

מהי השפעת ריכוזי אתנול שונים על קצב גידול חיידקי E.coli?

בית ספר: בית הספר התיכון המקיף החקלאי ויצ"ו נהלל

כיתה: י"ב

מורה: ד"ר יעריט פרידמן

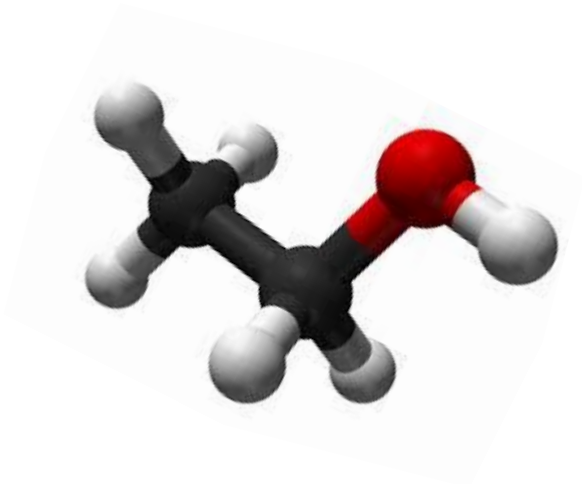
תאריך הגשה:

מגישים:

שקד נודל ת.ז. 213027683

יולי סאווג' ת.ז. 209926427

נופר בורנשטיין ת.ז. 212483242



תוכן עניינים:

3-4.....	מבוא
5-8.....	מערך החקר
9-13	תוצאות
14-17.....	דיון ומסקנות
18.....	רשימת מקורות
19-21.....	נספחים

פרק א- מבוא

בעבודה זו בחרנו לעסוק **בהשפעת אתנול על קצב גידול חיידקים**. לאחר חשיבה משותפת וחיפוש באינטרנט אחר חומרים המשפיעים על יכולת גדילת חיידקים, החלטנו פה אחד כי סוגיית האלכוהול והשפעתו על חיידקים היא המעניינת ביותר מבין כל האפשרויות- גילינו במחקרים שונים שמצאנו באינטרנט שלא לכוהול יש תכונות כימיות המאפשרות לו לפגוע בממברנת החיידקים דבר המשפיע על שלמות וארגון הממברנה ולכן על קצב הגידול וחיות החיידקים.

חיידקים, לפי אנציקלופדיית ynet, הינם צורת החיים הנפוצה ביותר על פני כדור הארץ. הם מורכבים מתא בודד וגודלם אינו עולה על מספר מיקרונים בודדים. ישנם סוגים רבים של חיידקים אשר חלק מהם גורמים למחלות לאדם ולבעלי חיים נוספים.

חיידקים הם יצורים פרוקריוטים, חד-תאיים חסרי גרעין אמיתי. הם עטופים בדופן חיצונית (השונה מדופן של צמחים) המקנה להם יציבות ולעיתים תנועתיות, מאחר שהם חסרי שלד תאי. בנוסף לדופן, תאי החיידקים עטופים גם בקרום תא המורכב משכבה ליפידית בעלת אופי נוזלי ומחלבונים שונים השזורים בין הליפידים בצורה א-סימטרית. קרום התא מפריד בין הציטופלזמה והסביבה החוץ תאית ומאפשר הכנסה והוצאה של חומרים באופן בררני. היות שליצורים פרוקריוטים אין גרעין ה-DNA שלהם ארוז בנוקלאוטיד.

מיון חיידקים לקבוצות שונות (טקסונומיה) מתאפשר בהתאם להבדלים מוגדרים בין מיני החיידקים השונים. אחד מההבדלים הבולטים בין חיידקים שונים הוא עובי דופן התא שלהם. מבדילים בין חיידקי גרהאם שלילי, להם דופן תא דקה יותר ובין חיידקים גרהאם חיובי להם דופן תא עבה יותר. עובי הדופן משפיע על קצב הכניסה ועל חדירות התא – ככל שדופן התא דקה יותר, כך התא חדיר יותר לפעפוע של חומרים מהסביבה החיצונית. לכן, חיידקי גרהאם שלילי רגישים יותר לחדירת חומרים מהסביבה החיצונית בהשוואה לחיידקי גרהאם חיובי. מסיבה זו, חיידקים אלו רגישים יותר לאנטיביוטיקות או רעלנים שונים המצויים בסביבה החיצונית. את ההבדלים בעובי הדופן ניתן לזהות באמצעות צביעה מיוחדת שפותחה ונקראת צביעת גרהאם.

מחקרים שונים מציינים את ההשפעות של כהלים שונים בכלל ואתנול בפרט על קצב גידול של חיידקים ועל מבנה הממברנה שלהם. כהלים הם קבוצה של תרכובות אורגניות המכילות קבוצת הידרוקסיל. הקבוצה מונה אלפי תרכובות שונות, החל מהמתנול, הכוהל הפשוט ביותר, המכיל אטום פחמן בודד, ועד מולקולות ביולוגיות מורכבות יותר כמו אתנול. אֶתְנֹל הוא החומר הפעיל באלכוהול, זוהי תרכובת אורגנית ממשפחת הכהלים המשמשת בעיקר כחומר מוצא של מאות תרכובות בתעשייה הכימית, וכן כחומר חיטוי וכממס.

אתנול עשוי להשפיע על הממברנה ולגרום ללחץ חמצני ושינויים במבנה ותפקוד קרום התא. האתנול הוא מולקולה בעלת חדירות גבוהה לרקמות ביולוגיות, מולקולה זו חודרת לממברנות ומגדילה את החדירות והפלואידיות שלהן בהתאם לריכוז המצוי. אתנול גורם בנוסף להרס של חלבונים עקב דהידרציה (העלמת מולקולות מים המשתתפות בקשרים חיוניים למבנה החלבון).

מסיבה זו בחרנו לבדוק את ההשפעה של ריכוזי אתנול שונים על קצב גידול וחיות החיידקים, מתוך כוונה לבדוק מהו ריכוז האתנול האפקטיבי ביותר.

