

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה (שאלון 92421),
מועד: חורף תש"ף, שהתקיימה בתאריך: 23/2/20 בעריכת: ד"ר מיה קדמי, אנג' יואב מירום
המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

שאלה מספר 1:

נתונים: $V=100$ l, $F_1=50$ l/hr, $F_2=60$ l/hr, $X_2=10$ g/l, $X_3=20$ g/l
מאזני מסה כלליים (במצב עמיד): $F_1=F_4$, $F_1+F_3=F_2$

- 1.1 מתוך מאזן מסה כללי: $F_1+F_3=F_2$, מתקבל: $F_3=F_2-F_1=10$ l/hr
- 1.2.1 מאזן מסה על התאים (בהנחת מצב עמיד): $dx/dt=F_1X_1+F_3X_3-F_2X_2+\mu X_2V-kX_2V=0$
הנחות נוספות: שלב גידול לוגריתמי: $\mu \gg k$, ולכן k זניח, הזנה סטרילית: $X_1=0$
מתקבל: $dx/dt=F_3X_3-F_2X_2+\mu X_2V=0$
- 1.2.2 פקטור הריכוז בתהליך (פי כמה עלה ריכוז התאים בזרם החוזר בהשוואה לזרם הנכנס לצנטריפוגה):
ריכוז התאים עלה מ-10 גרם לליטר, ל-20 גרם לליטר, כלומר פקטור הריכוז הוא פי 2.
- 1.3 מתוך מאזן מסה על התאים מקבלים: $\mu=(F_2X_2-F_3X_3)/X_2V$
ומכאן: $\mu=(60 \cdot 10 - 10 \cdot 20)/(100 \cdot 100)$
מתקבל: $\mu=0.4$ /hr
בדיקה דרך הנוסחא: $\mu=D(1+F_3/F_4(1-X_3/X_2))$, כאשר $D=F_1/V=50$ l/hr / 100 l = 0.5 /hr
מתקבל גם כאן $\mu=0.4$ /hr
- 1.4.1 יתרונות של מערכת רציפה עם החזר תאים:
1. קבלת ריכוז גבוה יותר של תאים בתוך הפרמנטור, וכך מתקבל קצב ייצור תוצר גבוה יותר, וניצול סובסטרט מלא יותר (רלוונטי מאד לטיפול בשפכים).
2. צמצום פחת התאים בתהליך.
- 1.4.2 כדי להוריד את ריכוז הסובסטרט ביציאה מהפרמנטור, צריך להעלות את ריכוז התאים בפרמנטור, כדי לקבל צריכה מוגברת של הסובסטרט. ניתן לעשות זאת ע"י העלאת פקטור הריכוז בתהליך, וקבלת ריכוז תאים גבוה יותר בזרם החוזר (וכך גם בפרמנטור).

שאלה מספר 2:

- 2.1.1 לפי הנוסחא: $OTR=k_{La} \cdot (C^*-C_L)$
לאחר 7 שעות מקבלים: $32 \text{ mmol}(\text{O}_2)/\text{l} \cdot \text{hr} = k_{La} \cdot (0.21-0.11) \text{ mmol}(\text{O}_2)/\text{l}$
מתקבל: $k_{La(7)} = 320$ /hr
- 2.1.2 לאחר 21 שעות מקבלים: $42 \text{ mmol}(\text{O}_2)/\text{l} \cdot \text{hr} = k_{La} \cdot (0.21-0.01) \text{ mmol}(\text{O}_2)/\text{l}$
מתקבל: $k_{La(21)} = 210$ /hr
- 2.2 לאורך הגידול, במיוחד של פטריות, מתקבלת עליה בצפיפות וצמיגות המצע, ולכן הערך של k_{La} יורד.
- 2.3 נתון קצב יצירת חום ע"י התאים: $Q_{\text{heat}} = 20,000$ kcal/hr
נחשב בעזרתו את נפח הפרמנטור בעזרת הנוסחא: $Q_{\text{heat}} = k_c \cdot OUR \cdot V$
נניח שלאחר 21 שעות, $OUR=OTR$
ונקבל: $20,000 \text{ kcal/hr} = 0.12 \text{ kcal/mmole}(\text{O}_2) \cdot 42 \text{ mmol}(\text{O}_2)/\text{l} \cdot V$
מתקבל: $V=3968$ liter

