

基于青海弧菌 Q67 的饮用水取水环境 虚拟检测仪器

魏胜非^{1,2}, 陈彩云¹, 许德玄²

(1. 东北师范大学物理学院, 吉林 长春 130024;

2. 东北师范大学城市与环境科学学院, 吉林 长春 130024)

[摘 要] 采用将淡水发光微生物 Q67 的检测同 LabVIEW 虚拟技术检测相结合的方法, 研究了基于青海弧菌 Q67 的虚拟仪器对饮用取水环境检测的可行性. 以苯酚为急性毒物的样本, 将此方法同常规发光微生物检测方法相比较, 结果表明两种方法的检测结果相关系数为 0.99. 这一结果证明该方法可用于饮用水取水环境的检测, 同时表明基于青海弧菌 Q67 的虚拟仪器方法具有信号处理简捷及利于网络化的优点, 特别是为饮用水环境急性毒物实现物联网检测打下了基础.

[关键词] 青海弧菌 Q67; 虚拟仪器; 发光微生物; LabVIEW; 急性毒物

[中图分类号] X 172

[学科代码] 610 · 3020

[文献标志码] A

0 引言

由于环境污染及其他因素, 一些饮用水取水口水污染事件时有发生, 因而加强水质监测, 确保用水安全是十分重要的. 目前, 有许多种方法可以用于饮用水取水环境的检测. 实验室化学分析方法是人们较常用的检测方法, 但对于综合性样品的处理研究表明, 特异性化学分析测定未知样品的毒性仅占毒性检测的小部分. 化学分析虽然灵敏、准确, 但由于时间、费用以及对样品的不可知性使其在毒性的实际筛选中受到很大限制^[1]; 另外, 混合样品中不同的化合物彼此之间存在着协同或拮抗作用, 所以最终的毒性作用并非单一物质作用的加减, 因此必须使用生物方法对综合的毒性效应 (尤其对于未知物) 进行测定. 从另一方面讲, 毒性是一项综合的生物学参数, 它是衡量样品对活性生物体所产生的影响, 不能以化学分析的方法进行测定. 生物检测以其快捷、费用较低廉的特点得到了广泛应用. 目前所应用的生物检测主要包括: 鱼类试验、藻类试验、*D. magna* 试验和微生物传感器 (micro-tox) 法, 前三种试验周期长、操作复杂, 而微生物传感器法解决了上述问题, 并且数据的准确性和重复性也明显提高.

近年来, 微生物学检测方法因其快速、灵敏、经济等特点得以迅速发展, 有些已被各国及国际标准化组织列为标准方法. 利用发光微生物检测水的急性毒性方法已被广泛使用. 在提取光信号时, 一般是利用弱光仪检测发光微生物的光强变化, 传统的弱光测量仪器主要由三个功能块组成: 信号的

[收稿日期] 2010-01-12

[基金项目] 吉林省科技发展计划重点项目 (20080426-1).

[作者简介] 魏胜非 (1964—), 男, 博士研究生, 副教授, 主要从事传感器、通信研究.



采集与控制单元、信号的分析与处理单元、结果的表达与输出单元。传统实验测量仪器灵活性差、实验测试过程人为干扰较大。利用 LabVIEW 开发平台开发出的虚拟实验仪器,可以实现传统实验测量仪器的各项功能,同时又可以克服上述缺点,以此开发平台组成的弱光检测系统同发光微生物检测法结合起来就形成了一种新的用于取水环境急性毒物检测的系统。这种检测系统实际上构成了虚拟仪器。所谓虚拟仪器,就是在以通用计算机为核心的硬件平台上,由用户设计定义,具有虚拟面板,其测试功能由测试软件实现的一种计算机仪器系统。使用者用鼠标或键盘操作虚拟面板就如同使用一台专用测量仪器。

