برنامج المسار الوظيفي للعاملين بقطاع مياه الشرب والصرف الصحي

دليل المتدرب

البرنامج التدريبي لمهندس تشعيل مياه شرب – الدرجة الثالثة

التحاليل الكيميائية والبيولوجية

تم اعداد المادة بواسطة الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحي
قطاع تنمية الموارد البشرية ـ الادارة العامة لتخطيط المسار الوظيفي V1 1-7-2015

الفـــــهـــــرس

مقدمة ٣
المياه المستخدمة في الشرب ٣
ملحق رقم " ١ " دورية الفحوص ١٢
ملحق رقم " ٢ " الرقابة والتقارير ١٢
أنواع التحاليل التي تجري على المياه ١٤
الطرق المختلفة للتعبير عن التركيز وكيفية استخدامها ١٦
أ، التحليل الكيفي النوعي أو الوصفي qualitative ١٦
ب، التحليل الكمي quantitative ١٦
١– التحليل الكمي الحجمي ١٦
تصنيف طرق التحليل الكمي الحجمي (أنواع المعايرات) ١٧
المعايرة Titration ١٨
طرق التعبير عن التركيز: ٢٠
الشروط الأساسية اللازمة للتحليل و الأخطاء الشائعة ٢٥
الحسابات الكيميائية ومعالجة النتائج ٢٦
تخفيف المحاليل: ٢٧
٢- طرق التحليل الطيفي Spectroscopy ٢٧
عملية الامتصاص Absorption method: ٢٨
٣- طرق التحليل الجهدي Potentiometric ٣١
اختيار طرق التحليل ٣٣
طرق التشغيل القياسية: ٣٣
تحضير طرق التشغيل القياسية ٣٤
خصائص الأداء لطرق التحاليل الكيميائية (method validation) ٣٧
التحاليل الروتينية للماء ٤٥
١- الحـــرارة (Temperature): ٤٥
٢- اللون (Color)، SM- ٢١٢٠ ..... ٤٧
٣- الأس الأيدروجينى (pH) ٥١
٤- الكلور المتبقي الطريقة اللونية بإستخدام الـــ DPD SM:٤٥٠٠–Cl⁻ B ٥٤
٥- المواد الصلبة الكلية: SM–٢٥٤٠ ..... ٥٦
٦- التوصيل الكهربى Electrical Conductivity ٦٠
٧- العكارة (Turbidity):SM– ٢١٣٠ B ٦١
٨- العسر (Hardness): SM-٢٣٢٠ B ٦٣
٩- الكلوريدات (Chlorides).SM: ٤٥٠٠–CL⁻ B ٦٨

١٠- القلوية (Alkalinity):٢٣٢٠: SM ٧١
مقدمة: ٧٤
الخصائص العامة للبكتيريا: ٧٤
أشكال البكتيريا ٧٧
الظروف الملائمة لتكاثر البكتيريا ونموها ٧٨
تكاثر البكتيريا: ٨٠
التعقيم Sterilization ٨١
طرق فيزيائية: Physical method ٨١
طرق كيميائية Chemical method : ٨٢
طرق ميكانيكية Mechanical method: ٨٢
الأمراض التي يحملها الماء Waterborne Diseases ٨٢
التحاليل البكتريولوجية للمياه ٨٣
أدوات وأجهزة المعمل الميكروبيولوجي Equipment and Instruments ٨٧
جهاز الترشيح الغشائي ٩٧
المزارع البكتيرية ١٠٦
الأساسيات في مكونات البيئات الغذائية: ١٠٦
العوامل التي تؤثر على البيئات الغذائية وتأثيرها على الخصائص المشجعة للنمو ١٠٦
البيئات الغذائية Culture media ١٠٧
العوامل التى تؤثر على النمو في البيئات الغذائية ١٠٨
عبوات المزارع البيئية Culture Media ١٠٩
تعقيم البيئات ١١٠
أستعمال الآجار والمرق Agar and Broths ١١١
تخزين المزارع البيئة Storage of media ١١٢
التعقيم Sterilization ١١٣
خصائص البيئات Media Specifications ١١٤
مياه التخفيف Dilution Water ١١٤
حفظ وتخزين العينات Preservation and Storage ١١٥
احتياطات الأمان داخل المعمل البكتريولوجى: ١١٥
المعايير الميكروبيولوجية ١١٧

مقدمة

لا شك أن المياه هي أساس الحياة، وتسعى كل الدول إلى تنمية مواردها المائية والحفاظ عليها نقية صالحة للاستخدامات المختلفة، كما تقوم بتدوير المياه المستخدمة بمعالجتها، أو بتحليه المياه المالحة. وتتميز مصر بتنوع مواردها المائية حيث تشمل:

(١) نهر النيل وروافده وفرعيه والرياحات والترع والجنَّابيات.

(٢) البحرين الأبيض المتوسط والأحمر والبحيرات والمصارف والبرك.

(٣) خزانات المياه الجوفية.

وإذا احتوت المياه على مواد غريبة اعتبرت مياه ملوثة. ومن هذه الملوثات المواد غير العضوية الذائبة والمعلقة والمواد العضوية والبكتريا والطحالب والطفيليات. وتتكون هذه الملوثات نتيجة للنشاط الزراعي والنشاط الصناعي والنشاط الآدمي. وبذلك فإن نفايات المصانع وبقايا المبيدات الحشرية ومخصبات ومحسنات التربة والمخلفات الآدمية وعوادم و وسائل النقل تعتبر من المصادر الرئيسية لتلوث المياه.

والجدير بالذكر أن النفايات الصناعية تحتوى على العديد من السموم الذائبة، عضوية وغير عضوية، مما يصعب معه معالجة المياه الحاملة لها معالجة ينتج عنها ماء صالح للآستخدام الآدمي الآمن.

المياه المستخدمة في الشرب

أصدرت اللجنة العليا للمياه بجلسة ١٩٧٥/١/٧ المواصفات والمعايير الواجب توافرها في مياه الشرب، ثم صدر مؤخراً القرار ١٠٨ لسنة ١٩٩٥ والذى تضمن المواصفات والمعايير الواجب توافرها في مياه الشرب وتم تعديله مؤخراً بالقرار ٤٥٨ لسنة ٢٠٠٧. جدول (٨)

جدول رقم (٨) المواصفات والمعايير الواجب توافرها في المياه الصالحة للشرب طبقاً للقرار ٤٥٨ لسنة ٢٠٠٧

أولا: الخواص الطبيعية:

م	الخاصية	الحد الأقصى المسموح به
١	اللون	معدوم
٢	الطعم	مقبول
٣	الرائحة	معدومه
٤	العكارة	١ وحده (NTU)
٥	الرقم الهيدروجينى	٦.٥ – ٨.٥

ثانيا: مواد غير عضوية لها تأثير على الاستساغة والاستخدامات المنزلية:

م	الخاصية	الحد الأقصى المسموح به (ملجم / لتر)
١	الأملاح الذائبة عند ١٢٠° م	١٠٠٠
٢	عسركلى as $CaCO_3$	٥٠٠
٣	عسر كالسيوم as $CaCO_3$	٣٥٠
٤	عسر ماغنسيوم as $CaCO_3$	١٥٠
٥	كبريتات SO_4	٢٥٠
٦	كلوريدات Cl	٢٥٠
٧	حديد Fe	٠.٣

تابع المواد غير عضوية لها تأثير على الاستساغة والاستخدامات المنزلية

٨	منجنيز	Mn	٠.٤
٩	نحاس	Cu	٢
١٠	الزنك	Zn	٣
١١	الصوديوم	Na	٢٠٠
١٢	الألومنيوم	Al	٠.٢

ثالثا: المواد الكيميائية ذات التأثير على الصحة العامة

(أ) مواد غير عضوية:

م	الخاصية		الحد الأقصى المسموح به (ملجم / لتر)
١	الرصاص	Pb	٠.٠١
٢	الزئبق	Hg	٠.٠٠١
٣	الزرنيخ	As	٠.٠١
٤	السيانيد	CN	٠.٠٥
٥	الكادميوم	Cd	٠.٠٠٣
٦	السيلينيوم	Se	٠.٠١
٧	الكروميوم	Cr	٠.٠٥

تابع مواد غير عضوية ذات التأثير على الصحة العامة

٨	الأمونيا	as (NH_3)	٠.٥
٩	النترات	as (NO_3)	٤٥
١٠	النيتريت	as (NO_2)	٠.٢
١١	الفلوريدات	F	٠.٨
١٢	الأنتيمون	Sb	٠.٠٢
١٣	الباريوم	Ba	٠.٧
١٤	البورون	B	٠.٥
١٥	النيكل	Ni	٠.٠٢
١٦	الموليبدينيوم	Mo	٠.٠٧

(ب) المواد العضوية:

م	الخاصية	الحد الأقصى المسموح به (ملجم/لتر)
١	الاكلور Alachlor	٠.٠٢
٢	الديكارب Aldicarb	٠.٠١
٣	ألدرين، دأي إلدرين Aldrin and dieldrin	٠.٠٠٠٠٣
٤	أترازين Atrazine	٠.٠٠٢
٥	بنتازون Bentazone	٠.٠٣
٦	كاربوفيوران Carbofuran	٠.٠٠٧

تابع المواد العضوية ذات التأثير على الصحة العامة

م	الخاصية	الحد الأقصى المسموح به (ملجم/لتر)
٧	كلوردان Chlordane	٠.٠٠٠٢
٨	كلوروتوليورون Chlorotoluron	٠.٠٣
٩	د.د.ت D.D.T	٠.٠٠١
١٠	٢,١- دأي بروموا ٣- كلورو بروبان (DBCP) ١,٢ Dibromo ٣- chloropropane	٠.٠٠١
١١	٤,٢ د (٢,٤ D) ٢,٤- Dichlorophenoxyacetic acid	٠.٠٣
١٢	٢,١ دأي كلورو بروبان (١,٢-DCP) ١,٢Dichloropropa	٠.٠٢
١٣	٣,١ دأي كلورو بروبين (١,٣-DCP) ١,٣، Dichloropropene	٠.٠٢
١٤	هكسا كلورو بنزين Hexachlorobenzene	٠.٠٠١
١٥	أيزو بروتورون Isoproturon	٠.٠٠٩
١٦	لندان Lindane	٠.٠٠٢
١٧	ميثيل كلورو فينوكسى اسيتيك اسيد (MCPA) Methylchlorophenoxyacetic acid	٠.٠٠٢
١٨	ميثوكسى كلور Methoxychlor	٠.٠٢
١٩	ميتولا كلور Metolachlor	٠.٠١
٢٠	مولينات Molinate	٠.٠٠٦
٢١	بنديميثالين Pendimethalin	٠.٠٢
٢٢	بنتاكلورو فينول Pentachlorophenol	٠.٠٠٩
٢٣	بيرمثرين Permethrin	٠.٠٢
٢٤	بروبانيل Propanil	٠.٠٢
٢٥	بيريبروكسيفين Pyriproxyfen	٠.٣

٢٦	سيمازين Simazine	٠.٠٠٢
٢٧	ترأي فلورالين Trifluralin	٠.٠٢
٢٨	٤,٢ د.ب DB-٢,٤	٠.٠٩
٢٩	٤,٢ دأي كلورو بروب Dichloroprop -٢,٤	٠.١
٣٠	فينو بروب Fenoprop	٠.٠٠٩
٣١	ميكوبروب Mecoprop	٠.٠١
٣٢	٢,٤,٥، ت T-٢,٤,٥	٠.٠٠٩
٣٣	مونو كلور أمين Monochloramine	٣
٣٤	كلور Chlorine	٥
٣٥	برومات Bromate	٠.٠١
٣٦	كلوريت Chlorite	٠.٧
٣٧	٢,٤,٦، ترأي كلورو فينول Trichlorophenol -٢,٤,٦	٠.٢
٣٨	ترأي هالو ميثان Trihalomethanes	٠.١
٣٩	دأي كلورو اسيتات Dichloroacetate	٠.٠٥
٤٠	ترأي كلورو اسيتات Trichloroacetate	٠.١
٤١	ترأي كلورو أسيتالدهيد Trichloroacetaldehyde	٠.٠١
٤٢	دأي كلورو اسيتونيتريل Dichloroacetonitrile	٠.٠٢
٤٣	دأي برمو اسيتونيتريل Dibromoacetonitrile	٠.٠٧
٤٤	ترأي كلورو اسيتونيتريل Trichloroacetonitrile	٠.٠٠١
٤٥	كربون تترا كلوريد Carbon tetrachloride	٠.٠٠٤
٤٦	دأي كلورو ميثان Dichloromethane	٠.٠٢

٤٧	٢,١ دأي كلورو إيثان ١,٢ Dichloroethane	٠.٠٣
٤٨	١,١,١ ترأي كلورو إيثان ١,١,١ Trichloroethane	٠.٠٧
٤٩	كلوريد الفينيل Vinyl Chloride	٠.٠٠٠٣
٥٠	١,١ دأي كلورو إيثين ١,١ Dichloroethene	٠.٠٣
٥١	٢,١ دأي كلورو إيثين ١,٢ Dichloroethene	٠.٠٥
٥٢	تترا كلورو إيثين Tetrachloroethene	٠.٠٤
٥٣	تولوين Toluene	٠.٧
٥٤	بنزين Benzene	٠.٠١
٥٥	بنزو (أ) بيرين Benzo[a]pyrene	٠.٠٠٠٧
٥٦	مونو كلورو بنزين Monochlorobenzene	٠.٣
٥٧	٢,١ دأي كلورو بنزين ١,٢ Dichlorobenzene	١
٥٨	١,٤ دأي كلورو بنزين ١,٤ Dichlorobenzene	٠.٣
٥٩	ترأي كلورو البنزين الكلى Trichlorobenzenes (Total)	٠.٠٢
٦٠	دأي (٢-إيثيل هكسيل) أديبات (٢-ethylehexyle) Di adipate	٠.٠٨
٦١	دأي (٢-إيثيل هكسيل) فثالات (٢-ethylehexyle) Di phthalate	٠.٠٠٨
٦٢	أكريلاميد crylamide	٠.٠٠٠٥
٦٣	إيبي كلورو هيدرين Epichlorohydrin	٠.٠٠٠٤
٦٤	هكسا كلورو بيوتادايين Hexachlorobutadiene	٠.٠٠٠٦
٦٥	اديتيك اسيد (EDTA) Edetic acid	٠.٦
٦٦	ترأي اسيتك نيتريل Triacetic Nitril	٠.٢
٦٧	إندرين Endrin	٠.٠٠٠٦

٦٨	كلورات Chlorate	٠.٧
٦٩	بروموفورم Bromoform	٠.١
٧٠	كلوروفورم Chloroform	٠.٣
٧١	كلورال هيدرات Chloralhydrate	٠.٠١
٧٢	داي ميثوات Dimethoate	٠.٠٠٦
٧٣	فورمالدهايد Formaldehyde	٠.٩
٧٤	سيانوجين كلوريد Cyanogen Chloride	٠.٠٠٧
٧٥	ترأي بيوتيل اكسيد القصديروز Tributyltin Oxide	٠.٠٠٢
٧٦	فينول Phenol	٠.٠٠٢
٧٧	دأي وترأي كلورامين Di-and Trichloramine	٠.٠٠٥
٧٨	زايلين Xylenes	٠.٥
٧٩	إيثيل بنزين Ethylbenzene	٠.٣
٨٠	ستيرين Styrene	٠.٠٢
٨١	برومو دأي كلورو ميثان Bromodichloromethane	٠.٠٦
٨٢	ترأي كلورو إيثين Trichloroethene	٠.٠٢

رابعا: المعايير الميكروبيولوجية:

م	نوع الفحص	طريقة القياس المتتبعة	الحد الأقصى المسموح به
أ	العد الكلى للبكتيريا	طريقة ال صب بالأطباق Poured plate method	• لا يزيد عن ٥٠ خلية / ١ سم٣ عند درجة ٣٧ م لمدة ٢٤ ساعة • لا يزيد عن ٥٠ خلية / ١ سم٣ عند درجة ٢٢ م لمدة ٤٨ ساعة
ب	أدلة التلوث بكتريا القولون الكليةTotal Coli form	MF أو MPN	• يجب أن تكون ٩٥ % من العينات التي يتم فحصها خلال العام خالية تماما من بكتيريا القولون Total Coli form في ١٠٠ سم٣ من العينة • كما يجب أن لا تحتوى أي عينه من العينات على أكثر من ٢ خليه /١٠٠سم٣ على أن لا يتكرر ذللك في عينات متتالية من نفس المصدر
	بكتيريا القولون البرازية (باسيل القولون النموذجي)		• يجب ان تكون جميع العينات خالية من باسيل القولون النموذجى
	البكتيريا السبحية البرازية		• يجب ان تكون جميع العينات خالية من الميكروب السبحى البرازى

تابع المعايير الميكروبيولوجية

ج	الفحص البيولوجى • عند فحص عينات المياه للطحالب • عند فحص المياه ميكروسكوبيا		• يجب ألا تزيد نسبة الميكروسستين عن ا ميكروجرام / لتر ويتم إجراء هذا التحليل في حالة ظهور نمو مفاجئ للطحالب الخضراء المزرقه Bluegreen algae أو وجود أعداد عالية منها. • يجب ان تكون خالية تماما من البروتوزوا وجميع أطوار الديدان المسببة للأمراض

خامسا: المواد المشعة:

م	نوع الفحص	الحد الأقصى المسموح به
أ	مشتقات من فصيلة ألفا (α)	٠.١ بيكو كيوري / لتر
ب	مشتقات من فصيلة ألفا (β)	١.٠ بيكو كيوري / لتر

ملحق رقم " ١ " دورية الفحوص

١. تجري الفحوص الخاصة بالخواص الطبيعية، المواد الغير عضويه ذات التأثير على الاستساغة والاستخدامات المنزلية والمعايير الميكروبيولوجيه والبيولوجيه والأمونيا، النيتريت، النترات روتينيا لجميع العينات.

٢. تجري الفحوص الخاصه بالمواد الكيميائيه ذات التأثير على الصحه العامه على النحو التالى:

أ – مره كل شهر على الأقل لكل مورد مائى للمعادن الثقيله.

ب –المركبات العضويه الأخري لجميع مصادر المياه مره كل ٦ شهور على الأقل.

٣. تجري الفحوص الخاصه بالمواد المشعه لعينات ممثله لجميع مصادر المياه وتتولى إجراءها الهيئه العامه للطاقه الذريه ويتم إخطار وزارة الصحه والسكان بالنتيجه.

٤. تجري جميع الفحوص والتحاليل طبقا لطرق القياس الوارده في كتاب

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTE WATERS

على أن تتولى الإدارة المركزية للمعامل بوزارة الصحة والسكان اختيار أنسب الطرق الواردة في الكتاب المذكور ويتم طبعها وتوزيعها على جميع معامل المحافظات وتدريب العاملين بها وتوفير إمكانيات تطبيقها من أجهزة ومعدات وكيماويات مع تطبيق الرقابة على القياسات على مستوى جميع المعامل المشتركة بالمحافظات.

ملحق رقم " ٢ " الرقابة والتقارير

تتم عملية المراقبة من خلال مراقبة مياه الشرب من المصدر وحتى صنبور المستهلك وذلك بعمل الخطط اللازمة. وهناك مستويان من مراقبة نوعية المياه.

١. خطة مراقبة نوعية المياه التي يتم إعدادها بمعرفة القائمين على " إنتاج المياه:

أ – يجب على القائمين على إنتاج المياه اللازمة للشرب والاستخدام المنزلي الالتزام بعمل التقييم والرقابه على نظام التشغيل والمرافق وتسمح هذه الخطة للقائمين على تشغيل المحطة بضبط عمليات التشغيل بصوره مستمرة وإجراء التصحيح والتعديل اللازم عند الحاجه أولا بأول.

ب –يتم ذلك من خلال أخذ العينات اللازمة مع مراعاة مواقع الجمع، عدد ودورية العينات، مطابقاتها للمعايير وذلك لتقييم الأداء وتحديد المشاكل للعمل على إيجاد حل لها، تحليل النتائج والتأكد من معايرة الأجهزة المستخدمة والمحاليل في القياس وإتباع الطرق القياسية في التحليل وذلك للتأكد من دقة النتائج ومنطقيتها وعلى أن تشمل النقاط التالية:

١) مجموعه من الخطط وفقا لنظم إمدادات المياه المختلفه.

٢) وصف تفصيلى لمصدر المياه المستخدم وإحتمالية التغيرات التي قد تطرأ عليه.

٣) عمليات التدفق والقياسات والمراقبه والتحكم.

٤) تعريف المخاطر.

٥) إجراءات تصحيح السيطره وتوثيقها.

٦) برامج حماية مصدر المياه.

٧) خطه لإدارة الحوادث، الكوارث و الأزمات (خطة الطوارئ).

٨) وصف تفصيلى للمواد والكيماويات المستخدمه وطرق المعالجه المتبعه.

٩) كتيبات خاصه بالمعامل (تشمل الطرق القياسيه لإجراء التحاليل، المعايره للأجهزه، الصيانه والتشغيل.... الخ).

١٠) التسجيل والحفظ.

١١) مراجعة النتائج.

١٢) عمليات التحقق من الإصلاح ومراجعتها.

١٣) وصف وظيفي لفريق العمل المسئول عن تنفيذ ومتابعة خطط الآمان والمهام الموكله لكل عضو من أعضاء الفريق.

١٤) وصف وظيفي للمهام والمسئوليات التي يجب القيام بها لجميع العاملين بنظام الإمداد.

١٥) برامج التدريب التي يتم تنفيذها لجميع العاملين.

١٦) الإجراءات التي يجب إتخاذها وتنفيذها للقضاء على شكاوى المستهلكين.

٢. خطة مراقبة نوعية المياه التي يتم إجراءها من قبل الأجهزة الرقابية بوزارة الصحة والسكان من خلال:

أ - المرور الميدانى على عمليات مياه الشرب وكتابة تقارير عن المسح الصحي لها وذلك لمساعدة القائمين على عملية إنتاج المياه على تحسين الآداء والعمل على إنتاج نوعيه أفضل من المياه ولذلك يجب أن يشمل العناصر التاليه:-

١) التفصيلات الكافيه لتوفير المعلومات الضروريه عن الإحتياجات المطلوبه والإجراءات اللازمه والإحتياطات الواجب الإلتزام بها.

٢) الأسباب والمبررات التى أدت إلى ضرورة إجراء الإصلاح.

٣) توفير المعلومات الفنيه التي يمكن أخذها في الإعتبار في الحالات الطارئه.

٤) العمل على إتمام التقرير في أسرع وقت للتمكن من القيام بتنفيذ مابه.

ب -يجب أن يتضمن التقرير كحد أدنى على مايلى:-

١) تاريخ ووقت التفتيش (المرور).

٢) أسماء القائمين بالمرور.

٣) أسماء الأشخاص الموجودين أثناء عملية المرور.

٤) رسما توضيحيا لنظام إمداد المياه وصور عن الأجزاء الهامه إذا أمكن.

٥) قدرة النظام بدءا من المصدر، المعالجه، التوزيع.

٦) قائمه بالإحتياطات والمتطلبات.

٧) قائمه بكافة التحاليل والقياسات التي تم إجراءها أثناء المرور.

٨) التوصيات اللازمه حسب الأولويه مع بيان الفتره اللازمه للإنتهاء منها.

٩) أخذ عينات المياه اللازمة من المصادر المختلفة والمواقع المختلفة مع مراعاة دوريتها وإعدادها (من حيث التوزيع الجغرافي للسكان، طول الشبكات) وإرسالها للتحليل بالمعامل المركزية بالوزاره والمعامل التابعة بالمحافظات وتحليل النتائج والوقوف على المشاكل وإبداء الرأي في حلها وإخطار الجهات المعنية ومتابعة تنفيذ التوصيات حتى إزالة الأسباب المتعلقة بمشاكل نوعية المياه.

أنواع التحاليل التي تجري على المياه

هناك أربعة أنواع من التحاليل التي تجـــري علـــــى المـــياه هي: التحاليل الفيزيائية، والتحاليل الكيميائية، والتحاليل البيولوجية والمكروبيولوجية.

التحاليل الفيزيائية

- ✓ التوصيل الكهربي.
- ✓ درجة الحرارة.
- ✓ الرائحة، الطعم، اللون.
- ✓ العكارة

التحاليل الكيميائية

- ✓ المواد الصلبة.
- ✓ المواد العضوية.
- ✓ مركبات الكبريت غير العضوية (كبريتيد، كبريتات).
- ✓ مركبات النيتروجين غير العضوية (نترات، نيتريت، أمونيا، سيانيد).
- ✓ مركبات الفوسفور غير العضوية (فوسفات).
- ✓ مركبات الهالوجين غير العضوية (كلور، كلوريد، فلوريد).

التحاليل البيولوجية والإختبارات البكتريولوجية:

- ✓ القولونيات الكلية.
- ✓ القولونيات الغائطية.
- ✓ الفيروسات.
- ✓ الطفيليات الأولية.
- ✓ الطحالب والفطريات.

الطرق المختلفة للتعبير عن التركيز وكيفية استخدامها

مقدمة:

يعتبر التحليل الكيميائي من أكثر الفروع التطبيقية أهمية في الكيمياء لأنه يساعدنا على تحديد هوية العناصر والمركبات الموجودة وكذلك كمياتها. ويقسم التحليل الكيميائي إلى:

أ، التحليل الكيفي النوعي أو الوصفي qualitative

يساعد هذا النوع من التحليل على تحديد أنواع العناصر أو الأيونات الداخلة في تركيب المادة (العينة).

ب، التحليل الكمي quantitative

يساعد هذا النوع من التحليل على تحديد كمية كل عنصر من العناصر أو الأيونات الداخلة في تركيب المادة (العينة).

نبدأ عادة عند دراسة مركبٍ ما مجهول بالتحليل الكيفي النوعي لمعرفة العناصر في العينة ثم نعمل على تحديد كمية كل عنصر ونسبته المئوية في المركب المدروس اعتمادا على طرق التحليل وعلى قوانين التحليل. و تزداد صعوبة التحليل مع ازدياد عدد العناصر الموجودة في العينة نظرا لوجود تفاعلات متشابهة أو متقاربة تتداخل مع بعضها البعض أثناء عملية التحليل ولهذا يجب اختيار التفاعل المناسب كما يجب فصل أو إبعاد العناصر التي تتداخل تفاعلاتها قبل البدء بعملية التحليل.

يحتوى التحليل الكمي على الأفرع التالية:

١– التحليل الكمي الحجمي

يعتمد على قياس حجم المحلول المعلوم التركيز (القياسي) اللازم للتفاعل مع كمية أو حجم محدد من المادة المجهولة التركيز (العينة المراد دراستها).

فوائد التحليل الكيميائي:

أ، التعرف على المواد الكيميائية العضوية وغير العضوية.

ب، تحديد بنية المادة الكيميائية وصيغتها الكيميائية.

ج، تحديد جودة وصلاحية المواد المختلفة المستخدمة في صناعة الغذاء، الدواء، المواد الزراعية....الخ.

تصنيف طرق التحليل الكمي الحجمي (أنواع المعايرات)

يتم التصنيف بحسب التفاعلات الكيميائية الحاصلة أثناء عملية التحليل والمعايرة ما بين المادة المعلومة التركيز (المحلول القياسي) والمادة المدروسة (المحلول المجهول):

أ. معايرات التعادل (acid base titration):

(تفاعل الأحماض مع القلويات):

تتفاعل أيونات الهيدروجين الحمضية مع أيونات الهيدروكسيد القلوية

$$H^+ + OH^- \longrightarrow H_2O$$

ويرافق هذا التفاعلات تغيرات في قيمة الرقم الهيدروجيني pH.

ب. معايرات الأكسدة والإختزال (oxidation reduction titration):

(تفاعلات المواد المؤكسدة مع المختزلة):

يحصل فيها بعض الأنتقالات الإلكترونية بين المواد المتفاعلة تؤدي إلى تغيرات في أرقام الأكسدة ويرافق هذه المعايرات تغيرات في الجهد الكهربائي.

ج، معايرات الترسيب (settling titration):

تعتمد على التفاعلات الكيميائية التي يرافقها تشكيل رواسب قليلة الذوبان أثناء المعايرة وذلك ب إستخدام محلول قياسي مناسب (المرسب).

يشترط في التفاعل الكيميائي المستخدم في المعايرة أن يكون:

أ. سريعا ويفضل عدم إستخدام الحرارة أو المواد الحافزة في تسريعه.

ب. محدداً بمعادلة كيميائية موزونة وثابتة.

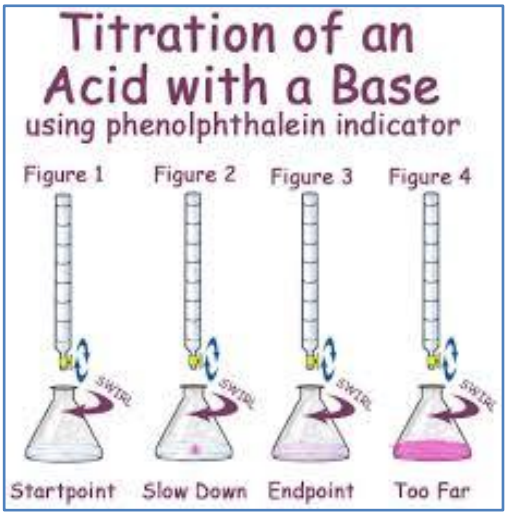
ج. تاما أي أن تكون قيمة ثابت الإتزان كبيرة $K > ١٠^٨$

د. واضحا في تغيير خواص المحلول عند نقطة التكافؤ (أو نقطة نهاية المعايرة) كتغيير في اللون أو تشكل راسب أو اختفاؤه.

هـ. إنتقائيا (نوعيا) أو مميزا أي أن تتحد المادة القياسية مع المادة المدروسة (المجهولة) وليس مع أي مادة أخري أو الشوائب الموجودة فيها.

المعايرة Titration

المعايرة هي العملية التي يتم فيها تحديد الحجم المستهلك من المحلول القياسي للوصول إلى التفاعل التام مع حجم محدد من المحلول المجهول التركيــز ويتــم ذلك بعدة طرق مختلفة:



أ. المعايرة المباشرة Direct titration:

يتفاعل المحلول القياسي بشكل مباشر مع المحلول المجهول.

