

**מהי השפעת ריכוזי HCl**

**שונים על קצב גידול**

**חיידקי PEColl**

**שמות הכותבים:**

רועי יעקובי ת.ז. 325157626

יהלי יריב ת.ז. 212387716

עילי סלוק ת.ז. 212483358

**שם בית הספר:**

בית הספר החקלאי "ויצו" נהלל

**כיתה:**

יב

**שם המורה:**

ד"ר יעריט פרידמן

## תוכן עניינים

<b>3</b>	מבוא:
<b>6</b>	פרק ב- מערך החקר כולל חומרים ושיטות
<b>6</b>	ניסוי מקדים
<b>7</b>	ניסוי מרכזי
<b>9</b>	ניסוי המשך
<b>10</b>	פרק ג'- תוצאות
<b>10</b>	ניסוי מקדים
<b>11</b>	ניסוי מרכזי
<b>13</b>	ניסוי המשך
<b>15</b>	<b>פרק ד'- מסקנות ודיון</b>
<b>16</b>	מסקנות מניסוי מרכזי
<b>16</b>	מסקנות מניסוי המשך
<b>19</b>	<b>נספחים</b>

## **מבוא:**

בעבודת חקר זו בחרנו לבדוק את ההשפעה של ריכוזי HCl שונים על קצב הגידול של חיידקי E.Coli בתרבית נוזלית. בחרנו בHCl מכיוון שהוא החומר הפעיל במגוון מחומרי הניקוי הנפוצים בשוק כיום ורצינו לבחון מהו הריכוז האפקטיבי בו ניתן להשמיד חיידקים. בנוסף, עניין אותנו לבדוק את ההשפעה שלו בשל ממצאים מטרידים שנחשפנו אליהם בנוגע להיגיינה לקויה בבתי חולים ורצינו להבין האם יכול להיות שהבעיה נובעת מהחומרים בהם עושים שימוש.

חיידקים הם יצורים חד תאיים זעירים שאינם ניתנים לזיהוי בעין בלתי מזויינת. חיידק הוא יצור פרוקריוטי, משמע- אין להם גרעין תא והם חסרים חלק מן האברונים שנפוצים אצל יצורים חד תאיים אחרים. החיידקים כקבוצה הם בעלי הביומסה הגדולה ביותר על כדור הארץ. חיידקים לרוב אינם מתקיימים כטפילים ויכולים לקיים את עצמם, חלקם אף מבצעים פוטוסינתזה, לכן הם מסוגלים לשרוד תחת תנאים קשים שיצורים רבים מתקשים לשרוד בהם. מבנה התא של החיידק כולל- שוטון המסייע לתנועה, נוזל התא בו מתקיימות פעולות החיים הנדרשות לחיידק וצף בו החומר הגנטי, ריבוזום המייצר חלבונים לתא, קרום התא ודופן התא השומרת עליו בדומה לתאי צמחים. דופן התא הקשיחה מקנה לתא את צורתו והיא אחת הסיבות שחיידקים הם יצורים עמידים יחסית בתנאים קשים. התא מסוגל, במידת הצורך, להפוך לנבג בתהליך הנבגה- במסגרת התהליך תא חי ופעיל מתחיל "לסגור" פעילויות תוך תאיות, ובמקביל צובר כמויות אנרגיה, חומרי מזון ותשמורת. צורת התא משתנה, והוא הופך לכדור בעל מעטפת חוץ תאית. המעטפת שומרת על הנבג מסביבה חיצונית עוינת כגון טמפ' קיצונית, שינויי לחץ, יובש ותנאים חיצוניים אחרים. בתוך המעטפת קיימת שכבה פנימית נוספת המעניקה הגנה ואמצעי מזון וקיום.

תורת המיון של אורגניזמים נקראת טקסונומיה. קיימים מספר מאפיינים על פיהם נהוג למיין סוגי חיידקים לקבוצות שונות, חלקן מתבססות על מורפולוגיה של התא, חלקן על פתוגניות החיידק, חלקן על דרכי המטבוליזם המשמשות לקיומו וחלקן על עובי דופן התא. מיון חיידקים בהתאם לעובי דופן התא מתאפשר באמצעות שיטת צביעה מיוחדת הנקראת "צביעת גראם" השיטה מחלקת את החיידקים לבעלי דופן עבה (מוגדרים כגראם חיובי) ולבעלי דופן דקה יותר (מוגדרים כגראם שלילי).

E.coli הינו חיידק גראם שלילי-חיידקי הגראם השלילי הם בעלי דופן דקה בהרבה מחיידקי הגראם החיובי ובנוסף יש להם ממברנה חיצונית. הדופן הדקה מאפשרת תהליכי דיפוזיה יעילים יותר ולכן קל יותר להשמידם באמצעות חומרי ניקוי או חומרים הפוגעים בחלוקת התא.

לחיידקי הגראם החיובי לעומת זאת עמידות גבוהה יותר בפני איזמים- הדופן העבה שלהם מעניקה להם הגנה מתאי בולען ומפיצוץ כתוצאה מלחצים אוסמוטיים. בנוסף הדופן פחות חדירה לחומרים ולכן קשה יותר להשמיד חיידקים כאלו.

### **כאשר מגדלים חיידקים בתרבית נוזלית מבחינים במספר שלי גידול אופייניים:**

- א. שלב ההסתגלות : החיידקים מתרבים המזרע מסתגלים למצע ומייצרים חומרים מטבוליים, בשלב זה אין חלוקה של התאים בתרבית.
- ב. שלב גידול מעריכי : שלב שבו כל החיידקים באוכלוסייה מתחלקים בקצב מרבי ביחס לתנאים בהם הם מצויים. כאשר התאים נכנסים לשלב הזה כל המנגנונים מותאמים לגידול ולהכפלה.
- ג. שלב ההתייצבות : עקב צפיפות האוכלוסייה, ירידה בחומרי המצע והפרשת חומרי לוואי, אוכלוסיית החיידקים עוברת למצב סטטי שבו הגדילה והמוות מאוזנים.
- ד. שלב התמותה : תנאים של חוסר בחומרי המזון והצטברות של חומרי לוואי, מובילה לתמותה של אוכלוסיית החיידקים .
- תנאי סביבה אופטימליים חיוניים לקצב גידול מיטבי של חיידקים, כאשר שינוי תנאי הסביבה החיצונית יכולים להשפיע על קצב גידולם של חיידקים בתרבית.

