

# BioFix® Lumi Bacterias Luminosas, deshidratadas

según DIN EN ISO 11348-2

## Método:

La determinación de la toxicidad aguda para bacterias luminosas **deshidratadas** según DIN EN ISO 11348-2. La unidad de medida utilizada es la luminiscencia del microorganismo de *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Se evaluará la inhibición de la emisión de luz de la prueba, en comparación con la solución de control no inhibida. El grado de la inhibición indica la toxicidad de la prueba.

## Área de aplicación:

Aguas residuales municipales e industriales, aguas superficiales, eluatos de suelos, basura y desechos industriales

## Rango de análisis:

0 - 100 % de inhibición

## Exhibición de los resultados:

- **% de inhibición** de la emisión de luz de la prueba respecto a la solución control no inhibida.
- **Valor  $G_L$**  (según DIN EN ISO 11348-2: **valor LID**): recíproco del primer factor de dilución de la prueba que presente una inhibición inferior al 20%.
- **EC<sub>xx</sub>**: Concentración de una prueba que presenta una inhibición de exactamente xx% (p. ej., el valor EC<sub>50</sub>: Concentración de la prueba que provoca la inhibición de la emisión de luz del 50%).
- **Valores TU** („Toxicity units”, según definición de la Agencia de Protección del Medio Ambiente en los EEUU, U.S. EPA): 100 dividido por el valor EC<sub>50</sub>.

## Contenido del kit de reactivos:

- 10 tubos conteniendo bacterias luminosas deshidratadas (DIN EN ISO 11348-2)
- 10 tubos conteniendo „BioFix® Lumi Solución Reactivante” (DIN EN ISO 11348-2), listos para el uso
- 1 tubo conteniendo solución estándar (NaCl), listo para el uso

## Aviso de peligro:

Este kit no contiene ninguna sustancia peligrosa. La estirpe bacteriana de *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 nunca se manifestó como agente patógeno. Según el informativo B006 1/92 ZH 1/346 de Berufsgenossenschaft der Chemischen Industrie (asociación profesional de la industria química en Alemania), *Vibrio fischeri* se clasifica en el grupo de riesgo I, es decir, no ofrece ningún riesgo para personas o vertebrados.

## Almacenaje:

Se pueden almacenar los reactivos hasta la fecha de vencimiento impresa en el embalaje, a una temperatura de  $-20 \pm 2$  °C. Retire las bacterias luminosas del congelador solamente en el momento de la reactivación. Se deben consumir las bacterias reactivadas dentro de 4 horas. El almacenamiento intermedio de las bacterias luminosas, en el refrigerador (entre +2 °C y +8 °C), es posible sólo en el estado puro, no diluido. Con el tiempo de almacenaje se puede disminuir la intensidad de la emisión de luz natural de las bacterias y alterar el rango de sensibilidad. La recongelación de bacterias ya reactivadas no es recomendable y no será cubierta por la garantía de la MACHEREY-NAGEL.

## La reactivación y dosis de las BioFix® Lumi Bacterias Luminosas:

Independientemente de la prueba, la **reactivación** de las BioFix® Lumi Bacterias Luminosas Deshidratadas se realiza siempre de la misma forma. La **dosis** de las bacterias luminosas resuspendidas, a su vez, se cuantifica dependiendo del procedimiento sin (Fase de trabajo 2.1) o con (Fase de trabajo 2.2) la medición opcional del GL1.

## Aviso importante:

Para mayores detalles respecto al procedimiento, consulte el manual del luminómetro utilizado.

### Fase de trabajo 1: Reactivación

1. Retire la „BioFix® Lumi Solución Reactivante” del congelador, la descongele y ajuste la temperatura para **+15°C** utilizando un bloque de calentamiento adecuado.
2. Retire un tubo conteniendo **BioFix® Lumi Bacterias Luminosas Deshidratadas** del congelador, inmediatamente antes de la reactivación, y agregue **1 ml „BioFix® Lumi Solución Reactivante”**.
3. **Descongele** el tubo con las bacterias luminosas, reposarlo por **2 min.** en un baño de maría (temperatura ambiente).
4. Luego, coloque el tubo con las bacterias resuspendidas en un bloque de calentamiento adecuado, por **15 min.**, ajustando la temperatura para **+15 °C**.

