



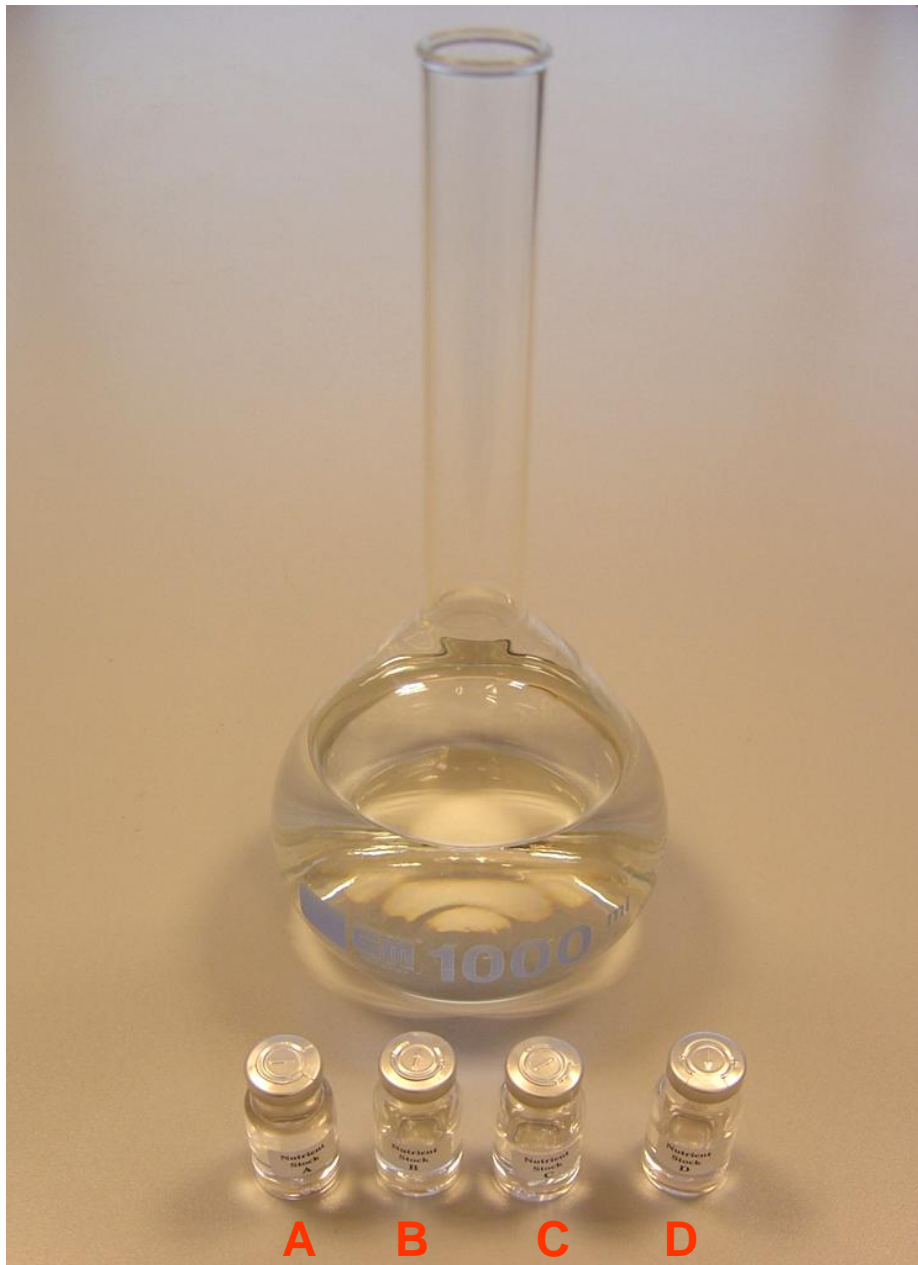
ALGALTOXKIT F

Procedura testu

1

PRZYGOTOWANIE STANDARDOWEJ POŻYWKI

- KOLBKA MIAROWA (1 litr)
- FIOŁKI Z ROZTWORAMI POŻYWEK
A (2 fiołki), B, C, D
- DESTYLOWANA (lub dejonizowana)
WODA





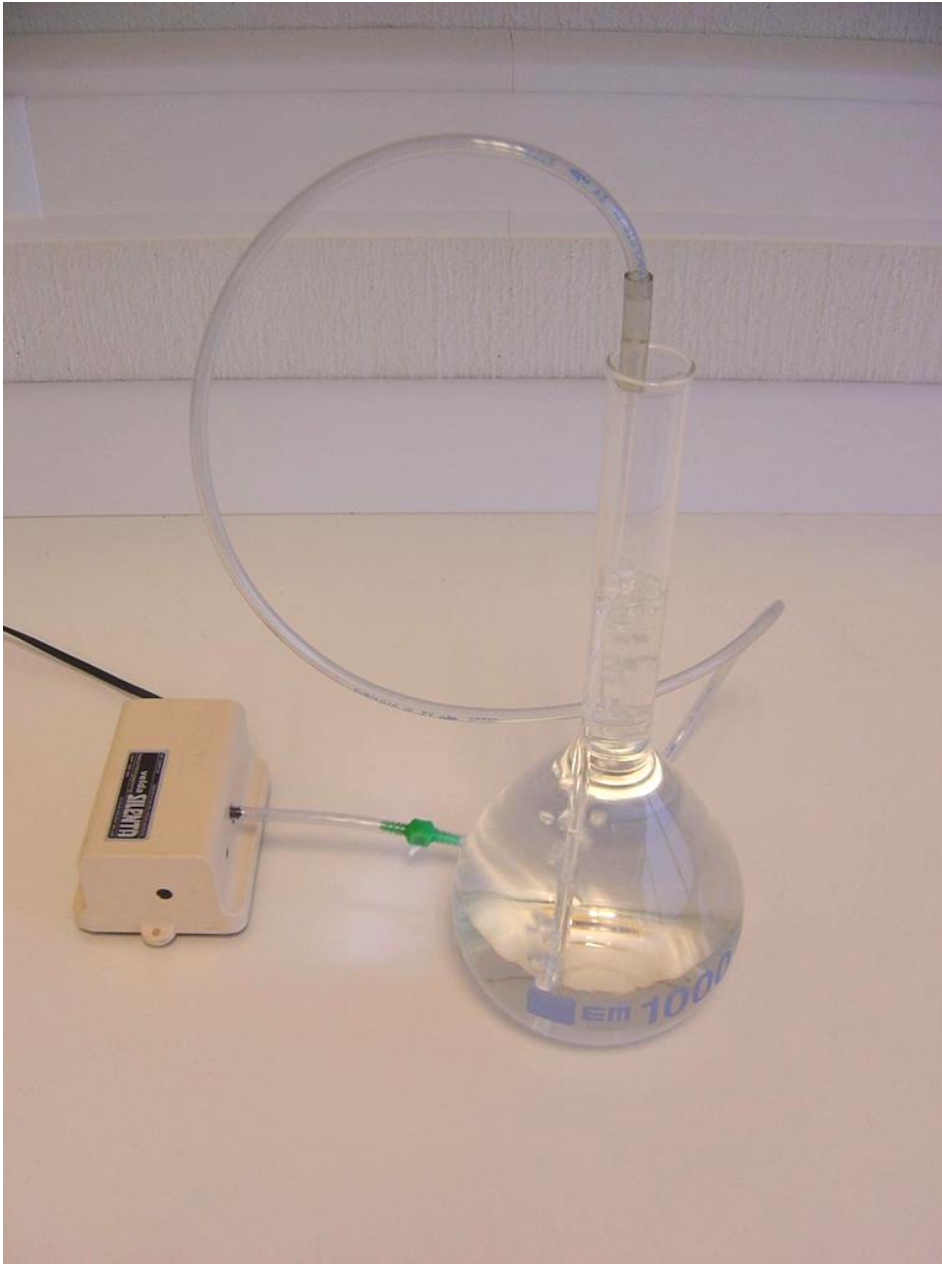
2

PRZENIEŚĆ 10 ML Z JEDNEJ Z DWÓCH
FIOLEK OZNACZONYCH
“NUTRIENT STOCK A”
DO ± 800 ML WODY DESTYLOWANEJ
W 1 LITROWEJ KOLBCE MIAROWEJ



