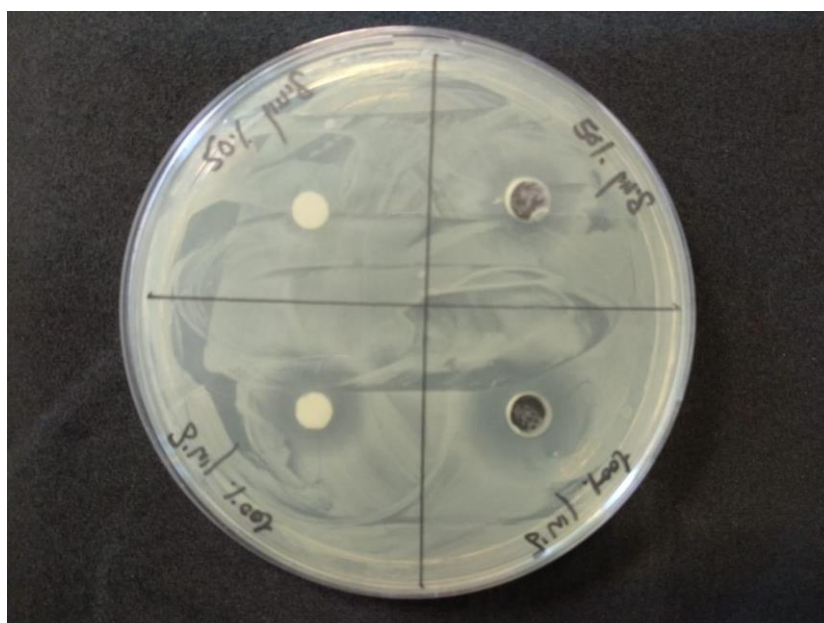




עבודת ביוחקר

השפעת מיץ לימון על עיכוב התרבות חיידקים

מסוג *E. coli*



מגישה - פולינה קפליאן

בית ספר - ויצו נהלל

כיתה - י"ב

למורה - טלי

ינואר 2021

מבוא :

מהי השפעת ריכוזים שונים של מיץ הלימון על עיכוב התרבות חיידקי *E. coli* ?
זוהי השאלה שעליה ניסיתי לענות בעבודת החקר שלי.

נקודת המוצא לחקר היתה העובדה שתמיד מציעים לימון כ- 'תרופת סבתא' לטיפול בהתקררות, שפעת או כאב גרון. וזה יצר אצלי עניין - האם לימון אכן משפיע על התרבות חיידקים. כשהתחלתי ללמוד על הנושא נתקלתי בכתבה ב- 'דוידסון אונליין' שמדברת בדיוק על זה וזה גם חיבר אותי לחיידקים עליהם דיברנו בשיעורי ביולוגיה : חיידקי *E. coli* המצויים במעי שלנו ולהם תפקיד חשוב בעיכול/ פרוק חומרי המזון. בשיעורי ביולוגיה למדנו על מערכות גוף האדם וכשלמדנו על מערכת העיכול למדנו גם על חיידקי *E. coli* שמהווים חלק חשוב מתוך מערכת העיכול של האדם, מכיוון שהם מסייעים בפרוק חומרי המזון למרכיביהם הסופיים (שאחר כך נספגים לדם ומגיעים לתאים שלנו). רוב חיידקי אי קולי אינם מזיקים כאשר הם נמצאים כבר בגוף, אבל ברגע שהם חוזרים לגוף מהסביבה החיצונית כמה מהם יכולים להיות פטוגנים לבני אדם ולגרום לנזק כגון דלקות בקיבה והמעיים, במערכת המין ודרכי השתן ואפילו דלקת קרום המוח. משום כך, כל תעשיות המזון בודקות בראש ובראשונה אם נמצא באוכל חיידק זה לפני שליחתם לחנויות. החיידק משמש



