



# 水质毒性便携试剂盒

## 一 性能参数

- 1、对常见毒性物质测定的标准偏差 $\leq 10\%$ ;
- 2、最快检测时间：5min；推荐 15 或 30min；
- 3、使用符合国际标准的菌株：费氏弧菌 *Vibrio fischeri* (NRRL B-11177)，该菌能检测到的毒性化学物质超过 5000 种；
- 4、检测  $Zn^{2+}$  的  $IC_{50}$  值为 2.0mg/L；
- 5、检测流程及性能指标满足 ISO 11348-3 的标准要求；

## 二 试剂盒组成

- 1) 使用说明书 1 份
- 2) 发光细菌 10 支
- 3) 菌体复苏液 10 支

## 三 自备材料和设备

- 1) 渗透压调节液：22%氯化钠溶液。
- 2) 阳性质控液：10mg/L 的七水硫酸锌溶液。
- 3) 一次性灭菌手套。
- 4) 不同规格的单道微量移液器。
- 5) 带有 4℃ 冷藏和 -20℃ 以下冷冻的普通冰箱。
- 6) 计时器。
- 7) 具有发光模块的检测仪器，以下操作方式以多功能酶标仪为介绍。

## 四 操作流程

### 1、菌液准备及平衡

- 1) 取复苏液 1mL 放入冻干粉西林瓶中，复苏等待 10min
- 2) 取复苏后的发光菌液 1mL，用稀释液（例如 2%氯化钠溶液）稀释到适宜实验所需浓度(一般建议稀释到 40mL)

### 2、样品准备及调节

#### 1) 样品类型

此试剂盒可以检测多种样品，包括地表水、地下水、饮用水、生活污水、工业废水、孔隙水、以及土壤或沉淀物的浸出液。

#### 2) 样品收集

可采用干净的硼硅酸盐玻璃瓶收集，也可采用聚碳酸酯或聚丙烯容器。使容器中充满样品，不留空间，使样品充满容器，以保证易挥发性物质保留在样品溶液中。采用螺旋盖拧紧，防止泄露。

#### 3) 样品的存储



收集到样品应尽快进行测试以免发生不可预知的变化，如果推迟测试，样品可保存在 2-8℃。样品毒性会随时间变化而发生变化，最佳测试时间为样品采集后的 2-4 小时，最长保存时间不能超过 72 小时。

#### 4) 样品预处理

对于较干净的水样（如饮用水）可直接测定。如有必要，可依据以下处理方式进行预处理。

##### a 浑浊样品

对于悬浮物含量较高的水样或其他液态样品，预处理如下：取 5mL 样品，使用 0.45 μm 超滤膜过滤（或采用 3000-5000rpm 在 4℃ 下离心 5min）。对于悬浮物含量很高的样品，建议先采用较粗的纤维素膜过滤，再使用 0.45 μm 过滤。

应当注意的是，样品的浑浊可能引起不明确的发光增强或减弱，只有当不考虑浑浊带来的毒性时，才使用以上的去浊度过程。

##### b 有色样品

如果有明显的颜色（特别是红、棕或黑色），可能会吸收光而影响测试精度。应在测试前蒸馏水或去离子水稀释（如 2 倍或 4 倍）。

##### c 含氯样品

由于氯消毒过程而是样品中含氯，这些氯会影响细菌试剂的活性，从而影响测试结果。这种样品首先要用硫代硫酸钠溶液去氯。过程如下：称取 1.0g 硫代硫酸钠（Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>），溶于 100mL 容量瓶，定容、充分摇匀，即成为 1%（W/V）硫代硫酸钠贮备液。保存于 2-8℃，2 个月内保持稳定。

将硫代硫酸钠贮备液按照体积比 1:100 加入到水样中，充分混合，立即检测样品毒性。

##### d 样品 pH 的调节

若须测定包括 pH 影响在内的急性毒性，不应调整水样 pH 值。若须测定排除 pH 影响在内的急性毒性，应调整 pH 值在 6.0-8.0 之间。调整试剂为氢氧化钠溶液和盐酸溶液。

注意：样品 pH 值的调整会影响到测试准确性和样品完整性。

### 3、质控及样品调节

1) 阳性质控为七水硫酸锌溶液，10mg/L（溶剂为 2%氯化钠溶液）。

2) 样品需调整为 2%的盐溶液环境。

### 4、上机操作

每个浓度点设置三个平行，同时设置 96 孔板第一行设置为阴性质控，第二行为阳性质控。各孔中加入样品液 180 μL 和菌液 20 μL，总体积为 200 μL。放入仪器进行测试，以此为样品初始发光强度记做 S<sub>0</sub>；记录阴性质控（2% NaCl）初始发光强度为 C<sub>0</sub>；阳性质控（10mg/l ZnSO<sub>4</sub>）当做样品处理。

设置一定的反应时间，然后使用微孔板型多功能检测仪测定受试样品中发光菌的发光强度，记录 t 时刻，阴性质控初始发光强度为 C<sub>t</sub>；样品初始发光强度记做 S<sub>t</sub>；阳性质控当做样品处理，初始发光强度记做 P<sub>t</sub>。

## 五 结果分析

### 1、校正系数（Cf 值）

Cf 值是指阴性样品在测试时间段内（例如 t 分钟），菌液相对发光强度的变化，即表明菌液的稳定性，计算方法如下：



$$C_f = C_t / C_0$$

注：此计算方法适合于发光强度测定采用底部或顶部收光法，即能测定所有发光菌的发光强度。不适合采用中部收光测得的发光强度测试仪。

## 2、实验有效性

实验结果须满足以下有效性参数：

- (1) 样品测试 15min 或 30min， $C_f$  值需在 0.6~1.8 区间（含 0.6 和 1.8）
- (2) 测试时，阴性质控中菌液的最终浓度需不小于  $10^6$
- (3) 样品平行测试时，变异系数  $CV\% \leq 3\%$
- (4) 阳性质控测试 30min 后，抑制率应  $\geq 20\%$

## 3、抑制率（IR）计算

抑制率又可以称为光损失率，计算时需考虑各个样品初始发光强度的归一化，计算方式如下：

$$IR\% = \frac{S_0 \times C_f - S_t}{S_0 \times C_f} \times 100$$

## 六 注意事项

- 1) 收到试剂盒后，冻干发光菌应置于  $-20^\circ\text{C}$  冷冻保存；其它试剂置于  $4^\circ\text{C}$  冷藏保存。
- 2) 菌液复苏后，需在 4 小时内完成测试，否则需重新复苏新的冻干发光细菌。
- 3) 若有必要，请提前处理样品的 pH 值、色度、浊度（悬浮物）、余氯等干扰因素。

## 七 客户服务

本试剂盒使用过程中，如出现任何疑问，请及时联系我们

地址：浙江省嘉兴市南湖区亚太路 705 号

电话：0573-82586613

传真：0573-82586606