שאלת המחקר הראשונה שאלנו " מהי השפעת ריכוזי אתנול שונים על שיעור התרבות חיידקי E.coli? לשם כך בדקנו טווח ריכוזים מצומצם של אתנול ומדדנו את השפעתם על קצב גידול

חיידקי E.coli בתרבית נוזלית. בבחירת הריכוזים התבססנו על הניסוי המקדים בו בדקנו טווח ריכוזים רחב (0% , 1% , 10%) ובניסוי המרכזי התמקדנו וצמצמנו את הריכוזים שבדקנו על מנת לקבוע מהו הריכוז האפקטיבי – לו ההשפעה הגדולה ביותר. שיערנו כי ככל שריכוז האתנול יהיה גבוה יותר כך ההשפעה על האטת קצב הגידול תהיה גבוהה יותר, עד כדי תמותה מלאה בריכוזים הגבוהים.

בהמשך, בשאלת המחקר השניה, בחרנו לבדוק את ההבדלים בהשפעת ריכוזי אתנול בין חיידקי גראהם שלילי לבין חיידקי גראהם חיובי. לכן שאלנו " מהי השפעת ריכוז האתנול על שיעור התרבות חיידקי Bacillus בהשוואה לחיידקי E.Coli? לשם כך גידלנו תרביות של חיידקים אלו בנוכחות ריכוזי אתנול שונים ובדקנו את עכירות התרביות בזמנים שונים. שיערנו שלעובי הדופן תהיה השפעה על מידת הפעפוע של האתנול אל תוך התא וכתוצאה מכך השפעה שונה על קצב גידול החיידקים השונים.



תמונה מס' 1: חיידקי E.coli

פרק ב - מערך הניסוי

מערך הניסוי המקדים:

לקחנו 3 מבחנות המכילות 10ml מצע נוזלי ואליהן הוספנו חיידקי E.coli בנפח של 100 מיקרוליטר, לאחר מכן הוספנו לכל מבחנה ריכוזים שונים של אתנול בהתאם לריכוז שרצינו, מבחנה אחת 0% השניה 1% והשלישית 10%. הכנסנו את המבחנות לאינקובטור וחיכינו במשך 4 שעות. בתום הזמן בדקנו את עכירות התרבית בצורה איכותית באמצעות העין.

טבלה 1 - חישוב נפח האתנול שהוסף למבחנות הניסוי המקדים

מבחנה	ריכוז אתנול סופי	נפח אתנול שהוסף מסטוק אתנול 100%	נפח תרבית החיידקים שהוספה (50 מיקרוליטר)
1	0%	0ml	100
2	1%	0.1 ml	100
3	10%	1ml	100

משתנה תלוי- קצב גידול החיידקים (עכירות התרבית)

דרך המדידה- איכותי (לפי העין).

משתנה בלתי תלוי- ריכוז האתנול (0%, 1%, 10%).

דרך השינוי- ע"י הוספת נפחים שונים של אתנול, מתוך סטוק בריכוז 100%, לקבלת ריכוז האתנול הרצוי במבחנה.

הגורמים הבלתי משתנים הם- טמפרטורה, כמות המצע, זמן הגידול, סוג ונפח החיידקים שהוספו.

מערך הניסוי המרכזי :

הוספנו 30 מ"ל של מצע מזון נוזלי לארלנמיירים ונפחים שונים של אתנול על מנת להגיע לטווח הריכוזים שבחרנו לניסוי המרכזי (5% , 2% , 1% , 0.5% , 0.1% 0%). חישוב נפח האתנול שהוסף מוצג בטבלה הבאה:

טבלה 2 - חישוב נפח האתנול שהוסף למבחנות הניסוי המרכזי

מבחנה	ריכוז אתנול סופי	נפח אתנול שהוסף מסטוק אתנול 100%	נפח תרבית החיידקים שהוספה (מיקרוליטר)
1	5%	1.5ml	500
2	2%	0.6ml	500
3	1%	0.3ml	500
4	0.5%	0.15ml	500
5	0%	0ml	500

לכל אחת מהארלנמיירים הוספנו 500 מיקרוליטר מתרבית חיידקי E.coli שגודלה עד לסטורציה בלילה שקדם לניסוי.

הארלנמיירים גודלו באינקובטור בטמפרטורה של 37C, כאשר כל שעתיים נמדדה עכירות הדגימות השונות בספקטרופוטומטר באורך גל 600 ננומטר. עבור כל תנאי ניסוי ובכל נקודת זמן נמדדו 3 חזרות בלתי תלויות.

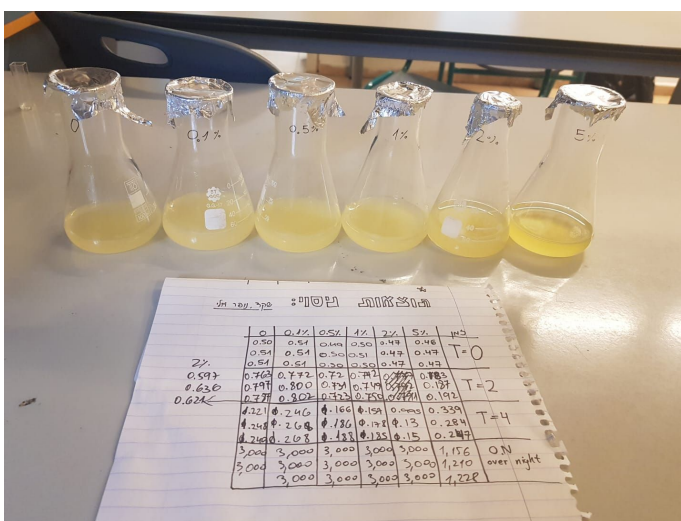
משתנה תלוי- משתנה התלוי הוא קצב גידול החיידקים

דרך המדידה- בדיקת עכירות התרבית בעזרת ספקטרופוטומטר, ככל שהנוזל עכור זה מעיד על כך שגדלו יותר חיידקים והספקטרופוטומר יראה מספר גבוה יותר.

משתנה בלתי תלוי- המשתנה התלוי הוא ריכוז האתנול (5% , 2% , 1% , 0.5% 0)

דרך השינוי- הוספת נפחים שונים של אתנול למצע הגידול הנוזלי.

הגורמים הקבועים בניסוי הם- טמפרטורה, טלטול, כמות המצע, כמות החיידקים. סכימה המתארת את שלבי הניסוי המרכזי מוצגת בתמונה שלמטה:



מערך הניסוי השני:

גידלנו תרבית חיידקים של E.coli ושל בצילוס למשך הלילה, עד הגעה לשלב סטציונרי.

