ICS 13.060.01

Z 16

团 体 标 准

水质 拟柱孢藻毒素的测定

酶联免疫吸附法

（送审稿）

Water quality-Determination of Cylindrospermopsin- Enzyme linked immunosorbent assay

xxxx-xx-xx实施

深圳市分析测试协会 发布

xxxx-xx-xx发布

T/SATA xxx—xxxx

目 次

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 方法原理 1

4 试剂与材料 1

5 仪器和设备 1

6 样品 1

7 分析步骤 2

8 结果计算与表示 2

9 精密度和准确度 3

10 质量保证和质量控制 3

11 废物处理 4

前 言

本标准按照GB/T1.1给出的规则起草。

本标准由深圳市分析测试协会归口。

本标准主要起草单位：广东粤海水务检测技术有限公司。

本标准主要起草人：路晓锋，杨创涛，郑开云，郭瞻宇，彭俊翔，游文丹，吴凡，韦雪柠，杨颖，王樊，李秀虹，彭鹭，黄慧星，黄子其，龙庆平，陆心卉，王庆生，何振乾。

本标准为首次发布。

水质 拟柱孢藻毒素的测定 酶联免疫吸附法

**警告：本标准可能涉及某些有危险性的材料、操作和设备，但是并未对与此有关的所有安全问题都提出建议。因此，使用者在应用本标准前应建立适当的安全和防护措施，并确定相关规章限制的适用性。**

1 范围

本标准规定了测定水中拟柱孢藻毒素的酶联免疫吸附法。

本标准适用于地表水中拟柱孢藻毒素的测定。

通过反复冻融和离心对水样进行前处理，当样品体积为50.0 μL时，本方法的检出限为 0.054 μg/L，测定下限为0.216 μg/L。

2 规范性引用文件

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

HJ/T 91 地表水和污水监测技术规范

3 方法原理

使用拟柱孢藻毒素检测试剂盒检测，原理是直接竞争酶联免疫反应，通过一种特异性抗体来识别检测拟柱孢藻毒素，当样品中还有拟柱孢藻毒素及其类似物时，将会和拟柱孢藻毒素- HRP竞争并与溶液中的拟柱孢藻毒素抗体结合。拟柱孢藻毒素抗体与包被在微孔板底部的羊抗鼠二抗结合。经过一个洗涤步骤后加入无色底物，产生了一个颜色反应。加入反应终止液后使颜色由蓝色变为黄色；在450nm波长进行检测，样品中的拟柱孢藻毒素浓度与吸收光强度成反比。

4 试剂与材料

 除非另有说明，分析时均使用符合国家标准的分析纯试剂，实验用水为符合GB/T 6682标准的一级水。

4.1 Abraxis拟柱孢藻毒素检测试剂盒。

5 仪器和设备

5.1 酶标仪：具有450 nm波长模块。

6 样品

6.1 样品的采集

参考《地表水和污水监测技术规范》（HJ/T 91-2002），为确保数据的准确，样品采集建议使用玻璃瓶。

6.2 样品的保存

参考Abraxis拟柱孢藻毒素检测试剂盒样品保存建议，地表水样品采集后，在-20℃下保存，5 d内完成分析。

6.3 试样的制备

取地表水样品50 mL，经两次反复冻融处理（建议冷冻温度-20℃，水浴溶解温度37℃），再从中取1 mL冻融后的样品，经5000 rpm离心5 min，离心后取50 μL样品直接检测。

6.4 空白试样的制备

 以实验用水代替样品，按照试样制备（6.3）相同操作步骤，制备空白试样。

7 分析步骤

7.1 仪器参考条件

检测波长450 nm,振荡时间3 s。

7.2 校准

7.2.1 校准曲线的绘制

使用试剂盒内的标准品制备6个浓度点的标准系列，标准系列浓度为0.050、0.100、0.250、0.500、1.00和2.00 μg/L。

以标准系列溶液中拟柱孢藻毒素浓度的对数值为横坐标，以仪器读取的吸光度值与空白浓度下的吸光度值的比值百分比为纵坐标，建立校准曲线。

7.3 测定

7.3.1 试样测定

 取待测样品（6.3），按照与绘制校准曲线相同的仪器分析条件进行测定。

7.3.2 空白试验

按照与试样测定（7.3.1）相同的操作步骤进行空白试样（6.4）的测定。

8 结果计算与表示

8.1 定量分析

样品中拟柱孢藻毒素浓度ρ按照公式（1）和公式（2）进行计算。

 （1）

式中：x——样品中拟柱孢藻毒素的质量浓度对数值；

 y——测定吸光度值与空白标准样品吸光度值比值的百分比（Bi/B0）；

 a——校准曲线方法的斜率；

 b——校准曲线方法的截距。

  （2）

式中：ρ——样品中拟柱孢藻毒素的质量浓度；

 x——样品中拟柱孢藻毒素的质量浓度对数值。

8.2 结果表示

当测定结果＜1.00 μg/L时，保留至小数点后3位；当测定结果≥1.00 μg/L时，保留3位有效数字。

9 精密度和准确度

9.1 精密度

 4家实验室对6种目标物低、中、高三个浓度水平的空白加标样品进行测定。实验室内相对标准偏差分别为4.7%～11.2%、3.5%～10.4%、3.2%～6.3%；实验室间相对标准偏差分别为2.1%、3.6%、1.0%。

9.2 准确度

4家实验室对地表水样品进行低、中、高三个浓度水平的加标回收测定。地表水加标回收率范围分别为98.5%～102%、102%～104%、98.0%～103%。

10 质量保证和质量控制

10.1 空白试验

每批样品应至少做两个实验室空白，空白值应低于方法检出限，否则应查明原因。

10.2 校准曲线

校准曲线的相关系数应≥0.995，否则应重新绘制校准曲线。

10.3 连续校准

每20个样品或每批次（少于20个样品/批）应分析一个曲线中间浓度点标准溶液，其测定结果与初始曲线在该点测定浓度的相对偏差应小于20%，否则应查找原因，重新绘制校准曲线。

10.4 平行样的测定

每批样品应进行至少10%的平行样品（不少于1个）测定。平行样的相对偏差应≤20%。

10.5 基体加标

每批样品应进行至少10%的基体加标样（不少于1个）测定，加标量为样品含量的0.5～2倍，实际样品加标回收率应在80%～120%以内。

10.6 阳性对照质控样品的测定

每批样品应进行1个阳性对照质控样品的测定，阳性对照测定值应在质控浓度范围内。

11 废物处理

 实验中产生的废物应集中收集，分类保管，并做好相应标识，委托有资质的单位进行处理。