

## برداشت نمونه به منظور آنالیز باکتریولوژیکی

- بسیاری از دستورالعمل‌های ارائه شده برای برداشت نمونه برای آنالیز باکتریولوژی نیز صادق می‌باشد. سایر موارد ذکر شده در این بخش را می‌توان به ترتیب زیر ارائه داد:
- نمونه‌ها برای آنالیز باکتریولوژی را باید پیش از برداشت سایر نمونه‌ها جمع‌آوری و در ظروف نمونه‌برداری استریل‌شده انجام داد.
  - از بروز هر نوع آلودگی در ظروف نمونه‌برداری از طریق تماس دست یا سایر مواد غیراستریل‌شده باید خودداری کرد.
  - بطری‌هایی را که قرار است به منظور جمع‌آوری و یا انتقال نمونه‌های باکتریولوژی مورد استفاده قرار گیرند باید فقط برای این هدف مورد استفاده قرار گیرند.
- توضیح:** موضوع صاف‌سازی نمونه‌ها باید براساس روش استاندارد آزمایش‌ها انجام شود. نیاز یا عدم نیاز به صاف‌سازی<sup>۱</sup> و روش انجام صاف‌سازی در روش استاندارد آزمایش ارائه شده است.



باید بلافاصله آزمایش شود	۴۸ ساعت	سرد کردن تا ۴ درجه سلسیوس	پلاستیک، شیشه	۱۰۰۰	دما	گروه ۲- آزمایش‌های فیزیکی
			پلاستیک، شیشه	۱۰۰	کدورت SS	
۴۸ ساعت	سرد کردن تا ۴ درجه سلسیوس	پلاستیک، شیشه	۱۰۰۰	BOD		
۲۸ روز		سرد کردن تا ۴ درجه سلسیوس افزودن اسید سولفوریک (pH کمتر از ۲)	پلاستیک، شیشه	۵۰	COD	
۲۸ روز	سرد کردن تا ۴ درجه سلسیوس افزودن اسید سولفوریک (pH کمتر از ۲)	بطری و دربوش شیشه‌ای	۳۰۰	DO		
		پلاستیک، شیشه	۴۰۰	NO <sub>۳</sub> , NO <sub>۲</sub>		
		پلاستیک، شیشه	۴۰۰	آمونیاک		
۲۴ ساعت	سرد کردن تا ۴ درجه سلسیوس	پلاستیک، شیشه استریل	کلی‌فرم مدفوعی			
۲۴ ساعت	سرد کردن تا ۴ درجه سلسیوس	پلاستیک، شیشه	نماتد			

گروه ۳- آزمایش‌های شیمیایی - زیستی

ادامه جدول ۱-۱- حجم نمونه، نوع، تجهیزات مورد نیاز و نحوه حفاظت و زمان نگهداری نمونه‌ها (۱۲).

پارامتر اندازه‌گیری	حجم مورد نیاز (میلی‌متر)	جنس محفظه نمونه‌برداری	روش حفاظت	حداکثر زمان نگهداری	
گروه ۴- فلزات سنگین	محلول ۱۰۰	پلاستیک	فیلتر در محل - افزودن اسید نیتریک (pH کمتر از ۲)	۶ ماه	
	معلق ۳۰۰	شیشه - پلاستیک	فیلتر در محل		
	کل ۱۰۰	شیشه - پلاستیک	افزودن اسید نیتریک (pH کمتر از ۲)	۲۴ ساعت	
	۲۰۰	شیشه - پلاستیک	سرد کردن تا ۴ درجه سلسیوس		
	محلول ۱۰۰	شیشه - پلاستیک	فیلتر - افزودن اسید نیتریک (pH کمتر از ۲)	۲۸ روز	
	کل ۱۰۰	شیشه - پلاستیک	افزودن اسید نیتریک (pH کمتر از ۲)		
	آزبست	۱۰۰۰	پلاستیک (چگالی پایین) - شیشه	تا دمایی که مانع از رشد جلبیک و باکتری بشود.	۴۸ ساعت

