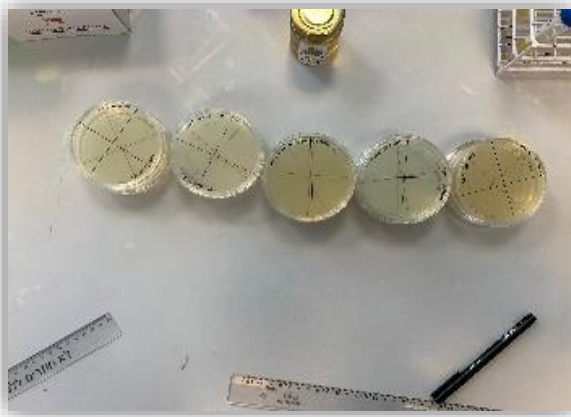




# עבודת ביוחקר בנושא – השפעת ריכוזי דבש שונים על חיידקי אי. קולי ובצילוס



**מגישים: מעיין צור, נטע פריד ורון זוהר**

מורה מנחה: טלי רייפלד

**מרץ 2021**

## תוכן עניינים-

3.....	מבוא
8.....	מערך החקר
12.....	תוצאות הניסוי
14.....	דיון ומסקנות
16.....	ביבליוגרפיה
	נספחים:
18 .....	דף תכנון ניסוי המשך
20.....	דפי תצפית וסיכום תוצאות

## פרק א - מבוא

**שאלת החקר העיקרית בעבודתנו היתה:** מהי השפעת ריכוזי דבש שונים על קצב התרבות חיידקי *E.coli*?

**שאלת החקר השנייה בעבודתנו הייתה:** מהי השפעת ריכוזי הדבש השונים על קצב התרבות חיידקי הבצילוס?

בעבודתנו אנו נבדוק את השפעת ריכוזי מיצוי הדבש על התפתחות החיידקים: *E.coli* ובצילוס.

כבר מהעבר הדבש היה ידוע בסגולותיו הרפואיות, וכחומר הנשמר לאורך זמן ללא אמצעי קירור או אחסון. בבתים מסוימים אפילו משתמשים בדבש כתרופת "סבתא" שיכולות לטפל בכאב ראש, שפעת, בחילות, כוויות ועוד ... על אף שהדבורה איננה מזון כשר והיא אסורה למאכל עפ"י היהדות, תוצרי הכוורת מוצרים ואף טובים ומומלצים לאכילה.

הדבש הוא מעין נוזל מתוק סמיך ודביק אשר מופק מצוף של פרחים על ידי הדבורים, הוא חומר עתיר סוכר המיוצר ונאגר בקבוצות מסוימות של "דבוראים חברתיים". הדבש המוכר ביותר מופק על ידי הדבורה *Apis* "דבורת הדבש". הדבש מופק בדרך כלל מהפרשות סוכריות מצמחים או מבעלי חיים כגון: צוף פרחים או טל הדבש, התהליך של אידוי חלק ניכר מהמים יוצא ועיבוד של אנזימים.

הדבש למעשה משמש כמזון לדבורים ולצאצאים שלהן. בתהליך הפוטוסינתזה בצמחים נוצרים פחמימות המרכיבות בין השאר את הצוף. הדבורה יונקת את הצוף המכיל בתוכו בין 60-70% מים 30-40% מוצק, הדבורה באמצעות חדק ארוך אוגרת אותו במקום המכונה "קיבת הדבש" (המצוי במרכז גופה).

**ההרכב הכימי של הדבש:** גלוקוז ופרוקטוז 20%, סוכרוז 1%-3%, טרי-סוכרים וסוכרים גבוהים 5%-7%

0.5% מים, 0.5% וויטמינים מינרלים, 0.1% אורגניות חומצות, 1.5%-פלבונואידים (קבוצת תרכובות המסונתזות על ידי צמחים ומצויים בעיקר בפירות ובירקות), 2%-5% אחרים (אנזימים בכמויות מזעריות). [9]

**מה הקשר בין ריכוז הדבש לקצב גידול החיידקים?**

הדבש ידוע ביכולתו להישמר לאורך זמן, כיוון שחיידקים לא מצליחים להתקיים בתוכו.

הפעילות האנטי-בקטריאלית מקורה בשילוב של מספר גורמים המצויים בדבש.

ריכוז הסוכר הגבוה בדבש (היפרטוני) מעכב גידול חיידקים-הסוכר מפריע לחיידקים להתפתח וגורם לריקבון המזון בכמה דרכים. הדרך העיקרית היא אוסמוזה פשוטה הגורמת להתייבשות. ריכוז הסוכר הגבוה יוצר הפרש ריכוזים שמביא לתנועת מולקולת מים, באוסמוזה, מהתאים/ מהחיידקים החוצה. הדבר מביא להקטנה של מדד הקרוי בשם "האקטיביות של המים" (*aw*), מדד המציין את שיעור מולקולות המים הבלתי קשורות, או החופשיות, במזון. מולקולות אלה חיוניות להישרדות החיידקים ולהתרבותם. ברוב המזונות הטריים ערך *aw* הוא 0.99 ואט (יחידת

מידה) בעוד שערך הסף הנדרש לעצירת התפתחותם של רוב החיידקים הוא בערך 0.91 ואט (יחידת מידה) שמרים ועובש שורדים לרוב אפילו בכמויות קטנות עוד יותר של מים. [7]

ובנוסף חומציות הדבש אף היא תורמת לכך. החומצה הגלוקונית הדבש הוא חומצי למדי pH, בין 3 ל-4.5, ולא ידיותי למרבית החיידקים ומזהמי המזון האחרים. [1]

אם כן, חיידקים ופטטריות אינם מסוגלים להתקיים על מצע של דבש, משום שריכוז הסוכרים האדיר יוצר לחץ אוסמוטי ששוואב מהם את המים. בנוסף, גם הסביבה החומצית, נוכחות מי החמצן וריכוז החלבון הנמוך הופכים את הדבש לסביבה גרועה לגידול מיקרואורגניזמים. צמיגות הדבש תורמת גם היא את חלקה – אם ריכוז המים עולה אך מעט, שמרים מסוימים כבר יכולים להתקיים בדבש ולקלקל אותו.

עדיפות לטיפול בדבש אפשר למצוא כבר במצריים העתיקה לפי 5000 שנה. ניסויים מהשנים הקודמות מראים שהדבש מסייע בריפוי פצעים, וגם כן בחיידקים, כאשר בדקו והכניסו דבש למבחנות שגדלו בהן חיידקים הבחינו שהדבש מעכב את התפתחותם. [1]

המדענים הבינו כי המרקם הסמיך והדביק של הדבש 'חונק' את החיידקים וריכוז הסוכר הגבוהה מרעיל אותם. צורתו הבלתי מדוללת של הדבש, הייתה לו השפעה של הרס על החיידקים, שלדעת החוקרים ניתן לקשור לאנזימים בדבורים או להימצאות באבקה.