ب. المعايرة غير المباشرة Indirect titration

تتفاعل العينة مع مادة مناسبة لتعطي مادة مكافئة للعينة المجهولة والتي يتم معايرتها بمحلول قياسي.

ج. المعايرة الخلفية Back titration:

نأخذ حجم محدد بدقة من المحلول القياسي الأول ونفاعله مع حجم محدد من المادة المجهولة ومن ثم نعاير الكمية المتبقية من المحلول القياسي الأول بمحلول قياسي ثانٍ آخر. وبهذه الطريقة نستطيع معرفة الحجم المستهلك من المحلول القياسي الأول المتفاعل مع المادة المجهولة وبالتالي نتمكن من تحديد تركيز المادة المجهولــة (العينة).

و مهما تكن الطريقة المستخدمة فإنها تتوقف على المذيب أو الوسط الذي تتم فيه المعايرة لهذا تقسم المعايرات إلى:

أ. معايرات مائية:

يستخدم فيها الماء كمذيب (معايرة المحاليل المائية).

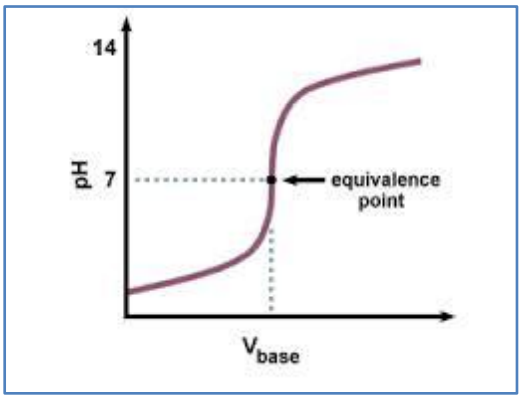
ب. معايرات لا مائية:

تستخدم إحدى المذيبات العضوية مثل الكحوليات أو الأسترات، الأثيرات،....إلخ.

نقطة التكافؤ ونقطة نهاية المعايرة (Equilibrium point & End point):

نقطة التكافؤ هي نقطة نظرية يصعب تحديدها بشكل عملي وهي تدل على لحظة التفاعل التام بين المحلول القياسي والمحلول المجهول، أنها النقطة التي يتساوى عندها عدد المكافئات الجرامية للمحلول القياسي مع عدد المكافئات الجرامية للمحلول المجهول.

أما نقطة نهاية المعايرة فهي النقطة العملية التطبيقية التي تحدد لحظة نهاية المعايرة نتيجة لتغيير مفاجيء في إحدى الخصائص الفيزيائية أو الكيميائية للمحلول كظهور لون أو تشكل راسب أو ذوبانه ، تغير في قيمة pH أو الحرارة النوعية أو شدة التيار الكهربائي وهي قريبة من نقطة التكافؤ النظرية (قبلها أو بعدها).



الدليل Indicator:

الدليل عبارة عن مركب كيميائي تتم إضافته أثناء المعايرة بكمية ضئيلة جدا تتســـــبب في إحداث تغيرا ملحوظا لإحدى الخصائص الفيزيائية أو الكيميائية للمحلول ويساهم في تحديد نقطة نهاية المعايرة والتي يجب أن تتطابق مع نقطة التكافؤ أو أن تكون قريبة جدا منها ما أمكن وعمليا يوجد فارق ضئيل جدا بين النقطتين يعبر عنه بخطأ الدليل. والدليل يختلف بحسب المعايرة كما سوف نري ذلك لاحقا.

مبدأ التحليل الكمي الحجمي وقانون المعايرة:

يتم تحديد تركيز المادة المجهولة (معلومة الحجم) بـإستخدام مادة قياسية معلومة التركيز والحجم، وبالاعتماد على قانون مور الذي ينص على أنه يتم الوصول إلى نقطة التكافؤ عندما يتساوى عدد المكافئات الجرامية.

(المحلول القياسي) $N_1V_1 = N_2V_2$ (المحلول المجهول)

حيث أن:

V_1 = حجم المحلول المجهول بالميليلتر

N_1 = تركيز المحلول المجهول (عدد المكافئات الجرامية في اللتر)

V_2 = حجم المحلول القياسي بالميليلتر

N٢ = تركيز المحلول القياسي (عدد المكافئات الجرامية في اللتر)

و يمكن كتابة قانون مور بالشكل التالي:

(المحلول القياسي) $\frac{M_1V_1}{n_1} = \frac{M_2V_2}{n_2}$ (المحلول المجهول)

حيث أن:

M = وحدة لقياس التركيز بالمولارية (عدد المولات باللتر).

V = قياس الحجم بالمليلتر.

n = عدد المولات وفقا لمعادلة التفاعل.

طرق التعبير عن التركيز:

يتم التعبير عن كمية المادة المذابة في المحلول بعدة طرق منها:

أ، التركيز الجزيئي(المولاري) Molarity:

وهو عدد المولات من المادة المذابة في لتر واحد من المحلول، أي أن:

$$M = \frac{C}{m} \quad \text{.....(١)}$$

حيث أن:

M = عدد المولات في اللتر mol/L

C = وزن المادة المذابة في لتر g/L

m = وزن المول بالجرام (الوزن الجزئي للمادة) g/mol

والمولارية تعطى بالعلاقة التالية:

$$M = \frac{C}{m} \times \frac{V}{1000}$$

حيث تمثل V حجم المحلول المطلوب تحضيره بوحدة الميللتر.

ب ــ التركيز العياري N(Normality):

عدد الأوزان المكافئة الجرامية من المادة المذابة في لتر من المحلول Eq/ L.

يعطى الوزن المكافئ الجرامي بالعلاقة التالية:

$$E = \frac{m}{n} \quad \text{.....(٢)}$$

E = عدد المكافئات الجرامية في المول Eq/mol

M = وزن المول بالجرام g/mol

n = عدد المتبادلات

و عليه بالنسبة:

الأحماض	n = ١ حمض	n = ٢ حمض	n = ٣ حمض
	أحادي	ثنائي	ثلاثي
القلويات	n = ١ قلوي أحادي	n = ٢ قلوي ثنائي	n = ٣ قلوي ثلاثي

مادة مؤكسدة أو مختزلة n = عدد الإلكترونات المفقودة أو المكتسبة

فلز n = تكافؤ الفلز

ملح n = عدد ذرات الفلز في تكافؤه

وبعد معرفتنا لعدد المكافئات الجرامية في المول الواحد (E) نستطيع حساب العيارية (N) من خلال العلاقة التالية:

$$N = \frac{C}{E} \quad \text{.....(٣)}$$

حيث ان:

C = وزن المادة المذابة في لتر g/L

E = عدد المكافئات الجرامية في المول Eq/mol

N = عدد المكافئات الجرامية في لتر من المحلول Eq/L

ومن خلال العلاقـــات السابقة ١، ٢ و ٣ نحصل على العلاقة التالية والتي تربط التركيز العياري بالتركيز المولاري:

N = n M.....(٤)

ج، التركيز الوزني:

وزن المادة المذابة في لتر من المحلول g/L

من العلاقة رقم ١ نحصل على:

Concentration = Morality × Molecular weight

ومن العلاقة رقم ٣ نحصل على:

Concentration = Normality × Equivalent weight

د. التركيز بالنسبة المئوية:

ويقسم إلى:

١. التركيز بالنسبة المئوية (% w/w):

وزن المادة المذابة بالجرامات في ١٠٠ جرام من المحلول.

٢. التركيز بالنسبة المئوية (% w/v):

وزن المادة المذابة بالجرامات في ١٠٠ مليلتر من المحلول.

٣. التركيز بالنسبة المئوية (% v/v):

حجم المادة المذابة بالمليلتر في ١٠٠ مليلتر من المحلول.

٤. التركيز بالنسبة المئوية (% v/w):

حجم المادة المذابة بالمليلتر في ١٠٠ جرام محلول.

هـ، التركيز بوحدة جزء في المليون ppm:

وزن المادة المذابة ملجم في كيلو جرام مذيب أو لتر مذيب. ويمكن أن نقول وزن المادة المذابة بالميكروجرام في جرام واحد مذيب أو مليلتر واحد مذيب.

و. التركيز بوحدة جزء في البليون ppb:

وزن المادة المذابة بالميكروجرام في كيلو جرام مذيب أو لتر مذيب.

ز. التركيز المولالي (molality):

عدد الجزيئات الجرامية (المولات) المذابة في كيلو جرام مذيب mol/Kg.

ويلخص الجدول(٩) طرق التعبير عن التركيز ووحداتها:

جدول (٩) طرق التعبير عن التركيز ووحداتها

الأساس	العلاقة	وحدة التعبير
وزن لوحدة الحجم	$\frac{\text{ملليجرام}}{\text{لتر من المحلول}}$	ملليجرام/لتر (mg / L)
	$\frac{\text{جرام}}{\text{لتر من المحلول}}$	جرام/ لتر (g / L)
نسبة وزن	$\frac{\text{ملليجرام}}{\text{كيلو أو لتر من المحلول}}$	جزء فى المليون (ppm)
نسبة حجم	$\frac{\text{ملليتر}}{\text{لتر من المحلول}}$	ملليتر / لتر (ml / L)
الكثافة	$\frac{\text{كتلة المحلول}}{\text{وحدة الحجوم}}$	جرام / ملليتر (g / ml)
النسبة المئوية وزناً	$\frac{\text{وزن المذاب} \times ١٠٠}{\text{وزن المذاب + وزن المذيب}}$	% وزناً (% wt)
النسبة المئوية حجماً	$\frac{\text{حجم المذاب} \times ١٠٠}{\text{حجم المحلول}}$	% حجماً (% vol)
العيارية	$\frac{\text{ملى مكافئ من المذاب}}{\text{لتر من المحلول}}$	ع (N)
الجزيئية	$\frac{\text{الوزن الجزيئى للمذاب}}{\text{لتر من المحلول}}$	مولارى (M)

جدول (١٠) وحدات الوزن المستخدمة الأصغر من الجرام، وقيمتها ورمزها

الوحـــدة	القيمة بالجرام	الرمـــز
جرام	١	(g) gram
ميللجرام	$١٠^{-٣}$	(mg) milligram
ميكروجرام	$١٠^{-٦}$	(µg) microgram
نانوجرام	$١٠^{-٩}$	(ng) nanogram
بيكوجرام	$١٠^{-١٢}$	(pg) pecogram
فمتوجرام	$١٠^{-١٥}$	(fg) femtogram
أوتوجرام	$١٠^{-١٨}$	(ag) autogram

الشروط الأساسية اللازمة للتحليل و الأخطاء الشائعة

ترتكب العديد من الأخطاء أثناء المعايرة وهي أخطاء لا يمكن تجنبها مثل:

- الخطأ المرتكب نتيجة استخدام دليل ما يتغير لونه قبل نقطة التكافؤ أو بعدها (خطأ الدليل).

- خطأ تقدير حجم المادة المجهولة ويعود إلى دقة الماصة المستخدمة.

- خطأ تقدير حجم المحلول القياسي والذي يعود إلى دقة السحاحة المستخدمة.

- خطا تقدير وزن المـــادة والذي يـــعود إلى خـــطأ الميزان أو حساسيته (أخطاء الأدوات).

وهناك أخطاء تعود للصدفة وهي غير محددة، كما توجد أخطاء تعود إلى عيب في طريقة التحليل كعدم نقاوة المواد وكذلك دقة الأجهزة المستخدمة، وأخيرا هناك خطأ الكيميائي أو الفنى.

ولهذا لابد من توفر العديد من الشروط أثناء المعايرة والتي تختلف بإختلاف التفاعلات المستخدمة في التحليل ومن أهم هذه الشروط نذكر:

أ. يجب استخدام أدوات نظيفة وأحيانا جافة تماما.

ب. يجب استخدام أجهزة قياس وأدوات حساسة جدا ودقيقة.

ج. يجب اعتماد طريقة مناسبة للتحليل و إختيار الظروف المثلى للمعايرة من حيث درجة الحرارة والتركيز والرقم الهيدروجيني. إلخ بحيث نحصل على النتائج المطلوبة بالدقة والسرعة المناسبتين.

د. يجب أخذ عينات متجانسة تمثل المادة الأصلية المدروسة (المجهول).

هـ. يجب تحديد نقطة نهاية المعايرة بدقة وإختار الدليل المناسب الأقرب إلى نقطة التكافؤ.

و. يجب إضافة المحلول القياسي نقطة نقطة عند الاقتراب من نهاية المعايرة مع التحريك السريع ومراعاة غسل جوانب الدورق المخروطي بقليل من الماء المقطر لإزالة القطرات العالقة على الجدار الداخلي ولضمها إلى مزيج المعايرة.

ز. يجب إيقاف المعايرة فور الوصول إلى التغير المطلوب كظهور لون أو اختفاؤه أو تغيره على أن يكون هذا التغير ثابتا لمدة لا تقل عن دقيقتين.

ح. تكرار المعايرة ثلاث مرات على الأقل.

ط. توخي الدقة في العمل من وزن وقياس الحجوم وحساب النتائج.

الحسابات الكيميائية ومعالجة النتائج

يقوم الكيميائي بالعمليات التالية بعد إتمام المعايرة:

أ. تسجيل الحجوم والأوزان المستخدمة في كل معايرة.

ب. حساب النتائج وفقا لقوانين المعايرة التي ذكرت سابقا.

ج. اختيار أفضل النتائج بعد القيام بثلاث تجارب على الأقل وهذا يعني استبعاد النتائج الشاذة إن وجدت وأن لا يكون هناك فروق في الحجوم أكثر من ٠.١ مليلتر.

د. حساب متوسط النتائج من خلال العلاقة التالية:

$$\overline{X} = \frac{\Sigma xi}{n}$$

هـ. حساب الإنحراف المعياري للتعرف على دقة العمل:

$$SD = \frac{1}{n-1}\sqrt{\Sigma(x_i - \overline{x})^2}$$

ثم نكتب النتيجة بالشكل التالي:

$$\overline{x} \mp SD$$

و. حساب الانحراف المعياري النسبي للتعرف على مقدار الخطأ المرتكب

$$SD_R = \frac{\overline{x}}{SD}$$

ز. حساب الانحراف المعياري النسبي المئوي للتعرف على النسبة المئوية للخطأ المرتكب:

$$SD_R\% = SD \times 100 = \frac{\overline{x}}{SD} \times 100$$

تخفيف المحاليل:

يهدف تخفيف المحاليل إلى التقليل من تركيزها المعلوم ويصاحب هذه العملية تغير في حجم المحلول النهائي. وتتم عملية التخفيف إما باستخدام الماء المقطر أو أي مذيب آخر أو أي محلول من نفس النوع أو أي محلول آخر.

نستخدم العلاقة التالية لحساب حجم المحلول المركز اللازم أخذه وتخفيفه إلى الحجم المطلوب:

(المحلول المخفف النهائي) $M_1V_1 = M_2V_2$ (المحلول المركز قبل التخفيف)

$$V_1 = \frac{M_2}{M_1} V_2$$

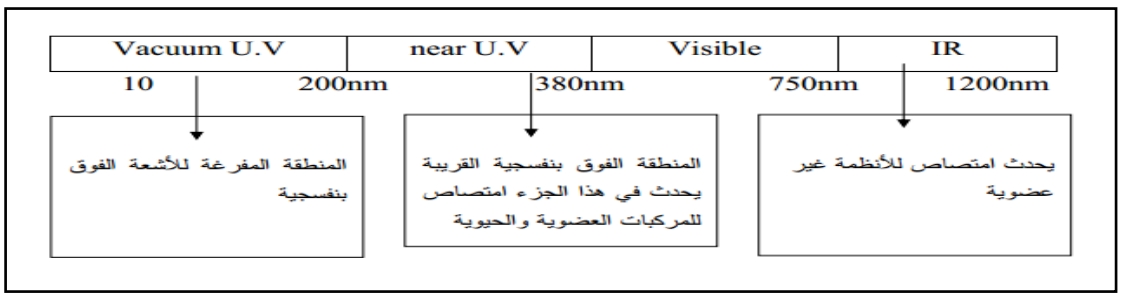
٢- طرق التحليل الطيفي Spectroscopy

هذه المجموعة من النظم تعتمد على تفاعل الأشعة الكهرومغناطيسية مع المادة.

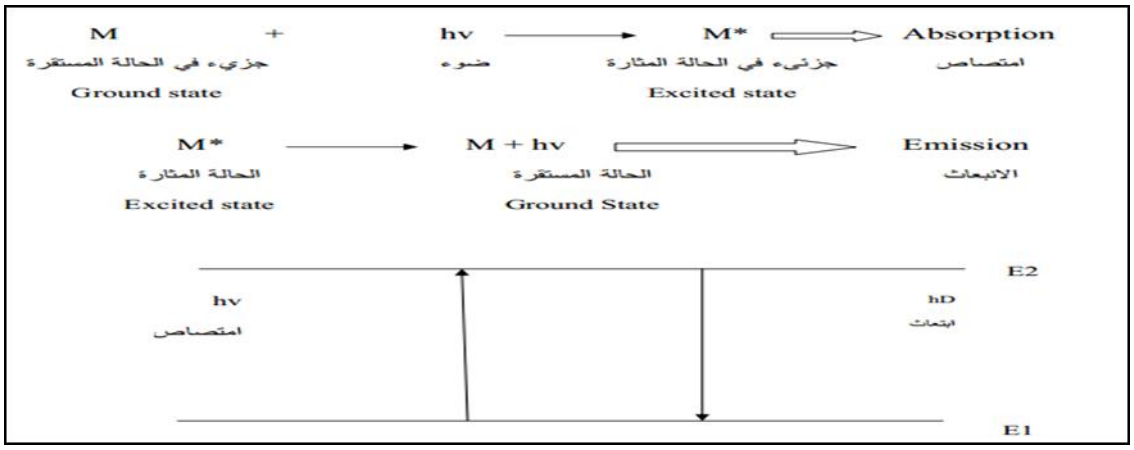
- ينتج عن امتصاص الجزئيات الأشعة الكهرومغناطيسية في المنطقة البنفسجية (U.V) والمنطقة المرئية (Visible) من الطيف إلى انتقال واحد أو أكثر من الالكترونات الموجودة في مدارات ذات طاقة منخفضة (مدارات الرابطة) إلى مدارات ذات طاقة ىلعأ.

- يتوقف الطول الموجي للأشعة التي يحدث لها امتصاص على طاقة الانتقال الالكتروني في يئزجلاتا، يحوث أن هذه الطاقة تتوقف على التركيب الجزيئي لذلك يستخدم هذا النوع من التحليل الطيفي في التعرف على المركبات.

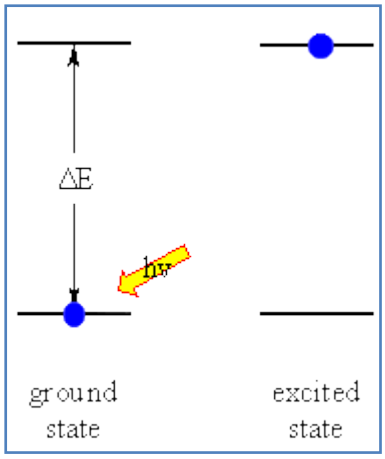
- كما أن شدة الضوءالممتص تتناسب طرديا مع عدد الجزئيات الممتصة لذلك يمدختس التحليل الطيفي في حتاالليل الكمية quantitative analysis.



عملية الامتصاص Absorption method:



العلاقة بين الطاقة الممتصة في عملية الانتقال الألكتروني وترددها أو الطول الموجي لها للأشعة هو:



$\Delta E = E_2 - E_1$

Where $E = h\nu = h c / \lambda$

حيث أن:

E_1= طاقة المدار الذي يوجد فيه الإلكترون والجزيء في حالته العادية.

E_2= طاقة المدار الذي ينقل إليه الالكتروني عند إثارة الجزيء نتيجة إمتصاص الأشعة.

ΔE = الفرق في طاقة الجزيء في حالته المثارة وحالته العادية.

h = ثابت بلانك.

C = سرعة الضوء.

λ= الطول الموجي

ν = تردد الضوءالساقط

و تعتمد طرق قياس اللون colorimetric وطرق السبكتروفوتومتري Spectrophotometric على علاقة لامبرت ريبر(Lambert Beer 's law).والتي تنص على أن كمية الضوء الممتصة دالة لوغارتيمية بتركيزولحمال وطول مسار الضو ءء لهذا المحلول، أي أن الانخفاض في طاقة الأشعة وحيدة الطول الموجي mono chromatic سانتتـــب مـــع قـــوة الأشعة ومع كمية المادة الممتصة ويمكن التعبير عن ذلك رياضيا بقانون (Lambert Beer 's law)..

$$A = a\ b\ c = \log_{10} P'/P$$

حيث أن:

b: هي مسار الضوء بالمحلول.

C: هي تركيز المادة الممتصة.

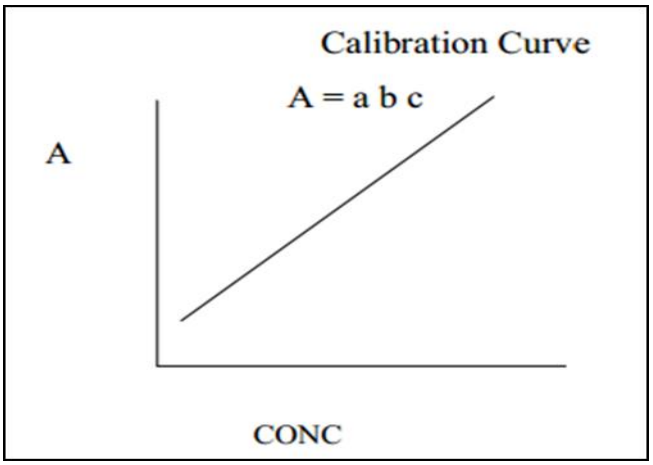
a: باثـــت الامتـــصاص Absorptivity

وهو ثابت يتوقف على طبيعة المادة وعلى الطول الموجي للأشعة الممتصة فإذا كان تركيز المادة مقدرا بالمول فإن الثابت يطلق عليه (ثابت الامتصاص المولي).

E =Molar absorbitivity

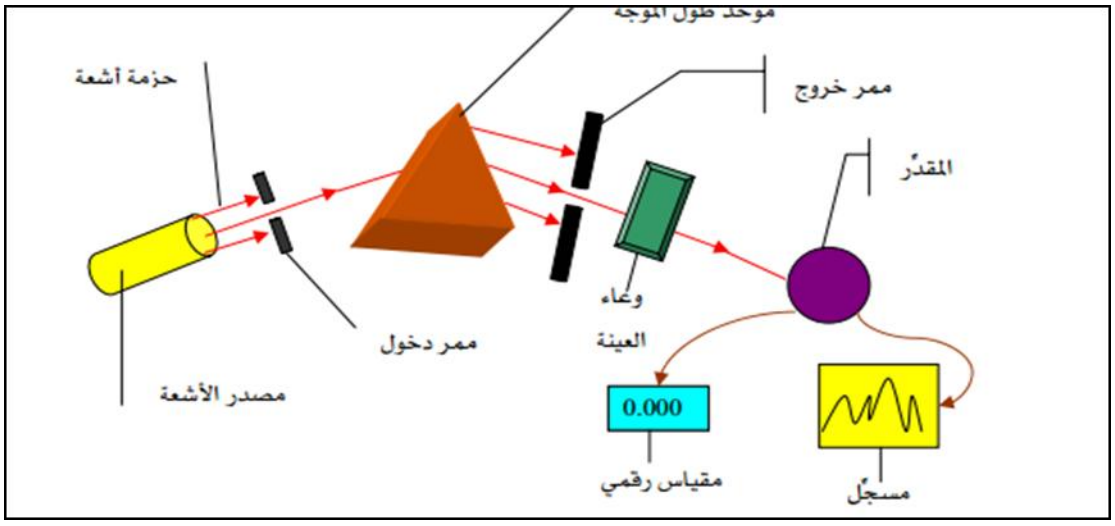
و يكتب القانون كالأتى:

$$A = E\ b\ c$$

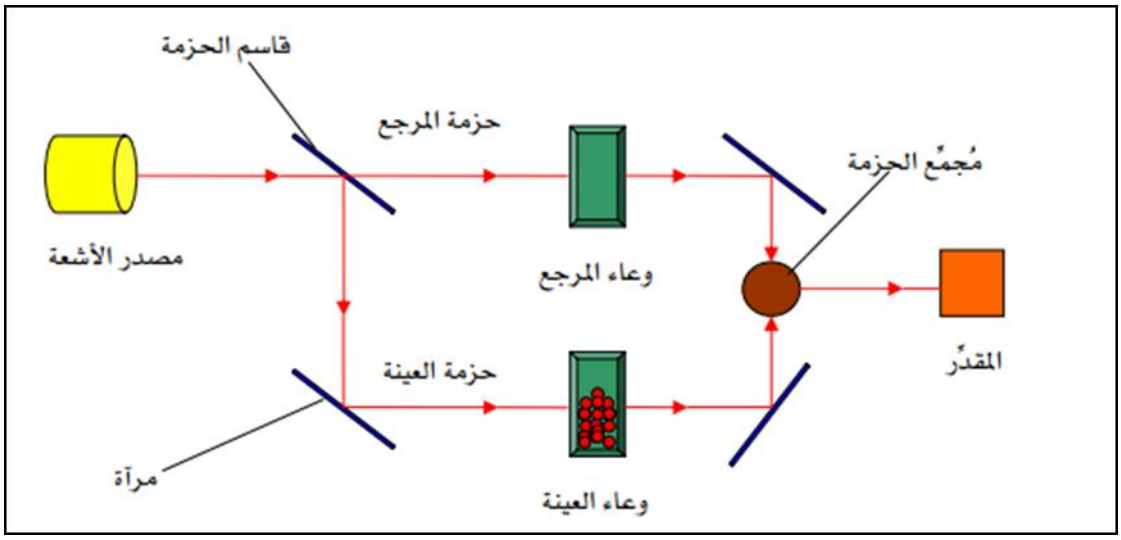


انواع اجهزة التحليل الطيفى (spectrophotometer):

- احادي الخلية Single beam:



- ثنائي الخلية:Double beam



٣- طرق التحليل الجهدي Potentiometric

هى الطرق التحليلية التي تعتمد على قياس الجهد و تسمى الطرق الجهدية.

- و يتطلب جهاز القياسات الجهدية قطبا مرجعيا وقطب لديل وآله لقياس الجهد.

- جهد الخلية هو عبارة عن الفرق بين جهد القطب المرجعى والقطب الدليل.

$E_{cell} = E_{Ind} - E_{ref}$.

- **باطقلأا ةيعجرملا Reference electrode:**

الأقطاب المرجعية لا تعتمد على تركيز المادة المراد تعينها (analyte) وهي تعطي جهد ثابت مثل :

- قطب الهيدروجين SHE

- قطب الكالوميل.Calomel electrode

- قطب الفضه / كلوريد الفضه.Ag / AgCl electrode

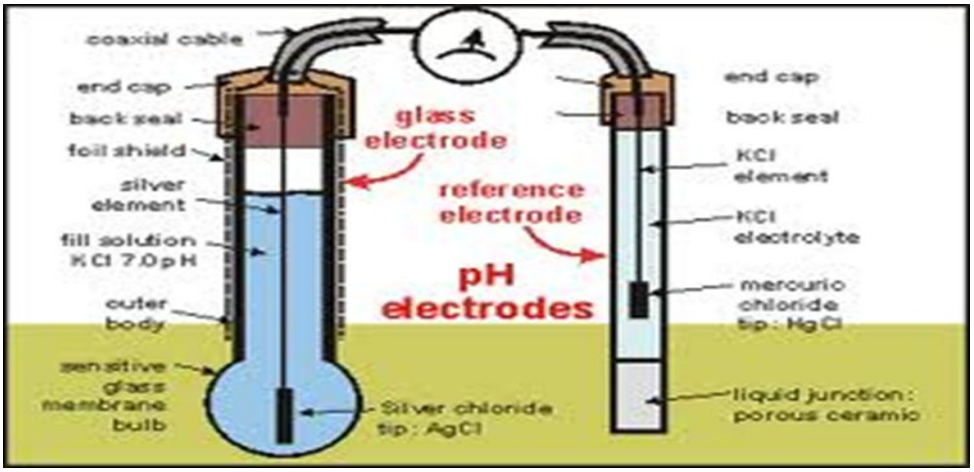
- **باطقلأا ةيليلدلا Indicator Electrode:**

الأقطاب الدليلية تستجيب بسرعة للتغير في تركيز أيون المادة المراد تعينها (analyte)

و تنقسم الأقطاب الدليلية إلى عدة أقسام وهي:

- أقطاب معدنية

- أقطاب غشائية، وتسمى قطب الآيون الانتقائي أو النوعيIon selective electrode



و يعبر عن جهد الخلية الكهربية بمعادلة نرنست (Nernst Equation)

$$E = E^{\circ} \pm \frac{RT}{nF} \log C$$

حيث:

E = القوة الدافعة الكهربية للخلية.

E° = جهد القطب القياسى.

R = ثابت الغازات.

T = درجة الحرارة المطلقة.

n = عدد الألكترونات المفقودة أو المكتسبة.

F = معامل فراد اي.

C = التركيز.

٤- التحليل بالتوصيل الكهربي:

$$\boldsymbol{G = \frac{1}{R} = K\frac{A}{L}}$$

$$A = 1 \quad 0\frac{K}{C}\,0$$

حيث

G = التوصيل الكهربي Conductance

R = المقاومة

A = مساحة المقطع

L = طول الموصل

A = المكافئ التوصيل Equivalent conductance

S = التوصيل النوعي Specific conductance

C = التركيز .

اختيار طرق التحليل

مقدمة:

انواع الطرق التحليلية:

- ☒ الطرق القياسية (Standard methods) وهي طرق تعتمدها بعض المنظمات مثل (ASTM).
- ☒ الطرق الرسمية (official methods) وهي طرق تعتمدها بعض الجهات الحكومية مثل(NIOSH) و(USEPA).
- ☒ الطرق المنشورة (Literature methods) وهي الطرق المنشورة في المجلات العلمية المتخصصة
- ☒ الطرق الخاصة (Laboratory in– house development methods).

واختيار طريقة للتطبيق يعتمد على عدة عوامل أهمها خصائص الأداء.

