

** قسم: النبات الزراعى**

 **جامعة بنها فرع الميكروبيولوجيا الزراعية كلية الزراعة**

**امتحان الفصل الدراسى الثانى 2014/2015**

**نموذج اجابة أسئلة مادة:** الميكروبيولوجيا التطبيقية

**الفرقة: الرابعة (برنامج التكنولوجيا الحيوية تخصص كيمياء)**

**كود المقرر : ن ب ت 444**

**نموذج إجابة السؤال الأول: (20 درجة)**

1. يعد الكلور والأوزون من المواد الكيميائية التى تلعب دورا هاما فى تطهير وتنقية مياه الشرب. قارن بين تأثير كل منهما. (10درجات)

**يوضح الطالب ان التطهير هى عملية بغرض إزالة الميكروبات بواسطة مجموعة من المواد مثل الكلور او الأوزون ويقوم الطالب بشرح تأثير كل منهما فيوضح ان عند إضافة الكلور الى ماء نظيف كيميائيا فإنه يكون محلولا من حمض الهيبوكلورس كما فى المعادلة التالية**

**Cl2 + H2O -----------> H Cl + HO Cl (Hypochlorous acid)**

 **HO Cl --------------> H Cl + O ( Nascent oxygen)**

**وتتوقف قوة الأكسدة للكلور وقدرته على التطهير على تكون حامض الهيبوكلورس وقد يتأين الى الهيدروجين وايون الهيبوكلوريت ، . ولتنقية المياه تضاف كمية كافية من الكلور تكفى لتنقية المياه ويتبقى بعد 20 دقيقة من إضافته 0,2 الى 2,0 مجم /لتر ( جزء /مليون) على الاقل من الكلور الفعال المتخلف أو المتبقى**

**كما يوضح ان الاوزون من المواد الكيميائية الهامة فى التطهير حيث انها غير ثابتة وتتحلل الى الماء والاكسجين الذرى الذى يفتك بالميكروبات. ويحدد الطالب لماذا يفضل الكلور عن الاوزوز وماهى عيوب الاوزون فى تطهير مياه الشرب فى محطات التنقية**

ب- اذكر الشروط الواجب توافرها في كاشفات التلوث الحيوى، مع ذكر اثنين فقط منها والتى يمكن استخدامهما كمؤشرات حيوية. (5 درجات)

يذكر الطالب الشروط وهى:

1. **أن موطنها هو قولون الانسان والحيوان.**
2. **تلازم وجودها مع الميكروبات الممرضة.**
3. **العلاقة النسبية بين أعدادها والتلوث المائي بالميكروبات.**
4. **قدرتها على العيش مدة أطول من الميكروبات الممرضة في الماء.**
5. **غير ضارة للإنسان وسهولة تداولها.**

 **6- سهولة الكشف عنها معملياً**

**ثم يختار اثنين من الدلائل الحيوية من بين *E*. *coli* , fecal streptococci, *Clostridium perfringens* او المؤشرات الفيروسية**  **كدليل حيوى واهم الفروق بينهما والتي تميزه عن الاخر**

ج- يعتبر كل من COD و BOD من أهم الاختبارات في وحدات معالجة مياه الصرف الصحى. حلل تلك العبارة من خلال مادرست. (5 درجات)

**الأكسجين الكيمائى المتطلب (الممتص) (C.O.D) هو مقياس لتركيز المادة العضوية التى يمكن أكسدتها كيميائيا فى مياه المجارى ويستخدم فى قياسه مواد مؤكسدة مثل ثانى كرومات البوتاسيوم. ومميزاته أنه سريع ويفيد فى حالة تعذر إجراء اختبار BOD نتيجة وجود عناصر سامة أو مثبطات للنشاط الميكروبى. اما عيوبه أنه لا يفرق بين المادة العضوية القابلة للتحلل وغير قابلة للتحلل.**

 **اما الأكسجين الحيوى المتطلب (B.O.D5) فهو اختبار للتعرف على تركيز المادة العضوية القابلة للتحلل البيولوجى ويعبر عن كمية الأكسجين اللازمة لنشاط البكتريا فى أكسدة المواد العضوية الموجودة فى عينة المخلفات السائلة وهو تفاعل ميكروبى هوائى . ويتم عمل تخفيفات لمياه الصرف بماء مشبع بالأكسجين فى زجاجات خاصة يضاف إليها البكتيريا. تحضر أيضا زجاجة تحكم معبئة بماء وبكتيريا فقط. يتم وضع الزجاجات فى حضانة لمدة خمسة أيام على درجة 20ºم، وبذلك تسمى العملية باختبارات الخمسة أيام للأكسجين الحيوى الممتص (BOD5) ويستخدم الفرق بين تركيز الأكسجين فى زجاجة التحكم والأكسجين المتبقي فى الزجاجات الأخرى بعد خمسة أيام فى حساب الأكسجين الحيوى الممتص مقدرا بـ مجم/لتر. وترجع أهمية هذا الاختبار في تخطيط محطات معالجة مياه الصرف الصحى ومدى كفاءتها. وكذلك يفيد فى حالة تصريف مياه المعالجة فى الأنهار حيث لابد من التحكم فى درجة معالجة المخلفات قبل تصريفها فى الأنهار**

