

Mladi za napredek Maribora 2019

35. srečanje

Čebelji dar – le hrana bogov?

Raziskovalno področje: Biologija

Raziskovalna naloga

Avtor: EVA RAKIČ

Mentor: NIKOLA RAKIČ, DIANA TRIFUNOVIČ

Šola: OŠ ANGELA BESEDNJAKA MARIBOR

Število točk: 140/ 170

Mesto: 4

Priznanje: bronasto

Maribor, februar 2019

Mladi za napredek Maribora 2019

35. srečanje

Čebelji dar – le hrana bogov?

Raziskovalno področje: Biologija

Raziskovalna naloga

Maribor, februar 2019

POVZETEK

Med je nekoč veljal za tekoče zlato, saj si ga ni mogel privoščiti prav vsak. Njegova vrednost pa se ni kazala le v izvrstnem okusu, temveč tudi na številnih drugih področjih kot sta zdravilstvo in konzerviranje raznih živil.

V raziskovalni nalogi bom raziskala vpliv cvetličnega in gozdnega medu iz štirih naravnogeografskih enot Slovenije, ter vpliv petih vrst medu iz ene naravnogeografske enote na bakterije s pomočjo gojenja mikroorganizmov na trdnih gojiščih. Sklepam, da se učinki le teh razlikujejo glede na izvor in vrsto medu.

ZAHVALA

Najprej bi se zahvalila svojima mentorjema, ki sta mi pomagala z vsemi izzivi pri eksperimentirnem in teoretičnem delu.

Pomembno vlogo je imela tudi organizatorica prehrane na šoli, ki mi je pomagala zbrati vse vrste medu iz vseh geografskih območij Slovenije. Na začetku sem naletela na veliko težavo, saj je bilo zelo težko najti vsaj dve vrsti medu, ki bi se nahajali v vseh naravnogeografskih enotah.

Zahvaliti se želim tudi vsem čebelarjem, ki so mi odstopili svoj med v raziskovalne namene, ti so: g. Jurij Majerle, g. Nace Valjavec, ga. Lidia Anna Inkret, g. Dušan Podvršnik, ga. Paula Karmel, Čebelarstvo Perne, Čebelarstvo Kotnik, Čebelarstvo Breg Franc, Čebelarstvo Vogrinec, Čebelarstvo Lisjak, Čebelarsko društvo Lovrenc, Čebelarstvo Apideja: Hiša medu.

Zahvaljujem se podjetju Mlekarna Celeia d. o. o., ki nam je priskrbelo kulturo bakterij.

Zahvalila bi se tudi svoji družini za podporo in nasvete.

KAZALO VSEBINE

POVZETEK	2
ZAHVALA.....	3
KAZALO VSEBINE	4
KAZALO SLIK.....	5
1. UVOD	6
1.1 Raziskovalna vprašanja.....	7
1.2 Delovne hipoteze.....	7
2. TEORETIČNO OZADJE.....	8
2.1 Čebele in nastanek medu	8
2.1.1 Medičina ali nektar	8
2.1.2 Medena rosa ali mana	8
2.2 Vrste medu	9
2.3 Značilnosti Slovenskega medu.....	10
2.3.1 Kranjska čebela.....	10
2.4 Naravnogeografske enote Slovenije.....	10
2.5 Difuzijski antibiogram	12
2.6 Mikroorganizmi	12
2.6.1 Bakterije ustne sluznice.....	13
2.7 Agar	13
3. MATERIALI IN METODE DE LA	14
3.1 Materiali in pripomočki	14
3.2 Priprava agarja.....	14
3.3 Nanos bakterij in medu	14
3.4 Razporeditev medu glede na raziskovalna vprašanja	16
3.5 Metoda odčitavanja podatkov	17
4. REZULTATI.....	18
Metoda 1	18
Metoda 2	18
Metoda 3	19
Metoda 4	19
Metoda 5	20
Metoda 6	20

5. RAZPRAVA IN ZAKLJUČEK	21
6. DRUŽBENA ODGOVORNOST.....	22
7. VIRI IN LITERATURA	23

KAZALO SLIK

Slika 1: Naravnogeografska delitev Slovenije.

(SENEGAČNIK, Jurij. 2015. Geografija Slovenije, Učbenik za 9. razred osnovne šole. Ljubljana.

Modrijan, str. 15).....	11
Slika 2: Hranilni agar in petrijevke s pripravljenim gojiščem.....	15
Slika 3: Razporeditev diskov z vzorci na gojišču.	16
Slika 4: Razvit antibiogram z razredčenimi vzorci medu.	18
Slika 5: Razlit med na agarju.....	18
Slika 6: Razvit atibiogram bakterj iz sline in vzorci medu.....	19
Slika 7: Razvit antibiogram z bakterijami ust, rok in mize z vzorci medu.....	19
Slika 8: Antibiogram z vzorci medu, bakterijo Lactobacillus in diskom z vodikovim peroksidom.....	20

1. UVOD

Med je hrana za vse, zdrave in bolne, v vseh življenjskih obdobjih in vseh letnih časih. Uporabimo ga lahko z namenom, da si okrepimo telo ali pa kot sladilo in dodatek jedem.

Med že od nekdaj posebej nesmrtnost in ponovno rojstvo. Daje moč, krepi močatost in prispeva k plodnosti. Zanj so menili, da je afrodizijak. Pri vseh ljudstvih najdemo med v ljudskem izročilu v povezavi s čaščenjem bogov in slavljenjem vladarjev. Ljudi je spremljal ob vsakršnih praznikih, porokah, večjih kmečkih opravilih, pa tudi med boleznijo in ob smrti.

