



برنامج المسار الوظيفي للعاملين بقطاع مياه الشرب والصرف الصحي

دليل المتدرب



تجهيز وتحضير المحاليل الكيميائية والوسائط البكتيرية فنى معمل صرف - الدرجة الثالثة

تم إعداد المادة بواسطة الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحي
قطاع تنمية الموارد البشرية - الإدارة العامة للمسار الوظيفي
الإصدار الأول ٢٠٢٤



المحتويات

المحتويات	١
المقدمة	٤
الفصل الأول: طرق التعبير عن التركيز	٥
١. العيارية (N) Normality	٥
٢. المولارية (M) Molarity	٦
٣. التركيز بالنسبة المئوية	٦
٣,١ وزن / وزن % - (w/w%)	٦
٣,٢ وزن / حجم % - (w/v%)	٦
٣,٣ حجم / حجم % - (v/v%)	٦
٣,٤ حجم / وزن % - (v/w%)	٦
٤. التركيز بوحدة جزء في المليون: ppm	٦
٥. التركيز بوحدة جزء في البليون: ppb	٦
٦. التركيز المولالي: Molality	٦
الفصل الثانى: تجهيز وتحضير المحاليل الكيميائية	٧
١. تجربة تقدير نسبة القلوية	٧
١,١ الهدف من التجربة	٧
١,٢ فكرة التجربة	٧
١,٣ الأدوات المستخدمة	٧
١,٤ المواد الكيميائية والكواشف	٨
١,٥ التحضيرات	٩
١,٦ الخطوات	٩
١,٧ التداخلات المحتملة للتجربة	١٠
١,٨ جمع وحفظ العينة	١٠
١,٩ الحسابات وتسجيل النتيجة	١٠
٢. تجربة قياس الكلوريدات	١٠
٢,١ الهدف من التجربة	١١
٢,٢ الأدوات المستخدمة	١١
٢,٣ التحضيرات	١١
٢,٤ حساب نسبة الكلوريدات في المياه بواسطة (طريقة موهر)	١٢
٢,٥ الخطوات	١٢
٢,٦ التداخلات المحتملة	١٢
٢,٧ جمع وحفظ العينة	١٢
٢,٨ تسجيل النتائج	١٢
٣. تعيين الأكسجين الكيميائى المستهلك	١٢

٣,١	الهدف من التجربة.....	١٤
٣,٢	قياس الاكسجين الكيميائي المستهلك بطريقة التحليل الطيفي	١٤
٣,٣	الأجهزة والمعدات	١٤
٣,٤	المحاليل الكيميائية.....	١٥
٣,٥	خطوات التجربة	١٦
٤	تقدير الزيوت والشحوم	١٧
٤,١	الأساس العلمي	١٧
٤,٢	تنبيهات هامة.....	١٧
٤,٣	تجميع العينات وحفظها	١٨
٤,٤	الأدوات المستخدمة	١٨
٤,٥	الكيمياويات المستخدمة	١٩
٤,٦	خطوات التجربة	١٩
٥	قياس الكلور الحر المتبقي بالطريقة اللونية باستخدام أقراص DPD.....	٢٠
٥,١	الأساس العلمي	٢٠
٥,٢	الهدف من التجربة.....	٢٠
٥,٣	الأدوات المستخدمة في التجربة.....	٢١
٥,٤	طريقة العمل وحفظ العينة والتداخلات.....	٢٢
٦	تحضير المحاليل الخاصة بالأكسجين الذائب Dissolved oxygen (DO)	٢٢
٦,١	الأكسجين الذائب بطريقة وينكلر - الطريقة الأيودومترية	٢٢
٦,٢	تحضير المحاليل الخاصة بالأكسجين الحيوى الممتص BOD ₅ بطريقة قياس الأكسجين الذائب	٢٣
٧	تحضير المحاليل الخاصة بالكبريتيدات Sulfides بالطريقة الأيودومترية	٢٤
٧,١	حمض الهيدروكلوريك 6 N HCl	٢٤
٧,٢	محلول الأيودين القياسى 0.025 N Standard iodine solution	٢٤
٧,٣	محلول ثيو كبريتات الصوديوم 0.025 N Na ₂ S ₂ O	٢٤
٧,٤	كاشف النشا Starch indicator	٢٥
٧,٥	محلول أسيتات الزنك Zinc acetate solution	٢٥
٧,٦	محلول هيدروكسيد الصوديوم Sodium Hydroxide 6N - NaOH 6N	٢٥
٨	تحضير المحاليل الخاصة بالنترات - نيتروجين NO ₃ -N - بطريقة القطب الإنتقائى	٢٥
٨,١	محلول النترات الأصى Stock nitrite solution	٢٥
٨,٢	محلول نترات القياسى Standard nitrite solution.....	٢٥
٨,٣	محلول منظم للرقم الهيدروجينى Buffer solution	٢٥
٨,٤	محلول ملء الإلكترود Reference electrode filling solution	٢٦
٢٧	الفصل الثالث: تحضير الوسائط البكتيرية.....	٢٧
١	أنواع الأوساط الغذائية	٢٧
١,١	الأوساط الغذائية العامة	٢٧
١,٢	الأوساط الغذائية العازلة.....	٢٧

٢. طرق تحضير وحفظ الأوساط الغذائية ٢٨
- ٢,٢ وقت حفظ الأوساط الغذائية المحضرة وعينات البكتريولوجي عند درجة حرارة ٤ م ٣٠
٣. الاختبارات البكتريولوجية لمياه الصرف الصحي ٣٠
- ٣,١ باستخدام طريقة الأنابيب المتعددة ٣٠
- ٣,٢ باستخدام طريقة الترشيح الغشائي: Membrane Filter (MF) ٣٣
٤. طرق التعقيم ٣٥
- ٤,١ التعقيم باستخدام الأوتوكلاف ٣٥
- ٤,٢ التعقيم بواسطة الكحول ٣٧
- المراجع ٣٨

المقدمة

التحليل الكيميائي Chemical analysis: هو علم يختص بمعرفة تركيب المادة وبنيتها والتقدير الكمي و النوعى للمادة ، إعتماًداً على طرق تجريبية تتعلق بخصائص المادة المدروسة والمواد المرافقة لها وطبيعة الوسط الموجودة فيه. والكيمياء التحليلية فرع من فروع الكيمياء يهتم بتطوير هذه الطرق. وهكذا فإن التحليل الكيميائي ينقسم إلى عدة فروع هي: الكيمياء الفيزيائية - الكيمياء العضوية - الكيمياء غير العضوية - الكيمياء الحيوية والفيزياء والهندسة والاقتصاد. يتطلب التحليل الكيميائي دقة إختيار العينة ومن الضروري أن تفهم أساسيات التحليل و كيفية القيام به فهماً وافياً.

وهناك التحليل النوعي Qualitative analysis الذى نستطيع عن طريقه تحديد تركيب المادة، والتحليل الكمي Quantitative analysis الذى نستطيع من خلاله تحديد تحديد كمية كل عنصر من العناصر الداخلة فى تركيب المادة المراد إختبارها.

هناك العديد من الأمور المشتركة بين التقنيات والطرق المستخدمة في التحليل النوعي والتحليل الكمي، إذ تُحضّر العينة المراد تحليلها عن طريق المعالجات الفيزيائية والكيميائية، ثم يتم قياس بعض خواص المادة المراد تحديدها.

وفي هذا الباب سوف نتطرق الي أهم التعريفات في مجالات تحضير المحاليل الكيميائية والطرق المختلفة للتعبير عن التركيز أيضا سنتعرف علي كيفية تحضير المحاليل المستخدمة في التجارب التي تجري علي مياه الصرف الصحي لمعرفة وتحديد تركيز الملوثات بمياه الصرف الصحي.

الفصل الأول: طرق التعبير عن التركيز

١. العيارية (N) Normality

يرمز لها بالحرف (N) وتعرف بأنها عدد المكافئات الجرامية من المذاب في لتر من المحلول. **المحلول العياري** لمادة ما هو اللتر الواحد من المحلول يحتوي علي وزن مكافئ واحد منها مثال: المحلول العياري لهيدروكسيد الصوديوم هو المحلول الذي يحتوي اللتر الواحد منه علي جم من NaOH، ويُعبر عن عدد المكافئات الجرامية بقانون (١)، والقانون (٢) يُعبر عن كيفية حساب العيارية.

$$(١) \quad \text{عدد المكافئات الجرامية} = \frac{\text{وزن المذاب بالجرامات}}{\text{الوزن المكافئ الجرامى}}$$

$$(٢) \quad \text{العيارية (N)} = \frac{\text{عدد المكافئات الجرامية}}{\text{لتر}}$$

ومن خلال القانونين (١) و (٢) يمكن أن نستنتج العلاقة (٣):

$$\therefore \text{العيارية (N)} = \left(\frac{\text{وزن المذاب بالجرامات}}{\text{الوزن المكافئ الجرامى}} \right) / \text{لتر}$$

$$(٣) \quad \therefore \frac{\text{وزن المذاب}}{\text{لتر}} = \frac{\text{العيارية}}{\text{الوزن المكافئ}}$$

ومن تعريف العيارية نستنتج أن أي حجم من أي محلول يكافئ كيميائياً نفس الحجم من أي محلول يتفاعل معه مادامت قوتا المحلول العياريتان متساويتين. لأن الأوزان المكافئة للمواد متكافئة كيميائياً. فعندما يتعادل V1 مل من محلول ما عياريته N1 مع V2 مل من محلول آخر عياريته N2 فإن عدد المكافئات الجرامية أو الميلجراميه المذابة في كلاً من الحجمين متساويين وتكون كما بالقانون (٤):

$$(4) \quad N1 V1 = N2 V2$$

٢. المولارية Molarity (M)

تُعرف مولارية المحلول بأنها عدد الاوزان الجزيئية moles الجرامية من المادة المذابة في لتر واحد. ويسمى المحلول بالمولاري Molar Solution إذا كان اللتر الواحد منه محتويًا علي وزن جزيئي جرامي واحد من المادة. ويتم حساب المولارية من القانون (٥)

$$(٥) \quad \frac{\text{عدد المولات}}{\text{الحجم باللتر}} = \text{المولارية (M)}$$

٣. التركيز بالنسبة المئوية

وينقسم الي :-

٣,١ وزن / وزن % - (w/w%)

وزن المادة المذابة بالجرامات في ١٠٠ جرام من المحلول

٣,٢ وزن / حجم % - (w/v%)

وزن المادة المذابة بالجرامات في ١٠٠ مليلتر في المحلول

٣,٣ حجم / حجم % - (v/v%)

حجم المادة المذابة بالملييلتر في ١٠٠ مليلتر من المحلول.

