REF 985890

it

Test 8-90 03.23

NANOCOLOR® TTC / Attività dei fanghi 150

Metodo:

Determinazione dell'attività biochimica dei fanghi (fango attivo, fango digerito ecc.) in base all'attività di deidrogenazione con l'aiuto di 2,3,5 trifelina tetrazolio cloruro (TTC). Attraverso la deidrogenazione la TTC incolore viene trasformata in trifenilformazana (TFF). La qui ottenuta trifenilformazana (TFF) idrosolubile viene ridotta in etanolo e determinata fotometricamente.

Il test rapido permette:

1. la determinazione dell'attività biochimica (AF) dei fanghi in µg TFF/mg massa essiccata di fango (**metodo 8901**)
2. la caratterizzazione dell'effetto delle acque di scarico e degli ingredienti dell'acqua di scarico di fronte ai fanghi (stimulazione o inibizione dell'attività di deidrogenazione DIA in %) (**metodo 8902**)
3. un giudizio visivo del grado di stabilizzazione dei fanghi in base a un metodo di screen semplice (**metodo 8903**)

Campo di misura:	**5 – 150 µg TFF (trifenilformazana) (metodo 8901)**	**0,050 – 2,300 E (metodo 8902)**
Fattore:	**0071.**	**–**
Lunghezza d'onda misurata (onda H = 5 – 12 nm):	**470 nm**	
Tempo di reazione:	**30 – 120 min**	
Temperatura di reazione:	**20 – 25 °C**	

Contenuto set di reagenti:

Scatola A: 20 cuvette rotonde vuote TTC 150
3 siringhe 5 mL

Scatola B: 1 bottiglia con 30 mL TTC 150 R1
2 bottiglie ciascuna con 60 mL TTC 150 R2
2 foderi di siringhe 5 mL
1 recipiente di reazione 40 mL
1 tappo a vite con tubo di aspirazione
3 tappi Luer-Lock, femmina
2 raccordi Luer-Lock, femmina / femmina
1 tappo Luer-Lock, maschio

Scatola C: 21 filtri a membrana ∅ 1,2 µm

Avvertenze di pericoli:

Il reagente R2 contiene etanolo 90 – 98 %.

Per ulteriori informazioni potete richiedere una scheda informativa in materia di sicurezza.

Disturbi:

La trifenilformazana (TFF) formatasi è molto sensibile alla luce, per questo motivo l'incubazione dei precipitati del test dovrebbe in ogni caso svolgersi nell'oscurità. L'ossigeno ritarda la riduzione della TTC; e per questo motivo i precipitati dei test nei foderi delle siringhe dovrebbero avere un volume costante e non dovrebbero racchiudere ossigeno. L'attività di deidrogenazione non viene ritardata solo dall'ossigeno bensì anche da NO_3^-, Fe^{3+} e NO_2^-. Invece P_i, Fe^{2+}, SO_4^{2-}, Cl^- e Mn(IV) possiedono un effetto stimolante.

Conservazione:

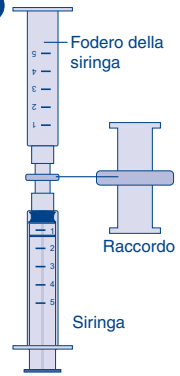
Conservare il kit in luogo fresco (2 – 8 °C) e asciutto.

Avvertimenti pratici:

1. Il risultato viene influenzato tra l'altro da tipo e provenienza del fango. Sarebbe quindi giusto di corredare sempre il risultato almeno con l'indicazione della provenienza del fango. Il metodo **8902** non è idoneo per l'analisi di routine del fango galleggiante o espanso. I metodi elencati sono invece idonei per l'analisi del fango digerito.
2. Le analisi possono essere eseguite alla temperatura ambiente. Per rendere più agevole il confronto dei risultati delle analisi di serie come ad es. degli ideogrammi, si consiglia di eseguire le analisi a una temperatura d'incubazione costante e definita. L'incubazione dei precipitati del test dovrebbe in ogni caso svolgersi nell'oscurità.
3. **Controllo standard durante l'esame delle acque di scarico (metodo 8902)**: il fango attivo deve possedere davvero una attività sufficiente. Il miglior modo per ottenere questo è l'impiego di una soluzione di nitrito (1000 mg/L) come inibitore standard. Al posto del campione vengono impiegati **3,0 mL** di soluzione in eccesso e **1,0 mL** di soluzione di nitrito. Il ritardo dell'attività di deidrogenazione di questo precipitato del test dovrebbe essere di 50 ± 20 %.
4. La massa essiccata di fango (ME) viene definita mediante essiccazione a 105 °C.