Med je kompleksno zdravilo različnih snovi, ki mu dajejo vsestransko hranilo, obrambo in zdravilno uporabnost. Nosilci terapevtskih učinkov so z ene strani njegove samostojne sestavine in z druge strani njihovo celovito zdravilno delovanje na bolni organizem v celoti.

Tako na primer sladkorji (fruktoza in glukoza) iz medu delujejo ne samo kot energetska snov, ampak tudi kot terapevtska učinkovina. Medu pripomoreta k reguliranju živčnega sistema, pri širjenju žil, izboljšujeta prehrano srčne mišice, krepita diurezo, pospešujeta presnovo, zaustavljata krvavitve, normalizirata delovanje srca, znižujeta krvni pritisk. Med priporočajo pri dekompenzaciji srca, aritmije, hipertonije, edemov zaradi nepravilnega delovanja srca ali jeter kot tonizirajoče sredstvo. Zaradi sladkorjev v kombinaciji z minerali, encimi, vitamini in organskimi kislinami je med pomembno detoksičen (protistrupen) in protisklerotičen.

Zdravilne lastnosti medu lahko razvrstimo takole:

- povečuje imunološke lastnosti organizma,
- deluje protibakterijsko, protiprotizojno in protimikotično (protiglivično),
- deluje protivnetno, hiposenzibilitivno (protialergijsko), hemoatopoezično (krvotvorno),
- učinkuje ekspektorancijo (izkašljevanje iz pljuč),
- pomaga pri regeneraciji (obnavlja poškodovane dele celic in tkiv),
- deluje kardiotonično (spodbuja delovanje srca), neuretično, detoksično (razstrupljajoče),
- odpravlja bolečine,
- preprečuje zapeko,
- deluje tonizirajoče (naravni doping).

Antibakterijske snovi v medu:

V pogled protimikrobnih lastnosti medu so objave v publikacijah zelo različne. Zaradi tega so Bolgari naredili raziskave protibakterijskega delovanja različnih vrst medu. Raziskali so 52 vrst medu v starosti od enega do šest let. Uporabili so kvantitativne in kvalitativne metode, metode presajanja in iskanja hlapljivih protimikrobnih snovi v medu. Rezultati so pokazali da med vsebuje protimikrobne snovi z bakterostatičnim in baktericidnim delovanjem. Prvi so ugotovili hlapljive protimikrobne snovi v medu, ki se izločajo pri segrevanju nad 37 °C.

Jaz sem dobila precej podobno idejo, raziskati protibakterijske učinke slovenskih vrst medu. Pričakujem drugačne rezultate, saj sta Bolgarija in Slovenija po geografski legi in značilnostih bistveno drugačni. Slovenija, ki je znana po svoji spreminjajoči se reliefni obliki, nam je dala priložnost pisanja te raziskovalne naloge. Različne reliefne oblike pomenijo različne rastlinske pasove. Lastnosti medu pa se razlikujejo od rastline iz katerega je nastal. To pa nas pripelje do različnih antibakterijskih učinkov.

1.1 Raziskovalna vprašanja

Z nalogo sem želela odgovoriti na dve raziskovalni vprašanji:

1. Ali imajo vrste medu iz različnih geografskih področij različno antibakterijsko delovanje?
2. Ali imajo različne vrste medu iz enakega geografskega področja različno antibakterijsko delovanje?

1.2 Delovne hipoteze

1. Predvidevam, da iz krajev, kjer so vremenske razmere slabše, prihaja tudi manj kvaliteten med. Tam kjer je več padavin se zna zgoditi, da je tudi manj pridelanega medu. Manj medu je tudi takrat, kadar so temperature prenizke, cvetovi zmrznejo in čebele niso zmožne opráševati rastlin.
Predvidevam, da bo imel med iz Alpskih pokrajin slabši antibakterijski učinek, kot med, ki prihaja iz Obpanonskih pokrajin, zato ker je v Alpskih več dežja.
2. Predvidevam, da bo med, ki je nastal iz zelišč imel večji antibakterijski učinek, kot med, ki je nastal iz običajnih travniških rastlin.
3. Popolnoma čist vrstni med je mogoče pridelati samo v rastlinjakih, v katerih je zasajena samo ena vrsta rastlin in iz katerih čebele nimajo izhoda v naravo. Čebelarji pridelujejo vrstni med tedaj, kadar na določenih območjih intenzivno medi samo ena vrsta, tako da je v končnem proizvodu, tj. v medu, več kot 50 odstotkov medu iz te konkretne rastline. Takih paš je v Sloveniji precej, ponekod so včasih bolj, včasih manj izrazite, zato se razlikuje tudi vrstni med. Tako se na primer akacijev med iz prekmurja razlikuje od akacijevega medu iz Goriške po vsebnosti medu iz drugih rastlin, ki so tipične za to območje.

2. TEORETIČNO OZADJE

2.1 Čebele in nastanek medu

Čebele so zelo pomembna živa bitja, saj oprahujejo rastlinske cvetove. Živijo v združbah imenovanih družine in vsak član družine je nujno potreben saj opravlja natančno določeno delo. Člani čebelje družine so:

- matica (1),
- čebele (20.000 – 80.000),
- trot (600 do nekaj tisoč).

Glede na delo, ki ga čebele opravljajo delimo hišne/panjske čebele in pašne čebele. Pašne čebele se ukvarjajo predvsem z nabiranjem medičine, nektarja, sladkih sokov oziroma medene rose, cvetnega prahu in različnih rastlinskih smol. Nabiralke medičine, nektarja, letajo od cveta na cvet in ostajajo zveste isti vrsti rastline.

