

# 基于多波长透射光谱法的水体细菌微生物检测能力初步研究

喻慧娟<sup>1,2,3</sup>, 赵南京<sup>1,3\*</sup>, 甘婷婷<sup>1,3</sup>, 段静波<sup>1,3</sup>, 胡玉霞<sup>1,2,3</sup>, 刘建国<sup>1,3</sup>, 刘文清<sup>1,3</sup>

1. 中国科学院环境光学与技术重点实验室, 中国科学院安徽光学精密机械研究所, 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** 搭建的水体细菌微生物多波长透射光谱快速测量实验系统, 实验获取了肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌在不同浓度下 220~900 nm 范围内的多波长透射光谱, 研究建立了三种细菌基于不同波长点及全光谱波段的浓度校准曲线, 计算了肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的检测限, 并与紫外-可见分光光度计测量分析结果进行了对比。结果表明, 实验系统与紫外-可见分光光度计测量光谱线性相关系数在 0.999 8 以上, 具有非常好的一致性, 且 30 次光谱信号采集时间仅需 15 s; 基于实验系统分析得到三种细菌在 220, 258, 300, 350, 400, 450, 500 和 550 nm 不同波长点以及全光谱波段的检测限结果均优于紫外-可见分光光度计, 且利用多波长透射光谱全光谱波段计算得到的细菌检测限均最低, 其中: 肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的检测限分别为  $1.60 \times 10^4$ ,  $1.06 \times 10^4$  和  $1.16 \times 10^4$  cells · mL<sup>-1</sup>。研究结果为进一步发展水体细菌微生物的多波长透射光谱快速定量检测技术提供了基础数据。

**关键词** 多波长透射光谱; 细菌微生物; 检测限; 饮用水安全

**中图分类号:** O433.1 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2018)01-0001-07

## 引言

水体中的病原菌如大肠杆菌、肺炎克雷伯菌等常造成传染性的肠道疾病, 引起疾病的爆发流行, 危害人们的身体健康。

水体细菌微生物现有检测方法主要包括生物学法和光谱学法两大类, 其中生物学检测方法中核酸探针法<sup>[1]</sup>、酶联免疫法<sup>[2]</sup>、生物传感器检测法<sup>[3]</sup>等主要针对细菌自身的生物学特性进行检测, 准确度高, 但存在样品预处理繁琐、实验操作复杂、检测周期长等不足, 难以实现水体细菌的快速在线监测。近年来, 光谱学检测技术快速发展, 荧光光谱法<sup>[4]</sup>、散射光谱法<sup>[5]</sup>、拉曼光谱法<sup>[6]</sup>、傅里叶变换红外光谱法<sup>[7-8]</sup>、紫外-可见透射光谱法<sup>[9]</sup>等具有快速、实时、无损检测细菌微生物等特点, 逐渐成为细菌微生物在线检测的重要手段。因此, 发展基于光谱学方法的水体细菌微生物快速在线监测技术, 实现水体细菌微生物的在线监测与监控, 对保障人们生活用水安全、减少污染事故发生以及保护人体健康具有重要

意义。

紫外-可见多波长透射光谱法测量简便、无需试剂, 其光谱信息特征涵盖了细菌微生物的物理结构和化学组成<sup>[10]</sup>, 能够表征细菌微生物的粒径尺寸分布、内部组成和颗粒结构等的定量信息<sup>[11]</sup>。目前主要使用紫外-可见分光光度计获取光谱, 测量耗时且灵敏度较低, 主要用于实验室分析, 不适用于野外现场的快速在线监测/监控。本工作基于搭建的多波长透射光谱快速测量实验系统, 实验研究了肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的检测能力, 并与紫外-可见分光光度计测量结果进行了对比分析, 取得了较好的效果。

## 1 实验部分

### 1.1 材料

蛋白胨(生物试剂, 北京奥博星生物技术有限公司); 氯化钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 牛肉浸膏(生化试剂, 国药集团化学试剂有限公司); 牛肉膏蛋白胨培养基(成分及质量分数: 蛋白胨: 0.5%, 氯化钠: 0.5%, 牛肉

收稿日期: 2017-02-17, 修订日期: 2017-06-03

基金项目: 安徽省自然科学基金项目(1508085JGD02, 1608085QF137), 安徽省科技重大专项项目(15CZZ04125), 国家自然科学基金项目(61378041, 61705237)资助

