



تعیین حضور / عدم حضور باکتری‌های احیاکننده سولفات در آب‌های مختلف (شور، تولیدی و هیدرولیتیک) مورد استفاده در صنایع نفت، گاز و پتروشیمی، هوایی، غذایی، آب و فاضلاب و سایر صنایع.

باکتری‌های احیاکننده سولفات (SRB) (Sulfate Reducing Bacteria) یک گروه از باکتری‌های بی‌هوازی هستند که از هیدروژن به عنوان منبع اصلی برای بسیاری از فعالیت‌های متابولیکی خود به جای اکسیژن استفاده می‌کنند. به همین دلیل باکتری‌های احیاکننده سولفات، بی‌هوازی هستند و در حضور اکسیژن مهار می‌شوند.

این باکتری‌ها دارای توانایی مشترک احیا سولفات به هیدروژن سولفید هستند. سولفید تولیدشده در نتیجه رشد باکتری‌های SRB با فلزات (معمولاً آهن) واکنش می‌دهد و به تشکیل سولفیدهای سیاه منجر می‌شود. در نتیجه مشکلاتی را ایجاد می‌کند که از بوی تخم‌مرغ فاسد شروع می‌شود و به سیاه شدن تجهیزات، آب‌ها و تشکیل بیوفیلم یا اسلایم (Slime) و آغاز فرآیندهای خوردگی میکروبی تاسیسات فلزی منتج می‌شود. یکی از مهمترین عوامل خوردگی فولاد در صنایع نفت و گاز، خوردگی ناشی از گاز سولفید هیدروژن است. بسیاری از تاسیسات نفت و گاز از جنس فولاد کربنی بوده و به خوردگی با گاز سولفید هیدروژن حساس هستند.

شناسایی میکروارگانیسم‌های SRB به علت عدم رشد آنها در آب‌های جاری و تمایل به رشد در عمق و تشکیل بیوفیلم‌ها (اسلایم) دشوار بوده و لازم است در زمان نمونه‌برداری جهت تست، مناطق عمقی را مد نظر قرار داد. در صورتی که اسلایم‌ها تخریب شوند و باکتری در آب رها شوند امکان شناسایی باکتری‌های SRB در آب‌های جاری وجود دارد. کیت MicrobCheck™ SRB، با فرمولاسیونی اصلاح‌شده و منحصربه‌فرد، و براساس استانداردهای مرجع NACE و API، با افزایش دقت و سهولت شناسایی باکتری‌های SRB، زمان مورد نیاز برای شناسایی را نیز تا مقدار قابل توجهی کاهش می‌دهد. در کیت SRB از محیط و شرایطی استفاده می‌شود که شرایط انتخابی را برای باکتری‌های بی‌هوازی که قادر به احیا سولفات هستند، فراهم می‌کند. همچنین منبع آهن مورد نیاز را نیز در اختیار آنها قرار می‌دهد. تست کیت MicrobCheck™ SRB in Vial به صورت یک ویال شیشه‌ای ۳۰ ml طراحی شده است.

روش انجام تست

نمونه‌های نفتی

میکروارگانیسم‌ها در نبود آب قادر به رشد نیستند. در سیستم‌های محتوی آب و نفت، ارگانیسم‌ها در فاز بینابینی و فاز آبی یافت می‌شوند. بنابراین خیلی مهم است که نمونه‌برداری از این قسمت‌ها انجام شود. ویال‌های نمونه‌برداری باید محتوی نمونه‌های تازه جمع‌آوری شده از این فازها و لایه نازکی از روغن معدنی روی سطح نمونه‌ها باشد. نفت یا روغن اضافه سطح نمونه را می‌توانید با قطره چکان از روی نمونه بردارید.

آب و دیگر نمونه‌ها

روش خاصی برای نمونه‌گیری آنها توصیه نشده است.