למחרת הכנו את מבחנות הניסוי - בכל מבחנה הוספנו 10 מ"ל של תרבית מצע נוזלי ואת נפח האתנול הדרוש על מנת להגיע לריכוז שבחרנו - 0%, 1%, 5%, 10%. עבור כל ריכוז הכנו 2 מבחנות כאשר למבחנה אחת הוספנו תרבית חיידקי E.coli ולמבחנה השניה הוספנו תרבית חיידקי בצילוס.

כל אחת מהמבחנות נמדדה בספקטרופוטומטר בזמן אפס ולאחר 4 שעות.

הטבלה הבאה מציגה את נפח האתנול ואת סוג החיידקים שהוסף לכל תרבית

טבלה 3 - חישוב נפח האתנול וסוג החיידקים שהוספו למבחנות ניסוי ההמשך

מבחנה	ריכוז אתנול סופי	נפח אתנול שהוסף מסטוק אתנול 100%	נפח תרבית החיידקים שהוספה (מיקרוליטר)
1	0%	0ml	100, E.coli
2	0%	0ml	100, bacillus
3	1%	0.06ml	100, E.coli
4	1%	0.06ml	100, bacillus
5	75%	0.3ml	100, E.coli
6	5%	0.3ml	100, bacillus

100, E.coli	0.6ml	10%	7
100, bacillus	0.6ml	10%	8

משתנה תלוי- קצב גידול החיידקים בשני סוגי החיידקים.

דרך המדידה- בדיקת עכירות בספקטרופוטומטר.

משתנה בלתי תלוי- ריכוז האתנול בשני סוגי החיידקים השונים.

דרך השינוי- הוספת ריכוזים שונים של אתנול למבחנות.

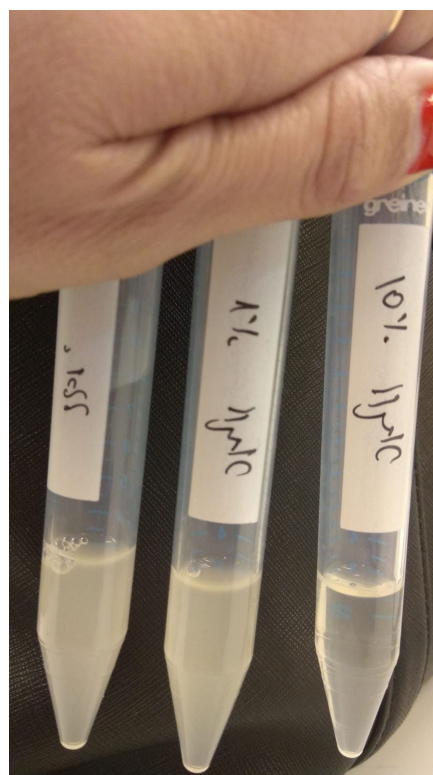
הגורמים הבלתי משתנים הם- טמפ, נפח תרבית החיידקים שהוספה (100 מיקרוליטר)

פרק ג - תוצאות

ניסוי מקדים:

גידול תרביות של חיידקי E.coli, בנוכחות טווח רחב של ריכוזי אתנול, למשך 4 שעות. בסיום בדקנו בצורה איכותית (לפי העין) את עכירות התרבית.

תוצאות גידול התרביות מוצגות בתמונה שלמטה.



תמונה מס' 2: תוצאות גידול התרביות השונות בתנאי הניסוי המקדים

לכל תרבית קבענו את מידת העכירות במנעד של 0 (אין עיכוב גידול) עד 3 (עיכוב גידול מוחלט), התוצאות מוצגות בטבלה מס' 4.

טבלה מס' 4 - הערכה איכותית של התרביות השונות בניסוי המקדים

מבחנה	ריכוז אתנול סופי	עכירות התרבית (0-3)
1	0%	0
2	1%	0
3	10%	3

ניתן לראות מהתמונה והטבלה כי בריכוזי 0% ו-1% אתנול - עכירות התרבית הייתה גבוהה, דבר המעיד על כך שבתנאים אלו לא נצפה עיכוב גידול של החיידקים. לעומת זאת, בריכוז 10% אתנול כמעט ולא נצפתה עכירות בתרבית, לאחר 4 שעות גידול, דבר המעיד על עיכוב גבוה של גידול החיידקים עד כדי עיכוב מוחלט. מכאן הסקנו כי טווח ריכוז האתנול המצומצם אותו נמדוד בניסוי המרכזי הוא בין 0% ל 5%.

ניסוי מרכזי:

בניסוי המרכזי מדדנו את קצב גידול חיידקי E.coli , בריכוזי אתנול שונים, במשך-12 שעות. כל שעתיים ביצענו 3 מדידות שונות ובלתי תלויות, עבור כל תרבית, וחישבנו את הממוצע של 3 המדידות. תוצאות הממוצעים שחושבו וסטיית התקן עבור כל ממוצע מוצגים בטבלה מס' 5.