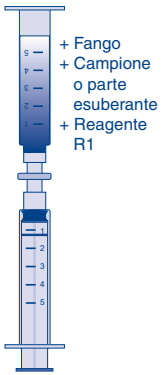
NANOCOLOR® TTC / Attività dei fanghi 150 – Test 8-90

1



Mediante il raccordo Luer-Lock collegare il fodero alla siringa.

2



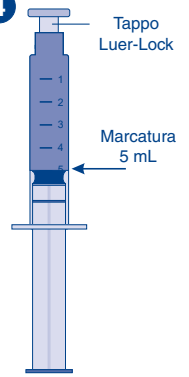
Riempire fodero/I secondo le istruzioni per il test.

3



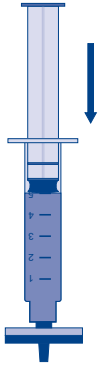
Transferire il contenuto del fodero nella siringa stessa.

4



Chiudere fodero/i con il tappo, **senza bollicine d'aria**, e incubare secondo le istruzioni.

5



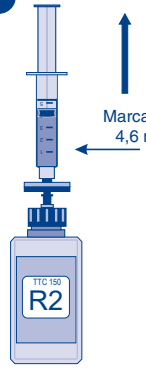
Filtrazione:
Avvitare il filtro monouso e filtrare lentamente (gettare via il filtrato).

6



Preparazione dell'estrazione:
Avvitare siringa/siringhe con il filtro monouso sulla bottiglia con R2.

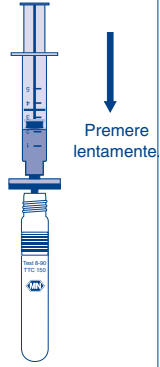
7



Estrazione:
Aspirate lentamente reagente R2 fino alla marcatura 4,6 mL.

(Richiudere subito la bottiglia dell'R2)

8



Valutazione:
Dopo 10 minuti filtrarlo in una cuvetta vuota e quindi misurare.

Metodo 8901: Determinazione dell’attività biochimica dei fanghi (A_F)

La procedura serve alla determinazione dell’attività biochimica del fango attivo. Ai fini dell’analisi si può prelevare il fango attivo direttamente dal bacino del fango attivo. La massa di essiccazione del fango (ME) non deve superare il 5 g/L del fango attivo.

Procedimento:

	Fase di lavorazione	Figura
1.	Collegare una siringa di 5 mL mediante un raccordo Luer-Lock femmina/femmina a un fodero della siringa.	**1**
2.	Nel fodero della siringa immettere **4,5 mL campione di fango attivo** e **0,5 mL** reagente **R1**.	**2**
3.	Il contenuto del fodero della siringa viene successivamente trasferito, **senza bollicine d’aria**, nella siringa di 5 mL. Questa viene chiusa con un tappo Luer-Lock (femmina), senza bollicine d’aria, quindi scossa e poi disposta sulla rastrelliera portaprovette. Incubazione per **1 h a temperatura ambiente nell’oscurità**.	**3 + 4**
4.	Rimuovere il tappo e avvitare il filtro a membrana.	**5**
5.	Filtrare la miscela del test e gettare il filtrato. Con un pannolino monouso togliere le gocce di liquido rimaste sul filtro a membrana.	**5**
6.	Avvitare il tappo con il tubo di aspirazione **sciolto** sulla bottiglia con il reagente R2. Successivamente avvitare la siringa con il filtro a membrana sulla bottiglia.	**6**
7.	Attraverso il filtro della membrana aspirare **lentamente** il reagente R2 nella siringa fino al **marcatura 4,6 mL**. Incubazione per **10 min a temperatura ambiente nell’oscurità**.	**7**
8.	Con molta precauzione premere il contenuto della siringa in una cuvetta rotonda vuota; chiudere la cuvetta; pulire l’esterno della cuvetta e richiamare il **metodo 8901**.	**8**

Misurazione:
Con i fotometri *NANOCOLOR®* vedere il manuale, test 8-90.

