola z mikroorganizmi dejansko bazičen. K temu bi lahko prispevale tudi pomožne snovi v kapsuli, ki so v vodi topne, kot je kalijev fosfat (K_3PO_4).



Slika 12. pH produkta med Myrkl® in etanolom. Moder lakmusov papir ostane moder; reakcija z indikatorjem metiloranžem pokaže rumeno obarvanje; kontrolna epruveta je oranžne barve.

3.4.3 Dokaz produkta reakcije med etanolom in dikromatom ter raztopino Myrkl®

V ločene petrijevke smo s pomočjo merilne pipete odmerili 5 mL vode, dodali 5 mL produkta oksidacije etanola z dikromatom in 5 mL produkta reakcije med Myrkl® in etanolom. V vsako petrijevko smo dodali

cca. 0,2 g NaHCO_3 , ki se uporablja kot dokaz za prisotnost organskih kislin. Rezultati so vpisani v preglednici 5.

Preglednica 5. Dokaz produkta reakcije med etanolom in NaHCO_3

Snov	Opazanja	Razlaga
Destilirana voda (slepi vzorec)	Ni reakcije	-
Etanol	Ni reakcije	-
Produkt oksidacije etanola z dikromatnimi ioni	Burna reakcija in močno penjenje	Dokaz nastanka etanojske kisline
Vodna raztopina Myrkl®	Ni reakcije	-
Produkt reakcije Myrkl® z etanolom	Ni reakcije	-



Slika 13. Reakcija med NaHCO_3 in produktom oksidacije etanola s $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{H}^+$



Slika 14. Primerjava med reakcijo z NaHCO_3 pri oksidaciji etanola z dikromatnimi ioni (levo) in produktu reakcije etanola z Myrkl® (desno)

Zaključili smo, da je produkt reakcije dikromatih ionov in etanola bila etanojska kislina. Produkt reakcije med Myrkl® in etanolom ni bila karboksilna kislina, penjenja nismo opazili. Na tej predpostavki smo izvedli še zadnji poskus – določitev prostornine etanola, ki jo lahko »predela« ena kapsula Myrkl®.

3.4.4 Določitev količine etanola, ki jo lahko presnovijo mikroorganizmi ene kapsule Myrkl®

Vzeli smo dve epruveti in v vsako dodali 16 mL deionizirane vode, 0,5 mL 30% HCl (simulacija pH želodčne kisline). Nato smo v obe epruveti dodali 1,0 mL etanola. Epruveti št. 2 smo dodali še vsebino ene, predhodno stehtane, vsebine kapsule Myrkl in na ustje obeh epruвет takoj namestili balonček.

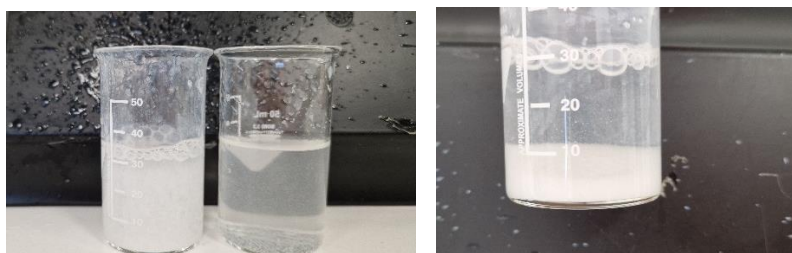
Plin, ujet balončku, kjer so bili mikroorganizmi Myrkl®, smo uvedli v raztopino 10 mL predhodno pripravljene 0,05 M baritovice, $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Dobili smo belo oborino (slika 16).

$m(\text{vsebina Myrkl}^\circ \text{ kapsule}) = 0,640 \text{ g } (\pm 0,001 \text{ g})$

$V(\text{plina}) = 50,0 \text{ mL } (\pm 0,05 \text{ mL})$



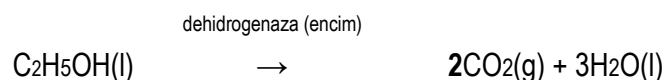
Slika 15. Kvantitativni poskus – količina sproščenega CO_2 ob dodatku etanola (levo pred dodatkom Myrkl® mikroorganizmov in desno po dodatku)



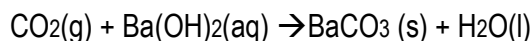
Slika 16. Reakcija baritovice, $\text{Ba}(\text{OH})_2$, z ujetim plinom (CO_2) in nastanek oborine BaCO_3 (levo)

V epruveti kjer mikroorganizmov Myrkl® ni bilo, se ni zgodilo nič (slika 15, balonček se ni naplnil s plinom).

Reakcije:



$$n(\text{CO}_2) = 2n(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})$$



$$n(\text{CO}_2) = n(\text{BaCO}_3)$$

Izračuni:

1. Izračun začetne mase etanola.

$$V_r(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 1,00 \text{ mL}$$

$$w(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 100 \%$$

$$\rho_r(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 0,79 \text{ g/mL}$$

$$w(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = \frac{m(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})}{m_r}$$

$$m(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = w \times m_r = w \times \rho_r \times V_r = 1 \times 0,79 \text{ g/mL} \times 1,00 \text{ mL} = \mathbf{0,79 \text{ g}}$$

$$n(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = \frac{m(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})}{M(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})} = \frac{0,79 \text{ g}}{46 \text{ g/mol}} = \mathbf{0,0172 \text{ mol}}$$

V epruveti je bilo pred reakcijo 0,0172 mol etanola.

2. Izračun masa nastalega barijevega karbonata, BaCO₃.

Ko smo vsebino balončka stisnili v čašo, kjer je bila raztopina Ba(OH)₂, je nastala najprej motna raztopina, delci barijevega karbonata pa so se po 5 min vsedli na dno čaše. Vsebino smo prefiltrirali na stehtan filter papir, počakali, da se je BaCO₃ na filter papirju posušil in vse skupaj ponovno stehtali.

Rezultati meritev

- $m(\text{filter papir}) = 0,990 \text{ g} (\pm 0,001 \text{ g})$
- $m(\text{filter papir} + \text{oborina}) = 1,703 \text{ g} (\pm 0,001 \text{ g})$
- $m(\text{oborine}) = \mathbf{0,713 \text{ g} (\pm 0,001 \text{ g})}$



Slika 17. Nastanek oborine BaCO_3

3. Izračun mase etanola, ki se je oksidiral

$$n(\text{BaCO}_3) = \frac{m(\text{BaCO}_3)}{M(\text{BaCO}_3)} = \frac{0,713 \text{ g}}{171,34 \text{ g/mol}} = 0,00416 \text{ mol}$$

$$n(\text{BaCO}_3) = n(\text{CO}_2) = 2n(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}) = 0,00823 \text{ mol}$$

$$m(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = n \times M = 0,00823 \text{ mol} \times 46 \text{ g/mol} = \mathbf{0,382 \text{ g}}$$

Izločena oborina barijevega karbonata nakazuje, da je v reakciji z Myrkl® nastalo 0,00416 mol ogljikovega dioksida, kar bi preračunano v množino etanola predstavljalo 0,00823 mol etanola ali 0,382 g etanola, kar predstavlja 48 % začetne množine oz. mase etanola (0,79 g).