יש סוגי דבש מאד ספציפיים, שמוגדרים כמוצרים רפואיים, ומקורם בדבש מפרחים ספציפיים המכילים גם פפטידים אנטי בקטריאליים. מקורם של הפפטידים בדבורה, בנוסף למתילגליוקסאל (פפטיד קצר ונוגד חמצון חשוב), והוא כימיקל בעל פעילות אנטי-בקטריאלית ונוצר מחומרים הקיימים בצוף (ללא מעורבות האנזימים של הדבורה) בכמויות משמעותיות. המחקר שנערך על ידי החברה היצרנית של דבש מאנוקה של Manuka Health גילו כי **מתילגליוקסאל** ומרכיבים סינרגטיים נוספים בדבש מנוקה משולבים עם **Cyclodextrins** נצפתה עליה משמעתית בהשפעה האנטי בקטריאלית. [2,4,5,6,9]

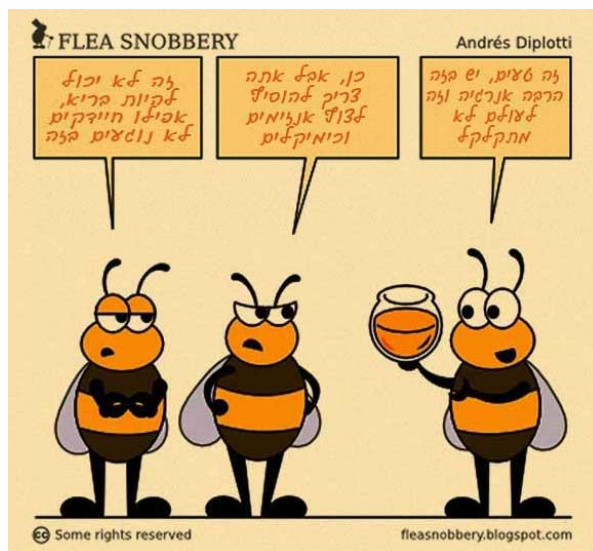
אנחנו בחרנו להשתמש בניסוי המרכזי שלנו בחיידקי *E. coli*, ובנוסף ערכנו בדיקה על חיידקי בצילוס. חיידקי *E. coli* הינו חיידק גראם-שלילי המתרבה בתנאים ארוביים ואנארוביים. הטמפרטורה המתאימה לתנאי החיידק היא נעה בין 7-45 מעלות צלזיוס ואף יכול להיות בתנאי קור ובהקפאה עמוקה (18- מעלות צלזיוס). החיידק רגיש לחום וכאשר הטמפרטורה גבוהה מ-63 מעלות צלזיוס החיידק מושמד תוך 5 דקות. החיידק עמיד ב-pH נמוך יחסית (חומצי יחסית) ובתמיסות מלח מריכוז של 2.5% ומעלה. זמן הדור של *E. coli* בתנאים אווירונים במצע עשיר ובטמפרטורה אופטימלית (39-42 מעלות צלזיוס) הוא 20 דקות.

זנים רבים של *E. coli* הם חלק מאוכלוסיית החיידקים התקינה של מערכת העיכול של היונקים והעופות, והם היצרנים העיקריים של ויטמין K - ויטמין חיוני לקרישת דם תקינה וויטמין B<sub>12</sub>.

חיידקי E.coli יכולים להוות גורם לזיהום במזונות ובדרך כלל מתקיים בבשר בקר, כבש או חזיר המזוהמים בצואה. מהבשר החיידק יכול לעבור למוצרים מוכנים לאכילה, כאשר המוצר מיוצר בתנאים לא הגייניים או יכול להישאר במוצר, אם הטיפול בחום לא נעשה בטמפ' הנכונה והחום במרכז המוצר אינו מגיע לטמפ' הנדרשת על מנת להרוג אותו. המחלות המופיעות (דלקת מעיים המלווה שלשולים כרוניים) כתוצאה מחיידקי E.coli בבני אדם הן בעיקר מאכילת מוצרי בשר, בעיקר בקר, לא מבושלים או שלא בושלו מספיק. [3,11]

**שאלת החקר העיקרית בעבודתנו הייתה:** מהי השפעת ריכוזי דבש שונים על קצב התרבות חיידקי *E.coli*? **השערה-** אנו משערים שככל שאנו נעלה את ריכוזי הדבש קצב גדילת החיידקים יהיה איטי יותר. כך שככל שריכוז הדבש יעלה זה ישפיע על עיכוב גדילה של חיידקי *E.coli*.

**בסיס ביולוגי -** הדבש ידוע ביכולתו להישמר לאורך זמן, כיוון שחיידקים לא מצליחים להתקיים בתוכו. ריכוז הסוכר הגבוה בדבש (היפרטוני) מעכב גידול חיידקים מכיוון שבמצב כזה מים יצאו מהחיידקים (באוסמוזה) וזה ישבש תהליכים שונים המתרחשים בחיידקים ובנוסף, החיידקים יתייבשו. בנוסף חומציות הדבש אף היא תורמת לכך בכך שהחומצה הגלוקונית בדבש הוא חומצי למדי pH, בין 3 ל-4.5, ולא ידידותי למרבית החיידקים ומקלקלי המזון האחרים. פרט לכך, יש בדבש כמות לא מבוטלת של מי חמצן שגם הם קוטלים חיידקים.



## שאלת חקר שנייה- מהי השפעת ריכוזי הדבש השונים על קצב התרבות חיידקי הבצילוס?

בניסוי השני שאנו ערכנו, בחרנו להשתמש בחיידקי בצילוס ולבדוק את השפעת ריכוזי הדבש השונים עליהם.

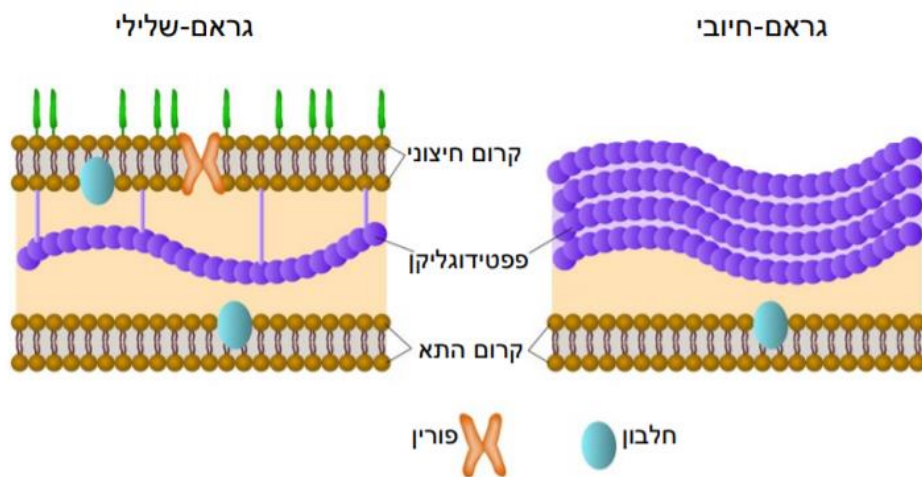
הקשר בין שתי שאלות החקר שלנו הוא לבדוק ולהראות האם הדבש משפיע על התרבות של זני חיידקים שונים ולא על זן אחד בלבד. והאם השפעתו דומה/ שונה בריכוזים שונים על זני חיידקים שונים (האם יש זנים פגיעים יותר/ פחות לדבש בריכוזים שונים) – האחד גראם שלילי (E.coli) והשני גראם חיובי (בצילוס).

