INSO
10847-18
1st.Edition
2017
Identical with
ISO 16000-18:
2011

جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization

استاندارد ملی ایران
۱۰۸۴۷-۱۸
چاپ اول

۱۳۹۵

هوای داخل ساختمان– قسمت ۱۸:
شناسایی و شمارش کپک‌ها-
نمونه‌برداری به روش برخورد

Indoor air—Part 18: Detection and enumeration of moulds—Sampling by impaction

ICS: 13.040.20

سازمان ملی استاندارد ایران

تهران، ضلع جنوب غربی میدان ونک، خیابان ولیعصر، پلاک ۲۵۹۲

صندوق‌پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵ تهران- ایران

تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و ۸۸۸۸۷۱۰۳

کرج ، شهر صنعتی، میدان استاندارد

صندوق پستی: ۱۶۳-۳۱۵۸۵ کرج - ایران

تلفن: ۸- ۳۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶)

دورنگار: ۳۲۸۰۸۱۱۴ (۰۲۶)

رایانامه: standard@isiri.org.ir

وبگاه: http://www.isiri.gov.ir

Iranian National Standardization Organization (INSO)

No.1294 Valiasr Ave., South western corner of Vanak Sq., Tehran, Iran

P. O. Box: 14155-6139, Tehran, Iran

Tel: + 98 (21) 88879461-5

Fax: + 98 (21) 88887080, 88887103

Standard Square, Karaj, Iran

P.O. Box: 31585-163, Karaj, Iran

Tel: + 98 (26) 32806031-8

Fax: + 98 (26) 32808114

Email: standard@isiri.org.ir

Website: http://www.isiri .gov.ir

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد ایران به موجب بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفهٔ تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه‌های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب‌نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانهٔ صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و واردکنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیردولتی حاصل می‌شود. پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون‌های مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادها در کمیتهٔ ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند درکمیته ملی طرح، بررسی و درصورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مقررات استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تدوین و در کمیتهٔ ملی استاندارد مربوط که در سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می‌شود به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد (ISO)[1]، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)[2] و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)[3] است و به عنوان تنها رابط[4] کمیسیون کدکس غذایی (CAC)[5] در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست‌محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری کند. سازمان می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری کند. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینهٔ مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز واسنجی (کالیبراسیون) وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد این‌گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامهٔ تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت می‌کند. ترویج دستگاه بین‌المللی یکاها، واسنجی وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1- International Organization for Standardization
2- International Electrotechnical Commission
3- International Organization for Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legals)
4- Contact point
5- Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

«هوای داخل ساختمان – قسمت ۱۸: شناسایی و شمارش کپک‌ها- نمونه‌برداری به روش برخورد »

رئیس:	**سمت و/یا محل اشتغال:**
محمدی، محمدکاظم (دکتری شیمی)	هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز
دبیر:	
یزدانپاک، آناهیتا (کارشناسی‌ارشد مهندسی کشاورزی)	کارشناس فنی سازمان جهاد کشاورزی استان فارس
اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)	
اعتمادی، اعظم (کارشناسی مهندسی صنایع غذایی)	مدیر کنترل کیفیت شرکت سرو سپید شیراز
امیری، عزیزالله (کارشناسی‌ارشد گیاه پزشکی)	مدیر حفظ نباتات جهاد کشاورزی استان فارس
بحرانی، سحر (کارشناسی مهندسی صنایع غذایی)	مدیر کنترل کیفیت شرکت زرین غزال (دایتی)
حسنی، محمد (کارشناسی مهندسی صنایع)	کارشناس پسماند شهرداری شیراز
حسامی، شهرام (دکتری سم شناسی)	مدیر کل پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز
حسینی سربسی، مسعود (کارشناسی میکروبیولوژی)	کارشناس آزمایشگاه رفرانس غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی شیراز
خاکی، محبوبه (کارشناسی‌ارشد مهندسی صنایع غذایی)	کارشناس اداره کل استاندارد استان فارس
دولاح، عبدالحسن (دکتری زیست شناسی)	هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز
دهقانیان، مژده (کارشناسی مهندسی بیوتکنولوژی)	کارشناس دانشگاه علم و صنعت ایران

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)	**سمت و/یا محل اشتغال:**
رضوی‌زادگان، مریم (کارشناسی ارشد مهندسی صنایع غذایی)	مدیر کنترل کیفیت شرکت فارس رعنا (ارژن)
غیاثی، محمد مهدی (کارشناسی‌ارشد توسعه روستایی)	مشاور رییس سازمان و مسوول دفتر محیط زیست و سلامت غذای جهاد کشاورزی فارس
قاسمی، محمدمهدی (دکتری آبیاری)	رییس سازمان جهاد کشاورزی استان فارس
قطبی، شمس‌السادات (کارشناسی‌ارشد بهداشت محیط)	مدیر آزمایشگاه شرکت آبفا شیراز
گلکاری، مسیح (کارشناسی‌ارشد مهندسی پلیمر)	مدیر کنترل کیفیت پسماند شهرداری شیراز
میرزایی، مصطفی (دکتری حشره شناسی)	هیئت علمی موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور
هاشمی، حسن (دکتری مهندسی بهداشت محیط)	هیئت علمی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی شیراز

ویراستار:

فلاح، مهین (کارشناسی میکروبیولوژی)	اداره کل استاندارد استان خوزستان

فهرست مندرجات

عنوان	صفحه
پیش‌گفتار	ز
مقدمه	ح
۱ هدف و دامنه کاربرد	۱
۲ مراجع الزامی	۱
۳ اصطلاحات و تعاریف	۲
۴ اصول آزمون	۴
۵ دستگاه‌ها و مواد	۵
۶ محیط کشت و واکنشگرها	۶
۷ روش اندازه‌گیری	۹
۸ کارایی نمونه برداری و محدودیت‌های روش	۱۱
۹ کالیبراسیون نرخ جریان، کنترل عملکرد و نگهداری سیستم نمونه برداری	۱۲
۱۰ تضمین کیفیت	۱۳
۱۱ پروتکل نمونه برداری	۱۳
۱۲ ویژگی‌های عملکرد	۱۳
پیوست الف (آگاهی دهنده) شرح فنی برخورد دهنده غربالی تک مرحله‌ای مناسب	۱۴
پیوست ب (آگاهی‌دهنده) پروتکل نمونه‌برداری	۱۵
پیوست پ (آگاهی‌دهنده) تعویض نمونه برای ارزیابی روش	۱۶
پیوست ت (آگاهی‌دهنده) تغییرات	۲۳
کتاب نامه	۲۴

پیش‌گفتار

استاندارد «هوای داخل ساختمان– قسمت ۱۸: شناسایی و شمارش کپک‌ها- نمونه‌برداری به روش برخورد » که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط بر مبنای پذیرش استانداردهای بین‌المللی/منطقه‌ای به عنوان استاندارد ملی ایران به روش اشاره شده در مورد الف، بند ۷، استاندارد ملی شمارهٔ ۵ تهیه و تدوین شده، در یکصد و چهل و نهمین اجلاسیه کمیتهٔ ملی استاندارد محیط زیست مورخ ۱۳۹۵/۱۲/۱تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

استانداردهای ملی ایران بر اساس استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ (استانداردهای ملی ایران- ساختار و شیوهٔ نگارش) تدوین می‌شوند. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم وخدمات، استانداردهای ملی ایران در صورت لزوم تجدیدنظر خواهند شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح یا تکمیل این استانداردها ارائه شود، در هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی مربوط، مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی ایران استفاده کرد.

این استاندارد ملی بر مبنای پذیرش استاندارد بین‌المللی زیر به روش «معادل یکسان» تهیه و تدوین شده و شامل ترجمه تخصصی کامل متن آن به زبان فارسی می‌باشد و معادل یکسان استاندارد بین‌المللی مزبور است:

ISO 16000-18:2011,Cor.1:2011, Indoor air — Part 18: Detection and enumeration of moulds — Sampling by impaction

مقدمه

کپک نام مشترکی برای قارچ های رشته‌ای[1] از گروه‌های طبقه‌بندی مختلف (آسکومیست‌ها[2]، زایگومیست‌ها[3] و حالت‌های آنامورفیک آنها بوده که قبلا به عنوان دوترومیست‌ها[4] یا قارچ ناقص شناخته می‌شدند. کپک‌ها، میسیلیوم[5] (هیف[6]) تشکیل می‌دهند که به خاطر آن‌ها به صورت ماکروسکوپی قابل مشاهده می‌شوند. اندازه بیشتر اسپورها از ۲ µm تا ۱۰ µm است. اندازه بعضی از آن‌ها تا ۳۰ µm و تعداد کمی تا ۱۰۰ µm می‌رسد. اسپور بعضی از جنس‌های کپک‌ها، کوچک هستند و به آسانی، هوازاد (برای مثال آسپرژیلوس، پنی سیلیوم) می‌شوند در حالی که بقیه‌ی کپک‌ها، اسپورهای بزرگ‌تری دارند و یا در بافت لزجی[7] (برای مثال، استاکیبوتریس[8]، فوزاریوم[9]) احاطه می‌شوند و تحرک کم‌تری دارند.