作者简介: 喻慧娟, 女, 1992年生, 中国科学院安徽光学精密机械研究所硕士研究生 e-mail: 9242165713@qq.com

\* 通讯联系人 e-mail: njzhao@aiofm.ac.cn

膏: 0.3%); 无水乙醇(分析纯, 上海泰坦科技股份有限公司); 去离子水(电阻 18.25 M $\Omega$ )。

实验所用菌种: 肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae* CICC 21106)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* CICC 21648)、大肠杆菌(*Escherichia coli* CICC 10389)购于中国工业微生物菌种保藏中心。

## 1.2 仪器

实验中多波长透射光谱采集分别采用紫外-可见分光光度计(UV2550型, 岛津)和搭建的多波长透射光谱快速测量实验系统(光源: LSH-D30T75 卓立汉光; 10 mm $\times$ 50 mm 石英样品池; 透镜; 分光镜; AVANTES 多通道光栅光谱仪: AvaSpec-ULS2048-4-USB2), 如图 1 所示; HP400G 型智能光照培养箱(武汉瑞华仪器设备有限公司); PHS-3C 型精密 pH 计(上海雷磁仪器厂); YX-280 型立式压力蒸汽灭菌锅(合肥华泰医疗有限公司); H-1650R 型低温高速离心机(上海利鑫离心机有限公司); SW-CJ-1D 型超净工作台(上虞艾科仪器设备有限公司)。

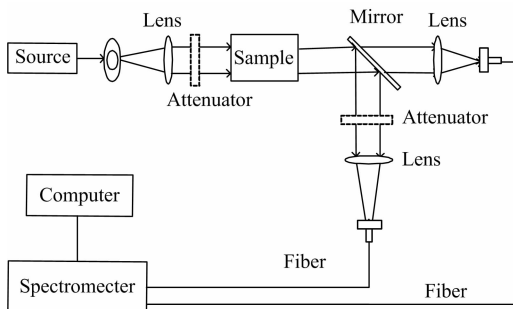


图 1 多波长透射光谱快速测量实验系统原理图  
Fig. 1 Schematic of rapid measurement of multi-wavelength transmission spectra

## 1.3 方法

### 1.3.1 细菌培养

首先对菌种进行活化处理, 取 1 mL 活化菌液接种于牛肉膏蛋白胨液体培养基中, 于 37  $^{\circ}\text{C}$  智能光照培养箱中恒温培养 20 h。吸取 10 mL 菌液于离心管中, 加入 5 mL 无菌去离子水, 12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min, 吸取上清液, 加入无菌去离子水进行清洗, 清洗三次后加入无菌去离子水制备成细菌悬液。

### 1.3.2 光谱采集

紫外-可见分光光度计光谱采集: 以去离子水作为参比溶液, 光谱测量范围为 220~900 nm, 扫描速度为中速, 光谱采集间隔为 1 nm, 利用紫外-可见分光光度计分别测量不同浓度的肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌菌悬液的透射光谱, 每次测量重复三次, 取平均光谱作为最后测量结果。

实验系统光谱采集: 以去离子水作为参比溶液, 光谱测量范围为 220~900 nm, 积分时间设置为系统满量程的 90%, 利用实验系统分别测量不同浓度的肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌菌悬液的透射光谱, 利用实验系统进行 30 次光谱信号测量, 取平均光谱作为最后测量结果。

## 2 结果与讨论

### 2.1 多波长透射光谱获取

选取不同浓度的肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌菌悬液, 分别利用实验系统和紫外-可见分光光度计进行 220~900 nm 波段透射光谱测量, 并利用平板计数法分别获取不同菌悬液的浓度值。对实验系统与紫外-可见分光光度计测得的结果进行对比分析, 其中不同浓度的金黄色葡萄球菌透射光谱如图 2 所示。

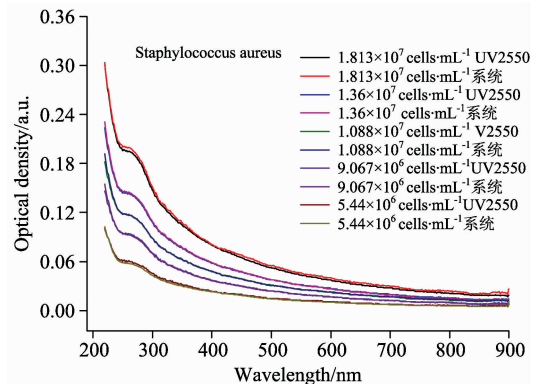


图 2 实验系统和紫外-可见分光光度计(UV2550)对不同浓度金黄色葡萄球菌测得的透射光谱对比图

Fig. 2 Comparison between the transmission spectra of different concentrations of *Staphylococcus aureus* measured by the system and the ultraviolet-visible spectrophotometer (UV2550)