**نموذج إجابة السؤال الثانى: (20 درجة)**

1. قارن بين طريقة الحمأة المنشطة وطريقة المرشحات الحيوية في المعالجة البيولوجية لمياه الصرف الصحى داخل وحدات المعالجة. (10درجات)

 **المرشحات الحيوية (مرشحات الزلط) تتكون من أحواض ذات جدران وأرضية صماء مملوءة بالزلط أو الحصى الصلب، يوجد فى قاع الحوض شبكة مواسير المفتوحة لصرف المياه باستمرار، ويوجد فوق طبقة الزلط مجموعة من الرشاشات لرش المخلفات السائلة على سطح الزلط حتى تساعدها على التخلل. بإضافة المخلفات السائلة تتخلل المياه ببطء على سطح الزلط مما يتيح الفرصة للمواد العضوية الموجودة فيها أن تلتصق على سطح الزلط مكونة غشاء رقيق من مواد هلامية يحتوى على الملايين من الكائنات الحية الدقيقة وهذا هو العامل الفعال فى المعالجة، حيث تقوم البكتريا بامتصاص الأكسجين الموجود فى المسام لتؤكسد المواد العضوية وتحللها. وتستمر هذه العملية إلى أن تفقد المواد قدرتها على الالتصاق فتنسلخ الطبقة الهلامية لتخرج مع الماء وهذا ما يسمى بعملية التفريغ.**

**أما المعالجة بالحمأه المنشطة فهى عبارة عن رواسب مخلفات مجارى حديثة المعالجة غنية بالكائنات الدقيقة ، حيث تؤخذ كميات من الحمأة المترسبة من أحواض الترسيب الثانوية فيتم تهويتها جيدا لمدة 6 ساعات وذلك لتنشيط البكتريا التى توجد فى هذه الرواسب وسميت هذه الرواسب بالحمأه المنشطة وتضاف كبادئ في أحواض المعالجة البيولوجية فتساعد تحت الظروف الهوائية على سرعة تحلل ومعدنة المواد العضوية الموجودة بمياه المخلفات.**

**وتتم بتهوية المخلفات وتقليبها بعد خلطها بنسبة معينة من الحمأه المنشطة. فتتخثر المواد العالقة وتتجميع فى حبيبات أكبر يسهل ترسيبها فى حوض الترسيب النهـائى فى وقت قصير، والتقليب يساعد على إمداد أحواض التهوية بالأكسجين الذائب. كما يساعد فى استمرار التلامس بين الميكروبات والأكسجين والمواد العضوية. ويمنع المواد العالقة من الترسيب بدون تحلل. وتستغرق وقتا أقل (4-8 ساعات) بعدها يضخ الخليط إلى أحواض الترسيب.كما ان السائل الناتج لا يحتاج إلى تخفيف شديد .**

1. يمكن فهم كلمة التخمر بأكثر من معنى في مجال الميكروبيولوجى، فسر تلك العبارة مع توضيح الفارق بين Primary metabolites و Secondary metabolites. (5 درجات)

**التخمر قد يقصد به نوع من التمثيل الغذائي والذى يتم فيه انتاج الطاقة في ظروف لاهوائية (أي أن مستقبل الالكترونات فيه هو مركب عضوى). وهذا المعنى دائما يرتبط بفسيولوجيا البكتريا. اوالتخمر قد يقصد به الدور الذى تلعبه الميكروبات في انتاج الغذاء واعطائه النكهة دون ان تتواجد فيه بصورة كبيرة، مثل الجبن والالبان المتخمرة، وهو مايعرف بالأغذية المتخمرة. وقد يقصد به أي عملية يتم فيها تنمية الميكروبات (سواء في الظروف الهوائية او اللاهوائية) بصورة كبيرة لانتاج الميكروبات او احد نواتجها، وهو مايعرف بالميكروبيولوجيا الصناعية.**