اسپورهای کپک‌ها به طور گسترده‌ای در محیط‌های بیرونی (بیرون ساختمان) پخش هستند و در نتیجه در مقادیر مختلفی در هوای داخل ساختمان نیز یافت می‌شوند. رشد کپک‌ها در داخل ساختمان، باید به عنوان مشکل بهداشتی تلقی شود، زیرا مطالعات اپیدمیولوژیکی ارتباط نزدیک بین رطوبت و یا رشد کپک‌ها در منازل و مشکلات در سلامت ساکنان آن‌ها را آشکار کرده است.

روش های استاندارد شده برای نمونه برداری، شناسایی و شمارش کپک ها شامل استانداردهایی برای روش‌های به منظور نمونه برداری برای ارزیابی مقایسه‌ای مشکلات ناشی از کپک‌ها در داخل ساختمان، دارای اهمیت است. پیش از هر اندازه‌گیری (کپک‌ها)، روش اندازه‌گیری مورد نیاز است.

1 - Filamentous fung
2 - Ascomycetes
3 - Zygomycetes
4 - Deuteromycetes
5 - Mycellium
6 - Hyphae
7 - Slime matrix
8 - Stachybotry
9 - Fusarium

هوای داخل ساختمان – قسمت ۱۸ : شناسایی و شمارش کپک ها- نمونه‌برداری به روش برخورد

هشدار- استفاده از این استاندارد ملی ممکن است شامل مواد، عملیات ها و تجهیزات خطرناک باشد. در این استاندارد تمام موارد ایمنی و بهداشتی نوشته نشده است. در صورت وجود چنین مواردی، مسئولیت برقراری شرایط ایمنی و سلامتی مناسب و تعیین قابلیت اجرای محدودیت های قانونی قبل از استفاده آن بر عهده کاربر این استاندارد است.

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین الزاماتی برای نمونه‌برداری از کپک‌ها در هوای درون ساختمان از طریق روش برخورد دادن[1] کپک روی محیط کشت آگار جامد در زمان‌های کوتاه ۱ min تا ۱۰min است. با توجه به دستورالعمل ارائه شده، نمونه برای آزمون‌های شناسایی متوالی کپک‌ها، با کشت‌دادن طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۷-۱۰۸۴۷، به دست آمده است.

۲ مراجع الزامی

در مراجع زیر ضوابطی وجود دارد که در متن این استاندارد به صورت الزامی به آن‌ها ارجاع داده شده است. بدین‌ترتیب، آن ضوابط جزئی از این استاندارد محسوب می‌شوند.

در صورتی که به مرجعی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن برای این استاندارد الزام‌آور نیست. در مورد مراجعی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدیدنظر و اصلاحیه‌های بعدی برای این استاندارد الزام‌آور است.

استفاده ازمراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است :

2-1 ISO 16000-16, Indoor air — Part 16: Detection and enumeration of moulds — Sampling by filtration

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۶-۱۰۸۴۷: سال ۱۳۸۸، هوای داخل ساختمان- ۱۶: شناسایی، شمارش کپک ها- نمونه‌برداری به روش صاف‌کردن ، با استفاده از استاندارد ISO 16000-16: 2008 تدوین شده است.

2-2 ISO 16000-17, Indoor air — Part 17: Detection and enumeration of moulds — Culture-based method

1 - Impaction

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۷-۱۰۸۴۷: سال ۱۳۸۸، هوای داخل ساختمان - قسمت ۱۷: شناسایی و شمارش کپک ها- برپایه کشت ، با استفاده از استاندارد ISO 16000-17: 2008 تدوین شده است.

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد اصطلاحات با تعاریف زیر به کار می رود.

۳-۱

قطر آئرودینامیکی

aerodynamic diameter

قطر کره‌ای با چگالی g/cm^3 ۱ با همان سرعت نهایی ناشی از نیروی گرانشی در هوای ساکن به صورت ذره، تحت شرایط معمول دما، فشار و رطوبت نسبی می‌باشد.

[منبع ISO 7708:1995 مرجع ۲]

۳-۲

کارایی حفاظت زیستی

biological preservation efficiency

قابلیت ابزار نمونه‌برداری برای حفظ زیست‌پذیری میکروارگانیسم‌های هوازاد[1] و هم‌چنین سالم نگه‌داشتن فراورده‌های میکروبی می‌باشد.

[منبع: EN 13098:2000 مرجع ۱۰]

۳-۳

واحد تشکیل دهنده کلنی (cfu)

colony forming unit

واحدی است که با آن تعداد میکروارگانیسم‌های قابل کشت بیان می‌شود.

یادآوری۱- یک واحد تشکیل دهنده کلنی ممکن است از یک میکروارگانیسم واحد، از تراکم تعداد زیادی میکروارگانیسم و همچنین از یک یا چند میکروارگانیسم چسبیده به یک ذره، منشا گرفته شده باشد..

یادآوری۲- تعداد کلنی‌ها می تواند به شرایط کشت بستگی داشته باشد..

1 - Airborn

۴-۳

مقدار جداسازی

cut-off value

اندازه ذره (قطر آئرودینامیکی) که به ازای آن کارایی نمونه‌برداری برابر با ٪۵۰ است.

۵-۳

کشت

cultivation

(کیفیت هوا) رشد میکروارگانیسم‌ها بر روی محیط کشت می‌باشد.

[منبع: زیربند ۳-۶ استاندارد ملی ایران شماره ۱۶-۱۰۸۴۷]

۶-۳

قارچ رشته‌ای

filamentous fungus

قارچ‌هایی‌که به شکل سلول‌های رشته‌ای موسوم به هیف رشد می‌کنند.

یادآوری ۱- هیف‌های تجمع‌یافته به شکل دسته‌ای، میسیلیوم[1] را از مخمر متمایز می‌کند.

یادآوری ۲- اصطلاح ((قارچ رشته‌ای))، قارچ با رشد هیفی را از مخمر متمایز می‌کند.

[منبع: زیر بند۳-۳، استاندارد ملی ایران شماره ۱۶-۱۰۸۴۷]

۷-۳

برخورد دادن

impaction

نمونه‌برداری ذرات معلق در هوا از طریق جداسازی اینرسی روی یک سطح جامد می‌باشد.

یادآوری– برای اهداف این استاندارد ملی، سطح جامد از آگار تشکیل شده است، همچنین به زیربندهای۲- ۱۸ و ۲-۴۹ استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۰۰۰، مرجع [۱] مراجعه کرده که دستگاه‌های استفاده‌شده برای برخورد دادن را توصیف می‌کند.

1 - mycelia

۳-۸

میکروارگانیسم

microorganism

هر موجود میکروبی، سلولی یا غیرسلولی می‌باشد که قادر به تولیدمثل یا انتقال ماده‌ی ژنتیکی، یا موجوداتی که این خصوصیات را از دست داده‌اند، می‌باشد.

[منبع: استاندارد EN 13098:2000، مرجع ۱۰]

۳-۹

کپک

mould

(کیفیت هوا) قارچ‌های رشته‌ای در چند گروه طبقه‌بندی می شوند، برای مثال: اسکومیست‌ها[1] (اسکومیکوتا)، زایگومیست‌ها[2] و آنامورفیک که قبلا به عنوان دوترومیست‌ها[3] (قارچ‌های ناقص) نامیده می شدند، می‌باشند.

یادآوری- کپک‌ها بسته به گروه رده‌بندی که به آن تعلق دارند، انواع مختلفی از اسپورها را تولید می‌کنند. برای مثال، کنیدیوسپورها(کنیدی)، اسپورانژیسوپورها یا آسکوسپورها.

[منبع: زیر بند ۳-۹ استاندارد ملی ایران شماره ۱۶-۱۰۸۴۷]

۳-۱۰

قابلیت نمونه برداری فیزیکی

physical sampling efficiency

قابلیت ابزار نمونه‌برداری در جمع‌آوری ذرات معلق در هوا با اندازه‌های مشخص می‌باشد.

[منبع: استانداردEN 13098:2000 ، مرجع۱۰]

۳-۱۱

قابلیت کلی نمونه برداری

total sampling efficiency

حاصل ضرب قابلیت فیزیکی نمونه‌برداری و قابلیت حفاظت زیستی می‌باشد.

[منبع : استاندارد EN 13098:2000 ، مرجع۱۰]

---

1 -Ascomycetes
2 - Zygomycetes
3 - Deuteromycetes

۴ اصول آزمون

مقدار مشخصی از هوا به درون یک برخورد دهنده حاوی یک یا چند پلیت با محیط کشت آگار(DG 18 و عصاره مالت یا آگار دکستروز سیب زمینی) کشیده می‌شود، زمانی که جهت جریان هوا به سمت سطح جامد هدایت شود ذرات موجود در جریان هوای برخورد دهنده به دلیل اینرسی، بر روی سطح پلیت‌های آگار نشسته و فشرده می‌شوند.

بنابراین کپک‌های هوازاد مستقیما روی پلیت‌های آگار، جمع‌آوری می‌شوند.

ابزار نمونه برداری برای شناسایی ذراتی با اندازه اسپورهای کپک (<۱µm تا تقریبا ۳۰ µm) ساخته شده است. برای رسیدن به این هدف، مقدار جداسازی دستگاه نمونه‌برداری، ترجیحا باید ۱ µm یا کمتر باشد و این مقدار نباید هیچ‌گاه از ۲ µm بیشتر شود.