ويبين الجدول رقم (١١) طريقة اختيار طريقة للتطبيق.

تقييم الطرق القائمة للتقدير وذلك بتحديد خصائص أداءها وإذا لم تفي الطرق الموجودة بالمتطلبات اللازمة فيجب في هذه الحالة ابتكار طريقة جديدة أو تدرس إمكانية تغيير بعض العوامل والظروف التي تسمح بإعطاء نتائج معقولة ومقبولة.

طرق التشغيل القياسية:

أهمية طرق التشغيل القياسية (Standard Operation Procedure)

طريقة التشغيل القياسية (SOP) هي الطريقة التي يتم بها القياس في المعمل وهذا يشمل طريقة أخذ العينات.ـــ تحضير العينات.ـــ طرق القياس. وأي طرق أخري تجري بطريقة منتظمة. ولفظ قياسي يعني أنها تصف الطريقة التي تجري بها عملية التحليل كل مرة والتي قد تكون أو لا تكون الطريقة المعتمدة أو المنشورة.

وعند وجود طرق قياسية فإن المختبرات عليها أن تبدأ بـإختيار صلاحية هذه الطرق حيث أنه يمكن الاعتماد عليها في مقارنة نتائج من مختبرات مختلفة. وفي غياب طرق التشغيل القياسية فإن المحلل يمكنه أن يعتمد على أفضل الإمكانيات في تغيير بعض الخطوات والعمليات بحيث يزيد من فاعلية الطرق. وعندما تستخدم الطرق بطريقة متكررة فإن ذلك يشجع على كتابة هذه الطرق بطريقة رسمية أما الطرق التي تستخدم من وقت إلى آخر بغير انتظام فإنها تعتمد على حق المعرفة للمحلل (Know _how).

وهذه التقنية الأخيرة قلما تجري لها دراسة بهدف تحسينها وكمالها (Optimization) وقد تستخدم في كل مرة بطريقة مختلفة. ويجب عدم تشجيع ممارسة التحاليل دون طرق مكتوبة ويجب توثيق كل ما يؤدى بالمختبر.

ووصف الطريقة قبل الإستخدام يعتبر جزءا من التخطيط ويجب أن يجري بدقة.

وقراءة هذه الطرق بواسطة المحللين هو الحد الأدنى المطلوب للتأكد من انهم يعرفون الطريقة وبالتالي استمرارية العمل بها ومعرفة الفائدة ونقد الطريقة أيضا.

وتستخدم صيغة أو شكل موحد لكتابة العمل وذلك لتسهيل الإستخدام وبينما يؤدي استخدام طرق التشغيل القياسية إلى استمرارية الخبرة في القياس فلا يوجد تقنية يمكن استخدامها مباشرة وبطريق عمياء، وفي كل حالة يجب التأكد من ملاءمة الطريقة للغرض المطلوب وإذا كانت الطريقة تستخدم بطريقة غير منتظمة فيمكن للمحلل أن يقوم ببعض التجارب الأولية أو الاستطلاعية للتأكد من صلاحية الطريقة للغرض المحدد.

تحضير طرق التشغيل القياسية

إن الفرق بين التعليمات وطرق التشغيل القياسية غير ملموس. فالفرق أساسا هو التحديد. فالتعليمات تعطي إرشادات وتشير إلى طرق التشغيل القياسية في حين أن الأخيرة تعطي التوجيهات وفرق آخر هو ان التعليمات نادرا ما تعطي نتائج بالرغم من أنها تؤثر في النتائج ونطاق التعليمات واسع ويطبق على مواقف أو عمليات متماثلة أما طرق القياس القياسية فإنها تعطي نتائج محددة إما في صورة نتائج القياس أو في المنتج النهائي وحيث ان كل التفاصيل لا يمكن وصفها فإن الغرض من طرق التشغيل القياسية هو إزالة الفروق التي تؤثر على النتيجة النهائية. ويجب ان تحدد طرق التشغيل الجيدة التجاوزات المسموح بها لضبط النتائج.

ويسهل كتابة طرق التشغيل القياسية إذا ما استخدم شكل عام ويبين الجدول رقم (١١) إطار إعداد طرق التشغيل القياسية للتحاليل الكيميائية

جدول (١١) إطار إعداد طرق التشغيل القياسية للتحاليل الكيميائية

م	خطوات التشغيل القياسية
١	العنوان
٢	نطاق العمل (العنصر المقاس، مدى القياس، وسط القياس، حدود الدقة وصحة البيان المتوقعة
٣	مصدر أو مرجع الطريقة
٤	التسميات
٥	ملخص الطريقة
٦	الاستخدامات
٧	التداخلات
٨	الأجهزة المستخدمة
٩	الكواشف والمواد الكيماوية المستخدمة
١٠	الاحتياطات والأخطار
١١	طريقة أخذ وتجهيز العينات
١٢	إعداد الأجهزة
١٣	معايرة الأجهزة
١٤	طريقة العمل
١٥	الإحصاء المستخدم
١٦	طريقة الحساب
١٧	تحديد حدود عدم الثقة

ويبين الجدول رقم (١٢) إطار إعداد طرق التشغيل القياسية للمعايرة.

جدول (١٢) إطار إعداد طرق التشغيل القياسية للمعايرة

م	خطوات إعداد طرق التشغيل القياسية للمعايرة
١	العنوان
٢	ملخص
٣	وصف للعنصر المراد معايرته
٤	فترات المعايرة
٥	المواد القياسية المستخدمة (المصدر ــ طريقة التحضير)
٦	طريقة العمل
٧	الحسابات (اختزال النتائج ــ تثبيت النقاط على منحنى المعايرة ــ حدود عدم الثقة
٨	التقرير (شكل التقرير ــ بطاقة التعريف والموافقة)
٩	المراجعة

ويعرض الجدول (١٣) إطار إعداد سجل الأجهزة (Logbook)

م	خطوات إعداد طرق التشغيل القياسية للمعايرة
١	اسم الجهاز
٢	بيانات الجهاز (المنتج ــ الرقم المسلسل ــ المورد ــ تاريخ الشراء ــ تاريخ دخول الخدمة ــ مكانه في المعمل ــ حالته عند الوصول ــ المسئول عن الجهاز ــ إشارة للأجزاء التابعة له
٣	الصيانة الداخلية (جدول الصيانة ــ طريقة العمل ــ سجل الأداء)
٤	الصيانة الخارجية (جدول الصيانة ــ عقود الصيانة ــ سجل الأداء)
٥	الضبط (بالإشارة إلى طرق التشغيل القياسية)
٦	إرشادات الاستخدام (إما مكتوبة أو يشار إلى دليل المصنع)

خصائص الأداء لطرق التحاليل الكيميائية (method validation)

يطلق على خصائص التشغيل الهامة بطريق التحاليل " خصائص الأداء " وهي تعطي الأساس في اختيار طريقة القياس المناسبة لغرض محدد.

وخصائص الأداء ليست ثابتة للطريقة الواحدة حيث تعتمد على قيم تتأثر بالمستخدم وعليه فإنها تعتمد على الطريقة التي استخدمت فيها التجربة، أن عديد من خصائص الأداء يمكن تقييمه كميا بالطرق الإحصائية

- حد التمييز Limit of Detection
- حد الصحه Accuracy
- الدقة Precision
- الحساسية Sensitivity
- المدى Range
- الأنتقائية Selectivity
- الجمود Ruggedness
- السرعة Speed
- التكلفة Cost

حد التمييز (Limit of Detection)

عرف حد التمييز في الماضي بعدة طرق ولكن المنظمات العالمية تميل حاليا بإستخدام التعريف الآتي:

معيار التمييز (Criterion of Detection) وهو أقل قيمة يمكن الحصول عليها بدرجة عالية من المصداقية والثقة (عادة في حدود ٩٥ %) وتكون أكبر من الصفر. أما حد التمييز (Limit of Detection) فهو أقل تركيز مع حد الثقة المطلوب (عادة مثل الحال في معيار التمييز) والذي يعطي نتيجة فوق معيار التمييز ويمكن تمييزه وتسمى القيم بين حد التمييز ومعيار التمييز والأثر (Trace).

وفي بعض الأحوال يستخدم تعبير حد التقدير (Limit of quantization) حيث يكون من الضروري ليس فقط تمييز وجود المادة المراد تحليلها ولكن أيضا معرفة الكمية الممكن تقديرها بدرجة محدودة إحصائيا وعادة ما تكون هذه القيمة عشرة أمثال الحيود القياسي للتجربة وBlank (١٠Sw)

Sw = within batch standard deviation from the average of the ranges

ويمكن الحصول على قيمة (Sw) من تكرار قياسات التجربة واستخراج الحيود القياسي لهذه القيم أو باستخدام كميات من المادة المراد تقديرها بتركيزات متناهية في الصغر وذلك إذا كانت قيم التجربة Blank لا يمكن قياسها.

ويعتبر حد التمييز هاما في التحاليل للتركيزات الضئيلة (Trace) حيث من الضروري تقرير ما إذا كان وجود المادة المتداخلة أقل أو أكبر من القيمة المشروعة ويجب أن يكون حد التمييز أقل من ٠.١ التركيز المراد قياسه.

حد التمييز:(LOD) Limit of detection إن معظم القياسات البينية تتضمن حساب قيم التجارب وطرحها من القيم المقاسة للتجربة وبحساب قيمة الحيود لهذا الفرق:

$$S_{result} = S_{w,blank} \times \sqrt{1+\frac{1}{n}}$$

أما قيمة Criterion of detection (CD) فهي الحد العلوي من الثقة والتي قيمتها الحقيقية صفر:

$$CD = t_{1-a}\,(df) \times S_{w,blank} \times \sqrt{1+\frac{1}{n}}$$

ويمكن اختيار مستوى الثقة لتناسب قياس معين وغالبا فإن مستوى ٩٥ % من الثقة يكون كافيا.

وحد التميز (LOD) يساوي عادة ضعف قيمة (CD)

$$LOD = 2CD$$
$$= 2 \times t_{1-a}\,(df) \times S_{w,blank} \times \sqrt{1+\frac{1}{n}}$$

حيث n هو عدد القيم التكرارية المستخدمة في تصحيح القيمة المستخدمة في بعض التجارب الروتينية.

مثال ١:

عند تقدير الكادميوم في تجربة بواسطة طيف الامتصاص الذري تم الحصول على النتائج التالية:

٠.٠٥٥, ٠.٠٧٩, ٠.٠٨٢, ٠.٠٧٣, ٠.٠٦٤, ٠.٠٨٨

$$S_w = R'/d_2$$

D٢ في حالة ثنائية التكرارية أي n = ٢ من الجدول = ١٠١٢٨

$$S_{w,blank} = 0.0122\ mg/L$$

وحيث ان عدد القياسات = ٦ فإن درجة الحرية (df) = ٥

$$LOD = 2 \times t_{0.95}\,(s) \times 0.0122 \times \sqrt{1+\frac{1}{2}}$$
$$= 0.06\,mg/L$$

الدقـــــــــة (Accuracy)

صحة نتائج طريقة ما (Accuracy) هي مدى تقارب النتيجة مع القيمة الحقيقية. وصحة النتيجة ينسب لنتيجة واحدة من نتائج التحليل وبذلك فهي تمثل الخطأ المنتظم والخطأ العشوائي معا فالخطأ المنتظم أو الحيود هو الفرق بين متوسط عدد كبير من النتائج والقيم الحقيقية.

مقدار الدقة:

يعرف مقدار الدقة بمدى نسبة قيم تركيزات العنصر المراد قياسه إلى القيمة الحقيقية للعنصر. وعادة ما يعبر عن مقدار الدقة بقيمة الإسترداد الأدنى minimum recovery والأقصى maximum recovery أما القيمة الحقيقية (trueness) يعبر عنها بنسبة متوسط عدد كبير من القياسات إلى القيمة الحقيقية للعنصر.

$$\text{Trueness} = \frac{\text{متوسط القياسات x ١٠٠}}{\text{القيمة الحقيقية}}$$

ولحساب مقدار الدقة يتطلب قياس العديد من القراءات للعينات المختارة من الأنواع الآتية:

١ ــ من قيمة الأسترداد المحسوبة لتركيز معلوم مضاف إلى عينة طبيعية.

٢ ــ من مواد مرجعية معلومة التركيز.

٣ ــ مقارنة التركيز الناتج مع نظيره الناتج من طريقة محددة الدقة.

٤ ــ مقارنة التركيز الناتج مع نظيره الناتج من طريقة أخري موثقة.

٥ ــ من خلال دراسات بين المعامل المختلفة.

ويتم حساب قيمة الإسترداد لكل قراءة على حده وذلك بإستخدام المعادلة الآتية:

$$\text{قيمة الإسترداد الأدنى} = \frac{\text{أقل قراءة فى القياسات} \times ١٠٠}{\text{القيمة الحقيقية}}$$

$$\text{قيمة الإسترداد الأقصى} = \frac{\text{أعلى قراءة فى القياسات} \times ١٠٠}{\text{القيمة الحقيقية}}$$

مثال:

رقم التشغيلة	$X_١$	$X_٢$	X	S
١	٢٧٤	٢٧٠	٢٧٢	٢، ٨٢٨
٢	٢٠٠	٢٥١	٢٥٥.٥	٣٦.٠٦
٣	٢٤٠	٢٣٠	٢٣٥	٧.٠٧١
٤	٢٥١	٢٦٤	٢٥٧.٥	٩.١٩٢
٥	٢٥٦	٢٧٢	٢٦٤	١١.٣
٦	٢٤٠	٢٤٠	٢٤٠	٠

القيمة الحقيقية = ٢٥٠ $\bar{\bar{X}} = 249$

مقدار الدقة من ٢٠٠/ ٢٥٠ إلى ٢٧٤/٢٥٠

أي يتراوح ما بين ٨٠-١١٠%.

مقدار الأحقية = ٢٤٩/٢٥٠ × ١٠٠ = ٩٩.٦

مقياس الضبط (precision)

الضبط (precision) هو تعبير عن تقارب واتفاق بين نتائج منفصلة، ويعبر عنه بالحيود القياسي، وهو عادة يعتمد على تركيز المادة المراد قياسها. وهذا الاعتماد يجب أن يقدر ويوثق، وتكرارية النتائج (Repeatability) هي نوع من دقة القياس تحت ظروف متكررة، ومفهوم قابلية الإعادة (Reproducibity) هو أحد مفاهيم الدقة.

ولعل من المفيد للقائم بالتحليل هو الحيود القياسي بين دفعات، وهو الحيود القياسي الناتج من قياسات اجريت تحت ظروف اختلافات قصوى داخل المختبر الواحد أي بإستخدام نفس الطريقة، نفس المختبر، محللون مختلفون، أجهزة مختلفة- فترات زمنية مختلفة. ويعبر الحيود القياسي بين الدفعات وتكرارية النتائج عن الحيود القياسي.

وتحسب عدد درجات الحرية df كما يلي:

درجة الحرية = عدد التشغيلات، ١

ويمكن التعبير عن الحيود القياسي بالنسبة للمتوسطات $\bar{\bar{X}}$

$$C_b = (S_x^2 - \frac{S_w^2}{n})$$

ويسمى عندئذ بالحيود القياسي النسبي أو معامل التفاوت والذي يطلق عليه اختصارا (Coefficient of Variation CV).

$$CV_w = (S_w / \bar{\bar{X}}) \times 100$$

وفي عمليات القياس المكونة من عدد من الخطوات فإن كل خطوة تساهم في انتشار النتيجة. ومجموع الانتشار أي مجموع التفاوتات (S_T^2) (Variance) هي مجموع المساهمات من كل مصدر.

$$S_T^2 = S_1^2 + S_2^2 + \ldots\ldots\ldots\ldots + S_n^2$$

وفي مواقف عديدة في القياسات المعملية فإن مجموع التفاوتات يمكن اعتبارها من مصدرين هما داخل الدفعات (Within batch) وبين الدفعات (Between batches).

ولقد سبق الإشارة إلى الحيود القياسي داخل الدفعات (S_w) أما الحيود القياسي بين الدفعات (S_b) فيمكن تمثيله بالعلاقة:

$$S_b^2 = S_x^2 - S_w^2 / n$$

حيث (n) هي عدد مرات التكرار في كل دفة و (m) هو عدد الدفعات وعدد درج ه الحرية للحيود القياسي بين الدفعات (S_b) هو m)، (١.

$$CV_b = (S_b / \bar{\bar{X}}) \times 100$$

S_x: هو الحيود القياسي للقراءات، مجموع التفاوتات (S_T^2) يساوي

$$S_T^2 = S_w^2 + S_b^2$$

عدد درجات الحرية S_T = عدد القياسات (reading)−١

(m −١) × n =

الخطية (Linearity)

هي القابلية لإخراج إشارة تتناسب مع تركيز المادة المراد قياسها وتقدر الخطية بقياس عينات أو محاليل قياسية عيارية في المدى المراد قياس المواد فيه. ومن المفيد ان تكون العلاقة خطية بين التركيز والإشارة في مدى معقول ولكنها ليست شرطا مطلقا. وعندما يصعب الحصول على خطية لطريقة معينة يمكن استخدام طرق جبرية لذلك.

الحساسية (Sensitivity)

هى فرق تركيز المادة المراد تحليلها منسوب إلى أقل فرق في استجابة الطريقة يمكن تمييزه، ويحسب عادة من ميل منحنى المعايرة وفي بعض القياسات فإن الكتلة أو التركيز التي تعطي استجابة معينة تستخدم للتعبير عن الحساسية. وعلى سبيل المثال فعند استخدام طرق الامتصاص الذري (Atomic absorption spectrometry) لتقدير العناصر يستخدم التعبير الكتلة المميز لتوصيف خصائص أداء الطريقة. والكتلة المميزة في هذه الحالة هي كمية العنصر الذي يعطي استجابة قدرها ٠.٠٠٤٤ وحدة امتصاص.

المدى (Range)

المدى (Range) في التحاليل الكمية فإن المدى العملي (Working range) لطريقة يمكن تحديده بإختبار عينات بتركيزات مختلفة ومعرفة المدى الذي يمكن من الحصول على نتائج مقبولة صحيحة ودقيقة. ويمكن أن يكون المدى العملي أوسع من المدى الخطي

(Linear.range)

الانتقائية (Selectivity)

انتقائية طريقة تشير إلى المدى الذي يمكن أن تقدر فيه مادة ما موجودة في وسط أو مخاليط معقدة دون تداخلات من المواد الغريبة ويجب دراسة تطبيقات الطريقة ب إستخدام عينات مختلفة تتراوح بين المواد القياسية النقية ومخاليطها في أوساط معقدة وفي كل حالة تحسب نسبة الاسترجاع (Recovery) لمعرفة درجة التداخلات المتوقعة من هذه المواد الغريبة. وعندما تستخدم مختبرات مختلفة نفس طريقة التحليل فإنها تدخل أحيانا تعديلات على طريقة العمل بهدف استبعاد التداخلات.

الجمود (Ruggedness)

ويطلق على الجمود أحيانا (Robustness) وهو يدل على مدى قابلية تطبيق طريقة معينة بإدخال تغييرات طفيفة عليها مثل تغير الأس الإيدروجيني أو زيادة مدة أو درجة التسخين أو الوقت دون تأثير على دقة النتائج.

السرعة (Speed)

عندما يكون المطلوب إجراء تحاليل لعدد كبير من العينات فإنه يجب أن تتوافر في الطريقة المستخدمة عنصر السرعة (Speed) حتى يمكن الحصول على النتائج في وقت معقول وبجهد وتكلفة قليلة.

التكلفة (coast)

تهتم معظم مختبرات التحاليل وعملائها بتكلفة التحاليل والمعروف أن الموارد البشرية واستهلاك الأجهزة والكيماويات وتكلفة الصيانة كلها عوامل تؤثر في التكلفة (Cost) لذا وجب أيضا اختيار الطريقة قليلة التكلفة.

التحاليل الروتينية للماء

يتناول هذا البند عشرة طرق لتحليل المياه:

١ -الحرارة (Temperature).

٢ -اللون (Color).

٣ -الأس الأيدروجينى (pH).

٤ -الكلور المتبقي

٥ -المواد الصلبة الكلية.(Total Solids)

٦ -التوصيل الكهربى

٧ -العكارة (Turbidity).

٨ -العسر (Hardness).

٩ -الكلوريدات (Chlorides).

١٠ - القلوية (Alkalinity).

١- الحـــــــرارة (Temperature):

الأساس العلمي:

يتم الاستدلال علي درجات الحرارة بإستخدام خواص كثيرة منها ارتفاع الزئبق في الآنابيب الشعرية (الترمومتر)، ويتم الأن الإستدلال علي درجة الحرارة بإستخدام حساسات كهربائية (electrical sensor).

و تقاس درجة الحرارة بدرجة السيليزيوس (مئوية) أو الفهرنهيت والعلاقة بينها كالتالي:

$$[^{\circ}C = 5 / 9 (^{\circ}F-٣٢)]$$

ويمكن إستخدام الترمومتر الزئبقى في القياس ويجب أن يكون تدريجه يسمح بقراءة ٠.١° م كما يمكن إستخدام محس الحرارة الموجود في أجهزة قياس الأس الأيدروجينى لهذا الغرض .وتسجل النتيجة الرقمية أو قراءة الترمومتر.وتعتبر درجة الحرارة هامة في بعض القياسات مثل قياس الأس الأيدروجينى (pH value)أو التوصيل الكهربى الذى تتأثر قيمتهما بتغير درجة الحرارة ويجب تسجيل درجة الحرارة التي تم عندها القياس.

الهدف من التجربة:

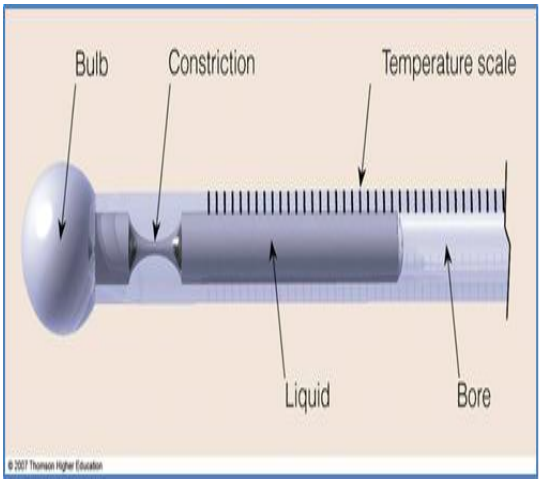
تعتبر درجة الحرارة أحد العوامل الهامة في عمليات المعالجة فإن الكيماويات المستعملة في معالجة المياه تذوب في الماء الدافئ بسهولة أكثر منها في الماء البارد، كما أن الجسيمات تترسب بسرعة أكثر في الماء الدافئ، كما أن

الزيادة في درجة حرارة المياه يزيد من سرعة تفاعل المواد الكيماوية المروبة مع قلوية المياه وانخفاضها يقلل من سرعةالتفاعل، لذلك نجد أن هناك زيادة في استهلاك المواد الكيميائية في وقت الشتاء ويقل في وقت الصيف وربما يصل الأمر إلى الزيادة في الليل عنه في النهار.

أما بالنسبة للكلور فإن الإستهلاك يزيد في الصيف ويقل في وقت الشتاء لزيادة الملوثات العضوية وكذلك نتيجة لعمليات البخر.

الأدوات:

- جهاز قياس الحرارة.
- كأس زجاجي.



طريقة العمل وحفظ العينة والتداخلات:

يتم قياس درجة الحرارة في الموقع.

تسجيل النتائج:

يتم تسجيل درجة الحرارة المقاسه بالسيلزيوس(Celsius).

٢- اللون (Color)، ٢١٢٠ -SM

الأساس العلمي:

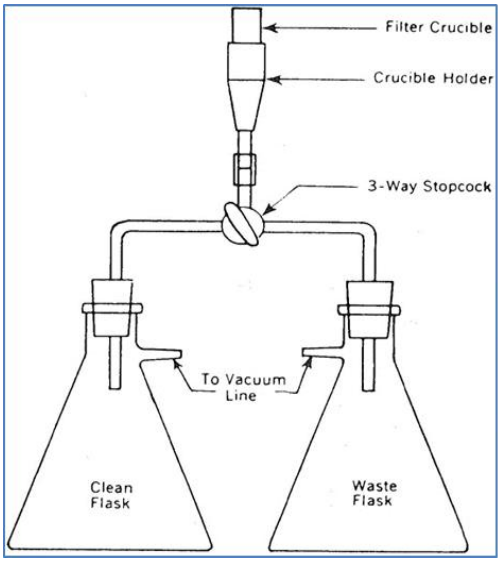
يرجع لون المياه إلى قدرتها على استخلاص المواد الملونة من المواد العضوية "نباتية او حيوانية" العالقة بها أو المواد المعدنية الذائبة (الحديد والمنجنيز) أو المخلفات الصناعية. ولون المياه أما لون حقيقي True Color ناتج من وجود مواد ذائبة ويبقى بعد إزالة المواد العالقة أو لون ظاهري Apparent Color وهو عبارة عن اللون الحقيقي بالإضافة الى اللون الناتج عن المواد العالقة.

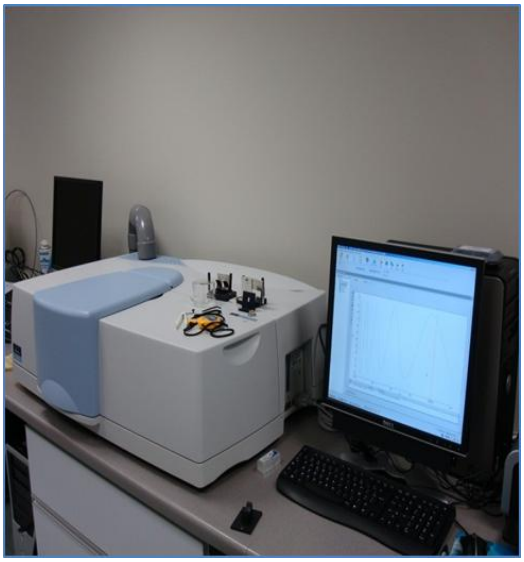
الهدف من التجربة:

يعتبر لون المياه ليس مقياس للتلوث ولكن دليلا عليه ولذلك يجب إزالته. وقياس لون المياه له أهميته في التعرف على التلوث الفجائي واختبار كفاءة التنقية حيث أن الزيادة التدريجية في اللون تدل على نقص الكفاءة.

الأدوات:

- جهاز spectrophotometer.
- نظام للترشيح كما هو مبين بالشكل.





طريقة العمل وحفظ العينة والتداخلات:

١ يتم سحب العينة المراد قياس اللون لها في عبوات من الزجاج او البلاستيك (PE or PP) وحفظها في الثلاجة.

٢ قم بعمل ضبط لـ pH عند ٧.٦ بإستخدام حمض الكبريتيك أو هيدروكسيد الصوديوم حسب قيمة pH لكل ٥٠ مل من العينة.

٣ -قم بعمل ترشيح للعينة الأصلية والعينة ذات pH = ٧.٦ بأستخدام الجهاز المبين.

٤ -قم بقياس كمية الضوء المار(transmittance) من كلتا العينتين بقيم طول موجي كما في الجدول رقم (١٠).مع ملاحظة أن يكون الضبط بإستخدام عينة بلانك من الماء المقطر وضبط قراءة الضوء المار(transmittance) عند ١٠٠%.

التداخلات:

تسبب العكارة تداخل عند تحديد لون العينة ولذلك لابد من إزالة العكارة قبل قياس شدة اللون .ويمكن إزالة العكارة بالترشيح المباشر على ورق الترشيح العادي (Whatman No.٤٥) أو بإستخدام جهاز الطرد المركزي.

تسجيل النتائج:

تستخدم الحسابات الاتية:

١ -يتم تسجيل النتائج لقيم الطول الموجي كما في الجدول رقم (١٠).

