

### 3 种副伤寒沙门氏菌的傅里叶变换红外光谱快速分类鉴定

陈 琨<sup>1</sup>, 汪 颖<sup>1</sup>, 王 静<sup>2</sup>, 龚 方<sup>3</sup>, 兰冬雪<sup>1,4</sup>, 瞿茜楠<sup>1,4</sup>, 李兆杰<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>青岛农业大学 山东青岛 266109

<sup>2</sup>威海海关 山东威海 264205

<sup>3</sup>中共青岛西海岸新区工委军民融合办 山东青岛 266000

<sup>4</sup>青岛特种食品研究院 山东青岛 266109)

**摘要** 建立高效的致病菌分类、鉴定方法是保障食品卫生安全和人类健康的重要技术手段。红外光谱技术具有信息全面、分辨率高、鉴定速度快等优点。本文采用傅里叶变换红外光谱技术采集副伤寒沙门氏菌的 3 个亚种(甲型、乙型、丙型)的近红外光谱,建立这 3 种菌的一阶导数谱数据库。结合主成分分析和分级聚类分析两种化学计量分析方法,成功建立不同亚种菌种的聚类分析模型,实现副伤寒沙门氏菌亚种水平上的区分;加标验证试验证明建立的标准菌株光谱数据库和聚类分析模型可用于可疑目标菌的分类鉴定。研究结果表明 FT-IR 技术可用于甲型、乙型、丙型副伤寒沙门氏菌的分类鉴定,具有操作简便、快捷,结果准确,成本低廉等优点。

**关键词** 傅里叶变换红外光谱;副伤寒沙门氏菌;亚种;主成分分析;分级聚类分析;分类;鉴定

**文章编号** 1009-7848(2022)04-0375-07 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.04.037

傅里叶变换红外光谱(Fourier transformation infrared spectroscopy, FT-IR)技术主要是把干涉条纹的图像信息转换成离散的数字量,再进行傅里叶变换得到被测样品红外光谱的技术<sup>[1]</sup>,具有扫描速度快,分辨率和灵敏度较高的优点,广泛应用于定性、定量分析、性能表征、成分检测等众多领域<sup>[2]</sup>。许多研究者优化和调整了技术条件,并与其它分析技术联用获取被分析物质的综合信息<sup>[3-4]</sup>,采用更精准、有效的化学计量方法,建立适合分析目标的数学模型,提高技术的精度和准确度。比如 Mourad 等<sup>[5]</sup>利用 FT-IR 技术结合校正模型偏最小二乘回归法(PLSR)量化了酸度、储存材料、吸收度对油类储存期间新鲜程度的影响;Adiani 等<sup>[6]</sup>分别研究了两种获取食品化学指纹数据的方法,同样采用 PLSR 统计分析,分别建立了单一 GC-MS 模型和基于 FTIR 的补充模型,结果表明基于 FT-IR 的补充模型可以准确预测 87%的样品,而 GC-MS 的准确预测为 53%,为建立基于 FT-IR 的随

机食品样品质量预测模型提供了新的选择。此外,Naumanan 等<sup>[7]</sup>指出傅里叶变换红外光谱法具有判别、分类和鉴别微生物的能力。Rebuffo-scheer 等<sup>[8]</sup>利用傅里叶红外光谱技术为非结核分枝杆菌种属的高效鉴定提供了方法研究。王萍等<sup>[9]</sup>建立了 4 种假单胞菌的光谱数据库和 FT-IR 分类方法。