Calcolo dell’attività biochimica AF:
Concentrazione del fango attivo CF nella miscela del test in mg = V x ME

Attività biochimica A_F [µg formazana / mg massa essiccata di fango] ≈ C_{TFF} / C_F

V = Volume del campione di fango attivo in mL
ME = Massa essiccata del fango attivo in g/L con essiccazione a 105 °C
CTFF = Concentrazione di trifenilformazana nella miscela del test in µg

Foglio delle valutazioni
„Determinazione dell’attività biochimica AF dei fanghi” (Metodo 8901)

Data	Denominazione dei campioni	C_{TFF} [µg TFF]	C_F [mg]	Attività biochimica [µg formazana / mg massa essicc. di fango]

Metodo 8902: Definizione del cambiamento relativo dell’attività di deidrogenazione DIA (attività biochimica del fango) mediante le acque di scarico e le sostanze in esse contenute

La composizione delle acque di scarico ha la facoltà di influenzare notevolmente l’attività del fango. Con l’aiuto del metodo qui esposto è possibile rilevare entro 2 h il cambiamento relativo dell’attività di deidrogenazione (DIA) con il seguente processo delle acque di scarico o delle singole sostanze in esse presenti. Ciò permette di definire la compatibilità delle acque di scarico immesse con la biologia esistente.

Procedimento:

Istruzione: Il contenuto di COD del campione da analizzare dovrebbe essere entro il limite di concentrazione delle acque di scarico che fluiscono verso la biologia („Afflusso biologia“).

Fase di lavorazione		Figura
1.	Lasciare sedimentare il fango attivo per 30 min in un idoneo recipiente da laboratorio (ad es. 25 mL cilindro graduato)	
2.	Successivamente con l’aiuto di una apposita pipetta trasferire la parte esuberante in un bicchiere di vetro.	
3.	Predisporre 2 siringhe da 5 mL, che vengono collegate attraverso un collegamento Luer-Lock femmina/femmina con un fodero della siringa.	**1**
4.	**Valore di riferimento: 2** Pipettare nel **primo** fodero della siringa **0,5 mL sospensione di fango attivo,** **4,0 mL soluzione esuberante** e **0,5 mL** Reagenz **R1**.	**2**
5.	**Valore del campione: 2** Pipettare nel **secondo** fodero della siringa **0,5 mL sospensione di fango attivo,** **4,0 mL campione** e **0,5 mL** reagente **R1**.	**2**
6.	Trasferire i contenuti delle siringhe, **esente da bollicine d’aria**, con i tappi Luer-Lock (femmina) chiuderle in modo esente da bollicine d’aria, scuoterle e sistemarle nella rastrelliera. Incubazione per **2 h a temperatura ambiente nell’oscurità**.	**3 + 4**
7.	Rimuovere il tappo e avvitare il filtro della membrana.	**5**
8.	Filtrare la miscela del test e gettare il filtrato. Con un pannolino monouso togliere le gocce di liquido rimaste sul filtro a membrana.	**5**
9.	Avvitare il tappo a vite con il tubo di aspirazione **sciolto** sulla bottiglia con il reagente R2. Successivamente avvitare una dopo l’altra le due siringhe con il filtro a membrana sulla bottiglia.	**6**
10.	Attraverso il filtro della membrana aspirare **lentamente** il reagente R2 nella siringa fino al **marcatura 4,6 mL**. Incubazione per **10 min a temperatura ambiente nella oscurità**.	**7**
11.	Con molta precauzione premere adesso il contenuto della siringa in una cuvetta rotonda vuota; chiudere la cuvetta; pulire l’esterno della cuvetta e richiamare il **metodo 8902**.	**8**

Misurazione:

Con i fotometri *NANOCOLOR*® vedere il manuale, test 8-90.