3.5 Zaključki laboratorijskih poskusov

Na osnovi predstavljenih rezultatov meritev smo postavili naslednje zaključke.

1. V reakciji z Myrkl® in etanola ni reagirala celotna množina etanola, ker:

- a) nismo omogočili dovolj dobrega mešanja med reagenti,
- b) je bila temperatura raztopine prenizka in se mikroorganizmi niso v celoti aktivirali,
- c) pride do zasičenosti encimov dehidrogenaz,
- d) pride do sproščanja snovi, ki onemogočijo nadaljnjo razgradnjo etanola.

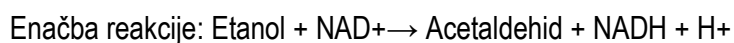
Heine s sod. (2020) pravi, da je večina bakterij rodu *Bacillus* termofilnih, torej imajo rade visoke temperature in najbolje rastejo pri temperaturah nad 45°C, vendar so tudi termotolerantne, kar pomeni,

da lahko delujejo tudi pri $T=18\text{ }^{\circ}\text{C}$, kolikor je imela zmes, v kateri je potekala reakcija. Reakcija bi torej morala potekati, četudi nismo mešali ali segrevali raztopine, vendar počasneje. Zato smo predvideli, da je število aktivnih mest v dehidrogenazah omejeno in več kot 0,382 g etanola vsebina ene kapsule (0,640 g) ni mogla presnoviti do CO_2 .

Ta del poskusa bi lahko nadgradili z izvedbo poskusa na način, da bi se zmes ves čas mešali in jo ogreli na $45\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2. V reakciji med Myrkl® in etanolom se le del etanola razgradi do ogljikovega dioksida, deloma pa nastane druga organska snov, ki ima bazične lastnosti. Ker druge organske snovi kot je etanol ni bilo v začetni raztopini, bi to lahko bili le acetat ali etanal. Ker pa so v raztopini bili tudi magnezijevi in kalijevi ioni, smo predpostavili, da so acetati delovali bazično.

V številnih člankih smo lahko prebrali, da reakcija mikroorganizmov v Myrkl® kapsuli in etanolom nastane etanal (acetaldehid). Pri reakciji se hkrati reducira koencim nikotinamid (NAD^+) do NADH .



Šol. laboratorij ne omogoča določanje ali razlikovanje med zgoraj naštetimi presnovnimi produkti, bi bilo pa zanimivo ugotoviti ali je ta »stranski« produkt res aldehyd. Slednje bi bilo smiselno preučiti tudi zaradi tega, ker študija, ki smo jo opisali v poglavju 2.3.1, ni ponudila nobenih informacij na tem področju.

3. Prostornina etanola, uporabljena v reakciji z Myrkl® mikroorganizmi, je bila prevelika in mikroorganizmi etanola niso mogli v celoti predelati. V študiji, ki je opisana v poglavju 2.3.1 je kot vir etanola bila uporabljena 40% vodka. Količina je bila majhna - 0,3 dcl/kg. Ta se je v kombinaciji z želodčno raztopino razredčila, deloma pa se je alkohol absorbiral že v sluznici dihal. V naši raziskavi smo uporabili čisti alkohol, ki smo ga sicer dolili v 16 mL deionizirane vode, kar pomeni, da je bila končna koncentracija okoli 6 %, vendar je, v celoti gledano, predstavljala večjo koncentracijo, kot je bila uporabljena v omenjeni študiji.

Ker so v študiji, kjer so udeleženci popili 0,3 g 40% alkohola na kg telesne mase, 58% testirancem, v treh urah po zaužitju alkohola, še lahko izmerili količino alkohola v krvi, predvidevamo, da Myrkl® ne zmore v celoti presnoviti večjih količin alkohola naenkrat, vendar to zagotovo ni odvisno samo od mikroorganizmov v Myrkl® kapsulah, ampak številnih drugih fizioloških dejavnikov; verjetno tudi temperature pri kateri se razgradnja dogaja. V telesu je temperatura $37\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Na tej osnovi smo zaključili naslednje:

1. V kolikor želimo, da do razgradnje etanola pride v želodcu, morajo mikroorganizmi za razgradnjo alkohola, pred pitjem alkohola, že biti v želodcu.
2. Za zmanjšanje opitosti je Myrkl® kapsule potrebo uživamo tudi v času, ko uživamo alkohol. Kako pogosto in koliko, glede na popito količino alkohola, pa v tej raziskavi nismo ugotavljali.
3. Pri vnosu Myrkl® kapsul previdnost ni odveč, saj ne vemo ali nastajajo pri razgradnji tudi kakšni stranski produkti, ki so lahko še bolj toksični kot je alkohol sam.

Rezultati meritev, ki smo jih dobili se zdijo smiselni, čeprav smo pri delu uporabili zelo enostavne pristope. V študiji, ki je opisana v poglavju 2.3.1 so vsi udeleženci Myrkl® uživali teden dni pred zaužitjem manjših količin alkohola. Količine alkohola, ki so jih zaužili so bile tako majhne, da pri večini testirancev ni prišlo do učinka na kognitivnih funkcijah, vendar so pri več kot 50% testirancev eno uro po zaužitju izmerili prisotnost alkohola v krvi. Zato lahko sklepamo, da razgradnja alkohola v CO₂ in vodo ni bila popolna. Razlogi so lahko različni in v razpravi smo jih nekaj našeli. Po 3. urah (180 min) nobeden od testirancev ni imel več alkohola v krvi, kar pomeni, da so tudi jetrni encimi opravili svoje delo. Zato predvidevamo, da je nasičenost encimov (dehidrogenaz) tista, ki odigra glavno vlogo. Ko so v encimih vsa aktivna mesta zasedena z substratom (alkoholom), encimi ne morejo delovati več niti hitreje. Hitrost reakcije je odvisna samo od koncentracije encima, ne pa tudi od koncentracije substrata. Da je tudi pri Myrkl® kapsulah to lahko razlog zakaj se v 10 min ni sprostilo več CO₂, smo preverili tako, da smo poskus, ki je opisan pod 3.4.4 ponovili, vendar tokrat dodali 2 mL etanola. Reakcija ni bila hitrejša kot pri 1 mL dodanega etanola. Hitrost reakcije bi lahko povečali samo, če bi dodali več Myrkl® mikroorganizmov, ali spremenili druge pogoje te reakcije, kot je temperatura.

In slednje je izziv za naše nadaljnje delo. Ob vstopu v tanko črevo se pH hitro spremeni iz izrazito kislega, preko nevtralnega v rahlo bazičnega. Kaj se zgodi z encimi Myrkl® mikroorganizmov in razgradnjo alkohola v teh pogojih? Poskus bi lahko nadgradili tudi z uporabo alkoholnih pijač, ki so med mladimi popularne – pivo, vino, koktajli itd.