یادآوری- دو نوع اصلی از برخورد دهنده‌ها به طور گسترده‌ای به کار برده شده و به صورت تجاری در دسترس هستند: الف) ابزار نمونه‌برداری شکافی ب) ابزار نمونه برداری غربالی. در نمونه بردارهای شکافی، هوا از طریق یک شکاف باریک کشیده شده و ذرات در یک پلیت آگار در حال چرخش، برخورد داده می‌شوند. در نمونه‌بردارهای الک، هوا از طریق یک صفحه دارای منفذ (الک) که دارای سوراخ‌هایی با قطر مشخص است، کشیده شده و ذرات بر روی پلیت آگاری که در پایین قرار داده شده، برخورد داده می‌شوند. نمونه‌بردارهای غربالی می‌توانند به صورت چندتایی با غربال‌های مختلف مورد استفاده قرار بگیرند که منجر به سرعت جریان‌های متفاوت برای جمع‌آوری ذرات با اندازه‌های متفاوت می‌شود. (به عنوان مثال: برخورد دهنده اندرسن[1] شش مرحله‌ای). داده‌های معتبر فقط برای برخورد دهنده‌های الک یک مرحله‌ای (عموما با بیش از ۳۰۰ سوراخ) با پلیت‌های آگار به قطر ۹cm موجود می‌باشد.

پس از نمونه‌برداری، اسپورهای کپک، کشت داده شده و کلنی‌های تشکیل شده طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۷-۱۰۸۴۷شمارش می‌شوند.

۵ دستگاه ها و مواد

۵-۱ دستگاه نمونه برداری

یک مثال همراه با جزئیات از برخورد دهنده غربالی تک مرحله‌ای، در پیوست الف آورده شده است. برخورد دهنده‌های چندمرحله‌ای تنها جهت اهداف ویژه، زمانی که جداسازی بر اساس اندازه مورد نیاز است به کار برده می شود.

۵-۱-۱ پایه، برای نگه داشتن برخورد دهنده در ارتفاع نمونه برداری مورد نیاز

۵-۱-۲ برخورد دهنده، نوع شکاف‌دار یا غربالی

1 - Anderson

۵-۱-۳ پلیت‌ها، با قطر ۹ cm حاوی آگارDG 18 و عصاره مالت یا آگار دکستروز سیب‌زمینی (به بند ۶ مراجعه کنید)

۵-۱-۴ پمپ خلاء، برای حصول اطمینان از نرخ جریان ثابت طی عملیات مداوم

۵-۱-۵ حجم‌سنج گاز، برای تعیین حجم گاز مکیده شده در بخش بالای نمونه برداری بر حسب متر مکعب

۵-۱-۶ زمان‌سنج، برای تنظیم زمان و مدت نمونه‌برداری

۵-۱-۷ محفظه محافظ، برای حفاظت ابزار نمونه‌برداری از شرایط نامساعد محیطی (اختیاری است، اساسا برای استفاده در هوای آزاد)

۵-۲ تجهیزات مورد استفاده برای آماده‌سازی پلیت‌ها

تجهیزات معمول آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی مانند موارد زیر:

۵-۲-۱ pH متر با دقت ۰٫۱±

۵-۲-۲ ظرف پتری هوادهی شده، سترون‌شده با قطر تقریبی ۹ cm

۵-۲-۳ اتوکلاو، با توانایی انجام عملیات در دماهای$^{\circ}$C (۱۲۱±۳) و $^{\circ}$C (۱۱۵±۳)

۵-۳ تجهیزات مورد نیاز برای نمونه‌برداری

۵-۳-۱ کیسه‌های پلاستیکی، برای محافظت از پلیت‌ها در حین جابجایی

۵-۳-۲ ظروف سرد و عایق برای جابجا کردن پلیت‌ها در دمای زیر $^{\circ}$C ۲۵

۵-۳-۳ مواد گندزدا، برای مثال، ایزو پروپانول یا اتانول(٪۷۰ حجمی)

۵-۳-۴ هوای فشرده (بدون روغن، اختیاری) برای خشک‌کردن تجهیزات، پس از گندزدایی

۶ محیط کشت و واکنشگرها

۶-۱ کلیات

همه واکنشگرها و مواد شیمیایی باید دارای کیفیت ویژه برای مصارف میکروبیولوژی یا کیفیت بالاتر باشند. آب مصرفی باید آب مقطر یا آبی با کیفیت مشابه باشد.

استفاده از مواد تجاری بدون آب موجود، به شرط این‌که با اطلاعات داده شده مطابقت داشته باشد، توصیه می‌شود..آماده‌سازی آن‌ها باید طبق دستورالعمل سازنده انجام شود.

۶-۲ دی کلران٪ ۱۸ آگار گلیسرول (DG 18)

مواد تشکیل دهنده در جدول زیر آورده شده است:

جدول۱- ترکیبات دی-کلران٪ ۱۸ آگار گلیسرول (DG 18 آگار)

ماده	مقدار
پپتون [الف]	۵g
گلوکز	۱۰/۰g
پتاسیم دی هیدروژن فسفات (KH_2PO_4)	۱/۰g
منیزیم سولفات هفت آبه ($MgSO_4.7H_2O$)	۰/۵g
دی-کلران (۲و۶- دی کلرو-۴- نیتروآنالین) ٪۰/۲ وزنی در اتانول(٪۱۰۰)	۱/۰mm
کلرامفینیکل	۰/۱g
گلیسرول	[ب]۲۲۰g
آگار	۱۵/۰g
آب	۱۰۰۰ml

[الف]- پپتون‌های مختلفی توسط تولیدکننده‌های مختلف مورد استفاده قرارگرفته است.(به عنوان مثال: پپتون کازئین، پپتون میکروبیولوژی). این مورد معمولا، نتایج کمی اندازه‌گیری‌ها را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد، اما روی شکل ظاهری کلنی‌ها اثر می‌گذارد. بنابراین کنترل‌های مثبت برای مقایسه بازیابی و ظاهر ریخت‌شناسی کلنی‌ها دارای اهمیت می‌باشد.

[ب] - ٪۱۸ کسر جرمی تقریبی g ۱۲۲۰، جرم نهایی تقریبی g ۲۲۰ را می‌دهد.

مقدار کمی از مواد سازنده و آگار را به حدود ml ۸۰۰ آب افزوده و با جوشاندن حل کرده و سپس آن را به حجم ml ۱۰۰۰ برسانید و سپس g ۲۲۰ گلیسرول اضافه کنید. محلول را در اتوکلاو در دمای $^{\circ}$C (۳±۱۲۱) و در مدت زمان min (۳±۱۵) دقیقه، سترون کنید. پس از سترون‌کردن، pH باید در دمای $^{\circ}$C ۲۵ برابر با (۰/۲±۵/۶) باشد. محلول را به میزان مساوی ml ۲۰ در ظروف پتری بریزید.

پلیت‌های حاوی آگار DG 18 را می‌توان در کیسه به مدت بیش از یک هفته در دمای$^{\circ}$C (۳±۱۵) در تاریکی نگهداری کرد.

یادآوری ۱ – بسته به فلور همراه[1] ، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های دیگر مانند استروپتومایسین یا آمپی‌سیلین می‌توانند مفید باشد. استفاده از این مواد تاثیری در نتایج آزمون‌ها ندارد.

یادآوری۲- محیط 18DG آگار برای شناسایی طیف وسیعی از قارچ های خشکی دوست مناسب است. (به عنوان مثال، خشکی ترجیح داده می‌شود) گلیسرول فعالیت آبی(a_a)را تا ۰/۹۵ کاهش می‌دهد. کلرامفینیکل از رشد باکتری‌ها، به ویژه

1 - concomitant flora

باکتری‌های گرم منفی جلوگیری می‌کند. دی کلران از گسترش کلنی‌های کپکی با رشد سریع جلوگیری کرده و به همین ترتیب مانع رشد بیش از حد کلنی‌های با رشد آهسته نیز می شود.

۶-۳ عصاره مالت آگار

مواد تشکیل‌دهنده در جدول ۲ شرح داده شده است.

جدول۲- ترکیبات آگار عصاره مالت

ماده	مقدار
عصاره مالت	۳۰٫۰g
پپتون سویا	۳٫۰g
آگار	۱۵٫۰g
آب	۱ ۰۰۰ml

یادآوری ۱ - اگر نمونه‌ها دارای تعداد زیادی باکتری باشند، افزودن کلرامفینیل (۰٫۰۵ g/l) ضروری است.

یادآوری ۲- بسته به فلور همراه، آنتی‌بیوتیک‌های دیگر مانند استرپتومایسین یا آمپی‌سیلین می‌توانند مفید باشند. استفاده از این مواد تاثیری در نتایج آزمون‌ها ندارد.

مواد تشکیل‌دهنده و آگار را در آب بریزید و با جوشاندن حل کنید. در اتوکلاو در دمای $^{\circ}C$ (۱۱۵±۳) به مدت min (۱۰±۱) سترون کنید. پس از سترون‌کردن، pH باید برابر با (۵٫۵±۰٫۲)در دمای $^{\circ}C$ ۲۵ باشد. محلول را به میزان مساوی و در حدود ml ۲۰ در ظروف پتری بریزید.

پلیت‌های حاوی عصاره مالت آگار در کیسه تا ۱ ماه در تاریکی در دمای$^{\circ}C$ (۵±۳) قابل نگهداری است.