۴۸ ساعت	تا دمایی که مانع از رشد جلبیک و باکتری بشود.	پلاستیک (چگالی پایین) - شیشه	۱۰۰۰	آزبست
۲۸ روز	-	شیشه - پلاستیک	۱۰۰	As
۲۸ روز	-	شیشه - پلاستیک	۱۰۰	Ba
۲۸ روز	-	شیشه - پلاستیک	۱۰۰	B
۲۸ روز	-	شیشه - پلاستیک	۱۰۰	Be
۱۴ روز	سرد کردن تا ۴ درجه سلسیوس، افزودن سود (pH بالاتر از ۱۲)، افزودن ۰/۶ گرم اسید اسکوریک	شیشه - پلاستیک	۵۰۰	CN
۲۸ روز	-	شیشه - پلاستیک	۳۰۰	F
۲۸ روز	-	شیشه - پلاستیک	۱۰۰۰	چربی و روغن دترجنت
یک سال	افزودن اسید کلریدریک یا نیتریک (pH کمتر از ۲)	شیشه - پلاستیک	۵۰۰	رادیواکتیو (اشعه آلفا و بتا)

۱- برای اندازه‌گیری فلزات ظروف پلی اتیلن با درپوش پلی پروپیلن ارجح است.

۲- حفاظت نمونه باید بلافاصله پس از برداشت صورت گیرد. برای نمونه‌های مختلط، هر بخش باید جداگانه نگهداری و حفاظت شود. در صورت استفاده از نمونه‌گیر خودکار که امکان حفاظت جداگانه هر بخش را نمی‌دهد، نمونه‌ها تا زمان تقسیم نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری می‌شوند.

۳- نمونه‌ها باید حتی‌المقدور و در کم‌ترین زمان پس از برداشت تحلیل شوند. زمان‌های آرایه شده حداکثر زمانی است که جهت حفظ صحت آزمون باید رعایت شوند. تجاوز از این زمان‌های حداکثر فقط در صورتی مجاز است که داده‌های



۹

محکمی برای اثبات این که نمونه‌ها برای مدت طولانی‌تری پایدار هستند، وجود داشته باشد و از طرف مراجع ذی صلاح تایید گردد. برخی از نمونه‌ها ممکن است تا زمان‌های داده شده نیز پایدار نباشند و بنابراین مراجع ذی‌صلاح می‌توانند زمان کوتاه‌تری را به عنوان حداکثر مجاز تعیین نمایند.

۴- در مورد اکسیژن محلول در روش پروب<sup>۱</sup> نمونه بلافاصله آزمایش می‌شود ولی در روش وینکلر<sup>۲</sup> نمونه باید در محل تثبیت شود و حداکثر زمان نگهداری آن ۸ ساعت است.

۵- در صورت اندازه‌گیری مجموع نیترات و نیتریت حجم نمونه مورد نیاز ۱۰۰ میلی‌لیتر است و نمونه‌ها باید تا ۴ درجه سلسیوس سرد شود و با افزودن اسید سولفوریک و حفظ pH در حد ۲ تا زمان آزمایش نگهداری گردد. حداکثر زمان مجاز برای نگهداری نمونه ۲۸ روز می‌باشد. در صورتی که نیترات و نیتریت به صورت جداگانه اندازه‌گیری می‌شوند، نمونه باید تا ۴ درجه سلسیوس سرد شود و حداکثر تا ۴۸ ساعت مورد آزمایش قرار گیرد. حجم نمونه مورد نیاز در آزمون نیترات و نیتریت به ترتیب ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌لیتر می‌باشد.

۶- افزودن اسید اسکوربیک فقط در صورت وجود کلر باقیمانده مورد نیاز است.

۷- حداکثر زمان مجاز نگهداری نمونه در صورت حضور سولفید ۲۴ ساعت می‌باشد. به عنوان یک گزینه می‌توان با کاغذ استات سرب را مورد آزمایش قرار داد در تمام نمونه‌ها قبل از تنظیم pH آن باید از وجود یا عدم وجود سولفید در نمونه اطمینان یافت. سولفید باید توسط افزودن نیترات کادمیم حذف شود. سپس نمونه صاف شده با افزودن سود pH آن به ۱۲ می‌رسد.

