

ToxTrak™ Phương pháp^{1, 2}

Phương pháp 10017

Ước chế từ 0 đến 100%

Ống nghiệm Test 'N Tube™

Phạm vi và ứng dụng: Dùng cho nước uống, nước thải và nước tự nhiên.¹ Liu, D., Bull. Environ. Contm. Toxicol. 26, 145-149 (1981)² Chương trình Đánh giá Công nghệ Môi trường ETV đã kiểm định, tháng 11 năm 2003

Chuẩn bị xét nghiệm

Thông tin riêng cho từng thiết bị

Bảng 1 liệt kê tất cả các thiết bị có chương trình cho xét nghiệm này. Bảng cũng thể hiện yêu cầu về đầu nối và tấm chắn ánh sáng cho các thiết bị cần sử dụng. Để tra bảng, hãy chọn thiết bị và xem thông tin liên quan cho xét nghiệm này.

Bảng 1 Thông tin thiết bị dành riêng cho ống nghiệm xét nghiệm

| Thiết bị | Đầu nối | Tấm chắn ánh sáng |
|---------------------------|--------------|-----------------------------|
| DR 6000, DR 5000 | — | — |
| DR 3900 | — | LZV849 |
| DR 3800, DR 2800, DR 2700 | — | LZV646 |
| DR 1900 | 9609900 (D1) | — |
| DR 900 | 4846400 | Nắp đậy đi kèm với thiết bị |

¹ Bộ chuyển đổi D không có sẵn cho tất cả phiên bản thiết bị.

Trước khi bắt đầu

Lắp nắp thiết bị vào giá đỡ tế bào của DR 900 trước khi nhấn nút ZERO hoặc READ.

DR 3900, DR 3800, DR 2800 và DR 2700: Gắn tấm chắn sáng vào Ngăn tế bào số 2 trước khi tiến hành kiểm tra.

Không để các ống trong thiết bị trong quá trình ủ. Hãy đảm bảo tất cả các mẫu và tế bào kiểm soát đều có điều kiện nhiệt độ và ánh sáng giống nhau trong suốt quá trình phản ứng.

Nếu mẫu chứa clo, nhỏ hai giọt natri thiosulfat vào mỗi ống mẫu trắng và mẫu thử trước khi bắt đầu kiểm tra.

Hãy xem xét kỹ các Bảng Dữ liệu An toàn (MSDS/SDS) cho các hóa chất được sử dụng. Đeo các thiết bị bảo hộ cá nhân theo khuyến nghị.

Tiến hành xử lý dung dịch đã phản ứng đúng theo quy định của địa phương, tiểu bang và quốc gia. Xem Bảng Dữ liệu An toàn để biết hướng dẫn xử lý hóa chất chưa sử dụng. Liên hệ với bộ phận môi trường, sức khỏe và an toàn của cơ sở hoặc cơ quan quản lý địa phương để được tư vấn thêm về việc xử lý.

Những vật dụng cần chuẩn bị

| Mô tả | Số lượng |
|---------------------------------|-------------------------|
| Ống môi trường nuôi vi khuẩn | 1 ống |
| Bơm pipet chuyển, loại vô trùng | 2 cái |
| Ống Test 'N Tube, có nắp | 1 cái |
| Natri thiosulfate | thay đổi tùy trường hợp |
| Gói bột hóa chất ToxTrak™ | 2 cái |
| Dung dịch tăng tốc ToxTrak™ | 4 giọt |

Các vật dụng cần chuẩn bị (tiếp theo)

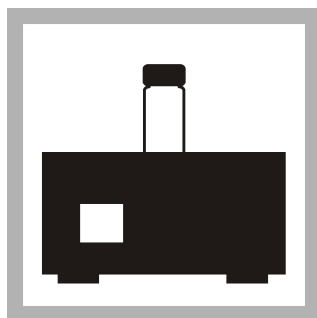
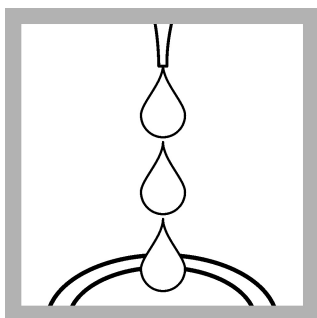
| Mô tả | Số lượng |
|---|------------------|
| Nước khử ion | tùy theo nhu cầu |
| Kèm cát | 1 cái |
| Lò ủ mẫu | 1 cái |
| Dụng cụ hút mẫu, loại định lượng, Class A, 5.00 mL và dụng cụ bơm hút | 1 cái |

Xem thêm thông tin về [vật tư tiêu hao và sản phẩm thay thế](#) ở trang 6 để biết cách đặt hàng.

