الشركة القابضة
لمياه الشرب والصرف الصحى

برنامج المسار الوظيفي للعاملين بقطاع مياه الشرب والصرف الصحي

حقوق الطبع محفوظة
الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحى
الإدارة العامة للمسار الوظيفى - إدارة المناهج

دليل المتدرب

البرنامج التدريبي فني معمل – الدرجة الثالثة

الاختبارات الميكروبيلوجية

الاختبارات الميكروبيلوجية

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

الفـــــهـــــرس

التحاليل الميكروبيلوجية في مياه الشرب والصرف الصحي 4
مقدمة 4
البكتريا 4
1. البكتيريا المستديرةSpheres 5
2. البكتيريا العصويةrod like 5
3. البكتيريا الحلزونيةSpiral 5
أشكال أخرى 6
التركيب الداخلي للخلية 7
حركة البكتيريا 7
النمو في البكتيريا 7
عملية التكاثر الخلوي 8
بعض العوامل التي توثر في نشاط البكتريا: 8
أطوار النمو: 9
المعمل البكتريولوجي 10
الأدوات المستخدمة في الاختبارات البكتريولوجية: 11
التجهيز للمزارع البكتريولوجية 11
أولا غسيل وتعقيم الأدوات الزجاجية 11
طـــرق التعقيم 12
التعقيم بواسطة الغليان: 12
التعقيم بواسطة الكحول: 12
التعقيم باستعمال الأوتوكلاف: 12
أنواع الأوساط الغذائية 13
1. الأوساط الغذائية العامة (General Media): 13
2. الأوساط الغذائية العازلة (Isolation Media) 13
3. الأوساط الغذائية الاختيارية (Selective Media) 14
طرق تحضير وحفظ الأوساط الغذائية 14
1. الطرق العامة 14
طريقة تحضير محلول الفوسفات المنظم Phosphate Buffer 15
الماءالمستخدم في تحضير الأوساط الغذائية 17
أ. الخصائص: 17
وقت حفظ الأوساط الغذائية المحضرة وعينات البكتريولوجي عند درجة حرارة 4° م: 18
الفترة ودرجة الحرارة للتعقيم بالاوتوكلاف: 18
شروط المياه المقطرة المستخدمة لاختبارات الميكروبيولوجي: 18
الاختبارات البكتريولوجية 19
تجهيز المياه المستخدمة في تخفيف العينات 19

العد الكلى للبكتريا بطريقة الصب بالأطباقPlate count Bactria 20
العد الكلى للبكتريا بطريقة الصب بالأطباق Plate count Bactria 21
خطوات إجراء التجهيز: 21
أدلة التلوث في مياه الشرب 22
بكتريا المجموعة القولونية Coliform group 22
الأسباب التي دعت لاختيار المجموعة القولونية كدليل للكشف عن التلوث: 22
طريقة الأنابيب المتعددة 23
1. المرحلة الافتراضية Presumptive Phase 23
2. المرحلة التأكيدية Confirmed phase 23
3. المرحلة الكاملة أو النهائية Complete phase 24
حساب وتسجيل العدد الأكثر احتمالا Computing and Recording of MPN 24
طريقة غشاء الترشيح Membrane Filter (MF): 25
الأدوات والكيماويات المستخدمة في الترشيح الغشائي 26
الأدوات والكيماويات المستخدمة 26
طريقة تحضير محلول الوسط الغذائي M-Endo Culture Media 27
الفحص البيولوجي Biological investigation 28
أهمية عد الطحالب والتعرف على أنواعها 28
تجهيز العينات للفحص الميكروسكوبي Microscopically examination 30
الهدف من التجهيز: 30
الفحص المجهري لمياه الصرف الصحي والحمأة 33
1. مقدمة: 33
2. الاستخدام المجهري او الميكروسكوبي MICROSCOPY 33
3. تحضير الشريحة للفحص المجهريSlide Preparation 38
تحضير شريحة رطبةWet Mount 38
استخدام الميكروسكوب لفحص العيناتUsing the Microscope 38
جمع العينات للفحص المجهري Sample Collection 39
الكائنات الحية في وحدة الحمأة النشطة لمعالجة مياه الصرف الصحي MICROBIOLOGY OF ACTIVATED SLUDGE 39
البروتوزواProtozoa 40
الأميبا Amoeba 41
الهدبيات Flagellates 42
السوطياتCiliates 43
السوطيات حرة الحركةFree-swimming Ciliates 44
السوطيات الزاحفة Crawling ciliates 44
السوطيات الجالسة او المعنقة Stalked Ciliates 45
الحيونات عديدة الخلايا Metazoa 49
العجليات او الروتفيرا Rotifers 49
الديدان الخيطية او النيماتودا Nematodes 50
دب الماء او التارتيجرايدز Tartigrades (water bear) 51
عد البروتوزوا مجهرياProtozoa Count 52

خطوات التجربةThe Procedure 52
حساب الانتشار النسبي Calculate relative dominance 54
نموذج رقم (26) قطاع المعامل 55

التحاليل الميكروبيلوجية في مياه الشرب والصرف الصحي

مقدمة

- حوالى 2.2 مليون من البشر يموتون كل عام من أمراض مرتبطة بأسباب صحية مثل الاسهال، معظم هؤلاء من أطفال الدول النامية.
- الصحة، النظافة، الامداد بالمياه أثبت أن لها دورها في التحكم في هذه الأمراض. ولقد اتضح أن الامداد بالمياه الآمنة والوسائل الصحية خطوة أساسية لخفض الاصابة بهذه الأمراض.
- وعلى الرغم من ذلك فان الامداد بمصدر جيد للمياه وتوفير الوسائل الصحية الأساسية ظل أمرا محيرا. والامداد بمياه شرب مقبولة من حيث الصفات المكروبيولوجية مع خفض مخاطر الاصابة بالأمراض المعدية يحتاج الى عناصر أساسية تتضمنها خطة المياه الآمنة.
- وفي أي خطة مياه آمنه فان التركيز يقع على التحكم والكشف عن التلوث البرازي لمياه الشرب وكذلك مصادره.
- والطرق المعتادة في قياس التلوث البرازي تعتمد على بكتريا أو مجموعة من البكتريا يعتد بها كدليل على التلوث البرازي.
- وقياس أي مؤشر بكتيري للتلوث البرازي يحتاج الى شخص متدرب، بيئات ومواد أخرى مدعمة وكذلك امكانيات تتوافر فقط في معمل الميكروبيولوجي أو استعمال وسائل للتحليل الميكروبيولوجي في الحقل.
- وتهدف هذه الدورة الى توجيه النظر إلى التعريف بالبكتريا عامة والعوامل المؤثرة في نموها وكذلك تسليط الضوء على معامل الميكروبيولوجي وطرق الاختبار لتحديد جودة مياه الشرب من حيث الصفات البيولوجية.

البكتريا

أولا الصفات المظهرية للخلية البكتيرية (المورفولوجية)

- معظم الخلايا البكتيريا 2- 5 × 1.5 نانوميتر

شكل وتجمع الخلايا البكتيرية

1. البكتيريا المستديرة Spheres

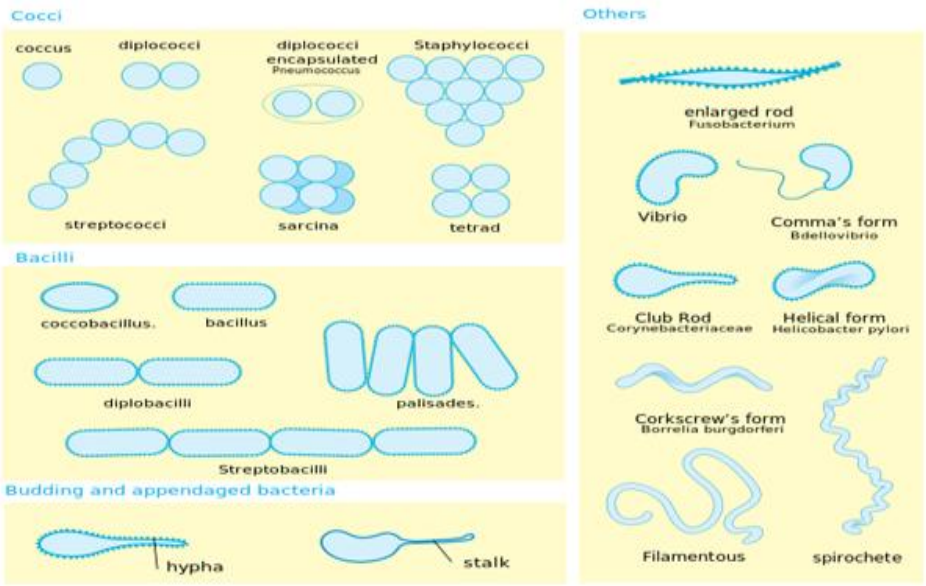
- Cocci ومفردهاcoccus وكثير من البكتيريا لها نظم تجمع لها أهميتها في أغراض التعرف عليها
- أزواج Diplococcus
- سلسة (سبحية) Streptococcus
- مجاميع Tetrads
- عناقيد غير منتظمة تشبه عنقود العنب Staphylococcus
- أو في تركيب ذو ثلاثة أبعاد (مكعبات مكونة من 8 خلايا او اكثر) Sarcina

2. البكتيريا العصوية rod like

- تشبه العصا يطلق عليها Bacilli ومفردها Bacillus
- عادة لا تنتظم الخلايا العصوية في تجمعات مميزة لأجناسها كما يحدث في البكتيريا المستديرة ولكن أحيانا تشاهد في أزواج ويطلق عليها Diplobacilli أو في سلاسل Streptobacilli. منها شديد الطول ومنها طولها أطول قليلا من عرضها
- بعض البكتيريا العصوية قد تتحول إلى أطوار مقاومة للحرارة تعرف بالجراثيم الداخلية Endospores كما في الجنس Bacillus or Colstridium

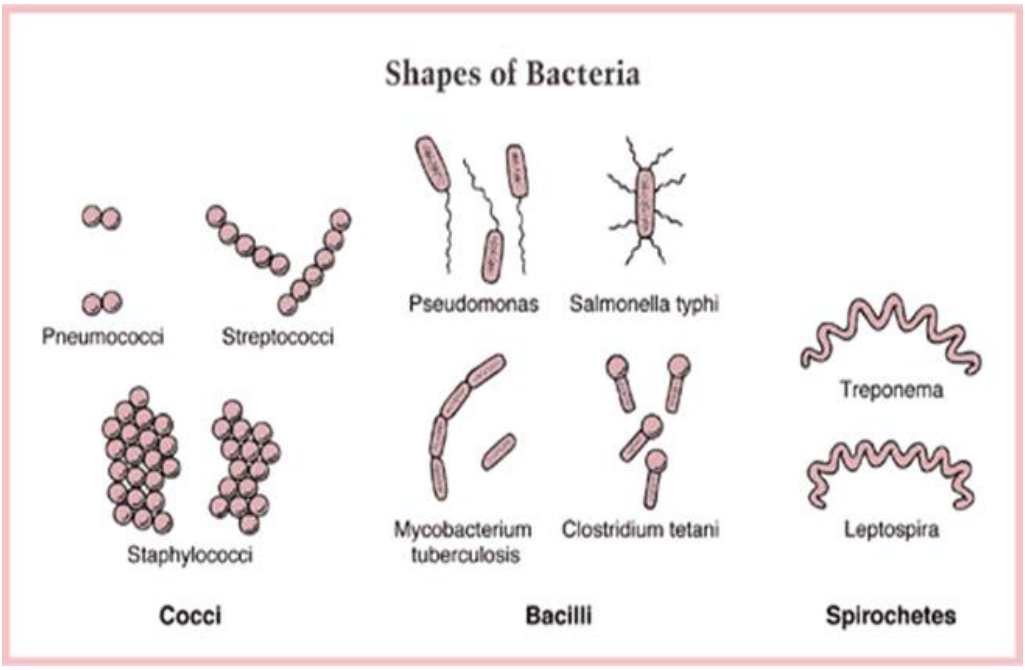
3. البكتيريا الحلزونية Spiral

- عاده لا تتجمع خلايا البكتيريا الحلزونية ببعضها بل توجد مفردة دائما. ولكن لها أشكال مختلفة من حيث الطول.

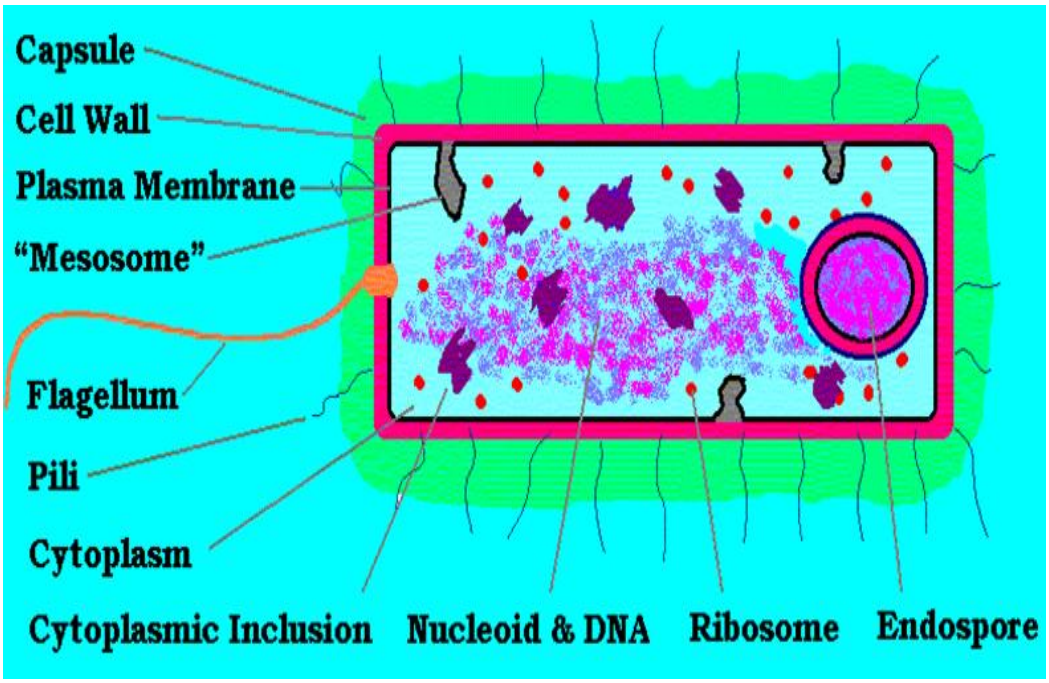


أشكال أخرى

- ابلسبيروكيتات Spirochaetes: خلايا مرنة طويلة ذات مظهر حلزوني متحركة بدون اسواط.
- الاكتينوميسيتات Actinomycetes شبة الفطريات. تتميز بتكوين خيط أو هيفات.
- الكوريني بكتيرات Coryne bacteria ضمت إلى الاكتينوميسيتات وهي عصويات مستقيمة أو منحنية قليلا.
- الميكوبكتيرات Myco bacteri
- البكتيرات الهلامية.



التركيب الداخلي للخلية



حركة البكتيريا

- الانزلاق gliding movement كما في البكتيريا الهلامية أو حركة دودية flexion movement
- معظم البكتيريا المتحركة تملك أعضاء دقيقة طويلة يطلق عليها الاسواط Flagella ومفردها Flagellum وهي خطوط دقيقة جدا من البروتين.

