

# 确定等效的 Sievers Eclipse\* 月食细菌内毒素检测仪的起效光密度值

## 目的

本应用表明 Sievers\* Eclipse 细菌内毒素检测仪 (BET, Bacterial Endotoxins Testing) 所使用的起效光密度 (OD, Optical Density) 值与 96 孔微孔板测试所使用的起效光密度值是等效的。Sievers Eclipse 微孔板的孔的形状和光路径长度不同于 96 孔板的孔的形状和光路径长度, 因此需要用比尔定律 (Beer's Law) 和吸光度方程来重新计算 Sievers Eclipse 微孔板的光密度值。证明上述两种平台的光密度值的等效性非常重要, 这是因为在动态显色分析中, 起效光密度值用于确定标准品和样品的起效反应时间。

## 概述

动态内毒素测试依赖于光密度值和内毒素浓度变化之间的反比关系。光密度是“用分光光度计测量的特定波长的有机分子悬浮液或溶液所吸收的光量。”<sup>1</sup> 当光通过含有标准品 (或样品) 和鲎试剂 (LAL, Limulus Amoebocyte Lysate, 鲎变形细胞溶解物) 的混合液的光学孔时, 软件就会报告光密度值的变化。对于动态分析法来说, 起效光密度值是用来确定起效反应时间的恒定值。内毒素浓度高的样品或标准品的反应速度较快, 溶液颜色会变黄, 使到达光电二极管的光量较少, 因而光密度值较高。起效反应时间 (即达到起效光密度所需的时间) 越短, 样品中的内毒素含量就越高。

每次测试完毕后, 软件都会生成标准曲线, 显示起效反应时间 (以指数形式) 和标准品的内毒素浓度 (以指数形式) 之间的线性关系。然后将反应性样品和阳性产品对照液 (PPC, Positive Product Controls) 的起效反应时间同标准曲线进行对比, 得出内毒素的量化结果。测得的起效光密度值经过优化, 都被概括在使用说明 (IFU, Instructions For Use) 中。起效光密度值可以是一个定值, 也可以是一系列值。起效光密度也被称为“阈值光密度”或“反应光密度”。

## 比尔定律

鲎试剂生产商记录的光密度值是根据比尔定律和含有混合液的微孔板的测量厚度 (即光路径长度) 计算出来的。比尔定律又被称“朗伯比尔定律 (Beer-Lambert's Law)”, 规定: “溶液的化合物浓度与溶液的吸光量成正比。”<sup>2</sup>

### 朗伯比尔定律

$$A = \epsilon bc$$

其中:

A = 吸光度 (无单位)

$\epsilon$  = 摩尔吸光系数 ( $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

b = 光通过溶液的路径长度 (cm)

c = 样品中化合物的浓度 ( $\text{mol L}^{-1}$ )

为了充分理解上面的方程式, 请看下面的吸光度方程式。吸光度取决于光强度。测量参照池或无溶液的池, 得出光强度  $I_0$ 。然后测量样品池或有溶液的池, 得出光强度  $I$ 。将这两个值代入以下公式, 得出吸光度。

### 吸光度

$$A = \log_{10} \left( \frac{I_0}{I} \right)$$

在考虑吸光度时, 光学孔的形状和大小也很重要。光路径为 1 cm 的立方体形孔中的溶液就比光路径为 100 cm 的管状孔中的溶液的吸光度低, 这是因为前者有较少分子与光相互作用。Sievers Eclipse 微孔板的孔的形状和路径长度不同于 96 孔板的孔的形状和路径长度, 因此需要用上述两个方程式来重新计算起效光密度值。

## Sievers Eclipse 的等效光密度

不同的生产商或供应商所提供的 96 孔板的光路径长度略有不同。平底 96 孔板的孔通常是截锥形，使微孔板容易从模具上脱模。我们用几家主要的微孔板生产商、仪器生产商、LAL 供应商所提供的数据，根据 96 个孔中共有 200  $\mu\text{L}$  溶液来确定光路径长度，得出的数值范围是 5.707 mm - 6.306 mm。

为了将上述范围缩小到一个定值，位于美国科罗拉多州博尔德市的苏伊士水务技术与方案分析仪器公司（SUEZ WTS Analytical Instruments）的应用实验室重新测量了各种 96 孔板，得出了光路径长度范围的中间值。然后将该值代入以下方程式，就可以将 96 孔板测试中使用的起效光密度值转换为适用于 Eclipse 平台的等效起效光密度值。

$$OD_{\text{Eclipse 板}} = OD_{96\text{孔板}} \times \left( \frac{\text{路径长度}_{\text{Eclipse 板}}}{\text{路径长度}_{96\text{孔板}}} \right)$$

用上面的计算公式以及 96 孔板和 Eclipse 微孔板的实测路径长度，算出表 1 中的光密度值，用于 Eclipse 软件。

表 1: 起效光密度参照值\*\*

96 孔板起效光密度值 (光密度单位)	Sievers Eclipse 起效光 密度值 (光密度单位)
0.03	0.01296
0.05	0.0216
0.08	0.03456
0.10	0.0432
0.15	0.0648
0.20	0.0864

\*\*用于 Sievers Eclipse 平台。

我们并非测试了 96 孔板和 Eclipse 微孔板的光密度值，确认这两种平台的所有的内毒素、PPC、%CV（变异系数）值都是等效的。如果试剂生产商提供了光密度值范围，则重新计算整个范围，然后在 Sievers Eclipse 平台上进行测试。两种平台的所有范围之间的等效性都得到确认，从而证明数值转换是正确的，生成的数据是准确的。

如果您的实验室使用各种起效光密度值，建议您进行测试，确定哪个值最适用于各个样品，因为当测试完毕后，就无法在 Sievers Eclipse 软件中更改起效光密度值。表 1 可以帮助您确定适用于您的样品的等效光密度值。

## 结论

虽然 Eclipse BET 平台和 96 孔微孔板的起效光密度值不同，但我们可以用现成的物理方程式来精确计算出它们的等效值，因此用户可以放心使用 Eclipse 平台测量出来的内毒素结果。如需详细的指导，请向您所在地的 Sievers 业务代表或应用专家查询。

## 参考文献

1. McCullough, Karen Zink. The Bacterial Endotoxins Test: A Practical Approach. DHI Publishing, LLC, 2011.
2. Helmenstine, Anne Marie. Beer's Law Definition and Equation. ThoughtCo, 2019.  
<https://www.thoughtco.com/beers-law-definition-and-equation-608172>

\*苏伊士的商标，在一个或多个国家注册。

©2020 年苏伊士。版权所有。

300 00092 CS Rev. A

## 联系我们，了解更多！

### 北京新恒能分析仪器有限公司

地址：北京市朝阳区西大望路 63 号院阳光财富大厦 903 室

总机：010-59799897 转 808/806/817

直线：010-59602317 59602519

企业 QQ：销售部：300-466-2597/300-469-8016

客服部：300-460-0217/300-460-3818

手机：13701397969 13901063870

E-mail: winers@yaojian.com.cn

<http://www.yaojian.com.cn>



扫描二维码，关注新恒能