

水体细菌微生物多波长透射光谱解析模型

胡玉霞^{1,2,3}, 赵南京^{1,3}, 甘婷婷^{1,3}, 段静波^{1,3}, 喻慧娟^{1,2,3}, 孟德硕^{1,3}, 刘建国^{1,3}, 刘文清^{1,3}

¹中国科学院安徽光学精密机械研究所环境光学与技术重点实验室, 安徽 合肥 230031;

²中国科学技术大学, 安徽 合肥 230026;

³安徽省环境光学监测技术重点实验室, 安徽 合肥 230031

摘要 细菌多波长透射光谱包含有细菌结构、组分、浓度等信息, 这些特征信息的有效提取是实现细菌微生物快速识别与检测的基础。以水体常见的大肠埃希氏菌(大肠杆菌)为研究对象, 采用紫外-可见分光光度法获得了其多波长透射光谱; 基于 Mie 散射理论, 在充分考虑水体大肠杆菌散射和吸收特性的基础上, 构建了 240~900 nm 波段范围内细菌微生物多波长透射光谱的解析模型; 基于该模型对 250~750 nm 特征波段范围内的光谱进行解析, 获得了大肠杆菌的体积、粒径、结构及浓度等相关参数, 并将这些参数与文献及实验得到的结果进行了对比验证。结果表明, 建立的多波长透射光谱解析模型能够准确表征水体细菌微生物的光谱特征, 该模型可为水体细菌微生物的快速识别分析和检测提供关键数据。

关键词 光谱学; 多波长透射光谱; Mie 散射; 细菌微生物; 解析模型

中图分类号 O433.4 **文献标识码** A

doi: 10.3788/AOS201737.0830001

An Analytical Model for Multi-Wavelength Transmittance Spectra of Bacteria in Water

Hu Yuxia^{1,2,3}, Zhao Nanjing^{1,3}, Gan Tingting^{1,3}, Duan Jingbo^{1,3},
Yu Huijuan^{1,2,3}, Meng Deshuo^{1,3}, Liu Jianguo^{1,3}, Liu Wenqing^{1,3}

¹Key Laboratory of Environment Optics and Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics,
Chinese Academy of Sciences, Hefei, Anhui 230031, China;

²University of Science and Technology of China, Hefei, Anhui 230026, China;

³Anhui Key Laboratory of Environment Optical Detection Technology, Hefei, Anhui 230031, China

Abstract Multi-wavelength transmittance spectra of bacteria in water contain lots of information on their characteristics such as structure, constituent and concentration, and the effective extraction of the information is the foundation of rapid identification and detection of bacteria. The transmittance spectrum of *Escherichia coli* is recorded with a ultraviolet-visible spectrophotometer. According to Mie scattering theory and absorption and scattering properties, bacterial multi-wavelength transmittance spectrum analytical model in 240-900 nm band is constructed. Based on the model, the spectrum in the range of 250-750 nm is analyzed, the related parameters such as volume, diameter, structure and concentration of *Escherichia coli* cells are obtained, and these parameters are then compared with the literature data or experimental data. It is shown that the proposed multi-wavelength transmission spectrum model can accurately characterize the spectral features of bacteria in water, and the model can provide important parameters for the rapid analysis and detection of bacteria in water.

Key words spectroscopy; multi-wavelength transmission spectrum; Mie scattering; bacterial microorganism; analytical model

OCIS codes 300.1030; 300.6540; 290.4020; 290.5850

收稿日期: 2017-01-10; **收到修改稿日期:** 2017-03-12

基金项目: 国家自然科学基金(61378041)、安徽省自然科学基金(1508085JGD02, 1608085QF137)、安徽省科技重大专项(15CZZ04125)

作者简介: 胡玉霞(1984—), 女, 博士研究生, 主要从事水体细菌微生物光谱检测技术方面的研究。

E-mail: yxhu@aiofm.ac.cn

导师简介: 赵南京(1976—), 男, 博士, 研究员, 主要从事环境污染光学与光谱学监测新技术与方法方面的研究。

E-mail: njzhao@aiofm.ac.cn(通信联系人)