כאורגניזם מודל בביולוגיה - מתרבה בקצב מהיר, כל 20 דקות.
חיידק אי קולי יכול לשרוד בסביבות חומציות עד לערכי PH של 3-4 בדרך כלל, אך לא למטה מכך. (1, 2, 4, 6)

התרבות חיידקים:

ברבות הימים הפך *E. coli* לחיידק הנחקר ביותר, ומרבית המידע שיש לנו על חיידקים בכלל התגלה תחילה ב-*E. coli*, ורק אחר-כך נבדק בהשוואות עם חיידקים אחרים. המחקרים ב-*E. coli* שימשו כבסיס לכל הביולוגיה המולקולרית המודרנית. (2)

בעבודתי בחרתי להשתמש ב-*E. coli* כיוון שזהו חיידקי שמשמשים בו רבות לניסוי מעבדה, הוא נוח לעבודה במעבדה, בעיקר בשל ההתרבות המהירה שלו (זמן דור כ- 20 דק').

כדוגמת ה- *E. coli*, מרבית החיידקים אינם מזיקים לנו, אלא להפך חיים איתנו בסימביוזה ואף מועילים לנו. בכל אופן, ישנם גם חיידקים פתוגנים (גורמי מחלות) איתם אנו מתמודדים בעיקר באמצעות אנטיביוטיקה. (2)

בכל אופן, לאורך שנים אנשים טיפלו בעצמם באמצעות 'תרופות סבתא' כמו: שום, לימון, דבש, בצל כאשר היו מקוררים, עם שפעת או משהו בגרון. מתוך כל אלה, בחרתי לבדוק את השפעת הלימון על התרבות חיידקים.

הלימון יכול לתרום לבריאותנו בדרכים שונות, כמו: לשיפור מראה השיער והציפורניים כשמערכת העיכול משתפרת דרך צריכה של לימון וחל שיפור בספיגה של ויטמינים ומינרליים, הציפורניים שלנו מתחזקות ואין לנו יותר סימנים של נקודות לבנות או פסי אורך ושקעים, המעידים על חסרים תזונתיים. הדבר עוזר גם לנשירת שיער, בעיקר כי ויטמין C משפר את ספיגת הברזל בדם, דבר המשפיע גם על השיער. אז תאכלו את הברזל שלכם בשילוב לימון. (5)

כהגנה מפני חיידקים פתוגנים, מיץ לימון טרי הוא חומצי וה- PH שלו (רמת חומציות) נמוך, וברגע שה- PH נמוך יותר כך רמת החומציות גבוהה יותר וזאת התכונה שהופכת אותו לאמצעי יעיל נגד חיידקים. (3, 6)

בנוסף, מיץ לימון מכיל ריכוזים גבוהים של ויטמין C. מחקרים הדגימו השפעות שונות של ויטמין C על מרכיבים של מערכת החיסון. לדוגמה, הוויטמין נמצא מעודד יצירה ותפקוד של ליוקוציטים (בעיקר נוטרופילים, לימפוציטים ופאגוציטים). ויטמין C נחוץ ליצירת קולגן המאפשר יצירת רקמות ועצמות יציבות, ושומר על נימי הדם והשיניים. (3)

השערתני: ככל שריכוז מיץ הלימון יהיה גבוה יותר, כך הוא יעכב את התפתחות החיידקים במידה הרבה ביותר.

בסיס ביולוגי: הרמה שבה מיץ הלימון מעכב את גדילת החיידקים תלויה בריכוז החומצה וברמת ה- PH שלה. ככל שריכוז החומצה גבוה יותר כך גם ה- PH יהיה נמוך יותר והתרומה של הלימון להאטת פעילות החיידקים תהיה יעילה יותר. כל זה, כמובן, רק עד שמגיעים לרוויה, כלומר לרמת העיכוב המקסימלית האפשרית.

