REF 985890

fr

Test 8-90 03.23
NANOCOLOR® TTC / Activité des boues 150

Méthode:
Détermination de l'activité biochimique de boues (boues activées, boues sapropéliques, etc.) favorisée par l'activité des déhydrogénases à l'aide du 2,3,5-triphényltétrazoliumchlorure (TTC). Les déhydrogénases assurent le virage du TTC incolore en triphénylformazan rouge (TPF). Le TPF obtenu indissoluble dans l'eau est converti dans l'éthanol et déterminé photométriquement.

Le test rapide permet:
1. la détermination de l'activité biochimique (A_B) de boues dans quelques µg de TPF/mg de masse sèche de boue (**Méthode 8901**)
2. la caractérisation de l'action d'eaux résiduaires et de leurs composants sur les boues (stimulation et/ou inhibition de l'activité des déhydrogénases DHA exprimés en %) (**Méthode 8902**)
3. une estimation visuelle rapide du degré de stabilisation des boues à l'aide d'une méthode de sélection préalable simple (**Méthode 8903**)

Domaine de mesure:	**5 – 150 µg TPF (triphénylformazan) (Méthode 8901)**	**0,050 – 2,300 E (Méthode 8902)**
Facteur:	**0071.**	**–**
Longeur d'onde de mesure (LMH = 5 – 12 nm):		**470 nm**
Temps de réaction:	**30 – 120 min**	
Température de réaction:	**20 – 25 °C**	

Contenu du jeu de réactifs:
Boîte A: 20 cuvettes rondes vides TTC 150
3 seringues 5 mL
Boîte B: 1 flacon avec 30 mL de TTC 150 R1
2 flacons avec chacun 60 mL de TTC 150 R2
2 corps de seringues 5 mL
1 cuvette de réaction 40 mL
1 obturateur vissable avec tubulure d'aspiration
3 obturateurs Luer-Lock femelles
2 raccords Luer-Lock femelles / femelles
1 obturateur Luer-Lock mâle
Boîte C: 21 filtres à membrane ∅ 1,2 µm

Indications de danger:
Le réactif R2 contient d'éthanol 90 – 98 %.
Pour avoir des informations supplémentaires, commandez s.v.p. une fiche de données de sécurité.

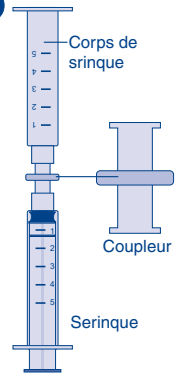
Interférences:
Le triphénylformazan (TPF) formé étant sensible à la lumière, ne procéder à l'incubation des échantillons expérimentaux que dans l'obscurité. L'oxygène inhibant la réduction du TTC, ces échantillons expérimentaux devraient présenter, pour cette raison, des volumes constants dans les corps de seringues et ne pas contenir d'oxygène. L'inhibition d'activité des déhydrogénases est non seulement favorisée par l'oxygène, mais également par NO_3^-, Fe^{3+} et NO_2^-. P_i, Fe^{2+}, SO_4^{2-}, Cl^- et Mn(IV) agissent en stimulant.

Conservation:
Conserver le kit dans un endroit frais (2 – 8 °C) et sec.

Remarques pratiques:
1. Le résultat reste, entre autres, influencé par la nature et l'origine des boues. Cette dernière devrait donc toujours être au moins rattachée au résultat métrologique. Les boues flottantes et/ou expansées ne sont pas appropriées pour les analyses de routine selon la méthode **8902**. Le procédé décrit convient, par contre, parfaitement pour l'analyse de boues sapropéliques.
2. Les expérimentations peuvent être exécutées à la température ambiante. Nous recommandons, pour une meilleure comparabilité des résultats d'analyses sérielles – comme p.e. les régimes fluviaux – d'y procéder à des températures d'incubation constantes, parfaitement définies. L'incubation des échantillons expérimentaux doit dans tous les cas s'exécuter dans l'obscurité.
3. **Contrôle standard au cours de l'analyse d'eaux résiduires (méthode 8902).** Les boues activées doivent présenter une activité suffisante. Cette dernière s'obtient au mieu à l'aide d'une solution nitritée (1000 mg/L) faisant fonction d'inhibant étalon. En lieu et place de l'échantillon, seront utilisés **3,0 mL** de décantat et **1,0 mL** de solution nitritée. L'inhibition de l'activité des déhydrogénases de cette analyse expérimentale devrait atteindre 50 ± 20 %.
4. La masse sèche de boues MS s'obtient par séchage sous 105 °C.

