

Mestna občina Celje
Komisija Mladi za Celje

PRIMERJAVA UČINKOV DOMAČEGA IN KUPLJENEGA MEDU NA IZBRANE VRSTE BAKTERIJ

RAZISKOVALNA NALOGA



Avtorica:
Sara Kopriva

Mentorica:
Marjeta Gradišnik Mirt,
pred. učiteljica

Celje, 2014

Osnovna šola Ljubečna

PRIMERJAVA UČINKOV DOMAČEGA IN KUPLJENEGA MEDU NA IZBRANE VRSTE BAKTERIJ

RAZISKOVALNA NALOGA

AVTORICA:
SARA KOPRIVA, 9. B

MENTORICA:
MARJETA GRADIŠNIK
MIRT, predmetna učiteljica

Jezikovni pregled:
Damjana Hrovat, prof.
slovenščine

Mestna občina Celje, Mladi za Celje

Celje, 2014

Kazalo

POVZETEK.....	3
1 UVOD	5
1.1 NAMEN NALOGE.....	5
1.2 HIPOTEZE	5
1.3 METODE DELA.....	6
2 TEORETIČNA IZHODIŠČA.....	9
2.1 MED IN PROPOLIS	9
2.1.1 POGLED V PRETEKLOST	9
2.1.2 SESTAVINE MEDU	9
2.1.3 VRSTE MEDU.....	10
2.1.4 PROPOLIS.....	10
2.1.5 UPORABA MEDU V ZDRAVSTVENE NAMENE	11
2.2 BAKTERIJE	11
2.2.1 GOJIŠČE BAKTERIJ.....	11
2.2.2 VRSTE BAKTERIJ, UPORABLJENIH PRI RAZISKOVALNEM DELU	12
2.3 ANTIBIOTIKI.....	12
2.3.1 SPLOŠNO O ANTIBIOTIKIH	12
2.3.2 ANTIBIOTIČNE SNOVI V MEDU	13
2.3.3 DOLOČANJE OBČUTLJIVOSTI BAKTERIJ NA ANTIBIOTIKE.....	13
3 RAZISKOVALNO DELO	14
3.1 IZBOR VRST MEDU	14
3.2 PRIPRAVA VZORCEV ZA LABORATORIJSKO DELO	14
3.3 PRIPRAVA GOJIŠČ IZBRANIH VRST BAKTERIJ.....	16
3.4 NANAŠANJE VZORCEV MEDU NA GOJIŠČA	19
3.5 NANAŠANJE PROPOLISA NA GOJIŠČA	19
3.6 REZULTATI	21
3.6.1 PRIMERJAVA UČINKOV DOMAČEGA IN KUPLJENEGA MEDU	21
3.6.2 PRIMERJAVA UČINKOV SEGRETEGA IN NESEGRETEGA MEDU	23
3.6.3 PRIMERJAVA UČINKOV PROPOLISA NA IZBRANE VRSTE BAKTERIJ	26
4 ANALIZA REZULTATOV LABORATORIJSKEGA DELA	29
5 POTRDITEV HIPOTEZ.....	31
6 ZAKLJUČEK	32
LITERATURA IN VIRI	33

KAZALO SLIK IN TABEL

Slika 1: Izbrane vrste medu (Vir: osebni arhiv)	14
Slika 3: Vzorci medu, segreti na 50 °C. (Vir: osebni arhiv)	15
Slika 4: Vzorci medu, segreti na 90 °C (Vir: osebni arhiv)	15
Slika 5: Označevanje petrijevk s podatki o vrsti medu in bakterij (Vir: osebni arhiv).....	17
Slika 6: Nanašanje tankega sloja kulture bakterij na gojišče (Vir: osebni arhiv).....	17
Slika 7: Nanašanje različnih vrst medu na izbrana gojišča bakterij (Vir: osebni arhiv)	19
Slika 8: Propolis (Vir: osebni arhiv)	20
Slika 9: Tinkтури iz propolisa (Vir: osebni arhiv).....	20
Slika 10: Velikost zaviralnega pasu za domače in kupljene vrste medu na gojišču bakterije S. aureus (Vir: osebni arhiv).....	22
Slika 11: Velikost zaviralnega pasu za domače in kupljene vrste medu na gojišču bakterije E. coli (Vir: osebni arhiv)	23
Slika 12: Velikost zaviralnega pasu za domače in kupljene vrste medu na gojišču bakterije S. pyogenes (Vir: osebni arhiv)	23
Slika 13: Primerjava velikosti zaviralnega pasu za domači toplotno obdelan in toplotno neobdelan med na gojišču bakterij E. coli (Vir: osebni arhiv).....	25
Slika 14: Primerjava velikosti zaviralnega pasu za domači toplotno obdelan in toplotno neobdelan med na gojišču bakterij S. aureus (Vir: osebni arhiv)	26
Slika 15: Primerjava velikosti zaviralnega pasu za domači toplotno obdelan in toplotno neobdelan med na gojišču bakterij S. pyogenes (Vir: osebni arhiv).....	26
Slika 16: Rezultati delovanja suhega propolisa na gojišča bakterij E. coli, S. aureus in S. pyogenes (Vir: osebni arhiv)	28
Slika 17: Rezultati delovanja alkoholne tinkture in otroškega propolisa na gojišča bakterij E. coli, S. aureus in S. pyogenes (Vir: osebni arhiv).....	28
Tabela 1: Velikost zaviralnih pasov različnih vrst medu na bakterijo Staphylococcus aureus	21
Tabela 2: Velikost zaviralnih pasov različnih vrst medu na bakterijo Escherichia coli.....	21
Tabela 3: Velikost zaviralnih pasov različnih vrst medu na bakterijo Streptococcus pyogenes	22
Tabela 4: Primerjava učinkov toplotno obdelanih in toplotno neobdelanih vrst medu na gojišče bakterije S. aureus	24
Tabela 5: Primerjava učinkov toplotno obdelanih in toplotno neobdelanih vrst medu na gojišče bakterije E. coli.....	24
Tabela 6: Primerjava učinkov toplotno obdelanih in toplotno neobdelanih vrst medu na gojišče bakterije S. pyogenes	25
Tabela 7: Primerjava učinkov različnih oblik propolisa na S. aureus, E. coli, S. pyogenes.....	27
Graf 1: Velikost zaviralnega pasu pri delovanju različnih vrst propolisa na izbrane bakterije	27

POVZETEK

Med je zelo zanimivo živilo, tako po okusu in vsestranski uporabnosti kot tudi po njegovi dolgoletni uporabi v preteklosti.

Predpostavljala sem, da bo imel domači med večji zaviralni učinek na rast bakterij kot v trgovini kupljeni med. Želela sem dokazati, da med s segrevanjem izgubi večino učinkovin ter da imajo temnejše vrste medu večji zaviralni učinek na razvoj določenih bakterij kot svetle vrste.

Poskuse sem opravljala v mikrobiološkem laboratoriju Zavoda za zdravstveno varstvo Celje. Najprej sem v šoli pripravila vzorce medu. Posamezne vzorce sem segrela na 50 in 90 °C in jih nato v laboratoriju nanesa na gojišča izbranih vrst bakterij. Po določenem času sem ponovno prišla v laboratorij, da sem pogledala rezultate. Potrebno je bilo izmeriti premer zaviralnega pasu, od katerega je odvisna učinkovitost medu.

Domači med se je izkazal za nekoliko bolj učinkovitega kot kupljeni. Prav tako je toplotno neobdelan med imel več učinkov kot med, segret na 50 °C. Med, segret na 90 °C, ni imel nobenega učinka. Rezultati so pokazali, da suhi koščki propolisa niso zavirali rast bakterij in so te neovirano rasle, zato sem se odločila poskuse opraviti še na alkoholni tinkturi, otroškem propolisu in 50-odstotnem etanolu. Alkoholna tinktura je imela večji zaviralni pas kot otroški propolis.

1 UVOD

V današnjem času si pri težavah z gripo in prehladom mnogo ljudi lajša težave z uporabo antibiotikov, ki poleg tega, da uničijo mikroorganizme, lahko povzročijo vrsto drugih težav, med drugim tudi slabšanje imunskega sistema, bakterije pa postanejo imune na antibiotike. Res je, da so antibiotiki danes nekaj vsakdanjega in nepogrešljivega, ampak mnogo ljudi pozablja na neškodljivo in preprosto preventivo, v katero med drugim sodita tudi med in propolis.

To raziskovalno nalogo sem izvedla, ker sem želela raziskati vpliv medu in propolisa na posamezne vrste bakterij. Najprej sem oblikovala hipoteze in pripravila celoten načrt, potem pa sem začela z laboratorijskim delom. Poskuse sem opravljala v mikrobiološkem laboratoriju Zavoda za zdravstveno varstvo Celje, kjer so me lepo sprejeli in mi omogočili izvajanje poskusov v svojem laboratoriju.

1.1 NAMEN NALOGE

Med je zelo zanimiva iztočnica, ki poraja številna vprašanja, za katera je v mnogih vrstah literature iz čebelarstva mogoče najti veliko odgovorov. V svoji raziskovalni nalogi sem si zastavila tri ključna raziskovalna vprašanja:

Ali domači¹ med res bolj kot kupljeni² zaviralno vpliva na rast mikroorganizmov?

To vprašanje je nadaljevanje raziskovalne naloge z naslovom »Antibiotični učinki naravnih pripravkov«, v kateri so vrstniki z naše šole že preučevali antibiotične učinke domačega in kupljenega medu. Ker poskusa niso ponavljali, rezultati niso najbolj verodostojni. Prav tako niso napisali, katero vrsto medu so uporabljali. Njihovo metodo difuzijskega antibiograma sem izbrala za metodo svoje raziskovalne naloge.

Kako vpliva temperatura medu na njegove antibiotične učinke?

Znano je, da med izgubi svojo učinkovitost, če ga raztopimo v vročem čaju. Zato sem želela primerjati učinkovanje različnih vrst medu, ki sem jih segrela na temperaturo 50 in 90 °C, na izbrane kolonije bakterij.

Ali so temne vrste medu učinkovitejše zaviralke rasti bakterij kot svetle vrste?

Ker literatura navaja, da so temne vrste medu bolj zdrave kot svetle, sem hotela s pomočjo difuzijskega antibiograma ugotoviti, kako različne vrste temnega in svetlega medu zaviralno vplivajo na rast izbranih vrst bakterij.

1.2 HIPOTEZE

Skladno z raziskovalnimi vprašanji sem v svoji raziskovalni nalogi zapisala tri hipoteze:

1. Domači med bolj zaviralno vpliva na rast bakterij kot kupljeni.

¹ Z izrazom domači med poimenujem različne vrste medu, pridobljene pri čebelarju.