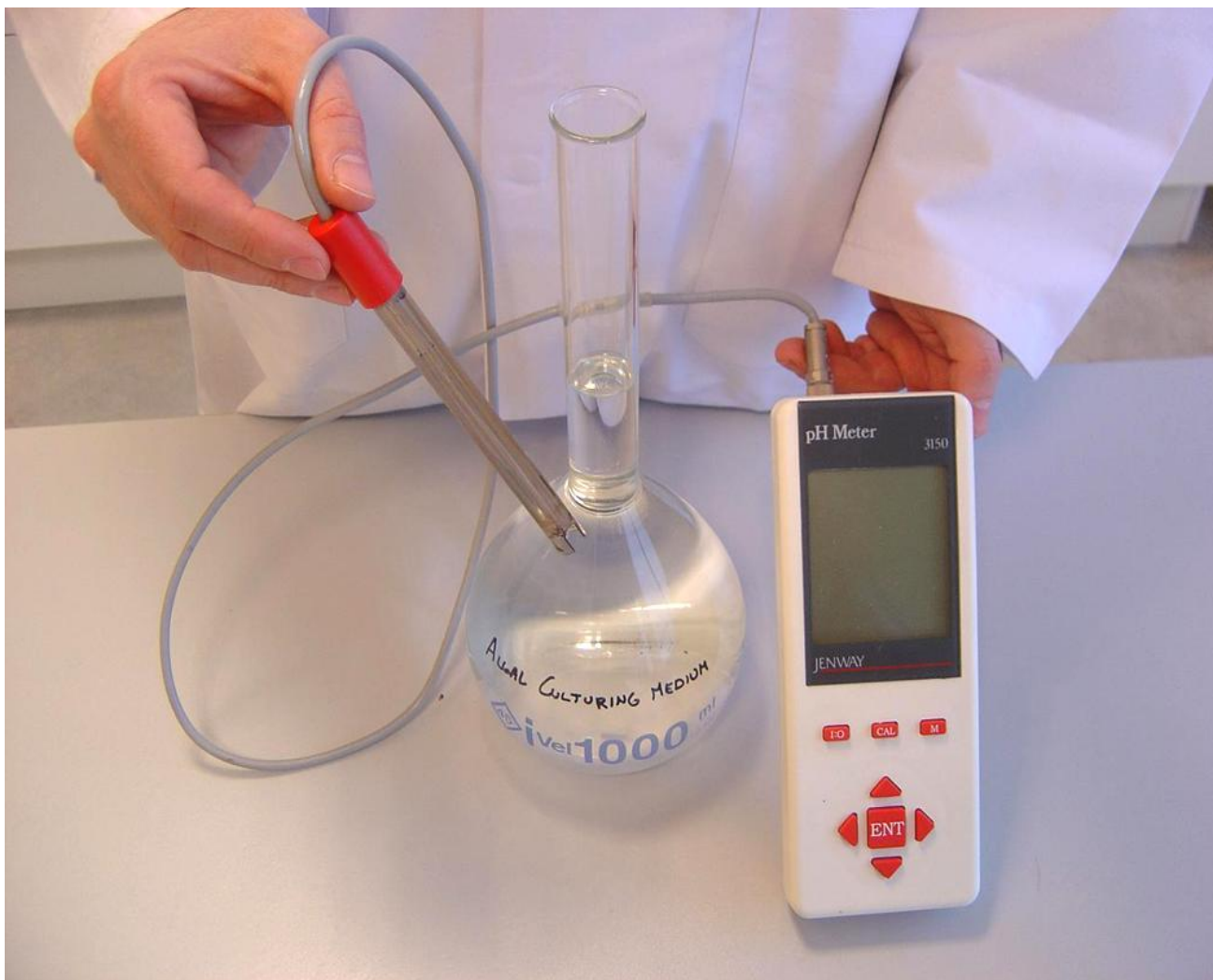
3

PRZENIEŚĆ 1 ML Z FIOLEK
B, C I D DO 1 LITROWEJ
KOLBKI MIAROWEJ



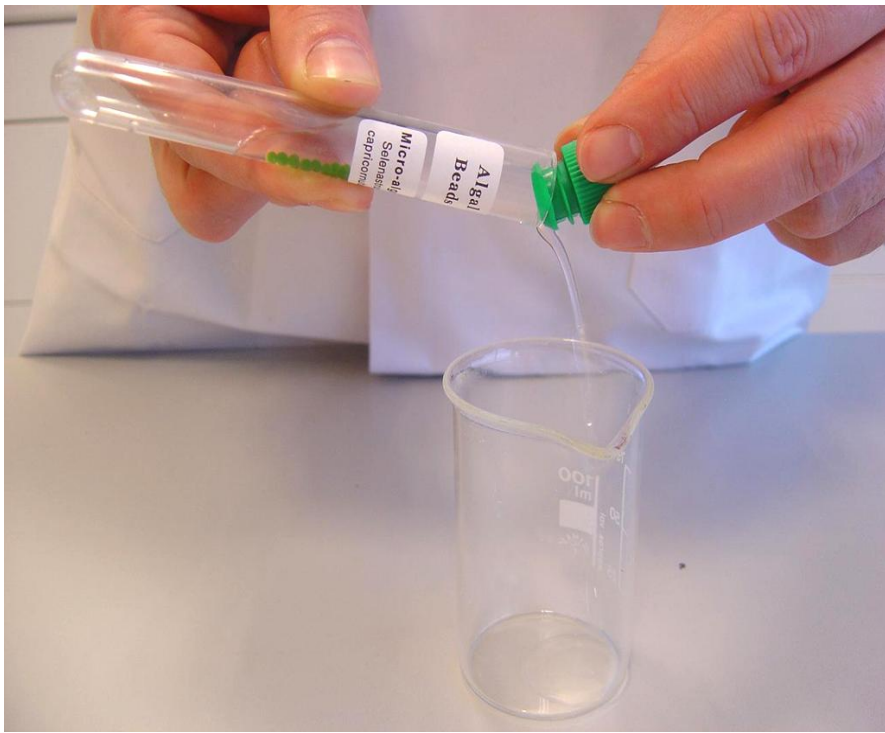
4

- UZUPEŁNIĆ KOLBKĘ WODĄ DEJONIZOWANĄ DO LINII 1 LITR
- ZATKAĆ KOLBKĘ I WSTRZĄSAĆ DOKŁADNIE W CELU UZYSKANIA JEDNORODNEJ ZAWARTOŚCI
- NAPOWIETRZAĆ POŻYWKĘ PRZEZ CO NAJMNIEJ 30 MINUT



5

WYREGULOWAĆ pH
(jeśli potrzeba)
DO $8,1 \pm 0,2$
(używając 1 M HCl
lub 1 M NaOH)



6

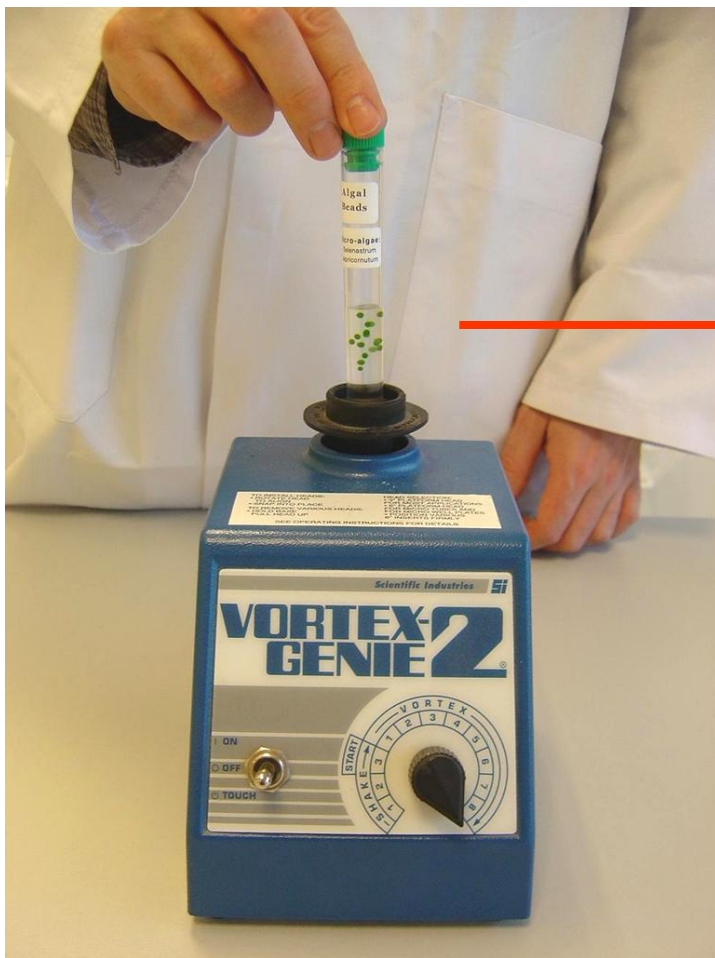
UWALNIANIE GLONÓW

Z JEDNEJ PROBÓWKI ZE ZŁOŻAMI GLONÓW WYLAĆ POŻYWKĘ DO PRZECHOWYWANIA,
UWAŻAJĄC, ABY NIE UTRACIĆ JAKIEGOKOLWIEK ZŁOŻA PRZY TEJ OPERACJI



7

OTERZYĆ FIOŁKĘ OZNACZONĄ „MATRIX DISSOLVING MEDIUM” I DODAĆ 5 ML ROZTWORU UWALNIAJĄCEGO GLONY DO PROBÓWKI ZE ZŁOŻAMI GLONÓW