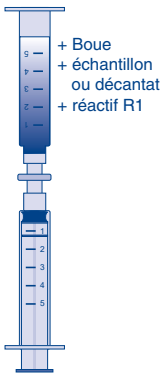
NANOCOLOR® TTC / Activité des boues 150 – Test 8-90

1



Raccorder le corps de serinque via coupleur Luer-Lock avec la serinque.

2



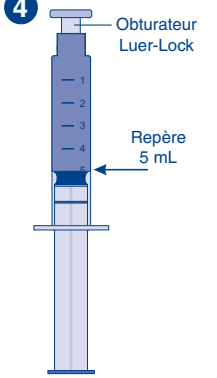
Remplir le(s) corps de serinque selon directives de test.

3



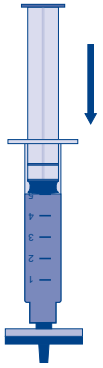
Transférer le contenu du corps de serinque dans la serinque.

4



Boucher **sans bulles** la(les) serinque(s) avec l'obturateur, puis incuber selon les directives.

5



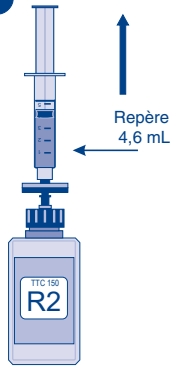
Filtration:
Visser le filtre jetable, quis filter lentement (rejeter le filtrat).

6



Préparation de l'extraction:
Visser la(les) serinque(s) avec le filtre jetable sur le flacon de R2.

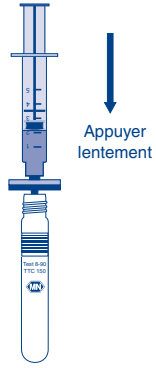
7



Extraction:
aspirer lentement le réactif R2 jusqu'au repère 4,6 mL.

(reboucher le flacon de R2)

8



Evaluation:
Filtrer et mesurer après 10 min dans une cuvette ronde vide.

Méthode 8901: Détermination de l'activité biochimique de boues (A_B)

Le procédé sert à la détermination de l'activité biochimique de boues activées. Possibilité, aux fins d'analyse, de prélever **directement** les boues activées à analyser dans le bassin d'activation. La masse sèche de boue (MS) des boues activées ne doit pas dépasser **5 g/L.**

Exécution:

	Démarche	Figure
1.	Relier une seringue de 5 mL à un corps de seringue via coupleur Luer-Lock femelle/femelle.	**1**
2.	Remplir dans le corps de seringue **4,5 mL d'échantillon de boues activées** et **0,5 mL** de réactif **R1**.	**2**
3.	Transférer ensuite **en évitant la formation de toutes bulles d'air** le contenu du corps de seringue dans la seringue de 5 mL. Boucher tout d'abord sans bulle d'air cette dernière avec un obturateur Luer-Lock (femelle), la basculer, puis la placer dans le support de tubes à essais. Incubation: **1 h à la température ambiante dans l'obscurité**.	**3 + 4**
4.	Déposer l'obturateur, puis visser le filtre à membrane.	**5**
5.	Filtrer l'échantillon expérimental, puis rejeter le filtrat. Eponger les gouttes de fluide adhérant sur le filtre à membrane à l'aide d'un chiffon jetable.	**5**
6.	Visser **sans serrer** le raccord fileté avec tube aspirant sur le flacon de réactif R2. Visser ensuite la seringue avec le filtre à membrane sur le flacon.	**6**
7.	Aspirer **lentement** le réactif R2 via filtre à membrane dans la seringue jusqu'à concurrence du **repère 4,6 mL**. Incubation: **10 min à la température ambiante dans l'obscurité**.	**7**
8.	Déverser ensuite avec précaution le contenu de la seringue dans une cuvette ronde vide, obturer cette dernière, la nettoyer extérieurement, puis sélectionner la méthode **8901**.	**8**

Mesure:

Pour les photomètres *NANOCOLOR®* voir manuel, test 8-90.