Za bolj natančno merjene količine CO₂ bi lahko uporabili presesalno bučo, ki je prikazana na sliki 18.



Slika 18. Presesalna buča za uvajanje CO₂ v baritovico

3.6 Anketa

Z anketo sva želela pridobiti podatke o pogostosti uživanja alkohola:

- a) med mladimi od 13- 15 let,
- b) starejšimi od 15 let.

Želela sva tudi pridobiti informacije o:

- a) interesu uporabe Myrkl® kapsul med rednimi ali občasnimi uživalci alkohola in
- b) poznavanje Mrkly® kapsul v različnih generacijah.

Ankete sva **fizično** razdelila med anketirance, saj je v času izvajanja najine raziskave krožilo zelo veliko elektronskih anket in zato sva imela pomislek kako resno bodo anketiranci te ankete reševali. Analiza rezultatov ankete nama je zato vzela nekaj več časa, vendar predvidevava, da so rezultati zato bolj zanesljivi. Prazna anketa je dodana kot priloga 1.

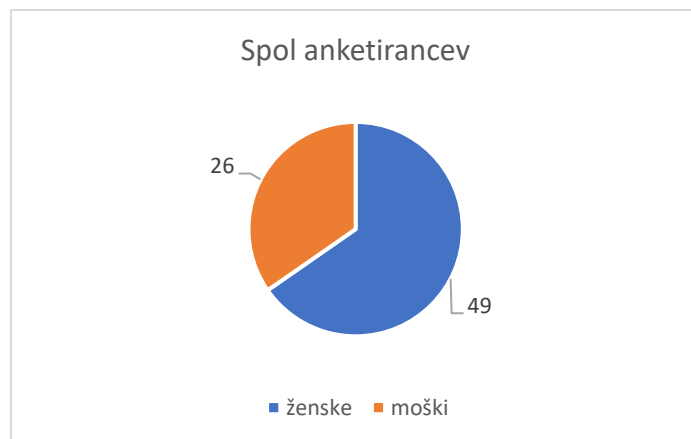
Ankete sva razdelila po naslednji shemi.

- 35 anket sva razdelila med najine sošolce (14 do 15 let) in prejela popolno rešenih le 23.
- 35 anket sva razdelila med mlade od 16 do 25 let in dobila popolno rešenih le 5 anket.
- 54 anket sva razdelila med zaposlene na OŠ Kungota (26 do 61 let) in dobila popolno rešenih 47 anket.

Skupaj sva razdelila 124 anket in dobila nazaj rešenih 75 anket ali 60,5 %. Ker so bili anketiranci po starostnih skupinah zelo neenakomerno razporejeni, rezultat ankete podajava primerjalno in sicer - mladi do 15 let in starejši od 15 let.

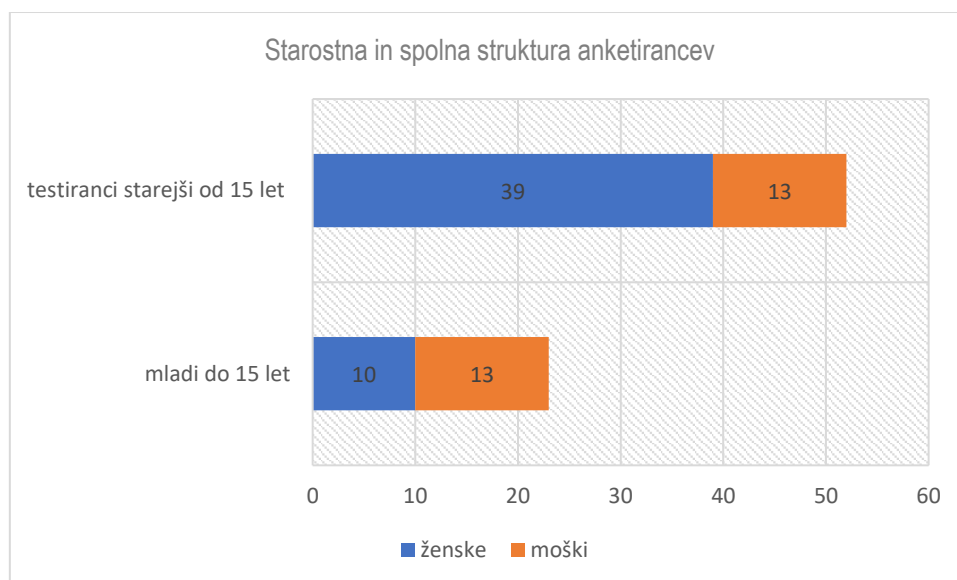
3.6.1 Rezultati ankete

Kot vidimo iz grafa 4, med anketiranci prevladujejo ženske, kar je razumljivo, saj med strokovnimi delavci šole prevladujejo ženske.



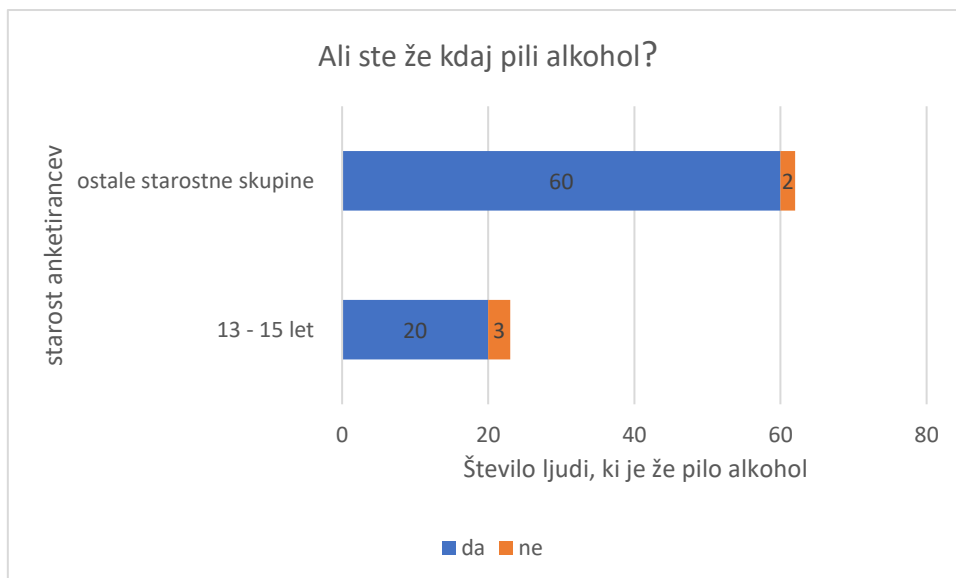
Graf 4. Anketiranci po spolu (skupaj za vse starostne skupine)

Med anketiranci, ki so v celoti izpolnili anketo je delež mladih do 15 let 30,6 %. Ti so spolno uravnoteženi (13 fantov in 10 deklic) (graf 5).