٢ -قم بالتعويض بقيم transmittance (X,Y,Z) ثم قم بتجميعها كلا علي حدا ثم قم بضربها في المعامل أسفل جدول (١٠) مع ملاحظة وجود قميتان للمعامل أحداهما عند أستعمال ١٠ قيم المحددة بعلامة * للأطوال الموجي والأخري عند استعمال كل من الـــــــــ ٣٠ قيمة ثم قم بالتعويض.

$$x = \frac{X}{X + Y + Z}$$

$$y = \frac{Y}{X + Y + Z}$$

حيث:y and x trichromatic coefficients

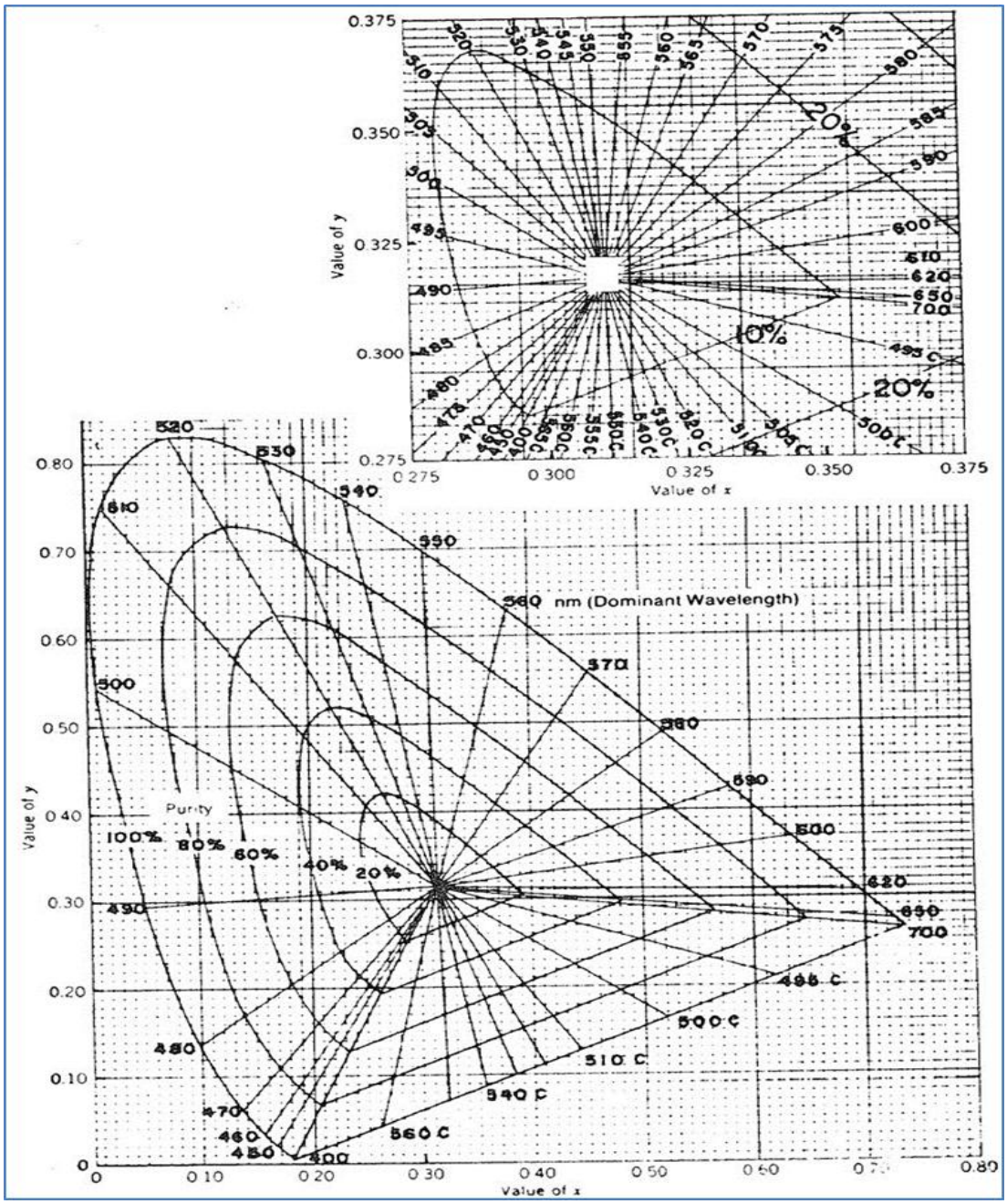
جدول (١٠)

Ordinate No.	X	Y	Z
	Wavelength nm		
1	424.4	465.9	414.1
2*	435.5*	489.5*	422.2*
3	443.9	500.4	426.3
4	452.1	508.7	429.4
5*	461.2*	515.2*	432.0*
6	474.0	520.6	434.3
7	531.2	525.4	436.5
8*	544.3*	529.8*	438.6*
9	552.4	533.9	440.6
10	558.7	537.7	442.5
11*	564.1*	541.4*	444.4*
12	568.9	544.9	446.3
13	573.2	548.4	448.2
14*	577.4*	551.8*	450.1*
15	581.3	555.1	452.1
16	585.0	558.5	454.0
17*	588.7*	561.9*	455.9*
18	592.4	565.3	457.9
19	596.0	568.9	459.9
20*	599.6*	572.5*	462.0*
21	603.3	576.4	464.1
22	607.0	580.4	466.3
23*	610.9*	584.8*	468.7*
24	615.0	589.6	471.4
25	619.4	594.8	474.3
26*	624.2*	600.8*	477.7*
27	629.8	607.7	481.8
28	636.6	616.1	487.2
29*	645.9*	627.3*	495.2*
30	663.0	647.4	511.2
Factors When 30 Ordinates Used			

Ordinate No.	X	Y	Z
	Wavelength nm		
	0.032 69	0.033 33	0.039 38
Factors When 10 Ordinates Used			
	0.098 06	0.100 00	0.118 14

٣ -بعد حساب قيم x,y نقوم بالتعويض للحصول علي قيم الطول الموجي السائد

(dominant wavelength nm) ونسبة النقاء بال_____% من المخطط التالي:



٤ قم بتسجيل قيمة النتائج بالطريقة الأتية (قيمة الطول الموجي السائد، درجة اللون من جدول ١١ ودرجة النقاء).

جدول (١١)

COLOR HUES FOR DOMINANT WAVELENGTH RANGES

Wavelength Range nm	Hue
400–465	Violet
465–482	Blue
482–497	Blue-green
497–530	Green
530–575	Greenish yellow
575–580	Yellow
580–587	Yellowish orange
587–598	Orange
598–620	Orange-red
620–700	Red
400–530c*	Blue-purple
530c–700*	Red-purple

٣- الأس الأيدروجينى (pH).

الأساس العلمي:

استخدام قطبي الزجاج مع قطب مرجع ى لقياس تركيز أيون الأيدروجين. يعتمد علي التأين وتعرف عملية التأين بأنها" :عملية تحول جزيئات مركب ما، إلى أيونات."وبالنسبة إلى الماء، فإن معدل تأينه يعتبر ضعيفاً جداً، إذا ما قورن بمعدلات التأين في المركبات الأخرى .إلا أنه قد يحدث تحلل لبعض جزيئات الماء، كما أن زيادة تركيز أيون الهيدروجين، تعني زيادة الحموضة لهذا السائل، في حين تعني الزيادة في تركيز أيون الهيدروكسيل، زيادة القلوية . وفي حالة الماء النقي، يكون عدد أيونات الهيدروجين، مساوياً لعدد أيونات الهيدروكسيل، أي أنه متعادل. وتعتمد فكرة القطب الزجاجي علي أن الجهد المتكون خلال الغشاء الزجاجي الموجود بين تركيزين مختلفين من أيونات الهيدروجين يزيد بزياده تركيز أيون الهيدروجين في المحلول المراد قياسة.

وهو تعبير عن شدة قاعدية أو حمضية المياه وقد استحدث العالم سنورسون ما يعرف بالرقم الهيدروجيني pH والذى يساوى:

$$pH = -\log [H^+]$$

إذا اخذنا في الإعتبار أن ثابت التأين للماء (K_w) نجد أن:

$$K_w = [H^+] [OH^-] = ١\times١٠^{-١٤} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (١)$$

بأخذ اللوغاريتم للمعادلة (١) نحصل على:

$$\log K_W = \log [H^+] + \log [OH^-] = -١٤ \ldots\ldots\ldots (٢)$$

بالضرب في إشارة سالب (−) نحصل على:

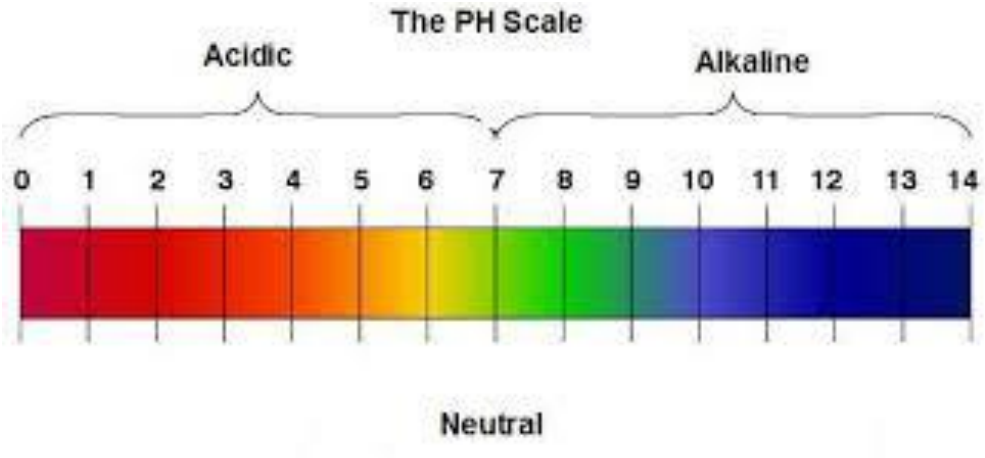
$$-\log K_w = (-\log [H^+]) + (-\log [OH^-]) = ١٤ \ldots\ldots\ldots (٣)$$

و بما إن (log −) يعنى p نجد ان:

$$pKw = pH + pOH = ١٤ \ldots\ldots\ldots (٤)$$

و معظم المياه تتراوح قيمتها ما بين (٦−٩) وتكون المياه حمضية إذا كانت أيونات الهيدروجين(H^+) أكثر من أيونات الهيدروكسيد (OH^-) وقلوية إذا حدث العكس ومتعادلة إذا تساوت القيمتان.

والماء الحمضي هو الذي يسبب تآكلا في المعدات أما الماء القلوي فيرسب قشورًا.

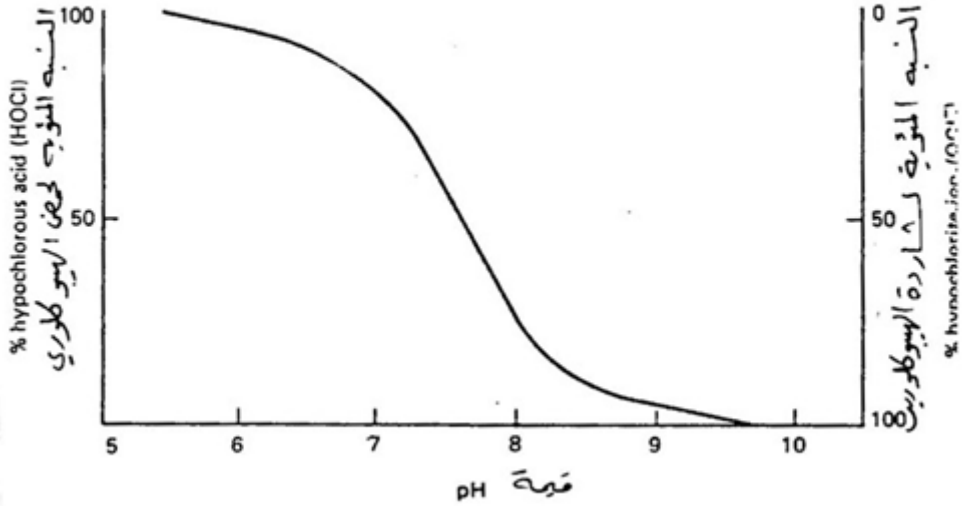


الهدف من التجربة:

يعتبر قياس الأس الايدروجينى pH من أهـــم المعايير، وأكثرهـــا استخدامـــاً في التحقق من نوعية المياه، ويستخدم هذا الأس في حسابات القلوية، وثانى أكسيد الكربون، والتوازنات الحامضية والقاعدية، ومايمكن أن يحدث لشبكة الصرف، وكفـــاءة المعالجـــات البيولوجيـــة. ويتراوح الأس الأيدروجيـــنى للمياه الطبيعية عادة بين ٤ و٩، وتميل معظمها إلى القلوية لوجود البيكربونات، والكربونات لبعض عناصر الإقلاء والإقلاء الأرضية.

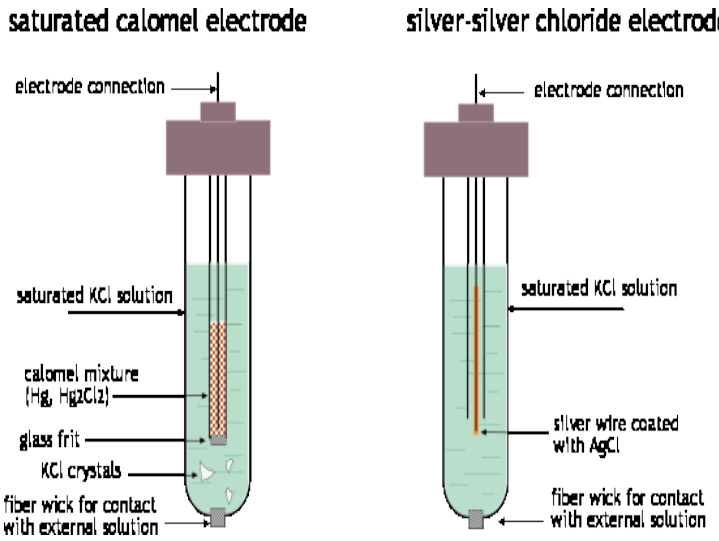
وللرقم الهيدروجيني للماء تأثير ملحوظ على معدات وعمليات محطة معالجة المياه فعند قيمة أقل من ٧ يميل الماء إلى إحداث تأكل المعدات والمواد الأخري التي تلامسها وعند قيمة أعلى من ٧ يميل الماء إلى ترسيب القشور وهذا ملاحظ بصفة خاصة في خطوط المواسير وفي أجهزة تسخين المياه المنزلية.

يؤثر درجة التأين الأيدروجيني pH على الفعل التطهيري للكلور حيث أنه يحدد نسبة أيون الهيبوكلوريت (ClO^-) وحامض الهيبوكلوروس (HOCl) وتبعا لهذا الرقم اليدروجينى إما أن يوجد أيون هيبوكلوريت أكثر أو حامض هيبوكلوروس أكثر وكما هو مبين في الشكل التالي يمكن للتفكك أن يحدث في أي من الاتجاهين، وتتزحزح نسبة الأيونات مع تغير درجة التأين الأيدروجين ى. كما أن التغيير في درجة الـــ pH قد تؤثر على مقادير الجرعات المطلوبة للترويب.



الأدوات:

- جهاز قياس الآس الهيدروجيني.
- كأس من البلاستيك.



طريقة العمل وحفظ العينة والتداخلات:

١ يتم قياس الآس الهيدروجيني في الموقع.

الإحتياطات:

١ – يتم معايرة الجهاز بالمحاليل المنظمة (Buffer solution)٤، ٧، ١٠ يوميا.

٢ –لا تلمس القطب الزجاجى باليد.

٣ – أستخدم كأس من البلاستيك للحفاظ على القطب الزجاجى من الكسر.

٤ – تحفظ الخلية أو قطب جهاز قياس الآس الهيدروجينى في محلول ٣ مول من كلوريد البوتاسيوم في فترة عدم الإستخدام

تسجيل النتائج:

يتم تسجيل الآس الهيدروجيني.

٤– الكلور المتبقي الطريقة اللونية بإستخدام الـــــــــ SM:٤٥٠٠-Cl^- B DPD

الأساس العلمي:

تعتمد هذه الطريقة على تفاعل الكلور الحر مع كاشف الـــــــــــ

DPD (N.N-Diethyl-p-phenylenediamine) الذى يعطى لون أحمر مميز.

كما تفيد هذه الطريقة في الكشف عن الكلور الحر المتبقي إذا كان موجوداً بتركيزات ضئيلة (حساسية هذه الطريقة تصل إلى ١٠ ميكروجرام / لتر.

الهدف من التجربة:

يستعمل الكلور في محطات المياه السطحية:

أولاً كمعالجة مبدئية في إيقاف تكاثر وتثبيط الطحالب وقتل بعض أنواع البكتريا في أحواض الترسيب (المروقات) ويضاف إلي المياه العكرة المدفوعة إلي أحواض التوزيع قبل عملية الترويب.

ثانياً كعامل متوسط للمياه المروقه قبل عملية الترشيح، و لخفض تعداد البكتريا في الماء قبل وصولها إلى المرشح مما يخفف الحمل البكتيري علي المرشح.
و لتطهير رمل المرشح نظرا لمرور المياه بما فيها من كلور في مسام الرمل أثناء عملية الترشيح.

وأخيراً كمعالجة نهائية للمياه المرشحة ويضاف إلي هذه المياه قبل دخولها للخزان الأرضي حيث يتم التفاعل المطلوب في وقت تلامس معين. وبالتالي فمراقبة نسب الكلور مهمة جداً.

الادوات:

- جهاز قياس الكلور cholorimeter.
- اقراص القياس
- ((for total chlorine (combined + free)) DPD٤ ,(for free chlorine) DPD١. ويمكن ايضا تحضير DPD عمليا.

طريقة العمل وحفظ العينة والتداخلات:

يتم قياس الكلور في الموقع.

بإضافة قرص الكلور ١ أو ٤ حسب نوع الكلور المراد قياسة ويتم القياس بالجهاز بع د تصفير الجهاز بإستخدام العينة بدون آضافات.

تسجيل النتائج:

يتم تسجيل كمية الكلور بملجم/ لتر.

٥- المواد الصلبة الكلية: ٢٥٤٠-SM .

الآساس العلمي:

تختلف كميـــة المواد الصلبـــة الكليـــة في مياه الشرب عنها في مياه الصرف الصحي، ومياه الصرف الصناعي. ومحتوى المياه من المواد الصلبة يقاس بتبخير لتر واحد من المياه عند درجة ١٠٣م، ١٠٥م، ثم وزن كتلة المواد الصلبة المتبقية.

وتصنف المواد الصلبة إلى:

أ -مواد عالقة Suspended،

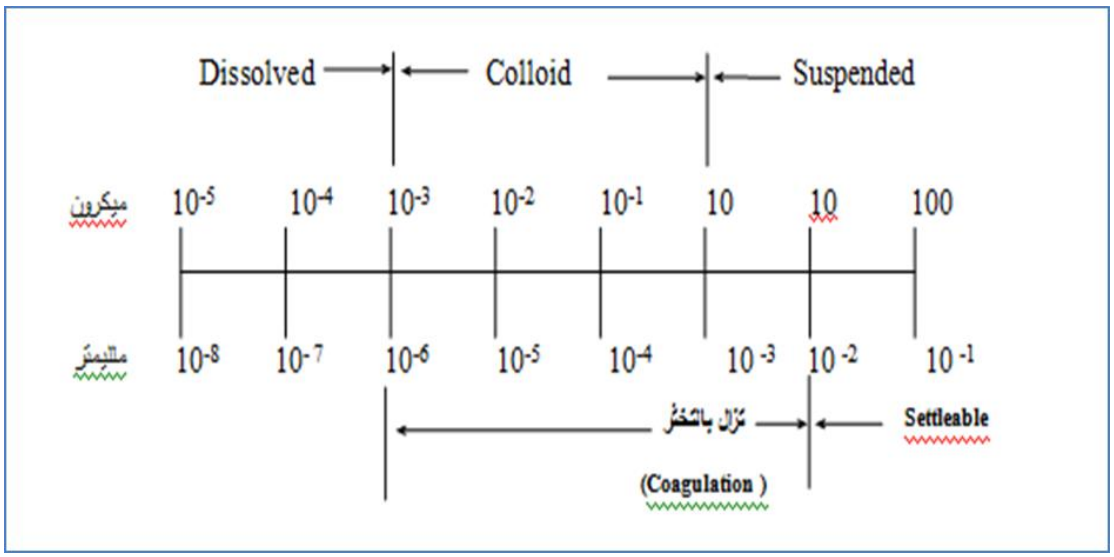
وهي المواد التي لا يقل نصف قطرها عن ١ ميكرون على الأقل.

ب- مواد قابلة للترسيب Settleable:

وهي التي تترسب في قاع مخروط إمهوف (Imhoff Cone) في فترة زمنية مقدارها ساعة، وهي مقياس لما يمكن إزالته بالترسيب.

جـــ- مواد ذائبة أو قابلة للترشيح Filterable or dissolved:

وهذه المواد إما أن تكون غروية (نصف قطر حبيباتها يتراوح بين ١ ميللى ميكرون إلى ١ ميكرون) أو مواد ذائبة كلية.



الهدف من التجربة:

كلما زادت كمية الأملاح الذائبة، كلما ساءت نوعية المياه سواء للاستخدام الآدمى، أو الصناعي. لذلك فإن تركيزاً قدره ١٠٠٠ ملليجرام/لتر يعتبر مستوى معقولاً في مياه الشرب. وتحسب هذه الكمية بتبخير لتر من الماء بعد ترشيحه، ووزن الراسب المتكون.

الأدوات:

- جهاز قياس التوصيل.
- كأس زجاجى.
- فرن تجفيف كهربي.
- بوتقة.
- مجفف desiccator.

طريقة العمل وحفظ العينة والتداخلات:

تقدير المواد الصلبة الكلية total solids

تجمع العينات في عبوات بلاستيك أو زجاج بشرط عدم إلتصاق المواد العالقة على جدرانها وتجري التحاليل فور جمع العينة لعدم امكانية إضافة مواد حافظة وتحفظ العينة من لحظة جمعها إلى وقت تحليلها (خلال ٢٤ ساعة) عند درجة حرارة ٤°م لتقليل التحلل البكتيري للمواد الصلبة.

يقاس محتوى المياه من المواد الصلبة الكلية بنقل لتر واحد أو حجم مناسب من المياه بعد رجها جيدا إلى كأس زجاجي أو بوتقة بورسلين جافة سبق وزنها. يجري تبخير للعينة على قرص تسخين حتى قرب الجفاف ثم توضع لمدة ساعة على الأقل في فرن تجفيف كهربائي عند ١٠٣ –١٠٥ °م. ثم يوزن الكأس ويعاد التسخين والوزن حتى يثبت الوزن.

المواد الصلبة الكلية (ملليجرام/ لتر) = (أ – ب) × ١٠٠٠/ ج

حيث:

أ = وزن الكأس + الراسب

ب = وزن الكأس فارغا

ج = حجم العينة المستخدمة بالملليلتر

تقدير المواد الصلبة الذائبة: Dissolved Solids

ينقل حجم معلوم مناسب من العينة بعد رجها جيدا إلى بوتقة ترشيح سبق وزنها ومتصلة بجهاز ترشيح وترشح العينة. ينقل الرشيح إلى كأس زجاجى أو بوتقة بورسلين وتوضع البوتقة أو الكأس على قرص تسخين أو في فرن كهربى عند درجة حرارة ١٨٠ °م لمدة ساعة على الأقل ثم توزن البوتقة. يعاد التسخين والوزن حتى يثبت الوزن.

المواد الصلبة الذائبة (ملليجرام/ لتر) = (أ – ب) × ١٠٠٠/ ج

حيث:

أ = وزن البوتقة + الراسب

ب = وزن البوتقة فارغة

ج = حجم العينة المستخدمة بالملليلتر

و يمكن أيضا إستخدام التوصيل الكهربائي لقياس الأملاح الذائبة الكلية.

Total Dissolved Solids (TDS)

الأساس العلمي:

يتفاوت قياس التوصيل الكهربي نتيجة ذوبان بعض الأملاح المعدنية وذلك لأن أيونات الأملاح هي المسئولة عن نقل التيار الكهربائي داخل المياه ويمكن إستخدام قيم التوصيل الكهربي في معرفة كمية المواد الذائبة بإستخدام العلاقة الطردية بين تركيز الأيونات والتوصيل الكهربائي .وتؤثر درجة الحرارة في قراءة التوصيل الكهربى كما هو مبين من المعادلة الآتية.

$$\text{Conductivity at } 25^{\circ}C = \frac{Conductivity \quad \text{Reading} \quad (ms/m \quad or \quad \mu \quad mho/cm)}{1 \quad + \quad 0.0191 \quad (T-25)}$$

والتي يجب أخذها في الأعتبار والحسابات. لاحظ أن بعض الأجهزة الحديثة تقوم بتصحيح قراءة التوصيل عند درجة حرارة ٢٥ مئوية دون الحاجة إلي أجراء حسابات اخري.

الإحتياطات:

١ .تحفظ الخلية أو أقطاب التوصيل في ماء مقطر في فترة عدم الإستخدام.

٢ .تسجل درجة الحرارة ويجري تصحيح للقيم المقروءة.

٣ .تجري معايرة للخلية المستخدمة.

٤ .يستخدم ماء توصيل (Conductivity Water) عند تحضير المحاليل القياسية.

٥ .يجري قياس التوصيل بأسرع ما يمكن.

وذلك بإستخدام المعادلات الآتية:-

ينص قانون أوم (Ohm'S Law)على أن شدة التيار الكهربي (I) المقاس بالأمبير والمار خلال موصل كهربى يتناسب طرديا مع الجهد الكهربي (E) المقاس بالفولت. وكذلك يتناسب عكسيا مع المقاومة (R) المقاسة بالأوم (Ohm) طبقا للمعادلة التالية:

I=E / R..... (١)

حيث يعرف مقلوب المقاومة (١/R) بالتوصيل (G) ويقاس بوحدة $Ohm^{-١}$ أو وحدة سيمنز S.

بما أن مقاومة محلول متجانس ذى أبعاد: طول (L) ومساحة مقطع (a) تساوى:

R = P.L/a..... (٢)

حيث تمثل P المقاومة النوعية resistivity وهي تمثل خاصية مميزة للماده وتقاس بوحدة Ohm. cm.

من المعادلة (٢) يمكن حساب المقاومة النوعية للماده كالتالى:

P = R.a/ L..... (٣)

بما أن مقلوب المقاومة النوعية (١ / P) يعرف بالتوصيلية (K) إذن:

K = ١ / P = L / R.a..... (٤)

وتقاس التوصيلية بوحدة ميكرو سيمنز /سم. (µS/cm)

ومن المعروف أن محلول كلوريد البوتاسيوم تركيز ٠.٠١ مولاري يعطي توصيل ١٤١٣µS/cm عند درجة حرارة ٢٥ °م. ومنها يمكن استنتاج التالي:

KCl (٠.٠١M) ⟶ ١٤١٣ µs/cm

٧٤٥ mg ⟶ ١٤١٣ µs/cm

y mg ⟶ x µs/cm

y = x × ٧٤٥ /١٤١٣ = x × ٠.٥٣ ppm = TDS

وعند ضرب قيمة التوصيل الكهربي (ميكروسيمنز/سم) في هذا المعامل٠,٥٣ينتج كمية المواد الذائبة (ملجم/لتر).

تسجيل النتائج: يتم تسجيل نسب الأملاح المختلفة بملجم/لتر.

٦- التوصيل الكهربى Electrical Conductivity

التوصيل الكهربي، هو رقم للتعبير عن قابلية المحلول المائي لتوصيل التيار الكهربي، وهذه القدرة تعتمد على وجود الأملاح، وتركيزها، وتكافؤات أيوناتها المعدنية ويمكن إستخدام قيم التوصيل الكهربي في معرفة كمية المواد الذائبة.

الهدف من التجربة:

كلما زادت كمية الأملاح الذائبة، كلما ازداد عدد الأيونات الحرة القادرة على توصيل التيار الكهربى بالمحلول و كلما ازداد تركيز هذه الأيونات، ازدادت مقدرة هذا المحلول على التوصيل الكهربى

الأدوات:

- جهاز قياس التوصيل الكهربى.
- كأس من البلاستيك.

طريقة العمل وحفظ العينة والتداخلات:

يتم غسيل قطب قياس التوصيل الكهربى بالماء المقطر بين كل قياس

الإحتياطات:

١ – يتم معايرة الجهاز بإستخدام محلول كلوريد البوتاسيوم تركيز ٠.٠١ مولارى لضمان دقة النتائج.

٢ –تحفظ الخلية أو قطب جهاز قياس التوصيل الكهربى في ماء مقطر في فترة عدم الإستخدام

تسجيل النتائج:

يتم تسجيل التوصيل الكهربى بوحدات .µS/cm

٧– العكارة (Turbidity):B ٢١٣٠ –SM

الأساس العلمي:

العكارة هي تعبير مبسط لعتامة المياه الطبيعية "Cloudiness" وتعتمد طريقة قياس العكارة على مقارنة كمية الضوء الذي يتشتت عند سقوطه على محلول معلق قياسي (فورمازين) بكمية الضوء المشتت عند إستخدام العينة وكلما زادت العكارة ازداد التشتت.

الهدف من التجربة:

تأثير العكارة على مراحل التنقية:

- انسداد المرشحات أثناء عملية التنقية وتكرار عمليات الغسيل. ·
- زيادة تكون الروبة والرواسب في المروقات وخزانات المياه. ·
- انخفاض كفاءة المعالجة وارتفاع درجة تعكر المياه للمراحل المختلفة. ·
- زيادة استهلاك الكيماويات.
- هناك علاقة بين العكارة والمحتوى البكتيري في المياه حيث تلتصق المواد الغذائية على سطح الجزيئات المسببة للعكارة وبالتالي تساعد على النمو البكتيري. كما أن العكارة تحد من اكتشاف البكتريا والفيروسات بالمياه.

التأثير على الصحة العامة:

طالما توجد جسيمات تعكر المياه فإنها تكون مخابئ تلجأ إليها الكائنات الحية للهروب من تأثير الكلور عليها فلا يتم التطهير الكامل وتصل للمستهلك وتصيبه بالأمراض، لذا حددت المواصفات القياسية أن أقصى مستويات للعكارة في مياه الشرب تكون ١NTU

يتسبب وجود مواد عالقة في المياه في تعكيرها، وهذه المواد مثل الطمي، والمواد العضوية، وغير العضوية الدقيقة، والمواد العضوية الذائبة، والكائنات الميكروسكوبية .وصفاء الماء عنصر هام في تحديد صلاحية نوعية المياه التي يستخدمها الإنسان ولقد اقترحت منظمة الصحة العالمية(WHO) ، أنه يجب أن تكون العكارة أقل من ٥ ويجب التأكيد على أن ارتفاع عكارة المياه يؤدي إلى استهلاك مزيد من مواد الترويب والتطهير.

الادوات:

- جهاز قياس العكارة turbidemeter.

طريقة العمل وحفظ العينة والتداخلات:

- تقلب العينة بلطف من ٥- ٧ مرات وتترك لمدة دقيقة حتى تختفي كل الفقاقيع منها ثم تصب العينة في أنبوبة جهاز تقدير العكارة وتقرأ درجة العكاره مباشرة من الجهاز.
- تقاس درجة عكارة العينة مباشرة بمجرد وصول العينة إلى المعمل ولايتم التأخير في قياس هذه الصفة التحليلية.
- جهاز قياس العكارة من الأجهزة التي تحتاج لتشغيلها قبل البدء في القياس بفترة تصل إلى نصف الساعة.

تسجيل النتائج:

يتم تسجيل العكارة بوحدة.NTU

٨- العسر (Hardness): SM -٢٣٢٠ B

الأساس العلمي:

يعرف عسر المياه بإحتواء الماء على تركيزات عالية من عنصري الكالسيوم والمغنسيوم ويعبرعنه ككربونات كالسيوم (ملجم /لتر) وينعكس في عدم قدرة الماء على تكوين رغوة مع الصابون

وينقسم العسر إلى نوعين:

أ-عسر مؤقت:

بسبب وجود أملاح بيكربونات(الكالسيوم أو المغنسيوم) والتي تذيبها المياه المحتوية على ثاني أكسيد الكربون.

ب-عسر دائم:

بسبب أملاح كبريتات وكلوريدات الكالسيوم أو كبريتات وكلوريدات المغنسيوم والتي تذوب بصورة طبيعية في المياه طالما وجدت هذه الأملاح في التربة التي تمر بها المياه.