在 220~900 nm 波段范围内, 实验系统和紫外-可见分光光度计测得的透射光谱具有很好的一致性, 其中 220~400 nm 波段光密度值较高, 主要是细菌细胞内部核酸和蛋白质等化学组分对光的吸收贡献; 400~900 nm 波段光谱较为平缓, 光密度值较低, 主要是细胞内部的细胞器以及细菌整体颗粒对光的散射贡献。为了进一步对比实验系统和紫外-可见分光光度计测量光谱一致性, 将两种仪器测得的浓度分别为  $1.813 \times 10^7$  和  $1.360 \times 10^7$   $\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$  的金黄色葡萄球菌透射光谱进行线性拟合, 结果如图 3 所示。

从图 3 可以看出, 浓度为  $1.813 \times 10^7$  和  $1.360 \times 10^7$   $\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$  的金黄色葡萄球菌透射光谱线性拟合相关系数分别为 0.999 8 和 0.999 9, 两种仪器测量光谱具有很好的一致性。设置紫外-可见分光光度计采样间隔为 1 nm, 单条光谱测量时间约为 1.5 min; 搭建实验系统重复采集 30 次光谱信号, 得到平均透射光谱的单次测量时间也仅约为 15 s, 与紫外-可见分光光度计相比, 实验系统能够更为快速地实现光谱获取。

### 2.2 基于不同波长点的检测限分析

根据国际纯粹与应用化学联合会(IU-PAC)对检测限的定义<sup>[12]</sup>, 多波长透射光谱法对水体细菌微生物分析的检测限为式(1)

$$C_L = \frac{KS_b}{M} \tag{1}$$

其中  $C_L$  为待检细菌的检测限,  $M$  为校准曲线斜率,  $S_b$  为 10 次空白样的测量标准偏差, 置信因子  $K$  取 3, 置信度约为 90%。

由图 2 金黄色葡萄球菌的透射光谱可以看出, 大于 550

nm 波段的透射光谱较为平缓, 光密度值较低, 不同浓度菌悬液光密度值较为接近, 即大于 550 nm 波段的透射光谱灵敏度较低, 本实验不对该波段的透射光谱进行检测限分析。将由实验系统和紫外-可见分光光度计测得的不同浓度肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌透射光谱在 220, 258, 300, 350, 400, 450, 500 和 550 nm 波长处的光密度值

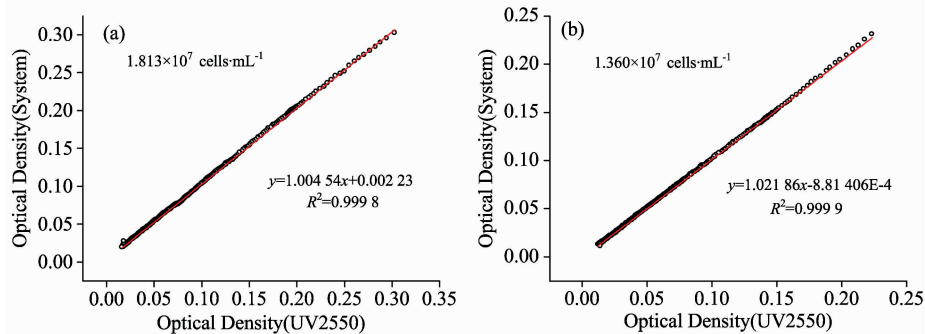


图 3 不同浓度金黄色葡萄球菌光密度值线性拟合

(a):  $1.813 \times 10^7 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; (b):  $1.360 \times 10^7 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$

Fig. 3 Linear fitting of light density value of *Staphylococcus aureus* with different concentrations

(a):  $1.813 \times 10^7 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; (b):  $1.360 \times 10^7 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$