采用傅里叶红外光谱技术进行微生物种类鉴定较多集中在属内种间水平。如:Lefier 等<sup>[10]</sup>运用 FT-IR 技术结合标准差分析(Canonical variates analysis, CVA)方法,能够将默式李斯特菌与李斯特杆菌的其它 6 个种区分开,同时对单核细胞增生李斯特菌的 5 个血清型进行初步分类,为 FT-IR 技术在细菌亚种水平上分类的应用奠定基础。细菌亚种的分类依据主要是基于生物学特性方面的差别<sup>[11]</sup>。甲型、乙型、丙型是副伤寒沙门氏菌属内 3 个不同的亚种或血清型,是水和食品的重要污染菌。许龙岩等<sup>[12]</sup>建立了基于 TaqMan 探针的四重荧光 PCR 检测方法,用于鉴定沙门氏菌的 3 个亚种,比较而言,分子生物学检测方法对技术要求较高,操作复杂,成本较高。本文应用 FT-IR 技术结合化学计量学方法建立光谱数据库,通过聚类分析建立快速、操作简单、稳定可靠的 FT-IR 分类方法,旨在用于细菌亚种的鉴定研究。

收稿日期: 2021-09-08

基金项目: 山东省自然科学基金面上项目(ZR2020MC217);  
山东省青创团队培育项目(2019-135)

作者简介: 陈琨(1997—),男,硕士生

通信作者: 李兆杰 E-mail: hunterlee\_81@163.com

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

1.1.1 标准菌株 甲型副伤寒沙门氏菌 (*Salmonella paratyphi* A, *S. paratyphi* A) CMCC 50001、乙型副伤寒沙门氏菌 (*Salmonella paratyphi* B, *S. paratyphi* B) CMCC 50094、丙型副伤寒沙门氏菌 (*Salmonella paratyphi* C, *S. paratyphi* C) CMCC 50095, 菌株均从国家微生物菌种保藏中心 (CMCC) 采购。

1.1.2 加标材料 冷冻鲳鱼购于当地市场 (大润发)。

1.1.3 试剂 营养肉汤和平板计数琼脂, 广东环凯微生物科技有限公司; 亚硫酸铋 (Bismuth sulfite, BS) 琼脂、木糖赖氨酸脱氧胆盐 (Xylose lysine desoxycholate, XLD) 琼脂, 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司。无水乙醇 (分析纯), 上海麦克林生化科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

傅里叶变换红外光谱仪, 美国赛默飞世尔科技有限公司; 核酸蛋白分析仪, 美国宝腾国际有限公司; 离心机 (型号 3K15), 美国 Sigma 公司; 恒温恒湿培养箱, 中仪国科 (北京) 科技有限公司; 干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司。

### 1.3 方法

1.3.1 样品的制备 将  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  保藏的 3 株标准菌株分别接种于营养肉汤中,  $(36\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 180 r/min 振荡培养 18~24 h, 备用。

挑取 3 种活化菌液一环分别接种于 100 mL 营养肉汤中,  $(36\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 180 r/min 振荡培养 18~24 h。测定菌液浓度后, 分别吸取 3 种菌液各 1 mL 于 1.5 mL 离心管中,  $5\ 000\times g$  离心 5 min, 菌泥分别用 1 mL 无菌生理盐水和 1 mL 超纯水各洗涤 2 次, 最后用 50  $\mu\text{L}$  超纯水悬浮菌泥沉淀, 混匀, 吸取不同稀释度的菌悬液各 10  $\mu\text{L}$  于 ZnSe 窗片 (透过波长  $7\ 800\sim 440\text{ cm}^{-1}$ , 透过率大于 68%, 厚度 2 mm, 直径 25 mm) 中心, 置于  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  烘干, 得到菌斑样品。每个菌株重复试验 8 次, 每次 3 个样品重复。

1.3.2 光谱采集 利用傅里叶变换红外光谱仪对制备好的 ZnSe 窗片样品进行光谱扫描, 采集  $4\ 000\sim 400\text{ cm}^{-1}$  [13-16] 波段范围内的光谱信息, 分辨率  $4\text{ cm}^{-1}$ , 扫描 64 次, 取平均值 [17], 仪器设置自动

扣除大气背景。

### 1.3.3 标准光谱数据库的建立及聚类方法的建立

利用 OPUS 6.5 软件对光谱数据进行预处理: 首先进行自动基线校正, 然后全光谱数据进行平滑去噪 (一阶 9 点平滑) 运算后再进行矢量归一化处理, 得到导数谱, 最后转化为 DPT 数据点格式到 excel 数据格式, 建立标准光谱的数据库, 用于聚类方法的建立。

