

新技术讲座

微弱发光分析技术应用实例 (五)

张仲伦

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 多数生物系统存在低水平化学发光, 这种化学发光与生物体内的生理反应有关. 生活在水和空气中的生物体受到各种污染因素危害必定引起生理变化, 从而引起这种低水平化学发光的改变. 利用这种现象, 将某些生物体作为生物探测器, 应用微弱发光分析技术可以检测水体和大气的污染程度.

关键词 环境污染, 发光分析, 发光杆菌, 大气污染

学科分类号 Q6-33

10 微弱发光分析技术应用实例之 (五)

10.1 发光细菌用于水环境污染监测

发光细菌体内有一种荧光素酶, 通过酶催化不饱和脂肪酸反应发射荧光. 发光细菌易培养、增殖快、发光量易受环境因素影响. 发光细菌的发光量测定技术被广泛用于水体环境污染的监测.

a. 实验方法: 采用简化 Eley 液体培养基 20℃ 振荡培养明亮发光杆菌 (华东师范大学朱文杰教授提供). 取培养 18 h 的菌液, 加至 4 ml 3% NaCl 中, 再加入 0.5 ml 的被检测水样, 混匀, 20℃ 恒温放置 10 min 后, 测量发光强度, 以同量的蒸馏水作为对照分别计算发光抑制率.

b. 发光细菌密度与发光强度之间存在明显相关关系, 发光强度随着菌体密度的增加而增大. 对实验得到的相关曲线进行回归, 结果表明线性关系极显著.

c. 汞及苯酚对发光细菌的发光有明显的抑制. 汞和苯酚在环境监测中常作为重要的指标之一, 来衡量水的污染程度. 实验观察了它们对发光细菌的发光的影响, 结果 (表 1) 表明汞及苯酚对发光细菌的发光的抑制程度与污染物的浓度间存在显著的相关关系, 这对于今后进一步定量研究环境污染程度是非常有意义的.

d. 用发光细菌检测京杭运河水体污染. 对于横贯杭州市区的京杭运河的检测结果表明, 这条历史名河正受到污染, 所有采样点的发光抑制率明显高于钱江三桥 (0.9%). 污染程度较高的是九小区和朝晖路 (图 1).

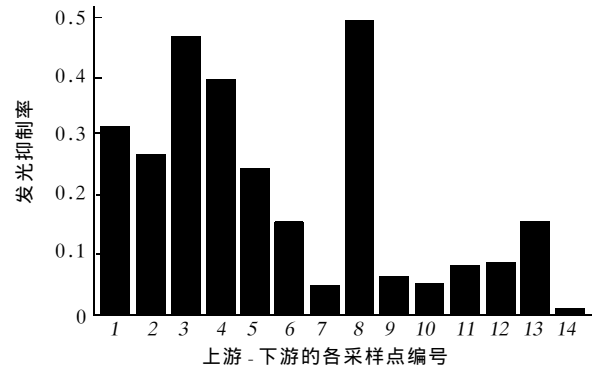


图 1 生物发光方法检测京杭运河水体污染

1: 卖鱼桥; 2: 文一路; 3: 九小区; 4: 文晖路; 5: 中北桥; 6: 中河桥; 7: 建国北路; 8: 朝晖路; 9: 机场路; 10: 秋涛路; 11: 艮山路桥; 12: 水湘路桥; 13: 水湘二桥; 14: 钱江三桥.

从图 1 中还可以看出, 污染程度严重的地方都集中在上游区, 相对来说, 下游区域受污染程度较轻, 这与杭州市工业区和居民区的布局有关. 这提醒环保部门应优先治理运河上游区域的污染源.

e. 目前发光细菌常用来检测环境的毒性, 而由于我们采用了高灵敏度的 BPCL 微弱发光测量仪, 可以检测到更低的环境污染物, 如汞对发光的影响, 千万分之一的浓度就可以比较明显地抑制发光细菌的发光.