يوجد توزعين أساسيين للأسواط ويصنف على أساسهما البكتيريا:

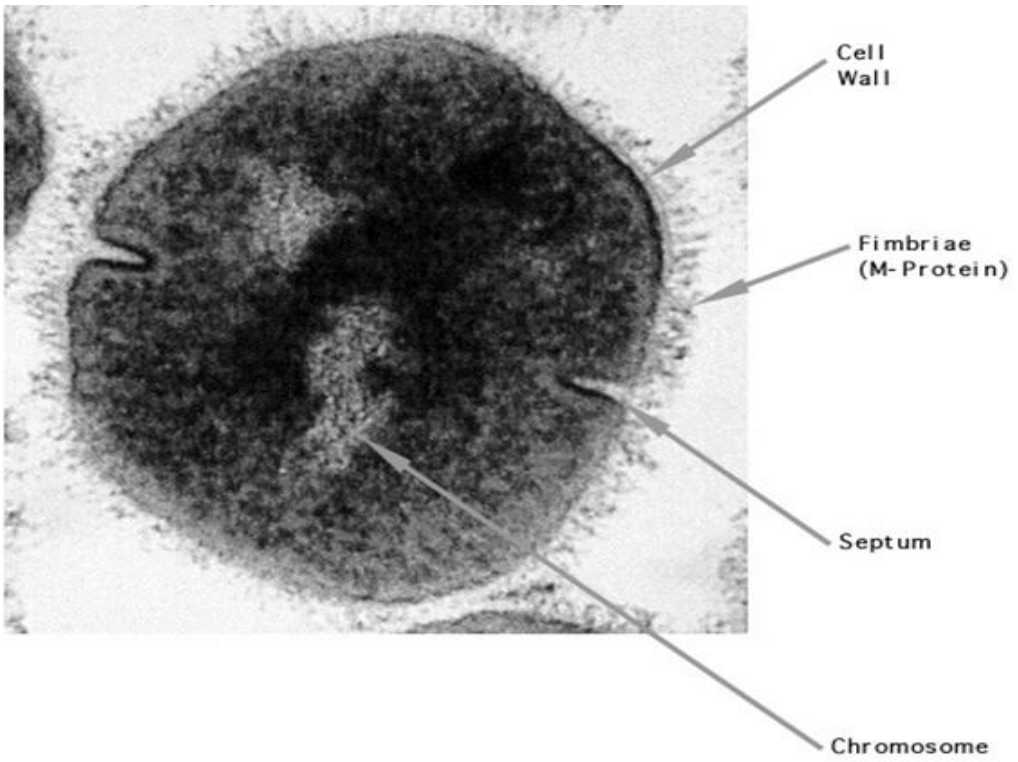
1. عند طرف أو طرفي الخلية.
2. توجد اسواط موزعة عند عدة نقط على امتداد جسم الخلية.

النمو في البكتيريا

هو الزيادة في تعداد الخلايا عن القدر الذي بدأت به المزرعة والذي كان موجودا باللقاح الأصلي.

عملية التكاثر الخلوي

إن نمو وانقسام الخلايا البكتيرية يمثل عملية دورية cyclical فكل خلية جديدة تتكون تصبح بدورها ذات قدرة على التكاثر. بمعنى أن الخلايا الجديدة الناتجة عن الانقسام تمتلك الخصائص الفسيولوجية التي كانت تميز آباءها القادرة على التكاثر.



بعض العوامل التي توثر في نشاط البكتريا:

1. **الغذاء**
   - الغذاء هو مصدر الطاقة التي يستغلها الكائن الحي في أداء وظائفه الحيوية ونشاط البكتيريا يزداد بطبيعة الحال متى توافر الغذاء اللازم لها والعكس صحيح.
2. **الأكسجين**
   - يزيد نشاط البكتريا الهوائية بزيادة نسبة الأكسجين في الهواء إلى حد معين أما البكتيريا غير الهوائية فان زيادة الأكسجين يحد من نشاطها حتى يؤدى إلى قتلها في حين أن انعدام الأكسجين كلية يزيد من نشاطها.
3. **الرطوبة**
   - الرطوبة ضرورية لنمو البكتيريا، ذلك أن خلاياها الحية لابد لها أن تستمد غذائها من وسط سائل مذاب فيه فإن قلت الرطوبة لحد كبير في الوسط الذي تعيش فيه البكتيريا فإن نشاطها يقل حتى إذا ما حدث الجفاف فإن البكتريا (غير المتجرثمة) لا يمكنها إن تواصل الحياة لأكثر من ساعات قليلة.

4. درجة الحرارة

- توجد درجة حرارة مثلي لنمو البكتيريا ودرجة حرارة دنيا وقصوى وبصفة عامة فإن أغلب الخلايا البكتيرية (غير المتجرثمة) تموت في درجة حرارة (55°C) إما البكتيريا المتجرثمة فإنها تقاوم الحرارة العالية حتى أنه يمكنها إن تظل حية في بعض الأحيان إذا وضعت في ماء يغلي لعدة ساعات.

5. 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 وفي حيويتها فقد دلت التجارب على أن الأشعة فوق البنفسجية ذات أثر فعال في قتل البكتريا.

6. الأس الهيدروجيني

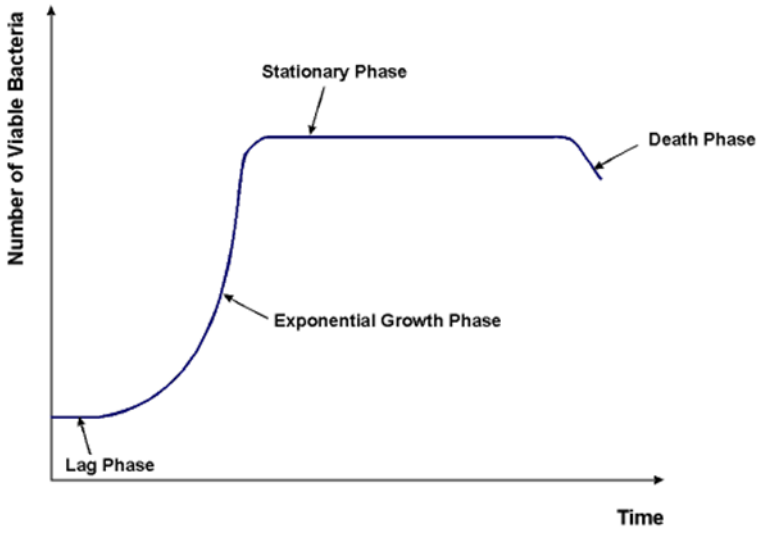
- لكل نوع من البكتيريا مدى معين من الأس الهيدروجيني تعيش فيه واختلاف هذا المدى يؤثر في نموها ونشاطها. فعلى سبيل المثال يمكن شرب كوب من الماء ملوث ببكتريا الكوليرا عند اضافة الليمون إليه.

7. الضغط الأسموزي

- إذا ارتفع الضغط الأسموزي للوسط الذي تعيش فيه البكتيريا مثل البحار فإن عددا قليلا من أنواع البكتيريا هو الذي يستطيع مقاومة تلك الضغوط الأسموزية العالية وتواصل نشاطها أما أغلب البكتريا فإن نموها يقل أو يتوقف.

أطوار النمو:

1. طور الركود Lag phase
2. طور النمو اللوغارتمي Log phase
3. الطور الثابت Stationary phase
4. طور تناقص النمو أو طور الموت The phase of decline or death



المعمل البكتريولوجي

الأجهزة المستخدمة في الاختبارات البكتريولوجية:

1. حضانة كهربائية للمزارع البكتيرية.
2. أوتوكلاف رأسي للتعقيم ولتسييح الاجار وإعدام المزارع البكتيرية بعد إجراء الاختبار.
3. فرن تعقيم.
4. ميزان حساس برقميين عشريين.
5. ثلاجة لحفظ المزارع البكتيرية.
6. جهاز ترشيح غشائي.

ميزان حساس

أوتوكلاف رأسي

حضانة كهربائية

الأدوات المستخدمة في الاختبارات البكتريولوجية:

1. ماصات مدرجة بأحجام مختلفة.
2. زجاجات جمع العينات سعه250 مل بغطاء قلاووظ محكم.
3. أطباق بتري من الزجاج أو البلاستيك الذي يستخدم للمرة الواحدة.
4. أنابيب زجاجية بغطاء قلاووظ مقاس 16×160مم وبها دراهم زجاجيه (أنابيب تخمر).
5. حاوية للماصات من الاستليس ستيل.

التجهيز للمزارع البكتريولوجية

كيفيه تجهيز وتعقيم الأدوات المستخدمة في الزرع البكتريولوجي:

أولا غسيل وتعقيم الأدوات الزجاجية

- تغسل الزجاجيات جيدا بالماء الدافئ والصابون.
- يعاد غسيلها مره أخرى بالماء الدافئ فقط للتخلص من أثار الصابون.
- تغسل بالماء المقطر جيدا.
- زجاجات العينات تغسل بالطريقة السابقة ويوضع في كل زجاجة (حجم 120 مل) 0.1 مل من محلول 3% ثيوكبريتات الصوديوم السابق تجهيزه لمعادله الكلور الحر المتبقي الموجود بالعينة وتغطى الزجاجة بالغطاء المخصص لها مع عدم احكام غلق الغطاء.
- تعقم الأدوات الزجاجية في فرن التعقيم عند درجه حراره 170°م لمده لا تقل عن ساعة كاملة.
- بعد التعقيم يحكم غلق الزجاجات جيدا وتحفظ مغلقه لحين ملئها بالعينة.

- الماصات الزجاجية واطباق بترى المصنوعة من الزجاج توضع في حاويات من الاستليس ستيل يتم تعقيمها لمده لا تقل عن ساعتين وعند درجه حراره 170°م وفي حالة وضعهم بدون الحاوية يكون الزمن الازم للتعقيم ساعة واحدة عند نفس درجه الحرارة.

طـــــــرق التعقيم

كلمة (تعقيم) تعني قتل جميع الجراثيم وفي عمليات الفحص البكتيريولوجي يلزم تعقيم جميع الأدوات والمحاليل قبل القيام بأي تحليل للعينات ومن الأجهزة الأكثر استعمالا في المعامل هي الأوتوكلاف حيث يتم التعقيم بواسطة الحرارة والبخار المضغوط هذا بالإضافة إلى أجهزة تعقيم بالأشعة فوق البنفسجية أو بواسطة الإشعاع.

التعقيم بواسطة الغليان:

يمكن تعقيم الأدوات قبل استعمالها بغمرها في ماء مغلي لمدة 10 دقائق وعقب استخراجها من الماء المغلي تغلف في رقائق الألمنيوم الذي تم حرقة في النار ويتم استخدام مثل هذه الأدوات بعد تبريدها.

التعقيم بواسطة الكحول:

يمكن التعقيم بواسطة كحول الإيثيل بتركيز 70%.

التعقيم باستعمال الأوتوكلاف:

يستعمل جهاز الأوتوكلاف في التعقيم بواسطة الحرارة الرطبة تحت الضغط، وقبل استخدام جهاز الأوتوكلاف يمكن قتل جميع الكائنات الحية في درجة حرارة 121 ْم تحت درجة ضغط 15 رطل على البوصة المربعة في مدة 15 دقيقة ومن المهم ضرورة الالتزام بتعليمات طرق التعقيم حتى لا تعرض بعض محاليل المستنبطات إلى التحليل وبالأخص البكتيريا مثل اللكتوز في درجات الحرارة العالية أو طول مدة التسخين. وتتلخص طريقة عمل الأوتوكلاف فيما يلي:

- سخن الماء ليعطي بخار.
- يطرد بخار الهواء إلى الخارج.
- تغلق فتحة خروج البخار عند تمام طرد الهواء.

- ارتفاع الحرارة يرفع الضغط إلى 15 رطل على البوصة المربعة وعند هذا الضغط تصبح درجة حرارة البخار 121 °م.
- يحافظ على الضغط والحرارة لمدة من الزمن المحدد وبعد ذلك يبدأ في تصريف البخار ببطيء حتى تصل إلى الضغط الجوي ومن المهم أن نوضح هنا أن التصريف السريع للبخار يسبب غليان السوائل.
- ترفع المواد المعقمة وتترك لتبرد.

ملحوظة:

يجب ملاحظة أن جميع الأوعية الزجاجية والأدوات التي سيتم تعقيمها تكون ملفوفة في ورق كرافت وأن لا تكون الأغطية على الزجاجات التي تحتوي محاليل محكمة الغلق بل يجب تركها مغطاة بغير إحكام ولا يستعمل إطلاقا أي سدادات من المطاط.

أنواع الأوساط الغذائية

يتم تصنيف الأوساط الغذائية علي حسب الأغراض التي يتم الزرع لها

1. الأوساط الغذائية العامة (General Media):

وتسمى أيضا بالأوساط الغذائية الأساسية (Minimal Media) حيث يتم عليها تنمية لجميع أنواع البكتيريا وهي عبارة عن خليط من أنواع السكر المختلف (مصدر للكربون والطاقة) والبروتين (مصدر للنيتروجين) والأملاح ومن أمثالها Nutrient Agar

2. الأوساط الغذائية العازلة (Isolation Media)

وهي أوساط غذائية يتم تنمية نوع واحد أو مجموعة واحدة من البكتيريا عليها دون السماح للأنواع الأخرى بالنمو وذلك عن طريق اختيار نوع واحد من السكر والبروتين والأملاح لا يستطيع أي نوع أخر من البكتيري أن يخمرها (Fermentation) ومنها Brilliant Green و E.C. Media و Lauryl Tryptose

3. الأوساط الغذائية الاختيارية (Selective Media)

وهي أوساط غذائية يتم تنمية نوعان أو اكثر من البكتيريا لإجراء بعض التجارب أو المقارنات بينها.

طرق تحضير وحفظ الأوساط الغذائية

1. الطرق العامة

أ. تخزين الأوساط الغذائية:

يجب تخزين الأوساط الغذائية الخالية من الماء "البودرة" في العبوات الخاصة بحيث تكون مغلقة جيدا لمنع تسرب الرطوبة إليها مما ينتج عنه تغيرات كيمائية وفيزيائية غير مرغوبة (تغير اللون والشكل).

1. تخزين الأوساط الغذائية الخالية من الماء "البودرة" في درجة حرارة اقل من 30 درجة مئوية ومكان مظلم جاف.
2. لا يمكن استخدام الأوساط الغذائية الخالية من الماء "البودرة" عند تغير لونها أو تصبح كتل " تحجر" أو عندما تفقد خاصيتها.
3. يجب أن تستهلك العبوة في خلال 6اشهر من تاريخ فتح العبوة.
4. تحضر الأوساط الغذائية الكافية لأسبوع "أسبوعيا"
5. إذا حفظت الأوساط المغذية المجهزة في زجاجات مغلقة جيدا بغطاء قلاووظ يمكن أن تصل صلاحية استعمالها حتى 3 شهور من تاريخ التحضير.
6. احفظ الأوساط المغذية المحضرة بعيدا عن ضوء الشمس المباشر والتلوث والتبخير الشديد
7. الأوساط الغذائية السائلة تخزن في الثلاجة أو في درجات حرارة منخفضة .

8. يجب حفظ أنابيب الأوساط الغذائية على الأقل ليلة في الثلاجة قبل استخدامها لتجنب تكوين فقاعات هواء داخل الأنابيب.
9. عند بدء استعمال الأنابيب يجب استبعاد الأنابيب الموجود بداخلها فقاعات هواء.
10. عند حدوث تبخير للوسط الغذائي السائل الموجود داخل الأنابيب اكثر من (1 مل) تستبعد الأنبوبة.

ب. ضبط تفاعل التحضير:

1. عن طريق قياس pH للوسط الغذائي.
2. عادة ما يحدث تغير طفيف في pH الوسط الغذائي بعد التعقيم حسب نوع جهاز التعقيم المستخدم .
3. عند تحضير الأوساط الغذائية يكون التغير في pH عادة ±0.1 أو± 0.2 لكن قليلا ما تكون ± 0.3 كما يحدث في الأوساط مزدوجة القوة.
4. يمكن اختبار pH للأوساط الغذائية بواسطة جهاز الـــــــ pH .
5. عند خروج معدل التغير في الـــــ pH عن المكتوب على العبوة الخاصة بالوسط الغذائي لا يمكن استخدام هذا الوسط الغذائي .

طريقة تحضير محلول الفوسفات المنظم Phosphate Buffer

يستعمل هذا المحلول في غسل غشاء الترشيح عدة مرات بعد تمام عملية ترشيح العينة وكذلك يستعمل في عمل التخفيف الملائم للعينات عند اللزوم ويمكن تحضيره كما يلي:

- **محلول رقم (1):**

قم بتذويب 34 جرام من ثنائي فوسفات البوتاسيوم (KH_2PO_4) Potassium Dehydrogenate Phosphate في 500 ملليلتر ماء مقطر ثم اضبط الرقم الهيدروجيني إلى 7.2 وبعد ذلك أكمل حجم المحلول إلى 1 لتر بواسطة إضافة كمية من الماء المقطر –

ضع هذا المحلول في الثلاجة وعند إعادة استخدامه لاحظ وجود أي عكارة، وفي حالة وجود العكارة لا يستعمل.

- **محلول رقم (2):**

قم بتذويب 38 جرام من كلوريد الماغنسيوم اللامائي أو 81.4 جرام من كلوريد الماغنسيوم المائي في لتر من الماء المقطر.

