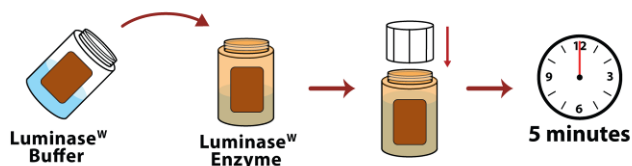


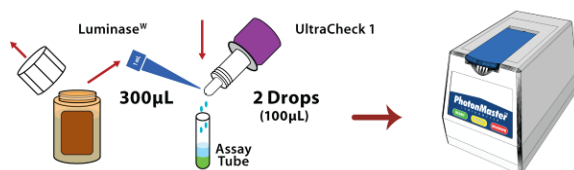
REIDRATAZIONE DEL LUMINASE

- Mescolare delicatamente il buffer e l'enzima **Luminase^W**.
- Attendere per 5 minuti che la soluzione si dissolva.



1. CALIBRAZIONE ULTRACHECK (RLU_{ATP1})

- Tenere il flacone di UltraCheck1 in posizione verticale e **mettere** 2 gocce (100 µL) di **UltraCheck1** in una provetta da 12x55 mm.
- Pipettare 300 µL di **Luminase^W** nella provetta.
- Agitare la provetta ed effettuare la lettura entro 10 secondi.

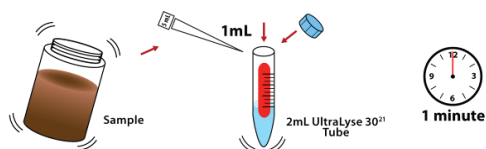


* Se $RLU_{ATP1} \leq 500$, reidratare un nuovo flacone di Luminase^W.

2. ANALISI DELL'ATP TOTALE (RLU_{tATP})

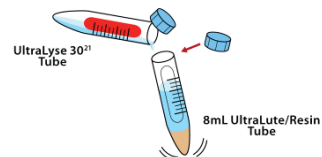
2.1 ESTRAZIONE

- Mescolare bene il campione e analizzarlo prima che si depositi.
- Utilizzando un puntale per pipetta a foro largo, prelevare 1 mL di campione e metterlo in una **Provetta UltraLyse 30²¹ da 2 mL (Estrazione)**.
- Tappare, mescolare e attendere 1 minuto perché avvenga l'incubazione.



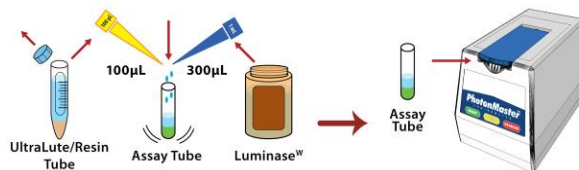
2.2 DILUIZIONE

- Versare il contenuto della **Provetta UltraLyse 30²¹ (Estrazione)** in una nuova Provetta **UltraLute/Resin da 8 mL (Diluizione)**.
- Trasferire più volte la miscela da una provetta all'altra. Tappare, mescolare e lasciar riposare.



2.3 ANALISI

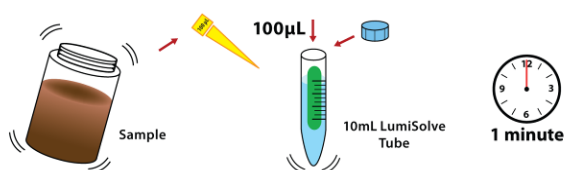
- Mettere 100 µL di soluzione **UltraLute/Resin (Diluizione)** in una provetta da 12x55 mm.
- Utilizzare un nuovo puntale per pipetta per aggiungere 300 µL di **Luminase^W**.
- Agitare la provetta ed effettuare la lettura entro 10 secondi.



3. ANALISI DELL'ATP DISCIOLTO (RLU_{dATP})

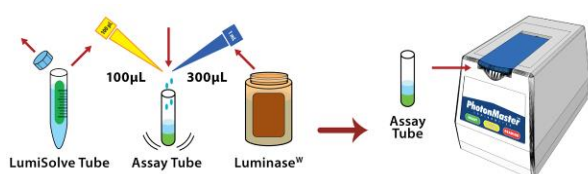
3.1 DILUIZIONE

- Mescolare delicatamente il campione e analizzarlo prima che si depositi.
- Utilizzando un puntale per pipetta a foro largo, prelevare 100 µL di campione e metterlo in una **Provetta LumiSolve da 10 mL**.
- Tappare, mescolare e attendere 1 minuto perché avvenga l'incubazione.



3.3 ANALISI

- Mettere 100 µL della soluzione **LumiSolve da 10mL** in una provetta da 12x55 mm.
- Utilizzando un nuovo puntale per pipetta, aggiungere 300 µL di **Luminase^W**.
- Agitare la provetta ed effettuare la lettura entro 10 secondi.



Calcoli preliminari

Per i calcoli automatici, utilizzare **LuminUltra Cloud**.

