

## 傅里叶变换红外光谱对枯草芽孢杆菌的光学特性研究

冯明春, 徐亮\*, 高闽光, 焦洋, 魏秀丽, 金岭, 程巳阳, 李相贤, 冯书香

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

**摘要** 使用傅里叶变换红外光谱(FTIR)技术, 测量了两种不同浓度的枯草芽孢杆菌的红外透过率谱, 根据朗伯-比尔定律计算出它们的质量消光截面, 通过算出复折射率的虚部, 再使用 KK(Kramers-Kronig)关系, 导出复折射率的实部, 并对实验结果作了分析和讨论。通过研究枯草芽孢杆菌复折射率的测量和分析方法, 对于进一步研究生物气溶胶的吸收和散射特性、拓宽生物气溶胶的测量和遥测技术方法, 具有重要的意义。

**关键词** 傅里叶变换红外光谱; 枯草芽孢杆菌; 光学特性

**中图分类号:** O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2012)12-3193-04

### 引言

具有生命的气溶胶粒子(包括空气中的细菌、真菌、病毒等微生物粒子)和活性粒子(花粉、孢子等)以及由生命活性的机体所释放到空气中的各种粒子统称为生物气溶胶<sup>[1,2]</sup>。生物气溶胶是大气气溶胶的一个重要组成部分, 在大气中的扩散、传播会引发人类的急慢性疾病以及动植物疾病。生物气溶胶研究涉及多种学科, 与各个领域都有密切关系, 其对于空气污染、环境保护、工农业生产以及人类健康的影响都已成为今后大气气溶胶科学研究的重要科学问题之一。

生物气溶胶采样中的关键问题是如何保持其活性。大气中微生物活性的主要风险是脱水、紫外辐射、温度, 还有气体和污染物的行为等。总体上来说, 生物气溶胶的存活主要取决于停留时间。因此, 生物气溶胶采样最基本的要求是保证所采集微生物的活性, 并能尽快使之生长, 免受外界不利因素的损伤。

为了减少采样中的误差和活性损失, 近年来开发了一些具有应用前景的在线采集和分析技术, 如自动拉曼光谱<sup>[3]</sup>, 时间飞行质谱<sup>[4]</sup>等, 但这些技术所能测定的生物气溶胶的粒径范围有限。

傅里叶变换红外光谱技术由于其自身独特的很多优势<sup>[5]</sup>, 在气象及环境科学、石油化工、地质矿产、农业及生命医药科学等很多领域取得了广泛应用<sup>[5,6]</sup>。近年来, 国外

有关人员采用傅里叶变换红外光谱技术开展了对生物气溶胶的被动红外遥测实验, 其研究表明被动红外遥测生物气溶胶方法的可行性<sup>[7-10]</sup>, 国内也开展了这方面的研究工作<sup>[11,12]</sup>, 但相对较少。傅里叶变换红外光谱技术, 能够解释生物气溶胶污染的来源和实现有害生物气溶胶的预警。本工作采用 FTIR 技术, 根据测量的枯草芽孢杆菌的透过率谱, 使用文献<sup>[13]</sup>分析方法, 计算其复折射率的虚部, 使用 KK(Kramers-Kronig)关系<sup>[14]</sup>, 求出复折射率的实部  $n_r$ 。

### 1 基本原理

#### 1.1 质量消光截面

质量消光截面是指单位质量物质的消光截面, 它是反映物质消光性能的一个重要参数。根据朗伯-比尔(Lambert-Beer)定律, 在任一波数处, 被测物质对光的消光遵从以下公式

$$I(\nu) = I_0(\nu)e^{-k(\nu)L} \quad (1)$$

式中,  $I(\nu)$  为物质消光后的光强,  $I_0(\nu)$  为输入光强;  $k$  为单位质量物质的消光截面, 单位为  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ;  $\rho$  为被测物质的密度, 单位为  $\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ ;  $L$  为总的消光光程(样品厚度), 单位为  $\text{m}$ 。

令

$$T(\nu) = \frac{I(\nu)}{I_0(\nu)} = e^{-k(\nu)L} \quad (2)$$

则式(1)简化为

收稿日期: 2012-02-20, 修订日期: 2012-05-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(40905011, 41105022)和中国科学院知识创新工程重要方向项目(Y022091131)资助

作者简介: 冯明春, 1980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: mcfeng@aiofm.ac.cn