**Primary metabolites هى مدى واسعا من المواد الكيموحيوية، التي تنتج في وسط او نهاية مسارات التمثيل الغذائي. وترتبط تلك المنتجات الأولية بمرحلة نمو الميكروب او الطور اللوغاريتمى، حيث يمكن اعتبار معظمها مواد هامة لنمو وتكوين خلايا وتراكيب جديدة مثال ذلك الجزيئات الكبيرة الحجم الأساسية مثل البروتينات والأحماض النووية والدهون والاحماض العضوية والفيتامينات والانزيمات ،وعندما يتعرض نمو الكائنات الحية الدقيقة لظروف ما تؤدي إلي تثبيطها مثل نقص العناصر الغذائية فإن النواتج الأولية تتراكم في البيئة. وبعض هذه النواتج الأولية الناتجة من التمثيل الغذائى ذات أهمية اقتصادية بالغة للإنسان مثل حمض الستريك وكحول الإيثايل .**

**Secondary metabolism في مرحلة الثبات تتحول المواد المتراكمة عن التمثيل الغذائى الأولى والمركبات الوسطية إلي منتجات أخرى مختلفة. ولاترتبط تلك المواد بنمو الميكروب ويطلق عليها اسم النواتج الثانوية . وهى ليست ضرورية لانقسام الخلايا وتكوين نموات جديدة ولا حتي للتكاثر المعتاد ولكنها تتكون بعد فترة من نمو الكائنات الحية الدقيقة مثل المضادات الحيوية والإنزيمات إلا أن بعضها شديد الخطورة مثل التوكسينات.**

ج- تسبب الميكروبات العديد من الفساد للأغذية المعلبة . فسر المقصود بفساد الأغذية ثم قارن بين ثلاثة أنواع من فساد الأغذية المعلبة. (5 درجات)

**فساد الغذاء هو أي تغير غير طبيعي في اللون او الطعم او الرائحة للمادة الغذائية نتيجة تحللها ويحدث بسبب النشاطات الإنزيمية أو بفعل ميكروبي او بكليهما. ويحدث الفساد للأغذية المعلبة قليلة ومتوسطة الحموضة نتيجة لنشاط أنواع مختلفة من الكائنات الدقيقة**

**وينقسم فساد الاغذية المعلبة ميكروبيا إلى نوعين أساسين : فساد بسبب الكائنات المحبة للحرارة و له عده انواع : أولا :الفساد الحمضي ويحدث في الأطعمة المعلبة كالخضروات، نتيجة انتاج حامض وليس غاز. وفى الأغذية منخفضة الحموضة (أي pH لها أعلى من 5.3) تنمو الجراثيم مثل *Bacillus* *stearothermophillus* بعد المعالجة الحرارية غير الكافية، أما في الأغذية الحامضية (4.5 – 3.7) عادة تتعرض لبكتريا *Bacillus* *coagulans* . وهذا النوع من الفساد لا يتسبب بإنتفاخ للعلبة وقد لا يظهر أي دليل على تلف الطعام إلا بعد فتحها وتغير رائحتها وطعم الغذاء الموجود بها.**

**ثانيا :الفساد الغازى ويحدث في الأغذية متوسطة الحموضة ( 5.3 – 4.5) ويؤدي إلى انتفاخ العلبة و يحدث بسبب نشاط بكتريا محبة للحرارة لاهوائية مثل *Clostridium* *thermosaccharolyticum* نتيجة انتاج الميكروبات لH2 , CO2 وتصبح الأغذية حامضة. ويقسم الفساد الغازي للعلب الى انواع هي:**

**ا-الانتفاخ المستتر شكل العلبة طبيعي ولكن عند طرق العلبة على سطح صلب يتحدب الغطاء للخارج**

**ب-الانتفاخ اللولبي احد طرفي العلبة يكون محدبا الى الخارج وعند الضغط عليه يزول ويتحدب الطرف الثاني**

**ج-الانتفاخ اللين يكون أحد طرفي العلبة محدبا وعند الضغط عليه يزول ثم يعود مجددا**

**د- الانتفاخ الصلب يكون فيها طرفي العلبة محدبين ولا يزول بالضغط وقد تنفجر عن الضغط عليها بقوة**

**ثالثا: الفساد الكبريتيدي لا يسبب انتفاخ العلبة ويحدث بسبب *Clostridium* *nigricans* وتنتج غاز H2S ويعطي لون اسود ورائحة "البيض الفاسد". وهو يحدث غالبا في الأغذية البروتينية.**

 **نموذج إجابة السؤال الثالث: (20 درجة) عشرة لكل نقطة**

**أجب عن اثنين فقط من الآتى:**

1. قارن بين السموم الداخلية والسموم الخارجية مع شرح التسمم العنقودى.