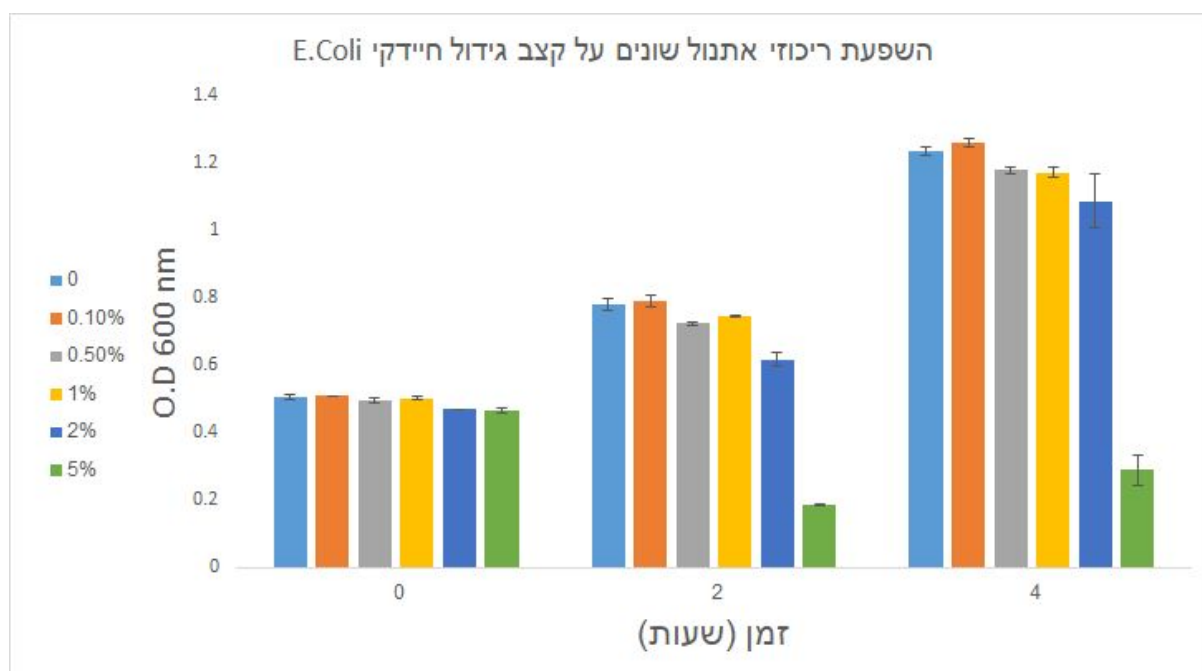
טבלה מס' 5 - ממוצע מדידות העכירות עבור התרביות השונות בניסוי המרכזי

5%	2%	1%	0.5%	0.1%	0%	זמן \ ריכוז האתנול
0.466	0.47	0.503	0.496	0.51	0.506	0 h
0.187	0.618	0.747	0.727	0.791	0.78	2 h
0.307	1.09	1.173	1.180	1.260	1.236	4 h

סטיית התקן מופיעה בגרף (1)

את התוצאות הללו עיבדנו לגרף המוצג למטה, מתוצאות הגרף השמטנו את המדידה שבוצעה בזמן 12 שעות כיוון שהתרביות היו עכורות מאוד (סטציונריות) ולא היה ניתן לזהות הבדלים בעכירות התרביות השונות.

עכירות התרבית (O.D 600nm)



על פי הגרף ניתן לראות כי כמעט ולא קיימת השפעה מעכבת על גידול החיידקים בריכוזי האתנול השונים, מלבד ריכוז 5% שבו נצפה עיכוב גידול מסויים בהשוואה לתרבית שהכילה 0%. מסיכום תוצאות הניסוי המקדים והמרכזי ניתן להסיק כי עיכוב גידול החיידקים מתבצע בריכוזי אתנול שבין 5% עד 10% וכי ריכוז 5% הינו ריכוז סף מינימלי לעיכוב גידול החיידקים.

יחד עם זאת, חשוב לציין כי התוצאות מתייחסות לזמני מדידה של עד 4 שעות (בגלל מגבלות זמן לא ביצענו מדידה בין 4 שעות ל-12 שעות) ויתכן וכן היה נצפה הבדל בעכירות התרביות השונות אם היינו מבצעים מדידה בזמני ביניים נוספים.

ניסוי שני:

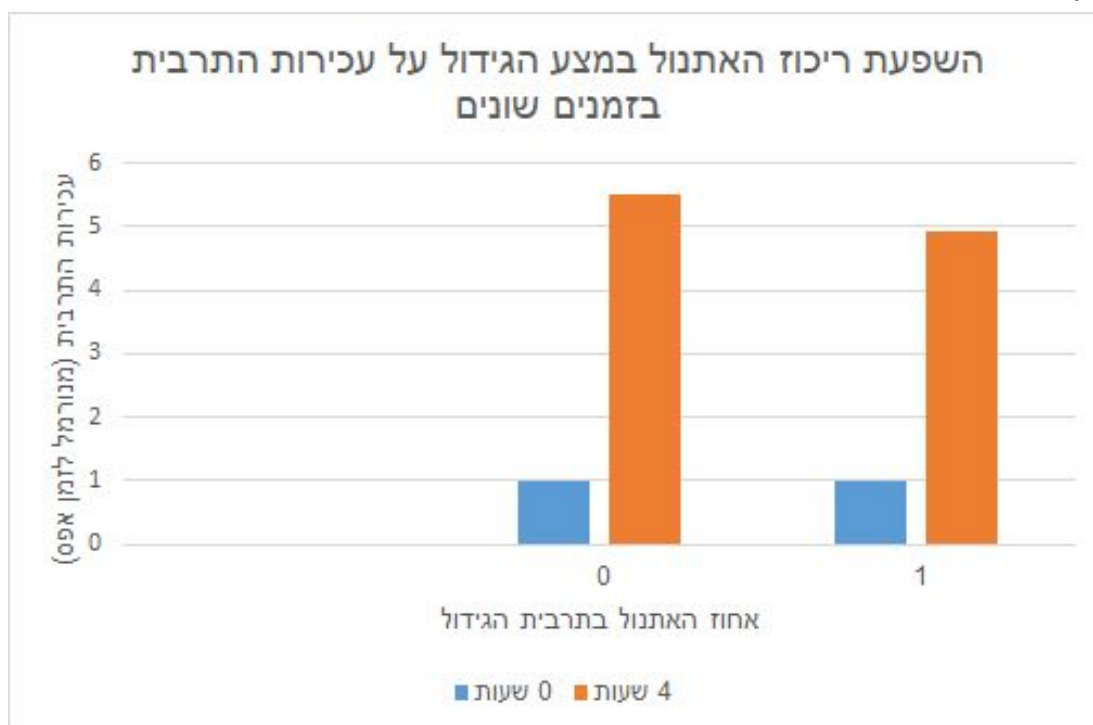
בניסוי השני בדקנו את העכירות של תרביות E.coli ו-Bacillus, בריכוזי אתנול שונים. ביצענו 3 מדידות בכל נקודת זמן. תוצאות ממוצע המדידות מוצגות בטבלה מס' 6.