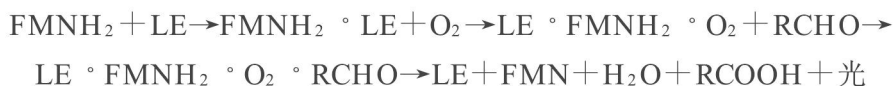
1 发光细菌分类及受急性毒物影响的原理

1.1 发光细菌的分类

发光细菌是一类在正常的生理条件下能够发射可见荧光的细菌,这种可见荧光波长在 450 ~ 490 nm 之间,在黑暗处肉眼可见。发光细菌有以下几种:①异短杆菌属(*Xenorhabdus*)的发光异短杆菌(*Xenorhabdus luminescens*);②发光杆菌属(*Photobacterium*)的明亮发光杆菌(*Photobacterium phosphoreum*)和鮟发光杆菌(*P. leiognathi*);③希瓦氏菌属(*Shewanella*)的羽田希瓦氏菌(*Shewanella baltica*),以前也曾经把它归类为交替单胞菌属(*Alteromonas*)的海氏交替单胞菌(*Alteromonas hahneli*);④弧菌属(*Vibrio*)的哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)、美丽弧菌生物型 I (*V. splendidus* biotype I)、费氏弧菌(*V. fischeri*)、火神弧菌(*V. logei*)、东方弧菌(*V. orientalis*)、霍乱弧菌(*V. cholerae*)、地中海弧菌(*V. mediterranei*)、青海弧菌(*V. qinghaiensis*)。在以上发光细菌中,发光异短杆菌(*Xenorhabdus luminescens*)、霍乱弧菌(*V. cholerae*)和青海弧菌(*V. qinghaiensis*)属于淡水发光菌,其余都是海洋细菌^[2]。霍乱弧菌是一种非常可怕的致病细菌,人类对它导致的灾难还记忆犹新,显然不能应用作为检测物。青海弧菌 Q67(*V. qinghaiensis* Q67)为非治病菌^[3],因而可以作为检测微生物。

1.2 发光机理

研究表明,不同种类发光细菌的发光机理是相同的,是由特异性的荧光酶(LE)、还原性的黄素(FMNH₂)、八碳以上长链脂肪醛(RCHO)、氧分子(O₂)所参与的复杂反应,大致历程如下:



概括来说,细菌生物发光反应是由分子氧作用,胞内荧光酶催化,将还原态的黄素单核苷酸(FMNH₂)及长链脂肪醛氧化为 FMN 及长链脂肪酸,同时释放出发光强度在 450 ~ 490 nm 处的蓝绿光^[4]。

1.3 发光微生物受急性毒物影响的原理

发光作用是发光细菌正常生理状态下所具有的性质,它是细胞呼吸作用的副产物,而呼吸作用则是细胞和生物代谢的基本过程,细菌的发光直接与其呼吸相关。当细胞活性受到毒性物质作用后,其活性将受到抑制,从而使呼吸速率下降,进而导致发光强度降低^[5]。样品的毒性越强,发光细菌的光损失越多。以细菌发光法测定样品的毒性已经被证明是一种方便、可靠的生物传感方法。

2 虚拟检测仪器结构

虚拟检测仪器结构可分为生物发光检测腔、光电倍增管(photomultiplier tube, PMT)、信号调理放大、数据采集卡、PC 机、报警、网络、温度传感器、pH 传感器等部分,其结构框图如图 1 所示。

发光检测腔为一暗室,以避免光干扰。温度传感器和 pH 传感器检测备检样品的温度和 pH 值,因为温度和 pH 值均对检测结果造成影响,因而需对其进行检测;同时也不可能像在实验室那样将样品温度以及 pH 值调整到要求的水平。温度及 pH 值的数据处理可采用多路传感器信息融合算法。

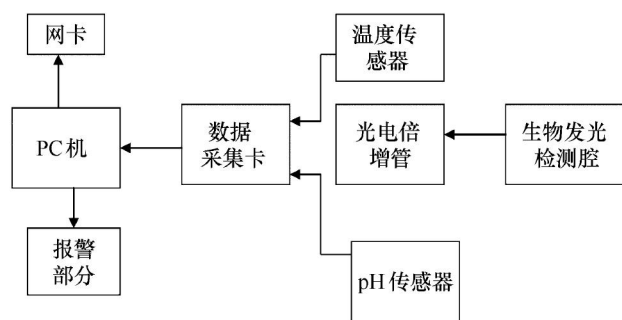


图 1 虚拟检测仪器结构框图

3 急性毒物对发光微生物 Q67 影响实验

毒物对发光微生物产生影响,导致发光微生物的发光强度发生改变.其发光的变化被光电倍增管检测到.光电倍增管的输出直接送往数据采集卡,即送入基于 LabVIEW 的虚拟微光检测实验开发系统. LabVIEW (laboratory virtual instrument engineering workbench) 是美国 NI 公司推出的一种基于 G 语言 (Graphics language) 的虚拟仪器开发工具. 使用 LabVIEW 开发平台创建虚拟仪器,就是在 LabVIEW 开发平台上编制图形化程序,该图形化程序是虚拟仪器程序,简称 VI. 虚拟仪器程序 VI 由两部分组成:前面板程序和流程图程序. 在前面板 (panel) 开发窗口进行设计,设计完成的前面板图形化程序就是所谓的虚拟前面板,在“虚拟前面板”上的空间有两种类型:一种为输入控制类,用于设置参数;另一种为输出显示类,用于测量结果的数值显示、波形显示、仪器工作状态提示等.

下面通过此虚拟仪器检测水中的毒物含量,并同传统的检测仪器进行比较来证明该基于青海弧菌 Q67 的饮用水取水环境虚拟检测仪器的可用性.