1 引 言

水体细菌微生物污染严重威胁着人类的身体健康和生态环境安全。发展快速、有效、低成本的细菌微生物检测方法是保障饮用水安全的关键。

目前,检测水体细菌微生物的方法主要有显色培养基法^[1]、核酸探针技术法^[2]和蛋白芯片法^[3]等。虽然这些方法的检测结果相对准确,但是检测过程复杂,耗时长,所需生物学试剂比较昂贵,不适合实时在线检测。为了实现水体细菌微生物的快速识别与检测,近年来国内外相关学者采用荧光光谱法^[4-6]、拉曼光谱法^[7-9]以及角散射光谱法^[10]等光学检测方法,针对细菌微生物的部分结构或组分特征信息等进行了研究。与之相比,多波长透射光谱测量技术具有仪器设备相对简单、测量速度快、可测量粒径范围较宽、测量信息全面,以及能够实时在线测量等优点,一些学者已经将该技术应用于细菌微生物领域的研究中。Katz等^[11]测量得到了3种大小和形态不同的细菌的消光光谱和角散射光谱,并利用高斯散射理论对透射光谱进行反常衍射分析,得到了细菌体的平均直径。Mourant等^[12]利用 Rayleigh-Debye-Gans 近似和奇异衍射理论分析了细胞的形状和内在结构。虽然现有的研究能够通过透射光谱得到细菌的特征参数,但这些研究考虑的因素较为单一,或者仅是从理论出发,脱离了被测物质本身的结构特征,存在诸多问题,如:1) 多角度散射光谱对仪器的要求较高;2) 针对理想的瑞利散射和奇异衍射条件建模,难以与实际水体细菌微生物的状况相关联;3) 无法体现细菌中核酸、蛋白质等主要组分对透射光谱的影响。

基于此,本文采用紫外-可见分光光度计对大肠杆菌的多波长透射光谱进行了测定,并分析了光谱的特征。根据细菌散射部分的折射率以及 Murell^[13]给出的细菌微生物的主要化学组分(核酸、氨基酸等)在不同波长下的吸收系数,同时基于 Mie 散射理论,构建了水体细菌微生物多波长透射光谱的解析模型,并分析了该模型的准确性。

2 制备样品与获取光谱

大肠埃希氏菌菌种购于中国工业菌种保藏管理中心,菌种悬浮液的制备流程为:菌种活化→接种到牛肉膏蛋白胨培养基中培养→液体培养基扩菌培养→离心机离心→去离子水清洗。

采用岛津 UV2550 型紫外-可见分光光度计测量多波长透射光谱,光谱测量范围为 240~900 nm,采样间隔为 1 nm,以去离子水作为参比。重复测量 3 次,取平均值作为测量结果。

采用平板培养法测细菌的浓度。取 10 mL 细菌悬浮液,加入去离子水稀释至 100 mL,摇匀即成 10^{-1} 稀释菌液;按照 10 倍稀释,分别制成 10^{-2} , 10^{-3} , ..., 10^{-9} 等一系列稀释菌液。用 1 mL 的无菌吸管吸取不同浓度的稀释菌液放入平皿中,然后在平皿中分别倒入 45 °C 的营养琼脂培养基,轻轻转动平皿,使菌液与培养基混合均匀;将平皿冷凝倒置,置于 37 °C 的培养箱中培养 24 h,进而统计菌落数。

图 1 为处于生长稳定期的大肠杆菌的多波长透射光谱,纵轴表示光密度值,其计算公式为

$$\tau = \lg \frac{1}{T} = \lg \frac{1}{I_{\text{trs}}/I_i} = \lg \frac{I_i}{I_{\text{trs}}}, \quad (1)$$

式中 I_i 和 I_{trs} 分别为入射光强和透射光强; τ 为光密度,包含大肠杆菌的散射和吸收信息。根据细胞的组成、特性以及细胞中核酸、蛋白质及其它生物大分子的紫外光谱的分布特征^[14]可知:在 240~400 nm 范围内,大肠杆菌在 260 nm 处存在一个肩峰,这主要是由细菌内核酸分子对光的吸收作用造成的;在 400~900 nm 范围内,透射光谱的变化比较平缓,没有明显的吸收峰,这主要源于细菌的散射作用。这些特征为多波长透射光谱解析模型的构建以及复折射率的计算提供了依据。

3 多波长透射光谱的解析模型

3.1 模型的构建

当光波穿过含有细菌的水体介质后,透射光强会发生衰减,衰减的程度由吸收和散射共同决定,而细菌的散射和吸收特性则取决于其结构形态和化学组分^[15]。根据 Mie 散射理论,对于粒径分布为 $f(D)$ 的均匀细菌悬浮液,光密度的表达式为^[16]

