



ALI SE BAKTERIJAM IN PLESNIM V ŠOLI LAHKO IZOGNEMO?

Predmetno področje: BIOLOGIJA

Avtorici: Veronika Ahlin in Julija Farazin, 9. b

Mentorica: Tjaša Bergant, mag. prof. biologije in kemije

Osnovna šola Toma Brejca Kamnik

Šutna 39, 1241 Kamnik

Kraj in letnica izdelave: Kamnik, 2023

ZAHVALA

Za pomoč in usmeritve ter za čas vložen v delo pri izvedbi raziskovalne naloge bi se radi zahvalili mentorici Tjaši Bergant. Zahvalili bi se tudi profesorici Katarini Š. z oddelka za mikrobiologijo na Biotehniški Fakulteti, ki nam je dala številne nasvete in priporočila za izvedbo naloge.

Naslov naloge: *Ali se bakterijam in plesnim v šoli lahko izognemo?*

Avtorici: *Julija Farazin in Veronika Ahlin, 9. b*

Mentorica: *Tjaša Bergant*

Ključne besede: *bakterije, plesni, rastlinski izvlečki*

POVZETEK

V raziskovalni nalogi naju je zanimalo, na katerih površinah v šoli se nahaja največ bakterij in plesni in ali se jim lahko izognemo z različnimi rastlinskimi izvlečki. V poskusu sva raziskovali delovanje izvlečkov ameriškega slamnika in propolisa ter čaj iz lovorja in ingverja. Po pregledu literature sva zasnovali metode raziskovanja prilagojene za šolsko delo, in izvedli poskus. Po odvzemu brisov iz nekaterih površin, ki se jih učenci najbolj dotikamo (ograde, mize, pipe, vrata..) sva vzorce prenesli na gojišče agarja, ki smo ga pripravili v šoli in ugotovili, da se na vseh površinah nahaja nekaj bakterij ali plesni. Nato sva na nekaj teh površin nanесли izvlečke in ugotavljali ali le-ti učinkujejo na bakterije in plesni. Ugotovili sva, da izvlečki sicer učinkujejo, vendar obstaja verjetnost, da so najini rezultati lahko naključja. Prav tako po pregledu literature lahko sklepamo, da so rezultati pretirani in izvlečki v resnici niso toliko učinkoviti, kot so pokazali najini rezultati.

ABSTRACT

The research project was directed in finding out which surfaces in the school contain the most bacteria and mold, and whether we could avoid them using various plant extracts. We also investigated the effects of extracts from Echinacea and propolis, as well as bay leaf and ginger tea. After reviewing the literature, we designed research methods adapted for school work and conducted the experiment. After taking swabs from some surfaces that students touch the most (railings, desks, faucets, doors, etc.), we transferred the samples onto agar medium that we prepared in school and found that all surfaces had some bacteria or mold present. We applied extracts onto some of these surfaces and observed whether they had an effect on the bacteria and mold. The extracts had some effect, but there is a possibility that our results were due to chance. Additionally, after reviewing the literature, we can

conclude that the results are exaggerated, and the extracts may not be as effective as our results showed.

KAZALO

UVOD	1
1. TEORETIČNI DEL	2
1.1 BAKTERIJE	2
1.1.1 ZNAČILNOSTI BAKTERIJ	2
1.1.2 VRSTE BAKTERIJ	2
1.1.3 RAST IN RAZVOJ BAKTERIJ	4
1.2 PLESNI	5
1.3 ZDRAVILNE RASTLINE	6
2. RAZISKOVALNI DEL	9
2.1 OPREDELITEV RAZISKOVALNEGA PROBLEMA	9
2.2 CILJI RAZISKAVE	9
2.3. RAZISKOVALNA VPRAŠANJA IN HIPOTEZE	9
2.4. RAZISKOVALNE METODE	9
2.4.1 PRIPRAVA GOJIŠČ	10
2.4.2 IZOLACIJA BAKTERIJ	11
2.4.3 MIKROSKOPIRANJE	13
2.4.4 PRIPRAVA RASTLINSKIH IZVLEČKOV	14
3. REZULTATI	15
4. RAZPRAVA	20
5. ZAKLJUČEK	22
6. LITERATURA IN VIRI	23

KAZALO SLIK

Slika 1: Stafilokoki (vir: NIJZ)

Slika 2: Oblike in profili kolonij (vir: Habulin, 2014, str. 8)

Slika 3: Plesen na gojišču.

Slika 4: UV sterilizator.

Slika 5: Prekuhavanje materiala.

Slika 6: Priprava gojišč.

Slika 7: Palčke za odvzem brisov.

Slika 8: Nanos vzorca na gojišče (vir: Habulin in Primožič, 2014,

str.6). Slika 9: Nanos vzorcev na gojišča.

Slika 10: Odvzem kulture (levo) in priprava mikroskopskega preparata (desno).

Slika 11: Mikroskopiranje.

Slika 12: Nanos izvlečka ameriškega slamnika na računalniško

miško. Slika 13: Kontrolno gojišče.

Slika 14: Gojišče z vzorcem s stikala za luč.

Slika 15: Gojišče z vzorcem z okenske kljuke.

Slika 16: Gojišče z vzorcem s pipe na stranišču. Slika 17: Gojišče z vzorcem z miz prvošolcev.

Slika 18: Gojišče z vzorcem z ograje v pritličju pred nanosom (levo) in po nanosu ingverjevega čaja (desno).

Slika 19: Gojišče z vzorcem z računalniške miške pred nanosom (levo) in po nanosu ameriškega slamnika (desno).

Slika 20: Gojišče z vzorcem z vhodnih vrat pred nanosom (levo) in po nanosu propolisa (desno).

Slika 21: Gojišče z vzorcem z dozirnika za milo pred nanosom (levo) in po nanosu ingverjevega čaja (desno).

UVOD

Ste se kdaj vprašali, zakaj se ravno jeseni prične sezona prehladov in grip? Zakaj pozimi zboli več ljudi kot poleti? Zakaj je pomembno redno zračenje prostorov? In kaj je teta Pehta mislila s svojimi besedami "Za vsako bolezen rož'ca raste" ?

Zima je čas, ko se pogosteje pojavljajo okužbe kot v preostalem delu leta. Zato v tem obdobju tudi pogosteje pijemo najrazličnejše čaje in jemljemo številna prehranska dopolnila, ki naj bi preprečila različne okužbe. V večini so zanje sicer odgovorni virusi, okužimo pa se lahko tudi z bakterijami, ki povzročajo vnetja zgornjih dihalnih poti.