## ثبت مشاهدات میدانی

عملیات نمونه‌برداری خوب همیشه شامل ثبت با جزئیات یادداشت‌های میدانی است. اطلاعات خاص از قبیل زمان دقیق یا شرایط آب و هوایی در تفسیر داده‌ها اهمیت دارند. یک دفتر یادداشت میدانی برای هر پروژه الزامی است. تمام اطلاعات ثبت شده در دفتر یادداشت میدانی باید به محض رسیدن به آزمایشگاه، به پایگاه داده‌ها<sup>۴</sup> منتقل شوند. ثبت اطلاعات و مشاهدات میدانی بخشی از ثبت زنجیره اطلاعات<sup>۴</sup> می‌باشد.

علاوه بر یادداشت شرایط استاندارد، اتفاقات غیر معمول نیز باید ثبت شوند. هرگونه انحراف از دستور کار استاندارد باید در پایگاه داده‌ها ثبت شود. اگر شرایط غیر معمول از قبیل رنگ یا بوی آب، رشد بیش از حد جلبک‌ها، نشانه‌هایی از ورود مواد خارجی در سامانه مانند روغن در سطح آب یا ماهی مرده مشاهده شد، گروه باید نمونه‌های اضافی بردارد. اگر نمونه‌های اضافی از محلی غیر از نقاط تعریف شده نمونه‌برداری جمع‌آوری می‌شوند، آن نقاط باید به‌طور کامل توصیف شوند. این اطلاعات در تفسیر نتایج مفید خواهند بود. دفترهای یادداشت میدانی برای اقدامات اجرایی بسیار با ارزش هستند و باید سعی شود که به طرز مناسبی نگهداری شوند.



متصدیان فعالیت نمونه‌برداری باید دارای یک دفترچه یادداشت باشند که در آن کلیه جزئیات مربوط را در زمان نمونه‌برداری یادداشت کنند. بعد از پر شدن این دفترچه‌ها از دور انداختن آن‌ها باید پرهیز کرد. از آن‌جا که این دفترچه‌ها حاوی داده‌ها و اطلاعات خام اولیه می‌باشند، لذا می‌توانند به منظور فعالیت‌های کنترلی آتی مؤثر باشند. در این زمینه اطلاعاتی را که باید به دقت ثبت کرد شامل:

- اطلاعات مربوط به بطری نمونه‌برداری

- نوع نمونه‌های جمع‌آوری شده

- نوع محاسبات صورت گرفته، طرز انجام این محاسبات و نتایج به دست آمده (شامل استانداردها، واحدهای مورد استفاده و غیره)

- از این گذشته تمامی اطلاعات تکمیلی (هر نوع شرایط غیرعادی در مکان و زمان نمونه‌برداری) باید به دقت مورد توجه قرار گیرد. چنان‌چه قرار است در مکان‌های نمونه‌برداری انتخاب شده جابه‌جایی صورت گیرد این امر را باید با دلیل به‌طور دقیق شرح داد. از سوی دیگر قبل از اقدام به این کار باید با هماهنگی کننده برنامه مشورت کرده و دلایل آن را به خوبی توجیه کرد. به منظور تسهیل استفاده از اطلاعات باید محتویات داخل دفترچه منعکس‌کننده ترتیب انجام فعالیت‌های صورت گرفته نیز باشند (۱۹).

## نگهداری و محافظت نمونه ها

در ارتباط با بهترین شیوه نگهداری نمونه‌ها برای انجام برخی از آنالیزهای خاص و حداکثر طول زمانی پیش از انقضای تاریخ انجام آنالیزها بر روی نمونه‌ها اتفاق نظر کلی بین محققین به وجود نیامده است. با این وجود به‌طور کلی توصیه می‌شود که بطری‌های نمونه‌برداری را در مکان سرد، تمیز و تاریک نگهداری کرده و از بروز هرگونه آلودگی در نمونه‌ها خودداری کرد. سایر روش‌های نگهداری نمونه‌ها یخ زدن، استخراج حلال و افزودن ترکیبات شیمیایی نگهدارنده می‌باشد.