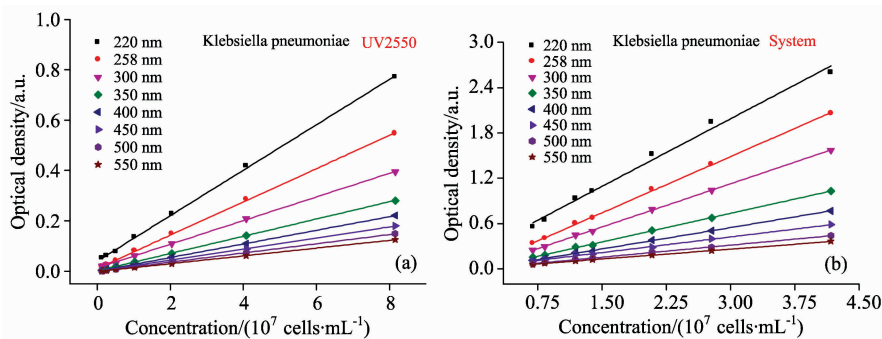


图 4 肺炎克雷伯菌校准曲线

(a): 紫外-可见分光光度计(UV2550); (b): 实验系统

Fig. 4 The calibration curve of *Klebsiella pneumoniae*

(a): The ultraviolet-visible spectrophotometer (UV2550); (b): The experimental system

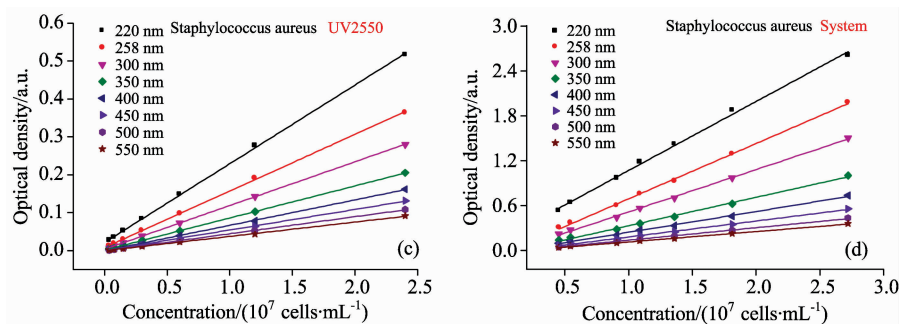


图 5 金黄色葡萄球菌校准曲线

(c): 紫外-可见分光光度计(UV2550); (d): 实验系统

Fig. 5 The calibration curve of *Staphylococcus aureus*

(c): The ultraviolet-visible spectrophotometer (UV2550); (d): The experimental system

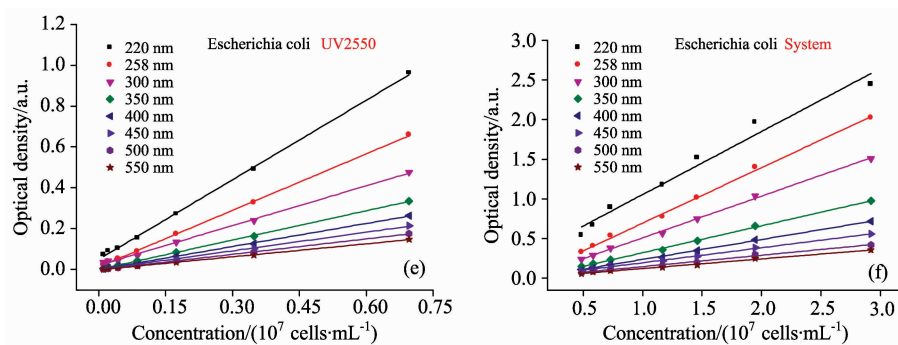


图 6 大肠杆菌校准曲线

(e): 紫外-可见分光光度计(UV2550); (f): 实验系统

Fig. 6 The calibration curve of *Escherichia coli*

(e): The ultraviolet-visible spectrophotometer (UV2550); (f): The experimentalsystem

对菌悬液的浓度分别进行最小二乘拟合,得到的两种仪器在上述几个波长点处的三种细菌校准曲线分别如图 4、图 5 和图 6 所示。可以看出,实验系统和紫外-可见分光光度计测得的肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌光密度值与浓度之间具有非常好的线性关系,并且波长越小,校准曲线的斜率越大。