Hladno in vlažno vreme predstavljata ugodne pogoje za razvoj mikroorganizmov. Mraz in vlaga pri ljudeh povzročata več kašljanja in kihanja, s čimer ljudje kapljično raznašamo viruse in bakterije naokoli. Zaradi številčnosti ljudi v šolah je pomembno tudi redno zračenje prostorov, s katerim se izognemo ne le razvoju bakterij, ampak tudi plesni.

Na podlagi razmišljanja o številčnosti okužb v šolah sva dobili idejo, da raziščeva pojavnost bakterij na različnih površinah v šolskem prostoru, v prehodnem obdobju jesen – zima, ko je prehladov več in imunski sistem nekoliko oslavljen. Ker vemo, da so tudi plesni pogosto povzročiteljice bolezni dihal, bova pozorni tudi na razrast plesni. Zanima naju tudi, ali se je z uporabo domnevno učinkovitih izvlečkov zdravilnih rastlin mogoče izogniti razvoju bakterij in plesni ter katere zdravilne rastline učinkujejo pri pojavi bolezni.

Ob pisanju naloge so se nama porodila številna vprašanja, ne moreva pa mimo najbolj atraktivnega - Kakšno bi bilo življenje brez bakterij?

1. TEORETIČNI DEL

1.1 BAKTERIJE

1.1.1 ZNAČILNOSTI BAKTERIJ

Bakterije so pomemben del naše narave. Nahajajo se v našem telesu in povsod okoli nas, zato je prav, da razumemo njihovo vlogo v živem sistemu.

Bakterije so majhni enocelični organizmi s preprosto celično strukturo. So prokarionti, kar pomeni, da nimajo celičnega jedra, zato njihov dedni material prosto plava v citoplazmi (NIJZ) ¹



Slika 1: Stafilokoki (vir: NIJZ)

Večina bakterij je zelo majhnih in merijo v dolžino 0,5–5 μm ; obstajajo pa tudi orjaške bakterije, ki v dolžino merijo do 0,5 mm. Številni patogeni organizmi so bakterije. Z razkrajanjem skrbijo za kroženje snovi v naravi. Uporabljamo jih v prehranski industriji, nekatere pa so lahko tudi povzročiteljice okužb in vodijo v razvoj resnih bolezni (pljučnica, tetanus, sifilis in druge). Antibiotiki so učinkovita zdravila zoper večino bakterij. Najbolj znana in razširjena skupina antibiotikov so penicilini, ki delujejo tako, da onemogoča tvorjenje celične stene bakterije. ²

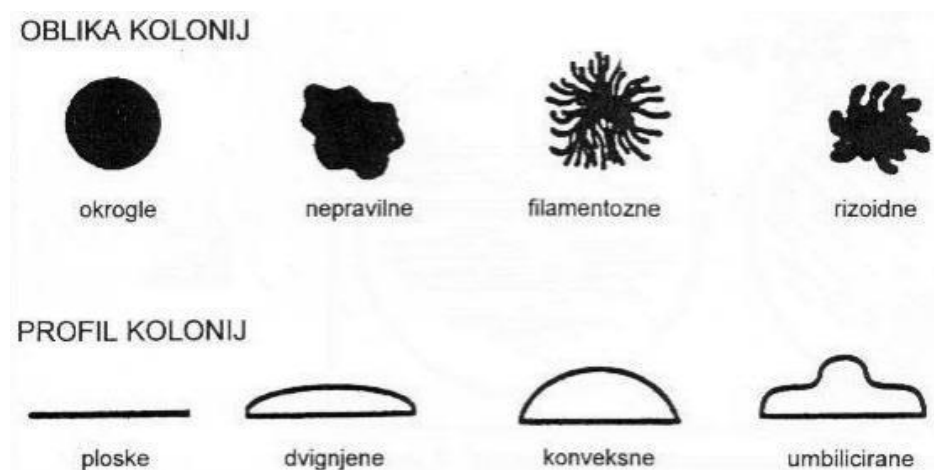
1.1.2 VRSTE BAKTERIJ

Kolonije različnih vrst mikroorganizmov se med seboj ločijo po izgledu. Ločijo se po:

¹ NIJZ, Bakterije v živilih: <https://nijz.si/moje-okolje/varnost-zivil/bakterije-v-zivilih/> (11. 2. 2023).

² Wikipedija, Bakterije: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Bakterije> (10. 12. 2023)

- barvi (rumena, bela ...),
- površini (gladka, mokra, suha...),
- velikosti,
- prečni prerezu (ploska, dvignjena, konveksna ...),
- obliki (okrogle, nepravilne ...),
- robu (gladek, valovit ...).³



Slika 2: Oblike in profili kolonij (vir: Habulin, 2014, str. 8)

Bakterijske celice glede na obliko delimo na več tipov. To so:

- koki (okrogle oblike),
- bacili (bakterije paličaste oblike),
- vibrili (ukrivljene oblike)
- spirili (spiralno zavite)⁴

Za natančno določitev vrste bakterij je potrebno izvesti izolacijo do čiste kulture, lahko pa pri določanju uporabimo tudi manj natančne metode, kot na primer slikovno-tekstovne določevalne ključe. Bakterije, ki so v naravi zelo razširjene, najdemo v zemlji, vodi, zraku in rastlinah, to so npr. bakterije iz rodu *Bacillus* in *Clostridium*. Bakterije rodu *Bacillus* so sporogene bakterije, ki imajo različne fiziološke lastnosti in neugodne razmere preživijo v obliki spor. Gre za bakterije, ki

³ Habulin, Maja, Primožič, Mateja. 2008. *Biokemijska tehnika, Navodila za laboratorijske vaje*: str. 1-3, 7-13.