חיידקי גראם - שליליים הם חיידקים אשר לא מצליחים לשמר את הצבע הסגול בעקבות צביעה בקריסטל ויולט, צביעת גראם החיידקים הנפוצים יותר הם גראם-שליליים, הם בעלי שכבה דקה של פפטידוגליקן והם נצבעים באדום, דבר אשר מבדיל אותם מקבוצת החיידקים גראם-חיוביים.

חיידקים גראם-חיוביים הם חיידקים אשר מצליחים לשמר את הצבע הסגול בעקבות צביעה בקריסטל ויולט. חיידקים גראם-חיוביים הם בעלי השכבה העבה ונצבעים בצבע סגול. דבר אשר מבדיל אותם מקבוצת החיידקים גראם-שליליים [12,13].

אנו משערים כי חיידקי גראם חיובי (בצילוס), בעלי שכבה עבה, ייפגעו פחות מריכוזי הדבש מכיוון שהדופן העבה מגינה יותר ועמידה יותר בפני השפעות הדבש שפורטו לעיל, ועל כן ריכוזי הדבש שיפגע בהם יצטרך להיות יותר מרוכז.

לעומת זאת חיידקי גראם שלילי (E.coli) בעלי שכבה דקה יותר, ייפגעו יותר בתמיסה מהולה של הדבש כיוון שישנה פחות מוגנות ופחות עמידות בפני השפעת הדבש והחומרים בו [14]



תרשים 1 מתוך מקור מס' 14 ההבדל במבנה הדופן בין חיידקים גראם + לחיידקים גראם -

חיידקי הבצילוס : חיידקי הבצילוס הם בצורת מוט, גראם- חיוביים ובתנאים סביבתיים קשים יכולים לשנות את המבנה שלהם לצורת קפסולה מוגנת הנקראת נבג (ספורה) וכאשר משתנים התנאים לנוחים, הנבגים "נובטים" והופכים לחיידקים פעילים, בנבגי חיידקי הבצילוס ישנם רעלנים אך למינים שונים יש רעלנים שונים חלקם גם נגד חרקים. עובדה זו, יחד עם היכולת לשרוד שנים רבות בתנאים קשים הופכת אותם לאמצעי הדברה ייחודי כנגד חרקים. לבצילוס הישראלי יש מספר רעלנים, לכן הוא נשאר אפקטיבי במשך שנים רבות למטרת הדברת זחלי יתושים. הבצילוס עלול לגרום לאחת משתי מחלות עקב יצור הרעלן. הראשונה - מחלה הקאתית, שמאופיינת בבחילה והקאות, עייפות כללית ולעיתים גם שלשול. השנייה - מחלה שלשולית, המאופיינת בשלשול מימי, התכווצויות מעיים, המלוות לעיתים בבחילה ובהקאות.

טמפ' הגידול האופטימלית  $30-35^{\circ}\text{C}$  מעלות. המקסימלית היא  $48-55^{\circ}\text{C}$  ועם זאת קיימים גם זנים אשר נמצאים במיוחד בחלב ובמוצרי גבינה העשויים לגדול גם בטווח הטמפרטורות  $37-40^{\circ}\text{C}$ .

ואילו הרעלן הגורם להקאות מיוצר באופן אופטימלי בטווח הטמפרטורות  $25-30^{\circ}\text{C}$  [10]

החיידק נמצא בקרקע. הוא משמש להעשרת קרקע בגנות ובחקלאות. בעבר נעשו ניסיונות לבדוק את הפוטנציאל שלו לשמש כנשק ביולוגי. אנזימים המיוצרים על ידי החיידקי הבצילוס נפוצים מאוד באבקות כביסה. החיידק לא נחשב כגורם מחלה בבני אדם, הוא עשוי לזהם מזון ולעיתים נדירות הוא יגרום להרעלת מזון. [10]

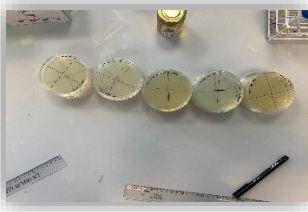
**השערה-** אנו משערים, כי בדומה לחיידקי *E.coli*, שככל שאנו נעלה את ריכוזי הדבש קצב גדילת החיידקים יהיה יותר איטי. שככל שנעלה את ריכוז הדבש כך נגביר את השפעתו על עיכוב גדילה של חיידקי בצילוס. אנו משערים כי חיידקי *E.coli* (גראם שלילי) כאשר יהיו בתמיסה מרוכזת, יתרבו בקצב איטי יותר ואילו בחיידקי הבצילוס (גראם חיובי) קצב ריבוי החיידקים יהיה יותר מהיר מקצב גדילת החיידקים של *E.coli*.

**בסיס ביולוגי-** הדבש ידוע ביכולתו להישמר לאורך זמן, כיוון שחיידקים לא מצליחים להתקיים בתוכו. ריכוז הסוכר הגבוה בדבש (היפרטוני) מעכב גידול חיידקים ובנוסף חומציות הדבש אף היא תורמת לכך. פרט לכך, יש בדבש כמות לא מבוטלת של מי חמצן שגם הם קוטלים חיידקים. מאותן הסיבות שפורטו בנוגע לחיידקי *E.coli*. חיידקי גארם חיובי, (בצילוס) בעלי שכבה עבה ייפגעו פחות מריכוז הדבש כיוון שהדופן העבה מגינה יותר ועמידה יותר בפני השפעות הדבש לעומת זאת חיידקי גארם שלילי (*E.coli*) בעלי שכבה דקה יותר, ייפגעו יותר.

## פרק ב - מערך החקר, כולל שיטות וחומרים:

שאלת החקר הראשונה: מהי השפעת ריכוזי דבש שונים על קצב התרבות חיידקי *E.coli*?

שאלת החקר השנייה: מהי השפעת ריכוזי הדבש השונים על קצב התרבות חיידקי הבצילוס?



### **מערך ניסוי א': חיידקי *E.coli***

ראשית לבשנו כפפות ולקחנו קערה. בקערה שמנו כ-5.8 גרם אגר בתוך 200 מ"ל מים מזוקקים ערבבנו באמצעות כף ושמנו באוטוקלב (מכשיר שמנקה את החומרים) לאחר ההוצאה קיררנו את האגר עד לחמישים מעלות צלזיוס ואז יצקנו לתוך הצלחות פטרי וחיכינו עד שהכל יתמצק.

לקחנו את צלחות הפטרי וחילקנו באמצעות סרגל וטוש את הצלחות לארבעה חלקים. לקחנו 15 צלחות פטרי (5 טיפולים/ ריכוזי דבש ולכל ריכוז 3 צלחות פטרי וכל צלחת חולקה ל-4. סה"כ 12 חזרות לטיפול). בכל חזרה שינינו את ריכוזי הדבש (משתנה בלתי תלוי) ורשמנו על כל אחת מהצלחות את הריכוזים שהשתמשנו בהם. ריכוזי הדבש הם: 0%, 6.25%, 12.5%, 25%, 50% (בקרה).