وفي حين يمكن التخلص من العسر الموقت بتسخين المياه لتحويل بيكربونات الكالسيوم والمغنسيوم الذائبة إلى كربونات الكالسيوم والمغنسيوم غير الذائبة.

$$Ca(HCO_3)_2 = CaCO_3 + CO_2 + H_2O$$

$$Mg(HCO_3)_2 = MgCO_3 + CO_2 + H_2O$$

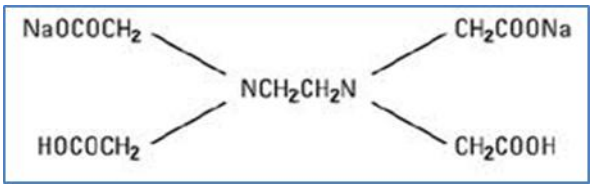
أما العسر الدائم فإنه يصعب التخلص منه حيث لا يؤثر التسخين على كلوريدات وكبريتات الكالسيوم والمغنسيوم ويمكن التخلص من العسر الدائم بوسائل وتقنيات أخري مثل التبخير ثم التكثيف والتناضح العكسى (R.O) المبادلات الأيونية.

تأثير العسر في عمليات التنقية:

يسبب العسر المؤقت تكوين طبقات من القشور داخل مواسير المياه بالإضافة إلى أن المياه العسرة تسبب مشاكل في التنقية، ولا يمكن التخلص منها في المراحل الأولية بالطرق التقليدية المتبعة.

أساس الطريقة:

في وجود اريكروم بلاك تى (Eriochrome Black T) كدليل لتقدير نسبة العسر الكلى في مياه الشرب. باستخدام Ethylene Diamine Tetra Acetic acid (EDTA) وأملاحه مع الصوديوم و التي تكون مركباً قابلاً للذوبان عند إضافته إلى محلول يحتوى على كاتيونات معادن معينة. وفي وجود EBT الايروكروم ككاشف



Ethylene Diamine Tetra Acetic acid disodium salt

أما تقدير عسر الكالسيوم فيستخدم muroxide ككاشف.

الهدف من التجربة:

تعيين نسبة العسر حيث يتسبب العسر في الأتي:

الماء العسر هو الذي يحتوى على مقادير ملحوظة من الكالسيوم Ca والماغنسيوم Mg، وقد يتسبب الماء العسر في مشكلة تكوين قشور داخل المواسير والعدادات مما يقلل من سعة المواسير كما يتسبب في سوء أداء العدادات وإذا كان سخانا فإن القشور تتكون أسرع كما في الغلايات وسخانات المياه المنزلية، والماء العسر له طعم غير مقبول ويتطلب صابون أكثر عند استعماله في الغسيل.

و يقدر عسر الماء بـــــــــــــــ(ملجم / ل) ككربونات الكالسيوم ($Ca\ CO_3$)

درجات عسر الماء:

من صفر إلى ٦٠ (ملجم / لتر) ⟸ ماء يسر

من ٦١ إلى ١٢٠ (ملجم / لتر) ⟸ متوسط العسر

من ١٢١ إلى ١٨٠ (ملجم / لتر) ⟸ ماء عسر

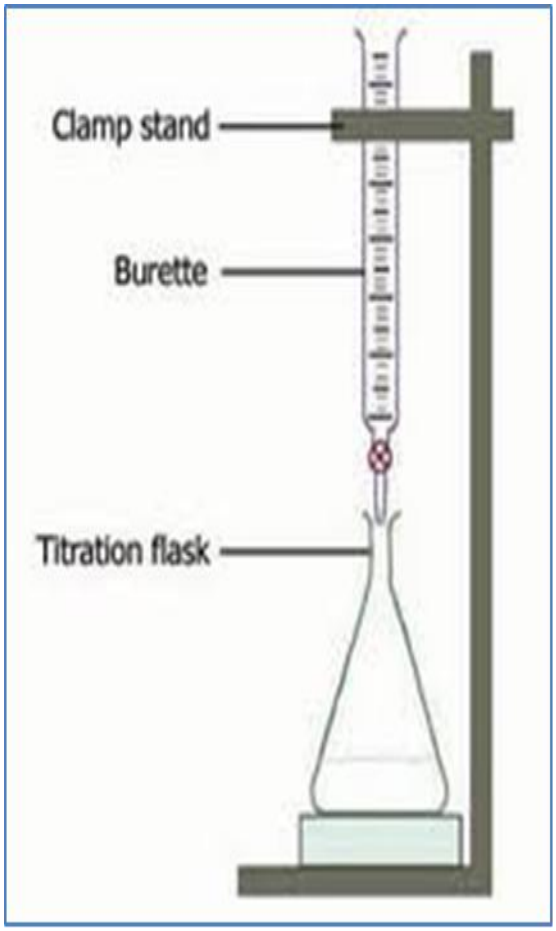
أكثر من ١٨٠ (ملجم / لتر) ⟸ ماء عسر جدا

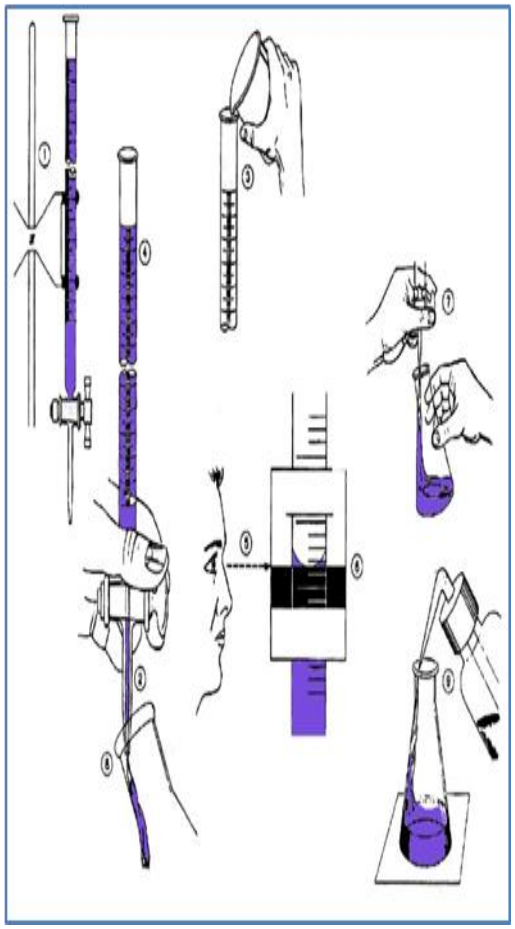
ويبين قرار وزير الصحة والسكان رقم ٤٥٨ لسنة ٢٠٠٧ بشأن الحدود القصوى للمعايير والمواصفات الواجب توافرها في المياه الصالحة للشرب والإستخدام المنزلى إن الحد الأقصى المسموح به للعسر الكلى بالمياه هو٥٠٠ ملجم لكل لتر مقاسه ك$CaCO_3$.

الأدوات:

الأدوات المستخدمة في المعايرة:

- سحاحة
- دورق مخروطى
- كأس زجاجى
- مخبار مدرج





طريقة العمل وحفظ العينة والتداخلات:

العسر الكلي:

٥٠ مل من عينة الماء + ٢ مل من لـــــــــــــbuffer solution (لكي يعطى رقم هيدروجينى حوالى ١٠±٠.١) وبالتالي يتم تحديد أيون الكالسيوم والماغنسيوم معا.

- يضاف كمية قليلة من Eriochromblack–T يعطي اللون الوردي
- نعاير مع E.D.T.A يتحول اللون من الوردي إلي اللون الازرق
- العسر الكلى = حجم E.D.T.A (مل)× ٢٠ = العسر الكلي ملجم / لتر ككربونات كالسيوم.

عسر الكالسيوم:

٥٠ مل من عينة الماء + ٢ مل ٤N/NaOH + دليل الميروكسيد يعطي اللون الوردي يتم إضافة هيدروكسيد صوديوم لكي يعطى رقم هيدروجينى حوالى(١٢–١٣) وبالتالي يتم تحديد أيون الكالسيوم فقط.

- نعاير مع E.D.T.A يتحول من اللون الوردي إلي اللون البنفسجي
- عسرالكالسيوم = حجم E.D.T.A ×٢٠ ملجم / لتر ككربونات كالسيوم.
- الكالسيوم=عسر الكالسيوم ×٠.٤
- عسر الماغنسيوم =العسر الكلى– عسر الكالسيوم
- الماغنسيوم = عسر الماغنسيوم × ٠.٢٤

التداخلات المحتملة:

- زيادة الرقم الهيدروجينى بدرجة كبيرة يسبب ترسيب كربونات الكالسيوم وهيدروكسيد الماغنسيوم لذا وجد أن الرقم الهيدروجينى المناسب هو (١٠ ±٠.١).
- وألا يزيد زمن إتمام المعايرة عن ٥ دقائق لتقليل ترسيب كربونات الكالسيوم.

جمع وحفظ العينة:–

- يجب جمع العينات في أوعية زجاجية أو بلاستكية بحجم لايقل عن ١٠٠ مل ويجب تحليل العينة فورا (خلال ساعة)،ويمكن تخزينها لمدة سبعة أيام إذا حمضت العينة وحفظت في ثلاجة عند درجة حرارة ٤°م مع ملاحظة أن تكون العينة في درجة حرارة الغرفة عند تحليلها.

تسجيل النتائج:

يتم تسجيل العسر الكلي وعسر الكالسيوم بالمليجرام/لتر.($CaCO_3$) as

٩- الكلوريدات (Chlorides). B CL^- ٤٥٠٠- :SM

الأساس العلمي:

تتفاعل الكلوريدات مع نترات الفضة في محلول متعادل أو قلوى ضعيف في وجود كرومات البوتاسيوم ككاشف حيث يتم ترسيب كلوريد الفضة كميا و هو راسب أبيض قبل تكون كرومات الفضة الحمراء.

$$Ag^{+}_{(aq.)} + Cl^{-} \longrightarrow AgCl_{(S.)}$$

وبإستمرار المعايرة وعند تمام ترسيب كلوريد الفضة تتكون كرومات الفضة ذات اللون البنى المحمر وهو اللون الذى يبين نهاية المعايرة.

$$Ag^{+}_{(aq)} + CrO_4^{-2}{}_{(aq)} \longrightarrow Ag_2CrO_{4(s)}$$

الهدف من التجربة:

تعيين نسبة الكلوريدات حيث:

توجد أملاح الكلوريدات في المياه الخام ولكن بنسبة قليلة و إضافة الكلور للمياه الخام تزيد من نسب أملاح الكلوريدات في المياه المرشحة ولكن بنسب قليلة.

إذا زادت تركيزات الكلوريدات بالمياه يمكن أن تعطى طعما مالحا للمياه خاصة إذا كانت الكاتيونات المتواجدة هي الصوديوم (في حالة تقديرها كـــــــــــــ NaCl يطلق عليها الملوحة salinity.

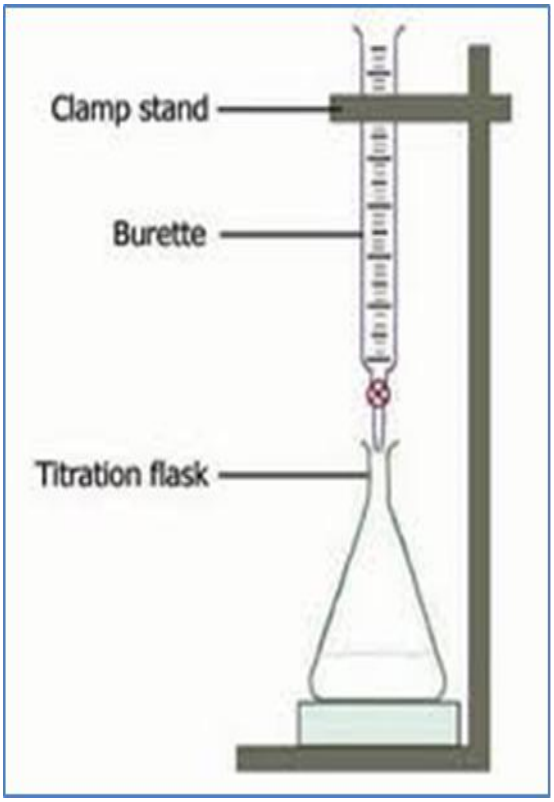
و يرجع زيادة الكلوريدات في المياه المعالجة عنها في العكرة بسبب خروج حمض الهيدروكلوريك حسب المعادلة التالية:

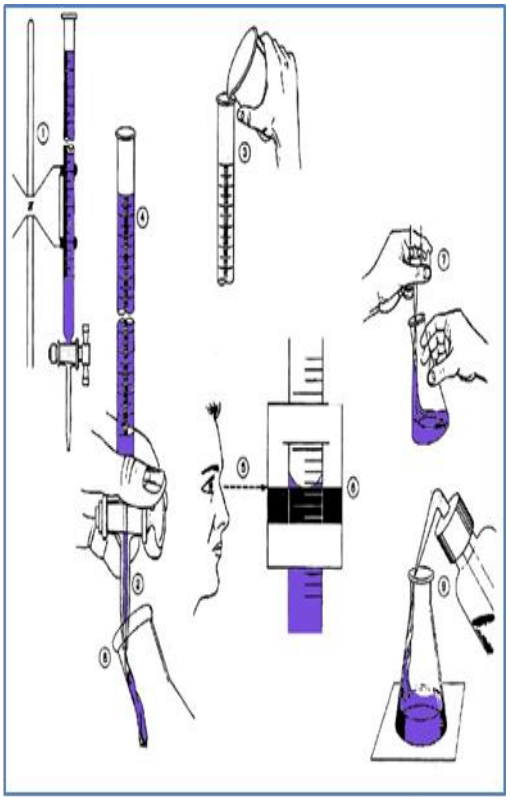
$$CL_2 + H_2O \rightleftharpoons HOCL + HCL$$

ويرجع وجود الكلوريدات في مصادر المياه الطبيعية إلى ذوبانية بعض الصخور المحتوية على كلوريد الصوديوم عند مرور المياه عليها، وكذلك من التربة القريبة من السواحل بالإضافة لما قد يصل لمصادر المياه من صرف صناعي، وزراعي، وصحي ويعتبر التركيز المعتاد من ٥-٢٠ ملجم / لتر. وكمية الكلوريدات التي يفرزها فرد آدمي واحد في اليوم تصل إلى ٦ جم/ فرد. وحيث أن الكلوريد لا يتم معالجته، أو التخلص منها في أي مرحلة من مراحل المعالجة، لذلك فـإرتفاع مستوى الكلوريدات يعتبر مؤشراً على تسرب أو تلوث من مصادر الصرف ولا يجب أن يزيد مستوى الكلوريدات في مياه الشرب عن ٢٥٠ ميللجرام/ لتر.

الأدوات:

الأدوات المستخدمة في المعايرة:





الأدوات المستخدمة في المعايرة:

- سحاحة
- دورق مخروطى
- كأس زجاجى
- مخبار مدرج

طريقة العمل وحفظ العينة والتداخلات:

- ٥٠ مل من العينة + ١٠ نقط من محلول كرومات البوتاسيوم ← يعطي لون أصفر
- نعاير مع محلول نترات الفضة حتي يتحول اللون إلي بني فاتح أو بنى محمر

- نضرب حجم نترات الفضة في ١٠ فيعطي قيمة أملاح الكلوريدات
- تركيز الكلوريدات (بالملليجرام/ لتر)= حجم نترات الفضة × ١٠

التداخلات المحتملة:

- أملاح الفوسفات إذا تواجدت بنسب عالية (>٢٥ ملجم/ لتر) تسبب تداخل سلبى.
- أملاح الحديد تسبب صعوبة في تحديد نقطة النهاية إذا زادت عن ١٠ ملجم/ لتر

جمع وحفظ العينة:

تجمع العينة في أوعية زجاجية أو بلاستيكية بحجم لايقل عن ١٠٠ مل ولا ضرورة لموانع خاصة إذا لزم تخزين العينة.

تسجيل النتائج:

يتم تسجيل الكلوريدات (بالملليجرام/لتر).

١٠- القلوية (Alkalinity): ٢٣٢٠: SM

الأساس العلمي:

يتم تقدير نسبة القلوية بإستخدام محلول عياري من حمض الكبريتيك (٠.٠٢ عياري) ويستخدم أي من هذه الكواشف MO –Ph.Ph ولكن Ph.Ph تستخدم عندما تكون pH أكبر من ٨.٣.

Bicarbonate: $2NaHCO_3 + 2H_2SO_4 \rightarrow Na_2SO_4 + 2H_2O + CO_2$

Carbonate :$2Na_2CO_3 + H_2SO_4 \rightarrow 2NaHCO_3 + Na_2SO_4$

Hydroxide: $2NaOH + H_2SO_4 \rightarrow Na_2SO_4 + H_2O$

في حالة إستخدام MO يعطي اللون الأصفر ثم يتغير إلي البرتقالي عند pH= ٣.٧ وفي حالة أستخدام .Ph.Ph يعطي عديم اللون ثم يتحول إلي اللون الوردي عند pH=٨.٣

وهذه الإحتمالات يمكن التعرف عليها وتقدير كمياتها من نتائج معايرة الحمض بإستخدام دليل الفينول فيثالين ودليل الميثيل البرتقالى.

نتيجة المعايرة	القلوية مقدرة على هيئة كربونات كالسيوم (ملجم/لتر)		
	قلوية هيدروكسيد	قلوية كربونات	قلوية بيكربونات
قلوية الفينول فيثالين =صفر	صفر	صفر	القلوية الكلية
قلوية الفينول فيثالين <١/٢ القلوية الكلية	صفر	٢ أ	ب-٢أ
قلوية الفينول فيثالين =١/٢القلوية الكلية	صفر	٢أ	صفر
قلوية الفينول فيثالين >١/٢ القلوية الكلية	٢أ-ب	٢(ب-أ)	صفر
قلوية الفينول فيثالين = القلوية الكلية	ب	صفر	صفر

حيث:

أ= قلوية الفينول فيثالين ملجم/لتر

ب= قلوية الميثيل البرتقالى (القلوية الكلية) ملجم/لتر

الهدف من التجربة:

تعيين نسبة القلوية حيث:

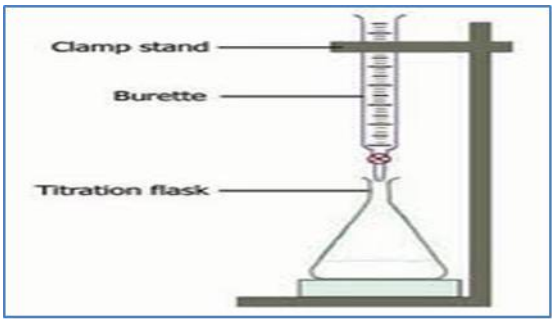
تمثل القلوية قدرة المياه لمعادلة الحموضة وتعزى قلوية المياه الطبيعية إلى أملاح القلويات الضعيفة وتمثل البيكربونات (Biocarbonate)الغالبية العظمى المكونة للقلوية نتيجة تفاعل ثانى أكسيد الكربون مع المواد القاعدية (Basic materials) الموجودة في التربة وفي بعض الأحيان وتحت ظروف معينة تحتوى المياه الطبيعية على كميات محسوسة من أملاح الكربونات والمواد الهيدروكسيلية لذا فإن قلوية المياه الطبيعية ترجع أساسا إلى أملاح الكربونات والبيكربونات والهيدروكسيلات أما أملاح اليورات والبورات والسليكات والفوسفات فإن تأثيرها محدود جدا ولا يذكر.

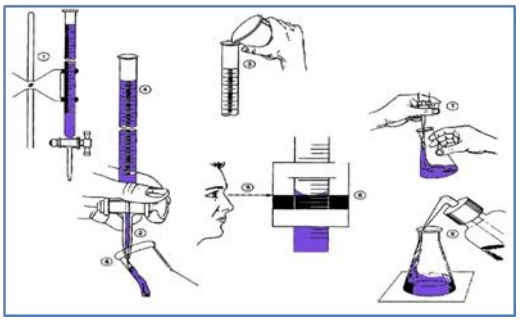
تتأثر الشبه بقلوية المياه الخام فإذا كانت القلوية ليست عالية بدرجة كافية فلن تتكون ندف فعاله. كما أن زيادة العكارة ودرجة الحرارة وقوة الخلط يمكن أيضا أن تحسن من عملية الترويب.

ويؤدي إرتفاع قلوية المياه إلى تزايد التكاثر البيولوجي، وليست هناك أضرار صحية على شرب المياه المحتوية على قلوية حتى ٤٠٠ ملجم/ لتر.

الأدوات:

الأدوات المستخدمة في المعايرة:





- سحاحة
- دورق مخروطى
- كأس زجاجى
- مخبار مدرج

طريقة العمل وحفظ العينة والتداخلات:

- ناخذ ٥٠ ml من العينة + نقطتين من دليل MO.
- نعاير العينة بحمض الكبريتيك (٠.٠٢ N) حتى يتغير اللون الصفر إلى اللون البرتقالى.

نضرب حجم H_2SO_4 في ٢٠ = ملليجرام / لتر

القلوية = (حجم H_2SO_4 مل) × الوزن المكافئ لكربونات الكالسيوم×عيارية H_2SO_4×(٥٠/١٠٠٠)

القلوية= (حجم H_2SO_4)×(٢/١٠٠)×٠.٠٢×٢٠

القلوية=(حجم H_2SO_4)×٢٠ ملليجرام / لتر

التداخلات المحتملة:

- يجب تجنب الرج والهز والتعرض للهواء.
- يجب أن يزال الكلور الحر بالعينة بإستخدام نقطة من محلول ثيوكبريتات الصوديوم

(٠.١M).

جمع وحفظ العينة:

تجمع العينة في أوعية نظيفة ويتم تقدير القلوية في خلال فترة وجيزة لتجنب التغيرات البيولوجية والفيزيقية التي قد تنتج عن التخزين.

تسجيل النتائج:

يتم تسجيل القلوية (بالملليجرام / لتر).

مقدمة:

- **ما هي البكتيريا Bacteria(أنواعها وأشكالها):**
- **البكتيريا:** هي مجموعة الكائنات بدائية النو اه ، تعامل معها الإنسان دون أن يراها فقد عرف أنها تسبب المرض وأستعمل بعضها في عمليات تخمر مختلفة.
- ولقد كان لإكتشاف الميكروسكوب الأثر الكبير في التعرف عليها.
- أول من اكتشف وجود البكتيريا العالم الكيميائي الفرنسي "باستير" حيث أكتشف البكتيريا الهوائية واللاهوائية من خلال تجاربه على التخمر و أكتشف أيضاً بعض خصائصها و أرتبط أسمه بعملية البسترة لقتل الكائنات الحية المجهرية التي يمكن أن توجد بالسوائل وخاصة الحليب وهي ما عرفت بعملية التعقيم sterilization
- أما العالم الألماني روبرت كوخ فقد أسهم في أكتشاف علاقة البكتيريا بالمرض وأول من عمل مزارع نقية للبكتيريا Bacterial cultures.
- ولقد أرتبط أسم البكتيريا كثيراً بالأمراض التي تسببها للإنسان ولكن الأكتشافات الحديثة والتقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دوراً هاماً في كثير من الصناعات الغذائية والدوائية والتخلص من المواد العضوية وغير العضوية وكذلك معالجة مياه الصرف والمعالجة الحيوية لمخلفات المزارع و أستخدامها في إنتاج الطاقة وغاز الميثان.

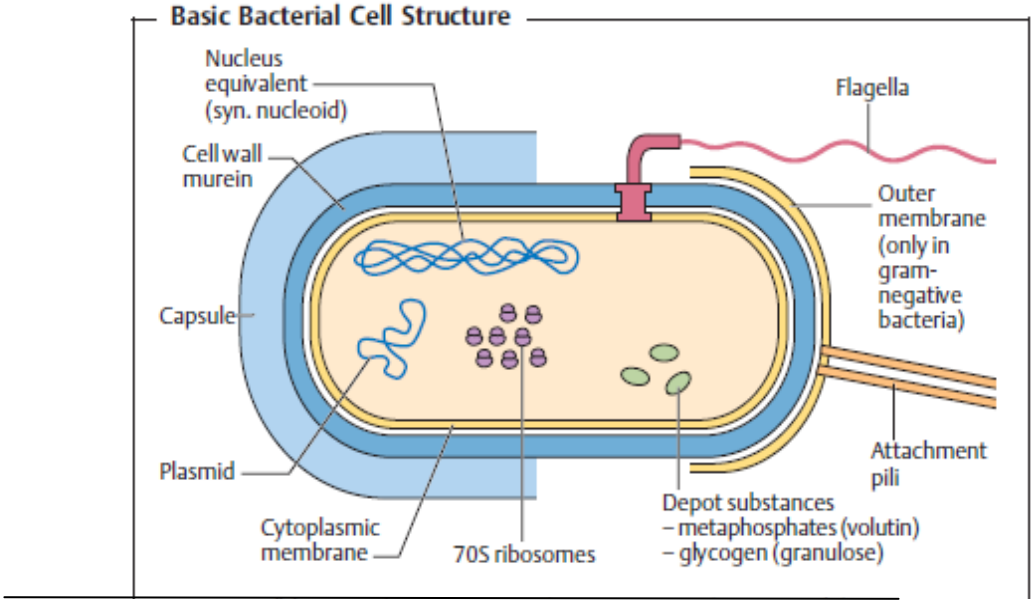
الخصائص العامة للبكتيريا:

١. كائنات دقيقة مجهرية بدائية النواه

٢. تتميز ببساطة التركيب:

إذ تتركب من جدار وغشاء خلويين يحيطان بالسيتوبلازم الذي يحوي كروموسوماً حلقياً واحد DNA ولا يحتوي على بروتين الهستون وقد يحتوي على واحد أو اكثر من جزيئات DNA على شكل دوائر صغيرة تسمى البلازميدات وتتكاثر بصورة مستقلة عن الكروموسوم ، والرايبوسومات وبعض الأجسام التخزينية.

٣. تأتي صلابة جدارها لوجود متعدد الببتيد (ببتيدوجلايكان peptedoglycon) ويكون هذا الجدار متعدد الطبقات في البكتيريا موجبة الجرام Gram positive stain، أو رقيقاً محاطاً بغلاف خارجي مكون من سكريات دهنية وبروتينات في البكتيريا سالبة الجرامGram negative stain



٤. توجد أغلفة خارج الجدار الخلوي مثل الأغمدة – وقد تحاط بعض أنواعها بطبقة مخاطية تسمى المحفظة Capsule تشكل غطاء وتخزن المواد الغذائية وتزيد من قدرة بعض أنواع البكتيريا في إحداث المرض

٥. يختلف حجم الخلية البكتيرية فمنها ما هو متناهي الصغر كما في الميكوبلازما يتراوح قطر الخلية بين ١٠٠–٢٠٠ نانومتر ومنها ما هو كبير قد يصل إلى ٥٠٠ نانومتر كما في بكتيريا القولون العصوية

٦. تتكاثر بالإنشطار الثنائي البسيط

٧. تتغذى على المواد العضوية وغير العضوية تحت الظروف الهوائية واللاهوائية وبعضها ذاتي التغذية Autotroph

٨. تعد الأسواط Flagella وسيلة الحركة في كثير من أنواع البكتيريا وقد يوجد عليها سوط واحد في أحد قطبي الخلية أو سوط في كل قطب أو مجموعة من الأسواط على أحد قطبي الخلية أو سوط في كل قطب أو مجموعة من الأسواط على أحد القطبين أو كلاهما أو قد تحيط الاسواط بجسم الخلية.

٩. تنتشر على سطح خلايا أنواع من البكتيريا سالبة الجرام تراكيب تسمى الشعيرات (الأهداب) Pili وهي مشابهة للأسواط ، إلا أنها أقصر ومن وظائفها أنها تساعد البكتيريا في الإلتصاق بالسطح وهناك نوع منها يسمى الشعيرات الجنسية يساعد على نقل المواد الوراثية أثناء عملية الإقتران.

١٠. ولكي تتم رؤية خلايا البكتيريا بوضوح تحت الميكروسكوب فنحتاج إلى إستعمال أصباغ مختلفة وهي:

أ) الأصباغ العادية:

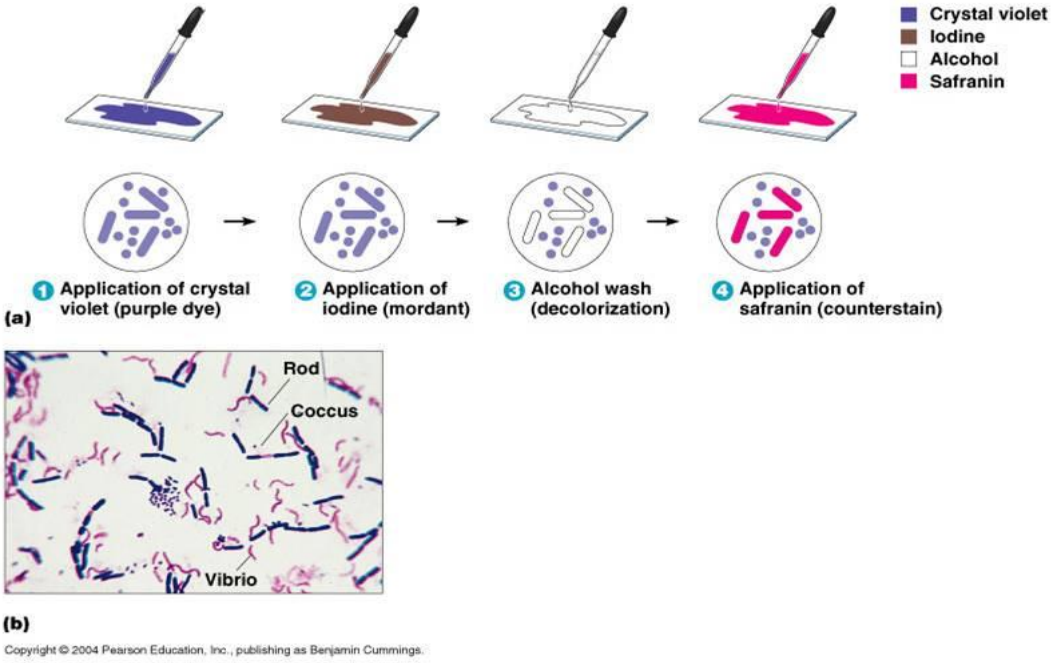
مثل أزرق المثيلين وهو أكثرها استعمالاً تظهر البكتيريا مصبوغة باللون الأزرق

ب) **صبغة جرام** Gram Stain:

وهي تتلخص في إستعمال صبغتين مختلفتين هما:

البنفسج البلوري Crystal violet والصفرانين Safranin

وــ تأخذ بعض أنواع البكتيريا الصبغة البنفسجية فقط وتسمى موجبة لصبغة الجرام. بينما تأخذ أنواع أخرى صبغة الصفرانين وتظهر حمراء أو زهرية وتسمى بكتيريا سالبة لصبغة الغرام وبذلك يمكن تمييز هذين النوعين من البكتيريا وتصنيفها ويعتمد ذلك على تركيب الجدار الخلوي لكل نوع



ج) الصبغة المقاومة للحمض acid fast stain: كالمستخدمة في بكتيريا السل.