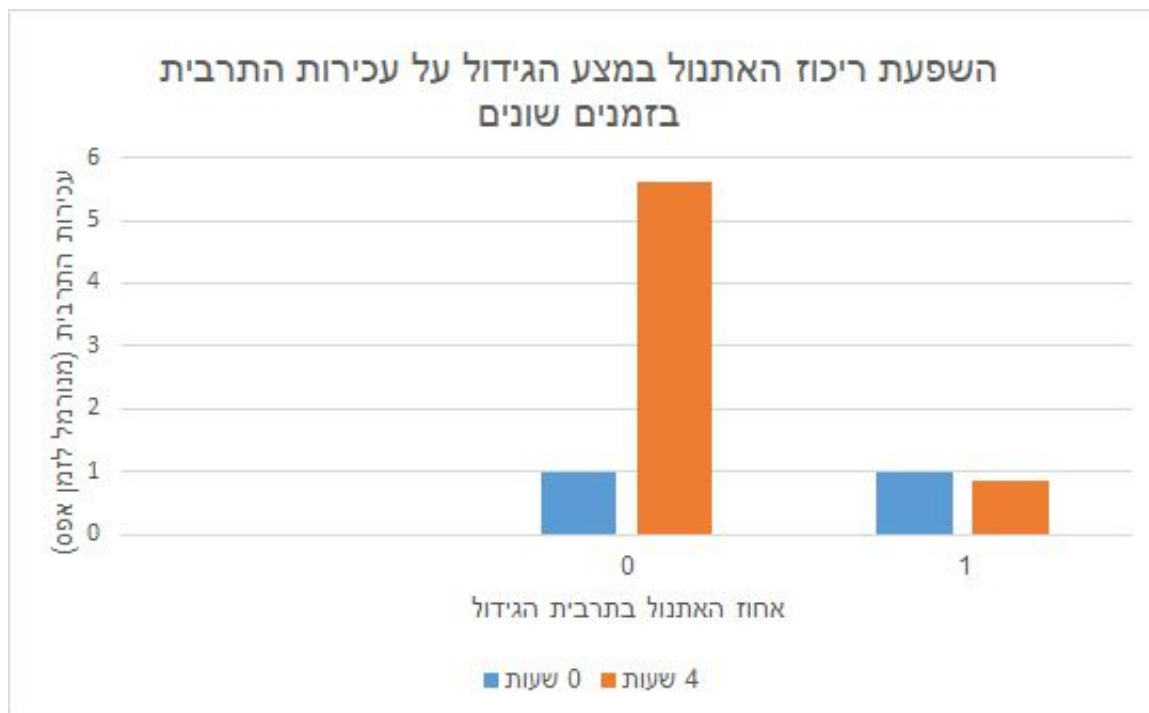
טבלה מס' 6 - ממוצע עכירות התרביות השונות בניסוי ההמשך

אחוז אתנול		החיידק בתרבית	זמן
1%	0%		
		E.coli	0
<u>0.200</u>	<u>0.287</u>	Bacillus	
<u>0.279</u>	<u>0.271</u>	E.coli	4
<u>0.171</u>	<u>1.614</u>	Bacillus	
<u>1.374</u>	<u>1.489</u>		

בנינו גרפים מתוך הטבלה ונירמלנו לפי ערך הבליעה בזמן 0. ניתן לראות בגרף 2 שלאחר 4 שעות חיידקי ה-bacillus המשיכו לגדול בעוד שבגרף 3 אנו רואים שחיידקי ה-E.Coli לאחר 4 שעות בתרבית של ה-0% אתנול המשיכו לגדול, ובתרבית של ה-1% אתנול התרבית מתה.

גרף 2-





מהשוואה בין הגרפים ניתן לראות כי חיידקי E.Coli ו- Bacillus, גדלו בתרבית שלא הכילה אתנול (ראה עכירות לאחר 4 שעות בהשוואה לזמן 0). לעומת זאת בנוכחות 1% אתנול, חיידקי Bacillus גדלו בקצב יחסית זהה לתרבית ללא אתנול (ראה עכירות לאחר 4 שעות בנוכחות 0% ו-1% אתנול) אך חיידקי E.Coli לא גדלו כלל בנוכחות אתנול (ראה עכירות לאחר 4 שעות בנוכחות 1% אתנול). התוצאות מעידות כי חיידק ה-Bacillus כמעט ואינו מושפע מנוכחות 1% אתנול במצע הגידול לעומת חיידקי E.Coli שרגישים מאוד, גם בריכוזים נמוכים אלו.

פרק ד - מסקנות ודיון -

ניסוי 1: השפעת ריכוזי אתנול שונים על שיעור התרבות חיידקי E.coli

בעקבות חיפוש באינטרנט אחר חומרים המשפיעים על יכולת גדילת חיידקים עלתה אצלנו שאלת החקר לגבי מידת הקשר בין ריכוז האתנול לבין התפתחות חיידקי E.coli .

השערתנו הייתה, שככל שריכוז האתנול יהיה גבוה יותר (יחסית לטווח שמצאנו בניסוי המקדים) , קצב גידול החיידקים ירד. הסיבות העיקריות להשערתינו מתבססות על כך שלאתנול ישנה השפעה על הממברנה שעלולה לגרום ללחץ חמצני ושינויים במבנה ותפקוד קרום התא ובכך לפגוע בקצב הגידול שלהם. האתנול הוא מולקולה בעלת חדירות גבוהה לרקמות ביולוגיות , מולקולה זו חודרת לממברנות ומגדילה את החדירות והפלוואידיות שלה בהתאם לריכוז המצוי. אתנול גם יגרום להרס של חלבונים ע"י דנטורציה.

מסקנה: עבור טווח הריכוזים 0.1% ל-5% שמדדנו בניסוי מצאנו כי ל- 5% ישנה השפעה הטובה ביותר על קצב גידול חיידקי E.coli .

על פי תוצאות הניסוי, ככל שריכוז האתנול גדל, קצב גידול החיידקים פוחת. ניתן לראות בגרף 1 ובטבלה 5 הפרשים במידת העכירות של התרביות השונות בריכוזי האתנול השונים; החיידקים בטיפול הבקרה שלא הכיל כלל אתנול גדלו בקצב המהיר ביותר שנצפה, כצפוי, ושימשו כקו בסיס אליו הושוו קצב גידול התרביות בתנאי הניסוי השונים. החיידקים שגודלו עם מצע המכיל 0.1% אתנול גדלו בקצב איטי יותר ומגמה זו אף נשמרה ככל שעועלה ריכוז האתנול עד ל-5% שהוא הריכוז הטוב ביותר ביחס לריכוזים שבבדקו. מכאן ניתן לאשש את מסקנתנו אודות ריכוז האתנול על קצב גידול חיידקי ה E.coli בטווח הריכוזים שנמדדו ולאורך שעות המדידה .