2.1.1 Medičina ali nektar

Medičina ali nektar je sladkasta in dišeča tekočina, ki jo izločajo posebne žleze v cvetovih, imenovane nektariji ali medovne žleze. Čebele jo nabirajo in nato predelajo v med. Medičino sestavljajo voda (80 %), različni sladkorji (20 %), dišave in majhne količine drugih primesi. Sestava medičine se razlikuje glede na vrsto rastline, v kateri nastane. Od vrste sladkorja, ki prevladuje v neki medičini, so odvisne tudi lastnosti medu, pridobljenega iz te medičine, in predvsem njegova gostota. V medu je različna tudi koncentracija sladkorja. Velike razlike so največkrat posledica vremenskih razmer.

Medičina seveda še ni med. Med izdelava s pomočjo biokemične preobrazbe šele čebela. Zato je med kot čebelji izloček živalskega izvora. Zmanjševanje količine vode v medičini in koncentracija sladkorjev v njej potekata po načelu tako imenovane trofalaksije, izmenjavanja hrane iz ust v usta, ki je značilna za vse socialne žuželke. Čebele, ki v panju od pašnih čebel sprejmejo nabrano in deloma predelano medičino, iz katere je že odstranjena odvečna voda, odlagajo ta zgoščeni nektar v celice v satju, kjer še naprej dozoreva in se končno spremeni v med. Celoten proces predelave oziroma zorenja traja štiri do pet dni – trajanje je odvisno od toplote v panju.

2.1.2 Medena rosa ali mana

Medena rosa ali mana je sladkasta in lepljiva tekočina, ki se pojavlja na listih različnih dreves, kot so lipa, hrast, javor, breza ipd. ter na iglavcih, kot so hoja, smreka, bor ipd. Izločajo jo različni drobni insekti, kot so listne uši, mušice ipd., ki se hranijo z rastlinskim sokom dreves. Čebele jo zbirajo tako kot medičino s cvetov.

2.2 Vrste medu

Cvetlični med

Cvetlični med so nabrale čebele na cvetočih slovenskih travnikih in sadovnjakih. Je rumeno rjave barve, ki je odvisna od cvetlic, kjer so čebele nabirale medičino. Običajno kristalizira hitro, kristalizacija je lahko popolna ali pa delna z velikimi kristali.

Cvetlični med uvrščamo med lažje prebavljive medove blagega okusa, primerne tudi za otroke in starejše. Posebej se priporoča uživanje tega medu srčnim bolnikom in bolnikom z nizkim krvnim tlakom.

Gozdni med

Gozdni med je svetlo do temno rjave barve, močna aroma, okus pa slahek, poln, prijeten in običajno močan. Kristalizacija je sredja in navadno zajame vso količino. Zdravilen pri vnetjih dihalnih poti in živčni napetosti. Priporočajo ga slabokrvnim ljudem. Krepi odpornost organizma.

Hojev med

Hojev med so čebele nabrale v jelovih gozdovih. Za ta med je značilno, da je temno rjave barve z zelenim odsevom. Je sladkega okusa, po mentolu in sladu ter ima srednje intenziven vonj po smoli in žganju. Kristalizira običajno počasi in kristaliziran postane svetle barve. Bogat je z minerali in primeren za boleznih dihal.

Kostanjev med

Kostanjev med je rdečkasto rjave barve značilnega vonja in rahlo grenkega okusa zaradi cvetnega prahu, ki ga je v tem medu največ. Ker kostanj in lipa cvetita istočasno je v kostanjevem medu še okrog 30% lipovega, ki omili grenak okus. Ugodno deluje na prebavila, jetra, nespečnost in živce.

Lipov med

Po izvoru je lahko ali maninega izvora ali pa cvetličnega izvora. Ima značilno svetlo rumeno do svetlo jantarjevo barvo. Za to vrsto medu je značilna tudi dokaj hitra kristalizacija. Ima značilen blahek okus in vonj ter številne zdravilne lastnosti. Med drugim se uporablja za lajšanje prehlada (omogoča lažje izločanje sluzi iz nosu in grla), nespečnosti, pomaga pa tudi pri bronhitisu ali astmi. Zanj so značilne tudi protibakterijske lastnosti, zaradi česar deluje tudi kot zaščita pred vnetjem dihal ali angino.

Ajdov med

Barva tekočega ajdovega medu je temno rjavaz rdečim odtenkom. Ima kiselkast okus, sladno aromo ter močan živalski vonj. Zanj je značilna hitra kristalizacija, veliki kristali ter lešnikovo rjava barva kristaliziranega medu. Ugotovljeno je bilo antioksidativno, antibakterijsko in diuretično delovanje ter vpliv na hitrejše celjenje ran (Pasini in sod., 2013; Taranov, 2013).

Akacijev med

Akacijev med je skoraj brezbarven do svetlo rumen. Ima nežen vonj po akacijevem cvetju in nežno aromo po vanilijevih bombonih, ter po sladkem sirupu. Akacijev med kristalizira počasi. Vsebuje več fruktoze kot glukoze, zato ga lahko pod zdravniškim nadzorom uporabljajo tudi lažji sladkorni bolniki. Uporablja se kot sladilo in namaz, ter za urejanje prebave, pri želodčnih in črevesnih težavah in prehladih, pomirja, blaži utrujenost, pomaga pri čiščenju jeter in pri vnetnih obolenjih grla.