گرماگذاری

ویال شیشه‌ای را در دمای اتاق ($25^{\circ}\text{C} - 21^{\circ}\text{C}$) و به دور از نور خورشید گرماگذاری کنید. نمونه را به صورت روزانه به مدت ۸ روز مشاهده کنید. تاریخ اولین واکنش مشاهده شده را یادداشت کنید. در صورت منفی بودن واکنش، نمونه را تا روز بیست‌وهشتم نگه داشته و روزانه بررسی کنید.

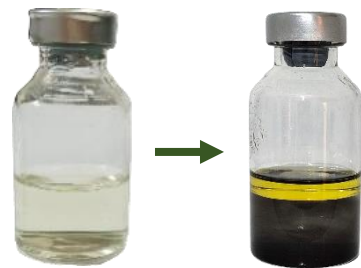
حضور / عدم حضور

در صورتی که هدف از انجام آزمایش، بررسی حضور یا عدم حضور باکتری‌های SRB در نمونه باشد، به روش زیر آزمایش را انجام دهید:
۱- پس از استریل کردن قسمت درپوش فلزی روی ویال شیشه‌ای با الکل، آن را برداشته و قسمت زیری را مجدداً با الکل استریل نمایید.

۲- سرنگ را بدون دست زدن به سر سرنگ از پوشش خارج کرده و به سوزن استریل که در پوشش قرار دارد وصل کرده و محکم کنید. سر سرنگ با هیچ چیز غیر استریلی به غیر از نمونه نباید تماس داشته باشد.

۳- سوزن سرنگ را از پوشش خارج کرده و از نمونه مورد نظر ۱ ml بردارید.

۴- سوزن سرنگ را به درپوش پلاستیکی شیشه شماره ۱ که از قبل با الکل تمیز کرده‌اید فرو برده و نمونه را به آرامی به شیشه منتقل کنید.



۵- برای نتیجه بهتر با سرنگ استریل، چند قطره روغن (حدود ۱ ml) به شیشه اضافه کنید تا سطح نمونه را بپوشاند.

۶- نمونه‌ها را در یک جعبه سر بسته در دمای اتاق یا در انکوباتور $25^{\circ}\text{C} - 21^{\circ}\text{C}$ نگهداری کنید.

۷- حضور باکتری‌های SRB با سیاه شدن محیط مشخص می‌شود.

بررسی تعداد تقریبی باکتری‌های SRB

تفسیر نتایج

در صورتی که علاوه بر حضور باکتری‌های SRB، نیاز به تخمین تعداد تقریبی این باکتری‌ها است، با رقت‌سازی به روش زیر آزمایش را انجام دهید:

۱- با یک مارکر، ویال‌های محتوی محیط کشت را از ۱ تا ۵ شماره‌گذاری کنید.

۲- پس از استریل کردن قسمت درپوش فلزی با الکل، آن را برداشته و قسمت زیری را با مجدداً با الکل استریل نمایید.

۳- سرنگ را بدون دست زدن به سر سرنگ از پوشش خارج کرده و به سوزن استریل که در پوشش قرار دارد وصل کرده و محکم کنید. سر سرنگ با هیچ چیز غیر استریلی به غیر از نمونه نباید تماس داشته باشد.

۴- سوزن سرنگ را از پوشش خارج کرده و از نمونه مورد نظر ۱ ml بردارید.

۵- سوزن سرنگ را به درپوش پلاستیکی ویال شماره ۱ که از قبل با الکل تمیز نموده‌اید فرو برده و نمونه را به آرامی به ویال منتقل و به خوبی مخلوط کنید.

۶- بدون اینکه سرنگ از درپوش خارج شده باشد، ۱ ml از محلول موجود در ویال را بردارید.

۷- سرنگ را از درپوش خارج کرده و نمونه را به ویال شماره ۲ منتقل کنید. به خوبی مخلوط کنید.

۸- توسط سرنگ ۱ ml نمونه را از ویال ۲ به ویال شماره ۳ منتقل کنید. به خوبی مخلوط کنید.