אופן הכנת הריכוזים השונים:

- מבחנה 1 - להכנת ריכוז של 50% - לקחנו 10 מ"ל דבש עם 10 מ"ל מים
- מבחנה 2 - להכנת מיהול של 25% - הוצאנו 10 מ"ל ממבחנה מס' 1 והוספנו 10 מ"ל מים (מיהול פי 2)
- מבחנה 3 - להכנת מיהול של 12.5% - הוצאנו 10 מ"ל ממבחנה מס' 2 והוספנו 10 מ"ל מים (מיהול פי 2)
- מבחנה 4 - להכנת מיהול של 6.25% - הוצאנו 10 מ"ל ממבחנה מס' 3 והוספנו 10 מ"ל מים (מיהול פי 2)
- מבחנה 5 - בקרה. רק עם מים ללא דבש.

לקחנו פיפטור כיוונו אותו לכמות של 70 מיקרוליטר שמנו בו פיט לאחר שהדלקנו כהליה כדי לשמור על סביבה סטרילית הוצאנו בעזרת הפיפטור מהמבחנה חיידקי *E.coli* (משתנה תלוי), את החיידקים שפכנו על האגר ופיזרנו אותם בעזרת מקל דרגלסקי.



לאחר שפיזרנו את החיידקים חיררנו באמצע כל אחד מהרבעים בצלחת הפטרי חור בעזרת פיפטה והוצאנו את תכולתו. בתוך החור הריק מילאנו מהמבחנה בה עשינו את ריכוזי הדבש השונים לכל חזרה, 10 מיקרוליטר ריכוז דבש שונה/ מתאים לכל חזרה. לאחר שסיימנו שמנו את כל הצלחות באינקובטור למשך 24 שעות ולאחר יממה חזרנו לבדוק תוצאות.

כדי לבדוק את התוצאות השתמשנו בשיטה של בדיקת קוטר הילה, בשיטת קוטר הילה מודדים בסרגל את התפשטות החיידקים ולאחר שמדדנו את ההתפשטות בכל חור רשמנו את התוצאות בטבלה. לסיכום: 5 טיפולים/ ריכוזי דבש. ולכל טיפול 3 צלחות פטרי שחולקו ל- 4 (סה"כ 12 חזרות לטיפול)

### מערך ניסוי ב': חיידקי בצילוס

ראשית לבשנו כפפות ולקחנו קערה. בקערה שמנו כ-5.8 גרם אגר בתוך 200 מ"ל מים מזוקקים ערבבנו באמצעות כף ושמנו באוטוקלב (מכשיר שמנקה את החומרים) לאחר ההוצאה קיררנו את האגר עד לחמישים מעלות צלזיוס ואז יצקנו לתוך הצלחות פטרי וחיכינו עד שהכל יתמצק. לקחנו את צלחות הפטרי וחילקנו באמצעות סרגל וטוש את הצלחות לארבעה חלקים. לקחנו 9 צלחות פטרי (3 צלחות לכל טיפול 3 וכל צלחת חולקה ל- 4. סה"כ 12 חזרות לטיפול). בכל חזרה שינינו את ריכוזי הדבש ורשמנו על כל אחת מהצלחות את הריכוזים שהשתמשנו בהם. ריכוזי הדבש הם: 0%, 12.5%, 50% (בקרה). נלקח מתוך המבחנות עם ריכוזי הדבש שהכנו לחלק א' של הניסוי.

לקחנו פיפטור כיוונו אותו לכמות של 70 מיקרוליטר שמנו בו פיט לאחר שהדלקנו כהליה כדי לשמור על סביבה סטרילית הוצאנו בעזרת הפיפטור מהמבחנה חיידקי בצילוס, את החיידקים שפכנו על האגר ופיזרנו אותם בעזרת מקל דרגלסקי.

בכל חור מילאנו מהמבחנה עשינו את ריכוזי הדבש השונים לכל חזרה, 10 מיקרוליטר ריכוז דבש מתאים לכל חזרה. לאחר שסיימנו שמנו את כל הצלחות באינקובטור למשך 24 שעות ולאחר יממה חזרנו לבדוק תוצאות. כדי לבדוק את התוצאות השתמשנו בשיטה של בדיקת קוטר הילה, בשיטת קוטר הילה מודדים בסרגל את התפשטות החיידקים ולאחר שמדדנו את ההתפשטות בכל חור רשמנו את התוצאות בטבלה. לסיכום: 2 ריכוזים ובקרה. לכל ריכוז 3 צלחות פטרי שחולקו ל-4 (12 חזרות)

זמן ניסוי א' היה כ 50 דקות. (13:20- 14:10)

תאריך – 24.9.2019

זמן ניסוי ב' היה כ 40 דקות (14:10-14:50)

תאריך - 24.9.2019

זמן בדיקת תוצאות : יום למחרת 12:25

סיום : 13:00

משתנה בלתי תלוי ניסוי 1 (חיידקי E.coli) - ריכוזי הדבש (0%,6.25%,12.5%,25%, 50%)

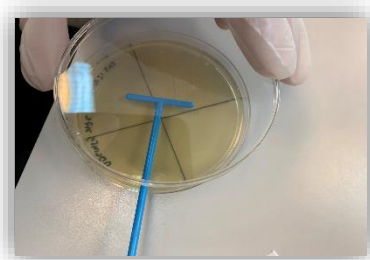
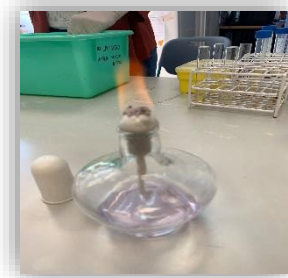
משתנה בלתי תלוי ניסוי 2 (חיידקי בצילוס) - ריכוזי הדבש (0%,12.5%,50%)

משתנה תלוי ניסוי 1 (חיידקי E.coli) – קצב התרבות חיידקי E.coli

המשתנה התלוי בניסוי נבדק על ידי קוטר ההילה של חיידקי E.coli, הוא נמדד באמצעות סרגל אשר מדדנו בעזרתו את קוטר ההילה (בסנטימטר). ככל שקוטר ההילה גדול יותר זה אומר ששיעור תמותת החיידקים גבוה יותר / שיעור הגידול או ההתרבות נמוך יותר.

משתנה בלתי תלוי ניסוי 2 (חיידקי בצילוס) – קצב התרבות חיידקי הבצילוס

המשתנה התלוי בניסוי זה נבדק על ידי קוטר ההילה של חיידקי בצילוס, הוא נמדד באמצעות סרגל בעזרתו מדדנו את קוטר ההילה (בסנטימטר). ככל שקוטר ההילה גדול יותר זה אומר ששיעור תמותת החיידקים גבוה יותר / שיעור הגידול או ההתרבות נמוך יותר.



גורמים קבועים: טמפרטורה, ריכוז החיידקים בכל אחת הצלחות, סוג האגר.