² Izraz kupljeni med v tej raziskovalni nalogi uporabljam kot nasprotje izrazu domači med, in sicer za različne vrste medu, kupljene v trgovini.

2. Visoka temperatura uniči nekatere koristne snovi v medu, zato segreti med nima več zaviralnih učinkov na razvoj kolonij bakterij. Predpostavljala sem, da ima med, segret na 50 °C, še nekaj učinkov, pri višji temperaturi pa jih izgubi.

3. Sklepala sem, da imajo temne vrste medu večji zaviralni učinek na razvoj kolonij izbranih bakterij kot svetle vrste.

1.3 METODE DELA

Na začetku meseca septembra sem si izbrala temo svoje raziskovalne naloge. Zatem sem si napisala nekaj raziskovalnih vprašanj, ki so me v zvezi s to temo zanimala. Nato sem si v osrednji knjižnici Celje izposodila ustrezno literaturo o medu, bakterijah in antibiotikih. Na nekatera od svojih vprašanj sem našla odgovore že v literaturi, na druga pa sem morala odgovore poiskati s pomočjo načrtovanih eksperimentov.

Moje raziskovalno delo je bilo sestavljeno iz preučevanja strokovne literature, eksperimentalnega dela z meritvami in beleženjem rezultatov ter analize rezultatov laboratorijskega dela.

Najprej sem si priskrbela vzorce medu in propolisa. Domače vrste medu mi je podarilo čebelarstvo Arh, kupljene vrste pa sem nakupila v enem od trgovskih centrov. Od čebelarja sem dobila kostanjev, hojev, cvetlični in gozdni med. Povsem enake vrste medu sem poiskala tudi v trgovini. Sledilo je eksperimentalno delo, ki sem ga izvedla v mikrobiološkem laboratoriju.

V prvem sklopu poskusov sem želela primerjati učinek domačega in kupljenega medu na rast izbranih vrst bakterij.

Za delo sem potrebovala:

- ✓ štiri vrste domačega in štiri vrste kupljenega medu,
- ✓ eze (posebne sterilne palčke za nanašanje vzorcev medu),
- ✓ termostat (omara, kjer so konstantni pogoji za rast bakterij),
- ✓ flomastre za označevanje vzorcev,
- ✓ kljunasto merilo,
- ✓ vzorce bakterij (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*) in
- ✓ petrijevke z gojišči.

Postopek:

Mentorica iz mikrobiološkega laboratorija je na petrijevko z gojiščem v tankem sloju nanese kulturo določene vrste bakterij. Na spodnjo stran pokrova sem pred tem s črkami označila vrsto medu in ali je med domač ali kupljen ter vrsto bakterij. Zatem sem z ezo na označeno mesto nanese eno kapljico posamezne vrste medu. V eno petrijevko sem na posamezno gojišče bakterij razporedila štiri vrste domačega medu, v drugo pa štiri vrste kupljenega. Petrijevke sem zaprla. Mentorica jih je odnesla v termostat, kjer je bila temperatura primerna razvoju bakterij. Temperatura v termostatu je bila 35 °C. V termostatu so bili vzorci 24 ur, nato so jih vzeli iz termostata in pripravljene so bili za

merjenje rezultatov. Najprej sem vizualno ocenila, katere vrste medu so imele zaviralni učinek na rast bakterij. Nato sem ob pomoči mentorice iz mikrobiološkega laboratorija s kljunastim merilom izmerila t. i. zaviralni pas. To je področje okoli kapljice medu, kjer se bakterije niso razvile. Rezultate sem zabeležila v preglednico.

Pri drugem sklopu poskusov sem želela ugotoviti, kako toplotna obdelava medu vpliva na njegove antibiotične učinke. Za ta poskus sem izbrala le vse širi vrste domačega medu, ki sem ga segrela na temperaturi 50 °C in 90 °C.

Za delo sem potrebovala:

- ✓ štiri vrste domačega medu,
- ✓ sterilne epruvete,
- ✓ vodno kopel,
- ✓ termometer,
- ✓ sterilne kapalke in eze,
- ✓ termostat,
- ✓ flomastre za označevanje vzorcev,
- ✓ kljunasto merilo,
- ✓ vzorce bakterij (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*) in
- ✓ petrijevke z gojišči.

Postopek:

Najprej sem sterilne epruvete označila z napisi vzorcev medu in temperaturo vode, v kateri sem segrevala vzorce. Nato sem različne vrste medu s sterilno ezo razporedila v ustrezne sterilne epruvete. S zamaški sem zaprla epruvete in jih namestila v ustrezno vodno kopel. Za delo sem potrebovala 12 sterilnih epruvet. V prve štiri epruvete sem razporedila po en mililiter cvetličnega, hojevega, gozdnega in kostanjevega medu, ki ga nisem segrevala. V druge štiri epruvete sem razporedila iste vrste medu, ki sem ga 15 minut segrevala pri temperaturi 50 °C. V naslednje štiri epruvete sem ponovno razporedila štiri vrste domačega medu in jih 15 minut segrevala pri temperaturi 90 °C.

Tako pripravljene vzorce sem odnesla v mikrobiološki laboratorij. Najprej sem označila petrijevke z gojiščem s potrebnimi podatki. To so bili vrsta medu, vrsta bakterije in temperatura, pri kateri sem segrevala vzorce. Nato sem na pripravljena gojišča z bakterijami z ezo na označena mesta nanese po eno kapljico posameznih vrst medu. Petrijevke smo dali za en dan v termostat. Naslednji dan sem si ogledala rezultate delovanja različnih vrst medu, toplotno obdelanih z različno temperaturo, na rast izbranih bakterij. S kljunastim merilom sem izmerila velikost področja okoli kapljic medu, kjer se bakterije niso razvijale. Rezultate sem zabeležila v preglednico.

S tretjim sklopom poskusov sem želela ugotoviti, kako čebelji proizvod propolis zaviralno vpliva na rast izbranih vrst bakterij.

Za delo sem potrebovala:

- ✓ domači propolis,

- ✓ alkoholno tinkturo propolisa,
- ✓ otroški propolis (brez alkohola),
- ✓ 50-odstotno raztopino etanola,
- ✓ termostat,
- ✓ flomastre za označevanje vzorcev,
- ✓ kljunasto merilo,
- ✓ vzorce bakterij (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*) in
- ✓ petrijevke z gojišči.

Postopek:

Za delo sem potrebovala 6 petrijev z gojišči. V po dve in dve petrijevki je mentorica iz mikrobiološkega laboratorija v tankem sloju nanerala posamezne kulture bakterij. Na vsako kulturo sem sprva položila le enako velike koščke suhega propolisa. Gojišča smo prenesli za 24 ur v termostat in nato odčitati rezultate delovanja suhega propolisa. Za primerjavo sem v ostale tri petrijevke na enake vrste bakterij nanerala še po eno kapljico alkoholne tinkture propolisa in otroški propolis, ki ne vsebuje alkohola. Ker sem želela vedeti, kolikšen del zaviralnega učinka ima na rast bakterij alkohol etanol v primerjavi s propolisom, sem dodala na gojišča še po eno kapljico 50-odstotne raztopine etanola. Vzorce smo za 24 ur postavili v termostat. Naslednji dan sem opazovala in merila rezultate, ki sem jih zabeležila v tabeli.

Po opravljenem laboratorijskem delu sem v tabeli zbrane rezultate primerjala med seboj in poskušala ugotoviti, ali dobljeni rezultati potrjujejo postavljene hipoteze. Vse rezultate poskusov sem tudi fotografirala.

2 TEORETIČNA IZHODIŠČA

Pred laboratorijskim delom sem preučila literaturo in izvedela marsikaj novega. Za lažje razumevanje poskusov sem poleg medu in propolisa napisala nekaj dejstev tudi o bakterijah in antibiotikih.

2.1 MED IN PROPOLIS

Med je pridelek, ki mu čebele vdihnejo življenje. Nabirajo nektar in mano ter ju prenesejo v panj. Nabrano medicino zgostijo in obogatijo s snovmi iz svojega telesa. Nato jo odložijo v satje, kjer dozori v med (Božnar 2002, str. 9).

Propolis ali zadelavina je naravni antibiotik čebel. Uporabljajo ga za ohranjanje suhega in čistega doma. Je edini čebelji pridelek, ki deluje proti plesnim, bakterijam, kvasovkam in virusom (Božnar 2002, str. 31–32).

2.1.1 POGLED V PRETEKLOST

Že od nekaj so bili ljudje prepričani, da so čebele svete živali in božje poslanke. Od pradavnine so čebele tesno povezane s človekovim mišljenjem in življenjem. Ta povezava se je začela v obdobju divjega lova, šla prek udomačitve čebel vse do najnovejših znanstvenih raziskav čebel in njihovih pridelkov. Prvo pomembno obdobje čebelarstva se je začelo z udomačevanjem divjih čebel. Človek jim je najprej vzel nekaj voska in malo medu, drugo pa je pustil za njihovo preživetje.

Na Slovenskem je čebelarstvo prav gotovo najstarejša gospodarska dejavnost. Največji razcvet je slovensko čebelarstvo doživelo v 18. in 19. stoletju po zaslugi izvrstnih učiteljev čebelarstva, Petra Pavla Glavarja in Antona Janše (Božnar 2002, str. 5–6).

2.1.2 SESTAVINE MEDU

Med je visokovredno naravno živilo. Je kompleksna mešanica 300 različnih kemijskih spojin. Med njimi je največ različnih sladkorjev (75–80 %), predvsem sadni sladkor (fruktoza) in grozdni sladkor (glukoza), nekaj pa je tudi sestavljenih sladkorjev (saharoza, maltoza). Sladkorji so hiter vir energije: glukoza gre takoj v kri, fruktoza pa malo počasneje. Pri tem procesu ni potrebna kemijska reakcija. Od količine vode v medu (14–20 %) in temperature je odvisna tudi viskoznost in s tem tekočnost medu. Med z zelo malo vode teče zelo počasi, če pa je koncentracija vode v medu večja, se tudi tekočnost poveča. Med drugimi sestavinami so elementi (od najpogostejšega do najmanj pogostega): kalij, kalcij, klor, magnezij, natrij, fosfor, žveplo, mangan, železo, baker, cink in rubidij, lahko pa so tudi nekateri drugi. Mineralne snovi so namreč za človeško telo življenjskega pomena. Več mineralnih snovi je v temnih (gozdnih) vrstah medu. Od vitaminov najdemo v manjših količinah vitamine B1, B2, B6, C, pantotensko kislino, nikotinsko in folno kislino ter biotin. Poleg naštetih snovi so v medu še beljakovine (0,2–2 %), organske kisline (0,1–1 %),

hormoni, barvila, flavonoidi in fenolne spojine ter v sledovih tudi številne različne organske snovi. Prav snovi, ki so v medu v manjših količinah, so odgovorne za senzorične značilnosti, to je za barvo, vonj, okus in aromo posameznih vrst medu. Točna sestava medu je odvisna od njegove vrste, starosti in geografskega porekla (Golob 2008, str. 26).