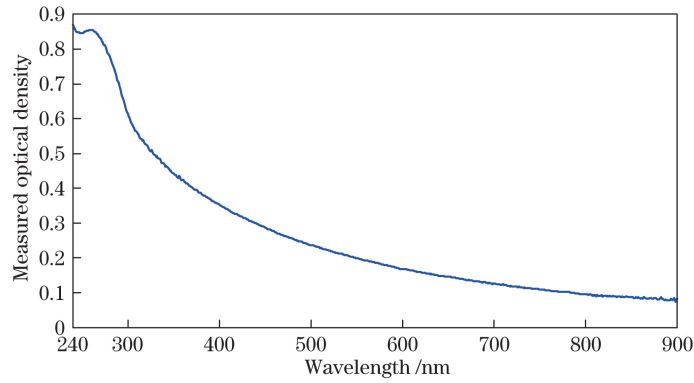


图 1 大肠杆菌的多波长透射光谱

Fig. 1 Multi-wavelength transmission spectrum of *Escherichia coli*

$$\tau(\lambda) = N_p l \frac{\pi}{4} \int_0^{\infty} Q_{\text{ext}}[m(\lambda), D] D^2 f(D) dD, \quad (2)$$

式中 $m(\lambda)$ 为细菌在悬浮液中的复折射率, λ 为波长; D 为细菌的直径; l 为光程; N_p 为细菌数; $Q_{\text{ext}}[m(\lambda), D]$ 为细菌的消光系数, 由吸收系数 Q_{abs} 和散射系数 Q_{sca} 两部分组成。对于近似球形的粒子, 其消光系数和散射系数计算公式为^[17]

$$Q_{\text{ext}} = \frac{2}{\alpha^2} \text{Re} \left[\sum_{n=1}^{\infty} (2n+1)(a_n + b_n) \right], \quad (3)$$

$$Q_{\text{sca}} = \frac{2}{\alpha^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1)(|a_n|^2 + |b_n|^2), \quad (4)$$

$$a_n = \frac{\psi'_n(m\alpha)\psi_n(\alpha) - m\psi_n(m\alpha)\psi'_n(\alpha)}{\psi'_n(m\alpha)\xi_n(\alpha) - m\psi_n(m\alpha)\xi'_n(\alpha)}, \quad (5)$$

$$b_n = \frac{m\psi'_n(m\alpha)\psi_n(\alpha) - \psi_n(m\alpha)\psi'_n(\alpha)}{m\psi'_n(m\alpha)\xi_n(\alpha) - \psi_n(m\alpha)\xi'_n(\alpha)}, \quad (6)$$

式中 a_n, b_n 为 Mie 系数; n 为级数需要计算的最大项; $\alpha = \pi D/\lambda$; $\psi_n(x) = \sqrt{\pi x/2} J_{n+\frac{1}{2}}(x)$, $J_{n+\frac{1}{2}}(x)$ 为半整数阶 Bessel 函数; $\xi_n(x) = \sqrt{\pi x/2} H_{n+\frac{1}{2}}^2(x)$, $H_{n+\frac{1}{2}}(x)$ 为第二类 Hankel 函数。

$m(\lambda)$ 的计算公式为

$$m(\lambda) = \frac{n(\lambda) + ik(\lambda)}{n_0(\lambda)}, \quad (7)$$

式中 $n(\lambda)$ 为细菌复折射率的实部, $k(\lambda)$ 为细菌复折射率的虚部, $n_0(\lambda)$ 为细菌悬浮液的折射率^[18]。

在 240~900 nm 波段范围内, 为了更好地刻画细菌的结构特征, 在建模时将大肠杆菌的细胞分为两部分, 一部分为细菌的宏观结构及其尺寸, 另一部分为细菌的内部结构。光谱受细菌宏观结构粒径分布和内部结构粒径分布变化的影响很小^[19-20], 因此, 细菌的粒径分布函数 $f_1(D)$ 和 $f_2(D)$ 可近似用宏观结构的平均直径 D_1 和内部结构的平均直径 D_2 表示。根据(2)式, 在 240~900 nm 波段范围内细菌的光密度计算公式可改写为

$$\tau(\lambda_0) = N_p l \frac{\pi}{4} \{z Q_{\text{ext1}}[m_{\text{outer}}(\lambda_0), D_1] D_1^2 + (1-z) Q_{\text{ext2}}[m_{\text{inner}}(\lambda_0), D_2] D_2^2\}, \quad (8)$$