בקרות - אנו משתמשים בבקרות, כדי להראות שהשינויים אכן מתרחשים בגלל הגורם שהשפעתו נבדקת, כלומר

המשתנה הבלתי תלוי – ריכוז הדבש.

בקרה חיצונית – ללא דבש

בקרה פנימית/ השוואתית – השוואה בין ריכוזי

הדבש השונים.



### רשימת ציוד:

טוש, סרגל, פיפטה, טיפ, פיפטור, כפפות, מקל דריגלסקי, אתנול, כוהליה, גפרורים, מבחנות, משורה, אינקובטור, צלחות פטרי, אגר, כף, קערה לג'ל, אל בד שחור, דפי תצפית, עט שחור, אוטוקלב, מכשיר למדידת גרמים.

כל התוצאות נאספו ונערכו בקובץ אקסל. חושב ממוצע, סטיית תקן ואחוז סטיית תקן\* והנתונים הוצגו בגרפים.

\* סטיית התקן הוא מדד למידת השונות או האחידות בין החזרות לאותו טיפול (ככל שסטיית התקן גדולה יותר השונות בין החזרות גדולה יותר, ולהפך).

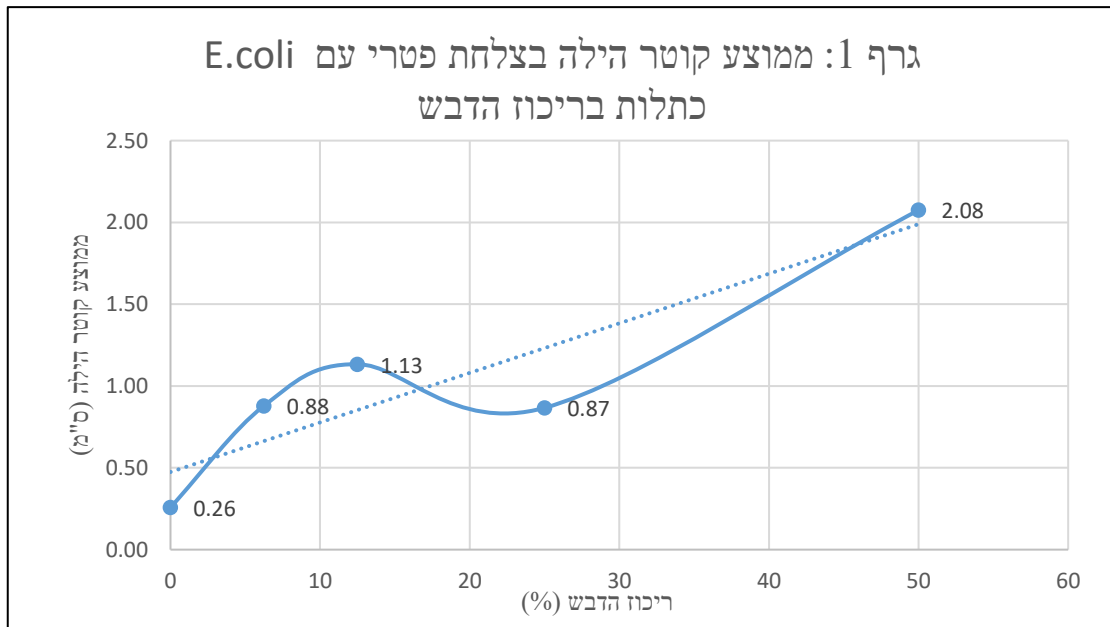


## פרק ג - תוצאות הניסוי

### השפעת ריכוז הדבש על עיכוב גדילה של חיידקי E.coli:

**טבלה 1: השפעת ריכוז הדבש על ממוצע קוטר הילה (חיידקי E.coli):**

ריכוז הדבש (%)	ממוצע קוטר הילה (ס"מ)	סטיית התקן	% ס.ט
0	0.26	0.42	161.27
6.25	0.88	0.49	55.69
12.50	1.13	0.33	28.74
25	0.87	0.31	35.25
50	2.08	0.50	23.89

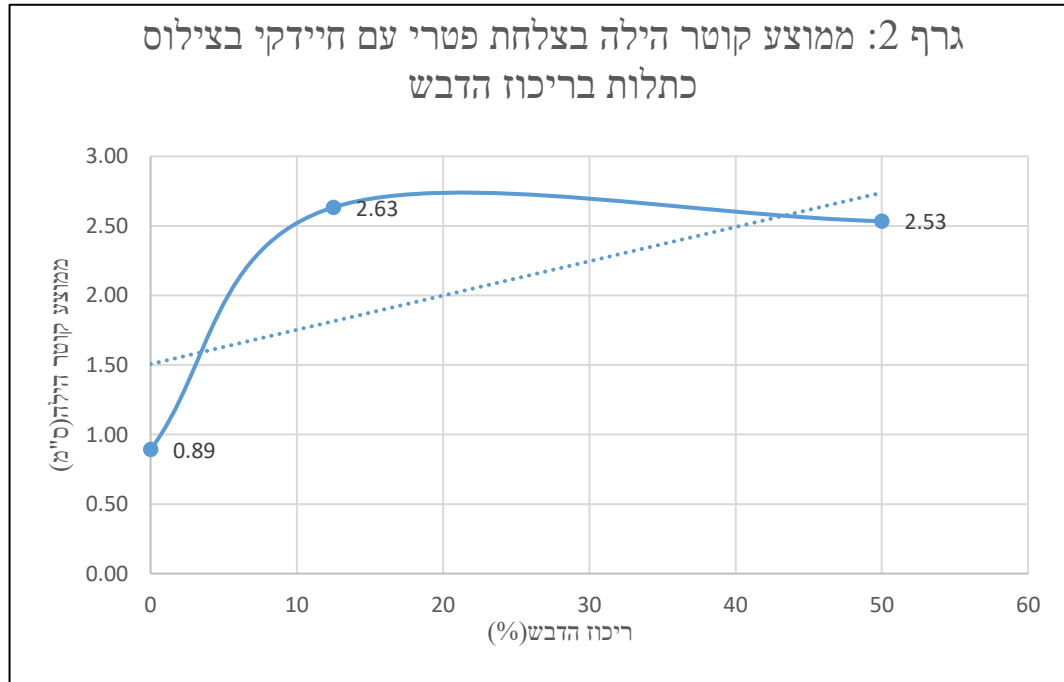


מתוך הגרף ניתן לראות כי המגמה הכללית היא שככל שעולה ריכוז הדבש כך עולה קוטר ההילה.

## השפעת ריכוז הדבש על עיכוב גדילה של חיידקי בצילוס:

### טבלה 2: השפעת ריכוז הדבש על ממוצע קוטר הילה (חיידקי בצילוס):

ריכוז הדבש (%)	ממוצע קוטר הילה (ס"מ)	סטיית התקן	% ס.ט.
0	0.89	0.14	15.46
12.5	2.63	0.18	6.74
50	2.53	0.17	6.59



מתוך הגרף ניתן לראות כי בריכוז דבש 0-12.5, ככל שעולה ריכוז הדבש כך עולה קוטר ההילה. בהמשך, בריכוז דבש 12.5 עד 50 אחוז, קוטר ההילה נשאר גבוה ולא נראה שינוי בקוטר ההילה.