2.1.3 VRSTE MEDU

CVETLIČNI MED

Cvetlični med je po svojih senzoričnih lastnostih lahko raznovrsten, saj so te odvisne od vrste cvetov, na katerih so čebele nabrale nektar. Značilno zanj je, da je dokaj svetel in po okusu srednje do močno, celo zelo močno sladek ter da ima pekoč pookus po sladkem. Pri tem tipu je obvezno navzoč tudi okus po kislem, ta pa je šibko do srednje močno izražen. Električna prevodnost mora biti nižja od 0,8 mS/cm. Cvetlični med lahko precej hitro kristalizira (http://www.slovenskimed.si/Si/med_vrste.php, 3. 12. 2013).

GOZDNI MED

Ker je gozdni med mešanica različnih vrst mane, se lahko vzorci zelo razlikujejo po barvi, vonju, okusu in aromi. Za tovrstni med je značilno, da v njem ne prevladuje nobena vrsta mane ter da sta okusa po sladkem in kislem uravnotežena. Pogosto je mešan s cvetličnim medom, saj čebele v gozdu obiskujejo tudi podrast. Električna prevodnost mora biti več kot 0,8 mS/cm. Obstaja pestra paleta barv, od svetlo do temno rjave z rdečim ali zelenim odtenkom (http://www.slovenskimed.si/Si/med_vrste.php, 3. 12. 2013).

KOSTANJEV MED

Kostanjev med je iz nektarja in mane, ki ju čebele nabirajo na pravem kostanju. Ta med se po svojem trpkem vonju, precej grenkem okusu in dolgotrajno obstojni ter zelo izraziti aromi občutno razlikuje od drugih tipov. Električna prevodnost je zelo visoka, lahko tudi več kot 2 mS/cm. Lahko je temno rjave ali jantarne barve z rdečim odtenkom (http://www.slovenskimed.si/Si/med_vrste.php, 3. 12. 2013).

HOJEV MED

Hojev med je zelo temen, je sivorjave barve z zelenim odsevom. Po navadi je moten in ne kristalizira. Aroma je zelo značilna, po karameli in mleku v prahu. Električna prevodnost mora biti več kot 0,8 mS/cm (http://www.slovenskimed.si/Si/med_vrste.php, 3. 12. 2013).

2.1.4 PROPOLIS

Čebele nabirajo na živih delih rastlin smolnate snovi (topol, kostanj, breskev, smreka itn.). Dodajo še izbljuvek smolnatih kožic cvetnega prahu, ko hranijo zalego. Tako nastane propolis, ki je rjavo do rjavo zelene barve. Aroma je prijetna, diši po topolovih popkih, medu, vosku in vaniliji. Če propolis sežgemo, je prijetnega vonja, podobnega kadilu. Pri temperaturi od 25 do 45 °C je plastičen. Ena čebelja družina nabere na leto od 100 do 150 g propolisa. Zavira rast več kot tridesetih bakterij in drugih mikroorganizmov. Propolis ali zadelavina je naravni antibiotik čebel. Uporabljajo ga za ohranjanje suhega in čistega doma. Z njim namažejo špranje v panju in se tako zavarujejo pred vlago, prepihom,

mikroorganizmi, kot gradbeni material pa koristi za ojačenje celic, kjer poteka promet. Uporabljajo ga tudi za prevleko notranjosti celic, kamor matica odloži jajčeca, ter za balzamiranje ubitih sovražnikov in mrtvic v panju (Božnar 2002, str. 31–32).

2.1.5 UPORABA MEDU V ZDRAVSTVENE NAMENE

Med je naravno živilo, ki ga čebele pridobijo tako, da resnično vsebuje zaklad koristnih snovi za človeka. Za človeško telo je vir energije, mineralnih snovi in drugih nujno potrebnih elementov, ki so v medu zastopani v sledovih. V telesu deluje protibakterijsko in pomaga organizem obvarovati pred različnimi boleznimi. Strokovnjaki priporočajo uravnoteženo prehrano, v kateri ima svoje mesto tudi med; je odličen nadomestek za bel sladkor, hkrati pa takojšnja hrana za srce in mišice. Zdravniki poročajo, da med pomaga proti utrujenosti, zaprtju, zvišanem krvnem tlaku in holesterolu, vnetjih mehurja, oslavljenem imunskem sistemu, impotenci in drugih težavah (Božnar 2002, str. 18).

2.2 BAKTERIJE

Bakterije so ene najstarejših bitij na Zemlji. So kozmopoliti, najdemo jih skoraj povsod, celo v vročih vrelih in v ledenikih, kjer si življenje zaradi ekstremnih razmer težko predstavljamo. Nekatere bakterije so patogene in povzročajo bolezni. Zdravimo jih z antibiotiki, ki so naravne snovi, ki jih izločajo nekatere glive in bakterije, da bi pregnale druge organizme s svojega območja.

2.2.1 GOJIŠČE BAKTERIJ

Gojenje mikroorganizmov je osnova za njihovo preučevanje. Rast mikroorganizmov pomeni rast celic in povečevanje števila celic. Za rast je treba zagotoviti hranila, vir energije in ustrezne fizikalno-kemijske razmere. Gojišča in razmere, v katerih kulturo gojimo, morajo čim bolj posnemati naravno okolje.

Mikroorganizmi se močno razlikujejo glede na potrebo po hranilih. *Escherichia coli* lahko raste na gojišču, ki vsebuje le enostaven sladkor, amonijev fosfat in nekaj mineralnih soli. Primer prehransko zahtevnih mikroorganizmov so mlečnokislinske bakterije, ki potrebujejo za rast številne vitamine, aminokislino in druge rastne dejavnike.

Gojišča so substrati za gojenje mikroorganizmov v laboratorijskih razmerah. Gojišča, ki jih uporabljamo v mikrobiologiji, so številna in raznolika, saj jih prilagajamo potrebam mikroorganizmov in načinu uporabe (izolacija, vzdrževanje, namnoževanje in karakterizacija kulture).

Gojišča so torej vodne raztopine snovi, ki jih določen mikroorganizem potrebuje za rast (Rupnik 2005, str. 16–18).

2.2.2 VRSTE BAKTERIJ, UPORABLJENIH PRI RAZISKOVALNEM DELU

Pri raziskovalnem delu sem uporabila naslednje tri vrste bakterij:

ESHERICHIA COLI (E. coli) je bakterija, ki se normalno nahaja v debelem črevesu toplokrvnih organizmov. Kot prva izmed bakterij se naseli v sluznici črevesa dojenčka približno 40 ur po porodu in tam ostane vse življenje. Escherichia coli je najpogostejša povzročiteljica drisk in vnetij sečil. E. coli lahko zaužijemo predvsem z okuženo vodo, neumito zelenjavo, slabo termično obdelanim mesom, sirom, mlekom ... Nalezemo pa se jo z osebnim kontaktom tako preko ljudi kot domačih ljubljencev. Po novjših dognanjih jo lahko v določenih okoljih tudi vdihnemo (<http://www.aktivni.si/zdravje/preventiva/kaj-je-bakterija-e-coli/>, 8. 11. 2013).

STAPHYLOCOCCUS AUREUS (S. aureus)

Je patogena bakterija. Povzroča povrhnje gnojne infekcije na koži, folikulitis, abscese, piodermijo, vnetje očesne veznice, infekcije kirurških ran in opeklin. Povzroča tudi globoke gnojne infekcije: pljučnico, osteomielitis, vnetje srednjega ušesa, meningitis, možganski absces in drugo (Andlovic 1999, str. 78).

STREPTOCOCCUS PYOGENES (S. pyogenes)

Kolonije piogenih streptokokov so drobne, prozorne, s širokim pasom beta-hemolize. S. pyogenes, beta-hemolitični streptokok skupine A, je najpomembnejši povzročitelj streptokoknih bolezni pri človeku. Povzroča: vnetje mandljev in žrela, obnosnih votlin, srednjega ušesa, oči; vnetja kože, okužbe ran in opeklin, abscese, piodermije, škrlatinko, revmatično vročino, pljučnico, sepso in endokarditis (Andlovic 1999, str. 78).

2.3 ANTIBIOTIKI

Antibiotiki so zdravila za zdravljenje bakterijskih okužb, ki jih izločajo nekatere glive in bakterije, da bi pregnale druge organizme s svojega območja. Izraz antibiotik izhaja iz grščine in bi ga lahko prevedli z besedami "proti nečemu živemu".

2.3.1 SPLOŠNO O ANTIBIOTIKIH

Snovi z antibiotičnim delovanjem uporabljamo ljudje že tisočletja. Prvi znanstveni opis naravnega antibiotika penicilina pa sega v leto 1928. Metode za proizvodnjo antibiotikov so do danes močno napredovale, še vedno pa jih večino pridobimo s kemičnimi spremembami naravnih snovi, redkeje pa neposredno od živih organizmov. Antibiotične učinkovine izvirajo iz gliv, bakterij, lišajev ali višjih rastlin. Na primer najbolj znan antibiotik, penicilin, je produkt plesni. Nekatere antibiotike danes proizvajajo tudi umetno.

Antibiotična zdravila delujejo na različne načine. Nekateri antibiotiki preprečijo sintezo celične stene bakterij. Drugi antibiotiki bakterijam preprečijo tvorbo beljakovin ali vitaminov, ki jih te nujno potrebujejo za preživetje. Posebna skupina antibiotikov deluje tako, da bakterijam preprečuje, da bi pri razmnoževanju pravilno predale dedni zapis na celice potomke. Na voljo so celo antibiotiki, ki delovanje bakterij zavrejo na več omenjenih načinov hkrati, kar je še posebej učinkovito (Herold 1974, str. 69, 71).

