

Biologické systémy včasného
varování –
BIOTESTY PRO KONTINUÁLNÍ
DETEKCE TOXICITY

BM pro MU

2019

Dle pokročilosti designu testovacího systému (Také 4 generace biotestů)

- 1. generace -klasické (standardní)
- 2. generace -mikrobiotesty
- 3. generace -biosenzory, biosondy a biomarkry
- 4. generace – on-line systémy s dálkovým přenosem dat

Kontinuální on-line monitoring

- ❖ Běžné sledování jakosti – vodohospodářský info portál – vegetační období
- ❖ Účel sledování!
 - ❖ kvantitativní (srážky, průtoky)
 - ❖ **kvalitativní** (analyzátory, měřící sondy, vzorkovače)
- ❖ management krizových situací
- ❖ Zajištění kvalitních podkladů pro rozhodování – sledovat měřená data, práce s daty, nastavení mezních hodnot, sms....

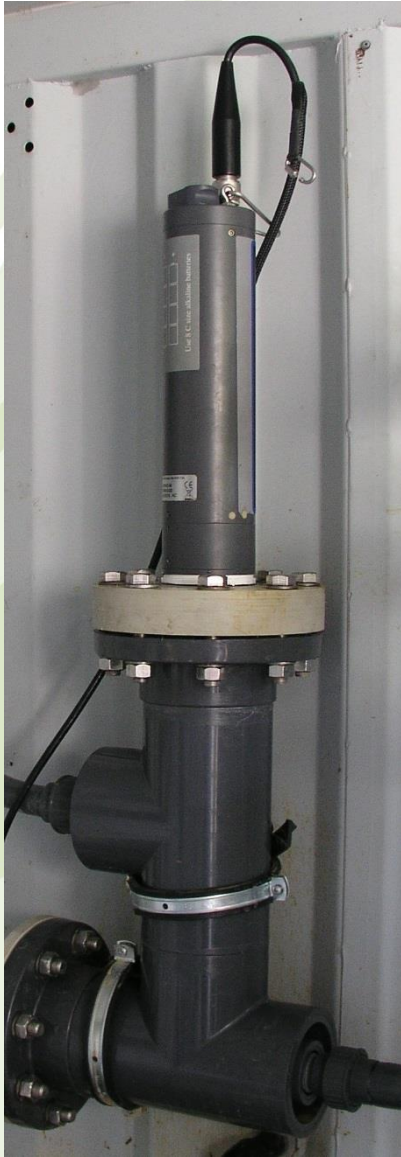


Porovnání vybraných technologií pro on-line monitoring výhody a omezení

Senzor	Výhody	Omezení
YSI	<ul style="list-style-type: none"> • Simultánní měření vodivosti, teploty, kyslíku, zákalu, chlorofylu, fykocyaninu, hloubky, pH • Okamžité měření s dobrou citlivostí pro přírodní hladiny • Ideální jako „early warning“ systém pro vodní květ 	<ul style="list-style-type: none"> • Omezení měřených parametrů • Čištění senzorů • biofilm
UV-VIS s:can spectro:lyser	<ul style="list-style-type: none"> • Monitoring široké škály kapalin • Měření parametrů včetně CHSK, BSK, NO₃, NO₂, ozon, zákal 	<ul style="list-style-type: none"> • Zanášení průtočné cely
S:can Water Quality Monitoring Station	<ul style="list-style-type: none"> • Pro odpadní, pitné i povrchové vody • Měření několika parametrů 	<ul style="list-style-type: none"> • Kolorimetrická měření nejsou příliš citlivá • čištění