2.3 Značilnosti Slovenskega medu

2.3.1 Kranjska čebela

Po mnenju znantvenikov je v Sloveniji najboljše izvorno območje kranjske rase čebel. Zanj je značilna skromna poraba zimske zaloge hrane. Prezimuje v manjši skupnosti. Spomladi je razvoj buren in je družina hitro toliko razvita, da je sposobna za izkoriščanje paše. Za našo čebelo je tudi značilna večja sposobnost orientacije. Je tudi dobra graditeljica satja in ni znana po intenzivnem propoliziranju, kot nekatere druge rase čebel. Izrazitejša kot pri drugih rasah je v sodobnem čebelarjenju nezaželena nagnjenost k rojenju. Ta se kaže v daljšem rojilnem obdobju in v večjem številu rojev v sezoni. Posebna prednost kranjske sivke je tudi mirnost, ki se odraža v mirnem sedenju čebel na zaleženem satu, potem ko ga izvlečemo iz gnezda in manjšem številu pikov v primerjavi z nemirnimi oz. agresivnimi čebelami.

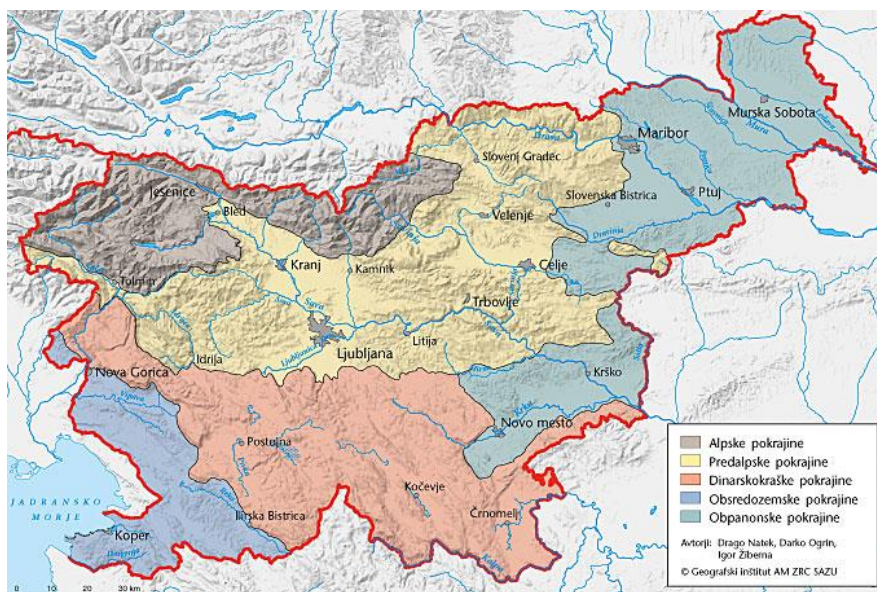
Vse omenjene lastnosti v čebelji družini lahko spremljamo in predstavljajo osnovne kriterije odbire v čebelarstvu in so osnova vzreje rodovniških matic. Kranjska čebela je v Sloveniji zaščitena rasa in čebelarjem ni dovoljeno vnašati drugih čebel.

2.4 Naravnogeografske enote Slovenije

Slovenija ima zelo raznoliko pokrajino. Na majhnem ozemlju se prepletajo visoki dvatisočaki, hribovja z vmesnimi kotlinami, kraške planote in podolja, flišna gričevja, kraške jame ter panonske ravnice z vmesnimi gričevji.

V Sloveniji se prav tako stikajo štirje kulturni prostori. Tu se srečajo germanski, romanski, slovanski in ugrofinski jeziki, običaji, navade, hrana, način bivanja in arhitektura. Vsi vplivi so na našem ozemlju pustili močan družbeni in kulturni pečat.

Naravnogeografska delitev Slovenije temelji na reliefnih značilnostih in podnebjju. Tako ločimo Alpske, Predalpske, Dinarskokraške, Obpanonske in Obsredozemske pokrajine.



Slika 1: Naravnogeografska delitev Slovenije.
 (SENEGAČNIK, Jurij. 2015. Geografija Slovenije, Učbenik za 9. razred osnovne šole. Ljubljana. Modrijan, str. 15)

Alpske pokrajine

Slovenija je alpska dežela, saj del evropskega gorstva leži tudi na našem ozemlju. Alpe so na severnem in severozahodnem delu Slovenije. V Alpских pokrajinah je najvišji vrh Triglav. Za ta del Slovenije so poleg visokih, ostrih vrhov in strmih, prepadnih sten, značilni še globoke rečne in ledeniške doline, visoke planote s planinskimi pašniki, obširni iglasti gozdovi, izviri večjih slovenskih rek, poselitev v dolinah in gručasta naselja.

Predalpske pokrajine

Predalpske pokrajine ležijo južno in vzhodno od Alpских pokrajin. Zanje je značilna z gozdom poraščena hribovita pokrajina z zaobljenimi vrhovi, travniki in pašniki, med hribovji pa so posamezne rečne doline in kotline. Od Alpских pokrajin se ločijo po nižjih nadmorskih višinah in višjih povprečnih temperaturah. Prevladuje rečni tip površja. Podnebje Predalpskih pokrajin je zmerno celinsko, v najvišjih predelih regije tudi gorsko.

Dinarskokraške pokrajine

Dinarskokraške pokrajine zavzemajo večino južne Slovenije. Zgrajene so pretežno iz apnencev in dolomitov, zato v teh pokrajinah prevladuje kraško površje s planotami, hribovji, podolji, kraškimi polji, travniki ter številnimi drugimi kraškimi pojavi. Prepoznavne so po podzemeljskem pretakanju vode (jame). V njih prevladuje gozd, zlasti na visokih planotah.