⁴ Eučbenik, Zgradba bakterij, <https://eucbeniki.sio.si/nar7/1816/index2.html> (10. 12. 2023).

preživijo v okolju s kisikom ali brez njega. Nekatere vrste iz tega rodu so lahko patogene bakterije, ki povzročajo bolezni kot so tetanus in botulizem. Večina bakterij rodu *Clostridium* za svoje razmnoževanje ne potrebujejo navzočnosti kisika in so lahko prisotne tudi v človeškem in živalskem prebavnem traktu. Rod vsebuje dve vrsti, ki sta lahko človeku škodljivi, saj izločata strupene snovi. Nekatere izmed vrst so poznane kot kvarljivci predpripravljenih in konzerviranih jedi. Bakterije rodu *Staphylococcus* lahko preidejo v zrak, na prašne delce ali druge površine, saj naseljujejo sluznice in kožo ljudi (obraz, roke, nosna votlina, grlo ...), od koder jih ljudje z dotikom, kašljanjem in kihanjem izločamo v okolje. Tudi te bakterije za svoj obstoj ne potrebujejo kisika.^{5, 6}

1.1.3 RAST IN RAZVOJ BAKTERIJ

Bakterije za rast potrebujejo ustrezne pogoje, ki jih delimo na dve skupini: fizikalne in kemijske. Pod fizikalne štejemo temperaturo in pH okolja, pod kemijske pa kisik, vodo in hranila. Za gojitev bakterij potrebujemo ustrezno:

- hranilno podlago oz. gojišče,
- pH okolja,
- količino kisika in
- inkubacijo pri ustrezni temperaturi.

Bakterije razvrščamo v tri primarne skupine glede na temperaturo območje, ki jim najbolj ustreza (Hurst, Christian, Schuler, 2010, str. 5,6):

- - psihofilne (10-15°C)
- - mezofilne oz. zmernotemperaturne (<45°C)
- - termofilne oz. toploljubne (>45°C)

Za gojenje številnih bakterij je sestava gojišča že točno določena in se praviloma uporabljajo tista, ki zagotavljajo najboljše pogoje za rast. Navadno se za gojenje bakterij uporablja petrijevka, tj. steklena ali plastična laboratorijska posoda s

⁵ Jeršek, Barbara. 2014. Osnovni principi identifikacije plesni, kvasovk in bakterij v živilih, Skripta in delovni zvezek za laboratorijske vaje pri predmetu živilska mikrobiologija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, str. 57-58.

⁶ Hurst, William C., Christian, James A., Schuler, George A. *What are Bacteria, Yeasts & Molds?* The University of Georgia, 2010, Bulletin 817, str. 1-8.

pokrovom. Za gojenje bakterij ali celičnih kultur je v petrijevko potrebno najprej prenesti plast gojišča, torej sredstva z ustrezno sestavo za rast celic. Pogosto se kot gojišče uporablja agar, ki pri sobni temperaturi postane čvrst. Agar mikroorganizme preskrbi z vodo in hranilnimi snovmi. Gojišča shranjujemo v inkubatorjih, saj le-ti zagotavljajo stalno temperaturo (Habulin in Primožič, 2008, str. 13).

1.2 PLESNI

Plesni so za razliko od bakterij večcelični organizmi. Gre za vrste gliv, ki so razširjene povsod okoli nas. Razlikujejo se po videzu, nekatere so puhaste in podobne nitkam, druge vlažne in sijoče, spet druge sluzaste. Večja verjetnost za najdbo plesni je v neprezračenih prostorih, saj se njihovo razmnoževanje poveča v okolju z višjo temperaturo in večjo vlažnostjo (Hurst, Christian, Schuler, str. 7)

Ko gliva raste, izloča mikotoksine. To so strupene snovi, ki jih proizvajajo pretežno glive (plesni) iz rodov *Aspergillus*, *Penicillium* in *Fusarium*, ki preživijo tako, da jemljejo hranila drugim mikroorganizmom (Jeršek, 2014, str. 57-58).

Plesnim smo izpostavljeni s stikom s kožo, z zaužitjem in vdihavanjem. Simptomi, ki se pojavljajo, so: izpuščaji na koži (alergije), dihalne stiske (astme), več vrst vnetij, slabša odpornost in nevrolški simptomi.⁷



Slika 3: Plesen na gojišču.

⁷ Bioresonanca Maribor, Črna plesen, <https://bioresonancamaribor.com/tag/crna-plesen/> (11. 2. 2023).

Plesni živila tudi razkrajajo, zaradi česar se živila pokvarijo. Nimajo pa plesni vedno le negativnih učinkov. Gojijo jih namreč na različnih sirih, ki jih kasneje uživamo, pri izdelavi pijač in antibiotikov, uporabljajo pa se tudi v biotehnologiji in zdravstvu.⁸

Glive v ustreznem gojišču proizvajajo protibakterijsko snov, ki ima antibiotični učinek. Najbolj poznana izhaja iz rodu *Penicillium*, tj. penicilin, ki ga je leta 1928 čisto po naključju odkril škotski znanstvenik Alexander Fleming.

1.3 ZDRAVILNE RASTLINE

V Sloveniji poznamo več kot 100 različnih vrst zdravilnih rastlin, ki jih uporabljamo za lajšanje simptomov različnih bolezni. Vsebujejo vitamine in minerale, ki pomagajo našemu imunskemu sistemu. Iz njih lahko naredimo različne izvlečke (na vodni, alkoholni in oljni osnovi) in čaje z različno koncentracijo učinkovine. So tudi antibakterijsko učinkoviti, kar pomeni, da zavirajo delovanje in razmnoževanje bakterij. Antibiotiki so kemične spojine, ki jih razdelimo na antibiotike širokega spektra (delujejo na več bakterij) in na antibiotike ozkega spektra (delujejo na točno določeno vrsto bakterij).⁹

V zadnjem času se najpogosteje uporabljajo predvsem izvlečki žajblja, arnike, aloe vere, propolisa, ameriškega slamnika, ingverja in tudi lovorja. Za namen raziskovanja sva opisali značilnosti le nekaj teh.

PROPOLIS

Propolis je sestavljen iz različnih rastlinskih smol, ki jih čebele nabirajo na popkih rastlin. Zato ga sestavljajo tudi vitamini (B1, B2, B6, C, E), minerali (magnezij, kalcij, kalij, natrij, baker, cink, mangan, železo) in druge organske snovi. V njem ravno tako najdemo tudi aromatične organske kisline, kot so kofeinska kislina, cimetna kislina, fenol karbonska kislina in antibiotične spojine. Krepi imunski sistem, pomirja razdraženo kožo in deluje kot lokalni anestetik in antiseptik. Učinkovit je pri težavah z

⁸ DMFA, Kresnička: <http://kresnicka.splet.arnes.si/arhiv/6-in-7-razred/priprava-preparata-plesni/> (11.2. 2023).