Calcolo del cambiamento relativo dell’attività di deidrogenazione DIA in %:

$$\text{Attività di deidrogenazione DIA [\%]} = [(E_C - E_R)/E_R] \times 100$$

ER = Estinzione del valore di riferimento a 470 nm

EC = Estinzione del valore del campione a 470 nm

Interpretazione dei risultati:

- Come è consuetudine per il maggior numero di procedimenti biologici anche qui si deve tenere conto di una fascia di dispersione di almeno ± 10 %. Al fine di aumentare la quota di sicurezza dei risultati raccomandiamo quindi di eseguire doppie determinazioni.
- I risultati **negativi** rivelano una influenza **inibitoria** dei campioni, i risultati **positivi** rivelano una influenza **stimulante** sull’attività biochimica del fango.
- I risultati di -20 % fino -80 % di fronte al valore di riferimento rivelano una inibizione signicativa dell’attività di deidrogenazione mediante i campioni delle acque di scarico. Diluendo ulteriormente la concentrazione è possibile definire la concentrazione del campione delle acque di scarico, in cui non viene più inibita l’attività biochimica del fango.
- I risultati più grandi di + 20 % di fronte al valore di riferimento rivelano una stimolazione significativa dell’attività di deidrogenazione attraverso i campioni delle acque di scarico.
- Chiare stimolazioni dell’attività di deidrogenazione di > + 20 % possono sopprattutto presentarsi nei campioni delle acque di scarico ricche di sostanze nutritive e fortemente inquinate organicamente.
- Non si tiene conto del contenuto della sostanza essiccata del fango attivo nella determinazione della relativa attività biochimica del fango.
- Le prove con una bassa quota di COD possono simulare delle inibizioni a causa dell’insufficienza di sostanze nutrienti. In questo caso viene diluita la soluzione esuberante del valore di riferimento conformemente al rispettivo inquinamento di COD del campione.

Foglio delle valutazioni
„Determinazione del cambiamento relativo dell’attività di deidrogenazione DIA” (Metodo 8902)

Data	Denominazione del campione	E_B [E]	E_C [E]	Cambiamento dell’attività di deidrogenazione [%]

Metodo 8903: Valutazione del grado di stabilizzazione dei fanghi (metodo screening)

Semplice procedimento a vista per il rilevamento del grado di stabilizzazione di fanghi (fango attivo, fango digerito) negli impianti di chiarificazione. Più avanzata è la stabilizzazione aeroba dei fanghi, più inattivo è il fango attivo oppure più avanzata è l'incapacità di putrefazione. Ciò corrisponde a una diminuizione della trasformazione di TTC in trifenilformazana rossa.

Procedimento:

Fase di lavorazione	
1.	Preparazione dei campioni: a) Determinare la massa essiccata di fango (ME) mediante essiccazione a 105 °C o stimare a ± 20 %. b) Il fango da analizzare viene diluito con acqua dell'impianto di depurazione (uscita della sedimentazione finale o del fango esuberante già sedimentato) fino a raggiungere Il contenuto di sostanza essiccata di ca. 1 g/L. **Esempio:** Massa di fango essiccata: 5 g/L → concentrazione desiderata: 1 g/L → 1 + 4 diluizione: 1 parte di fango + 4 parti di acqua dell'impianto di chiarificazione (ad es. 4 mL fango + 16 mL acqua dell'impianto di chiarificazione)
2.	In una cuvetta rotonda vuota pipettare adesso **1,3 mL** di reagente **R1** e poi riempire la cuvetta **fino all'orlo**, e **senza bollicine d'aria**, con la soluzione di test preparata. Chiudere la cuvetta e scuoterla per mescolare bene il contenuto.
3.	Incubazione **nell'oscurità a temperatura ambiente**.
4.	Esaminare a vista la colorazione rossa della cuvetta rotonda rispettivamente dopo 30, 45 e 60 min.
5.	**Valutazione:** Se dopo **60 min** non è ancora riconoscibile **nessuna colorazione rossa**, trattasi generalmente di un fango assai stabile, e che ha raggiunto il suo **„limite di stabilizzazione tecnico aeroba"**. In caso di fanghi insufficientemente stabilizzati, fortemente putrescibili, si presenta già dopo 30 min, al più tardi dopo 60 min, una colorazione rossa chiaramente riconoscibile.