Obpanonske pokrajine

Ležijo na vzhodu Slovenije in so del Panonske nižine. Že na prvi pogled je videti, da so Obpanonske pokrajine najbolj kmetijski del Slovenije. Nikjer v Sloveniji namreč ni toliko rodovitnih zemljišč, obdelanih polj in vinogradov. Gozd pokriva le še približno 1/3 površja in se je ohranil predvsem na osojnih pobočjih gričevij, na mokrotnih območjih z visoko podtalnico ter ob nekaterih večjih rekah. Med drevesnimi vrstami prevladujejo bukev, kostanj in hrast.

Obsredezemske pokrajine

Obsredezemske pokrajine so na jugozahodu Slovenije, ob Jadranskem morju. To je območje, kjer se čuti vpliv morja na podnebje in rastlinstvo. Po kamninski zgradbi se pokrajina deli na flišni in apnenčasti del. Kot posledica kamninske zgradbe in lege ob morju se je oblikovalo površje: rečno, kraško in obalno. Tipične rastline tega območja so oljka, vinska trta, različne sadne drevesne vrste (breskve, fige, marelice, češnje ...) ter zelenjava (bučke, paradižniki ...). Gozd pokriva približno 1/3 površja, pri čemer prevladujejo drevesne vrste bukev, hrast puhavec, črni gaber in črni bor.

2.5 Difuzijski antibiogram

Zaradi zdravljenja bolnikov določimo posameznim bakterijam, ki jih izoliramo, občutljivost na posamezne antibiotike. Antibiotiki lahko delujejo na bakterije bakteriocidno (jih uničijo), oziroma bakteriostatsko (zavirajo njihovo rast). Difuzijski antibiogram je preprosta metoda s katero ugotovljamo odpornost posameznih bakterij na antibiotike.

Primer:

Antibiogram naredimo tako, da okužimo gojišče v petrijevki, nato na okuženo gojišče položimo diske, ki so prepojeni z različnimi antibiotiki. Antibiotiki nato difundirajo v gojišče. Okrog diskov se pojavijo cone na katerih niso uspevale bakterije. To cono imenujemo inhibicijska cona (območje, kjer se bakterije niso mogle razmnoževati). Te cone nato izmerimo z ravnilom in ugotovimo, kateri antibiotik je najbolj primeren za uničevanje te bakterije (tisti, ki ima največjo inhibicijsko cono).

2.6 Mikroorganizmi

Normalna mikrobna flora so mikroorganizmi, ki naseljujejo kožo in sluznice zdravih ljudi. Sestavlja jo veliko različnih vrst bakterij ter posamezne vrste gliv in parazitov.

Mikroorganizmi, vključno z bakterijami, so praktično povsod, v zemlji, vodah, zraku, pa tudi v ekstremnih okoljih, kot so vroči vrelci, ledeniki, izredno slana okolja, itd.

Bakterije igrajo ključno vlogo pri kroženju snovi, vključno z razkrojevanjem odmrlih rastlin in živali. Brez kroženja snovi bi življenje na Zemlji zelo hitro zamrlo. Poleg tega so bakterije udeležene v vseh prehrabnih verigah in vplivajo na sestavo naše atmosfere.

2.6.1 Bakterije ustne sluznice

Trda in mehka tkiva ustne votline so svojevrstna vhodna vrata, ki vodijo iz zunanjega sveta v človeški organizem. Le redkokateri organski sistem je pod vplivom tako velikega števila zunanjih in notranjih dejavnikov, kot to velja za ustno votlino. V tem kompleksnem ekosistemu živijo številni mikroorganizmi, ki niso sovražniki, ampak naravni prebivalci človeškega »oralnega biotopa«. Ravnovesje med tkivom in mikrobiološkimi prebivalci v ustni votlini pa odloča o tem, ali bodo oralne strukture – in posledično tudi celotni organizem – zdrave ali ne.

Procesi, ki potekajo v ustni votlini, vplivajo na celoten človeški organizem. Seveda pa velja tudi obratno – zmanjšanje imunske odpornosti, različne zdravstvene motnje in številne bolezni se (po)kažejo tudi v ustni votlini. Bolezni ter poškodbe zob, dlesni in sluznice v ustni votlini so lahko izhodiščni dejavniki za nastanek številnih sistemskih bolezni. To pomeni, da sta tkivo v ustni votlini in tamkajšnja mikroflora – ta je pri vsakem človeku drugačna – pomembna pogoja za ohranjanje splošnega zdravja.

2.7 Agar

V laboratoriju gojimo bakterije na gojiščih. Gojišče je tekoč ali trden pripravek, ki specifično služi rasti, shranjevanju ali transportu mikroorganizmov. Gojišča za gojitev mikroorganizmov morajo biti sterilna, zato jih steriliziramo ali sterilno pripravljamo in hranimo v sterilnih posodah. Če hočemo v/na takem gojišču gojiti mikroorganizme, moramo v/na gojišče dodati (inokulirati) majhno količino materiala, ki vsebuje žive celice (vcepek, inokulum). Inokuliran medij potem izpostavimo ustrezni temperaturi - ga inkubiramo. Inkubacija običajno poteka v termostatsko nadzorovanem prostoru ali omari (inkubator). Med inkubacijo mikroorganizmi rastejo in se delijo - razvije se mikrobna kultura. Gojišča mikroorganizme oskrbujejo z ustreznimi viri energije, ogljika, dušika, kisika, fosforja, kalija, žvepla, magnezija (makrominerali), z mikrominerali, vitamini in rastnimi faktorji.

Agar - agar je polisaharid, ki v ustrezni raztopini tvori gel in nam tako omogoča pripravo trdnih gojišč. Pridobivajo ga iz nekaterih vrst morskih alg (Gelidium, Gracilaria, Pterocladia...). Raztopina agarja pri ohlajanju z vrelišča ostane tekoča do 45°C, strjen agar pa ostane čvrst tudi pri temperaturah, višjih od 50°C.