水环境的检测已有国家标准,根据《GB/T15441-1995 水质急性毒性的测定:发光细菌法》,采用相对发光度或相对抑光度来表征毒物所在环境的生物毒性水平.

$$\text{相对发光度} = \frac{\text{样品发光强度}}{\text{对照发光强度}} \times 100\%;$$

$$\text{相对抑光度} = \frac{\text{对照发光强度} - \text{样品发光强度}}{\text{对照发光强度}} \times 100\%.$$

样品发光强度为被测样品加入发光细菌时,发光细菌的发光量;对照发光强度为同一等量的发光细菌在未加入被测样品时,发光细菌的发光量^[6]. 所用发光细菌为青海弧菌 Q67 冻干粉(购于滨松公司),所用仪器为滨松公司提供的 BHP9511 型水质毒性快速检测仪.

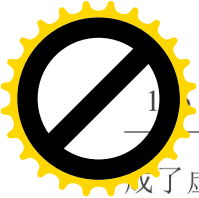
分别采用 BHP9511 型水质毒性快速检测仪和基于青海弧菌 Q67 的饮用水取水环境虚拟检测仪器测定系列浓度苯酚的相对发光度. 每一浓度苯酚溶液测定 3 次,取均值. 两种仪器的测定结果如表 1 所示. 其中 Φ_a 为采用 BHP9511 型水质毒性快速检测仪测量的系列浓度苯酚相对发光度的数据; Φ_b 为采用基于青海弧菌 Q67 的饮用水取水环境虚拟检测仪器测定的系列浓度苯酚的相对发光度数据. 经过计算,两组数据的相关系数 $P=0.99$, 所以显著相关. 这表明基于青海弧菌 Q67 的饮用水取水环境虚拟检测仪器完全可以用于水毒性检测实验.

表 1 使用两种检测仪器所得相对发光度的比较

组别	检测物质量浓度/($\mu\text{g/mL}$)										%
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
Φ_a	88.034	87.703	87.371	75.124	71.184	68.501	65.194	61.883	58.578	55.264	
Φ_b	91.011	87.005	87.366	74.111	69.120	68.408	65.190	61.812	58.577	49.201	

4 结束语

将基于青海弧菌 Q67 的饮用水取水环境虚拟检测方法应用于饮用水的急性毒物检测实际上构



成了虚拟检测仪器. 该检测仪器在定性检测急性毒物的同时可以检测饮用水取水环境的水温及 pH 值, 而二者皆对检测结果影响较大, 这就克服了分析仪器只能在实验室环境检测的弱点, 为实际环境检测提供了方便条件. 由于篇幅限制相关算法不在此赘述. 另外本仪器同以往检测仪器相比除可大大减少硬件设备投入外, 还可实现远程网络交互、测量自动化并具有开放性等特点, 从而实现饮用水取水环境急性毒物的物联网检测, 是检测仪器的发展方向.

[参 考 文 献]

- [1] 王海洲, 刘文华, 侯福林. 在线生物监测技术及其应用研究[J]. 生物学通报, 2007, 42(1): 15-16.
- [2] 黄正, 王家玲. 发光细菌的生理特性及其在环境监测中的应用[J]. 环境科学, 1995, 16(3): 87-90.
- [3] 马梅, 童中华, 王子健, 等. 新型淡水发光菌(*Vibrio qinghaiensis* sp. Q67)应用于环境样品毒性测试的初步研究[J]. 环境科学学报, 1998, 18(1): 86-91.
- [4] 杜宗军, 王祥红, 李海峰, 等. 发光细菌的研究和应用[J]. 高技术通讯, 2003(12): 104-106.
- [5] EL-AIAWI Y S, MCCONKEY B J, DIXON D G, et al. Measurement of short and long-term toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons using luminescent bacteria[J]. Ecotoxicol Environ Safety, 2002, 51(1): 12-21.
- [6] 尚丽平, 张迪, 马越超, 等. 便携式生物毒性快速检测仪的设计研究[J]. 传感技术学报, 2006(6): 633-636.

The virtual equipment to measure environment of drinking water based on *V. qinghaiensis* Q67

WEI Sheng-fei^{1,2}, CHEN Cai-yun¹, XU De-xuan²

(1. School of Physics, Northeast Normal University, Changchun 130024, China;

2. College of Urban and Environmental Sciences, Northeast Normal University, Changchun 130024, China)

Abstract: The way combined the measuring technology of bioluminescent bacteria *V. qinghaiensis* Q67 in water with the LabVIEW virtual technology has been taken in the papers. The feasibility study of which measuring urgent toxicity in environment of drinking water by the virtual equipment to measure environment of drinking water based on *V. qingghaiensis* Q67 has been made. The way has been compared with conventional detective way of bioluminescent bacteria by using phenol as sample of urgent toxicity. The results show that correlation coefficient of test results of two ways is 0.99. It proves that to measure of drinking water by the way is available. At the same time, The way of the virtual equipment to measure environment of drinking water beased on *V. qingghaiensis* Q67 has advantages that signal processing is simple and it is conducive to networking. Especially, it has made base for using the internet of things to detect urgent toxicity environment of drinking water.

Keywords: *V. qinghaiensis* Q67; virtual instrument; luminescent microbe; LabVIEW; urgent toxicity

(责任编辑: 方 林)