٣,٤ حجم / وزن % - (v/w%)

حجم المادة المذابة بالملييلتر في ١٠٠ جرام محلول

٤. التركيز بوحدة جزء في المليون: ppm

وزن المادة المذابة ملجم في كيلو جرام مذيب او لتر مذيب ويمكن ان نقول وزن المادة المذابة بالميكروجرام في جرام واحد مذيب او مليلتر واحد مذيب.

٥. التركيز بوحدة جزء في البليون: ppb

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

٦. التركيز المولالي: Molality

عدد الجزيئات الجرامية (المولات) المذابة في كيلو جرام مذيب، طريقة حسابها من القانون (٦).

$$(٦) \quad \frac{\text{عدد مولات المذاب}}{\text{وزن المذيب بالكيلو جرام}} = \text{المولالية}$$

الفصل الثانى: تجهيز وتحضير المحاليل الكيميائية

١. تجربة تقدير نسبة القلوية

القلوية الكلية للمياه العذبة ومياه الصرف الصحى هى قدرة هذه المياه على معادلة الأحماض القوية إلى رقم هيدروجينى معين. وترجع القلوية إلى وجود أملاح الكربونات والبيكربونات .

١,١ الهدف من التجربة

تفيد قلوية مياه الصرف الصحى فى معالجة و أكسدة المواد النيتروجينية إلى نترات فى محطات المعالجة بالحماة المنشطة، حيث أنه إذا قلت قلوية المياه عن ٥٠ مجم/لتر يحدث إختزال للنترات و تتحول إلى غاز نيتروجين مما يسبب طفو للحماة فى أحواض الترسيب النهائى وبالتالي يؤثر على نوعية المياه الخارجة من السيب النهائى مما يقلل من كفاءة محطة المعالجة.

كما يفيد فى فهم ما يجرى من تفاعلات خلال المراحل المختلفة لعملية المعالجة.

١,٢ فكرة التجربة

تعتمد فكرة التجربة على معادلة العينة بحامض مخفف حتى يصل الرقم الهيدروجينى إلى ٤,٥ أو عند استخدام كاشف يعمل فى وسط حمضى مثل أحمر ميثيل Methyl Red حيث يعمل عند رقم هيدروجينى من ٤ (لون أصفر) إلى ٦ (لون أحمر).

١,٣ الأدوات المستخدمة

يوضح (شكل ١)، الأدوات المستخدمة فى تجربة تقدير نسبة القلوية.

- سحاحة (شكل اب).
- ورق مخروطي (شكل أ).
- كأس زجاجي (شكل ج).
- مخبر مدرج (شكل د).
- جهاز قياس الرقم الهيدروجينى (شكل ه).

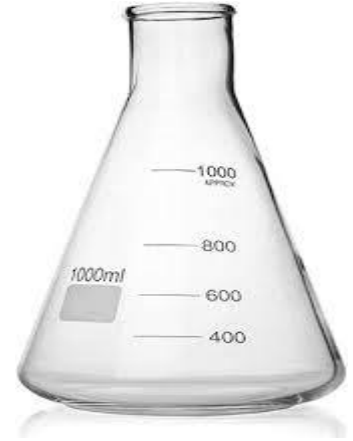
تجهيز وتحضير المحاليل الكيميائية والوسائط البكتيرية



شكل (أج)
كأس زجاجى.



شكل (أب)
سحاحة.



شكل (أأ)
دورق مخروطى.



شكل (أه)
جهاز قياس الأس الهيدروجينى.



شكل (أد)
مخبار مدرج.

شكل (أ)

الأدوات المستخدمة فى تجربة تقدير نسبة القلوية.

١,٤ المواد الكيميائية والكواشف

- حمض كبريتيك (١ عيارى) $1N H_2SO_4$
- محلول الميثيل البرتقالى Methyl Orange
- محلول الفينول فتالين Phenolphthalein

١,٥ التحضيرات

١,٥,١ لتحضير حمض كبريتيك ١ عياري $1N H_2SO_4$

ضع فى قارورة زجاجية عيارية سعة ١ لتر حوالى ٥٠٠ مللى مياه مقطرة ثم أضف باحتراس ٢٨ مللى من حامض الكبريتيك المركز، ويقلب جيدا ثم يترك ليبرد ويوضع فى قارورة زجاجية عيارية سعة ١ لتر ويكمل الحجم إلى ١ لتر بالماء المقطر.

١,٥,٢ لتحضير حمض كبريتيك مخفف ٠,١ عياري $0.1 N H_2SO_4$

يؤخذ ١٠٠ مللى من محلول ١ عياري السابق فى قارورة زجاجية عيارية سعة ١ لتر ثم يضاف مياه مقطرة حتى سعة ١ لتر . أو أضف ٣ مللى من حمض الكبريتيك المركز إلى ١ لتر بالمياه المقطرة .

١,٥,٣ لتحضير حمض كبريتيك مخفف ٠,٠٢ عياري

نضيف ٢٠ مل من حامض الكبريتيك ١ عياري فى قارورة زجاجية سعة ١ لتر ثم نستكمل الحجم الي ١ لتر بالماء المقطر.

١,٥,٤ تحضير محلول من كاشف الميثيل البرتقالي

قم بإذابة ٠,٥ جم من الميثيل البرتقالي في كمية من ماء التقطير ثم استكمل الحجم الي ١٠٠ مللى.

١,٥,٥ تحضير محلول الفينولفثالين

يذاب ٠,٥ جرام من الفينولفثالين فى ٥٠ سم^٣ كحول إيثيلي تركيزه ٩٥% ثم يتم إستكمال الحجم بالماء المقطر إلى ١٠٠ مللى .

١,٦ الخطوات

١. ضع حجم مناسب من العينة إما ٥٠ مللى أو ٢٥ مللى فى كأس مخروطى ثم يضاف نقطتين إلى أو ثلاثة من كاشف الميثيل البرتقالي.

٢. يتم معايرة العينة إما بمحلول حمض الكبريتيك ٠,١ عياري أو ٠,٠٢ عياري وذلك حسب قيمة القلوية المتوقعة للمياه .

٣. يتم إضافة الحمض للعينة تدريجيا من السحاحة حتى بداية تغير اللون من البرتقالي إلى الأحمر عند

رقم هيدروجيني ٣,٧

٤. خذ حجم الحمض النازل من السحاحة بالمللى.

٥. فى حالة إستخدام كاشف الفينولفثالين : نضيف بعض القطرات من دليل الفينول فيثالين (١-٢ قطرة).
٦. نعاير العينة مع حمض الكبريتيك المخفف مع مراعاة التقليب المستمر حتي نقطة نهاية التفاعل وتغير اللون حيث يتحول المحلول الي (عديم اللون) ثم يتحول الي اللون الوردي عند أس هيدروجيني ٨,٣ أو يمكن الإستغناء عن الكاشف واستخدام جهاز قياس الرقم الهيدروجيني بحيث يتم إضافة الحمض تدريجيا من السحاحة حتى يصل الرقم الهيدروجيني إلى ٤,٥

١,٧ التداخلات المحتملة للتجربة

الكلور من أهم التداخلات التي تؤثر علي النتيجة ولذا يجب العمل علي إزالة الكلور الحر عن طريق إضافة نقطة من محلول ثيوكبريتات الصوديوم ٠,١ مولر.

١,٨ جمع وحفظ العينة

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

١,٩ الحسابات وتسجيل النتيجة

يتم حساب القلوية بالعينة من خلال القانون (٧)، ثم يتم تسجيل القلوية (بالميلجرام / لتر).

$$(٧) \quad \frac{\text{حجم حمض الكبريتيك} \times \text{عياريته} \times 1000 \times 50}{\text{حجم العينة}} = \text{القلوية الكلية مقدرة ككربونات كالسيوم}$$

٢. تجربة قياس الكلوريدات

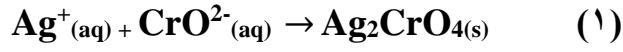
الأساس العلمي لهذه التجربة أن الكلوريدات تتفاعل مع نترات الفضة في محلول متعادل أو قلوى ضعيف في وجود كرومات البوتاسيوم ككاشف حيث يتم ترسيب كلوريد الفضة (شكل ٢) وهو راسب أبيض قبل تكون كرومات الفضة الحمراء.



شكل (٢)

الرابطية المتكونة بين ذرة الفضة وذرة الكلور .

وباستمرار المعايرة وعند تمام ترسيب كلوريد الفضة تتكون كرومات الفضة ذات اللون البني المحمر معادلة رقم (١) وهو اللون الذي يبين نهاية المعايرة.