هم‌چنین توجه به عدم بروز آلودگی یا تغییر در نمونه‌های گرفته شده قبل از انجام آنالیز از دیگر موارد شایان توجه می‌باشد. به‌طور معمول به محض برداشت نمونه در چنین مواردی به منظور تاخیر در بروز تغییرات فیزیکی - شیمیایی و زیستی در نمونه گرفته شده باید آنرا در محل مناسب ذخیره کرد. روش صحیح بر حسب نوع نمونه مورد آنالیز متفاوت است.

موارد اساسی در این ارتباط انتخاب صحیح فراوانی نمونه‌برداری و رفع آلودگی آنها، انتخاب تکنیک صحیح نگهداری و رعایت زمان استاندارد بین نمونه‌برداری و آنالیز می‌باشد. ضمن این‌که تمامی این موارد براساس نوع نمونه مورد بررسی متفاوت هستند.

محیط نگهداری نمونه می‌تواند بر روی ویژگی‌های نمونه گرفته شده تأثیر داشته باشد. به عنوان مثال واکنش نمونه مواد یا دیواره ظروف بر نمونه می‌تواند تأثیری نامطلوب بر روی نمونه بر جای گذارد. همچنین جذب سطحی و فلزات سنگین در نمونه‌های آب توسط دیواره ظروف نمونه‌برداری از دیگر موارد قابل ذکر در این ارتباط می‌باشند.

از سوی دیگر مصرف مواد مغذی توسط باکتری‌های موجود بر روی دیواره ظروف از دیگر موارد احتمال می‌باشد. همچنین درپوش بطری (که به‌طور معمول از مقوا، چوب پنبه و یا احتمالاً لاستیک است) نیز می‌تواند باعث بروز آلودگی در نمونه شود. لذا پیش از انجام نمونه‌برداری باید آنها را به خوبی تمیز کرد. چنین ظروف نمونه‌برداری نیز باید به‌گونه‌ای انتخاب شود تا از بروز هرگونه آلودگی احتمالی در هر نمونه جلوگیری شود، به عنوان مثال چنان‌چه هدف، نمونه‌برداری از آفت‌کش‌ها باشد تا حد امکان باید از انتخاب بطری‌ها و درپوش‌های پلاستیکی پرهیز کرد.

به‌طور معمول به منظور جلوگیری از بروز تغییرات شیمیایی و زیستی در نمونه‌ها می‌توان آنها را در دمای پایین نگهداری و انتقال داد، هر چند این امر تغییرات شیمیایی و زیستی را متوقف نمی‌کند، تنها زمانی که دمای نمونه به  $40^{\circ}\text{C}$  - درجه برسد،

تمامی فعالیت‌های زیستی به‌طور کامل متوقف می‌شود. به منظور جلوگیری از فعالیت‌های زیستی از برخی مواد شیمیایی مانند کلروفورم و استات جیوه نیز می‌توان استفاده کرد. ترکیبات اسیدی به منظور جلوگیری از جذب فلزات توسط ظروف نمونه‌برداری (و ته نشینی نمک‌های غیرمحلول) به نمونه‌ها اضافه می‌شود. درحالی‌که به منظور جلوگیری از فراریت ترکیبات آلی مانند هیدروکربن‌های حلقوی می‌توان از حلال‌ها (مانند هگزان) استفاده کرد.

نکته قابل ذکر در این ارتباط این است که تا حد امکان از افزودن ترکیبات شیمیایی (در صورت امکان) به نمونه‌ها باید خودداری کرد. این امر به دلیل احتمال بروز آلودگی در نمونه‌ها و یا ایجاد مشکل در هنگام اندازه‌گیری‌های شیمیایی یا زیستی می‌باشد. به عنوان مثال، وجود جیوه می‌تواند در تشخیص غلظت دقیق فسفات در روش رنگ‌سنجی مشکلاتی را ایجاد کند. در هر حال چنان‌چه نیاز به اضافه کردن چنین ترکیباتی باشد، باید همواره نقش آنها در تشخیص پارامترهای مورد اندازه‌گیری مورد توجه قرار داد.