⁹ Goste, Domen, Kričej, Matic, Lavrinc, Lan. 2013. Antibiotični učinki naravnih pripravkov, Raziskovalna naloga, str. 9,10, <https://drive.google.com/file/d/1PHX-GfOF3EfpgK4sQV75jcV11I4jxvR/view>.

aftami in aknami, pri površinskih ranah, odrgninah, lažjih oblikah opeklin, herpesu na ustnicah in glivičnih okužbah.¹⁰

AMERIŠKI SLAMNIK

Ameriški slamnik s svojim delovanjem učinkuje na različne načine:

- Pripomore k podpori imunskega sistema, kar krepi odpornost organizma proti virusnim, bakterijskim in glivičnim okužbam.
- Kot naravni prebiotik poskrbi za koristne bakterije v črevesju in lahko pomaga pri zaustavljanju diabetesa.
- Je šibak naravni antibiotik, ki ubija viruse in bakterije.
- Je močan antioksidant, ki znotraj celice poveča delovanje vitamina C, vpliva na pretok krvi in deluje protialergijsko in protivnetno.

Poleg tega ameriški slamnik zmanjšuje bolezenske znake pri prehladu, kot so kašelj, povišana telesna temperatura, glavobol in skrajša trajanje prehlada. Učinkuje tudi proti različnim infekcijam in vnetju spodnjega urinskega trakta.¹¹

LOVOR

Listi lovorja vsebujejo eterična olja in grenčine. V plodovih je poleg eteričnih olj 30 % maščobnega rastlinskega olja, nekaj škroba in sladkorja. Številne učinkovine eteričnega olja zelo dobro delujejo na naše telo, saj spodbujajo apetit in prebavo. Sestavini eteričnega olja podpirata delovanje presnove možganov in pomagata pri motnjah koncentracije ter pomagata pri preobremenjenosti. Študije so pokazale, da lovor vpliva na sladkor v krvi in da redna uporaba lovorja v hrani preprečuje razvoj sladkorne bolezni tipa 2, krepi srce in preprečuje razvoj raznih bolezni. Lovor uravnava holesterol in preprečuje razvoj srčne kapi. Nekatere študije so pokazale, da lovor uničuje rakave celice in preprečuje razvoj te bolezni. Čaj, ki ga pripravite iz listov lovora, prepreči razvoj ledvičnih kamnov ter čisti in krepi delovanje ledvic. S tem izboljša počutje in polepša videz kože.¹²

¹⁰ Czs, Propolis: <https://www.czs.si/content/C23> (14. 1. 2023).

¹¹ Farmedica, Ameriški slamnik: <https://www.farmedica.si/si/dodatki/rastlina-slamnik.html> (14. 1. 2023).

¹² Bodieko, Lovor: <https://www.bodieko.si/lovor> (28. 1. 2023).

INGVER

Sodobne raziskave ingverjevih zdravilnih sestavin potrjujejo učinkovitost marsikaterega starodavnega zdravila. Vsebuje namreč mnogo aromatičnih hlapnih olj. Prav v teh oljih se skriva njegova zdravilnost, dajejo pa mu tudi značilen vonj in okus. Ingverjevo olje vsebuje sestavine, ki blažijo vnetja in delujejo proti prehladnim virusom. Pekoče sestavine ingverja, tako imenovani gingeroli, blažijo slabost z občutkom siljenja na bruhanje. Ingverjeva korenina in ingverjevo olje se pogosto uporablja tudi za razdražen želodec. Je eden izmed najboljših zdravil za prebavne motnje, bolečine v želodcu, krče v črevesju, diarejo, napenjanje in ostale želodčne in črevesne težave. Lahko se uporablja tudi za zdravljenje bakterijskih okužb. Ker ingverjeva korenina in ingverjevo olje lajšata izkašljevanje, sta zelo uporabna za različne dihalne težave kot je prehlad, kašelj, gripa, astma in bronhitis.¹³

¹³ Gorenjske-lekarne, Ingver: <https://www.gorenjske-lekarne.si/svetovanje-clanek/ingver> (28. 1. 2023).

2. RAZISKOVALNI DEL

2.1 OPREDELITEV RAZISKOVALNEGA PROBLEMA

V šoli se nalezljive bolezni že tako hitreje razširjajo, saj so prostori natrpani z ljudmi, k temu pa pripomorejo še višje temperature v notranjih prostorih in slaba higiena rok. Čeprav je čistoča na naši šoli na visokem nivoju, saj se večina površin redno čisti, se na naših rokah kopičijo številne bakterije, ki jih prenašamo na predmete, ki se jih vsakodnevno dotikamo, npr. kljuke vrat, oken, koši za smeti, pipe, površine miz itd. Zaradi vsakodnevnega stika z najrazličnejšimi površinami sva začeli razmišljati, na katerih površinah se nahaja največ mikroorganizmov, ki smo jim izpostavljeni. Na omenjenih površinah se poleg bakterij razraščajo tudi drugi mikroorganizmi, kot na primer virusi in plesni. Številni mikroorganizmi so lahko za človeka škodljivi, nekateri celo nevarni, zato naju je zanimalo, ali se jim je možno izogniti z uporabo preverjenih rastlinskih izvlečkov, ki naj bi imeli antibiotični učinek.

Za raziskovanje sva se odločili uporabiti tiste, ki jih pri tovrstnih težavah uporablja vedno več ljudi in so domnevno najbolj učinkoviti.

2.2 CILJI RAZISKAVE

Z raziskavo sva želeli ugotoviti, katere površine so najbolj umazane oz. se na njih razvije največ mikroorganizmov. Zanimalo naju je tudi, ali se na površinah, ki se jih dotika največ ljudi, razvije tudi največ bakterij, in s katerimi rastlinskimi izvlečki bi si lahko pomagali, da bi se zaščitili proti nekaterim boleznim, ki so najpogostejše v zimskem času.

2.3. RAZISKOVALNA VPRAŠANJA IN HIPOTEZE

Postavili sva si naslednje hipoteze:

1. Na naših gojiščih bomo našli različne bakterije in plesni.
2. Izvlečka ameriškega slamnika in propolisa bosta najbolj učinkovita.
3. Največ bakterij se bo pojavilo na dozirniku za milo.
4. Pričakujeva, da se bodo plesni razvile na mokrih površinah (pipe stranišč, dozirnik mila).

2.4. RAZISKOVALNE METODE

Da sva lahko raziskavo varno izvedli, sva se ves čas držali navodil za delo v mikrobiološkem laboratoriju. Najprej sva si vedno temeljito umili roke in nato nosili rokavice in zaščitno masko ter pred delom sterilizirali vse pripomočke in celotno

delovno površino. Pazili sva na to, da mikrobnih kultur nisva polivali po mizi, po tleh in po oblekah, med delom pa sva imeli zaprta okna in vrata, da zračni tok ni nosil mikroorganizmov naokrog (Habulin in Primožič, 2014, str. 1-3).