表 1 汞及苯酚对发光细菌的发光抑制情况

	汞浓度/ $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$						苯酚浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$						
	55	75	100	250	500	550	0.18	0.25	0.375	0.50	0.62	0.75	1.0
抑制率 (I)	0.008	0.256	0.695	0.806	0.994	0.995	0.112	0.267	0.502	0.657	0.792	0.837	0.903

10.2 斑马鱼的自发光与水体污染监测

a. 实验方法：斑马鱼是一种栖息于急流河水中的观赏鱼，体长小于 45 mm，在银白色的鱼体上有 7~9 条兰黑色横纹，能耐受 15.5~43.3℃ 水温，易于饲养、繁殖。测量时将 10 条鱼盛于装有 10 ml 水直径 4 cm 高 4 cm 的光学玻璃杯中，再将杯子置于测量室测量位置，按照测量程序测量其发光动力学曲线。杯中装入污染水即可测定污染水对鱼体发光的影响。

b. 辽河水样检测结构见表 2.

表 2 辽河水样检测结果

采样点	发光强度变化	污染类指数
沈新排干下游	159	406.5
小浑河下游	115	79.8
沈新排干上游	117	53.4
蒲河下游	64	42.5
蒲河上游	40	23.5
水库上口	22	33.4
水库出口	5	6.1
对照	9	0.8

10.3 毛白杨树叶片微弱发光与空气污染的监测

a. 实验方法：6~8 月间，从正常生长的毛白杨树上采摘叶片，直接放入测量室中测量，叶片朝阳的一面朝向探测器，每次测量一片，重复 5 次。一组测量 5 片。

b. 北京某工业区和园林区检测结果见表 3.

表 3 北京某工业区和园林区检测结果

采样位置	发光强度			
	清洗前($\bar{x} \pm s$)	清洗后($\bar{x} \pm s$)	差值(平均值)	
工业 区	钢厂内	1696 ± 75	2685 ± 360	989
	电厂内	1531 ± 128	2314 ± 371	783
	居民区	1120 ± 230	1796 ± 108	676
	绿化所	1147 ± 72	1323 ± 121	176
清洁园林	1515 ± 147	1270 ± 167	-238	

注：发光强度以 300 s 内的计数计算。

生物发光方法是结合生命有机体的生物物理和生物化学过程，检测的是处于环境中的生物，提供的是一个综合的整体指标，因此比传统的检验方法更迅速，直接反映环境污染对生物的影响，总之，生物发光方法将能够在环境保护中得到广泛的应用。

参 考 文 献

- 薛建华, 王君晖, 黄纯农. 发光细菌应用于监测水环境污染的研究. 科技通报, 1998, 14 (5): 339
Xue J H, Wang J H, Huang C N. Ke Ji Tong Bao, 1998, 14 (5): 339
- 马玉琴, 赵克检, 王英彦, 等. 斑马鱼的自发光与酚污染的监测. 环境保护, 1992, (10) 33
Ma Y Q, Zhao K J, Wang Y Y, et al. Huan Jing Bao Hu, 1992, (10) 33
- 马 斌, 马玉琴, 苏 震, 等. 雨水对毛白杨树叶片低水平化学发光的影响. 科学通报, 1992, 24: 2270
Ma B, Ma Y Q, Su Z, et al. Chin Sci Bull, 24: 2270

Ultra-weak Chemiluminescence Analytical Technology Principle and Application. ZHANG Zhong-Lun (Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China).

Abstract Low-level chemiluminescence exist in the most biological systems. The chemiluminescence is relate with physiology response of organism. The physiology variety of organism is caused if the organisms living in the water and air were endangered by various contamination factors, consequently change of the chemiluminescence is produced. Using the phenomenon, Some organism can be used as a biological detector, environment grade of water and air can be examined by ultra-weak chemiluminescence analytical technology.

Key words environment contamination, luminescence analysis, photobacterium phosphoreum, atmosphere contamination