٢,١ الهدف من التجربة

الكلوريدات من التجارب الهامة في قياس المياه الخام ومياه السيب النهائي حيث ان ارتفاع الكلوريدات يحدث تداخل وتغير في قيم الأكسجين الكيميائي المستهلك ومن المؤشرات الهامة لوجود صرف صناعي بالمياه الخام كما أنها عامل مؤثر علي نمو وتكاثر الكائنات الدقيقة في أحواض التهوية. والـ(شكل ٨) يوضح تجربة تحديد الكلوريدات.



٢,٢ الأدوات المستخدمة

- سحاحة.
- ورق زجاجي.
- كأس زجاجي.
- مخبر مدرج.

شكل (٨)

يوضح عملية المعايرة لتحديد الكلوريدات.

٢,٣ التحضيرات

٢,٣,١ تحضير محلول من كرومات البوتاسيوم

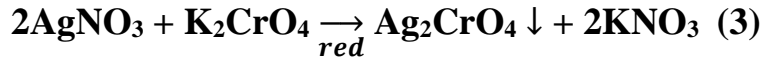
قم بإذابة ٥٠ جم من كرومات البوتاسيوم في كمية بسيطة من الماء المقطر ثم قم بإضافة نترات الفضة حتي تكون راسب أحمر اترك المحلول لمدة ١٢ ساعة ثم قم بفلتره المحلول وقم بتخفيف المحلول الي ١ لتر باستخدام الماء المقطر.

٢,٣,٢ تحضير محلول قياسي من نترات الفضة ٠,٠١٤١ عياري

قم بإذابة ٢,٣٤٥ جم من نترات الفضة في حجم معين من الماء المقطر ثم استكمل الحجم الي ١ لتر وقم بعمل معايرة مع كلوريد الصوديوم للتأكد من تركيز نترات الفضة.

٢,٤ حساب نسبة الكلوريدات في المياه بواسطة (طريقة موهر)

المعادلة (٢) توضح طريقة تفاعل الكلور الموجود بالعينة مع نترات الفضة لتكوين راسب كلوريد الفضة الأبيض، ثم مع استمرار المعايرة بواسطة نترات الفضة معادلة (٣) يتكون راسب كرومات الفضة ذات اللون البنّي المحمر، وبمجرد ظهور هذا الراسب نتأكد من أن جميع جزيئات الكلور الموجودة في العينة تفاعلت مع نترات الفضة وتحولت إلى كلوريد الفضة ولم يتبقى أى جزيئات كلور في العينة.



٢,٥ الخطوات

١. قُم بوضع ٢٥ مل من العينة في دورق مخروطي و قم بإكمال الحجم إلى ١٠٠ مل بالماء المقطر.
٢. قُم بوضع من ٢ إلى ٣ نقط من دليل كرومات البوتاسيوم يعطي لون أصفر.
٣. نعاير مع محلول نترات الفضة حتي يتحول الي اللون البنّي الفاتح أو بني محمر.
٤. تركيز الكلوريدات (بالمليجرام / لتر) = حجم نترات الفضة $\times ١٠٠/٢$

٢,٦ التداخلات المحتملة

- أملاح الفوسفات اذا تواجدت بنسب عالية (أكبر من ٢٥ ملجم / لتر) تسبب تداخل سلبي.
- أملاح الحديد تسبب صعوبة في تحديد نقطة النهاية اذا زادت عن ١٠ ملجم / لتر.

٢,٧ جمع وحفظ العينة

تجمع العينة في أوعية زجاجية أو بلاستيكية بحجم لا يقل عن ١٠٠ مل ولا ضرورة لموانع خاصة اذا لزم تخزين العينة .

٢,٨ تسجيل النتائج

يتم تسجيل الكلوريدات (بالمليجرام / لتر).

٣. تعيين الأكسجين الكيميائي المستهلك

يعرف الاكسجين الكيميائي المستهلك بكمية الأكسجين اللازم لأكسدة المواد العضوية بواسطة مادة كيميائية مؤكسدة مثل داي كرومات البوتاسيوم عند ١٥٠ درجة مئوية لمدة ساعتين.

يُعبّر تركيز الأكسجين المستهلك عن تركيز المواد العضوية بوحدة ملجم/ لتر. ويتم قياسه في كل من المياه الخام والمياه الداخلة لأحواض التهوية وفي السيب النهائي لمحطة المعالجة.

تُعتبر تجربة قياس الأكسجين الكيميائي المستهلك تجربة سريعة لقياس تركيز المواد العضوية بالمقارنة بتجربة الأكسجين الحيوي الممتص حوالي ساعتين ونصف بينما تستغرق تجربة الأكسجين الحيوي الممتص خمسة أيام للحصول على النتيجة كما أنه يستخدم في تحديد مدي تركيز الأكسجين الحيوي الممتص حيث انه في مياه الصرف الصحي يكون تركيز الأكسجين الكيميائي المستهلك الي تركيز الأكسجين الحيوي الممتص (١,٧-٢) على الترتيب في حالة عدم دخول تصرفات صناعية للمحطة. ويتم اجراء هذه التجربة ٣ مرات أسبوعيًا في المياه الخام والمياه الداخلة لأحواض التهوية وفي السيب النهائي.

تُعتبر تجربة الأكسجين الكيميائي المستهلك مؤشر لأحتمال وجود صرف صناعي.

ال(جدول ١) يوضح أماكن رفع عينات الأكسجين الكيميائي المستهلك و معدل إجراء التجربة.

اسم التحليل	مكان أخذ العينة	معدل الأخذ
الأكسجين الكيميائي المستهلك COD	١- المدخل	يوم بعد يوم
	٢- أحواض الترسيب الابتدائي	
	٣- السيب النهائي	

جدول (١)

مكان أخذ عينة الأكسجين الكيميائي المستهلك، ومعدل الأخذ.

تعتمد طريقة قياس الأكسجين الكيميائي المستهلك على أكسدة المواد العضوية في المخلفات السائلة بإستخدام ثاني كرومات البوتاسيوم في وجود حمض الكبريتيك المركز وكبريتات الفضة بالتسخين عند ١٥٠ مئوية لمدة ساعتين مع إضافة مادة كبريتات الزئبق لمنع تداخل الكلوريدات في العينة.

حيث يستهلك كمية من ثاني كرومات البوتاسيوم في أكسدة المواد العضوية في العينة ويتبقى كمية منها يتم معايرتها بواسطة كبريتات الحديدوز النشاردية بإستخدام كاشف الفريون. وإذا تحول لون العينة الي اللون الأخضر بعد التسخين فهذا معناه أن تركيز العينة كبير ويجب تقليل حجم العينة أو تخفيف العينة.

تتداخل الكلوريدات في العينة فأنها سوف تتأكسد كما لو كانت مواد عضوية ويؤدي ذلك لزيادة تركيز الأكسجين الكيميائي في العينة أكثر من التركيز الحقيقي خاصة في المياه التي يزيد تركيز الأملاح الذائبة الكلية عن ٢٠٠٠ ملجم/لتر.

يتم إزالة تداخل الكلوريدات في العينة بواسطة كبريتات الزئبق ففي العينة التي يقل تركيز الكلوريدات فيها أقل من ٢٠٠٠ ملجم/ لتر تضاف كبريتات الزئبق بنسبة (١٠:١) أي أنه إذا كان تركيز الكلوريدات في العينة ١٠٠٠ ملجم/لتر فيجب إضافة ١٠ جرام من كبريتات الزئبق للعينة أما إذا زاد تركيز الكلوريدات في العينة أكثر من ٢٠٠٠ ملجم/لتر فيجب عدم إجراء هذه الاختبار.

٣,١ الهدف من التجربة

- قياس الاكسجين المستهلك كيميائياً والمكافئ للمواد العضوية بمياة الصرف.
- يستخدم اختبار الأكسجين الكيميائي المستهلك لقياس المواد العضوية في مياه الصرف الصناعي التي تحتوي علي مركبات سامة للحياه البيولوجية.

٣,٢ قياس الاكسجين الكيميائي المستهلك بطريقة التحليل الطيفي

تعتمد هذه الطريقة على تحضير المحاليل الخاصة بهضم الأكسجين الكيميائي المستهلك في المعمل ثم يتم وضع حجم معلوم من العينة في زجاجه بغطاء ثم يتم إضافه أحجام معلومه من محاليل الهضم الخاصه بذلك الإختبار ثم غلق الزجاجه بالغطاء والتسخين عند ١٥٠ مئوية في فرن تجفيف أو بلوك حرارى لمدة ساعتين ثم تبرد الزجاجه ثم يتم قياس تركيز الإكسجين الكيميائي المستهلك بملجم/لتر بجهاز اسبكتروفوتوميتر عند طول موجي ٦٠٠ نانوميتر للعينات التي يزيد تركيزها عن ١٥٠ ملجم/لتر أما العينات التي يقل تركيز الأكسجين الكيمياوي المستهلك فيها عن ١٥٠ ملجم/لتر يتم قياسها عند طول موجي ٤٢٠ نانوميتر.

تستخدم هذه الطريقة لقياس تركيز الأكسجين الكيميائي المستهلك في العينة التي يتراوح تركيز الأكسجين الكيميائي المستهلك ما بين ٣ إلى ٩٠٠ ملجم /لتر.

٣,٣ الأجهزة والمعدات

- فرن تجفيف أو بلوك حراري درجة حرارة ١٥٠ مئوية.
- أنابيب زجاجية سعة ١٠ × ١٠٠ مل بغطاء محكم.
- جهاز اسبكتروفوتوميتر.
- فرن حرق عند ٥٥٠ مئوية.