用 Metlab 6.5 和 Statistica 6.0 软件对 3 种菌在  $1\ 805.3\sim 977.9\text{ cm}^{-1}$  波数范围内的光谱数据进行主成分分析 (Principal component analysis, PCA) 和分级聚类分析 (Hierarchical cluster analysis, HCA), 得到甲型、乙型、丙型 3 种菌 FT-IR 光谱的 HCA 和 PCA 聚类分布图, 建立 3 种副伤寒沙门氏菌的分类鉴定方法。

PCA 和 HCA 都是在细菌分类未知的情况下对光谱数据进行描述的方法, 其中, PCA 在不降低光谱差异的前提下, 减少变量维数, 转化为少数几个综合变量 [18], 而后将光谱进行比较, 相同光谱归类画出散点图。HCA 是用光谱间的距离作为判定依据, 根据数据本身所具有定性或定量特征进行归类和内在结构分析 [19], 本文采用的是皮尔森积矩相关系数计算距离, 运用 Ward's 算法, 得到光谱簇间距离。

### 1.4 加标验证

1.4.1 供试样品制备 取解冻后的冷冻鲳鱼 500 g, 剪碎均质后, 向其中添加甲型副伤寒沙门氏菌 CMCC 50001 溶液 ( $5\times 10^2\text{ CFU/mL}$ ) 10 mL, 搅拌混匀, 冷冻备用。

1.4.2 细菌培养 将冷冻鲳鱼供试样品解冻后, 称取样品 25 g, 按照沙门氏菌检测标准进行增菌培养。

增菌后的培养液划线接种选择性培养基 BS 和 XLD, 分别置于  $(36\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养 24~48 h 后 (BS 培养 48 h), 用无菌接种环挑取可疑菌落一环, 接种于盛有 15 mL 营养肉汤的大试管中,  $(36\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$  静置培养 18~24 h, 尽量控制  $\text{OD}_{600\text{nm}}$  值在 0.45 左右。

1.4.3 硒化锌 (ZnSe) 窗片的制作 按照 1.3.1 节的方法分别制作各菌的 ZnSe 窗片样品。

1.4.4 光谱采集 按照 1.3.2 节的方法分别采集

各个样品的光谱数据。

1.4.5 数据处理及分析 可疑菌做 3 个重复,结果取平均值。光谱预处理同 1.3.3 节的方法。

将可疑菌光谱数据与 1.3 节所建立的光谱信息数据库进行合并,并应用 Metlab 6.5 和 Statistica 6.0 对  $1\ 805.3\sim 977.9\ \text{cm}^{-1}$  范围内的光谱数据分别进行 PCA 和 HCA 分析,得到分类鉴定结果。甲型副伤寒沙门氏菌应聚类到数据库种对应的甲型副伤寒沙门氏菌聚类群中。

## 2 结果与分析

### 2.1 细菌浓度

( $36\pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$  振荡培养 18~24 h 后,菌液的吸光值及其对应的菌浓度见表 1。

### 2.2 光谱数据库的建立

红外光谱中的  $4\ 000\sim 400\ \text{cm}^{-1}$  波数范围能够对细菌进行较好的分类,其中  $1\ 800\sim 900\ \text{cm}^{-1}$  是细菌的特征指纹波段。根据试验结果,本文确定  $4\ 000\sim 600\ \text{cm}^{-1}$  为光谱采集波数范围, $1\ 805.3\sim 977.9\ \text{cm}^{-1}$  为数据分析波段范围。对得到的原始光谱数据进行基线校正、归一化、一阶导数等预处理,得到导数谱,又对导数谱进行适量归一化,建立了 3 种副伤寒沙门氏菌的 FT-IR 导数谱数据库。