3. MATERIALI IN METODE DELA

3.1 Materiali in pripomočki

Za izvedbo eksperimentalnega dela sem potrebovala:

- sterilne petrijevke,
- hranilni agar,
- diske za nanos snovi,
- gorilnik,
- vatirane palčke,
- pincete,
- sterilno ezo (cepilna zanka),
- steklene palčke,
- alkoholni flomaster,
- kapalke.

3.2 Priprava agarja

Agar sem pripravila tako, da sem 24 g hranilnega agarja v prahu kuhala v 0,5 litra destilirane vode. Vsebino sem ob stalnem mešanju zavrela in pustila kuhati pri temperaturi 121 °C, 15 minut. Kuhan agar sem nato aseptično nalila v sterilne petrijevke. Petrijevke sem pokrila in pustila stati 2 uri v hladilniku, dokler se agar ni strdil in je tako bil pripravljen za nanašanje vzorcev.

3.3 Nanos bakterij in medu

Na agar sem najprej nanesla bakterije. Nanašala sem jih na različne načine, dokler nisem našla prave metode. Ko sem nanesla bakterije sem pričela z nanašanjem vzorcev medu. Tudi pri nanašanju le tega sem imela težave, zato sem uporabila več različnih metod. Hranilni agar z nanešenimi vzorci medu sem pustila inkubirati 24 ur in nato odčitala rezultate.

Metoda1:

Nanos bakterij: Na agar sem nanesla bakterije ustne sluznice z ezo, v dveh vijugastih potezah.

Nanos medu: Razredčen med: najprej sem odmerila 10 g medu ter ga razredčila z 10 g vode. V raztopine sem pomočila označene diske iz filtrirnega papirja ter jih s sterilno pinceto nanesla na okužen agar.



**Slika 2: Hranilni agar in petrijevke s pripravljenim gojiščem.
(slika avtorja)**

Metoda 2:

Nanos bakterij: Bakterije sem nanesla z isto metodo, kot pri poskusu 1 (z sterilno ezo).

Nanos medu: Diske sem pomočila v med ter počakala, da se je odvečen med odcedil z diska in ga položila na okužen agar.

Metoda 3:

Nanos bakterij: Bakterije so bile nanešene tako da sem preprosto pljunila na agar in slino razmazala z vatirano palčko.

Nanos medu: Na disk sem nanesla le kapljico medu, nato pa disk s kapljico, obrnjeno navzdol položila na agar.

Metoda 4:

Nanos bakterij: Z vatiranimi palčkami, namočenimi s fiziološko raztopino, sem pobrala vzorce ustne sluznice, notranjo stran dlani in mize. Nato sem palčke potopila v fiziološko raztopino, ki sem jo polila na okuženi agar. Po nekaj minutah sem odvečno tekočino z agarja odlila.

Nanos medu: Vzorce medu sem s stekleno palčko na tanko namazala na obe strani diska ter ga položila na agar.

Metoda 5:

Nanos bakterij: Agar sem okužila na isti način, kot pri poskusu 4.

Nanos medu: Tokrat sem poskusila z nanosom kapljic medu na okuženi agar, torej brez diskov.

Metoda 6:

Nanos bakterij: Bakterije (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*) sem razredčila z ohlajeno prekuhano vodo. Bakterije sem nanesa tako, da sem agar polila in odvečno tekočino odlila. Te petrijevke sem inkubirala na višji temperaturi od ostalih (na radiatorju).

Nanos medu: Med sem nanesa na enak način, kot pri poskusu 4, tokrat sem kot kontrolno snov na hranilni agar nanesa še H₂O₂. Vodikov peroksid bi zagotovo moral delovati inhibitorno na bakterije.

3.4 Razporeditev medu glede na raziskovalna vprašanja

Diske z medom sem razporedila tudi po petrijevkah, glede na pričakovane rezultate. V eno petrijevko smo nastavila diske z gozdnim in cvetličnim medom iz različnih geografskih pokrajin. V drugo petrijevko pa sem nastavila različne vrste medu iz Obpanonske pokrajine.

Diske z vrsto medu sem označila s številkami in črkami tako, da so različne številke in črke pomenile različne vrste medu in pokrajine:

1. GOZDNI MED

- 1 Alpske pokrajine,
- 2 Obpanonske pokrajine,
- 3 Dinarkokraške pokrajine,
- 4 Obsreozemske pokrajine

CVETLIČNI MED

- 5 Alpske pokrajine
- 6 Obpanonske pokrajine

- 7 Obsreozemske pokrajine

2. OBPANONSKE POKRAJINE

- A Hojev med
- B Kostanjev med
- C Lipov med
- D Ajdov med
- E Akacijev med



Slika 3: Razporeditev diskov z vzorci na gojišču.
(slika avtorja)

3.5 Metoda odčitavanja podatkov

Vse poskuse sem pustila stati približno 24 do 36 ur in jih nato odčitala.

Okrog diskov z vzorci bi se naj pojavile inhibicijske cone. Večji, kot je premer te cone, bolj inhibicijsko deluje snov na bakterije; v našem primeru medu. V poskusih, ki sem jih opravila, ni bilo jasno vidne inhibicije nobenega od uporabljenih vzorcev medu in prav tako ne vodikovega peroksida. Sklepam, da je uporabljena metoda ugotavljanja antibakterijskega učinka medu napačna. O ugotovitvah in izboljšavah sem zapisala v 6. poglavju.