٣,٤ المحاليل الكيميائية

٣,٤,١ محلول الهضم

أ- محلول الهضم للتركيز العالي

محلول كرومات البوتاسيوم (٠,٢١ عياري أو ٠,٠٣٥ مولاري):

أذب ١٠,٢١٦ جم من ثاني كرومات البوتاسيوم المجففة في الفرن عند ١٠٣ مئوية لمدة ساعة و ١٦٧ مل من حمض الكبريتيك المركز و ٣٣,٣ جم من كبريتات الزئبق في ٥٠٠ مل مياه مقطرة ثم أكمل المحلول الي ١ لتر.

ب- محلول الهضم للتركيزات المنخفضة

محلول كرومات البوتاسيوم (٠,٢١ عياري أو ٠,٠٣٥ مولاري):

أذب ١,٠٢٢ جم من ثاني كرومات البوتاسيوم المجففة في الفرن عند ١٠٣ مئوية لمدة ساعة و ١٦٧ مل من حمض الكبريتيك المركز و ٣٣,٣ جم من كبريتات الزئبق في ٥٠٠ مل مياه مقطرة ثم أكمل المحلول الي ١ لتر.

٣,٤,٢ محلول كبريتات الفضة وحمض الكبريتيك

أضف ٢٢ جم من كبريتات الفضة الي ٤ كجم من حمض الكبريتيك المركز (١ كجم = ٠,٥٤٣ مل) واتركة حتي يتم اذابة كبريتات الفضة في الحمض (٢٤-٤٨ ساعة).

٣,٤,٣ محلول غسيل الزجاجات

أضف ٥٠٠ مل من حمض الكبريتيك المركز إلى ٥٠٠ مل مياه مقطره هذا المحلول يستخدم في غسيل الانابيب الزجاجيه الخاصه بالعينات وجميع الزجاجيات المستخدمه في الاختبار.

٣,٤,٤ محلول قياسي من فتالات بوتاسيوم الهيدروجين KHP

١. اسحق بشكل خفيف فتالات بوتاسيوم الهيدروجين ثم جفف عند درجة حرارة ١١٠ مئوية للحصول علي وزن ثابت.

٢. أذب ٤٢٥ ملجم = ٠,٤٢٥ جم من فتالات بوتاسيوم الهيدروجين في كمية من الماء المقطر ثم أكمل الحجم الي ١٠٠٠ مل ماء مقطر.

تحذير:

هذا المحلول يكون ثابتاً عند تبريده في وعاء زجاجي كهربائي لمدة زمنية تصل إلى ٣ شهور،
كن متيقظاً لحدوث نمو بيولوجي وتخلص منه إذا كان موجوداً.

٣,٥ خطوات التجربة

أغسل الأنابيب الزجاجية والغطاء المستخدم في الاختبار بمحلول غسيل الزجاجيات ثم جفف هذه الأنابيب
في فرن الحرق عند ٥٠٠ درجة مئوية لمدة ساعة لإزالة أي تلوث.

١. أضف ٢,٥ مل من العينة في أنبوبة زجاجية سعة ١٠٠ × ١٦ مل ثم أضف ١,٥ مل من محلول

هضم الأكسجين الكيميائي المستهلك حسب تركيز الأكسجين الكيميائي المستهلك (ملجم/لتر)

المتوقع في العينة (التركيز العالي أو التركيز المنخفض) ثم أضف ٣,٥ مل من محلول كبريتات

الفضة وحمض الكبريتيك ثم أغلق الزجاجية بالغطاء جيداً (شكل ١٠).

٢. حضر محاليل الأكسجين الكيميائي المستهلك قياسية معلومة التركيز ثم كرر معها نفس الخطوات
السابقة.

٣. ضع أنابيب الاختبار الخاصة بالعينة والمحاليل القياسية في لوك حراري أو فرن تجفيف (شكل ٩)
عند ١٥٠ درجة مئوية ولمدة ساعتين ثم برد.

٤. يتم تكرار نفس الخطوات السابقة للمحاليل القياسية.

٥. يتم عمل المنحني القياسي العياري للأكسجين الكيميائي المستهلك.

يتم قياس تركيز الأكسجين الكيميائي المستهلك (بملجم/لتر) للعينة عند طول موجي ٦٠٠ نانوميتر

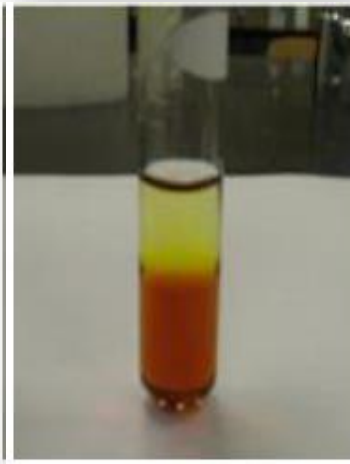
للعينات ذات التركيز العالي أما العينات ذات التركيز المنخفض يتم قياسها عند طول موجي ٤٢٠

نانوميتر باستخدام جهاز الاسبكتروفوتومتر (شكل ١١).



شكل (١١)

جهاز سبكتروفوتومتر .



شكل (١٠)

أنبوبة بها عينة مهضومة.



شكل (٩)

هاضم عينات COD

٤. تقدير الزيوت والشحوم

٤,١ الأساس العلمي

الزيوت والشحوم مواد عضوية يمكن استخلاصها باستخدام مذيب مثل الكلوروفورم أو ثنائي كلوروميثان أو الأثير البترولي.

تُعتبر هذه الطريقة مناسبة لاستخلاص الاحماض الدهنية والمواد الهيدروكربونية البترولية والمواد البترولية الخام. ولتعيين الزيوت والشحوم في المخلفات السائلة المعالجة والغير معالجة.

٤,٢ تنبيهات هامة

- تكون العينة التي ستجري عليها التجربة عينة بسيطة أي يتم جمعها وقت إجراء التجربة.
- إذا كانت التجربة ستجري بعد جمع العينات بساعتين يضاف الي العينة حمض هيدروكلوريك مركز حتي تصل إلي الأس الهيدروجيني يساوى ٢
- يتم جمع العينة في قمع الفصل التي ستجري فيه التجربة ويكون بقم واسع.
- لا يجوز اقتسام العينة بعد جمعها لأن ما بها من زيوت يلتصق بجدار المحتوي.

٤,٣ تجميع العينات وحفظها

- تستخدم زجاجات بنية اللون ذات فوهة واسعة تُغسل جيدًا بالصابون ثم الماء وأخيرًا بإستخدام مذيب مناسب.
- إذا كانت العينة تحتوي علي تركيز أكبر من ١٠٠ ملجم/لتر يكفي أن يكون حجم العينة ١ لتر.
- إذا لم يتم تحليل العينة خلال ساعتين يتم إضافة حمض الهيدروكلوريك % ٥٠ أو حمض الكبريتيك % ٥٠ بحيث يصبح الإس الهيدروجيني ٢

٤,٤ الأدوات المستخدمة

- قمع فصل سعة ٢ لتر ذات غطاء مصنفر (شكل ١٢).
- حمام مائي.
- ميزان حساس (شكل ١٣).
- مجفف زجاجي به مادة ماصة للرطوبة مثل السيليكا جيل (شكل ١٤).



شكل (١٣)

ميزان حساس.



شكل (١٢)

قمع الفصل.



شكل (١٤)

مجفف زجاجى.

٤,٥ الكيمياويات المستخدمة

- حمض الهيدروكلوريك مركز ٥٠ %
- مذيب عضوي (١,١,٢ تري كلورو تري فلورو إيثان)
- كما يمكن استخدام احد المذيبات الآتية:
- ١-كلوروفورم
- ٢-ايثيربترولي
- ٣-بنزين عطري
- كبريتات الصوديوم اللامائي.

٤,٦ خطوات التجربة

١. يتم إضافة ٥ مل/ لتر من حمض الهيدروكلوريك اذا لم يتم اضافتها سابقاً.
٢. تُنقل العينة نقل كمي الي قمع الفصل.
٣. تُغسل زجاجة جمع العينة باستخدام ٣٠ مل من المذيب ثم يضاف إلي العينة قمع الفصل وترج العينة لمدة دقيقتان وتترك حتي تنفصل إلي طبقتين.
٤. يتم سحب العينة وتُنقل إلي قمع فصل اخر ويضاف إليها ٣٠ مل من خليط المذيب وترج العينة لمدة دقيقتان وتترك فترة حتي يتم فصلها تماماً.

٥. يجمع المذيب من الخطوة ٣ و ٤ ويتم إزالة قطرات المياه بامرارة علي قمع له ورقة ترشيح وحوالي ١٠ جم من كبريتات الصوديوم اللامائية ويتم جمع المذيب في قارورة التقطير ويتم تقطيرة عند درجة حرارة ٨٥ درجة مئوية.

٦. تُبرد القارورة بوضعها في ماء بارد ثم يُنقل المذيب الي كأس سبق وزنه وتُغسل القارورة بحوالي ٥ مل من خليط المذيب ويخفف المذيب حتي الجفاف باستخدام حمام مائي عند درجة حرارة ٨٥ درجة مئوية في المجفف لمدة ساعه ثم توزن مرة ثانية.

٧. طريقة الحساب تكون باستخدام القانون (٨):

$$\text{الزيوت والشحوم} = \frac{1000 \times (\text{أ} - \text{ب})}{\text{ح}} = \text{مجم/لتر (٨)}$$

حيث:

أ = وزن العينة

ب = وزن الكأس الفارغ

ح = حجم العينة بالمللى

٥. قياس الكلور الحر المتبقي بالطريقة اللونية باستخدام أقراص DPD

الغرض الرئيسى من إضافة محلول الكلور هو القضاء على الكائنات الحية الضارة وذلك لسهولة استخدامه وقلة تكلفته وأنه يترك كلور متبقى يدل على إتمام عملية التطهير.