ج. التعقيم:

1. لا يتم تخزين الأوساط الغذائية بعد حلها في الماء بدون تعقيم .
2. لا يتم تعقيم الأوساط الغذائية السائلة الموجود بها أحد أنواع السكر مع غيرها
3. تعقم الأوساط الغذائية السائلة في الأوتوكلاف عند درجة حرارة 121°م لمدة 15 دقيقة.
4. عند انتهاء التعقيم وانخفاض الضغط (عندما يصل إلى صفر) يتم تبريد الأوساط الغذائية بسرعة حتى لا يحدث تكسير لمركبات السكر الموجودة بها بتعريضها إلى درجة حرارة مرتفعة لفترة طويلة.
5. من اجل الحصول على توزيع جيد لدرجة الحرارة في حالة تعقيم الأوساط الغذائية وأيضا لسهولة تبريدها بعد إتمام عملية التعقيم توزع الأوساط الغذائية في زجاجات صغيرة (يفضل 10 مل) وأيضا لا تربط غطاء الزجاجات بشدة .
6. أقصى مده لمكوث الأوساط الغذائية السائلة بتعقيمها في الأوتوكلاف 45 دقيقة (من بدء تشغيل الجهاز حتى إخراج الأوساط منه)

الماءالمستخدم فى تحضير الأوساط الغذائية

أ. الخصائص:

1. لتحضير الأوساط الغذائية والكواشف يستخدم ماء مقطر أوDemineralized water الذى يتم اختباره للتأكد من خلوه من آثار المعادن والمواد القاتلة المثبطة للبكتيريا.
2. Toxicity في الماء المقطر ربما يحدث نتيجة لاحتواء الماء على فلوريد مع وجود نسبة مرتفعة من السيليكا.
3. المصادر الأخرى للـــــــــــــــToxicity هي الفضة والرصاص والمركبات العضوية غير المحددة .
4. الكلور الحر والكلورامينات يمكن ان تتواجد في الماء المقطر .
5. في حالة وجود مركبات الكلور في الماء المقطر يمكن معادلته بواسطة Sodium thiosulfate OR Sodium sulfate
6. الماء المقطر يجب ان يكون خالي من التلوث بالمواد المغذية للبكتيريا التي يمكن ان تحدث من Flashover of organics أثناء التقطير ويمكن التغلب عليها باستخدام وسادة من الفلتر الكربوني أو إعادة شحن عمود إزالة الأيونات.
7. يمكن أن يحدث تلوث عن طريق استخدام زجاجات أو ماصات غير نظيفة أو بواسطة الأبخرة الكيميائية أو الغبار.
8. تخزن المياه المقطرة بعيدا عن ضوء الشمس المباشر لكي يتجنب نمو الطحالب.

9. يجب غلق زجاجات المياه المقطرة جيدا وسريعا.

وقت حفظ الأوساط الغذائية المحضرة وعينات البكتريولوجي عند درجة حرارة 4° م:

الوسط	مدة التخزين
ترشيح عشائي سائل في دورق بغطاء قلاووظ	96 ساعة (4 أيام)
ترشيح عشائي صلب في أطباق جيدة الغلق	أسبوعان
سائل أو صلب في أنابيب غير محكمة الغلق	أسبوعان
صلب أو سائل في أنابيب أو حاويات جيدة الغلق	3 شهور
صلب في أطباق غير محكمة الغلق مغلفة بأكياس بلاستك	أسبوعان
عينات البكتريولوجي	24 ساعة

الفترة ودرجة الحرارة للتعقيم بالاوتوكلاف:

المادة	الفترة عند 121 م °
الوسط المحتوى على كربوهيدرات (لوريل تربتوز- بريلينت جرين)	12-15 دقيقة
زجاجات العينات (فارغة)	15 دقيقة
حرق الأوساط المستخدمة والمخلفات	30 دقيقة
مياه التخفيف 99 مل في زجاجة بغطاء قلاووظ	15 دقيقة

ملحوظة:

- مع اتباع تعليمات الشركة المصنعة.

- لا يتم ترك الأوساط الغذائية في الأوتوكلاف اكثر من 45 دقيقة.

شروط المياه المقطرة المستخدمة لاختبارات الميكروبيولوجي:

الاختبار	الفترة	أقصى حد مسموح

الاختبارات الكيميائية		
التوصيل	عند كل استخدام	< 0.05 ميكروسيمينز
pH	كل استخدام	7.5 – 5.5
المواد العضوية الكلية	شهريا	>1 ملليجرام / لتر
المعادن الثقيلة (Cu–Cr–Cd–Zn–Pb–Ni)	سنويا	< 0.05 ملليجرام / لتر
المعادن الثقيلة مجمعة	سنويا	< 0.1 ملليجرام / لتر
الامونيا– النيتروجين العضوي	شهريا	< 0.1 ملليجرام / لتر
الكلور المتبقي	عند كل استخدام	0.1 ملليجرام / لتر
الاختبارات البكتريولوجية		
العد الطبقي	شهريا	<1000 خلية/ مل

ملحوظة:

- يتم تعقيم الماء المقطر قبل استخدامه في التحاليل البكتريولوجية.
- تخزن المياه المقطرة في زجاجات محكمة الغلق في مكان مظلم لمنع نمو الطحالب بها.
- يضاف كمية كافية من ثيوسلفات الصوديوم في حالة وجود بقايا للكلور لإزالة تأثيره.

الاختبارات البكتريولوجية

تجهيز المياه المستخدمة في تخفيف العينات

المواد المستخدمة:

1. فوسفات البوتاسيوم الهيدروجينية (KH_2PO_4)
2. كلوريد الماغنسيوم ($MgCl_2.6H_2O$)
3. ماء مقطر سبق تعقيمه
4. محلول 1 عيارى من هيدروكسيد الصوديوم.

الأدوات المستخدمة:

1. 2 كأس زجاجي سعه لتر
2. 3 دورق عياري سعه لتر
3. ماصه مدرجه 5 مل و2 مل
4. 100 أنبوبه زجاجيه بغطاء قلاووظ

خطوات إجراء التجهيز:

1. زن في الكأس الزجاجي على ميزان برقمين عشريين 34 جم من فوسفات البوتاسيوم الهيدروجينية.
2. أذب الوزنة السابقة في 500 مل من الماء المقطر السابق تعقيمه.
3. اضبط الاس الهيدروجيني للمحلول السابق بحيث يكون7.2±0.5 بواسطه محلول هيدروكسيد الصوديوم.
4. قم بوضع المحلول السابق في دورق عياري وأكمل الحجم الى لتر بالماء المعقم.
5. حضر محلول كلوريد الماغنسيوم بوزن 81.1 جم من كلوريد الماغنسيوم وأذب الوزنة السابقة في قليل من الماء المعقم وأنقل المحلول السابق الى دورق عياري ثم اكمل الحجم الى لتر بالماء السابق تعقيمه.
6. خذ 1.25 مل من محلول الفوسفات المركز باستخدام الماصة 2 مل وضعه في الدورق العياري وضع عليه 5 مل من محلول كلوريد الماغنسيوم السابق باستخدام ماصه 5 مل ثم اكمل الحجم الى لتر بالماء المقطر السابق تعقيمه.
7. يتم تعبأة المحلول السابق في الأنابيب الزجاجية بحيث تحتوى كل أنبوبه على 9 مل من المحلول السابق وتحكم غلقها بالغطاء القلاووظ .
8. يتم تعقيم الأنابيب السابقة في الاوتوكلاف لمده 15 دقيقه عند درجه حراره 121 °م

العد الكلى للبكتريا بطريقة الصب بالأطباق Plate count Bactria

- العد الكلى للبكتريا لا يمثل كل البكتريا الموجودة بالمياه ولكنه يمثل فقط البكتريا التي تستطيع النمو على الوسط الموجود بالأطباق تحت الظروف المعملية من درجة الحرارة والمدة التي تركت فيها الأطباق داخل الحضانات.
- تستخدم هذه الطريقة لتقييم المحتوى البكتيري للمياه بصفة عامة.
- العد الكلى للبكتريا يتم في درجة حرارة ٢٢ °م لتحديد العد الكلى للبكتريا الموجودة بصورة طبيعية في المياه وليس لها علاقة بالتلوث الآدمي " البراز."
- أما العد الكلى للبكتريا في درجة حرارة ٣٧ °م يحدد العد الكلى للبكتريا الناتجة من تلوث المياه بالمواد البرازية الآدمية أو من الحيوانات Warm – blooded.

- العد البكتيري عند درجة حرارة ٢٢ °م ليس له أهمية من الوجهة الصحية ولكنه هام في تقييم كفاءة المياه وخاصة خطوات الترويق والترسيب والترشيح والتعقيم حيث أن الهدف هو التخلص من جميع البكتريا إلى أقل عدد ممكن.
- وكذلك يفيد العد الكلى عند درجة ٢٢ °م في تقييم نظافة وسلامة شبكة توزيع المياه وملائمة المياه في تصنيع الأطعمة والمشروبات حيث أن زيادة العد البكتيري في المياه يساعد على فساد الأطعمة والمشروبات.
- أية زيادة في العد البكتيري عند درجة ٣٧ °م بالمقارنة بالنتائج السابقة يعتبر إشارة أو إنذار مبكر لبدء تلوث المياه.
- عند درجة٢٢ °م لمدة ٤٨ ساعة لا يزيد العد الكلى للبكتريا عن ٥٠ خلية / ١سم^{٣}
- عند درجة٣٧ °م لمدة ٢٤ ساعة لا يزيد العد الكلى للبكتريا عن ٥٠ خلية / ١سم^{٣}

العد الكلى للبكتريا بطريقة الصب بالأطباق Plate count Bactria

خطوات إجراء التجهيز:

1. يعقم البنش جيدا بقطنه مبلله بمحلول مطهر مثل الديتول او السافلون.
2. قم بإسالة الآجار المحضر في حمام مائي بحيث لا تزيد درجه الحرارة عن 45- 46 °م.
3. جهز أطباق بترى بعدد العينات المراد زرعها.
4. باستخدام ماصة 1 مل معقمة ضع في كل طبق 1 مل من العينات المراد زرعها.
5. صب 9 مل من الآجار السائل في الطبق البتري وقم بتحريك الطبق.
6. يترك الطبق قليلا حتى يبرد الآجار به بحيث لا يزيد الوقت عن 20 دقيقه بين صب العينة وصب الآجار.
7. اكتب مصدر العينة بالقلم الفلومستر على غطاء الطبق.
8. حضن الأطباق المزروعة في الحضانة عند درجة حرارة 37 °م لمده 24 ساعة مع مراعاة أن توضع الأطباق مقلوبة في الحضانة (الغطاء الى اسفل).
9. يراعى ألا يزيد الفقد في الرطوبة أثناء التحضين عن 15% ضع إسفنجة مبللة بالماء في الحضانة إذا لزم الأمر.
10. بعد 24 ساعة من التحضين تعد الأطباق على عداد بكتيري

جهاز عد بكتيرى

Bacterial counter

أدلة التلوث في مياه الشرب

بكتريا المجموعة القولونية Coliform group

- تسبب المياه الحاملة لميكروبات مرضية مشاكل صحية خطيرة، إذ ينتقل عن طريق المياه، الميكروبات التي تسبب عدوى للجهاز المعوي، مثل بكتريا التيفود، والكوليرا، والدوسنتاريا وفيروسات شلل الأطفال، والالتهاب الكبدي الوبائي، وتوجد هذه المسببات المرضية، في بول وبراز المرضى وحاملي العدوى.
- الكشف عن الميكروبات المرضية بالماء، أمر بالغ الصعوبة للأسباب الأتية:
  - هذه الميكروبات قد توجد بأعداد قليلة، مما يجعل من الصعب عزلها في مزارع نقية.
  - الكشف عنها وتمييزها يتطلب عملاً ومجهودا كبيراً، ووقتاً طويلاً.
  - قد يحدث أثناء الكشف عنها خطر على العاملين.
  - فنلجأ للكشف عن الميكروبات المرضية، بطريقة غير مباشرة.

من المعروف، أن أمعاء الإنسان، والحيوانات ذات الدم الحار، تحتوي على أعداد كبيرة من البكتريا، أغلبها من النوع غير الضار، ومن هذه البكتريا، بكتريا المجموعة القولونية.

فوجود بكتريا المجموعة القولونية في ماء الشرب، يؤخذ كدليل على تلوث هذه المياه، بمياه المجاري، إذ تعتبر هذه البكتريا كاشفات للتلوث، ويعني هذا، أن المياه التي يوجد بها كاشفات التلوث، يحتمل أن يوجد بها ميكروبات مرضية معوية، مثل التيفود، والكوليرا، والدوسنتاريا، والفيروسات المعوية، مثل المسببة لشلل الأطفال.

- وتتصف أفراد بكتريا المجموعة القولونية، بأنها، عصوية قصيرة غير متجرثمة، متحركة، اختيارية للهواء، تحلل سكر اللاكتوز وتنتج حامضاً وغاز عند درجة حرارة ٣٧ °م خلال 24 ساعه.

الأسباب التي دعت لاختيار المجموعة القولونية كدليل للكشف عن التلوث:

1. الكشف عنها سهل.

2. غير ممرضة، ولا تضر القائمين بالعمل.
3. تعيش بالمياه لمدة أطول من الميكروبات المرضية.
4. مصدرها برازي، وتوجد دائماً بالمياه الملوثة، مادامت البكتريا المرضية موجودة بها.

طريقة الأنابيب المتعددة

1. المرحلة الافتراضية Presumptive Phase

استعمل بيئة Lauryl tryptose broth في المرحلة الافتراضية لاختبار الأنابيب المتعددة. اذا كانت البيئة مبردة بعد التحضير والتعقيم، تترك على درجة حرارة الغرفة (20 مئوية) خلال الليل وقبل الاستعمال. يتخلص من الانابيب التي يظهر بها نمو أو فقاعات أو كلاهما.

رتب الأنابيب في صفوف من 5 أو 10 أنابيب في حامل أنابيب. عدد الصفوف وحجم العينة يعتمد على نوعية وخصائص المياه المختبرة لمياه الشرب استعمل 5 أجزاء من العينة كل 20 مل، 10 كل 10 مل، أو زجاجة واحدة 100 مل، وللمياه الغير مستعملة في الشرب استعمل 5 أنابيب لكل تخفيف (10، 1، 1, مل أو غيرها).

حضن الأنابيب الملقحة أو الزجاجات عند 35 °م. وبعد 24 ساعة اختبر الأنابيب أو الزجاجات لوجود نمو، غاز، تفاعل حامضي (لون أصفر)، اذا لم يكن هناك غاز أو حامض، أعد التحضين، اعد الكشف في نهاية 48 ساعة، سجل النتيجة.

2. المرحلة التأكيدية Confirmed phase

كل الأنابيب الايجابية أو الزجاجات التي أعطت نتيجة ايجابية في المرحلة الافتراضية Presumptive phase (أية كمية من الغاز، عكارة، حامض) خلال 24ساعة (أو قبل ذلك وينصح بالفحص بعد 18 ساعة للإيجابية) من التحضين يتم اجراء الاختبار التأكيدي.

هز برفق الأنابيب الايجابية من المرحلة الافتراضية (حامض وغاز) لتعليق النمو من الكائنات في الأنابيب. باستعمال لوب معقم (قطر فتحتها 3 – 3.5 مم) انقل لوب واحدة أو أكثر من المزرعة من كل انبوبة ايجابية الى انبوبة بريلينت جرين.

حضن انابيب البريلينت جرين عند 35 °م، تكون غاز في انبوبة درهام بعد فترة تحضين (من 6 ساعة الى 24 ساعة).

3. المرحلة الكاملة أو النهائية Complete phase

يجرى هذا الاختبار كبيانات للتحكم في الجودة على 10% على الأقل من الانابيب الايجابية من المرحلة السابقة. يتم حقن انابيب بريلينت جرين لبكتريا القولون الكلية ومرق EC أو بيئة مرق EC with MUG (بكتريا E.coli) (كلاهما يتم التحضين عند 44.5 °م) والنتيجة الايجابية في الحالات الثلاث تدل على أن الاختبار النهائي إيجابي. وايجابية أنابيب البريلينت جرين فقط دل على الايجابية لبكتريا القولون الكلية.

حساب وتسجيل العدد الأكثر احتمالا Computing and Recording of MPN

لحساب كثافة بكتريا القولون يعبر عنها في صورة عدد أكثر احتمالا MPN. قيم العدد الأكثر احتمالا، لسلسلة من نتائج الزرع، تتضح في الجدول التالي.