ניתן לבסס את מסקנתנו על סמך השפעת אתנול על קצב גידול החיידקים , אתנול עשוי להשפיע על הממברנה ולגרום ללחץ חמצני ושינויים במבנה ותפקוד קרום התא . האתנול הוא מולקולה בעלת חדירות גבוהה לרקמות ביולוגיות , מולקולה זו חודרת לממברנות ומגדילה את החדירות והפלוואידיות שלהן בהתאם לריכוז המצוי. אתנול גורם בנוסף להרס של חלבונים עקב דהידרציה (העלמת מולקולות מים המשתתפות בקשרים חיוניים למבנה החלבון).

בניסוי שבוצע, ניכר כי חלה דיפוזיה של הריכוזים השונים של האתנול לתוך תאי חיידקי ה-E.coli, האתנול פגע בתפקוד תא החיידק וחלה תמותה חלקית של חיידקים בתרבית בהתאם לריכוזי האתנול השונים שנמצאו במצעי הגידול, כך הושפע גם קצב הדיפוזיה ומכאן שככל שריכוז האתנול גדל, וחדר לתאי החיידקים הוא כרם לפגיעה רחבה יותר וכן לתמותת החיידקים. המגמה העולה מתוצאות הניסוי תואמת מידע זה שכן כפי שנצפה בתוצאות ככל שגדל ריכוז האתנול, קצב גידול חיידקי ה E.coli פחת.

במערך הניסוי בוצעו חזרות, לכל טיפול בוצעו שלוש חזרות לשם הגברת מהימנות התוצאות. התוצאות מהוות חישוב של ממוצע התוצאות בשלוש החזרות שבוצעו. כמו כן חושבה סטיית תקן, לשם בקרת הרציפות ושמירה על מגמתיות התוצאות (טבלה 5בנספח וגרף 1). מחישוב סטיית התקן ושיעוריה הנמוכים עולה כי תוצאות הניסוי היו מהימנות ומגמת הניסוי נשמרה באופן אחיד בכלל החזרות שבוצעו. בנוסף לכך נבדקו חמישה ריכוזים שונים (0% 0.5% 1% 2% 5%) כחלק מריבוי פריטים למען ויזואל מגמתיות ואחידות במגמת הניסוי ועל מנת לאשר השפעת ריכוז האתנול על קצב גידול החיידקים. מתוצאות הניסוי עולה כי אין הבדל בטווח הריכוזים שבין 0% ל-2% ותוצאותיהן זהות משום שריכוז זה נמוך מידי בשביל שתהיה לאתנול השפעה על החיידק ולכן אנו חושבים כי היינו צריכים לבדוק בטווחים רחבים יותר.

לאורך הניסוי הוקפדה שמירה על גורמים קבועים, חשיבות הדבר הוא בעבור בידוד גורמים חיצוניים אשר עשויים להשפיע על התוצאות הנמדדות ואישוש של השפעת ריכוזי האתנול על קצב גידול חיידקי E.coli. בין הגורמים הקבועים שנמרו: תנאי טמפ' ולחות, נפח חיידקים זהה, זמן מדידה זהה ועוד... שמירת הגורמים כקבועים מטרתה לשם הקניית תוקף לתוצאות הניסוי וכן הגברת מהימנותן.

במערכת הניסוי שבוצעה נכללו שתי בקרות: בקרה חיצונית (טיפול שלא הכיל כלל אתנול), וכן בקרה פנימית -השוואתית (נמדדה השפעה של ריכוזים רבים שונים). חשיבות הבקרות היא בעבור ויזואל של השפעת ריכוז האתנול על קצב גידול חיידקי E.coli, הבקרות מתבצעות בכדי לשלול השפעה של גורמים חיצוניים אחרים על תוצאות הניסוי. ביצוע בקרות מקנה תוקף ומהימנות לתוצאות הניסוי.

תוצאות טיפול הבקרה שהכיל 0% אתנול תומכות במגמת הניסוי, עבור טיפול הבקרה נמדד קצב גידול החיידקים הגבוה ביותר, שכן בהיעדר האתנול לא נגרם עיכוב בגידול על ידי פגיעת הממברנה בתא החיידק. גם תוצאות הבקרה הפנימית שבוצעה תומכות במגמת הניסוי שכן בטווח הריכוזים הרחב שנמדד נצפית אחידות ביחס שבין ריכוז האתנול לקצב גידול החיידקים.

להערכתנו, מסקנת הניסוי תקפה עבור רוב ריכוזי האתנול שיכולים להיבדק שכן הריכוז משפיע על יעילות דיפוזיית האתנול ורמת פגיעת האתנול בממברנת החיידקים. יחד עם זאת, מריכוז אתנול מסויים סביר להניח שלא תהיה יותר השפעה על קצב תמותת החיידקים (לפי הניסוי המקדים הוא עומד בסביבות ה-5%), שכן כמות האנול שתחדור בדיפוזייה לכל תאי החיידקים תפגע בפעילות של הממברנה הקיימת בתא ולכן הגדלת ריכוז האתנול, מעבר לנקודה זו, לא תשפיע יותר.

אנו מאמינים שתוצאות ניסוי זה יהיו תקפות עבור חיידקים אחרים ומידת ההשפעה נתונה לשינוי לאור הבדלים מבניים בדופן ובממברנת החיידקים, אשר עשויים להשפיע על קצב דיפוזיית האתנול אולם המסקנה שגובשה תישאר תקפה.

לאור ממצאי ניסוי זה, נבחרה שאלת החקר נוספת אודות השפעת האתנול על קצב גידול חיידקי E.coli לעומת קצב גידול חיידקי בצילוס על מנת לבדוק האם עיכוב קצב גידול החיידקים הנגרם על ידי האתנול ישתנה בין חיידקים שונים, להם תכונות שונות

ניסוי 2 - מהי השפעת ריכוז האתנול על שיעורי התרבות חיידקי E.Coli לעומת בצילוס

מסקנה: הוספת אתנול בריכוז 5% למצע הגידול משפיעה פחות על קצב גידול חיידקי בצילוס בהשוואה לקצב גידול חיידקי E.coli לאחר ארבע שעות מהוספת האתנול.