Raziskave sva se lotili tako, da sva najprej pripravili gojišča. Potem sva se lotili odvzema brisov z različnih površin v šoli in jih nanесли na gojišča. Počakali sva približno 5 dni, da so se bakterije in plesni razrasle na gojiščih, in so bile le-te primerne za opazovanje. V drugem delu raziskovanja sva se najprej lotili izdelave rastlinskih izvlečkov in nato odvzema brisov. Te iste površine v šoli sva najprej namazali z rastlinskimi izvlečki in nato odvzeli bris. Brise sva ponovno nanесли na gojišča in jih pustili rasti 5 dni. Medtem ko sva čakali na rezultate vzorcev z dodatki rastlinskih izvlečkov, sva se lotili priprave mikroskopskih preparatov bakterij in plesni, ki so se razrasle na prvih gojiščih. Na koncu sva vsa gojišča pregledali, primerjali in zapisali rezultate.

2.4.1 PRIPRAVA GOJIŠČ

Najprej sva poskrbeli za sterilnost uporabljenih pripomočkov, tako da sva v večji posodi zavreli vodo in prekuhali žlice, zajemalke in cedila (slika 4), za sterilizacijo



Slika 5: Prekuhavanje materiala.



Slika 4: UV sterilizator.

petrijevke pa sva uporabili UV sterilizator (slika 5).

Gojišča sva pripravili iz jušne osnove in agarja. V večjo posodi sva dali 1 liter vode in 2 goveji jušni osnovi ter kuhali do vretja, da se je vsa kocka raztopila. Nato sva v vročo juho dali 1 vrečko agarja in pustili rahlo vreti še 2 minuti. Ko se je kocka raztopila, sva juho precedili, da sva odstranili večje delce v juhi. Preden sva jo prelili v petrijevke, sva zmes nekoliko ohladili, saj bi se sicer na pokrovih nabral kondenz. Ohlajeno zmes sva nato prelili v petrijevke in počakali, da se je agar strdil. Do nanosa vzorcev sva jih hranili na hladnem, v hladilniku pri približno 4°C.



Slika 6: Priprava gojišč.

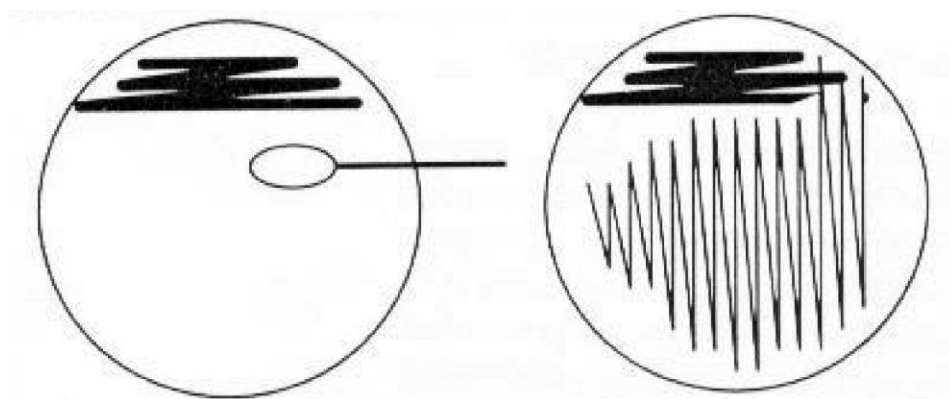
2.4.2 IZOLACIJA BAKTERIJ

Za jemanje brisov se uporablja vatirana palčka, ki jo pred uporabo namočimo v 0,9 % fiziološko sterilno raztopino. Pripravili sva jo tako, da sva 0,5 litra vode prekuhali in vanjo dodali 4,5 g soli ter počakali, da se ohladi. Nato sva vanjo pomočile vatenke, da so bile le-te sterilne.



Slika 7: Palčke za odvzem brisov.

Brise sva poskušali odvzeti, še preden so čistilke površine odvzema povsem očistile z dezinfekcijskimi sredstvi. Izbirali sva med površinami, ki se jih dotika največ učencev, zato sva si izbrali kljuko na vhodnih vratih, mize v učilnicah prvošolcev, dozirnik za milo v učilnicah prvošolcev, ograji v pritličju ob jedilnici, kljuke vrat učilnic, stikala za luči, kljuke na oknih, računalniško miško in pipo na stranišču. Vzorce sva nato nanesti na gojišče na način, kot ga uporabljajo v laboratorijih (slika 8).



Slika 8: Nanos vzorca na gojišče (vir: Habulin in Primožič, 2014, str.6).

Nanašali sva z napol zaprtim pokrovom petrijevke, da na gojišče ne bi vnesli bakterij in plesni iz zraka. Pri postopku sva nosili rokavice iz lateksa. Eno gojišče je predstavljalo kontrolno gojišče. Po nanosu sva petrijevke označili in jih odnesli v inkubacijo za približno 5 dni ter nato pregledali gojišča. Izmed vseh gojiščih sva nato izbrali 4 površine, kjer se je razraslo največ bakterij in plesni, da bova v drugem delu raziskovanja nanje najprej nanesti rastlinske izvlečke in ponovili odvzem. Tako bova lahko primerjali rast bakterij in plesni pred in po dodatku rastlinskih izvlečkov.



Slika 9: Nanos vzorcev na gojišča.

2.4.3 MIKROSKOPIRANJE

Pred izdelavo preparatov sva se še posebej zaščitili z maskami in rokavicami, saj ne vemo, s kakšnimi vrstami plesni in bakterij imamo opraviti oz. ali so te potencialno nevarne za zdravje. Najprej sva z zobotrebcem z gojišč odvzeli kulturo, ki sva jo želeli opazovati ter jo prenesli na objektno stekelce. Nanj sva kanili kapljico vode in čez previdno položili krovno stekelce. Tako je bil preparat pripravljen za opazovanje.



Slika 10: Odvzem kulture (levo) in priprava mikroskopskega preparata (desno).