وتلك الجداول تشتمل على 95 % حدود ثقة Confidence limits لكل قيمة مقدرة من قيمة العدد الأكثر احتمالا المقدرة. اذا كان حجم العينة المستعملة من تلك الموجودة في الجداول، سجل النتيجة منسوبة الى عدد النتائج الايجابية والسلبية في السلاسل كعدد أكثر احتمالا / 100 مل أو سجل النتيجة كوجود أو غياب بكتريا القولون الكلية أو البرازية (P/A).

TABLE 9221.IV. MPN INDEX AND 95% CONFIDENCE LIMITS FOR VARIOUS COMBINATIONS OF POSITIVE RESULTS WHEN FIVE TUBES ARE USED PER DILUTION (10 mL, 1.0 mL, 0.1 mL)

Combination of Positives	MPN Index/ 100 mL	95% Confidence Limits		Combination of Positives	MPN Index/ 100 mL	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper			Lower	Upper
				4-2-0	22	9.0	56
0-0-0	<2	—	—	4-2-1	26	12	65
0-0-1	2	1.0	10	4-3-0	27	12	67
0-1-0	2	1.0	10	4-3-1	33	15	77
0-2-0	4	1.0	13	4-4-0	34	16	80
				5-0-0	23	9.0	86
1-0-0	2	1.0	11	5-0-1	30	10	110
1-0-1	4	1.0	15	5-0-2	40	20	140
1-1-0	4	1.0	15	5-1-0	30	10	120
1-1-1	6	2.0	18	5-1-1	50	20	150
1-2-0	6	2.0	18	5-1-2	60	30	180
2-0-0	4	1.0	17	5-2-0	50	20	170
2-0-1	7	2.0	20	5-2-1	70	30	210
2-1-0	7	2.0	21	5-2-2	90	40	250
2-1-1	9	3.0	24	5-3-0	80	30	250
2-2-0	9	3.0	25	5-3-1	110	40	300
2-3-0	12	5.0	29	5-3-2	140	60	360
3-0-0	8	3.0	24	5-3-3	170	80	410
3-0-1	11	4.0	29	5-4-0	130	50	390
3-1-0	11	4.0	29	5-4-1	170	70	480
3-1-1	14	6.0	35	5-4-2	220	100	580
3-2-0	14	6.0	35	5-4-3	280	120	690
3-2-1	17	7.0	40	5-4-4	350	160	820
				5-5-0	240	100	940
4-0-0	13	5.0	38	5-5-1	300	100	1300
4-0-1	17	7.0	45	5-5-2	500	200	2000
4-1-0	17	7.0	46	5-5-3	900	300	2900
4-1-1	21	9.0	55	5-5-4	1600	600	5300
4-1-2	26	12	63	5-5-5	≥1600	—	—

طريقة غشاء الترشيح Membrane Filter (MF):

تتخلص الطريقة ببساطة في القيام بترشيح حجم معلوم من العينة على غشاء ترشيح قطره 47 ملليمتر وثقوبه 45 ميكرون وسطحه مقسم إلى مربعات وبعد تمام عملية الترشيح والغسيل عدة مرات ينقل الغشاء من قمع الترشيح إلى طبق بتري Petri Dish الذي يحتوي على مخدة من البلاستيك مثل الإسفنج مشبعة بمحلول الوسط الغذائى المخصص لكل نوع من البكتيريا لكي تنمو وتنتج مستعمرات مميزة لنوع البكتريا.

وللكشف عن البكتيريا القولونية Total Coliform يستعمل محلول الوسط الغذائى M Endo Culture Media ويوضع في حضانة على درجة حرارة 0.5 ±35°م لمدة 24 ساعة ± ساعتان. فإذا ظهرت مستعمرات من الكائنات الحية ذات لون أخضر ذهبي معدني لامع Golden Green Sheen فيدل ذلك على وجود البكتيريا القولونية.

الأدوات والكيماويات المستخدمة في الترشيح الغشائي

- جهاز التعقيم الأوتوكلاف Autoclave Sterilizer.
- حضانة Incubator يمكن ضبط حرارتها أوتوماتيكيا على درجات حرارة من 35 إلى 44°م.
- ميزان حساس Analytical Balance.
- جهاز قياس الأس الهيدروجيني pH–Meter.
- مضخة تفريغ الهواء Vacuum Pump.
- كؤوس Beakers سعة 50–100–1000–2000 ملليلتر.
- مخبار Cylinder سعه 100 ملليلتر.
- دورق مخروطي بغطاء بلاستيك سعه 250 ملليلتر.
- سخان كهربائي / محرك Stirrer Hot Plate.

الأدوات والكيماويات المستخدمة

- ماصة من 1 مل إلى 10 مل.
- زجاجات عينات.
- زجاجات تخفيف عينة.
- ملقاط من الحديد الغير قابل للصدأ Stainless Steel Forceps.
- دوارق الترشيح بالتفريغ مزودة بخرطوم التوصيل لمضخة التفريغ.
- قمع الترشيح بقاعدة قطرها 47 ملليمتر.
- موقد بالكحول أو الغاز.

- ميكروسكوب للتكبير 10–20 مرة.
- غشاء الترشيح Membrane Filter بقطر 47 ملليمتر وثقوبه 45 ميكرون.
- أطباق بتري Petri Dishes مزودة بوسادات إسفنجية Pads قطرها 47 ملليمتر.
- محلول الوسط الغذائى M–Endo Culture Media حقن 2 ملليلتر.
- محلول الاستنباط M–FC حقن 2 ملليلتر
- حامض روزالك Rosalic Acid.
- ملح كلوريد الماغنسيوم $MgCl_2$.
- ملح ثيوكبريتات الصوديوم $Na_2S_2O_3$.
- هيدروكسيد الصوديوم NaOH.
- كحول الإيثانول.
- ماء مقطر.

يمكن شراء الأدوات مثل أطباق بتري والوسادات معقمة وجاهزة للعمل بالإضافة إلى محاليل الاستنباط معبأة في حقن 2 ملليلتر وربما يكون شراءها ارخص في التكاليف عن تحضيرها في المعمل وتعقيمها.

طريقة تحضير محلول الوسط الغذائى M–Endo Culture Media

- زن 4.8 جـــــــرام من المسحوق.
- في مخبار مدرج سعه 100 ملليلتر أضف 2 ملليلتر كحول الإيثيل المركز 95% وأكمل بالماء المقطر إلى 100 ملليلتر.
- ضع حوالي 20 ملليلتر من محلول الكحول المخفف في الكأس المخروطي ذو السدادة البلاستيكية وأضف إليها ما تم وزنه من مسحوق م – إندو وابدأ في التحريك والرج.
- أضف الكمية الباقية بالمخبار المدرج من الكحول المخفف وامزج الخليط بشدة.
- ضع الكأس المخروطي ومحتوياته في حمام مائي مع مراعاة ترك الغطاء غير محكم الربط على الكأس وابدأ في رفع درجة الحرارة بدون السماح للمحلول بالغليان.
- استمر في التسخين لمدة تتراوح ما بين 3–5 دقيقة بدون السماح للمحلول بالغليان.
- ابدأ في التبريد لدرجة حرارة 45°م وقس درجة الأس الهيدروجيني لتكون 7.1–7.3.
- أضف 2 ملليلتر من محلول الوسط الغذائى على المخدات الجاهزة داخل أطباق بتري.
- يمكن الاحتفاظ بالكمية الباقية من محلول الوسط الغذائى في ثلاجة مبردة لدرجة حرارة 2–10°م ولمدة 96 ساعة فقط.
- يستعمل هذا المحلول لاستنباط مستعمرات البكتيريا القولونية البرازية ويمكن تحضيره كما يلي:

- زن 3.7 جرام من مسحوق M-FC اللامائي M-FC Dehydrated Media.
- ضع 100 ملليلتر من الماء المقطر في الدورق المخروطي ذو السدادة البلاستيكية وأضف إليها وزنه المسحوق M-FC.
- في دورق آخر قم بإضافة 100 ملليلتر من محلول هيدروكسيد الصوديوم قوة 0.020 عياري (100 ملليلتر ماء مقطر + 0.8 جرام من مسحوق هيدروكسيد الصوديوم) إلى 1 جرام حامض روزالك Rosalic Acid لتكوين حامض روزالك قوة 1%.
- أضف 1 ملليلتر من محلول حامض روزالك 1% إلى محلول M-FC.
- ابدأ بالتسخين لدرجة الغليان مع ترك غطاء الدورق مكشوف.
- ابدأ في تبريد المحلول لدرجة حرارة 45°م واضبط درجة الأس الهيدروجيني 7.4.
- أضف 2 ملليلتر من محلول الاستنباط على كل المخدات الجاهزة على كل الأطباق الجاهزة داخل أطباق بتري.
- يمكن الاحتفاظ بالكمية الباقية من محلول الاستنباط في ثلاجة مبردة 2-10°م ولمدة 96 ساعة فقط.

الفحص البيولوجي Biological investigation

- عند فحص المياه ميكروسكوبيا يجب أن تكون خالية تماما من البروتوزوا وجميع أطوار الديدان المسببة للأمراض والطحالب الزرقاء المخضر Blue green algae
- يستخدم الميكروسكوب العادي للبحث عن الكائنات الحية الدقيقة التي لا ترى بالعين المجردة سواء كانت نباتية أو حيوانه مثل الطحالب والبروتوزوا الحية.
- الطحالب هي كائنات دقيقة تحتوي علي الكلوروفيل(المادة الخضراء) وذات ألوان متعددة والطحـــــالب ذاتية التغذية (تصنع غذاءها بنفسها) وحيدة الخلية أو مستعمرات (ثابتة أو متحركة) وتختلف أنواع الطحالب الموجودة في مياه النيل باختلاف درجات الحرارة.

أهمية عد الطحالب والتعرف على أنواعها

1. نظرا لما تسببه من رائحة وطعم غير مستساغ في المياه وهذه الروائح تختلف تبعا لكمية ونوع هذه الطحالب.
2. تحدث متاعب كبيرة في عمليات التشغيل إذ تتسبب في سد مسام رمل المرشحات بسرعة تدعو إلى وقف تشغيل المرشحات في فترات متقاربة لغسلها وإعدادها للتشغيل مره أخرى.
3. تستهلك كميات اكبر من الكلور.

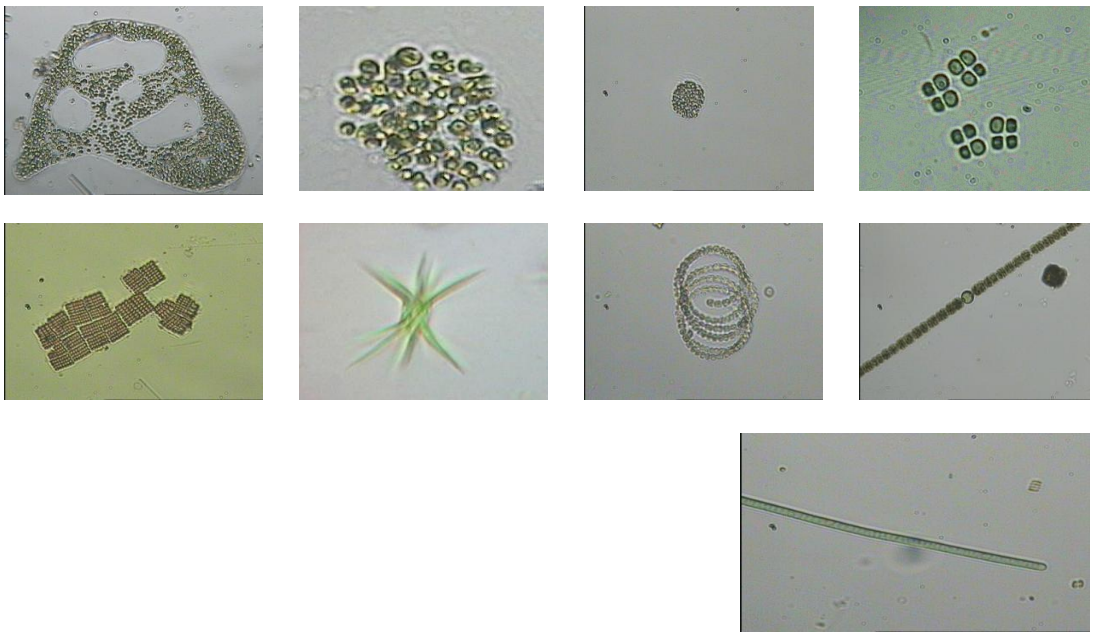
ولذلك يجب التخلص من اغلب الطحالب في عمليات الترويق لرفع كفاءة عمليه الترشيح.

وتصنف الطحالب إلى:

1. دياتومات.
2. الطحالب الخضراء.
3. الطحالب الخضراء المزرقه.

ديـاتومـات Diatoms

الطحالب الخضراء المزرقة Blue green



الطحالب الخضراء Green

تجهيز العينات للفحص الميكروسكوبي Microscopically examination

الهدف من التجهيز:

تركيز العينة من مياه النيل والمروقات والمرشحات والخزنات والطرود والشبكة تمهيدا لفحصها تحت الميكروسكوب.

الأدوات والأجهزة المستخدمة:

1. جهاز الطرد المركزي (centrifuge)
2. أنابيب زجاجيه شفافة مدوره من أسفل سعه 15 مل

جهاز الطرد المركزي

خطوات إجراء التجهيز:

1. تجلب العينات في زجاجات سعه لتر وتغطى بغطائها ثم ترج جيدا ثم تترك قليلا.
2. يتم التخلص من الماء الموجود في الزجاجة مع مراعاة ترك حجم قدره حوالى 20 مل في قاع الزجاجة.
3. أملأ الأنبوبة الزجاجية بـــــــــ10 مل من العينة.
4. ضع الأنابيب الزجاجية في الأماكن المخصصة لها في الجهاز بحيث لا يقل عدد الانابيب عن عدد الأماكن وإذا كانت عدد العينات أقل يتم وضع أنابيب بها ماء مقطر للمحافظة على اتزان الجهاز أثناء دوان الحلة الداخلية للجهاز.
5. شغل الجهاز على سرعة RCF=1000g ولمدة 20 دقيقة
6. بعد انتهاء وقت التشغيل افتح غطاء الجهاز وتخلص من محتويات الأنبوبة بحيث لا يتبقى بها إلا جزء قليل جدا من العينة في أسفلها (تمثل نقطة واحدة عند وضعها على الشريحة)
7. ضع الأنابيب الزجاجية في حامل معد للأنابيب بجوار جهاز الميكروسكوب.

الفحص المجهري لمياه الصرف الصحي والحمأة

1. مقدمة:

- يتم تصميم وحدات معالجة مياه الصرف الصحي لتسمح بحدوث الهضم او التكسير الطبيعي للملوثات العضوية ولكن تحت ظروف يتم التحكم فيها. هذه الوحدات تشمل وحدات طبيعيةphysical processes ووحدات كيميائية chemical processes وذلك لإزالة المواد الصلبة والثقيلة solids and heavier materials.
- العملية الوحيدة من ضمن جميع العمليات المستخدمة في معالجة مياه الصرف الصحي والتي تكون شائعة هي تلك العملية البيولوجية المستخدمة لمعالجة تلك المواد العضوية او ما يعرف بالمغذيات ."nutrients"، هذا يعنى انها تعمل كموصل rely حيث تستخدم بعض انواع من الكائنات الحية الدقيقة والتي تستطيع ان تحول المغذيات من كل نوع مثل الفوسفورphosphorus والنيتروجين nitrogen والصوديوم sodium والبوتاسيوم potassium والحديد iron والكالسيوم calcium ومركبات مثل الدهون fats والسكريات sugars والبروتينات proteins، حيث تستخدم الكائنات الحية هذه المواد كمصدر للغذاء للحصول على الطاقة اللازمة للقيام بالعمليات الحيوية والتكاثر.
- العديد من الكائنات الحية الدقيقة والتي يمكن ان توجد في مياه الصرف الصحي، وكذلك نوع الكائنات الحية التي يمكن ان تكثر وتشيع في وحدات المعالجة البيولوجية، هذه المجموعات لابد وان تكون البيئة في وحدة المعالجة البيولوجية مناسبة وملائمة لنمو وتكاثر هذه الكائنات. وهذه المجموعة من الكائنات الحية لاتقوم فقط بازالة المخلفات العضوية من المياه لكنها تترسب على هيئة مواد صلبة متجمعة في صورة ندف ليسهل ازالتها من المياه المعالجة.
- مشغل محطات معالجة الصرف الصحي يكون مطلوب منه ان يحافظ على الظروف المناسبة داخل وحدات المعالجة لنمو وتكاثر المجموعات الصحية من الكائنات الحية الدقيقة، حيث ان تكاثر الكائنات الغير مرغوب فيها اذا تغيرت الظروف فإن هذه الكائنات الأخيرة سوف لا تتداخل فقط في نجاح ازالة المخلفات من المياه الا انه قد يكون من الصعب ازالتها من وحدة المعالجة البيولوجية.