د) أصباغ خاصة تساعد على إظهار بعض التراكيب الخلوية: مثل الجراثيم ، والأسواط أو المحفظة.

أشكال البكتيريا

أ) **بكتيريا كروية** Cocci :

وقد تكون مفردة أو على شكل سلاسل مثل بكتيريا إلتهاب الرئة أو تجمعات ثنائية أو رباعية أو أكثر بأشكال غير منتظمة

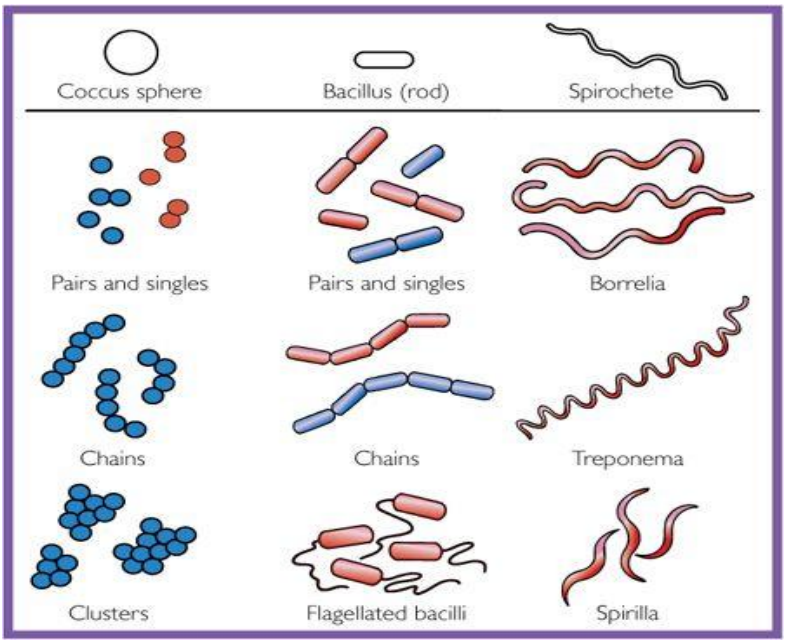
ب) **بكتيريا عصوية** Bacilli :

وقد تكون مفردة أو على شكل سلاسل أو واوية الشكل مثل بكتيريا الكوليرا.

ج) **بكتيريا لولبية**:Spirochete

وهي أكبرها حجماً مثل بكتيريا مرض الزهري.

كما أن هناك العديد من الأشكال المختلفة



الظروف الملائمة لتكاثر البكتيريا ونموها

تتميز البكتيريا بمقدرتها على التأقلم حسب الظروف المحيطة ومما تحتاجه البكتيريا:

١) الغذاء:

تقسم البكتيريا حسب طريقة تغذيتها إلى:

أ) **ذاتية التغذية**: Autotroph

حيث تقوم بتجهيز إحتياجاتها الغذائية من عناصر أو مركبات غير عضوية ومنها:

• **ذاتية التغذية الضوئية:** تستخدم الطاقة الشمسية للقيام بعملية البناء الضوئي و من أمثلتها بكتريا اليخضور.

• **ذاتية التغذية الكيمائية:** حيث تستخدم الطاقة الكيميائية الناتجة من أكسدة العناصر والمواد الكيميائية لتثبيت ثاني أكسيد الكربون وبناء إحتياجاتها من المواد العضوية مثل أكسدة النيتروجين أو الكبريت أو مركباتهما مثل بكتريا النتروسوموناس و بكتريا النتروبكتر.

ب) **غير ذاتية التغذية**Heterotroph:

أي عضوية التغذية وتحصل على الطاقة اللازمة لها عن طريق التحليل الكيميائي للمركبات العضوية كالكربوهيدرات والدهون والبروتينات كما يحدث في عملية التخمر (التنفس اللاهوائي) أو إستخدام الأكسجين مباشرة كما في التنفس الهوائي للحصول على الطاقة اللازمة. و من أمثلتها:

البكتيريا الطفيلية: و تحصل على غذائها من الكائنات الحّ ية الأخرى و كثيرا ما تسبب أمراض خطيرة للأنسان و الحيوان و النبات.

البكتيريا الرمّية: و تحصل على غذاءها من كائنات ميتة أو من بقاياها.

البكتيريا المتكافلة: وهى تعيش متكافلة مع غيرها كما يحدث بين البكتريا العقدية و جذور النباتات البقولية.

٢) الماء:

يعد الماء وسطاً مناسباً لنشاط البكتيريا وتكاثرها حيث يشكل ٨٠% من كتلتها الخلوية ولذلك فإن عملية التجفيف تساعد في حفظ الغذاء أطول فترة ممكنة حيث لا تتمكن البكتيريا من التكاثر بعيداً عن الرطوبة.

٣) درجة الحرارة:

تزداد أنشطة البكتيريا الأيضية بإزدياد درجة الحرارة إلى أن تصل إلى حد تعيق فيه نمو البكتيريا فتثبطه "درجة الحرارة العظمى" حيث تؤثر في الأنزيمات والحمض النووي DNA والريبوسومات فتحد من نشاطها وتقتلها أما درجات الحرارة الصغرى فتحد من نمو البكتيريا ونشاطها دون أن تقتلها. وبصفة عامة فإن أغلب الخلايا البكتيرية (غير المتجرثمة) تموت في درجة حرارة (٥٥°C) إما البكتيريا المتجرثمة فإنها تقاوم الحرارة العالية حتى أن ها يمكنها أن تظل حية في بعض الأحيان إذا وضعت في ماء يغلي لعدة ساعات.

٤) الرقم الهيدروجيني: (pH)

تنمو غالبية أنواع البكتيريا في الوسط المتعادل إلا أن بعضها ينمو في أوساط حمضية فتسمى البكتيريا الحمضية ، وأنواع أخرى تنمو في أوساط قاعدية وتسمى البكتيريا القاعدية.

٥) الأكسجين:

يمكن تقسيم البكتيريا إلى ثلاثة أنواع رئيسية حسب إحتياجها للأكسجين:

أ. بكتيريا هوائية:

تحتاج إلى وجود كمية من الأكسجين كعامل رئيسي في عمليات الأيض والتحول الغذائي لإنتاج الطاقة.

ب. **بكتيريا لاهوائية:**

ويعد الأكسجين ساماً لها – حيث تعتمد في عمليات التنفس اللاهوائية على إختزال مركبات غنية بالأكسجين أما عند وجود الأكسجين فإنه ينتج مواد كيميائية مؤدية إلى تلف أجزاء الخلية وأنزيماتها وتؤدي إلى موتها.

ج. **بكتيريا لاهوائية اختيارية:**

تستطيع العيش بوجود الأكسجين أو عدمه.

٦)تأثير المضادات الحيوية والمواد المطهرة:

وجود هذه المواد لها أثر فعّال في تثبيط نمو البكتيريا والقضاء عليها وكذلك بالنسبة للمواد الكيماوية المعقمة antiseptics

٧.) الضوء

أغلب أنواع البكتيريا تنشط إذا قل الضوء والعكس صحيح فيما عدا البكتيريا اليخضورية فإن نشاطها يزداد إذا ما زادت شدة الإضاءة كما أن بعض الأنواع من الأشعة تؤثر في نشاط البكتيريا وفى حيويتها فقد دلت التجارب على أن الأشعة فوق البنفسجية ذات أثر فعال في قتل البكتريا.

تكاثر البكتيريا:

تتكاثر البكتيريا بالإنشطار الثنائي بنسب هندسية متصاعدة (١ ، ٢ ، ٤ ، ٨ ، ١٦ ، ٣٢ ،...)

– تتفاوت سرعة الإنقسام من نوع إلى آخر.

– تتراوح المدة اللازمة لإنقسام الخلية الواحدة بين ٢٠ دقيقة وأكثر من يوم واحد

–يمر نمو الخلايا بمراحل يطلق عليها أطوار النمو وهي:

١. **طور الركود Lag phase:**

لا تنقسم فيه الخلية ولكنها تكون تراكيبها وعضياتها والمواد اللازمة للانقسام.

٢. **طور النمو Log (exponential) phase:**

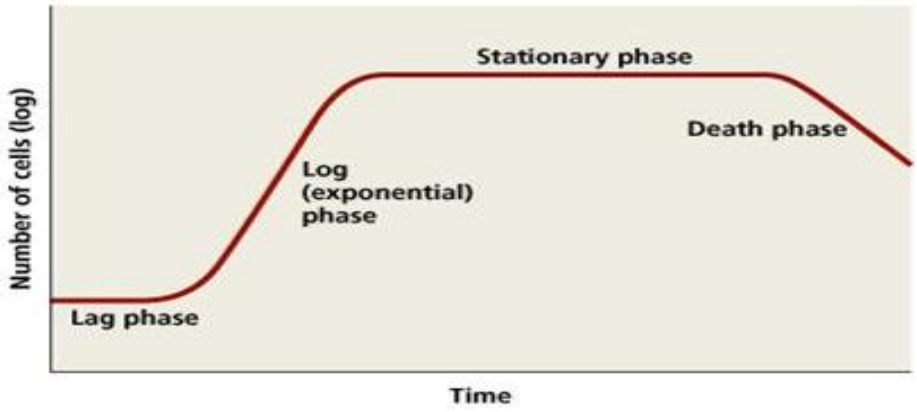
(الطور اللوغاريتمي) وتكون سرعة إنقسام الخلايا بنسب هندسية متصاعدة.

٣. **طور التوقف Stationary phase:**

أو الثبات و فيه يكون "عدد الخلايا الناتجة = عدد الخلايا الميتة"

٤. طور الهبوط أو الموت Death phase:

تزداد نسبة الخلايا الميتة (وتكون سرعة الموت لوغاريتمية أيضاً).



منحنى النمو Growth Curve

التعقيم Sterilization

التعقيم هو العملية التي من خلالها يمكن قتل أو إزالة جميع الكائنات الدقيقة من الأدوات أو الأوساط الغذائية.

- يوجد ثلاثة طرق للتعقيم هي:

طرق فيزيائية: Physical method

١) التسخين:

١ -التسخين الجاف

- **أفران الهواء الساخن :** تستخدم في تعقيم الأدوات الزجاجية مثل أطباق بترى والماصات والدوراق وأنابيب الإختبار وأفضل درجة حرارة من ١٦٠ إلى ١٨٠°م لمدة ٤ إلى ٥ ساعات.

- **اللهب المباشر:** بإستخدام لهب بنزن لتعقيم أبر التلقيح المصنوعة من البلاتنيوم.

- **لهب الكحول:** يستخدم في تعقيم الأدوات المصنوعة من Stainless steel مثل الملاقط forcipes أو القواطع cutters حيث يغمر في الآيثانول ثم يعرض للهب.

٢ -التسخين الرطب:

هو إستخدام بخار الماء الذي له القدرة على قتل الخلايا الحية عند إستخدامه تحت ضغط ع الى حيث أن التسخين بالرطوبة يعمل على تخثر البروتين الخلوي للكائنات الدقيقة ويستخدم لتطبيق هذه الطريقة جهاز الأوتوكلاف

Autoclave ويستخدم في تعقيم الأوساط الغذائية والمحاليل الملحي ه والمحاليل السكرية والأقمشة و إعدام المزارع البكتيرية القديمة قبل التخلص منها.

٣ -**الإشعاع:**

بإستخدام الأشعة فوق البنفسجية من ٢٦٠٠ إلى ٢٧٠٠ انجستروم ($Å=١٠^{-٧}mm$) بإستخدام مصباح معين وتستخدم طريقة الإشعاع في تعقيم المعامل و غرف العمليات.

طرق كيميائية Chemical method :

بإستخدام مواد كيميائية:

١. **الآيثانول:** بتركيز ٥٠ – ٧٠ % لتعقيم الأيدى.
٢. **الفينول:** بتركيز ٢– ٥ % لتعقيم البنشات وأرضية المعامل والمستشفيات.
٣. **الديتول:** بتركيز ٢– ٥ % لتعقيم البنشات والأسطح.

طرق ميكانيكية Mechanical method:

وهي طريقة تستخدم لإزالة الكائنات الدقيقة من المحاليل دون قتلها **عن طريق الترشيح** بإستخدام أنواع مختلفة من المرشحات مثل:

Filter membrane , Seitz filter , Sintered glass filter

والترشيح الغشائي هو الأكثر إستخداما حيث يحتوى على مرشحات تتراوح أقطارها من ٠.٠١ إلى ٤ ميكرون تمنع مرور الكائنات الدقيقة من خلالها.

الأمراض التي يحملها الماء Waterborne Diseases

ومن بين الأمراض الشائعة التي يحملها الماء التيفود، والكوليرا، والزحار/ الدوسنتاريا، والنزلات المعوية ، والإلتهاب الكبدي الوبائي.

وتنشأ هذه الأمراض عندما تدخل الإخراجات البشرية والحيوانية إمدادات المياه وتلوثها.

وكثير من الأمراض التي يحملها الماء هي أمراض إسهال، بما في ذلك الكريبتوسبوريديوسيس و الجيارديا سيس.

الإضطرابات المعوية تسببها الكائنات أحادية الخلايا الكريبتوسبوريديوم والجيارديات، وهي طفيليات مجهرية تعيش في الماء.

وعلاوة على الإسهال الحاد، قد تسبب هذه الأمراض أيضا الحمى، والتقلصات، والغثيان، وفقدان الوزن، والجفاف.

ويمكن أن تشكل هذه الأمراض خطرا على حياة من هم مرضي بالفعل أو أشخاص مثل الأطفال أو كبار السن، قد تكون أجهزة المناعة لديهم ضعيفة.

الكوليرا إحدى الأمراض التي يحملها الماء، تسببها بكتيريا تتسبب في تفشي مشاكل صحية وبائية في كثير من العالم النامي لا سيما في آسيا وأفريقيا.

ويمكن أن تسبب الكوليرا إسهالا مميتا، ورغم أن الكثير من الأشخاص ينجون من الإصابة، فإن خطرها يكون بالغ الخطورة بالنسبة للمصابين بسوء التغذية.

التيفود مرض يحمله الماء يصيب نحو ١٧ مليون شخص كل سنة، وينجم عن بكتيريا مسببة للمرض تصيب الجهاز المعوي والدورة الدموية للمصاب.

ومن بين أعراض التيفود الحمى الحادة، التوعك، الصداع، الإمساك، أو الإسهال، وبقع بالصدر، وتضخم الكبد والطحال.

ويتفشى التيفود عن طريق الإخراجات البشرية، والمياه الملوثة بالمخلفات في المناطق التي لا تتوفر فيها سلوكيات الصحة العامة الوقائية.

التحاليل البكتريولوجية للمياه

- الهدف الأساسي من الإختبارات الميكروبيولوجية لمياه الشرب هو الوقوف على نوعية المياه وتأكيد خلوها من مسببات الأمراض لتوفير الحماية الصحية للمستهلك.
- قد تحتوي المياه الغير معالجة أو المعالجة بطرق غير كافية على كائنات دقيقة مسببة لكثير من الأمراض، ويستغرق الكشف عن هذه المسببات المرضية البكتيرية والتي تسبب أمراضا مثل الدوسنتاريا الباسيلية والتيفويد وغير ذلك وقتا طويلا وتحتاج لمجهود أكثر حيث تتطلب أختبارات كثيرة.
- لذا يستعاض عن الكشف عن تلك المسببات المرضية سواء كانت فيروسية بكتيرية أو طفيلية والتي قد يحتمل وجودها في الماء بالكشف عن وجود الدلائل البكتيرية Indicators مثل العد الكلي البكتيري عند درجتي حرارة ٣٥ °م – ٣٧°م، ٢٠°م – ٢٢°م – وبكتيريا القولون الكلية وبكتريا القولون البرازية وكذلك E Coli والبكتريا السبحية البرازية.
- **الصفات العامة للدليل المثالي:**

١. يجب أن تكون هذه الدلائل البكتيرية غير ممرضة لتجنب الإصابة بالعدوى.

٢. يجب وجودها بأعداد عالية في المواد البرازية للإنسان والحيوان.

٣. يجب ألا تتكاثر (تتضاعف) في المياه الطبيعية.

٤. يجب أن تكون قدرة تحملها مشابهة أو أكثر من الميكروبات المرضية المعوية.

٥. يجب أن توجد بأعداد أكبر من الميكروبات المرضية المعوية.

٦. مدي أستجابتها لعمليات المعالجة يجب أن يكون أكثر مقاومة من أستجابة الميكروبات المرضية المعوية.

٧. أن يكون من السهل الكشف عنها وعدها بواسطة طرق بسيطة وسريعة وغير مكلفة.

لذلك نعتمد على نظام وجود أو عدم وجود عدة دلائل بكتريولوجية لتحديد نوعية وجودة المياه ومدي درجة تلوثها وخطورتها على الصحة العامة.

- **وعموما تقسم الدلائل البكتريولوجية إلى:**

١ – دلائل كفاءة عمليات المعالجة Process Indicators:

- العد الكلي البكتيري (Heterotrophic Plate Count)
- بكتريا القولون الكلية Total coliforms

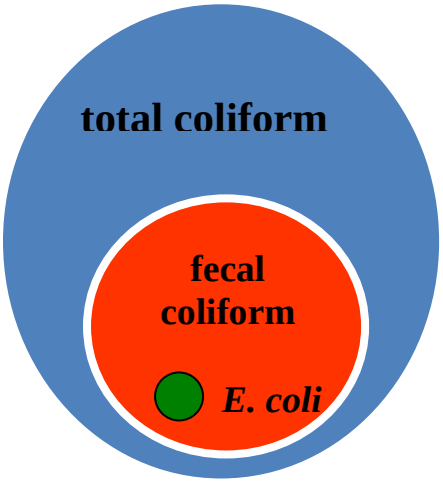
٢ – دلائل تدل على نوعية المياه بصفة عامة General Indicators:

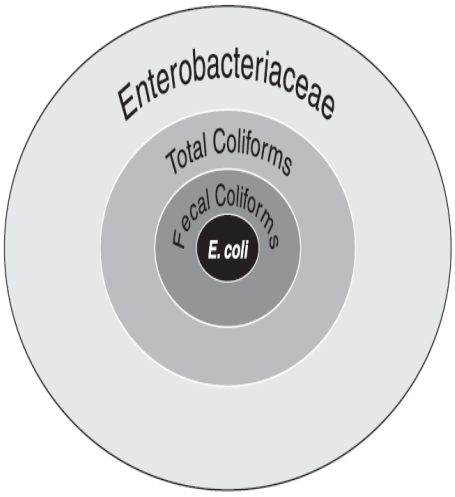
- العد الكلي البكتيري. Heterotrophic Plate Count
- بكتريا القولون الكلية. Total coliforms

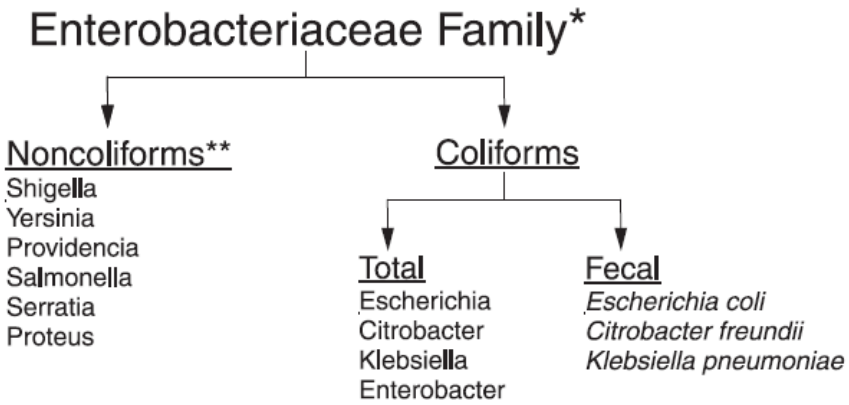
٣ – دلائل تدل على التلوث االبرازي في المياه Fecal Pollution:

- بكتريا القولون البرازية Fecal Coliforms.
- البكتريا السبحية البرازية fecal streptococci.

وتعتبر الـــ Escherichia Coli مؤشر جيد لوجود أو غياب بكتريا Salmonella أو Shigella في المياه.





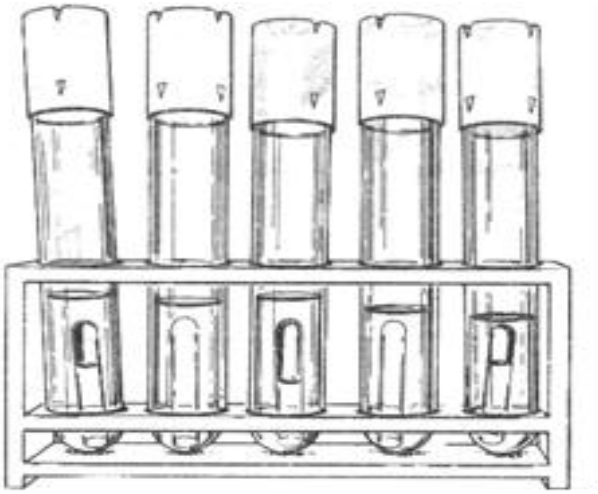


وعلى ذلك فهناك طريقتان قياسيتان للإختبار والكشف عن بكتريا المجموعة القولونيه (دليل التلوث):

١. إختبار أنابيب التخمر المتعددة: Most Probable Number – MPN

و يعبر عن نتيجتها ليس في صورة أعداد مطلقة ولكن كدليل للعدد الأكثر أحتمالا (Most Probable Number (MPN) Index).

وهو دليل لعدد بكتريا القولون الأكثر أحتمالا عن أي عدد آخر، وهو ليس عدد فعلى ناتج عن تنمية البكتريا.



إختبار أنابيب التخمر المتعددة

٢. طرق الزراعة المباشرة مثل الفلتر الغشائى: Membrane Filter – MF

وعلى العكس فإنها تسمح بالحصول على عدد مباشر لمستعمرات بكتريا القولون.

- وفي كلتا الطريقتين تسجل كثافة بكتريا القولون إصطلاحيا كعدد أكثر إحتمالا MPN أو عدد مطلق بالمرشحات الغشائية / ١٠٠ مل، على أن أستخدام أي من الطريقتين يسمح بتقييم نوعية المياه وتقدير كفاءة عمليات المعالجة.
- وتستخدم البكتريا السبحية البرازية Fecal Streptococci هي الأخرى لكشاف أو دليل على التلوث البرازي ويتم عدها بطريقتي العدد الأكثر أحتمالا و الترشيح الغشائي.
- ربما يقدر عدد البكتريا الهتيروتروفية Heterotrophic Plate Count بطريقة الأطباق المصبوبة Pour plate، والفرد على الأطباق Spread plate، أو المرشحات الغشائية Membrane filter، وهى تعطى أعداد تقريبية لكل البكتريا الحية(البكتريا العادية الكلية) والتي ربما تعطى تفاصيل قيمه عن نوعية المياه وربما تعطى بيانات مدعمة عن مغزى نتائج إختبار بكتريا القولون.

أدوات وأجهزة المعمل الميكروبيولوجي Equipment and Instruments

١. الحضانات Incubators

- يجب أن توفر الحضانات حرارة متجانسة وثابتة على طول الوقت في جميع الأجزاء والتي لا يجب أن تختلف أكثر من ±٠.٥ °م.
- تزود الحضانات بأرفف من السلك المفتوح أو ألواح مثقبة بينها مسافات لضمان أنتظام الحرارة خلال الغرفة.
- تترك مسافة ٢,٥ سم بين الجوانب وصفوف الأطباق أو سلال الأنابيب.
- تأكد أن الحضانة تعطى حرارة التحضين المطلوبة ، وأكشف وسجل الحرارة مرتين يوميا (صباحا وبعد الظهر).
- وإذا أستعمل ترمومتر زجاجي، يغمس خزان الزئبق والساق في ماء أو جليسرين إلى علامة الساق ، ولأفضل النتائج يستعمل ترمومتر متصل بمسجل مع نظام إنذار.
- ويجب أن توضع الحضانة في منطقة حرارتها ما بين ١٦ إلى ٢٧°م.

٢. أفران التعقيم بالهواء الساخن Hot Air Sterilizing Ovens

- أستعمل أفران التعقيم بالهواء الساخن ذات السعة المناسبة لحجم العمل حتى لا تكون مزدحمة.

- ويجب أن تكون منتظمة ومتماثلة الحرارة في جميع أجزائها بحيث توفر الدرجة المناسبة للتعقيم (١٧٠ ± ١٠ °م) وتكون مزودة بترمومتر مناسب.
- يختبر الأداء كل ٣ شهور بإستخدام المتاح سواء شريط الجراثيم أو معلق الجراثيم

Spore strips or spore suspensions (Bacillus.subtilis)

- وتراقب درجة الحرارة بترمومتر دقيق عند مجال ١٦٠–١٨٠ °م وتسجل النتائج.
- وتستعمل أشرطة بيان الحرارة Heat–indicating tape لبيان صحة عملية التعقيم لأي مواد تعرض لحرارة التعقيم.

٣.الأوتوكلاف Autoclave

- يستخدم الأوتوكلاف ذى سعة كافية بحيث تتناسب مع حجم العمل اليومي ولمنع الأزدحام داخله.
- ويجب أن يكون مجهز بحيث يعطى حرارة متماثلة في حيز التعقيم (حرارة التعقيم ١٢١ °م)، ومجهز بترمومتر دقيق ومستودع الزئبق الخاص بالترمومتر يجب أن يكون في مستوى خروج العادم Exhaust ليسجل أقل حرارة في غرفة التعقيم.
- ويكون مجهز بمقياس للضغط وصمامات أمان مناسبة ومتصلة مباشرة بمصدر البخار المشبع، ومجهز بفلتر مناسب لإزالة الجسيمات وقطرات الزيت أو متصل مباشرة بمصدر لتوليد البخار.
- وقادر على الوصول إلى درجة الحرارة المطلوبة خلال ٣٠ دقيقة.

- تسجل الأدوات التي يتم تعقيمها، والحرارة، والضغط والزمن لكل دورة، ويستعمل ترمومتر بجهاز تسجيل ، وتضبط حرارة التشغيل أسبوعيا بترمومتر.
- يختبر الأداء شهريا بشريط أو معلق من الجراثيم

Spores Bacillus Sterothermophilus

- يستعمل شريط بيان الحرارة لمعرفة المواد التي تم تعقيمها (عن طريق تغير لون الشريط).

٤. أجهزة العد البصرية Optical Counting Equipment

أ. للأطباق المصبوبة أو المفرود عليها:Pour and spread plates

- يستخدم جهاز لعد المستعمرات من نوع Dark–fields، يوفر ١,٥ مرة تكبير طبيعي مع وضوح الرؤية والإضاءة الكافية.

ب. للمرشحات الغشائية Membrane filters:

- يستخدم ميكروسكوب Binocular بقوة تكبير ١٠ – ١٥ مرة و يمكن توفير مصدر ضوء فلورسنت بزاوية ٦٠ إلى ٨٠ درجة أعلى المستعمرات، وإستخدام الإضاءة بزاوية منخفضة للمستعمرات الغير ملونة.

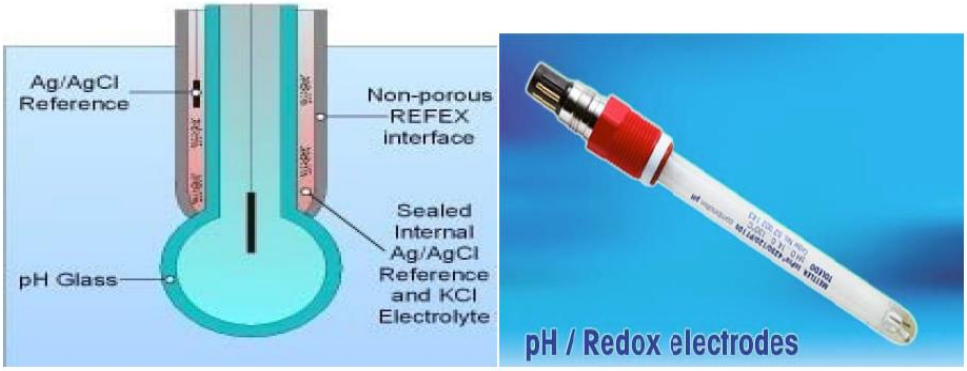
ج– أجهزة الحصر Tally equipment: لا تستخدم عدادات المستعمرات التلقائية Automatic colony counters عند تحديد العد لأغراض الأمتثال Compliance purposes أو عند تعداد الأطباق المصبوبة، التي تحتوي عادة على مستعمرات دقيقة مغمورة في الأوساط الغذائية الشفافة الملونة.

- وعندما تستخدم عدادات المستعمرات التلقائية automatic colony counters يتم معايرة الوحدات عند تركيبها واختبار الأداء باستخدام أساليب العد التقليدية.

٥. جهاز قياس تركيز أيون الأيدروجين pH Equipment

جهاز قياس الأس الأيدروجينى

- أستعمل جهاز كهربي لقياس تركيز أيون الأيدروجين، دقته على الأقل ٠,١ وحدة pH لتقدير قيم الـــ pH للبيئات الغذائية ويحتوي على تعويض تلقائي لدرجة الحرارة.
- يستخدم القطب المناسب appropriate probes لتقدير الـــ pH للسوائل ومزارع الآجار الصلبة.