实验中以去离子水为空白样,进行平行测定 10 次后分

别计算空白样在 220, 258, 300, 350, 400, 450, 500 和 550 nm 的标准偏差,并利用检测限公式分别计算紫外-可见分光光度计和实验系统对肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌在上述几个波长点处的检测限。将不同波长处肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的校准曲线及计算的检测限列于表 1、表 2 和表 3 中。

表 1 肺炎克雷伯菌校准曲线及检测限

Table 1 The calibration curve and the detection limit of *Klebsiella pneumoniae*

波长/nm	仪器	空白样标准偏差	校准曲线	线性相关系数 $R^2$	检测限/( $10^5$ cells · mL $^{-1}$ )
220	UV2550	0.000 6	$Y=0.090 2x+0.040 2$	0.999 4	1.996
	系统	0.001 0	$Y=0.597 2x+0.196 4$	0.990 5	0.502
258	UV2550	0.000 5	$Y=0.066 0x+0.010 9$	0.999 7	2.273
	系统	0.000 4	$Y=0.496 3x-0.002 1$	0.999 5	0.242
300	UV2550	0.001 6	$Y=0.046 9x+0.013 2$	0.999 5	3.838
	系统	0.000 4	$Y=0.382 0x-0.019 4$	0.999 7	0.314
350	UV2550	0.000 4	$Y=0.034 3x+0.001 7$	0.999 9	3.499
	系统	0.000 3	$Y=0.252 8x-0.023 8$	0.999 2	0.356
400	UV2550	0.000 3	$Y=0.027 1x-0.000 1$	0.999 9	3.321
	系统	0.000 4	$Y=0.188 4x-0.018 2$	0.998 9	0.637
450	UV2550	0.000 5	$Y=0.022 0x-0.000 2$	0.999 9	6.818
	系统	0.000 9	$Y=0.138 2x+0.008 6$	0.996 4	1.954
500	UV2550	0.000 4	$Y=0.018 3x-0.001 2$	0.999 8	6.557
	系统	0.000 8	$Y=0.106 1x-0.004 3$	0.999 5	2.262
550	UV2550	0.000 5	$Y=0.015 5x-0.001 2$	0.999 8	9.677
	系统	0.000 6	$Y=0.087 4x-0.001 1$	0.999 6	2.059

表 2 金黄色葡萄球菌校准曲线及检测限

Table 2 The calibration curve and the detection limit of *Staphylococcus aureus*

波长/nm	仪器	空白样标准偏差	校准曲线	线性相关系数 $R^2$	检测限/( $10^5$ cells · mL $^{-1}$ )
220	UV2550	0.000 6	$Y=0.207 8x+0.021 3$	0.999 6	0.866
	系统	0.001 0	$Y=0.923 9x+0.147 5$	0.997 0	0.325
258	UV2550	0.000 5	$Y=0.149 6x+0.007 4$	0.999 8	1.003
	系统	0.000 4	$Y=0.740 5x-0.048 9$	0.998 7	0.162
300	UV2550	0.000 6	$Y=0.115 5x+0.003 2$	0.999 9	1.558
	系统	0.000 4	$Y=0.566 5x-0.049 4$	0.998 3	0.212

续表 2

350	UV2550	0.000 4	$Y=0.084 7x+0.001 1$	0.999 9	1.417
	系统	0.000 3	$Y=0.380 2x-0.048 5$	0.996 7	0.237
400	UV2550	0.000 3	$Y=0.067 2x-0.000 8$	0.999 7	1.339
	系统	0.000 4	$Y=0.278 7x-0.034 5$	0.996 8	0.431
450	UV2550	0.000 5	$Y=0.054 3x-0.000 2$	0.999 7	2.762
	系统	0.000 9	$Y=0.213 6x-0.032 5$	0.997 5	1.264
500	UV2550	0.000 4	$Y=0.045 0x-0.000 8$	0.999 5	2.667
	系统	0.000 8	$Y=0.167 2x-0.028 9$	0.996 6	1.435
550	UV2550	0.000 5	$Y=0.037 8x-0.000 6$	0.999 1	3.968
	系统	0.000 6	$Y=0.139 0x-0.024 0$	0.998 0	1.295