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה (שאלון 92421),
מועד: חורף תש"ף, שהתקיימה בתאריך: 23/2/20 בעריכת: ד"ר מיה קדמי, אנג' יואב מירום

המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

- 2.4** פרמטרים בהם תלוי קבוע מעבר החמצן: באופן כללי, כדי להעלות את קבוע מעבר החמצן, נרצה להעלות את זמן שהיית הבועות בפרמנטור, ונרצה להקטין את גודל בועות האוויר ובכך להגדיל את יחס שטח הפנים שלהן לנפח.
1. ספיקת האוויר לפרמנטור: ככל שגבוהה יותר, יעלה קבוע מעבר החמצן, כל עוד לא נגרום לקצף.
 2. מהירות הבוחש (RPM): ככל שגבוהה יותר, יעלה קבוע מעבר החמצן, כל עוד לא נגרום לקצף.
 3. מבנה הפרמנטור: קיום כנפיים סטטיות יעלה את קבוע מעבר החמצן.
 4. צמיגות המצע: ככל שהצמיגות גבוהה יותר, קבוע מעבר החמצן ירד.

שאלה מספר 3:

נתונים: $V=12,000$ l, $T=121^{\circ}\text{C}$, $\Delta t=12$ min, $k=3/\text{min}$,
 $C_0=0.2$ g/l, $N_f \cdot V=1/500$ cells/fermentation

3.1 חישוב רמת העיקור הנדרשת:

$$\ln(N_0/N)=k \cdot \Delta t$$

$$\ln(N_0/N)=3/\text{min} \cdot 12\text{min} = 36$$

3.2 חישוב N_0 :

מתוך נתון הסיכוי לזיהום: $N_f \cdot V=1/500$ cells/fermentation

$$N_f=1.667 \cdot 10^{-7}$$

נציב אותו בתוך הנוסחה שפתרנו: $\ln(N_0/N) = 36$

$$\ln(N_0/1.667 \cdot 10^{-7})=36$$

$$N_0=7.185 \cdot 10^8$$

3.3 נתונים חדשים: כאשר $\Delta t=4$ min, $C=0.4 \cdot C_0$

$$\ln(C_0/C)=k_v \cdot \Delta t$$

$$\ln(C_0/0.4C_0)=k_v \cdot 4$$

$$k_v=0.22907/\text{min}$$

3.4 חישוב ריכוז הוויטמין בסוף תהליך העיקור:

$$\ln(C_0/C_f)=k_v \cdot \Delta t$$

$$\ln(0.2/C_f)=0.22907/\text{min} \cdot 12\text{min}$$

$$0.2/C_f = 15.625$$

$$C_f = 0.0128\text{ g/l}$$

שאלה מספר 4

4.1 אריתרומיצין הוא חומר אנטיביוטי המעכב סינתזת חלבונים בחיידקים. חומר זה נקשר לתת יחידה 50S ומעכב את התארכות השרשרת הפפטידית ע"י מניעת מעבר tRNA מאתר A לאתר P. עמידות לחומר יכולה לנבוע משינוי באתר המטרה של התרופה למשל עקב מוטציה נקודתית בגן האחראי לייצור אחד מחלבוני הריבזום.

4.2 התאמה בין חומרים אנטיביוטיים לפעולתם:

- פולימיקסין: פגיעה במבנה ממברנת התא
- כלורמפניקול: פגיעה ביצירת הקשר הפפטידי בעת תרגום חלבונים
- ריפמיצין: מניעת יצירה של RNA ע"י עיכוב אנזים

4.3 חיידק המיקופלסמה יהיה עמיד לחומר פניצילין.

פתרון מוצע לבחינת מה"ט - הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה, מועד: חורף תש"ף, שהתקיימה בתאריך: 23/2/20

**פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה (שאלון 92421),
 מועד: חורף תש"ף, שהתקיימה בתאריך: 23/2/20 בעריכת: ד"ר מיה קדמי, אנג' יואב מירום
 המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה**

מנגנון הפעולה של פניצילין: חומר זה מעכב את סינתזת הדופן בחיידקים בשלב הגידול הלוגריתמי ע"י עיכוב האנזים טרנספפטידאז האחראי על יצירת הקשרים הצולבים בפפטידוגליקן, כתוצאה מכך הדופן נחלשת. בנוסף הקומפלקס של פניצילין הקשור לאנזים מזרז שחרור אוטוליזינים בכמות מוגברת, המפרקים קשרים קיימים בדופן והתא עובר ליזיס.