\* 通讯联系人 e-mail: xuliang@aiofm.ac.cn

$$I(\nu) = I_0(\nu)T(\nu) \quad (3)$$

式中:  $T$  为测量光程内物质的透过率, 其中: 消光系数  $\alpha(\nu)$

$$= \frac{\ln\left(\frac{1}{T}\right)}{L} = k(\nu)\rho, \text{ 单位为 } \text{cm}^{-1}.$$

## 1.2 复折射率

根据复折射率的虚部  $n_i$  计算公式

$$n_i(\nu) = \frac{\lambda \ln(1/T)}{4\pi L} = \frac{\alpha(\nu)}{4\pi\nu} \quad (4)$$

即

$$\alpha(\nu) = 4\pi n_i(\nu) \quad (5)$$

其中  $\lambda$  是波长,  $L$  是物质的等效光程,  $I_0$  是输入光强,  $I$  是物质消光后的光强.  $L$  由式(6)求得

$$L = \frac{\text{溶液浓度} \times \text{路径长}}{\text{密度}} \quad (6)$$

其中路径长是滴入锗片上的溶液体积除以锗片面积, 由于溶液浓度  $c$  和密度  $\rho$  都已知, 可以求出等效厚度  $L$ , 然后把  $L$  代入式(4), 根据透过率  $T(\nu)$ , 以及波长  $\lambda$ , 就可以算出复折射率的虚部  $n_i$ .

当函数是因果关系时, 则响应函数的实部和虚部就不是独立的, 根据线性无源响应系统的 KK(Kramers-Kronig)关系<sup>[14]</sup>, 复折射率的实部  $n_r$

$$n_r(E) = 1 + \frac{2}{\pi} P \int_0^{\infty} \frac{E' n_i(E')}{(E')^2 - E^2} dE' \quad (7)$$

其中  $E$  是光子能量,  $P$  是柯西主值. 把  $n_i$  的表达式代入式(7), 再通过积分, 可以计算出复折射率的实部  $n_r$ .

## 2 实验部分

### 2.1 溶液铸膜

分别把 0.064 4 和 0.365 4 g 枯草芽孢杆菌(密度  $\rho=1.2 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ )溶解在 50 mL 的蒸馏水中, 溶液体积浓度分别为  $c=1.288$  和  $7.308 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 然后将溶液滴在锗晶片(直径 3 cm)上, 采用自然挥发即得到薄膜. 在锗晶片上成膜后直接测定. 锗晶体的长波透光限与温度、厚度、纯度密切相关, 很纯的锗的长波透光范围可到微波区. 具体操作如下: 对于每种体积浓度, 分别在锗晶片上滴入枯草芽孢杆菌溶液 0.2 mL, 根据滴入的溶液量, 可以计算出锗晶片上枯草芽孢杆菌的质量, 分别为 0.257 6 和 1.461 6 mg.

### 2.2 实验仪器

采用 TENSOR27 傅里叶变换红外光谱仪, 使用快速响应的液氮制冷型 MCT(mercury cadmium telluride)探测器, 分辨率为  $1 \text{ cm}^{-1}$ , 探测波段为  $400 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$ , 光阑为 1 mm, 扫描次数为 64.

## 3 结果与讨论

### 3.1 质量消光截面的计算

图 1 为枯草芽孢杆菌在浓度  $c=1.288 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 质量 0.257 6 mg 的背景谱和消光谱.

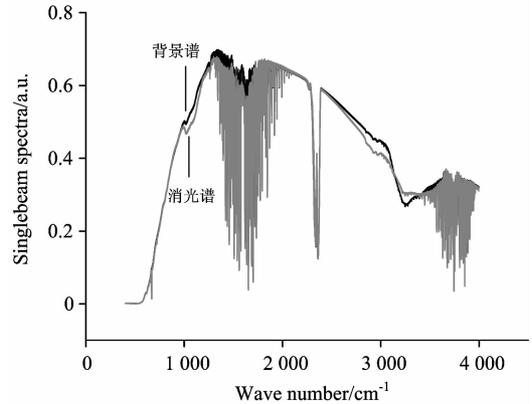


Fig. 1 The single spectrum of *B. subtilis* spores from  $400$  to  $4000 \text{ cm}^{-1}$

根据朗伯-比尔定律计算了枯草芽孢杆菌的质量消光截面  $k(\nu)(\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1})$ , 结果如图 2 所示.