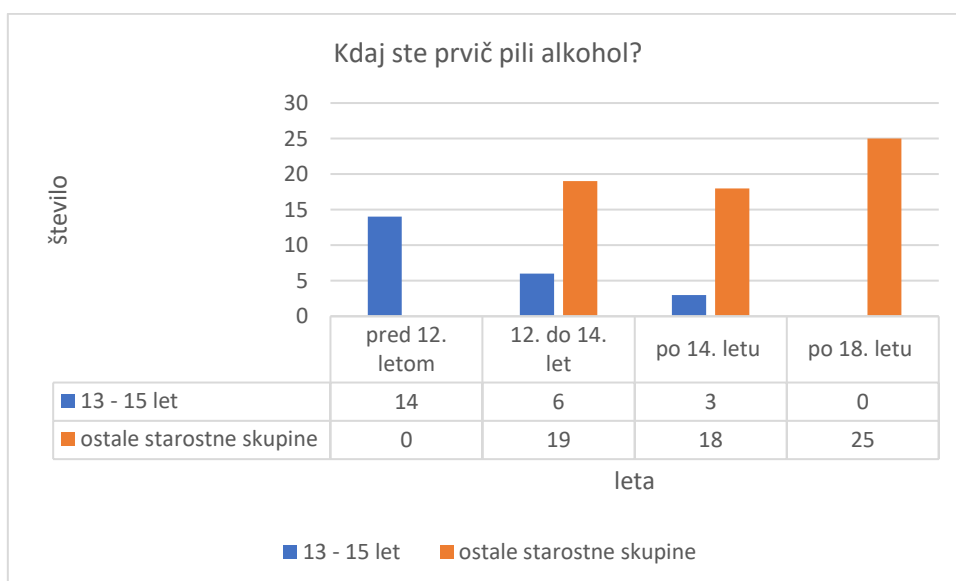
Graf 5. Anketiranci po letih starosti in spolu

Anketirance smo vprašali ali so že kdaj pili alkohol. Na osnovi rezultatov na grafu 6 vidimo, da velikih razlik med zelo mladimi in starejšimi ni. 87 % mladostnikov do 15 let je že uživalo alkohol, pri starejših je delež 97%.



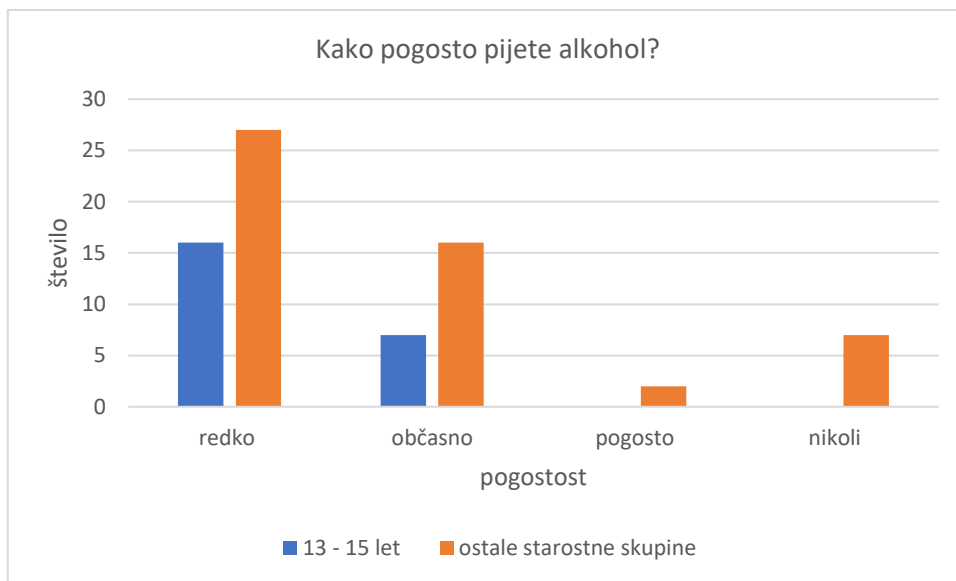
Graf 6. Pitje alkohola med anketiranci

Iz grafa 7 z vidimo, da se starostna meja pitja alkohola pomika navzdol. Glavnina generacije učiteljev je s pitjem začela okoli po 18. letu, današnji mladostniki do 15 let pa z občasnim uživanjem alkohola začenjajo pred 12. letom.



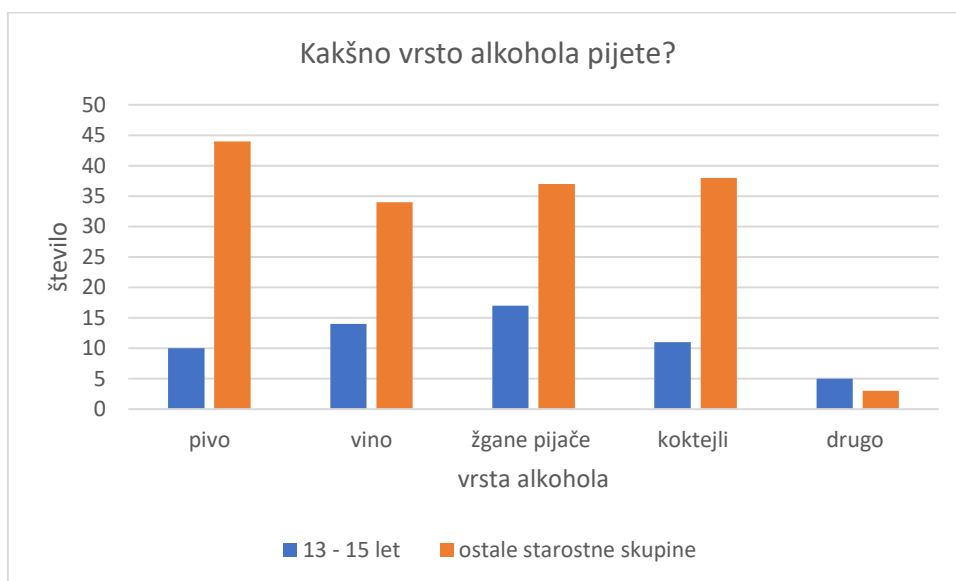
Graf 7. Kdaj so anketiranci prvič poskusili alkohol

Na vprašanje kako pogosto anketiranci pijejo alkohol, ugotavljamo, da je to redko in občasno. Med najinimi vrstniki prevladuje odgovor redko.