Détermination de l'activité biochimique A_B:

Concentration en mg de boues activées C_B dans l'échantillon expérimental = V x MS

Activité biochimique A_B [µg de formazan / mg de masse sèche de boue] $\approx$ C_{TPF} / C_B

V = Volume en ml de l'échantillon de boues activées

MS = Masse en g/L de boue sèche issue de boues activées séchées à 105 °C

C_{TPF} = Concentration en µg de triphénylformazan dans l'échantillon expérimental

Fichederelevé „Détermination de l'activité biochimique AB de boues" (Méthode 8901)				
Date	Désignation échantillon	C_{TPF} [µg TPF]	C_S [mg]	Activité biochimique $A_B \approx C_{TPF}/C_B$ [µg de formazan / mg de masse sèche de boue]

Méthode 8902: Détermination de l'altération relative d'activité des déhydrogénases DHA (activité biochimique des boues) par les eaux résiduaires et leurs composants

La composition des eaux résiduaires peut influencer considérablement l'activité d'une boue. Grâce au procécé suivant, il sera possible de saisir dans un laps de temps de 2 h l'altération relative de l'activité des déhydrogénases (DHA) induite par les eaux résiduaires ou leurs composants individuels. Cette analyse permet ainsi de déterminer la compatibilité des eaux résiduaires rejetées dans l'étage biologique existant.

Exécution:

Remarque: *la charge DCO de l'échantillon à analyser devrait reposer dans la plage de concentration des eaux résiduaires déversées dans l'étage biologique („admission dans l'étage biologique").*

Démarche		Figure
1.	Laisser sédimenter pendant **30 min** des boues activées dans un récipient d'analyse approprié (une éprouvette graduée de 25 mL p.e.).	
2.	Verser ensuite le décantat dans un becher à l'aide d'une pipette de transfert.	
3.	Préparation de 2 seringues de 5 mL à relier chacune avec un corps de seringue via un raccord Luer-Lock femelle/ femelle.	**1**
4.	**Valeur de référence** Pipetter dans le premier corps de seringue **0,5 mL de suspension de boues activées**, **4,0 mL de décantat** et **0,5 mL** de réactif **R1**.	**2**
5.	**Valeur d'échantillonnage** Pipetter dans le deuxième corps de seringue **0,5 mL de suspension de boues activées**, **4,0 mL d'échantillon** et **0,5 mL** de réactif **R1**.	**2**
6.	Transférer **sans bulles** les contenus des seringues, fermer sans bulles les seringues à l'aide d'obturateurs Luer-Lock (femelles), les basculer et es placer dans un support de tubes à essais. Incubation: **2 h à la température ambiante dans l'obscurité**.	**3 + 4**
7.	Déposer les obturateurs, puis visser les filtres à membrane.	**5**
8.	Filtrer les échantillons expérimentaux et rejeter le filtrat. Eponger les gouttes de fluide déposées sur les filtres à membrane avec un chiffon jetable.	**5**
9.	Visser **sans serrer** le raccord fileté avec son tube aspirant sur le flacon de réactif R2. Visser ensuite successivement les deux seringues avec filtre à membrane sur le flacon.	**6**
10.	Aspirer **lentement** le réactif R2 via filtres à membrane dans les seringues jusqu'à concurrence du **repère 4,6 mL**. Incubation: **10 min à la température ambiante dans l'obscurité.**	**7**
11.	Déverser ensuite avec précaution les contenus des seringues dans deux cuvettes rondes vides, obturer ces dernières, les nettoyer extérieurement et sélectionner la méthode **8902**.	**8**

Mesure:

Pour les photomètres *NANOCOLOR®* voir manuel, test 8-90.