مهم- بسیاری از محیط‌های حاوی عصاره‌ی مالت آگار با ترکیبات مختلف به طور تجاری در دسترس هستند. اطمینان حاصل کنید که مواد تشکیل‌دهنده آن‌ها مطابق جدول ۲ باشد.

۶-۴ سیب زمینی دکستروز آگار

مواد تشکیل‌دهنده در جدول۳ شرح داده شده است:

جدول۳- ترکیب سیب زمینی دکستروز آگار

ماده	مقدار
عصاره سیب‌زمینی	۴٫۰g
گلوکز	۲۰٫۰g
آگار	۱۵٫۰g
آب	۱ ۰۰۰ml

یادآوری ۱- اگر نمونه‌ها دارای تعداد زیادی باکتری باشند، افزودن کلرامفینیل (۰/۰۵ g/l) ضروری است.

یادآوری ۲ – بسته به فلور همراه[1]، آنتی‌بیوتیک‌های دیگر مانند استرپتومایسین یا آمپی‌سیلین می‌توانند مفید باشند.به شرط آن‌که تاثیری در نتایج آزمون‌ها نداشته باشد.

مواد تشکیل‌دهنده و آگار را در آب بریزید و با جوشاندن حل کنید. در اتوکلاو تا دمای $^{\circ}C$ (۱۱۵±۳) به مدت min (۱۰±۱) سترون کنید. پس از سترون‌کردن، pH باید برابر با (۵٫۵±۰٫۲) در دمای $^{\circ}C$ ۲۵ باشد. محلول را به میزان مساوی و در حدود ml ۲۰ در ظروف پتری بریزید.

پلیت‌های حاوی محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار در کیسه تا ۱ ماه در تاریکی در دمای $^{\circ}C$ (۵±۳) قابل نگهداری است.

۷ روش اندازه گیری

۷-۱ آماده‌سازی برای نمونه برداری

به تعداد مورد نیاز، برخورد دهنده و پلیت حاوی آگار مطابق با کار و روش اندازه‌گیری تهیه کنید. برای اندازه گیری‌های معمول با یک برخورد دهنده تک مرحله‌ای، توصیه می‌شود که حجم‌های متفاوت هوا به صورت موازی (به عنوان مثال l (۲×۵۰) و l (۲×۱۰۰)) در هر نقطه نمونه برداری و هم‌چنین یک شاهد خالی برای هر آزمون پایش شده، تهیه کنید. حداقل ۴ تا ۵ پلیت آگار DG 18 و ۴ تا ۵ پلیت حاوی عصاره مالت یا پلیت‌های دکستروز سیب‌زمینی برای هر نقطه نمونه‌برداری مورد نیاز است.

تجهیزات را برای کامل بودن و درستی عملکرد، بررسی کنید.

صحت کالیبراسیون دستگاه نمونه برداری را بررسی کنید. در غیر این صورت، قبل از شروع اندازه گیری، کالیبراسیون جدید انجام دهید. (به بند ۸ مراجعه کنید.)

برای هر اندازه‌گیری از الک یا صفحه شکاف‌دار سترون استفاده کنید. الک و صفحه شکاف‌دار را به صورت متناوب با اتانول (٪۷۰حجمی) یا ایزوپروپانول، گندزدایی کرده و سپس با هوا (هوای فشرده) خشک کنید. سپس، قبل از این که پلیت حاوی آگار را در دستگاه برخورد دهنده قرار دهید، هوا را به مدت چند دقیقه در نقطه نمونه برداری جدید دستگاه که فاقد پلیت حاوی آگار است وارد کنید. مراحل نمونه‌برداری را مطابق شکل ۱ انجام دهید.

۷-۲ نمونه‌برداری

در فواصل زمانی منظم، کنترل عملکرد را انجام دهید. قبل از هر چیز جریان حجمی را کنترل کنید. (به بند ۹ مراجعه کنید.)

1 - Concomitant flora

نمونه برداری معمولا در ارتفاع ۰٫۷۵ m تا ۱٫۵ m از سطح زمین انجام می‌شود. به منظور بررسی‌های خاص، سایر ارتفاع‌ها نیز می تواند به کار رود. در ارتفاعات پایین، باید دقت لازم به عمل آید تا گرد و غبار خانگی به داخل ابزار نمونه‌برداری کشیده نشود. جهت ورودی برخورد دهنده در محیط داخل خانه بدون جریان هوا، اهمیت چندانی ندارد. هد نمونه‌برداری آویزان[1] فقط در مورد جریانات شدید هوا (برای مثال اندازه‌گیری تطبیقی در هوای آزاد) لازم است.

درب پلیت‌های حاوی آگار را باز کرده و آنها را درون برخورد دهنده قرار دهید. مراقب آلودگی پلیت‌های حاوی آگار یا دستگاه نمونه برداری باشید.

از دستگاه نمونه‌برداری مطابق با دستورالعمل سازنده استفاده کنید.

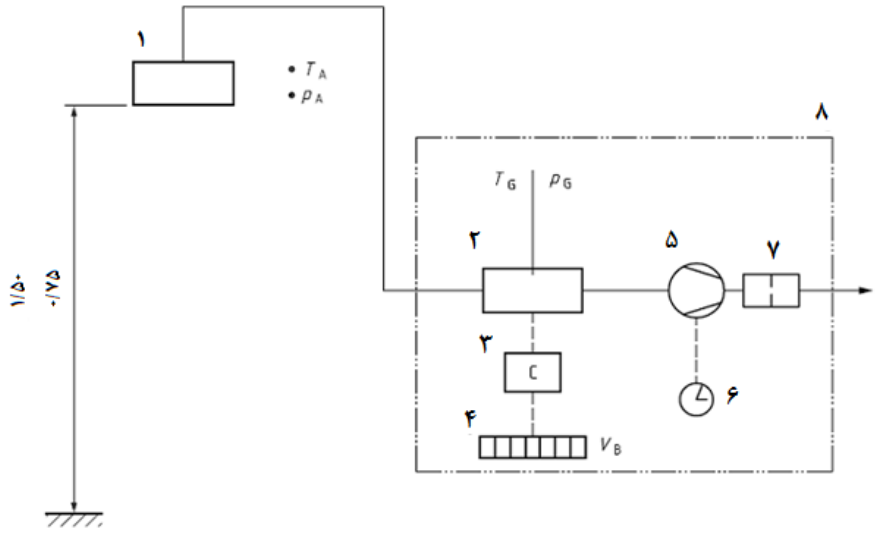
پس از نمونه برداری، پلیت‌های آگار را از دستگاه نمونه‌برداری خارج کرده، درب آنها را بسته و به منظور جلوگیری از هر گونه آلودگی ثانویه، آن‌ها را در کیسه‌های پلاستیکی قرار دهید.

پروتکل نمونه‌برداری را کامل کنید. (به بند ۱۰ و پیوست ب مراجعه کنید)

چندین بار اندازه‌گیری با نمونه‌برداری در حجم‌های مختلف توصیه می‌شود. این مسئله، در زمان ناشناخته بودن سطح غلظت پیش‌بینی شده کپک‌ها، دارای اهمیت است. برای هر بار نمونه برداری از یک پلیت جدید استفاده کنید.

حداقل یک منطقه شاهد، برای هر محیط آگار در هر مرحله پایش در نظر بگیرید. یک شاهد، ترجیحا در وسط دوره‌های اندازه‌گیری در یک روش یکسان به عنوان نمونه واقعی تهیه کنید، اما بدون این‌که هوا از طریق دستگاه نمونه‌برداری، وارد شود. برای این منظور، زمانی که پمپ خاموش است، یک پلیت حاوی آگار درباز در برخورد دهنده قرار داده، سپس آن را خارج کرده، درب آن را بسته، بسته بندی کرده و به صورت تحلیلی، آن را پردازش و فراوری کنید. از قرارگرفتن طولانی مدت پلیت‌ها در دمای محیط خودداری کنید. نتایج شاهد، به سادگی نشان‌دهنده تعداد (cfu) است که به سادگی در هنگام انتقال پلیت های حاوی آگار در زمان نمونه برداری به آن ها وارد شده است.

1- hanging sampling head



شکل۱- نمودار طرح وار مراحل نمونه برداری

راهنما:

۱ برخورد دهنده و پایه

۲ حجم‌سنج گاز (به عنوان مثال: اوریفیس، جریان‌سنج جرمی حرارتی)

۳ مدار الکترونیکی برای تبدیل به متر مکعب

۴ نمایشگر حجم هوا در متر مکعب

۵ پمپ خلا

۶ زمان‌سنج

۷ فیلتر برای مواد سایشی (در صورتی که از یک پمپ خلاء پره‌دار استفاده شود.)