Lấy mẫu

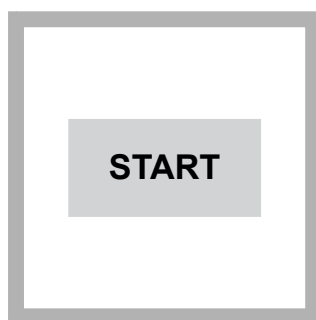
- Lấy mẫu trong chai thủy tinh hoặc chai nhựa sạch.
- Nếu mẫu là nước uống, hãy lấy mẫu kiểm soát từ nguồn nước máy đã được xác nhận không có độc tố, nếu có thể.

Chuẩn bị chủng giống từ sinh khối bản địa



1. Dùng một trong các pipet nhỏ giọt đi kèm để thêm 1,0 mL mẫu nuôi cấy gốc (sinh khối bản địa) vào ống môi trường đếm tổng số vi khuẩn. Ngoài ra, có thể sử dụng các nguồn vi khuẩn đông khô thương mại.
2. Ủ ống ở 35 °C (95 °F) cho đến khi môi trường trở nên đục rõ rệt (khoảng 12 giờ).
Mẫu nuôi cấy có thể được bảo quản vài ngày trong tủ ẩm hoặc ở nhiệt độ phòng. Để đạt kết quả tốt nhất, hãy sử dụng trong vòng 72 giờ.

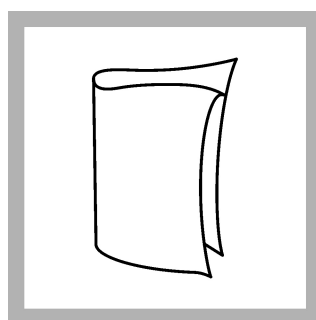
Quy trình đo màu trong ống phản ứng



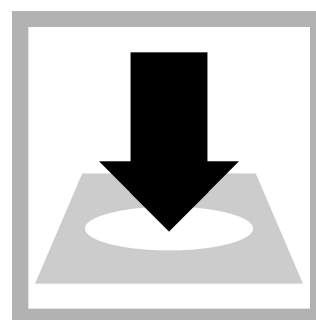
1. Nhấn **Single Wavelength** và nhập bước sóng. Tham khảo Tóm tắt phương pháp ở trang 6 cùng Thông tin dành riêng cho thiết bị ở trang 1.



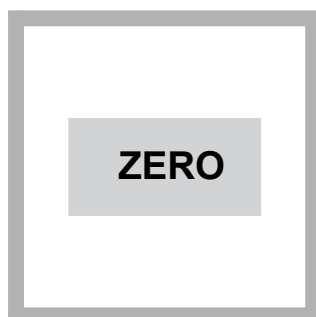
2. **Chuẩn bị mẫu trắng:** Đổ nước đã khử ion vào lọ Test 'N Tube rỗng đến ngang nhãn.



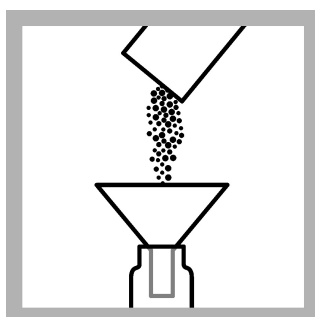
3. Làm sạch ống mẫu trắng.



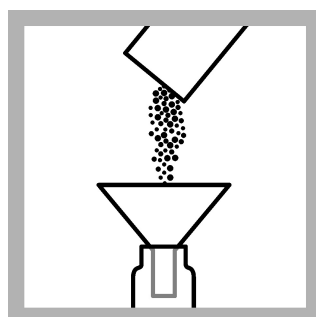
4. Đặt mẫu trắng vào giá giữ ống nghiệm.



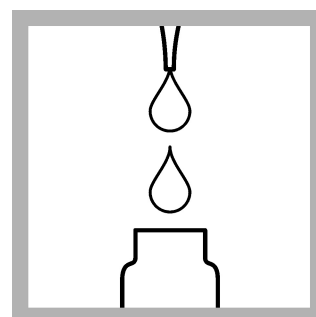
5. Nhấn **ZERO**. Màn hình sẽ hiển thị 0.000 Abs.