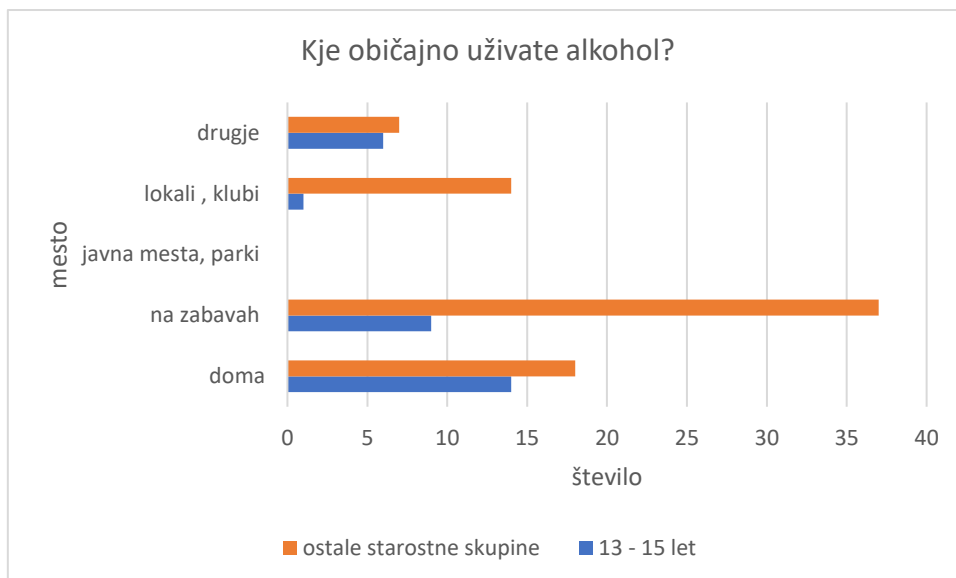
Graf 8. Kako pogosto najmlajši anketiranci pijejo alkohol

Med alkoholnimi napitki prevladujejo pri najmlajših žgane pijače, sledi vino, koktejli in pivo. Med starejšimi sta v ospredju vino in pivo, žgane pijače so na 3. mestu.



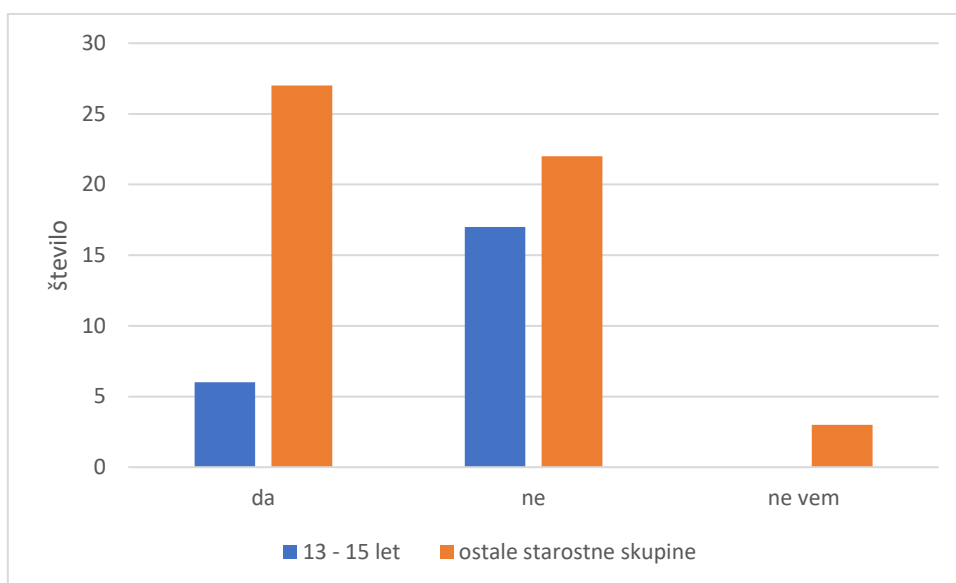
Graf 9. Kakšno vrsto alkohola pijete/ste poskusili?

Sledilo je vprašanje, kje anketiranci običajno pijejo alkohol? Iz grafa 10 vidimo, da najmlajši anketiranci večino alkohol uživajo doma, nekaj manj na zabavah. Starejši večinoma uživajo alkohol na zabavah.



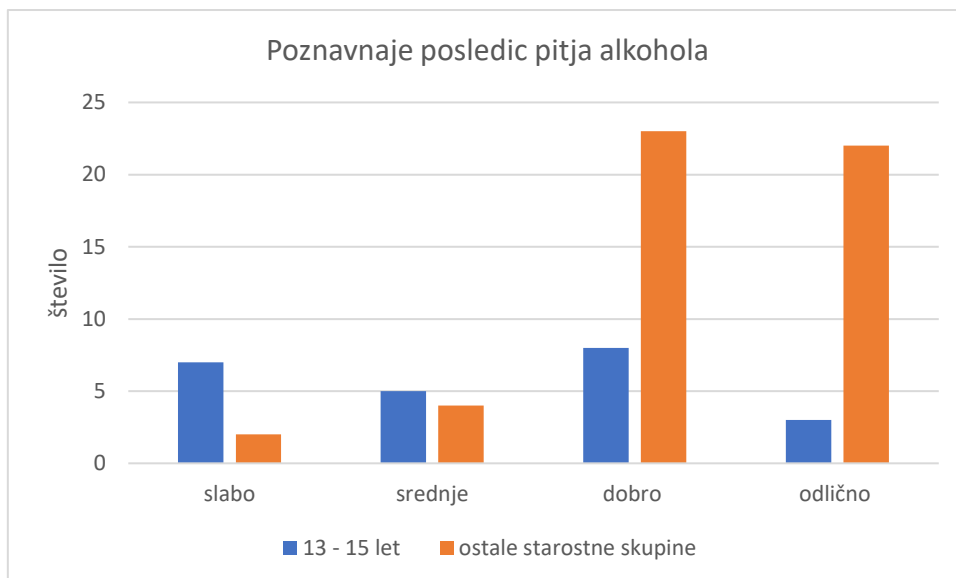
Graf 10. Mesto uživanja alkohola

Ali so med anketiranci kakšni pomisleki glede uživanja alkohola? Iz grafa 11 vidimo, da med najmlajšimi prevladujejo tisti, ki pomislekov nimajo, s starostjo pa je teh pomislekov vedno več.



Graf 11. Ali imajo anketiranci pomisleke glede pitja alkohola?