Détermination de la modification proportionnelle relative de l'activité des déhydrogénases DHA:

$$\text{Activité déhydrogénase DHA [\%]} = [(E_E - E_R) / E_R] \times 100$$

E_R = Extinction de la valeur référentielle sous 470 nm
E_E = Extinction de la valeur d'échantillonnage sous 470 nm

Interprétation des résultats:

- Comme pour la plupart des procédés biologiques, il faut également compter dans ce cas avec une fourchette métrologique d'au moins ± 10 %. Nous recommandons donc, pour réhausser la sécurité des résultats, d'effectuer des analyses doubles.
- Des résultats **négatifs** indiquent une influence **inhibitrice** de l'échantillon, des résultats **positifs** montrant une influence **stimulante** de ce dernier sur l'activité biochimique des boues.
- Des résultats allant de **-20 % à -80 %** face à la valeur référentielle montrent une **inhibition significative** de l'activité déhydrogénase par l'échantillon aqueux. D'autres dilutions permettent de déterminer la concentration de l'échantillon aqueux sur lequel l'activité biochimique des boues n'est plus inhibée.
- Des résultats **supérieurs à + 20 %** par rapport à la valeur référentielle indiquent une **stimulation significative** de l'activité déhydrogénase par l'échantillon aqueux.
- Des stimulations plus accentuées de l'activité déhydrogénase > + 20 % peuvent entre autres se présenter face à des échantillons aqueux organiquement très chargés et riches en matières nutritives.
- La teneur en substances sèches des boues activées n'est pas prise en compte au cours de la détermination de l'activité biochimique relative des boues.
- Des échantillons présentant une faible DCO peuvent simuler des inhibitions en raison du déficit en matières nutritives. Il convient dans ce cas de procéder à une dilution du décantat de la valeur référentielle en fonction de l'indice DCO de l'échantillon.

Fichederelevé
„Détermination de la variation relative de l'activité déhydrogénase DHA" (Méthode 8902)

Date	Désignation échantillon	E_R [E]	E_E [E]	Variation de l'activité déhydrogénase [%]

Méthode 8903: Détermination du degré de stabilisation des boues (méthode de sélection préalable)

Procédé visuel simple destiné à la détermination du degré de stabilisation des boues (boues activées, boues sapropéliques) dans des stations d'épuration. D'autant plus poussée sera la stabilisation aérobe des boues, d'autant plus inactives seront les boues activées et/ou d'autant plus avancée sera l'imputrescibilité. Cela se traduit par un recul de conversion du TTC en triphénylformazan rouge.

Exécution:

Démarche	
1.	**Préparation des échantillons:** a) Déterminer la masse sèche boue MS par séchage à 105 °C ou l'estimer à ± 20 % . b) Diluer la boue à analyser avec de l'eau de la station d'épuration (écoulement d'épuration aval ou décantat de boues activées sédimentées) pour la ramener à une teneur en substance sèche d'env. 1 g/L. **Exemple:** Masse de boue sèche 5 g/L → Concentration cible: 1 g/L → dilution 1 + 4: 1 partie de boue+ 4 parties d'eau d'épuration (p.e. 4 mL de boue + 16 mL d'eau d'épuration)
2.	Pipetter dans une cuvette ronde vide **1,3 mL** de réactif **R1**, puis remplir ensuite la cuvette **jusqu'au bord** et **sans bulles** avec la solution test préparée. Obturer la cuvette et mélanger en agitant.
3.	Incubation **dans l'obscurité à la température ambiante**.
4.	Vérifier visuellement la coloration rouge dans la cuvette ronde après 30, 45 et 60 min.
5.	**Evaluation:** Si **aucune coloration** rouge ne peut être observée après **60 min**, il s'agit en règle générale d'une boue stabilisée maximalement ayant atteint la „**limite technique de stabilisation aérobe**". Une coloration rouge nettement identifiable se présente la plupart du temps après 30 min, au plus tard cependant après 60 min en présence de boues fortement putrescibles, insuffisamment stabilisées.