式中 $m_{\text{outer}}(\lambda_0)$ 和 $m_{\text{inner}}(\lambda_0)$ 分别为细菌外部结构的折射率和内部结构的折射率, z 为细菌外部结构占总消光的比例。(8)式为水体细菌多波长透射光谱模型的通用形式, 等号右侧第一项为细菌外部结构的消光特性, 第二项为内部结构的消光特性。吸收部分复折射率的实部和虚部是化学组分的函数, 每部分化学组分折射率的加权和为

$$n_g = \sum_{j=1}^M \omega_{gj} n_{gj}, \quad (9)$$

$$k_g = \sum_{j=1}^M \omega_{gj} k_{gj}, \quad (10)$$

式中 ω_{gj} 为第 g 部分第 j 个组分的质量分数, M 为化学组分的总数, n_g 和 k_g 分别为第 g 部分各组分折射率的实部和虚部。 $m_g(\lambda)$ 作为化学组分的函数, 可通过 M 个化学组分的加权和进行计算:

$$m_g(\lambda) = \frac{\sum_{j=1}^M \omega_{gj} n_{gj}}{n_0(\lambda)} + \frac{i \sum_{j=1}^M \omega_{gj} k_{gj}}{n_0(\lambda)} \quad (11)$$

为了描述细菌的透射光谱, 需要对细菌的复折射率 $m_{\text{outer}}(\lambda_0)$ 和 $m_{\text{inner}}(\lambda_0)$ 进行计算。

3.2 散射部分折射率的计算

细菌的散射分为外部结构散射和内部结构散射, 在 240~900 nm 范围内, 不考虑吸收物质的作用, 细菌复折射率的实部可以通过柯西公式来估算:

$$n(\lambda) = a_0 + \frac{a_1}{\lambda^2} + \frac{a_3}{\lambda^4} + \dots, \quad (12)$$

式中 a_0 、 a_1 和 a_3 为常数, 由介质决定。

根据文献[21]可知, 大肠杆菌宏观结构复折射率的实部为

$$n(\lambda_0) = 1.3776 + \frac{3034.91}{\lambda_0^2} \quad (13)$$

根据文献[12]可知, 大肠杆菌细胞的内部结构比外部结构多了一些非吸收蛋白质和多糖分子, 细菌平均复折射率的实部为

$$n(\lambda_0) = 1.550 + \frac{5900}{\lambda_0^2} \quad (14)$$

3.3 吸收部分折射率的计算

细菌对光的吸收能力主要取决于细菌内化学组分(核酸、氨基酸、吡啶二羧酸等)的吸收作用^[15]。因此, 细菌对光的吸收可近似为细菌主要化学组分对光的吸收的总和。大肠杆菌中不含有吡啶二羧酸(DPA), 吸收部分的折射率可近似为细菌内发色团氨基酸和总核酸折射率的线性加和。

细菌微生物中主要组分的吸收系数与波长的关系如图 2 所示。在生物体中, 组成蛋白质的氨基酸大约有 20 种, 这些氨基酸在可见光区域没有吸收, 在远紫外区有吸收。在紫外区(240~300 nm), 含有苯环共轭双键系统的酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸对光具有吸收能力, 最大吸收波长为 280 nm。核酸中的嘌呤、嘧啶碱基具有共轭双键系统, 对 250~280 nm 波长的紫外光具有强烈的吸收作用。发色团氨基酸和核酸在可见波段近似为无吸收, 由此可以确定核酸和发色团氨基酸在 240~900 nm 波段的吸收系数。

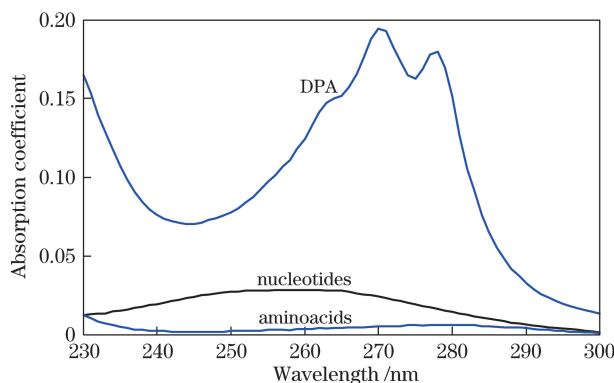


图 2 细菌微生物中总核酸、发色团氨基酸和吡啶二羧酸的吸收系数^[13]

Fig. 2 Absorption coefficients of total nucleic acid, chromophoric amino acid, and dipicolinic acid in bacterial microorganism^[13]

