

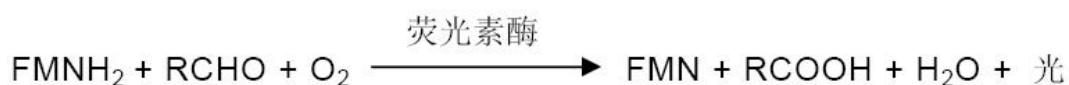
# 应用发光细菌进行水质急性毒性检测



关键词：发光细菌，水质急性毒性，明亮发光杆菌，费氏弧菌

## 1. 应用说明

众发光细菌是一类在正常的生理条件下能够发射可见光的细菌。发光细菌在正常的生理条件下能发出波长在 450~490nm 的蓝绿色可见光，在一定的试验条件下发光强度是恒定的。与外来受试物接触后，由于毒物具有抑制发光的作用，发光细菌的发光强度即有所改变，变化的程度与受试物的浓度在一定范围内呈相关关系，同时与该物质的毒性大小有关。



利用发光细菌来检测有毒物质，由于有毒物质仅干扰发光细菌的发光系统，发光强度的变化可以用发光光度计测出，费时较少且灵敏度高，操作简便，结果准确，所以利用发光细菌的发光强度作为指标来监测有毒物质，在国内外越来越受到重视，在环境监测中的应用也越来越广泛。我国于 1995 年将这一方法列为环境毒性检测的标准方法(GB / T15441—1995)。

目前国内常用的 3 种发光细菌为：明亮发光杆菌、费氏弧菌、青海弧菌。其中明亮发光杆菌在“GB/T15441-1995 水质 急性毒性的测定 发光细菌法”中所使用；费氏弧菌在欧盟的标准中所使用；青海弧菌是在青海湖的鱼体内提取的菌种，属淡水菌，在测试饮用水时有较大优势。

## 2. 所需器材

- 专用检测仪、移液器、1.5ml 离心管
- Zinc sulfate heptahydrate ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ )，分析纯
- NaCl 氯化钠，分析纯
- 费氏弧菌（-20℃ 保存）
- 复苏液（4℃ 保存）

## 3. 试验方案

### 3.1 试剂准备

- (1) 配置 2%氯化钠溶液：将 20g 氯化钠溶入蒸馏水，定容至 1000ml。
- (2) 使用 2%氯化钠溶液分别配制 60mg/L、30mg/L、21mg/L、15mg/L、12mg/L、7.5mg/L、0 mg/mL 的  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  溶液。
- (3) 费氏弧菌冻干粉复苏：将-20℃ 存储的费氏弧菌冻干粉玻璃瓶取出，快速加入 1ml 的 4℃ 复苏液，摇匀，并在 4℃ 复苏 15 分钟。
- (4) 取 300ul 复苏的发光细菌悬浮液，加入 2700ul 的 2%氯化钠溶液，混匀，稀释至 3ml。

(5) 取 100ul 稀释过的发光细菌悬浮液，加入 1.5ml 离心管，放入检测仪检测发光细菌发光强度，确认发光细菌是否有效。

### 3.2 标准曲线

(1) 取 1.5ml 离心管，分别加入 100ul 稀释好的发光细菌悬液，检测起初发光值。在离心管中在分别对应加入 900ul 配置好的 60mg/L、30mg/L、21mg/L、15mg/L、12mg/L、7.5mg/L、0 mg/mL 的 ZnSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O 溶液，轻轻混匀，并放置 15min，然后检测 15 分钟后的发光值。

样品管	加入发光细菌悬液	检测起初发光值	加入 ZnSO <sub>4</sub> 溶液浓度	加入溶液体积	15 分钟后检测发光值
0	100ul	$I_0$	0	900 ul	$I_{kt}$
1	100ul		7.5mg/L	900 ul	
2	100ul		12mg/L	900 ul	
3	100ul	$I_n$	15mg/L	900 ul	$I_t$
4	100ul		21mg/L	900 ul	
5	100ul		30mg/L	900 ul	
6	100ul		60mg/L	900 ul	