2. الاستخدام المجهري او الميكروسكوبي MICROSCOPY

ان عملية معالجة مياه الصرف الصحي هي عملية بيولوجية في المقام الأول. لهذا السبب ولكى يتم تقييم العملية بتقنية جيدة فلابد من توافر بعض الأدوات البيولوجية وهي:

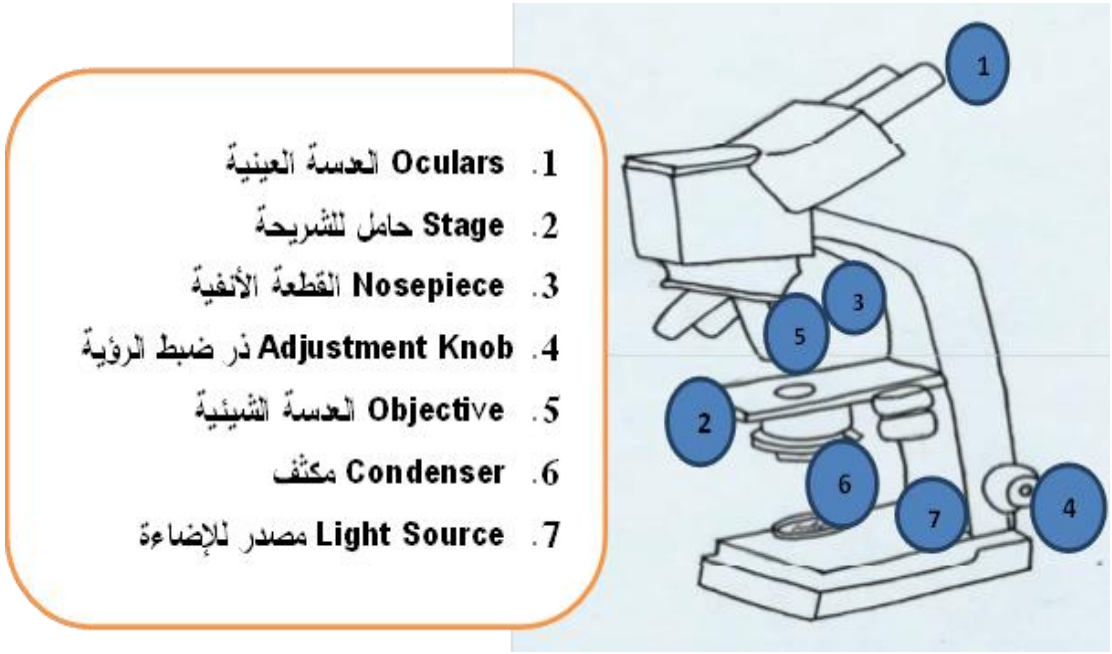
الميكروسكوب او المجهر: حيث ان العين المجردة غير قادرة على تمييز الأشياء التي يقل نصف قطرها عن 0.1 ملليمتر. في حين ان نصف قطر البكتريا في حدود 0.001 ملليمتر. لذا ولكى يتم مشاهدة نشاط الكائنات الحية فلابد من استخدام الميكروسكوب او المجهر.

الميكروسكوب الضوئي العادي ordinary light microscope يتركب من:

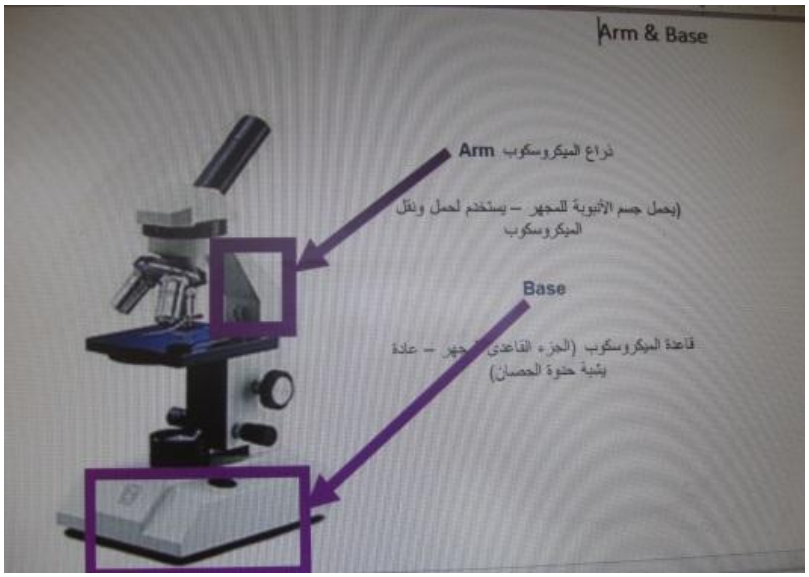
- جلسة الميكروسكوب microscope stand
- حامل لشريحة الميكروسكوب specimen stage
- القطعة الأنفية للمجهر والتي يركب فيها العدسات الشيئية holds the nosepiece objectives
- العدسة العينية Oculars (eyepieces)
- المكثف condenser
- مصدر للإضاءة light source

العدسات الشيئية وتشمل:

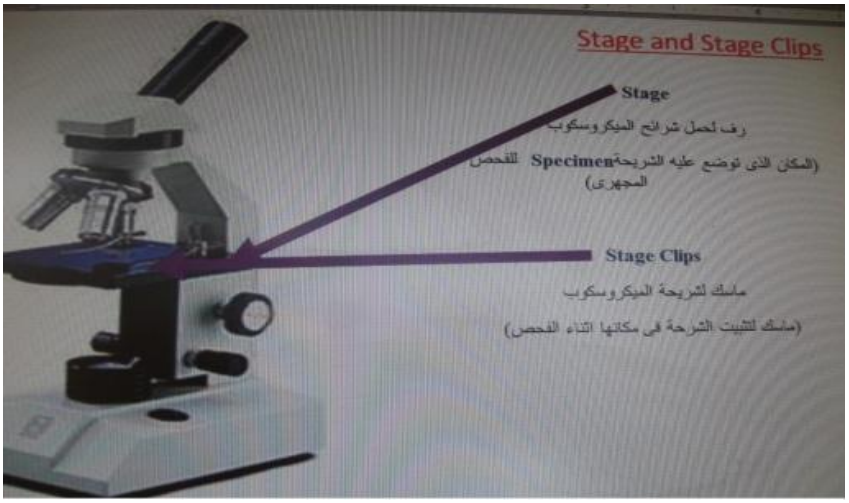
1. العدسة الشيئية 10X objective والتي تقوم بتكبير الأشياء الى 100 مرة عن الحجم الطبيعي.
2. العدسة الشيئية 20X objective والتي تقوم بتكبير الأشياء الى 200 مرة عن الحجم الطبيعي.
3. العدسة الشيئية 40X objective والتي تقوم بتكبير الأشياء الى 400 مرة عن الحجم الطبيعي.
4. العدسة الشيئية 100X objective والتي تقوم بتكبير الأشياء الى 1000 مرة عن الحجم الطبيعى. هذه العدسة هي العدسة الزيتية oil immersion lens ولابد ان تستخدم مع نوع خاص من الزيت.



الأجزاء المختلفة للميكروسكوب الضوئي Different units of the Microscope

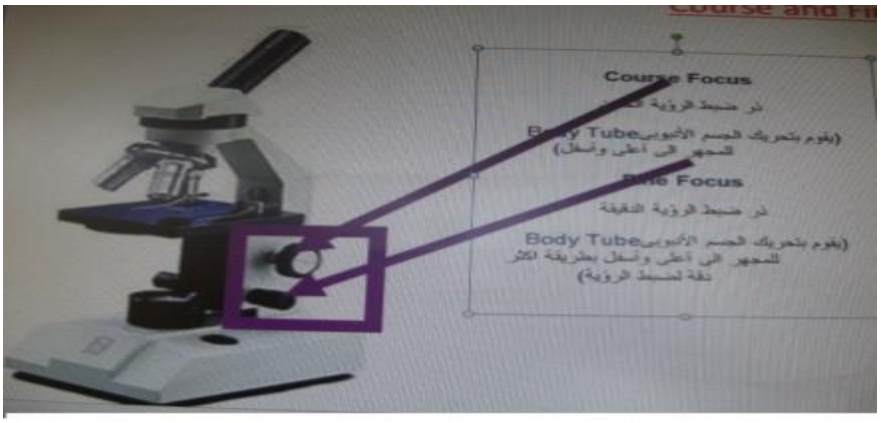


ذراع الميكروسكوب & قاعدة الميكروسكوب Arm & Base



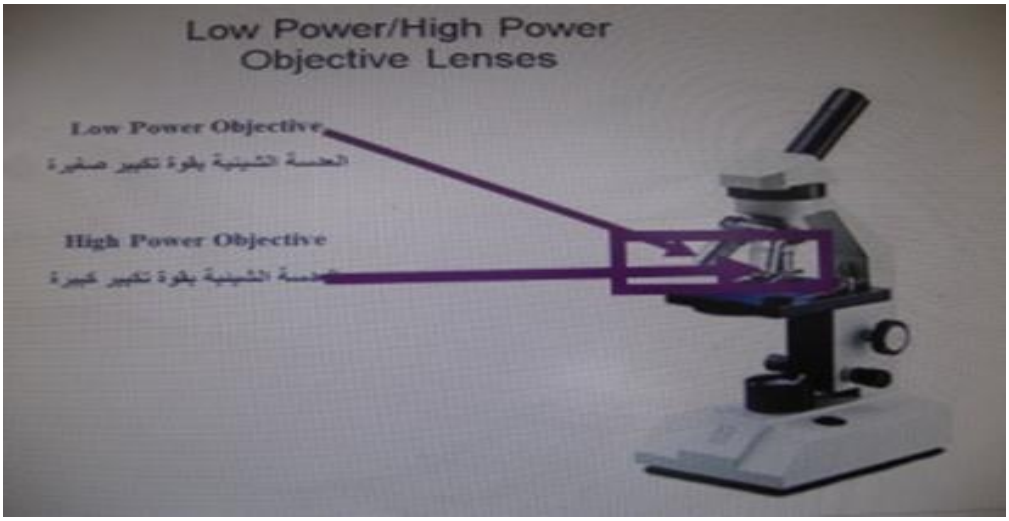
حامل شرائح الميكروسكوب & ماسك لشريحة الميكروسكوب Stage and Stage Clips

العدسة العينية & الجسم الأنبوبي للمجهرEyepiece (Ocular Lens) and Body Tube

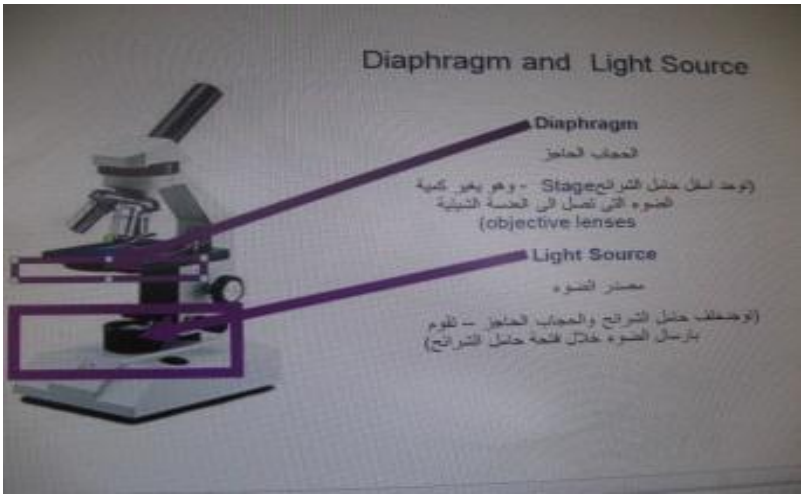


زر ضبط الرؤية الخشن & زر ضبط الرؤية الدقيقةCourse and Fine Focus

القطعة الأنفية من الميكروسكوب التي تثبت فيها العدسات الشيئية Nosepiece



العدسة الشيئية بقوة تكبير صغيرة & العدسة الشيئية بقوة تكبير كبيرة Low Power/High Power Objective Lenses



الغشاء الحاجز للميكروسكوب & مصدر الضوءDiaphragm and Light Source

3. تحضير الشريحة للفحص المجهري Slide Preparation

تحضير شريحة رطبة Wet Mount

3.1.1. تستخدم الشريحة الرطبة لفحص الكائنات الحية حيث يمكن في هذه الحالة قياس حجم وأبعاد الخلية وتحديد شكلها:

- ضع نقطة من عينة تم خلطها جيدا قبل الفحص مباشرا على شريحة زجاجية نظيفة خالية من الشحومات.
- ضع غطاء شريحة نظيف من الزجاج فوق نقطة العينة مع ملاحظة عدم حبس فقاعات هواء بين الشريحة والغطاء، واسهل طريقة لوضع غطاء الشريحة دون حبس فقاعات الهواء هو تقريب الغطاء عند الطرف الأيمن للشريحة حتى يتلامس مع نقطة العينة ثم تركة مرة واحدة حتى يتم تغطية العينة.
- لاحظ ان حجم نقطة العينة الموضوع على الشريحة في غاية الأهمية وذلك لأنه لو حجم النقطة كبير فان غطاء الشريحة في هذه الحالة سوف يكون طافيا وفي حالة كون نقطة العينة الموضوعة على الشريحة صغيرا للغاية فان العينة سوف تجف بسرعة، لذا فمن الأفضل استخدام قطارة بفتحة ضيقة لسحب العينة ووضعها على الشريحة.

استخدام الميكروسكوب لفحص العينات Using the Microscope

- قم بلف القطعة الأنفية التي تحمل العدسات الشيئية وضع العدسة الشيئية منخفضة قوة التكبير في مواجه حامل الشرائح الميكروسكوبية.
- قم بضبط ارتفاع العدسة الشيئية حتى يصل بعدها عن حامل الشرائح في حدود 3 سم.
- ضع الشريحة المراد فحصها على حامل الشرائح.
- تأكد ان العدسة العينة سواء الثابتة او المبللة في مواجه وفي موقع منتصف العدسة الشيئية.
- انظر من خلال العدسة العينية، وباستخدام زر الضبط الخشن قم بتحريك العدسة الشيئية نحو الشريحة حتى تبدو العينة في مجال الرؤية.
- استخدم زر الضبط الدقيق وقم بتحريكه حتى تحصل على اوضح رؤية.
- بمجرد ظهور العينة مستخدما العدسة الشيئية منخفضة التكبير low power objective فيمكن ببساطة استخدام عدسات التكبير الأكبر في قوة التكبير عن طريق تحريك القطعة

الأنفية nosepiece لتصبح العدسة فوق العينة وعن طريق استخدام زر الضبط الدقيق fine adjustment knob لتوضيح الرؤية.

- لاستعمال العدسة الزيتية قم بلف القطعة الأنفية nosepiece لتصبح بين العدسات الشيئية.
- ضع نقطة من الزيت drop of oil مباشرة على قمة العينة المثبتة المصبوغة stained smear على الشريحة او على غطاء الشريحة cover glass الزجاجي على العينة الرطبة .wet mount .
- ببطء قم بتحريك العدسة الشيئية 100X objective على نقطة الزيت، لابد ان تكون صورة الشريحة قريبة من بؤرة الروية nearly in focus حيث يتم ضبط الصورة في البؤرة الحادة للرؤية sharp focus عن طريق او باستخدام زر الضبط الدقيق fine adjustment knob.

جمع العينات للفحص المجهري Sample Collection

عند فحص عينات من خليط التهوية فلابد من تجميع العينة من المياه الخارجة من احواض التهوية الرئيسية وفي طريقها لأحواض الترسيب الثانوي، حيث تكون معظم المواد العضوية المغذية قد تم استهلاكها من المياه عند هذه النقطة. ولابد ان يتم عمل الشرائح المجهرية من عينة قد تم تجميعها من خليط التهوية منذ فترة قصيرة ويفضل فحصها مباشرا فور تجميعها، اذا كان من الصعب فحص العينات فور تجميعها فلا بد من تهوية العينة حتى يتم فحصها.