### **תנאי סביבה המשפיעים על קצב גידול חיידקים -**

- א. נוכחות חמצן: החיידק יכול להתרבות בתנאים אירוביים וגם בתנאים אנאירוביים. החיידק מסוגל לחיות בתנאים אירוביים כאשר הוא מבצע נשימה תאית ובנוסף יכול לחיות בתנאים אנאירוביים ע"י תסיסה .
- ב. טמפרטורה: הטמפרטורה האופטימלית לגידול החיידקים היא 37°C. טווח הטמפרטורה האופטימלי בו החיידק מסוגל לגדול משתנה . קיימים חיידקים שמסוגלים לשרוד גם בתנאי קור ואפילו בהקפאה בטמפרטורה של -18°C ולעומתם, קיימים חיידקים טרמופיליים המסוגלים להתקיים בטמפרטורה של 100°C-80. רוב החיידקים רגישים לחום וטיפול בטמפרטורה של 63°C משמיד אותם תוך 5 דקות.
- ג. תנאי PH : חיידקים עמידים יחסית ב- pH נייטרלי (ידוע על מקרה שבמיונד ב -3.8 pH נמצא חיידקים). יחד עם זאת, קיימים סוגים של חיידקים החיים בתנאי PH קיצוניים, למשל חיידק ההליקובקטר יכול לשרוד בתנאים מאוד חומציים (>3.0 pH) השוררים בקיבה (1.5 to 3.0 pH) המשמשים בדרך כלל להגן על הגוף מפני פתוגנים.
- ניתן לשנות את תנאי ה-PH של סביבת הגידול של חיידקים במעבדה על ידי הוספת חומצה למצע הגידול.
- HCl היא דוגמה לחומצה חזקה אשר יכולה לשנות את PH המצע. זוהי חומצה הנוצרת כשהגז מימן כלורי מתמוסס במים. הגז מורכב מאטום אחד של מימן ואטום אחד של כלור, חומצת מימן כלורי היא תמיסה שקופה וחסרת צבע. למרות היותה חומצה חזקה, חומצה מלחית היא הפחות מסוכנת מבין החומצות החזקות הידועות בכימיה, זאת עקב אדישותה לתגובות חימצון-חיזור (תגובות חימצון-חיזור הן הגורם לנזקים לתאים ולרקמות). חומצה מלחית נמצאת בתאיהם של רוב היצורים החיים. בגוף האדם מופרשת חומצה מלחית בריכוז גבוה בקיבה, שם היא משמשת להרג חיידקים . כשרירית הקיבה נפגעת, כתוצאה מזיהום חיידקי, למשל בדלקת, עלולה החומצה המלחית לאכל את רקמת הקיבה לגרום לצרבת, ובמקרים חמורים אף לכיב קיבה (אולקוס). HCl היא חומצה חזקה, בסביבה מימית היא מתפרקת ליוני כלור ויוני מימן (פרוטונים) המסוגלים לחדור בחופשיות את ממברנת התא של החיידק ובכך להעלות את רמת החומציות בציטופלזמה (כאשר ריכוזם מחוץ לתא גבוה מאוד). שינוי ברמת החומציות בציטופלזמה משפיע על פעילות האנזימים בתוך התא, בעיקר כתוצאה מהשפעה על המבנה המרחבי שלהם (דנטורציה). בנוסף, חומציות גבוהה

תשפיע על מבנה ושלמות חומצות הגרעין של החיידק. תהליך זה יהרוס את המבנה המרחבי של המולקולות האורגניות בתא ולכן יהרוס את התפקוד של מערכות החיידק. מטרת החקר הינה לקבוע מהו ריכוז החומר הפעיל HCl שיש לשים בחומרי ניקוי על מנת שיעבדו בצורה מיטבית. חשיבותה של הסטריליות המושגת על ידי שימוש בחומרי ניקוי היא במניעת מחלות וזיהומים במקומות כמו מטבחים, בתי חולים ועוד.

הסביבה התוך תאית נמצאת בהומאוסטזיס על מנת לאפשר את קיומם של תהליכים ביולוגיים הנחוצים לתפקוד תקין של התא והאורגניזם. שינוי בחומציות הסביבה התוך תאית יכול לגרום בין היתר לדנטורציה של חלבונים. עלייה או ירידה בריכוזם של יוני המימן, כתוצאה משינוי בחומציות הסביבה, גורמת ליינון של קבוצות צדדיות בחומצות אמינו מסוימות, ולטעינתן במטען חשמלי. המטען החשמלי גורם למשיכה או לדחייה חשמלית שלא הייתה קיימת קודם לכן בין קטעי חלבון שונים. אלו הן אינטראקציות חדשות בין חומצות האמינו, שלא היו קיימות לפני כן. הדבר מערער את המבנה הטבעי של החלבון וגורם לפתיחה חלקית שלו. פתיחה זו חושפת לסביבה החומצית או הבסיסית קבוצות צדדיות שלא היו חשופות עד כה, ומייננת גם אותן, דבר הגורם לקריסתו הסופית של החלבון, הופך אותו לשרשרת אקראית חסרת מבנה ופוגע בתפקודו התקין.

מכיוון ששינוי בחומציות הסביבה משפיע בצורה חמורה על תאי החיידקים בחרנו לבדוק מהו ריכוז הסף בו קיימת השפעה על קצב גידול החיידקים.

### **לפיכך, שאלת החקר המרכזית שלנו בעבודה זו הינה מה ההשפעה של ריכוזי HCl שונים על קצב גידול חיידקים?**

אנו משערים כי עלייה בריכוז HCl במצע הגידול הנוזלי תאט את קצב גידול החיידקים, עד כדי עיכוב מלא.

השערתינו מבוססת על העובדה כי מכיוון שקצב הדיפוזיה של החומצה אל תאי החיידקים תלוי בחדירות הממברנה ומושפע ממנה, שאלנו שאלת חקר נוספת בה ניסינו להבין האם יש קשר בין עובי הדופן של חיידקי הבצילוס והו E-coli לבין השפעת HCl על קצב הגידול של שני סוגי החיידקים.

### **שאלת החקר השנייה שלנו בעבודה זו הינה מהי השפעת ריכוז ה-HCl על גידול חיידקי בצילוס (גראם חיובי) לעומת חיידקי ה- E.coli (גראם שלילי)?**

אנו משערים כי HCl בריכוז סף ישפיע יותר על חיידק הגרהאם השלילי בהשוואה לחיידק הגרהאם החיובי.