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Allemagne
Tél. : + 49 24 21 969-0 · info@mn-net.com · ***www.mn-net.com***

France : MACHEREY-NAGEL SAS · 1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt · France
Tél. : 03 88 68 22 68 · sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

PD 14122 / A023298 / 985890 / 033xx

REF 985890 es

Test 8-90 03.23
NANOCOLOR® CTT / Actividad en el lodo 150

Método:
Determinación de la actividad bioquímica de diversos lodos (lodo activado, lodo pútrido, etc.) en base a la actividad de la deshidrogenasa con ayuda de 2,3,5-cloruro de trifeniltreazolio (CTT). El CTT incoloro se transforma en trifenilformazán (TFF) rojo por acción de la deshidrogenasa. El TFF insoluble en agua resultante se traslada en etanol y se determina fotométricamente.

El test rápido permite:
1. Determinar la actividad bioquímica (AL) de los lodos en µg de TFF/mg de materia seca de lodo (**Método 8901**)
2. Caracterizar el efecto de las aguas residuales y las sustancias de las aguas residuales sobre los lodos (estimulación o inhibición de la actividad de la deshidrogenasa (DHA) en %) (**Método 8902**)
3. Una rápida estimación visual del grado de estabilización de los lodos por medio de un método de screening sencillo (**Método 8903**)

Rango:	**5 – 150 µg TFF (trifenilformazán) (Método 8901)**	**0,050 – 2,300 E (Método 8902)**
Factor:	**0071.**	**–**
Longitud de onda (HW = 5 – 12 nm):		**470 nm**
Tiempo de reacción:	**30 – 120 min**	
Temperatura de reacción:	**20 – 25 °C**	

Contenido del kit de reactivos:
Bulto A: 20 cubetas redondas vacías CCT 150
3 jeringas 5 mL
Bulto B: 1 frasco con 30 mL de CCT 150 R1
2 frascos con 60 mL cada uno de CCT 150 R2
2 cánulas de jeringas 5 mL
1 recipiente de reacción 40 mL
1 cierre roscado con tubo de aspiración
3 tapones Luer-Lock, hembra
2 piezas de unión Luer-Lock, hembra / hembra
1 tapón Luer-Lock, macho
Bulto C: 21 filtros de membrana ∅ 1,2 µm

Precauciones de seguridad:
El reactivo R2 contiene etanol 90 – 98 %.
Para más información, puede solicitar una ficha de datos de seguridad.

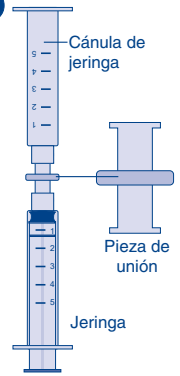
Interferencias:
El trifenilformazán resultante es muy fotosensible, por lo cual los principios del test deben incubarse en la oscuridad. El oxígeno inhibe la reducción del CTT, de ahí que los principios del test deban ocupar un volumen constante en las cánulas de las jeringas, sin que haya oxígeno encerrado. La actividad de la deshidrogenasa no se inhibe únicamente con el oxígeno, sino también con NO_3^-, Fe^{3+} y NO_2^-. Producen estimulación P_i, Fe^{2+}, SO_4^{2-}, Cl^- y Mn(IV).

Almacenaje:
Conservar en lugar fresco (2 – 8 °C) y seco.

Advertencias prácticas:
1. El tipo y procedencia de lodo, entre otros, pueden influir en el resultado. Por tanto, se debería como mínimo añadir siempre al resultado la procedencia del lodo.
   La espuma o el lodo hinchado son inadecuados para el método **8902.** En cambio, los procedimientos mencionados son adecuados para el análisis del lodo pútrido.
2. Los análisis se pueden realizar a temperatura ambiente. Para mejorar la comparación de los resultados de análisis en serie como, por ejemplo, curvas hidrográficas, se recomiendan temperaturas constantes y definidas para la ejecución. La incubación de los principios del test debe realizarse en todos los casos en la oscuridad.
3. **Controles de referencia en el análisis de aguas residuales (método 8902).** El lodo activado debe contar con una actividad suficiente. Como mejor se consigue dicha actividad es con ayuda de una solución de nitrito (1000 mg/L) como factor de inhibición. En lugar de la muestra, se emplean **3,0 mL** de la solución sobrante y **1,0 mL** de la solución de nitrito. La inhibición de la actividad de la deshidrogenasa de los principios de este test debe situarse entre 50 ± 20 %.
4. La materia seca de lodo MS se determina por medio de secado a 105 °C.