## פרק ד - דיון ומסקנות

**שאלת החקר העיקרית בעבודתנו היתה:** מהי השפעת ריכוזי דבש שונים על התפתחות חיידקי E.coli?

**השערה-** אנו משערים שככל שאנו נעלה את ריכוזי הדבש קצב עצירת גדילת החיידקים יהיה יותר מהיר. כך שהדבש ישפיע על עיכוב גדילה של חיידקי E.coli. אנו משערים כי חיידקי E.coli (גראם שלילי) כאשר יהיו בתמיסה מרוכזת, יתרבו בקצב איטי יותר

**בסיס ביולוגי-** הדבש ידוע ביכולתו להישמר לאורך זמן, כיוון שחיידקים לא מצליחים להתקיים בתוכו. ריכוז הסוכר הגבוה בדבש (היפרטוני) מעכב גידול חיידקים מכיוון הדבש ידוע ביכולתו להישמר לאורך זמן, כיוון שחיידקים לא מצליחים להתקיים בתוכו. ריכוז הסוכר הגבוה בדבש (היפרטוני) מעכב גידול חיידקים מכיוון שבמצב כזה מים יצאו מהחיידקים (באוסמוזה) וזה ישבש תהליכים שונים המתרחשים בחיידקים ובנוסף, החיידקים יתייבשו. חיידקי גראם שלילי (E.coli) בעלי שכבת דופן דקה יותר, ייפגעו יותר. בנוסף חומציות הדבש אף היא תורמת לכך בכך שהחומצה הגלוקונית בדבש הוא חומצי למדי pH, בין 3 ל-4.5, ולא ידידותי למרבית החיידקים ומקלקלי המזון האחרים.

פרט לכך, יש בדבש כמות לא מבוטלת של מי חמצן שגם הם קוטלים חיידקים. [1]

לפי תוצאות הניסוי (ראה גרף 1) ניתן לראות כי דבש מעכב התרבות של חיידקי E.coli. ניתן לראות מתוך גרף 1 כי המגמה הכללית היא שככל שעולה ריכוז הדבש כך עולה קוטר\* ההילה. ככל שקוטר ההילה גדול יותר זה אומר ששיעור תמותת החיידקים גבוה יותר / שיעור הגידול או ההתרבות נמוך יותר.

לכן, מתוך תוצאות הניסוי שלנו ניתן ללמוד כי דבש מעכב את קצב גדילת החיידקים (חיידקי E.coli), וככל שריכוזו גבוה יותר השפעתו על עיכוב גידול חיידקי E.coli גבוהה יותר.

תוצאות הניסוי מאששות את השערתנו, כיוון שבהשערתנו הסקנו שככל שנעלה את ריכוזי הדבש קצב עצירת גידול החיידקים יהיה מהיר יותר וכך קרה (ראה גרף 1). ריכוז הסוכר גבוה בדבש ומעכב את קצב התפתחותם של החיידקים.

**שאלת החקר השנייה היתה:** מהי השפעת ריכוזי הדבש השונים על קצב התרבות חיידקי הבצילוס?

**השערה -** אנו משערים, כי בדומה לחיידקי E.coli, שככל שאנו נעלה את ריכוזי הדבש קצב גדילת החיידקים יהיה יותר איטי. כך שככל שנעלה את ריכוז הדבש כך נגביר את השפעתו על עיכוב גדילה של חיידקי בצילוס. הבצילוס (גראם חיובי) קצב גידול החיידקים יהיה יותר מהיר מקצב גידול החיידקים של E.coli.

**בסיס ביולוגי -** הדבש ידוע ביכולתו להישמר לאורך זמן, כיוון שחיידקים לא מצליחים להתקיים בתוכו. ריכוז הסוכר הגבוה בדבש (היפרטוני) מעכב גידול חיידקים ובנוסף חומציות הדבש אף היא תורמת לכך. פרט לכך, יש

בדבש כמות לא מבוטלת של מי חמצן שגם הם קוטלים חיידקים. מאותן הסיבות שפורטו בנוגע לחיידקי E.coli. בכל אופן, שיערנו כי חיידקי גארם חיובי (בצילוס) בעלי שכבה עבה ייפגעו פחות מריכוז הדבש מפני שהדופן העבה מגינה יותר ועמידה יותר בפני השפעות הדבש.

בנוסף, חומציות הדבש אף היא תורמת לפגיעה בחיידקים, בכך שהחומצה הגלוקונית בדבש הוא חומצי למדי, pH בין 3 ל-4.5, ולא ידידותי למרבית החיידקים ומקלקלי המזון האחרים. הדופן העבה בחיידקי בצילוס מקנה יותר עמידות לחומציות הגבוהה.

לפי תוצאות הניסוי השני ניתן לראות כי דבש מעכב התרבות של חיידקי הבצילוס.

ניתן לראות מתוך גרף 2 כי המגמה הכללית היא שככל שעולה ריכוז הדבש כך עולה קוטר ההילה והתרבות החיידקים נעצרה בפרק זמן קצר יותר.

תוצאות החלק השני של הניסוי שלנו לא כל כך תואמות להשערותנו, מאחר ועפ"י התוצאות (ראה גרף 2) נראה כי באותם ריכוזים של דבש (12.5% ו-50%) קוטר ההילה בחיידקי הבצילוס היה גבוה יותר, מה שאומר ששיעור התמותה של החיידקים היה גבוה יותר בעוד ששיעורנו כי ככל שנעלה את ריכוזי הדבש קצב עצירת גידול החיידקים יהיה איטי יותר בחיידקי הבצילוס בהשוואה לחיידקי E.coli, וכאמור, לא כך התקבל (ראה גרף 1 וגרף 2). הסבר אפשרי לכך הוא שאולי הדבש פוגע גם באיזושהו אופן בדופן, כך שדופן עבה, במקרה זה, תהווה חסרון בהתמודדות החיידקים אל מול הדבש. בכל אופן, יש לבצע עוד ניסויים דומים עם יותר חזרות לפני שמסיקים זאת.

לסיכום, מתוך הניסוי שלנו נראה כי בשני סוגי החיידקים ככל שריכוז הדבש עולה כך קצב גידול החיידקים מעוכב יותר/ פוחת. לכן דבש אכן יכול לעכב גידול חיידקים. בכל אופן, שלא כמו שציפינו, עיכוב הגידול בחיידקי הבצילוס היה משמעותי יותר, על אף הדופן העבה (חיידקי בצילוס הם גראם חיוביים/ בעלי דופן עבה, ולכן שיעורנו שהם יפגעו פחות או שקצב עיכוב בגידול שלהם יהיה איטי יותר).

