



ΠΕΙΡΑΜΑ 1

ΘΕΜΑ: ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΝΕΡΟΥ

NUI, Galway
Δευτέρα 16^η Μαΐου, 2005

Γενικές οδηγίες

Να φοράτε τη μπλούζα εργαστηρίου και τα προστατευτικά γυαλιά συνέχεια

Απαγορεύεται να τρώτε και να πίνετε στο εργαστήριο

Να φορείτε προστατευτικά γάντια όταν χειρίζεστε χημικά και μικροβιολογικά δείγματα

Όλα τα φύλλα που θα χρησιμοποιήσετε καθώς και πρόχειρη εργασία πρέπει να παραδοθούν στο τέλος

Τα αποτελέσματα να καταχωρούνται στο τετράδιο απαντήσεων

Η γραφική παράσταση να παραδοθεί με το τετράδιο απαντήσεων

Θα βαθμολογηθεί μόνο το τελικό τετράδιο απαντήσεων και η επισυνημμένη γραφική παράσταση

Εκεί που ζητείται υπογραφή του επιτηρητή εργαστηρίου για κάποιο αποτέλεσμα πριν το επόμενο βήμα, οι μονάδες θα δίνονται μόνο αν ο επιτηρητής υπογράψει στον κατάλληλο χρόνο

Οι ασκήσεις μπορούν να διεκπεραιώνονται με οποιαδήποτε σειρά επιθυμείτε

Μονάδες κάθε άσκησης

Άσκηση 1: 9 μονάδες

Άσκηση 2: 25 μονάδες

Άσκηση 3: 32 μονάδες

Άσκηση 4: 11 μονάδες

Άσκηση 5: 11 μονάδες

Άσκηση 6: 12 μονάδες

Το σενάριο

Οι κάτοικοι μιας περιοχής ζητούν έρευνα σχετικά με τους ρύπους, την προέλευση και το είδος τους, οι οποίοι διοχετεύονται στον ποταμό που διασχίζει την περιοχή.

Οικιστικές μονάδες και βιομηχανίες διοχετεύουν τα απόβλητά τους (λύματα και απόβλητα γαλακτοκομικών και χημικών βιομηχανιών) με την επεξεργασία τους, στον τοπικό ποταμό ο οποίος εκβάλλει στη θάλασσα παρά την τοπική τουριστική περιοχή. Μερικές από τις μονάδες επεξεργασίας είναι παλαιού τύπου και όχι πολύ αποτελεσματικές.

Ζητήθηκε να διερευνηθεί η φύση και οι επιπτώσεις των ρύπων στο περιβάλλον.

Για την έρευνα αυτή, δείγματα γλυκού νερού (του ποταμού) και θαλάσσιου νερού συλλέγονται από επτά (7) διαφορετικές περιοχές (Σχήμα 1: Περιοχές 1-7) και αναλύονται η φύση των δειγμάτων και η οργανική και χημική επιβάρυνση. Τα 7 δείγματα αναλύθηκαν από το Κρατικό Χημείο και τα αποτελέσματα για κάθε δείγμα παραδόθηκαν στις τοπικές αρχές.

Πριν την ανάλυση και τα 7 δείγματα συλλέχθηκαν εις διπλούν και ένα σετ σε ανεξάρτητο χημείο για επαλήθευση των αποτελεσμάτων (χρησιμοποιώντας εναλλακτικές μεθόδους όπου ήταν δυνατό). Η ομάδα σας αποτελεί ένα από αυτά τα ανεξάρτητα εργαστήρια.

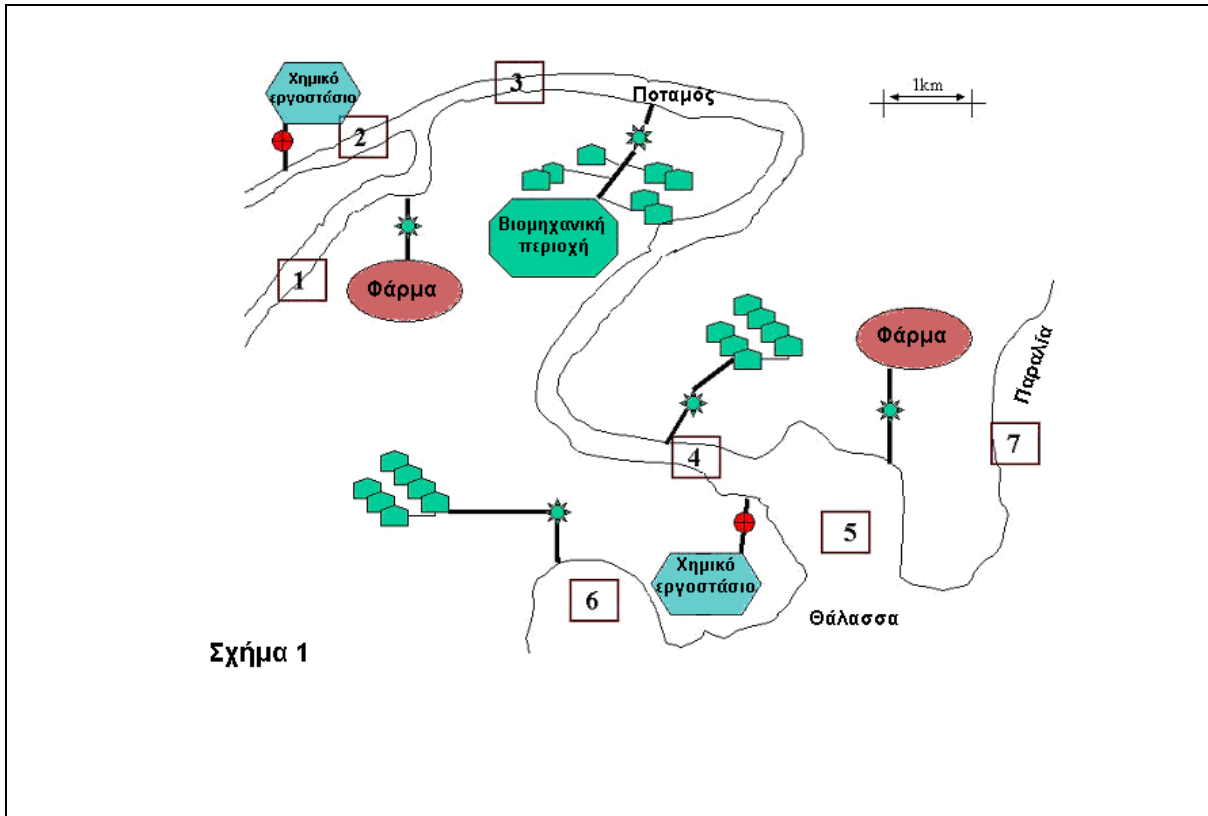
Η ομάδα σας έχει πάρει 3 από αυτά τα δείγματα για ανάλυση. Τα δείγματα χαρακτηρίστηκαν τυχαία ως δείγματα A, B και C.

Χρησιμοποιώντας τα δείγματα (A, B, C) να προσδιορίσετε τα ακόλουθα:

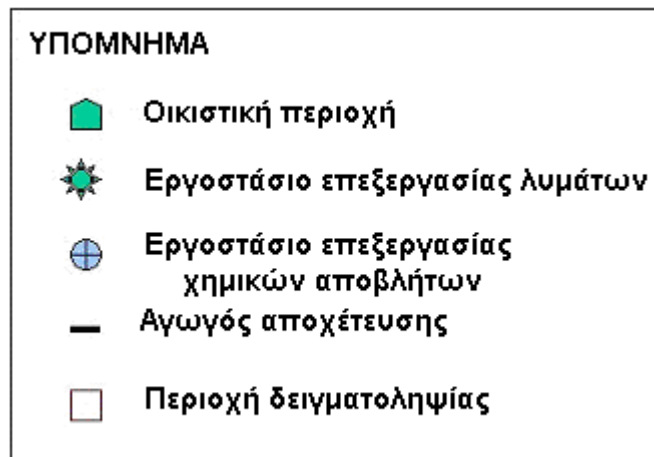
1. Τη φύση του δείγματος του νερού (γλυκό ή θαλάσσιο)
2. Τη φύση και όπου είναι το ποσοστό των οργανικών ρύπων
3. Την ταυτότητα και την προέλευση των χημικών ρύπων
4. Την περιοχή δειγματοληψίας

Για να διεκπεραιώσετε αυτή την εργασία σας ζητείτε να ασχοληθείτε με τις πιο κάτω εργασίες (με τη σειρά που επιθυμείτε).

1. Να βρείτε τα επίπεδα των **Βακτηρίων** που υπάρχουν σε κάθε δείγμα (σε μονάδες σχηματισμένων αποικιών ανά 100 mL)
2. Να βρείτε το **Χημικό Ρύπο (R)** που υπάρχει μόνο στο **Δείγμα A**
3. Να βρείτε την **Πυκνότητα** και των τριών δειγμάτων
4. Να βρείτε το είδος των βακτηρίων με τη μέθοδο **Gram stain**, το σχήμα των κυττάρων των βακτηρίων και τη διαμόρφωσή τους στο χώρο
5. Να βρείτε το **Οργανικό φορτίο** που υπάρχει στα δείγματα με τη μέθοδο BOD (μόνο για την 5^η ημέρα). (Βλέπε σελίδα 14 για λεπτομερή επεξήγηση του BOD)
6. Να βρείτε τις **Περιοχές Δειγματοληψίας** των δειγμάτων A, B και C



Σχήμα 1



Εργασία 1 – Εύρεση ποσοστών των βακτηρίων

Έχετε πάρει 3 δοχεία Petri με διαφορετικές συγκεντρώσεις (κάθε ένα είναι 10 φορές πιο αραιωμένο από το άλλο) των δειγμάτων Α, Β και C και σας ζητείτε να υπολογίσετε τον αριθμό των αποικιών ανά 100 ml των αρχικών δειγμάτων Α, Β, και C. Η συγκέντρωση του κάθε δείγματος αναγράφεται στο κάθε δοχείο Petri.

Υπολογισμός των Μονάδων των Αποικιών* (Colony Forming Units) (CFU's) ανά 100 ml Δείγματος.

0.1 ml του δείγματος χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του κάθε δοχείου. Να διαιρέσετε τον αριθμό των αποικιών σε κάθε δοχείο με τον παράγοντα αραιώσης για να πάρετε τον αριθμό των CFU's σε 0.1 ml του δείγματος. Για παράδειγμα, εάν οι αποικίες είναι 125 στο δοχείο με συγκέντρωση 10^{-7} τότε υπάρχουν

$$(125) / (10^{-7}) = 1.25 \times 10^9 \text{ CFU's ανά } 0.1 \text{ ml δείγματος}$$

Μετά, εκφράζετε το αποτέλεσμα σε CFU's ανά 100 ml.

Αποτελέσματα

Καταγράψετε τα αποτελέσματά σας για την ερώτηση 1 στο τετράδιο απαντήσεων

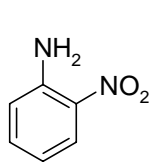
** Η αποικία είναι μια ορατή περιοχή παρουσίας βακτηρίων που αναπτύσσεται στο δοχείο Petri.*

ΕΧΕΤΕ ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΕΙ ΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ 1

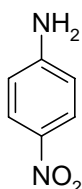
ΕΡΓΑΣΙΑ 2 – Να βρείτε τους χημικούς ρύπους του δείγματος Α μόνο

Το πρόβλημα:

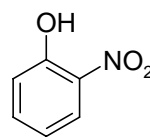
Ένα από τα χημικά εργοστάσια που φαίνονται στο χάρτη (σχήμα 1) είναι εργοστάσιο που χρησιμοποιεί ανιλίνες και φαινόλες για παρασκευή αζωχρωμάτων. Μία από τις ακόλουθες τρεις ενώσεις: ορθο-νιτροανιλίνη (**X**), παρα-νιτροανιλίνη (**Y**) και ορθο-νιτροφαινόλη (**Z**) έχει κατά λάθος ελευθερωθεί από το εργοστάσιο στον ποταμό. Ο χημικός αυτός ρύπος λήφθηκε από το Δείγμα Α και βρίσκεται σε κατάλληλο οργανικό διαλύτη. Η ένωση αυτή είναι ο χημικός ρύπος (**R**). Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) να βρείτε το ρύπο (**R**) μεταξύ των 3 δειγμάτων (**X**), (**Y**) και (**Z**). Θα παρασκευάσετε τα αζωχρώματα που παράγει το εργοστάσιο αντιδρώντας το διαζωνικό άλας του (**R**) με φαινόλη και 1-ναφθόλη. Απαιτείται να γνωρίζετε τα χρώματα αυτών των χρωστικών ουσιών για να ελέγχετε τις μελλοντικές εκπομπές του εργοστασίου



(X)



(Y)



(Z)

Απαντάτε τώρα την ερώτηση 2 στο τετράδιο απαντήσεων.

Σύντομη περιγραφή της μεθόδου χρωματογραφίας Λεπτής Στιβάδας (TLC):

Η χρωματογραφία διαχωρίζει ενώσεις σε μείγμα σύμφωνα με τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ της στατικής και της κινούμενης φάσης. Στην περίπτωση αυτή η στατική φάση είναι το silica gel που έχει απορροφηθεί σε αργίλιο, και ονομάζεται συνήθως πλάκα TLC. Η κινούμενη φάση είναι ένα μείγμα οργανικών διαλυτών. Η περισσότερο πολική ένωση αλληλεπιδρά ισχυρότερα με το silica gel και χρειάζεται περισσότερο πολικούς διαλύτες για να κινηθεί προς την πάνω μεριά της πλάκας. Η λιγότερο πολική ένωση κινείται προς την πάνω μεριά της πλάκας ταχύτερα και απαιτεί διαλύτη μικρότερης πολικότητας ή απολικό διαλύτη για να κινηθεί προς την πάνω πλευρά της πλάκας. Ο πολικός διαλύτης είναι το Οξικό αιθύλιο (Ethyl acetate) και ο απολικός διαλύτης το εξάνιο (hexane).

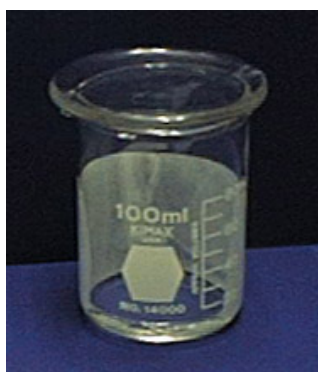
Διαδικασία TLC:

1. Με ένα μολύβι σημειώστε σε ίσες αποστάσεις 4 σημεία πάνω στην υπάρχουσα γραμμή της πλάκας και κάτω από κάθε σημείο γράψετε X, Y, Z και R. Μην ακουμπήσετε την πλάκα με το δάκτυλό σας γιατί οι οργανικές ουσίες στα δάκτυλά σας θα επηρεάσουν την ανάλυση. Χρησιμοποιείτε τσιμπίδες για να πιάνετε τις πλάκες TLC.

2. Με τα τριχοειδή σωληνάκια (TLC Spotters) τοποθετήστε 4 σταγόνες (μια για κάθε ένωση) πάνω στα σημεία που εσείς τοποθετήσατε X, Y, Z και R. Κάθε σταγόνα δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 3 mm σε διάμετρο. Οι σταγόνες πρέπει να φαίνονται καθαρά (κίτρινες ή

πορτοκαλί) πάνω στο λευκό silica. Αν χρειαστεί τοποθετήστε περισσότερες σταγόνες μέχρι να φανεί το ζητούμενο χρώμα χωρίς να υπερβεί η διάμετρος τα 3 mm.

3. Η πρώτη πλάκα TLC να τοποθετηθεί στο ποτήρι ζέσεως (το οποίο εσωτερικά είναι επενδυμένο με διηθητικό χαρτί) που περιέχει 5-6 cm³ 20% (κατά όγκο) οξικό αιθύλιο (ethyl acetate) και 80% (κατά όγκο) εξάνιο. Είναι σημαντικό να φροντίσετε ώστε όταν τοποθετήσετε την πλάκα στο ποτήρι ζέσεως (Development Tank) ο διαλύτης να μη φτάνει στη γραμμή όπου είναι τοποθετημένες οι σταγόνες.



Σχήμα 2: Παράδειγμα ποτηριού ζέσεως (Development Tank)

Τοποθετήστε μία ύαλο ωρολογίου (watch-glass) πάνω στο ποτήρι ζέσεως για να περιορίζεται η εξάτμιση του διαλύτη. Μαζί με το διηθητικό χαρτί, η ύαλος ωρολογίου διατηρεί κορεσμένη ατμόσφαιρα μέσα στο ποτήρι ζέσεως.

4. Τοποθετήστε προσεκτικά την πλάκα TLC μέσα στο ποτήρι ζέσεως. Το ποτήρι να παραμείνει κλειστό με την ύαλο ωρολογίου καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Να περιμένετε μέχρι ο διαλύτης να φτάσει 1 cm από την άκρη της πλάκας TLC πριν αφαιρέσετε την πλάκα από το ποτήρι με τη χρήση τσιμπιδας. Αμέσως να σημειώσετε το ύψος στο οποίο έφτασε ο διαλύτης στην πλάκα. Αυτό είναι το μέτωπο (front) του διαλύτη.

5. Σημειώστε με κύκλο τις τελικές θέσεις των κηλίδων και να μετρήσετε την απόσταση του κέντρου της κάθε κηλίδας από την αρχική γραμμή. Η απόσταση αυτή να καθοριστεί ως **(a)** και να μετρήσετε επίσης την απόσταση του μετώπου του διαλύτη από την αρχική γραμμή **(b)**. Τώρα να υπολογίσετε τον παράγοντα επιβράδυνσης (Retardation Factor) R_f για κάθε ένωση **(X)**, **(Y)** και **(Z)**, όπου $R_f = (a)/(b)$.

Τώρα να απαντήσετε τις Ερωτήσεις 3-5 στο τετράδιο απαντήσεων

Να επαναλάβετε τη διαδικασία χρησιμοποιώντας ως διαλύτη ένα μείγμα από 30% οξικό αιθύλιο και 70% εξάνιο.

Τώρα να απαντήσετε τις Ερωτήσεις 6-8 στο τετράδιο απαντήσεων

Η τιμή R_f της άγνωστης ένωσης **(R)** θα είναι η ίδια με μία των ενώσεων **(X)**, **(Y)** ή **(Z)** του δοσμένου διαλύτη η οποία θα σας βοηθήσει να αναγνωρίσετε τη ζητούμενη ένωση.

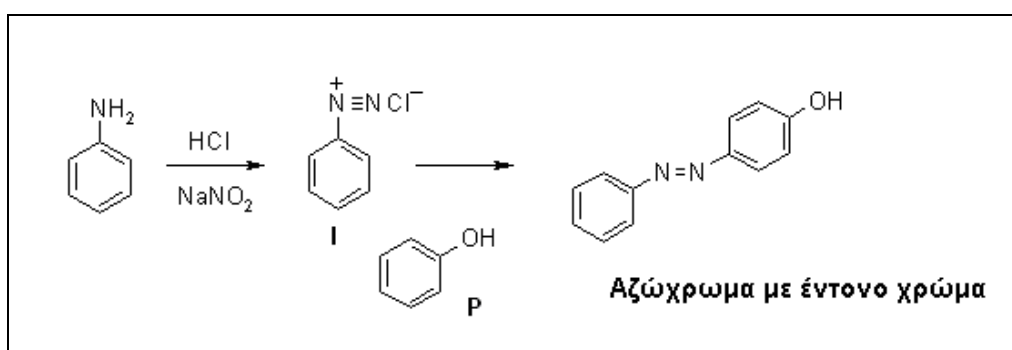
Τώρα να απαντήσετε τις Ερωτήσεις 9-10 στο τετράδιο απαντήσεων

Σύνθεση των αζωχρωμάτων

Η πιο κάτω εργασία περιλαμβάνει την παρασκευή δύο από τα αζωχρώματα που παράγονται στο εργοστάσιο. Κάθε αζώχρωμα έχει διαφορετικό χρώμα.

Σύντομη περιγραφή των αντιδράσεων

Τα αζωχρώματα παρασκευάζονται με τη σύζευξη ενός διαζωνιακού άλατος (π.χ. ένωση **I** στον τύπο 1) με μια ενεργοποιημένη αρωματική ένωση (π.χ. φαινόλη **P** στον τύπο 1). Το διαζωνικό άλας, π.χ. **I**, απομονώνεται από την αντίδραση μίας ανιλίνης με νιτρώδες οξύ. Το νιτρώδες οξύ παράγεται (HNO_2) παράγεται επί τόπου από την αντίδραση του νιτρώδους νατρίου (NaNO_2) με αραιό υδροχλωρικό οξύ (HCl). Τα διαζωνιακά άλατα είναι ασταθή και διατηρούνται στους $0\text{ }^\circ\text{C}$.



Τύπος 1:

Τώρα να απαντήσετε την Ερώτηση 11 στο τετράδιο απαντήσεων

Διαδικασία (χρησιμοποιώντας τους 12 δοκιμαστικούς σωλήνες που έχετε προμηθευτεί)

Σημείωση – Να ζητάτε πάγο όποτε χρειάζεται

1. Σε $2\text{-}3\text{ cm}^3$ υδροχλωρικού οξέος να προσθέσετε με τη σπάτουλα πολύ μικρή ποσότητα του αγνώστου στερεού (**R**). Να αναδεύσετε καλά το διάλυμα χρησιμοποιώντας τη γυάλινη ράβδο ενώ ψύχετε στον πάγο.
2. Με τον ίδιο ακριβώς τρόπο να παρασκευάσετε διάλυμα νιτρώδους νατρίου (sodium nitrite) σε $2\text{-}3\text{ cm}^3$ νερού. Να αναδεύσετε καλά το διάλυμα χρησιμοποιώντας τη γυάλινη ράβδο ενώ ψύχετε στον πάγο.
3. Να προσθέσετε το κρύο διάλυμα νιτρώδους νατρίου στο κρύο όξινο διάλυμα (**R**) για να σχηματιστεί το διαζωνιακό άλας. Να διατηρείτε το διάλυμα στον πάγο.
4. Σε ένα τρίτο δοκιμαστικό σωλήνα, αναδεύσετε πολύ μικρή ποσότητα (στη μύτη της σπάτουλας) φαινόλης με 3 cm^3 υδροξειδίου του νατρίου sodium hydroxide (alkali).
5. Να αναμείξετε μικρή ποσότητα του διαλύματος του διαζωνιακού άλατος με το αλκαλικό διάλυμα της φαινόλης. Η αντίδραση γίνεται γρήγορα και καταβυθίζεται πολύ γρήγορα ένα έγχρωμο ίζημα. Πρόκειται για ακατέργαστα αζωχρώματα.
6. Να παρασκευάσετε το αζώχρωμα από το διαζωνιακό άλας και την ενεργοποιημένη αρωματική ένωση 1-ναφθόλη (1-naphthol).

Τώρα να απαντήσετε τις Ερωτήσεις 12 και 13 στο τετράδιο απαντήσεων

ΕΧΕΤΕ ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΕΙ ΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ 1

ΕΡΓΑΣΙΑ 3 – Να βρείτε την πυκνότητα κάθε δείγματος

Εισαγωγή

Το γλυκό νερό έχει πυκνότητα 1000 kg m^{-3} στους 4°C . Η πυκνότητα δείγματος του θαλάσσιου νερού εξαρτάται από τη θερμοκρασία, τα διαλυμένα άλατα και άλλες διαλυμένες ουσίες. Χαρακτηριστικές πυκνότητες στην επιφάνεια του ωκεανού κυμαίνονται μεταξύ 1025 kg m^{-3} - 1030 kg m^{-3} . Το νερό στις εκβολές των ποταμών, στους κόλπους και εκεί όπου το γλυκό νερό των ποταμών αναμειγνύεται με το θαλάσσιο νερό έχει πυκνότητα μεταξύ της πυκνότητας του γλυκού νερού και του θαλάσσιου νερού. Η πυκνότητά του εξαρτάται από την ακριβή αναλογία γλυκού και θαλάσσιου νερού στο δείγμα. Αυτό επηρεάζεται από το σημείο δειγματοληψίας σε σχέση με τις εκβολές του ποταμού, την ποσότητα του γλυκού νερού και της παλίρροιας.

Το πυκνόμετρο χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της πυκνότητας ενός υγρού. Στην εργασία αυτή θα κατασκευάσετε ένα πυκνόμετρο και θα μετρήσετε τις πυκνότητες δειγμάτων νερού.

Κατασκευή του πυκνόμετρου

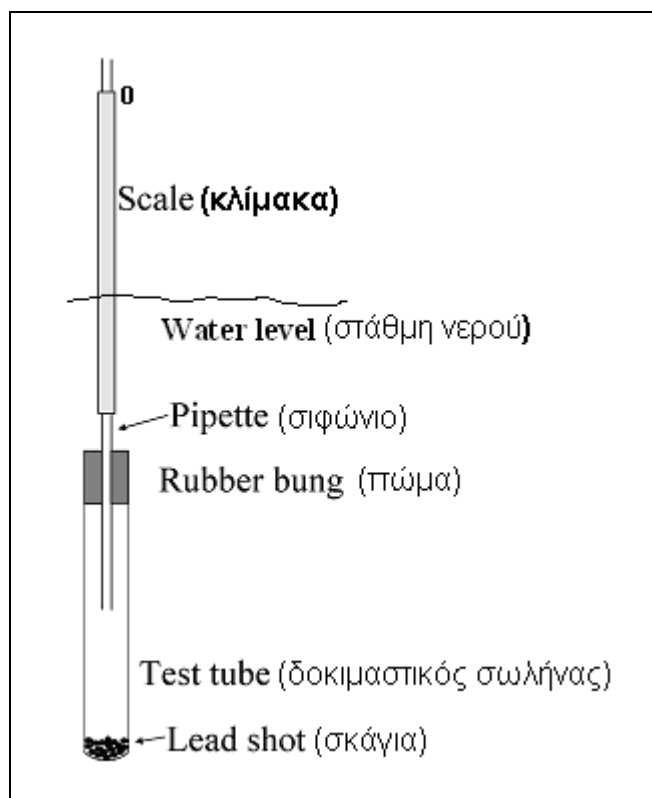
Αρχές λειτουργίας πυκνόμετρου

Η αρχή του Αρχιμήδη μας λέει ότι όταν ένα σώμα ολόκληρο ή μέρος του είναι βυθισμένο σε ένα υγρό, εξασκείται πάνω του κατακόρυφη δύναμη ίση με το βάρος του υγρού που εκτοπίζεται.

Διαδικασία κατασκευής

Σας έχουν δοθεί όλα τα υλικά που απαιτούνται για την κατασκευή πυκνόμετρου, όπως στο σχήμα 3. Να κατασκευάσετε το πυκνόμετρο ως ακολούθως:

- (i) Να περάσετε το πλαστικό σιφώνιο (pipette) μέσα από την τρύπα του πώματος αφήνοντας τη μύτη του σιφωνίου έξω από το δοκιμαστικό σωλήνα.
- (ii) Να επενδύσετε εξωτερικά το σιφώνιο με την αυτοκόλλητη ταινία η οποία τελικά θα χρησιμοποιηθεί ως κλίμακα. Να τοποθετήσετε την τιμή “0” στην κλίμακα μερικά εκατοστόμετρα από την κορυφή του σιφωνίου. Στην περίπτωση που η κλίμακα αποκολληθεί λόγω της επαφής της με το νερό, να σημειώσετε τη θέση του “0” πάνω στο σιφώνιο.



Σχήμα 3: Το πυκνόμετρο

(iii) Να υπολογίσετε τη μάζα των σκαγιών που πρέπει να προσθέσετε ώστε το πυκνόμετρό σας να επιπλέει στο γλυκό νερό με τον περισσότερο όγκο του βυθισμένο κάτω από την επιφάνεια. Πιο κάτω δίνονται οι μάζες των διαφόρων υλικών του πυκνόμετρου (εκτός αυτή των σκαγιών).

Υλικό	Μάζα (g)
Δοκιμαστικός σωλήνας	42
Πώμα	16
Σιφώνιο	1.5
Κλίμακα	0.5

(Συμβουλή: Για την εργασία αυτή χρειάζεται να μετρήσετε ή να υπολογίσετε τον όγκο του πυκνόμετρου).

Να καταχωρήσετε τους υπολογισμούς και το αποτέλεσμα στην ερώτηση 14 του τετραδίου απαντήσεων.

ΠΡΙΝ ΠΡΟΧΩΡΗΣΕΤΕ να ζητήσετε από τον επιτηρητή να υπογράψει εκεί που κάνατε τους υπολογισμούς.

(iv) Να προσθέσετε αρκετά σκάγια στο δοκιμαστικό σωλήνα ώστε το πυκνόμετρο να επιπλέει στο γλυκό νερό της βρύσης, με τη στάθμη του νερού να βρίσκεται κοντά στην τιμή

“0”. Αν χαλαρώσει το πόμα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, να μαρκάρετε πάνω στο γυαλί τη θέση του πόματος (για να τοποθετείται πάντοτε στην ίδια θέση).

Να μετρήσετε την απόσταση μεταξύ του “0” και της στάθμης του νερού και να την καταχωρήσετε στην ερώτηση 15 του τετραδίου απαντήσεων.

Βαθμονόμηση του πυκνόμετρου

Η κλίμακα να βαθμονομηθεί πριν το πυκνόμετρο να μπορεί να χρησιμοποιείται για τη μέτρηση πυκνοτήτων. Για το σκοπό αυτό να σχεδιάσετε καμπύλη βαθμονόμησης για το πυκνόμετρό σας. Η καμπύλη βαθμονόμησης είναι γραφική παράσταση των ενδείξεων του πυκνόμετρου σε σχέση με την πυκνότητα. Τα δεδομένα γι’ αυτή την παράσταση λαμβάνονται όταν βυθίζουμε το πυκνόμετρο σε υγρά γνωστής πυκνότητας.

Δεν θα υποθέσετε ότι οι ενδείξεις του πυκνόμετρου σε σχέση με την πυκνότητα μεταβάλλονται γραμμικά. Σας έχουν δοθεί περίπου 1000 cm^3 θαλάσσιου νερού το οποίο έχει πυκνότητα 1026 kg m^{-3} . Επίσης έχετε στη διάθεσή σας γλυκό νερό της βρύσης με πυκνότητα 1000 kg m^{-3} . Αυτά τα διαλύματα προσφέρουν δύο σημεία για την καμπύλη βαθμονόμησης. Για επιπρόσθετα σημεία, διαλύματα με γνωστές πυκνότητες μπορούν να παρασκευαστούν διαλύοντας προσεκτικά θαλάσσιο νερό με ανάλογες ποσότητες γλυκού νερού. Η καμπύλη βαθμονόμησης μπορεί να κατασκευαστεί με τα σημεία που βρήκατε χρησιμοποιώντας αραιωμένα δείγματα θαλασσινού νερού.

(i) Να καταλήξετε σε ένα τύπο που να δίνει την πυκνότητα του διαλύματος που θα φτιάξετε εάν αναμείξετε ένα όγκο V_1 υγρού με πυκνότητα ρ_1 μαζί με όγκο V_2 υγρού πυκνότητας ρ_2 .

Να καταχωρήσετε τον τύπο στον οποίο καταλήξατε στην ερώτηση 16 του τετραδίου απαντήσεων.

(ii) Πριν εκτελέσετε οποιεσδήποτε μετρήσεις να προγραμματίσετε τη σειρά των αραιώσεων ώστε να φτιάξετε διαλύματα διαφορετικών πυκνοτήτων

Να αρχίσετε με το θαλάσσιο νερό. Συμπεριλαμβανομένων των πυκνοτήτων 1026 kg m^{-3} και 1000 kg m^{-3} , η γραφική σας παράσταση πρέπει να περιλαμβάνει 7 σημεία. Μπορείτε να χρησιμοποιήσετε όσο γλυκό νερό επιθυμείτε αλλά έχετε μόνο 1000 cm^3 θαλάσσιου νερού στη διάθεσή σας.

Να προγραμματίσετε βήμα προς βήμα ένα σχέδιο πώς να κάνετε τις αραιώσεις, δίνοντας την πυκνότητα του διαλύματος μετά από κάθε αραιώση. Αυτός ο προγραμματισμός πρέπει να γίνει πολύ προσεκτικά και απαιτεί αρκετό χρόνο.

Να ελέγξετε τον προγραμματισμό σας προσεκτικά πριν να τον καταχωρήσετε στον πίνακα της Ερώτησης 17 του τετραδίου απαντήσεων.

Πριν προχωρήσετε στο επόμενο στάδιο ΖΗΤΗΣΤΕ από τον επιτηρητή να υπογράψει τον προγραμματισμό αραιώσεων. Αν αποφασίσετε να αλλάξετε κάτι στη συνέχεια, θα πρέπει να υπογραφούν αυτές από τον επιτηρητή.

(iii) Να μεταφέρετε το δείγμα του θαλάσσιου νερού στο βαθμολογημένο κύλινδρο και να τοποθετήσετε σ’ αυτόν το πυκνόμετρο.

Να μετρήσετε την απόσταση μεταξύ του “0” και της στάθμης του θαλάσσιου νερού και να την καταχωρήσετε στην ερώτηση 18 του τετραδίου απαντήσεων.

(iv) Να πραγματοποιήσετε τις αραιώσεις σύμφωνα με τον προγραμματισμό σας.

Για κάθε αραιωμένο διάλυμα να καταχωρήσετε την πυκνότητα του διαλύματος και την ένδειξη του πυκνόμετρου στην ερώτηση 18 του τετραδίου απαντήσεων. Ο επιτηρητής πρέπει να παρακολουθεί και να υπογράφει ορισμένες μετρήσεις όπως φαίνονται στον πίνακα του τετραδίου απαντήσεων.

Να ζητήσετε από τον επιτηρητή να υπογράψει τον πίνακά σας ΠΡΙΝ ΝΑ ΠΡΟΧΩΡΗΣΕΤΕ ΣΤΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟ ΤΗΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ.

(v) (Ερώτηση 19) Να σχεδιάσετε την καμπύλη βαθμονόμησης για το πυκνόμετρό σας στο μιλιμετρικό χαρτί που πήρατε. Αν αισθάνεστε ότι επιβάλλεται να σχεδιάσετε την καταλληλότερη γραμμή μεταξύ των σημείων. Να μη ξεχάσετε να περιλάβετε την καμπύλη βαθμονόμησης στο τετράδιο απαντήσεων.

Μέτρηση των πυκνοτήτων των δειγμάτων

Έχετε πάρει 3 δείγματα που χαρακτηρίστηκαν Α, Β, και C. Να χρησιμοποιήσετε το πυκνόμετρό σας για να μετρήσετε τις πυκνότητες αυτών των δειγμάτων. Δεν χρειάζεται να προσδιορίσετε τα σφάλματα.

Να καταχωρήσετε τις ενδείξεις του πυκνόμετρου και τις αντίστοιχες πυκνότητες για κάθε ένα από τα δείγματα Α, Β, και C στην ερώτηση 20 του τετραδίου απαντήσεων.

ΕΧΕΤΕ ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΕΙ ΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ 3

ΕΡΓΑΣΙΑ 4 – ΜΕΘΟΔΟΣ Gram Stain, ΣΧΗΜΑ ΚΥΤΤΑΡΟΥ ΚΑΙ ΔΙΑΡΥΘΜΙΣΗ ΣΤΟ ΧΩΡΟ

Να κάνετε ανάλυση Gram stain σε καθεμιά από τις έτοιμες αντικειμενοφόρες πλάκες των βακτηριακών καλλιιεργειών από την Εργασία 1 (Δείγματα Α, Β, και C).

Θεωρία

Η τεχνική αυτή γίνεται για να ταξινομηθούν τα βακτήρια σε δύο ομάδες. Gram positive, και Gram negative.

- Οργανισμοί Gram positive (+) χρωματίζονται μπλε.
- Οργανισμοί Gram negative (-) χρωματίζονται κόκκινοι.

Σημείωση: Έχετε προμηθευτεί με δύο δείγματα Β για σκοπούς εξάσκησης στην περίπτωση κάποιου λάθους.

Διαδικασία

Η διαδικασία πρέπει να γίνεται στο ειδικό δοχείο (staining bowl). Να φορείτε γάντια.

ΣΤΑΔΙΟ 1: Τοποθετήστε την πλάκα στο διχαλωτό σύρμα τοποθετημένο πάνω στο staining bowl. Να προστεθεί το πρώτο αντιδραστήριο crystal violet. Να παραμείνει για 60 δεύτερα. Να ξεπλύνετε για 5 δεύτερα με τον υδροβολέα.

ΣΤΑΔΙΟ 2: Να προσθέσετε το ιώδιο. Να παραμείνει για 60 δεύτερα. Να ξεπλύνετε για 5 δεύτερα με τον υδροβολέα

ΣΤΑΔΙΟ 3: Να προσθέσετε το αντιδραστήριο για τον αποχρωματισμό. Να προσθέσετε το διάλυμα κατά σταγόνες για ένα λεπτό. Να ξεπλύνετε για 5 δεύτερα με τον υδροβολέα

ΣΤΑΔΙΟ 4: Να προσθέσετε τη safranin. Μετά από 60 δεύτερα ξεπλένετε και τα κύτταρα Gram positive θα παραμείνουν μπλε. Τα βακτήρια Gram negative θα χρωματιστούν κόκκινα. Να ξεπλύνετε για 5 δεύτερα με τον υδροβολέα

Μετά, να στεγνώσετε την πλάκα πιέζοντάς ελαφριά στο διηθητικό χαρτί και να την αφήσετε εκτεθειμένη στην ατμόσφαιρα για μερικά λεπτά πριν την κοιτάξετε στο μικροσκόπιο.

Να μελετήσετε την πλάκα με το μικροσκόπιο χρησιμοποιώντας μεγέθυνση X40 πρώτα και μετά X100. Να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος oil immersion.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: ΠΡΙΝ ΚΑΤΑΧΩΡΗΣΕΤΕ ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΑΣ, Η ΕΡΓΑΣΙΑ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΘΕΙ ΑΠΟ ΤΟΝ ΕΠΙΤΗΡΗΤΗ

Αποτελέσματα

Να απαντήσετε τις πιο κάτω απαντήσεις σημειώνοντας ν στο κατάλληλο κουτί στους πίνακες της ερώτησης 21 του τετραδίου απαντήσεων. Να συμβουλευθείτε το Παράρτημα 1.

Results:

- (i) Να περιγράψετε το σχήμα και τη διευθέτηση στο χώρο του κάθε δείγματος
- (ii) Να προσδιορίσετε ποιο δείγμα περιέχει *E.coli* και κατ' επέκταση είναι μολυσμένο με λύματα.
- (iii) Να προσδιορίσετε πιο δείγμα περιέχει γαλακτοβακτήρια και κατ' επέκταση είναι μολυσμένο με απόβλητα της φάρμας

ΕΧΕΤΕ ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΕΙ ΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ 4

ΕΡΓΑΣΙΑ 5 – Οργανικό φορτίο από Βιολογικά Απαιτούμενο Οξυγόνο (BOD).

Εισαγωγή.

Οι μικροοργανισμοί όπως τα βακτήρια είναι υπεύθυνα για την αποσύνθεση οργανικών απορριμμάτων. Όταν οργανική ύλη όπως φυτά, λύματα ή υπολείμματα τροφών ευρίσκεται στο προμηθευόμενο νερό τα βακτήρια αρχίζουν τη διάσπαση των απορριμμάτων. Όταν συμβεί αυτό τα αερόβια βακτήρια καταναλίσκουν μεγάλη ποσότητα διαλυμένου οξυγόνου στερώντας από άλλους υδρόβιους οργανισμούς το οξυγόνο που χρειάζονται για να επιβιώσουν. Το Βιολογικά Απαιτούμενο Οξυγόνο (BOD) είναι μέτρο για το οξυγόνο που χρησιμοποιούν οι οργανισμοί για τη διάσπαση των απορριμμάτων. Εάν υπάρχει μεγάλη ποσότητα οργανικών απορριμμάτων στο νερό κατ' ακολουθία θα υπάρχουν και πολλά βακτήρια για τη διάσπαση των απορριμμάτων. Ως εκ τούτου η ποσότητα απαιτούμενου οξυγόνου είναι μεγάλη και το BOD επίσης μεγάλο. Καθώς τα απορρίμματα καταναλώνονται τα επίπεδα BOD αρχίζουν να μειώνονται.

Το test BOD παίρνει 5 ημέρες. Το BOD προσδιορίζεται συγκρίνοντας το Διαλυμένο Οξυγόνο (DO) του δείγματος νερού αμέσως μετά τη δειγματοληψία με το διαλυμένο οξυγόνο του δείγματος νερού το οποίο διατηρήθηκε σε σκοτεινό μέρος για 5 ημέρες. Η διαφορά μεταξύ των δύο τιμών DO αντιπροσωπεύει την ποσότητα οξυγόνου που απαιτείται για την αποσύνθεση (διάσπαση) όλων των οργανικών ουσιών στο δείγμα και είναι μια καλή προσέγγιση της τιμής BOD. Η κάθε ομάδα θα πάρει τα αποτελέσματα των τιμών DO για την 1^η ημέρα και θα πρέπει να προσδιορίσει την τιμή BOD για την 5^η ημέρα.

Δίνονται στην κάθε ομάδα 3 δείγματα νερού (A, B, και C) στα οποία το Διαλυμένο Οξυγόνο έχει σταθεροποιηθεί χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Winkler. Το δείγμα A είναι αραιωμένο 1 προς 100, το B 1 προς 200 και το C 1 προς 20 του αρχικού δείγματος.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για να προσδιορίσετε το οξυγόνο στα δείγματα θα ογκομετρήσετε με μέτρο το θειοθειικό νάτριο (M/80, δηλαδή, 0.0125 M)



Επεξεργασία των δειγμάτων

Να μεταφέρεται 100 ml του δείγματος σε κωνική φιάλη χρησιμοποιώντας ογκομετρικό κύλινδρο και να ογκομετρήσετε αυτό το διάλυμα με το θειοθειικό νάτριο (M/80) μέχρι το χρώμα να μετατραπεί σε χλωμό κίτρινο.

Να προσθέσετε μερικές σταγόνες αμύλου (starch indicator). Εμφανίζεται βαθύ μπλε χρώμα. Να ογκομετρήσετε (μια φορά για κάθε δείγμα) μέχρι το μπλε χρώμα να εξαφανιστεί (να γίνει

άχρωμο). Να επαναληφθεί η διαδικασία αυτή για κάθε φιάλη.

Αποτελέσματα

Να υποθέσετε ότι ο αριθμός των millilitres του θειοθειικού νατρίου ισοδυναμεί με τον αριθμό των mg L^{-1} διαλυμένου οξυγόνου στο δείγμα. Να ληφθούν υπόψη οι παράγοντες αραίωσης για τους υπολογισμούς.

Τα αποτελέσματα της 1^{ης} ημέρας για τις τιμές του BOD στις τρεις περιοχές δειγματοληψίας είναι ως ακολούθως:

Ημέρα 1 τιμή D.O του δείγματος A = 11.5 mg L^{-1}

Ημέρα 1 τιμή D.O του δείγματος B = 11.8 mg L^{-1}

Ημέρα 1 τιμή D.O του δείγματος C = 11.2 mg L^{-1}

Να απαντήσετε τις πιο κάτω ερωτήσεις βάζοντας ν στο κατάλληλο κουτί στους πίνακες της ερώτησης 22 του τετραδίου απαντήσεων.

- *Να δώσετε τις κατά προσέγγιση τιμές BOD σε mg L^{-1} .*
- *Να προσδιορίσετε ποιο δείγμα έχει το περισσότερο βιολογικό φορτίο.*
- *Να προσδιορίσετε ποιο δείγμα έχει το λιγότερο βιολογικό φορτίο.*

ΕΧΕΤΕ ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΕΙ ΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ 5

ΕΡΓΑΣΙΑ 6 – Προσδιορισμός των περιοχών δειγματοληψίας για τα δείγματα Α, Β, και C.

Χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα των τεστ στα δείγματα Α, Β, και C στις εργασίες 1 to 6, να προσδιορίσετε τις περιοχές δειγματοληψίας για κάθε δείγμα.

Να δείξετε την περιοχή από όπου λήφθηκε το κάθε δείγμα βάζοντας ν στο κατάλληλο κουτί στην ερώτηση 23 του τετραδίου απαντήσεων.

ΕΧΕΤΕ ΣΥΜΠΛΗΡΩΣΕΙ ΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ 6, ΚΑΘΩΣ ΕΠΙΣΗΣ ΚΑΙ ΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ

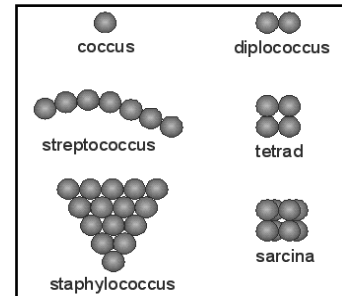
Appendix 1 - Bacterial cell morphology and Gram reaction.

Most bacteria come in one of three basic shapes: coccus, rod/bacillus, and spiral.

The coccus:

The cocci are spherical or oval bacteria having one of several distinct arrangements:

- Pair of cocci: Diplococcus:
- Chain of cocci: Streptococcus:
- Tetrad arrangement: Rectangular group of four cocci
- Cube of 8 cocci: Sarcina
- Random: Staphylococcus

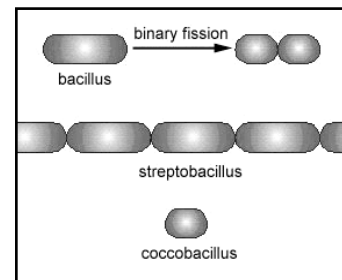


The rod/bacillus:

Bacilli are rod-shaped bacteria.

Bacilli produce the following arrangements:

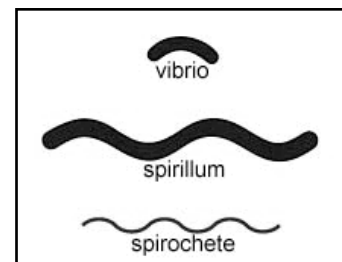
- Bacillus: a single rod / bacillus
- Streptobacillus: a chain of bacilli
- Coccobacillus: oval and similar to a coccus



The spiral:

The spirals come in one of three forms:

- a vibrio
- a spirillum
- a spirochete



If Gram's method is carried out properly:

Gram positive (+) organisms are stained **dark violet** in colour

Gram negative (-) organisms are stained **pink / light red** in colour (by the counterstain).

The coliform group of bacteria is used as an indicator of pollution, and includes many environmental species of bacteria found in soil, on fruit, leaves, grains, and in runoff water.

Coliform bacteria of faecal origin are referred to as faecal coliforms. *Escherichia coli* (*E.coli*) is a faecal coliform found in the faeces of humans, mammals and birds. Analyses for indicator organisms such as *E.coli* provide information on the microbiological quality of water. The detection of *E.coli* in water indicates contamination from a faecal source.

- ***E.coli* are Gram negative cells with a slender rod morphology**

Lactic acid bacteria refer to a large group of beneficial bacteria that have similar properties, all of which produce lactic acid as an end-product of the fermentation process. They are widespread in nature and are also found in our digestive systems. These microbes are used in the production of fermented food products, such as yogurt (*Streptococcus spp.* and *Lactobacillus spp.*), cheeses, butter, buttermilk and kefir.

- Lactic acid bacteria are Gram positive and vary in morphology from long, slender rods to short coccobacilli or cocci which frequently form short chains or clusters.