表 3 大肠杆菌校准曲线及检测限

Table 3 The calibration curve and the detection limit of Escherichia coli

波长 /nm	仪器	空白样标准偏差	校准曲线	线性相关系数 $R^2$	检测限 /( $10^5$ cells · mL <sup>-1</sup> )
220	UV2550	0.000 6	$Y=1.298 4x+0.049 8$	0.999 0	1.386
	系统	0.001 0	$Y=0.794 8x+0.260 1$	0.971 7	0.377
258	UV2550	0.000 5	$Y=0.922 1x+0.013 1$	0.999 5	1.627
	系统	0.000 4	$Y=0.699 8x-0.005 4$	0.997 5	0.171
300	UV2550	0.000 6	$Y=0.649 6x+0.020 4$	0.997 9	2.771
	系统	0.000 4	$Y=0.526 1x-0.017 2$	0.998 1	0.228
350	UV2550	0.000 4	$Y=0.478 1x+0.001 0$	0.999 7	2.510
	系统	0.000 3	$Y=0.340 9x-0.020 1$	0.998 3	0.264
400	UV2550	0.000 3	$Y=0.376 4x-0.000 3$	0.999 5	2.391
	系统	0.000 4	$Y=0.250 2x-0.011 0$	0.998 3	0.480
450	UV2550	0.000 5	$Y=0.304 6x+0.000 1$	0.999 3	4.924
	系统	0.000 9	$Y=0.189 7x+0.005 3$	0.997 0	1.423
500	UV2550	0.000 4	$Y=0.252 4x-0.001 3$	0.999 2	4.754
	系统	0.000 8	$Y=0.143 7x+0.002 9$	0.992 3	1.670
550	UV2550	0.000 5	$Y=0.211 6x-0.001 1$	0.999 2	7.089
	系统	0.000 6	$Y=0.121 1x+0.001 4$	0.990 2	1.486

由表 1、表 2 和表 3 可以看出，实验系统得到的肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌在 220, 258, 300, 350, 400, 450, 500 和 550 nm 八个波长点处的检测限均低于相应波长点处紫外-可见分光光度计值，并且实验系统对肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌在波长 258 nm 处的检测限分别为  $2.42 \times 10^4$ ,  $1.62 \times 10^4$  和  $1.71 \times 10^4$  cells · mL<sup>-1</sup>，均低于其他波长点处的检测限值。

2.3 基于全光谱波段的检测限分析

细菌微生物多波长透射光谱产生于光与细菌外部结构与内部组分等的相互作用，充分反映了细菌微生物对光的吸收和散射作用，利用 220~900 nm 全光谱波段研究了细菌微生物的检测限。将实验系统和紫外可见分光光度计测得的不同浓度肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的总光密度值对菌悬液的浓度分别进行最小二乘拟合，建立的三种细菌校准曲线分别如图 7、图 8 和图 9 所示。

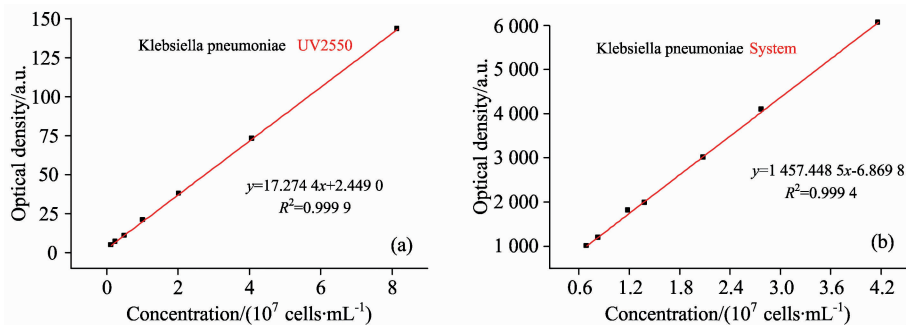


图 7 肺炎克雷伯菌校准曲线

(a): 紫外-可见分光光度计(UV2550); (b): 实验系统

Fig. 7 The calibration curve of Klebsiella pneumoniae

(a): The ultraviolet-visible spectrophotometer (UV2550); (b): The experimental system