根据 Beer-Lambert 定律, 发色团氨基酸、总核酸的吸收系数 $\epsilon(\lambda)$ 与复折射率虚部 $k(\lambda)$ 的关系可表示为

$$\epsilon(\lambda) = \frac{4\pi k(\lambda)}{\lambda} \quad (15)$$

得到发色团氨基酸和总核酸的吸收系数后,将其代入(15)式就可计算出发色团氨基酸和总核酸复折射率的虚部,如图 3 所示。

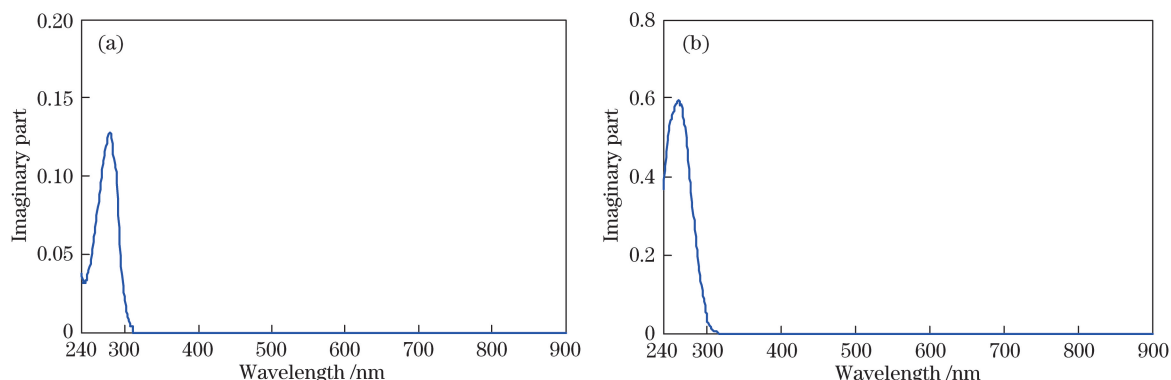


图 3 (a)发色团氨基酸和(b)总核酸复折射率的虚部

Fig. 3 Imaginary part of complex refractive index of (a) chromophoric amino acid and (b) total nucleic acid

根据发色团氨基酸和总核酸复折射率的虚部,基于 Kramers-Kronig 关系(K-K 关系)^[22-23]就可计算出复折射率的实部。K-K 关系可表示为

$$k_1(\lambda) = \frac{-2}{\pi} P \int_0^{\infty} \frac{\lambda n_1(\lambda_0)}{\lambda^2 - \lambda_0^2} d\lambda_0, \quad (16)$$

$$n_1(\lambda) - 1 = \frac{2\lambda^2}{\pi} P \int_0^{\infty} \frac{k_1(\lambda_0)}{\lambda_0(\lambda^2 - \lambda_0^2)} d\lambda_0, \quad (17)$$

式中 $k_1(\lambda)$ 为复折射率的虚部, $n_1(\lambda)$ 为复折射率的实部, λ 为波长, P 为柯西主值函数。实际上,考虑到仪器的工作稳定性以及电磁波的有效利用范围,若已知发色团氨基酸和核酸在 240~900 nm 波段范围的复折射率的虚部,则其它波段复折射率的虚部就可通过常数外推得到^[24]。根据(17)式可计算出细菌内发色团氨基酸和总核酸复折射率实部的变化量,即 $n_1(\lambda) - 1$, 计算结果如图 4 所示。

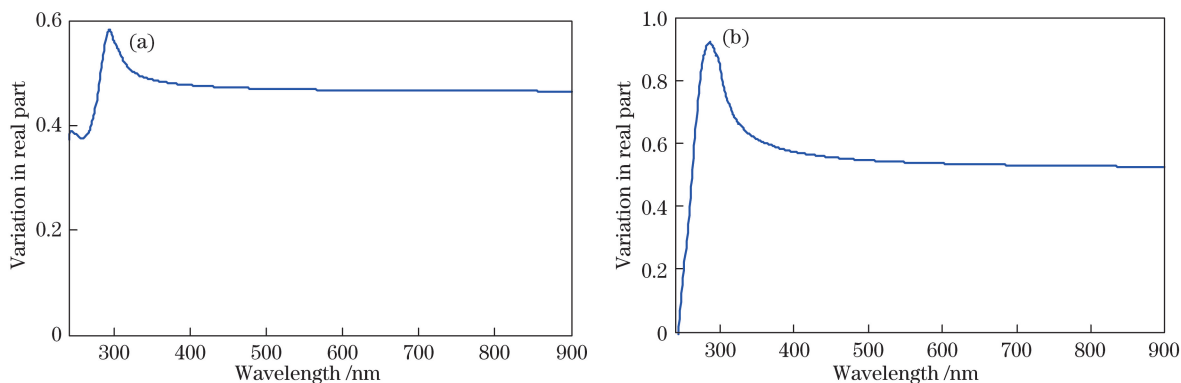


图 4 (a)发色团氨基酸和(b)总核酸复折射率实部的变化量

Fig. 4 Variation in real part of complex refractive index of (a) chromophoric amino acid and (b) total nucleic acid