השערתינו מבוססת על העובדה כי קיימים הבדלים ביולוגיים בדופן תאי החיידקים. הדופן של חיידקי גרהאם שליליים דקה יותר ולכן תאפשר פעפוע יעיל יותר של החומצה לתוך תאי החיידקים. לעומת זאת, כיוון שחיידק הגרהאם החיובי הוא בעל דופן עבה יותר, הרי שהדיפוזיה דרך הדופן תהיה איטית יותר ולכן הוא פחות יושפע.

## פרק ב- מערך החקר כולל חומרים ושיטות

### ניסוי מקדים

האורגניזם הנבדק הוא חיידקי E-coli ,

המשתנה התלוי הוא קוטר הילת עיכוב גידול החיידקים. מדדנו אותו בצורה איכותית לפי מראית עין. המשתנה הבלתי תלוי הוא ריכוז ה-HCl בדיסקית.

הגורמים עליהם שמרנו קבועים בניסוי היו הטמפרטורה , הזמן , צלחת הניסוי, הרכב מצע המזון , PH וכמות החיידקים.

הבקרה בניסוי המקדים הייתה הטיפול בו הדיסקית נטבלה במים ולא ב-HCl .

מספר הפריטים בניסוי היו 4 ריכוזים ביניהם אחד ששימש כבקרה ושלוש חזרות.

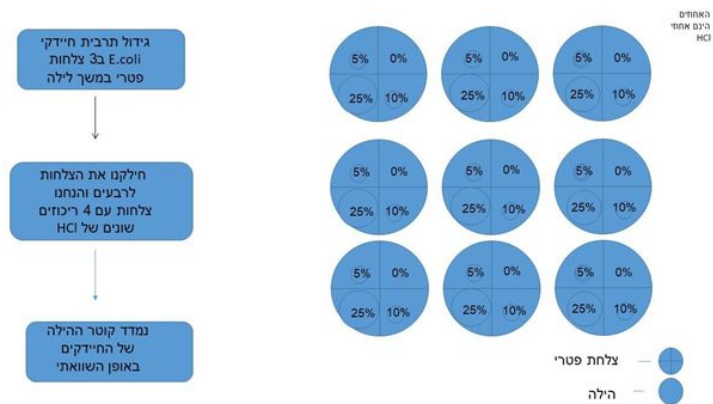
שאלת החקר אותה בדקנו הייתה באיזה טווח ריכוזים פועל ה-HCl בצורה הכי אפקטיבית.

בניסוי המקדים רצינו לבדוק מהם ריכוזי ה- HCl המינימליים, שיש להם השפעה על גידול חיידקי E.Coli. לשם כך השתמשנו בטווח רחב של ריכוזי HCl, HCl 10%, HCl 5%, HCl 0% ו- HCl 25%. HCl ובדקנו את השפעתם על גידול החיידקים במצע מוצק. מטרתו העיקרית של הניסוי המקדים הייתה לאתר ולצמצם את טווח ריכוזי ה-HCl איתו נעבוד בניסוי המרכזי.

בניסוי המקדים השתמשנו בשלוש צלחות פטרי כאשר כל אחת מהם מחולקת לארבעה חלקים וכל חלק מיועד לבדוק את ההשפעה של ריכוז HCl שונה מתוך טווח הריכוזים שבחרנו לניסוי המקדים.

כל צלחת נמרחה בתרבית חיידקים של E-coli , ועליה הונחה דיסקית שנטבלה בריכוזי HCl השונים. הצלחות שהו לילה באינקובטור וביום שלאחר נבדקה מידת עיכוב גידול החיידקים לפי קוטר ההילה שנוצרה מסביב לדיסקית. עיבוד התוצאות נעשה באופן איכותי על פי מראית עין, ודורג בהתאם לקוטר ההילה לפי + , ++ , +++ .

### סכימה המציגה את מהלך הניסוי



### ניסוי מרכזי

**האורגניזם הנבדק הוא חיידקי E-coli ,**

**המשתנה התלוי הוא קצב הגידול של חיידקי E-coli**

**המשתנה הבלתי תלוי הוא ריכוזי ה-HCl השונים.**

**הגורמים עליהם שמרנו קבועים בניסוי** היו טמפרטורה, זמן בין מדידות, נפח תרחיף חיידקים.

**הבקרה בניסוי** הוא ארלנמאייר ללא ה-HCl

**מספר הפריטים בניסוי** הוא 6

**שאלת החקר אותה בדקנו הייתה- מהי השפעת ריכוזי HCl שונים על קצב גדילת חיידקים?**

בניסוי המרכזי מדדנו את ההשפעה של טווח ריכוזים מצומצם יותר של HCl (בהתאם לתוצאות הניסוי המקדים) - 0%, 1%, 3%, 5%, 7%, 10% - על קצב גידול חיידקי E.Coli, לשם כך נעזרנו במדידת עכירות התרבית **לאורך זמן** בספקטרופוטומטר. השינוי בעכירות התרבית משקף את קצב גידול החיידקים. גידלנו תרבית חיידקים במהלך הלילה שלפני יום הניסוי. ביום הניסוי עצמו מהלנו את תרבית חיידקי E-coli שגודלה בלילה, אל מצע גידול נוזלי טרי המכיל ריכוז שונה של HCl (כולל 0% - ששימש כביקורת שלילית למדידת עכירות התרבית ללא השפעת המשתנה הבלתי תלוי). בדקנו את העכירות של כל אחת מהתרביות בעזרת ספקטרופוטומטר באורך גל 600nm, המדידה התבצעה כל שעתיים ובכל פעם שלוש חזרות לכל ריכוז, כאשר בסופו של דבר בדקנו את עכירות התרביות בזמן אפס, אחרי שעתיים, אחרי 4 שעות, אחרי שש שעות ולאחר לילה.