۸ محفظه (اختیاری) در برابر شرایط نامساعد محیطی

T_A دمای هوا

P_A فشار هوای اتمسفر

T_G دمای گاز نمونه

P_G فشار گاز نمونه

V_B حجم گاز نمونه

۳-۷ مدت زمان و حجم نمونه برداری

مدت زمان و حجم نمونه‌برداری با توجه به هدف اندازه‌گیری و میزان غلظت قابل انتظار کپک تعیین می‌شود. مدت زمان معمول نمونه‌برداری از ۱min تا ۱۰min است . نمونه‌برداری در حجم های کم‌تر از ۵۰ l به علت خطا در تعیین حجم هوای نمونه‌برداری شده به خاطر حجم هوای از دست‌رفته ابزار نمونه‌برداری، توصیه نمی‌شود. (به پیوست پ مراجعه کنید)

۴-۷ انتقال و ذخیره

پلیت را در برابر تاثیرات مداخله‌کننده (اشعه خورشید، رطوبت یا خشکی، حرارت و گرد وغبار و غیره) محافظت کرده و بلافاصله پس از نمونه‌برداری، پلیت‌ها را در ظرف سر بسته به آزمایشگاه منتقل کنید. (به زیربند ۴-۳-۲ مراجعه کنید.) دما در حین انتقال، نباید از دمای گرمخانه‌گذاری $^{\circ}$C (۳±۲۵) بیشتر شود. در صورت لزوم نمونه‌ها را در حین انتقال خنک کنید. به دلیل مشکلات متراکم شدن، از یخ زدن پلیت‌ها یا کاهش زیاد دما جلوگیری کنید. شرایط (مانند: دما، رطوبت، مدت زمان) را در حین انتقال، ثبت کنید. ترجیحا فرآیند را روی نمونه‌ها، در مدت ۲۴ h انجام داده و آزمون نباید بیش از ۴۸ h پس از خاتمه‌ی مدت زمان نمونه‌برداری به تعویق افتد.

۸ کارایی نمونه برداری و محدودیت های روش

محدودیت‌های روش، با کارایی فیزیکی و زیستی نمونه برداری تعیین می‌شود.

کارایی فیزیکی نمونه‌برداری از طریق مقدار بریدگی دستگاه نمونه‌برداری شرح داده می‌شود. مقدار بریدگی ترجیحا باید ۱ µm یا کمتر باشد، این مقدار هرگز نباید بیش از۲µm باشد تا نمونه برداری موثری از اسپورهای کوچک انجام شود.

اثر خشکی، که بر قابلیت زیستی نمونه‌برداری تاثیرگذار است، ثابت نیست و به دما، رطوبت نسبی، زمان نمونه برداری و نوع کپک در لحظه اندازه‌گیری بستگی دارد. احتمال خشک‌شدن نمونه‌ها در حین برخورد دادن به خاطر زمان‌کوتاه نمونه‌برداری و برخورد دادن مستقیم روی پلیت‌های آگار کم است.

گستره بهینه کلنی‌ها، ۲۰ تا ۴۰ عدد بر روی هر پلیت آگار می‌باشد. (برای گستره ۱۰ تا ۱۰۰ کلنی در هر پلیت، به استاندارد ملی ایران شماره ۱۷-۱۰۸۴۷مراجعه شود). بنابراین، الزامی است که حجم نمونه‌برداری با غلظت پیش‌بینی شده قارچ‌ها در هوا تنظیم شده باشد تا از موارد زیر جلوگیری شود:

- اضافه بار روی پلیت‌ها، منجر به تخمین نادرست غلظت می‌شود. (به پیوست پ مراجعه کنید)
- تعداد کلنی‌ها به ازای هر پلیت در دادن نتایج آماری معتبر،کم خواهد بود.

۹ کالیبراسیون نرخ جریان، کنترل عملکرد و نگهداری سیستم نمونه برداری

۹-۱ کالیبراسیون نرخ جریان

کالیبراسیون دستگاه نمونه برداری باید با حجم سنج مرجع گواهی‌دار، با دقت اندازه‌گیری ٪۲± ≤ و بر حسب متر مکعب، در مقایسه با شرایط هوای محیطی، انجام شود. حجم‌سنج مرجع را به ورودی هوای دستگاه نمونه‌برداری وصل کنید. مطمئن شوید که دهانه‌ی ورودی هوای دستگاه مرجع باز باشد. پس از

تنظیم موفقیت‌آمیز نرخ جریان، صحت نمایش دستگاه نمونه برداری را در مقابل حجم‌سنج مرجع کنترل کنید. حجم هوای مکیده شده درون دستگاه نمونه برداری برای مدت زمان ۳۰ min باید با دقت ٪۱± در مقایسه با حجم‌سنج مرجع نشان داده شود.

تصدیق نرخ جریان (کنترل عملکرد) به پایداری دستگاه بستگی دارد. کالیبراسیون کامل باید پیش از شروع برنامه‌ی جدید اندازه‌گیری انجام گیرد یا به دنبال هر تغییرات عمده از جمله: هنگام استفاده از یک قطعه‌ی جدید یا تعمیری یا پس از تعمیرات پمپ، انجام دهید. چنان‌چه نرخ جریان اندازه‌گیری شده با استفاده از استاندارد تبدیل، بیش از ٪ ۵ از مقدار مورد نیاز برای عملکرد صحیح جریان ورودی، انحراف داشت، برای تنظیم کنترل‌کننده جریان، طبق دستورالعمل سازنده عمل کنید. اطمینان حاصل کنید که جریان هوا در حین نمونه‌برداری، بیش از ٪ ۵± نوسان نداشته باشد و زمان رسیدن به سرعت نمونه‌برداری دلخواه در آغاز فرآیند نمونه‌برداری تا اندازه ممکن کوتاه باشد تا تاثیر آن بر روی حجم نمونه به حداقل برسد.

برای بعضی از ابزارهای نمونه برداری، تصدیق و تنظیم جریان اسمی به وسیله کاربر غیرممکن بوده، اما از طریق سازنده در بازه‌های زمانی منظم انجام می‌شود. در این مورد، باید یک جریان ثابت بین فواصل زمانی کالیبراسیون از طرف تولیدکننده تضمین شده باشد و دستگاه باید سیستم کنترل داخلی داشته باشد تا از انحراف جریان اسمی جلوگیری کند.

۹-۲ کنترل عملکرد و نگهداری سیستم نمونه برداری

نگهداری قسمت‌های مکانیکی سیستم نمونه برداری (ورودی و لوله‌های وصل‌کننده) به ویژه بررسی نشت باید طبق دستورالعمل سازنده انجام شود.

۱۰ تضمین کیفیت

از عملکرد صحیح دستگاه نمونه برداری، به عنوان مثال، با تصدیق عدم وجود نشتی (مطابق زیربند ۹-۲) مطمئن شوید و با کالیبراسیون منظم نرخ جریان، از اندازه‌گیری دقیق حجم نمونه، برای تثبیت حجم نمونه تعیین‌شده (مطابق زیربند ۹-۱)، مطمئن شوید. علاوه برآن، باید توجه ویژه‌ای به پمپ و کارکردن با پلیت‌ها شود. آزمایشگاه باید اندازه گیری‌های مربوط به تضمین کیفیت را انجام داده و آنها را ثبت کرده و در هر زمانی در دسترس باشند.

۱۱ پروتکل نمونه برداری

تمام نمونه‌ها باید به صورت مجزا شناسایی و طبق آن برچسب زده شوند.

برای هر نمونه، پیش (یا دقیقا پس از نمونه برداری)، یک پروتکل نمونه‌برداری را تکمیل کنید.

پروتکل باید حداقل حاوی اطلاعات زیر باشد:

الف) ارجاع به این استاندارد ملی؛

ب) نام وآدرس مشتری؛

پ) روش اندازه‌گیری؛

ت) نوع ابزار نمونه‌برداری به کار برده شده؛

ث) حجم نمونه‌برداری، تاریخ، ساعت، مکان و مدت زمان نمونه‌برداری؛

ج) نتیجه شاهد میدانی؛

چ) هویت نمونه بردار.

هدف آزمون و در صورت لزوم، فهرستی از پارامترهای مورد آزمون را نیز مشخص کنید. زیرا امکان دارد به انتخاب روش‌ها در آزمایشگاه کمک کند. جزییات دیگر (مانند دما، رطوبت، نقطه دقیق نمونه‌برداری، نوع هوادهی و مشاهده هر پدیده‌ای که می‌تواند بر روی غلظت کپک‌های هوازاد تاثیرگذار باشد) می‌تواند ضروری باشد.

یک نمونه از پروتکل نمونه‌برداری در پیوست ب آورده شده است.

یادآوری - پارامترهای دیگر مانند فشار هوا، جهت باد، سرعت باد، و شرایط آب و هوایی می تواند برای اندازه‌گیری ها در هوای محیط اهمیت داشته باشند.

۱۲ ویژگی های عملکرد

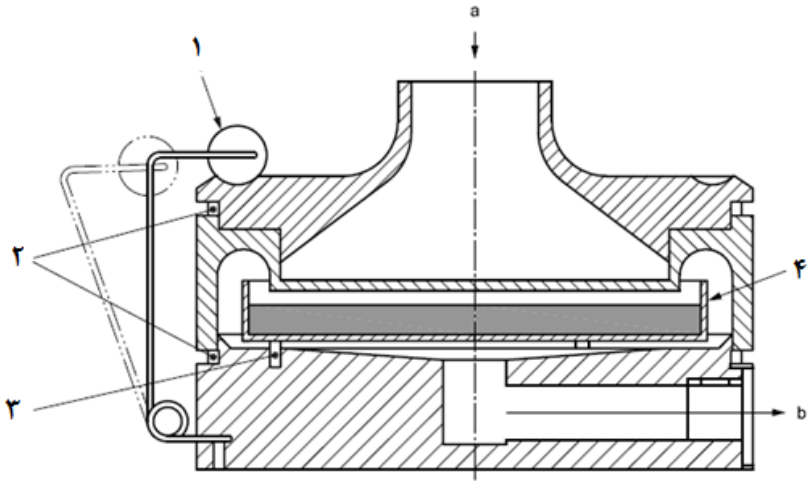
مناسب بودن این روش از طریق اندازه‌گیری‌های مقایسه‌ای با آگار DG18 مورد آزمون قرار گرفته است. (به پیوست پ مراجعه کنید)

پیوست الف

(آگاهی‌دهنده)

شرح فنی برخورد دهنده غربالی تک‌مرحله‌ای مناسب

طرح وار یک دستگاه مناسب نمونه برداری در شکل الف-۱ آورده شده است.