4. REZULTATI

Metoda 1

Na agarju se bakterije niso enakomerno razvile niti po 36 urah, prav tako ni bilo zaznati inhibicije vzorcev medu, saj so se bakterije razvile tik ob disku ali celo pod njim. Razlog pripisujem premajhni koncentraciji vzorcev medu, zato se odločim naslednji antibiogram narediti kar z vzorci brez redčenja.



Slika 4: Razvit antibiogram z razredčenimi vzorci medu.
(slika avtorja)

Metoda 2

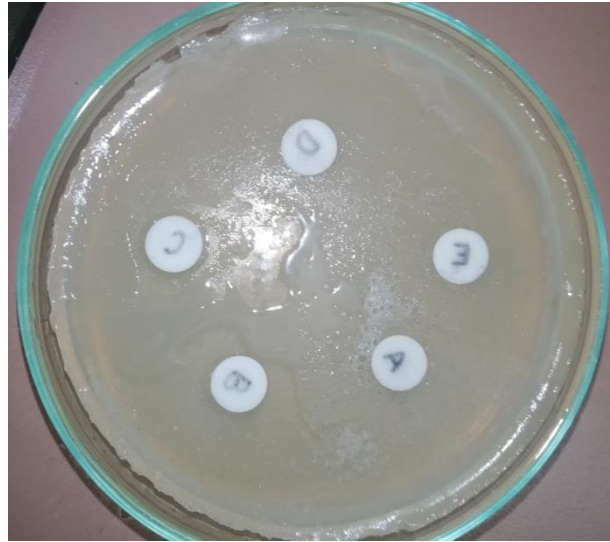
Na agarju po 36 urah ni bilo mogoče zagotovo trditi ali gre za inhibicijo ali za razlitje medu z diska. Sledi odločitev, da bom med na diske nanese tako, da jih bom namazala z vzorci medu.



Slika 5: Razlit med na agarju.
(slika avtorja)

Metoda 3

V tem antibiogramu se je razvilo več kolonij bakterij kot v predhodnih, vidna pa je tudi manjša inhibicija vzorcev C (lipov med) in B (kostanjev med) iz enakega naravnogeografskega področja. Glede na to, da pa se na agarju vzorcev medu iz različnih področij ni razvila inhibicija okrog diskov, se odločim opraviti še antibiogram po metodi 4.



Slika 6: Razvit antibiogram bakterij iz slin in vzorcev medu.
(slika avtorja)

Metoda 4

Ker sem v tem primeru na agar nanela bakterije tako, da sem jih vnesla v fiziološko raztopino, ki sem jo polila po agarju, sem pričakovala enakomernejše razvite bakterije na antibiogramu. Slika 7 prikazuje rezultat po 36 urah.



Slika 7: Razvit antibiogram z bakterijami ust, rok in mize z vzorci medu.
(slika avtorja)

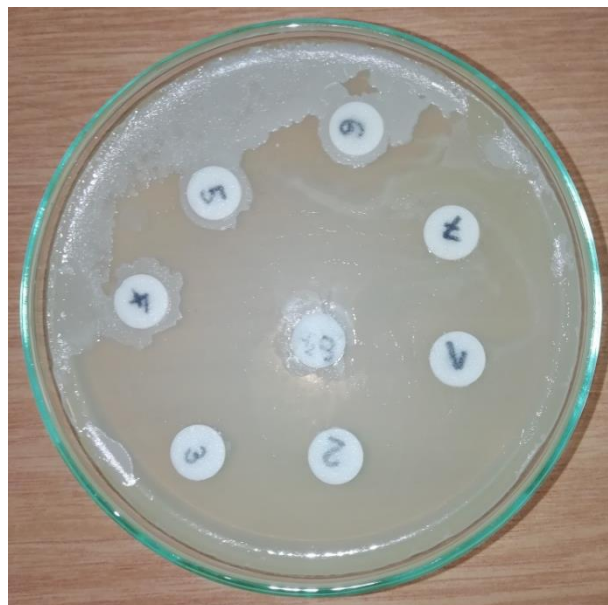
Razvidno je, da se tudi tukaj niso pojavile tipične inhibicijske cone. Izgleda, kot da med iz diskov ni difundiral (prodrl) v agar. Sklepala sem, da bi lahko bilo kaj narobe z diski. Iz tega razloga poskusim še z metodo 5, kjer nanese na agar vzorce medu kar v kapljicah.

Metoda 5

Tokrat sem vzorce medu na okužen agar nanese s cepilno ezo v majhnih kapljicah. Ezo sem po vsakem nanosu razkužila na ognju ter počakala, da se je ohladila. Tudi ta antibiogram ni pokazal pričakovanih rezultatov, saj so se kapljice medu razlile po agarju in se med seboj pomešale. Po 36 urah je na hranilnem agarju bilo veliko bakterij, pomešanih z medom, brez con inhibicije.

Metoda 6

V zadnjem poskusu sem na hranilni agar nanese razredčene bakterije *Lactobacillus*. Diske sem namazala z vzorci medu od 1 – 7 in vzorce A – E. Tokrat sem sklepala, da bi lahko bil tudi hranilni agar vzrok, da vzorec ne more difundirati vanj. Kot kontrolo sem uporabila disk, katerega sem pomočila v 30% vodikov peroksid (H_2O_2). Po 36 urah sem odčitala rezultat, ki ga prikazuje slika 8.



Slika 8: Antibiogram z vzorci medu, bakterijo *Lactobacillus* in diskom z vodikovim peroksidom. (slika avtorja)

Iz slike je razvidna manjša, vendar nepopolna inhibicija okrog diska z vodikovim peroksidom (na sredini). Sklepam, da tudi tukaj ni prišlo do difuzije vzorcev v agar.