מסקנתנו נובעת על פי העולה מטבלה 6 וכן מגרף 2, על פיהם ניכר כי ההפרש בין רמת העכירות בזמן 0 ולאחר ארבע שעות מדידה גדול יותר עבור חיידקי הבצילוס מאשר חיידקי ה-E.coli בנוכחות אתנול בריכוז 5%. דבר זה מעיד שקצב גידול חיידקי הבצילוס גדול יותר מקצב הגידול של חיידקי ה-E.coli.

מסקנה זו נתמכת ביולוגית על פי ההבדלים בעובי הדופן של חיידקי הבצילוס (חיידקים מסוג גראהם חיובי) לעומת חיידקי ה-E.coli (חיידקים מסוג גראהם שלילי). הדופן של חיידקי הגראהם החיובי ידועה כעבה יותר מהדופן של חיידקי הגראהם השלילי, על כן דופן חיידק הבצילוס עבה יותר מהדופן חיידק ה-E.coli. עובדה זו תומכת במסקנה שהועלתה שכן קצב הדיפוזיה תלוי בעובי הדופן - הדיפוזיה של אתנול לתוך הממברנה שהתבצעה בתאי חיידקי ה-E.coli הייתה מהירה יותר לעומת הדיפוזיה של האתנול לתוך הממברנה שהתבצעה בתאי חיידקי הבצילוס לאור ההבדלים בעובי הדופן.

מידע זה תומך במסקנתנו שכן דיפוזיה מהירה יותר של האתנול בחיידקי ה-E.coli הביאה להבדלים בקצב הגידול לעומת חיידקי הבצילוס.

המסקנה שהוסקה מהניסוי השני נתמכת מהמסקנה שהוסקה בניסוי הראשון. שתיהן תומכות בכך שאתנול אכן מעכב את קצב גידול החיידקים ע"י דיפוזיה שלו לתוך תא החיידק ופגיעתו בממברנה ובדופן החיידק. על פי הניסוי הראשון - ריכוז של 5% אתנול הוא הריכוז היעיל ביותר בו מתבצעת דיפוזיה אל תוך התא בקצב המהיר ביותר ולכן חל עיכוב גדול יותר בקצב גידול החיידקים. כמו כן, על פי הניסוי השני כשחלה דיפוזיה מהירה יותר של אתנול לתאי חיידקי ה-E.coli לעומת קצב הדיפוזיה בחיידקי הבצילוס, חל עיכוב גדול יותר בקצב גידול חיידקים אלו. בכך, המסקנות שהועלו מניסוי 1 תומכות במסקנות שהועלו מהניסוי השני ומסבירות אותן.

בניסוי בוצעו 2 חזרות לכל טיפול, ביצוע החזרות מבטיח את מהימנות התוצאות ומאפשר בדיקה של אחידות התוצאות. בתוצאות שהוצגו בגרף 2 ובטבלה 6, חושב ממוצע עכירות על פי 2 החזרות שנעשו לכל טיפול.

מערכת הניסוי הכילה טיפול בקרה בו גודלו חיידקי בצילוס וחיידקי E.coli ללא שום במצע המזון. טיפול בקרה זה הינו בקרה מסוג בקרה חיצונית והוא מאפשר לנו לוודא שקצב גידול החיידקים הושפע אך ורק מעצם הימצאות האתנול וכן מסוג החיידק (E.coli / בצילוס).

התוצאות בטיפול הבקרה התקבלו כפי שצפינו מראש , קצב הגידול היה גבוה יותר באופן משמעותי לעומת קצב גידול החיידקים שגודלו בנוכחות אתנול עבור שני סוגי החיידקים. מכאן אנו מבססים את מסקנתנו שכן נוכחות האתנול במצע הגידול היא שהשפיעה על עיכוב קצב גידול החיידקים.

על פי התוצאות, נצפתה מגמה אחידה בהשפעת האתנול על קצב גידול חיידקי E.coli ועל קצב גידול חיידקי הבצילוס. מגמה זו עולה מהניסוי באופן מובהק ונתמכת על ידי דימיון בתוצאות החזרות השונות וכן נתמכת על פי תוצאות טיפולי הבקרה בהם קצב הגידול היה גדול בפער משמעותי.

לאורך הניסוי נשמרו גורמים קבועים בכדי למנוע השפעות חיצוניות ובלתי רצויות על תוצאות הניסוי. הגורמים שנשמרו קבועים: תנאי טמפרטורה ולחות זהים, זמן מדידה זהה, נפח חיידקים זהה. מכאן אנו מבססים את תוצאות הניסוי ונותנים להן תוקף שכן השפעת הימצאות השום וסוג החיידק הם המשתנים הבלתי תלויים המשפיעים על קצב הגידול.

אנו מסתייגים מטווח הזמנים בו השתמשנו בניסוי- בניסוי המרכזי שלנו , כאשר מדדנו את העכירות עבור התרביות השונות בנוכחות ריכוזי אתנול שונים, מדדנו את עכירות גם לאחר 12 שעות, מדידה שבדיעבד הסתברה כמיותרת כיוון שנתונים אלו לא קידמו את הניסוי ולא הניבו תוצאות שיכלנו להסתמך עליהם בניסוי שלנו. דבר נוסף שאנו מסתייגים ממנו - הוא טווח הריכוזים שבחנו. אמנם בחרנו את טווח הריכוזים על פי ידע מוקדם וחקר במאמרים שיתנו לנו בסיס לבחירה, אך אנו סבורים כי אם היינו בוחנים טווח רחב יותר של ריכוזים היינו מגלים כי הריכוז האופטימלי של אתנול היה גבוה מ-5% .