شکل الف-۱ طرح برخورد دهنده تک مرحله‌ای

راهنما:

۱ گیره

۲ حلقه‌های درزبندی

۳ وسیله محوری[1] برای ظرف پتری

۴ ظرف پتری با محیط کشت آگار

a ورودی هوا

b خروجی هوا

1 - Centring device

پیوست ب

(آگاهی‌دهنده)

پروتکل نمونه‌برداری

یادآوری – سازمان ملی استاندارد ایران، به کاربر این قسمت از استاندارد، حق تولید مجدد یا استفاده دیگر از پروتکل نمونه‌برداری موجود در این صفحه را فقط برای هدف اجرای این قسمت از این استاندارد می‌دهد.

مشتری: شماره سند:

موضوع: نوع دستگاه و شماره سریال:

مکان اندازه‌گیری: تاریخ:

نوع آگار/ شماره پلیت	زمان شروع اندازه گیری	حجم نمونه برداری (متر مکعب)	مدت زمان نمونه برداری (دقیقه)	ارتفاع اندازه گیری (متر)	دما °C	رطوبت نسبی %	ملاحظات، به عنوان مثال، احساس بو	مداخلات در طول نمونه برداری، به عنوان مثال، فعالیت اشخاص در اتاق، تهویه مطبوع HVAC[الف]

[الف] - حرارت‌دهی، هوادهی و تهویه هوا

ملاحظات:

نام آزمون‌گر : تاریخ و امضا:

پیوست پ

(آگاهی‌دهنده)

تعویض نمونه برای صحه‌گذاری روش

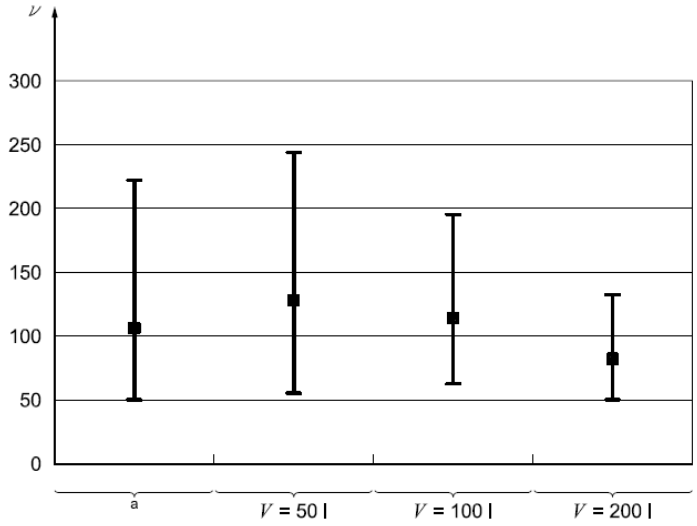
مناسب بودن روش نمونه‌برداری گفته شده در این استاندارد ملی، تحت شرایط واقعی در سه آزمون هماهنگ شده توسط انجمن سازندگان آلمان سبز[1] مورد آزمون قرار گرفته است. (به مرجع ۱۲مراجعه کنید)

این آزمون‌ها در دو اتاق جلسه مختلف (یک اتاق برای آزمون۱ و یک اتاق برای آزمون۲) و یک کلیسا (برای آزمون۳) که به طور طبیعی تهویه شده، انجام گرفته است. پنجره‌ها یک ساعت قبل از نمونه برداری، بسته شدند. به طور هم‌زمان درهمه آزمون‌ها، نمونه هایی با حجم‌های ۵۰ l، ۱۰۰ l و ۲۰۰ l لیتر، به روش برخورد دادن نمونه برداری شد.در آزمون۳، از آزمونه ۵۰ l در ابتدا و انتهای برنامه آزمون نمونه‌برداری شد و مشخص شد که غلظت کپک در طول فرایند نمونه‌برداری همواره ثابت است.

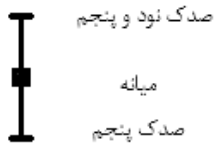
به منظور جلوگیری از اثرات محیط کشت، پلیت DG 18 ، در یک آزمایشگاه مرکزی[2] تهیه شدند. تمام پلیت‌ها در آزمایشگاه مرکزی، گرمخانه‌گذاری و تجزیه و تحلیل شدند. در آزمون۱، نمونه برداری اضافی روی پلیت‌هایی انجام شد که یا توسط شرکت کنندگان، گرمخانه‌گذاری شده بودند، یا از طرف شرکت کنندگان به آزمایشگاه های آنالیز فرستاده شده بود.

در آزمون۱(June 2005) ، ۳۴ آزمایشگاه، نمونه برداری را با روش برخورد دادن با دستگاه‌های مختلف انجام دادند. غلظت قارچ در اتاق نسبتا کم بود. میانگین شمارش کلی نتایج همه حجم‌های نمونه برداری برابر با ۱۰۰ cfu/m^3 بوده است. (به شکل پ-۱ مراجعه کنید) زمانی که نتایج به طور جداگانه برای حجم‌های مختلف نمونه برداری محاسبه شدند، با هم تفاوت دارند. تعداد بیشتری کلنی در حجم‌های به ترتیب ۵۰ l و ۱۰۰ l (۱۳۱cfu/m^3 و۱۲۰ cfu/m^3) در مقایسه با حجم ۲۰۰ l (۸۵ cfu/m^3) مشاهده شده است. نتایج نشان می‌دهد که مهار رشد در تعداد نسبتا کم کلنی‌های روی پلیت (تقریبا۲۰ کلنی با حجم نمونه برداری ۲۰۰l) اتفاق می‌افتد. خشک شدن به دلیل زمان نمونه‌برداری کوتاه و برخورد دادن روی سطح آگار، توصیف احتمالی برای کم‌تر بودن تعداد کلنی‌ها در حجم نمونه برداری ۲۰۰ l نیست.

1 - Berufsverband Deutscher Baubiologen
2 - Health Agency Baden-Württemberg, Stuttgart



راهنما :



v غلظت/(cfu/m^3)

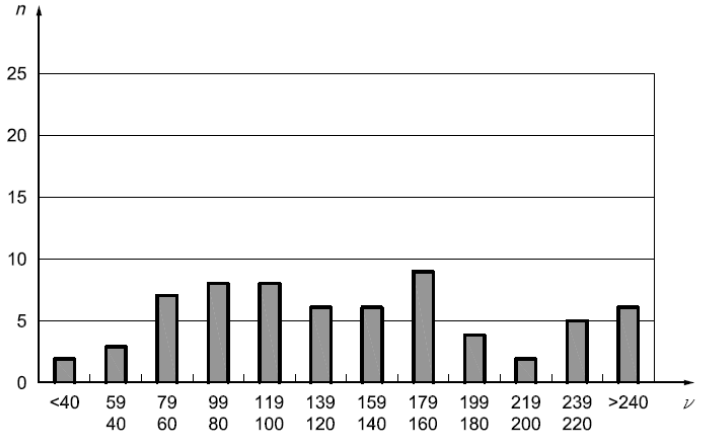
V حجم نمونه برداری

a کلی

شکل پ-۱- غلظت شمارش کلی کلنی‌ها روی آگار DG 18 پس از نمونه برداری از طریق روش برخورد دادن با حجم های مختلف در آزمون ۱

حداکثر انحراف معیار برای نمونه برداری در حجم l ۵۰ و حداقل آن برای نمونه برداری در حجم l ۲۰۰ است. این نتایج نشان‌دهنده آن است که تعداد کم کلنی‌های روی پلیت منجر به انحراف معیار بالا می‌شود. این نتیجه برای گونه‌های دیگر قارچ نیز صدق می‌کند. غلظت‌های *Cladosporium* spp. و *Penicillium* spp. با انحراف معیار ٪ ۳۰ تقریبا برابر با cfu/m^3 ۵۰ می‌باشد. در بقیه گونه‌ها در غلظت های کم‌تر و انحراف معیار، نتایج از ٪۵۰ تا ٪۲۰۰ افزایش می‌یابد. انحراف معیار تعداد کلی کلنی‌ها تقریبا در cfu/m^3 ۱۰۰ برابر با ٪ ۲۳ می‌باشد. شمارش کلنی‌ها برای حجم‌های l ۱۰۰ و l ۲۰۰ به صورت نرمال توزیع شده اما برای حجم l ۵۰ این‌گونه نیست. (به شکل پ-۲ تا پ-۴ مراجعه کنید.) این نتایج نشان می‌دهد که در صورتی که تعداد کلنی‌ها کمتر از ۱۰ عدد باشد، نباید از آن برای نتایج کمی استفاده کرد.

نتایج به دست آمده از پلیت‌هایی که توسط آزمایشگاه‌های دیگر به غیر از آزمایشگاه مرجع، آنـالیز شـده‌انـد، انحراف معیار بیشتری را نشان می‌دهد. برای غلظت‌های cfu/m^3 ۴۰ تا $cfu/m^3$۱۰۰، انحراف معیار از ٪۶۰ تا ٪۸۰ محاسبه شده است.