对各菌株的重复测量谱图取平均值,见图 1。在  $1\ 805.3\sim 977.9\ \text{cm}^{-1}$  波数范围内,各菌株的光谱图具有相似性,难以直观辨别,乙型副伤寒沙门氏菌在  $992.8\ \text{cm}^{-1}$  处的峰形与其它 2 种菌略微有所不同,而肉眼难以区分,鉴定分类需要进一步借助计算机和化学计量学运算来分析<sup>[20]</sup>。

### 2.3 聚类分析结果

2.3.1 PCA 分析结果 PCA 方法通过简化变量实现线性降维,选取方差贡献率最大的前几个主成分构成空间分布图,可以对不同种属的关系远近进行判定,也可以揭示相同属、种以及不同生物特征亚种的相似性。以主成分 1(PC1)和主成分 2(PC2)作为聚类依据进行 PCA 分析,得到甲型、乙型、丙型副伤寒沙门氏菌的 PCA 聚类分布图,见图 2。由图可知,3 种菌的散点图被分布在不同的象限内,说明 FT-IR 结合 PCA 分析能够将 3 种菌进行较好的分类和鉴定。主成分 PC1、PC2 的权重

表 1 培养后菌液吸光值 ( $\text{OD}_{600\text{nm}}$ ) 及其相应菌浓度

标准菌株名称	$\text{OD}_{600\text{nm}}$	细菌浓度/ $\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$
甲型副伤寒沙门氏菌	0.44	$2.2\times 10^8$
乙型副伤寒沙门氏菌	0.69	$3.5\times 10^8$
丙型副伤寒沙门氏菌	0.58	$2.9\times 10^8$

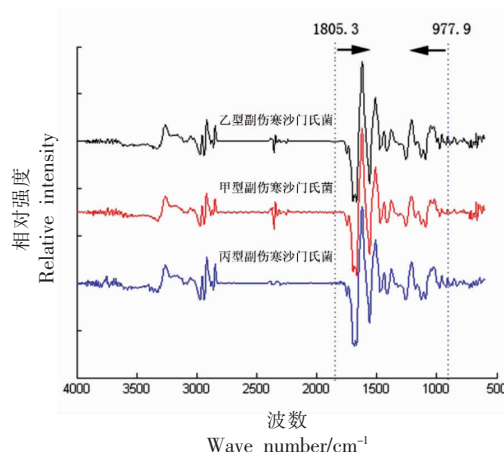


图 1 3 种副伤寒沙门氏菌 FTIR 光谱图

Fig.1 FTIR spectra of three subspecies of *S. paratyphi*

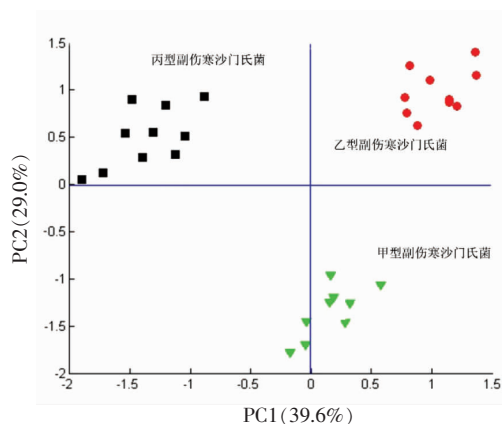


图 2 3 种副伤寒沙门氏菌 PCA 聚类分布图

Fig.2 PCA cluster results of three species of *S. paratyphi*

见图 3,PC1 和 PC2 的方差贡献率分别为 39.6% 和 29.0%,说明这两个主成分可以解释原始数据 68.6% 的有效信息,用于 PCA 分析具有代表性。