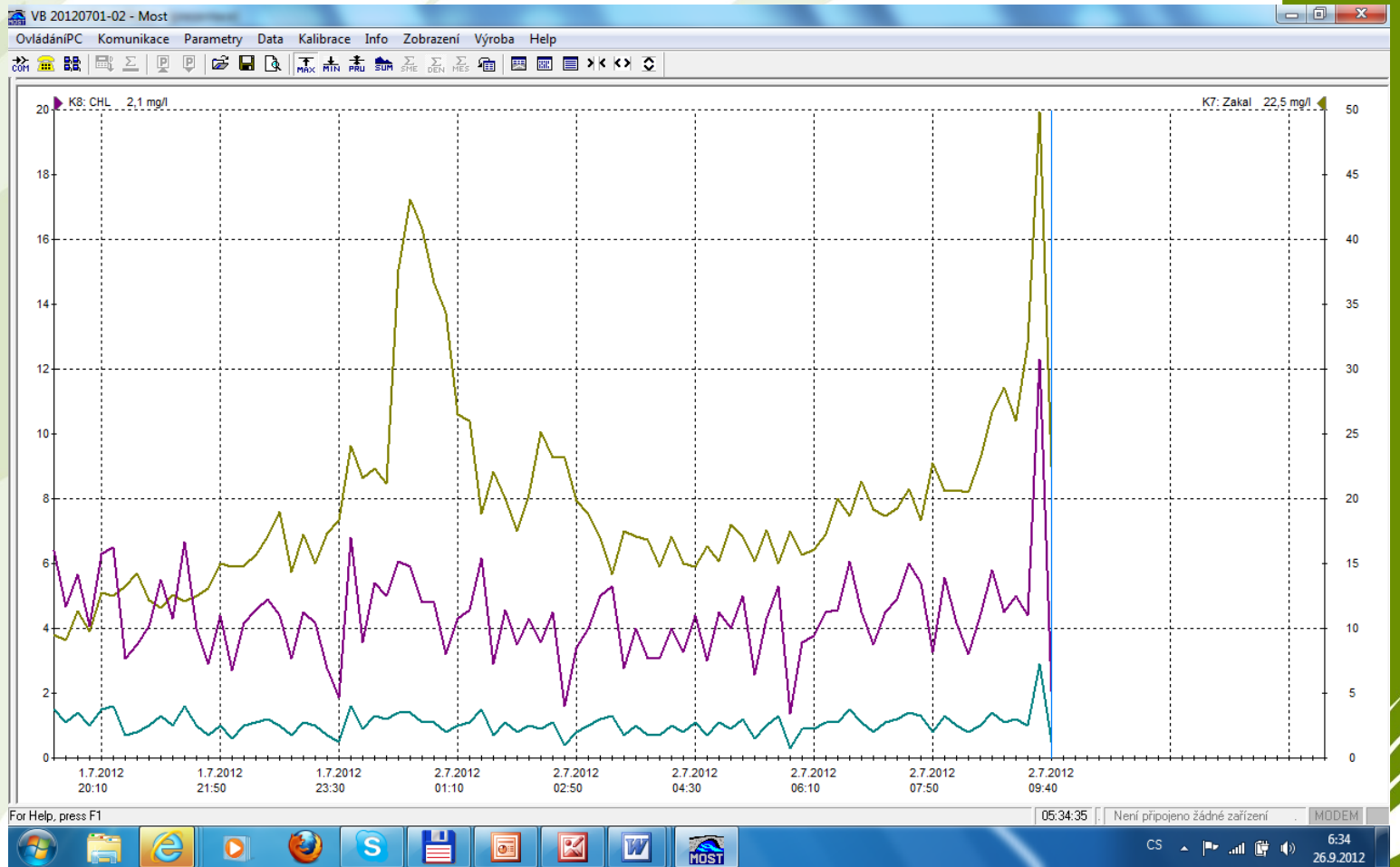
YSI 6006 a telemetrická stanice



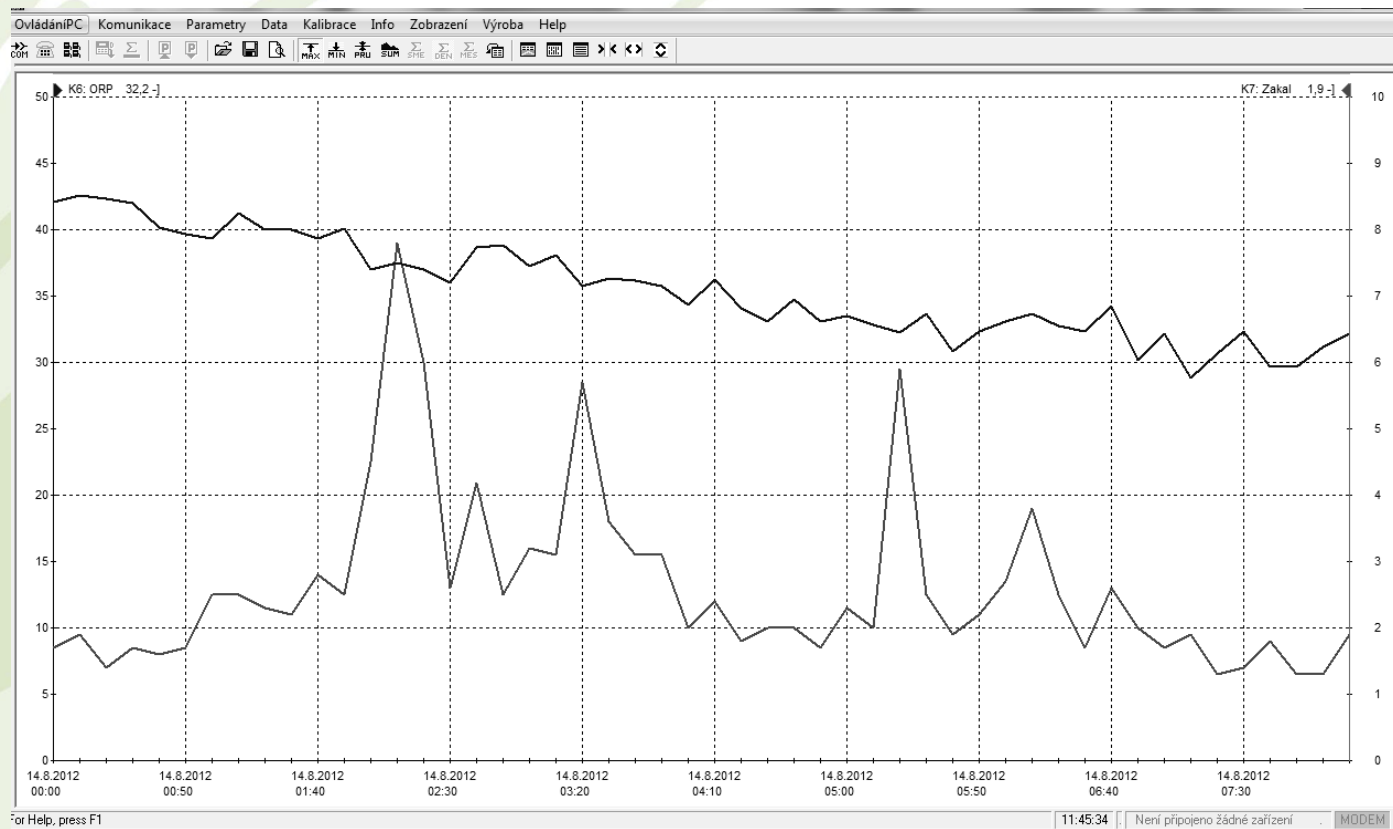
Měření:

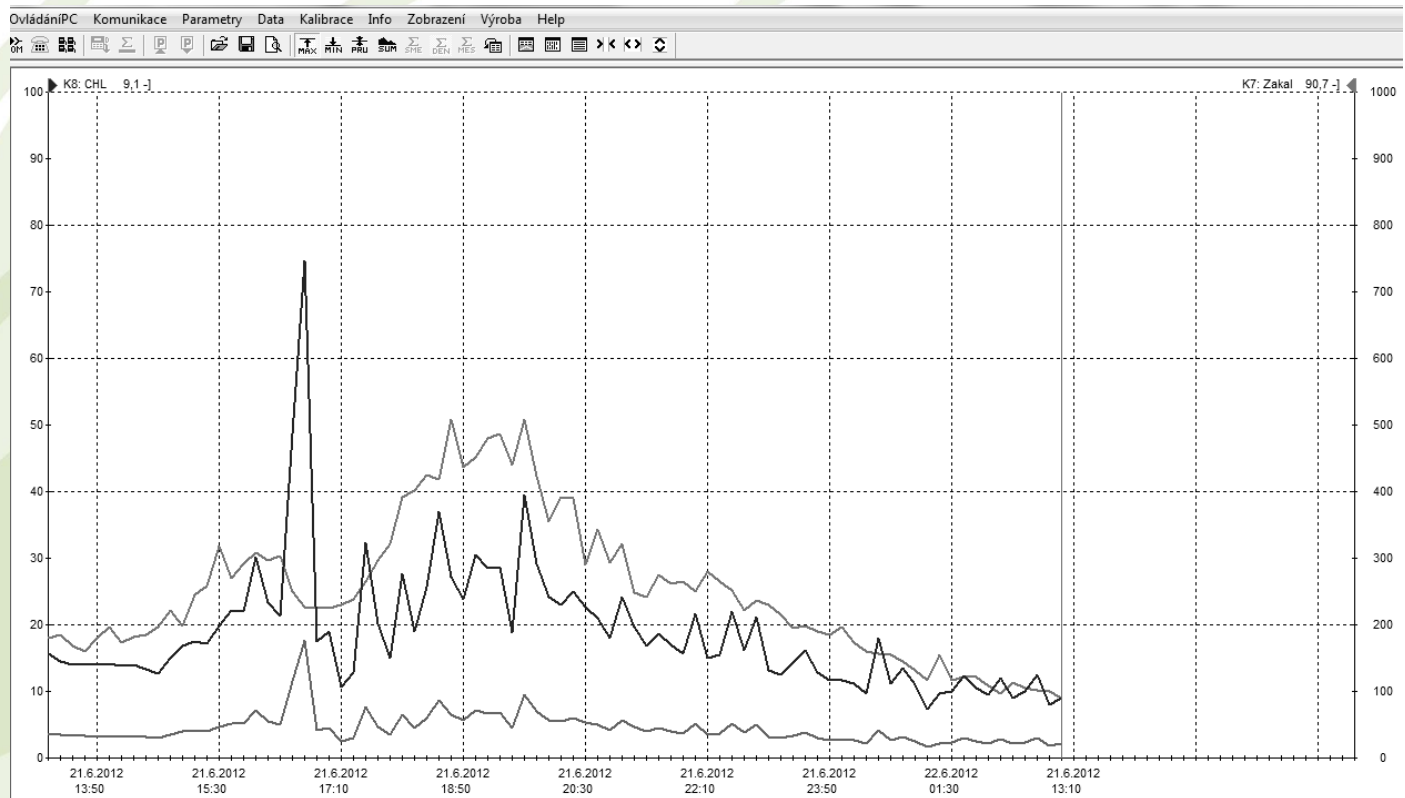
- pH/ORP
- Vodivost
- Teplota
- Zákal
- Chlorofyl
- Fykocyanin
- Kyslík





Výstup on-line monitoringu (zvýšené hodnoty zákalu v době vypuštění aktivovaného kalu z ČOV)





Výstup on-line monitoringu (zvýšené hodnoty zákalu a chlorofylu po dešťové události)





Daphnia-toximeter

- speed measurements: average speed/speed distribution
- behaviour observation:swimming height
- fractional dimension:measurements for turns and circling movements, curviness
- growth observation:
- determination of daphnia



bbe Daphnia Toximeter

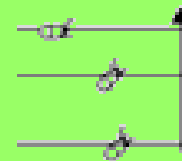
Parameters: mobility and agility of daphnia



fractal dimension (curviness) and angle



distance and group



swimming height



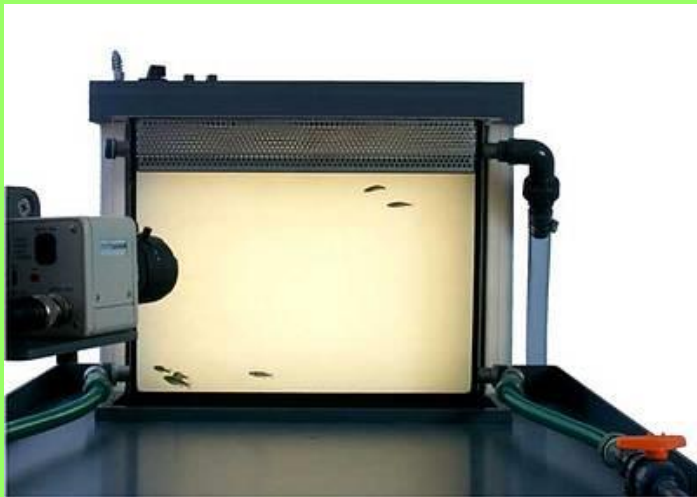
Daphnia growth



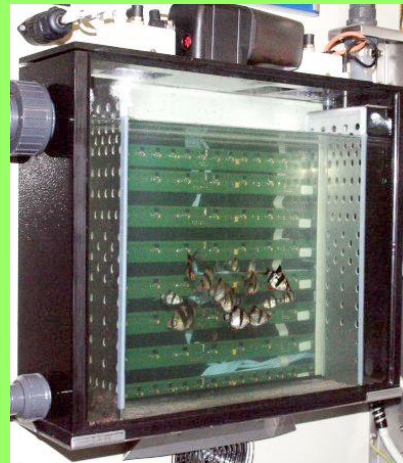
Color: growing time index

Real-time biomonitoring (RTB) for continuous FISH behavioural analysis. A high-performance instrument for the detection of toxins in water.

- Continuous analysis of live video images enables rapid determination of the behaviour and health of the fish



speed (up to 20 fishes)
behaviour (height, turns, circular motion, etc.)
determination of size
no. of active



bbe Algae Toximeter

- PRŮTOČNÁ KULTIVACE – fluorescenční kvantifikace BIOMASY řas



FluoroProbe

- Výrobce: bbe-Moldaenke, Kiel, Německo
- Fluorescenční sonda umožňující přímé stanovení množství fytoplanktonu ve vodě
- Fykoplankton
 - Zelené řasy (chlorofyl a/b, karotenoidy)
 - Sinice (fykocyanin)
 - Rozsivky, obrněnky (fukoxanthin, peridinin)
 - Skrytěnky(fykoerythrin, chlorofyl a,c)
- **Princip:** měření fluorescenčních excitačních spekter pigmentů charakteristických pro jednotlivé skupiny fytoplanktonu
- **5 LED diod** (450, 525, 570, 590 a 610 nm) - **každá skupina zanechá charakteristický “otisk” svého spektra**