**السموم الخارجية Exotoxinsهى عبارة عن معقد من البروتينات ينتج بواسطة البكتريا خاصة الموجبة لجرام خارج الخلية وهذه المركبات تنتج طبيعيا اثناء عملية التمثيل الغذائى لخلية الميكروب. كما فى التسمم الغذائى العنقودى والتسمم الغذائى البوتشولينى. وهى غير مقاومة للحرارة وتفقد سميتها بالتسخين لدرجة 60-100˚م لمدة 30 دقيقة. كما تفقد سميتها بالتخزين لفترات طويلة ويتحول التوكسين نتيجة المعاملة بالفورمالدهيد من مادة سامة الى مادة غير سامة تسمى توكسيد Toxoid**

**السموم الداخلية Endotoxins هى عبارة عن معقد من البروتينات وعديدات التسكر مع الدهون Lipopolysaccarides، حيث تمثل الطبقة الخارجية في تركيب الجدار الخلوى في البكتريا السالبة لجرام*.* ولاتخرج الى الوسط المحيط الا بعد موت البكتريا والسموم الداخلية أكثر مقاومة للحرارة من السموم الخارجية كما أن السموم الداخلية على عكس السموم الخارجية لاتكون توكسيدات ومن الصعب التعادل مع مضادات التوكسين.**

**التسمم العنقودى يتسبب هذا التسمم عن توكسين خارجى معوى تفرزه سلالات من بكتريا *Staphylococcus aureus*. وهو ميكروب موجب لصبغة جرام كروى فى عناقيد غير متجرثم اختياري للهواء يفرز صبغات صفراء اللون موجب للكوأجيولاز.هذا التسمم شائع الحدوث خاصة فى الأفراح. تظهر الأعراض حسب حساسية الشخص المصاب بعد 1-6 ساعات فى صورة اضطرابات معوية مصحوبة بالمغص والقيئ والإسهال.الميكروب المسبب للتسمم غير متجرثم يقتل بسهولة عند درجة حرارة اقل من 100 5 م ، إلا أن التوكسين شديد المقاومة للحرارة ولا يتلف بالغليان.**

1. يمكن استخدام ثلاثة طرق في تنمية الميكروبات في الصناعات الميكروبية. اشرح ذلك.

**يشرح الطالب ثلاثة أنواع من التنمية وهى طريقة التنمية batch وطريقة fed batch والطريقة المستمرة حيث يوضح الفرق بين كل طريقة من حيث طريقة اعداد البادئ وظروف التنمية والتحكم فيها وعلاقة كل طريقة بمراحل نمو الميكروب وطريقة إضافة البيئة وسحب الناتج من كل طريقة**

1. يمكن للميكروبات انتاج كحول الايثايل تجاريا وضح ذلك مع تفسير الميكانيكية والميكروب المستخدم والمخلف الذى يمكن استخدامه والظروف التي يمكن تهيئتها للميكروب لانتاج اقصى كمية من الكحول.

**يقوم الطالب بشرح انتاج كحول الايثانول من السلالة المستخدمة مثل *Saccharomyces* *cerevisiae* ويشرح ميكانيكية تحويل الميكروب للجلوكوز الى كحول الايثانول وان المخلف المستخدم هو المولاس وكيفية تعديل نسبة السكر الى نسبة 10 – 15% ةالتنمية على pH 4.5 تحت الظروف اللاهوائية.**

1. وضح الى أى مجموعة ينتمي البنسلين وطريقة تأثيره على البكتريا.

**والبنسيلينات Penicillins هي مجموعة من المركبات ذات تركيب متشابه وان كانت ذات أنشطة مختلفة ومن الناحية الكيميائية فإن البنسلينات تتبع مجموعة البيتا لاكتام B-lactam antibiotics ولجميع البنسلينات نواة مشتركة Common core وهى حلقة B- lactam thiazolidine ring ولها سلاسل جانبية مختلفة تعطى لكل نوع من أنواع البنسلين خواصه ومميزاته. حلقة تحتوي علي الكبريت و النيتروجين متصلة بحلقة البيتالاكتام التي تحمل مجموعة أمينية ثانوية. يمنع البنسلين تكون الجدار الخلوي الصلب للبكتريا التي في طور النمو والتكوين بإيقاف ارتباط حامض الأسيتايل ميوراميك مع أسيتايل جلوكوز أمين وهى المكونات الأساسية الداخلة في تكوين طبقة الميورين الخاصة بجدار خلية البكتريا ولا يوجد هذا التركيب إلا في الكائنات بدائية النواة كالبكتريا ويعنى هذا أن البنسلين يؤثر فقط على خلايا البكتريا.**

**انتهت ،،،،،،،،،،،،،،،،،،،،**