由于细菌细胞的内部结构和化学组分较为复杂,将细菌对光的吸收近似为细菌内主要化学组分对光吸收的加和,可使问题得到简化。

4 结果与讨论

为了消除细菌浓度对光密度的影响,对测量的透射光谱进行总和归一化处理,转换公式为

$$\tau(\lambda_0) = \tau_{\lambda_0} / \sum_{\lambda=240}^{\lambda=900} \tau_{\lambda} \quad (18)$$

根据(8)式建立的模型,利用非线性最小二乘算法对归一化后的 240~900 nm 波段的透射光谱进行迭

代拟合,测量光谱与拟合光谱的残差平方和为 2.9209×10^{-7} 。测量光谱与拟合光谱的对比结果如图 5 所示,可以看出,测量光谱与拟合光谱间的残差较小,说明建立的光谱解析模型能够有效地表征大肠杆菌的光谱特征。

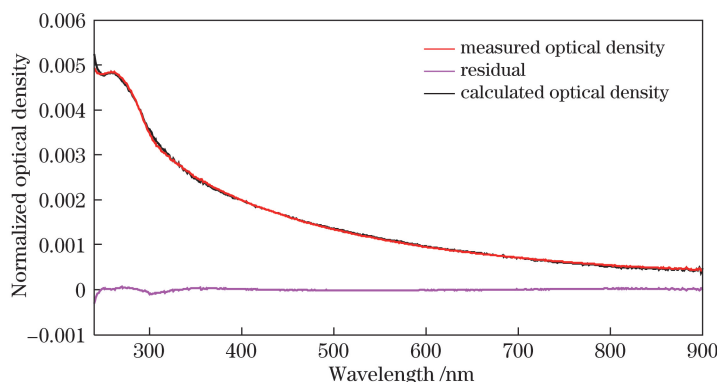


图 5 大肠杆菌测量光谱与模拟光谱的比较

Fig. 5 Comparison between measured and calculated optical density spectra of *Escherichia coli*

表 1 给出了不同波段下实测光谱与模拟光谱之间的相对误差。在 250~400 nm 波段内,总核酸的吸收带位于 260 nm 处,蛋白质的吸收带位于 280 nm 处,该波段包含了细菌较多的吸收特征信息,平均相对误差小于 1%。400~750 nm 的可见光波段主要包含了细菌散射作用的信息,平均相对误差仅为 0.97%。在 240~250 nm 和 750~900 nm 波段,平均相对误差较大,均高于 250~750 nm 波段内的平均误差,且该波段范围所包含的细菌光谱的主要特征信息较少。

表 1 不同波段下测量光谱与模拟光谱的相对误差

Table 1 Relative error between measured and calculated optical density spectra in different bands

| Wavelength /nm | 240-250 | 250-400 | 400-750 | 750-900 | 240-900 |
|---------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Maximum relative error /% | 6.18 | 3.11 | 3.12 | 9.76 | 9.76 |
| Average relative error /% | 2.09 | 0.99 | 0.97 | 3.67 | 1.62 |

为了验证模型的准确性并使解析参数更加准确,对 250~750 nm 波段的透射光谱进行了重点研究,表 2 给出了基于模型得到的相关的解析参数。

表 2 250~750 nm 波段范围内大肠杆菌透射光谱模型解析参数

Table 2 Calculated parameters from the transmittance model in 250-750 nm band for *Escherichia coli*

| Parameter | Calculated value | Literature/experimental value |
|--|------------------|-------------------------------|
| Volume / μm^3 | 4.6093 | 1-7 ^[23] |
| Average diameter of external structure D_1 / μm | 2.0648 | 1.9189 |
| Particle number N_p / mL^{-1} | 20497000 | 20000000 |
| Average diameter of internal structure D_2 / μm | 0.0667 | |
| Volume fraction of internal structure /% | 30 | |

由表 2 给出的平均粒径可计算出大肠杆菌的体积为 $4.6093 \mu\text{m}^3$,其值与文献[25]报道的大肠杆菌的体积相吻合。采用光学显微镜测量得到的大肠杆菌的平均粒径为 $1.9189 \mu\text{m}$,与模型计算值 $2.0648 \mu\text{m}$ 的相对误差为 7.07%。将模型的解析参数代入(7)式可得到单个大肠杆菌的光谱,将测量光谱与单个大肠杆菌的模拟光谱进行对比,根据光程 $l=1 \text{ cm}$ 可计算出细菌的浓度。为了提高计算的准确性,对测量光谱与单个大肠杆菌的模拟光谱进行线性回归,结果如图 6 所示。