Fluoro Probe



03 Sokolak

Data | Graphics 1 | Graphics 2 | Common parameters | Parameters of measurement | Parameters of fit

time	depth [m]	temp. [°C]	algae [µg/l]				total [µg/l]	transm. [%]	int. temp.	
			Green.	Bluegr.	Diatom.	Crypto.			[°C]	[°C]
06:55:59	0,03	20,9	0,00	0,20	0,00	0,00	0,20	56,05	24,2	22,6
06:56:02	0,09	21,1	1,21	1,63	0,00	0,00	2,83	54,86	24,3	22,6
06:56:04	0,23	21,3	5,92	8,89	0,00	1,17	15,97	65,55	24,3	22,6
06:56:06	0,27	21,4	5,36	7,81	0,00	1,67	14,84	65,78	24,3	22,7
06:56:09	0,39	21,4	5,65	7,52	0,00	1,58	14,74	66,08	24,3	22,7
06:56:11	0,50	21,4	5,96	7,45	0,00	1,69	15,11	65,78	24,3	22,7
06:56:14	0,67	21,4	5,66	8,31	0,00	1,68	15,65	66,07	24,3	22,7
06:56:16	0,81	21,4	5,50	7,78	0,00	1,91	15,19	66,00	24,3	22,7
06:56:18	1,02	21,4	5,63	7,70	0,00	1,98	15,31	65,82	24,3	22,7
06:56:21	1,21	21,4	5,78	7,55	0,00	1,66	14,99	66,22	24,3	22,7
06:56:23	1,58	21,4	5,88	6,32	0,00	1,69	13,88	66,28	24,3	22,8
06:56:25	2,08	21,4	6,23	5,56	0,00	1,17	12,97	66,50	24,3	22,8

results: (raw data)