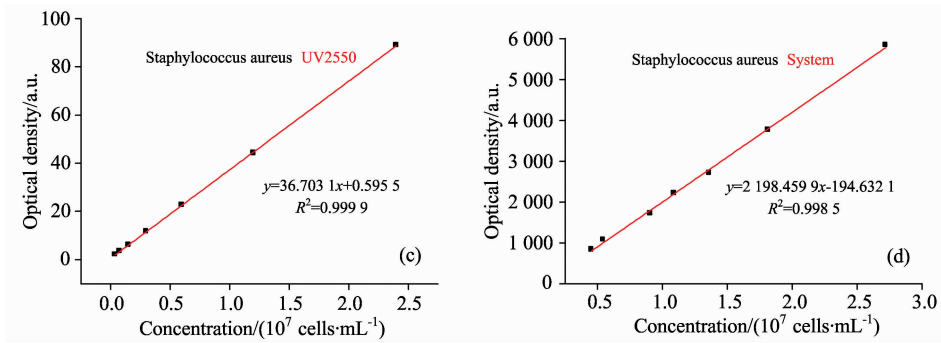


图 8 金黄色葡萄球菌校准曲线

(c): 紫外-可见分光光度计(UV2550); (d): 实验系统

Fig. 8 The calibration curve of *Staphylococcus aureus*

(c): The ultraviolet-visible spectrophotometer (UV2550); (d): The experimental system

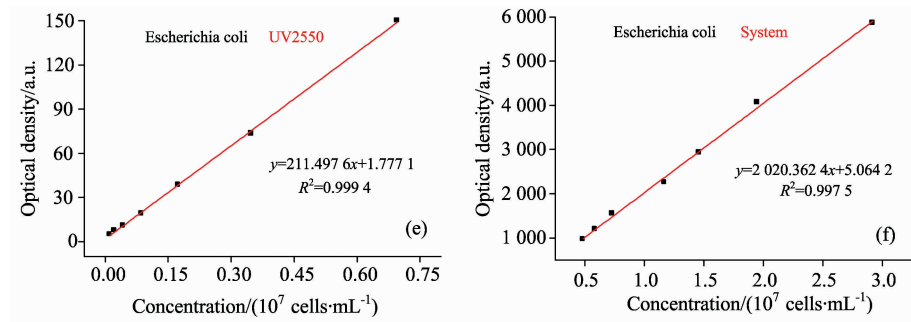


图 9 大肠杆菌校准曲线

(e): 紫外-可见分光光度计(UV2550); (f): 实验系统

Fig. 9 The calibration curve of *Escherichia coli*

(e): The ultraviolet-visible spectrophotometer (UV2550); (f): The experimental system

实验中以去离子水为空白样, 平行测定 10 次后, 紫外-可见分光光度计测得的空白样总光密度的标准偏差为 0.072 1, 实验系统测得的空白样总光密度的标准偏差为

0.779 3, 分别计算紫外-可见分光光度计和实验系统对肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的检测限, 结果如表 4 所示。

表 4 细菌校准曲线及检测限

Table 4 The calibration curve and the detection limit of bacterial

细菌	仪器	校准曲线	线性相关系数 $R^2$	检测限 / $(10^5 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1})$
肺炎克雷伯菌	UV2550	$Y=17.2744x+2.4490$	0.9999	1.252
	实验系统	$Y=1457.4485x-6.8698$	0.9994	0.160
金黄色葡萄球菌	UV2550	$Y=36.7031x+0.5955$	0.9999	0.589
	实验系统	$Y=2198.4599x-194.6321$	0.9985	0.106
大肠杆菌	UV2550	$Y=211.4976x+1.7771$	0.9994	1.023
	实验系统	$Y=2020.3624x+5.0624$	0.9975	0.116

由表 4 可以看出, 由紫外-可见分光光度计计算得到的肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌检测限分别为  $1.252 \times 10^5$ ,  $5.89 \times 10^5$  和  $1.023 \times 10^5 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 而实验系统对应三种细菌的检测限分别为  $1.60 \times 10^4$ ,  $1.06 \times 10^4$  和  $1.16 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 相比于 258 nm 波长点处的检测限数值也更低。说明实验系统得到的三种细菌检测限值均优于紫外-可见分光光度计分析结果, 且利用多波长透射光谱全

光谱波段计算分析细菌微生物的检测能力更具优势。

### 3 结 论

基于搭建的水体细菌微生物多波长透射光谱快速测量实验系统, 获得了不同浓度肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌及大肠杆菌 220~900 nm 波段范围内透射光谱, 研究了三种细

菌在不同波长点处以及全光谱波段细菌微生物的检测限,并与紫外-可见分光光度计测量结果进行了对比分析。研究结果表明,实验系统不仅可以快速准确地获取细菌微生物的多波长透射光谱,相比于紫外-可见分光光度计具有更高的灵