בנוסף לכך, ניתן לשפר את מערך הניסוי שערכנו באמצעות בדיקת מגוון רחב יותר של זני חיידקים ולא להסתמך רק על שני סוגים כפי שאנחנו עשינו. הרחבת מגוון הסוגים היה מאפשר לנו לאשש את המסקנה באופן מבוסס ומהימן יותר

אנו חושבים כי המסקנה תקפה עבור טווח ריכוזים רחב יותר וכן מגוון רחב יותר של סוגי חיידקים וזאת לאור הבסיס המדעי לניסוי שבוצע. יעילות הדיפוזיה של האתנול הייתה משתנה עבור כל שינוי בריכוזו ושינוי בעובי הדופן של החיידקים ובהתאם היה נגרם שינוי בקצב גידול החיידקים בשל פגיעת האתנול בממברנת ודופן החיידק.

מסקנתנו הכוללת היא כי אתנול עשוי להיות רלוונטי עבור שימושים שונים שמטרתם למנוע התרות חיידקים ואף להשמידם, גילינו כי לאתנול אכן יש השפעה ברורה על שיעור התרבות חיידקים שונים וקצב גדילתן , זאת עקב הדיפוזיה שעובר אל תוך הממברנה של אותו תא חיידק. בנוסף, לאתנול יש השפעה רחבה יותר על חיידקים מסוג גרהאם השלילי בשל הבדלים בדופן התא, נתון זה יכול לעזור לתעל את השימוש באתנול בכך שנדע על איזה סוג חיידקים הוא משפיע יותר ועל אילו פחות.

רשימת מקורות:

הירשברג כ., 2011, "השפעת כוהל (אלכוהול) על התא", בשער קהילה אקדמית למען החברה בישראל (ע"ר).

Phillips D., 2007, "EFFECT OF ETHANOL VAPOR ON GROWTH AND TOXIN PRODUCTION BY CLOSTRIDIUM BOTULINUM IN A HIGH MOISTURE BAKERY PRODUCT", Wiley Online Library.

Mansure J., et.al, 1994, "Trehalose inhibits ethanol effects on intact yeast cells and liposomes", ScienceDirect.

נספחים לעבודה:

דו"ח סיור כנרת

הכנרת היא ימה בצפון מזרחה של ישראל. זהו אגם המים המתוקים הגדול בארץ ישראל. בעבר סיפקה הכנרת כרבע מצריכת המים בישראל, אך בעקבות ירידת מפלס המים פרי שנות בצורת פחתה שאיבת המים מהאגם, מתקני התפלה היו לספק המים העיקרי וכיום הכנרת מספקת רק 2 אחוזים מסך הצריכה. מפלס מי הכנרת משתנה ונמצא סביב כ-212 מטרים מתחת לפני הים. הכנרת היא הימה המתוקה הנמוכה ביותר בעולם.

תופעות מיוחדות בכנרת: בכנרת החופים שונים זה מזה בהתאם לאזורם. ישנם חופים המכילים חול וזה כתוצאה מהנחלים הנשפכים אל הכנרת. ישנם חופים המכילים סלעים כתוצאה מבליעה של הקרקע והם יכולים להכיל סלעים גדולים או אבנים קטנות (חלוקי נחל). ישנם חופים המכילים אבני בזלת שחורות ובנוסף חופים המכילים אבני גיר. השוני בין החופים נוצר בעקבות תנאי הסביבה שאותו החוף ממוקם בו. בסמוך לחלק מחופי הכנרת ישנן נביעות של מעיינות גופרית חמים בעל מליחות גבוהה וזה כתוצאה מגופרית המצויה במעמקי האדמה. בכנרת מצויים הרבה זנים של בעלי חיים וצמחים כגון אצות, צמחיה עשירה, פלנקטונים, דגים, עופות וסרטנים למיניהם.

השפעת בני האדם על הכנרת- השפעת האדם על הכנרת היא רחבה מאוד. ישנו המוביל הארצי שבעבר היה שואב מים מן הכנרת לכל שטחיה של מדינת ישראל, הוא היה משפיע על כמות המים בכנרת ועל בתי הגידול שבה. כיום רק תושבי הישובים הסובבים את הכנרת צורכים את מימיה. חקלאים רבים ששדותיהם נמצאים בקרבת הכנרת נוהגים להשקות את שדותיהם ממי הכנרת. לרוב את חופי הכנרת פוקדים בחופשים תיירים רבים ודבר זה משפיע על בעלי החיים הנמצאים בכנרת מכמה סיבות- התיירים משאירים אחריהם לכלוך וזבל דבר שמזהם את בתי הגידול וסביבת

המחייה של בעלי החיים. עצם נוכחותם של בני האדם גורמת לבעלי החיים בהלה וזה מקשה עליהם למצוא מזון, לחיות ולהתרבות.



מארג המזון- בתחום האקולוגיה ישנו מונח המתאר שרשראות מזון הקשורות בניהן. מונח זה נקרא מארג המזון. ישנם בעלי חיים הגדלים בסביבה אחת הם ניזונים מתפריט מגוון, מהווים מזון להרבה יצורים אחרים ובכך מקיימים בניהן אינטראקציות רבות. לכן, לא ניתן להסתכל על שרשרת מזון בודדת, אלא על מספר שרשרות מזון בסביבה כלשהי, היוצרות מארג. דוגמה למארג מזון: עלים המשמשים כמזון לצרצרים, ארנבים ומכרסמים. הארנבות נטרפות על ידי עופות דורסים, תנים ושועלים. המכרסמים נטרפים על ידי שועלים, תנים ונחשים. בדוגמה זו ניתן לראות את הקשר בין מספר שרשרות מזון היוצרות רשת סבוכה של קשרי גומלין בין נטרפים וטורפים שונים.

המרכזי

5%	2%	1%	0.5%	0.1%	0%	זמן \ ריכוז האתנול
0.46	0.47	0.50	0.49	0.51	0.50	
0.47	0.47	0.51	0.50	0.51	0.51	0
0.47	0.47	0.50	0.50	0.51	0.51	
0.183	0.597	0.742	0.72	0.772	0.763	
0.187	0.636	0.749	0.731	0.800	0.979	2
0.192	0.621	0.750	0.723	0.802	0.787	
0.339	0.995	1.157	1.166	1.246	1.221	
0.284	1.13	1.78	1.186	1.268	1.248	4
0.247	1.15	1.185	1.188	1.268	1.249	
1.156	3	3	3	3	3	
1.210	3	3	3	3	3	12
0.228	3	3	3	3	3	