المختبر رقم (2) معالجة العملي _ المرحلة الرابعة

قياس المواد الصلبة الذائبة الكلية Total Dissolved Solids (TDS)

المواد المطلوبة:

1- عينة الماء

2- اوراق ترشيح

3- اطباق بتري زجاجية

4- ميزان حساس

طريقة العمل:

يتم قياس المواد الصلبة الذائبة الكلية في عينات المياه ، عن طريق تبخير حجم مرشح 50 مل من عينات الماء ثم جففت في داخل الفرن الكهربائي على درجة حرارة 105 درجة مئوية مئوي ويحسب تركيز المواد الصلبة الذائبة الكلية من خلال المعادلة التالية ويعبر عن النتائج بـ ملغم/لتر

$$\text{total dissolved solids Mg /L} = \frac{(A-B)x1000}{\text{Sample volum ml}}$$

إذ إن : A = تمثل وزن الطبق مع المتبقي .

B = تمثل وزن الطبق فارغاً .

-قياس المواد الصلبة العالقة الكلية Total Suspended solids

المواد المطلوبة :

1- عينة ماء

2- ورق ترشيح

3- ميزان حساس

طريقة العمل :

يتم حساب المواد الصلبة العالقة الكلية عن طريق ترشيح عينة المياه خلال ورقة ترشيح معلومة الوزن ثم يحسب الفرق في وزن ورقة الترشيح قبل وبعد عملية الترشيح. حيث توزن ورقة الترشيح الجافة ثم يرشح حجم 50 مل من ماء العينة الممزوج جيدا خلال ورق الترشيح وبعد اكتمال الترشيح ومرور المواد الذائبة خلال ورق الترشيح نجفف ورقة الترشيح بوضعها في Oven بدرجة حرارة 105 درجة مئوية وبعدها يتم وزنها مرة اخرى والفرق بين الوزنين يمثل كمية المواد الصلبة العالقة: وحسب المعادلة التالية

$$\text{Total Suspended solids Mg/L} = \frac{(A-B)\times 1000}{\text{Sample volum ml}}$$

A= وزن ورقة الترشيح والمواد الصلبة العالقة/ غم

B .= وزن ورقة الترشيح وهي فارغة/ غم

المختبر رقم (1) معالجة العملي – المرحلة الرابعة

قياس الأوكسجين المذاب في المياه Dissolved Oxygen

المواد المطلوبة:

1- قناني ونكلر شفافة ومعتمة

2-كبريتات المنغنيز

3-يوديد البوتاسيوم القاعدي

4-حامض الكبريتيك المركز

5- محلول ثايوسلفات الصوديوم عيارية 0.025

6- محلول النشأ كدليل

7- سحاحة حجم 50 مل

طريقة العمل:

يتم حساب تركيز الاوكسيجين المذاب في الماء باستخدام طريقة ونكلر (Winkler) ، إذ تملأ قناني الأوكسجين ذات حجم 250 مل وذلك بغمرها في الماء او بوعاء بولي اثليني خصص لهذا الغرض، وتم تثبيت العينة في الحقل بإضافة 2 مل من كبريتات المنغنيز Manganous Sulphate وثم أضيف 2 مل من يوديد البوتاسيوم القاعدي Alkaline potassium Iodide ورجت العينة جيدا ، وبعد 10 دقائق أضيف 2 مل من حامض الكبريتيك المركز Concentrated Sulphric Acid. ثم أخذ 100 مل من العينة المثبتة وسحح مع ثايوسلفات الصوديوم Sodium thiosulphate ذات عيارية (0.025N) مع إضافة قطرات من النشا Starch بوصفها كاشفا وأخذ المعدل لثلاث قراءات وعبر عن النتائج بـ ملغم/لتر من الأوكسجين .

المتطلب الحيوي للأوكسجين Biological Oxygen Demand (BOD_5)

حُسبَ المتطلب الحيوي للأوكسجين بواسطة الطريقة المستخدمة في قياس الأوكسجين المذاب بعد وضع قناني ونكلر المعتمة وغير المثبتة لمدة خمسة أيام بدرجة حرارة 25 درجة مئوي ثم حدد الأوكسجين المذاب ملغم/لتر BOD_5 مثلت قيمة DO_0 وأن الفرق مع الأوكسجين المذاب الأولي (DO_5)

$$BOD_5 = DO_0 - DO_5$$

المختبر رقم (4) معالجة العملي – المرحلة الرابعة

حساب العدد الكلي للبكتريا الهوائية

المواد المطلوبة :

1–انابيب اختبار زجاجية سعة 25 مل

2–اطباق بتري

3– ماصة معقمة

4– وسط زرعي الاكار المغذي(Nutrient agar)

طريقة العمل :