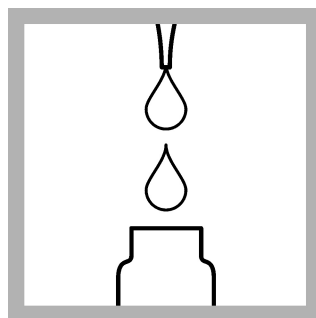
6. Ghi chữ "kiểm soát" lên một ống Test 'N Tube. Sau đó, mở một gói bột ToxTrak và cho hết vào ống rỗng.



7. Đối với mỗi mẫu hoặc mẫu pha loãng, ghi số mẫu lên từng ống Test 'N Tube. Tiếp theo, mở một gói bột ToxTrak và cho toàn bộ vào ống mẫu rỗng.



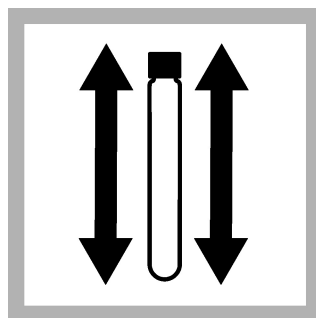
8. Thêm 5,0 mL nước khử ion vào ống thử Test 'N Tube. Sử dụng nước khử ion không chứa độc tính hoặc nguồn nước khác làm mẫu nền.



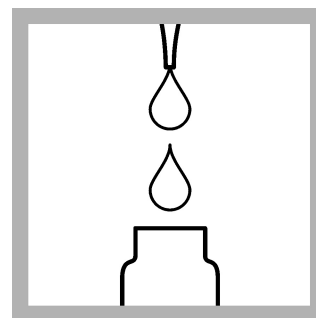
9. Thêm 5,0 mL mẫu hoặc dung dịch pha loãng vào mỗi ống nghiệm. Tham khảo [Phân tích kết quả](#) ở trang 5 để xác định mức độ độc tính ước tính của mẫu.



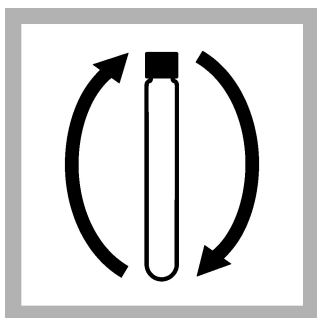
10. Nhỏ hai giọt Dung dịch Tăng tốc vào từng ống nghiệm.



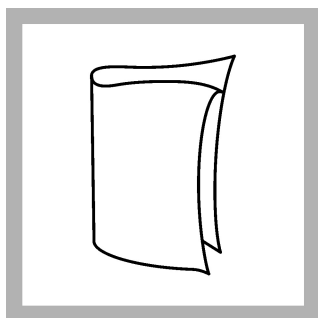
11. Đậy kín ống và lắc đều để trộn các thành phần. Lắc mạnh để làm giàu oxy cho mẫu, đảm bảo nồng độ oxy không ảnh hưởng đến tốc độ hô hấp.



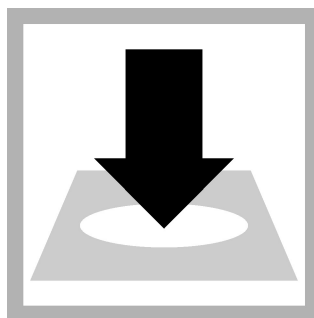
12. Thêm 0,5 mL dịch cấy đã chuẩn bị vào mỗi ống.



13. Đóng ống nghiệm lại và lắc nhẹ để hòa trộn.



14. Vệ sinh lọ "kiểm soát".



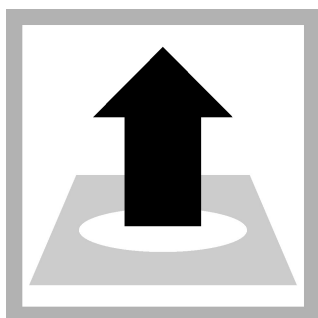
15. Đặt lọ "kiểm soát" vào giá đỡ mẫu.