First

Minus 12

Prev

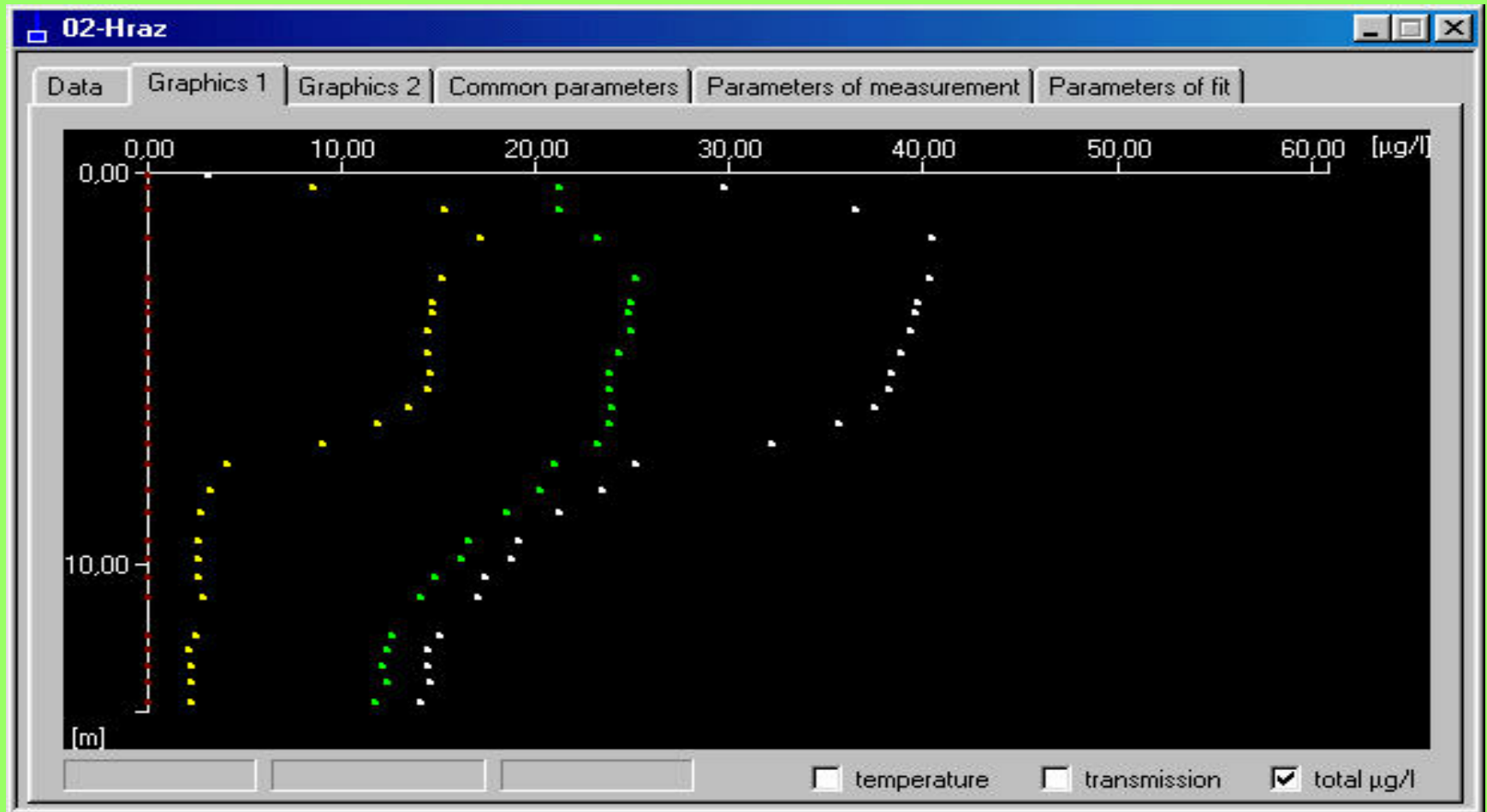
Next

Plus 12

Last

Fullscreen

FluoroProbe - ukázka grafu



Detekce cyanobakterií

+

- Možnost on-line sledování
- Detekce všech produktů sinic

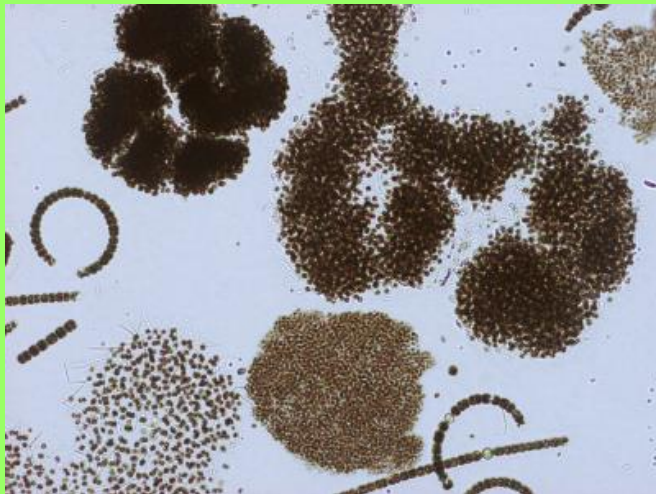
-

- Problém s detekcí extracelulárních toxinů

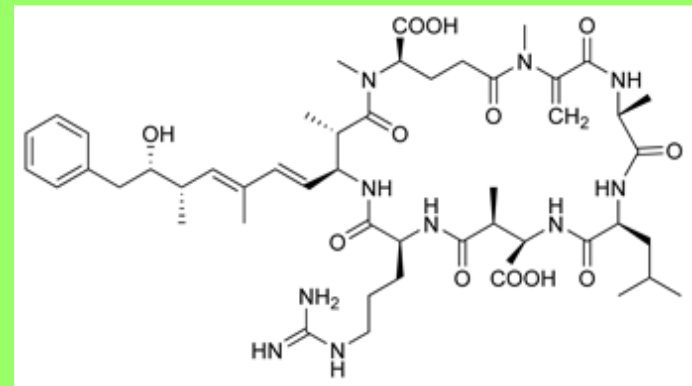


Detekce cyanobakterií a cyanotoxinů

Kombinace vhodně se doplňujících přístupů a metodik



+



Detekce cyanobakterií a cyanotoxinů

Cyanobakterie

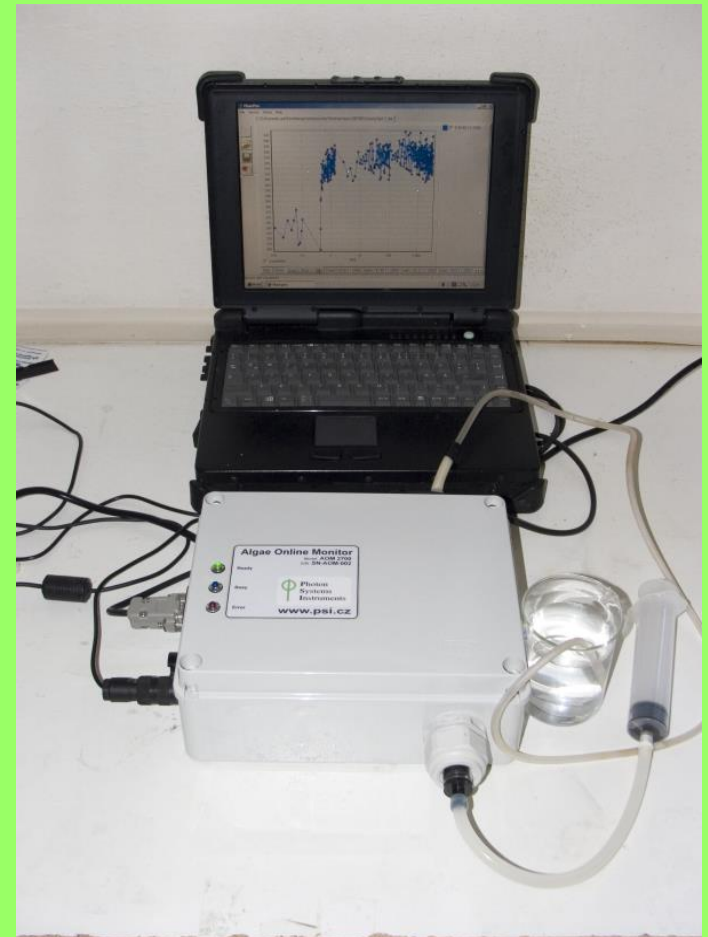
- Citlivý on-line fluorometr pro selektivní detekci a kvantifikaci sinic a řas

Cyanotoxiny

- Akutní biotest s koryši založený na intenzitě příjmu potravy

AOM: Algal Online Monitor

- 2 zdroje excitačního záření (450, 590 nm)
 - emisní detektor pro chl-a (fotodioda s detekčním pásem 660-750nm)
 - aktinické/saturační světlo (0 až 3,000 $\mu\text{mol}(\text{photonů})/\text{m}^2.\text{s}$)
-
- **RYCHLÁ INDUKČNÍ KŘIVKA**
Fo, Fm, Fv/FM, OJIP, FixArea...



ALGAL ONLINE MONITOR

HODNOCENÍ

- množství biomasy sinic a řas (chl-a, $\mu\text{g/L}$)
- fyziologický stav buněk

PRINCIP

- fluorescence chl-a
- rychlá indukční křivka chl-a
- kontinuální měření
- vysoká citlivost
- přenos dat přes GSM
- **PSI, Photon System Instruments, Brno**



AOM – Algae Online Monitoring



FLUORESCENCE A FYTOPLANKTON

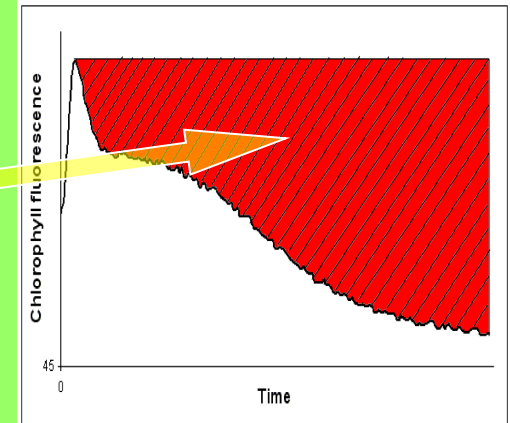
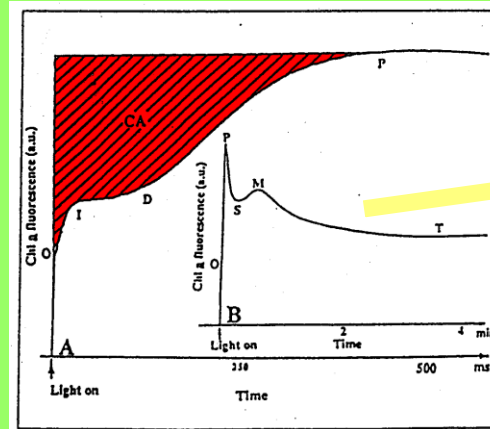
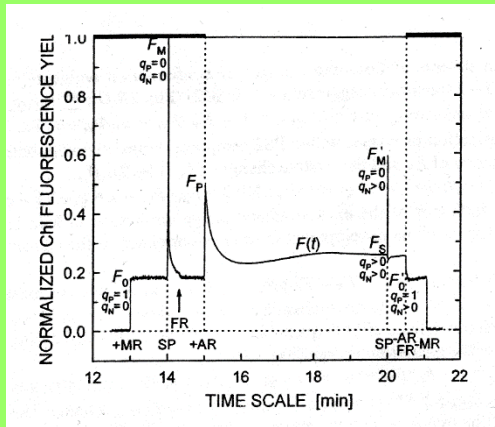
fluorescence chl-a a přídatných pigmentů



potenciál pro rozlišení různých spektrálních skupin fytoplanktonu

SKUPINA	PIGMENT	EXCITACE (nm)	EMISE (nm)
Chlorophyta	Chlorophyll	400 - 530	640 - 690
Cyanobacteria	Phycocyanin	590 - 630	640 - 690