2.3.2 ANTIBIOTIČNE SNOVI V MEDU

Domnevali so, da temelji učinkovitost medu na onesnažene in zagnojene rane samo na sladkorju, ta namreč draži mezgovne žleze k povečanemu izločanju in s tem odplavi nesnago in bakterije. Kasnejši poskusi so pokazali, da prevreti in umetni med nimata te zmožnosti. Klicam nevarne snovi so potemtakem občutljive na vročino in po drugih poskusih tudi na svetlobo. Protibakterijsko delovanje je posledica prisotnosti glukoze oksidaze, visoke koncentracije sladkorjev, katalaze, inhibina in vodikovega peroksida (H_2O_2). Med lahko vsebuje tudi mikroorganizme v zelo nizkih koncentracijah, ki so posledica načina pridelovanja (gre skozi prebavni trakt čebele) ali zunanje kontaminacije, ki so zaradi protimikrobnih lastnosti medu prisotni v zelo omejeni količini (Herold 1974, str. 69, 71).

Inhibini so snovi, ki uničujejo in zavirajo rast bakterij. Ne izvirajo samo iz rastlin. Če so zaprte čebele hranili s sladkorjem, je iz njega nastala strd še vedno delovala baktericidno, čeprav nekoliko slabotneje (http://www.czdp.si/?page_id=41, 8. 10. 2013).

Poleg pridelave čebele dodajo medu v panjih tudi encim glukozno oksidazo. Ta v majhnih količinah tvori vodikov peroksid (glukozna oksidaza se pretvori na rani v glukonsko kislino in vodikov peroksid). Zaradi prisotnosti katalaze (encim, ki je prisoten v tekočini, krvi in tkivu na rani) vodikov peroksid razpade na vodo in kisik (Herold, 1974 str. 69, 71).

2.3.3 DOLOČANJE OBČUTLJIVOSTI BAKTERIJ NA ANTIBIOTIKE

Postopek določanja občutljivosti za ali odpornosti bakterij proti antibiotikom imenujemo antibiogram. Metoda difuzijskega antibiograma je eden od načinov določanja občutljivosti bakterij za antibiotike. To je preprosta in hitra metoda za določanje občutljivosti za antibiotike pri hitro rastočih bakterijah. Najprej na gojišče (ploščo) naneseemo bakterijo. Nato na ploščo položimo diske z različnimi antibiotiki ter jih inkubiramo pri primerni temperaturi. Če je bakterija za antibiotik občutljiva, ne bo rasla v določeni razdalji od diska. Območje brez bakterijske rasti imenujemo cona inhibicije (zaviralni pas). Glede na premer cone inhibicije lahko primerjamo antibiotični učinek (Rupnik 2005, str. 44).

3 RAZISKOVALNO DELO

Ko sem preučila literaturo, je sledil še praktični del naloge. Najprej sem si v šoli pripravila vzorce medu, potem pa sem jih nesla na Oddelek za mikrobiologijo, ki deluje v okviru Zavoda za zdravstveno varstvo Celje, kjer sem opravila laboratorijsko delo.

3.1 IZBOR VRST MEDU

Od čebelarstva Arh sem za potrebe raziskovalnega dela dobila naslednje vrste medu:

- ✓ cvetlični med,
- ✓ gozdni med,
- ✓ kostanjev med in
- ✓ hojev med.

Vse vrste medu so bile pridelane v letu 2013. Nato sem v trgovini nakupila še enake vrste kupljenega medu. Rok uporabe kupljenega medu je do leta 2016, poreklo medu pa je Slovenija ali Italija. Proizvajalec cvetličnega, hojevega in kostanjevega medu je Medex, gozdnega medu pa Franc Dervarič iz Murske Sobote.



Slika 1: Izbrane vrste medu (Vir: osebni arhiv)

3.2 PRIPRAVA VZORCEV ZA LABORATORIJSKO DELO

Vzorke medu za laboratorijsko delo sem pripravila v šoli. Najprej sem pripravila vodno kopel. Za to sem potrebovala dva termometra in dve čaši, v kateri sem nalila vodo. Vodo v prvi čaši sem segrela na 50 °C, v drugi pa na 90 °C.

Nato sem posamezne vzorce domačega medu s sterilnimi ezami in kapalkami vnesla v posamezne sterilne epruvete, ki sem jih prej označila z napisi za vrsto medu in temperaturo, na katero je bil ta med segret. Vsako vrsto medu sem torej vnesla v dve epruveti. Vzorce

sem nato razporedila v čaši z vodo, segreti na različni temperaturi, in jih pustila v njej petnajst minut.

Termično neobdelan domači med, prav tako pa tudi kupljeni med sem na gojišča nanesla neposredno iz lončka.



Slika 2: Vzorci medu, segreti na 50 °C. (Vir: osebni arhiv)



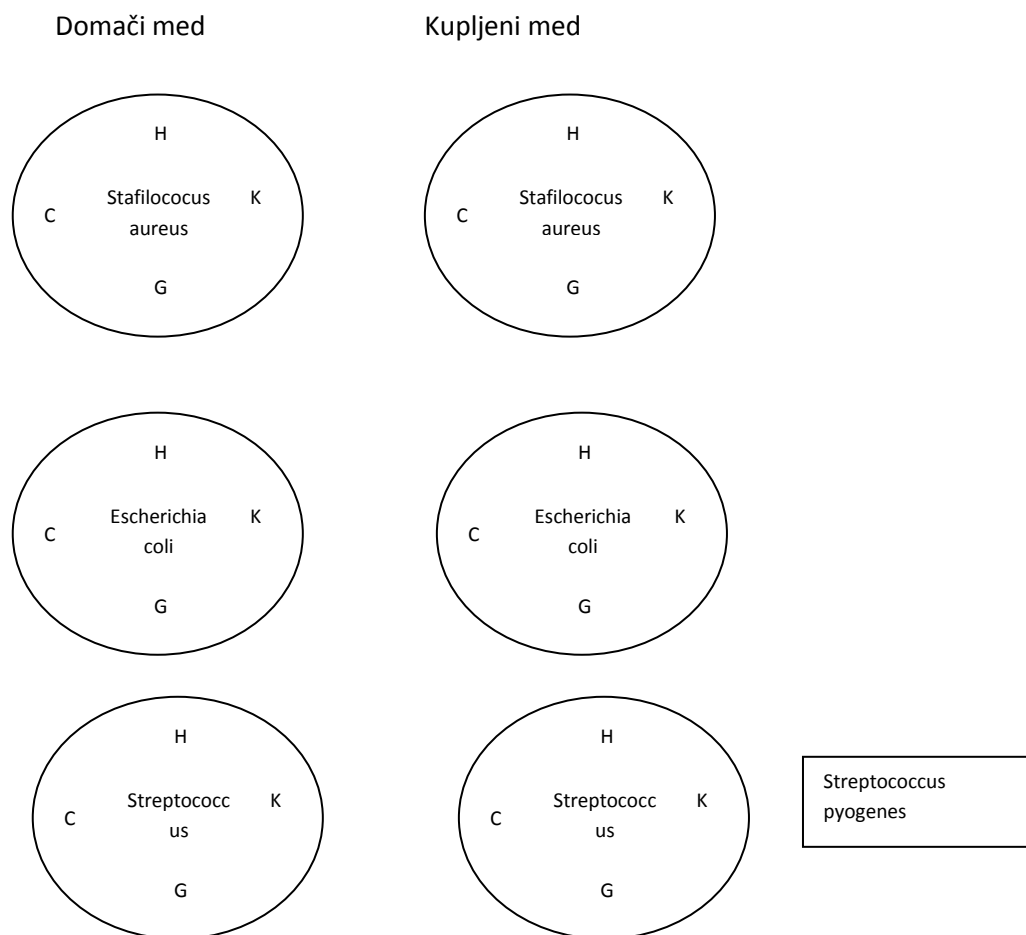
Slika 3: Vzorci medu, segreti na 90 °C (Vir: osebni arhiv)

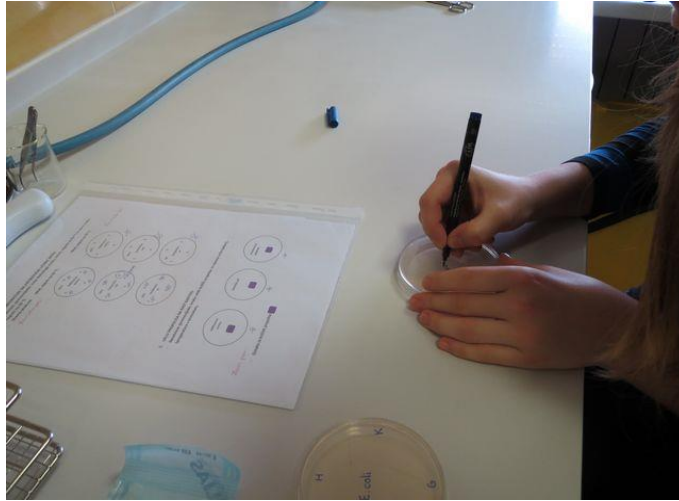
3.3 PRIPRAVA GOJIŠČ IZBRANIH VRST BAKTERIJ

Na zgornjo stran petrijevke gojišča bakterij sem najprej označila vrsto bakterije, vrsto medu ter na katero temperaturo je bil segret. Mentorica v laboratoriju je s pomočjo posebne palčke na gojišča nanesla izbrane vrste bakterij v zelo tankem sloju.

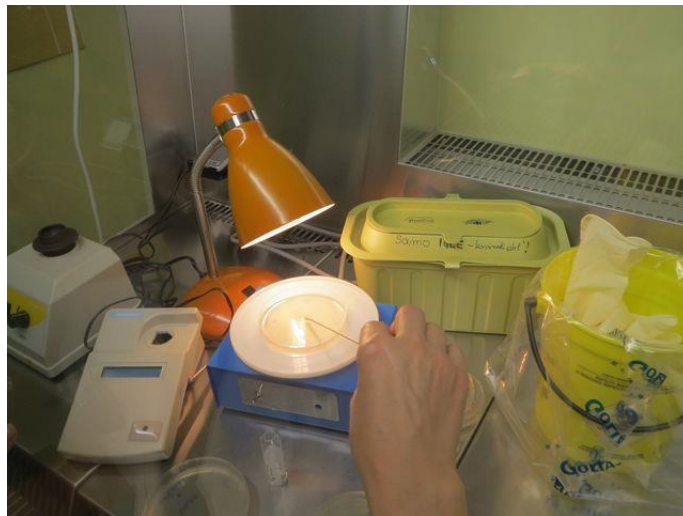
Shema poskusa 1: PRIMERJAVA ZAVIRALNEGA UČINKA IZBRANIH VRST TERMIČNO NEOBDELANEGA DOMAČEGA IN KUPLJENEGA MEDU NA RAZVOJ TREH VRST BAKTERIJ

(H – hojev med, K – kostanjev med, G – gozdni med, C – cvetlični med)





Slika 4: Označevanje petrijevk s podatki o vrsti medu in bakterij (Vir: osebni arhiv)