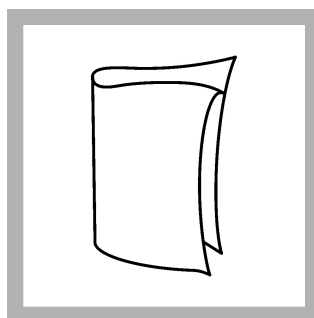
16. Nhấn **READ**. Ghi lại giá trị độ hấp thụ. Lặp lại bước 14 và 15 cho tất cả các mẫu và các lần pha loãng. Ghi lại toàn bộ giá trị độ hấp thụ.



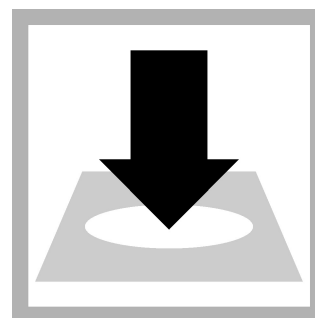
17. Để các dung dịch trong ống nghiệm phản ứng đến khi độ hấp thụ của mẫu "điều khiển" giảm 0,60 ($\pm 0,10$) Abs. Quá trình này kéo dài từ 45 đến 75 phút. Thi thoảng lắc nhẹ các ống nghiệm. Thời gian phản ứng có thể thay đổi tùy theo nhiệt độ, tuổi của môi trường nuôi, nồng độ vi khuẩn, v.v.



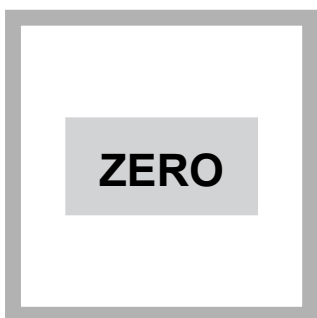
18. Lấy mẫu "điều khiển" ra khỏi giá đỡ sau khi độ hấp thụ đã giảm 0,60 ($\pm 0,10$) Abs.



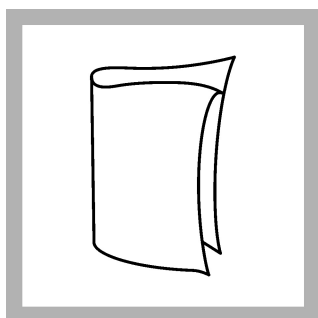
19. Làm sạch ống nghiệm mẫu



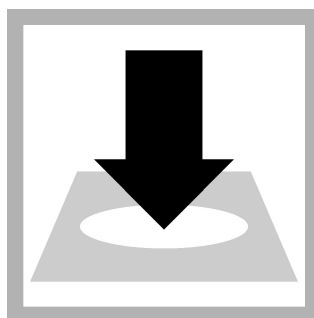
20. Đặt ống mẫu trắng vào giá đỡ tế bào.



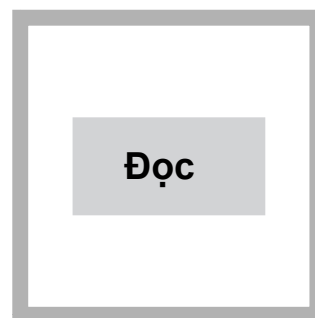
21. Nhấn **ZERO**. Màn hình hiển thị 0.000 Abs.



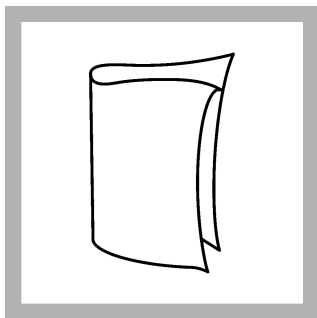
22. Vệ sinh lọ "kiểm soát".



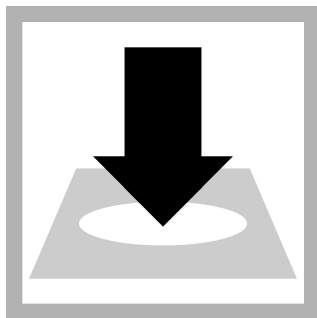
23. Đặt ống "chuẩn" vào giá đỡ tế bào.



24. Nhấn **READ**. Ghi lại giá trị độ hấp thụ.



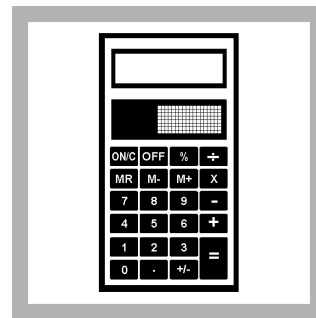
25. Làm sạch từng ống nghiệm mẫu hoặc dung dịch pha loãng.



