ORIĢINĀLS NOSŪTĪTS E-PASTĀ.

2021. gada 10. jūnijs

Polar Vortex LLC
Rendijs Sellers (Randy Sellers)

Par Pool Tiger filtrēšanas izpēti

Cien. Sellersa kungs!

Cove Environmental (Cove) ar gandarījumu iesniedz šo pētījumu uzņēmumam Pool Tiger. Detalizēta izpētes informācija un rezultāti ir sniegti nākamajās lappusēs.

Ja jums radīsies jebkādi jautājumi vai komentāri, lūdzu, zvaniet man pa tālruni (405) 372-2122 vai sazinieties e-pastā shannon@covesciences.com. Mēs novērtējam iespēju sniegt jums pakalpojumus.

Ar cieņu,

Šenona Skota (Shannon Scott)
Cove Environmental, LLC.
Laboratorijas direktore | Toksicitāte ūdens vidē
www.covesciences.com

MATERIĀLI UN METODES

Polar Vortex LLC uzņēmumam Cove Environmental nodrošināja Pool Tiger filtrēšanas ierīci, kas tika lietota toksicitātes ūdens vidē noteikšanai, izmantojot aļģu un baktēriju ūdens paraugus. Izveidotie vidēji cieta ūdens paraugi tika piesātināti ar ievadītas iekšējas kultūras alikvotajām daļām. Paraugi paredzētajā ekspozīcijas laikā tika turēti filtrēšanas ierīcē. Kontroles paraugi tika turēti nefiltrētā, vidēji cietā ūdenī. Aļģu pārbaudē dzīvotspēja tika analizēta ar ASV Vides aizsardzības aģentūras (USEPA) notekūdeņu analīzes metodēm (USEPA 2002) un standartizētām aļģu izpētes metodēm (Borowitzka un Moheimani 2013). Uz īsu brīdi tika ievadīts Raphidocelis subcapitata, pēc kā pēc 0,25; 0,5; 1, un 24 stundām ar spektrofotometru tika mērīta absorbcija (Digital Visible 721-VIS), ar ko noteica šūnu dzīvotspēju aļģu hlorofila pārpalikumā. Tas nozīmē, ka, jo augstāka būs aļģu dzīvotspēja, jo augstāka būs absorbcija. Aļģu šūnu blīvums tika noteikts ar automatizētu šūnu skaitītāju (Invitrogen Countess II).

Baktēriju pārbaudēs dzīvotspēja tika noteikta ar skābekļa uzņemšanas pakāpes (OUR) metodi, ko plaši lieto notekūdeņu analīzē (Garcia-Ochoa et al. 2010), lai noteiktu baktēriju un aktivizēto dūņu integritāti. Baktēriju maisījumā suspendētās cietās daļiņas (MLSS) tika piesātinātas. Baktēriju skābekļa patēriņa mērīšanai 10 minūtes ik pēc minūtes OUR pakāpe tika mērīta ar bioloģiskā skābekļa pieprasījuma (BOD) devēju (Hach 40d multimetrs). Parasti veselīgas baktērijas uzrāda skābekļa uzņemšanas palielinājumu, kas rezultātā izraisa izšķīdušā skābekļa (DO) līmeņu samazināšanos. Baktēriju šūnu blīvums tika noteikts ar automātisko šūnu skaitītāju (Invitrogen Countess II). Dzīvotspēja tika apstiprināta ar Trypan Blue pārbaudi (Invitrogen). Dzīvotspēja procentos tika aprēķināta kā dzīvo šūnu daudzuma attiecība pret kopējo katra parauga populāciju. Statistikas analīze tika veikta ar Graph Pad (Prism versija 9.0). Datiem tika veikta normalitātes pārbaude. Aļģu un baktēriju pārbaudes attiecīgi tika veiktas četrkāršos un trīskāršos tehniskajos replikātos.