ההמלצות שלנו לאחר הניסוי שלנו ולאחר העבודה המקיפה שלנו הן:

1. נמליץ לבצע ניסוי דומה עם יותר חזרות ולהוסיף עוד ריכוזי דבש גם לחיידקי הבצילוס.
2. נמליץ לבדוק עוד סוגי חיידקים גראם חיוביים וגראם שליליים, כדי לבדוק את השפעת הדבש עליו, האם כל חיידקי הגראם חיוביים מגיבים כך לדבש?
3. נמליץ להוסיף עוד ריכוזי דבש בשביל לבדוק את השפעת הדבש על החיידקים בתמיסה מהולה ובתמיסה מרוכזת יותר בשביל להבין טוב יותר את התוצאות (ראה גרף 2)
4. נמליץ להוסיף סוגי דבש שונים בשביל לראות האם כל סוגי הדבש פועלים בדומה על החיידקים או בשונה על החיידקים.
5. רעיון חדש לניסוי המשך הוא לבדוק את השפעת רמות סוכר שונות של הדבש על קצב התרבות החיידקים בשביל לבדוק באיזו רמת סוכר ניתן לקיים התרבות ובאיזה רמת סוכר החיידקים מפסיקים להתרבות.

## ביבליוגרפיה

1. וויקיפדיה- דבש

[https://he.wikipedia.org/wiki/%D7%93%D7%91%D7%A9#cite\\_note-crane\\_paper-1](https://he.wikipedia.org/wiki/%D7%93%D7%91%D7%A9#cite_note-crane_paper-1)

מקור לויקיפדיה:

Taylor&francis online-honey from honeybees and other insects (אווה קראן, 12.3.1990, פורסם באינטרנט ב-21.6.2013)

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03949370.1991.10721919>

2. מזרחי א' (1999) "מהדבש ועד העוקץ", הוצאת חותם הזהב, עמודים 103-116

3. ניר דרור (2008) "E.coli אוהב או אויב?". פורסם בגלילאו גליון 118 (יוני 2008), עמ' 84-87.

<https://telem.openu.ac.il/courses/c20237/coli-g.htm>

4. ד"ר סדובסקי חיים (2003), "החיים כדרך, הדרך לחיים". "למה דבש". פורטל הבריאות רפואה וסגנון

החיים הגדול ברשת. <http://www.tevalife.com/article.asp?id=1381>

5. טבע-לי cyclopower digestive כמוסות דבש מאנוקה עם ציקלופאוור, תאריך הורדה: 24.9.2019

<https://www.teva-li.com/items/2292830-cyclopower>

6. על הדבש ועל העוקץ- מכון דוידסון, נועם לויתן, תאריך פרסום: 19.9.2017

<https://davidson.weizmann.ac.il/online/sciencepanorama/%D7%A2%D7%9C-%D7%94%D7%93%D7%91%D7%A9-%D7%95%D7%A2%D7%9C-%D7%94%D7%A2%D7%95%D7%A7%D7%A5>

7. סיינטיפיק אמריקן/איך סוכר ומלח מונעים מחיידקים לקלקל מזון? תאריך פרסום: 11.8.2006

<https://www.hayadan.org.il/סיינטיפיק-אמריקן-איך-סוכר-ומלח-מונעים>



8. קוטיקולה- בצילוס, מערכת קוטיקולה, תאריך פרסום: 20.6.2018

<https://www.cuticula.co.il/%D7%91%D7%A6%D7%99%D7%9C%D7%95%D7%A1-bacillus/>

9. בשער ברשת- פרופ' אורי גופנא: שאלה מספר 5800 דבש. תאריך פרסום: 15.10.2012

[http://www.bashaar.org.il/Question.asp?Question\\_id=5800](http://www.bashaar.org.il/Question.asp?Question_id=5800)

10. משרד הבריאות Bacillus Cereus תאריך הורדה: 24.9.2019

<https://www.health.gov.il/Subjects/FoodAndNutrition/food/BacteriaAndFoodPoisoning/Pages/Bacillus-cereus.aspx>

11. משרד הבריאות- חיידקי E.coli. תאריך הורדה: 24.9.2019

[https://www.health.gov.il/Subjects/FoodAndNutrition/food/BacteriaAndFoodPoisoning/Pages/Ecoli0157\\_H7.aspx](https://www.health.gov.il/Subjects/FoodAndNutrition/food/BacteriaAndFoodPoisoning/Pages/Ecoli0157_H7.aspx)

12. ויקיפדיה- חיידקי גרם שלילי: מקור

Baron S, Salton MRJ, Kim KS. Chapter 2 "Structure". *Baron's Medical Microbiology* (4th ed.), Univ of Texas Medical Branch

[https://he.wikipedia.org/wiki/%D7%97%D7%99%D7%99%D7%93%D7%A7%D7%99%D7%9D\\_%D7%92%D7%A8%D7%90%D7%9D-%D7%A9%D7%9C%D7%99%D7%9C%D7%99%D7%99%D7%9D](https://he.wikipedia.org/wiki/%D7%97%D7%99%D7%99%D7%93%D7%A7%D7%99%D7%9D_%D7%92%D7%A8%D7%90%D7%9D-%D7%A9%D7%9C%D7%99%D7%9C%D7%99%D7%99%D7%9D)

13. ויקיפדיה-חיידקי גרם חיובי: מקור

Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller. *Medical microbiology*. Elsevier Mosby. 2005

[https://he.wikipedia.org/wiki/%D7%97%D7%99%D7%99%D7%93%D7%A7%D7%99%D7%9D\\_%D7%92%D7%A8%D7%90%D7%9D-%D7%97%D7%99%D7%95%D7%91%D7%99%D7%99%D7%9D](https://he.wikipedia.org/wiki/%D7%97%D7%99%D7%99%D7%93%D7%A7%D7%99%D7%9D_%D7%92%D7%A8%D7%90%D7%9D-%D7%97%D7%99%D7%95%D7%91%D7%99%D7%99%D7%9D)

14. חיידקים ונגיפים בגוף האדם- עמוד 7-8- תאריך הנפצה: חשוון תשע"ז, נובמבר 2016.

פיתוח וכתובה: ד"ר אורה כהנא עריכה מדעית: ד"ר נעמה גולן

[file:///C:/Users/%D7%98%D7%9C%D7%99%20%D7%A8%D7%99%D7%99%D7%A4%D7%9C%D7%93/Downloads/chaydakim\\_ungifim\\_beguf\\_haadam\\_ora\\_cahana\\_2016.pdf](file:///C:/Users/%D7%98%D7%9C%D7%99%20%D7%A8%D7%99%D7%99%D7%A4%D7%9C%D7%93/Downloads/chaydakim_ungifim_beguf_haadam_ora_cahana_2016.pdf)