26. Đặt từng mẫu hoặc dung dịch pha loãng vào giá giữ ống.



27. Nhấn **Độc kết quả**. Ghi lại tất cả các giá trị hấp thụ.



28. Tính toán phần trăm ức chế. Xem thêm tại [Tính toán mức ức chế](#) ở trang 5.

Tính toán mức ức chế

Tính phần trăm ức chế:

$$\% I = 1 - (\Delta A_{\text{mẫu}} / \Delta A_{\text{chứng}}) \times 100 \text{ trong đó:}$$

$$\Delta A = \text{Giá trị hấp thụ ban đầu} - \text{Giá trị hấp thụ cuối cùng}$$

Ví dụ:

Độ hấp thụ của mẫu đối chứng: ban đầu = 1.500 abs, cuối cùng = 0.900 abs; $\Delta A_{\text{chứng}} = 0.600$

Độ hấp thụ của mẫu: ban đầu = 1.700 abs, cuối cùng = 1.300 abs; $\Delta A_{\text{mẫu}} = 0.400$

$$\% I = 1 - (0.400 / 0.600) \times 100 = 33\%$$

Giải thích kết quả

Kết quả tính theo phần trăm ức chế (% I) là giá trị tương đối. Kết quả này không phản ánh chính xác nồng độ độc thực tế. Phần trăm ức chế không nhất thiết tăng đều theo nồng độ chất độc.

Kết quả dưới 10% không đáng tin cậy, nhưng có thể dùng để ước lượng độc tính nếu các kết quả ổn định. Nếu mẫu cho kết quả ức chế dưới 10%, hãy lặp lại thử nghiệm nhiều lần. Xem chuỗi điểm dữ liệu để xác định khả năng độc tính. Xem [Bảng 2](#).

Một số chất độc làm tăng hô hấp và dẫn đến phần trăm ức chế âm trong thử nghiệm này cũng như các thử nghiệm độc tính dựa trên hô hấp khác. Sau khi thử nghiệm nhiều lần, nếu mẫu luôn cho phần trăm ức chế âm vượt quá -10%, nên coi mẫu đó là độc.

Bảng 2 Giải thích các kết quả dưới 10% ức chế

| Các điểm dữ liệu: phần trăm ức chế | Kết luận |
|------------------------------------|---------------------------|
| 7%, 9%, 5%, 8%, 5% | Có thể hơi độc |
| 7%, -4%, -5%, 5%, 1% | Khả năng lớn là không độc |
| -7%, -9%, -5%, -8%, -5% | Có thể hơi độc |

Nồng độ hiệu ứng quan sát thấp nhất (LOEC)

Vì có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thử nghiệm, giới hạn phát hiện xấp xỉ ở mức 10% ức chế. Giá trị này tương ứng với nồng độ hiệu ứng quan sát thấp nhất (LOEC).

Nồng độ không quan sát thấy hiệu ứng (NOEC)

Để xác định nồng độ ức chế tối thiểu của chất độc:

1. Pha loãng 1 mL mẫu với nước khử ion để được 10 mL.
2. Thực hiện phép thử và xác định phần trăm ức chế của dung dịch đã pha loãng.
3. Lấy 1 mL dung dịch đã pha loãng ở bước 1, pha với nước khử ion để được 10 mL.
4. Tiếp tục thử nghiệm và xác định phần trăm ức chế cho lần pha loãng này.
5. Tiếp tục pha loãng tuần tự theo tỷ lệ 1:10 (1:10, 1:100, 1:1000, v.v.) cho đến khi đạt mức mà kết quả cuối cùng cho giá trị ức chế bằng 0%.

Khi mức ức chế là 0%, độ pha loãng này được xem là ngưỡng xấp xỉ cho mức độ độc tính của mẫu thử. Đây được gọi là Nồng độ Không Gây Ảnh Hưởng (NOEC).