١, ٥ الأساس العلمي

تعتمد هذه الطريقة علي تفاعل الكلور الحر مع كاشف الـ

DPD (N.N-Diethyl-p-phenylenediamine) الذي يعطي لون أحمر مميز.

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

٢, ٥ الهدف من التجربة

يُستعمل الكلور في محطات معالجة مياه الصرف الصحي لتقليل التلوث البكتريولوجي في المياه المعالجة حيث يوجد حوض المزج بالكلور (شكل ١٥) بعد الترسيب النهائي ويتم حقن الكلور في المياه الخارجة من الترسيب النهائي. تمكث المياه المضاف إليها الكلور في هذا الحوض مدة من (٢٠ - ٣٠ دقيقة).

تجهيز وتحضير المحاليل الكيميائية والوسائط البكتيرية

يساعد الكلور في إيقاف تكاثر الطحالب وتثبيط نمو الطحالب وقتل بعض أنواع البكتريا ولكن لابد من ضبط الجرعة عن طريقة تجربة نقطة الانكسار التي يجريها معمل المحطة كذلك تحقيق زمن التلامس الكامل Contact Time (C.T) وهو من ٢٠ إلى ٣٠ دقيقة.



شكل (١٥)

حوض تلامس الكلور Chlorine contact tank.

٥,٣ الأدوات المستخدمة في التجربة

● جهاز قياس الكلور الحر (شكل ١٦).

● أقراص القياس (شكل ١٧)

((حر + متحد) لقياس الكلور الكلى) DPD4, (لقياس الكلور الحر المتبقى) DPD1 -

● يمكن أيضا تحضير الأقراص عملياً.



شكل (١٦)

جهاز قياس الكلور الحر.



شكل (١٧)

كاشف الكلور (DPD).

٤, ٥ طريقة العمل وحفظ العينة والتدخلات

يتم قياس الكلور موقعيًا عن طريقة إضافة قرص الكلور ١ أو ٤ حسب نوع الكلور المراد قياسه ويتم القياس بالجهاز بعد تصفير الجهاز باستخدام العينة بدون إضافات.

٦. تحضير المحاليل الخاصة بالأكسجين الذائب Dissolved oxygen (DO)

٦, ١ الأكسجين الذائب بطريقة وينكلر - الطريقة الأيودومترية

- الكيماويات المستخدمة

أ- كبريتات منجنيز

يذاب ٤٨٠ جرام من كبريتات المنجنيز - رباعي ماء التبلر $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ أو ٤٠٠ جرام كبريتات منجنيز - ثنائي ماء التبلر $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ أو ٣٦٤ جرام كبريتات منجنيز - ماء $MnSO_4 \cdot H_2O$ فى ماء مقطر ويكمل الحجم الى ١ لتر (يمكن ترشيح المحلول إذا لزم الامر).

ب- محلول يوديد الآزيد القاعدى

يتم تحضير المحلول بإتباع الخطوات الآتية:

١. قُم بوزن ٥٠٠ جرام من هيدروكسيد الصوديوم NaOH، يتم وضعه بحرص فى قارورة عيارية حجمها لتر ويضاف حوالى ٤٠ مل ماء مقطر.
٢. قُم بوزن ١٣٥ جرام يوديد صوديوم NaI ويضاف إلى المحلول السابق مع التقليب الجيد.
٣. يضاف إليه ١٠ جرام صوديوم آزيد NaN_3
٤. اكمل المحلول السابق حتى العلامة بالماء المقطر مع التقليب الجيد حتى تمام الذوبان.

أو يتم تحضيره باستخدام هذه الطريقة:

١. قُم بوزن ٧٠٠ جرام هيدروكسيد بوتاسيوم KOH، يوضع الملح بحرص فى قارورة عيارية حجمها لتر ويضاف حوالى ٤٠ مل ماء مقطر.
٢. قُم بوزن ١٥٠ جرام يوديد بوتاسيوم KI ويضاف إلى المحلول السابق مع التقليب الجيد.
٣. يضاف ١٠ جرام صوديوم آزيد NaN_3
٤. اكمل المحلول السابق حتى العلامة بالماء المقطر مع التقليب الجيد حتى تمام الذوبان.

ج- حامض كبريتيك المركز H_2SO_4

د- محلول نشا

يذاب ٢ جرام مسحوق نشا و ٠,٢ جرام ساليك كمادة حافظة فى ١٠٠ مل ماء دافىء ويترك لمدة يوم ويتم ترشيحه ويستخدم فقط الجزء الرائق منه.

هـ- محلول قياسي من ثيوكبريتات الصوديوم 0.025 N

يذاب ٦,٢٠٥ جرام من $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ فى ماء مقطر ويضاف ٠,٤ جرام هيدروكسيد الصوديوم NaOH ويستكمل المحلول الى ١ لتر بالماء المقطر.

٦,٢ تحضير المحاليل الخاصة بالأكسجين الحيوى الممتص BOD_5 بطريقة قياس الأكسجين الذائب
٦,٢,١ الكيماويات المستخدمة

أ- محلول الفوسفات المنظم Phosphate Buffer Solution

يتم تحضيره بإتباع الخطوات الآتية:

١. قُم بوزن ٨,٥ جم من بوتاسيوم داي هيدروجين فوسفات KH_2PO_4
٢. قُم بوزن ٢١,٧٥ جم من داي بوتاسيوم هيدروجين فوسفات K_2HPO_4
٣. قُم بوزن ٣٣,٤ جم من داي صوديوم هيدروجين فوسفات Na_2HPO_4
٤. قُم بوزن ١,٧ جم كلوريد أمونيوم NH_4Cl
٥. ضع الأملاح السابقة فى قارورة عيارية حجمها لتر وأضف إليها الماء المقطر حتى العلامة.
٦. قلب جيدا على القلاب المغناطيسى حتى تمام الذوبان.

ب- كبريتات مغنيسيوم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

١. قُم بوزن ٢٢,٥ جم من كبريتات المغنيسيوم، ثم قُم بوضع ت الوزن فى قارورة عيارية حجمها لتر ثم أضف إليها الماء المقطر حتى العلامة.
٢. قلب جيّدًا حتى تمام الذوبان.

ج- كلوريد الكالسيوم اللامائى CaCl_2

١. يضاف ٢٧,٥ جرام فى قارورة عيارية حجمها لتر و يستكمل الحجم إلى العلامة .
٢. قلب جيّدًا حتى تمام الذوبان.

د- كلوريد الحديدك $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

- قُم بوزن ٠,٢٥ جرام من كلوريد الحديدك، ثم قُم بوضع الوزن فى قارورة عيارية حجمها لتر وأضف الماء المقطر حتى العلامة.
- قَلِّب حتى تمام الذوبان.

٦,٢,٢ تعليمات وطريقة الحفظ

- يتم حفظ المحاليل المنظمة والمغذيات فى زجاجات نظيفة بعد التحضير.
- يجب وضع ملصق على كل زجاجة يشمل الآتى:
- إسم المادة - القائم بالتحضير - تاريخ التحضير - تاريخ الصلاحية
- يراعى حفظ كل المغذيات والمحاليل المنظمة بالثلاجة ويجب التخلص منها فى حالة ظهور أى عكارة.

٧. تحضير المحاليل الخاصة بالكبريتيدات Sulfides بالطريقة الأيودومترية

٧,١ حمض الهيدروكلوريك 6 N HCl

١. خذ ٣٠٠ مل ماء مقطر بواسطة سلندر وضع الماء فى كأس زجاجى حجمه ١ لتر.
٢. خذ من حمض الهيدروكلوريك المركز بحرص شديد حجم ٥٢٢,٨ مل.
٣. أضف الحمض ببطء إلى كأس الماء واترك الخليط يبرد فى درجة حرارة الغرفة.
٤. أضف الخليط السابق إلى قارورة عيارية حجمها لتر.
٥. اكمل بالماء المقطر حتى العلامة.
٦. المحلول السابق صالح للإستخدام لمدة ٣ شهور.

٧,٢ محلول الأيودين القياسى 0.025 N Standard iodine solution

١. قُم بوزن ٢٠ إلى ٢٥ جرام من يوديد البوتاسيوم KI
٢. ضع الملح فى قارورة عيارية حجمها لتر وضع عليه القليل من الماء المقطر.
٣. قُم بوزن ٣,٢ جرام من اليود I_2 وإنقله إلى القارورة المحلول السابق.
٤. اكمل بالماء المقطر إلى العلامة.
٥. قلب على القلاب المغناطيسى حتى تمام الذوبان.
٦. هذا المحلول صالح للإستخدام لمدة شهر، اكتب تاريخ التحضير.
٧. يجب حفظه فى زجاجة بنية اللون.

٧,٣ محلول ثيو كبريتات الصوديوم 0.025 N $Na_2S_2O_3$

١. قُم بوزن ٦,٢٠٥ جرام من ملح $Na_2S_2O_3$ ضع الوزن فى قارورة عيارية حجمها لتر.
٢. قُم بوزن ٠,٤ جرام من هيدروكسيد الصوديوم NaOH، ويتم إضافة الوزن إلى المحلول السابق.
٣. اكمل بالماء المقطر حتى العلامة وقُم بالتقليب حتى تمام الذوبان.
٤. هذا المحلول صالح للإستخدام لمدة شهر، قُم بتدوين تاريخ التحضير.