使用空白样品计算校正系数： $f_{kt} = I_{kt} / I_0$

样品发光值校正： $I_{ct} = I_n \times f_{kt}$

抑制率： $H_t = [ ( I_{ct} - I_t ) / I_{ct} \times 100 ]$

伽马值（表示光抑制量与即时发光光强的比值）： $\Gamma_t = [ H_t / ( 100 - H_t ) ]$

(2) 根据标准品与相应发光强度制作标准曲线。

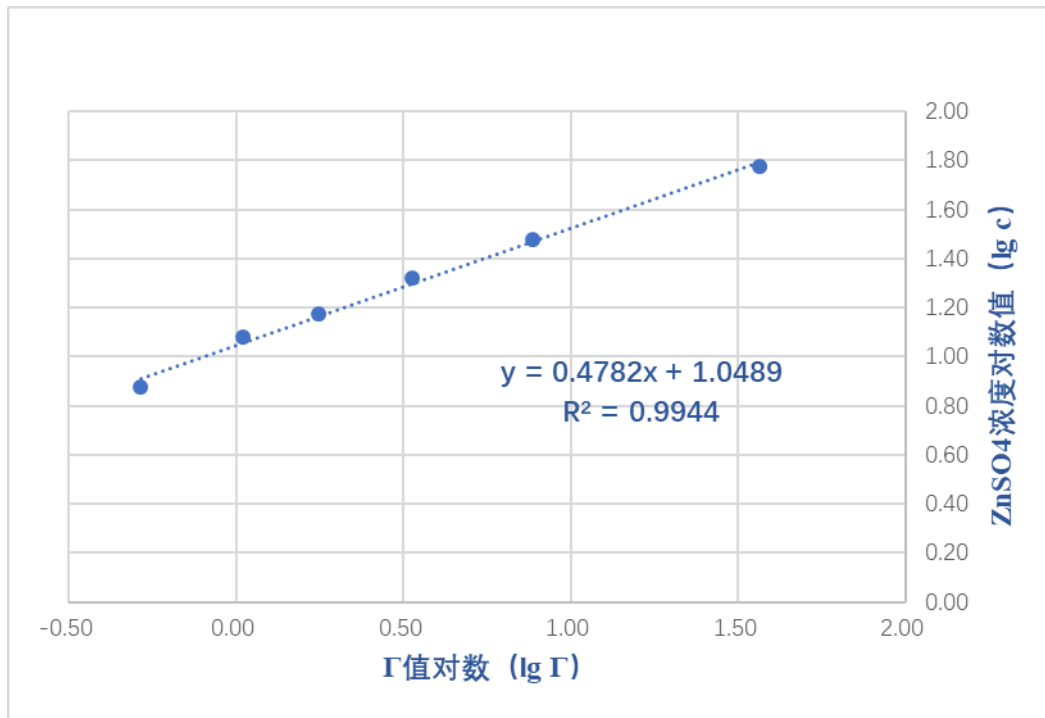
$$\lg C_t = a \lg \Gamma_t + b$$

$C_t$  : 样品浓度;

$\lg C_t$  : 样品浓度的对数值

$\Gamma_t$  : 对应的伽马值;

$\lg \Gamma_t$  : 伽马值的对数值



### 3.3 样品检测

- (1) 取水样，加入氯化钠至终浓度 2%。
- (2) 按照 3.2 方法，检测水样的发光抑制率  $H$  和伽马值  $\Gamma$ ，然后带入标准曲线计算相对应的  $ZnSO_4$  浓度，即水样毒性相当于多大浓度的  $ZnSO_4$ 。

## 4 关于 LumiPro 单管型发光检测仪

LumiPro 单管型发光检测仪是为生物发光和化学发光检测而设计的一款高灵敏度发光检测仪，可用于发光细菌法的水质急性毒性检测。其体积小，使用触摸屏作为操作界面，简单方便；检测数据既可以直接显示，也可以直接传输至电脑。