## נספחים:

### דף תכנון ניסוי המשך:

<p><u>שם:</u> מעיין צור</p> <p><u>שם:</u> רון זוהר</p> <p><u>שם:</u> נטע פריד</p>	<p>שמות התלמידים</p>
<p>מהו הקשר בין חימום הדבש על קצב התפתחות חיידקי E.colin?</p>	<p>שאלת החקר (בשאלה יוגדרו המשתנים בבירור, והקשר המשוער ביניהם)</p>
<p>אנו משערים כי ככל שטמפרטורת הדבש תהיה יותר גבוהה, החיידקים לא יפסיקו להתרבות ותהליך הרבייה לא ייפגע על ידי הדבש. הבסיס הביולוגי להשערתנו הוא בדבש יש אנזים הנקרא גלוקוז-אוקסידז, המייצר מי חמצן הקוטלים את החיידקים. אנו יודעים כי לכל אנזים טמפרטורה אופטימלית בו הוא מתפקד ופעיל בצורה הטובה ביותר, כאשר אנו נעלה את הטמפרטורות של הדבש לטמפ' גבוהה מדי, האנזים יעבור דנטרוזיה (הרס המבנה המרחבי שלו) וכך יפסיק לתפקד מה לא ייצר את מי החמצן- הקוטלים את החיידקים והתרבותם.</p>	<p>השערה + בסיס ביולוגי להשערה (בקצרה)</p>
<p>המשתנה הבלתי תלוי בניסוי הוא חימום הדבש. אופן השינוי שלו הוא על ידי חימום ריכוזי הדבש השונים: טמפ' 30 ו- 80 מעלות צלזיוס (3 חזרות לכל טיפול)</p>	<p>המשתנה הבלתי תלוי + אופן השינוי שלו + מספר הטיפולים</p>
<p>בטיפול אחד הכנסנו את תרחיף החיידקים לדבש מחומם כ-80 מעלות צלזיוס ובטיפול השני הכנסנו את תרחיף החיידקים לדבש בטמפרטורה 30 מעלות צלזיוס זאת לבדוק האם באמת יש השפעה לדבש מחומם/ בטמפ' גבוהות ולבדוק האם השערתנו נכונה. הבקרה היא בקרה לצורך השוואה- בקרה פנימית השוואתית.</p>	<p>והבקרה בניסוי (בקרה חיצונית / בקרה פנימית השוואתית)</p>
<p>קצב התפתחות החיידקים במצע מוצק בצלחת פטרי. אופן המדידה הוא מדידת קוטר הילה הנקי מחיידקים (ס"מ).</p>	<p>המשתנה התלוי + דרך המדידה שלו</p>

<p>דרך נוספת לבדיקת המשתנה התלוי הוא על ידי עקומת גדילה ודעיכה- גדילה מעריכית, כלומר, במעבדה, אוכלוסיית חיידקים מכפילה את עצמה במרווחי זמן קבועים. הגדילה נעשית בטור גיאומטרי- <math>0^2, 1^2, 2^2, \dots, n^2</math>. כאשר מגדלים במעבדה חיידקים במצע טרי ובודקים את התפתחות אוכלוסיית החיידקים לאורך זמן, מתקבלת עקומת חיידקים בעלת ארבעה שלבים- שלב השהייה, שלב הגידול המעריכי, שלב הגידול היציב, שלב התמותה.</p>	<p>אם יש דרך נוספת לבדיקת המשתנה התלוי (נדרש אם יש פחות מ- 5 טיפולים)</p>
<p>האורגניזם בו נשתמש הוא חיידקי E.coli או חיידקי הבצילוס.</p>	<p>האורגניזם / צמח הבוחן</p>
<p>אנו נשתמש ב-24 צלחות פטרי: 4 ריכוזי דבש (כולל בקרה ללא דבש), 3 חזרות לכל טיפול.</p>	<p>מספר פריטים ו/או חזרות (לכל טיפול)</p>
<p>אותו סוג חיידקים (בצילוס או E.coli), נפח תרחיף קבוע לכל חזרה, אותו סוג דבש, ריכוז קבוע של דבש, זמן מדידה קבוע (כ- 24 שעות).</p>	<p>משתנים קבועים</p>

## דפי תצפית וסיכום התוצאות:

השפעת ריכוז הדבש על גידול חיידקי E.coli (גרם-) (קוטר הילה (ס"מ))

קוטר הילה (ס"מ)				צלחת פטרי	ריכוז הדבש
4	3	2	1		
2.4	2.2	2.9	2.9	1	50%
2	1.9	1.8	2	2	
1.5	1.2	2.1	2	3	
1	0.6	0.8	1	1	25%
0.5	0.7	0.8	0.9	2	
1.6	0.8	0.8	1.1	3	
0.9	1.1	0.9	1.4	1	12.5%
1.1	1	0.9	1.2	2	
0.8	2	1	1.3	3	
0.4	0.7	0.6	0.9	1	6.25%
0.7	0.6	0.65	1.6	2	
1	0.6	0.7	2.1	3	
0	0	0	0.5	1	0%
0	0.9	1	0.9	2	
0	0	0	0	3	

השפעת ריכוז הדבש על גידול חיידקי בצילוס (גרם+) (קוטר הילה (ס"מ))

קוטר הילה (ס"מ)				צלחת פטרי	ריכוז הדבש
4	3	2	1		
2.5	2.5	2.5	2.5	1	50%
2.5	2.7	2.5	2.5	2	
2.5	2.4	2.5	2.4	3	
				1	
				2	
				3	
2.5	2.5	2.4	2.5	1	12.5%
3	2.7	2.6	2.7	2	
2.7	2.6	2.5	2.9	3	
				1	
				2	
				3	
1	1	1	0.8	1	0%
0.9	0.6	0.7	1	2	
0.9	1	0.6	1	3	

השפעת ריכוז הדבש על גידול חיידקי E.coli (גרם -)

ת.ס%	ת.ס	ממוצע	קוטר הילה (ס"מ)				צלחת פטרי	ריכוז הדבש (%)
			4	3	2	1		
			2.4	2.2	2.9	2.9	1	50
			2	1.9	1.8	2	2	
23.9	0.50	2.1	1.5	1.2	2.1	2	3	25
			1	0.4	0.8	1	1	
			0.5	0.7	0.8	0.9	2	12.50
35.3	0.31	0.9	1.6	0.8	0.8	1.1	3	
			0.9	1.1	0.9	1.4	1	6.25
			1.1	1	0.9	1.2	2	
28.7	0.33	1.1	0.8	2	1	1.3	3	0
			0.4	0.7	0.6	0.9	1	
			0.7	0.6	0.65	1.6	2	0
55.7	0.49	0.9	1	0.6	0.7	2.1	3	
			0	0	0	0.3	1	0
			0	0.9	1	0.9	2	
161.3	0.42	0.3	0	0	0	0	3	0

השפעת ריכוז הדבש על גידול חיידקי בצילוס (גראם +)

ת.ס%	ת.ס	ממוצע	קוטר הילה (ס"מ)				צלחת פטרי	ריכוז הדבש (%)
			4	3	2	1		
			3	2.5	2.5	2.5	1	50
			2.5	2.7	2.4	2.5	2	
6.6	0.17	2.5	2.5	2.4	2.5	2.4	3	12.50
							1	
							2	0
							3	
			2.5	2.5	2.4	2.5	1	0
			3	2.7	2.6	2.7	2	
6.7	0.18	2.6	2.7	2.6	2.5	2.9	3	0
							1	
							2	0
							3	
			1	1	1	0.8	1	0
			0.9	0.6	0.7	1	2	
15.5	0.14	0.9	0.9	1	0.8	1	3	0