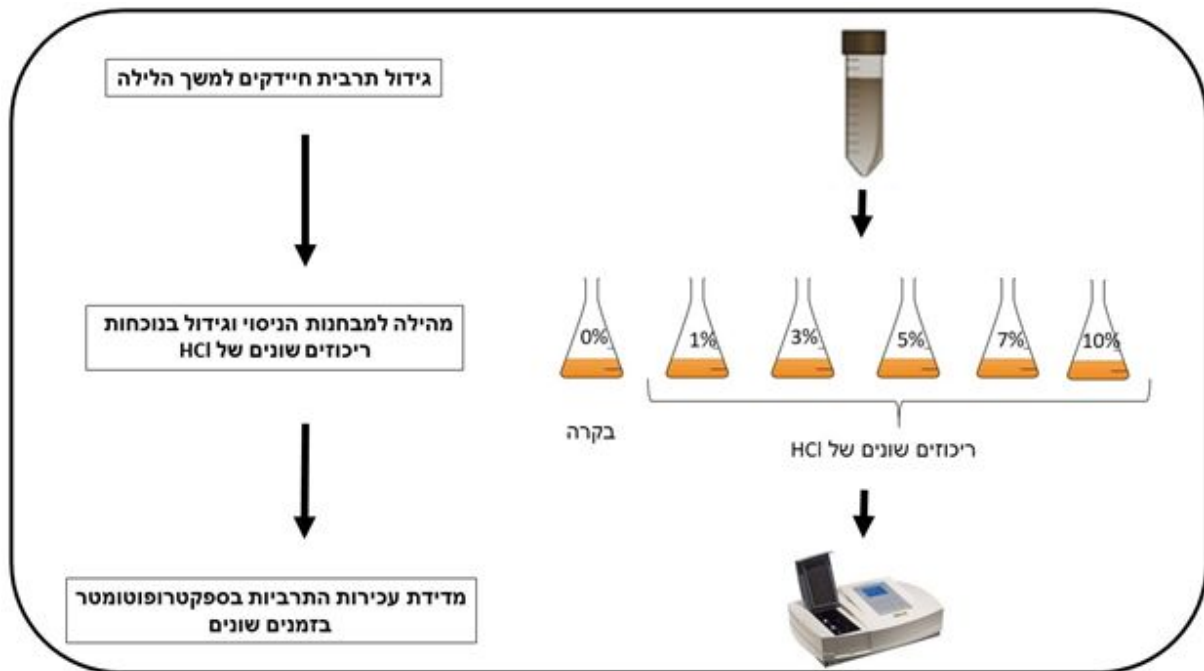
טבלה 1

HCl אחוז	נפח המצע (ml)	נפח HCl (ml)
0	30	0

0.3	30	1
0.9	30	3
1.5	30	5
2.1	30	7
3	30	10

את התוצאות עיבדנו בטבלת EXCEL שבה רשמנו את התוצאות בפועל של כל אחת מהחזרות שביצענו בכל הריכוזים. עבור כל זמן מדידה חישבנו את הממוצע של כל 3 חזרות שבוצעו וכן חישבנו את סטיית התקן עבור הממוצע שחישבנו. התוצאות מוצגות כגרף בפרק התוצאות.

### סכימה המציגה את מהלך הניסוי





## ניסוי המשך

**האורגניזם** הנבדק הוא חיידקי E-coli וחיידקי בצילוס.

**המשתנה התלוי** הוא קצב הגידול של שני סוגי החיידקים

**המשתנה הבלתי תלוי** הוא ריכוזי הHCl

**הגורמים עליהם שמרנו קבועים בניסוי** היו הטמפרטורה, נפח החיידקים, נפח מצע הגידול וזמן הגידול לפני המדידה

**הבקרה** בניסוי היא הרבע בצלחת בו ריכוז הHCl היה 0%

**מספר הפריטים** בניסוי 3 צלחות של חיידקי E.coli ו3 צלחות של חיידקי בצילוס.

**שאלת החקר** אותה בדקנו הייתה- **מהי השפעת HCl על קצב גידול חיידקי E.Coli לעומת חיידקי בצילוס.**

בניסוי האחרון בדקנו את השפעת טווח ריכוזים רחב של הHCl על שני סוגי חיידקים - E.Coli -גראם שלילי וחיידק הבצילוס- חיידק גראם חיובי. מטרת הניסוי הייתה לראות את ההבדלים בהשפעת הHCl על חיידקי גראם חיוביים ושליליים, הבדלים שיכולים לנבוע כתוצאה משינוי בעובי הדופן של סוגי החיידקים השונים ולכן מפעפוע שונה של החומצה אל תוך תאי החיידקים.

בניסוי השתמשנו ב6 צלחות פטרי- בחצי זרענו חיידקי בצילוס ובחצי חיידקי E.Coli. חילקנו את הצלחות ל4 חלקים, בדומה לניסוי הראשון, והשתמשנו בריכוז שונה בכל רבע. הריכוזים בהם השתמשנו היו- 0% HCl, 10% HCl, 5% HCl, ו- 25% HCl (כמו בניסוי המקדים).

כל צלחת נמרחת בתרבית חיידקים של E-coli ובצילוס, עליה הונחה דיסקית שנטבלה בריכוזי ה HCl השונים.

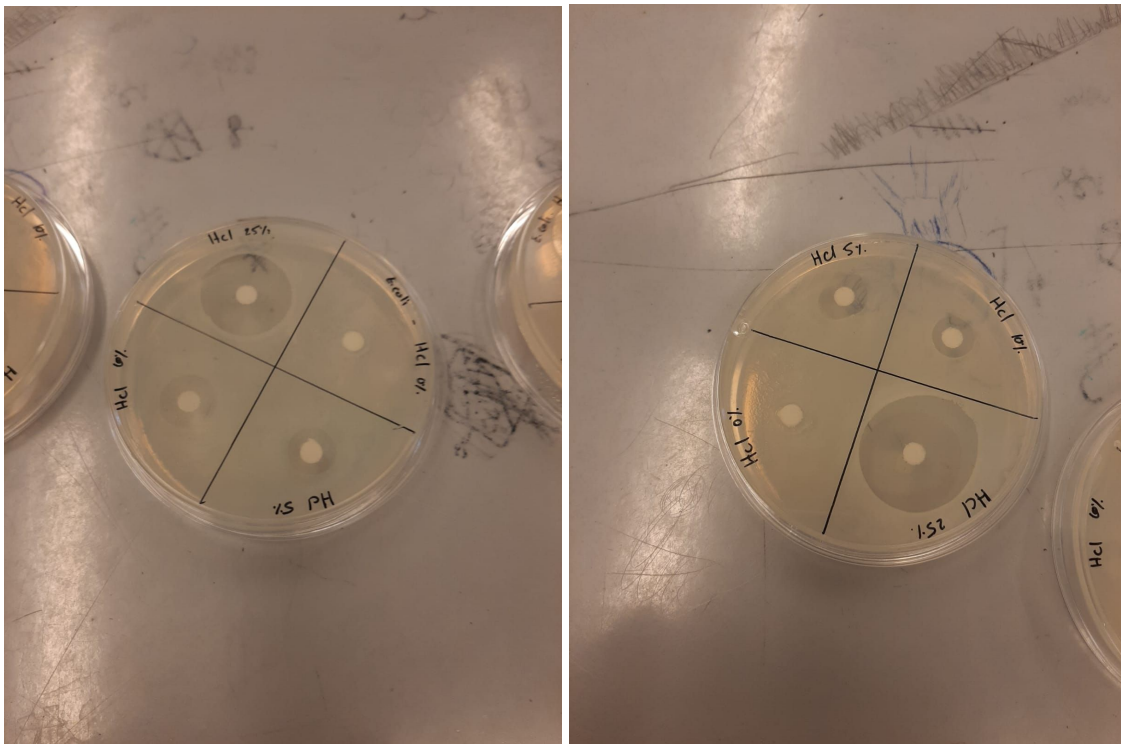
הצלחות שהו לילה באינקובטור ולאחר מכן נבדק קוטר ההילה שנוצרה מסביב לכל דיסקית. המדידה עצמה נעשה באופן איכותי לפי מראית עין.