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

PD 14122 / A023300 / 985890 / 033xx

REF 985890

nl

Test 8-90 03.23
NANOCOLOR® TTC / Slibactiviteit 150

Methode:

Bepaling van de biochemische activiteit van slibben (actief slib, rottingsslib enz.) aan de hand van de dehydrogenaseactiviteit met behulp van 2,3,5-trifenyl-tetrazoliumchloride (TTC). Kleurloos chloride wordt door dehydrogenasen in rood trifenylformazan (TFF) omgezet. Het niet in water oplosbare TFF dat is ontstaan, wordt in ethanol overgebracht en fotometrisch bepaald.

De sneltest maakt mogelijk:

1. de bepaling van de biochemische activiteit (As) van slibben in µg TFF/mg slibdroogvolumegewicht (methode 8901)
2. de karakterisering van de werking van afvalwater en afvalwaterbestanddelen ten opzichte van slibben (stimulering resp. remming van de dehydrogenase-activiteit DHA in %) (methode 8902)
3. een snelle visuele beoordeling van de stabilise-ringgraad van slibben aan de hand van en eenvoudige screeningmethode (methode 8903)

Meetgebied:	**5 – 150 µg TFF (trifenylformazan) (methode 8901)**	**0,050 – 2,300 E (methode 8902)**
Factor:	**0071.**	**–**
Golflengte (HW = 5 – 12 nm):	**470 nm**	
Reactietijd:	**30 – 120 min**	
Reactietemperatuur:	**20 – 25 °C**	

Inhoud van reagensset:

Doosje A: 20 lege reageerbuisjes TTC 150
3 spuiten 5 mL

Doosje B: 1 fles met 30 mL TTC 150 R1
2 flessen met 60 mL TTC 150 R2
2 spuithulzen 5 mL
1 reactievat 40 mL
1 schroefsluiting met aanzuigbuis
3 Luer-Lock-sluitstoppen, vrouwelijk
2 Luer-Lock-verbindingsstukken, vrouwelijk / vrouwelijk
1 Luer-Lock-sluitstoppen, mannelijk

Doosje C: 21 membraanfilter ∅ 1,2 µm

Voorzorgsmaatregelen:

Reagens R2 bevat ethanol 90 – 98 %.

Voor meer informatie kunt u een veiligheidsinformatieblad aanvragen.

Interferenties:

Het trifenylformazan (TFF) dat is ontstaan, is zeer lichtgevoelig en daarom moeten de testtoebereidingen in het donker geïncubeerd worden. Zuurstof remt de TTC-reductie; daarom moeten de testtoebereidingen in de spuithulzen een constant volume hebben en mag er geen zuurstof ingesloten zijn. De dehydrogenaseactiviteit wordt niet alleen door zuurstof, maar ook door NO_3^-, Fe^{3+} en NO_2^- geremd. Stimulerend werken P_i, Fe^{2+}, SO_4^{2-}, Cl^- en Mn(IV).

Opslag:

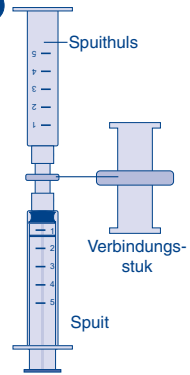
Test koel (2 – 8 °C) en droog bewaren.

Praktische opmerkingen:

1. Het resultaat is o.a. door soort en oorsprong van het slib beïnvloedbaar. Daarom moet bij het resultaat op zijn minst altijd rekening gehouden worden met de oorsprong van het slib. Drijf- of gasslib zijn niet voor routineonderzoeken volgens methode **8902** geëigend. Voor het onderzoek van rottingsslib daarentegen zijn de hier ge-noemde procédés geschikt.
2. De onderzoeken kunnen bij kamertemperatuur ver-richt worden. Om de resultaten van serieonderzoeken zoals bijv. ganglijnen beter te kunnen vergelijken, is het raadzaam deze bij constante, gedefinieerde incubatietemperaturen uit te voeren. De incubatie van de testtoebereidingen moet in ieder geval in het donker uitgevoerd worden.
3. **Standaardcontrole bij het testen van afvalwater (methode 8902):** Het actieve slib moet over voldoende activiteit beschikken. Dit gebeurt het beste met behulp van een nitrietoplossing (1000 mg/L) als remmingstandaard. In plaats van het monster worden **3,0 mL** van de bovenstaande oplossing en **1,0 mL** nitrietoplossing gebruikt. De remming van de dehydrogenaseactiviteit van deze testtoebereiding dient bij 50 ± 20 % te liggen.
4. Het slibdroogvolumegewicht SD wordt bepaald door het drogen bij 105 °C.