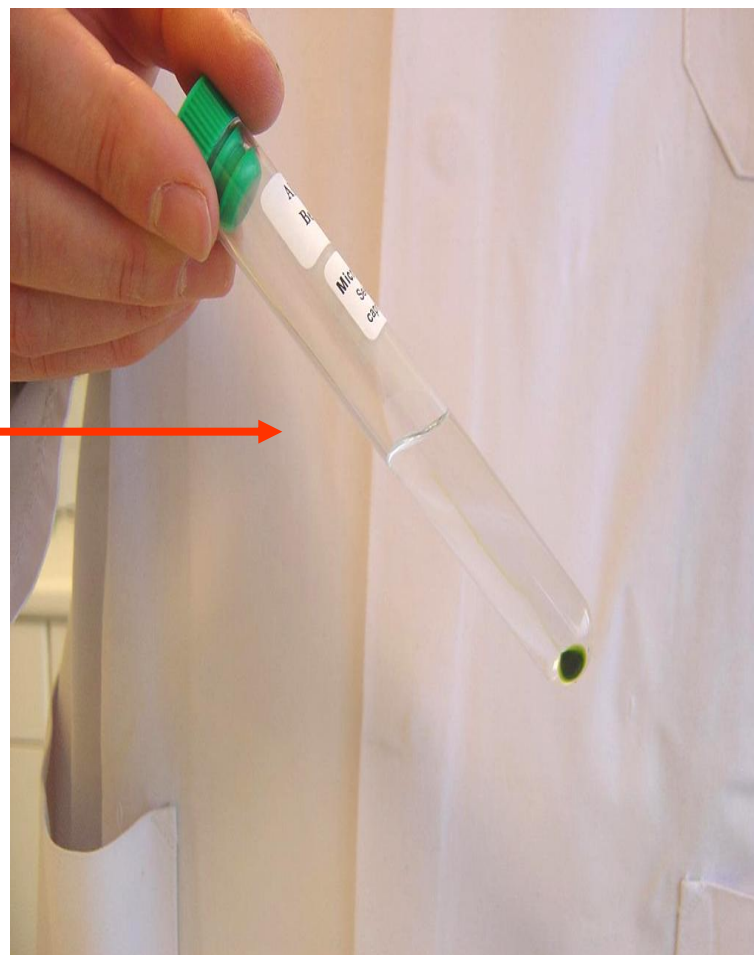
8

ZATKAĆ PROBÓWKĘ KORKIEM I WSTRZĄSAĆ PROBÓWKĘ NA VORTEX-IE,



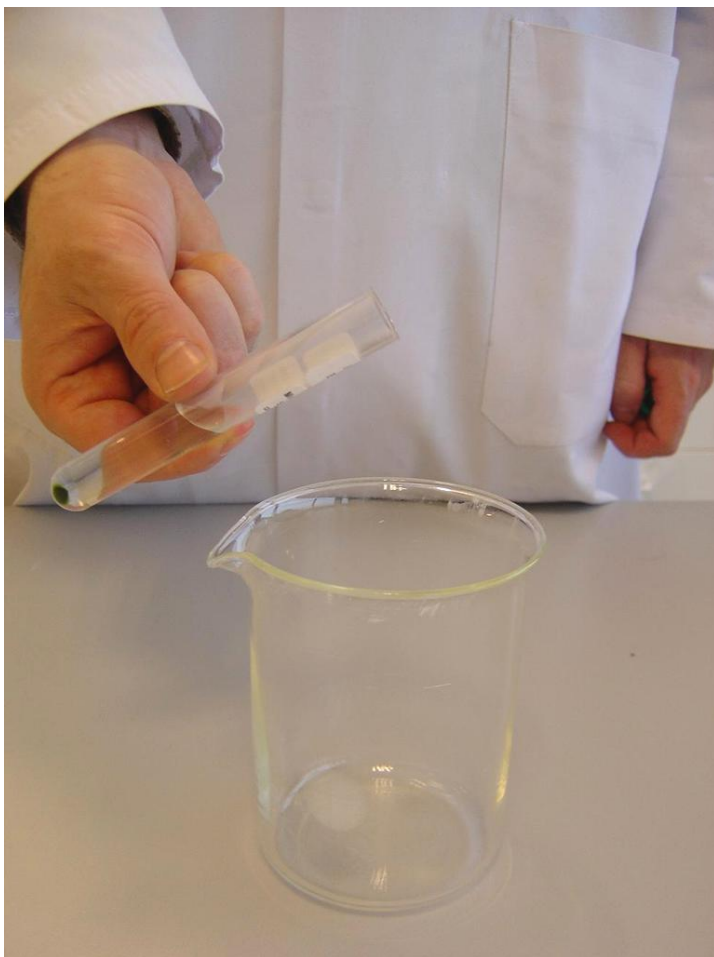
9

KONTYNUOWAĆ WSTRZĄSANIE, AŻ ZŁOŻA ZOSTANĄ CAŁKOWICIE ROZPUSZCZONE I GLONY
ZOSTANĄ UWOLNIONE



10

WIROWAĆ PROBÓWKĘ PRZEZ 10 MINUT PRZY 3000 OBR/MIN
W STANDADOWEJ WIRÓWCE LABORATORYJNEJ



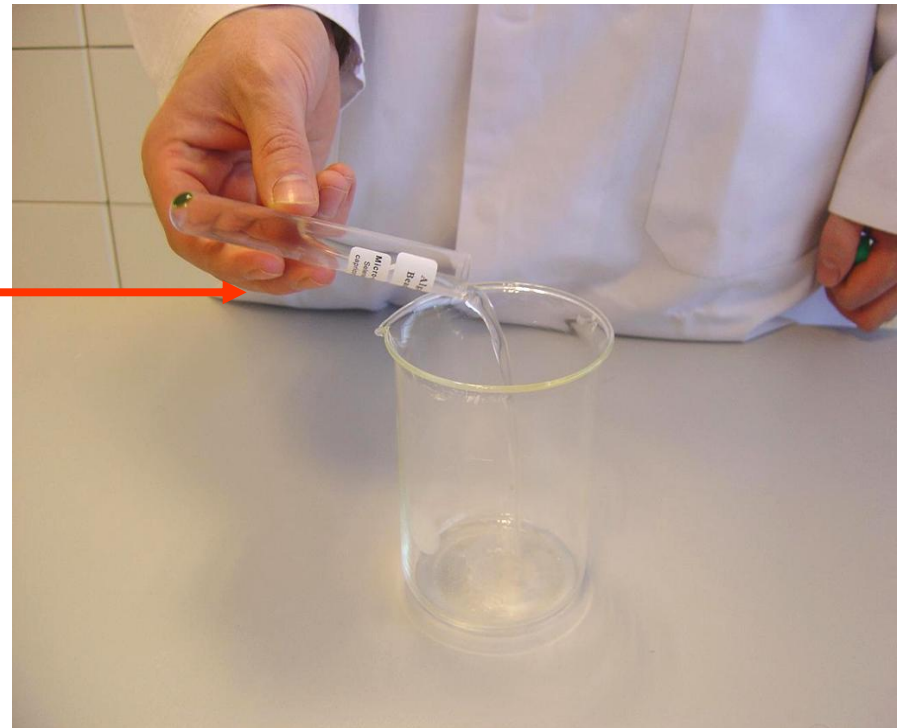
11

OSTROŻNIE WYLAĆ SUPERNATANT Z PROBÓWKI



12

- DODACĆ 10 ML WODY DESTYLOWANEJ DO PROBÓWKI
- ZATKAĆ I WSTRZĄSAĆ PROBÓWKĘ, AŻ DO UZYSKANIA JEDNORODNEJ ZAWIESINY GLONÓW



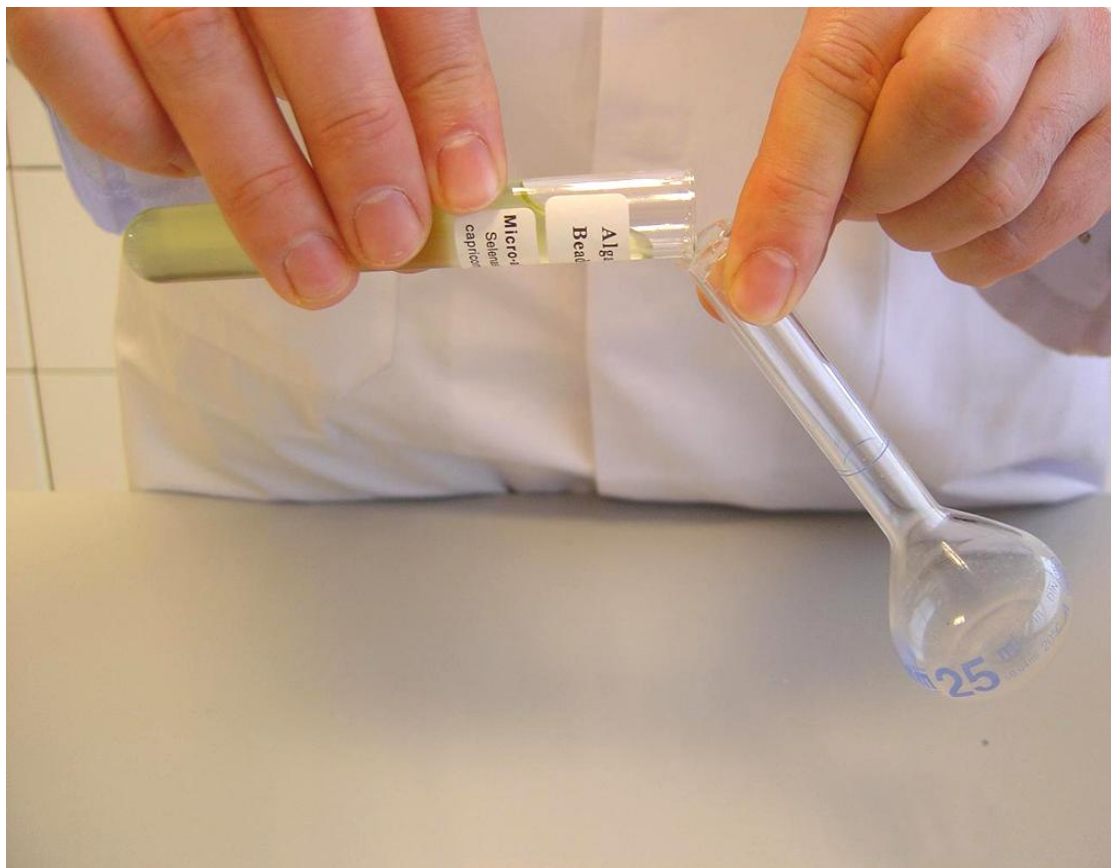
13

WIROWAĆ PROBÓWKĘ PONOWNIE 3000 OBR/MIN PRZEZ 10 MINUT
I WYLAĆ SUPERNATANT



14

- DODAC 10 ML POŻYWKI DO PROBÓWKI
- ZATKAĆ I WSTRZĄSAĆ PROBÓWKĘ, AŻ DO UZYSKANIA JEDNORODNEJ ZAWIESINY GLONÓW



15

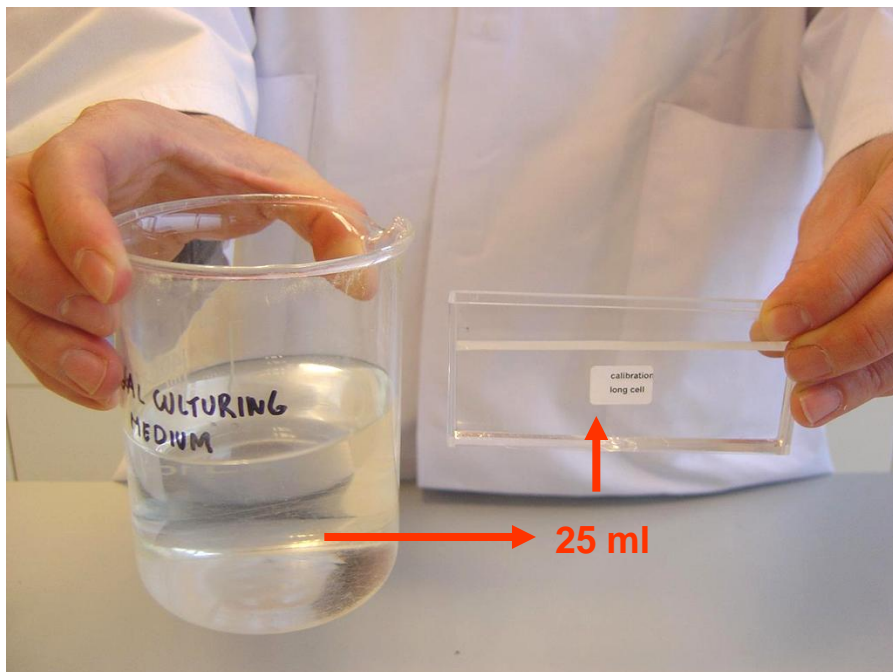
PRZYGOTOWANIE SKONCENTROWANEJ ZAWIESINY GLONÓW

PRZENIEŚĆ ZAWIESINĘ GLONÓW Z PROBÓWKI DO KOLBKI MIAROWEJ 25 ML



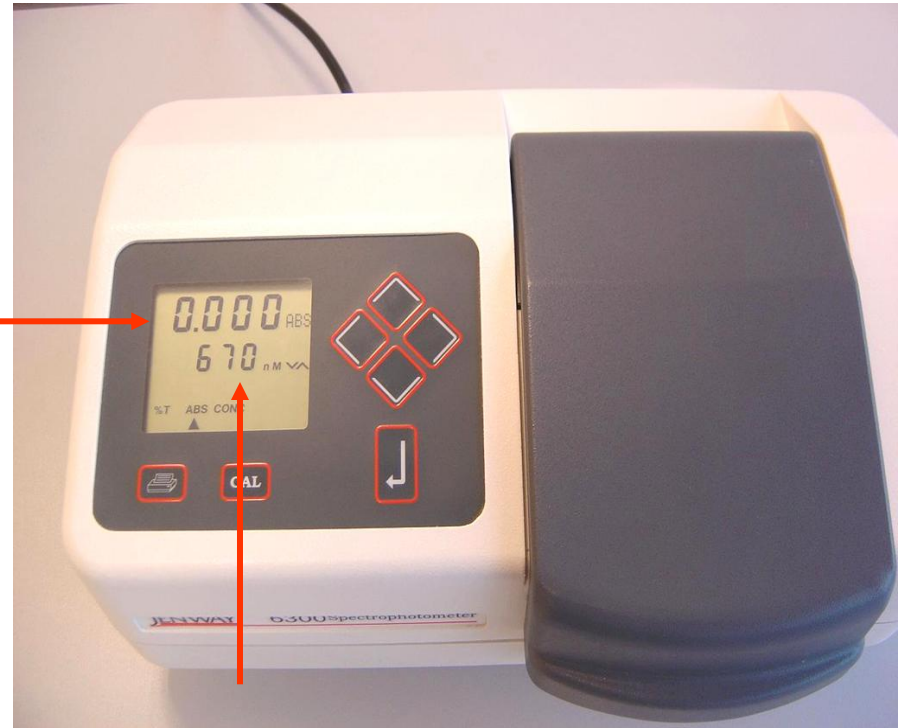
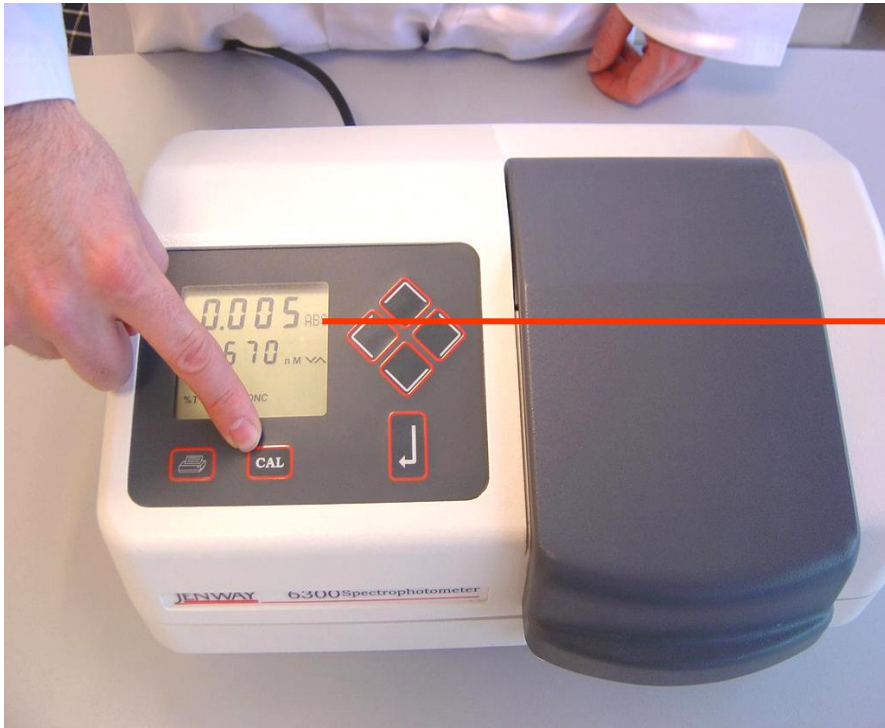
16

- DODACЬ POŻYWKĘ DO LINII 25 ML W KOLBCE
- ZATKAĆ KOLBKĘ I WSTRZĄSAĆ W CELU UZYSKANIA JEDNORODNEJ ZAWIESINY



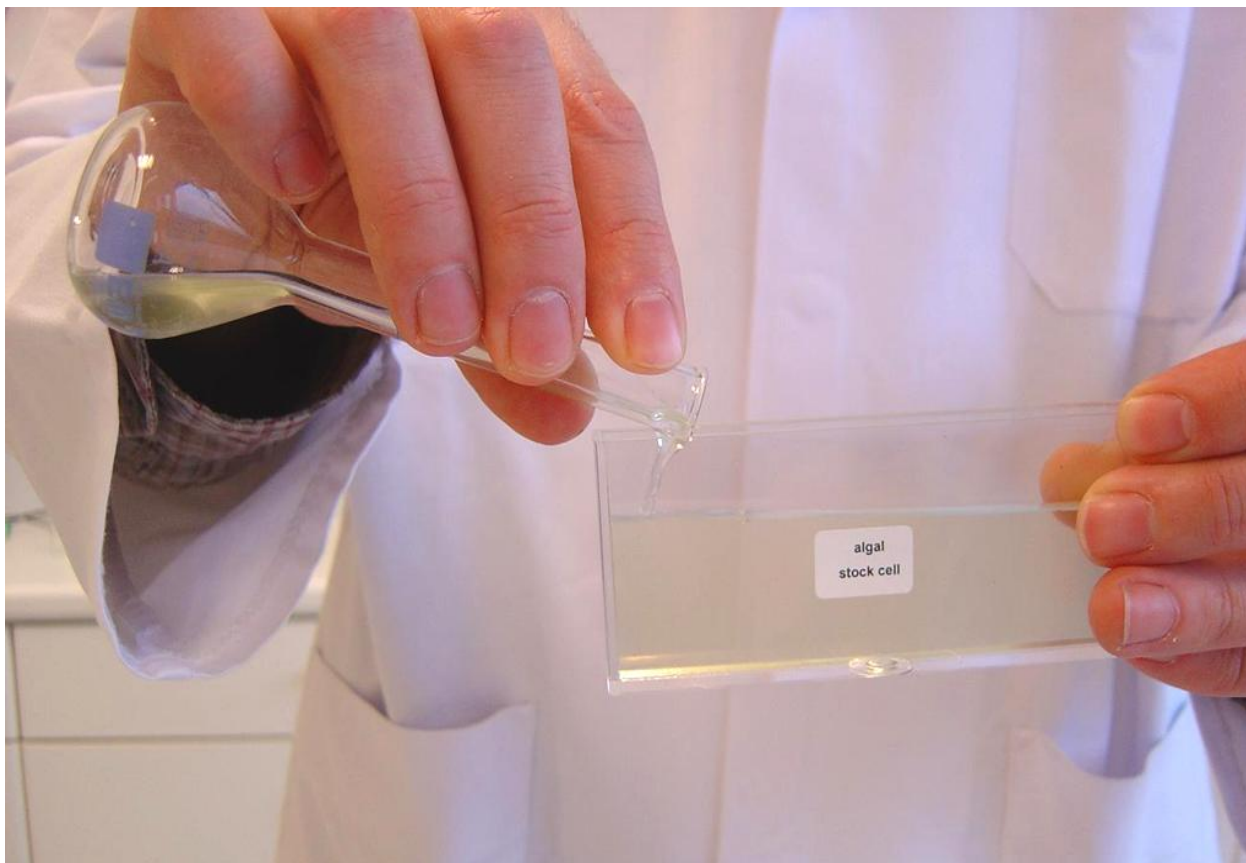
17

- PRZENIEŚĆ 25 ML POŻYWKI DO DŁUGIEJ KUWETY KALIBRUJĄCEJ I ZAMKNAĆ JĄ POKRYWKĄ
- UMIEŚCIĆ KUWETĘ W UCHWYCIU SPEKTROFOTOMETRU



