

برای انجام تست حضور / عدم حضور میکرو جلبک‌ها در نمونه‌های آب مورد استفاده در صنایع نفت، گاز و پتروشیمی، صنایع هوایی، صنایع غذایی، آب و فاضلاب، سایر صنایع با فرمولاسیون‌های اختصاصی جهت بررسی نمونه‌های مختلف از جمله آب آشامیدنی، نمونه‌های فاضلاب و نمونه‌های غذایی.



میکرو جلبک‌ها ساختارهای سلولی ساده و غیر تمایز یافته‌ای دارند. آنها رشد کندی داشته و در طبیعت به صورت چسبیده به سطوح و یا آزاد (پلانکتونیک) وجود دارند. به طور کلی احتمال وجود جلبک‌های پلانکتونیک در نمونه‌های آبی بیشتر است مگر اینکه جلبک‌های اتصال یافته به سطوح در اثر تغییر جریان آب یا هر عامل فیزیکی دیگری جدا شده و وارد نمونه‌های آب شوند. بنابراین، بسته به نوع جلبک مورد مطالعه، بایستی در روش‌های نمونه‌گیری دقت لازم را داشت. با تست مداوم آب و فاضلاب، مثلاً به صورت ماهانه، با استفاده از این تکنیک، سطح تهاجمی بودن میکرو جلبک‌های احتمالی را بررسی کرد.

محیط کشت استفاده شده مواد مغذی اساسی برای رشد جلبک‌ها مثل نیتروژن، فسفر، پتاسیم، گوگرد و غیره را دارا می‌باشد. رشد میکرو جلبک‌ها معمولاً کندتر از باکتری‌های هتروتروفی است و نیاز به وجود نور برای فتوسنتز دارند. اکثر آنها می‌توانند از سطوح پایین نور استفاده کنند.

با توجه به رشد آهسته میکرو جلبک‌ها، تشخیص شروع رشد می‌تواند سخت باشد. لذا بررسی‌ها میکروسکوپی می‌تواند زودتر اولین نشانه‌های رشد را مشخص کند. بسیاری از میکرو جلبک‌ها در ابتدای رشد خود به دلیل تولید کلروفیل به رنگ سبز دیده می‌شوند. با ادامه رشد پیگمنت‌های دیگر مانند زانتوفیل‌ها ممکن است نسبت به کلروفیل غالب شوند و رنگ رشد تغییر پیدا بکند. توجه داشته باشید که این تغییر رنگ می‌تواند شامل چندین رنگ سبز به زرد، نارنجی یا قهوه‌ای باشد. رشد میکرو جلبک‌ها نیز به صورت منطقه‌ای یا در سراسر محیط کشت رخ می‌دهد.

تست کیت MicrobCheck™ Algae به صورت یک فالکون ۵۰ ml حاوی محیط کشت آگار و براث طراحی شده است.

### توصیه تولیدکننده

از تماس با جداره داخلی فالکون و در آن خودداری کنید. در شرایط استریل آزمایش را انجام دهید. پس از باز کردن در فالکون، آن را وارونه، به صورتی که کف آن به سمت زمین باشد، روی سطحی تمیز قرار دهید. قبل از استفاده از کیت، نمونه آب را به خوبی تکان دهید.

### روش انجام تست

#### آماده‌سازی

حداقل ۲۵ ml نمونه را جمع آوری کنید.

مقدار ۱۹ ml نمونه را داخل فالکون ریخته و در آن را ببندید.

روی فالکون تاریخ و نام نمونه را یادداشت کنید.



**توجه کنید** که در صورتی که نیاز باشد جمعیت میکرو جلبک‌ها در خاک یا دوغاب (Slurry) بررسی شود لازم است تغییراتی در روش استفاده و تلقیح تست کیت انجام شود. زیرا به علت مواد غذایی بالای موجود در خاک احتمال رشد میکروارگانیسم‌های هتروتروف وجود دارد. ۱ گرم خاک یا دوغاب را بردارید و آن را در ۹ ml محلول رینگر استریل حل کنید. به خوبی مخلوط کنید تا محلول همگنی تشکیل شود. از وسط این سوسپانسیون مقدار ۱ ml را بردارید و به ۱۴ ml محلول رینگر استریل اضافه کنید. مجموع این ۱۵ ml را به فالكون تست کیت منتقل و گرماگذاری کنید. در این روش لازم است جمعیت زنده محاسبه شده را در عدد ۲ ضرب کنید تا جمعیت احتمالی در نمونه خاک اصلی به دست بیاید.

### گرماگذاری

فالكون تلقیح شده را به صورت افقی و در زیر نور لامپ ۴۰ وات به فاصله ۶۰ cm و در دمای اتاق (۲۵ °C – ۲۱) گرماگذاری کنید. نمونه‌ها را حداقل سه بار در هفته به مدت ۲۵ روز بررسی کنید. نمونه‌ها را از نظر رشد و تغییر رنگ بررسی کنید. تاریخ اولین واکنش مشاهده شده را یادداشت کنید. **توجه کنید** که از گرم شدن بیش از حد تست کیت جلوگیری کنید زیرا دمای بالای ۳۰ °C فعالیت میکرو جلبک‌ها را مهار می‌کند. همچنین تحت هیچ شرایطی نباید در طول دوره تست، فالكون‌ها تکان داده شوند. **توجه کنید** که میکرو جلبک‌ها رشد آرامی دارند به همین دلیل تشخیص شروع رشد مشکل است. بررسی مقدار کمی از محیط در زیر میکروسکوپ می‌تواند به تشخیص بهتر رشد کمک کند. بعضی از جلبک‌ها در ابتدای رشد خود به رنگ سبز دیده می‌شوند. این مسئله ناشی از تولید رنگدانه کلروفیل است که برای انجام فتوسنتز تولید می‌کنند. با ادامه رشد، پیگمنت‌های دیگر مانند زانتوفیل‌ها نسبت به کلروفیل غالب می‌شوند که با تغییر رنگ به زرد، نارنجی تا قهوه‌ای همراه است.