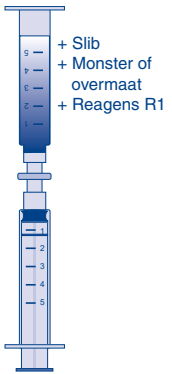
NANOCOLOR® TTC / Slibactiviteit 150 – Test 8-90

1



Spuithals met her Luer-Lock-verbindungsstuk met de spuit verbinden.

2



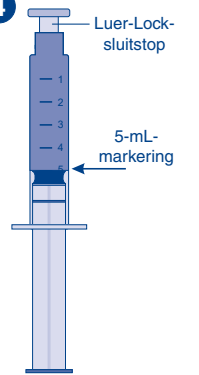
Spuithuls/-hulzen overeenkomstig testhandleiding vullen.

3



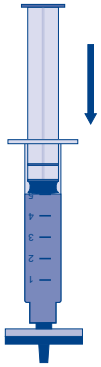
Inhoud van de spuithuls in de spuit overbrengen.

4



Spuit(en) met sluitstop zonder luchtbellen afsluiten en overeenkomstig gebruiksaanwijzing incuberen.

5



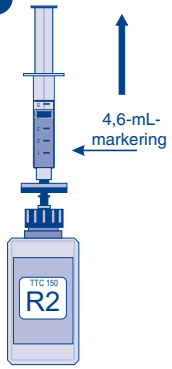
Filtratie:
Wegwerpfilter erop schroeven en langzaam filtreren (filtraat wegwerpen).

6



Voorbereiding van de extractie:
Spuit(en) met wegwerpfilter op fles met R2 schroeven.

7



Extractie:
Langzaam tot de 4,6-mL-markering reagens R2 aanzuigen.

(Fles met R2 weer afsluiten)

8



Evaluatie:
Na 10 min in leeg reageerbuisje filtreren en meten.

Methode 8901: Bepaling van de biochemische activiteit van slibben A_S

Het procédé dient om de biochemische activiteit van actieve slib te bepalen. Voor het onderzoek kan het actieve slib direct uit het bekken met actieve slib gehaald worden. Het slibvolumedrooggewicht (SD) van het actieve slib mag niet meer dan 5 g/L bedragen.

Procedure:

	Bewerkingsfase	Afbeelding
1.	Verbind een 5-mL-spuit via een Luer-Lock-verbindingsstuk vrouwelijk/vrouwelijk met een spuithuls.	**1**
2.	Vul de spuithuls met **4,5 mL** monster van actieve slib en **0,5 mL** reagens **R1**.	**2**
3.	De inhoud van de spuithuls wordt vervolgens **zonder luchtbellen** in de 5-mL-spuit overgebracht. Deze wordt met een Luer-Lock-stop (vrouwelijk) zonder luchtbellen afgesloten, heen en weer bewogen en in een stander met reageerbuisjes geplaatst. Incubatie **1 h bij kamertemperatuur in het donker**	**3 + 4**
4.	Verwijder de sluitstop en schroef het membraanfilter.	**5**
5.	Filtreer de testtoebereiding en gooi het filtraat weg. Veeg vloeistofdruppels op het membraanfilter er met een wegwerpdoekje af.	**5**
6.	Schroef de schroefsluiting met de aanzuigbuis los op de fles met reagens R2. Schroef vervolgens de spuit met het membraanfilter op de fles.	**6**
7.	Zuig reagens R2 **langzaam** via het membraanfilter in de spuit tot aan de **markering 4,6 mL**. Incubatie **10 min bij kamertemperatuur in het donker.**	**7**
8.	Druk vervolgens de inhoud van de spuit voorzichtig in een reageerbuisje, sluit het reageerbuisje, maak het aan de buitenkant schoon en roep **methode 8901** op.	**8**

Meting:
Voor *NANOCOLOR®* fotometers zie handboek, test 8-90.