۹- توسط سرنگ ۱ ml نمونه را از ویال ۳ به ویال ۴ منتقل کنید و به خوبی مخلوط کنید.

۱۰- توسط سرنگ ۱ ml نمونه را از ویال ۴ به ویال ۵ منتقل کنید. به خوبی مخلوط کنید و ۱ ml را برداشته و دور بریزید.



۱۱- برای نتیجه بهتر با سرنگ استریل، چند قطره روغن (حدود ۱ ml) به نمونه‌ها اضافه کنید تا سطح را بپوشاند.
 ۱۲- تمام ویال‌ها را در یک جعبه سر بسته در دمای اتاق یا در انکوباتور 30°C - 25°C نگهداری کنید.
 در این روش برای بررسی تعداد تقریبی باکتری‌های SRB، از روش رقت سریالی استفاده شده است. توجه کنید هرچه تعداد باکتری‌های SRB بیشتر باشد، تغییر رنگ محیط با سرعت بیشتری رخ می‌دهد.
 به صورت متناوب پس از گذشت ۲، ۵ و ۱۵ روز، ویال‌های تست را بررسی و نتایج مثبت را ثبت کنید. در صورتی که ویال‌ها تغییر رنگ نشان ندادند، تا حداکثر ۲۸ روز گرماگذاری را ادامه دهید. تعداد ویال‌هایی که تغییر رنگ داده‌اند را بررسی کنید. هرچه تعداد ویال‌های بیشتری تغییر رنگ داده باشد، نشان‌دهنده تعداد بیشتر باکتری‌های SRB در نمونه است. زیرا با رقیق کردن نمونه نیز همچنان تعداد باکتری به حدی بالاست که منجر به تیره شدن محیط در دوره گرماگذاری شده است. در واقع در صورتی که رقت‌های آخر یعنی شماره‌های ۴ و ۵ سیاه شوند، یعنی میزان باکتری‌های SRB به میزان زیادی بالا است زیرا این رقت‌ها کمترین میزان باکتری را نسبت به رقت‌های قبل دارا هستند.

تعداد شیشه‌های با نتیجه مثبت	حدود باکتری‌های زنده در هر ml از نمونه
۱	۱ تا ۱۰
۲	۱۰ تا ۱۰۰
۳	۱۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰
۴	۱۰۰۰۰۰ تا ۱ میلیون
۵	بیشتر از ۱۰ میلیون

کنترل کیفی تست کیت MicrobCheck™ SRB in vial

برای تایید کیفیت و عملکرد کیت MicrobCheck™ SRB in Vial می‌توان سویه‌های مشخص شده را کشت داد و الگوهای واکنشی را بررسی کرد. بعد از اضافه کردن رقت باکتری صبر کنید تا سوسپانسیون وارد محیط شود و از تکان دادن فالكون بپرهیزید. کیت را در دمای محیط نگهداری کنید و به مدت ۱۰ روز واکنش‌ها را مورد بررسی قرار دهید.

الگو	ارگانیزم (ATCC)
سیاه شدن محیط	<i>Enterobacter aerogenes</i> (13048)
سیاه شدن محیط	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27853)
سیاه شدن محیط	<i>Proteus vulgaris</i> (13315)
سیاه شدن محیط	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i> (DSM1924)
سیاه شدن محیط	<i>P. aeruginosa</i> (27853) + <i>D. desulfuricans</i> (DSM1924)

بهترین زمان مصرف

انقضای کیت‌ها ۶ ماه است و لازم است در دمای یخچال (8°C - 4°C) نگهداری شوند. توصیه می‌شود از تغییرات مکرر دما و نگهداری در فریز و یخ زدگی شدیداً جلوگیری شود.

امحا و دفع

ویال‌های شیشه‌ای پس از استفاده و رشد باکتری کاملاً آلوده هستند. در نتیجه لازم است اتوکلاو شوند یا در کوره سوزانده شوند. در صورتی که این امکان وجود ندارد، در زیر هود، در ویال‌ها 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.

