

Stanovení abiosestonu

Petr Pumann
Státní zdravotní ústav

verze červen 2010
(pro kurz Základy mikroskopického obrazu)

Vyjádření abiosestonu

- kvalitativní - textová informace o typu přítomných částic abiosestonu
- kvantitativní – odhad pokrývnosti zorného pole mikroskopu v procentech (limit pro pitnou vodu 10 %)

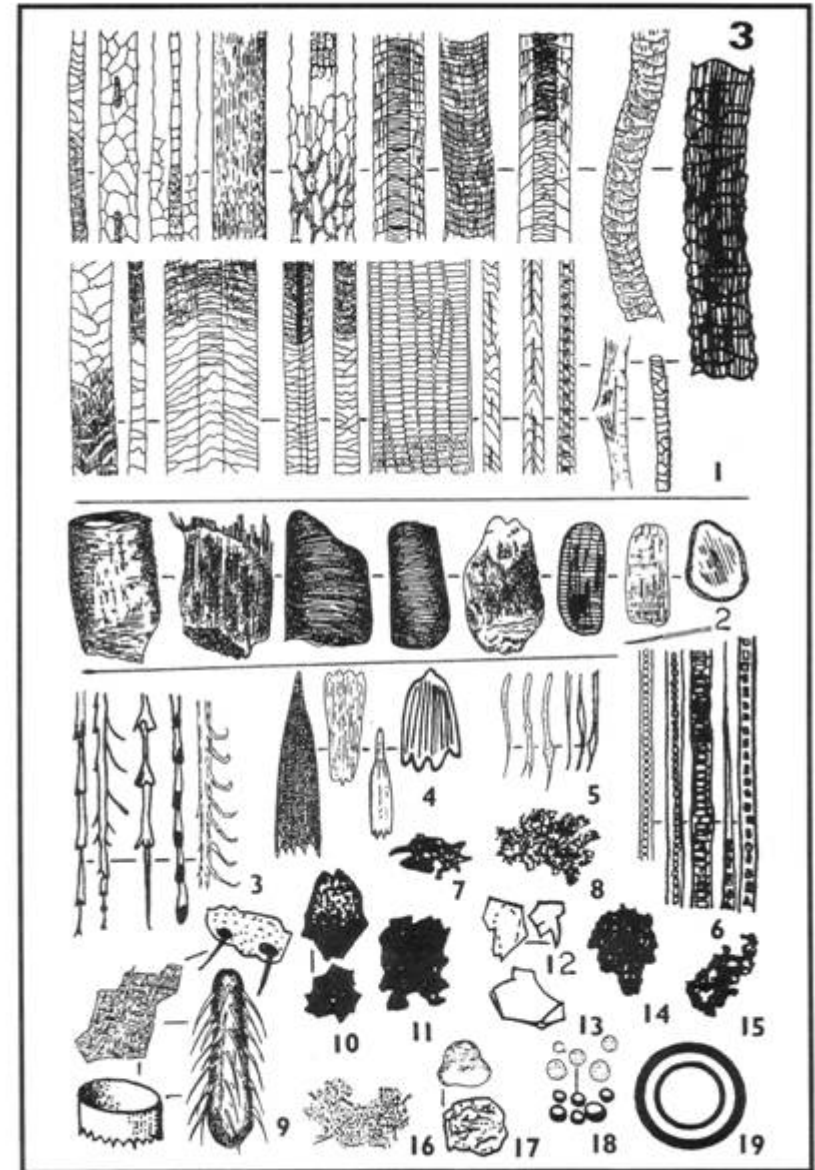
Kvalitativní stanovení

Abioseston ve vodě

- pozůstatky těl různých organismů (např. produkty metabolismu železitých bakterií, prázdné schránky rozsivek, zbytky schránek obrněnek, korýšů, vířníků, hmyzu, pylová a škrobová zrna, zbytky rostlinných pletiv, detritus)
- částice anorganického původu (např. produkty koroze, různé sraženiny, půdní částice)

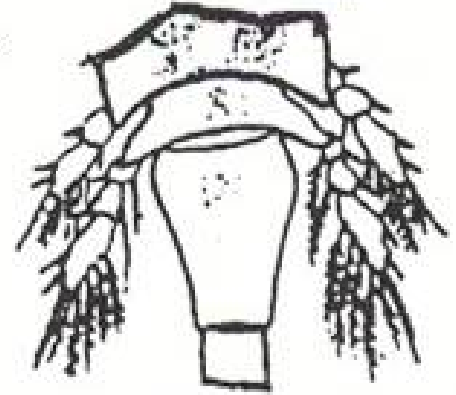
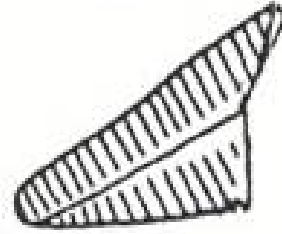
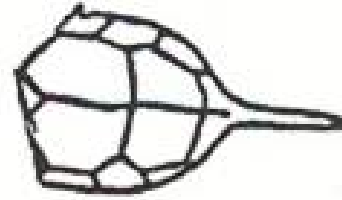
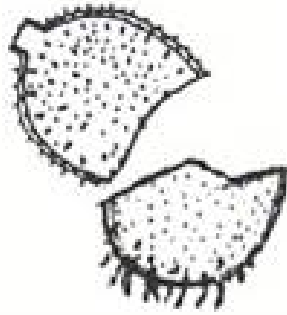
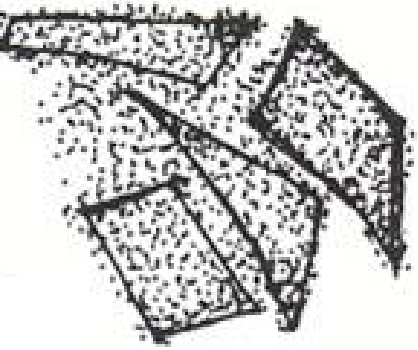
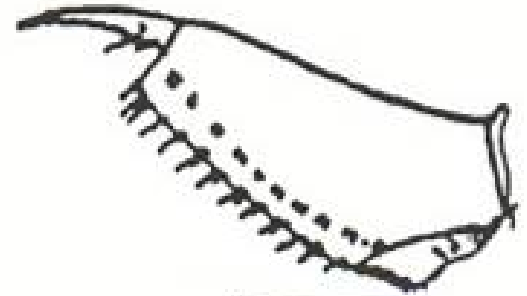
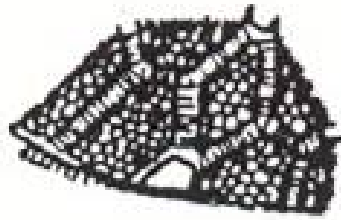
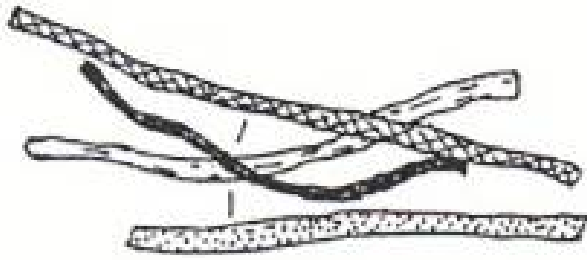
Obrazová tabule 3: *Abioseston (tripton)*, 3. část

1. Vlákna vlny (celá řada druhů)
2. Svalovina, příčné pruhovaná (maso), částečně natrávená
3. Ptačí peří
4. Motýlí šupiny
5. Štětiny chudošětinatých červů (*Oligochaeta*)
6. Krysí chlupy
7. Rez (okrově hnědě zbarvená), $Fe(OH)_3$
8. Sraženina hydroxidu železitého $Fe(OH)_3$
9. Různé zbytky chitinu hmyzu
10. Kamenné (černé) uhlí
11. Hnědé uhlí
12. Odštěpky křemičité horniny
13. Štěpiny skla, průhledné
14. Sírnik železnatý, černý, FeS
15. Saze, černé
16. Detritus = neidentifikovatelné organické zbytky
17. Zrnka písku, částečně světlolomná
18. Olejové krůpěje
19. Vzduchová bublina, tvoří se při zteplávání studené vody anebo při fotosyntéze vodních rostlin



Sládeček, Sládečková – Atlas vodních organismů se zřetelem na vodárenství...

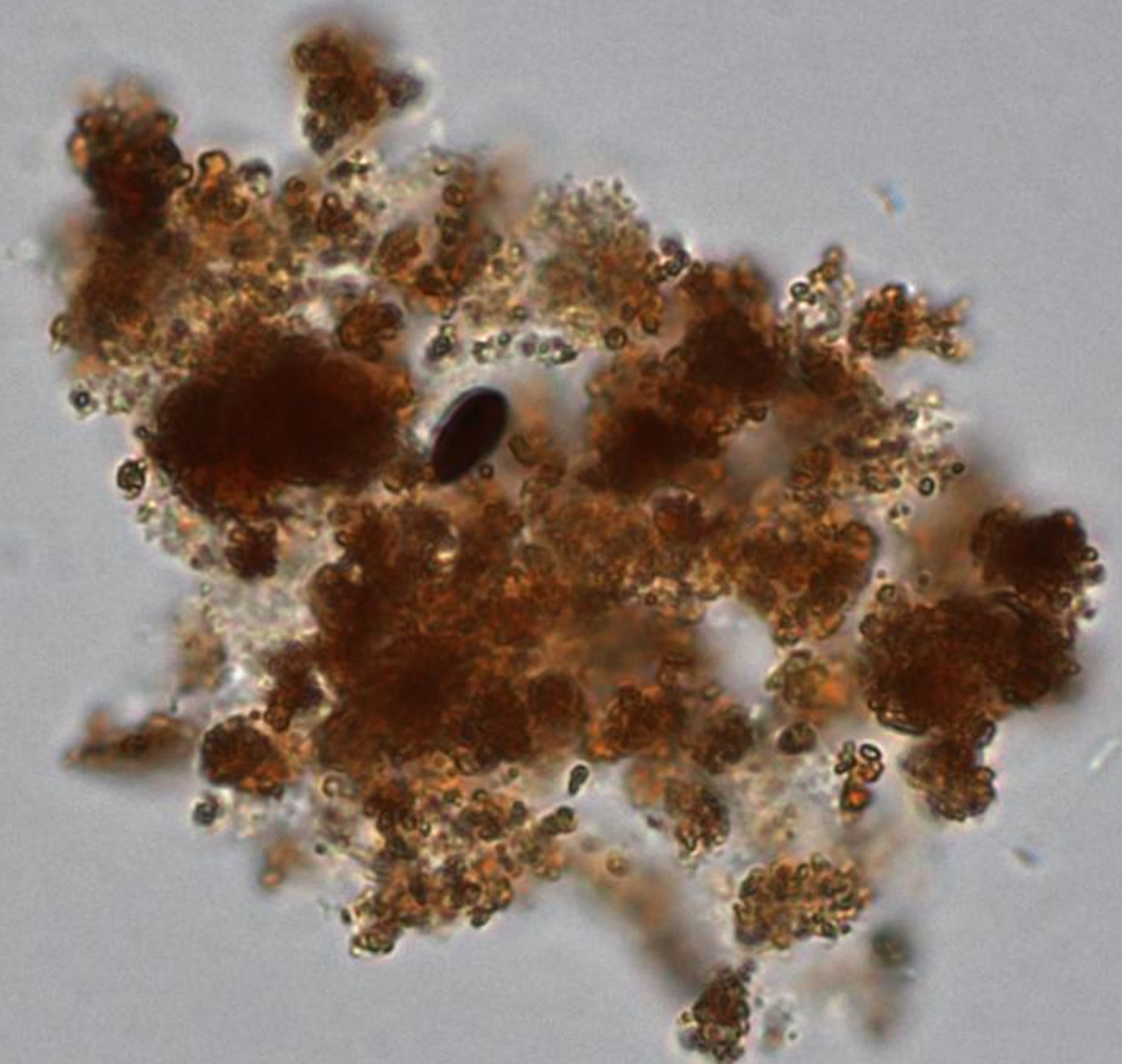
určování podle kreseb je problematické

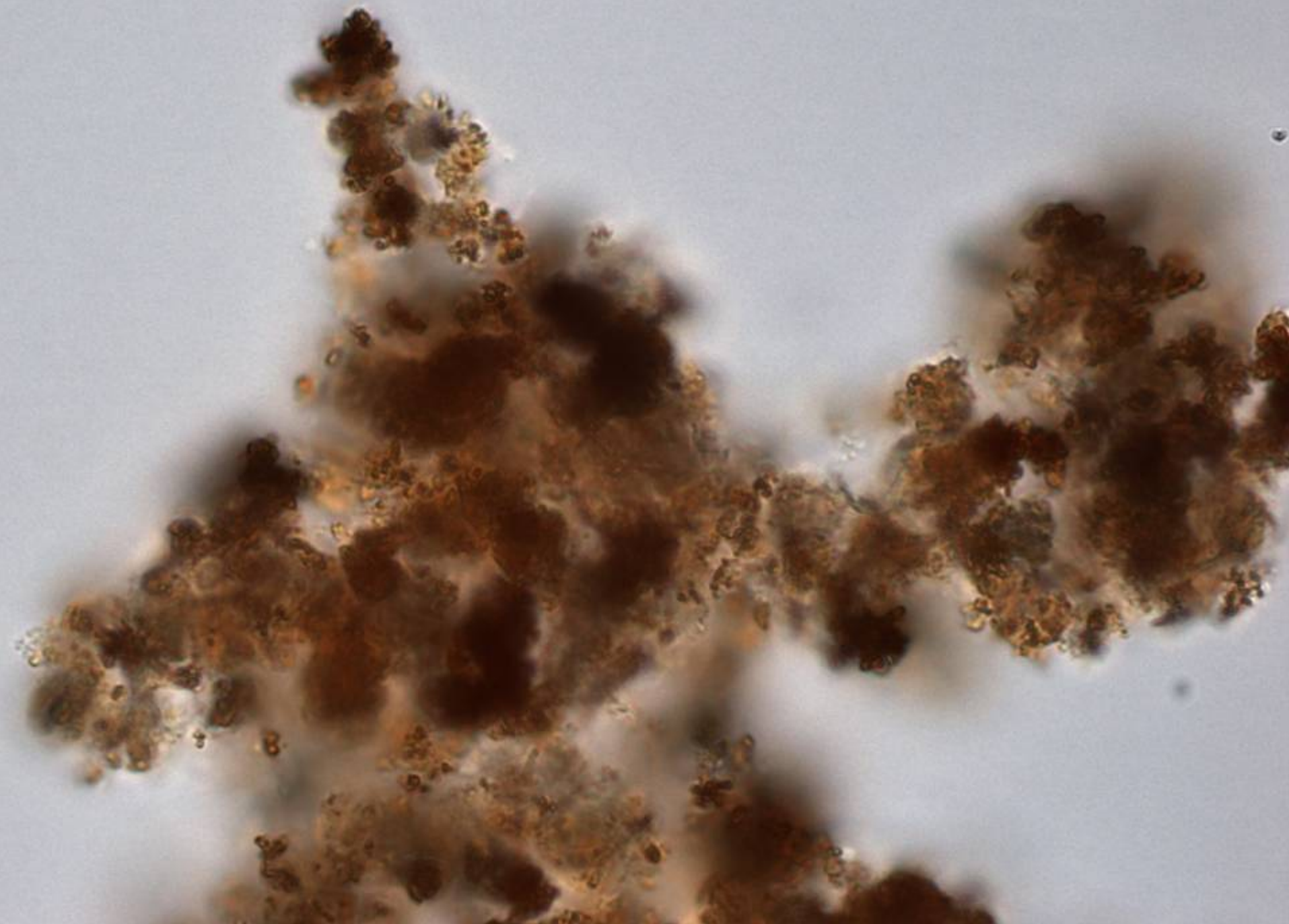


Sraženiiny železa – foceno objektivem 20x

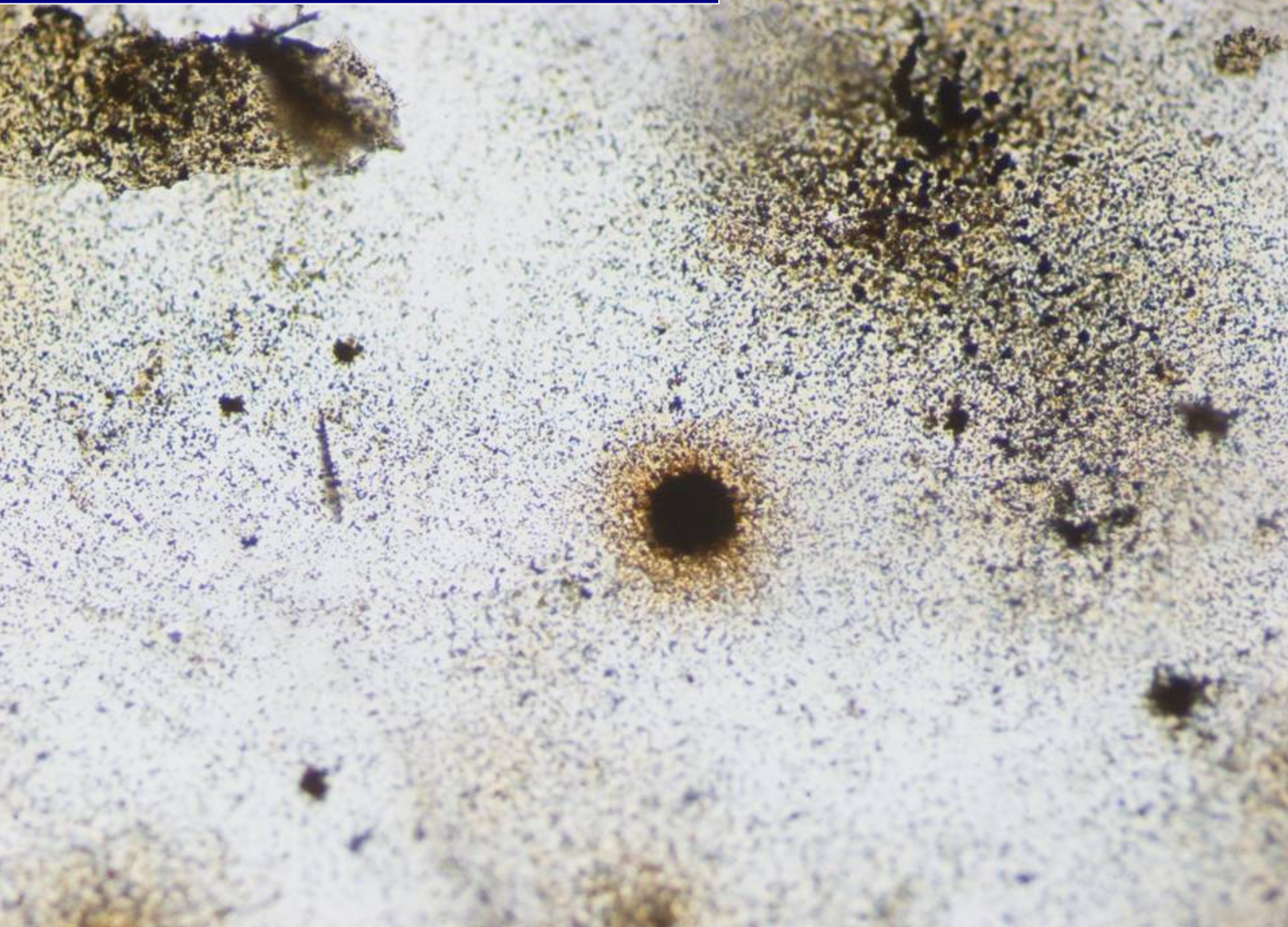


Sraženiiny železa – foceno objektivem 100x

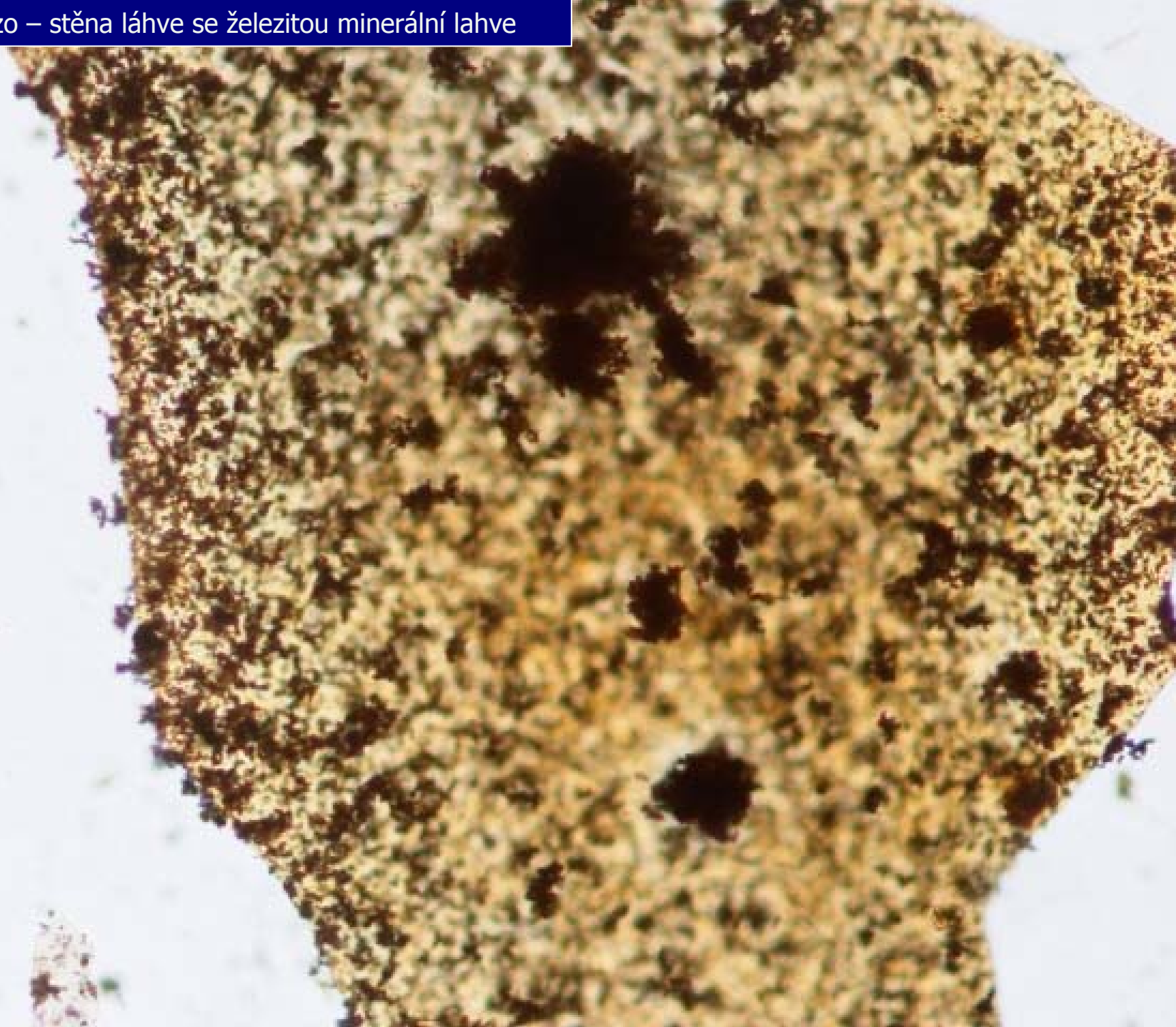




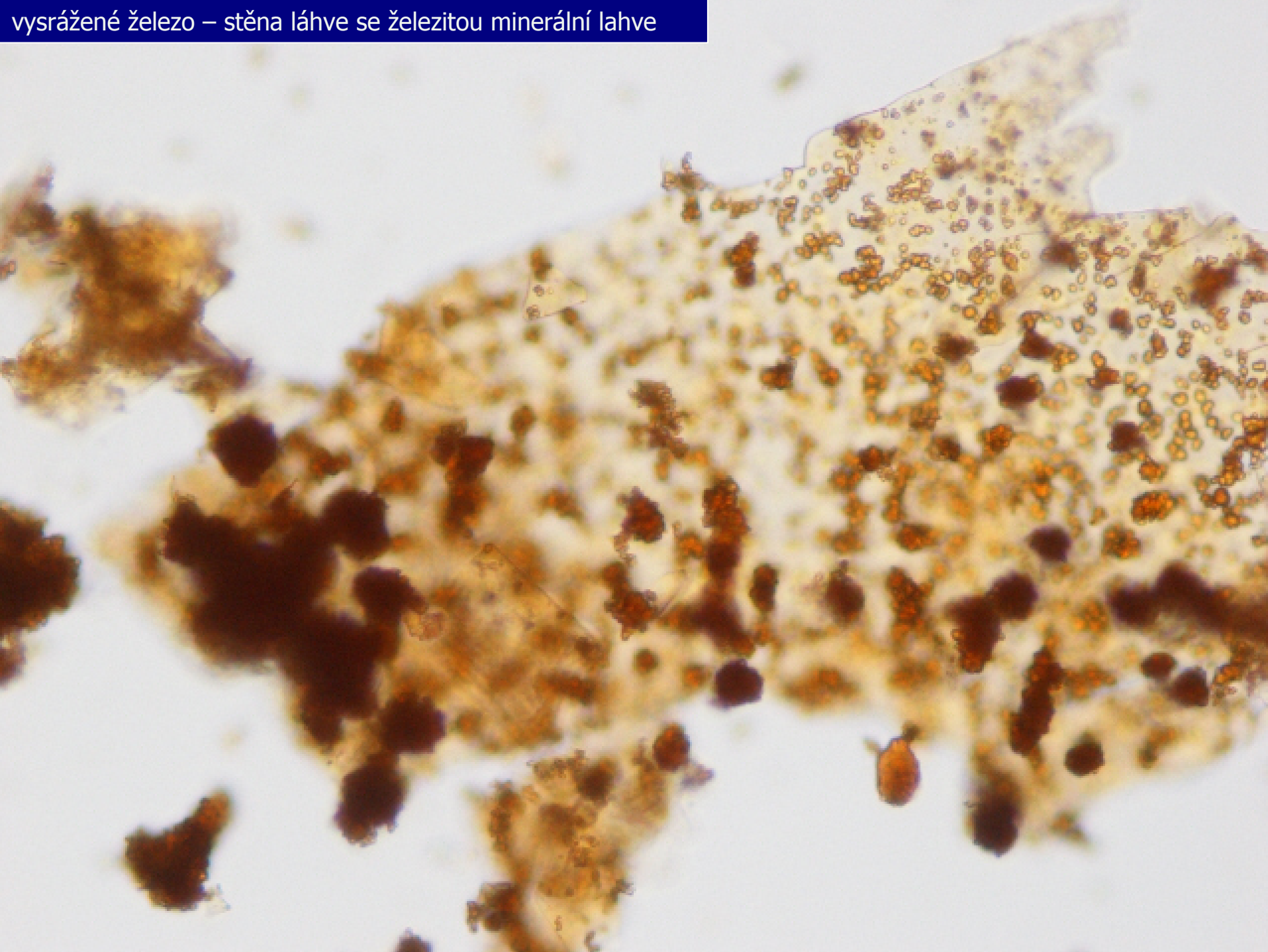
vysrážené železo – stěna láhve se železitou minerální lahve



vysrážené železo – stěna láhve se železitou minerální lahve



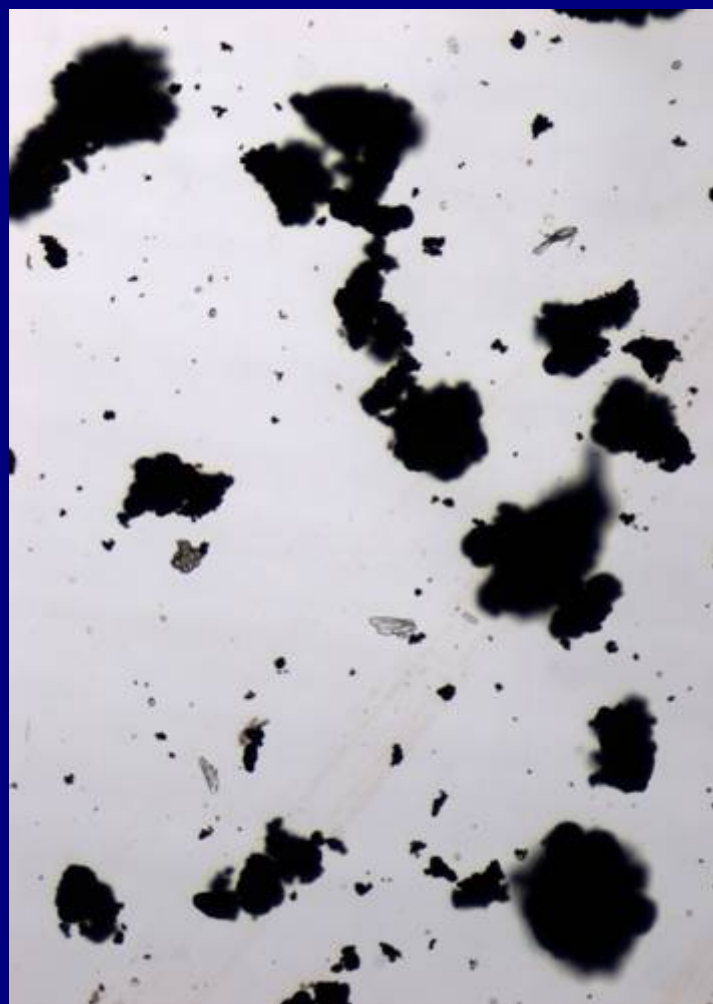
vysrážené železo – stěna láhve se železitou minerální lahve



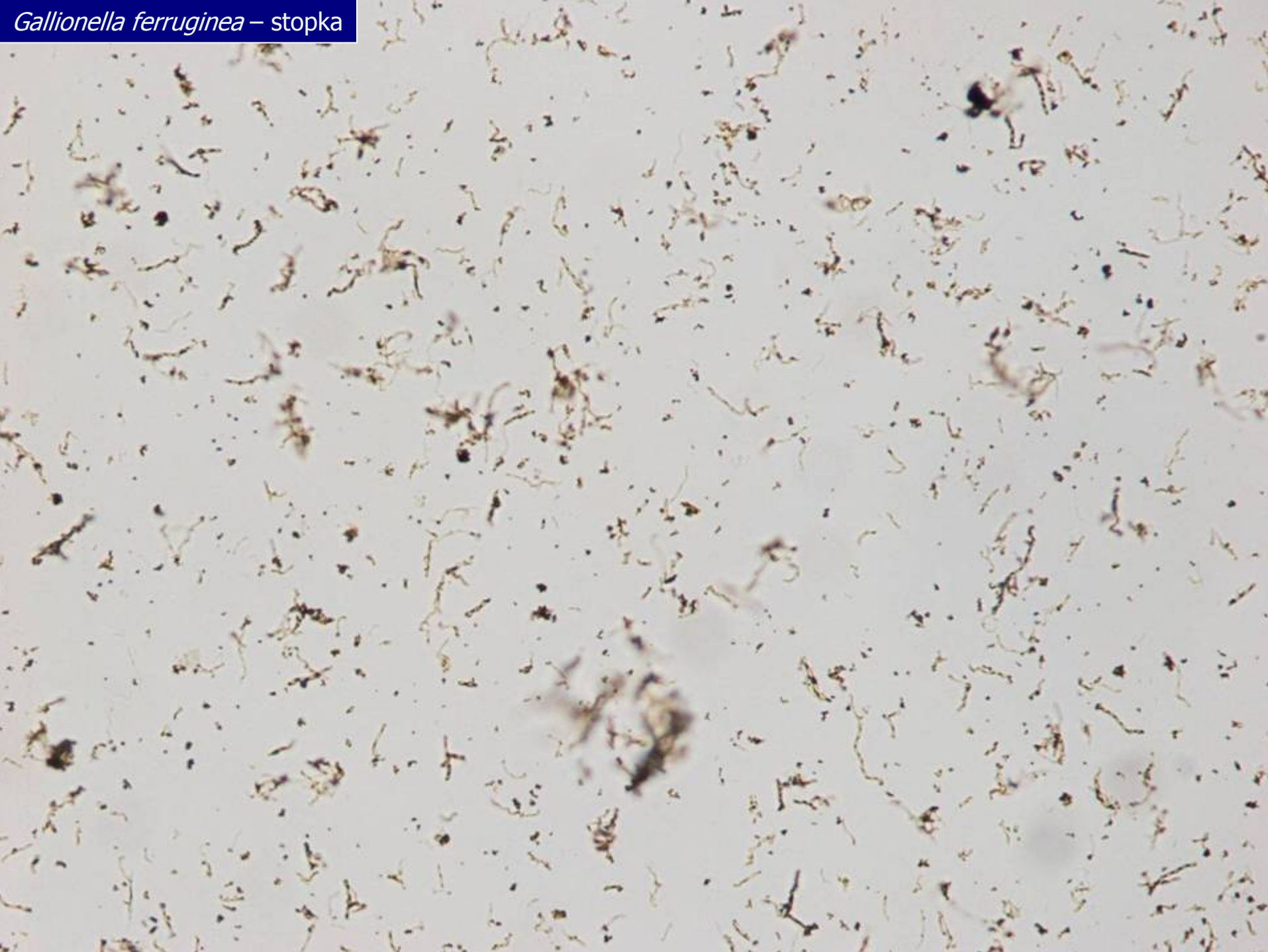
Sraženiiny železa – foceno objektivem 100x

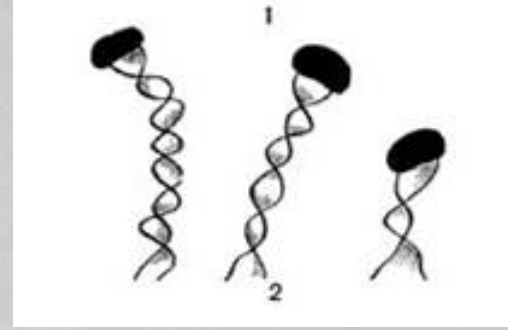


Sraženiny manganu



Gallionella ferruginea – stopka

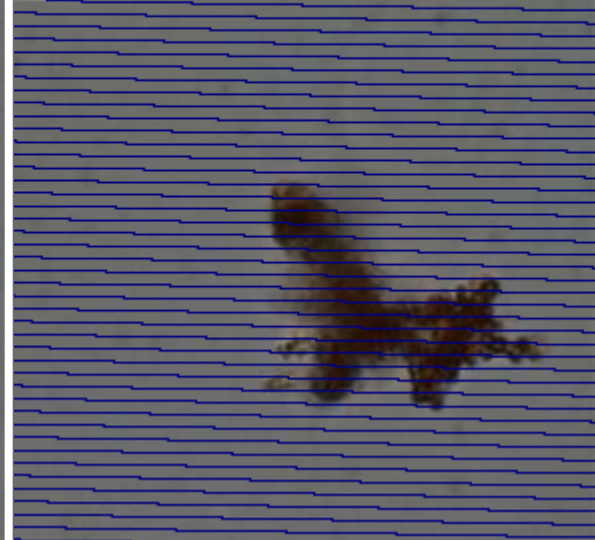
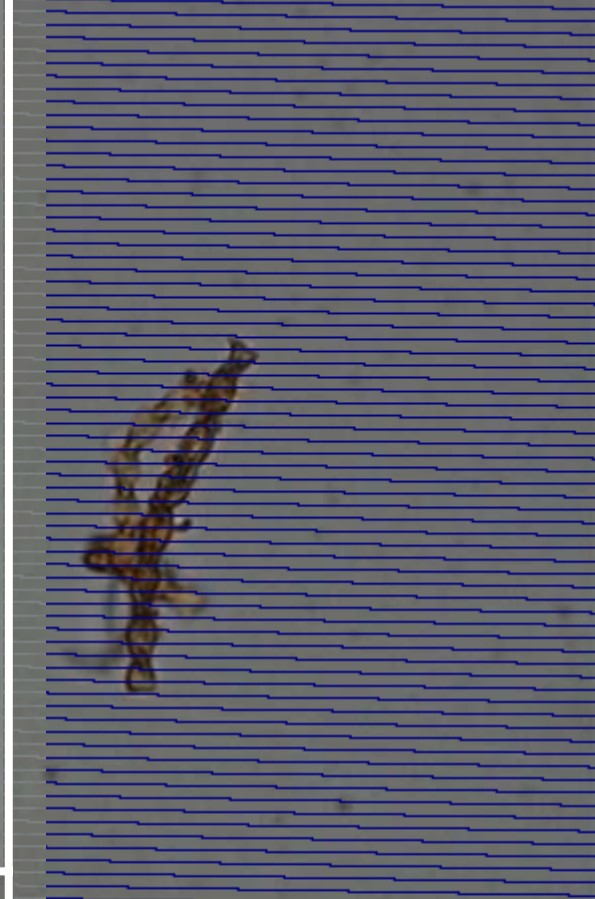
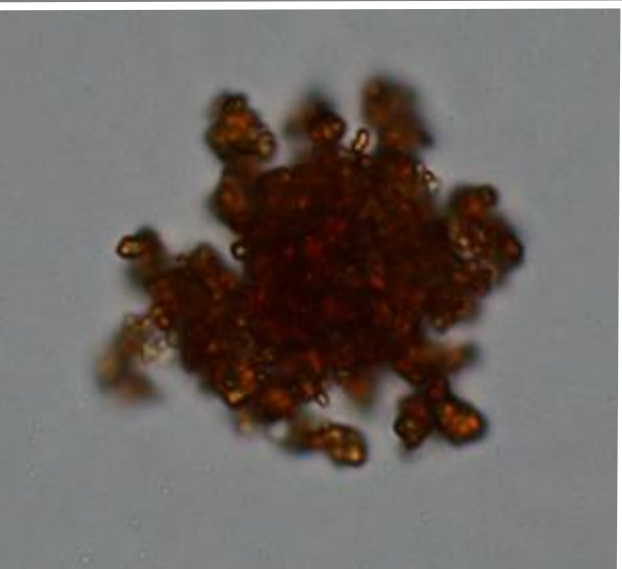
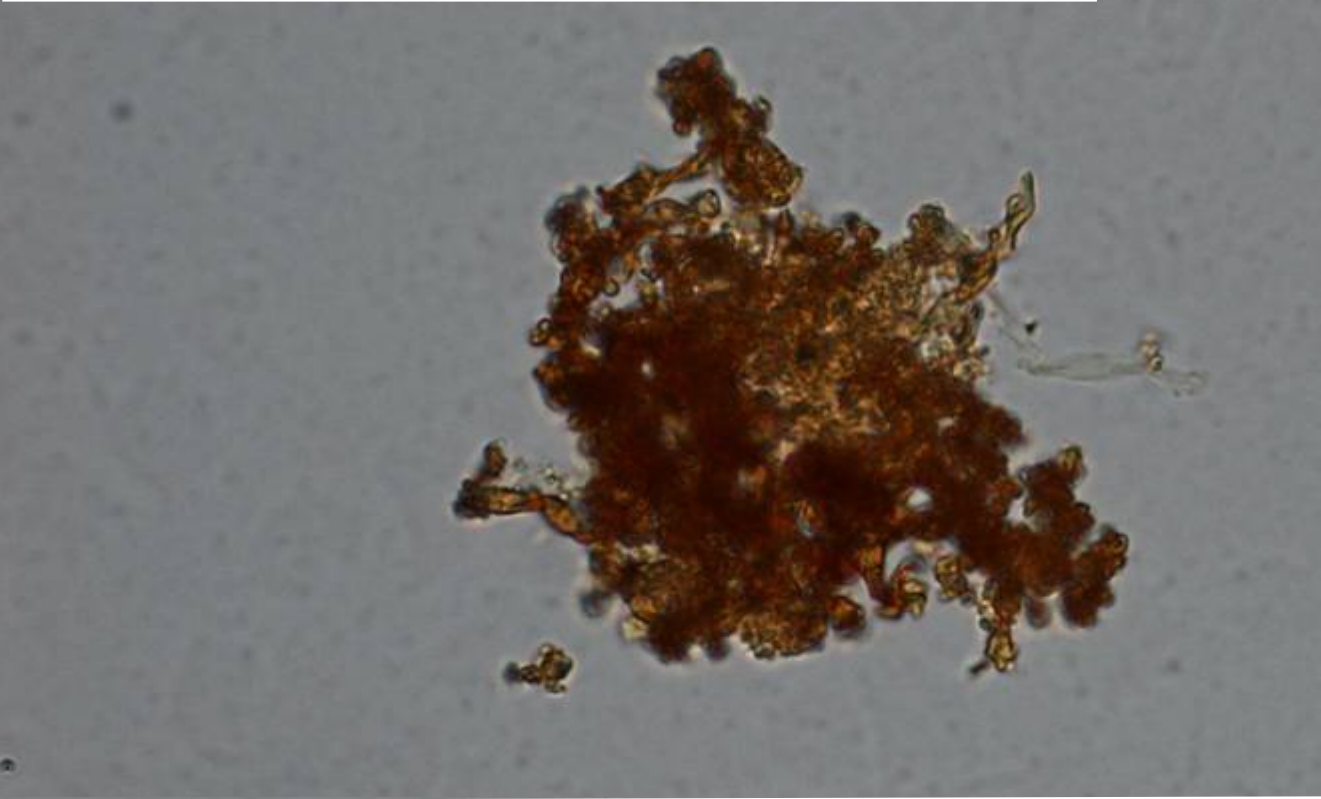




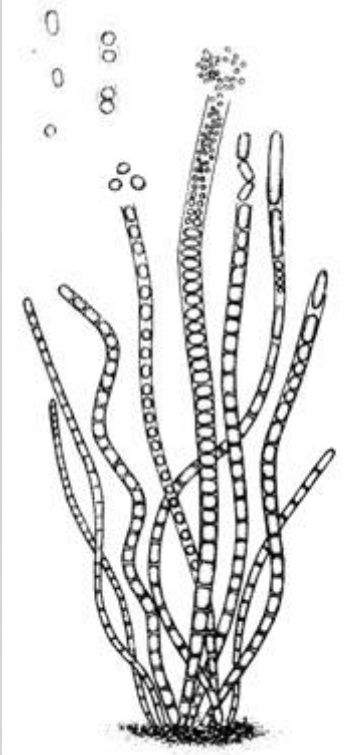
Gallionella ferruginea - stopka



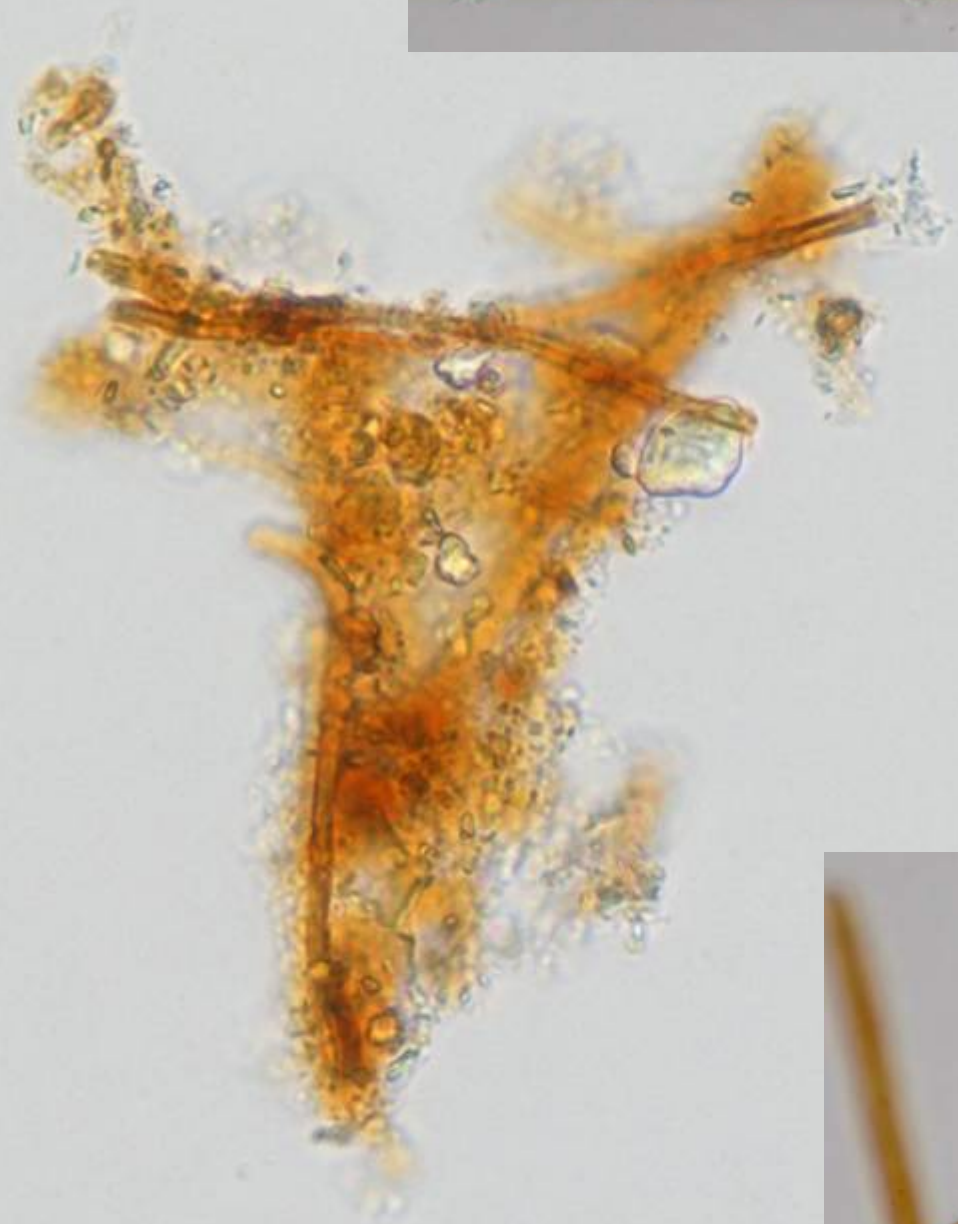
produkty železitých bakterií *Gallionella*; foceno objektivem 20x



Crenothrix polyspora



Leptothrix ochracea

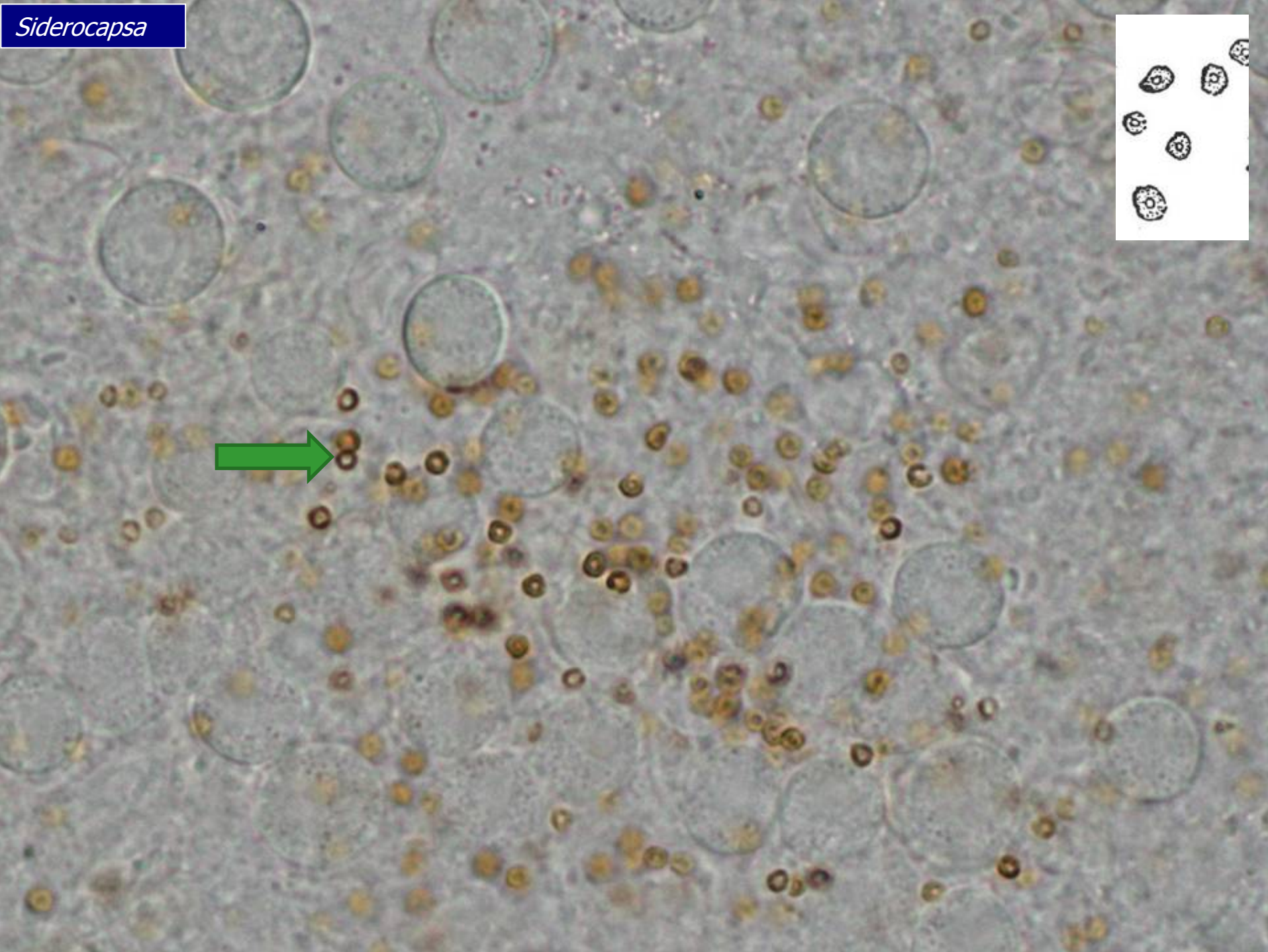




Leptothrix echinata

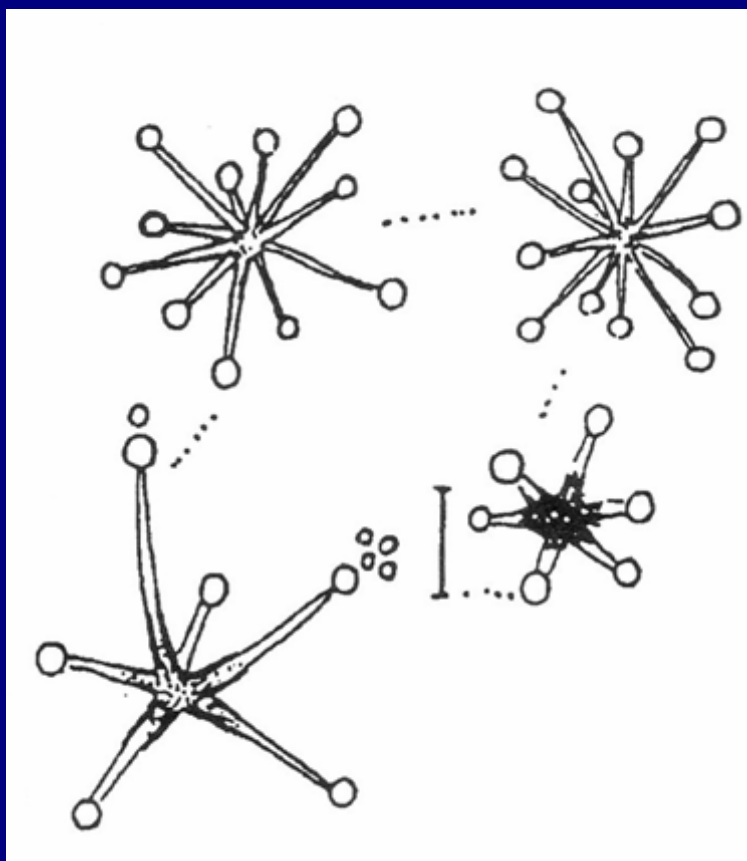


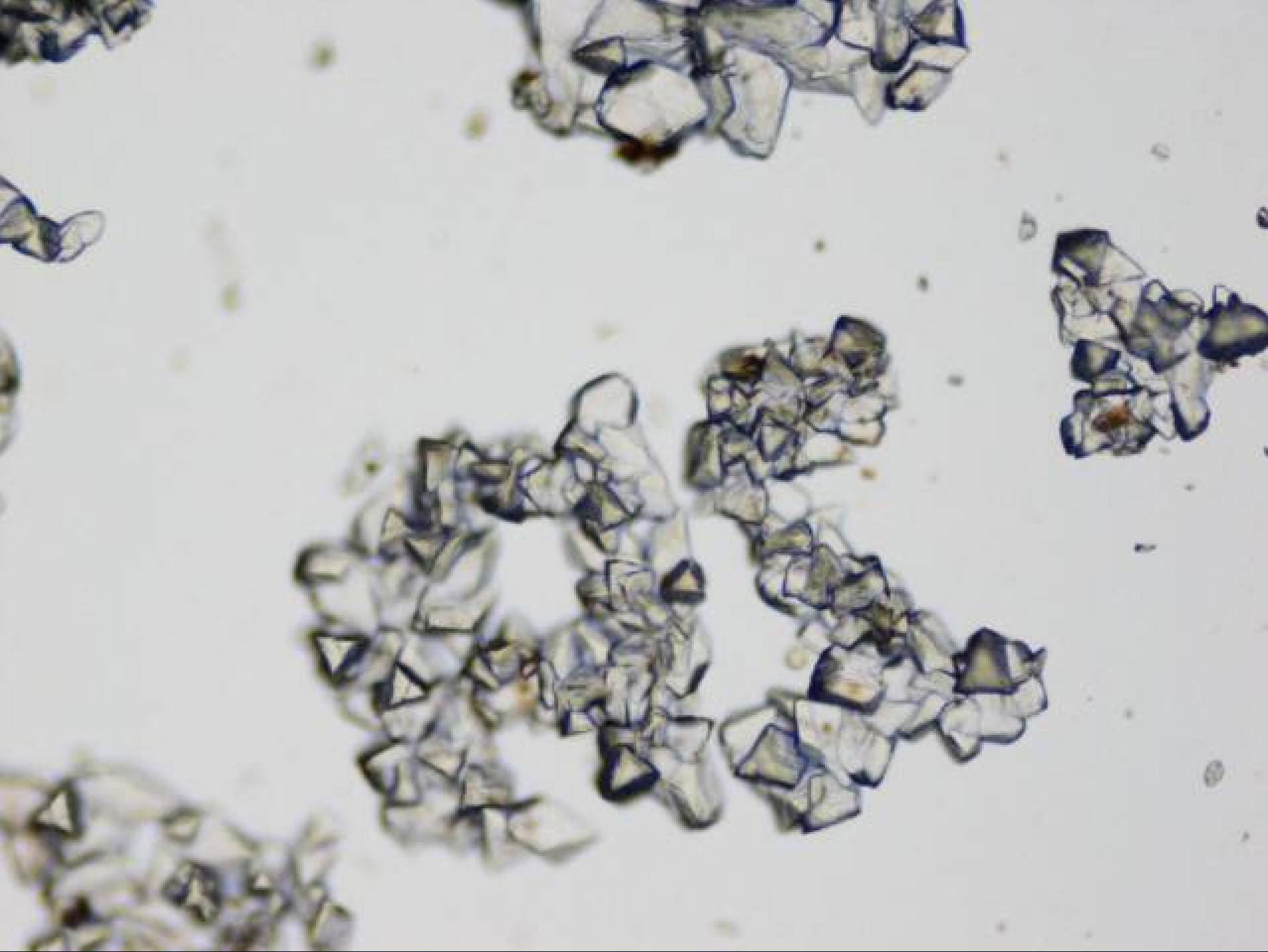
Siderocapsa

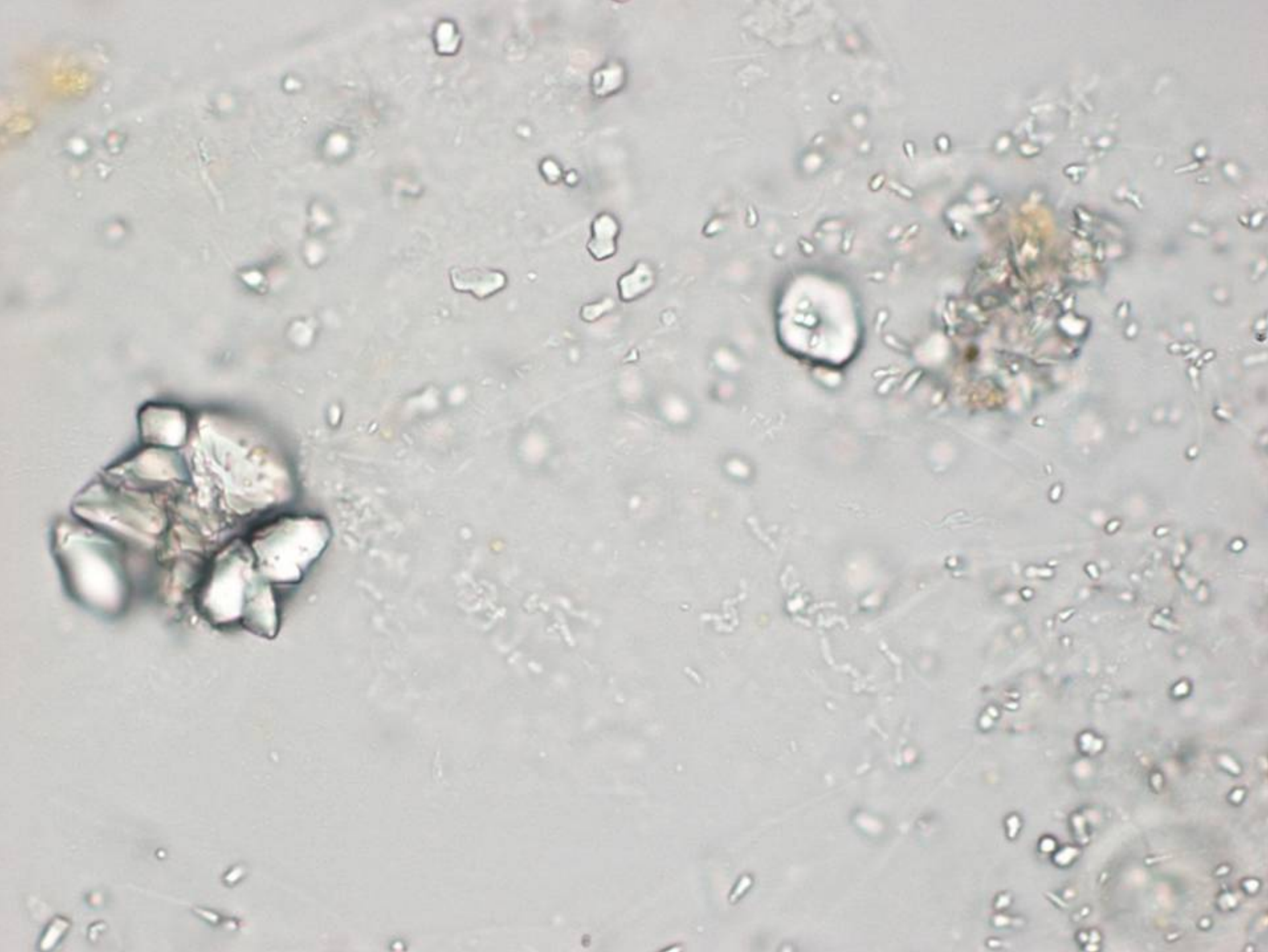


Planktomyces bekefii

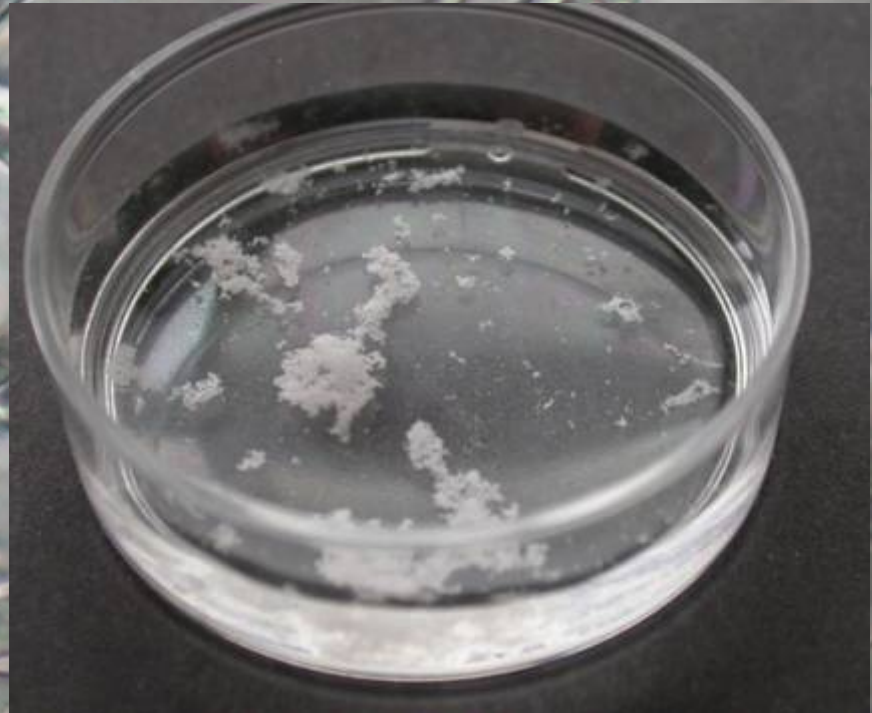
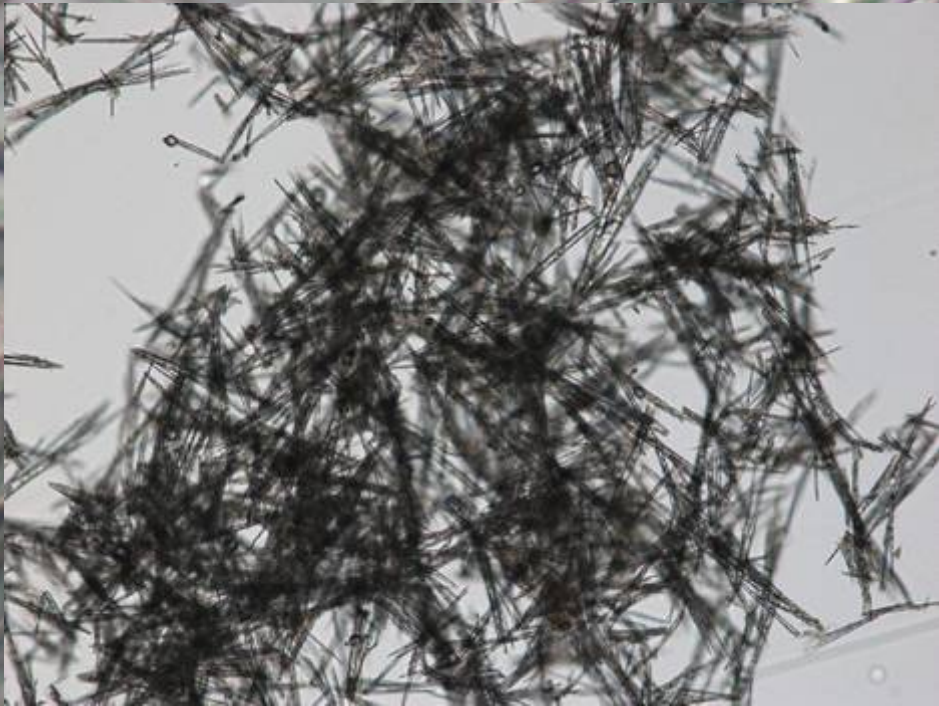
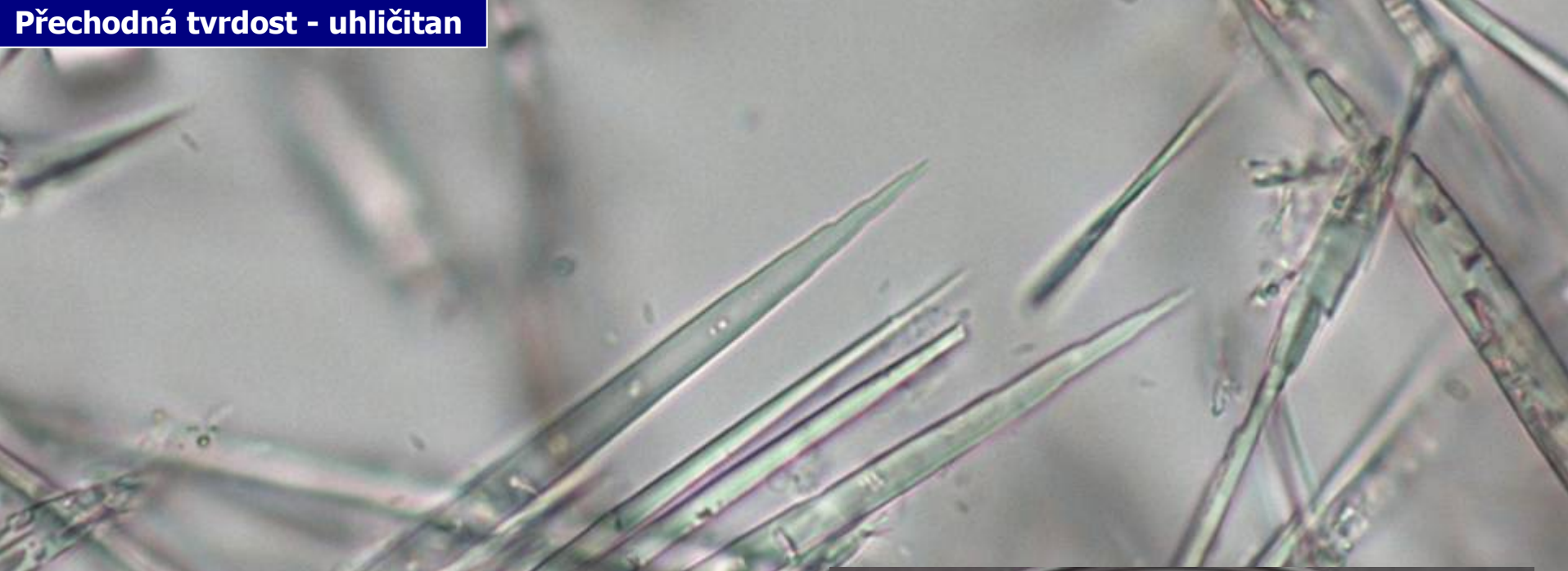
(plankton)



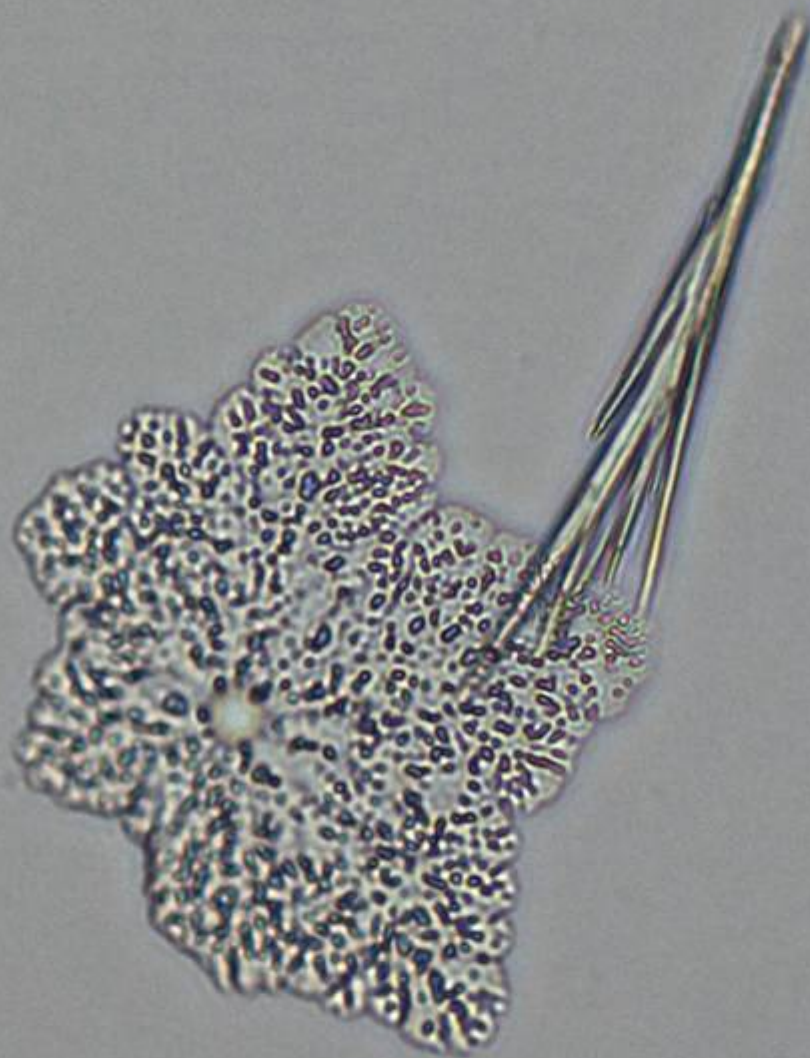




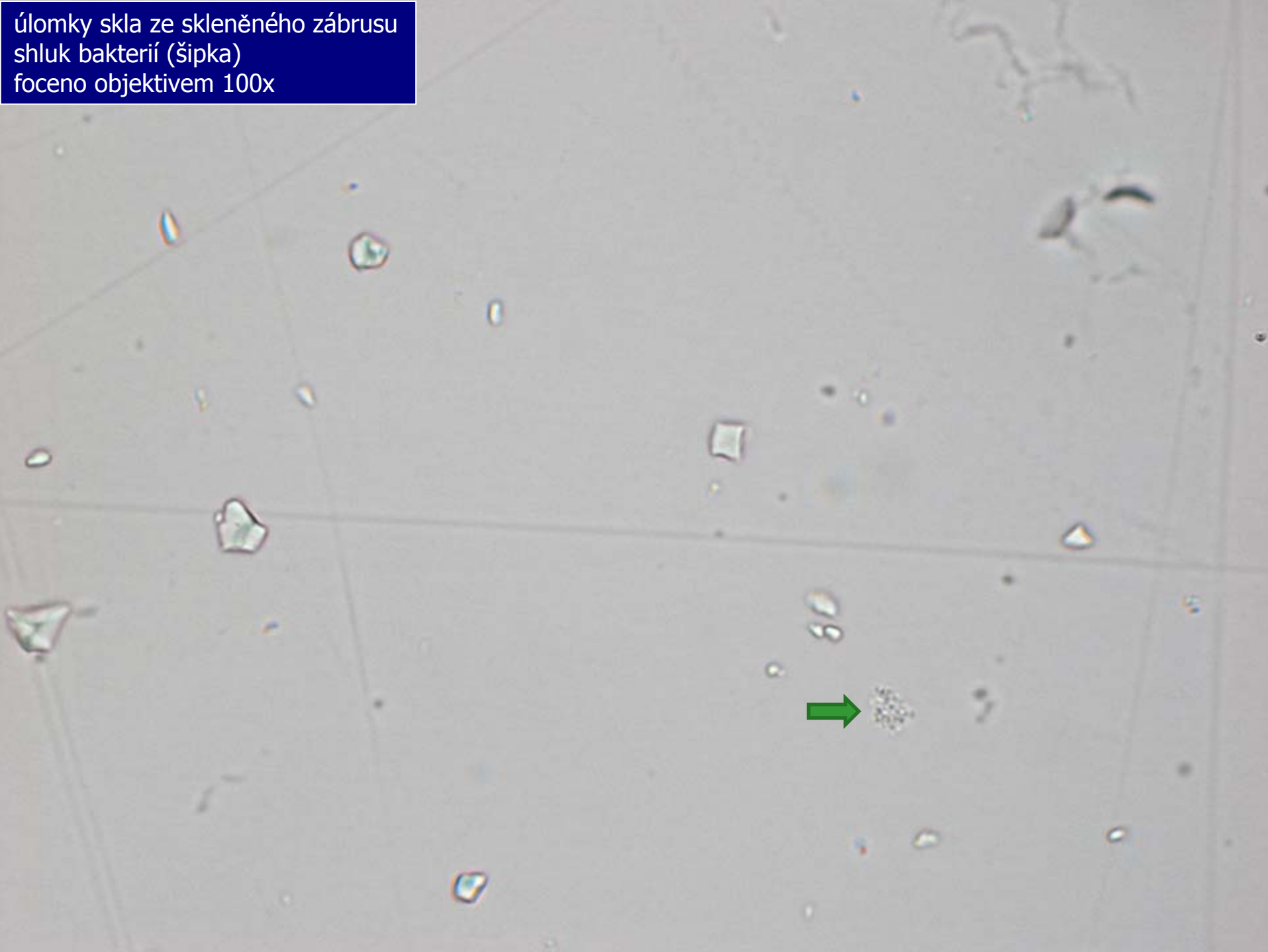
Přechodná tvrdost - uhličitan



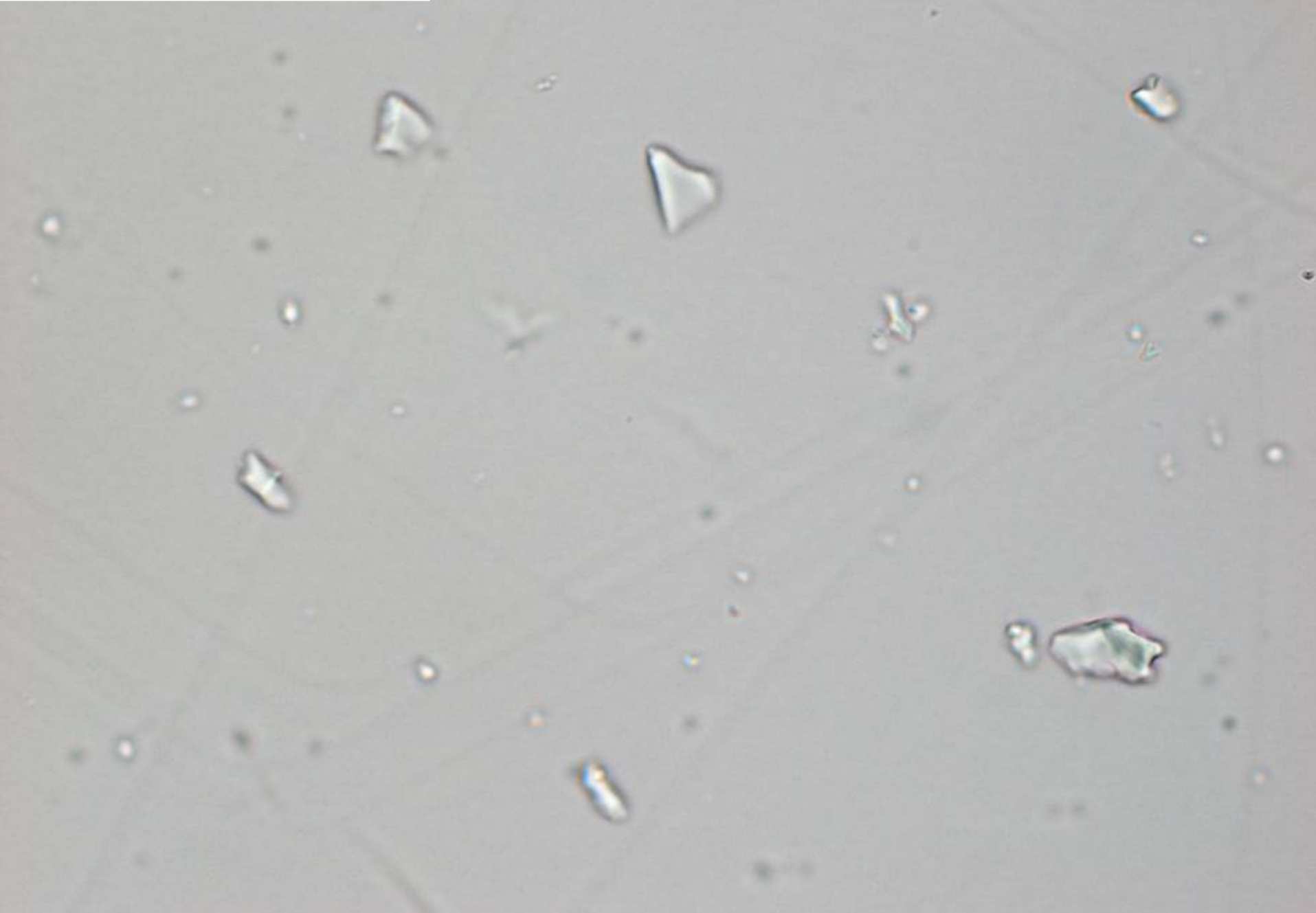
Přechodná tvrdost – uhličitan vápenatý a ?



úlomky skla ze skleněného zábrusu
shluk bakterií (šipka)
foceno objektivem 100x



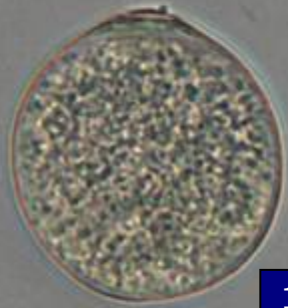
úlomky skla ze skleněného zábrusu
foceno objektivem 100x



pylové zrnó břízy



- 1. pyl břízy
- 2. heterotrofní bakterie



1



1

1

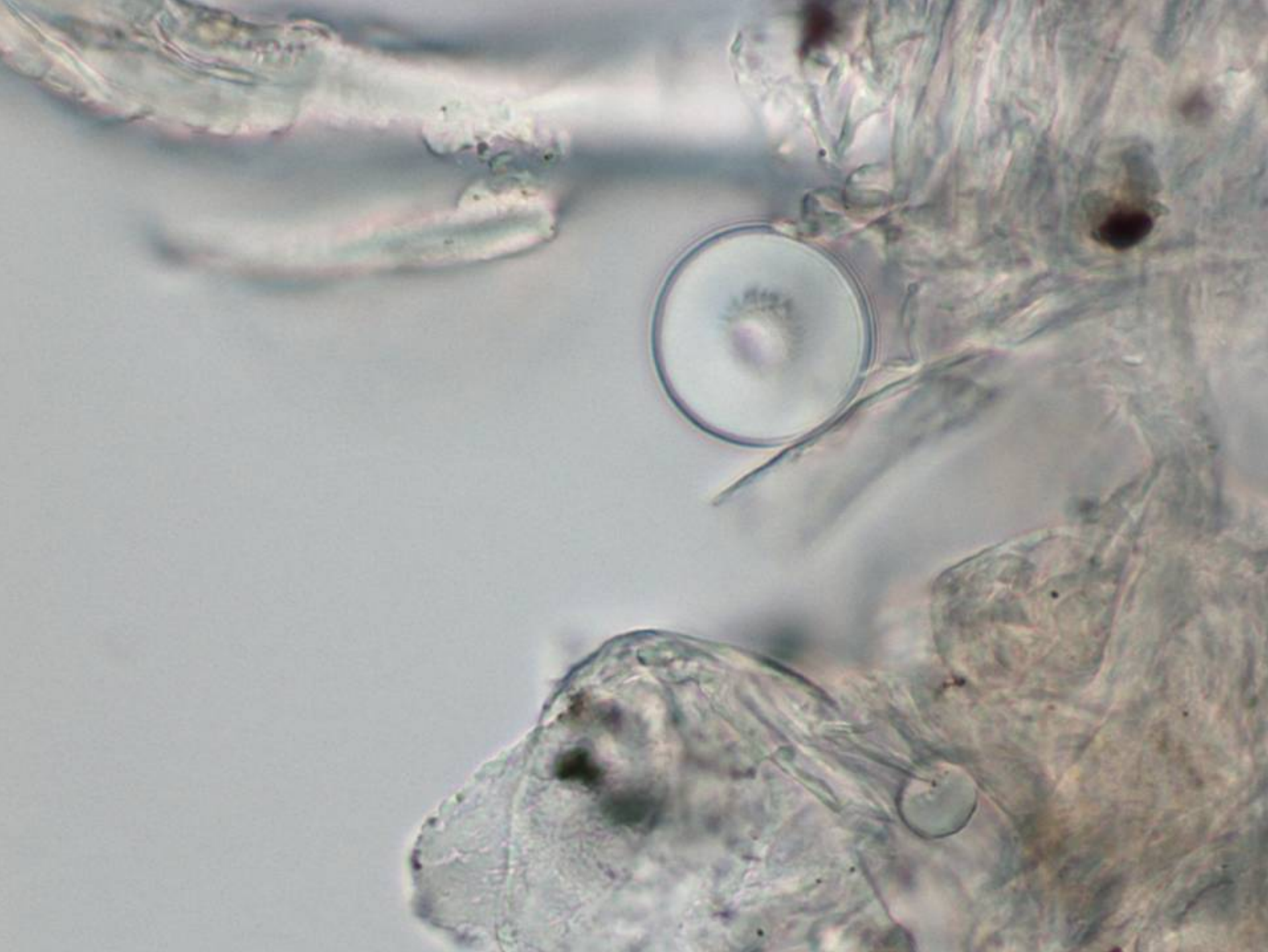
2

1. pyl vrby
2. spory micromycét

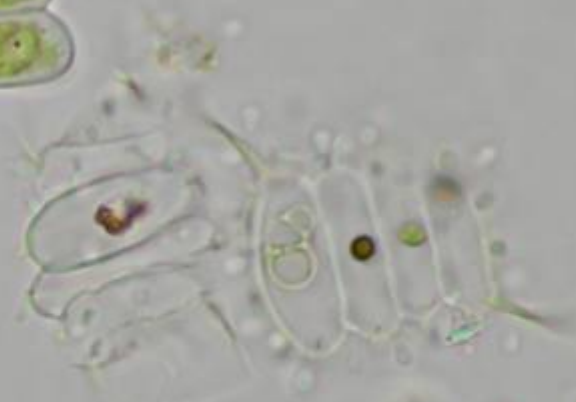
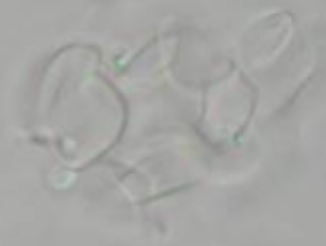


bramborový škrob









Gomphonema (rozšivka) - prázdňá



Problémy při počítání - prázdné schránky rozsivek

Příčinou chyb při kvantifikaci může být také nejednotný přístup k prázdným a téměř prázdným schránkám rozsivek. Na příkladech je ukázáno, jak jsme posuzovali jednotlivé organismy v naší laboratoři, i když u organismů v prostředním rámečku není podle našeho názoru situace jednoznačná.

Nepočítali



Nepočítali



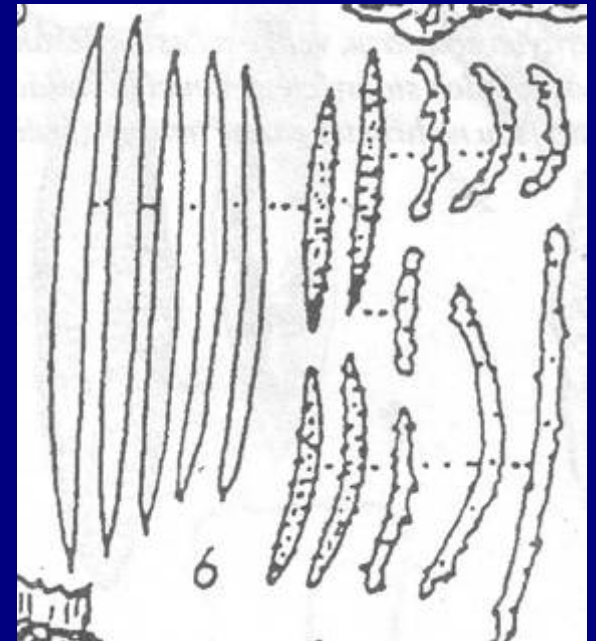
Počítali



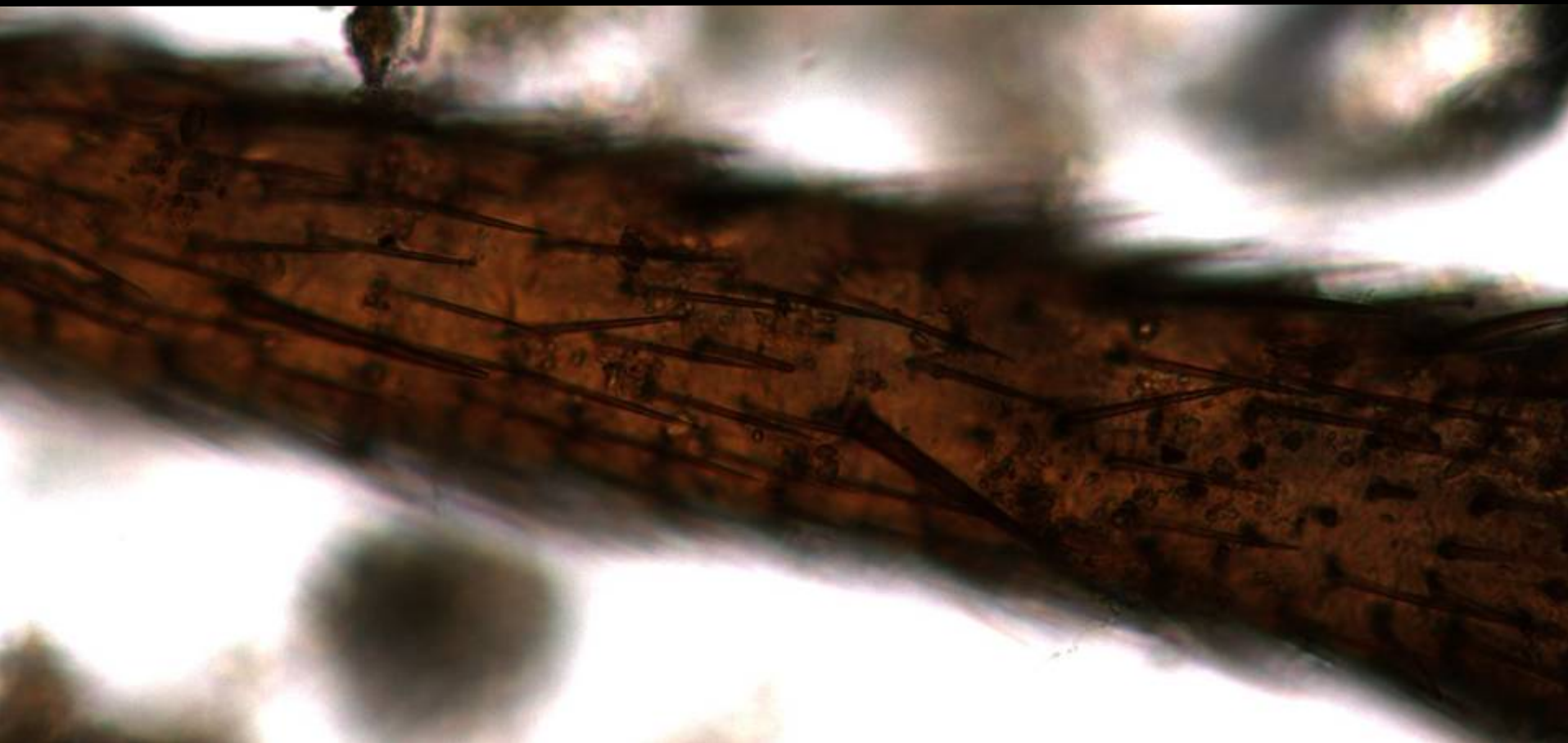
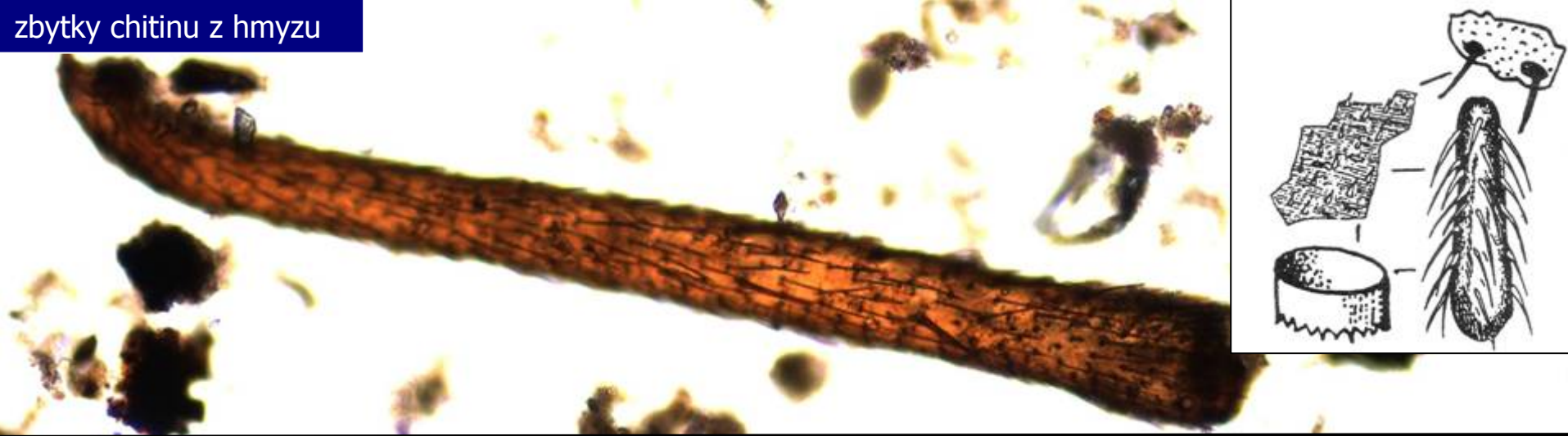
Zbytky pancířů obrněnek



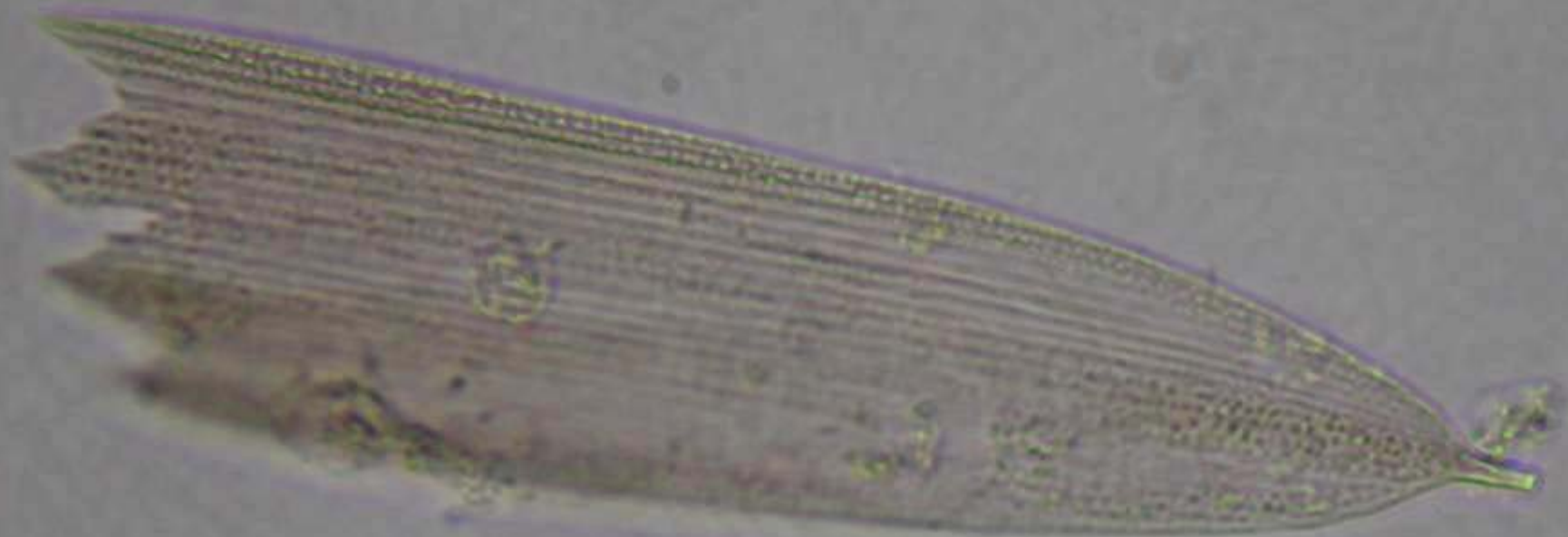
Jedlice sladkovodních hub



zbytky chitinu z hmyzu



šupina z křídla motýla



zbytek rostlinného pletiva



vata – kontaminace v laboratoři



Vata je slisované vláknenné rouno o hustotě až 80 kg/m^3 , jehož vlákna drží vlastní silou pohromadě. Vyrábí se z krátké bavlny, bavlněného odpadu nebo z viskóзовé stříže ke zdravotnickým, hygienickým a kosmetickým účelům.

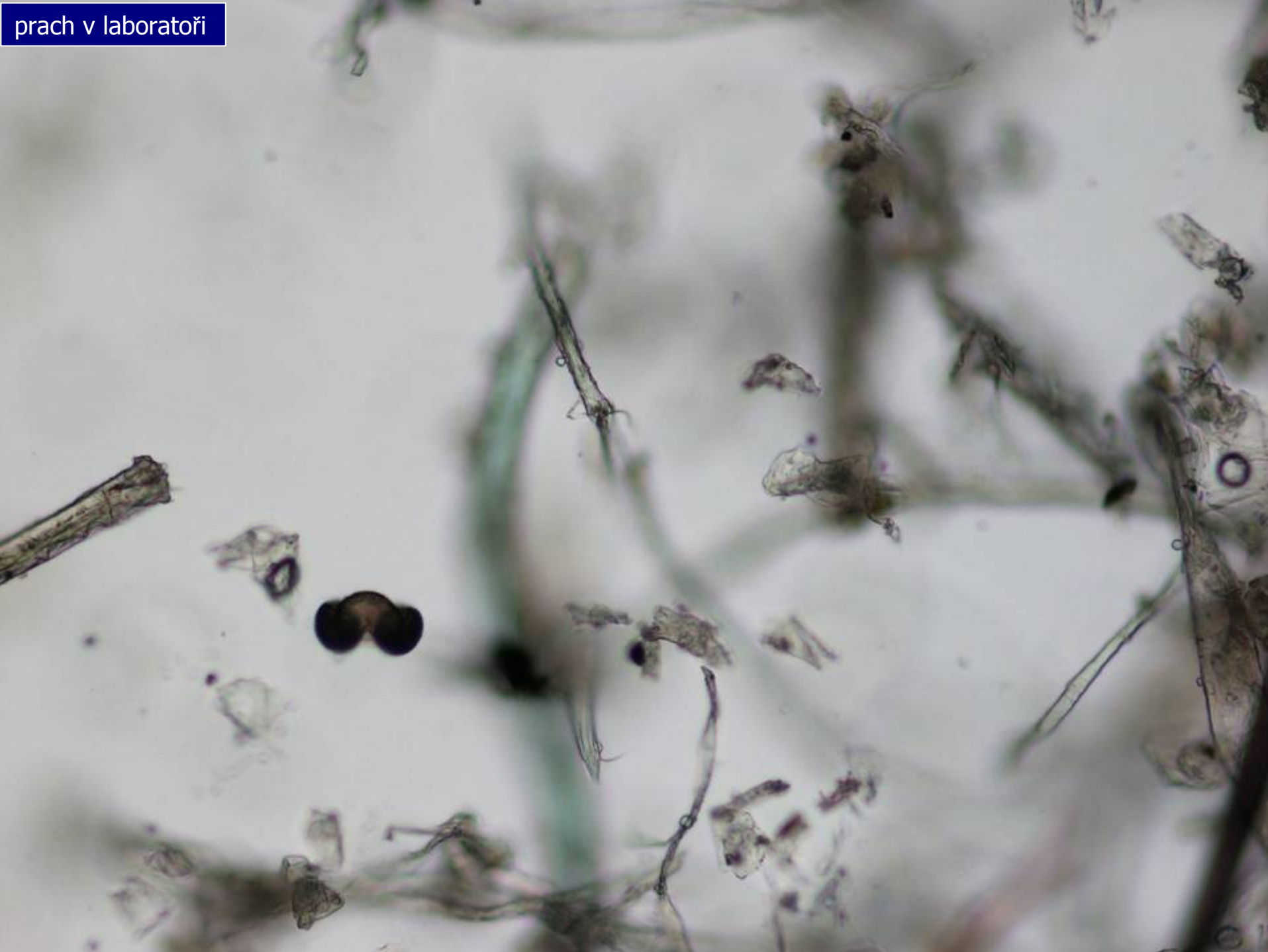
<http://cs.wikipedia.org/wiki/Vata>

buničina – kontaminace v laboratoři



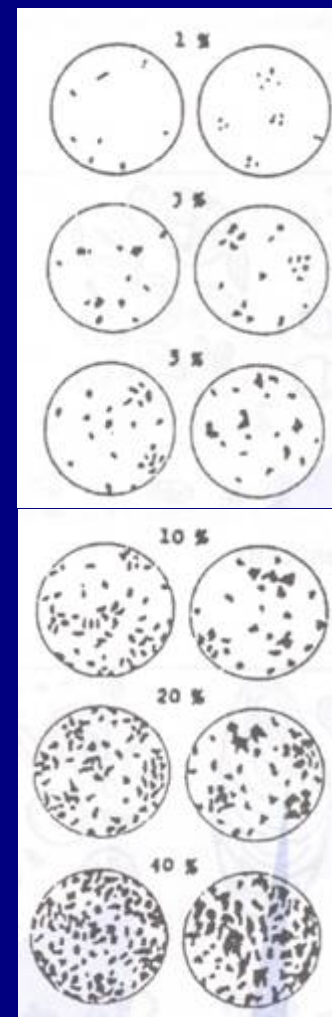
Buničitá vata se vyrábí ve tvaru listu z bělené sulfitové nebo sulfátové buničiny, do které se smí přimíchávat až 20 % dřevní buničiny (papíru). Konečný výrobek sestává z jednoho listu nebo z několika vrstev nad sebou. Pro zdravotnické účely se vata dodává adjustovaná nebo dělená v různých formách a velikostech. <http://cs.wikipedia.org/wiki/Vata>

prach v laboratoři



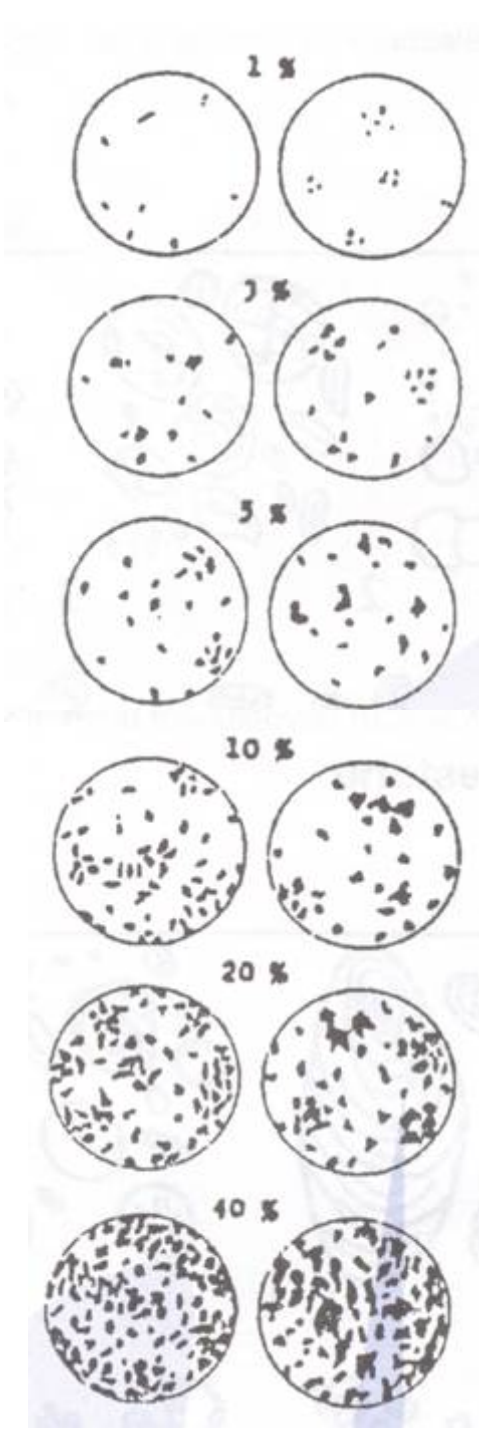
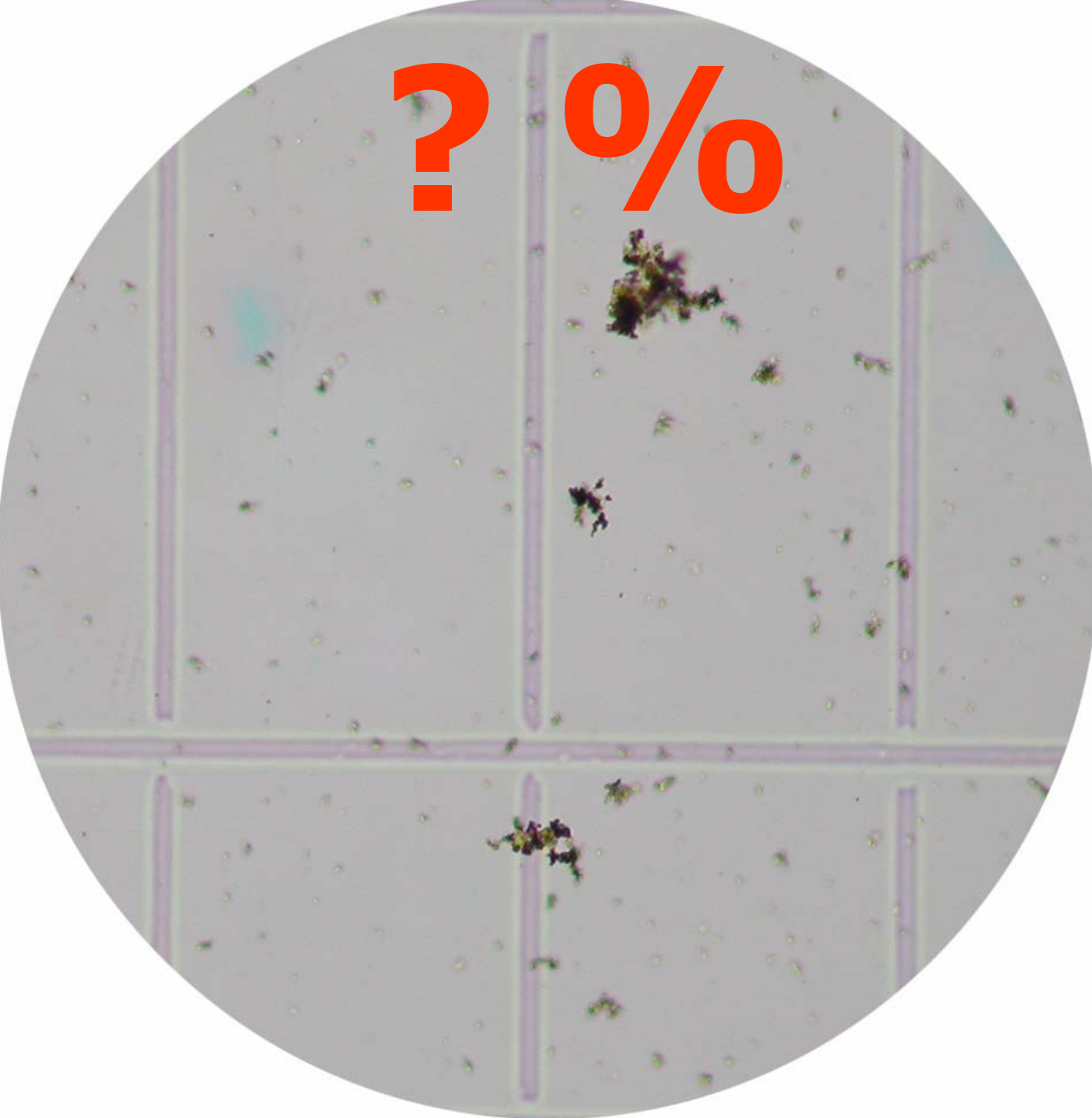
Kvantitativní stanovení abiosestonu podle ČSN 75 7713

- společně s biosestonem
 - odstředění 10 ml vzorku
 - zahuštění na **0,2 ml**
 - přenesení do komůrky Cyrus I.
 - pozorování při 200 násobném zvětšení
- odhad pokrývnosti zorného pole v procentech

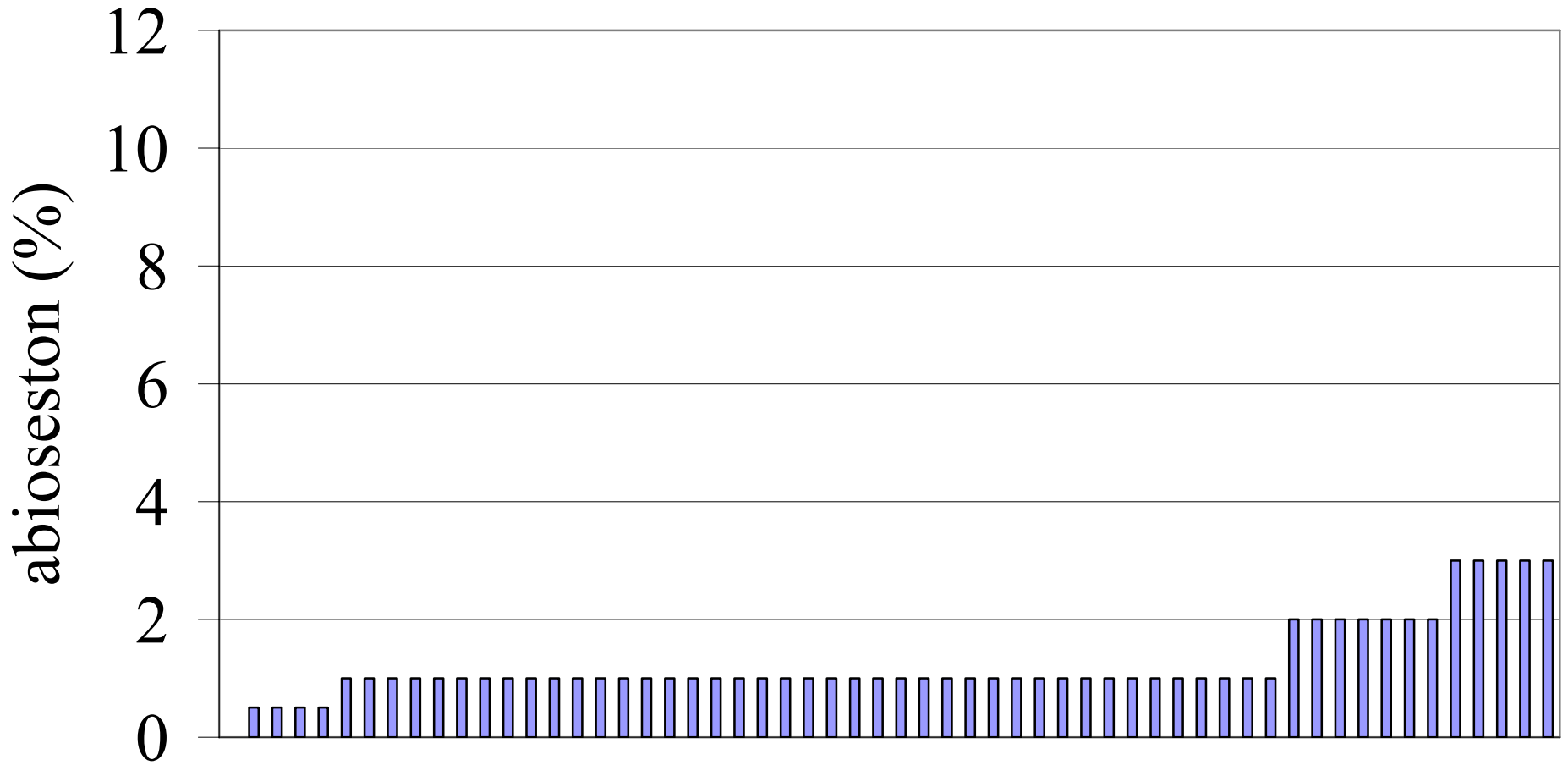


Problémy s ČSN 75 7713

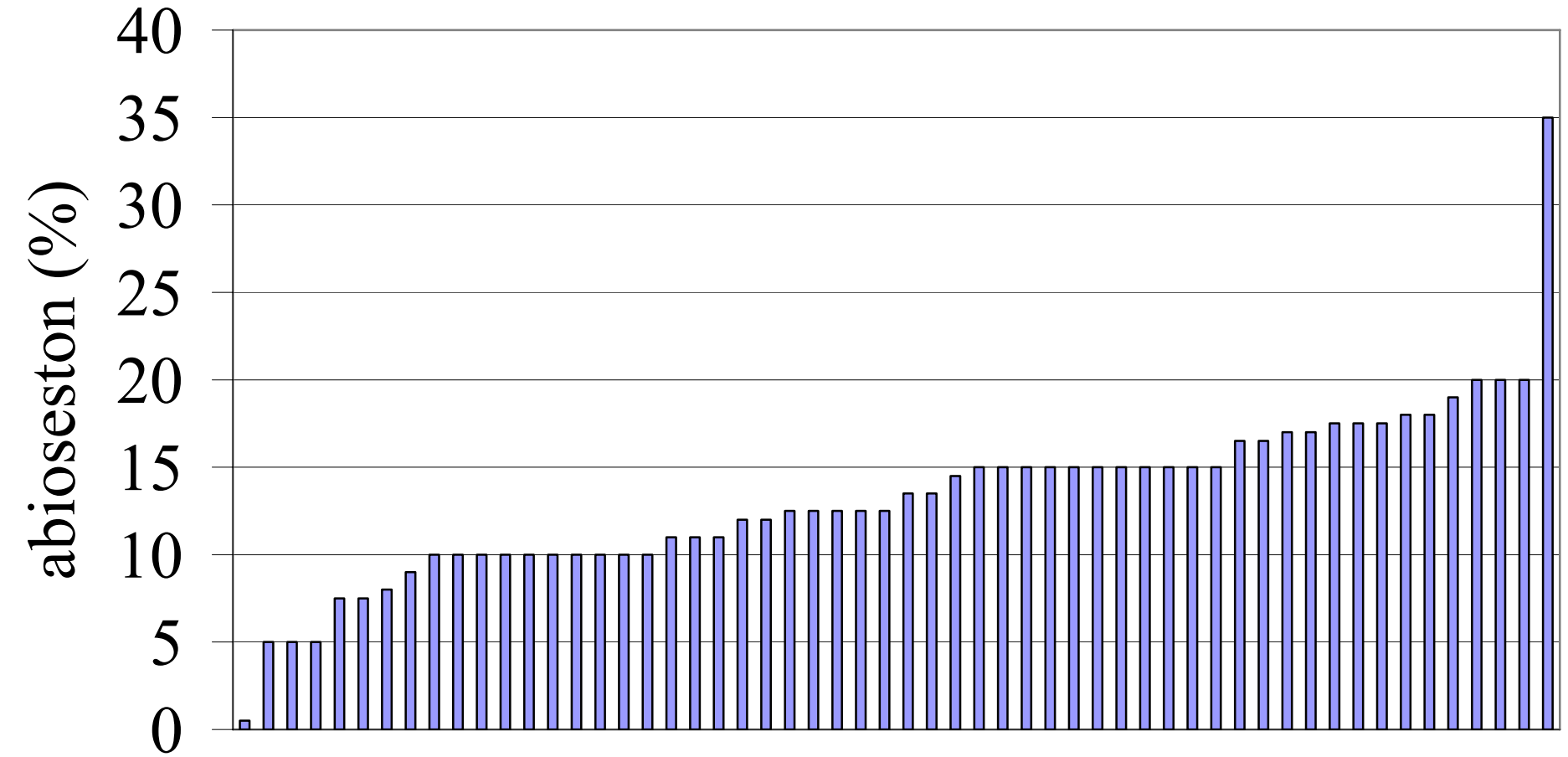
? %



MPZ 2004 - abioseston



MPZ 2006 - abioseston



Srovnání běžných účastníků a terčových laboratoří

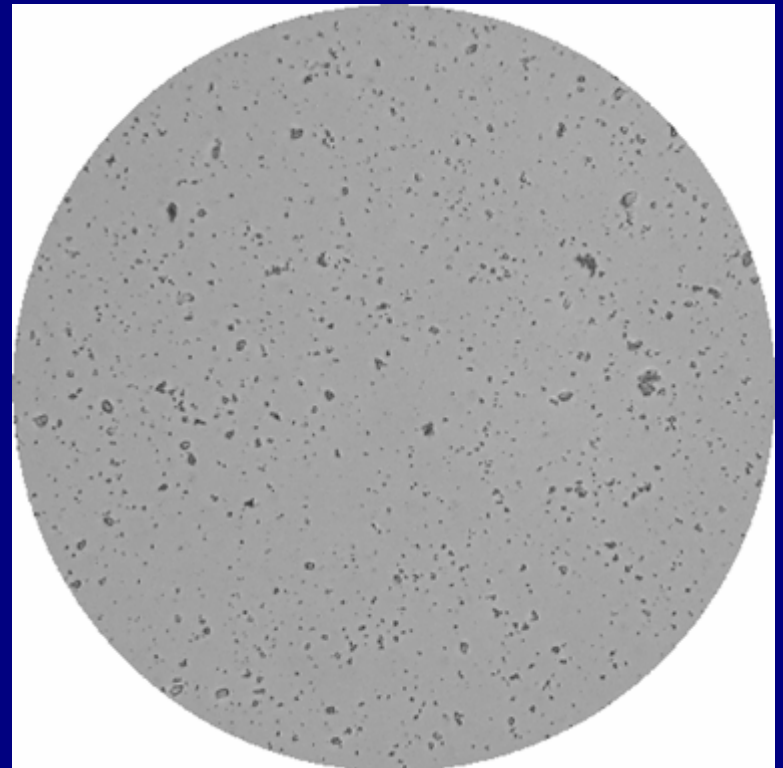
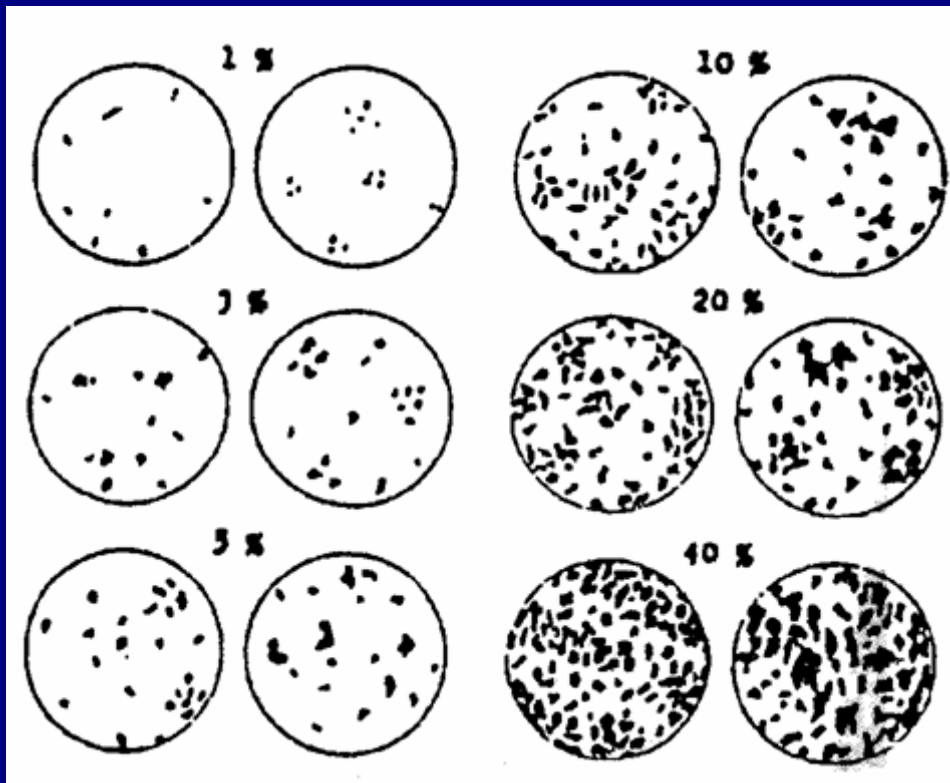
rok	odhad pokryvnosti (%) - medián	
	účastníci	terčové lab.
2005	12	15
2006	13	12

Srovnání odhadu pokrývnosti a analýzy obrazu

rok	odhad pokrývnosti (%) - medián		pokrývnost analýzou obrazu %	
	účastníci	terčové lab.	účastník 561	SZÚ
2005	12	15	-	3,58
2006	13	12	3,75	2,84

Hlavní příčiny

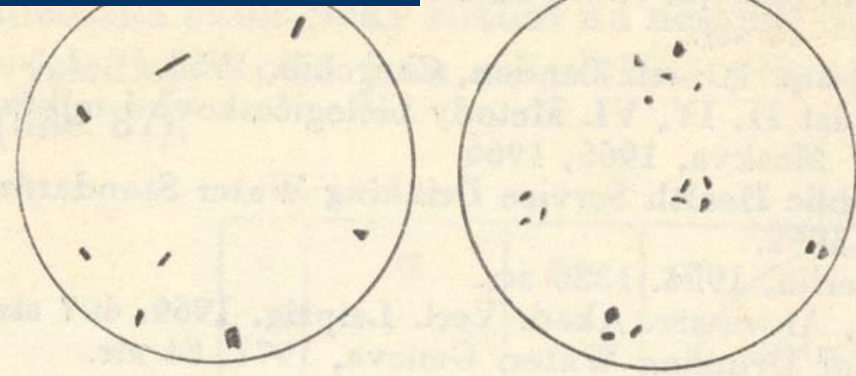
- velmi subjektivní
- tabule nejsou příliš podobné skutečnému pohledu do mikroskopu



ČSN 75 7713

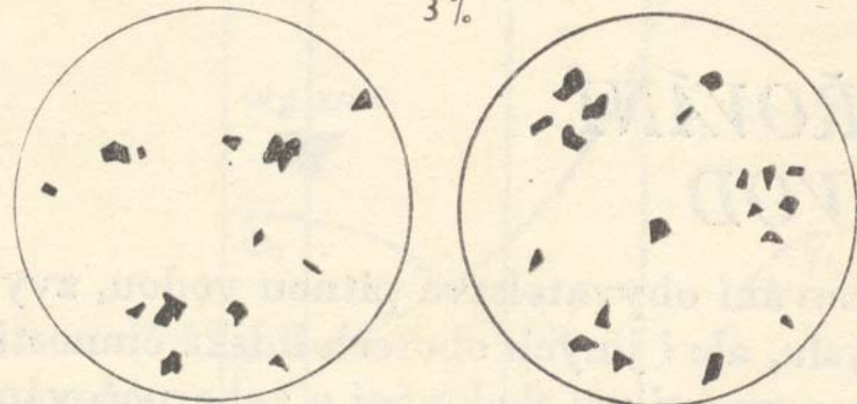
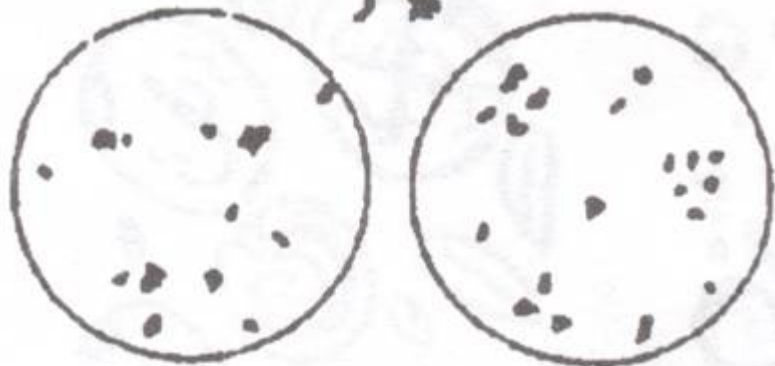
Štěpánek 1982

1%



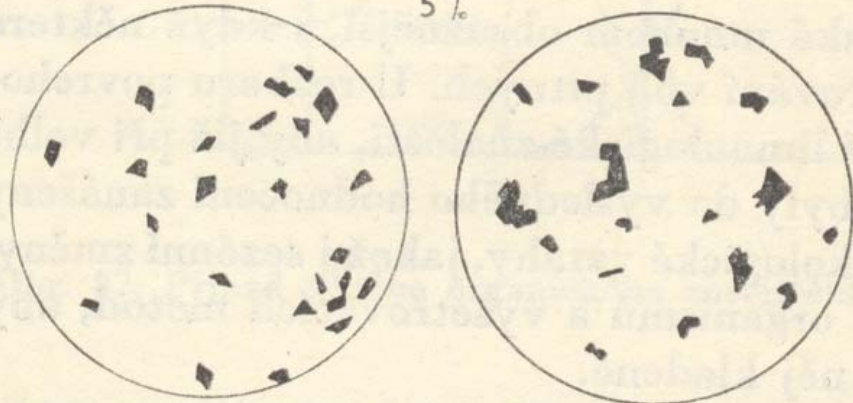
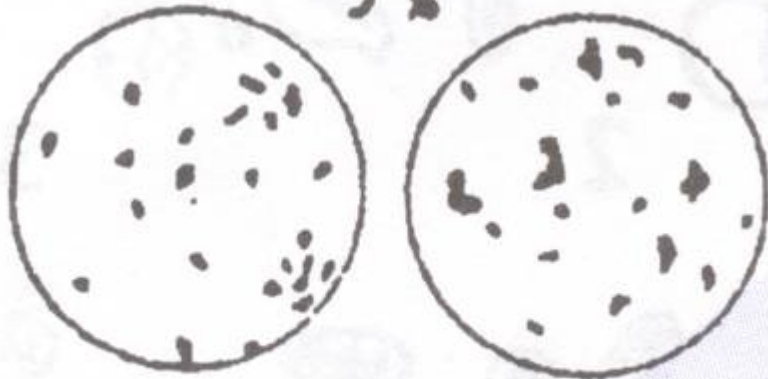
3 4

3%



5 6

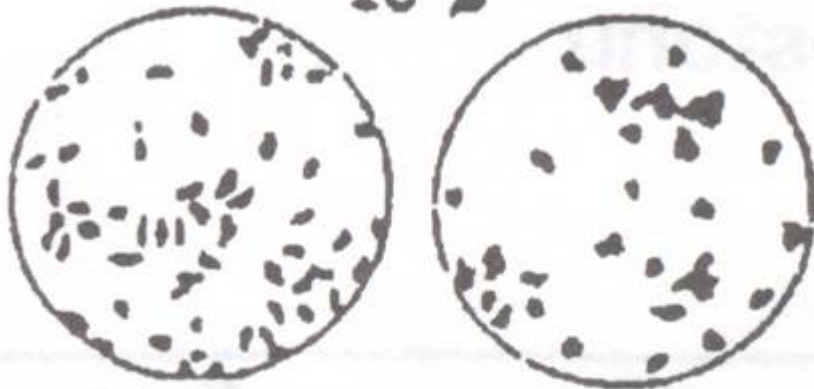
5%



ČSN 75 7713

Štěpánek 1982

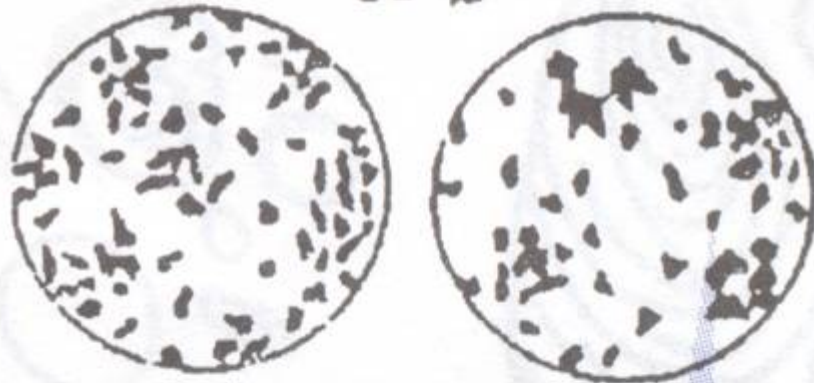
10 %



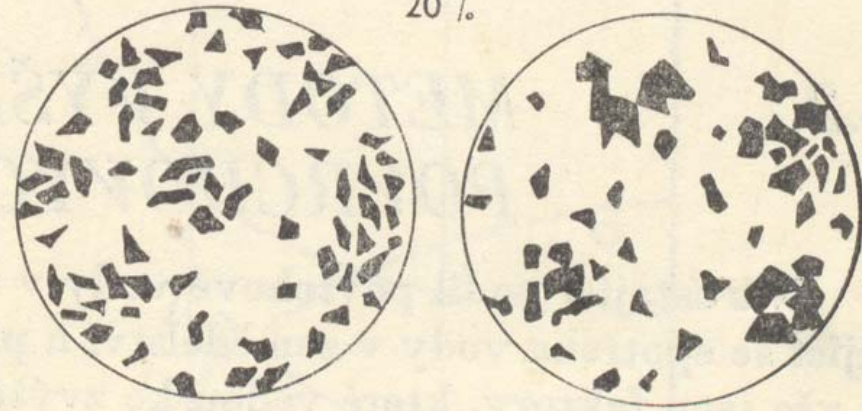
10 %



20 %



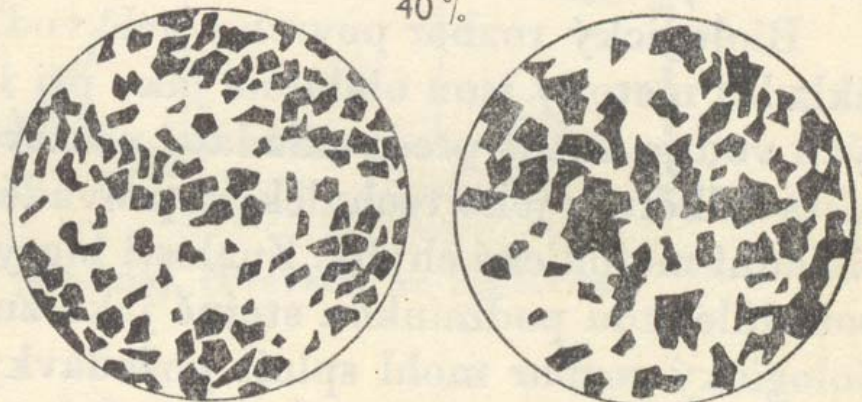
20 %



40 %



40 %

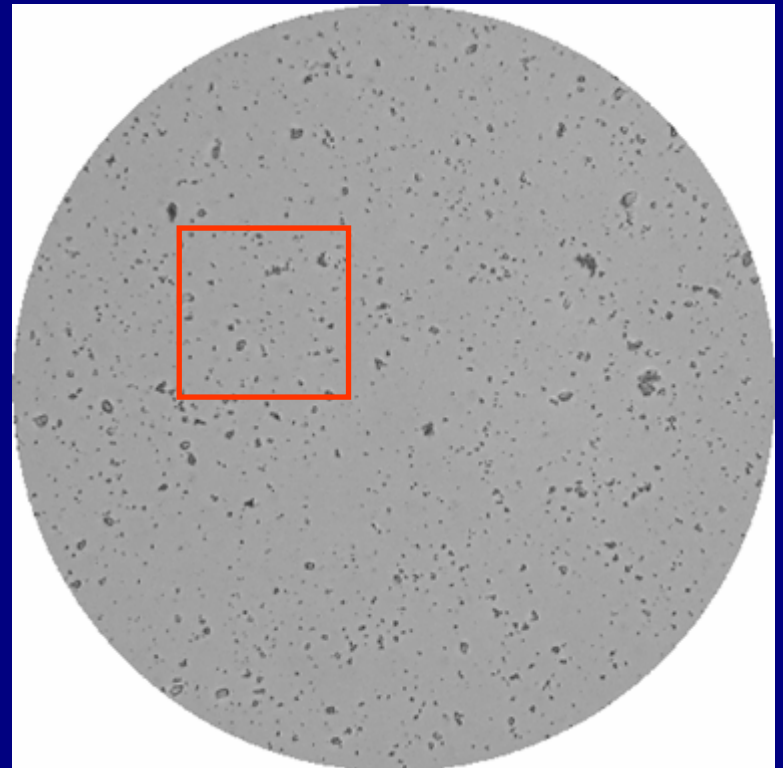
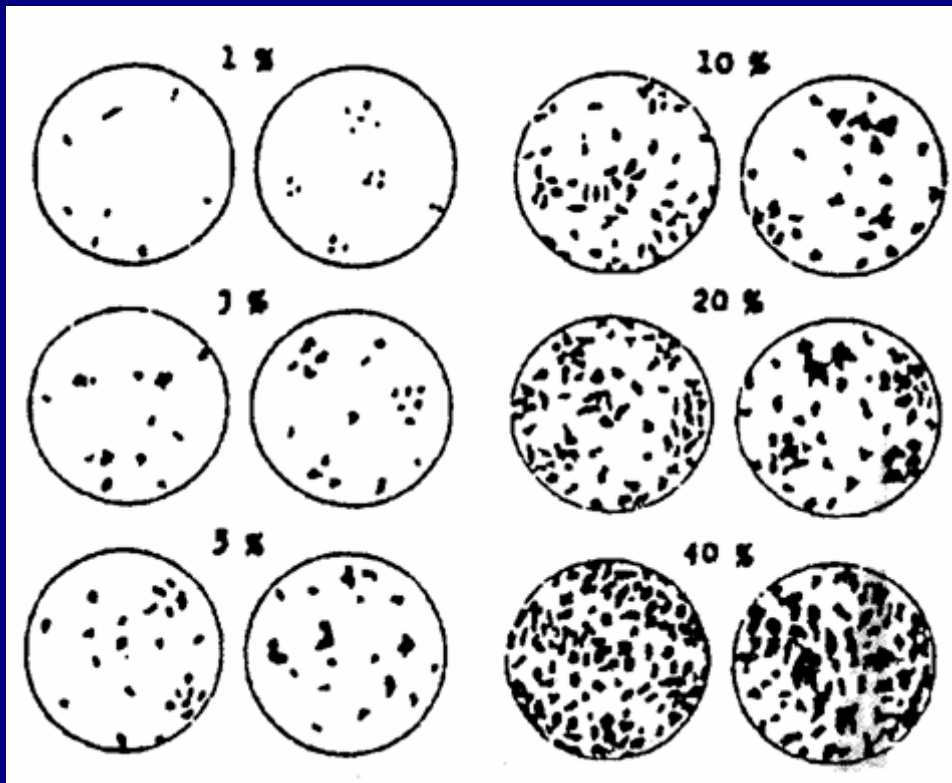


Odhadní stupnice

- starší metodické normy a předpisy obsahovaly odhadní stupnici
- výsledek udáván ve stupních

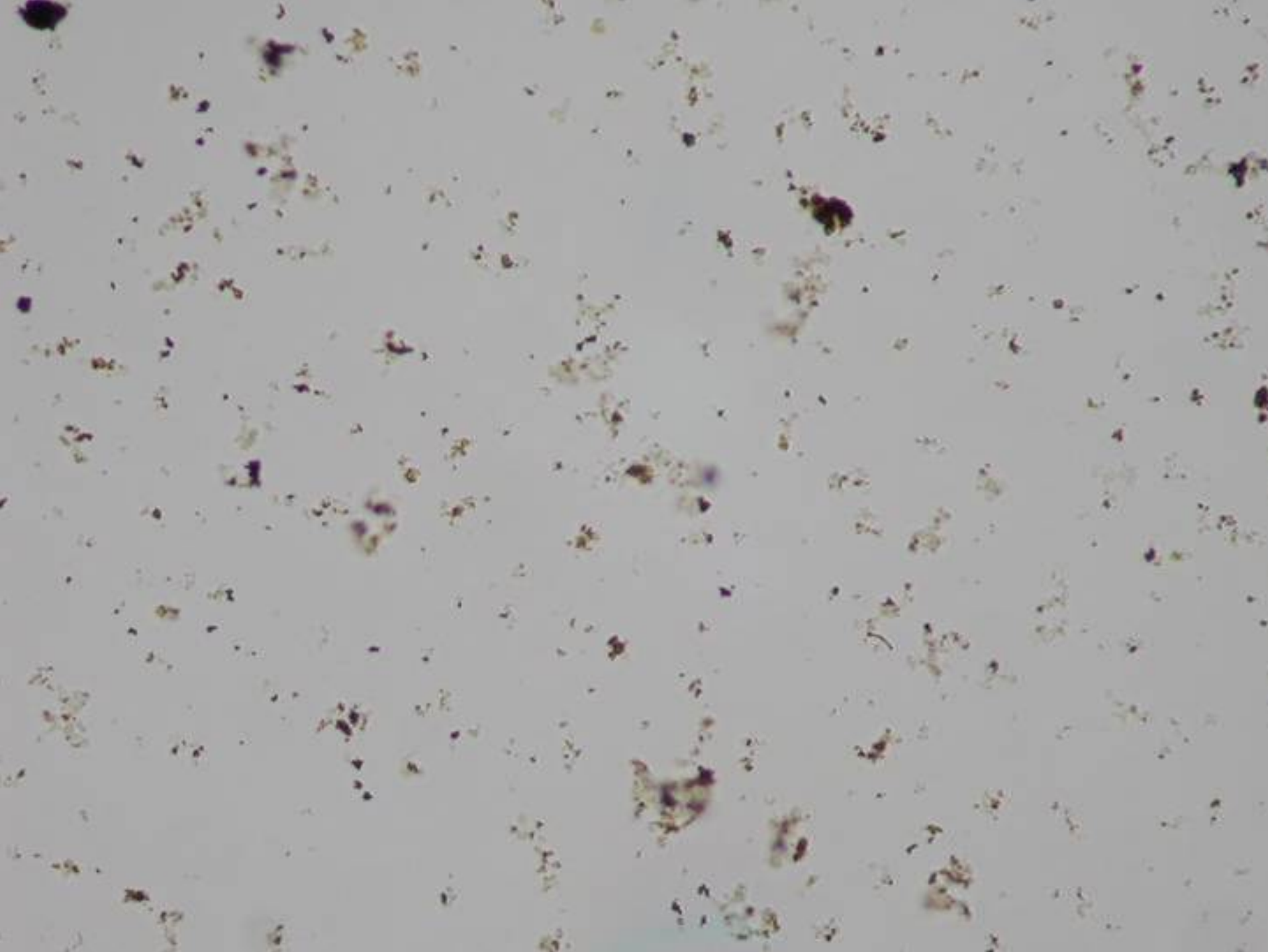
stupeň	1	2	3	5	7	9
pokryvnost v %	<1	1 – 3	3 – 10	10 – 20	20 – 40	40 – 100
pokryvnost v %	<1	1 – 3	4 – 10	11 – 20	21 – 40	41 – 100

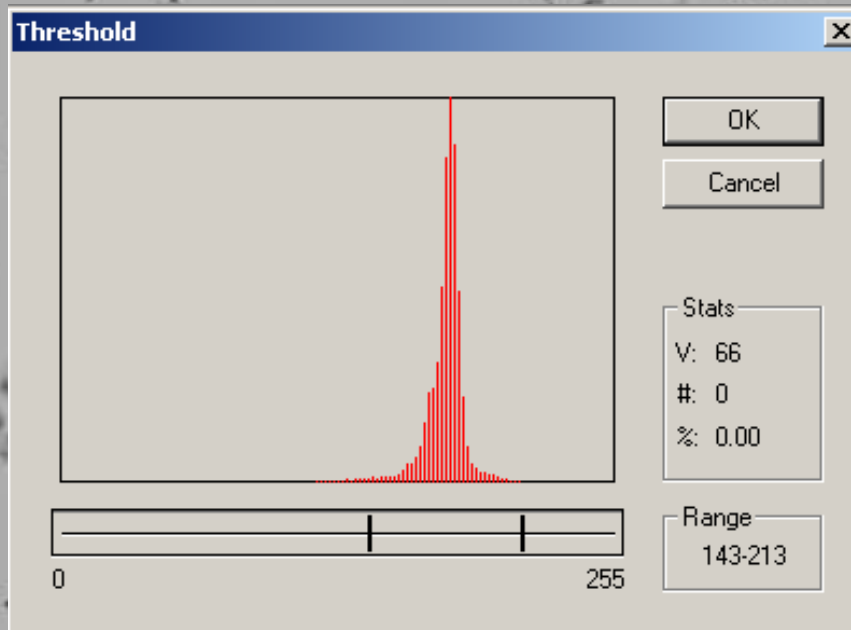
Jak si pomoci (i bez analýzy obrazu)?



Analýza obrazu

- stejné jako u ČSN 75 7713
- místo odhadu použití analýzy obrazu
- nutné vybavení
 - mikroskop s digitálním fotoaparátem nebo kamerou
 - vhodný software





	Black Count	White Count	Black %	White %	
Mean	3289865,00	163575,00	95,26	4,74	
Std. Dev.	0,00	0,00	0,00	0,00	
1	3289865	163575	95,26	4,74	
2					
3					

Problémy analýzy obrazu

- některé mikroskopické objekty jsou problematické (většinou částečně průsvitné)
- problém při vyšším zastoupení organismů



Abioseston ve vyhlášce pro pitnou vodu – možný budoucí vývoj

Pohled do minulosti předpisů pro pitnou vodu

- od roku 1959 – „*Centrifugát ze 10 ml nesmí obsahovat žádné mikroskopicky zjistitelné organické zbytky rostlinné a živočišné*“
- ČSN 75 7111 – limitní hodnota 10%, ale v návrhu 3%
- Vyhláška č. 376/2000 Sb. – bez ukazatele abioseston
- Vyhláška č. 252/2004 Sb. – limitní hodnota 10% a slovní popis

Srovnání abiosestonu a zákalu ve vzorku pro MPZ

rok	odhad pokryvnosti (%) - medián		pokryvnost analýzou obrazu %		zákal (ZF _n)
	účastníci	terčové lab.	účastník 561	SZÚ	SZÚ
2006	13	12	3,75	2,84	59,6

Návrhy řešení pro novelu vyhlášky č. 252/2004 Sb.

- nutnost ověřit na řadě vzorků korelaci se zákalem; nutnost změn v metodice stanovení
 - zachovat současný stav
 - upravit výši limitu
- vypustit kvantitativní stanovení abiosestonu (podobnost se zákalem) a zachovat pouze kvalitativní stanovení