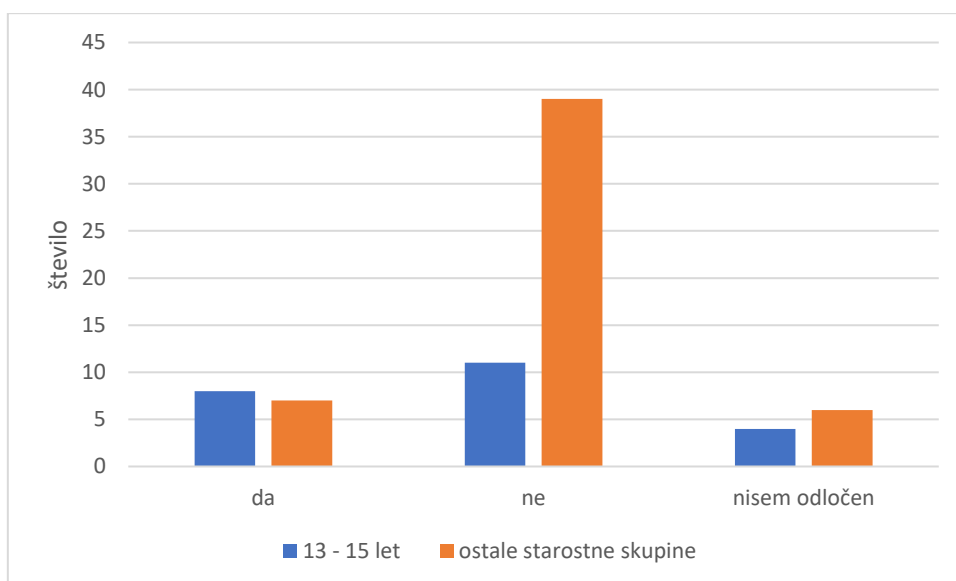
Sledilo je vprašanje glede poznavanja posledic pitja alkohola. Iz grafa 12 vidimo, da najmlajši niso povsem prepričani ali posledice pitja alkohola res poznajo. Starejši menijo, da jih poznajo vsaj dobro, če že ne odlično.



Graf 12. Poznavanje posledic pitja alkohola

Na vprašanje ali bi bilo bolje, če bi se izognili pitju alkohola, v vseh starostnih strukturah prevladujejo odgovori da. Neodločenih je najmanj. Ko smo jih vprašali zakaj pravzaprav sploh pijejo alkohol, je prevladal odgovor za sprostitev v družbi (najmlajši) in pri starejših - ker je lepa dopolnitev k okusom hrane. Najstarejši anketiranci menijo, da alkohol ne spada med droge.

Sledilo je vprašanje ali bi »tabletk« za absorbcijo in hitro razgradnjo alkohola, pomenila, da bi pili več alkohola, smo samo med najmlajšimi anketiranci zabeležili dva odgovora, da bili pili še več. Večina je odgovorila, da to na njihovo uživanje alkohola ne bi vplivalo. Na vprašanje ali bi takšno »tableto« za absorbcijo zaužili, smo dobili naslednjo distribucijo odgovorov.



Graf 13. Uživanje »tabletk« za hitro razgradnjo alkohola

Med najmlajšimi je največ zanimanja za tovrstno »inovacijo« (35% anketirancev je odgovorilo z DA in 4, ki niso odločeni), med starejšimi je zanimanja manj- 13%).

4 ZAKLJUČKI

Z raziskovalno nalogo sva želela preučiti delovanje Myrkl® kapsul, ki so prisotne na slovenskem trgu kot prehransko dopolnilo, ki vsebujejo tudi vitamin B₁₂, ima pozitivno vlogo pri delovanju imunskega sistema, prispeva k delovanju živčnega sistema in pri presnovi ter prispeva k normalnemu psihološkemu delovanju. Poleg vitamina B₁₂ so v kapsuli prisotni še *Bacillus Subtilis* in *Bacillus Coagulans* ter fermentirani riževi otrobi. Prisotni mikroorganizmi lahko, kot prehranski substrat, uporabijo alkohol in zanimalo naju je kako učinkoviti so pri tem. Pri tem sva kot izhodišče vzela študijo, ki so jo proizvajalci Myrkl® prehranskega dopolnila opravili, predno se je prehransko dopolnilo pojavilo na trgu.

Preko lab. poskusov sva ugotovila, da se 1 mL etanola v prisotnosti ene kapsule Myrkl® mikroorganizmov (0,640g) v 48 % razgradi v CO₂, preostanek je verjetno acetat, vendar tega nismo potrdili. Ker smo zaradi skromnosti opreme šol. laboratorija bili omejeni z opremo, dopuščamo, da je ta odstotek tudi višji, zagotovo pa je razgradnja v želodcu omejena. Slednje potrjuje tudi raziskava, ki so jo opravili Pfurtner in sod. (2022). Kljub enotedenskemu uživanju štirih Myrkl® kapsul dnevno, sedem dni pred zaužitjem alkohola, so raziskovalci pri 58% testirancih, eno uro po zaužitju, izmerili vsebnost alkohola v krvi. Oblikovali smo zaključek, da je število encimov (dehidrogenaz) v Myrkl® mikroorganizmih omejeno, oz. da se aktivna mesta hitro zasedejo in povečanje substrata (alkohola) ne pomeni večjo hitrost ali razgradnjo večje količine alkohola.

S primerjalnimi poskusi smo dokazali, da reakcija oksidacije poteka po drugačnem mehanizmu, kot je reakcija s kislino raztopino dikromata.

Nastanek CO₂ pri delovanju Myrkl® mikroorganizmov smo dokazali na dva načina:

1. Goreča trska je ugasnila.
2. CO₂ je reagiral z Ba(OH)₂, pri čemer je nastala bela oborina BaCO₃. Preko nastale oborine smo izračunali količino CO₂, ki se sprostila. To reakcijo bi lahko optimizirali tudi s spremembo izvedbe poskusa, saj bi CO₂ lahko direktno uvajali v raztopino Ba(OH)₂. Z balončkom je bilo nekoliko nerodno, vendar uspešno.

Sam pristop k preizkušanju delovanja Myrkl® kapsul bi lahko izboljšali še s:

- kontrolo temperature,
- spremljanjem spremembe pH med izvedbo reakcije z uporabo pH metra,
- konstantnim mešanjem zmesi (etanol – Myrkl® - voda – HCl)
- uporabo alkoholnih pijač, ki se najpogosteje uživajo (npr. pivo, vino).

V drugem delu sva med sošolci, zaposlenimi na OŠ Kungota in drugimi, izvedla anketo o uživanju alkohola, odnosu do tega ter potencialni uporabi Myrkl® kapsul v vsakdanjem življenju. Izhajala sva iz predpostavke, da je uživanje alkohola v slovenski družbi problem, saj je alkoholizem socialni in ekonomski problem. V anketi so 30,6 % vseh anketirancev predstavljali najini sošolci, torej mladostniki stari med 13 in 15 let. Njihove odgovore sva primerjali s starejšimi anketiranci. Ker je bilo število oddanih anket majhno ($N=76$), rezultat ankete razumeva kot študijo primera naše šole in nikakor ne kot rezultate, ki predstavljali reprezentativni vzorec naše družbe.