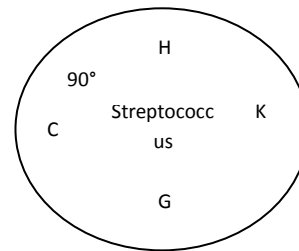
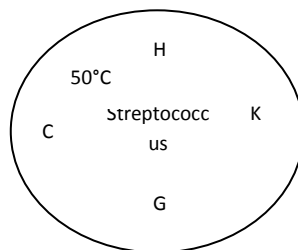
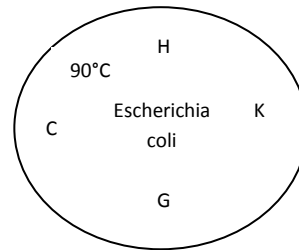
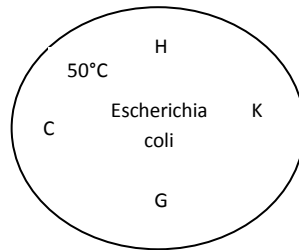
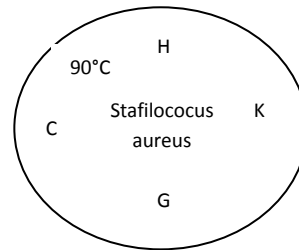
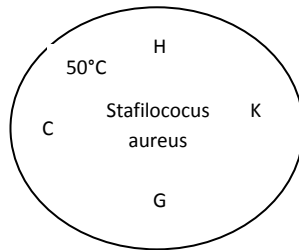
Slika 5: Nanašanje tankega sloja kulture bakterij na gojišče (Vir: osebni arhiv)

Shema poskusa 2: PRIMERJAVA ZAVIRALNEGA UČINKA IZBRANIH VRST TERMIČNO OBDELANEGA DOMAČEGA MEDU NA RAZVOJ TREH VRST BAKTERIJ

(H – hojev med, K – kostanjev med, G – gozdni med, C – cvetlični med)

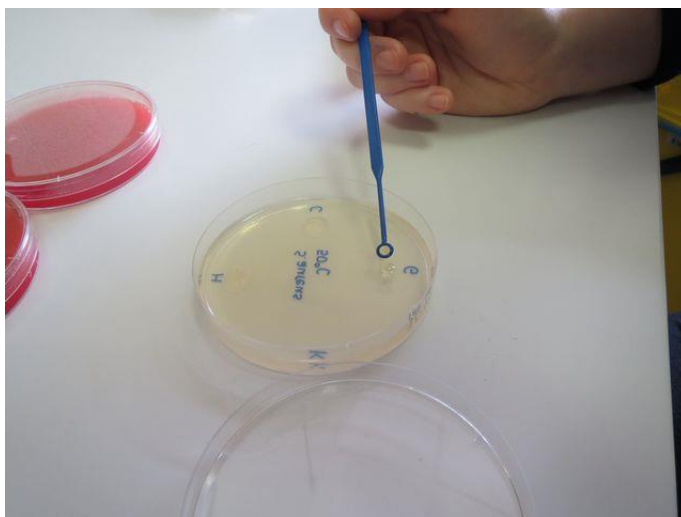
Med, segret na 50 °C

Med, segret na 90 °C



3.4 NANAŠANJE VZORCEV MEDU NA GOJIŠČA

Po eno kapljico vseh štirih vrst domačega in kupljenega medu sem na gojišča nanesla s sterilnimi ezami. Najprej sem poskusila med nanašati s sterilnimi kapalkami, kar se zaradi velike viskoznosti in gostote medu ni dalo. Nato sem na nova gojišča istih bakterij nanesla še toplotno obdelan med.

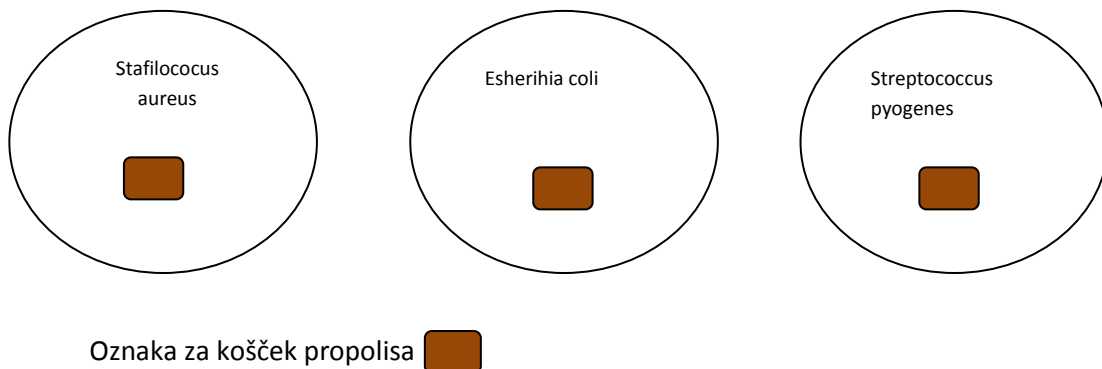


Slika 6: Nanašanje različnih vrst medu na izbrana gojišča bakterij (Vir: osebni arhiv)

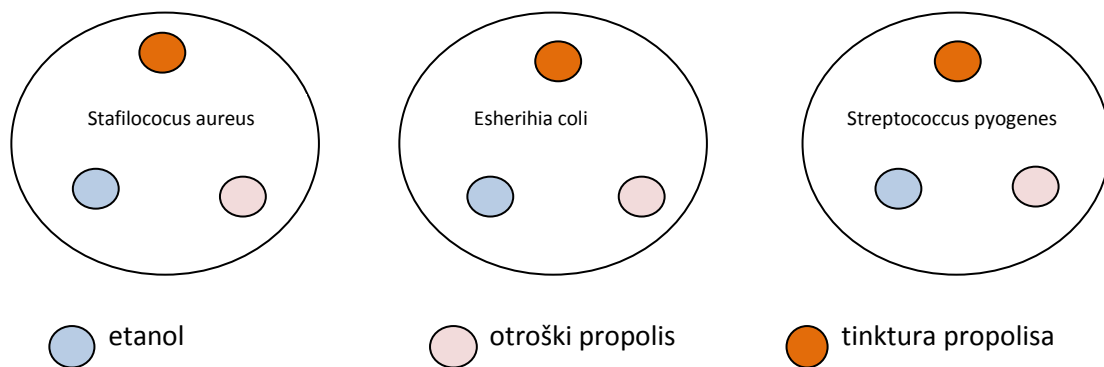
3.5 NANAŠANJE PROPOLISA NA GOJIŠČA

Enako velike suhe koščke propolisa sem na gojišča treh izbranih vrst bakterij dala s sterilno pinceto, kapljico alkoholne tinkture propolisa in otroškega propolisa pa sem na gojišče nanesla direktno iz stekleničke. Tudi v tem primeru sem uporabila gojišča z bakterijami *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* in *Streptococcus pyogenes*.

Shema 3: DELOVANJE SUHEGA PROPOLISA NA RAST BAKTERIJ



Shema 4: DELOVANJE ALKOHOLNE TINKTURE PROPOLISA, OTROŠKEGA PROPOLISA IN ETANOLA NA RAST BAKTERIJ



Slika 7: Propolis (Vir: osebni arhiv)



Slika 8: Tinkтури iz propolisa (Vir: osebni arhiv)

3.6 REZULTATI

Po 24 urah v termostatu so bila gojišča z vzorci pripravljena za meritev zaviralnega pasu okoli kapljic medu. Obvezen pripomoček za to je bilo kljunasto merilo.

3.6.1 PRIMERJAVA UČINKOV DOMAČEGA IN KUPLJENEGA MEDU

Poskus sem izvedla v dveh ponovitvah in rezultate strnila v spodnje tri tabele. Prvič sem izvedla poskus 21. 10. 2013, drugič pa 30. 10. 2013. Za domači med se je izkazalo, da ima boljši zaviralni učinek na rast bakterij kot kupljeni. Različne vrste bakterij se na različne vrste medu različno odzivajo. Pri primerjavi učinkovanja kapljic medu na tri izbrane vrste bakterij so se pokazali zanimivi rezultati.

Tabela 1: Velikost zaviralnih pasov različnih vrst medu na bakterijo *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus	Zaviralni pas (mm)			
	Domači med		Kupljeni med	
	21. 10.	30. 10.	21. 10.	30. 10.
Vrste medu				
Datum izvedbe				
Hojev med	20	8	17	0
Kostanjev med	30	8	0	0
Gozdni med	20	0	0	0
Cvetlični med	0	0	0	0

Na bakterijo *Staphylococcus aureus* imajo domače vrste medu večji učinek kot kupljene vrste. To pomeni, da je bil zaviralni pas, v katerem ni bilo bakterij, v povprečju večji pri uporabi domačih vrst medu. Izjema je cvetlični med. Cvetlični med ni zaviralno deloval na rast bakterije *Staphylococcus aureus*. Med vrstami medu iz trgovine je najbolj zaviralno na rast bakterij deloval hojev med, pri ostalih vrstah medu pa ni bilo opaziti kakšnih posebnih učinkov. Med domačimi vrstami medu je bil najbolj učinkovit pri zaviranju rasti bakterije *Staphylococcus aureus* domači kostanjev med. Tudi domači hojev in gozdni med sta imela sicer nekoliko manjši, ampak podoben učinek. Pri prvem nanosu kapljic medu na gojišče bakterije *Staphylococcus aureus* se je verjetno zgodilo, da so bile kapljice posamezne vrste medu nekoliko večje, zato je zaviralni pas večji. Pri drugi ponovitvi poskusa sem že bolje razvila večšine nanašanja vzorcev medu na gojišče bakterij. Kapljice so bile zato manjše in posledično tudi zaviralni pas.