מערך החקר (כולל שיטות וחומרים) :

חומרים וכלים:

טוש

סרגל

צלחות פטרי (15)

אגר (מצע מזון לחיידקים)

גזייה

חיידקים E.coli

פיפטור 20-200 ul (מיקרוליטר)

טיפים מתאים

מקל דריגלסקי

מיץ לימון

מים מזוקקים

פיפטור 1-5 ml

טיפים מתאימים

מבחנות

פיפטה זכוכית (לחירור האגר)

כפפות

אינקובטור

האורגניזם:

ממלכה: חיידקים אמיתיים

מערכה: חיידקים ארגמניים

מחלקה: גמא-פרוטאובקטריה

סדרה: Enterobacteriales

משפחה: Enterobacteriaceae

סוג: Escherichia

מין: Escherichia coli

מהלך העבודה:

את הניסוי ביצענו בבית הספר ויצו נהלל במעבדה בתאריך 28.01.2020, התחלנו בשעה 12:25 וסיימנו ב13:55 סה"כ שעה וחצי).

1. חילקנו 15 צלחות פטרי בעזרת סרגל וטוש, כל צלחת ל4 חלקים. חילקנו אותם ל 5 קבוצות (בכל קבוצה 3 צלחות). ועל כל קבוצה כתבנו את ריכוז הלימון שלה (0%, 25%, 50%, 75%, 100%) ואת שם החיידק שעליו עשינו את הניסוי (E.coli).



2. בעזרת פיפטור וטיפים מתאימים זרענו בכל צלחת 100 מיקרוליטר חיידקים E.coli ופיזרנו אותם באחידות בעזרת מקל דריגלסקי.



3. לקחנו 5 מבחנות והכנו את הריכוזים השונים בעזרת מיץ לימון ומים מזוקקים, שסה"כ בכל מבחנה יהיה 10 ml.



100% - רק מיץ לימון

7.5 ml - 75% מיץ לימון ו 2.5 מים מזוקקים

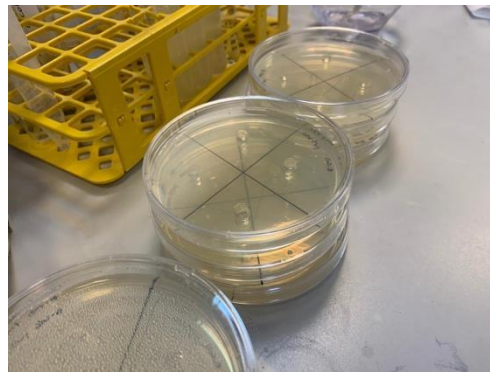
5 ml - 50% מיץ לימון, ו 15ml מים מזוקקים

2.5 ml - 25% מיץ לימון, ו 7.5 ml מים מזוקקים

0% - רק מים מזוקקים

*חשוב לערבב טוב כל מבחנה.

4. בעזרת פיפטה זכוכית חיררנו את האגר באמצע כל רבע והוצאנו את האגר המיותר.



5. בעזרת פיפטור וטיפים מתאימים טפטפנו את מיץ הלימון לתוך החורים שעשינו בשלב-4 (בזהירות שמיץ הלימון לא ישפך לצדדים) בהתאם לריכוזים השונים, כלומר בצלחת שעליה כתוב ריכוז של 50% הכנסנו את מיץ הלימון שריכוזו 50% וכך הלאה.

6. הכנסנו את כל הצלחות לתוך האינקובטור (בטמפרטורה של 37 מעלות צלסיוס) 24 שעות וחייבנו לתוצאות שנאספו/ נרשמו למחרת: 29.1.2020.

משתנה תלוי- קצב התרבות החיידקים/ עיכוב התרבות חיידקי E-coli
דרך מדידת המשתנה התלוי היא בדיקת/ מדידת קוטר הילה עם סרגל (ס"מ). ככל שקוטר ההילה גדול יותר זה אומר שהיתה יותר תמותת חיידקים, המשמעות היא שהיה עיכוב גדול יותר בהתרבות החיידקים
 משתנה בלתי תלוי- ריכוזי מיץ לימון
 בניסוי בדקנו את השפעת גורם זה בריכוזים של 0% , 25% , 50% , 75% , 100%.