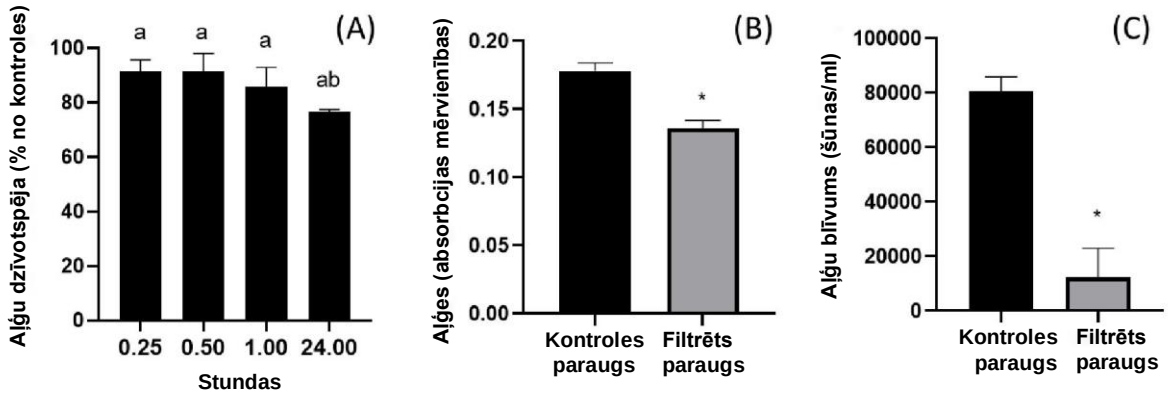
REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Aļģu dzīvotspēja

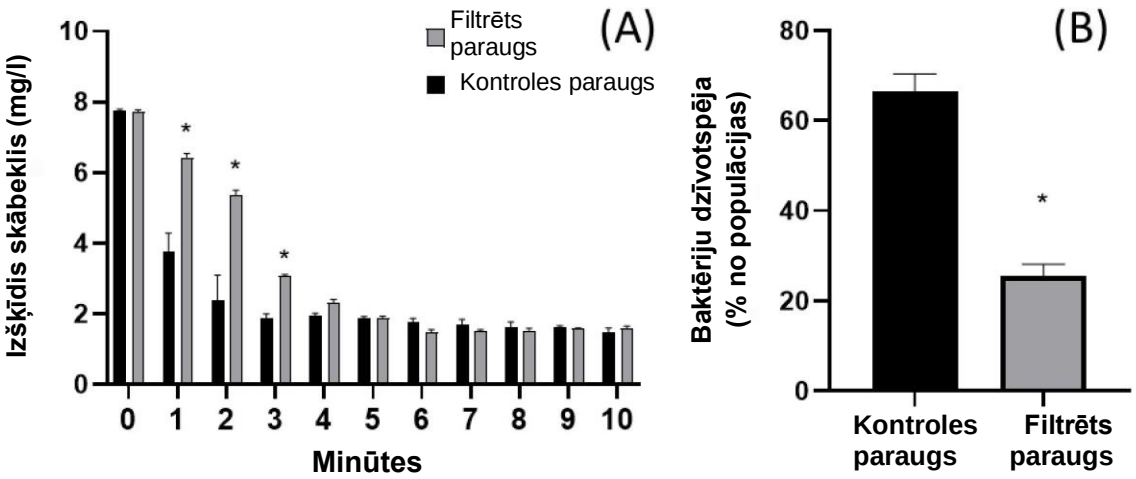
Pārbaužu aļģu dzīvotspējas rezultāti salīdzinājumā ar kontroles paraugiem 24 h stundās pēc ekspozīcijas filtrētajos paraugos uzrādīja būtisku samazinājumu (1A., 1B. attēls). Kopējās aļģu šūnu populācijas filtrētajā paraugā salīdzinājumā ar kontroles paraugiem samazinājās. Turklāt, aplūkojot aļģu blīvumu, tas bija statistiski atšķirīgs (1C. attēls). Tādēļ rezultāti uzrāda pētījumā nomērīto subletālo ietekmi uz aļģēm līdz pētījuma beigu brīdim. Turklāt filtrēšana būtiski ietekmē kopējo šūnu vairošanos, par ko ekspozīcijās līdz 24 stundām liecina hlorofila pārpilnība. Šajā pētījumā nomērītā dzīvotspēja (% no kontroles) bija 76 ± 1 %. Iepriekšējā pētījumā (2021. gada 29. maijs) dzīvotspēja bija 90 ± 2%. Tādēļ ir redzams, ka šajā pētījumā salīdzinājumā ar iepriekšējo pētījumu dzīvotspēja ir samazinājusies.

Baktēriju dzīvotspēja

Baktēriju dzīvotspējas pārbaužu rezultāti uzrādīja būtisku kontroles un filtrēto paraugu OUR līmeņu atšķirību. Ja kopš pirmās minūtes salīdzinājumā ar kontroli tika novērots nepietiekams izšķīdušā skābekļa (DO) patēriņš. Salīdzinājumā ar kontroli tas noturīgi nemainījās (2A. attēls). Acīmredzamas OUR tika novērotas kontroles paraugos, kas liecināja par tipiskām un veselīgām populācijām. Salīdzinājumā ar iepriekšējo pētījumu (2021. gada 29. maijs) gan kontroles, gan filtrētajās populācijās tika konstatētas OUR kultūras, tomēr salīdzinājumā ar kontroli laikā līdz 4 minūtēm uzrādījās inhibīcija. Dzīvotspējas rezultātos filtrētajos paraugos salīdzinājumā ar kontroles paraugiem uzrādījās būtisks samazinājums (25,5 ± 3%) (2B. attēls). Iepriekšējos pētījumos tika iegūta vērtība 39,3 ± 2%. Tādēļ var uzskatīt, ka 30 minūšu laika punktā šūnās, kuras subletālas ietekmes dēļ nespēj veikt šūnu elpošanu, parādās sagaidāmā letalitāte.



1. attēls. Filtrēto paraugu aļģu šūnu dzīvotspēja dažādos laika punktos (A). Absorbcija tika mērīta katrā laika punktā un tika salīdzināta ar kontroles paraugiem. Mazie burti norāda statistiski atšķirīgus laika punktus (ANOVA Post-hoc Tjūkija daudzkārtējā salīdzināšana, alfa = 0,05, N = 4). Kontroles un filtrēto paraugu absorbcijas salīdzinājums 24 stundās (B). Aļģu vairošanās kontroles un filtrētajā paraugā 24 stundās, parauga kopējās šūnu populācijas noteikšanai izmantojot automātisko šūnu skaitītāju. Zvaigznītes simbols norāda, ka vērtība atšķiras no kontroles (Stjūdenta nepāra t-kritērijs, alfa = 0,05, N=4).



2. attēls. Baktēriju skābekļa uzņemšanas pakāpe (OUR), salīdzinot kontroles un filtrētos paraugus (A). Izšķīdušais skābeklis (mg/l) aerētiem paraugiem tika mērīts ar vienas minūtes intervāliem 10 minūšu laikā. Baktēriju dzīvotspēja tika mērīta, 30 minūšu laikā salīdzinot kontroles un filtrētos paraugus. Parauga kopējās šūnu populācijas dzīvotspēja %, izmantojot Trypan Blue pārbaudi un automātisko šūnu skaitītāju, ir norādīta kā % no dzīvotspējīgo baktēriju šūnu skaita. Zvaigznīšu simboli parāda statistisko kontroles un filtrēto paraugu atšķirību katrā konkrētā laika punktā (Stjūdenta kritērijs, alfa = 0,5, N = 3).

REKOMENDĀCIJAS

Nākotnes pētījumos būtu jāņem vērā pilna apjoma filtrēšanas ierīces reprezentācijas izmeklējumi. Tiem būtu jāietver (neaprobežojoties ar uzskaitījumu, ieskaitot apjoma specifikācijas) plūsmu ātrumi un ekspozīcijas laika scenāriji, kas ļautu vēl plašāk apstiprināt šo pētījumu vai izdarīt jaunas konstatācijas.

ATSAUCES

Borowitzka MA, Moheimani NR. 2013. Algae for Biofuels and Energy-Springer Netherlands.

Garcia-Ochoa F, Gomez E, Santos VE, Merchuk JC. 2010. Oxygen uptake rate in microbial processes: An overview. Biochem Eng J. 49(3):289-307. doi:10.1016/j.bej.2010.01.011. http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2010.01.011.

USEPA. 2002. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms Fifth Edition October 2002.