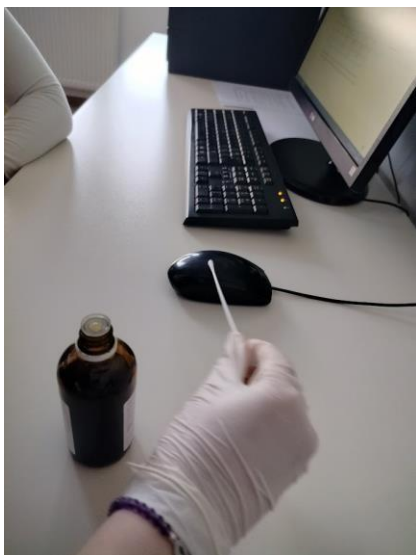
Pri opazovanju bakterij sva bili še posebej pozorni na oblike kolonij, saj se pri določanju vrst zanašamo tudi na njihove oblike. Prepare sva opazovali pod 40x, 100x in 600x povečavo.

Slika 11: Mikroskopiranje.

2.4.4 PRIPRAVA RASTLINSKIH IZVLEČKOV

Dva od štirih pripravkov sva že imeli pripravljena, saj smo jih kupili. To sta bila propolis in izvleček ameriškega slamnika, ki sta narejena na alkoholni osnovi. Po enem od receptov za pripravo lovorjevega in ingverjevega čaja sva ta dva izvlečka pripravili sami. Najprej sva zavreli 0,2 litra vode in vanjo dodali 5 g ingverja ter pustili vreti približno 10 minut. V drugo posodo sva dali prav tolikšno količino vode, dodali 5 listov lovorja in ponovno pustili vreti približno 10 minut. Za večji učinek sva količino uporabljenih rastlin nekoliko povečali, da bi dobili čim bolj koncentriran pripravek čaja. Prevretek čajev sva pokrili in postavili na okensko polico, da se ohladita in jih nato prelili v manjše posodice.

Na površine, ki so se izkazale za najbolj »umazane«, sva najprej nanесли izvlečke in nato odvzem vzorcev ponovili (računalniška miška, kljuka vhodnih vrat, dozirnik za milo in ograja v pritličju). Za tisti dve površini, ki sta bili najbolj prekriti z bakterijami in plesnimi, sva uporabili bolj agresivne izvlečke (ameriški slamnik in propolis), za ostali dve pa lovorjev in ingverjev čaj. Po odvzemu sva jih po enakih postopkih nanесли na gojišče, ustrezno označili in odnesli v inkubacijo.



*Slika 12: Nanos izvlečka
ameriškega slamnika na
računalniško miško.*

3. REZULTATI

Za lažjo preglednost bova v prvem delu predstavili rezultate gojišč z vzorci s tistih površin, ki jih v nadaljevanju nisva uporabili (stikala za luč, okenske kljuke, pipe v straniščih). V drugem delu pa bova primerjali gojišča pred in po nanosu rastlinskih izvlečkov. Pregled prvih gojišč je pokazal naslednje rezultate:

Na kontrolnem gojišču (slika 13) ni vidnih bakterij in plesni.



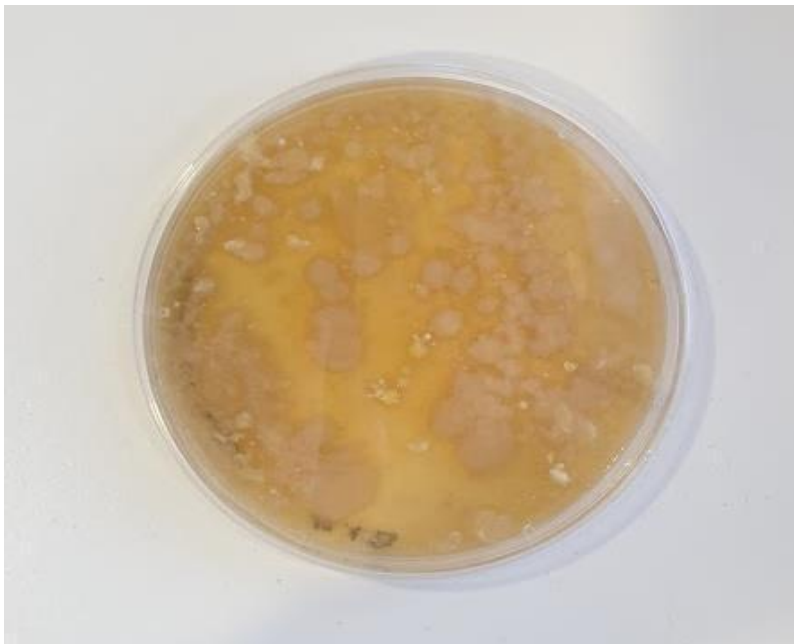
Slika 13: Kontrolno gojišče.

Na gojišču z vzorcem s stikala za luč je zraslo nekaj bakterij in nič plesni (slika 14).



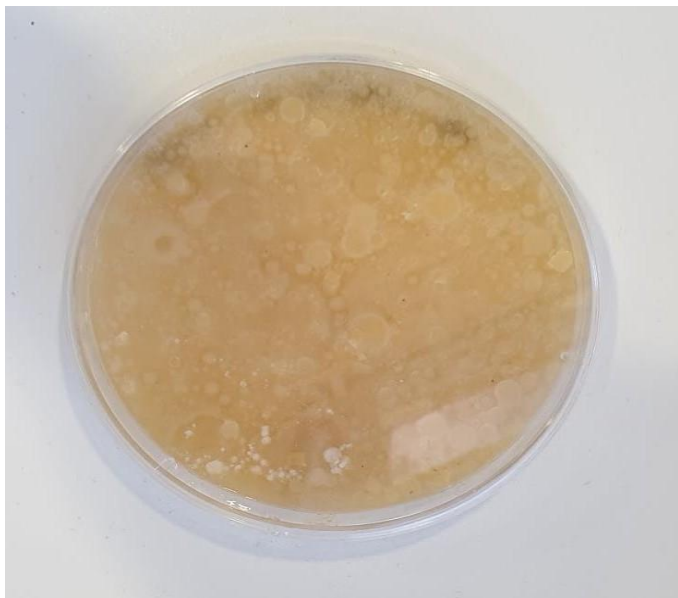
Slika 14: Gojišče z vzorcem s stikala za luč.

Na gojišču z vzorcem z okenske kljuke je na gojišču zraslo večje število bakterij in prav tako nič plesni (slika 15).



Slika 15: Gojišče z vzorcem z okenske kljuke.

Na gojišču z vzorcem s pipe na stranišču je zraslo veliko bakterij in nič plesni (slika 16).



Slika 16: Gojišče z vzorcem s pipe na stranišču.