٧,٤ كاشف النشا Starch indicator

١. قُم بوزن ٢ جرام من مسحوق النشا و ٠,٢ جرام من حمض السالسيك (يستخدم كمادة حافظة).
٢. قُم بنقل الخليط إلى قارورة عيارية حجمها ١٠٠ مل الماء المقطر الساخن حتى العلامة.
٣. هذا المحلول صالح للإستخدام لمدة شهرين.

٧,٥ محلول أسيتات الزنك Zinc acetate solution

١. قُم بوزن ٢٢٠ جرام من أسيتات الزنك $Zn(C_2H_3O_2)_2 \cdot 2H_2O$
٢. ضع الوزن في قارورة عيارية حجمها لتر و عليها ٨٧٠ مل ماء مقطر و قلب حتى الذوبان
٣. اكمل بالماء المقطر حتى العلامة.

٧,٦ محلول هيدروكسيد الصوديوم Sodium Hydroxide 6N - NaOH 6N

يذاب ٢٤٠ جرام من هيدروكسيد الصوديوم في ١ لتر ماء مقطر .

٨. تحضير المحاليل الخاصة بالنترات - نيتروجين NO_3-N - بطريقة القطب الإنتقائي

المحاليل التالية هي المستخدمة في قياس النترات بطريقة القطب الإنتقائي:

٨,١ محلول النترات الأصلي Stock nitrite solution

١. جفف ١ جرام من ملح نترات البوتاسيوم KNO_3 في فرن التجفيف عند ١٠٥ مئوية لمدة ٢٤ ساعة.
٢. قُم بوزن ٠,٧٢١٨ جرام من الملح المجفف مسبقاً وضع الوزن في قارورة عيارية حجمها لتر .
٣. ضع ٢ مل كلوروفورم $CHCl_3$ كمادة حافظة.
٤. هذا المحلول صالح للإستخدام لمدة ٦ أشهر.

٨,٢ محلول نترات القياسى Standard nitrite solution

١. جهز ٣ قوارير عيارية سعة ١٠٠ مل.
٢. خذ من المحلول الأصلي الاحجام التالية : ١, ١٠, ٥٠ مل في كل قارورة.
٣. خفف بالماء المقطر حتى العلامة

٨,٣ محلول منظم للرقم الهيدروجيني Buffer solution

١. قُم بوزن المواد الآتية:
- ١٧, ٣٢ جرام من كبريتات الألمونيوم $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$
- ٣, ٤٣ جرام من كبريتات الفضة Ag_2SO_4

- ٢٨, ١ جرام من حمض البوريك H_3BO_3
- ٥٢, ٢ جرام من حمض السالفاميك H_2NSO_3H Sulfamic acid
- ٢. قُم بإذابة المواد فى ٨٠٠ مل ماء مقطر.
- ٣. قُم بضبط الرقم الهيدروجينى حتى يصل إلى ٣ بواسطة إضافة هيدروكسيد الصوديوم ٠,١ عيارى ببطء.
- ٤. خفف الحجم إلى لتر بالماء المقطر.
- ٥. يخزن المحلول فى زجاجة بنية اللون.
- ٨,٤ محلول ملء الإلكترود **Reference electrode filling solution**
- ١. قُم بوزن ٠,٥٣ جرام من كبريتات الأمونيوم $(NH_4)_2SO_4$
- ٢. ضع الوزن فى قارورة عيارية حجمها ١٠٠ مل.
- ٣. أكمل الحجم حتى العلامة بالماء المقطر.

الفصل الثالث: تحضير الوسائط البكتيرية

١. أنواع الأوساط الغذائية

يتم تصنيف الأوساط الغذائية على حسب الأغراض التي يتم الزرع لها.

١,١ الأوساط الغذائية العامة

وتسمى أيضًا بالأوساط الغذائية الأساسية حيث يتم عليها تنمية لجميع أنواع البكتيريا وهي عبارة عن خليط من أنواع السكر المختلفة (مصدر للكربون والطاقة) والبروتين (مصدر للنيتروجين)، والأملاح ومن أمثلتها نيوتريانت آجار.

١,٢ الأوساط الغذائية العازلة

وهي أوساط غذائية يتم تنمية نوع واحد أو مجموعة من البكتيريا عليها دون السماح للأنواع الأخرى بالنمو، وذلك ن طريق اختيار نوع واحد من السكر والبروتين والأملاح لا يستطيع اي نوع اخر من البكتيريا أن يخمرها مثل اللورال تريببتوز.

١,٣ الأوساط الغذائية الاختيارية

وهي أوساط غذائية يتم تنمية نوعان أو أكثر من البكتيريا لإجراء بعض التجارب أو المقارنات بينها. يُمثل (شكل ١٨) الأوساط الغذائية البكتيرية.



شكل (١٨)

الأوساط الغذائية البكتيرية.

٢. طرق تحضير وحفظ الأوساط الغذائية

٢,١ الطرق العامة

٢,١,١ تخزين الأوساط الغذائية

- يجب تخزين الأوساط الغذائية الخالية من الماء "البودرة" في العبوات الخاصة بحيث تكون مغلقة جيداً لمنع تسرب الرطوبة إليها مما ينتج عنه تغيرات كيميائية وفيزيائية غير مرغوبة (تغير اللون والشكل).
 - تخزين الأوساط الغذائية الخالية من الماء "البودرة" في درجة حرارة أقل من ٣٠ درجة مئوية ومكان مظلم جاف.
 - لا يمكن استخدام الأوساط الغذائية الخالية من الماء "البودرة" عند تغير لونها أو تصبح كتلة "تحجر" أو عندما تفقد خصائصها.
 - يجب أن تستهلك العبوة في خلال ٦ أشهر من تاريخ فتح العبوة.
 - تحضر الأوساط الغذائية الكافية لأسبوع.
 - إذا حفظت الأوساط المغذية المجهزة في زجاجات مغلقة جيداً بغطاء، فالأوساط قد تصل صلاحيتها إلى ٣ أشهر من تاريخ التحضير.
 - احفظ الأوساط المغذية المحضرة بعيداً عن ضوء الشمس المباشر والتلوث الشديد.
 - الأوساط الغذائية السائلة تخزن في الثلاجة أو في درجات حرارة منخفضة.
 - يجب حفظ أنابيب الأوساط الغذائية على الأقل ليلة في الثلاجة قبل استخدامها لتجنب تكوين فقاعات هواء داخل الأنابيب.
 - عند بدء استعمال الأنابيب يجب استبعاد الأنابيب الموجود بداخلها فقاعات هواء.
 - عند حدوث تبخير للوسط الغذائي السائل الموجود داخل الأنابيب أكثر من ١ مم تستبعد الأنبوبة.
- #### ٢,١,٢ ضبط قيمة pH للوسط الغذائي

- عن طريق قياس قيمة pH للوسط الغذائي بالمؤشر الكيميائي.
- عادة ما يحدث تغير طفيف في قيمة pH للوسط الغذائي بعد التعقيم حسب نوع جهاز التعقيم المستخدم.
- عند تحضير الأوساط الغذائية يكون التغير في قيمة pH عادة 0.1 ± 0.2 أو 0.1 ± 0.3 ماعدا الأوساط مزدوجة القوة.
- يمكن اختبار قيمة pH للأوساط الغذائية بواسطة جهاز قياس pH.

- عند خروج معدل التغير في قيمة pH عن المكتوب على العبوة الخاصة بالوسط الغذائي لا يمكن استخدام هذا الوسط الغذائي.

٢,١,٣ 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:

أ- محلول رقم: (1)

قم بتذويب ٣٤ جرام من ثنائي فوسفات البوتاسيوم (KH_2PO_4) في ٥٠٠ مليلتر ماء مقطر ثم اضبط الرقم الهيدروجيني إلى ٧,٢ وبعد ذلك أكمل حجم المحلول إلى ١ 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.

ب- محلول رقم: (2)

قم بتذويب ٣٨ جرام من كلوريد الماغنسيوم اللامائي أو ٨١,٤ جرام من كلوريد الماغنسيوم المائي في لتر من الماء المقطر.

٢,١,٤ الماء المستخدم في تحضير الأوساط الغذائية

يجب أن تكون الأوساط البكتيرية تشمل الخصائص الآتية:

- لتحضير الأوساط الغذائية والكواشف يستخدم ماء مقطر الذي يتم اختباره للتأكد من خلوه من آثار المعادن والمواد القاتلة المثبطة للبكتيريا.
- السمية في الماء المقطر ربما يحدث نتيجة لاحتواء الماء على فلوريد مع وجود نسبة مرتفعة من السيليكا.
- المصادر الأخرى للسمية هي الفضة والرصاص والمركبات العضوية غير المحددة.
- الكلور الحر والكلورامينات يمكن ان تتواجد في الماء المقطر.
- في حالة وجود مركبات الكلور في الماء المقطر يمكن معادلته بواسطة صوديوم ثيوسلفات.
- الماء المقطر يجب ان يكون خالي من التلوث بالمواد المغذية للبكتيريا التي يمكن ان تحدث أثناء التقطير ويمكن التغلب عليها باستخدام وسادة من الفلتر الكربوني أو إعادة شحن عمود إزالة الأيونات.

تجهيز وتحضير المحاليل الكيميائية والوسائط البكتيرية

● يمكن أن يحدث تلوث عن طريق استخدام زجاجات أو ماصات غير نظيفة أو بواسطة الأبخرة الكيميائية أو الغبار.

● تخزين المياه المقطرة بعيدا عن ضوء الشمس المباشر لكي يتجنب نمو الطحالب.

● يجب غلق زجاجات المياه المقطرة جيدا وسريعا.