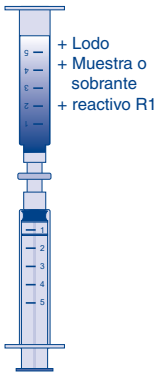
NANOCOLOR® TTC / Actividad del lodo 150 – Test 8-90

1



Unir la cánula de jeringa y la jeringa con una pieza de unión Luer-Lock.

2



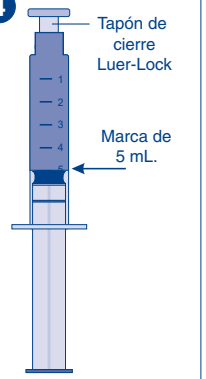
Llenar la cánula o cánulas según las instrucciones del test.

3



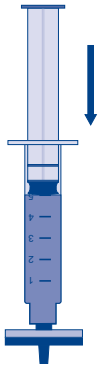
Trasladar el contenido de la cánula al la jeringa.

4



Cerrar la jeringa con el tapón de cierre **sin burbujas de aire** e incubar según las instrucciones del test.

5



Filtración:
Ajustar un filtro un filtrar lentamente (desechar la materia filtrada).

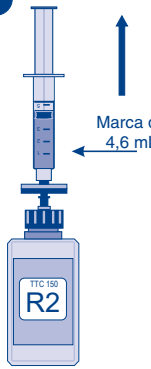
6



El filtro de membrana permanece en la jeringa.

Preparación para la extracción:
Ajustar la jeringa con el filtro al frasco con R2.

7



Extracción:
Aspirar lentamente reactivo R2 hasta la marca de 4,6 mL.

8



Evaluación:
Después de 10 min en la cubeta redonda vaciá filtrar y medir.

Método 8901: Determinación de la actividad bioquímica de lodos (A_L)

El procedimiento sirve para determinar la actividad bioquímica del lodo activado. El lodo activado que se va a analizar puede sacarse **directamente** de la pila de activación para el análisis. La materia seca del lodo (MS) no podrá exceder los **5 g/L**.

Procedimiento:

	Ciclo de trabajo	Ilustración
1.	Unir una jeringa de 5 mL y una cánula de jeringa mediante una pieza de unión Luer-Lock.	**1**
2.	Introducir en la cánula de jeringa **4,5 mL de muestra de lodo activado** y **0,5 mL** de reactivo **R1**.	**2**
3.	A continuación, introducir el contenido de la cánula de jeringa sin burbujas de aire en la jeringa de 5 mL. Cerrarla con una tapón Luer-lock (hembra) sin burbujas de aire, agitarla y colocarla en el estante de probetas. Incubación durante **1 hora a temperatura ambiente en la oscuridad**.	**3 + 4**
4.	Retirar el tapón y ajustar el filtro de membrana.	**5**
5.	Filtrar el principio del test y desechar la materia filtrada. Secar las gotas adheridas al filtro de membrana con un paño de un solo uso	**5**
6.	Ajustar el cierre roscado con el tubo de aspiración sin apretarlo sobre el frasco con reactivo R2. A continuación ajustar al frasco la jeringa con filtro de membrana.	**6**
7.	Aspirar **lentamente** reactivo R2 a través del filtro de membrana con la jeringa hasta la **marca de 4,6 mL**. Incubación durante **10 min a temperatura ambiente en la oscuridad**.	**7**
8.	A continuación expulsar con cuidado el contenido de la jeringa en una cubeta redonda vacía, cerrar la cubeta, limpiar el exterior y activar el **método 8901**.	**8**

Medición:
Para fotómetros *NANOCOLOR®* ver el manual, test 8-90.