Tabela 2: Velikost zaviralnih pasov različnih vrst medu na bakterijo *Escherichia coli*

Escherichia coli	Zaviralni pas (mm)			
	Domači med		Kupljeni med	
	21. 10.	30. 10.	21. 10.	30. 10.
Vrste medu				
Datum izvedbe				
Hojev med	18	6	17	0
Kostanjev med	23	0	18	0
Gozdni med	0	0	16	0
Cvetlični med	0	0	0	0

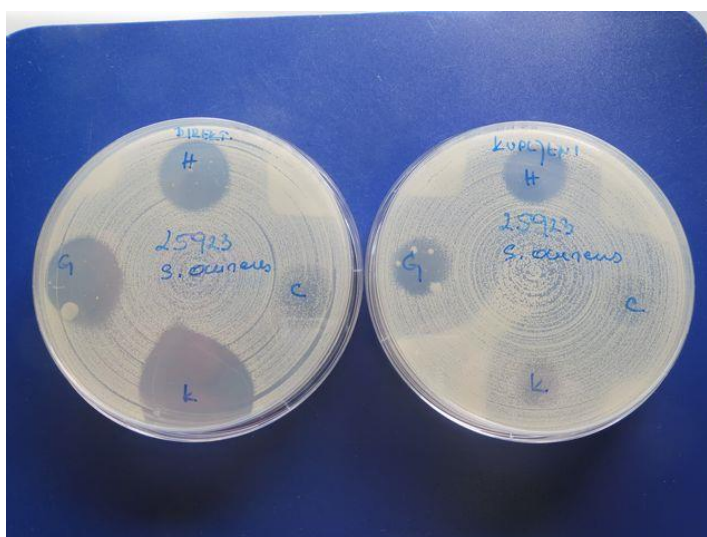
Na bakterijo *Escherichia coli* sta imeli obe skupini medu, domači in kupljeni med, približno enake učinke. Med domačimi vrstami medu je bil pri prvem poskusu najbolj učinkovit kostanjev med, sledil je hojev med. Domači gozdni in cvetlični med nista zaviralno vplivala na rast bakterije *Escherichia coli*. Pri drugem poskusu se je kot učinkovit pokazal le hojev med, kostanjev pa ne.

V primeru bakterije *Escherichia coli* so se pri prvem poskusu tudi kupljene vrste medu izkazale kot učinkovite. Na razmnoževanje bakterije *Escherichia coli* so zaviralno vplivali kostanjev, hojev in gozdni med, cvetlični med pa ne. Pri drugem poskusu nobena vrsta kupljenega medu ni učinkovala na bakterijo *E. coli*, kar si razlagam tako, da so bile na gojišča nanese ne premajhne kapljice medu, da bi bili učinki lahko sploh vidni.

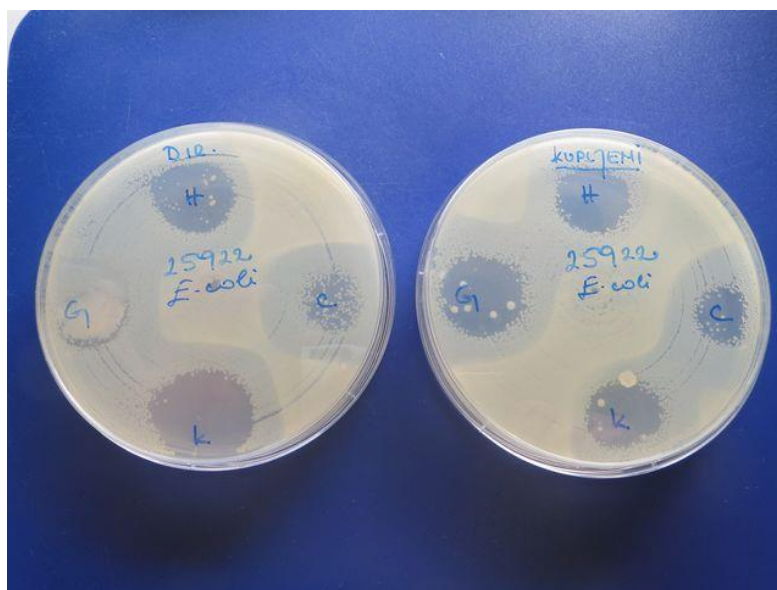
Tabela 3: Velikost zaviralnih pasov različnih vrst medu na bakterijo *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes	Zaviralni pas (mm)			
	Domači med		Kupljeni med	
Vrste medu				
Datum izvedbe	21. 10.	30. 10.	21. 10.	30. 10.
Hojin med	0	0	0	0
Kostanjev med	0	0	0	0
Gozdni med	0	0	0	0
Cvetlični med	0	0	0	0

Na razmnoževanje bakterije *Streptococcus pyogenes* ni imela nobena vrsta medu zaviralnega učinka, zato okoli kapljic nanesenega medu ni bilo zaviralnega pasu. Bakterije so se enakomerno razmnožile po vsej površini gojišča. Na gojišče z domačimi vrstami medu je prodrla celo neka plesen, ki je dodatno okužila poskus, kar se vidi na Sliki 11.



Slika 9: Velikost zaviralnega pasu za domače in kupljene vrste medu na gojišču bakterije *S. aureus* (Vir: osebni arhiv)



Slika 10: Velikost zaviralnega pasu za domače in kupljene vrste medu na gojišču bakterije *E. coli* (Vir: osebni arhiv)



Slika 11: Velikost zaviralnega pasu za domače in kupljene vrste medu na gojišču bakterije *S. pyogenes* (Vir: osebni arhiv)

3.6.2 PRIMERJAVA UČINKOV SEGRETEGA IN NESEGRETEGA MEDU

Z nanašanjem toplotno obdelanega medu sem želela ugotoviti velikost zaviralnega pasu pri treh različnih vrstah bakterij. Prvič sem nanesele vzorce na izbrana gojišča 21. 10., drugič pa 30. 10. 2013. Učinke toplotno obdelanega medu sem primerjala s toplotno neobdelanim. Pri poskusu sem uporabljala le domače vrste medu.

Tabela 4: Primerjava učinkov toplotno obdelanih in toplotno neobdelanih vrst medu na gojišče bakterije *S. aureus*

Staphylococcus aureus	Zaviralni pas (mm)					
	Toplotno neobdelan med		Med, segret na 50 °C		Med, segret na 90 °C	
Datum	21. 10.	30. 10.	21. 10.	30. 10.	21. 10.	30. 10.
Vrste medu:						
hojev med	20	8	0	12	0	0
kostanjev med	30	8	20	11	0	0
gozdni med	20	0	0	0	0	0
cvetlični med	0	0	0	0	0	0

Od segrelih vrst medu je zaviralne lastnosti na razmnoževanje bakterije *Stafilococcus aureus* najbolje ohranil kostanjev med. Če je bil ta segret le na 50 °C, je povzročil nastanek trideset milimetrov velikega zaviralnega pasu. Če pa je bil segret na 90 °C, pa učinkov ni bilo. To pomeni, da so se bakterij razmnožile po celotnem gojišču. V drugem poskusu je deloval zaviralno na rast te bakterije tudi hojev med. Ostale vrste medu so že pri 50 °C izgubile zmožnost zaviranja razmnoževanja bakterije *Stafilococcus aureus*. Vrste medu, segrete na 90 °C, niso imele nobenih zaviralnih učinkov na razmnoževanje bakterije *Stafilococcus aureus*.

Tabela 5: Primerjava učinkov toplotno obdelanih in toplotno neobdelanih vrst medu na gojišče bakterije *E. coli*

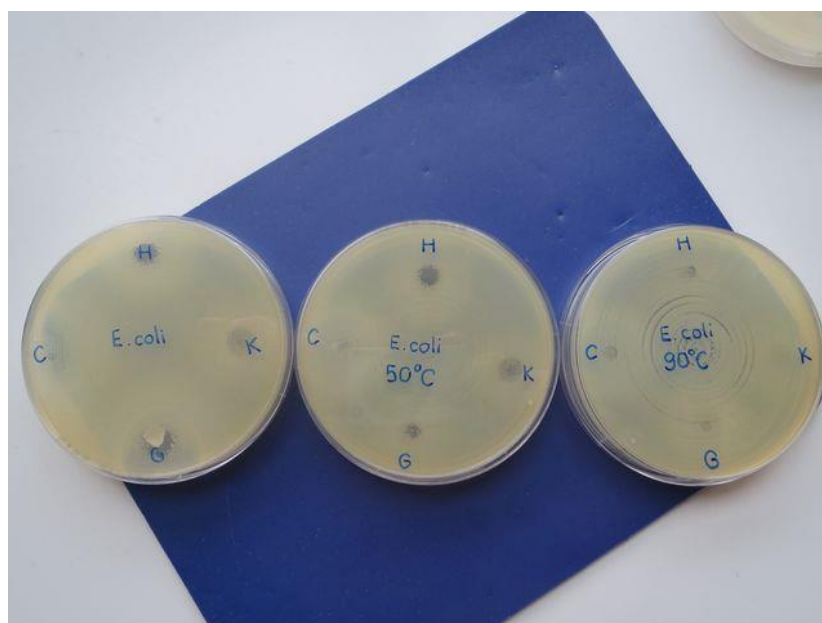
Escherichia coli	Zaviralni pas (mm)					
	Toplotno neobdelan med		Med, segret na 50 °C		Med, segret na 90 °C	
Datum	21. 10.	30. 10.	21. 10.	30. 10.	21. 10.	30. 10.
Vrste medu:						
hojev med	18	6	0	5	0	0
kostanjev med	23	0	20	0	0	0
gozdni med	0	0	0	0	0	0
cvetlični med	0	0	0	0	0	0

Tudi na bakterijo *Escherichia coli* je najbolj zaviralno med toplotno obdelanimi vrstami medu deloval kostanjev med, če je bil segret le na 50 °C. Pri drugi izvedbi poskusa sem dobila pozitiven rezultat pri drugi vrsti toplotno obdelanega medu, pri kostanjevem medu pa ne. Rahel zaviralni pas je nastal pri hojevem medu, ki sem ga segrela na 50 °C. Rezultati so jasno pokazali, da med, ki je segret na 90 °C, nima zaviralnih učinkov na rast bakterije *Escherichia coli*.