4.4 פפטידוגליקן הוא פולימר ייחודי המרכיב את הדופן בחיידקים ומקנה לה קשיחות. תפקידו העיקרי הוא הגנה על שלמות התא מפני ליזיס אוסמוטי בסביבה היפוטונית. הדופן מהווה משענת מכנית שמונעת את פיצוץ התא עקב חדירת המים.

לחיידקים גרם חיוביים יש דופן עבה בעוד שלחיידקים גרם שליליים יש דופן דקה.

שאלה מספר 5

5.1 קרינת UV נבלעת ע"י מרכיבים ארומטיים בחלבונים ובפורינים ופירימידינים בחומצות גרעין וגורמת בהם לשינויים כימיים. הנזק העיקרי הוא יצירת דימרים של בסיס תימין על גבי אותו גדיל של DNA. דבר זה משבש את תהליך השכפול של החומר הגנטי.

5.2 דוגמאות לשימושים נוספים של קרינת UV בהשמדת חיידקים: עיקור אוויר ומשטחים בחדרי ניתוח, במעבדות בהן נדרשת עבודה סטרילית, אולמות ייצור בבתי חרושת למוצרי מזון ובתי גידול לחיות מעבדה.

5.3 השיטה המקובלת להשמדת חיידקים במצעי מזון היא עיקור בחום רטוב במכשיר האוטוקלב. בשיטה זו החיידקים מושמדים עקב חשיפה לחום גבוה בסביבה לחה. תנאים אלו גורמים לדנטורציה של החלבונים ולהגברת נזילות הממברנה ולכן החיידקים מתים.

5.4 מוצרים רגישים לחום יש לעקר בעזרת סינון תת מיקרוני. בשיטה זו מסננים את הנוזל באמצעות פילטר המכיל חורים בקוטר 0.45 מיקרון להרחקת החיידקים מהתסנין.

שאלה מספר 6

6.1 נבחר 2 נקודות בתוך השלב הלוגריתמי, למשל:

$$t_1=4 \text{ hr}, N_1=0.19 \text{ gr/L}$$

$$t_2=8 \text{ hr}, N_2=1.4 \text{ gr/L}$$

$$T=(8-4) \cdot \log 2 / \log (1.4/0.19)=1.388 \text{ hr}$$

$$K=0.693/T=0.693/1.388=0.499 \text{ 1/hr}$$

6.2 חיידקים הדורשים גלוקוז הם כמוהטרוטרופים מכיוון שהם משתמשים בחומר אורגני כמקור פחמן ואנרגיה.

6.3 העלייה הלוגריתמית נפסקת לאחר 11 שעות מכיוון שהחיידקים נכנסו לשלב העמידה (סטציונרי). בשלב זה קצב החלוקה מואט עקב חוסר בנטריינטים, הידלדלות החמצן והצטברות חומרי פסולת. מתחילה גם תמותה. לכן בשלב זה יש איזון בין מספר החיידקים החיים למספר המתים.

6.4 שיטות ישירות לקביעת ריכוז החיידקים הן:

- ספירה חיה של מושבות
- ספירה מיקרוסקופית

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה (שאלון 92421),
מועד: חורף תש"ף, שהתקיימה בתאריך: 23/2/20 בעריכת: ד"ר מיה קדמי, אנג' יואב מירום
המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

שאלה מספר 7:

7.1 חישוב ניצולת אתנול לתאים, לפי $Y_{p/x} = q_p / \mu$ ומכאן: $q_p = \frac{\mu}{Y_{x/p}} = \mu \cdot Y_{p/x}$

גזע א': $Y_{p/x} = 0.2 \text{ g(p)/g(x) \cdot hr} / 0.067/\text{hr}$

$Y_{p/x} = 2.985 \text{ g(p)/g(x)}$

גזע ב': $Y_{p/x} = 0.27 \text{ g(p)/g(x) \cdot hr} / 0.075/\text{hr}$

$Y_{p/x} = 3.6 \text{ g(p)/g(x)}$

7.2 נבחר להשתמש בגזע ב', מאחר וקצב הגידול שלו, קצב ייצור תוצר סגולי שלו, וגם ניצולת ייצור התוצר שלו, גבוהים יותר מאשר בגזע א'. לכן נקבל יותר תוצר רצוי בתהליך.