Berekening van de biochemische activiteit As:
Concentratie actieve slib CS in de testtoebereiding in mg = V x SD

Biochemische activiteit A_s [µg formazan / mg slibvolumedrooggewicht] ≈ C_{TFF} / C_S

V = volume van het actieve slib in mL
SD = slibvolumedrooggewicht van het actieve slib in g/L bij droging bij 105 °C
CTFF = concentratie trifenylformazan in de testtoebereiding in µg

Evaluatieblad
„Bepaling van de biochemische activiteit A_S van slibben" (methode 8901)

Datum	Naam van het monster	C_{TFF} [µg TFF]	C_S [mg]	Biochemische activiteit AS ≈ C_{TFF}/C_S [µg formazan / mg slibvolumedrooggewicht]

Methode 8902: Bepaling van de relatieve verandering van de dehydrogenaseactiviteit DHA (biochemische slibactiviteit) door afvalwater en afvalwaterbestanddelen

De samenstelling van afvalwater kan de activiteit van een slib in belangrijke mate beïnvloeden. Met behulp van het volgende procédé kan de door afvalwater of afzonderlijke afvalwaterbestanddelen veroorzaakte relatieve verandering van de dehydrogenaseactiviteit (DHA) binnen 2 h geregistreerd worden. Daardoor kunnen uitspraken over de verdraagzaamheid van geloosd afvalwater op de aanwezige biologie gedaan worden.

Procedure:

Opmerking: De CZV-belasting van het te onderzoeken monster dient in het concentratiebereik van het naar de biologie stromende afvalwater („Toevoer biologie") te liggen.

Bewerkingsfase		Afbeelding
1.	Laat het actieve slib in een geëigend laboratoriumvat (bijv. 25-mL-meetcilinder) **30 min** sedimenteren.	
2.	Breng de vervolgens de overmaat met een transferpipet in een bekerglas over.	
3.	Zet twee 5-ml-spuiten klaar die ieder via een Luer-Lock-verbindingsstuk vrouwelijk/vrouwelijk met een spuithuls verbonden zijn.	**1**
4.	**Referentiewaarde:** Pipetteer in de **eerste** spuithuls **0,5 mL actieve slib suspensie**, **4,0 mL overmaatoplossing** en **0,5 mL** reagens **R1**.	**2**
5.	**Monsterwaarde:** Pipetteer in de **tweede** spuithuls **0,5 mL actieve slib suspensie**, **4,0 mL monster** en **0,5 mL** reagens **R1**.	**2**
6.	Breng de inhoud **zonder luchtbellen** in de spuiten over, sluit de spuiten met de Luer-Lock-sluitstoppen (vrouwelijk) zonder luchtbellen, beweeg ze heen en weer en zet ze in de stander met reageerbuisjes. Incubatie **2 h bij kamertemperatuur in het donker**.	**3 + 4**
7.	Verwijder de sluitstoppen en schroef de membraanfilters.	**5**
8.	Filtreer de testtoebereiding en gooi het filtraat weg. Veeg vloeistofdruppels op het membraanfilter er met een wegwerpdoekje af.	**5**
9.	Schroef de schroefsluiting met de aanzuigbuis los op de fles met reagens R2. Schroef vervolgens na elkaar de beide spuiten met het membraanfilter op de fles.	**6**
10.	Zuig reagens R2 **langzaam** via het membraanfilter in de spuiten tot aan de **markering 4,6 mL**. Incubatie **10 min bij kamertemperatuur in het donker**.	**7**
11.	Druk vervolgens de inhoud van de spuiten voorzichtig in twee lege reageerbuisjes, sluit de reageerbuisjes, maak ze aan de buitenkant schoon en roep **methode 8902** op.	**8**

Meting:

Voor *NANOCOLOR®* fotometers zie handboek, test 8-90.