敏度,且多波长透射光谱全光谱波段具有更好的检测能力。研究结果为进一步发展水体细菌微生物的多波长透射光谱快速定量检测技术提供了基础数据。

## References

- [ 1 ] LIANG Jin-ji, SONG De-han, LI Yun-ci(梁金姬, 宋德涵, 李韵辞). Shandong Chemical Industry(山东化工), 2015, 44(10): 41.
- [ 2 ] XUE Shi-peng(薛士鹏). China Practical Medicine(中国实用医药), 2015, (18): 287.
- [ 3 ] JIANG Xue-song, XU Lin-yun, LU Li-qun(蒋雪松, 许林云, 卢利群). Food Science(食品科学), 2013, 34(23): 357.
- [ 4 ] Awad F, Ramprasath C, Mathivanan N, et al. International Scholarly Research Notices, 2014, (5): 7.
- [ 5 ] Banada P P, Huff K, Bae E, et al. Biosensors and Bioelectronics, 2009, 24(6): 1685.
- [ 6 ] YANG Ning, ZHANG Rong-biao, ZHAO Yu-qi(杨宁, 张荣标, 赵雨琦). Chinese Journal of Scientific Instrument(仪器仪表学报), 2012, 33(2): 435.
- [ 7 ] WANG Jing, YANG Li-jun, LI Zhao-jie(王静, 杨丽君, 李兆杰). Microbiology China(微生物学通报), 2012, 39(12): 1844.
- [ 8 ] YANG Li-jun, WANG Jing, LI Zhao-jie(杨丽君, 王静, 李兆杰). Food Science(食品科学), 2013, 34(8): 190.
- [ 9 ] Smith J M, Huffman D E, Acosta D, et al. Journal of Biomedical Optics, 2012, 17(10): 1070021.
- [ 10 ] Alupoai C E, Garcia-Rubio L H. Biotechnology and Bioengineering, 2004, 86(2): 163.
- [ 11 ] Serebrennikova Y M, Roth A, Huffman D E, et al. Applied Spectroscopy, 2013, 67(1): 86.
- [ 12 ] YE Dong-jun(叶洞君). Henan Science & Technology(河南科技), 2013, (4): 197.

## Analysis of Detection Ability of Bacteria in Water Based on Multi-Wavelength Transmission Spectroscopy Technique

YU Hui-juan<sup>1, 2, 3</sup>, ZHAO Nan-jing<sup>1, 3\*</sup>, GAN Ting-ting<sup>1, 3</sup>, DUAN Jing-bo<sup>1, 3</sup>, HU Yu-xia<sup>1, 2, 3</sup>, LIU Jian-guo<sup>1, 3</sup>, LIU Wen-qing<sup>1, 3</sup>

1. Key Laboratory of Environmental Optics and Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China
2. University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China
3. Key Laboratory of Optical Monitoring Technology for Environment, Anhui Province, Hefei 230031, China

**Abstract** Based on a system for rapid measurement of multi-wavelength transmission spectra of bacteria, multi-wavelength transmission spectra of *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in different concentrations of 220 to 900nm were obtained. The calibration curves of three kinds of bacteria based on the different wavelengths and the whole spectral band were established and the detection limits of *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were calculated. The results were compared with those measured by ultraviolet-visible spectrophotometer. The results showed that the linear correlation coefficient between the experimental system and the ultraviolet-visible spectrophotometer was above 0.999 8. In addition, single measurement time of the average transmission spectrum measured by the system was 15 s, which was 30 times of the signal acquisition. By analysis based on the experimental system, the detection limits of three kinds of bacteria at different wavelengths of 220, 300, 350, 400, 500, 550 nm and full spectrum were all better than those of ultraviolet-visible spectrophotometer. And the detection limit calculated by the full spectrum of the multi-wavelength transmission spectra was the lowest. The detection limit of *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were  $1.60 \times 10^4$ ,  $1.06 \times 10^4$  and  $1.16 \times 10^4$  cells  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>. The results provide the basic data for the further development of the rapid and quantitative detection technology of the multi-wavelength transmission spectra of bacteria in water.

**Keywords** Multi-wavelength transmission spectroscopy; Bacterial; Detection limit; Drinking water security

\* Corresponding author

(Received Feb. 17, 2017; accepted Jun. 3, 2017)