Tabela 6: Primerjava učinkov toplotno obdelanih in toplotno neobdelanih vrst medu na gojišče bakterije *S. pyogenes*

Streptococcus pyogenes	Zaviralni pas (mm)					
	Toplotno neobdelan med		Med, segret na 50 °C		Med, segret na 90 °C	
Datum	21. 10.	30. 10.	21. 10.	30. 10.	21. 10.	30. 10.
Vrste medu:						
hojev med	0	0	0	0	0	0
kostanjev med	0	0	0	0	0	0
gozdni med	0	0	0	0	0	0
cvetlični med	0	0	0	0	0	0

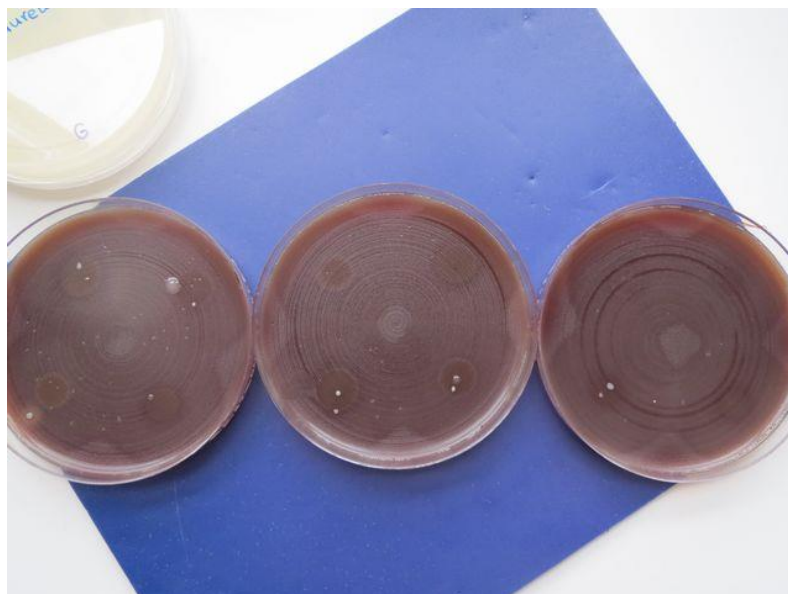
Pri delovanju toplotno obdelanih vrst domačega medu na bakterijo *Streptococcus pyogenes* sem ugotovila, da ni nobenih zaviralnih učinkov na razmnoževanje. Bakterije so se po vsem gojišču razmnožile v prisotnosti toplotno obdelanega in toplotno neobdelanega medu.



Slika 12: Primerjava velikosti zaviralnega pasu za domači toplotno obdelan in toplotno neobdelan med na gojišču bakterij *E. coli* (Vir: osebni arhiv)



Slika 13: Primerjava velikosti zaviralnega pasu za domači toplotno obdelan in toplotno neobdelan med na gojišču bakterij *S. aureus* (Vir: osebni arhiv)



Slika 14: Primerjava velikosti zaviralnega pasu za domači toplotno obdelan in toplotno neobdelan med na gojišču bakterij *S. pyogenes* (Vir: osebni arhiv)

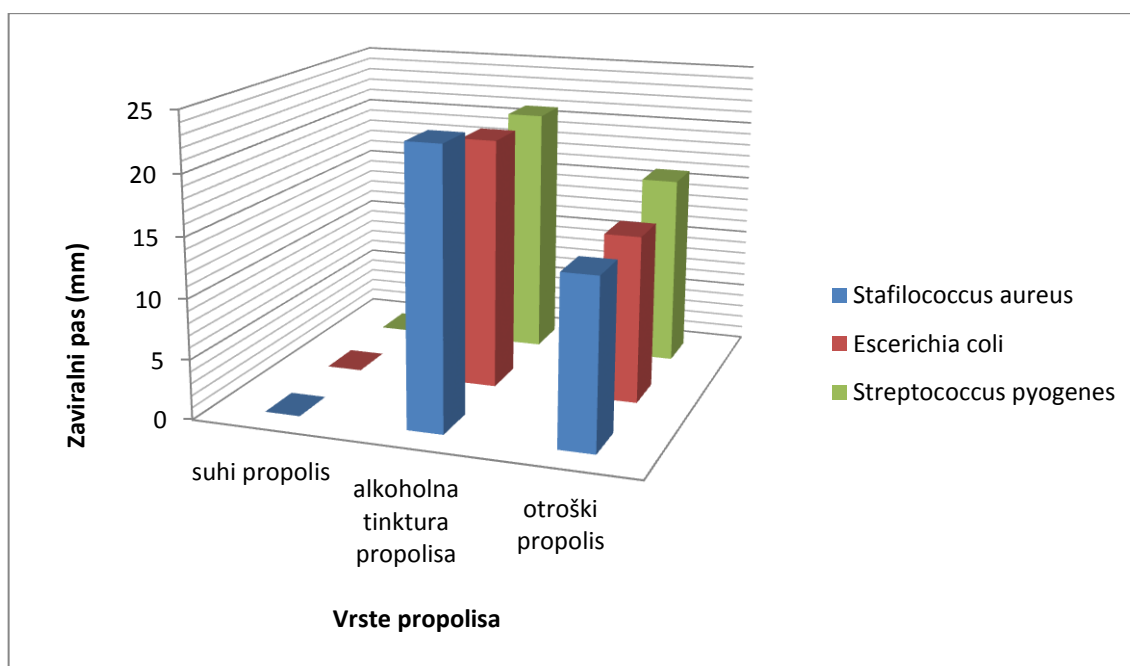
3.6.3 PRIMERJAVA UČINKOV PROPOLISA NA IZBRANE VRSTE BAKTERIJ

Okoli suhih koščkov propolisa so se bakterije prosto razširile. To pomeni, da suhi propolis ni imel zaviralnega učinka na rast nobene od vrst bakterij. Zelo učinkovita sta bila alkoholna tinktura iz propolisa in otroški propolis. Alkoholna tinktura je imela nekoliko boljši učinek

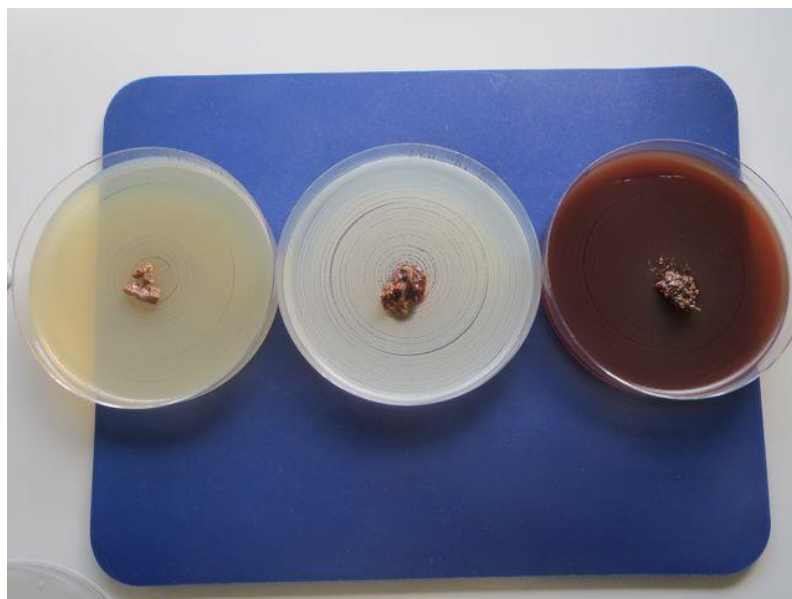
kot otroški propolis. Alkoholna tinktura in otroški propolis sta zaviralno delovala tudi na razširjanje bakterije *Streptococcus pyogenes*, kar ni uspelo nobeni od vrst medu.

Tabela 7: Primerjava učinkov različnih oblik propolisa na *S. aureus*, *E. coli*, *S. pyogenes*

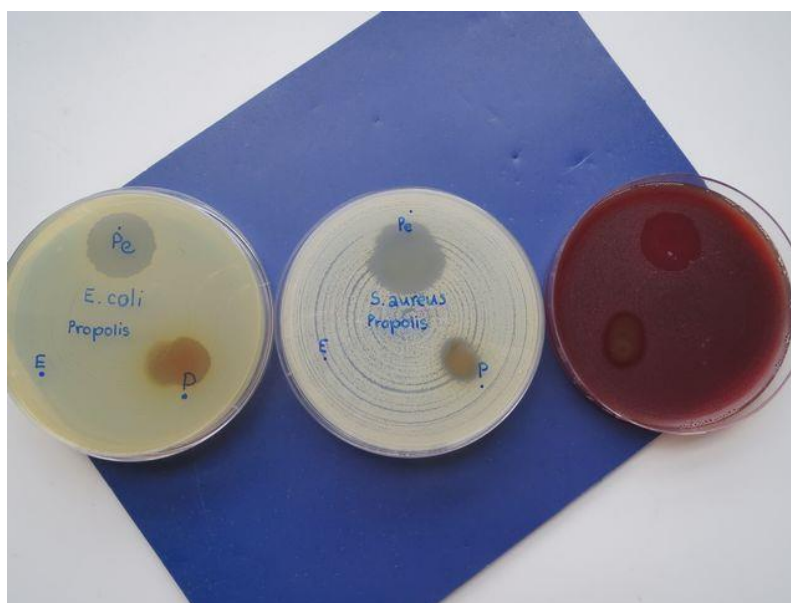
Vrste bakterij	Velikost zaviralnega pasu (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Suhi koščki propolisa	0	0	0
Alkoholna tinktura	23	21	21
Otroški propolis	14	14	16
Etanol	0	0	0



Graf 1: Velikost zaviralnega pasu pri delovanju različnih vrst propolisa na izbrane bakterije



Slika 15: Rezultati delovanja suhega propolisa na gojišča bakterij *E. coli*, *S. aureus* in *S. pyogenes* (Vir: osebni arhiv)



Slika 16: Rezultati delovanja alkoholne tinkture in otroškega propolisa na gojišča bakterij *E. coli*, *S. aureus* in *S. pyogenes* (Vir: osebni arhiv)

4 ANALIZA REZULTATOV LABORATORIJSKEGA DELA

Na bakterijo *Staphylococcus aureus* so imeli v prvem poskusu (izvedenem 21. 10. 2013) domači kostanjev, domači hojev in domači gozdni med najbolj zaviralni učinek na rast bakterij. Takšne rezultate sem tudi pričakovala, zato me niso presenetili. V drugem poskusu (izvedenem 30. 10. 2013) so se premeri zaviralnih pasov občutno zmanjšali, najverjetneje zaradi tega, ker so se kapljice medu manj razlezele po gojišču bakterij kot v prvem poskusu. Kupljeni med na bakterijo *Staphylococcus aureus* ni imel nobenega učinka, izjema je bil le hojev med, pri katerem je bil zaviralni pas okoli kapljice medu kar precej širok.

Domnevam, da sem pri drugem nanašanju na pripravljena gojišča bakterij s pomočjo eze kanila manjše kapljice medu kot pri prvem nanašanju. Zato so bili zaviralni pasovi okoli nanesenih kapljic medu pri vseh vzorcih manjši. Pri obeh poskusih sem nanašala na gojišča bakterij iste vzorce medu, ki so bili med obema poskusoma skrbno zaprti in na temperaturi pod 25 °C. Dejstva, da so se pojavili pri drugem poskusu manjši zaviralni pasovi okoli kapljic medu ne znam pojasniti drugače, kot da predpostavim, da sem pri drugem poskusu na gojišče nanesla manjše kapljice medu.