1. ATP totale (**tATP**): tutto l'ATP presente in un campione, compreso l'ATP delle cellule viventi e l'ATP che è stato rilasciato da cellule morte.

$$tATP (ng \text{ ATP/mL}) = \frac{RLU_{tATP}}{RLU_{ATP1}} \times 11 (ng \text{ ATP/mL})$$

2. ATP disciolto (**dATP**): l'ATP in un campione che è stato rilasciato solo da cellule morte.

$$dATP (ng \text{ ATP/mL}) = \frac{RLU_{dATP}}{RLU_{ATP1}} \times 101 (ng \text{ ATP/mL})$$

Utilizzare questi risultati per determinare gli **Indicatori Chiave di Processo** mostrati nella sezione successiva.

Indicatori Chiave di Processo

Per monitorare il livello di salute e la concentrazione di base della biomassa in qualsiasi sede del processo, vengono utilizzati i seguenti parametri. Per calcoli semplici, utilizzare **LuminUltra Cloud**.

1. ATP cellulare (**cATP**): rappresenta la quantità di ATP contenuta nelle cellule viventi ed è un'indicazione diretta della quantità totale di biomassa vivente.

$$cATP (ng \text{ ATP/mL}) = tATP (ng \text{ ATP/mL}) - dATP (ng \text{ ATP/mL})$$

NOTA: quando il dATP (pg/mL) calcolato è maggiore del tATP (pg/mL), accertarsi innanzitutto che il risultato non sia dovuto a inibizione, effettuando una nuova analisi del tATP usando 0,1 mL di campione anziché 1 mL.

È importante sottolineare che, in situazioni in cui dATP (ng/mL) = tATP (ng/mL), questo non vuol dire che l'intera popolazione microbica sia **morta** e quindi non sia in grado di svolgere le proprie funzioni (es. rimozione del BOD). Ciò che invece significa è che, al loro stato attuale, i microrganismi sono gravemente compromessi al punto tale che le loro membrane cellulari indebolite vengono lisate, e il loro ATP viene rilasciato, anche quando sono esposte a un tampone debole come LumiSolve. Situazioni di questo tipo dovrebbero essere considerate come un segnale d'allarme che invita ad agire immediatamente al fine di porre rimedio allo stress (es. perdita catastrofica di nutrienti od ossigeno, grave tossicità). Stress prolungati a simili livelli possono portare alla totale avaria di un bioreattore.

2. Solidi Sospesi Volatili Attivi (**AVSS**): rappresenta la massa totale dei microrganismi viventi contenuti nel campione. Il fattore di conversione di 0,5 è un fattore stabilito per passare da ng ATP/mL a mg Solidi/L

$$AVSS (mg \text{ Biomass/L}) = cATP (ng \text{ ATP/mL}) \times 0.5$$

NOTA: per ulteriori informazioni sulla conversione da ng cATP/mL a mg Biomassa Attiva/L, si consiglia di visitare www.luminultra.com o di contattare l'assistenza.

3. Rapporto Biomassa Attiva (**ABR**): rappresenta la percentuale di solidi sospesi totali che sono microrganismi viventi.

NOTA: calcolare solo se sono disponibili i dati TSS.

$$ABR (\%) = \frac{AVSS (mg \text{ Biomass/L})}{TSS (mg/L)} \times 100\%$$

NOTA: Se ABR > 100%, ciò potrebbe indicare che si è verificata una grave deflocculazione e che non tutta la biomassa è stata catturata nell'analisi TSS.

4. Indice di Stress della Biomassa (**BSI**): fornisce una misura del livello di stress (qualità) della comunità microbiologica.

$$BSI (\%) = \frac{dATP (ng \text{ ATP/mL})}{tATP (ng \text{ ATP/mL})} \times 100\%$$

NOTA: se dATP (ng/mL) > tATP (ng/mL), come menzionato sopra, il valore del BSI sarà superiore al

100%. Se questi valori dovessero persistere in seguito a nuove analisi, riportare BSI = 100%.

Linee guida per l'interpretazione

Posizione	Parametro	Buon controllo	Azione preventiva richiesta	Azione correttiva richiesta
Affluente	BSI	< 50	Da 50 a 75	> 75
Bioreattori	cATP	* Specifico del processo		
	BSI	< 30	Da 30 a 50	> 50
	ABR	> 25	Da 10 a 25	< 10
Fango attivo	s-fbATP	< 30	Da 30 a 50	> 50
Crescita adesa	s-agATP	> 90	Da 75 a 90	< 75
Effluente	cATP	< 50	Da 50 a 250	> 250

* L'entità del cATP dipenderà dalla configurazione del bioreattore. In generale, una deviazione dai valori tipici compresa tra $\pm 25\%$ e 50% dovrebbe essere considerata una linea guida preventiva, mentre se uguale o superiore al $\pm 50\%$ dovrebbe essere considerata correttiva.

ATTENZIONE: queste linee guida per l'interpretazione sono state messe a punto esclusivamente come una guida generica alla gestione del rischio. Si invitano gli utenti a stabilire i propri intervalli di controllo su cui basare le decisioni relative ai processi. LuminUltra e le sue affiliate declinano ogni responsabilità per qualsiasi decisione o valutazione presa o effettuata in conseguenza all'uso di questo kit di analisi.