Cálculo de la actividad bioquímica A_L:
Concentración de lodo activado $\mathbf{C_L}$ en los principios del test en mg = V x MS

Actividad bioquímica A_L [µg formazán / mg materia seca de lodo] ≈ C_{TFF} / C_L

V = Volumen de la muestra de lodo activado en mL
MS = materia seca de lodo activado en g/L a un secado de 105 °C
C_{TFF} = concentración de trifenilformazán en los principios del test en µg

Formulariodeevaluación
"Determinación de la actividad bioquímica AL de lodos" (Método 8901)

Fecha	Descripción de la muestra	C_{TFF} [µg TPF]	C_L [mg]	Actividad bioquímica $A_L ≈ C_{TFF}/C_L$ [µg formazán / mg materia seca de lodo]

Método 8902: Determinación de la alteración relativa de la actividad de la deshidrogenasa DHA (actividad bioquímica del lodo) producida por las aguas residuales y las sustancias de las aguas residuales

La composición de las aguas residuales puede influir en gran medida en la actividad del lodo. Con ayuda de los siguientes procedimientos se puede registrar en el plazo de 2 h la alteración relativa de la actividad de la deshidrogenasa (DHA) causada por aguas residuales o algunas de sus sustancias. De este modo, se pueden realizar afirmaciones sobre la tolerancia de las aguas residuales introducidas en la biología existente.

Procedimiento:

Advertencia: *La carga de CQO de la muestra que se va a analizar debería situarse en el campo de concentración del agua residual corriente para la biología („Biología de llegada").*

Ciclo de trabajo		Ilustración
1.	Dejar que el lodo activado se sedimente durante **30 min** en un recipiente de laboratorio adecuado (por ejemplo un cilindro de medida de 25 mL).	
2.	A continuación transportar el sobrante con una pipeta de transferir a un vaso.	
3.	Preparar dos jeringas de 5 mL, unidas cada una a una cánula de jeringa por medio de una pieza de unión Luer-Lock hembra-hembra.	**1**
4.	**Valor de referencia** Pipetear en la **primera** cánula de jeringa: **0,5 mL de suspensión de lodo activado**, **4,0 mL de solución sobrante** y **0,5 mL** de reactivo **R1**.	**2**
5.	**Valor de la muestra** Pipetear en la **segunda** cánula de jeringa: **0,5 mL de suspensión de lodo activado**, **4,0 mL de muestra** y 0,5 mL de reactivo **R1**.	**2**
6.	Transportar el contenido en las jeringas sin burbujas de aire, cerrar las jeringas sin burbujas de aire con tapones Luer-Lock (hembra), agitar y colocar en los estantes de probetas. Incubación durante **2 h a temperatura ambiente en la oscuridad**.	**3 + 4**
7.	Retirar los tapones y ajustar el filtro de membrana.	**5**
8.	Filtrar el principio del test y desechar la materia filtrada. Secar las gotas adheridas al filtro de membrana con un paño de un solo uso	**5**
9.	Ajustar el cierre roscado con el tubo de aspiración **sin apretarlo** sobre el frasco con reactivo R2. A continuación ajustar al frasco las dos jeringas con filtro de membrana.	**6**
10.	Aspirar **lentamente** reactivo R2 a través del filtro de membrana con la jeringa hasta la **marca de 4,6 mL**. Incubación durante **10 min a temperatura ambiente en la oscuridad**.	**7**
11.	A continuación depositar con cuidado el contenido de las jeringas en dos cubetas redondas vacías, cerrar las cubetas, limpiar el exterior y activar el **método 8902**.	**8**

Medición:

Para fotómetros *NANOCOLOR®* ver el manual, test 8-90.