### Fase de trabajo 2.1: Dosis para el procedimiento sin la medición del GL1

1. **Mezcle** las bacterias resuspendidas con la „BioFix® Lumi Solución Reactivante” restante.
2. Vierta **0,5 ml** de la suspensión de **bacterias luminosas reactivadas** en cada una de las cubetas con las pruebas.
3. Luego, ajuste la temperatura de las pruebas para **+15 °C**, durante **15 min.**
4. Empezar la prueba midiendo la emisión de luz inicial  $I_0$ .

Para mayores detalles respecto al procedimiento, consulte el manual del luminómetro utilizado.

o

### Fase de trabajo 2.2: Dosis para el procedimiento con la medición del GL1

1. **Agregue 2 ml** de la „BioFix® Lumi Solución Reactivante” a las bacterias resuspendidas y agite bien.
2. Vierta **0,2 ml** de esta suspensión en las **cubetas** (conteniendo prueba y control) **destinadas a la determinación GL1**.
3. **Mezcle** las restantes bacterias luminosas resuspendidas con el resto de la „BioFix® Lumi Solución Reactivante”.
4. Vierta **0,5 ml** de la suspensión de **bacterias luminosas reactivadas** en cada una de las demás cubetas con las pruebas.
5. Luego, ajuste la temperatura de las pruebas para **+15 °C**, durante **15 min.**
6. Empezar la prueba midiendo la emisión de luz inicial  $I_0$ .

Para mayores detalles respecto al procedimiento, consulte el manual del luminómetro utilizado.

## Garantía de la calidad analítica:

Mediante la certificación anexada, la MACHEREY-NAGEL garantiza la atención a las exigencias de calidad conforme la norma industrial alemana DIN EN 11348-2.

Adicionalmente se pueden realizar pruebas de control por el usuario, utilizando las soluciones estándar determinadas en la norma, con la finalidad de verificar el funcionamiento correcto del sistema de análisis. Para mayores detalles e informaciones sobre soluciones estándar y concentraciones, vea la certificación anexada.

Para realizar pruebas además de las previstas en la norma DIN EN ISO 11348-2, se puede utilizar la solución estándar (NaCl) suministrada en el kit, lista para el uso. Agregando 0,5 ml de esta solución estándar a 0,5 ml de bacterias luminiscentes resuspendidas (tras el fase de trabajo 2.1) resultará, tras la incubación de 30 min, a una temperatura de +15 °C, la inhibición de la emisión de luz del 40% al 60%.

## Valor pH:

Según DIN EN ISO 11348-2, un valor pH de 6,0 a 8,5 no exige corrección. Cuando conste un valor pH de la prueba inferior o superior de este rango, será necesario el ajuste hacia un valor pH de 7,0  $\pm$  0,2. Valores pH inferiores de 6,0 o superiores de 8,5 pueden inhibir la emisión de luz, interfiriendo en el análisis.

## Interferencias:

Sustancias y partículas no disueltas, mal disueltas o volátiles que reaccionan con agua o con la suspensión, o alteran su estado durante el análisis, pueden interferir en los resultados analíticos y en su reproducibilidad.

En pruebas fuertemente coloreadas o turbias, la absorción o difusión de la luz puede reducir la emisión de luz. Se puede compensar estas interferencias utilizando las cubetas para la corrección cromática (Art. No 940 006), según el procedimiento descrito en la norma DIN EN ISO 11348-2, Apéndice A. En las pruebas que presentan un elevado consumo de oxígeno, puede faltar el oxígeno necesario para la bioluminiscencia. En este caso resultará la inhibición de la emisión de luz independiente de la toxicidad de la prueba.

Pruebas conteniendo sustancias nutrientes fácilmente degradables pueden presentar una reducción de la emisión de luz no causada por contaminantes.

Concentraciones de NaCl inferiores de 15 g/L (1,5%) y superiores de 50 g/L (5%), así como sus equivalentes de la osmolaridad, resultan en inhibiciones de la emisión de luz, de causa osmótica.

## Eliminación:

Las bacterias luminosas y las pruebas utilizadas en el análisis se pueden desechar directamente en las aguas residuales domésticas. Pruebas conteniendo sustancias nocivas o tóxicas exigen el desecho diferenciado. Es de responsabilidad exclusiva del usuario del producto el desecho apropiado en conformidad con la respectiva legislación vigente.

## Literatura:

DIN EN ISO 11348-2: Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test); Part 2: Method using liquid-dried bacteria

Informativo AQS para la garantía de la calidad en el análisis de aguas, aguas residuales y suelo (LAWA) P-9/5 (en alemán)