בניסוי הגענו לריכוזים אלו על ידי שימוש בשיטה של מהילה פי 2 כל פעם (כך שהריכוז הקודם היווה את הריכוז ההתחלתי של המבחנה החדשה).

בכל ריכוז נעשו 12 חזרות (3 צלחות פטרי לכל ריכוז וכל צלחת חולקה ל- 4 רבעים) אשר נועדו לבדוק שהתוצאה אינה מקרית, אלא חוזרת על עצמה.

משתנים קבועים:

סוג חיידק: חיידקים מסוגים שונים יגיבו לניסוי בצורה שונה ולכן על מנת לקבל תוצאות אחידות אשר יושפעו אך ורק מהמשתנה הבלתי תלוי הנבדק (ריכוז אקונומיקה) השתמשנו בכל הטיפולים רק בסוג חיידק אחד (E.coli).

סוג לימון: מיץ לימון סחוט

סוג מצע גידול אגר: על מנת שלכל חיידקי E.coli יהיה נקודת התחלה שווה בניסוי מה שישמור בניסוי רק על משתנה אחד הנבדק (ריכוזי מיץ לימון), לכן סוג מצע הגידול/ סוג האגר צריך להיות זהה בכל הטיפולים ובכל צלחות הפטרי.

טמפרטורה קבועה: לכל חלבון/ אנזים יש טמפ' אופטימלית אשר בה הוא עובד הכי טוב. כך שטמפ' שונה תשפיע על קצב שונה של תהליכי התרבות החיידקים. לכן, אם לא נשמור בכל טיפול ובכל צלחת פטרי על אותה טמפ', עשויות להתקבל תוצאות שונות ולא בגלל ריכוז מיץ לימון (המשתנה שהשפעתו נבדקת).

בקורת בניסוי:

1. בקרה חיצונית: זריעת חיידקי E.Coli ללא מיץ לימון (0%) על מנת להוכיח שתוצאות הניסוי אינם נגרמות על ידי גורם אחר אלא בעקבות האקונומיקה
2. בקרה פנימית השוואתית: השוואה בין ריכוזים שונים של מיץ לימון.

מספר הפריטים בכל טיפול ומספר החזרות:

- 3 צלחות פטרי לכל טיפול וכל צלחת מחולקת ל- 4 רבעים, סה"כ: 12 חזרות לכל טיפול/ ריכוז מיץ לימון.

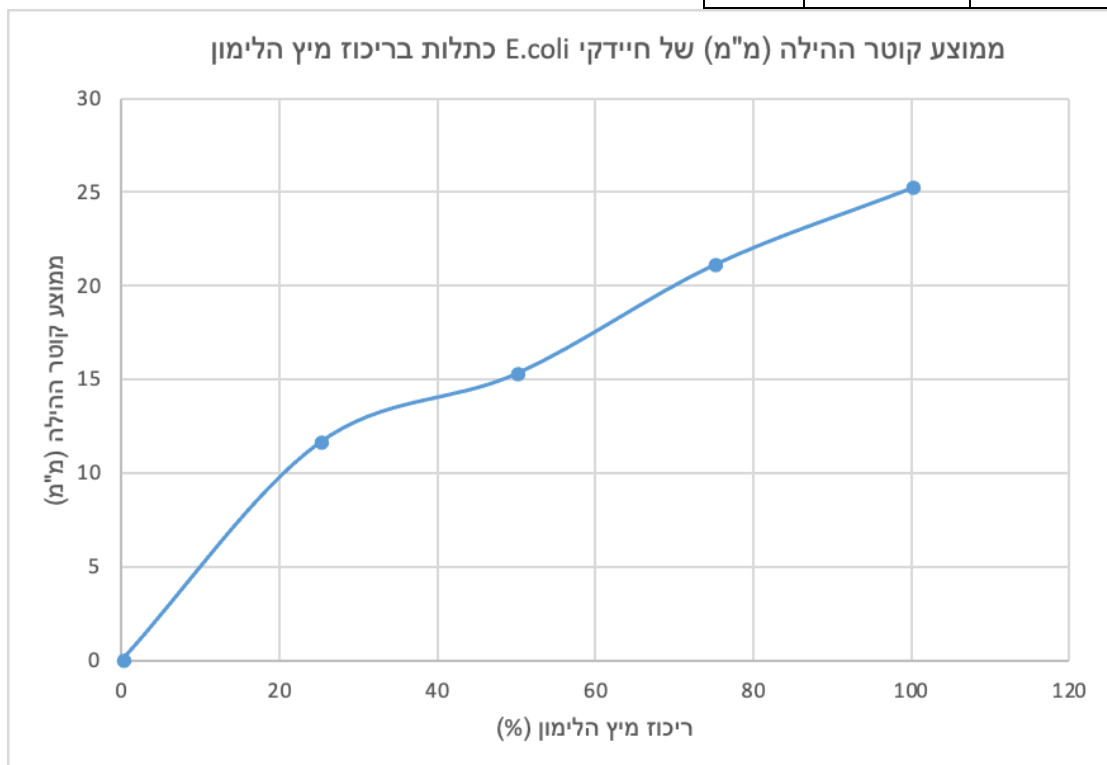
אופן עיבוד התוצאות:

תוצאות הניסוי נבדקו ע"י בדיקת קוטר הילה (ס"מ) בעזרת סרגל התוצאות נכתבו בטבלאות אקסל יצרנו גרף וחישבנו סטיית תקן*, אחוז סטיית תקן.

				קוטר ההילה שנמדד (מ"מ)				צלחת פטרי	ריכוז הלימון
				4	3	2	1		
	% סטיית תקן	סטיית תקן	ממוצע קוטר הילה (מ"מ)						
				0	0	0	0	1	0%
				0	0	0	0	2	
	0	0	0	0	0	0	0	3	
				11	11	12	12	1	25%
				11	12	12	11	2	
	4,4	0,5	11,6	11	12	12	12	3	
				15	17	16	17	1	50%
				14	15	15	15	2	
	8,0	1,2	15,3	13	15	15	17	3	
				24	23	20	22	1	75%
				21	21	19	19	2	
	7,7	1,6	21,1	23	21	20	20	3	
				24	26	25	29	1	100%
				26	25	25	26	2	
	6,1	1,5	25,2	24	23	25	24	3	

תוצאות:

	ממוצע קוטר הלה (מ"מ)	ריכוז הלימון (%)
	0	0
	11,6	25
	15,3	50
	21,1	75
	25,2	100



מתוך הגרף ניתן לראות כי ככל שריכוז הלימון עולה כך עולה קוטר ההילה.

דיון ומסקנות

בעבודת החקר שלי בדקתי את השפעת מיץ לימון על עיכוב התרבות חיידקים מסוג E.coli. העבודה התבצעה על ידי גידול חיידקים E.coli בצלחות פטרי עם אגר (מסוג נוטרייאנט אגר - אגר עם חומרי הזנה) בריכוזי מיץ לימון שונים.

שאלת חקר: מהי השפעת ריכוזי מיץ לימון על עיכוב התרבות חיידקי E.coli ?

השערה: ככל שריכוז מיץ הלימון יהיה גבוה יותר, כך הוא יעכב את התפתחות החיידקים במידה הרבה ביותר.

בסיס ביולוגי: הרמה שבה מיץ הלימון מעכב את גדילת החיידקים תלויה בריכוז החומצה וברמת ה-PH שלה. ככל שריכוז החומצה גבוה יותר כך גם ה-PH יהיה נמוך יותר והתרומה של הלימון להאטת פעילות החיידקים תהיה יעילה יותר. כל זה, כמובן, רק עד שמגיעים לרוויה, כלומר לרמת העיכוב המקסימלית האפשרית.