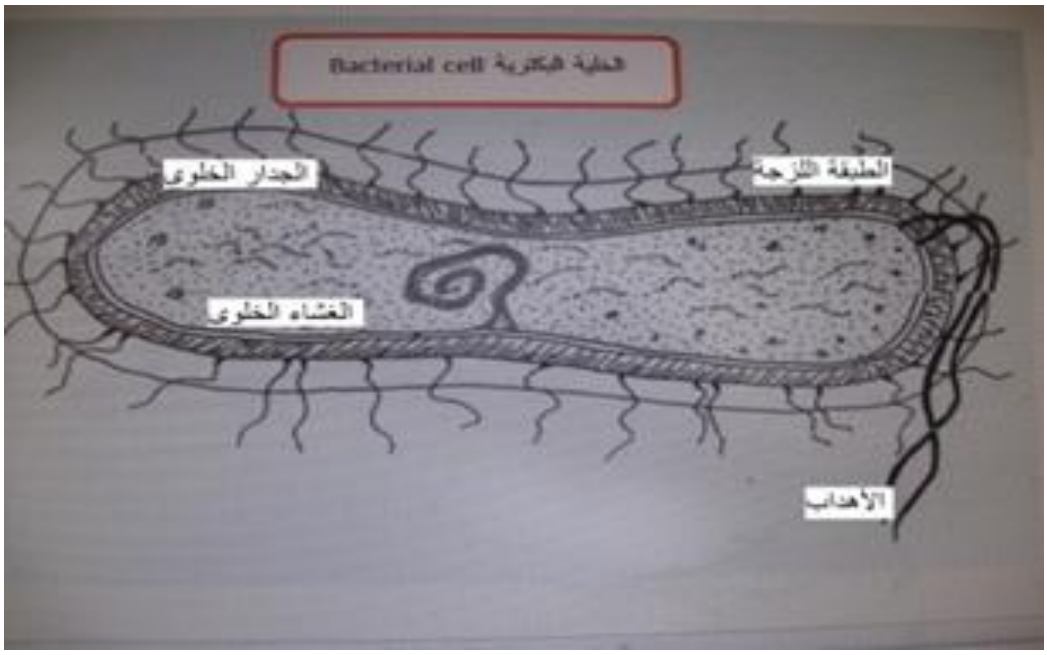
الكائنات الحية في وحدة الحمأة النشطة لمعالجة مياه الصرف الصحي MICROBIOLOGY OF ACTIVATED SLUDGE

وحدة الحمأة النشطة هي خليط من الكائنات الحية والمواد العضوية القابلة للهضم بيولوجيا او ما يسمى بالغذاء، وبمجرد ازالة المواد العضوية من مياه الصرف الصحي تقوم الكائنات الحية بتكون الندف التي يمكن ان يتم فصلها بالترسيب على هيئة حمأة sludge.

بعض انواع من الكائنات الحية سوف تنموا دائما في وحدة المعالجة، حيث تكثر وتشيع بعض الأنواع او المجموعات هذه الأنواع سوف تكون افضل الكائنات ملائمة للبيئة المعالجة.

لهذا فانه من المهم على القائم على التشغيل في محطات المعالجة ان يخلق او يحافظ على وجود البيئة الجيدة لنمو وتكاثر الكائنات الحية الصحية للمعالجة او ما يعرف بالبكتريا المكونة للندف floc–forming bacteria، ولدراسة الحمأة النشطة وما بها من كائنات حية فلا بد من دراسة ثلاثة انواع مختلفة من الكائنات وهي: البكتريا (95%) Bacteria والتي تشكل حوالى 95% من مجموع الكائنات الحية الموجودة في الحمأة النشطة.

البروتوزوا او الأوليات الحيوانية (4%) Protozoa والتي تشكل حوالى 4% من الكائنات، الميتازوا او الكائنات الحيوانية عديدة الخلايا (1%) Metazoa والتي تشكل حوالى 1% من الكائنات الحية الموجودة في الحمأة النشطة.

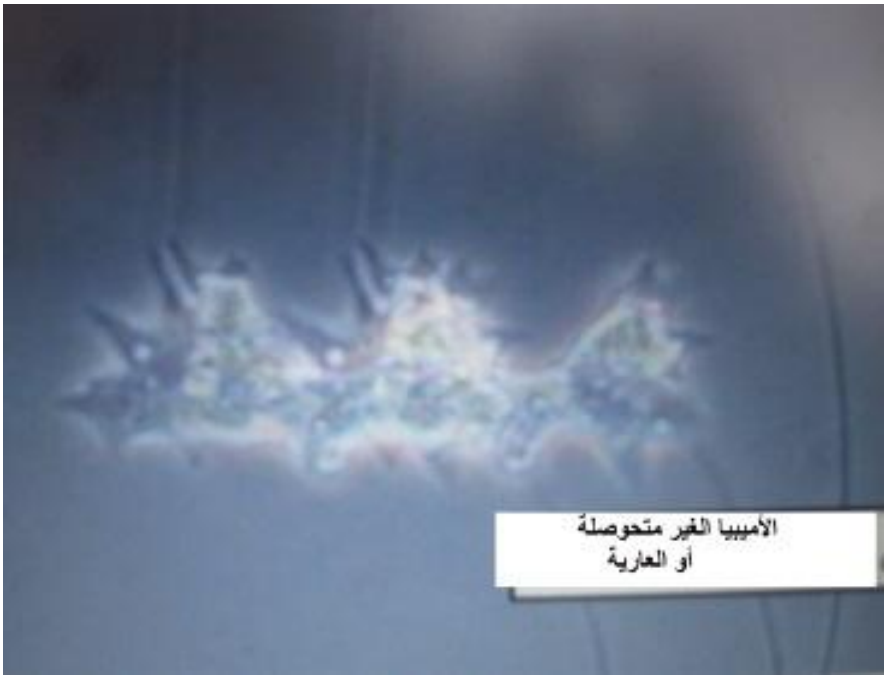


رسم تخطيطي يوضح التراكيب الداخلية للخلية البكتيرية

البروتوزوا Protozoa

في حين ان اغلب الكائنات الحية في خليط التهوية من البكتريا حيث تمثل حوالى 95% إلا أن البروتوزوا تشكل حوالى 4% من الكائنات الحية. فالبروتوزوا تقوم بازالة القليل جدا من المغذيات العضوية علاوة على ذلك فان وجودها يحسن بدرجة كبيرة المعالجة البيولوجية ونقاء المياه، فبينما يكون من الصعب رؤية البكتريا تحت الميكروسكوب الا ان البروتوزوا عكس ذلك حيث يمكن رؤيتها بأستخدام الميكروسكوب بالرغم من انها تسهم بدرجة قليلة في ازالة المواد العضوية الا ان سلوكها وعددها في خليط التهوية وكذلك الأنواع المختلفة منها سوف تعطى مؤشرا جيدا على درجة انجاز عملية المعالجة البيولوجية.

البروتوزوا هي عبارة عن كائنات حية وحيدة الخلية وتختلف هذه الكائنات اختلافا كبيرا في الحجم والشكل. والعمل الأساسي لهذه الكائنات في وحدات المعالجة البيولوجية هو ازالة البكتريا التي لم يحدث لها تجميع خلال عملية تكوين الندف وكذلك الندف متناهية الصغر التي قد لا يحدث لها ترسيب في احواض الترسيب الثانوي. ويمكن تقسيمها على اساس طريقة تناولها للغذاء الى: الأوليات محيطية التغذية او الهولوزويك Holozoic protozoa والتي لها القدرة على ابتلاع المواد الغذائية مثل البكتريا عن طريق فتحات فم خاصة. وهذا النوع من البروتوزوا تمتص الغذاء الذائب عن طريق خلاياها مباشرا مثل البكتريا وللبحث عن معرفة سلوكها في وحدة الحمأة النشطة لذا فسوف نقوم بتقسيمها الى خمسة مجموعات وهي الأميبا Amoeba، الهدبيات الحيوانية Flagellates والسوطيات حرة الحركة Free-swimming ciliates والسوطيات الزاحفة Crawling ciliates والسوطيات الجالسة او المعنقة Stalked ciliates.



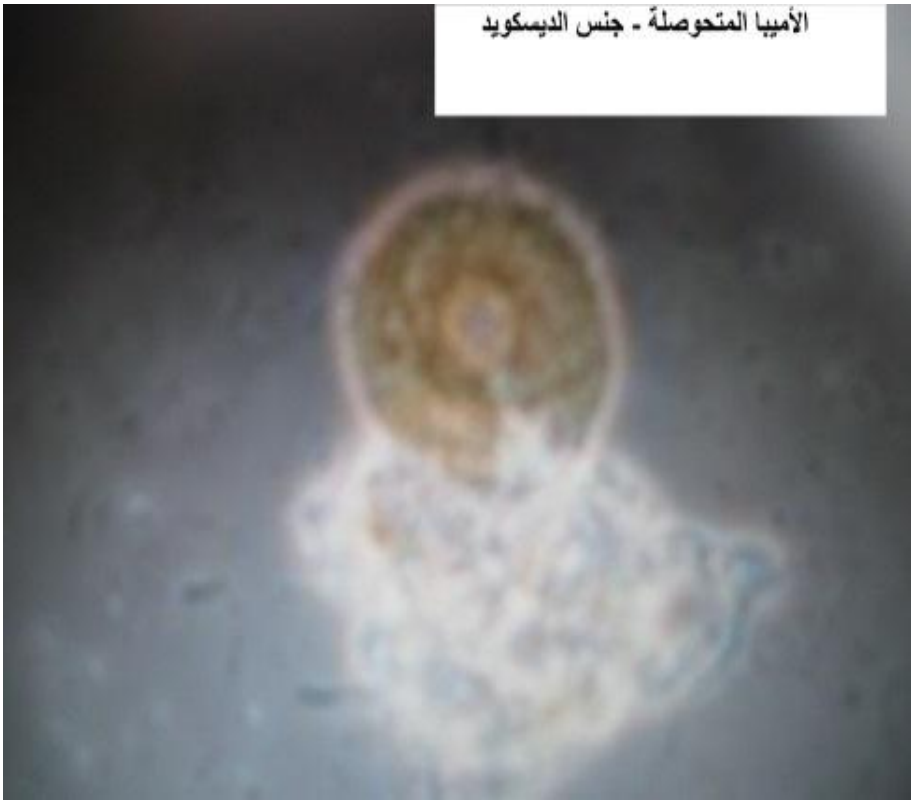
شكل الأميبا الغير متحوصلة تحت الميكروسكوب

الأميبا Amoeba

- تعتبر الأميبا من اكثر الكائنات الأولية وحيدة الخلايا بدائية حيث تتغذى معظمها على المواد الصلبة في المياه حيث تمد ببطء بروزات تشبه الفصوص lobe-like

projections والتي تسمى بالأقدام الكاذبة او pseudopodia حتى يتم احاطة المادة الغذائية بهذه الأقدام.

- بعد احاطة المادة الغذائية تقوم بإفراز الأنزيمات التي تفتت المواد الغذائية الى وحدات صغيرة التي يمكن امتصاصها داخل الخلية .
- يوجد هناك نوعين من الأميبا: الأميبا العارية او الجرداء naked amoebae والأميبا المغلفة او المتحوصلة testate amoebae والنوع الأول يشبه الى حد كبير نقطة الشمع او الزيت blob، بينما الأميبا المغلفة او المتحوصلة فلها قشرة او صدفة shell او حويصلة "test" بعض الأنواع تفرز مواد لتصنع القشرة او الصدفة بينما البعض الأخر تكون القشرة مما تجمعه من حطام اثناء تجولها في الماء.

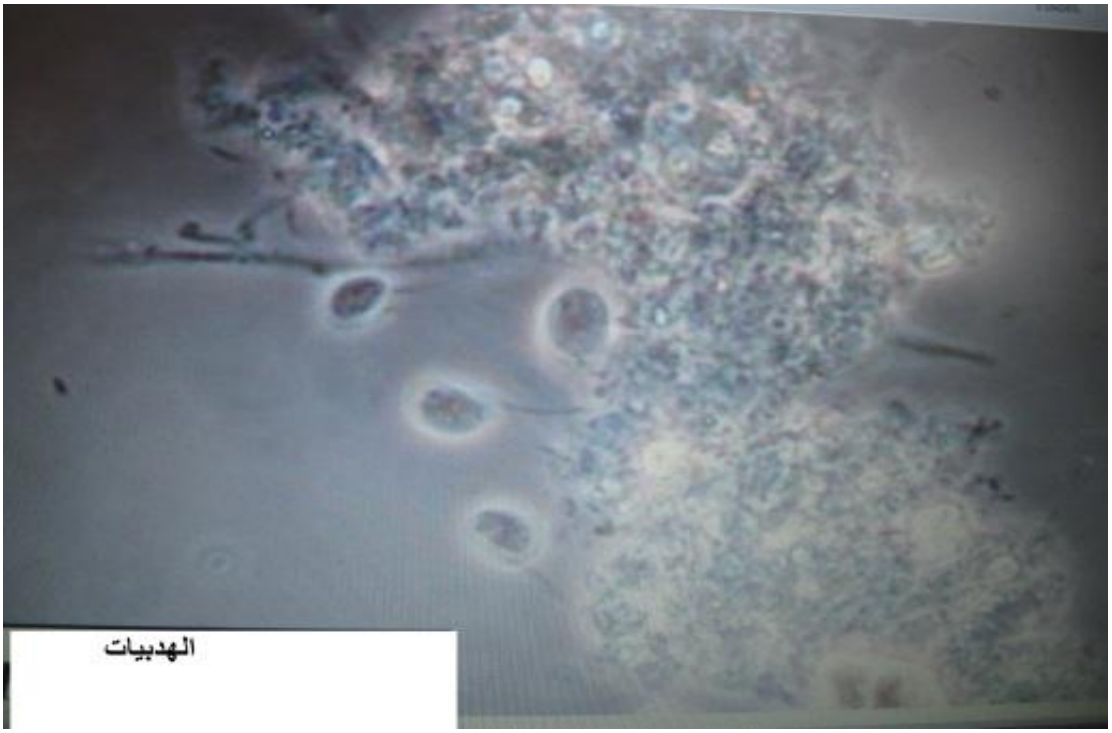


شكل الأميبا المتحوصلة تحت الميكروسكوب

الهدبيات Flagellates

- معظم الهدبيات تمتص المغذيات كما تفعل البكتريا وبالتالي فهي تتنافس والبكتريا على الغذاء الذائب.
- الهدبيات الحيوانية تصل الى القمة في العدد وذلك عندما يكون تركيز المواد الغذائية عالي وعدد البكتريا لا يزال منخفض بدرجة ما

- مثلما يحدث للأميبا حيث تتواجد عادة مبكرا في خليط التهوية، علاوة على ذلك وبمجرد ان البكتريا تصبح متأقلمة مع البيئة والظروف البيئية فإنها تتكاثر اكثر سرعة عن الهدبيات واخيرا سوف تخرج من المصارعة او التنافس على الغذاء المهضوم.