تستخدم طريقة صب الأطباق plate pour في تقدير العدد الكلي الحي للبكتريا ، إذ يتم رج نموذج عينة الماء بشدة حوالي 25 مرة ثم تحضر سلسلة من التخافيف لغاية 10^{-5} باستعمال المحلول الملحي الوظيفي physiological normal saline %0.85 فيتم نقل 1 مل باستخدام ماصة نظيفة ومعقمة من كل تخفيف ومن العينة الأصلية إلى أطباق بتري المعقمة ثم يصب الوسط الغذائي Nutrient agar بعد أن وصلت حرارته إلى درجة حرارة (45–50) درجة مئوية ثم تحريك طبق الوسط الغذائي من خلال تدوير الطبق بهدوء بشكل رقم 8 مع الوسط الغذائي بصورة جيدة ، ثم يترك لكي تتصلب وبعدها تحضن الأطباق بصورة مقلوبة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة . في الحاضنة ، بعدها يتم حساب عدد المستعمرات النامية العدد الكلي الحي للبكتريا الهوائية بالعد القياسي للأطباق standard plate count باستخدام عداد المستعمرات ، وعلى أن يتراوح أعداد المستعمرات في كل طبق (30_300) مستعمرة ومن ثم ضرب عدد المستعمرات في مقلوب التخفيف ويعبر عنها خلية/100 مل.

المختبر رقم (5) معالجة العملي– المرحلة الرابعة

حساب العدد الكلي لبكتريا القولون

المواد المطلوبة

1- انابيب اختبار زجاجية سعة 25 مل

2- درهم تيوب Durham's tube

3- وسط زرعي MacConkey broth

طريقة العمل:

طريقة العد الأكثر احتمالا Most probable number (MPN) في تحديد العدد الكلي لبكتريا القولون يتم تلقيح ثلاث مجاميع وكل مجموعة تتكون من ثلاثة أنابيب اختبار سعة 25 مل تحتوي على الوسط الزرعي MacConkey broth في داخل كل أنبوبة اختبار من هذه المجاميع Durham's tube (للكشف عن الغاز المتحرر)، إذ جرى :

- **الاختبار الافتراضي**

وذلك بإضافة 10 مل من وسط MacConkey broth ذي التركيز المفرد single strength في مجموعتين من أنابيب الاختبار والمضاعف Double strength في مجموعة ثالثة ، وتم تلقيح هذه الأنابيب بعينات الماء من خلال ماصات معقمة ، إذ لقحت الأنابيب ذات التركيز المفرد بالحجوم (1,0.1) مل من ماء العينة والأنابيب ذات التركيز المضاعف بحجم 10 مل من ماء العينة . حضنت الأنابيب الملقحة على درجة حرارة 35 درجة مئوية لمدة من 24 ساعة . فتغير لون الوسط في أنبوبة الاختبار من اللون الوردي إلى اللون الأصفر وكذلك تجمع الغاز في أنابيب Durham's tube بنسبة 10% أو أكثر من حجم أنبوبة الاختبار دلالة على النتيجة الموجبة .ولتأكيد أن البكتريا التي خمرت الوسط الزرعي (تغير لون الوسط الزرعي إلى اللون الأصفر) وكونت غاز داخل أنابيب Durham's tube هي من أصل معوي إذ تم إجراء :

حساب العدد الكلي لبكتريا القولون

- **الفحص التأكيدي**

تزرع على وسط Eosine Methylene Blue agar (EMB agar) بتقنية التخطيط إذ تم نقل حملة لوب Loop full من أنابيب الاختبار الموجبة (حامض+غاز) إذ رجت الأنابيب جيدا وتلقح الأوساط الزرعية(Eosine Methylene Blue agar (EMB agar ثم تحضن الأطباق بشكل مقلوب على درجة حرارة 35 درجة مئوية لمدة من 24 ساعة . إن ظهور مستعمرات دائرية صغيرة سوداء اللون محاطة بحزام اخضر داكن لماع metallic sheen دلالة على عائدية المستعمرات الموجبة (اعتمادا على صفاتها المظهرية) من الاختبار التأكيدي ، وتم تشخيص بكتريا القولون بالاعتماد على الخواص المظهرية من خلال (نشر حملة لوب من تلك المستعمرات التي تم تحديدها على أنها عائدة لبكتريا القولون على الشريحة وتم تجفيفها في الهواء وتثبيتها باللهب ثم تم تصبغيها بصبغة كرام إذ شوهدت على القوى الكبرى تحت العدسة الزيتية (×1000) للمجهر الضوئي ، عصيات سالبة لصبغة كرام ، غير مكونة للأبواغ وهي إحدى العلامات التشخيصية لبكتريا القولون . وبموجب جداول الاحتمالية probability tables التي تم وضعها من قبل McCardy عام 1981 يقدر العدد الأكثر احتمالا لبكتريا القولون في 100 مل.

- **الاختبار التكميلي Completed test**

في هذا الاختبار تنقل المستعمرات المشكوك بكونها *E.coli* النقية النامية على وسط EMB ووسط ماء الببتون Pepton Water لفحص تكوين الاندول ، تحضن الأنابيب بعد ذلك في حمام مائي بدرجة (44.5) م° لمدة (24–48) ساعة إذ إنه في هذه الدرجة الحرارية تنمو بكتريا *E. coli* التي تستطيع إنتاج الغاز في هذه الدرجة الحرارية (خلف،1987) . ثم وضعت قطرات من كاشف كوفاكسKovax's reagent في الأنابيب إذ أنّ تكون الحلقة الحمراء دليل على النتيجة الموجبة .