أقطاب قياس الأس الأيدروجينى

- يستعمل قبل كل سلسلة من الإختبارات محلول قياسي من محلولين منظم Standard buffers عند pH ٤ ، ٧ أو ١٠ وتعوض أو تكافيء الحرارة.
- يكتب على المحاليل المنظمة Standard buffers التي تم فتحها تاريخ الفتح وتضبط شهريا بإستعمال جهاز آخر لقياس pH.
- ويفضل إستخدام pH meter رقمي Digital

٦. الموازين Balances

الميزان الإليكترونى والميزان علوي التحميل

- يستعمل ميزان يمكن أن يوفر حساسية ٠,١ جرام على الأقل عند أحمال ١٥٠ جرام.
- استعمل ميزان حساس Analytical balance له حساسية ١ ملجم عند حمل ١٠ جرام لوزن كميات بسيطة (أقل من ٢ جرام) من المواد.
- والميزان ذو الكفة الواحدة هوالأكثر ملاءمة.
- يلزم إجراء الخدمة الروتينية والمعايرة سنويا أو أطول حسب تغير الحالة آو حدوث مشاكل وذلك بواسطة فنى من قبل المصنع.
- نظف الميزان قبل وبعد أي استخدام بإستخدام فرشة ناعمة ويفضل المصنوعة من شعر الجمل.

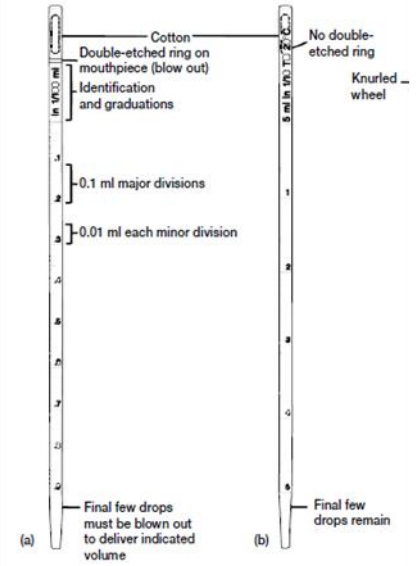
- نظف كفة الميزان بعد كل إستخدام وتزال بقايا المواد التي تسقط بإستخدام قماش معملي Lab tissue.
- يتم تداول صنج الميزان بإستخدام ملقط ذا طرف بلاستيكي ويجب أستبعاد الصنج التي حدث فيها تآكل أو صدأ، ويتم معايرة الصنج شهريا بإستخدام صنج قياسية.
- توضع الموازين على الأسطح الصلبة لتجنب الإهتزازات وفي المواقع التي تنخفض فيها مستويات الرطوبة.

٧. أدوات تحضير البيئات Media preparation Utensils

- أستعمل زجاج بوروسليكات أو أي أوعية أخرى غير متآكلة مثل الاستينلس ستيل.
- أستخدم الأدوات الزجاجية، النظيفة الخالية من البقايا، مثل الآجار الجاف أو أي مواد أخرى غريبة يمكن أن تلوث البيئة.

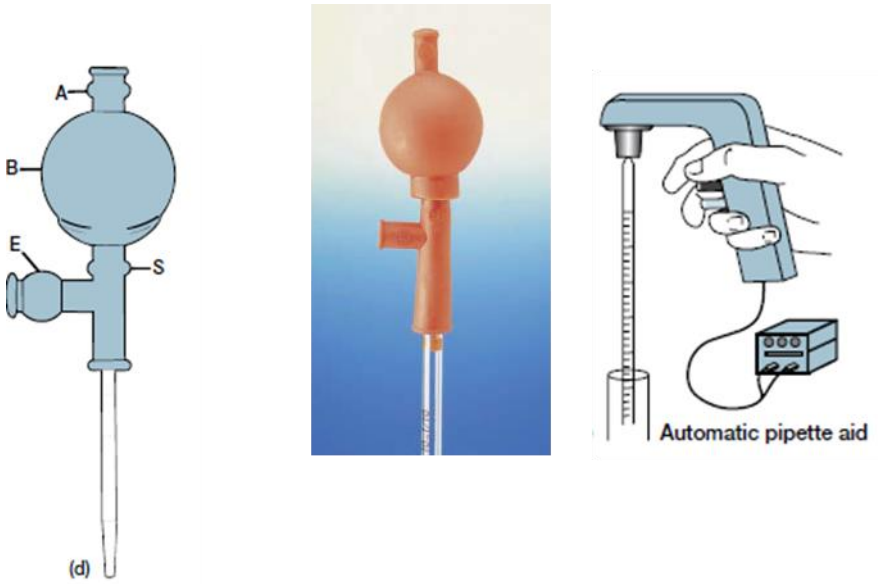
٨. الماصات و الماصات الدقيقة والمخابير المدرجة:

(Pipets, Micropipets, and Graduated Cylinders)



الماصات (Micropipets)

- استعمل ماصات بأي حجم مناسب، بحيث يمكنها أن تمدك بالحجم المطلوب بدقة وبسرعة.
- خطأ التدريج لا يجب أن يزيد عن ٢,٥ %.
- استعمل الماصات ذات التدريج الثابت وغير مكسورة النهاية.
- لا تستخدم الماصة عن طريق الفم، واستخدم مالئ الماصات.



بعض وسائل ملء وتفريغ الماصات

- تستخدم نهايات معقمة sterile tips محددة للماصات الدقيقة والإستخدام المقصود بها.

٩. علب الماصات Pipette Cans

- استعمل علب من الألومنيوم أو الاستنلس ستيل، مقاسها من ٥ الى ٧,٥ سم، اسطوانية أو مستديرة وطولها حوالي ٤٠ سم.
- وإذا كانت هذه غير متاحة، لف الماصات في ورق منفردة و أستعمل نوعية جيدة من الورق (sulfate pulp paper (kraft)) لمنع الشياط أثناء التعقيم.
- ولا تستعمل علب نحاسية أو من سبائك النحاس كحاويات للماصات.

١٠. الثلاجات Refrigerators

- استعمل ثلاجة توفر درجة حرارة بين ٢ – ٨ درجة مئوية لتخزين البيئات، والعينات، والأدلة وغيرها.
- لا تحفظ المذيبات المتطايرة، أغذية، أو مشروبات في الثلاجة مع البيئات.
- ربما تسبب الثلاجات من نوع Frost free جفاف زائد للبيئات عند تخزينها لمدة أطول من أسبوع ويجب ألا تستخدم إذا حدث ذلك.
- وتسجل درجة الحرارة يوميا وتنظف الثلاجة شهريا.
- ويصنف ويكتب التاريخ على المواد المخزنة في الثلاجة.
- ويسال الثلج المتكون في الثلاجة كلما أحتاج الأمر وتخلص من المواد المخزنة التي تخطت فترة التخزين كل ٣ شهور.

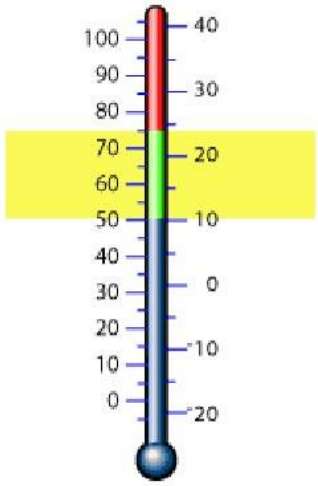
١١. الفريزر Freezer

- وسيتم تحديد مدى درجة حرارة الفريزر بواسطة الإحتياجات التحليلية ، على سبيل المثال، لتخزين المزارع.
- قد يكون مدى فريزر المختبر القياسي من (– ١٠ إلى –٢٠ درجة مئوية ± ٥ °م) إلى درجة حرارة منخفضة للغاية مثل (–٧٠ إلى –٩٠ °م).

- تراقب درجة حرارة هذه الوحدات، يختبر وتسجل الحرارة يوميا، ومن الأفضل إستخدام ترمومتر بمسجل مع نظام إنذار Alarm.
- ويصنف ويكتب التاريخ على المواد المخزنة،
- ويسال الثلج المتكون وينظف الفريزر كل ٦ شهور.
- ويتم التخلص من المواد التي تخطت فترة التخزين.

١٢. وسائل مراقبة وتسجيل الحرارة Temperature–Monitoring Devices

- تستعمل ترمومترات زجاجية أو معدنية مدرجة إلي ٠,٥ °م لمراقبة الحضانات والثلاجات.



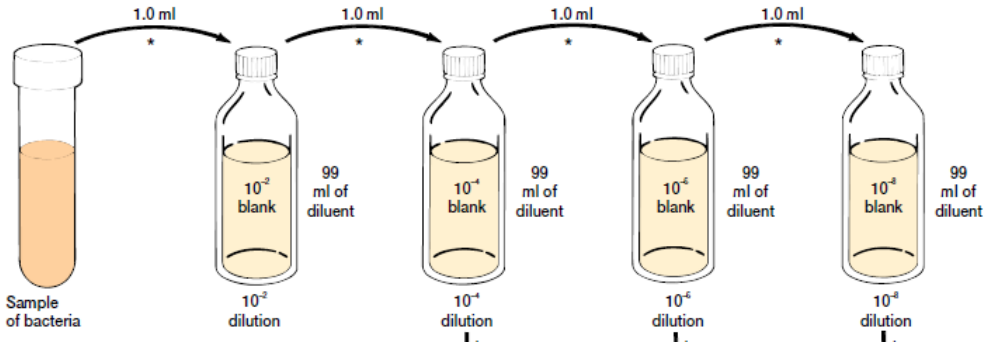
Data Logger ترمومتر

- تستعمل ترمومترات تدريجها ٠,١ °م للحضانات التي تعمل على درجة أعلى من ٤٠ °م تضبط دقة وسائل مراقبة وتسجيل الحرارة سنويا بإستعمال ترمومتر معتمد

National Institute of Standards and Technology (NIST).

- وعندما يكون ممكنا، وصل الحضانات وحمامات المياه Water Bathes بمسجل لدرجة الحرارة يعمل بإستمرار لتسجيل الحرارة تلقائيا Data Logger.

١٣. زجاجيات أو أنابيب التخفيف Dilution Bottles



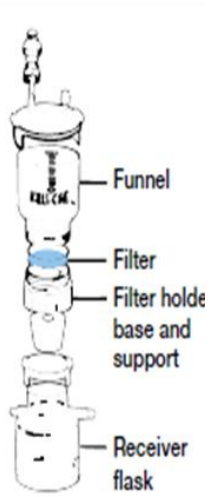
- أستعمل زجاجات أو أنابيب من زجاج مقاوم، يفضل البوروسليكات تغلق بغطاء زجاجي مسنفر أو غطاء قلاووظ مزود ببطانة لا ينتج عنها بالتعقيم مركبات سامة أو معوقة لنمو البكتريا.
- لا تستعمل سدادات القطن.
- يجب أن تكون مستويات التدريج على جدران أنابيب التخفيف غير قابلة للمحو، وتأكد من دقة التدريج بالمستوى المطلوب.
- يمكن إستعمال الأدوات البلاستيكية من مواد غير سامة وبحجم مناسب على أساس قابليتها للتعقيم الجيد.
- تستبعد أي زجاجيات بها شروخ أو خربشة.

١٤. أطباق بترى Petri Dishes

- أستعمل للعد البكتيري أطباق بتري زجاجية أو بلاستيكية (١٠٠ X ١٥ مم) أو (١٥٠X٢٠ مم).
- استعمل أطباق قاعها خال من الفقاعات والخدوش ويكون مستو تماما وبالتالي تكون البيئة متماثلة السمك خلال الطبق.
- يستعمل في حالة المرشحات الغشائية أطباق بلاستيكية أو زجاجية (٦٠ X ١٥ مم) ذات غطاء حر أو ذات غطاء محكم (٥٠ X ١٢ مم).

- عقم الأطباق و أحتفظ بها في علب معدنية (ألومنيوم أو استنلس ستيل ولكن ليست نحاسية) ، أو لفها في ورق كرافت (Kraft) قبل التعقيم.

١٥. جهاز الترشيح الغشائي Membrane filtration equipment



جهاز الترشيح الغشائي

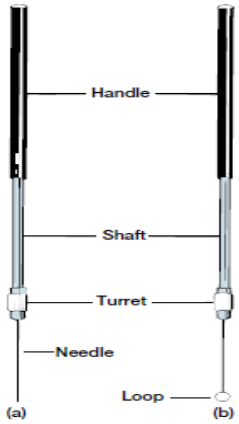
- استعمل قمع ترشيح وحامل المرشح مصنوع من ستانلس ستيل الغير ملحوم، أو الزجاج، أو بلاستيك القابل للتعقيم في الأوتوكلاف ، ولا يسرب وغير معرض للتآكل.
- يمكن أستعمال أجهزة خارج المعمل Field laboratory kits،
- ويستخدم في المعمل أجهزة الترشيح والطرق القياسية.
- يركب الجهاز قبل الإستعمال، ويختبر للتسرب، وتستبعد الوحدات إذا خدش السطح الداخلي. وتغسل ويشطف الجهاز جيدا بعد الإستخدام، ويلف الجهاز في ورق كرافت غير سام أو في ورق ألومنيوم أو بوضع في وعاء غير متآكل ويعقم في الأوتوكلاف.

١٦.أنابيب التخمر و الدراهم Fermentation Tubes and Vials

- أستعمل أنابيب التخمر من أي نوع تتناسب مع حجم البيئة والعينة المضافة.
- عند أستعمال أنابيب للإختبار ، ضع بالأنبوبة الكبيرة أنبوبة صغيرة مقلوبة (Durham tube or vial.).
- ويجب أن تكون الأنبوبة الصغيرة مملوءة تماما بالبيئة، وتكون مغمورة جزئيا في البيئة، وبحجم كاف يسمح بإدراك تكون فقاعات غاز ولو بحجم بسيط.

١٧.معدات التلقيح Inoculating Equipment

- استعمل لوب من السلك ٢٢ أو ٢٤ من سبيكة نيكل كروم أو بلاتين للتعقيم باللهب.
- استعمل لوب ذات قطر ٣ مم على الأقل.



Microbiological Transfer Instruments.
(a) Inoculating needle, and
(b) Inoculating loop.

- يمكن استعمال ناقل من الخشب الصلب أو البلاستيك Hardwood or plastic applicator بحيث يستعمل مرة واحدة، قطره (٠,٢ – ٠,٣ سم) ، و أطول من الأنبوبة على الأقل بمقدار ٢.٥ سم.
- وتعقم النواقل الخشبية بالحرارة الجافة، وتعقم النواقل البلاستيكية بالأوتوكلاف وتخزن في أوعية من الزجاج أو أي مادة أخرى ليس لها تأثير سام.
- وتوجد لوب بلاستيكية معقمة ومعبأة مسبقا للأستخدام مرة واحدة.

١٨.زجاجات العينات Sample Bottles

- استعمل لعينات التحليل البكتريولوجى زجاجات معقمة من الزجاج أو البلاستيك بحجم وشكل مناسب.
- استعمل الزجاجات التي يمكن أن تستوعب حجم كاف من العينة لإجراء جميع الاختبارات التي من المفروض إجرائها مع ترك فراغ من الهواء بالزجاجة عند ملئها .
- الزجاجة تسمح بالغسيل الجيد، وتحافظ على العينة غير ملوثة حتى استكمال الإختبارات.

- يفضل الأوعية الزجاجية ذات الغطاء المسنفر، ذات الفوهة الواسعة والمصنوعة من الزجاج المقاوم، والأوعية البلاستيكية ذات الحجم المناسب واسعة الفوهة، والمصنوعة من مواد غير سامة مثل البولي بروبلين والممكن تكرار تعقيمها.
- متوافر تجاريا أكياس البلاستيك سابقة التعقيم، مع أو بدون مادة نازعة للكلور، وربما تستعمل.
- تحد الأوعية البلاستيكية من إمكانية الكسر خلال النقل وهي كذلك خفيفة الوزن.
- ربما تستعمل الأغطية البلاستيكية أو المعدنية ذات القلاووظ والبطانة على زجاجات العينات على اعتبار أنها لا تنتج أي مركبات سامة بالتعقيم.
- قبل التعقيم، غط قمة ورقبة زجاجة العينة والتي لها غطاء زجاجي برقائق الألومنيوم أو ورق كرافت سميك.

١٩.الميكروسكوبات Microscopes

- تعتمد خصائص الميكروسكوبات مثل التكبير ومكونات الإضاءة على احتياجات المعمل.
- إن معظم معامل الميكروبيولوجي الأساسية بها ميكروسكوب مركب ضوئي bright field.
- يجب أن يتم التحقق من قبل الشركة المصنعة من معايرة ميكرومتر مسرح الميكروسكوب Stage micrometer calibration وكذلك جودة العدسة و بؤرة التركيز.
- أتبع توصيات الشركة الصانعة لتعديل الإضاءة و تركيز البؤرة للعدسات العينية، وتحقق من المواءمة بشكل روتيني.

- اتبع Kohler illumination procedures لكل هدف من الأهداف المستخدمة.
- ينظف جسم الميكروسكوب فضلا عن العدسات بعد كل استخدام.
- يستخدم زيت الغمر الموصى به من قبل الشركة المصنعة لعدسات الغمر في الزيت فقط.
- ينفخ الغبار بإستخدام الهواء المضغوط أو لمبة المطاط، ولا تنفخ على العدسات.
- أستخدم فقط (Kimwipes tissues) حتى تكون آمنة على العدسات ومحاليل التنظيف المصممة للمـــيكروسكوبات.
- يتم تغطية الميكروسكوب عندما لا تكون قيد الإستخدام و يخزن في المناطق حيث درجات الحرارة والرطوبة منخفضة بإستمرار.
- بالنسبة لبعض الميكروسكوبات، على سبيل المثال، الميكروسكوبات الفلورسنت fluorescent microscopes، سجل مرات إستخدام المصباح و الوقت الفني.
- وتراقب لمبة الميكروسكوب بمقياس للضوء وتستبدل عند حدوث فقد محسوس في إشعاعها، ويسجل إستعمال اللمبة، لتحديد الكفاءة.

٢٠. كابينة الأمان Laminar Flow Hoods/Biological Safety Cabinets

- يتم شراء وحدات مصممة لتلبية الإحتياجات التحليلية.
- في وحدات التدفق Laminar–flow يتدفق الهواء إلى الخارج وفي إحدى الإتجاه unidirectional air flow يهب الهواء المعقم نحو المشغل.
- وهذه الوحدات لا تحمي البيئة ما لم يتم تثبيت مرشحات عوادم.
- وتصنف كابينة الأمان البيولوجية (BSCS) Biological Safety Cabinets وفقا لدرجة الحماية لكل من الفني والنشاط الميكروبيولوجي والبيئة.
- خزانات Class I cabinets لديها نظام تدفق الهواء إلى الداخل ويتم فلترة العادم.
- وتحتوي الـــ BSCS المتبقية على فلاتر HEPA في أنظمة دخول وخروج الهواء على حد سواء.
- ولكن تتطلب الدرجة الثالثة Class III كمية دخول هواء أكبر ولديها وجهة مغلقة تماما مزودة بقفازات.
- تعقم جميع الوحدات بعد كل استخدام، ويتم التحقق من تدفق الهواء شهريا، وصيانته وحدات سنويا.
- وتعرض شهريا لأطباق من الآجار Plate count agar للهواء المنساب من الكابينة لمدة ساعة، وتحضن الأطباق عند ٣٥ °م لمدة ٤٨ ساعة ويختبر التلوث (لا نمو على البيئة إذا كانت الكابينة تعمل جيدا).
- يفك لمبات الأشعة الفوق بنفسجية وتنظف شهريا بقماش مبلل بكحول الإيثانول. ويكشف عن كفاءة اللمبات بقياس قوة الإشعاع الناتج كما هو مبين سابق.

٢١.لمبات التعقيم بالأشعة الفوق بنفسجية Ultraviolet Lights

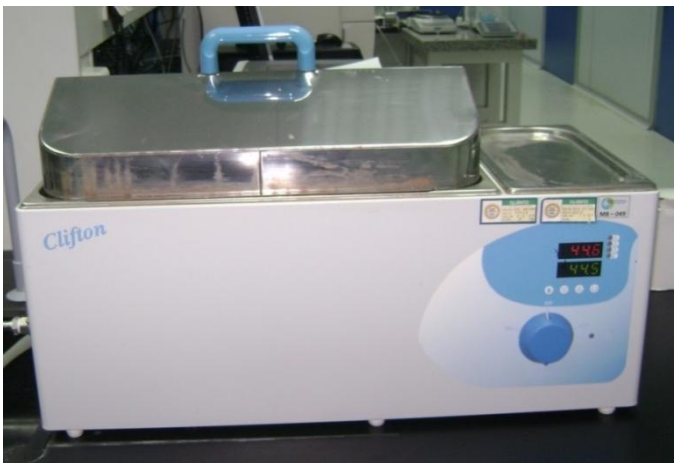
- يمكن أستخدام لمبات التعقيم بالأشعة الفوق بنفسجية (٢٥٤-nm) UV lights للأغراض الصحية ولتقليل تلوث الحامض النووي.
- وتستخدم لمبات التعقيم بالأشعة الفوق بنفسجية طويلة الموجات (٣٦٥-٣٦٦-nm) Long-wave UV lights لأكتشاف الفلوروسينت للطرق الأنزيمية.
- تفك الوحدة شهريا وتنظف اللمبات بـإستعمال قطعة قماش مبللة بكحول الإيثانول، وتختبر اللمبة شهريا بجهاز قياس الأشعة الفوق بنفسجية، وتستبدل إذا كانت تشع أقل من ٧٠% من أصل قوتها أو إذا عرضت لها مياه ذات محتوى من الكائنات الدقيقة يتراوح بين ٢٠٠ – ٢٥٠ مستعمرة ولم يتم خفضها بواقع ٩٩% خلال دقيقتين من التعرض للأشعة.

تحذير: على الرغم أن الأشعة فوق البنفسجية ذات الموجات القصيرة (٢٥٤ نانومتر) معروف أنها أكثر خطورة من تلك ذات الموجات الطويلة (٣٦٥ نانومتر) ، كلا النوعين يمكن أن يضر العين والجلد وهى مسرطنه قويه (Schmitz et al., ١٩٩٤). احم عينيك والجلد من التعرض للأشعة الفوق بنفسجية.

٢٢.وسائل توزيع البيئات Media and Solution Dispensers

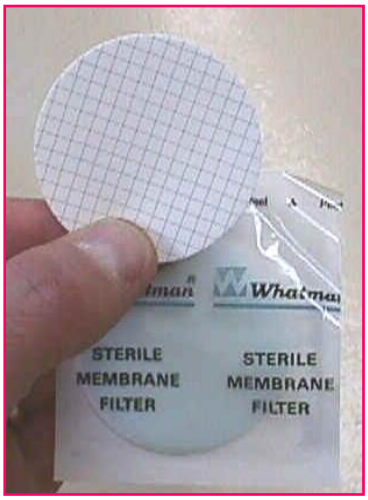
- تضبط دقة الحجوم الموزعة بوحدة التوزيع بإستخدام مخبار مدرج مع كل بداية لتغيير الحجوم ودوريا خلال العمل الطويل.
- وإذا كانت الوحدة تستخدم أكثر من مرة خلال اليوم، يضخ حجم كبير من المياه Reagent grade خلال الموزع للشطف.
- ويتم إصلاح التسريبات Leaks والوصلات الغير محكمة أو ذات الأداء السيئ مباشرة.
- ومع نهاية العمل اليومي، يتم فك الجهاز إلى أجزاء، ويغسل، ويشطف بمياه من نوعية Reagent water ويجفف، وتشحم Lubricate الأجزاء طبقا لتعليمات المصنع أو على الأقل مرة كل شهر.

٢٣.حضانة الحمام المائي Water bath incubator



- يتم التأكد من أن حضانة الحمام المائي تعطى حرارة الإختبارات عند درجة ٣٥ ± ٠,٥°م أو ٤٤,٥ ± ٠,٢ °م. ويحتفظ بترمومتر مناسب مغموس في الحمام، وتراقب وتسجل الحرارة يوميا (صباحا وبعد الظهر) ويمكن أستعمال ترمومتر متصل بمسجل مع نظام إنذار.
- ويستعمل فقط حوامل أنابيب المصنعة من معدن مغطى بالبلاستيك، أوالاستنلس ستيل، أو أي مواد مقاومة للتآكل والصدأ. ويفضل الحمام المائي ذو الغطاء الجمالونى. وينظف الحمام المائي كلما أحتاج الأمر.

٢٤.المرشحات الغشائية والوسائد Membrane filters and pads



يجب أن تتوافر في المرشحات الغشائية والوسائد المستخدمة في تحليل المياه الإشتراطات التالية:

- قطر المرشح (الفلتر) ٤٧ مم، وقطر الثقوب ٠,٤٥ ميكرون، ويجب أن تكون الثقوب على الأقل ٧٠ % من مساحة المرشح.
- وعندما تطفو المرشحات على Reagent water ، تنتشر المياه بإنتظام خلال المرشحات خلال ١٥ ثانية بدون مناطق جافة على المرشحات.
- يجب أن تكون معدلات الإنسياب Flow rates خلال المرشحات على الأقل ٥٥ مل/الدقيقة/سم^{٣} عند ٢٥ °م والضغط التفاضلي Differential pressure يعادل ٩٣ KPa.
- يجب ألا يكون للمرشحات تأثير سام، وتكون خالية من المواد التي تمنع أو تشجع النمو، وخالية أيضا من المواد التي تتداخل بطريقة مباشرة أو غير مباشرة مع نظم الدلائل البكتيرية الموجودة في البيئات؛ ويكون الحبر المستخدم في تقسيم الفلتر غير سام. ويجب أن يكون المتوسط الحسابي لنسبة الأعداد البكتيرية التي تظهر على المرشحات ٩٠ % على الأقل من المتوسط الحسابي للعدد على خمسة أطباق معدة بطريقة الفرد السطحي Spread plates وبإستعمال نفس الحجم من العينة وبيئة الآجار.
- أن تحجز المرشحات الكائنات من ١٠٠ مل من معلق بكتيريا Serratia marcesens يحتوى على ٣١٠ خلية.
- ألا يزيد المستخلص المائي للمرشح عن ٢.٥ % بعد غليان المرشح في ١٠٠ ملل ماء لمدة ٢٠ دقيقة، ويجفف، ويبرد، ويصل إلى وزن ثابت.

- قطر الوسادة الماصة Absorbent pad ٤٧ مم، والسمك ٠,٨ مم، وقدرة الامتصاص ٢ ± ٠,٢ مل من مرق الأندو Endo broth.
- تخرج الوسائد Pads أقل من ١ ملجم من الحموضة الكلية مقدرة على صورة كربونات كالسيوم $Ca\ CO_3$ عندما تعادل بإستخدام ٠,٠٢N من الصودا الكاوية NaOH مع الفينول فيثالين – Phenolphthalein.
- إذا كان المرشح والوسادة الماصة غير معقمة يجب أن لا تتحلل بالتعقيم عند ١٢١ °م لمدة ١٠ دقائق. أكد التعقيم بغياب النمو عند وضع المرشح والوسادة مشبعة بمرق أو آجار مستخلص التربتون جلوكوز Tryptone glucose extract والتحضين على ٣٥ °م لمدة ٢٤ ساعة.

٤. التعقيم Sterilization

- عقم الأدوات الزجاجية، عدا إذا كانت في آنية معدنية، لمدة لا تقل عن ساعة عند درجة ١٧٠ °م، وإذا كانت الحرارة متماثلة في الفرن عندئذ يمكن أستعمال ١٦٠ °م.
- إذا كانت الأدوات الزجاجية محفوظة في علب معدنية تعقم عند ١٧٠ °م لمدة ساعتين.
- عقم زجاجات العينات الغير مصنعة من البلاستيك في الأوتوكلاف عند ١٢١ °م لمدة ١٥ دقيقة.
- في حالة الأوعية البلاستيكية أفتح الغطاء قليلا ولا تنزعه قبل التعقيم في الأوتوكلاف لمنع تشوهها.

٢٥.جهاز التقطير Water Still

- تنتج أجهزة التقطير مياه من الدرجة الجيدة والتي تتدنى خواصها ببطيء مع الوقت بحدوث التآكل، الإرتشاح، التلوث Corrosion, leaching, and fouling، ويمكن التحكم في هذه الحالات بالصيانة المناسبة والتنظيف.
- ويزيل التقطير بكفاءة المواد الذائبة ولكن لا يزيل الغازات الذائبة أو المواد العضوية المتطايرة.
- وربما تحتوى المياه المقطرة حديثا على كلور و أمونيا (NH_3)، ومع التخزين يحدث إمتصاص لزيادة من الأمونيا وثاني أكسيد الكربون من الهواء.

- وتستعمل مياه ميسرة Softened water كمصدر للمياه للإقلال من تكرار تنظيف جهاز التقطير.
- يتم تفريغ المياه العادمة Drain وتنظيف جهاز التقطير والخزان طبقا لتعليمات المصنع والإستخدام.

المزارع البكتيرية

زراعة الكائنات الدقيقة تعتمد أساسا على عوامل هامة:

١ –المواد الغذائية القابلة للإستخدام.

٢ –توفر الرطوبة اللازمة للنمو.

٣ –توفر الأكسجين أو الظروف اللاهوائية (غازات أخري) التي يحتاجها الميكروب لنموه.

٤ –أستخدام درجة الحرارة المناسبة درجة الحموضة pH المناسبة للنمو.

٥ –منع التلوث للبيئة أي تكون معقمة.

الأساسيات في مكونات البيئات الغذائية:

١ – مصدر كربوني للحصول على الطاقة مثل المواد الكربوهيدراتية سكر الجلوكوز والمالتوز واللاكتوز....

٢ – مصدر نتروجين مثل الببتون ومشتقاته.

٣ – مصدر للفوسفات والكبريت: الفوسفور يستخدم في تخليق نيكلوتيز ونيكلوسيد والأحماض النووية والفوسفولبيدات والكبريت لتكوين الأحماض الأمينية الكبريتية.

٤ – الأملاح المعدنية مثل الصوديوم والبوتاسيوم والمغنسيوم والكالسيوم و أيون الفوسفور وبعض المعادن بكمية ضئيلة جدا مثل الزنك وغيره والمنجنيز والتي تستخدم في نمو البكتريا.

٥ – الماء عنصر مهم لتكوين البروتوبلاست للخلية البكتيرية الماء الحر يجب أن يكون قابل للإستخدام ونقل المواد الغذائية.