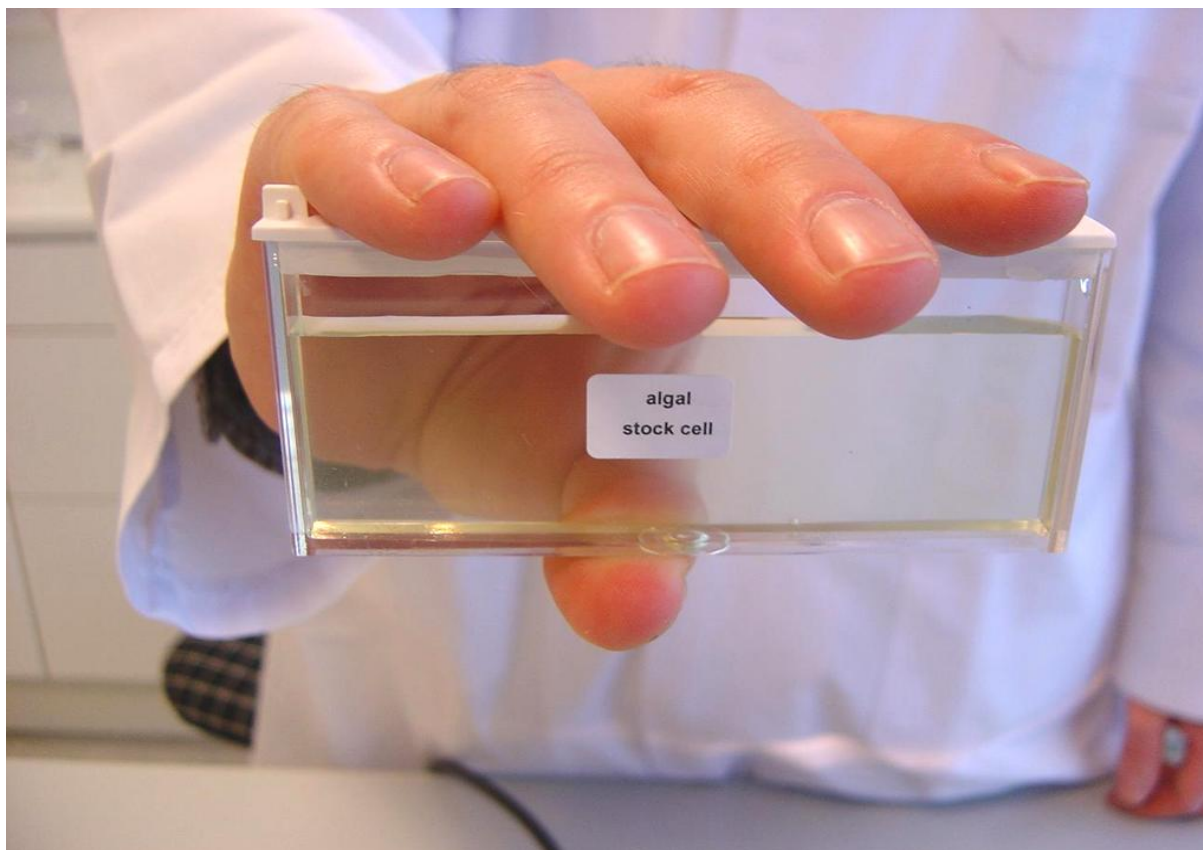
18

WYKALIBROWAĆ ZERO W INSTRUMENCIE PRZY DŁUGOŚCI FALI 670 NM



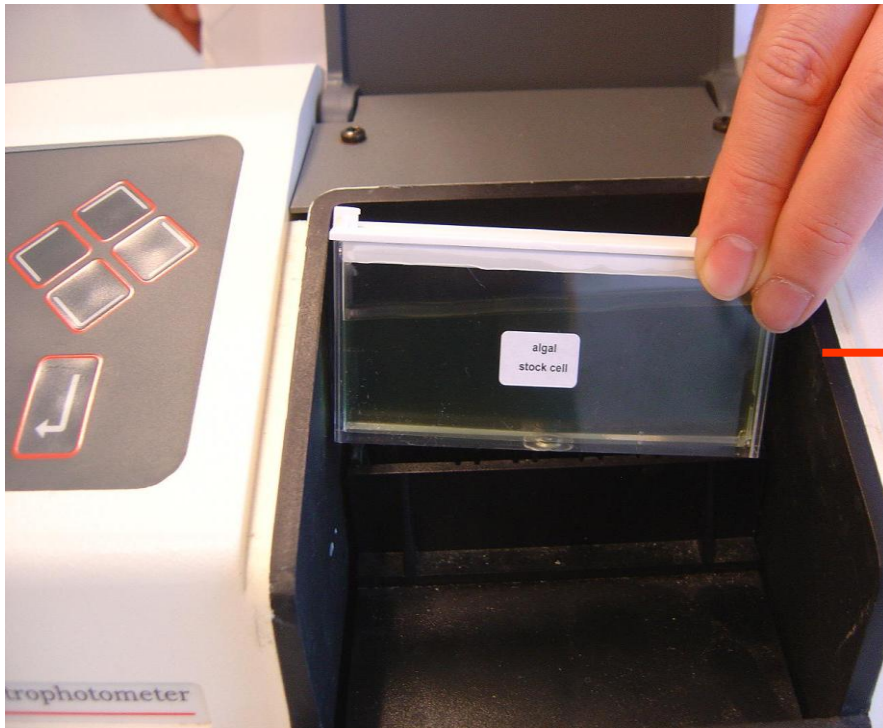
19

PRZENIEŚĆ 25 ML ZAWIESINY GLONÓW DO KUWETY „KOMÓRKI GLONÓW”
OZNACZONEJ „ALGAL STOCK CELL”



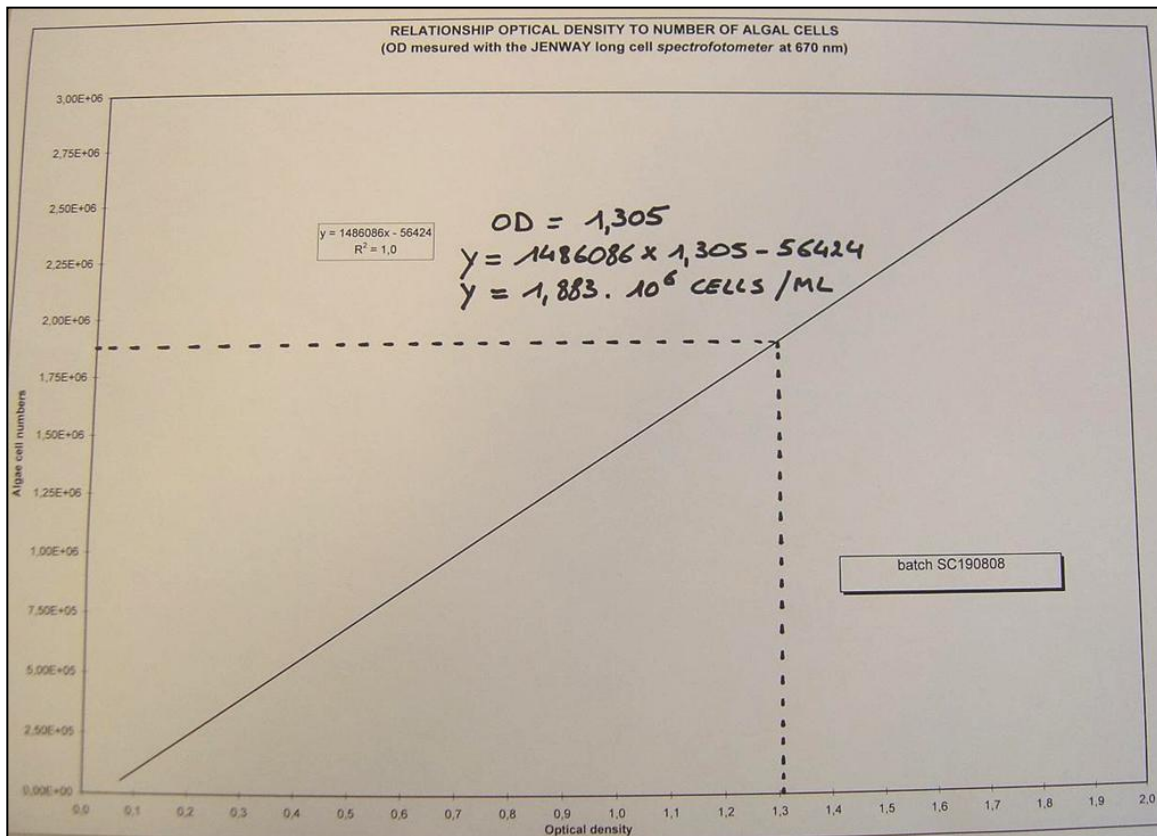
20

ZAMKNAĆ POKRYWKĘ KUWETY I WSTRZĄSAĆ W
CELU RÓWNOMIERNEJ DYSTRYBUCJI GLONÓW



21

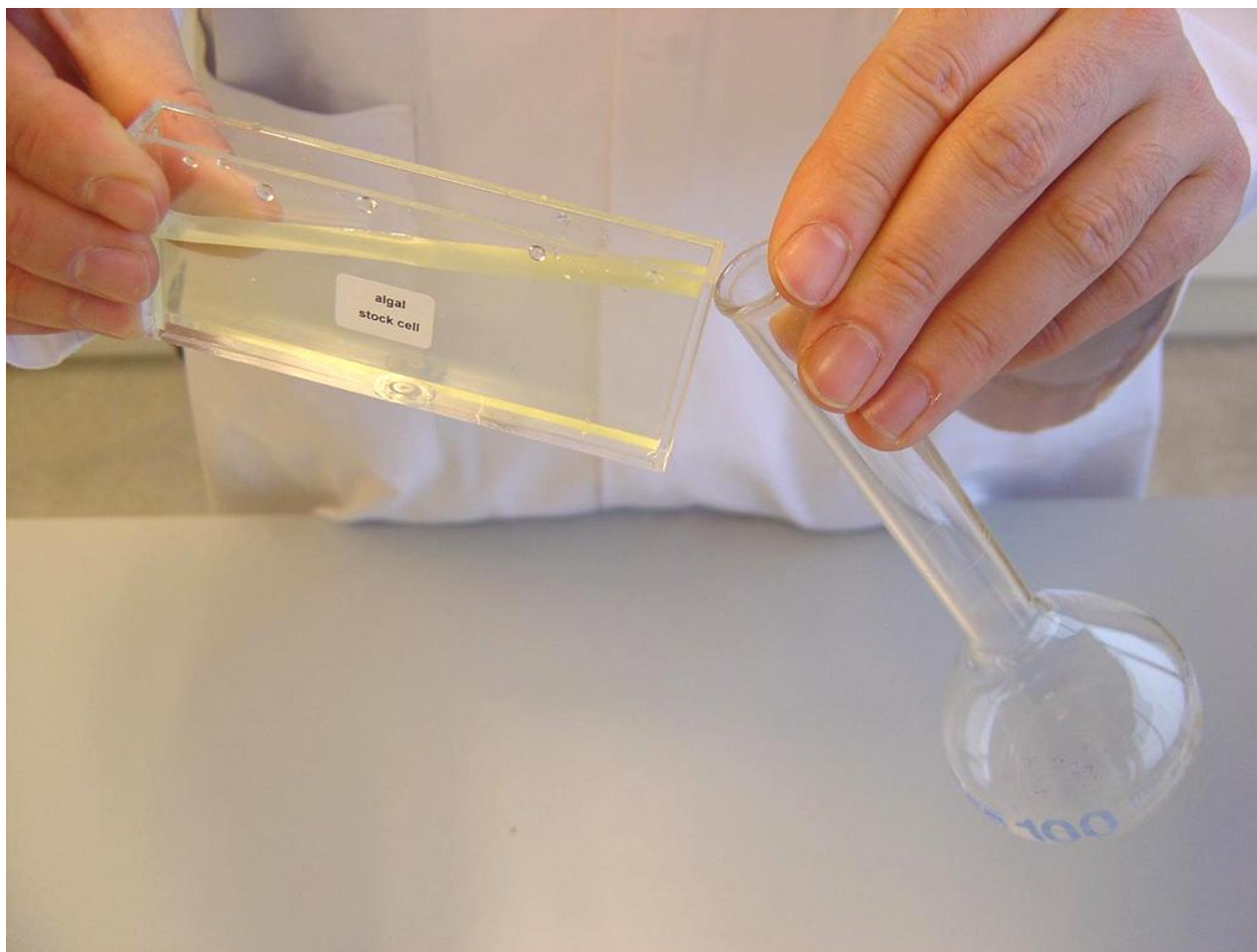
UMIEŚCIĆ KUWETĘ „KOMÓRKI GLONÓW” W UCHWYCE SPEKTROFOTOMETRU
I ODCZYTAĆ GĘSTOŚĆ OPTYCZNĄ (OD1) PO 10 SEKUNDACH