Domače vrste medu so v prvem poskusu imele večji zaviralni pas na gojišču bakterije *Escherichia coli* kot v drugem poskusu. Najbolj so me presenetili precej veliki obsegi zaviralnih pasov kupljenih vrst medu, ki so nastali v prvem poskusu, saj sem predvidevala, da bo imel v trgovini kupljeni med manjši zaviralni učinek na rast bakterij. Pri tem moram upoštevati tudi to, da so se kapljice kupljenega medu najverjetneje bolj razlile po površini gojišča, saj so bile kupljene vrste medu bolj tekoče kot domače vrste. V drugem poskusu kupljeni med ni imel nobenega zaviralnega učinka na rast bakterije *Escherichia coli*. Kot sem že omenila, sem se v drugi ponovitvi poskusa zelo potrudila, da bi bile dodane kapljice pri vseh vrstah medu, ki sem jih nanašala na gojišča, čim bolj enako velike.

Niti domače niti kupljene vrste medu niso imele nobenega zaviralnega učinka na rast bakterije *Streptococcus pyogenes*, zato predvidevam, da je to zelo trdovratna bakterija. Po navedbah v literaturi povzroča vnetje mandljev in žrela, obnosnih votlin, srednjega ušesa in druge težave. Razvoj bolezni, ki jo povzroča bakterija *Streptococcus pyogenes*, lahko preprečimo le z jemanjem antibiotikov. Iz tega primera sem ugotovila, da imajo antibiotiki v primerjavi z medom veliko večji zaviralni učinek na razvoj bakterij.

Pri primerjavi antibiotičnih učinkov toplotno obdelanega in toplotno neobdelanega medu sem uporabljala le domače vrste medu, ker sem sklepala, da imajo domače vrste medu boljši zaviralni učinek na razrast kolonij bakterij. Pri segrevanju na 50 °C so nekatere vrste medu še ohranile zaviralni učinek, pri segrevanju na 90 °C pa tega učinka ni imela več nobena vrsta medu. Najbolje je prenašal segrevanje kostanjev med. Ta vrsta medu je tudi pri toplotni obdelavi pri 50 °C obdržala nekaj zaviralnih učinkov na rast bakterij *S. aureus* in *E. coli*. Zelo podoben, vendar malo manjši učinek je imel tudi na 50 °C segret hojev med. Tako lahko sklepam, da bosta ti dve vrsti medu blago učinkovali proti prehladu, tudi če ju pomešamo s toplim čajem. Zdaj razumem, zakaj medu nikoli ne smemo dodati v vroč čaj, če želimo, da nam bo lajšal tegobe prehlada. Med, ki je segret na 90 °C, izgubi vse učinke na

zaviranje rasti bakterij. V tem primeru lahko služi le kot sladilo. Kostanjev in hojev med, ki sta tudi pri temperaturi 50 °C imela jasno izražen zaviralni učinek v gojišču prvih dveh vrst bakterij, spadata med temne vrste medu. Tudi splošno prepričanje in izkušnje ljudi kažejo na to, da so temnejše vrste medu bolj zdrave kot svetle.

Ko primerjam rezultate zaviralnih učinkov na rast bakterij za različne vrste medu, se zavedam, da izmerjenih obsegov zaviralnih pasov za posamezne vrste medu ni mogoče vzeti za povsem točne, ker:

- enako velikih količin medu ni bilo mogoče odmeriti, zato kapljice medu morda niso bile enako velike;
- so se kapljice medu po nanosu zaradi različne gostote medu različno razlezele po gojišču bakterij.

Suhi koščki propolisa presenetljivo niso imeli prav nobenega antibiotičnega učinka, čeprav je znano, da zavira rast več kot tridesetih vrst bakterij in drugih mikroorganizmov. Propolis ali zadelavina je namreč naravni antibiotik čebel. Uporabljajo ga za ohranjanje suhega in čistega doma. Z njim namažejo špranje v panju in se tako zavarujejo pred vlago, prepihom, in mikroorganizmi. Očitno na tri izbrane vrste bakterij, ki sem jih uporabljala pri poskusih, suhi propolis ni imel učinka. Vendar pa se je tinktura iz propolisa, ki jo običajno uporabljamo za odpravljanje prehladnih obolenj ali za preventivo, obnesla čisto drugače. Spraševala sem se, kaj bolj zavira rast bakterij v tinkturi, etanol ali propolis. Žal je čisti etanol kmalu po nanosu na gojišče izhlapel, zlasti zato, ker smo gojišča postavili v termostat na temperaturo 37 °C. Zato etanol, prav tako kot suhi propolis, ni imel nobenega zaviralnega učinka na rast bakterij. Podobne zaviralne učinke kot jih ima alkoholna tinktura propolisa, je imel tudi otroški propolis. Ta je pripravljen brez etanola. Tako lahko domnevam, da je lahko propolis, raztopljen v primernem topilu, zelo učinkovito sredstvo proti prehladom. To zlasti potrjuje dejstvo, da sta tinktura iz propolisa in otroški propolis zaviralno učinkovala celo na *S. pyogenes*, ki povzroča poleg drugih bolezni tudi angino. Od vseh, v poskusih uporabljenih čebeljih proizvodov, je imela alkoholna tinktura najboljši zaviralni učinek na vse tri vrste bakterij.

Skupna ugotovitev je, da je koristno vključevati med v prehrano, če se želimo obvarovati prehladnih obolenj. Morda je vseeno bolje kupiti med neposredno od čebelarjev, saj tovrstni med morda ohrani večji delež snovi, ki zavirajo rast mikroorganizmov. Domnevam, da se pri industrijski predelavi medu del teh snovi izgubi, zato so bili okoli kapljic kupljenega medu na gojiščih bakterij nekoliko manjši zaviralni pasovi. Za preventivo pred prehladnimi obolenji pa glede na rezultate poskusov gotovo odlično služi tinktura iz propolisa.

5 POTRDITEV HIPOTEZ

Moja prva hipoteza je bila, da domači med bolj zaviralno vpliva na rast bakterij kot kupljeni. To hipotezo lahko potrdim, saj so bili v večini primerov obsegi zaviralnih pasov domačih vrst medu res večji kot zaviralni pasovi kupljenih vrst. Vendar tudi kupljene vrste medu niso brez učinka. Hipotezo lahko delno potrdim, saj tudi domača vrsta cvetličnega medu ni imela izrazitega zaviralnega pasu v gojiščih vseh treh vrst bakterij.

V drugi hipotezi sem predpostavljala, da visoka temperatura uniči nekatere koristne snovi v medu, zato med, ki je segret na 50 °C, nima več tako izrazitih zaviralnih učinkov na rast bakterij kot toplotno neobdelan med. Domnevala sem, da pri temperaturi 90 °C med popolnoma izgubi zaviralni učinek na rast bakterij. Visoka temperatura je zagotovo uničila vse snovi v medu, ki zavirajo razvoj bakterij, zato okoli kapljic medu, ki so bile segrete na najvišjo temperaturo, ni bilo zaviralnega pasu. Nekatere vrste medu prenesejo segrevanje na 50 °C in vsaj deloma ohranjajo zaviralni učinek na razvoj bakterij. Hipotezo lahko potrdim.

Tretja hipoteza je bila, da imajo temne vrste medu večji antibiotični učinek kot svetle vrste. Temni vrsti medu, uporabljeni pri raziskovalnem delu, sta bili: kostanjev in hojev. Gozdni med je bil po barvi nekje na sredini med svetlo in temno različico. Svetla vrsta medu je bila cvetlični med, za katerega se je res izkazalo, da ima v primerjavi z ostalimi vrstami občutno manjšo učinkovitost. Torej lahko potrdim tudi tretjo hipotezo.

6 ZAKLJUČEK

Ta raziskovalna naloga je nastala, ker sem želela podrobneje raziskati vpliv naravnih čebeljih pridelkov, kot sta med in propolis, na nekatere vrste bakterij. Zanimalo me je predvsem, ali je res to, kar navaja literatura. Svoje zastavljene hipoteze sem potrdila. Z raziskovalnim delom, med katerim sem se tudi marsikaj naučila in pridobila neprecenljive izkušnje, pa sem tudi nadvse zadovoljna.

Bolj ali manj drži, da ima domači med več zaviralnih učinkov na razvoj izbranih bakterij v gojiščih kot kupljeni. Prav tako se je bolje odrezal toplotno neobdelan med, torej med s segrevanjem izgubi svoje učinkovine. Temne vrste medu pa so imele več zaviralnih učinkov na rast bakterij kot cvetlični med, ki je svetla vrsta medu.

Pri raziskovalnem delu me je najbolj presenetilo, da suhi propolis ni imel zaviralnega učinka na razvoj bakterij *E. coli*, *S. aureus* in *S. pyogenes*, alkoholna tinktura propolisa in otroški propolis pa sta ga imela. Zakaj je tako, še iščem odgovor. Pogosto vzamem v roke revijo Slovenski čebelar, saj upam, da bom nekoč naletela na članek, v katerem bom našla odgovor na svoje vprašanje. Pričakovala sem nekoliko drugačen rezultat, in sicer, da bo imel suhi propolis boljši zaviralni učinek na razvoj bakterij kot njegova tinktura.

Za zaključek sem na spletu poiskala še zanimivo misel o medu in čebelah: »Če pristni je čebelji med, je prava to nebeška jed, otroci se po njem krepe in starši se po njem rede. Vsak med pa nima te lastnosti, saj tudi medu umetnega je dosti, le kar čbelica nam da, to nas poživi in okrepča« (<http://sl.netlog.com/medenimoz/blog/blogid=159316>, 3. 2. 2014).

LITERATURA IN VIRI

A) Literatura:

Andlovic, A., idr. 1999. *Praktikum iz mikrobiologije in imunologije*. Ljubljana: Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani.

Božnar, M. 2002. *Zaklad iz čebeljega panja*. Ljubljana: ČZD Kmečki glas.

Golob, T., idr. 2008. *Med*. Ljubljana: Čebelarska zveza Slovenije, Javna svetovalna služba v čebelarstvu.

Herold, E. 1974. *Čebele in zdravje*. Maribor: Založba obzorja Maribor.

Rupnik, M., idr. 2005: *Splošna mikrobiologija*. Ljubljana: Študentska založba.

B) Spletni viri:

Čebelarska zveza Slovenije *Slovenski med*. Najdeno 8. 11. 2013 na spletnem naslovu http://www.slovenskimed.si/2013Si/med_vrste.php

Munda, Miha. 2011. *Kaj je bakterija E. coli?* Najdeno 8. 11. 2013 na spletnem naslovu <http://www.aktivni.si/zdravje/preventiva/kaj-je-bakterija-e-coli/>

Čebelarska zveza društev Pomurja. 2013. *Med*. Najdeno 8. 10. 2013 na spletnem naslovu http://www.czdp.si/?page_id=41