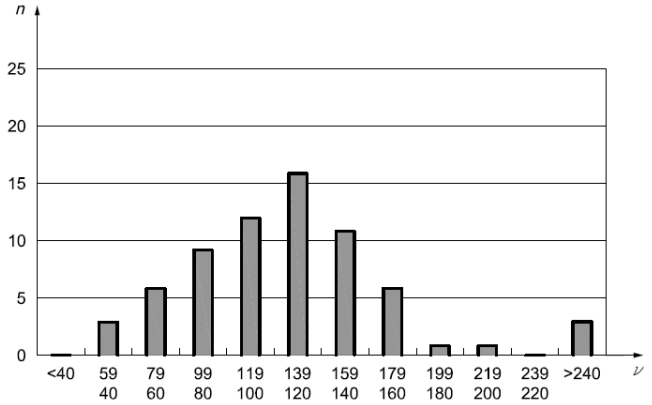


راهنما

n تعداد نتایج

v غلظت/(cfu/m^3)

شکل پ-۲- تعداد نتایج با گستره مختلف غلظت در نمونه‌برداری با حجم ۵۰ l ، نتایج به صورت نرمال توزیع نشده‌اند.

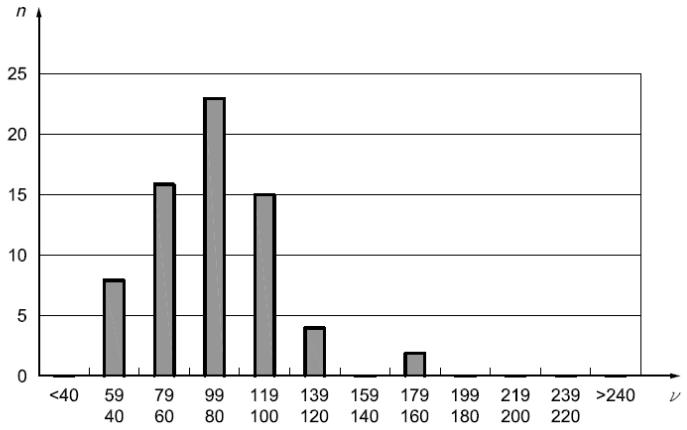


راهنما

n تعداد نتایج

v غلظت/(cfu/m^3)

شکل پ-۳- تعداد نتایج با گستره مختلف غلظت در نمونه برداری با حجم ۱۰۰ l ؛ نتایج به صورت نرمال توزیع شده‌اند.



راهنما

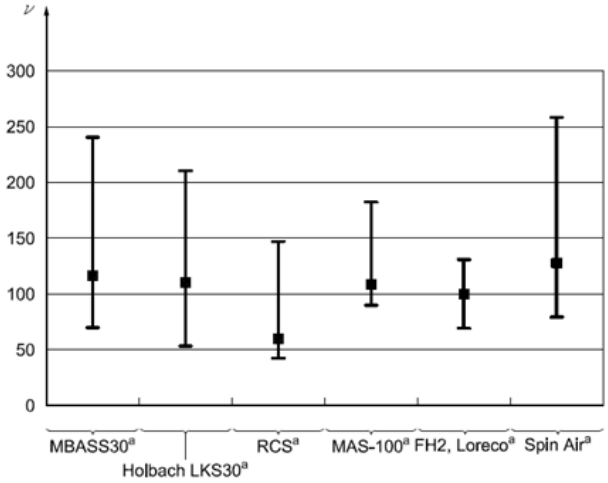
n تعداد نتایج

v غلظت/(cfu/m^3)

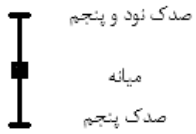
شکل پ-۴- تعداد نتایج با گستره مختلف غلظت در نمونه برداری در حجم l ۲۰۰ ؛ نتایج به صورت نرمال توزیع شده‌اند.

ابزارهای نمونه‌برداری متفاوت در ۳۴ آزمایشگاه مختلف مورد استفاد قرار گرفته است (تعداد نمونه‌برداری استفاده شده در پرانتزها آورده شده است) : (۱۵) Holbach LKS30،(۱۱) (MBASS30، (۴) RCS (۲) MAS-100،(۱) Spin Air، (۱) FH2 Loreco .تمام نتایج به جز نتایج RCS، قابل مقایسه با هم هستند. میانه شمارش های کلنی با ابزار نمونه‌برداری RCS، برابر با نصف غلظت در سایر ابزار نمونه‌برداری‌ها است.

(به شکل پ-۵ مراجعه کنید)



راهنما



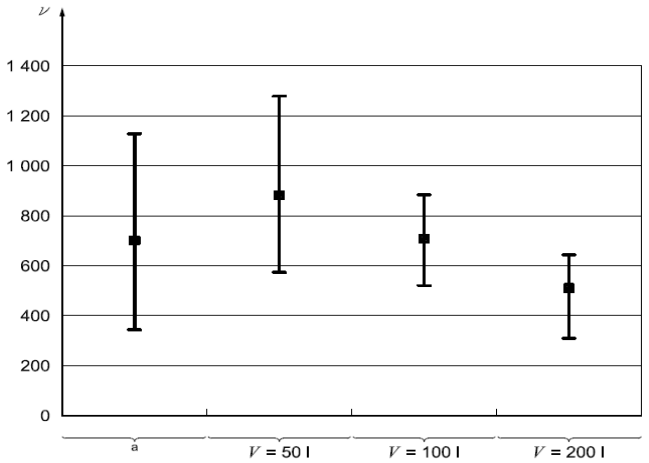
v غلظت/(cfu/m^3)

a تجهیزات موجود در بازار. این اطلاعات صرفا برای راحتی کاربران این سند بوده و به معنای تایید آن محصول مشخصی توسط سازمان استاندارد نمی‌باشد

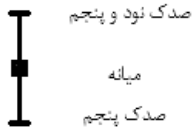
شکل پ-۵- غلظت شمارش‌های کلی کلنی روی آگار DG 18 بعد از نمونه‌برداری با ابزارهای مختلف در آزمون۱

آزمون۲ در ۳۳ آزمایشگاه با دستگاه های نمونه برداری مختلف انجام شده است. ,(June 2006) غلظت قارچ داخل اتاق از غلظت قارچ در آزمون۱ بیشتر بوده است. میانگین غلظت کل در تمام حجم های نمونه‌برداری ها برابر با (cfu/m^3) ۷۰۰ می‌باشد.(به شکل پ-۶ مراجعه کنید) مجددا زمانی که نتایج به صورت جداگانه برای حجم‌های مختلف محاسبه شوند، از نظر آماری تفاوت معناداری دارند. با افزایش حجم نمونه‌برداری، میانگین غلظت کاهش می‌یابد: (cfu/m^3)۸۸۴ برای ۵۰l و(cfu/m^3) ۷۰۴ برای l ۱۰۰ و (cfu/m^3) ۵۰۸ برای l ۲۰۰. تعداد کلنی‌های روی پلیت فقط برای حجم l ۵۰ در محدوده مطلوب (حدود ۹۰ کلنی) است.

تنها برای نمونه های با حجم l ۵۰ ، تعداد کلنی ها برای شمارش، برابر با ۹۰ کلنی می‌باشد. تعداد کلنی‌های روی پلیت در حجم‌های l ۱۰۰ و l ۲۰۰ بسیار زیاد می‌باشد. این مسئله نشان می‌دهد که در حجم‌های نمونه‌برداری بالاتر، غلظت کمتر است. انحراف معیار نتایج با مقادیر محاسبه شده از آزمون۱ (٪۲۰ محدوده شمارش بهینه) قابل مقایسه هستند. کلنی‌ها به صورت نرمال برای حجم‌های نمونه برداری توزیع شده‌اند. (داده‌ها نشان داده نشده است) غلظت‌های کمی پایین‌تر به وسیله ابزارهای مختلف نمونه‌برداری شناسایی شده، اگر چه مقایسه به خاطر تعداد کم نتایج، با این وسایل نمونه برداری مشکل است.



راهنما



v غلظت/(cfu/m^3)

V حجم نمونه برداری

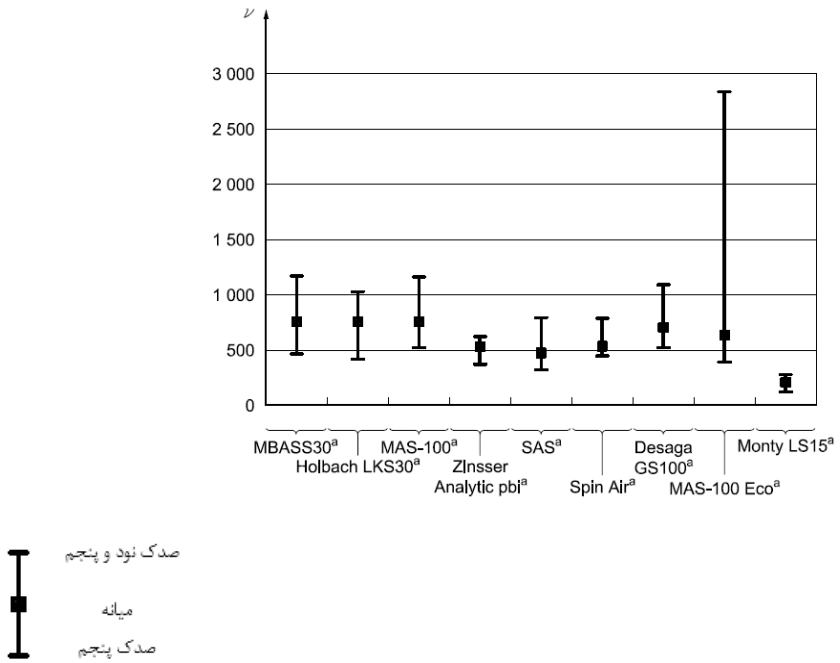
a کلی

شکل پ-۶- غلظت شمارش های کلی کلنی روی آگار DG 18 بعد از نمونه برداری با حجم های مختلف از روش برخورد دادن در آزمون۲

ابزار نمونه برداری مختلف در ۳۳ آزمایشگاه به کار برده شده است. (تعداد نمونه‌برداری استفاده شده در پرانتزها نشان داده شده است):

Holbach LKS30 (۱۱), MBASS30 (۱۲) ، MAS-100 (۴) ، Spin Air (۱)، Zinsser Analytic pbi (۱) ، Desaga GS100 (۱) ، SAS (۱) ، MAS-100 Eco (۱) ، Monty LS15 (۱) .