2.3.2 HCA 分析结果 HCA 通常用来估计光谱之间的相似性,选择合适算法并描绘树状分支图对细菌进行判定。对甲型、乙型、丙型副伤寒沙门

氏菌的光谱数据 HCA 分析结果, 见图 4, 可见 3 种菌都被单独聚为一类, 说明通过 HCA 分析可以将副伤寒沙门氏菌的 3 个亚种进行较好聚类。

2.3.3 加标验证结果 通过向冷冻鲢鲮鱼样品中添加标准菌株, 验证所建立的 3 种副伤寒沙门氏菌的 FT-IR 光谱数据库及所建立的各菌的 FT-IR 分类鉴定方法, 结果见图 5、图 6。由图可知, 从样品中分离的甲型副伤寒沙门氏菌成功聚类到数据

库中对应的甲型副伤寒沙门氏菌标准菌株聚类群中, 因此可以对可疑目标菌的所属亚种做出初步判断。验证试验说明本文建立的 3 种副伤寒沙门氏菌的标准菌株光谱数据库, 能够实现对可疑目标菌的归类分析, 也说明本文所建立的 3 种副伤寒沙门氏菌的 FT-IR 分类鉴定方法不仅准确、有效, 而且方便、快速, 可以在几分钟之内实现对可疑菌的分类鉴定。

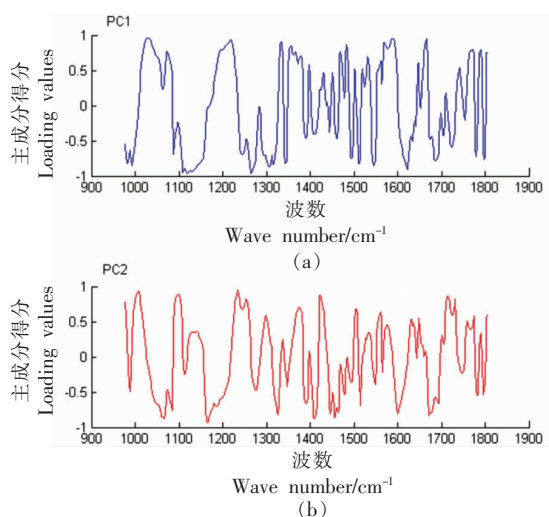


图 3 3 种副伤寒沙门氏菌 PCA 分析中的 PC1、PC2 图  
Fig.3 Loading plots of PC1 and PC2 obtained from PCA analysis of three species of *S. paratyphi*

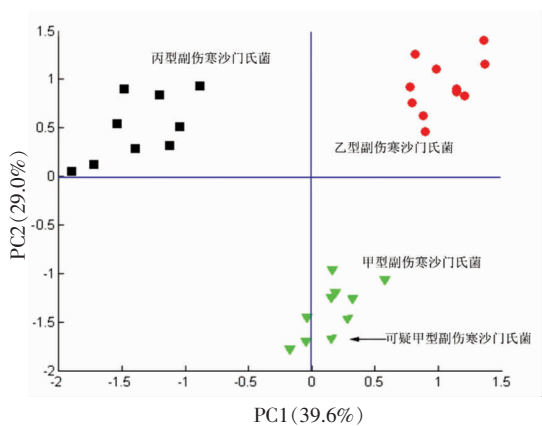


图 5 可疑甲型副伤寒沙门氏菌的 PCA 聚类分布图  
Fig.5 PCA cluster results of suspected *S. paratyphi* A

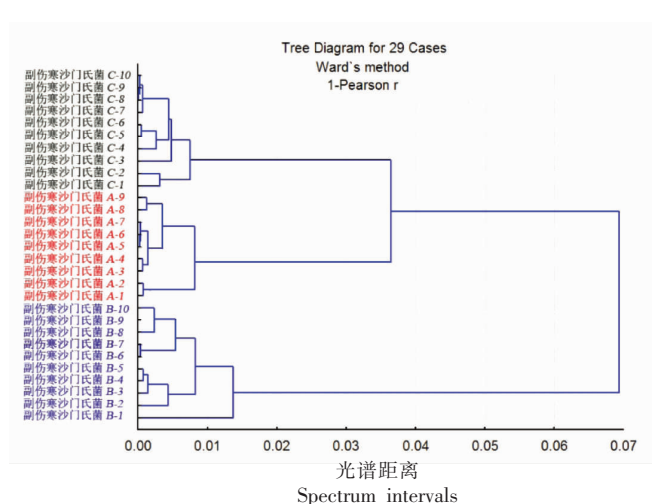


图 4 3 种副伤寒沙门氏菌亚种的 HCA 聚类分析图  
Fig.4 HCA cluster results of three sub-species of *S. paratyphi*