5. RAZPRAVA IN ZAKLJUČEK

V svoji raziskavi sem opravila veliko poskusov. Vsako metodo sem opravila po 2 krat in obakrat dobila podobne rezultate. Kljub velikemu številu ponovitev in različnim metodam nanosov bakterij in vzorcev, v tej raziskavi nisem uspela odgovoriti na zastavljena vprašanja. Skleпам lahko, da je difuzijski antibiogram neprimerna metoda za določanje antibakterijskega delovanja tekočih vzorcev. Videti je bilo, kot da vzorci niso difundirali v hranilno podlago, da bi nato lahko zavirali rast bakterij v določenem predelu. Morda bi bil dilucijski atibiogram boljša izbira, kjer bi vzorce medu vnesli v tekočo hranilno podlago.

Ob sami raziskavi sem izvedela veliko o medu in njegovih značilnostih. Čebelarji širom Slovenije so mi priskočili na pomoč in mi odstopili vzorce svojega medu. Ob pogovorih so povedali, da je zelo težko dobiti nekatere vrste medu iz vseh geografskih področij. Tako na primer, ni bilo mogoče dobiti žajbljevega medu iz Obpanonske pokrajine ali ajdovega iz Alpske pokrajine. Iz tega sklepam, da ljudje po Sloveniji uživamo različne vrste medu glede na območje, kjer prebivamo. V nadaljevanju naloge bi bilo smiselno preučiti pomen določene vrste medu za prebivalce določenega območja.

Menim, da se ljudje meda poslužujemo predvsem v zimskem času, ko ga v zeliščnih napitkih uporabljamo kot sladilo in ker verjamemo splošnemu prepričanju, da je dober za zdravje. Uporabimo tistega, ki našemu okusu najbolj ustreza. Sama sem se z okušanjem različnih vrst medu prepričala, da so okusi različni; različno sladki, različno intenzivni, imajo celo okus rastline iz katere so nastali. Z okušanjem zelo hitro prepoznamo čisti vrstni med kostanja, smreke, ajde in lipe.

6. DRUŽBENA ODGOVORNOST

Tema naše raziskovalne naloge in pridobljeni rezultati se navezujejo na osnovna načela družbene odgovornosti.

Naloge smo se lotili družbeno odgovorno, saj se zavedamo prednosti uporabe naravnih zaviralcev razvoja bakterij, pred tistimi, ki so izdelani iz sintetičnih materialov. Želeli smo ustvariti majhen prispevek k temu, kar je že znano o naravnih zaviralcih razvoja bakterij, ki kažejo nekatere ugodne lastnosti, primerne za uporabo.

S tem želimo poudariti pomembnost uporabe ter uživanja medu, katerega pridelajo čebele. Razmere za čebelarjenje so se v zadnjih letih občutno spremenile in zelo vplivajo na obstoj čebel. Njihovo propadanje nas opozarja na uničevanje našega naravnega okolja, kar pomeni, da ga moremo ohraniti. Tako tudi podpiramo naše slovenske čebelarje.

Skozi nalogo sem spoznala, kako pomemben je obstoj čebel, ne le v Sloveniji temveč v svetu. Čebelarji, s katerimi sem se pogovarjala, so o čebelah govorili z zanosom, ponosom in spoštljivostjo. Sprva sem bila mnenja, da čebela obstaja samo zato, da proizvaja med, a ima mnogo večji pomen. Z letenjem od cveta do cveta oprahuje rastline; travniške, gozdne, poljske, vrtné...

7. VIRI IN LITERATURA

1. <http://www.boznar.si/omedu/>
2. <http://www.slovenski-med.si/o-medu.html>
3. <https://www.stat.si/statweb>
4. <http://www.cebelarstvo-vidovic.si/index.php/11-med-proizvodi-posamezno/9-cvetlicni-med>
5. <http://www.slovenski-med.si/vrste-medu.html>
6. <https://www.belokranjski-hram.si/hojev-med>
7. <https://www.belokranjski-hram.si/hojev-med>
8. <https://www.bodieko.si/med-in-njegove-zdravilne-lastnosti>
9. <http://cd-turnisce.com/akacijev-med/>
10. <http://www.czs.si/content/D51>
11. <http://eucbeniki.sio.si/geo9/2657/index.html>
12. <http://predalpskepokrajinevsloveniji.splet.arnes.si/category/predalpske-pokrajine/>
13. <https://www.kamra.si/digitalne-zbirke/item/dinarskokraske-pokrajine.html>
14. <http://eucbeniki.sio.si/geo9/2652/index.html>
15. https://dijaski.net/gradivo/bio_vaj_difuzijski_antibiogram_01
16. http://www.imi.si/dokumenti/7_Banicevidnevi_zbornikfinalni.pdf
17. <https://metinalista.si/bakterije-vedno-korak-pred-nami/>
18. <https://www.delo.si/prosti-cas/zdravje/skupni-imenovalec-zdravja-v-ustih-in-zelodcu.html>
19. <http://kemforum.mojforum.si/kemforum-about246.html>
20. <https://www.termania.net/slovarji/mikrobioloski-slovar/5546305/antibiogram>
21. http://tradicionalni-zajtrk.si/media/uploads/public/document/42-plakat_sl.pdf
22. PUŠNIK, Vlado. 2016. Apiterapija. Ljubljana. ČZD Kmečki glas, str. 20, 23, 27, 28
23. GOLOB, Terezija. 2008. Med: značilnosti slovenskega medu. Lukovica. Čebelarstva zveza Slovenije, str. 9, 16, 17, 22
24. PEDROTTI, Walter. 2003. Med, cvetni prah, matični mleček, propolis in strup. Ljubljana. Pisanica: Delo revije, str. 6, 8, 12, 13, 14