نتایج برای روش‌های MBASS ،LKS30 ،MAS-100 وDesaga ،GS100 با هم قابل مقایسه هستند. غلظت‌های پایین‌تر با ابزار نمونه‌برداریMonty LS15 ، مشاهده شده است. (به شکل ۷ مراجعه کنید) استفاده از پلیت‌های کوچک در نمونه‌برداری با Zinsser Analytic pbi, ،SAS ،Monty LS15 غلظت‌های کم‌تری را نشان می‌دهد. غلظت‌های کمی پایین‌تر به وسیله روش spin air شناسایی شده است. اگرچه مقایسه به خاطر تعداد کم نتایج با این وسایل نمونه‌برداری مشکل است.



راهنما

v غلظت/(cfu/m^3)

a تجهیزات موجود در بازار. این اطلاعات صرفا برای راحتی کاربران این سند بوده و به معنای تایید آن محصول مشخص، توسط سازمان استاندارد نمی‌باشد

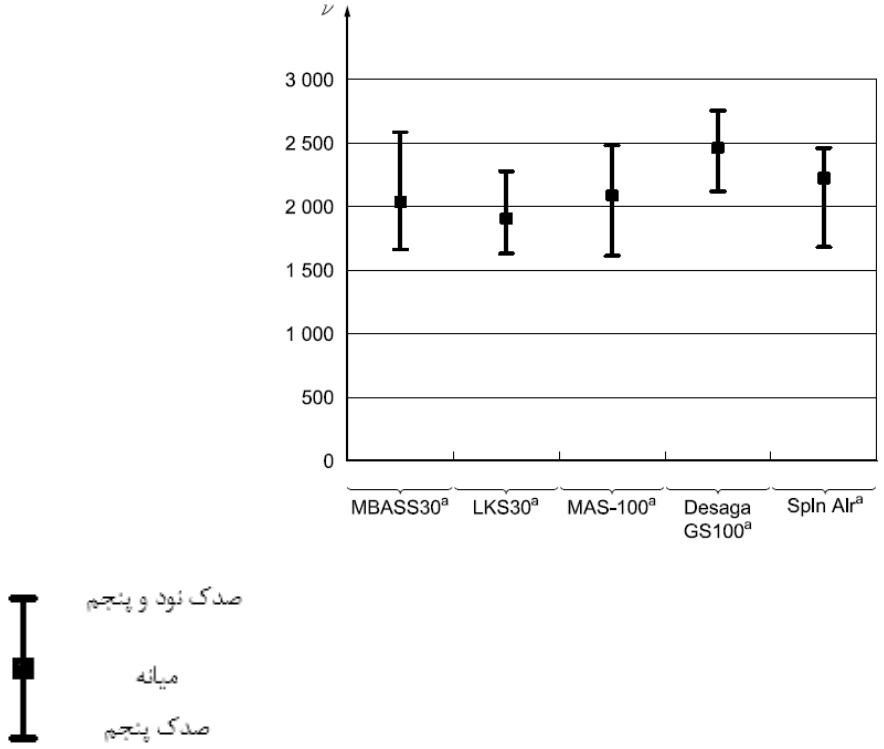
شکل پ-۷- غلظت کپک بدست آمده از نمونه برداری با ابزارهای مختلف در آزمون۲

۳۵ آزمایشگاه، آزمون۳ را به روش برخورد دادن و دستگاه‌های نمونه‌برداری مختلف انجام داده‌اند. (June 2007) غلظت قارچ در اتاق از آزمون۱ و آزمون۲ بیشتر بوده است. میانگین غلظت کل برابر با (cfu/m^3) ۲۰۰۰ می‌باشد (به شکل پ-۸ مراجعه کنید). تنها کلنی‌های روی پلیت های حجم ۵۰ l می‌توانند برای شمارش قابل استفاده هستند. (تقریبا ۱۰۰ کلنی در هر پلیت) در حجم‌های ۱۰۰ l و ۲۰۰ l تعداد قابل انتظار ۲۰۰ تا۴۰۰ کلنی بیش از حد رشد کرده بودند. این نتایج نشان‌دهنده محدودیت روش برخورد دادن در غلظت‌های بالای قارچ در هوا می‌باشد. انحراف معیار نتایج تقریبا برابر با ٪ ۵ تعداد کلنی‌ها برای قارچ های گونه *کلادوسپریوم* می‌باشد. انحراف معیار (٪ ۵۰ تا ٪۱۰۰) برای قارچ های با غلظت کم، بیشتر است. کلنی ها در حجم ۵۰ l به صورت نرمال توزیع شده‌اند. (داده‌ها نشان داده نشده است.)

دستگاه های نمونه برداری در ۳۵ آزمایشگاه مختلف استفاده شده‌اند. (تعداد نمونه برداری استفاده شده در پرانتزها نشان داده شده است :

Holbach LKS30 (۱۳), MBASS30 (۱۵) ، MAS-100 (۵) ، Spin Air (۱)، Zinsser Analytic pbi (۱) ، Desaga GS100 (۱) .

نتایجMBASS, LKS30, MAS-100 با هم قابل مقایسه هستند. (به شکل پ-۸ رجوع کنید). غلظت‌های کمی بالاتر با روش های spin air و Desaga GS100 آشکار شده اند. اگرچه، مقایسه به خاطر تعداد کم نتایج به دست آمده از این ابزارهای اندازه‌گیری، مشکل است.



v غلظت/(cfu/m^3)

a تجهیزات موجود در بازار. این داده ها صرفا جهت آسودگی کاربر این سند می‌باشد.

شکل پ-۸- غلظت شمارش‌های کلی کلنی روی آگار DG 18 پس از نمونه برداری با وسایل نمونه برداری مختلف در آزمون۳

کتاب‌نامه

[۱] استاندارد ملی ایران، شماره ۱۹۰۰۰: سال ۱۳۹۳، کیفیت هوا – جنبه‌های عمومی واژه نامه

[۲] استاندارد ملی ایران، شماره ۱-۱۰۸۰۴: سال ۱۳۸۸، هوای داخل، پیرامون و محل کار- نمونه‌برداری و تجزیه ترکیبات آلی فرار به وسیله لوله جاذب - واجذب حرارتی -کروماتوگرافی گازی مویینه ای- قسمت اول- نمونه برداری با پمپ

[۳] استاندارد ملی ایران، شماره ۲-۱۰۸۰۴: سال ۱۳۸۷، پیرامون و محل کار- نمونه برداری و تجزیه ترکیبات آلی فرار به وسیله لوله های جاذب و جذبی حرارتی-کروماتوگرافی گازی مویینه ای -قسمت دوم - نمونه برداری انتشاری

[4] ISO 7708:1995, Air quality — Particle size fraction definitions for health-related sampling

[5] ISO 12219-1, Indoor air of road vehicles — Part 1: Whole vehicle test chamber — Specification and method for the determination of volatile organic compounds in cabin interiors

[6] ISO 12219-2, Indoor air of road vehicles — Part 2: Screening method for the determination of the emissions of volatile organic compounds from vehicle interior parts and materials — Bag method

[7] ISO 12219-3, Indoor air of road vehicles — Part 3: Screening method for the determination of the emissions of volatile organic compounds from vehicle interior parts and materials — Micro-chamber method

[8] ISO 12219-4, Indoor air of road vehicles — Part 4: Determination of the emissions of volatile organic compounds from car trim components — Small chamber method

[9] ISO 12219-52) , Indoor air of road vehicles — Part 5: Screening method for the determination of emissions of volatile organic compounds (VOC) from car trim components — Static chamber method

[10] EN 13098:2000, Workplace atmosphere — Guidelines for measurement of airborne micro-organisms and endotoxin

[11] VDI 4300 Part 10:2008, Messen von Innenraumluftverunreinigungen — Messstrategien zum Nachweis von Schimmelpilzen im Innenraum[Measurement of indoor air pollution — Measurement strategies for determination of mould fungi in indoor environment]

[12] RICHARDSON, N., SZABO, E. Results of round-robin tests to proof impaction as a sampling method to collect mould fungi spores in indoor air. Gefahrst. Reinhalt. L.2007, 67, pp. 425-428