### حضور / عدم حضور



تست مثبت با ساختارهای ابری رنگی در محیط مایع یا بخش‌های رنگی یا غیر رنگی بر روی محیط آگار همراه است. توجه داشته باشید که رشد جلبک‌های مختلف متفاوت است و همه آنها با نتایج ظاهری یکسانی همراه نیستند. در شکل روبرو رشد جلبک کلرلا بر روی محیط آگار و همچنین براث تست کیت مشاهده می‌شود.

### الگوهای رشد جلبک‌ها

رشد سبز در یا روی سطح مایع (GG): اگر این واکنش مشاهده شود، ممکن است رشد لخته‌ای سبز نیز در محیط مایع مشاهده شود. رشد به صورت patchهای سبز نامنظم و پرزگانه بر روی آگار (FG): این واکنش اغلب بر روی سطح مایع مشاهده می‌شود. رشد به صورت Patchهای قرمز، نارنجی یا قهوه‌ای در زیر یا روی سطح مایع (OB): این الگو با رشد بیشتر با تغییر رنگ همراه خواهد بود. رشد به صورت Patchهای زرد پراکنده بر روی آگار (YB): بخش‌های زرد کم‌رنگ تا بژ که بر روی آگار رشد می‌کنند و مشاهده و شناسایی آنها سخت است. رشد به صورت رسوب‌های سبز یا رشد سبز بر روی آگار (GF): رسوب‌های لخته‌ای که در محیط مایع و همچنین دیواره فالكون مشاهده می‌شوند. این ساختارها متراکم هستند و ممکن است با رنگ سبز همراه باشند.



رشد به رنگ سبز - آبی معمولاً در سطح مایع (DG): با رنگ سبز تیره، سبز - آبی یا مشکی در سطح محیط مایع مشاهده می‌شوند. معمولاً واکنش DG بعد از GG، FG یا GF همراه است. به دلیل اینکه نمونه می‌تواند آلودگی به جلبک‌های مختلفی داشته باشد، زنجیره‌ای از این واکنش‌ها به دنبال هم رخ می‌دهند که هر کدام نشان‌دهنده جمعیت غالبی از جلبک‌ها است.

حضور سیانوباکترها با احتمال جمعیت غالب <i>Nostoc</i>	GG - DG
جلبک سبز همراه با حضور سیانوباکتر	FG - DG
جلبک سبز	FG - OB
جمعیت غالب دیاتوم‌ها و دسمیدها	YB - OB
جلبک‌های سبز بدون تولید پیگمنت	GG - GF
جمعیت غالب جلبک سبز و سیانوباکتر	GG - GF - DG

### تخمین جمعیت تقریبی و قدرت تهاجمی جلبک‌ها

اگر نتیجه آزمایش مثبت است، می‌توانید جمعیت جلبک‌ها و میزان تهاجم آنها را با استفاده از جدول تخمین بنویسید. واکنش سریع‌تر زمانی رخ می‌دهد که جمعیت جلبک‌ها بالا باشد.

پتانسیل تهاجمی	تاخیر زمانی (روز)	جمعیت تقریبی باکتری (cfu / ml)
بسیار بسیار تهاجمی	۴	۱۰۰۰۰۰
بسیار تهاجمی	۸	۲۰۰۰۰
بسیار تهاجمی	۱۲	۷۵۰۰
تهاجم بالا	۱۶	۶۰۰
تهاجم بالا	۲۰	۱۰۰
تهاجم متوسط	۲۴	۲۰
نرمال	۲۵	خیلی کم

### کنترل کیفی تست کیت MicrobCheck™ Algae

برای تایید کیفیت و عملکرد کیت MicrobCheck™ Algae می‌توان جلبک‌های مشخص شده را کشت داد و نتایج را بررسی کرد. کیت را در دمای محیط و زیر نور مناسب نگهداری کنید و به مدت ۲۵ روز رشد را مورد بررسی قرار دهید.

ارگانیزم (ATCC)	الگو
<i>Chlorella sp.</i>	رشد بر روی آگار و برات با رنگ سبز
<i>Nannochloropsis sp.</i>	رشد بر روی آگار و برات با رنگ سبز
<i>Chlamydomonas sp.</i>	رشد لخته‌ای در محیط مایع و آگار - رنگ سفید تا سبز

### بهترین زمان مصرف

انقضای کیت‌ها ۶ ماه است و لازم است در دمای یخچال (۴ - ۸ °C) نگهداری شوند. توصیه می‌شود از تغییرات مکرر دما جلوگیری و نگهداری در فریز و یخ‌زدگی شدیداً جلوگیری شود.



## امحا و دفع

تست کیت‌ها پس از استفاده و رشد جلبک‌ها کاملاً آلوده هستند. در نتیجه لازم است اتوکلاو شوند یا در کوره سوزانده شوند. در صورتیکه این امکان وجود ندارد، در زیر هود، در فالكون‌ها را باز کنید و آن را با مایع سفیدکننده با غلظت ۵ تا ۱۰٪ پر کنید. اجازه دهید یک شب بماند و بعد از آن دور بریزید.