22

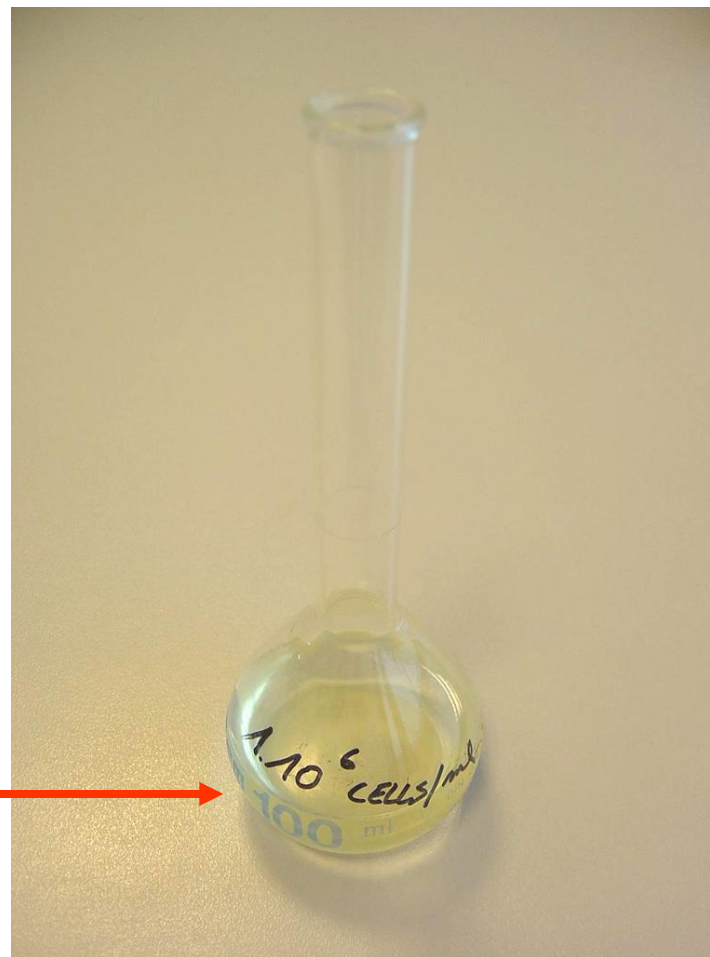
- PRZYGOTOWAĆ KARTĘ **OD/N**
(gęstość optyczna/liczba komórek)

- PRZY POMOCY FORMUŁY REGRESJI OBLICZYĆ LICZBĘ KOMÓREK GLONÓW **N1** ODPOWIADAJĄCĄ ZMIERZONEJ GĘSTOŚCI OPTYCZNEJ **OD1** W ZAWIESINIE GLONÓW
- Z WARTOŚCIĄ **N2** = $1 \cdot 10^6$ GLONÓW/ML, OBLICZYĆ Z DZIAŁANIA **N1/N2** WSPÓŁCZYNNIK ROZCIEŃCZENIA POTRZEBNY DO UZYSKANIA WARTOŚCI **OD2** (odpowiadającej $1 \cdot 10^6$ glonów/ml)



23

PRZELAĆ 25 ML ZAWIESINY
GLONÓW Z KUWETY DO
KOLBKI 100 ML FLASK



24

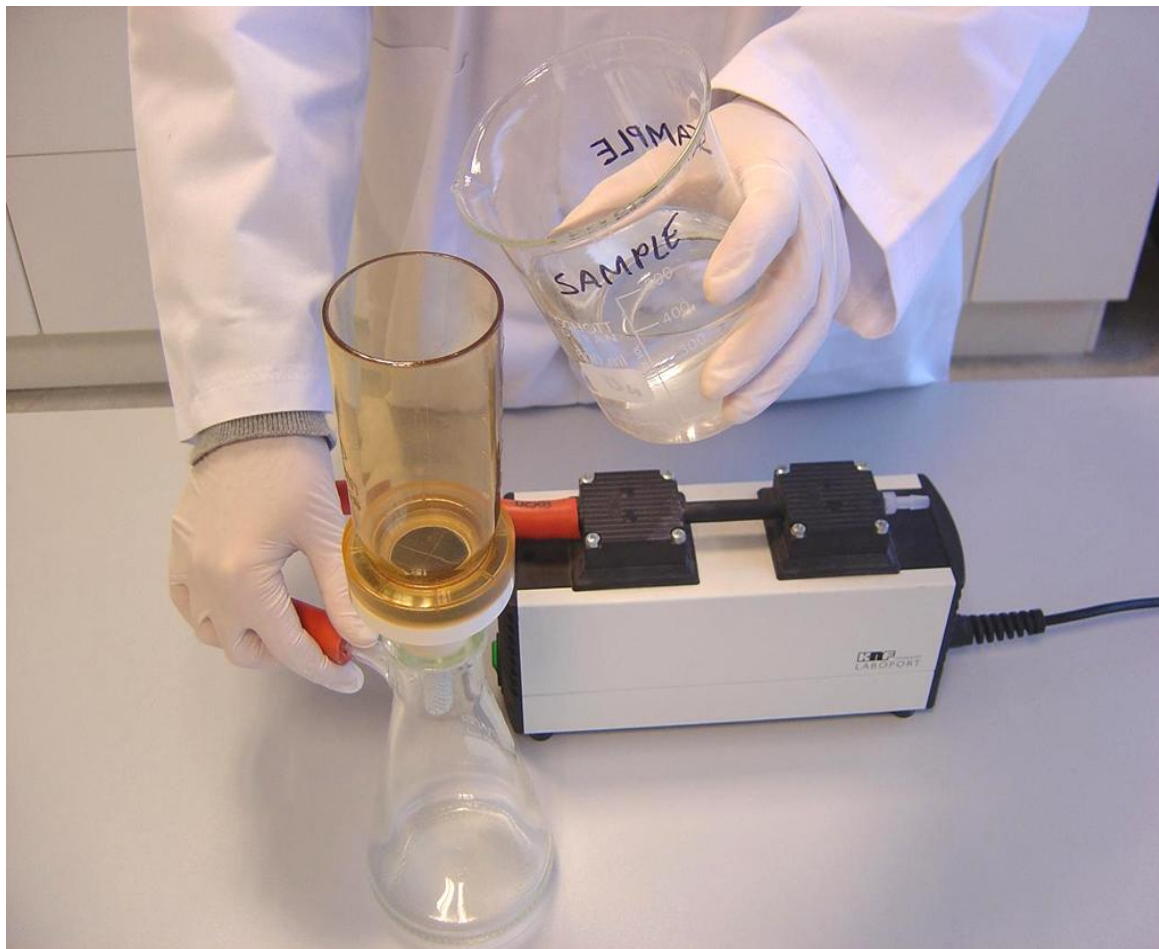
DODACŃ OBLICZONĄ OBJĘTOŚĆ POŻYWKI DO KOLBKI, ABY UZYSKAĆ
ZAWIESINĘ $1 \cdot 10^6$ KOMÓREK GLONÓW / ML



25

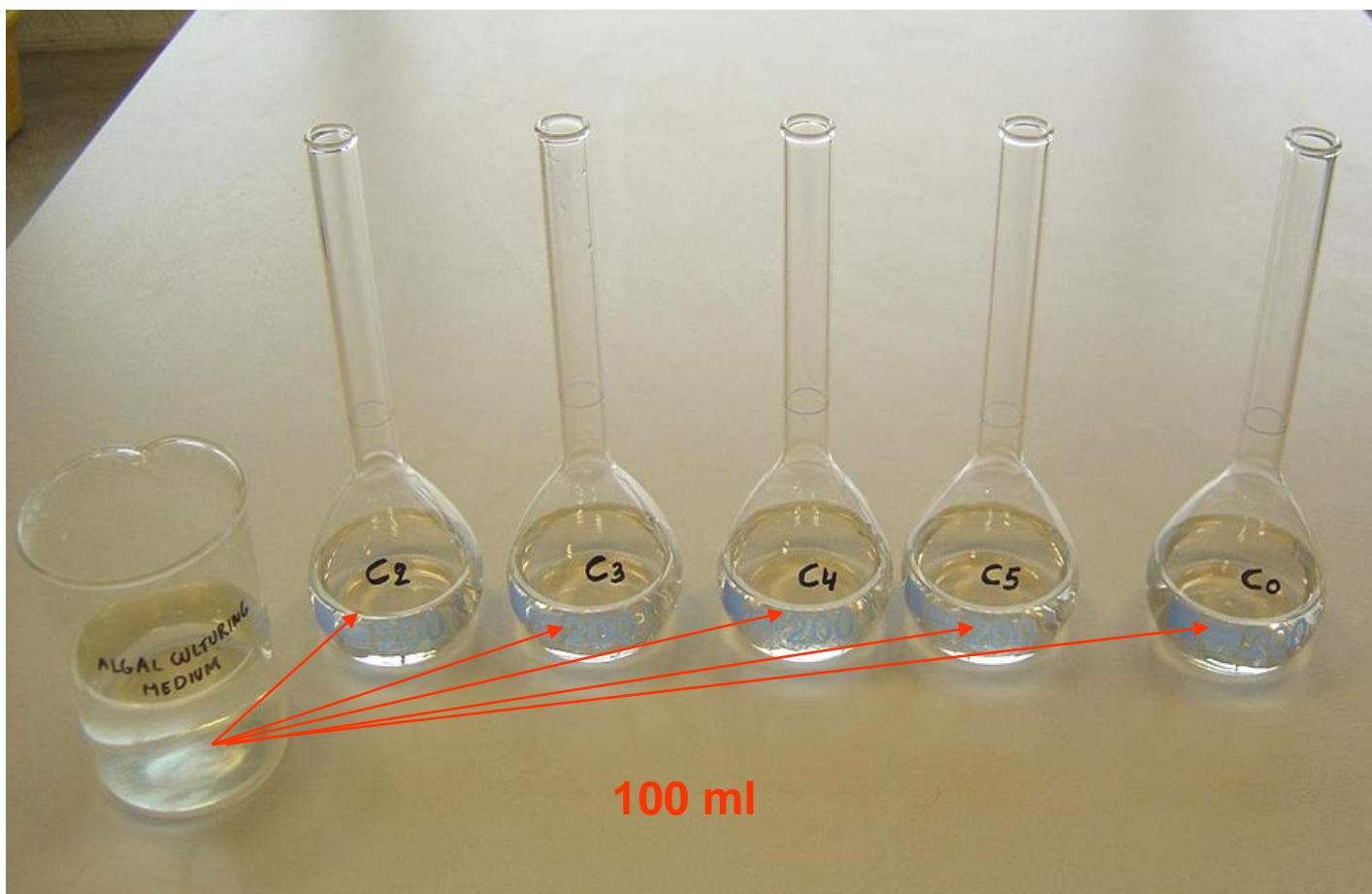
PRZYGOTOWANIE ROZCIĘCZEŃ SUBSTANCJI TOKSYCZNEJ

PRZYGOTOWAĆ SZEŚĆ 200 ML
KALIBROWANYCH KOLBEK I
OZNAKOWAĆ JE OD C0 DO C5



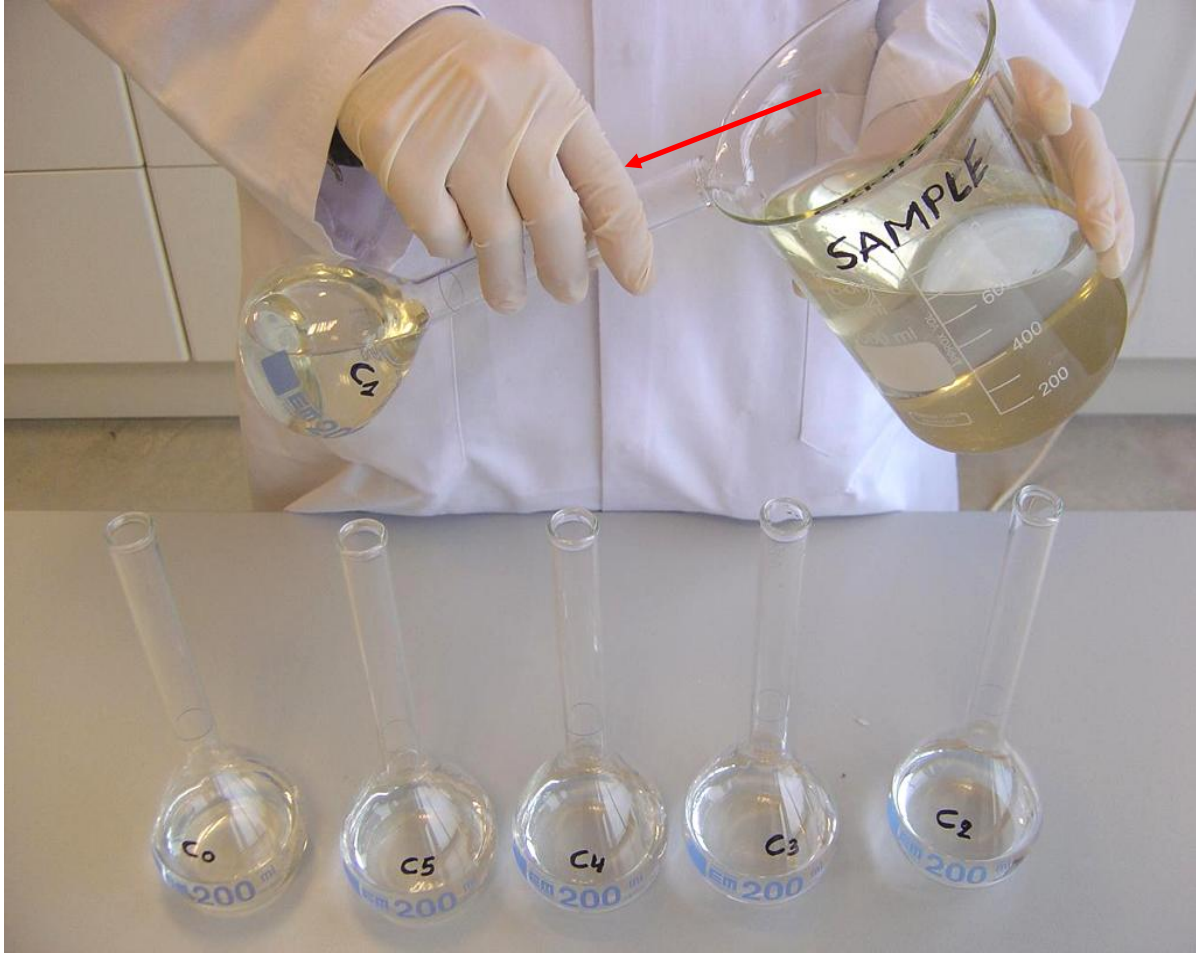
26

W CELU WYELIMINOWANIA
MĘTNOŚCI, PRÓBKA MUSI
ZOSTAĆ PRZEFILTROWANA
PRZED ROZPOCZĘCIEM TESTU
(np. na filtrze
membranowym 0.45 μm),



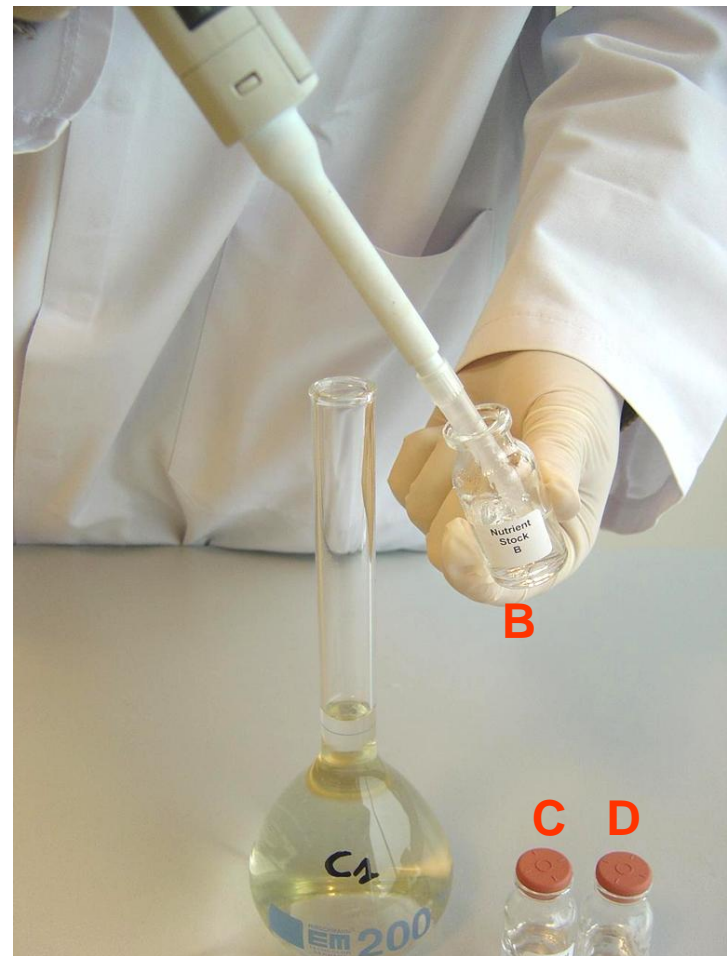
27

DODACĆ 100 ML POŻYWKI DO 200 ML KOLBEK C0, C2, C3, C4 I C5



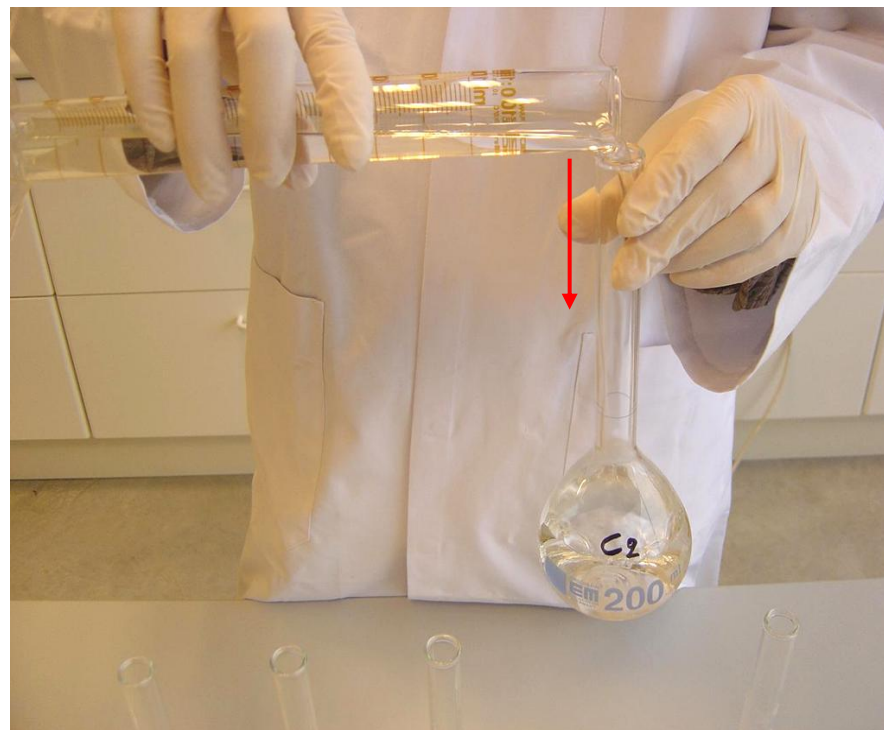
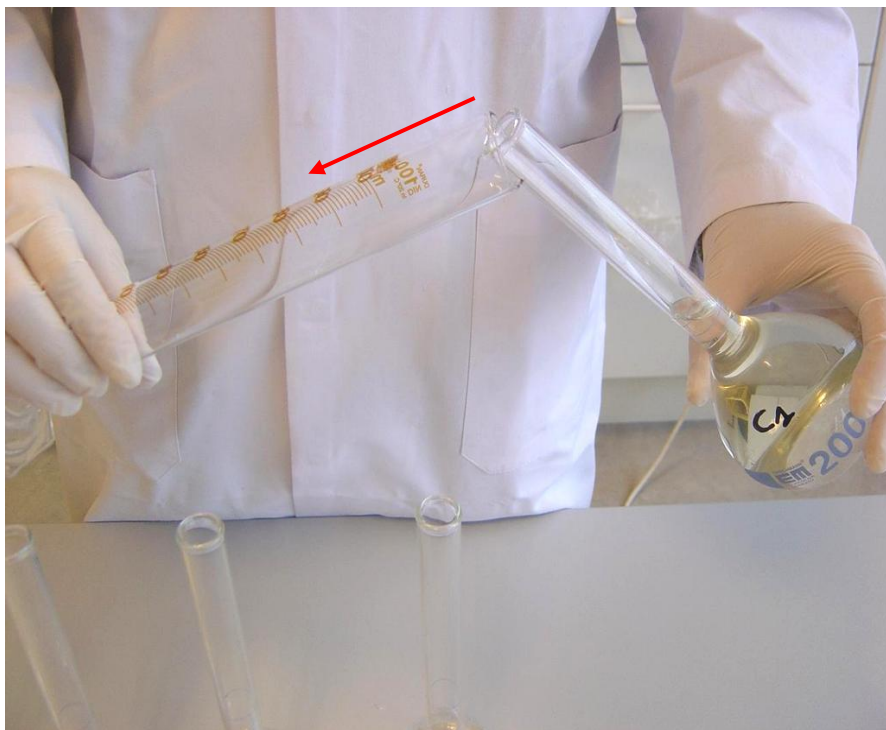
28

NAPEŁNIĆ KOLBKĘ C1
DO LINII 200 ML
PRZEFILTROWANĄ PRÓBKĄ



29

- DODAC 2 ML Z FIOŁKI "NUTRIENT STOCK SOLUTION A" I 0.2 ML ROZTWORU POŻYWKI B, C I D DO KOLBKI C1
- ZATKAĆ KOLBKĘ I WSTRZĄSAĆ W CELU WYMIESZANIA ZAWARTOŚCI

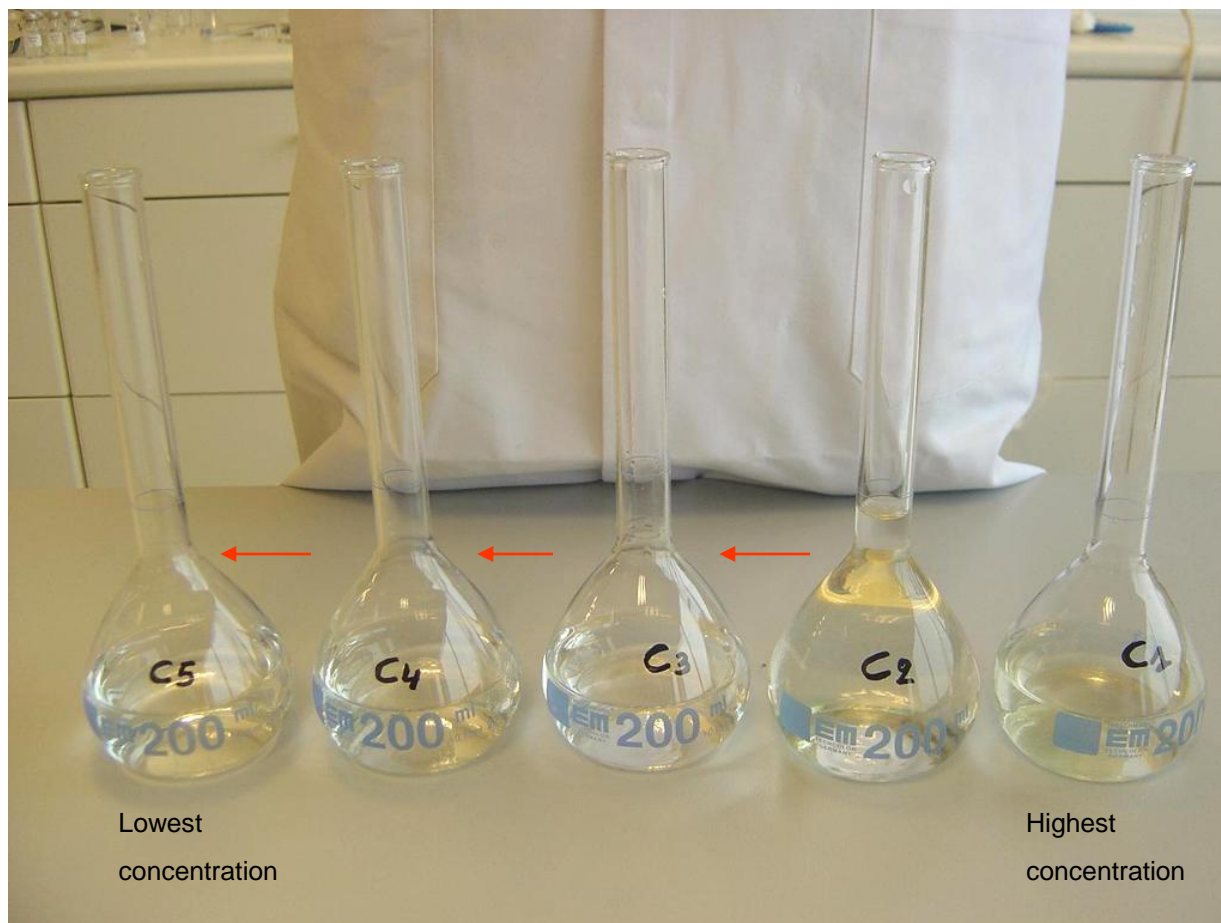


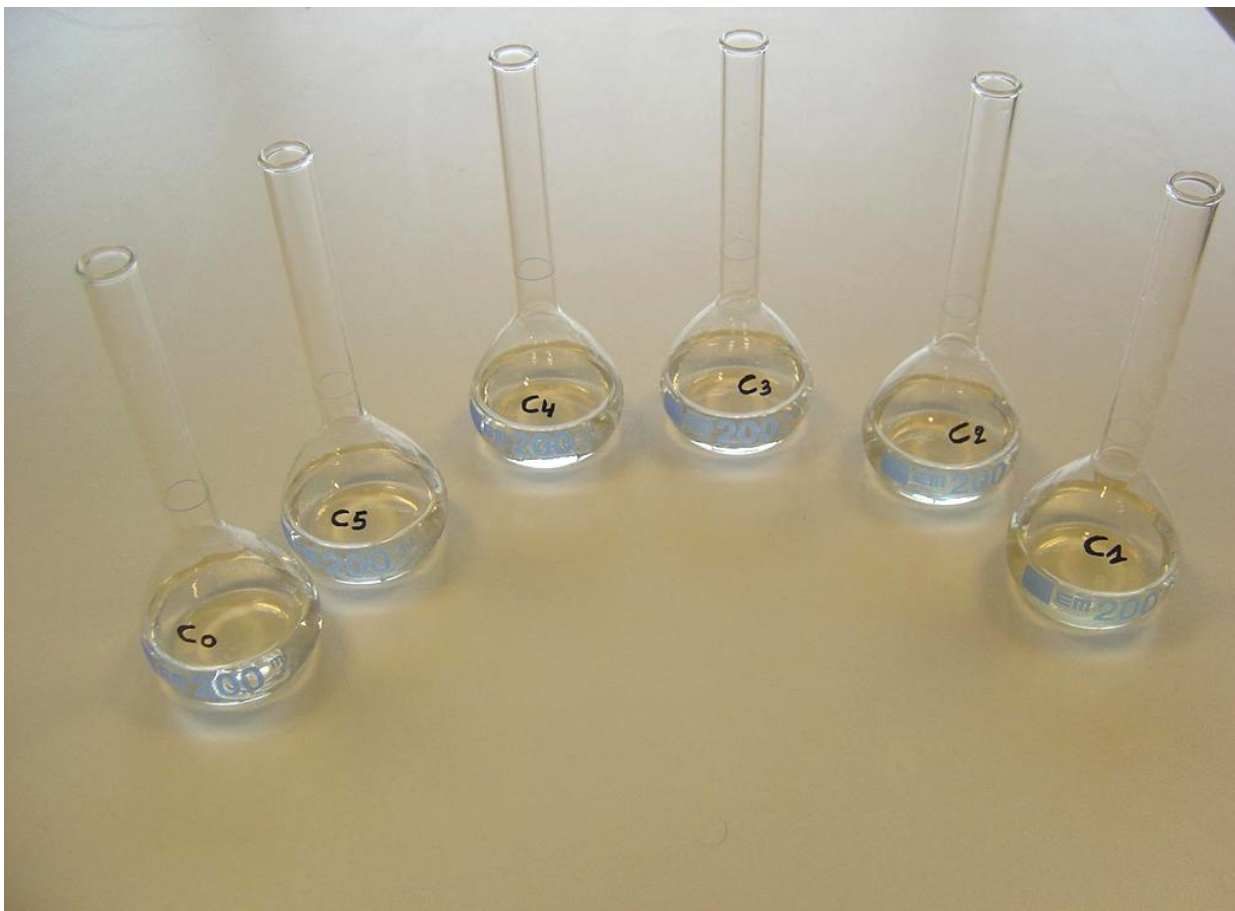
30

- PRZELAĆ 100 ML PRÓBKI Z KOLBKI C1 DO MIAROWEGO CYLINDRA I PRZENIEŚĆ TĄ OBJĘTOŚĆ DO KOLBKI C2 W CELU PRZYGOTOWANIA PIERWSZEGO ROZCIĘNCZENIA 1:1
- ZATKAĆ KOLBKĘ C2 I WSTRZĄSAĆ W CELU HOMOGENIZACJI ZAWARTOŚCI

31

POWTARZAĆ POPRZEDNIĄ
PROCEDURĘ ROZCIEŃCZEŃ
Z KOLEJNYMI KOLBKAMI
(t.j. 100 ml z C2 do C3, itd.)





32

ODRZUCIĆ 100 ML
ROZTWORU Z KOLBKI C5
ABY POZOSTAWIĆ 100 ML
ROZTWORU W KAŻDEJ
KOLBCE

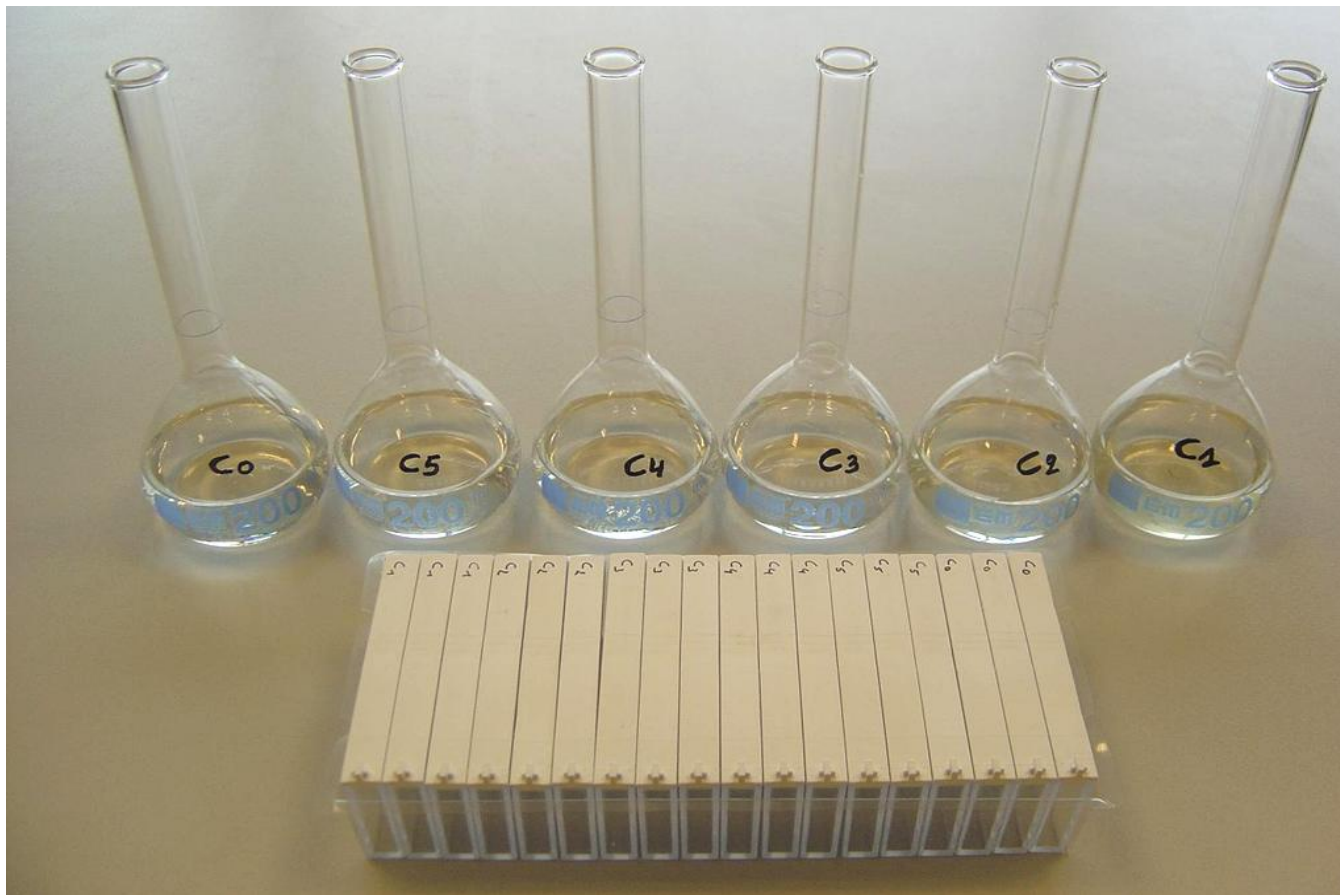


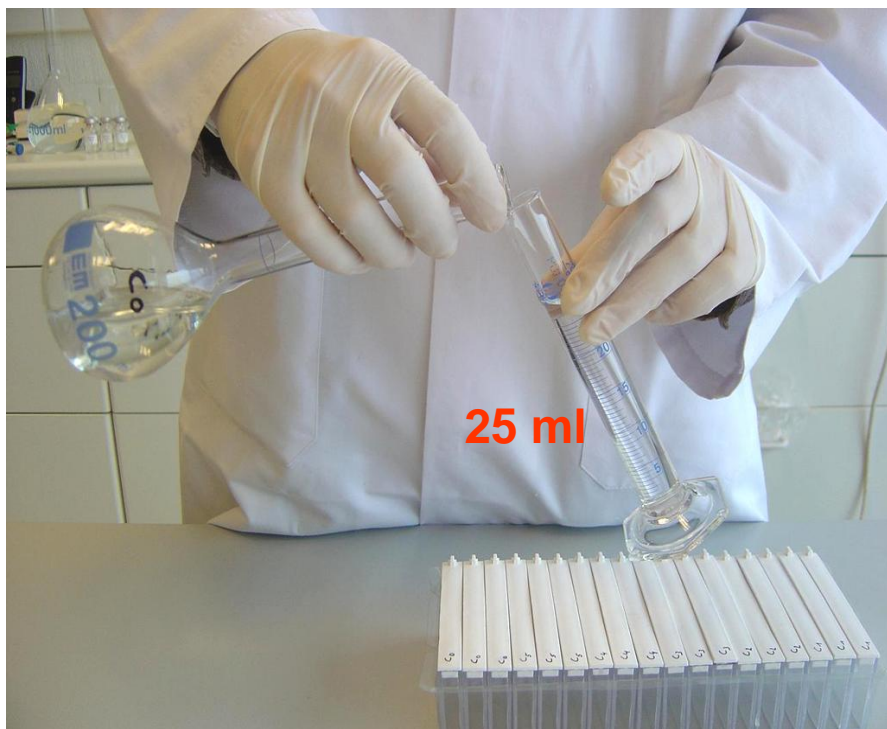
33

- PRZYGOTOWAĆ KOLBKĘ ZAWIERAJĄCĄ 1.10^6 /ML ZAWIESINY GLONÓW I WSTRZĄSNAĆ DELIKATNIE
- DODAĆ 1 ML ZAWIESINY GLONÓW DO KAŻDEJ Z 6 KOLBEK OD C0 DO C5, W CELU UZYSKANIA WSTĘPNEGO STĘŻENIA GLONÓW 1.10^4 KOMÓREK/ML W KAŻDEJ KOLBCE

34

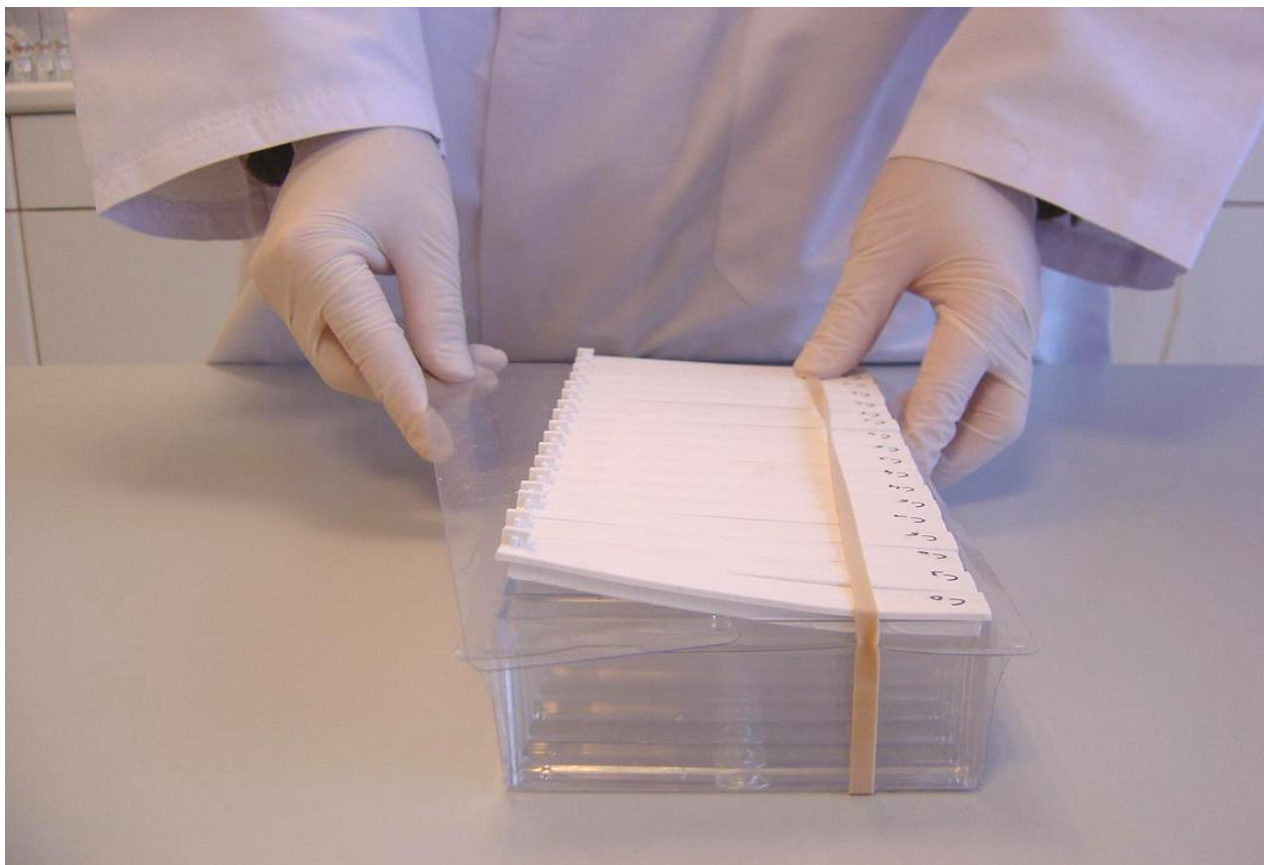
**PRZENOSZENIE
ROZTWORÓW
GLONY-
SUBSTANCJA
TOKSYCZNA DO
KUWET TESTOWYCH**





35

- OZNAKOWAĆ WSZYSTKIE KUWETY NA POKRYWKACH (3 powtórzenia dla każdego rozcieńczenia)
- PO DOKŁADNYM WSTRZĄŚNIĘCIU, PRZENIEŚĆ 25 ML MIESZANINY GLONY-SUBSTANCJA TOKSYCZNA KAŻDEGO ROZCIEŃCZENIA, Z KAŻDEJ KOLBKI DO MIAROWEGO CYLINDRA, W CELU DALSZEGO PRZENIESIENIA DO ODPOWIEDNICH KUWET (3 rozcieńczenia dla każdego rozcieńczenia)



36

- USTAWIĆ KUWETY W UCHWYCIE W PRZYPADKOWEJ KOLEJNOŚCI
- NIEZNACZNIE PODNIEŚĆ POKRYWKI KUWET Z JEDNEJ STRONY I WSUNĄĆ PLASTIKOWY PASEK POMIĘDZY KUWETY I POKRYWKI ABY POZOSTAWIĆ MAŁĄ SZCZELINĘ W CZASIE INKUBACJI



37

INKUBOWAĆ UCHWYT Z KUWETAMI PRZEZ 72h W INKUBATORZE, W $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,
Z CIĄGŁYM OŚWIETLENIEM:

- OŚWIETLENIE BOCZNE = 10000 LUX
- LUB
- OŚWIETLENIE OD SPODU = 3000-4000 LUX



38

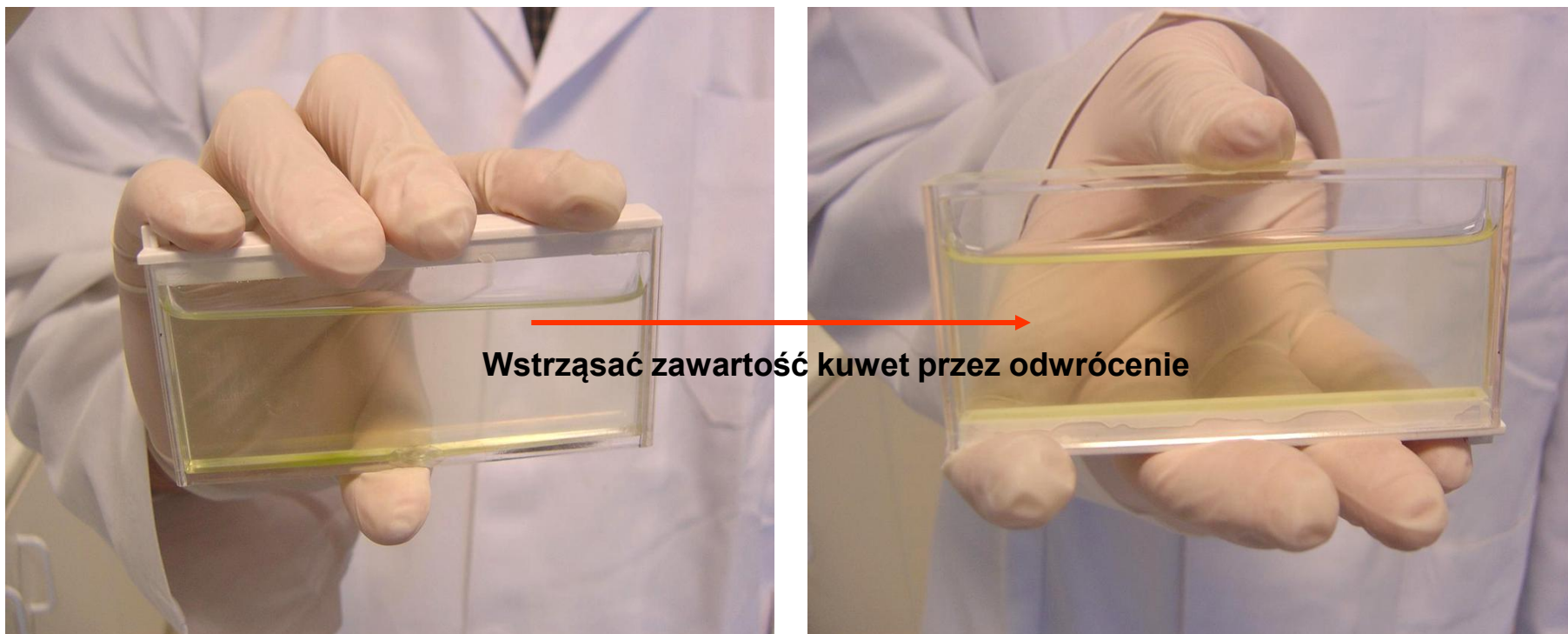
OBLICZANIE WYNIKU

GĘSTOŚĆ OPTYCZNA **OD** ZAWIESINY GLONÓW POWINNA BYĆ MIERZONA CODZIENNIE PRZEZ 3 DNI TRWANIA TESTU, T.J. PO 24h, 48h I 72h EKSPOZYCJI NA DZIAŁANIE SUBSTANCJI TOKSYCZNEJ



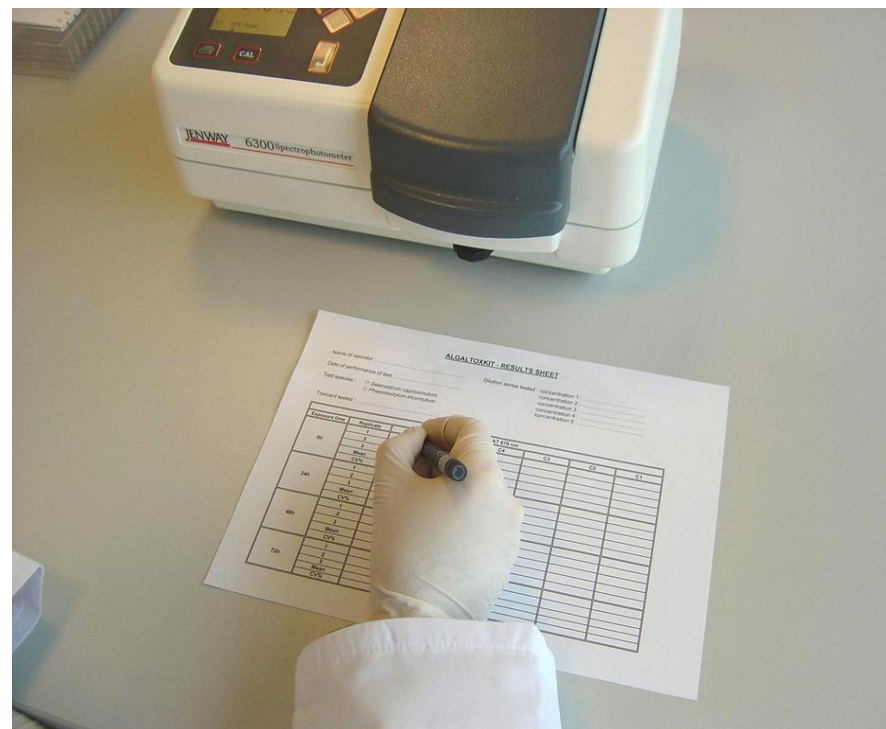
39

WYKALIBROWAĆ ZERO W
SPEKTROFOTOMETRZE PRZED
CODZIENNYM POMIAREM GĘSTOŚCI
OPTYCZNEJ **OD** W KUWETACH



40

TUŻ PRZED POMIAREM GĘSTOŚCI OPTYCZNEJ **OD**, ZAMKNAĆ KUWETĘ,
OBRÓCIĆ JĄ DO GÓRY DNEM I DELIKATNIE WSTRZĄSNAĆ W CELU RÓWNOMIERNEGO
ROZPROWADZENIA GLONÓW



41

- ZAPISYWAĆ CODZIENNE WYNIKI **OD** DLA KAŻDEJ KUWETY W KARCIE WYNIKU
- WYKONAĆ OBLICZENIA WYKOZYSTUJĄC ODPOWIEDNI PROGRAM