在图 6 中,黑色点表示每个波长的计算光谱与实测光谱的对应关系,红色线表示这些点的线性拟合,模拟光谱与测量光谱拟合的相关系数达到了 0.9998,计算得到细菌浓度为 $2.0497 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$,而平板计数法测得的细菌浓度为 $2.0000 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$,它们的相对误差为 2.49%。可见,通过所建模型获得的细菌相关参数可以作为水体细菌微生物快速识别与检测的基础数据。

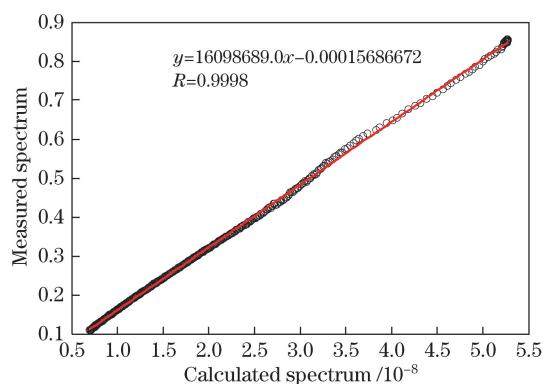


图 6 单个大肠杆菌模拟光谱与测量光谱的线性拟合关系

Fig. 6 Correlation between calculated spectra and measured spectra of single *Escherichia coli* cell

5 结 论

以 Mie 散射理论为基础,结合细菌生理学结构分析了水体细菌(大肠杆菌)的散射和吸收特性,构建了细菌多波长透射光谱的解析模型。所建模型不仅包含细菌散射特性的信息,而且还包含了吸收特性的信息,这是该模型的优势。使用该模型对大肠杆菌的光谱进行模拟,模拟光谱与实测光谱的残差值较低,说明模型能够准确地表征水体细菌的光谱特征。利用该模型对 250~750 nm 波段范围内的大肠杆菌的透射光谱进行解析,得到大肠杆菌的体积为 $4.6093 \mu\text{m}^3$,与文献报道的结果相吻合。计算得到的细菌浓度与平板计数法测得的细菌浓度的相对误差为 2.49%,这表明构建的解析模型能够准确获得细菌的特征信息。构建的水体细菌微生物多波长透射光谱解析模型不仅可为细菌微生物科学研究提供新的测量手段,而且可以为水体细菌微生物的快速识别与检测提供基础参数。

参 考 文 献

- [1] Parveen R, Saha S, Shamshuzzaman S, *et al.* Detection of uropathogens by using chromogenic media (hicrome UTI agar), CLED agar and other conventional media[J]. Faridpur Medical College Journal, 2011, 6(1): 46-50.
- [2] Esiobu N. Use of peptide nucleic acid probes for rapid detection and enumeration of viable bacteria in recreational waters and beach sand[M]//O'Connor L. Diagnostic bacteriology protocols. Totowa: Humana Press, 2006: 131-140.
- [3] Poltronieri P, Cimaglia F, de Lorenzis E, *et al.* Protein chips for detection of *Salmonella* spp. from enrichment culture[J]. Sensors, 2016, 16(4): 574.
- [4] Sohn M, Himmelsbach D S, Barton F E, *et al.* Fluorescence spectroscopy for rapid detection and classification of bacterial pathogens[J]. Applied Spectroscopy, 2009, 63(11): 1251-1255.
- [5] Yin Gaofang, Zhao Nanjing, Hu Li, *et al.* Classified measurement of phytoplankton based on characteristic fluorescence of photosynthetic pigments[J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(9): 0930005.
殷高方, 赵南京, 胡 丽, 等. 基于色素特征荧光光谱的浮游植物分类测量方法[J]. 光学学报, 2014, 34(9): 0930005.
- [6] Wang Shutao, Chen Dongying, Wei Meng, *et al.* Application of fluorescence spectroscopy and PSO-BP neural network in the detection of potassium sorbate concentration[J]. Chinese J Lasers, 2015, 42(5): 0515004.
王书涛, 陈东营, 魏 蒙, 等. 荧光光谱法和 PSO-BP 神经网络在山梨酸钾浓度检测中的应用[J]. 中国激光, 2015, 42(5): 0515004.
- [7] Sengupta A, Mujacic M, Davis E J. Detection of bacteria by surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2006, 386(5): 1379-1386.
- [8] Yang D, Ying Y. Applications of Raman spectroscopy in agricultural products and food analysis: a review[J]. Applied Spectroscopy Reviews, 2011, 46(7): 539-560.
- [9] Chen Yue, Wang Luwei, Tao Zhanhua, *et al.* Novel application of optical techniques: revealing the mechanism of germination of bacterial spores[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2015, 52(10): 100002.
陈 越, 王璐玮, 陶站华, 等. 光学技术的创新应用: 细菌芽孢萌发机理研究[J]. 激光与光电子学进展, 2015, 52(10): 100002.
- [10] Deng Yong, Luo Qingming, Lu Qiang. Analysis of single backscattering spectra for a two-layer scattering medium[J]. Acta Optica Sinica, 2006, 26(4): 595-599.