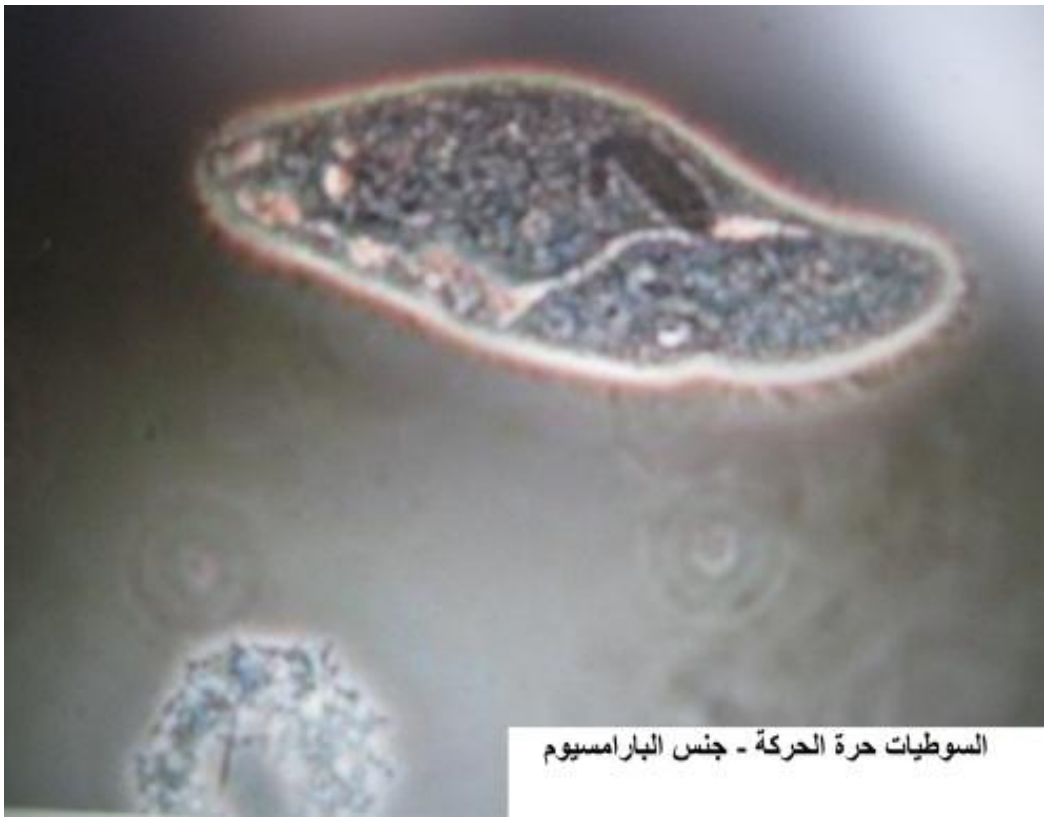
الهدبيات Flagellates المتحوصلة تحت الميكروسكوب

السوطيات Ciliates

- تساهم السوطيات ايضا في ازالة القليل من المواد العضوية من مياه الصرف الصحي وهذه الكائنات التي تتغذى على البكتريا وليس على المواد العضوية الذائبة.
- البكتريا والهدبيات تتنافس على المغذيات الذائبة ولكن الهدبيات تتنافس مع السوطيات الأخرى والعجليات او الروتفيرا على البكتريا.
- وجود السوطيات عادة ما يكون مؤشرا لحدوث معالجة بيولوجية جيدة، حيث تكثر وتنتشر بعد تكوين الندف وعندما يتم ازالة معظم المغذيات العضوية، فهذه الكائنات ضرورية في ازالة الزيادة من البكتريا والطحالب من السائل المخلوط وتفيد في تنقية السيب النهائى
- ويمكن تقسيم الكائنات السوطية الى ثلاثة طوائف او مجموعات وهي: السوطيات حرة الحركة Free–swimming ciliates والسوطيات الزاحفة Crawling (grazing) ciliates والسوطيات الجالسة او المعنقة Stalked (sessile) ciliates.

السوطيات حرة الحركة Free-swimming Ciliates

- هذا النوع من الأوليات تسبح بحرية في السائل المخلوط، وعادة ما يكون جسمها مغطى بالأسواط وهي عبارة عن زوائد تشبه الشعر يستخدمها الحيوان في الحركة وفي جذب الطعام الى فتحة الفم للحيوانات
- هذا النوع من الأوليات تبدأ في الظهور عندما تبدأ الهدبيات flagellates في الاختفاء.
- وبزيادة تعداد البكتريا فان الكثير من المغذيات العضوية يتم ازالتها واستهلاكها حيث يوجد العديد من البكتريا المفردة المنتشرة القادرة على التغذية.
- والسوطيات الحرة تبدأ في الانتشار وهي تتغذى على البكتريا التي تزداد في العدد.

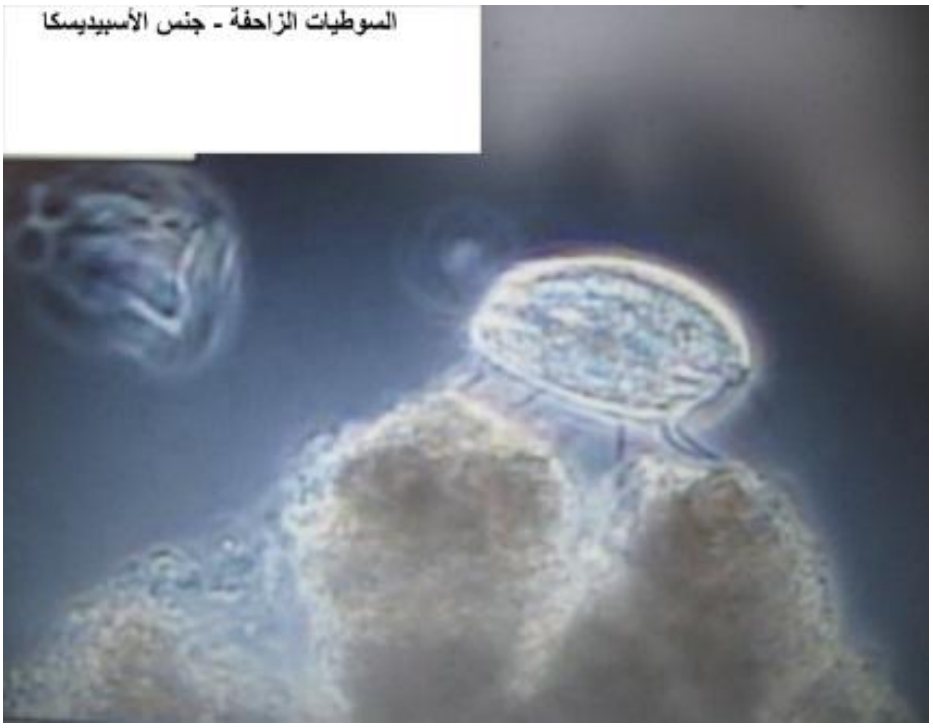


السوطيات حرة الحركة (جنس البرامسيوم) تحت الميكروسكوب

السوطيات الزاحفة Crawling ciliates

- بانخفاض كمية المغذيات تنحصر كمية الغذاء وتصبح محدودة وتبدا البكتريا في فقد اهدابها وتكون طبقة لزجة لاصقة والذى يسمح بالتصاق الخلايا بعضها ببعض لتكون الندف

- وبزيادة حجم الندف المتكونة تبدا السوطيات الزاحفة في الظهور والانتشار وهذا النوع الأخير من الأوليات يحتوى على اسواط على الجانب البطني للجسم، حيث تتحرك اسواط الكائنات بطريقة لولبية twisted معا لعمل خصل متجمعة"tufts" او ارجل التي تستخدم للزحف على سطح الندف الكبيرة.
- السوطيات الزاحفة تقوم بالتغذي على او graze on جزيئات الندف وتتغذى على البكتريا التائهة straggling bacteria على اطراف الندف.
- وبزيادة تناقص اعداد البكتريا المفردة المنتشرة في الخليط وزيادة حجم الندف فان السوطيات الزاحفة تخرج من سباق السوطيات حرة الحركة حيث تسطيع الحصول وايجاد الطعام داخل الندف في حين لا تستطيع السوطيات الحرة في ايجاد والحصول على الطعام.



السوطيات الزاحفة Crawling ciliates (جنس Aspidisca) تحت الميكروسكوب

السوطيات الجالسة او المعنقة Stalked Ciliates

هذا النوع من السوطيات يحتوى على اسواط تحيط بفتحة الفم للحيوان وتستخدم لعمل تيار من الماء يساعد على جلب الغذاء الى الفم، حيث تظهر السوطيات الجالسة او المعنقة في الحمأة البالغة mature sludge.

(أ)

(ب)

السوطيات الجالسة او المعنقة Stalked Ciliates

(ا- جنس vorticela، ب- جنس carchesium) تحت الميكروسكوب

- وهي تنتشر عندما يتم استهلاك معظم المواد الغذائية الذائبة في الخليط

- في حالة بلوغ الحمأة سن الرشد فان السوطيات الزاحفة والجالسة تتصارعان على الانتشار، ففي حين ان السوطيات الزاحفة لابد وان تزحف للحصول على الغذاء فان السوطيات الجالسة تثبت نفسها بواسطة سوقها وتستجلب الغذاء اليها.
- السوطيات الجالسة تنموا منفردة او في مستعمرات، حيث تكون الكائنات المفردة لها راس او زوائيد "zooid" or head لكل ساق .stalk في حين ان المستعمرات السوطية الجالسة يمكن ان تحتوى على ما يصل الى 300 راس تتفرع من ساق او اكثر.
- وبزيادة عمر الحمأة وتناقص كمية الغذاء المتاحة فان المستعمرات السوطية الجالسة تبدا في الخروج من التنافس او سباق السوطيات المفردة الجالسة لكثرة الانتشار. والطريقة الجيدة في تذكر ذلك انه (كلما زادت الرؤس في الساق كلما زاد عمر الحمأة).

السوطيات الجالسة (جنس Stentors) تحت الميكروسكوب

- وبزيادة عمر الحمأة فان بعض الأنواع من السوطيات الجالسة تبدأ في التنافس للانتشار، فجنس الأستنتور Stentors. وهي من الأوليات ذات الناقوس الكبير large bell shaped protozoa والتي تستخدم ايضا الأسواط في كسح الغذاء الى فتحة الفم حيث ان الكائنات الأخرى يمكنها فقط الإمساك بالطعام الكافي الذى يملئ فمها فقط. فجنس الأستنتورStentor يمكنه ملئ كل جسمه بالغذاء، جنس الفاجينكولا Vaginocola يشبه الى حد كبير جنس الأستنتورStentor فيما عدا انه يكون مغلف بغمدenclosed in a sheath ويرى عادة في ازواج pairs

السوطيات الجالسة (جنس Vaginocola) تحت الميكروسكوب

- اذا استمرت الحمأة في زيادة عمرها (عادة تكون مسنة بدرجة كبيرة) وعند عدم وجود الغذاء او بكتريا للتغذية عليها تبدأ البروتوزوا المتغذية على البروتوزوا–protozoa eating protozoa في الأنتشار.
- فجنس الساكتوريا suctorian والتي اشتق اسمها من وجود ماصات suckers او مجسات tentacles والتي تمتد من راسها.
- فجنس الساكتوريا suctorian سوف ينتظر البروتوزوا وسوف يمتصه بواسطة مجاساته او ممصاته tentacles حيث يفرز مواد سامة ليشل حركته ثم يبدا في امتصاص عصارة جسم الفريسة.

البروتوزوا المتغذية على البروتوزواprotozoa–eating protozoa (جنس الساكتوريا suctorian) تحت الميكروسكوب

الحيوانات عديدة الخلايا Metazoa

- وهي عبارة عن كائنات حية عديدة الخلايا التي تتغذى على البكتريا والطحالب والبروتوزوا
- هذه الكائنات تحتوى على تراكيب طبيعية تتراوح من البسيطة للغاية الى المعقدة شديدة التعقيد.
- وفيما يلى انواع الميتازوا او الحيونات عديدة الخلايا شائعة الوجود في محطات معالجة مياه الصرف الصحي وهي: العجليات او الروتفيرا Rotifers، الديدان الخيطية او النيماتودا Nematodes ودب الماء او التارتيجرايدز Tartigrades (water bear) الأناليدز Annelids والدفنيا او الأستراكودز Ostracods (Daphnia) وذباب وسوس الماء او الكوبيبودز Copepods (water flies and mites)

العجليات او الروتفيرا Rotifers

- وهي شائعة الوجود في محطات معالجة الصرف الصحي والتي تلعب دورا هاما في المعالجة البيولوجية في الحمأة النشطة لكن من الأفضل ان لا نتركها تسود في المعالجة البيولوجية للحمأة النشطة فهي تقوم بدور رائع في تنظيف وازالة أي بقايا من المواد في المياه.
- وهي ايضا تقوم بإفراز مواد لزجة لاصقة والتي تساعد الندف لتظل متماسكة ومتجمعة معا.
- والروتفيرا لها العديد من الأحجام والأشكال وهي منفصلة الجنس حيث يوجد منها الذكر ومنها الأنثى.
- ومعظم الروتفيرا في مياه الصرف الصحي من الإناث حيث ان وجود الذكر يكون لغرض أخصاب الإناث فقط ثم يموت.
- وتعتبر الروتفيرا مؤشر جيد لسمية مياه الصرف الصحي حيث تكون عادة من اول الكائنات التي تتأثر بوجود المواد السامة في مياه الصرف الصحي.

العجليات او الروتفيرا Rotifers تحت الميكروسكوب

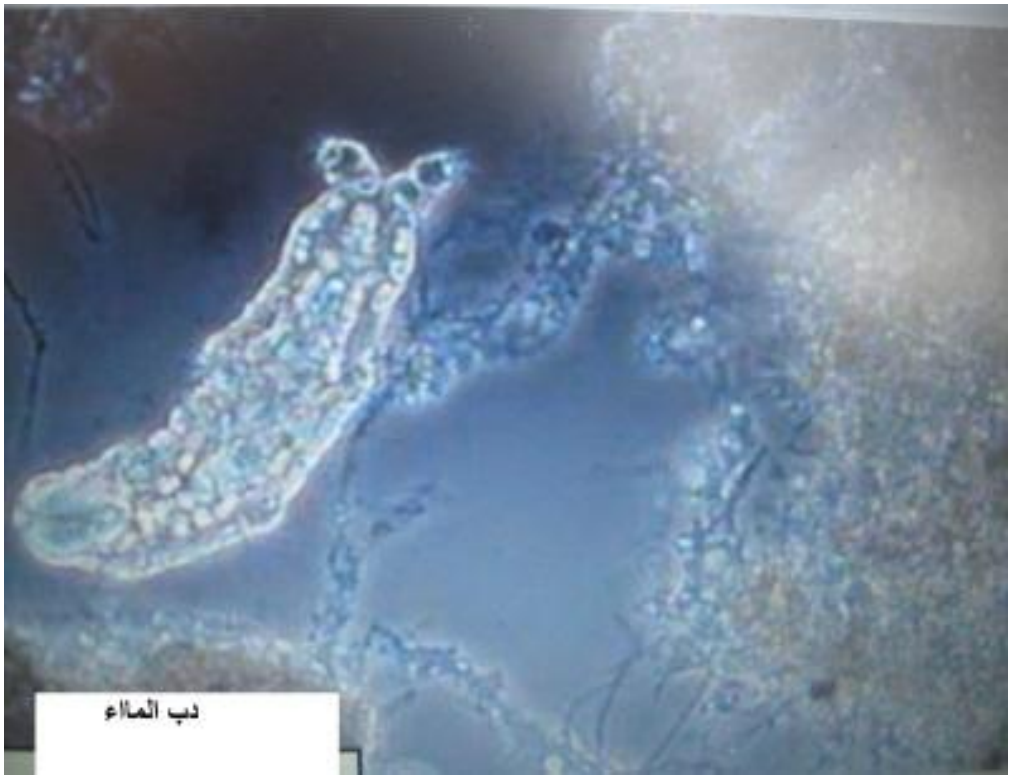
الديدان الخيطية او النيماتودا Nematodes

- وهي قد توجد بأعداد ملحوظة في الحمأة ذات الأعمار المتقدمة في السن.
- وهي لا تساهم في المعالجة الكلية وتتغذى على البكتريا bacteria والبرتوزوا protozoa والفطريات fungus وفي احيان اخرى تفترس الديدان الخيطية الأخرى.
- بعض النيماتودا تحتوى على اسنان والبعض الأخر يمتلك رماح او براعم spear حيث يمكنها الالتصاق بفرائسها وتستخدم براعمها التي على هيئة القش straw لامتصاص الغذاء

الديدان الخيطية او النيماتودا Nematodes تحت الميكروسكوب

دب الماء او التارتيجرايدز Tartigrades (water bear)

- هذه الأنواع شائعة الوجود في نفس البيئة التي تنموا فيها العجليات او الروتفيرا والديدان الخيطية وهي تتغذى على الطحالب والبروتوزوا الصغيرة.
- الشيء الشيق الذى يمكن ذكره عن هذه الكائنات انها تمتلك العديد من الطرق المتطورة للحياة في مواجهة اغلب الظروف البيئية تأرجحا او اضطرابا extreme environmental swings.
- فعند نقص الأكسجين فهي تنتفخ swell up كالبالون balloon وتطفو على السطح لعدة ايام، وعندما تجف البيئة فهي تجف وتذبل shrivel up كالزبيب raisin
- علاوة على ذلك فهي حساسة للغاية للبيئة السامة toxic conditions
- ووجود هذه الكائنات عادة ما يشير الى وجود القليل او عدم وجود الأمونيا بالمرة
- ودب الماء يحتوى على جسم مقسم الى خمس فصوص five body segments واربع ازواج من الأقدام القصيرة والغليظة short stumpy legs التي بها مخالب claws والتي يمكن ان ترى بألوان مختلفة الأحمرred البرتقالي orange او حتى الأخضر green، وهي تحتوى على راس بالعيون وفم والذى يستخدم لتفتيت pierce الطعام قبل امتصاص الأجزاء الداخلية له.