Ugotavljava, da je 87 % devetošolcev že uživalo alkohol in več kot polovica jih je prvič uživala alkohol pred svojim 12. letom, kar ne velja za starejše anketirance, ki so se v poprečju prvič srečali z alkoholom po 18. letu⁴. Vesela sva dejstva, da uživanje alkohola med najinimi vrstniki ni pogosto, saj jih večina pije redko, vendar med alkoholnimi pijačami prevladujejo žgane pijače. Večina jih alkohol pije doma ali na zabavah, redko ali nikoli na javnih mestih ali klubih. Žal je med mladimi manj pomislekov glede pitja alkohola kot pri starejših, čeprav priznavajo, da posledic pitja alkohola ne poznajo dobro. Vrstniki pijejo alkohol za sprostitev v družbi in v kolikor bi imeli dostop do »tabletk« za absorbcijo in hitro razgradnjo alkohola, so najini vrstniki edina skupina anketirancev, ki je odgovorila, da bi verjetno pili še več oz. je med njimi 35 % takšnih, ki bi jo preizkusili. Starejši anketiranci so se do tega opredelili odklonilno, le 13% bi jo tudi preizkusilo.

Na osnovi tega zaključujeva, da oglaševanje Myrkl® kapsul v kontekstu razgradnje alkohola, zagotovo ni rešitev za prekomerno uživanje alkohola, dejstvo pa je, da ga mikroorganizmi v določenem deležu razgradijo (cca. 48%). Ker gre za mikroorganizme, katerih delovanje strokovna javnost sicer pozna, vendar pa vseh odgovor še nima, meniva, da previdnost pri uporabi Myrkl® kapsul ni odveč. Mladi tovrstnih prehranskih dopolnil, ob uravnoteženi dnevni prehrani in dovolj gibanja, zagotovo ne potrebujemo. Nalogo nisva izpeljala z namenom »inovacije za manjšo opitost mladih«, ampak zaradi dejstva, da so Myrkl® kapsule lahko dostopne in že razširjene med mladimi.

Nalogo zaključujeva s citatom L. Pasteura, francoskega kemika in mikrobiologa, ki je živel od leta 1822 do leta 1895. Pasteur je znan po številnih pomembnih prispevkih k znanosti, zlasti na področju

⁴ Poprečna starost učiteljev na naši šoli je 45 let (opomba avtorjev)

mikrobiologije, sterilizacije, fermentacije in razvoja cepiv. Dejal je: "Gospodje, mikrobi⁵ bodo imeli zadnjo besedo glede človekovega zdravja." Glede na to, kaj vse se nam dogaja v zadnjih letih, vključno s Covid-19 pandemijo, se avtorja te naloge se z g. Pasteurjem zelo strinja!

⁵ Beseda "mikrob" izvira iz grških besed "*mikros*", kar pomeni "majhen", in "*bios*", kar pomeni "življenje". Mikrob je torej majhen organizem, ki ga ni mogoče videti s prostim očesom in je pogosto enoceličen. Mikrobi lahko vključujejo bakterije, arheje, glive, protozoe in viruse.

5 VIRI

- 1) Braitman, A.L., Linden-Carmichael, A.N., Henson, J.M. (2017). Protective behavioral strategies as a context-specific mediator: A multilevel examination of within- and between-person associations of daily drinking. *Exp Clin Psychopharmacol*; 25 :str.141-155.
- 2) Choi, N.G., Marti, C.N., DiNitto, D.M., Choi, B.Y. (2015). Alcohol use as risk factors for older adults' emergency department visits: A Latent Class analysis. *West J Emerg Med*. 2015;16:str. 1146-1158.
- 3) Edenberg, H.J. The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants. *Alcohol Res Health*.;30: str. 5-13.
- 4) Filipovič, I., Lipanovič, S. Opća I Anorganska Kemija, II Deo., 9ed, 1995. Dostopno na: <https://www.scribd.com/document/474998211/Filipovi%C4%87-Lipanovi%C4%87-Op%C4%87a-i-anorganska-kemija-ii-deo-9ed-1995-pdf> Uporabljeno 4. 1. 2024
- 5) Forsyth, C.B., Farhadi, A., Jakate, S.M., Tang, Y., Shaikh, M., Keshavarzian, A. (2009). Lactobacillus GG treatment ameliorates alcohol-induced intestinal oxidative stress, gut leakiness, and liver injury in a rat model of alcoholic steatohepatitis. *Alcohol*.;43:163-172.
- 6) Gaziano, J.M., Gaziano, T.A., Glynn, R.J.(2000). Light-to-moderate alcohol consumption and mortality in the physicians' Health Study enrollment cohort. *J Am Coll Cardiol*. ;35:str. 96-105.
- 7) Guo, R. Ren, J. (2010). Alcohol and acetaldehyde in public health: from marvel to menace. *Int J Environ Res Public Health*;7:str. 1285-1301.
- 8) Gupta, V., Garg, R.(2009). Probiotics. *Indian J Med Microbiol*. 2009;27:str. 202-209.
- 9) Hannuksela, M.L., Liisanantti, M.K., Savolainen, M.J.. (2002).Effect of alcohol on lipids and lipoproteins in relation to atherosclerosis. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2002;39:str. 225-283.
- 10) Heini, H., Stephan, R., Filter, M., Plaza-Rodriguez, C., Frentzel, H., Ehling-Schulz, M., Johler, S.(2020). Temperature-Dependent Growth Characteristics Of Bacillus Thuringiensis In A Ratatouille Food Model. *Journal Of Food Protection*, Vol. 83, No. 5, 2020, str. 816–820 Dostopno na: <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-19-358>
- 11) Huang, C.H, Ho, C.Y, Wang, Y.L, Kan, KW, Chiu, Y.K., Lin, Y.H., Lin, Y.H., Kuan, C.M.(2021). The applications of *B. coagulans* TCI711 in alcohol elimination. *Int J Food Sci Nutr*. 2021 Aug;72(5):713-719. doi: 10.1080/09637486.2020.1858034. Epub 2020 Dec 8. PMID: 33292031.
- 12) Jones, A.W. (2000). Medicolegal alcohol Determination - blood- or breath-alcohol concentration? *Forensic Sci. Rev*. 2000;12:str. 23-47
- 13) Klatsky, A.L., Friedman, G.D., Siegelau, A.B. (1981). Alcohol and mortality. A ten-year Kaiser-Permanente experience. *Ann Intern Med*. 1981;95:str. 139-145.
- 14) Lezak, M.D., Howieson, D.B., Loring, D.W. (2004). *Neuropsychological Assessment*; 4th Ed. Oxford University Press; 2004.
- 15) Lieber, C.S., DeCarli, L.M., Feinman, L. (1975). Effect of chronic alcohol consumption on ethanol and acetaldehyde metabolism. *Adv Exp Med Biol*. 1975;59:str. 185-227.
- 16) Ministrstvo za zdravje. 2023. Alkohol in zdravje. Dostopno na: <https://www.gov.si teme/alkohol/> Povzeto: 14. 1. 2024.
- 17) Modern History Sourcebook: Louis Pasteur (1822–1895): From the Physiological Theory of Fermentation by Louis Pasteur. [(accessed on 21 January 2020)];1879 Available online: <https://sourcebooks.fordham.edu/mod/1879pasteur-ferment.asp> Uporabljeno 13. 1. 2024.
- 18) Muras A, Romero M, Mayer C, Otero A. (2021). Biotechnological applications of *Bacillus licheniformis*. *Crit Rev Biotechnol*. 2021 Jun;41(4):609-627. doi: 10.1080/07388551.2021.1873239. Epub 2021 Feb 16. PMID: 33593221.
- 19) NIJZ, 2022. Prva objava: Registrirana poraba alkohola v letu 2022. Dostopno na: <https://nijz.si/nijz/prva-objava-registrirana-poraba-alkohola-v-letu-2022/>