Kvantifikace AKTIVITY řas



1] by the terms and fluorescence parameters of the slow kinetics

2] by calculating definite integral residual (complementary area) from fast and slow kinetic records of fluorescence

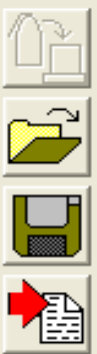
CÍL: OVĚŘENÍ AOM V TERÉNU

- Jundrov
- VN Mostišťe
- VN Vír

- kontinuální měření
- přenos dat přes GSM



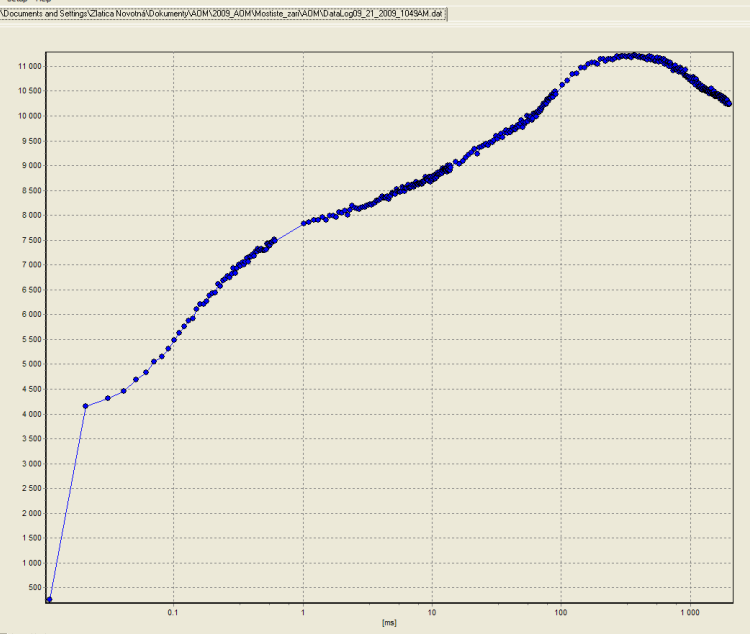
C:\Documents and Settings\Zlatica Novotná\Dokumenty\ADM\2009_ADM\Mostis



Index	1	2	3			
Time	10:34:50 19.9 2009	10:35:53 19.9 2009	11:35:11 19.9 2009			
ID	OJIP-455nm	OJIP-590nm	OJIP-455nm			
Value	Bckg	209	Bckg	204	Bckg	229
	Fo	4427	Fo	1008	Fo	4446
	Fj	8893	Fj	1739	Fj	8255
	Fi	11156	Fi	2196	Fi	9890
	Fm	13330	Fm	3086	Fm	1178
	Fv	8903	Fv	2078	Fv	7338
	Vj	0.502	Vj	0.352	Vj	0.519
	Vi	0.756	Vi	0.572	Vi	0.742
	Fm/Fo	3.011	Fm/Fo	3.062	Fm/Fo	2.650
	Fv/Fo	2.011	Fv/Fo	2.062	Fv/Fo	1.650
	Fv/Fm	0.668	Fv/Fm	0.673	Fv/Fm	0.620
	Mo	1.375	Mo	0.375	Mo	1.450
	Area	4048044	Area	1013986	Area	4640000
	Fix Area	12929432	Fix Area	2835346	Fix Area	11430000
	Sm	454.683	Sm	487.962	Sm	632.000
	Ss	0.365	Ss	0.937	Ss	0.350
	N	1246.153	N	520.671	N	1767.000
	Phi_Po	0.668	Phi_Po	0.673	Phi_Po	0.620
	Psi_o	0.498	Psi_o	0.648	Psi_o	0.480
	Phi_Eo	0.333	Phi_Eo	0.436	Phi_Eo	0.290
Phi_Do	0.332	Phi_Do	0.327	Phi_Do	0.370	
Phi_Pav	944.214	Phi_Pav	908.620	Phi_Pav	956.000	
Description						



Logarithmic
Data | Notes | Graph:4:54:8:9:5 2009 | Graph:4:55:3:9:5 2009 | Graph:5:57:3:9:5 2009 | Graph:5:58:2:9:5 2009 | Graph:6:58:5:9:5 2009 | Graph:7:1:24:9:5 2009 | Graph:8:2:54:9:5 2009 | Graph:8:4:19:5 2009



Logarithmic
Graph:10:34:50 19.9 2009 | Graph:10:35:53 19.9 2009 | Graph:11:35:11 19.9 2009 | Graph:12:36:13 19.9 2009 | Graph:12:36:31 19.9 2009 | Graph:12:36:34 19.9 2009 | Graph:13:35:52 19.9 2009 | Graph:13:36:54 19.9 2009