# פרק ג' - תוצאות

## ניסוי מקדים

על מנת לבדוק את השפעת ה-HCl על חיידק E.Coli ועל קצב הגידול שלו בנוכחות HCl ביצענו ניסוי שתוצאותיו מוצגות בתמונה למטה.

בניסוי בכל רבע צלחת הוספנו ריכוז HCl שונה : 25%, 15%, 10%, 5%. מדדנו לבסוף את קוטר ההילה על מנת להבין איפה השפעת ה-HCl ניכרת בצורה הכי משמעותית לעין .



תמונה מס' 1- תוצאות עיכוב גידול החיידקים בנוכחות טווח רחב של ריכוזי HCl

קוטר ההילה שנוצר מסביב לדיסקית משקף את מידת עיכוב גידול החיידקים בנוכחות ריכוז ה-HCl שנבדק. עבור כל ריכוז הערכנו בצורה איכותית את מידת העיכוב בהתאם למדרג יחסי, תוצאות המדרג העיכוב מוצגות בטבלה הבאה -

## טבלה 2

קוטר ההילה (יחידות יחסיות)	ריכוז HCl
-	0%
+	5%
+	10%
+++	25%

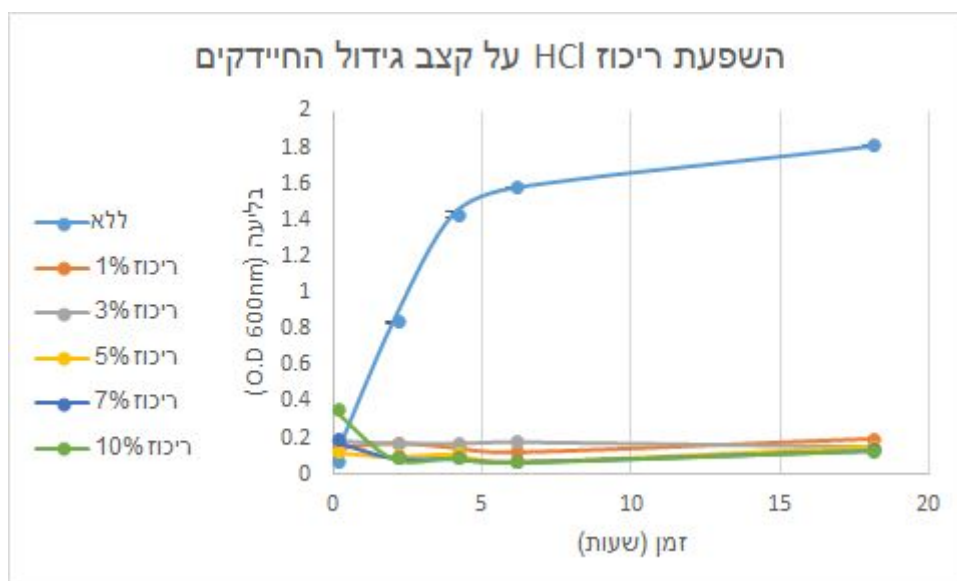
מתוצאות הניסוי המקדים ניתן לראות כי ריכוז ה-HCl בדיסקית משפיע על מידת עיכוב גידול החיידקים בצורה ישירה ; ככל שהריכוז גדל, כך גדלה גם הילת העיכוב בהתאמה. דבר זה מעיד כי ריכוז גבוה של HCl מאט את קצב גידול החיידקים ואף גורם למותם . לפי התוצאות בניסוי הזה קבענו את טווח הריכוזים שאיתו נעבוד בניסוי המרכזי .

### ניסוי מרכזי - תוצאות

תוצאות הניסוי המקדים איפשרו לנו לקבוע את טווח ריכוזי ה-HCl איתו בחרנו לעבוד בניסוי המרכזי. בחרנו בטווח ריכוזים שבין 1%-10% HCl כיוון שלפי התוצאות שקיבלנו בניסוי המקדים ה-HCl מתחיל לפעול בריכוז של 5% לכן בחרנו בטווח ריכוזים שבו 5% הוא האמצע וכלול בו 2 ריכוזים מעל ל- 5% ושני ריכוזים מתחת ל-5%.

על מנת לבדוק את ההשפעה של טווח הריכוזים המצומצם שבחרנו, בדקנו את הבליעה של התרביות בזמנים שונים ובנוכחות ריכוזי HCl שונים. כל תרבית נמדדה 3 מדידות, בכל נקודת זמן, וחושב עבורה ערך ממוצע. תוצאות הניסוי מוצגות בגרף ובטבלה שלמטה.

גרף מס' 1- השפעת ריכוז HCl על קצב גידול חיידקים



טבלה מס' 3 - ממוצע העכירות של התרביות שנמדד בריכוזים שונים של HCl

10%	7%	5%	3%	1%	ללא	זמן / ריכוז אתנול
0.4	0.2	0.15	0.2	0.2	0.1	0
0.1	0.1	0.15	0.2	0.2	0.9	2
0.07	0.09	0.14	0.2	0.15	1.4	4
0.07	0.07	0.11	0.22	0.13	1.6	7
0.1	0.1	0.13	0.15	0.3	1.9	17

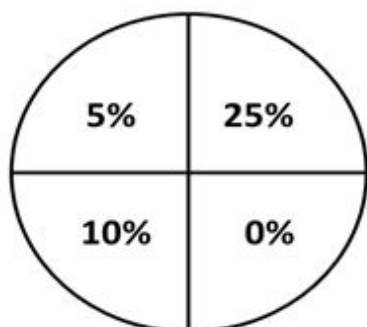
מתוצאות הניסוי המרכזי ניתן לראות כי שללא ריכוז HCl קצב גידול החיידקים גדל לפי הנרמה של קצב גידול חיידקים, בהתחלה חלה עלייה גדולה ולאחר מכן מיתון ושום דבר לא הפריע לחיידקים להתרבות ולגדול.

מהצד השני ברגש שהוספנו ריכוז מסוים של HCl קצב הגידול השתנה לגמרי וחלה תמותה של החיידקים עקב הנוכחות של HCl. תופעה זו התרחשה בכל הריכוזים.

## ניסוי המשך

בניסוי השני גידלנו שני סוגי תרביות חיידקים במצע אגר מוצק. סוג אחד היה גראם חיובי- חיידקי בצילוס, הסוג השני הוא גראם שלילי- חיידקי E.Coli. לאחר שגידלנו אותם מספר שווה של ימים הוספנו להם HCl בריכוזים שונים ובדקנו את השפעתו עליהם אחרי לילה בתנאים אופטימליים. בחרנו בשני סוגי חיידקים אלה על מנת להשוות בין השפעתו של החומר על חיידקי גראם שלילי וחיובי. מדדנו את ההשפעה על פי מראית עין בצורה איכותית. התוצאות מוצגות בתמונה הבאה.

תמונה מספר 2- הילת עיכוב הגידול של חיידקי E.Coli ו- Bacillus



**בצילוס**

**E.Coli**

הצורה בה הערכנו את קוטר ההילה היא לפי מראית עין בצורה איכותית. יחידות המידה שבהן השתמשנו היו יחסיות למנעד התוצאות שראינו בניסוי עצמו. השתמשנו בצורת מדידה זו בשל העובדה שמטרת המדידה הייתה השוואה בין תוצאות בניסוי ולא מדידה כללית של השפעת החומצה על החיידקים. בטבלה מוצגות התוצאות מהניסוי. כאשר קוטר ההילה הוא נתון המשקף את תמותת החיידקים

**טבלה E-coli-4**

קוטר ההילה (יחידות יחסיות)	ריכוז HCl
-	0%
-+	5%
+++	10%
+++	25%

### טבלה 5- Bacillus

קוטר ההילה (יחידות יחסיות)	ריכוז HCl
-	0%
-+	5%
+	10%
++	25%

מתוצאות ניסוי ההמשך ניתן לראות כי עבור הריכוזים שנבדקו הHCl התחיל להרוג חלק מהחיידקים החל מהריכוז הראשון שהכנסנו לתרבית(5%). ככל שהגדלנו את הריכוז כך גדלה התמותה של החיידקים (גודל ההילה). ניכר כי אותם ריכוזים השפיעו בצורה שונה על חיידקי הבצילוס והE.Coli.

## פרק ד'-מסקנות ודיון

שאלות המחקר שנשאלו בניסוי שלנו הן האם HCl ישפיע על קצב גידול חיידקים ואם כן אילו ריכוזים ספציפיים יגרמו למוות של חיידקים ואלו לא, בנוסף בדקנו האם יש הבדל בהשפעת ה-HCl על חיידקי גראם שליליים וחיוביים. ההשערה שלנו הייתה ש-HCl ישפיע על החיידקים ויהרוג את רובם, בנוסף שיערנו כי ככל שנעלה את ריכוז ה-HCl כך ימותו יותר חיידקים בקצב מהיר יותר כתוצאה מנוכחותו. השערה זו התבססה על ההנחה כי חיידקים לא מסוגלים לשרוד ב-PH נמוך וחומצי במיוחד (מתחת ל-2) שנגרם כתוצאה מריכוז גבוה של HCl. תוצאות הניסוי לגמרי תואמות את ההשערה שלנו. בהשוואה לקצב הגידול של חיידקים בצלחת ללא HCl, מצאנו כי ככל שעלינו בריכוזי ה-HCl ירד קצב גידול החיידקים. המסקנה שלנו היא שככל העלנו את ריכוז ה-HCl כך קצב גידול החיידקים ירד ויותר חיידקים מתו. מהניסויים שביצענו אנחנו יכולים להסיק כמה מסקנות:

מסקנות מניסוי מרכזי:

### 1. החומר HCl משפיע על קצב גידול חיידקים וגורם למותם של חיידקים.

בניסוי המקדים הראינו כי ככל שריכוז ה-HCl גדול יותר כך גדל גם קצב תמותת החיידקים. את המגמה הזו הראינו הן במצע נוזלי והן במצע מוצק. ידוע כי לחיידקים יש טווח מוגבל של חומציות בו הם מסוגלים לחיות, בנוסף לכל חיידק יש רמת חומציות אופטימלית בה הוא משגשג והתרחקות ממנה מובילה לליקויים בתפקודו ויכולתו להתרבות. ככל שעולה ריכוז החומצה (HCl) החומציות עולה גם כן לכן החיידקים אינם מתרבים באותו הקצב או שחלק מהם עובר דנטורציה חלקית או מלאה, נפגע ומת. ממצא מרכזי שהשגנו בניסוי המרכזי ותומך בטענה הוא שבכל ריכוזי החומצה (שהם לא 0%) שבדקנו ההבדלים בכמות החיידקים היו מזעריים, מכאן אנו מסיקים שמכמות קטנה יחסית של חומצה החיידקים עוברים את סף החומציות שלהם ומתים. יש לציין שכל חומר חומצי המביא את התאי החיידקים מעבר לסף החומציות שלהם מספיק כדי להשמיד חיידקים. ניקח לדוגמה מיץ לימון- PH שלו הוא 2 בעוד חיידקי E.Coli משגשים ב-PH של 4 והוא משמיד את החיידקים הללו (ראו מתוך אתר מכון [דוידסון](#)).



על מנת למצוא את סף החומציות של החיידקים היה עלינו למדוד PH על מנת לאשש שהוא הגורם המשפיע וכן על מנת ליישם את מסקנות הניסוי על חומרים אחרים שיביאו את החיידקים ל-PH זהה. הריכוזים שבדקנו היו מוטעים בשל הבדל מהותי בין המצע הנוזלי למצע המוצק אותו לא לקחנו בחשבון (על הבדלים אלו ארחיב בהמשך). טעות זו גרמה לכך שהתוצאות שקיבלנו נצמדו למעין אסימפטוטה משום שהן כולן עברו את הסף של החומציות שהחיידק מסוגל לשרוד בה. היה עלינו לבדוק את התרבויות בריכוזים הנעים בין 0-1 אחוז, כך היינו מוצאים באיזה ריכוז מתרחשת גדילה חלקית של חיידקים ואת היחס בין קצב הגדילה לבין הריכוז.

## מסקנות מניסוי המשך:

### 2. השפעתו של HCl חזקה יותר על חיידקי גראם שליליים מאשר על חיידקי גראם חיוביים

תוצאות הניסוי האחרון שביצענו מעידות על כך שיש עמידות גבוהה יותר לחיידקי גראם חיובי (המיוצגים בניסוי שלנו בידי חיידקי הבצילוס) בפני HCl. ולכן היה צורך בריכוז גבוה יותר של החומצה על מנת לקבל תוצאות המתקרבות לתוצאות שהשגנו בתרבית חיידקי הגראם השליליים. מה שגרם לתוצאות אליהן הגענו היה ההבדלים המהותיים בין שני סוגי החיידקים: חיידק גראם שלילי- חיידקי הגראם השלילי הם בעלי דופן דקה בהרבה מזאת של חיידקי גראם חיובי ובנוסף יש לחיידקי גראם חיובי של גם ממברנה חיצונית. הדופן הדקה מאפשרת תהליכי דיפוזיה יעילים יותר ולכן קל יותר להשמידם באמצעות חומרי ניקוי או חומרים הפוגעים בחלוקת התא. לחיידקי הגראם החיובי לעומת זאת עמידות גבוהה יותר בפני איומים- הדופן העבה שלהם מעניקה להם הגנה מתאי בולען ומפיצוץ כתוצאה מלחצים אוסמוטיים. בנוסף הדופן פחות חדירה לחומרים ולכן קשה יותר להשמיד חיידקים כאלו. לכן נדרש ריכוז גבוה יותר של חומצה על מנת להשמיד את חיידקי הבצילוס שהינם חיידקי גראם חיובי.

כשתיכננו את הניסוי שיערנו שיהיה שוני בריכוז שיידרש כדי להרוג את אותה כמות חיידקים (גראם חיוביים ושליליים) בשל ההבדלים הנ"ל ביניהם. לכן ביצענו את הניסוי בריכוזים גבוהים יחסית שראינו שהייתה להם השפעה רבה בניסוי המקדים במצע מוצק.

הניסוי אישש את השערתנו, ואכן נדרש ריכוז גבוה יותר של HCl כדי להרוג אותה כמות חיידקים כמו שניתן לראות בטבלת ניסוי המשך.

ממצא מעניין שראינו בניסוי המשך הוא שהשפעת ריכוז של 10% ו-25% הייתה זהה אצל חיידקי ה-E.Coli, מה שעשוי להעיד על הגעה לסף PH מסויים ממנו קורית דנטורציה מלאה והחיידקים מתים בקצב מהיר מאוד ולכן זה לא משנה אם מעלים עוד את הריכוז ("אפקט תקרה"). בחיידקי הבצילוס לעומת זאת השגנו גרף רציף ומגמתי של עלייה בתמותה בקשר ישיר להעלאת ריכוז החומצה שלא הגיע לפלטו בריכוזים שנבדקו. על מנת להוכיח שאכן הגענו לסף המדובר יש לשחזר את תוצאות הניסוי במספר תרביות נוספות, דבר שלא עשינו בשל מגבלות המחקר שלנו. מכיוון שלא עשינו את מספר החזרות הרב שמתבקש כדי להוכיח טענה זו, לא ניתן לשלול שבניסויים חוזרים היו מתקבלות תוצאות אחרות.

בנוסף יש מקום לבצע ניסוי המשך שבו נחשוף את התרבויות של חיידקי גראם חיוביים לריכוזים גבוהים יותר, עד שנגיע לסף בדומה לזה שהשגנו בחיידקי ה-E-coli.

כפי שהזכרנו קודם לכן אנחנו משערים שהאפקטים שהושגו בחיידקי ה E-Coli ובחיידקי הבצילוס מייצגים אפקט כללי יותר שנכון לגבי כל החיידקים מסוג גראם שלילי וגראם חיובי, אבל כדי לאשר את ההנחה הזו, יש מקום לניסוי שחזור על התוצאות גם בסוגי חיידקים אחרים המשתייכים לכל אחת מהקבוצות.

### 3. הדיפוזיה של HCl מתרחשת בצורה יותר יעילה במצע נוזלי מאשר במצע מוצק.

לפי הניסוי המקדים שבו קבענו טווח גדול יותר של ריכוזי HCl במצע מוצק היה נראה שהטווח שבחרנו לניסוי המרכזי (1-10%) יהיה טווח הגיוני שבו ניתן לראות שינוי בהשפעת הHCl. הריכוזים בטווח שבדקנו בניסוי המקדים הראו כי כבר בריכוז של 5% התרחשה השפעה נראית לעין (גודל ההילה) על קצב גידול החיידקים בצלחת. למרות זאת במצע נוזלי ריכוז של 5% גרם לתמותה מלאה של החיידקים. כשבחרנו את המצע לניסוי חשבנו רק על איך הכי נוח למדוד את ההשפעה של החומצה על החיידקים ומה הכי מדויק, ולא לקחנו בחשבון את ההבדלים במהירות חדירת החומצה לתאי החיידקים.

ניתן להסביר את התופעה בכך שזמן הפעפוע של נוזל במדיום נוזלי שנמצא בתנועה מתמדת מהיר יותר מאשר במדיום מוצק (האגר) שהינו חסר תנועה.

ניתן להבין כי יעילותה (מבחינת מהירות השמדה של החיידקים) של החומצה בה משתמשים גדלה מאוד כאשר משתמשים בה על חיידקים במצע נוזלים.

המסקנה העולה מכך היא שבדיעבד היינו צריכים לבדוק בניסוי טווח ריכוזים שונה, כלומר ריכוזים יותר נמוכים של HCl ואת ההשפעה שלהם. בטווח שבדקנו קיבלנו בכל הריכוזים הנבדקים כמעט את אותן תוצאות, לכן היינו צריכים לבדוק טווח יותר נמוך של ריכוז HCl בניסוי המקדים כדי לקבל את הטווח המדויק לניסוי המרכזי.

## ביבלוגרפיה:

[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)

<https://www.nature.com/articles/srep15159>

[https://he.wikipedia.org/wiki/%D7%97%D7%95%D7%9E%D7%A6%D7%AA\\_%D7%9E%D7%99%D7%9E%D7%9F\\_%D7%9B%D7%9C%D7%95%D7%A8%D7%99](https://he.wikipedia.org/wiki/%D7%97%D7%95%D7%9E%D7%A6%D7%AA_%D7%9E%D7%99%D7%9E%D7%9F_%D7%9B%D7%9C%D7%95%D7%A8%D7%99)

[https://he.wikipedia.org/wiki/Escherichia\\_coli](https://he.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3105702/>

<http://www.amalnet.k12.il/micro/meetC.htm>

[https://davidson.weizmann.ac.il/online/askexpert/life\\_sci/%D7%90%D7%99%D7%9A-%D7%9E%D7%99%D7%A5-%D7%9C%D7%99%D7%9E%D7%95%D7%9F-%D7%9E%D7%A9%D7%A4%D7%99%D7%A2-%D7%A2%D7%9C-%D7%A2%D7%99%D7%9B%D7%95%D7%91-%D7%92%D7%93%D7%99%D7%9C%D7%AA-%D7%97%D7%99%D7%99%D7%93%D7%A7%D7%99%D7%9D-%D7%93%D7%99%D7%9F](https://davidson.weizmann.ac.il/online/askexpert/life_sci/%D7%90%D7%99%D7%9A-%D7%9E%D7%99%D7%A5-%D7%9C%D7%99%D7%9E%D7%95%D7%9F-%D7%9E%D7%A9%D7%A4%D7%99%D7%A2-%D7%A2%D7%9C-%D7%A2%D7%99%D7%9B%D7%95%D7%91-%D7%92%D7%93%D7%99%D7%9C%D7%AA-%D7%97%D7%99%D7%99%D7%93%D7%A7%D7%99%D7%9D-%D7%93%D7%99%D7%9F)

## דו"ח סיור כנרת עילי, רועי ויהלי

הכנרת היא ימה הנמצאת בישראל בצפון מזרח הארץ. זהו אגם המים המתוקים הטבעי הגדול ביותר בשטחה של ישראל. בעבר הכנרת הייתה מקור המים המרכזי של ישראל וסיפקה כרבע מצריכת המים, אך בעקבות שנות בצורת רצופות וירידה במפלס המים הופחתה שאיבת המים מהאגם והחלו להשתמש בדרכים אחרות לצריכת מים. הוקמו מתקני התפלה רבים כדי לספק מים וכיום מרבית אזרחי ישראל צורכים מים מותפלים והכנרת מספקת רק 2 אחוזים מצריכת המים בארץ. מפלס הכנרת משתנה כול הזמן והוא מושפע מאוד ממזג האוויר ומשאיבת המים אך הוא נמצא בדרך כלל סביב כ-212 מטרים מתחת לפני הים. הכנרת נחשבת למאגר המים המתוקים הנמוך ביותר.

תופעות מיוחדות בכנרת: בכנרת יש חופים מגוונים השונים זה מזה בהתאם למיקומם, השוני בין החופים נוצר בעקבות תנאי הסביבה שאותו החוף ממוקם. ישנם חופים הנמצאים ליד נחלים הנשפכים לכנרת כתוצאה מכך חופים אלו מכילים חול בעקבות הסחף של הנחלים. ישנם חופים המכילים סלעים כתוצאה מבליעה של הקרקע והם יכולים להכיל סלעים גדולים או חלוקי נחל. ישנם חופים מיוחדים המכילים אבני בזלת או אבני גיר כתוצאה מאירועי טבע היסטוריים. בחלק מחופי הכנרת ישנן נביעות של מעייני גופרית חמים כתוצאה מגופרית המצויה במעמקי האדמה. מעניים אלו בעלי מליחות גבוהה בגלל הגופרית המצויה בהם. בכנרת קיים מגוון רחב של בעלי חיים וצמחים כגון אצות, צמחיה עשירה, פלנקטונים, דגים, עופות וסרטנים למיניהם.

השפעת האדם על הכנרת: במהלך השנים האדם השפיע על הכנרת בדרכים רבות. אחת ההשפעות האלו היא המוביל הארצי. המוביל הארצי הוא פרויקט שמטרתו היא לספק מים מהכנרת לכול מדינת ישראל והוא גרם להשפעה רבה על הכנרת. כיום רק

תושבי הישובים הסובבים את הכנרת וחקלאים ששדותיהם נמצאים בסמוך לכנרת צורכים את מימיה. מדי שנה בעיקר בחגים וחופשים תיירים רבים נוטים לנפוש בחופי הכנרת, דבר זה משפיע על בעלי החיים ובתי הגידול בכנרת. התיירים משאירים אחריהם זבל וזיהום רב דבר הפוגע בבית הגידול של אותם אורגניזמים המתקיימים בכנרת. נוכחות גבוהה של הרבה בני אדם בבת אחת גורמת לבהלה ופחד מצדם של בעלי החיים דבר המקשה עליהם למצוא מזון, להתרבות ולהתקיים.

מארג מזון: מארג מזון הוא מונח המתאר מספר שרשרות מזון המקיימות ביניהן קשרים והן נמצאות באותה הסביבה. בעלי החיים הנמצאים באותה סביבת מחייה יוצרים ביניהם קשרים ואינטראקציות, דבר זה יוצר אוסף של מספר שרשראות מזון היוצרות מארג שבעלי החיים והאיזון הטבעי מתקיימים בזכותו. כאשר מדברים על

קשרים בין בעלי חיים הנמצאים בסביבת גידול מסוימת אז מסתכלים על המארג המזון של אותה הסביבה ולא על שרשראות בודדות מכיון שהשרשראות מחוברות אחת לשנייה.