Xử lý mẫu nuôi cấy thử nghiệm

Hãy áp dụng một trong các phương pháp sau để xử lý các mẫu vi khuẩn còn hoạt động:

- Khử trùng các bình chứa đã sử dụng bằng nồi hấp ở 121 °C (250 °F) trong 15 phút với áp suất 15 psi. Sau khi khử trùng, đổ dung dịch trong bình ra cống dưới vòi nước chảy. Ống phản ứng có thể rửa sạch để dùng lại.
- Một cách khác, khử trùng bình chứa bằng dung dịch nước tẩy thương mại pha loãng 1:10. Đổ cả dung dịch và bình vào dung dịch tẩy, ngâm từ 10–15 phút. Sau đó, đổ nước ra cống và rửa sạch ống phản ứng để tái sử dụng.

Tóm tắt phương pháp

Phương pháp này dựa trên quá trình khử resazurin, một loại thuốc nhuộm có hoạt tính oxi hóa-khử, nhờ sự hô hấp của vi khuẩn. Khi bị khử, resazurin chuyển màu từ xanh lam sang hồng. Các chất độc có thể làm chậm quá trình này. Ngoài ra, có bổ sung chất xúc tiến để rút ngắn thời gian phản ứng. Bước sóng đo là 603 nm với máy quang phổ hoặc 610 nm với máy đo màu.

Vật tư tiêu hao & linh kiện thay thế

Hóa chất cần thiết

| Mô tả | Số lượng/lần thử | Đơn vị | Mã sản phẩm |
|--|------------------|------------|-------------|
| Nước khử ion | thay đổi | 500 mL | 27249 |
| Bộ thuốc thử ToxTrak™ | 1 | 25/bộ | 2597200 |
| Gồm có: | | | |
| Bộ môi trường, ống đếm tổng số vi khuẩn | 1 | 15/bao | 2277700 |
| Pipet chuyển, vô trùng | 1 | 15/bao | 2232512 |
| Dung dịch chuẩn Natri Thiosulfat, 0.0246 N | thay đổi | 100 mL | 2409232 |
| Gói bột hóa chất ToxTrak™ | 2 | 50/bao | 2560766 |
| Dung dịch tăng tốc ToxTrak™ | 4 giọt | 15 mL SCDB | 2560836 |
| Ống thủy tinh, 16-mm x 100-mm | 1 | 6/bao | 2275806 |
| Nắp trắng, lót Teflon, dùng cho lọ 16 mm | 2 | 6/bao | 2241106 |

Thiết bị cần thiết

| Mô tả | Số lượng/lần thử | Đơn vị | Mã sản phẩm |
|---|------------------|---------|-------------|
| Kềm cắt | 1 | mỗi cái | 93600 |
| Bình nhỏ giọt đo lường, nhựa 0,5 mL và 1,0 mL | 2 | 20/cây | 2124720 |
| Kẹp gấp, đầu vuông phẳng | 1 | mỗi cái | 1453700 |
| Bộ ủ mẫu, Dri-Bath, 12 vị trí, 120 VAC | 1 | mỗi cái | 2281400 |
| Pipet định lượng, loại A, 5,00 mL | 1 | mỗi cái | 1451537 |
| Bóng hút pipet an toàn | 1 | mỗi cái | 1465100 |

Hóa chất và thiết bị tùy chọn

| Mô tả | Đơn vị | Mã sản phẩm |
|--|---------------|-------------|
| Pipet TenSette®, 0,1–1,0 mL | cái | 1970001 |
| Đầu pipet cho Pipet TenSette® , 0,1–1,0 mL | 50 cái/gói | 2185696 |
| Pipet TenSette®, 1,0–10,0 mL | cái | 1970010 |
| Bầu pipet dùng cho Pipet TenSette® , 1,0–10,0 mL | 50 cái/gói | 2199796 |
| Giá đựng ống nghiệm, inox | cái | 1864100 |
| Đầu pipet cho Pipet TenSette® , 0,1–1,0 mL | 1000/đóng gói | 2185628 |
| Bầu pipet dùng cho Pipet TenSette® , 1,0–10,0 mL | 250 chiếc/gói | 2199725 |
| Hạt giống BOD (polyseed) | 50 cái/gói | 2918700 |
| Bút phòng thí nghiệm, bút đánh dấu vĩnh viễn | cái | 2092000 |



FOR TECHNICAL ASSISTANCE, PRICE INFORMATION AND ORDERING: In the U.S.A. – Call toll-free 800-227-4224 Outside the U.S.A. – Contact the HACH office or distributor serving you. On the Worldwide Web – www.hach.com; E-mail – techhelp@hach.com

HACH COMPANY WORLD HEADQUARTERS
Telephone: (970) 669-3050
FAX: (970) 669-2932