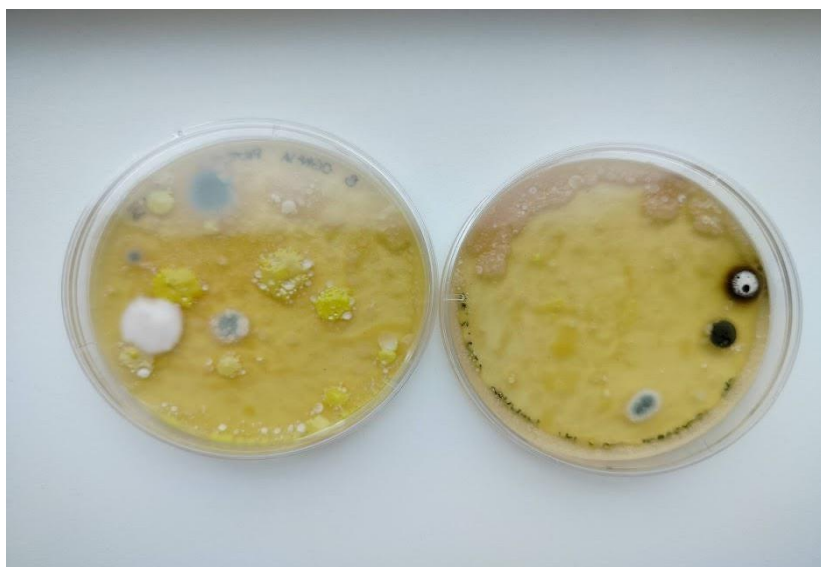
Tudi na gojišču z vzorcem, odvzetim z miz prvošolcev, so se razrasle bakterije, plesni pa ne (slika 17).



Slika 17: Gojišče z vzorcem z miz prvošolcev.

Po ponovnem odvzemu vzorcev s površin, kamor smo nanесли rastlinske učinkovine, sva gojišča analizirali, primerjali razrast bakterij in plesni in dobili naslednje rezultate:

Na gojišču, kamor sva nanесли vzorec, odvzet z ograje v pritličju, se je razraslo večje število različnih bakterij in plesni (slika 18-levo), po nanosu ingverjevega čaja pa manj bakterij in tudi manj plesni (slika 18-desno).



Slika 18: Gojišče z vzorcem z ograje v pritličju pred nanosom (levo) in po nanosu ingverjevega čaja (desno).

Na gojišču z vzorcem z računalniške miške se je nabralo veliko bakterij in nekaj plesni. Na gojišču z izvlečkom (slika 19-desno) lahko vidimo, da se je razvilo manj plesni in bakterij kot na gojišču z vzorcem z miške brez izvlečka (slika 19-levo).



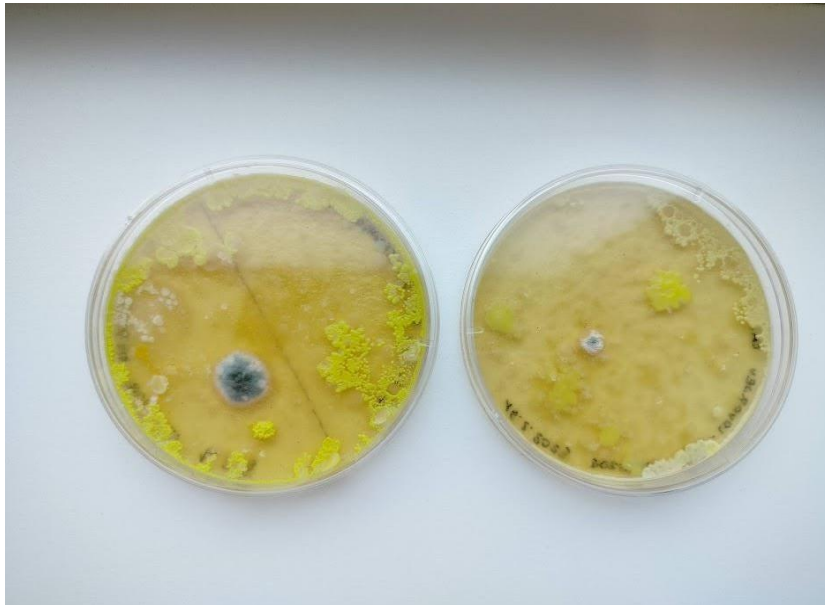
Slika 19: Gojišče z vzorcem z računalniške miške pred nanosom (levo) in po nanosu ameriškega slamnika (desno).

Na gojišču, na katerega sva nanesli vzorec z vhodnih vrat, se je razraslo največje število različnih vrst plesni in nekaj bakterij (slika 20-levo), po dodatku izvlečka propolisa pa manj bakterij in nič plesni (slika 20-desno).



Slika 20: Gojišče z vzorcem z vhodnih vrat pred nanosom (levo) in po nanosu propolisa (desno).

Na gojišču, na katerega sva nanesli vzorec z dozirnika za milo, so se razrasle plesni in kar nekaj bakterij (slika 21-levo), po nanosu izvlečka lovorja oz. lovorjevega čaja pa lahko opazimo nekaj manj bakterij in plesni (slika 21-desno).



Slika 21: Gojišče z vzorcem z dozirnika za milo pred nanosom (levo) in po nanosu lovorjevega čaja (desno).

4. RAZPRAVA

Po besedah mikrobiologinje Katarine Š. je največja verjetnost, da se bodo na gojiščih z vzorci razvile sporogene bakterije, najverjetneje iz rodu *Bacillus*. Te so lahko človeku škodljive ali neškodljive.

Določene vrste bakterij za svojo rast potrebujejo posebne pogoje, zato ni nujno, da so vse bakterije, ki so dejansko na površinah tudi razvile na najinih gojiščih.

Nad rezultati nisva presenečeni, saj sva jih pričakovali. Po pregledu literature sva zaradi rahlih antibiotičnih učinkov sklepali, da bodo nekateri rastlinski izvlečki delovali, ne pa vsi.

Postavili sva hipotezo, da bova na gojiščih našli različne bakterije in plesni. To hipotezo lahko potrdiva, saj sva na prav vsakem gojišču našli bodisi bakterije, plesni ali kombinacijo obojega.