دب الماء او التارتيجرايدز Tartigrades (water bear) تحت الميكروسكوب

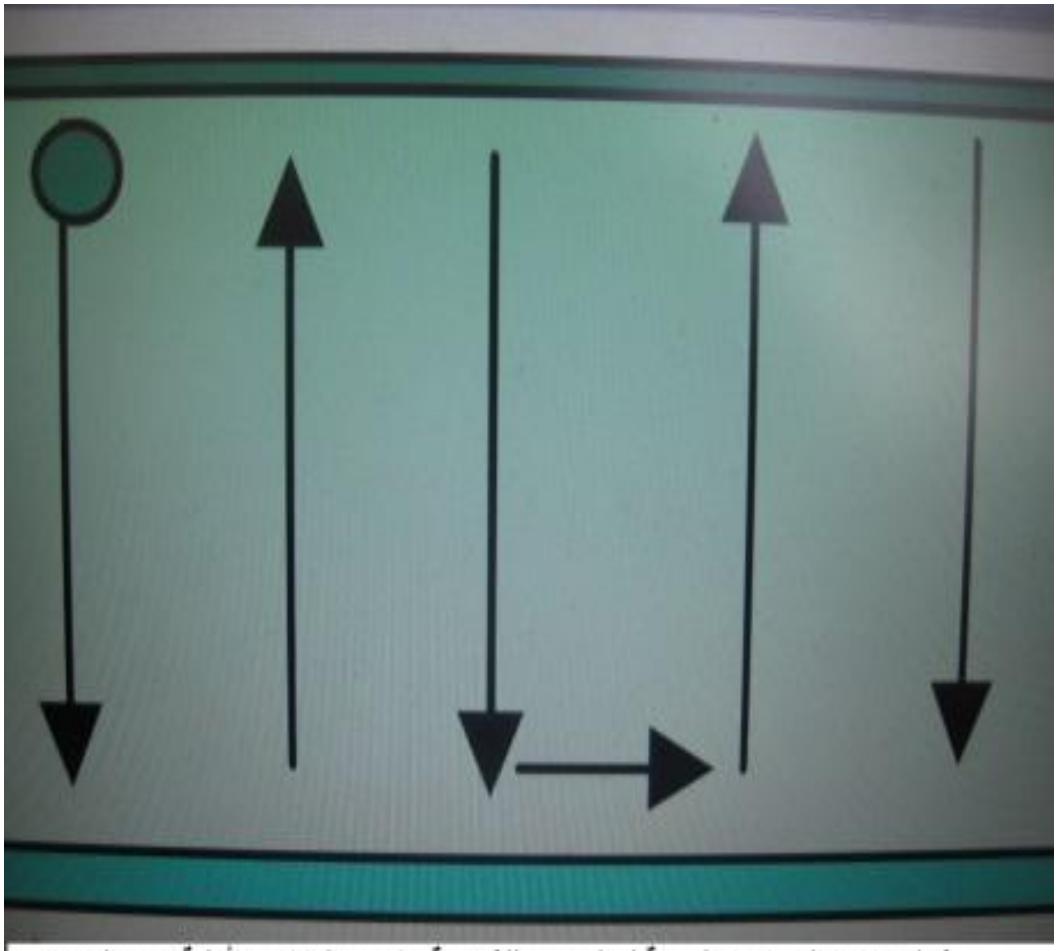
عد البروتوزوا مجهريا Protozoa Count

- حيث تتغير الظروف البيئية في خليط التهوية للحمأة النشطة يتغير وجود الكائنات الحية حيث يحل نوع من الكائنات مكان نوع اخر.
- الكائنات الحية المناسبة لبيئة معينة تنبثق وتكثر حتى يحدث تغيير في البيئة مرة اخرى.
- فالتغير في الأس الهيدروجيني او الأكسجين الذائب او درجة الحرارة او المغذيات او التصارع او التنافس الخ كل هذا يحدد أي من الأنواع سوف يعم وينتشر.
- ونوع البروتوزوا التي غالبا ما تشيع وتكثر في خليط التهوية تشير او تحدد الظروف البيئية الأكثر شيوعا في وحدة المعالجة
- فبالرغم من ان انواع البروتوزوا التي تشيع لا يمكن ان يعتمد عليها لوحدها لمعرفة المشاكل البيئية التي تواجه محطة المعالجة الا ان هذه المعلومات تساعد كثيرا في تقدير ومعرفة الظروف التي تمر بها المعالجة البيولوجية في الحمأة النشطة.
- خطوات عد الأوليات الحيوانية او البرتوزوا لم تصمم او توضع لمعرفة العدد الكلى لكل نوع من انواع البرووزوا الموجودة في وحدة المعالجة فضلا عن معرفة اهمية النسبة العددية لنوع معين بالمقارنة بنوع اخر.
- فالهدف من العد هو تقدير أي من الكائنات يبدوا شائعا عن الأنواع الأخرى، والعد سوف يقوم بفحص البروتوزوا طبقا للمجموعات التالية Amoebae – Flagellates Free – swimming ciliates – Crawling ciliates – Stalked ciliates – Metazoa (rotifers, nematodes, water bear etc.)
- في وحدات المعالجة التي تعمل بصورة جيدة فان السوطيات سوف تكون الأنواع الأثر شيوعا، حيث تشيع السوطيات عندما يتم ازالة اغلب المواد المغذية من مياه الصرف الصحي.
- وفي حالة الوحدات التي تعمل بصورة سيئة فان الأميبا والهدبيات سوف تكون الأنواع الشائعة، فالأميبا والهدبيات يمكنها فقط ان تتنافس للأنتشار لا للشيوع عندما يكون أمامها كميات كبيرة من المواد الغذائية.
- على الجانب الأخر فالسوطيات الجالسة والميتازوا سوف تشيع في حالة السن المتقدم للحمأة وخاصة لأنها قادرة على التنافس عندما يوجد القليل من المغذيات في الوسط ومقدرتها على التغذية على البرتوزوا الأخرى.

خطوات التجربة The Procedure

- قم بتجميع عينة ممثلة للواقع جيدة الخلط وطازجة من خليط التهوية من نقطة السيب النهائي لأحواض التهوية، فاذا كان تركيز خليط التهوية عالي بدرجة مناسبة فلا بد من عمل تخفيف للعينة، اذا اخترت ان يتم تخفيف العينة فاستخدم دائما نفس التخفيف اذا خططت ليكون العد الميكروسكوبي سوف يكون عملا روتينيا.
- نموذجيا لابد ان يتم فحص العينة باستخدام العدسة الشيئية 20X مستخدما المكثف phase contrast condenser وباستخدام قوة التكبير المنخفضة10X او اقل تجعل من الصعب رؤية الهدبيات الصغيرة وباستخدام قوة التكبير العالية 40X سوف تحد من مجال الرؤية.

- ضع نقطة واحدة من خليط التهوية على شريحة نظيفة خالية من الشحومات وغطى باستخدام غطاء زجاجي.
- .قم بعمل مسح للشريحة مستخدما خمسة ممرات، قم بوضع العينة في بؤرة الرؤية عند القمة للركن الأيسر من غطاء الشريحة، ثم قم بتحريك لأسفل، قم بعد وسجل العدد لكل نوع من الكائنات الأولية التي تشاهدها. وهنا يكتمل شريط واحد، حرك الشريحة قليلا الى اليمين، وهنا قم بتحريك لأعلى محتفظا بالعدد الكلى للكائنات التي تم عدها من كل نوع وبذلك يتم الانتهاء من الشريط الثاني، حرك الشريحة لأعلى واسفل حتى تكتمل الخمسة شرائط.
- سجل العدد الكلى من كل نوع من الأنواع، تذكر انه عند عد المستعمرات الأولية من السوطيات الجالسة فلابد من عد او تقدير العدد الكلى من الرؤوس. والشعار هو "كلما زادت عدد الرؤوس كلما كانت الحمأة متقدمة في العمر"
- ولأفضل النتائج قم بمسح من 3 او اكثر من الشرائح لنفس العينة وخذ المتوسط العام للعد لكل نوع من انواع الأوليات الحيوانية.



شكل يوضح المسارات المتبعة لعمل مسح للشريحة عند عد الكائنات الأولية تحت المجهر

حساب الانتشار النسبي Calculate relative dominance

- قم بعد الكائنات وسجل العدد الكلى من البروتوزوا في كل فصيلة
- سجل العدد بعمل ثلاثة مكررات للعينة الواحدة أي ثلاثة شرائح (انظر المثال الموجود في سجل تسجيل الفحص الميكروسكوبي).
- الخطوة التالية يتم حساب متوسط عدد كل كائن من كل شريحة من المكررات الثلاث.
- احسب النسبة المئوية عن طريق قسمة متوسط العدد لكل كائن على العدد الكلى من الكائنات الحية التي تم عدها مضروبا في 100
- يتم تجميع النسب المئوية لمجموعة الأميبا والهدبيات معا، جمع كل السوطيات معا في مجموعة واحدة ووحد النسبة المئوية واحسب النسبة المئوية للميتازوا.

نموذج رقم (26) قطاع المعامل

الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحي

شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالجيزة

قطاع المعامل – الإدارة العامة لمعامل الصرف

نموذج للفحص المجهري لعينات الحمأة النشطة

WORKSHEET FOR MICROSCOPIC EXAMINATION OF ACTIVATED SLUDGE

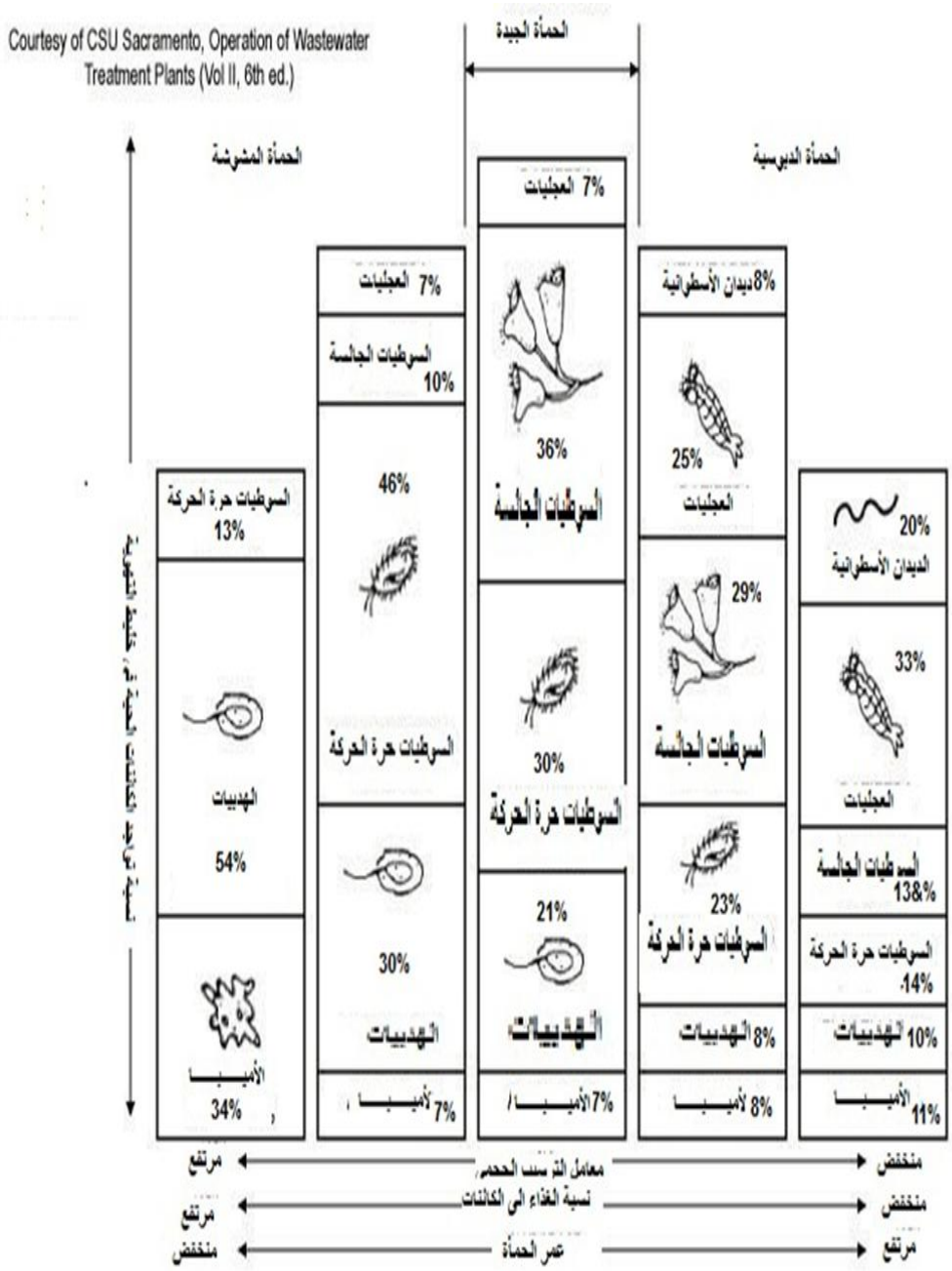
معمل laboratory: .محطة معالجة زنين **وقت التحليل time**: 10.00 صباحا **تاريخ جمع العينة sample date**: الخميس 18-9-2014

القائم بالتحاليل analyst: ك/ فاطمة دياب **تاريخ التحليل analysis date**: الخميس 18-9-2014

1	موقع العينة sample type	المرحلة الأولى				النسبة المئوية Percent		المرحلة الثانية				النسبة المئوية Percent	
2	رقم شريحة الفحص Slide number	شريحة – 1	شريحة – 2	شريحة – 3	المتوسط			شريحة – 1	شريحة – 2	شريحة – 3	متوسط العدد / مل		
3	حجم العينة للعد المجهري مل sample volume used for counting, ml	0.5	0.5	0.5									
4	الأميبا = الكائنات المتحركة بالأنسياب السيتوبلازمى Amoeboids	12	6	2	6.7	4.2	18.7						
5	الهدبيات Flagellates	26	12	12	22.7	14.4							
6	السوطيات حرة الحركة Free swimming ciliates	30	24	14	22.7	14.4	79.0						
	السوطيات الزاحفة Crawling ciliates	44	30	40	38.0	24.2							
7	السوطيات الثابتة Stalked cilliates	80	64	46	63.3	40.3							
8	العجليات Rotifers	6	10	7	7.7	4.9	6.2						
9	الكائنات الأخرى other organisms	2	1	3	2.0	1.3							
10	الإجمالي Total	200	147	124	157.0								

ملاحظات: نوع الحمأة للمرحلة الأولى جيدة.

يعتمد .....،



- يتم وضع الأميبا والهدبيات في مجموعة واحدة وذلك لأن كلا المجموعتين تعتبر مؤشرا للحمأة الشابة او صغيرة السن او المعالجة الغير كاملة.
- وفي وحدة معالجة تعمل بصورة جيدة فان السوطيات لابد وان تكون سائدة.
- الأعداد الكبيرة من الميتازوا تكون مرتبطة بالحمأه ذات السن المتقدم.
- الكائنات الأولية التي يتم عدها ليست بالضبط هي الأعداد الموجودة بالفعل ولا يمكن الاعتماد عليها كوحدة مستقلة للحكم على ظروف المعالجة بوحدات المعالجة، لكنها تساعد المشغل في ضبط الظروف داخل خليط التهوية.

المراجع

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

➢ د/ سناء أحمد الإله	شركة مياه الشرب والصرف الصحى بالفيوم
➢ د/ شعبان محمد على	شركة مياه الشرب والصرف الصحى بالفيوم
➢ د/ حمدى عطيه مشالى	شركة مياه الشرب والصرف الصحى بالغربية
➢ د/ سعيد أحمد عباس	شركة مياه الشرب والصرف الصحى بالغربية
➢ د/ عبدالحفيظ السحيمى	شركة مياه الشرب بالقاهرة الكبرى
➢ د/ مى صادق	شركة مياه الشرب بالقاهرة الكبرى

حقوق الطبع محفوظة • الإدارة العامة للمسار الوظيفى - إدارة الصناع
الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحى

للاقتراحات والشكاوى قم بمسح الصورة (QR)