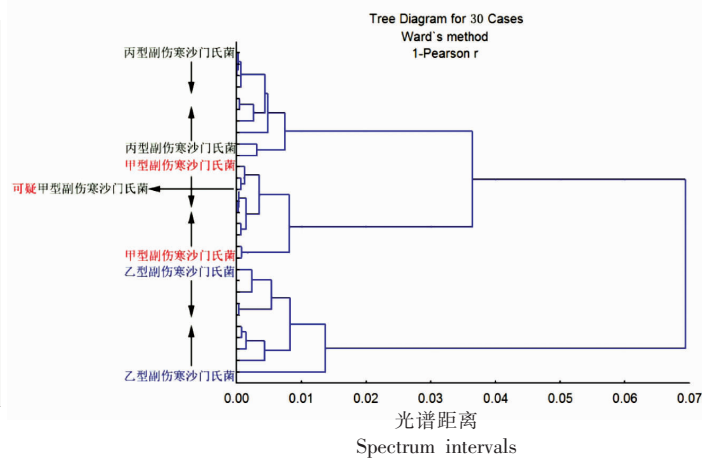


图 6 可疑甲型副伤寒沙门氏菌的 HCA 树状分布图  
Fig.6 HCA cluster results of suspected *S. paratyphi* A

### 3 讨论

FT-IR 技术在鉴定细菌方面的作用越来越受到重视, 其具有简单、快速、高效等优点, 而且成本

低廉, 有助于在食品检测、临床医学等领域开展快速鉴定。同时, 许多研究发现细菌的培养条件, 样品制备的标准化, 光谱扫描的参数设定, 以及光谱

分析方法对 FTIR 结果的重复性有很大影响<sup>[21]</sup>,因此应确保可疑菌的所有操作及参数均与建立光谱数据库保持一致,即确保所有操作及数据处理标准化。有研究者在试验中选用等量的干菌粉收集光谱后,重复性比菌斑效果更稳定<sup>[22]</sup>,可以在进一步研究中进行借鉴。也有研究发现在试验用量范围内,微生物量的变化对谱图无明显影响<sup>[23]</sup>。本文研究发现细菌的浓度对细菌种间鉴定存在一定的影响,应尽量保证浓度的统一,减少对后期分析的影响。

FT-IR 技术结合计量学应用于细菌分类的基础是通过光谱信息反映了菌体的生化组成成分的特征<sup>[24-25]</sup>,如同菌体的指纹信息,因此可以通过分析光谱的组成变化来研究不同菌体的分类,然而由于这些区别数据量较大,往往肉眼无法得到结果<sup>[6,26-27]</sup>。在应用 FT-IR 技术时,常需要把 FT-IR 技术和化学计量分析方法相结合,分析获取的综合信息,利用包括 PCA、HCA 等在内的数学计算模型,提高 FT-IR 谱图分析的准确度<sup>[28]</sup>。

甲型、乙型、丙型 3 种副伤寒沙门氏菌作为重要的食源性致病菌,采用常规生化方法、免疫学及分子生物学方法等操作,往往存在程序繁琐、耗时较长等缺点,因而易受干扰,常出现假阴性或者假阳性的结果<sup>[29]</sup>。相比较而言,FT-IR 技术在微生物分类鉴定上,具有操作简单,前处理少,分析速度快等优点<sup>[30]</sup>。本文利用 FT-IR 技术,建立各菌的光谱数据库,通过 PCA、HCA 分析方法,构建了 3 种菌的分类鉴定方法,验证试验结果也表明 FT-IR 技术结合化学计量学方法用于副伤寒沙门氏菌亚种的分类鉴定是稳定有效的。