- 20) NIJZ, 2023. Alkohol. Poraba alkohola, pivske navade in zdravstvene posledice rabe alkohola. Ukrepi za zmanjšanje škode in viri pomoči. Dostopno na: <https://nijz.si/zivljenjski-slog/alkohol/>
- 21) Pfutzner, A., Hanna, M., Andor, Y., Sachdenheimer, D., demircik, F., Witting, T. Faire, J. (2022). Chronic APTake of a probiotic Nutritional Supplement (AB001) Inhibits Absorbtion of Ethyalcholol in the Intestine tract – Results from randomized Double-blind Crossover Study. . Nutrition and Metabolic Insights Volume 15: str. 1–5 doi: 10.1177/11786388221108919. PMID: 35769391; PMCID: PMC9234833.
- 22) Ren, J., Wold, L.E. (2008). Mechanisms of alcoholic heart disease. Ther Adv Cardiovasc Dis. 2008;2:str. 497-506.
- 23) Sedlak, S., Zaletel, M., Roškar, M., Sambt, J. Ekonomske posledice tveganega in škodljivega pitja alkohola v Sloveniji v obdobju 2018-2019. NIJZ, 2022 (dostopno na: https://nijz.si/sites/www.nijz.si/files/publikacije-datoteke/ekonomske_posledice_pitja_alkohola_2018-2019.pdf) Povzeto: 14. 1. 2024
- 24) Shramko, S.S., Golina, V.V. Kolodyazhny, M.G. (2019) Alcoholism as a medical and sociolegal problem and ways to solve it. Wlad Lek. 2019;72:str. 2496-2500.
- 25) Tao, Y., Drabik, K.A., Waypa, T.S. (2006). Soluble factors from Lactobacillus GG activate MAPKs and induce cytoprotective heat shock proteins in intestinal epithelial cells. Am J Physiol Cell Physiol. 2006;290: str. 1018-1030.
- 26) Vonlaufen, A., Wilson, J.S., Pirola, R.C, Apte,. MV. (2007). Role of alcohol metabolism in chronic pancreatitis. Alcohol Res.Health. 2007;30:str. 48-54.
- 27) Zakhari, S. (2006). Overview: how is alcohol metabolized by the body? Alcohol Res. Health. 2006;29:2str. 45-254.
- 28) Wang,S., Liu,J., Cheng, D., Ren,L., Zheng,., Chen,F., Zeng,T. (2023). Bacillus subtilis pretreatment alleviates ethanol-induced acute liver injury by regulating the Gut-liver axis in mice, Toxicology,Volume 488,2023,153487,ISSN 0300-483X,https://doi.org/10.1016/j.tox.2023.153487.Dostopno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X23000732>) Uporabljeno: 15. 1. 2024

Priloga 1 – Anketa

Spoštovani,

sva Pia in Aljaž, devetošolca OŠ Kungota. V tem šol. letu preučujeva učinkovitost *Bacillus* (t. i. AB001) pri presnovi alkohola (etanola) v človeškem telesu. Da bi najina naloga imela večjo uporabno vrednost, vas naprošava, da nama s svojimi iskrenimi odgovorite na naslednja vprašanja in pomagata pri raziskavi.

Anketa je anonimna. Rezultati ankete bodo uporabljeni samo v namen te raziskave. V naprej hvala za vašo pomoč in sodelovanje.

Pia in Aljaž

1. Spol (označi):

- a) Moški
- b) Ženski

2. Starost (označi):

- a) med 13 – 15 let
- b) med 16 – 25 let
- c) med 26 – 50 let
- d) več kot 51 let

3. Ali ste že kdaj pili alkohol (označi) ?

- a) Da
- b) Ne

4. Če ste odgovorili "da" na prejšnje vprašanje, kdaj ste prvič pili alkohol? (označi)

- a) pred 12. letom
- b) med 12. in 14. letom
- c) po 14. letu
- d) po 18. letu

5. Kako pogosto pijete alkohol? (označi)

- a) Redko (manj kot enkrat na mesec)
- b) Občasno (enkrat na mesec ali večkrat na mesec)
- c) Pogosto (večkrat na teden)
- d) Nikoli ne pijem alkohola

6. Kakšno vrsto alkoholnih pijač ste že poskusili? (Označite vse, ki veljajo za vas)

- a) Pivo
- b) Vino
- c) Žgane pijače (npr. vodka, gin)
- d) Koktajli
- e) Drugo(navedite)_____
- f) Ne pijem alkohola

7. Kje običajno pijete alkohol?

- a) Doma
- b) Na zabavah s prijatelji
- c) V parku ali na javnih mestih

- d) V lokalih ali klubih
- e) Drugje (navedite): _____

8. Ali imate kakšne pomisleke ali strahove glede pitja alkohola? (npr. zdravstveni, socialni)

- a) Da
- b) Ne
- c) Ne vem

9. Kako ocenjujete svoje poznavanje posledic pitja alkohola?

- a) Slabo
- b) Srednje
- c) Dobro
- d) Odlično

10. Ali menite, da bi bilo bolje, če bi izogibali pitju alkohola?

- a) Da
- b) Ne
- c) Nisem odločen/a

11. Zakaj ljudje pijemo(-jo) alkohol?

- a) Ker pomaga pri presnovi hrane
- b) Ker dopolni okus hrane, ki jo uživamo
- c) Ker se ljudje lažje sprostimo v družbi
- d) Ker ima odličen okus
- e) Ker z alkoholom lahko ustvarimo boljše vzdušje
- f) Ker o alkoholu kot drogi sploh ne razmišljamo
- g) Drugo (zapiši): _____

12. Če bi obstajala »tabletk« , ki bi preprečevala absozrcijo alkohola v kri, ali bi še pili alkohol?

- a) Da, še več
- b) Enako kot prej
- c) Ne
- d) Nisem odločen/a

13. Če bi obstajala »tabletk«, ki bi preprečevala absozrcijo alkohola v kri, kar pomeni, da po prekomernem pitju ne bi več imeli »mačka« in bi lahko povsem običajno delovali v vsakdanjem življenju, bi vzeli takšno »tabletk« ?

- a) Da
- b) Ne
- c) Nisem odločen/a

14. Če ste na vprašanje št. 13 odgovorili pritrdilno, kateri podatek o tej tabletki bi Vas najbolj zanimal?

Za odgovore se vam iskreno zahvaljujemo. Rezultati raziskave bodo znani konec marca 2024 in bodo javno objavljeni in predstavljeni.