٢,٢ وقت حفظ الأوساط الغذائية المحضرة وعينات البكتريولوجي عند درجة حرارة ٤° م

يوضح (جدول ٢) وقت حفظ الاوساط الغذائية المختلفة.

الوسط	مدة التخزين
ترشيح عشائي سائل في دروق بغطاء قلاووظ.	٩٦ ساعة (٤ ايام)
ترشيح عشائي صلب في اطباق جيدة الغلق.	أسبوعان
سائل أو صلب في أنابيب غير محكمة الغلق.	أسبوعان
صلب أو سائل في أنابيب أو حاويات جيدة الغلق.	٣ شهور
صلب في اطباق غير محكمة الغلق مغلفة بأكياس بلاستيك.	أسبوعان
عينات البكتريولوجي.	٢٤ ساعة

جدول (٢)

وقت حفظ الاوساط الغذائية.

٣. الاختبارات البكتريولوجية لمياه الصرف الصحي

٣,١ باستخدام طريقة الأنابيب المتعددة

٣,١,١ المرحلة الافتراضية Presumptive Phase

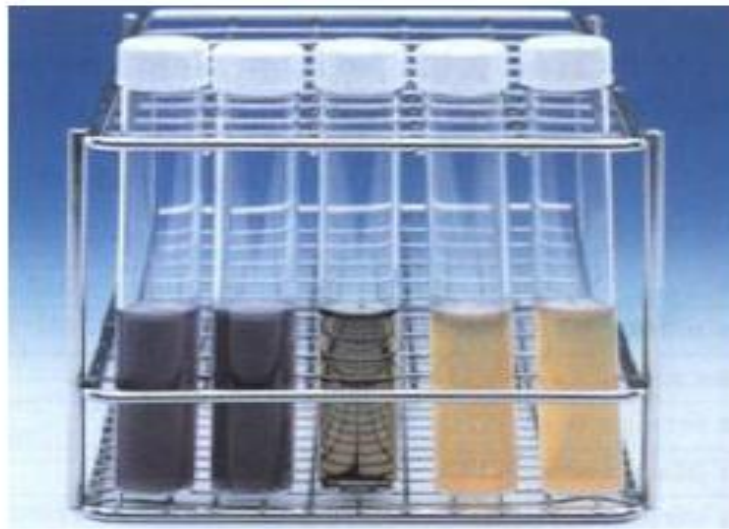
استعمل بيئة لورايل تريبتوز في المرحلة الافتراضية لاختبار الأنابيب المتعددة. يذاب ٣,٥٦ جرام في ٥٠٠ مل ماء مقطر ثم يكمل الى لتر. يقسم الوسط الغذائي في انابيب بها انابيب تخمر مقلوبه ١٠ مل في كل انبويه ويتم التعقيم عند درجة حراره ١٢١ درجة وضغط جوى ١,٥ بار. اذا كانت البيئة مبردة بعد التحضير والتعقيم، تترك على درجة حرارة الغرفة (٢٠ مئوية) خلال الليل وقبل الاستعمال. تخلص من الأنابيب التي يظهر بها نمو أو فقاعات أو كليهما.

رتب الأنابيب في صفوف من ٥ أو ١٠ أنابيب في حامل أنابيب. عدد الصفوف وحجم العينة يعتمد على نوعية وخصائص المياه المختبرة. حضن الأنابيب عند ٣٥ درجة مئوية. وبعد ٢٤ ساعة اختبر الأنابيب أو الزجاجات لوجود نمو، غاز، تفاعل حامضي (لون أصفر). إذا لم يكن هناك غاز أو حامض، بعد ٤٨ ساعة سجل النتيجة كما يمثل (شكل ١٩).

٣,١,٢ المرحلة التأكيدية Confirmed phase

استعمل بيئة بيرلينت جرين في المرحلة التأكيدية يذاب ٤٠ جرام في ٥٠٠ مل ماء مقطر ثم يكمل الى لتر. يقسم الوسط الغذائي في انابيب بها انابيب تخمر مقلوبه ١٠ مل في كل انبوبة ويتم التعقيم عند درجة حراره ١٢١ درجة وضغط جوى ١,٥ بار . اذا كانت البيئة مبردة بعد التحضير والتعقيم، تترك على درجة حرارة الغرفة (٢٠ مئوية) خلال الليل وقبل الاستعمال. تخلص من الأنابيب التي يظهر بها نمو أو فقاعات. كل الأنابيب الإيجابية أو الزجاجات التي أعطت نتيجة إيجابية في المرحلة الافتراضية Presumptive Phase (أي كمية من الغاز، عكارة، حامض) خلال ٢٤ ساعة (أو قبل ذلك وينصح بالفحص بعد ١٨ ساعة للإيجابية) من التحضين يتم إجراء الاختبار التأكيدي.

هز برفق الأنابيب الإيجابية من المرحلة الافتراضية (حامض وغاز) لتعليق النمو من الكائنات في الأنابيب. باستعمال لوب معقم قطر فتحتها ٣ - ٣,٥ مم انقل لوب واحدة أو أكثر من المزرعة من كل انبوبة ايجابية الى انبوبة بيرلينت جرين. حضن انابيب البيرلينت جرين عند ٣٥ درجة مئوية ، تكون غاز في انبوبة درهام بعد فترة تحضين (من ٦ ساعة الى ٢٤ ساعة) كما يمثل(شكل ١٩).



شكل (١٩)

المرحلة الافتراضية والتأكيدية.

٣,١,٣ حساب وتسجيل العدد الأكثر احتمالا

لحساب كثافة بكتريا القولون يعبر عنها في صورة عدد أكثر احتمالا (MPN) قيم العدد الأكثر احتمالا، لسلسلة من نتائج الزرع، تتضح في الجدول (٣). وتلك الجداول تشتمل على ٩٥% حدود ثقة لكل قيمة مقدرة من قيمة العدد الأكثر احتمالا المقدرة. إذا كان حجم العينة المستعملة من تلك الموجودة في الجداول، سجل النتيجة منسوبة إلى عدد النتائج الإيجابية والسلبية في السلاسل كعدد أكثر احتمالا / ١٠٠ مل أو سجل النتيجة كوجود أو غياب بكتريا القولون الكلية أو البرازية (P/A).

Number of tubes giving positive reaction out of			MPN Index per 100 mL	Number of tubes giving positive reaction out of			MPN Index per 100 mL
5 undiluted samples (dilution factor-1)	5 dilutions of 10 (dilution factor-10)	5 dilutions of 100 (dilution factor-100)		5 undiluted samples (dilution factor-1)	5 dilutions of 10 (dilution factor-10)	5 dilutions of 100 (dilution factor-100)	
0	0	0	< 2	4	2	1	26
0	0	1	2	4	3	0	27
0	1	0	2	4	3	1	33
0	2	0	4	4	4	0	34
1	0	0	2	5	0	0	23
1	0	1	4	5	0	1	30
1	1	0	4	5	0	2	40
1	1	1	6	5	1	0	30
1	2	0	6	5	1	1	50
2	0	0	4	5	1	2	60
2	0	1	7	5	2	0	50
2	1	0	7	5	2	1	70
2	1	1	9	5	2	2	90
2	2	0	9	5	3	0	80
2	3	0	12	5	3	1	110
3	0	0	8	5	3	2	140
3	0	1	11	5	3	3	170
3	1	0	11	5	4	0	130
3	1	1	14	5	4	1	170
3	2	0	14	5	4	2	220
3	2	1	17	5	4	3	280
4	0	0	13	5	4	4	350
4	0	1	17	5	5	0	240
4	1	0	17	5	5	1	300
4	1	1	21	5	5	2	500
4	1	1	26	5	5	3	900
4	2	0	22	5	5	4	1600
				5	5	5	≥ 1600

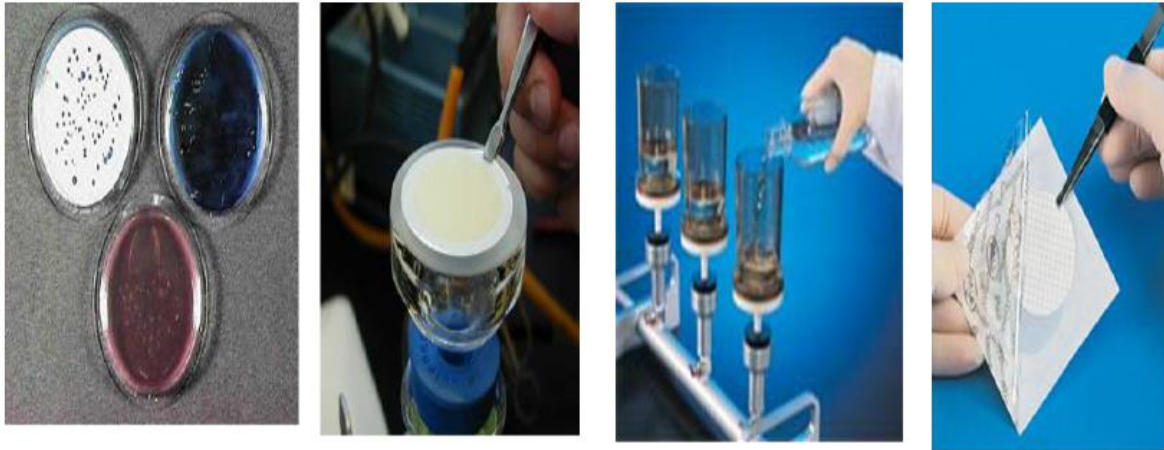
جدول (٣)

حساب العدد الإجمالي للبكتيريا القولونية والبرازية.