### 参 考 文 献

- [1] 王忠辉. 傅里叶变换红外光谱法实验教学探索[J]. 实验室科学, 2021, 24(5): 15-17.  
WANG Z H. Exploration of experimental teaching reform on Fourier transform infrared spectroscopy[J]. Laboratory Science, 2021, 24(5): 15-17.
- [2] 周枫然. 傅里叶变换红外光谱技术的应用进展[D]. 北京: 中国计量科学研究院, 2021.  
ZHOU F R. Application progress of Fourier transform infrared spectroscopy technology[D]. Beijing: National Institute of Metrology, 2021.
- [3] ABDUL R, ANJAR W, ENDWANG L, et al. The use of FT-IR and Raman spectroscopy in combination with chemometrics for analysis of biomolecules in biomedical fluids: A review[J]. Biomed Spectro Imaging, 2020, 8(34): 55-71.
- [4] LEILA B M G, LUCINAO B. Application of FTIR spectroscopy for identification of blood and leukemia biomarkers: A review over the past 15 years[J]. Appl Spectro Rev, 2011, 46(5): 388-404.
- [5] MOURAD K, ILIAS M, RABIE K, et al. Extra virgin Argan oils' shelf-life monitoring and prediction based on chemical properties or FTIR fingerprints and chemometrics[J]. Food Control, 2020, 121: 107607.
- [6] ADIANI V, GUPTA S, VARIYARP S. Microbial quality assessment of minimally processed pineapple using GCMS and FTIR in tandem with chemometrics[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 6203.
- [7] NAUMANAN D, HELM D, LABISCHINSKI H. Microbiological characterization by FT-IR spectroscopy[J]. Nature, 1991, 351(6321): 81.
- [8] REBUFFO-SCHEER C, KIRSCHNER C, STAEMMLER M, et al. Rapid differentiation of non-tuberculous mycobacteria by Fourier transform infrared spectroscopy[J]. Journal of Microbiological Methods, 2007, 68(2): 282-290.
- [9] 王萍, 张占林, 乔勇升. 傅里叶变换红外光谱技术对铜绿假单胞菌及其干扰菌的分类鉴定[J]. 食品安全与检测, 2017, 42(4): 302-305.  
WANG P, ZHANG Z L, QIAO Y S. Differentiation and identification of *Pseudomonas aeruginosa* and its interference strains by Fourier transform infrared spectroscopy[J]. Food Science and Technology, 2017, 42(4): 302-305.
- [10] LEFIER D, HIRST D, HOLT C, et al. Effect of sampling procedure and strain variation in *Listeria monocytogenes* on the discrimination of species in the genus *Listeria* by Fourier transform infrared spectroscopy and canonical variates analysis[J]. FEMS Microbiology Letters, 1997, 147(1): 45.
- [11] 刘运德. 微生物学检验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 19-27.  
LIU Y D. Microbiological test[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1995: 19-27.