7.3 במעבר לגלוקוז כמקור פחמן, נצפה לקבל אפילו גבוהה יותר לסובסטרט, ומכאן k_s נמוך יותר, ולפי מודל מונו, קצב הגידול μ יעלה.

ניצולת התוצר על התאים היא נתון עבור סוג החיידק והתוצר המדוברים, ולא תשתנה. בגלל העליה בקצב הגידול, ולפי הנוסחה מסעיף 1, נצפה לקבל ערכי q_p גבוהים יותר.

שאלה מספר 8:

8.1 ארבעה פרמטרים לבקרה בגידול חיידקים:

1. טמפרטורת הגידול: שמירה על תנאים אופטימליים לגידול החיידק הספציפי.
2. pH: שמירה על תנאים אופטימליים לגידול החיידק הספציפי.
3. אחוז חמצן מומס: שמירה על אחוז מינימלי נדרש לנשימה של החיידקים המגודלים.
4. ריכוז סובסטרט: שמירה על ריכוז נדרש בהתאם לתנאי הגידול הנדרשים.

- 8.2
1. ניתן לחמם או לקרר את הפרמנטור כדי לחזור לטמפ' הנדרשת.
 2. לאורך תהליך הגידול, ערך ה pH צפוי לרדת, עקב הפרשת חומצות ע"י החיידקים. ניתן להעלות את ערכו בחזרה לרצוי, ע"י טטרציה מבוקרת בעזרת בסיס, לדוגמא NaOH.
 3. במידה וריכוז החמצן המומס ירד מתחת לערך הנדרש, ניתן להעלות את ספיקת האוויר, ו/או את מהירות הבחישה, כל עוד לא גורמים ליצירה מוגזמת של קצף.
 4. במידה וריכוז הסובסטרט ירד, ניתן להוסיף עוד סובסטרט, או לעבור מתהליך מנתי לרציף.

- 8.3
- אם ריכוז הסובסטרט בזרם ההזנה קטן פי 5 מהרגיל, נקבל:
- ריכוז התאים: נוסחת הניצולת לתהליך זה היא $Y_{x/s} = x_2 / (S_1 - S_2)$
- מאחר והניצולת לא משתנה, אם S_1 קטן, אז גם X_2 קטן.
- קצב הייצור הנפחי יירד גם הוא, בגלל ש X יורד D_i לא משתנה (לפי $Pr_{Cells} = D \cdot X$)
- קצב הגידול הספציפי לא ישתנה, מאחר ולפי מודל מונו, הוא תלוי בריכוז הסובסטרט בפרמנטור, ולא בהזנה.
- ספיקת ההזנה לא תשתנה, מאחר ונתון שרק ריכוז הסובסטרט בה משתנה.

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה (שאלון 92421) ,
מועד: חורף תש"ף , שהתקיימה בתאריך: 23/2/20 בעריכת: ד"ר מיה קדמי, אנג' יואב מירום
המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

שאלה מספר 9

- 9.1** תא זה נקרא נבג / ספורה. נבגים נוצרים עקב הרעה בתנאי סביבה הנובעים ממחסור בנוטריינטים כמו חוסר במקורות פחמן חנקן וזרחן, או כתוצאה משינויים אחרים בתנאי סביבה הגורמים למצב של סטרס.
- 9.2** הבדלים בהרכב הכימי בין נבג לתא וגטטיבי: תכולת המים בנבג היא נמוכה 10-25% בהשוואה לתא וגטטיבי המכיל 80-90%. הנבג מכיל חלבוני תשמורת SAP's וכן מלח סידן של חומצה דיפיקולינית, שלא נמצאים בתא וגטטיבי.
- 9.3** בשלבים הראשונים של יצירת הנבג עד לקבלת נבג מוקדם (כרומוזום העטוף בשתי ממברנות) התהליך הפוך, כך שהוא יכול להפוך חזרה לתא המקורי אם תנאי הסביבה ישתפרו.