٣,٢ باستخدام طريقة الترشيح الغشائي (Membrane Filter (MF)

تتلخص الطريقة ببساطة في القيام بترشيح حجم معلوم من العينة على غشاء ترشيح قطره ٤٧ ملليمتر وثقوبه ٤٥ ميكرون وسطحه مقسم إلى مربعات. بعد 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 الغذائي المخصص لكل نوع من البكتيريا لكي تنمو وتنتج مستعمرات مميزة لنوع البكتيريا.

وللكشف عن البكتيريا القولونية (Total Coliform) يستعمل محلول الوسط الغذائي ام اندو اجار ويوضع في حضانة على درجة حرارة ٣٥°م لمدة ٢٤ ساعة. فإذا ظهرت مستعمرات من الكائنات الحية ذات لون أخضر ذهبي معدني لامع (Golden Green Sheen) فيدل ذلك على وجود البكتيريا القولونية كما يمثل (شكل ٢٠).



شكل (٢٠)

طريقة استخدام الترشيح الغشائي.

٣,٢,١ الأدوات والكيمائيات المستخدمة

- ماصة من ١ مل إلى ١٠ 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 ٤٧ ملليمتر.

- موقد بالكحول أو الغاز.
- ميكروسكوب للتكبير ١٠-٢٠ مرة.
- غشاء الترشيح (Membrane Filter) بقطر ٤٧ ملليمتر وثقوبه ٤٥ ميكرون.
- أطباق بتري (Petri Dishes) مزودة بوسادات إسفنجية بقطر ٤٧ ملليمتر.
- محلول الوسط الغذائي (ام اندو آجار) حقن ٢ ملليلتر.
- محلول الاستنباط (ام اف سى) حقن ٢ ملليلتر.
- حامض رو زالك (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 ٢ ملليلتر وربما يكون شراءها أرخص في التكاليف عن تحضيرها في المعمل وتعقيمها.

٣,٢,٢ طريقة تحضير الوسط الغذائي ام اندو آجار M- Endo Agar

- زن ٤,٨ جرام من المسحوق أو حسب المدون على العبوة.
- في مخبر مدرج سعة ١٠٠ ملليلتر، أضف ٢ ملليلتر كحول الإيثيل المركز ٩٥% وأكمل بالماء المقطر إلى ١٠٠ ملليلتر.
- ضع حوالي ٢٠ ملليلتر من محلول الكحول المخفف في الكأس المخروطي ذو السدادة البلاستيكية وأضف إليها ما تم وزنه من مسحوق ام اندو وابدأ في التحريك والرج.
- أضف الكمية الباقية بالمخبر 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 ٣-٥ دقائق بدون السماح للمحلول بالغليان.
- ابدأ في التبريد لدرجة حرارة ٤٥°م وقس درجة الأس الهيدروجيني لتكون ٧,٣-٧,١
- أضف ٢ ملليلتر من محلول الوسط الغذائي على المخدات الجاهزة داخل أطباق بتري.

٣,٢,٣ طريقة تحضير الوسط الغذائي ام اف سى MFC

- تستخدم للكشف عن البكتريا البرازيه ف مياه الصرف الصحى.
- زن ٣,٧ جرام من مسحوق ام اف سى اللامائى حسب المدون على العبوه.
- ضع ١٠٠ مليلتر من الماء المقطر في الدورق المخروطي ذو السدادة البلاستيكية وأضف إليها المسحوق.
- في دورق آخر، أضف ١٠٠ مليلتر من محلول هيدروكسيد الصوديوم (٠,٠٢٠ عياري) إلى ١ جرام حامض روزالك لتكوين محلول حامض روزالك ١%.
- أضف ١ مليلتر من محلول حامض روزالك ١% إلى محلول M-FC.
- ابدأ بالتسخين لدرجة الغليان مع ترك غطاء الدورق مكشوف.
- ابدأ في تبريد المحلول لدرجة حرارة ٤٥°م واضبط درجة الأس الهيدروجيني ليكون ٧,٤.
- أضف ٢ مليلتر من محلول الاستنباط على كل المخدات الجاهزة داخل أطباق بتري.
- يمكن الاحتفاظ بالكمية الباقية من محلول الاستنباط في ثلاجة مبردة (٢-١٠°م) لمدة ٩٦ ساعة فقط.

٤. طرق التعقيم

كلمة "تعقيم" تعني قتل جميع الجراثيم. في عمليات الفحص البكتيريولوجي، يلزم تعقيم جميع الأدوات والمحاليل قبل القيام بأي تحليل للعينات. من الأجهزة الأكثر استعمالاً في المعامل هي الأوتوكلاف، حيث يتم التعقيم بواسطة الحرارة والبخار المضغوط بالإضافة إلى ذلك، تُستخدم أجهزة تعقيم بالأشعة فوق البنفسجية أو بواسطة الإشعاع.

١, ٤ التعقيم باستخدام الأوتوكلاف

يستخدم الأوتوكلاف (شكل ٢١) في التعقيم بواسطة الحرارة الرطبة تحت الضغط وقبل استخدام جهاز الأوتوكلاف يمكن قتل جميع الكائنات الحية في درجة حرارة ١٢١ م تحت ضغط ١٥ رطل علي البوصة المربعة في مدة ١٥ دقيقة ومن المهم ضرورة الالتزام بتعليمات طرق التعقيم حتي لا تعرض بعض محاليل الأوساط الغذائية إلي التحلل وبالأخص البكتيريا مثل اللكتوز في درجات الحرارة العالية أو طول مدة التسخين كما يمثل (جدول ٤).



شكل (٢١)

الأوتوكلاف.

المادة	الفترة عند ١٢١ م
الوسط المحتوي علي كربوهيدرات (لوريل تربتوز - بريلينت جرين)	١٥ - ١٢ دقيقة
زجاجات العينات (فارغة)	١٥ دقيقة
حرق الأوساط المستخدمة والمخلفات	٣٠ دقيقة
مياة التخفيف ٩٩ مل في زجاجة بغطاء قلاووظ	١٥ دقيقة

جدول (٤)

وقت ودرجة الحرارة للتعقيم بالأوتوكلاف.

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 ١٥ رطل على البوصة المربعة وعند هذا الضغط تصبح درجة حرارة البخار ١٢١°م.
- يحافظ على الضغط والحرارة لمدة من الزمن المحدد وبعد ذلك يبدأ في تصريف البخار ببطء حتى تصل إلى الضغط الجوي. من 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 ألومنيوم وأن لا تكون الأغشية على الزجاجات التي تحتوي محاليل محكمة الغلق بل يجب تركها مغطاة بغير إحكام ولا يستعمل إطلاقاً أي سدادات من المطاط.

٢, ٤ التعقيم بواسطة الكحول

يمكن التعقيم بواسطة كحول الأيثيل بتركيز ٧٠%

المراجع

أولاً: المراجع العربية:-

- ١ . كتاب أسس الكيمياء التحليلية تأليف أ.د محمد مجدى عبد الله واصل .
- ٢ . برامج المسار الوظيفى كيميائى صرف نسخة ٢٠٢٣ - ٢٠٢٤ التحاليل الكيميائية / الدرجة الثالثة.
- ٣ . التحاليل الفيزيائية و الكيميائية - كيميائى صرف صحنى درجة ثالثة الإصدار الثانى ٢٠٢٠ .
- ٤ . برامج المسار الوظيفى كيميائى صرف نسخة ٢٠٢٣ - ٢٠٢٤ التحاليل الميكروبيولوجية / الدرجة الثالثة.

ثانياً: المراجع الأجنبية:-

5. Wastewater treatment plants SOP's for sampling and analysis quality control:
EuropeAid/ENPI/2014/348210 EU Funded Technical Assistance for Establishing
Leadership Development Programs (LDPs) for the HCWW & Developing its Financial
Strategy (laboratory Methods), 2016.
6. Rice, E. W., Bridgewater, L., & American Public Health Association (Eds.). (2023).
Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, DC:
American public health association

قام بإعداد الإصدار الأول كلاً من السادة الآتى أسمائهم بالترتيب الأبجدي:

ك/ احمد السعيد محمد حليلة	شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالدقهلية
ك/ رانيا محمد شكري	شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالقليوبية
د / اميرة فيصل سمحان	شركة مياه الشرب والصرف الصحي ببني سويف
ك / محمد عامر عبد الغني	شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالدقهلية

قام بمراجعة الإصدار الأول كلاً من السادة الآتى أسمائهم بالترتيب الأبجدي:

ك/ احمد السعيد محمد حليلة	شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالدقهلية
ك/ أسامة تركي المهدي	شركة مياه الشرب والصرف الصحي بمدن القناة
ك/ المعتز عبد الجليل علي	شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالفيوم
د/ اميرة فيصل سمحان	شركة مياه الشرب والصرف الصحي ببني سويف
د/ حازم حسن رجب	شركة القاهرة للصرف الصحي
ك/ رانيا محمد شكري	شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالقليوبية
ك/ شيماء محمد علي	الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحي
ك/ عاطف فوزي حسن الفرجاني	شركة مياه الشرب والصرف الصحي بكفر الشيخ
ك/ محمد عامر عبد الغني	شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالدقهلية
ك/ محمد علي إبراهيم الاخناوى	الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحي
د/ مروة محمود محمد	شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالفيوم
د/ هاني التهامي حمدان	الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحي
ك/ ياسمين عزت عبد الجواد المسيري	شركة مياه الشرب والصرف الصحي بالغربية

قام بالتنسيق الفني والإخراج لهذا الإصدار:

د/ محمد الصوفي زين العابدين عز الدين	المعمل المرجعي للصف الصحي - الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحي
ك/ صوفيا محمد محمود عفيفي	الإدارة العامة للمسار الوظيفي - الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحي