

ON-LINE KVANTIFIKACE SINIC V SUROVÉ VODĚ

Mgr. ZLATICA NOVOTNÁ

Doc. Ing. BLAHOSLAV MARŠÁLEK, CSc.

Ing. MARTIN TRTÍLEK

Ing. TOMÁŠ RATAJ

CENTRUM PRO CYANOBAKTERIE A JEJICH TOXINY, BÚ AVČR
Photon System Instrument, Brno

Centrum pro bioindikaci a revitalizaci



CYANOBAKTERIE (SINICE)

- Masový rozvoj na řadě **vodárenských nádrží**
- Produkce toxických, karcinogenních, alergenních metabolitů
- Nutnost pečlivého sledování cyanobakterií a jejich toxinů **před vstupem do vodárenského procesu**



Jak sledovat výskyt metabolitů sinic v pitné vodě?

DETEKCE

```
graph TD; A[DETEKCE] --> B[cyanobakterií]; A --> C[cyanotoxinů]; B --> B1[Mikroskopie]; B --> B2[Chlorofyl-a]; B --> B3[Fluorescence pigmentů]; B --> B4[Flowcytometrie]; C --> C1[HPLC]; C --> C2[ELISA];
```

cyanobakterií

- ◆ Mikroskopie
- ◆ Chlorofyl-a
- ◆ Fluorescence pigmentů
- ◆ Flowcytometrie

cyanotoxinů

- ◆ HPLC
- ◆ ELISA



ALGAL ONLINE MONITOR (AOM)

PRINCIP

- fluorescence chl-a
- rychlá indukční křivka chl-a

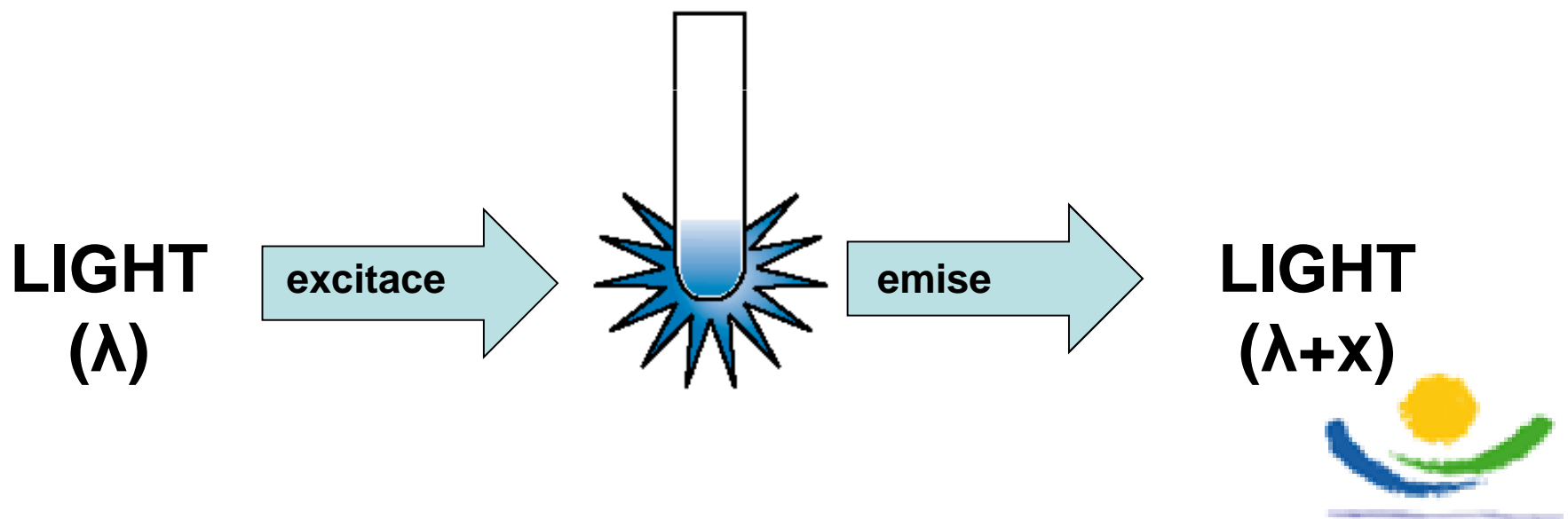
HODNOCENÍ

- množství biomasy sinic a řas (chl-a, $\mu\text{g/L}$)
- fyziologický stav buněk
- kontinuální měření
- vysoká citlivost
- přenos dat přes GSM
- **PSI, Photon System Instruments, Brno**



Princip technologie : FLUORESCENCE PIGMENTŮ

některé látky (fluorofory) po ozáření (excitaci) světlem určité vlnové délky vyzařují (emitují) světlo jiné vlnové délky
 $\lambda_{emit} > \lambda_{excit}$.



FLUORESCENCE A FYTOPLANKTON

fluorescence chl-a a přídatných pigmentů fytoplanktonu



potenciál pro rozlišení různých spektrálních skupin fytoplanktonu

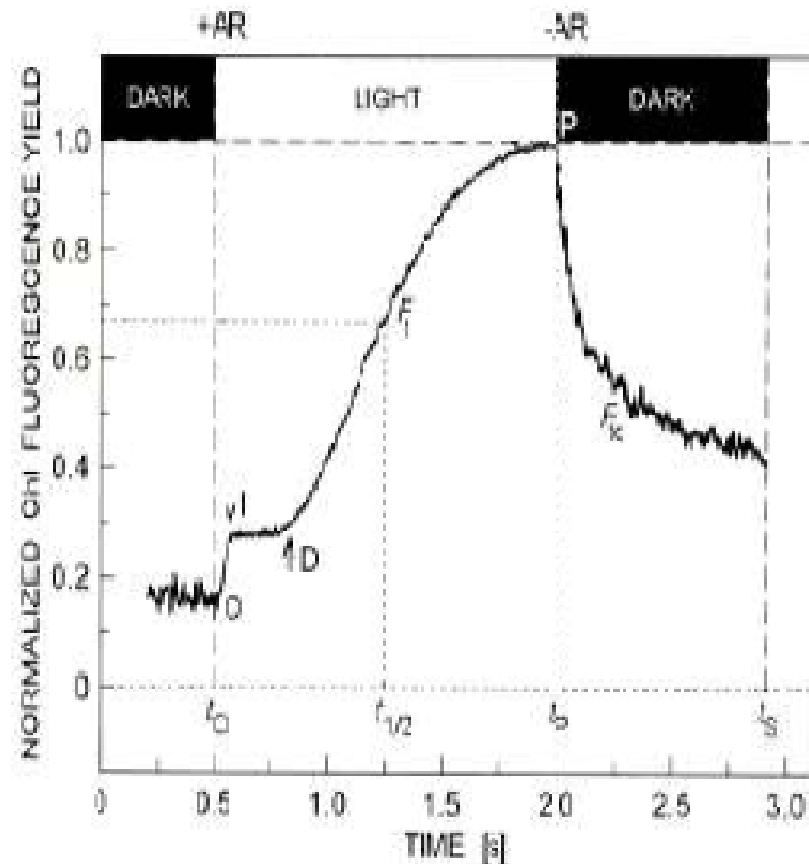
SKUPINA	PIGMENT	EXCITACE (nm)	EMISE (nm)
Chlorophyta	Chlorofyl a	400 - 530	640 - 690
Cyanobacteria	Fykocyanin	590 - 630	640 - 690



FLUORESCENČNÍ INDUKČNÍ JEV

- změna intenzity fluorescence chl-a v čase (temnostní adaptace - ozáření aktinickým světlem)

- KAUTSKÉHO EFEKT
- přímo souvisí se stavem fotosyntetického aparátu
- charakteristický tvar
- fyziologický stav PSII
- F_0 , F_m , F_v/F_m , OJIP-křivka, FixArea



VÝHODY (SPEKTRO)FLUOROMETRIE

- **kvantitativní + kvalitativní** charakteristika fytoplanktonu (množství biomasy, příslušnost ke skupině, fyziolog.stav)
- **rychlá metoda** (velké množství vzorků, vertikální profil vodního sloupce)
- **citlivá**
- **neinvazivní, in-situ měření** (není nutný transport vzorků)
- **snadná** (odpadá předpříprava vzorků, user friendly)
- **výsledky srovnatelné se standardními metodami**
- **rozlišení řas a sinic**
- **nízké provozní náklady**



**KONTINUÁLNÍ ON-LINE MONITORING VODNÍHO
EKOSYSTÉMU**



... A NEVÝHODY? :-)

- vztah mezi koncentrací chl-a (aj. pigmenty) a biomasou nemusí být lineární: je ovlivňován více faktory (stáří populace, fyziologický stav buněk, živiny, teplota, světlo...)
- přítomnost velkých kolonií, hustá biomasa, zákal
- interpretace Kautského křivky, nespecifická odezva

- **VÝHODY V PRAXI PŘEVAŽUJÍ!!!**



CÍL: OVĚŘENÍ AOM V TERÉNU

- Jundrov
- VN Mostišťe
- VN Vír



- kontinuální měření
- přenos dat přes GSM



MATERIÁL A METODY

AOM – kontinuální měření nastavených parametrů po hodině

ODBĚR REFERENČNÍCH VZORKŮ PRO STANOVENÍ:

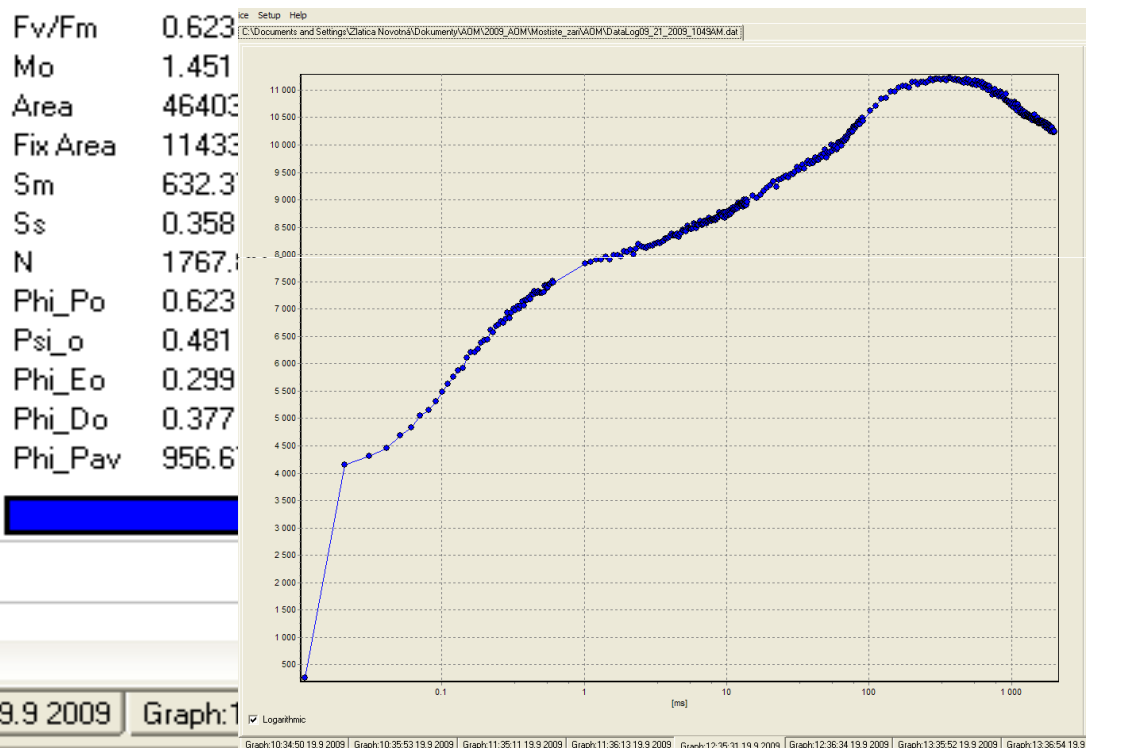
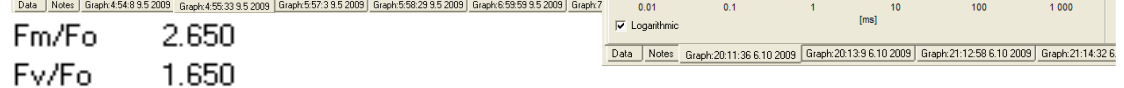
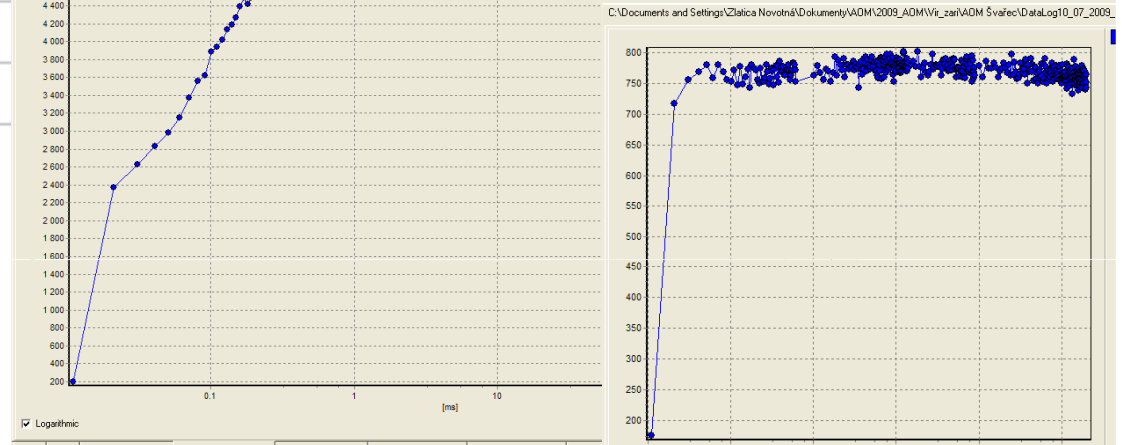
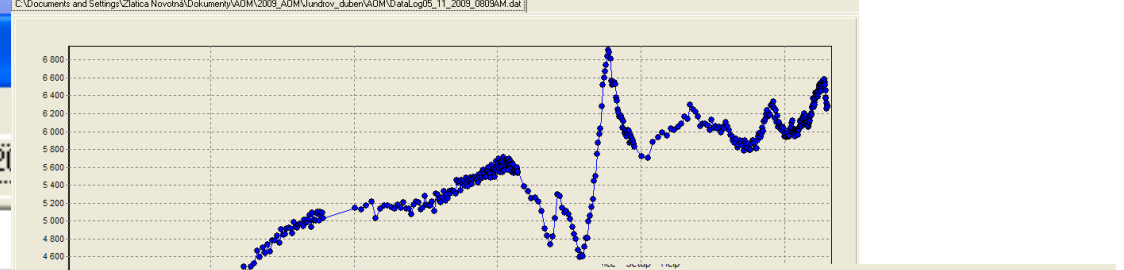
- **počtu buněk** (fixace formaldehydem, zahušťování vakuovou filtrací, epifluorescenční mikroskop)
- **obsahu chlorofylu** (sonda FluoroProbe, ISO 10 260)
- **taxonomie** (určení dominant)



C:\Documents and Settings\Zlatica Novotná\Dokumenty\ADM\21



Index	1	2		
Time	10:34:50 19.9 2009	10:35:53 19.9 2009		
ID	OJIP-455nm	OJIP-590nm		
Value	Bckg	209	Bckg	204
	Fo	4427	Fo	1008
	Fj	8893	Fj	1739
	Fi	11156	Fi	2196
	Fm	13330	Fm	3086
	Fv	8903	Fv	2078
	Vj	0.502	Vj	0.352
	Vi	0.756	Vi	0.572
	Fm/Fo	3.011	Fm/Fo	3.062
	Fv/Fo	2.011	Fv/Fo	2.062
	Fv/Fm	0.668	Fv/Fm	0.673
	Mo	1.375	Mo	0.375
	Area	4048044	Area	1013986
	Fix Area	12929432	Fix Area	2835346
	Sm	454.683	Sm	487.962
	Ss	0.365	Ss	0.937
	N	1246.153	N	520.671
	Phi_Po	0.668	Phi_Po	0.673
	Psi_o	0.498	Psi_o	0.648
	Phi_Eo	0.333	Phi_Eo	0.436
Phi_Do	0.332	Phi_Do	0.327	
Phi_Pav	944.214	Phi_Pav	908.620	
Description				



Data Notes Graph:10:34:50 19.9 2009 Graph:10:35:53 19.9 2009 Graph:11:35:11 19.9 2009

KALIBRACE AOM

Raphidocelis subcapitata
Microcystis aeruginosa

$$F_{\text{blue}} = 624\,415 \cdot R + 25\,305 \cdot S + 86\,976$$

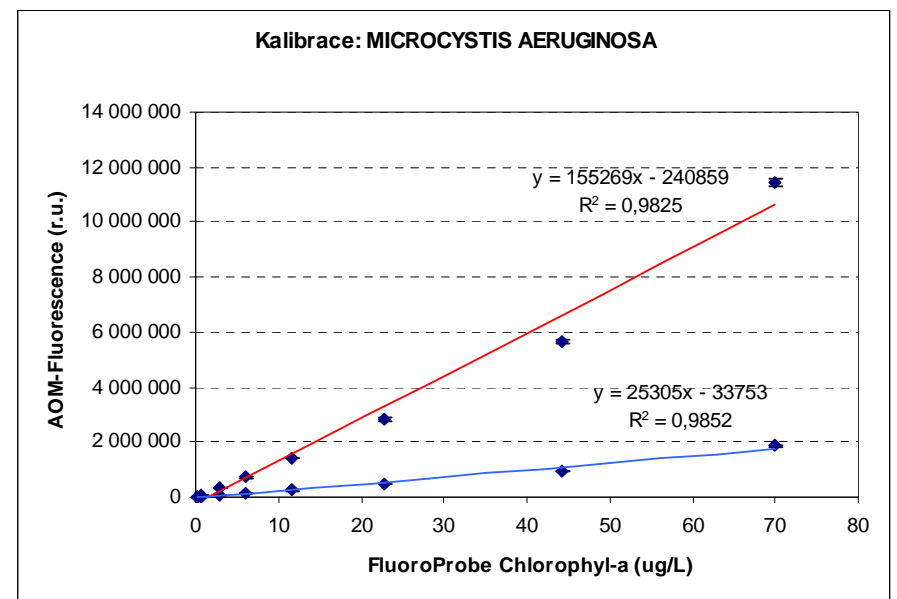
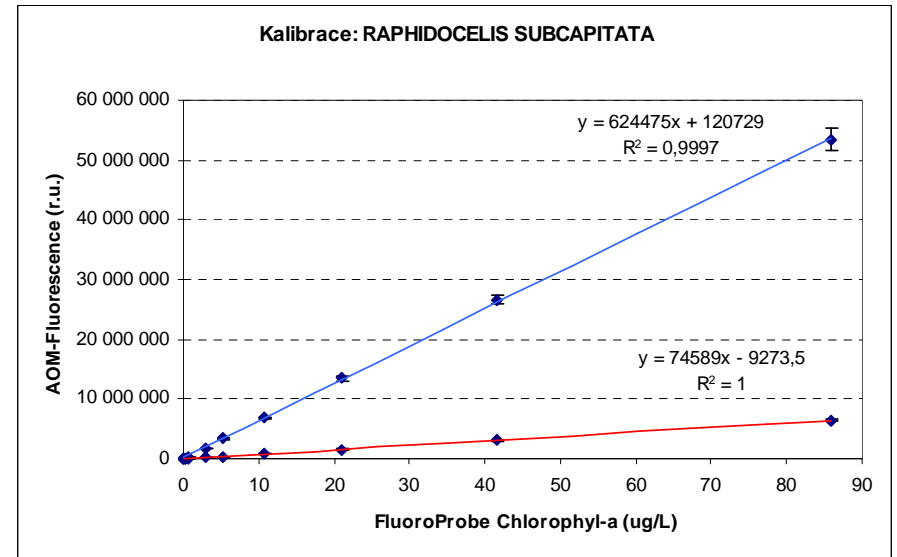
$$F_{\text{ambre}} = 155\,296 \cdot S + 74\,589 \cdot R - 250\,132$$



výpočet kalibračních rovnic ze
soustavy rovnic

S = sinice

R = eukaryotické řasy



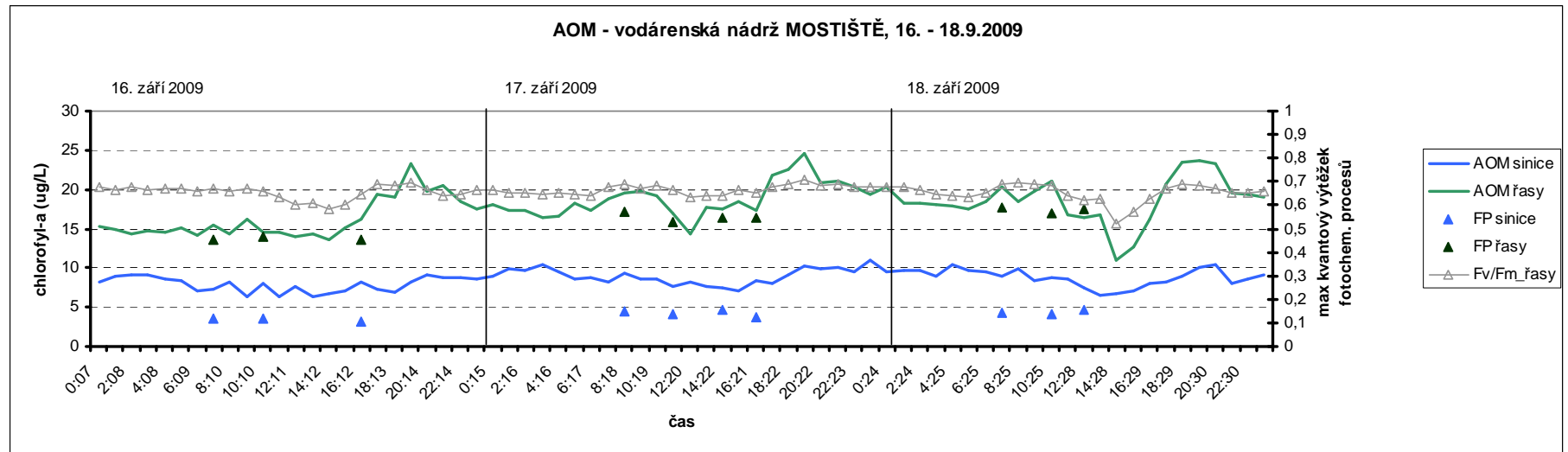
LIMIT DETEKCE A KVANTIFIKACE

- vychází z měření blanku, odvíjí se od směrodatné odchylky

LIMIT	VÝPOČET	MICROCYSTIS		RAPHIDO	
		buňky (počet/ml)	chl-a ($\mu\text{g/L}$)	buňky (počet/ml)	chl-a ($\mu\text{g/L}$)
detekce	3σ	200	0,020	25	0,015
kvantifikace	10σ	650	0,070	80	0,050



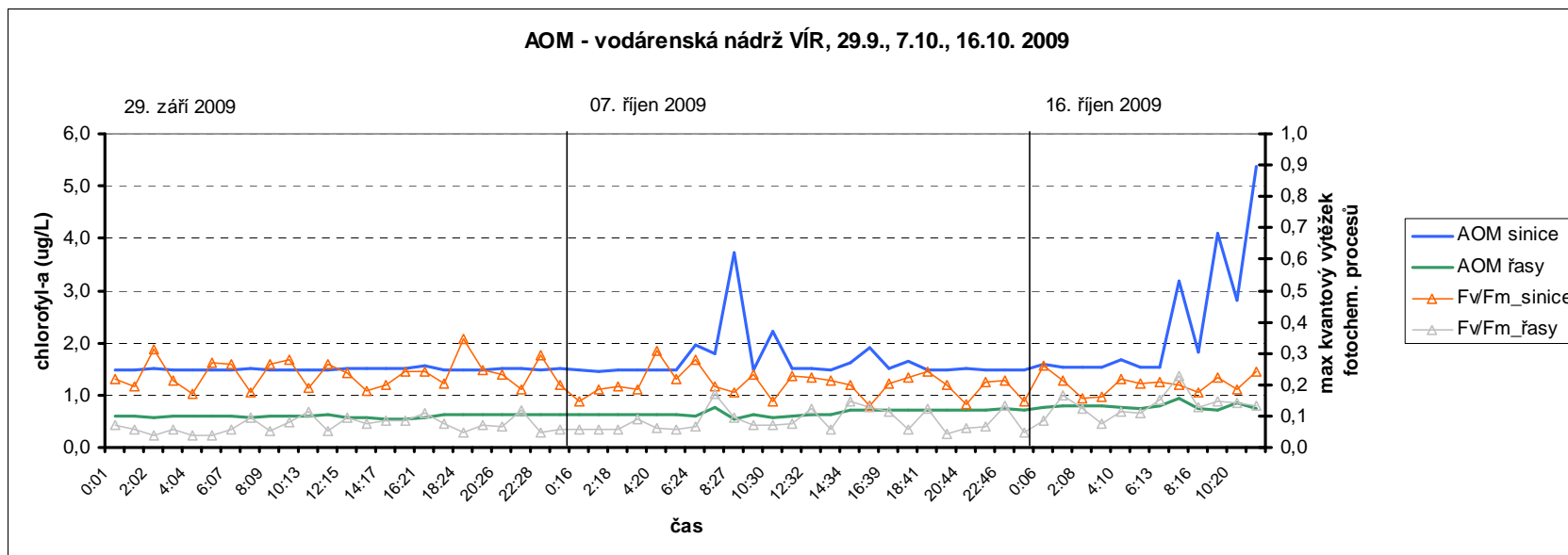
ONLINE MĚŘENÍ – VN Mostiště



- dominanta: *Staurastrum*
- cirkadiánní rytmus fytoplanktonu
- vysoký max. kvantový výtěžek fotochem. procesů řas (cca 0,7)



ONLINE MĚŘENÍ – VN Vír



- dominanta: *Microcystis* (kolonie)
- čerpání vody jen v určitém čase
- zachycen nárůst sinic (sedimentace z hladiny 16.10.)



ZÁVĚRY

AOM provozuschopný v různých podmínkách, kontinuální měření, on-line dálkový export dat do laboratoře přes GSM

- Kvantita biomasy, rozlišení sinic a řas, životaschopnost buněk (interpretace Kautského křivky)
- Velmi nízké limity detekce:
CITLIVÉ ZAŘÍZENÍ PRO VČASNÉ VAROVÁNÍ vodárny před sinicemi a jejich toxiny!!!
- Současná doba – vývoj softwaru





Centrum pro cyanobakterie a jejich toxiny
SZU Praha, CzWA, Limnologická společnost,
EnviWeb, Vodní hospodářství, ASIO Brno

Konference: CYANOBAKTERIE 2010

16. – 17. června 2010

Místo konání: Hotel Žebětínský dvůr, Brno

- Technologie pro odstranění a recyklaci fosforu
- Řízení kvality povrchových vod
- Regulace přívalových srážek
- Novinky v oblasti toxinů sinic
- Ekologie a životní cykly cyanobakterií
- Případové studie, ekologické vzdělávání a popularizace problematiky kvality povrchových vod

www.sinice.cz