Berekening van de relatieve verandering van de dehydrogenaseactiviteit DHA in %:

Dehydrogenaseactiviteit DHA [%] = $[(E_P - E_R)/E_R] \times 100$

ER = extinctie van de referentiewaarde bij 470 nm
EP = extinctie van de monsterwaarde bij 470 nm

Interpretatie van de resultaten:

- Zoals bij de meeste biologische procédés moet ook hier met spreidingsbreedten van ten minste ± 10 % gerekend worden. Om de betrouwbaarheid van het resultaat te verhogen, adviseren we om de bepalingen dubbel uit te voeren.
- **Negatieve** resultaten tonen een **remmende** invloed van het monster, **positieve** resultaten een **stimulerende** invloed van het monster op de biochemische slib activiteit aan.
- Resultaten van -20 % tot -80 % ten opzichte van de referentiewaarde duiden op een significante remming van de dehydrogenaseactiviteit door het afvalwater monster. Door verdere verdunningen kan de concentratie van het afvalwatermonster bepaald worden waarbij de biochemische slibactiviteit niet meer geremd wordt.
- Resultaten van hoger dan + 20 % ten opzichte van de referentiewaarde duiden op een significante stimulering van de dehydrogenaseactiviteit door het afvalwatermonster.
- Duidelijke stimuleringen van de dehydrogenase-activiteit van > + 20 % kunnen met name bij voeding-stofrijke, organisch sterk belaste afvalwater-monsters voorkomen.
- Met het volumedrooggewicht van het actieve slib wordt bij de bepaling van de relatieve biochemische slibactiviteit geen rekening gehouden.
- Monsters met een laag CZV-gehalte kunnen remmingen op grond van gebrek aan voedingsstoffen simuleren. In zo'n geval wordt de overmaatoplossing van de referentiewaarde overeenkomstig de CZV-belasting van het monster verdund.

Evaluatieblad
„Bepaling van de relatieve verandering van de dehydrogenaseactiviteit DHA" (methode 8902)

Datum	Naam van het monster	E_B [E]	E_P [E]	Verandering van de dehydrogenaseactiviteit [%]

Methode 8903: Beoordeling van de stabiliseringgraad van de slibben (screeningmethode)

Eenvoudig, visueel procédé ter bepaling van de stabili-seringgraad van slibben (actieve slib, rottingsslib) op zuiveringsinstallaties. Hoe verder de aërobe stabilise-ring van slibben opgeschoten is, des te inactiever of des te verder gevorderd de rottingsongeschiktheid is. Dit gaat gepaard met een teruggang van de omzetting van TTC naar rood trifenylformazan.

Procedure:

Bewerkingsfase	
1.	**Voorbereiding van het monster:** a) Bepaal het slibvolumedrooggewicht TS door drogen bij 105 °C of schat het op ± 20 %. b) Het te onderzoeken slib wordt met water van de zuiveringsinstallatie (afvoer van de nabezinking of overmaat van gesedimenteerd actieve slib) op een slibvolumedrooggewicht van ca. 1 g/L verdund. **Voorbeeld:** Slibvolumedrooggewicht 5 g/L → doelconcentratie: 1 g/L → 1 + 4 verdunning: 1 deel slib + 4 delen water van de zuiveringsinstallatie (bijv. 4 mL slib + 16 mL water van de zuiveringsinstallatie
2.	Pipetteer in een leeg reageerbuisje **1,3 mL** reagens **R1** en vul vervolgens het reageerbuisje **randvol** en **zonder luchtbellen** met de voorbereide testoplossing. Sluit het reageerbuisje en meng het door heen en weer bewegen.
3.	Incubatie **in het donker bij kamertemperatuur**.
4.	Controleer na 30, 45 en 60 min het reageerbuisje visueel op roodkleuring.
5.	**Evaluatie:** Wanneer na **60 min** nog **geen roodkleuring** te zien is, gaat het meestal om een verregaand gestabiliseerd slib dat de **„technische aërobe stabiliseringgrens"** bereikt heeft. Bij onvoldoende gestabiliseerde, sterk rottingsgeschikte slibben treedt er meestal reeds na 30 min, uiterlijk echter na 60 min, een duidelijk zichtbare roodkleuring op.

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

PD 14122 / A023300 / 985890 / 033xx