KALIBRACE AOM

Raphidocelis subcapitata
Microcystis aeruginosa

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

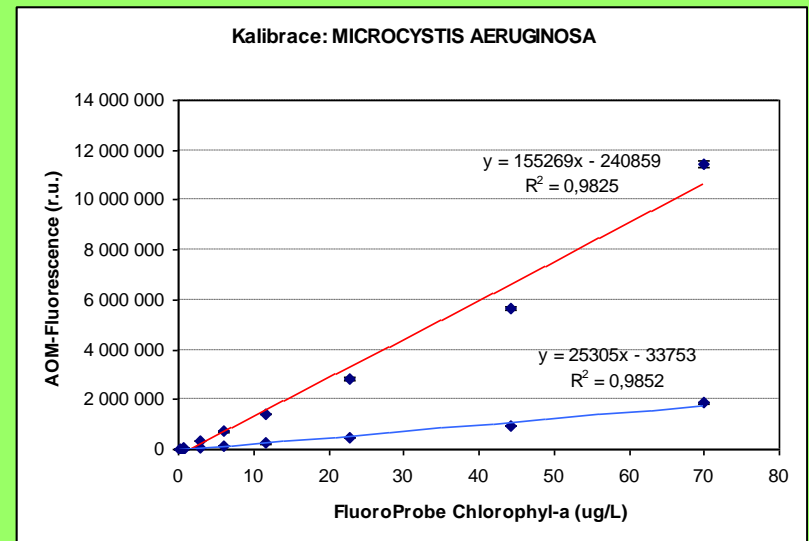
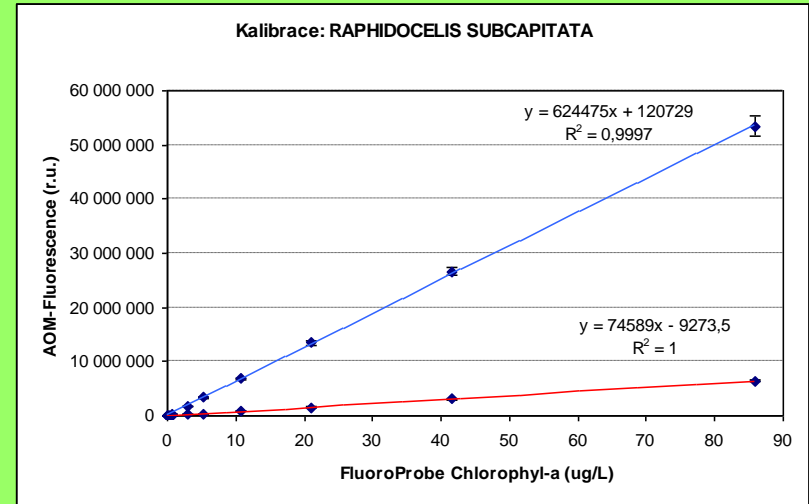
$$F_{\text{ambre}} = 155\,296 \cdot S + 74\,589 \cdot R - 250\,132$$



výpočet kalibračních rovnic ze
soustavy rovnic

S = sinice

R = eukaryotické řasy

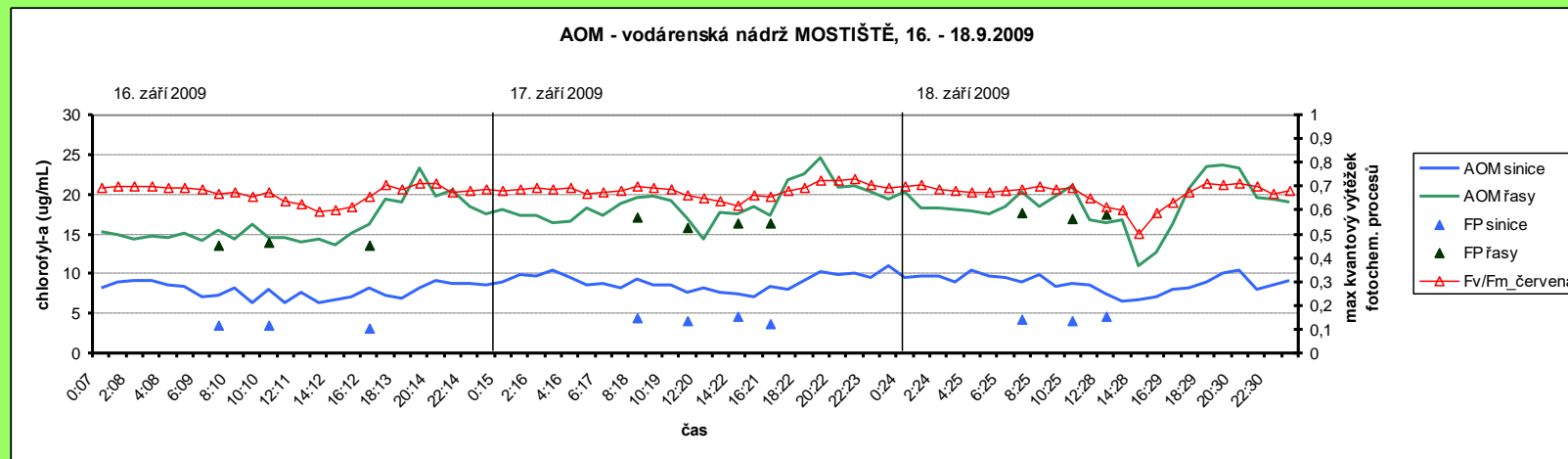


LIMIT DETEKCE A KVANTIFIKACE

- vychází z měření blanku, odvíjí se od směrodatné odchylky

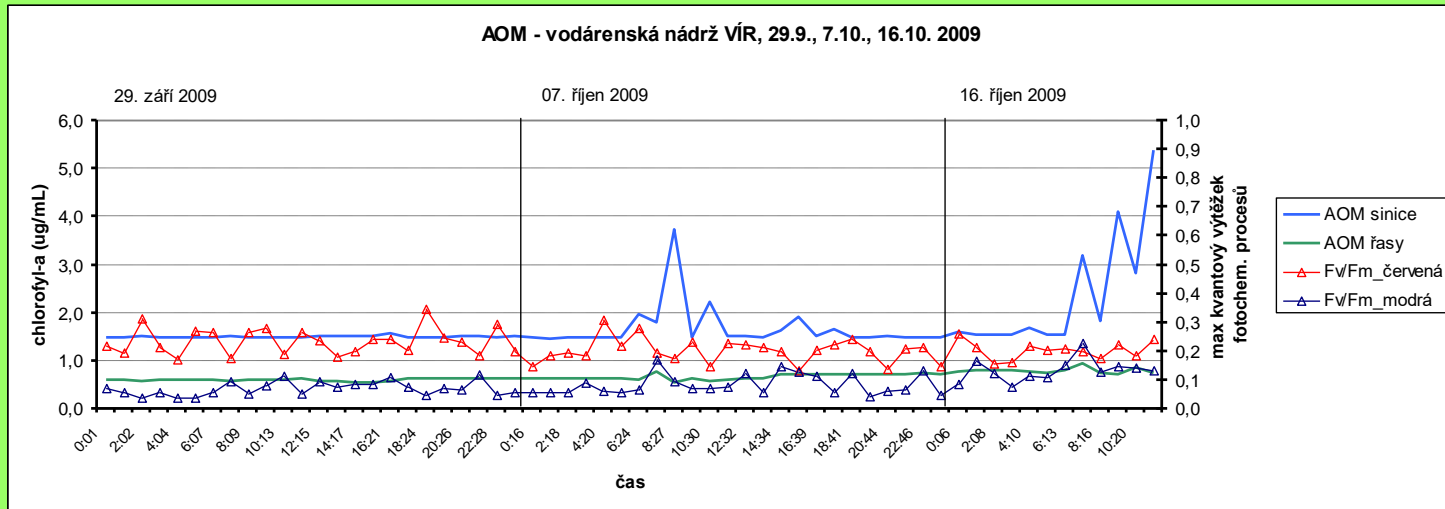
LIMIT	VÝPOČET	MICROCYSTIS		RAPHIDO	
		buňky (počet)	chl-a ($\mu\text{g/L}$)	buňky (počet)	chl-a ($\mu\text{g/L}$)
detekce	3σ	200	0,020	25	0,015
kvantifikace	10σ	650	0,070	80	0,050