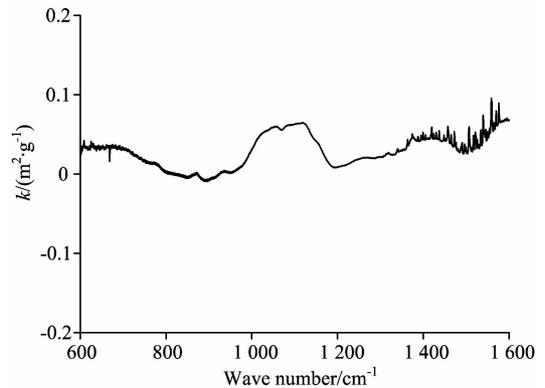


Fig. 2 The mass extinction cross section of *B. subtilis* spores  $600 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$

根据复折射率的虚部  $n_i$  和实部  $n_r$  公式, 计算了枯草芽孢杆菌的复折射率, 其结果如图 3 所示.

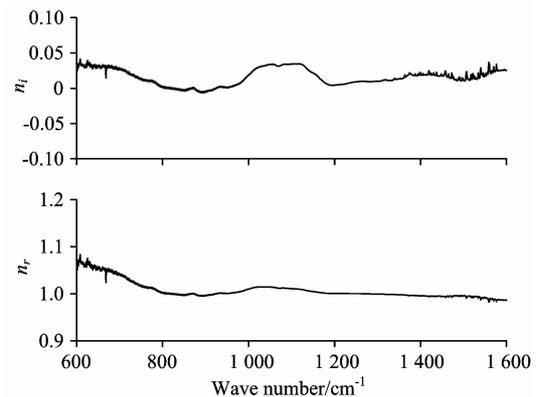


Fig. 3 The complex refractive index of *B. subtilis* spores  $600 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$

分析了枯草芽孢杆菌在浓度  $c=7.308 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 质量 0.365 4 mg 时质量消光截面  $k(\nu)(\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1})$ , 复折射率的虚部  $n_i$  和实部  $n_r$ . 图 4 是这种浓度下的背景谱和消光谱.

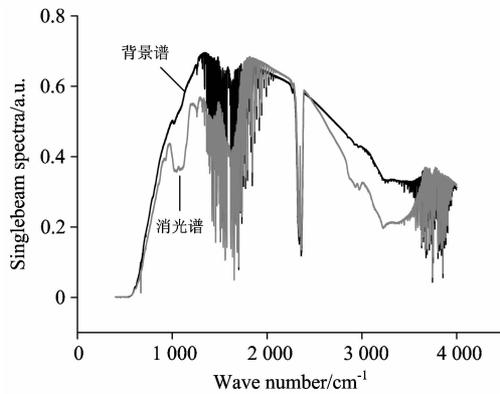


Fig. 4 The single spectrum of *B. subtilis* spores 400~4 000 cm<sup>-1</sup>

图 5 和 6 分别是这种浓度下( $c=7.308 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )的质量消光截面  $k(\nu)$ ( $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ )和复折射率的虚部  $n_i$  和实部  $n_r$ 。

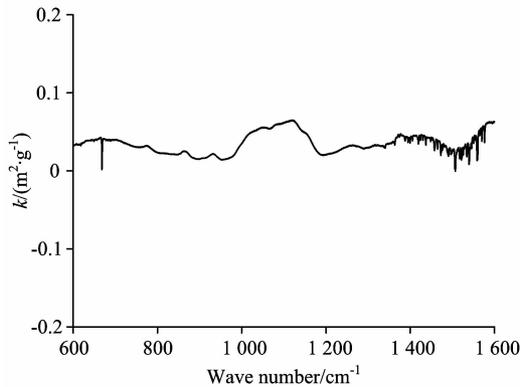


Fig. 5 The mass extinction cross section of *B. subtilis* spores 600~1 600 cm<sup>-1</sup>

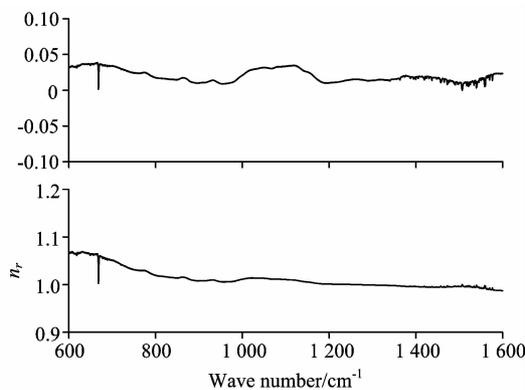


Fig. 6 The complex refractive index of *B. subtilis* spores 600~1 600 cm<sup>-1</sup>