٦ – عوامل النمو مثل الفيتامينات والأحماض الأمينية والقواعد النتروجينية البيورين والبيربمدين.

العوامل التي تؤثر على البيئات الغذائية وتأثيرها على الخصائص المشجعة للنمو

- تعتمد البكتريا قدرتهما على النمو على بعض العوامل الفيزيقية والكيميائية.
- فالنمو يكون أساسا على تكاثر الخلايا البكتيرية وزيادة كثافتها في البيئة الغذائية.
- فإستخدام البيئة المناسبة والمحتوية على مواد غذائية وعوامل النمو التي تشجع زيادة أعداد البكتيرية وكل ذلك معتمد على عوامل أخري تؤثر على النمو في البيئة.

البيئات الغذائية Culture media

البيئة الغذائية:

- هي تلك البيئة التي يمكن للكائن الحي أن ينمو فيها أو عليها وهي متباينة في التركيب
- وهي تستعمل لتنمية البكتريا ودراسة تأثير الكائنات الحية على المواد الغذائية في الوسط الغذائي
- وعموما تتكون أي بيئة من مصدر كربوني والتي يحصل عليها من الكربوهيدرات ومصدر آزوتي ويحصل عليه من أملاح الأمونيوم والنترات وبعضها يتطلب آزوت عضوي ويفضل إستخدام الببتون.
- وتضاف للبيئة الغذائية أملاح معدنية والماء ومواد النمو الإضافية اللازمة لنمو الأحياء الدقيقة.
- ويجب توفر جميع العوامل الضرورية للنمو كتوفر نسبة الرطوبة وتركيز أيون الهيدروجين pH والضغط الأسموزي والتوتر السطحي وحالة الأكسدة والإختزال.

أنواع البيئات الغذائية ←		→
بيئة غذائية سائلة Nutrient broth تصلح لتنمية أنواع كثيرة من البكتريا الهوائية. (ببتون + مستخلص اللحم) أحيانا يضاف لها مستخلص الخميرة		بيئة الآجار المغذي Nutrient Agar يكون في حالة صلبة في درجة حرارة الغرفة ٢٥°م يمكن إسالته بالتسخين و يستخدم لنمو المستعمرات البكتيرية والخميرة بيئة غذائية سائلة Nutrient broth + آجار Agar ١.٥%

تصنف البيئات الغذائية للأنواع التالية:

١ -البيئات المخصبة:Enriched Media

إضافة بعض المواد الضرورية إلى المنبت الغذائي الصلب أو السائل كالدم، السيرم وبعض المستخلصات النباتية والحيوانية لكي تساعد هذه المواد على نمو وتكاثر البكتيريا.

٢- البيئات الآنتقائية Selective Media:

إضافة بعض المواد الكيماوية أو المختارة إلى المنبت الغذائي لأجل منع نمو نوع واحد أو مجموعة من البكتريا وليس الأنواع الأخرى.

فمثلا إضافة صبغة الايوسين، الكريستال البنفسجية، وأزرق المثيلين للمنبت الغذائي حيث يؤدي لنمو نوع معين من البكتريا وعدم نمو الأنواع الأخرى.

٣- البيئات المميز ة للميكروبات Differential Media:

ينتج عن إضافة بعض الأصباغ والمواد الكيماوية مع المنبت الغذائي تغير لبعض أنواع الكائنات المجهرية بعد الزرع و التحضين على درجات الحرارة المطلوبة وبذلك من الممكن التفرقة بين أنواع الكائنات فمثلا تلقيح خليط من البكتريا على بيئة آجار الدم Blood agar فإن بعض البكتريا سوف تحلل كريات الدم الحمراء بينما الآخرى لا تحلله و يعد ظهور بقعة شفافة حول مستعمرة البكتريا هي برهان ثابت على عملية تحلل الدم Blood Hemolysis.

٤- بيئات المعايرة Assay Media:

بيئات غذائية تحتوي على مواد غذائية خاصة وثابتة تستعمل لبيان كمية الفيتامينات والأحماض الأمينية والمضادات الموجودة في المادة كذلك بيئات غذائية خاصة يمكن إستخدامها في الفحص عن قوة المواد المطهرة.

٥- بيئات عد البكتريا Media for Enumeration of bacterial:

بعض البيئات الغذائية تستخدم لإحصاء العد الكلي البكتيري في المياه.

٦- البيئات المستخدمة لبيان صفات البكتريا Characterization:

تستخدم للتعرف على نوع النمو وعلى التغير الكيميائي الناتج عن الأحياء المجهرية مثل بيئات السكر التخمرية.

٧-البيئات الخاصة:

تحضر أنواع من البيئات الغذائية المختلفة لأجل إكثار وعزل والتعرف على أنواع مختلفة من الأحياء المجهرية.

العوامل التى تؤثر على النمو في البيئات الغذائية

١ - درجة الحموضة pH

كل مجموعة من الكائنات لها حدود معينة من الأس الأيدروجينى في نموها ولها حد أمثل لكي تعطي أقصي نمو لها. لذلك يجب ضبط pH للبيئة. وهناك أنواع مختلفة من pH indicator

مثل: Thymol blue, Methyl red, phenol red, etc.

كما يجب إضافة أملاح منظمة phosphate buffer.

٢ - جهد الأكسدة والاختزال Oxidation Reduction Potential

- فمثلا تحتاج البكتريا الهوائية للأكسجين واللاهوائية تستخدم الحالات المختزلة (ظروف لا هوائية) وبالتالي غياب الأكسيجين المذاب.

٣ - درجة الحرارة:

- كل عمليات النمو تعتمد على التفاعلات الكيميائية ومستوي هذه التفاعلات تتأثر بدرجة الحرارة وبالتالي يتأثر نمو البكتريا بدرجة الحرارة ولكل نوع من البكتريا يوجد لها حدود من درجات الحرارة وكذلك لها درجة حرارة مثلي.

٤ - الضغط الأسموزي: Osmotic pressure

يؤثر الضغط الأسموزي تأثير مباشر على سرعة واتجاه تيار الماء من الوسط الخارجي والكائن الدقيق وقد يؤثر على مقدار استفادة الكائن من الرطوبة وتحرك المحاليل لداخل الخلية وخارجها مرتبط بالغشاء البلازمي والجدار الخلوي للخلية و تركيز الأملاح خارج الخلية فإذا أرتفع الضغط الأسموزى للوسط الذي تعيش فيه البكتيريا فإن عددا قليلا من أنواع البكتيريا هو الذي يستطيع مقاومة تلك الضغوط الأسموزية العالية وتواصل نشاطها أما أغلب البكتريا فإن نموها يقل أو يتوقف.

٥ - الرطوبة Moisture:

- النشاط المائي Water activity

فيكون الماء متوفرا في مصادر البيئات وتعتبر البكتريا من صور الحياة المائية Aquatic forms لأنها تتغذي بالإنتشار الغشائي فيذيب الماء المواد الغذائية اللازمة لها ويحمل نواتج الآيض لخارج الخلية، ويجب المحافظة على رطوبة البرتوبلازم، فالماء يمثل ٧٠-٩٠% من مكونات الخلية، فكمية الرطوبة الحرة هي التي تحدد نمو ومدي نشاط البكتريا وليست كمية الرطوبة الكلية، فللنشاط المائي للماء النقي = ١ ، ثم تقل كلما ارتفع تركيز المواد المترابطة بماء الوسط، والحد الأدنى للنشاط المائي اللازم لنمو البكتريا العادية = ٠.٩١.

عبوات المزارع البيئية Culture Media

- أطلب البيئات بكميات محددة بحيث لا تبقى لديك أكثر من عام.
- استعمل البيئات على أساس أن ما يرد أولا يستعمل أولا.
- إذا كان عمليا ، أطلب البيئات في عبوات (١٠٠ جرام) فهي أفضل من عبوات (٥٠٠ جرام) للمحافظة على البيئة مغلقة أطول وقت ممكن.
- سجل نوع، كمية، مظهر البيئة الواردة، رقم التشغيلة Lot number، تاريخ التوريد، تاريخ الفتح.

- راجع قائمة الجرد كل ٣ شهور واستبعد البيئات التي مضى تاريخ صلاحيتها، تحجرت، تغير لونها، أو ظهر عليها أي علامات التدهور في الصفات.
- لأن الحرارة، الضوء، والرطوبة تختلف بين المعامل، فـإنه ليس ممكنا وضع حدود لعمر البيئة الغير مفتوحة. ولكن بصفة عامة فإن حدود الوقاية للعبوات من البيئة الغير مفتوحة هو عامان على درجة حرارة الغرفة. وإذا كانت العبوة عمرها أكثر من عام، قارن قدرتها على الإسترجاع Recovery لمزرعة نقية حديثة وعينة طبيعية بإستعمال البيئة القديمة وبيئة جديدة (تشغيلة جديد).
- استعمل عبوات البيئات المفتوحة خلال ٦ شهور بعد الفتح وطالما فتحت العبوة احفظها في مجفف Desecrator مباشرة بعد الفتح.

تحضير المزارع البيئية

- حضر البيئة في أوعية على الأقل ضعف الحجم المطلوب تحضيره.
- أثناء التسخين تقلب البيئة، خاصة المحتوية على آجار. تجنب الغليان الزائد أو التشييط Scorching بإستعمال حمام مائي أثناء تحضير الكميات الصغيرة من البيئة وسخان أو لهب بالنسبة للحجوم الكبيرة مع التقليب بإستمرار بإستخدام

Hot plate–magnetic stirrer.

- بعد التحضير والتخزين، تصهر بيئات الآجار في حمام مائى أو تيار بخار.
- راجع pH كل بيئة بعد التعقيم والتبريد.
- راجع pH البيئة المتصلبة بواسطة مجس سطحي Surface probe. سجل النتائج. اجر الضبط البسيط في pH البيئة (أقل من ٠,٥ وحدة) بواسطة محلول صودا كاويه أو حامض هيدروكلوريك طبقا لما هو محدد في تركيب البيئة. إذا كان الفرق في pH البيئة أكبر من ٠,٥ وحدة، أهمل هذه التشغيلة وأعد التحضير.
- قيمة pH البيئة الغير صحيح ربما يدل على مشكلة فى نوعية المياه المستخدمة في التحضير، تدهور البيئة Media deterioration أو تحضير غير جيد. راجع التوجيهات للتحضير، راجع pH المياه: إذا كان pH المياه غير صحيح، حضر البيئة من جديد وبإستعمال مياه من مصدر جديد. إذا كانت المياه مناسبة و pH البيئة لا تزال غير صحيح ، حضر البيئة من عبوة أخرى من البيئة.

تعقيم البيئات

- تعرض البيئات لحرارة التعقيم (١٢١ – ١٢٤ °م) أقل وقت محدد للتعقيم.

- لا تعرض البيئات المحتوية على سكريات للحرارة المرتفعة أكثر من ٤٥ دقيقة. مدة التعرض تحدد من وقت دخول الأوتوكلاف إلى وقت خروجها منه.
- اخرج البيئات المعقمة من الأوتوكلاف عقب وصول الضغط إلى الصفر.
- لا تعيد تعقيم البيئة مطلقا.
- التعقيم عند ١٢١ °م لمدة ١٥ دقيقة يقتل الجراثيم، إذا حدث نمو للجراثيم المعالجة بالأوتوكلاف وبعد التحضين في بيئة Trypticase soy broth عند ٥٥ °م لمدة ٤٨ ساعة فإن التعقيم يعتبر غير ناجح.
- عقم المحاليل أو البيئات التي لا تعقم في الأوتوكلاف بالترشيح خلال مرشحات قطر ثقوبها ٠,٢٢ ميكرون بحيث يستقبل الراشح في إناء معقم. رشح ووزع البيئة في كابينة أمان أو Biohazard hood إذا كانت متاحة.
- عقم الأدوات الزجاجية (الماصات، الأطباق، زجاجات العينات) في الأوتوكلاف أو فرن عند ١٧٠ °م لمدة ساعتين.
- هناك أنماط من الأوتوكلاف تعمل أوتوماتيكيا وتشمل الإنزلاق الرأسي ، الغلق المحكم والفتح الأوتوماتيكي بعد انتهاء التعقيم وطبقا لبرنامج يتم ضبطه كذلك هناك إمكانية تتبع التغير في الحرارة والضغط مسجلين طوال فترة التعقيم.
- هناك أيضا إمكانية التبريد السريع من خلال مرور تيار ماء بارد في الأوتوكلاف بعد إنتهاء التعقيم كذلك هناك إمكانية إزالة البخار. إذا توافر التبريد وإزالة البخار في هذه الحالة ف إن الألتزام بمدة ٤٥ دقيقة كحد أقصى للتعرض للحرارة المرتفعة لا يلتزم بها.
- عقم الأدوات والأجهزة والمواد الصلبة الأخرى أو المواد الجافة الحساسة للحرارة بالتعريض للإيثيلين أكسيد Ethylene oxide في معقم زجاجي. استعمل شرائط الجراثيم المتاحة تجاريا أو المعلقات من البكتريا لضبط التعقيم.

أستعمال الآجار والمرق Agar and Broths

- يضبط Temper الآجار المنصهر Melted agar في حمام مائي عند ٤٤ – ٤٦ °م حتى وقت الآستعمال ولكن لا يترك في الحمام المائي أكثر من ٣ ساعات.
- لمراقبة حرارة الآجار، عرض زجاجة من الماء لنفس ظروف التسخين والتبريد مثل الآجار. آغمس ترمومتر في زجاجة المراقبة لتقدير متى تصل الحرارة إلى ٤٤ – ٤٦ °م والمناسبة للأستعمال في صب الأطباق.

- بعد صب الآجار في الأطباق للزرع على سطحه جفف سطح الآجار بترك الأطباق مفتوحة قليلا في كابينة بكتريولوجية Bacteriological hood لمدة ١٥ دقيقة على الأقل لمنع التلوث.

تخزين المزارع البيئة Storage of media

- حضر البيئة المعقمة بكميات تستعمل خلال فترة قصيرة، ويفضل تحضير البيئات في نفس يوم استعمالها.
- في حالة إسالة بيئات الآجار وتبقى جزء في الدورق بعد الأستعمال لا تتركه ليتصلب ويعاد أستعماله مرة أخرى، تخلص من المتبقي فورا.
- تحفظ الأطباق من البيئات التي لم تستعمل في يوم تجهيزها وذات الغطاء الغير محكم في الثلاجة ب إستعمال أكياس بلاستيكية محكمة الغلق هذا إذا لم تكن ستستعمل خلال يومين.
- إذا بردت أنابيب بيئة التخمر حتى وقت الأستعمال، حضن الأنابيب قبل الأستعمال حتى لا يكون هناك نتائج إيجابية غير صحيحة. حضر البيئات التي تخزن لمدة أطول من أسبوعين في أنابيب محكمة ذات غطاء قلاووظ لمنع فقد الرطوبة وإذا لم تتوافر تلك النوعية من الأنابيب تستعمل أنابيب عادية وتوضع في أكياس بلاستيكية محكمة الغلق.
- وللكشف عن الفقد في الرطوبة من أنابيب المرق Broth tubes ضع علامة على مستوى البيئة ولاحظ الفقد في الرطوبة. و إذا كان الفقد أكثر من ١٠% استبعد الأنابيب.
- احمي البيئات التي تحتوى على الصبغات من الضوء، إذا تغير اللون استبعد البيئة ولا تستعمل.
- المرق والآجار المحضر والمعقم المتوافر تجاريا Ready to use ربما يوفر مزايا عند الرغبة في إجراء التحليل متقطعا وعند عدم توافر الفنى للتحضير، أو عندما يمكن أن تتوازن التكاليف مع العوامل الأخرى للعمليات المعملية.

التعقيم Sterilization

- بعد إذابة البيئة تجزأ وتعقم خلال ساعتين.
- لا تخزن البيئة الغير معقمة.
- عقم البيئات، عدا مرق السكريات في الأوتوكلاف عند ١٢١ °م لمدة ١٥ دقيقة. بعد وصول الحرارة إلى ١٢١°م.
- عند وصول الضغط إلى صفر، افتح الأوتوكلاف واخرج البيئة ، بردها بسرعة لمنع تحلل السكريات مع طول التعرض للحرارة.
- استعمل أوعية صغيرة للبيئة أثناء التعقيم، لتسمح بالتسخين المتماثل وسرعة التبريد.
- عقم مرق السكريات عند ١٢١ °م لمدة ١٢ – ١٥ دقيقة.
- أطول مدة لتعرض مرق السكريات لآي حرارة (من وقت غلق الأوتوكلاف إلى تفريغه) هو ٤٥ دقيقة.
- يفضل استعمال الأوتوكلاف مزدوج الجدار للسماح بالتسخين المبدئي قبل الملأ لخفض الزمن اللازم ليكون في حدود ٤٥ دقيقة المحددة.

الماء

- لتحضير بيئات المزارع والأدلة، استعمل ماء مقطر أو ماء منزوع الأيونات
- Reagent grade water مع خلوه من آثار المعادن الذائبة أو المواد ذات التأثير القاتل أو مانعات النمو للبكتريا.
- ربما تنتج السمية في الماء المقطر من الماء المعالج بالفلور والمرتفع في السليكا.
- المصادر الأخرى للسمية هى الفضة، الرصاص، مركبات عضوية.
- عند استعمال الماء المكثف العائد يستعمل كمغذي للمقطر.
- الأمينات السامة أو مركبات الغلاية الأخرى ربما تتواجد في الماء المقطر.
- ربما يتواجدا أيضا الكلور المتبقي أو الكلورامين في الماء المقطر المحضر من ماء معالج بالكلور. إذا تواجد كلور في الماء المقطر، عاده يزال بإضافة كمية مكافئة من ثيوكبريتات الصوديوم أو كبريتيت الصوديوم.
- الماء المقطر يلزم أن يكون خاليا من المغذيات الملوثة.

- ربما يأتى التلوث من التسخين الزائد والسريع للمواد العضوية خلال التقطير، و الرواسب من الأنابيب الجديدة، التراب وأبخرة الكيماويات،
- و ربما يأتى التلوث من تخزين المياه في زجاجات غير نظيفة. خزن الماء المقطر بعيدا عن أشعة الشمس المباشرة لمنع نمو الطحالب.

خصائص البيئات Media Specifications

- يفضل استعمال البيئات الجافة (المنزوع منها الماء Dehydrated).
- لا تلجأ إلى تركيب البيئة من مكوناتها طالما البيئة الجاهزة الجافة متوفرة.
- اتبع توجيهات المنتج في تحضير البيئة وتعقيمها.
- يمكن استعمال البيئات جاهزة التحضير Ready to use على صورة سائلة معبأة في أمبولات ومعقمة طالما أنه معروف أنها تعطى نتائج مماثلة.
- مصادر البروتين المعروفة في معظم البيئات مثل الببتون، التربتون، التربتوز إبتكرت بواسطة منشئي Developers البيئات، وربما تظهر البيئات كمنتجات تجاريّ. ومن الممكن استعمال المواد البديلة أو المشابهة طالما أنها تنتج نتائج مشابهة.

مياه التخفيف Dilution Water

أ. المياه المنظمة Buffered water:

- لتحضير رصيد Stock من الفوسفات المنظم ، أذب ٣٤ جرام بوتاسيوم فوسفات ثنائي الهيدروجين Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) في ٥٠٠ مل ماء مقطر، أضبط pH عند ٧,٢ ± ٠,٥ بواسطة محلول من صودا كاوية (NaOH)

(١N) وخفف إلى لتر بماء مقطر.

- أضف ١,٢٥ مل من محلول الفوسفات المنظم و٠,٥ مل من محلول كلوريد ماغنسيوم

(٨١,١ جرام كلوريد مغنسيوم ($MgCl_2.6H_2O$/L distilled water) إلى ١ لتر ماء مقطر. وزعها بكميات ٩٩ ± ٢,٠ مل أو ٩ ± ٠,٢ ملل بعد التعقيم في الأوتوكلاف لمدة ١٥ دقيقة.

ب. ماء الببتون:Peptone water

- حضر محلول ١٠ % من الببتون في ماء مقطر.
- خفف حجم معين ليعطى محلول تركيز ٠,١ %.

- أضبط الـــpH عند ٦,٨.
- وزع كميات ٩٩ ±٢ مل أو ٩ ± ٠.٢ مل بعد التعقيم لمدة ١٥ دقيقة.
- لا تترك البكتريا في أي ماء تخفيف لمدة أطول من ٣٠ دقيقة على درجة حرارة الغرفة حتى لا يحدث موت أو تكاثر.

حفظ وتخزين العينات Preservation and Storage

- ابدأ الإختبارات الميكروبيولوجية لعينة الماء مباشرة بعد الجمع لمنع التغيرات.
- إذا لم يمكن إجراء ذلك خلال ساعة من الجمع استعمل مبرد الثلج للحفظ خلال النقل إلى المعمل.
- استعمل ناقل خاص لجلب العينات إلى المعمل خلال ٦ ساعات.
- اجعل حرارة كل عينات النيل الملوثة و مياه الشرب تحت ١٠ درجة مئوية خلال فترة النقل وأقصاه ٦ ساعات.
- برد هذه العينات في الثلاجة وعند أستلامها في المعمل يتم تحليلها خلال ساعتين.
- عندما تستدعى الظروف المحلية تأخير وصول العينات عن ٦ ساعات، قم بإجراء الإختبارات في الحقل بإستخدام الأجهزة الحقلية أو أستعمل طرق التأخير في التحضين Delayed incubation procedures.
- لا يجب أن يزيد الوقت الذى يمضى بين الجمع والاختبار عن ٢٤ ساعة.
- في حالة عدم توافر التبريد للعينات الفردية المرسلة عن طريق الجو، أستعمل ترموس، والذى يمكن تعقيمه. سجل الوقت وحرارة التخزين لكل العينات مع الأخذ في الأعتبار التفاصيل في تفسير البيانات والنتائج.

احتياطات الأمان داخل المعمل البكتريولوجى:

١ - الحرص عند أستخدام مواد قابلة للأشتعال أو سامة.

٢ - التعرف على المخاطر المحتملة في الطرق المستخدمة إن وجدت.

٣ - تخصيص مكان ملائم للعمل يستوعب الأجهزة والمعدات ويسمح بسهولة الحركة.

٤ - تخصيص غرفة لجمع وإستلام العينات.

٥ - توضيح التعليمات بالتعامل مع الحوادث الطارئة مثل حدوث حريق.

٦ - عدم تناول مأكولات أو مشروبات داخل المعمل.

٧ - ارتداء المعطف مع إحكام قفل الأزرار.

٨ - ارتداء قفازات بلاستيكية أو مطاطية أثناء العمل.

٩ - عدم سحب السوائل بالفم.

١٠ - عدم وضع الأقلام في الفم.

١١ - المحافظة على نظافة المعمل.

١٢ - التخلص من المزارع القديمة بعد إعدامها في الأوتوكلاف.

١٣ - بعد الانتهاء من العمل يجب تنظيف البنشات وإعادة ترتيب مكان العمل وأخيرا يخلع المعطف وتغسل اليدين بالماء والصابون.

المعايير الميكروبيولوجية

أ – العد الكلى للبكتريا بطريقة الصب بالأطباق :

- هذا العد الكلى للبكتريا لا يمثل كل البكتريا الموجودة بالمياه ولكنه يمثل فقط البكتريا التى تستطيع النمو على الوسط الموجود بالأطباق تحت الظروف المعملية من درجة الحرارة والمدة التى تركت فيها الأطباق داخل الحضانات .
- تستخدم هذه الطريقة لتقييم المحتوى البكتيرى للمياه بصفة عامة .
- العد الكلى للبكتريا يتم فى درجة حرارة ٢٢ ° م لتحديد العد الكلى للبكتريا الموجودة بصورة طبيعية فى المياه وليس لها علاقة بالتلوث الأدمى " البراز " .
- أما العد الكلى للبكتريا فى درجة حرارة ٣٧ ° م يحدد العد الكلى للبكتريا الناتجة من تلوث المياه بالمواد البرازية الأدمية أو من الحيونات (Warm – blooded).
- العد البكتيرى عند درجة حرارة ٢٢ ° م ليس له أهمية من الوجهة الصحية ولكنه هام فى تقييم كفاءة المياه وخاصة خطوات الترويب والترسيب والترشيح والتعقيم حيث أن الهدف هو التخلص من جميع البكتريا إلى أقل عدد ممكن .
- وكذلك يفيد العد الكلى عند درجة ٢٢ ° م فى تقييم نظافة وسلامة شبكة توزيع المياه وملائمة المياه فى تصنيع الأطعمة والمشروبات حيث أن زيادة العد البكتيرى فى المياه يساعد على فساد الأطعمة والمشروبات .
- أية زيادة فى العد البكتيرى عند درجة ٣٧ ° م بالمقارنة بالنتائج السابقه يعتبر إشارة أو إنذار مبكر لبدء تلوث المياه .

المعيار :

١ – عند درجة ٢٢ ° م لمدة ٤٨ ساعة لا يزيد العد الكلى للبكتريا عن ٥٠ خلية / ١سم٣ .

٢ – عند درجة ٣٧ ° م لمدة ٢٤ ساعة لا يزيد العد الكلى للبكتريا عن ٥٠ خلية / ١سم٣ .

ب – أدله التلوث :

١ – بكتريا القولون الكلية :

- هى عصيات سالبة لصبغة الجرام وتنمو على أملاح الصفراء وتخمر سكر اللبن وينتج عنها غاز وحامض عند درجة حرارة ٣٥ ° – ٣٧ ° م خلال ٢٤ – ٤٨ ساعة .
- تم اختيار هذه البكتريا لوجودها في المواد البرازية للإنسان بكثرة ولسهولة الكشف عنها حيث تظل فى المياه لفترات أطول من البكتريا المسببه للأمراض .
- يجب أن تكون هذه البكتريا معدومة فى جميع المياه المعدة للشرب والإستهلاك الأدمى سواء كانت مرشحة ومعالجة أو جوفية .
- وجود هذه البكتريا يعنى :

١ – عدم كفاءة التنقية.

٢ – تلوث المياه بعد إضافة الكلور النهائى أى بعد خروج المياه من طرد العملية .

٣ – أن المياه تحتوى على مواد عضوية أو غير عضوية تساعد على نمو البكتريا وتكاثرها .

- هذا الفحص هام فى تقييم كفاءة خطوات التنقية وسلامة شبكة المياه .
- فى حالة إكتشاف بكتريا القولون الكلية فى المياه وعدم إكتشاف باسيل القولون النموذجى يتم فحص المياه للمؤشرات البكتيريه الأخرى مثل البكتريا السبحية البرازية أو الكلوستريديام بيرفرنجنز .

المعيار :

- يجب أن تكون ٩٥ % من العينات خلال العام خالية من هذه البكتريا فى ١٠٠ سم٣ من العينة.
- ألا تحتوى أى عينة على أكثر من ٣ خلية / ١٠٠ سم٣ ولا تتكرر فى عينتين متتاليتين من نفس المصدر .

٢ – بكتريا القولون البرازية (باسيل القولون النموذجى) :

- بكتريا القولون البرازية هى مجموعة البكتريا التى تستطيع أن تخمر سكر اللبن عند درجة حرارة مرتفعة ٤٤ – ٤٥ °م وتكون غاز وحامض .
- توجد هذه البكتريا فى المواد البرازية للإنسان ضمن المجموعة القولونية بأعداد كثيرة تصل إلى ١٠ ٩ لكل جرام من المواد البرازية أو فى التربة الملوثة بالمواد البرازية . ووجودها فى المياه يعنى إحتمال وجود مسببات المرض ويعتبر خطرا داهما على الصحة العامة .
- تأكيد وجود بكتريا القولون البرازية فى المياه يحتاج لفحوص معملية إضافية .
- تعتبر الـ E. Coli البكتريا الإساسية لهذه المجموعة وهى توجد فى البراز الأدمى .

المعيار : معدوم فى ١٠٠ سم٣

٣ – البكتريا السبحية البرازية :

- توجد فى البراز الأدمى بأعداد أقل من البكتريا القولونية وباسيل القولون النموذجى .
- لا تتكاثر فى المياه الملوثة وهى أكثر مقاومة للعوامل الخارجية من باسيل القولون النموذجى والمجموعة القولونية .
- تستخدم لتقييم كفاءة خطوات التنقية . ولانها تقاوم الجفاف فإنها تستخدم لتقييم سلامة المياه بعد عمليات الإصلاح والإحلال لشبكات المياه .

المعيار : معدوم فى ١٠٠ سم٣ .

المراجع

- **تم الإعداد بمشاركة المشروع الألماني GIZ**
- **و مشاركة السادة :-**

- مهندس / محمد غنيم شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالبحيرة
- مهندس / محمد صالح شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالبحيرة
- مهندس / يسري سعد الدين عرابي شركة مياه الشرب القاهرة
- مهندس / عبد الحكيم الباز محمود شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالدقهلية
- مهندس / محمد رجب الزغبي شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالدقهلية
- مهندس / رمضان شعبان رضوان شركة مياه الشرب والصرف الصحي بسوهاج
- مهندس / عبد الهادي محمد عبد القوي شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالجيزة
- مهندس / حسني عبده حجاب شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالجيزة
- مهندسة / إنصاف عبد الرحيم محمد شركة مياه الشرب والصرف الصحي بسوهاج
- مهندس / محمد عبد الحليم عبد الشافي شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالمنيا
- مهندس / سامي موريس نجيب شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالغربية
- مهندس / جويدة علي سليمان شركة مياه الشرب بالأسكندرية
- مهندسة / وفاء فليب إسحاق شركة مياه الشرب والصرف الصحي ببني سويف
- مهندس / محمد أحمد الشافعي الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحي
- مهندس / محمد بدوي عسل شركة مياه الشرب والصرف الصحي بدمياط
- مهندس / محمد غانم الجابري شركة مياه الشرب والصرف الصحي بدمياط
- مهندس / محمد نبيل محمد حسن شركة مياه الشرب بالقاهرة
- مهندس / أحمد عبد العظيم شركة مياه الشرب القاهرة
- مهندس / السيد رجب محمد شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالبحيرة
- مهندس / نصر الدين عباس شركة مياه الشرب والصرف الصحي بقنا
- مهندس / مصطفي محمد فراج الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحي
- مهندس / فايز بدر المعونة الألمانية (GIZ)
- مهندس / عادل أبو طالب المعونة الألمانية (GIZ)