Cálculo de la alteración relativa de la actividad de la deshidrogenasa (DHA) en %:

Actividad de la deshidrogenasa (DHA) [%] = $[(E_M - E_R) / E_R] \times 100$

E_R = Extinción del valor de referencia a 470 nm
E_M = Extinción del valor de la muestra a 470 nm

Interpretación de los resultados:

- Al igual que en la mayoría de los procesos biológicos se debe contar también en éste con un margen de error de al menos ± 10 %. Para aumentar la seguridad de los resultados, recomendamos por tanto la realización de determinaciones dobles.
- Los resultados **negativos** indican una influencia **inhibidora** de la muestra sobre la actividad bioquímica del lodo, mientras que los resultados **positivos** indican una influencia **estimulante** de la muestra.
- Los resultados que oscilan entre el **- 20 % y el - 80 %** frente al valor de referencia señalan una **inhibición significativa** de la actividad de la deshidrogenasa producida por la muestra de agua residual. Por medio de diluciones posteriores se puede determinar la concentración con la que la muestra de agua residual deja de inhibir la actividad bioquímica del lodo.
- Los resultados **superiores al + 20 %** frente al valor de referencia señalan una **estimulación significativa** de la actividad de la deshidrogenasa producida por la muestra de agua residual.
- Pueden darse estimulaciones pronunciadas de la actividad de la deshidrogenasa de más de + 20 %, entre otros casos, en muestras de agua residual ricas en sustancias nutritivas con una fuerte carga orgánica.
- El porcentaje de sustancia seca del lodo activado no se considera en la determinación de la actividad bioquímica relativa del lodo.
- Las muestras con un reducido porcentaje de CQO pueden simular inhibiciones debido a la falta de sustancias nutritivas. En estos casos, se diluye la solución sobrante del valor de referencia correspondiente a la carga de CQO de la muestra.

Formulariodeevaluación
Determinación de la alteración relativa de la actividad de la deshidrogenasa (Método 8902)

Fecha	Descripción de la muestra	E_R [E]	E_M [E]	Alteración de la actividad de la deshidrogenasa [%]

Método 8903: Estimación del grado de estabilización de lodos (método screening)

Se trata de un procedimiento visual y sencillo para averiguar el grado de estabilización de lodos (lodo activado, lodo pútrido) en plantas de depuración. Cuanto más avanzada está la estabilización aeróbica de los lodos, más inactivo permanece el lodo activado o bien menos avanza su putrescibilidad. Esto va acompañado de un retroceso de la transformación de CTT en trifenolformazán rojo.

Procedimiento:

Ciclo de trabajo	
1.	**Preparación de la muestra:** a) Determinar la materia seca de lodo MS por medio de secado a 105 °C o calcular a ± 20 %. b) El lodo que se va a analizar se diluye con agua de planta depuradora (vertido de la depuración final o sobrante de lodo activado sedimentado) con un porcentaje de materia seca de aproximadamente 1 g/L. **Ejemplo:** Materia seca de lodo 5 g/L → Concentración objetivo: 1 g/L → Dilución 1 + 4: 1 parte de lodo + 4 partes de agua de depuradora (Ej. 4 mL lodo + 16 mL agua de depuradora)
2.	Pipetear en una cubeta redonda vacía **1,3 mL** de reactivo **R1** y a continuación llenar la cubeta **hasta el borde** y **sin burbujas de aire** con la solución del test que se ha preparado. Cerrar la cubeta y mezclar agitando.
3.	Incubación **en la oscuridad a temperatura ambiente**.
4.	Comprobar visualmente la cubeta redonda a los 30, 45 y 60 min para detectar coloración roja.
5.	**Evaluación:** En el caso de que a los 60 min **no se detecte coloración roja**, se trata, por lo general, de un lodo que sigue estabilizado, que ha alcanzado el „**límite técnico de la estabilización aeróbica**“. En lodos que no están suficientemente estabilizados, con una alta putrescibilidad, se produce en la mayoría de los casos ya a los 30 min, como muy tarde a los 60 min, una coloración roja claramente detectable.

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Alemania
Tel.: + 49 24 21 969-0 · info@mn-net.com · ***www.mn-net.com***

PD 14122 / A023299 / 985890 / 033xx