根据朗伯-比尔定律和复折射率的计算公式,计算了两种不同浓度的质量消光截面  $k(\nu)$ ( $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ )和复折射率的虚部  $n_i$  和实部  $n_r$ 。同时也对这两种不同浓度下的质量消光截面和复折射率的  $n_i$  和实部  $n_r$  进行了比较,比较结果如图 7—图 9 所示。

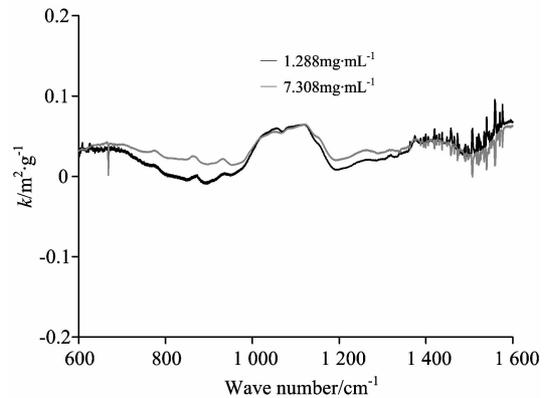


Fig. 7 The mass extinction cross section of two different concentrations of *B. subtilis* spores 600~1 600 cm<sup>-1</sup>

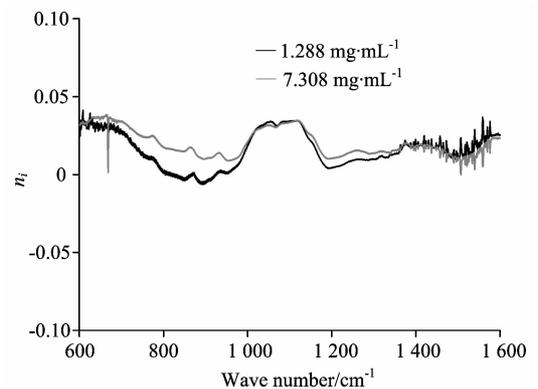


Fig. 8 The imaginary part of two different concentrations of *B. subtilis* spores 600~1 600 cm<sup>-1</sup>

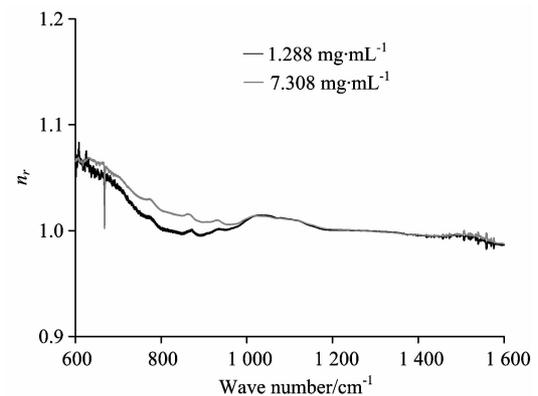


Fig. 9 The real part of two different concentrations of *B. subtilis* spores 600~1 600 cm<sup>-1</sup>

### 3.2 讨论

从枯草芽孢杆菌溶液的薄膜样品,得到了它的生物红外光谱。通过以上计算和分析可知,由光谱透过率得到枯草芽孢杆菌的质量消光截面和复折射率,可以看出这些物理量与波数有关。从图 4 的光谱图中看出,枯草芽孢杆菌的吸收带在 970~1 190  $\text{cm}^{-1}$ ,处在红外遥测的大气长波窗口区,使得进行对生物气溶胶进行红外光谱被动遥测具有存在可能性,遥测识别生物气溶胶的存在是受光学厚度、探测器响应和环

境温度等参数的影响。质量消光截面和复折射率属于生物气溶胶的固有物理参数,对于不同形式的同一种生物气溶胶,用同一种分析方法得到的质量消光截面和复折射率会有差异。同一种生物气溶胶,采用的分析方法不同,得到的结果也会有差异<sup>[14]</sup>。从图 7—图 9 中比较看出,在两种不同浓度条件下分析得出的质量消光截面和复折射率,由于两次测量条件的不同,带来的实验误差,使得两次测量分析结果存在一定差异,但质量消光截面和复折射率各自是基本一致的。这里使用 KK(Kramers-Kronig)关系,由复折射率的虚部  $n_i$  导出复折射率的实部  $n_r$ ,除此方法外,对于气溶胶的复