ONLINE MĚŘENÍ – VN Mostiště



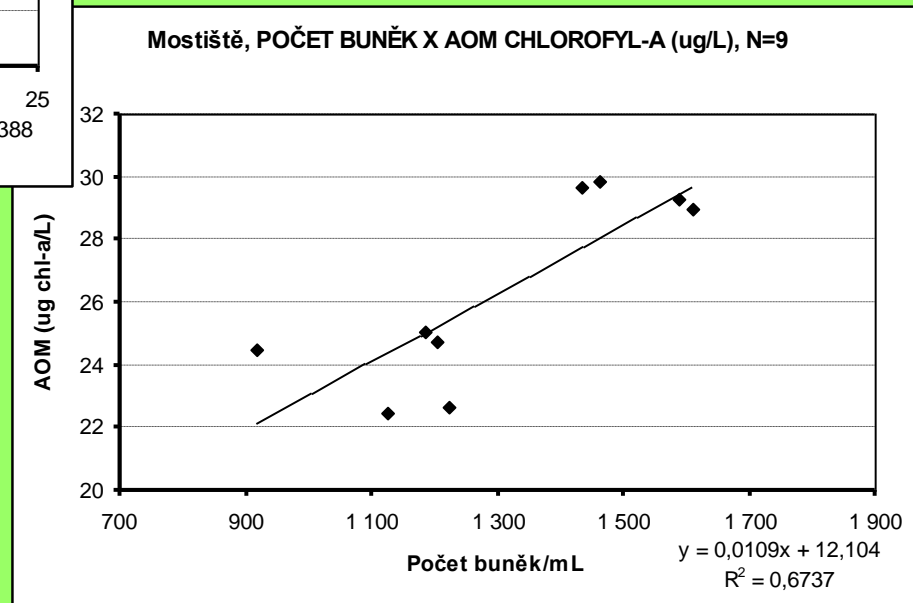
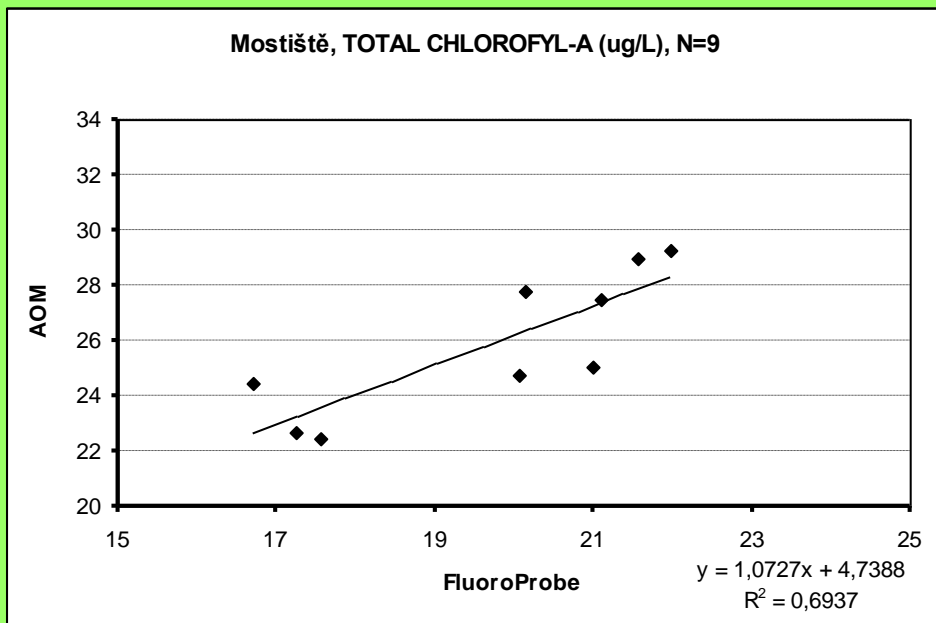
- dominanta: *Staurastrum*
- cirkadiální rytmus fytoplanktonu
- vysoký max. kvantový výtěžek fotochem. procesů řas (cca 0,7)
- nadhodnocení sinic způsobeno kalibrací

ONLINE MĚŘENÍ – VN VÍR



- dominanta: Microcystis (kolonie)
- čerpání vody jen v určitém čase
- zachyceno klesání sinic (16.10.)
- nízký max. kvantový výtěžek fytoplanktonu

KORELACE AOM: chl-a (FP), počet buněk (mikroskop)



Sečteno...

- AOM provozuschopné v různých podmínkách, on-line měření, dálkový export dat do laboratoře
- Kvantita biomasy, rozlišení sinic a řas, fyziologický stav (indukovaná fluorescence chl-a)
- Interpretace Kautského křivky – zkušenosti
- **Velmi nízké limity detekce/kvantifikace: early warning system**

Závěry

- systémy on-line monitoringu jsou vyvíjeny
- Jsou komerčně dostupné
- Dávají mnoho dat....
- Nutná kontrola (extrapolace, ÚDRŽBA!!!)
- Sofistikovaná interpretace nutná
- Významně pomáhají hlídat havárie i pochopit procesy v ekosystému