- 邓 勇, 骆清铭, 鲁 强. 双层散射介质的单次后向散射光谱分析[J]. 光学学报, 2006, 26(4): 595-599.
- [11] Katz A, Alimova A, Xu M, *et al.* Bacteria size determination by elastic light scattering[J]. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics, 2003, 9(2): 277-287.
- [12] Mourant J R, Campolat M, Brocke C, *et al.* Light scattering from cells: the contribution of the nucleus and the effects of proliferative status[J]. Journal of Biomedical Optics, 2000, 5(2): 131-137.
- [13] Murrell W G. Chemical composition of spores and spore structures, in the bacterial spores[M]. New York: Academic Press, 1969: 215-220.
- [14] Guo Yaojun. Spectrophotometric technique and its application in biochemistry[M]. Beijing: Science Press, 1987: 233-252.
郭尧君. 分光光度技术及其在生物化学中应用[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 233-252.
- [15] Wang Jiuyue, Zhao Nanjing, Duan Jingbo, *et al.* The study of rapid species identification of bacteria in water[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2015, 35(9): 2634-2638.
王久悦, 赵南京, 段静波, 等. 水体细菌微生物种类快速鉴别方法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2015, 35(9): 2634-2638.
- [16] Kerker M. The scattering of light and other electromagnetic radiation[M]. New York: Pergamon Press, 1969: 15-20.
- [17] Bohren C F, Huffman D R. Absorption and scattering of light by small particles[M]. New York: Wiley, 1983: 228-338.
- [18] Thormählen I, Straub J, Grigull U. Refractive index of water and its dependence on wavelength, temperature, and density[J]. Journal of Physical & Chemical Reference Data, 1985, 14(4): 933-945.
- [19] Alupoaei C E, Garcia-Rubio L H. Growth behavior of microorganisms using UV-Vis spectroscopy: *Escherichia coli* [J]. Biotechnology & Bioengineering, 2004, 86(2): 163-167.
- [20] Mattley Y D, Garcia-Rubio L H. Multiwavelength spectroscopy for the detection, identification and quantification of cells[C]. SPIE, 2001, 4206: 65-71.
- [21] Alupoaei C E, Olivares J A, García-Rubio L H. Quantitative spectroscopy analysis of prokaryotic cells: vegetative cell and spores[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2004, 19(8): 893-903.
- [22] Feng Mingchun, Xu Liang, Gao Minguang, *et al.* Optical properties research of *Bacillus subtilis* spores by Fourier transform infrared spectroscopy[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2012, 32(12): 3193-3196.
冯明春, 徐 亮, 高闽光 等. 傅里叶变换红外光谱对枯草芽孢杆菌的光学特性研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(12): 3193-3196.
- [23] Zhou Wen, Cao Wenxi, Li Cai, *et al.* Spectral scattering property of phytoplankton calculated by absorption coefficient and size distribution[J]. Acta Optica Sinica, 2008, 28(8): 1430-1433.
周 雯, 曹文熙, 李 彩, 等. 由吸收系数和粒度分布计算浮游植物的散射光谱特征[J]. 光学学报, 2008, 28(8): 1430-1433.
- [24] Sun Dujuan, Hu Yihua, Gu Youlin, *et al.* Determination and model construction of microbes' complex refractive index in far infrared band[J]. Acta Physica Sinica, 2013, 62(9): 094218.
孙杜娟, 胡以华, 顾有林 等. 微生物远红外波段复折射率测定及模型构建[J]. 物理学报, 2013, 62(9): 094218.
- [25] Buchanan R E. Bergey's manual of determinative bacteriology[M]. Beijing: Science Press, 1984: 382-385.
布坎南. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 382-385.