折射率还有其他不同的计算方法<sup>[15]</sup>。

## 4 结 论

傅里叶变换红外光谱技术分析了枯草芽孢杆菌的两种浓度下的质量消光截面  $k(\nu)$  和复折射率的虚部  $n_i$ , 实部  $n_r$ 。此方法同样也可以分析其它水溶性生物气溶胶的质量消光截面和复折射率。结果表明,通过傅里叶变换红外光谱方法可以有效获取生物气溶胶的一些特征光学参数,该方法对生物气溶胶的红外光谱法预警和遥测提供了特征数据支持。

## References

- [1] HU Jia-jun, ZHOU Qun-ying(胡家俊,周群英). Environmental Engineering Microbiology(环境工程微生物学). Beijing: Higher Education Press(北京:高等教育出版社), 1998. 128.
- [2] ZHANG Cheng-chang, ZHOU Wen-xian(章澄昌,周文贤). Course of Study Atmospheric Aerosol(大气气溶胶教程). Beijing: China Meteorological Press(北京:气象出版社), 1995. 12.
- [3] Laucks M L, Roll G, Schweiger G, et al. Journal of Aerosol Science, 2000, 31(3): 307.
- [4] Wuijckhuijse A L van, Stowers M A, Kleefman W A, et al. Journal of Aerosol Science, 2005, 36(5-6): 677.
- [5] Griffiths Peter R, Haseth James A de. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. A John Wiley & Sons, Inc., Publication, 2007.
- [6] LIU Hui-ying, WEI Rui, XIONG Chun-hua(刘慧颖,韦锐,熊春华). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2001, 29(6): 731.
- [7] Theriault Jean-Marc, Puckrin Eldon, Jensen James O. Proc. of SPIE, 2004, 5268: 163.
- [8] Avishai Ben-David. Optics Express, 2003, 41(5): 418.
- [9] Avishai Ben-David, Hsuan Ren. Applied Optics, 2003, 42(24): 4887.
- [10] Gurton Kristan P, Ligon David, Kvavilashvili Ramaz. Applied Optics, 2001, 40(25): 4443.
- [11] LAN Tian-ge, XIONG Wei, FANG Yong-hua, et al(兰天鸽,熊伟,方勇华,等). Acta Optica Sinica(光学学报), 2010, 30(6): 1656.
- [12] ZOU Bing-fang, ZHANG Yin-chao(邹炳芳,张寅超). Infrared and Laser Engineering(红外与激光工程), 2006, 35: s262.
- [13] Tuminello P S, Arakawa E T, Khare B N, et al. Applied Optics, 1997, 36(13): 2818.
- [14] Stern F. Elementary Theory of the Optical Properties of Solids, in Solid State Physics, Seitz F, Turnbull D, et al. Academic, New York, 1963, 15: 299.
- [15] Gurton Kristan P, Ligon David, Kvavilashvili Ramaz. Applied Optics, 2001, 40(25): 4443.

# Optical Properties Research of Bacillus Subtilis Spores by Fourier Transform Infrared Spectroscopy

FENG Ming-chun, XU Liang\*, GAO Min-guang, JIAO Yang, WEI Xiu-li, JIN Ling, CHENG Si-yang, LI Xiang-xian, FENG Shu-xiang

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

**Abstract** The authors measured IR transmission spectra of two different concentrations of bacillus subtilis spores by using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) technology. The mass extinction cross section  $k$  of bacillus subtilis spores was calculated according to Lambert-Beer law and the imaginary part  $n_i$  of the complex refractive index was also calculated through  $k$ . The real part  $n_r$  of the complex refractive index was derived from the KK (Kramers-Kronig) relationship and the experimental results were also analyzed and discussed with the study of measurement and analysis method of the complex refractive index on bacillus subtilis spores, it is of great significance to further research the absorption and scattering characteristics, and to broaden the measurement and remote sensing technology method of the biological aerosols.

**Keywords** FTIR; Bacillus subtilis spores; Optical properties

\* Corresponding author

(Received Feb. 20, 2012; accepted May 28, 2012)