Na računalniški miški in vhodnih vratih se je sicer v primerjavi z ostalimi površinami (ograja, mize, stikala za luč, pipa, kljuke na oknih) pojavilo največ bakterij in plesni, kar je najverjetneje posledica tega, da se teh površin, predvsem vhodnih vrat, dotika največ ljudi. Čeprav se vhodna vrata redno čistijo in so iz kovinskega materiala, ki zavira rast bakterij, se na površini zaradi zaščitnih premazov ni mogoče povsem izogniti razrastu bakterij. Glede na rezultate prvega dela raziskovanja in pregledano literaturo, sva na površine, kjer se je razraslo največ bakterij in plesni, nanесли najbolj učinkovite rastlinske izvlečke - izvleček ameriškega slamnika (računalniška miška) in propolisa (vhodna vrata). Na gojiščih z vzorcem z računalniške miške in vhodnih vrat plesni nisva našli. K temu je najverjetneje pripomoglo tudi dejstvo, da sta izvlečka narejena na alkoholni osnovi in nista bila pripravljena v šoli. Druga dva temeljita na vodni osnovi in sva ju pripravili sami. Drugo hipotezo o učinkovitosti propolisa in ameriškega slamnika sva zato potrdili, saj sta bila najbolj učinkovita.

Tretjo hipotezo sva ovrgli, saj se na dozirniku za milo ni pojavilo največ bakterij. Na dozirniku za milo sva pričakovali največ bakterij, saj gre za površine, ki so ves čas v stiku z vodo, kar še poveča možnost za razvoj plesni in pospešuje rast bakterij. Vseeno nam te površine pogosto dajejo občutek čistosti zaradi uporabe mila.

Četrto hipotezo sva ovrgli, saj so se plesni pojavile na vseh površinah. Ni nujno, da so bile plesni prisotne na površinah, ko sva odvzeli vzorce – lahko so se razvile zaradi ugodnih razmer na gojiščih in povečane količine vlage. Plesni in bakterije potrebujejo podobne razmere za rast, to pa je tudi razlog, da plesni prerastejo bakterije, saj le-te porabijo hranila potrebna za rast in razmnoževanje.

Kontrolno gojišče sva uporabili za primerjavo z ostalimi gojišči. Želeli sva se prepričati, da se bakterije niso pojavile zaradi razpadanja organskih snovi v gojišču, ampak so posledica nanosa vzorcev. Ne izključujeva tudi možnosti, da opazovane strukture na gojiščih niso bakterije ali plesni, ampak maščobne kapljice.

5. ZAKLJUČEK

Po raziskavi sodeč vse kaže na to, da je večina površin v šoli umazanih, kljub temu, da jih redno čistimo. Vseh mikroorganizmov ne moremo in niti ne želimo odstraniti, saj so številne bakterije in drugi mikroorganizmi del našega vsakdana. Nekatere bakterije (mlečnokislinske) in glive (kvasovke) so za nas zelo pomembne in brez njih ne bi mogli živeti.

Najino raziskavo bi lahko izboljšali, če bi celotno raziskavo izvedli v laboratoriju, kjer je na voljo boljša oprema in prostor bolj sterilen. Poskus bi bilo smiselno večkrat ponoviti, da se izogneva naključnosti rezultatov, saj večje število ponovitev pomeni manj možnosti za napačne rezultate. Za natančnejši pregled preparatov bi lahko uporabili barvila za barvanje bakterij in boljši mikroskop. Tako bi lahko natančno določili vrsto mikroorganizmov na gojiščih, pri čemer bi lahko uporabili tudi določevalne ključe za določanje vrst plesni.

Veseli naju, da sva raziskovalno nalogo dokončali navkljub časovni stiski in boleznim tekom raziskovalnih del. Med raziskovanjem sva se zelo zabavali in se veliko naučili o mikroorganizmih, pripravljanju preparatov in mikroskopiranju, odvzemu vzorcev in analiziranju gojišč. Ob tem sva uporabljali in spoznavali nove metode pisanja naloge in raziskovanja mikroorganizmov. Odločitve za izvedbo raziskave ne obžalujeva. Zagotovo je bila prijava na tekmovanje lažja kot pretekli dve leti, saj so pri raziskovanju pomagale izkušnje in čez čas pridobljeno znanje na več področjih.

Ob zaključku bi radi dodali še, da bova ob lažjih prehladih tudi sami posegli po domačih pripravkih, kot npr. lovorjev in ingverjev čaj, saj očitno delujejo.

6. LITERATURA IN VIRI

Bioresonanca Maribor, Črna plesen, <https://bioresonancamaribor.com/tag/crna-plesen/> (11. 2. 2023).

Bodieko, Lovor:
<https://www.bodieko.si/lovor> (28. 1. 2023).

Czs, Propolis:
<https://www.czs.si/content/C23> (14. 1. 2023).

DMFA, Kresnička: <http://kresnicka.splet.arnes.si/arhiv/6-in-7-razred/priprava-preparata-plesni/> (11.2. 2023).

Eučbenik, Zgradba bakterij:
<https://eucbeniki.sio.si/nar7/1816/index2.html> (10. 12. 2023).

Farmedica, Ameriški slamnik: <https://www.farmedica.si/si/dodatki/rastlina-slamnik.html> (14. 1. 2023).

Gorenjske-lekarne, Ingver: <https://www.gorenjske-lekarne.si/svetovanje-clanek/ingver> (28. 1. 2023).

Goste, Domen, Kričej, Matic, Lavrinc, Lan. 2013. *Antibiotični učinki naravnih pripravkov, Raziskovalna naloga*, str. 9,10, <https://drive.google.com/file/d/1PHX-GfOF3EfpkgK4sQV75jcV11l4jxvR/view>.

Habulin, Maja, Primožič, Mateja. 2008. *Biokemijska tehnika, Navodila za laboratorijske vaje*: str. 1-3, 7-13,
https://drive.google.com/file/d/1myu9w_ZDnsh71q6R3dUsHbEPvDLjgnki/view.

Hurst, William C., Christian, James A., Schuler, George A, *What are Bacteria, Yeasts & Molds?* The University of Georgia, 2010, Bulletin 817, str. 1-8.

Jeršek, Barbara. 2014. *Osnovni principi identifikacije plesni, kvasovk in bakterij v živilih, Skripta in delovni zvezek za laboratorijske vaje pri predmetu živilska mikrobiologija*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, str. 54-57.

NIJZ, Bakterije v živilih, <https://nijz.si/moje-okolje/varnost-zivil/bakterije-v-zivilih/> (11. 2. 2023).

Wikipedija, Bakterije:
<https://sl.wikipedia.org/wiki/Bakterije> (10. 12. 2023).

Wikipedija, Plesen:
<https://sl.wikipedia.org/wiki/Plesen> (14. 1. 2023).