מתוך תוצאות הניסוי שלי (ראה גרף בפרק התוצאות), ניתן לראות כי ככל שריכוז מיץ לימון עולה כך גם קוטר ההילה שנמדד (ב- ס"מ) עולה. עלייה בקוטר ההילה מעיד על כך שריכוז מיץ לימון גבוה יותר גרם לתמותה של יותר חיידקים, ולמעשה עיכב את קצב התרבותם.

כהגנה מפני חיידקים פתוגנים, מיץ לימון טרי הוא חומצי וה-PH שלו (רמת חומציות) נמוך, וברגע שה-PH נמוך יותר כך רמת החומציות גבוהה יותר וזאת התכונה שהופכת אותו לאמצעי יעיל נגד חיידקים. (3, 5, 6) בנוסף, מיץ לימון מכיל ריכוזים גבוהים של ויטמין C. מחקרים הדגימו השפעות שונות של ויטמין C על מרכיבים של מערכת החיסון. לדוגמה, הוויטמין נמצא מעודד יצירה ותפקוד של לויקוציטים (בעיקר נוטרופילים, לימפוציטים ופאגוציטים). ויטמין C נחוץ ליצירת קולגן המאפשר יצירת רקמות ועצמות יציבות, ושומר על נימי הדם והשיניים. (3)

הצעות והמלצות לשיפור הניסוי: לדיוק הניסוי אפשר לבדוק השפעת של פירות או לימונים מסוגים שונים מכוון שאולי יש פירות עם רמת חומציות גבוהה יותר מאשר בלימון ובסוגים שונים של לימון גם רמת החומציות שונה. בניסוי שלי בדקתי את השפעת הלימון על חיידקי E.coli, ניתן גם לבדוק את השפעתו על חיידקים מסוגים שונים.

לסיכום- מיץ לימון מתאים כהגנה מפני החיידקים מכוון שרמת החומציות שלו גבוהה וזאת התכונה שהופכת אותו לאמצעי יעיל נגד חיידקים. בנוסף,

מיץ לימון מכיל ריכוז גבוה של ויטמין C שמחזק מערכת חיסונית של בן אדם. בעבודתי ראיתי שמיץ לימון משפיע על עיכוב התרבות חיידקים. החל מהריכוז מיץ לימון 25% נראה הבדל משמעותי בעיכוב התרבות חיידקים בהשוואה לקבוצות הבקרה ללא מיץ לימון.

הצעת ניסוי המשך:

בעקבות הניסוי שערכתי אני ממליצה להמשיך את ניסוי זה על ידי בדיקת ההשפעה של ריכוזים שונים של פרות שונות על חיידקים שונים, ולהשוות האם השפעתם על חיידקים שונים זהה או לא. כך תתקבל תמונת מצב יותר מדויקת בהקשר של השפעת ריכוזים שונים של פרות אם חומציות גבוהה על גדילת החיידקים, מהניסוי הזה אפשר אהיה להבין חשיבות של פירות בתזונה של בן אדם. בנוסף, בניסוי שלי בדקתי את השפעת הלימון על חיידקי E.coli, ניתן גם לבדוק את השפעתו על חיידקים מסוגים שונים. משום שסביר שלכל חיידק תהיה עמידות אחרת, והשפעת כל ריכוז תהיה שונה.

רשימה מקורות - ביבליוגרפיה

1. ד"ר בר-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>

2. ד"ר כהנא אורה (2016) ספר "חיידקים ונגיפים בגוף האדם". בהוצאת מל"מ ומשרד החינוך.

http://meyda.education.gov.il/files/Mazkirut_Pedagogit/biology/haydakim_ungifim_ora_kahana.pdf

3. ויטמין C וחיידקים/ דוידסון: <https://bit.ly/2Sq22LG>

4. ויקיפדיה - E-coli https://he.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli

5. השפעת של לימון על גוף ובריאות של אדם

<https://www.mako.co.il/health-magazine/Article-b7b7ddde5779551006.htm>

6. לימון וחיידקים/ דוידסון: <https://bit.ly/33tmxgM>