- [12] 许龙岩, 袁慕云, 孙薇, 等. 基于 TaqMan 探针四重荧光 PCR 检测甲型、乙型、丙型副伤寒和伤寒沙门菌[J]. 卫生研究, 2017, 46(2): 298-302.  
XU L Y, YUAN M Y, SUN W, et al. TaqMan probe-based quadruple real-time PCR for detection of *Salmonella paratyphi* A/B/C and *Salmonella typhi* [J]. Journal of Hygiene Research, 2017, 46 (2): 298-302.
- [13] BEATTIE S H, HOLT C, HIRST D, et al. Discrimination among *Bacillus cereus*, *B. mycoides* and *B. thuringiensis* and some other species of the genus *Bacillus* by Fourier transform infrared spectroscopy[J]. FEMS Microbiology Letters, 2010(1): 201-206.
- [14] HELM D, LABISCHINSKI H, SCHALLEHN G, et al. Classification and identification of bacteria by Fourier-transform infrared spectroscopy[J]. Journal of General and Applied Microbiology, 1991, 137(1): 69-79.
- [15] LIN M, A1-HOLY M, CHANG S S, et al. Rapid discrimination of *Alicyclobacillus* strains in apple juice by Fourier transform infrared spectroscopy[J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 105(3): 369-376.
- [16] RODRIGUEZ-SAONA L E, KHAMBATY F M, FRY F S, et al. Rapid detection and identification of bacterial strains by Fourier transform nearinfrared spectroscopy [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(2): 574-579.
- [17] DZIUBA B, BABUCHOWSKI A, NALECZ D, et al. Identification of lactic acid bacteria using FT-IR spectroscopy and cluster analysis[J]. International Dairy Journal, 2007, 17(3): 183-189.
- [18] 李志辉, 罗平. PASW/SPSS Statistics 中文版统计分析教程[M]. 第3版. 北京: 电子工业出版社, 2010: 443-455.  
LI Z H, LUO P. PASW/SPSS statistics Chinese version of statistical analysis[M]. 3rd edition. Beijing: Publishing House of Electronics Industry, 2010: 443-455.
- [19] 李新蕊. 主成分分析、因子分析、聚类分析的比较与应用[J]. 齐鲁示范教育学院学报, 2007, 22(6): 4.  
LI X R. Compare and application of principal component analysis, factor analysis and clustering analysis[J]. Journal of Qilu Demonstrative Education Institute, 2007, 22(6): 4.
- [20] GE F. Modern ecology[M]. Beijing: Science Publishing House, 2002: 252-254.
- [21] 蔡飞, 陆峰. 傅立叶变换红外光谱结合化学计量学在微生物判别、分类、鉴定中的应用[J]. 药学实践杂志, 2002, 20(4): 238-241.  
CAI F, LU F. Application of Fourier transform infrared spectroscopy combined with stoichiometry in identification, classification, and identification of microorganisms [J]. The Journal of Pharmaceutical Practice, 2002, 20(4): 238-241.
- [22] 王若男, 岳田利, 袁亚宏. 基于傅里叶变换近红外光谱的脂环酸芽孢杆菌种间分类鉴定[J]. 光谱学与光谱分析, 2015, 35(11): 3073-3077.  
WANG R N, YUE T L, YUAN Y H. Differentiation and identification of *Alicyclobacillus* strains by Fourier transform near-infrared spectroscopy[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2015, 35(11): 3073-3077.
- [23] 慈云祥, 臧凯赛, 高体玉, 等. 几种微生物的红外光谱研究[J]. 高等学校化学学报, 2002, 23(6): 70-72.  
CI Y X, ZANG K S, GAO T Y, et al. FTIR study of microbes[J]. Chinese Journal of Chemistry, 2002, 23(6): 70-72.
- [24] 吴雨辰, 胡燕燕, 张峥. 细菌分型方法的研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2021, 21(5): 617-623.  
WU Y C, HU Y Y, ZHANG Z. Advances in bacterial typing methods[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2021, 21(5): 617-623.
- [25] 黄冰, HARPER D A T, HAMMER O. 定量古生物学软件 PAST 及其常用功能[J]. 古生物学报, 2013, 52(2): 161-181.  
HUANG B, HARPER D A T, HAMMER O. Introduction to PAST, a comprehensive statistics software package for paleontological data analysis [J]. Acta Palaeontologica Sinica, 2013, 52(2): 161-181.
- [26] 张莹, 杨曙明. FT-IR 在物质结构分析方面的研究进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(1): 35-36.  
ZHANG Y, YANG S M. The research development of FTIR in analyzing material structures [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2017, 37(1): 35-36.
- [27] WANG Y, WEI W, ZHANG Y, et al. A new strategy of characterizing hydrocarbon fuels using FT-IR spectra and generalized linear model with grouped-Lasso regularization [J]. Fuel, 2020, 287(5): 119419.

- [28] VINAY K B, LOSCHEL L A, IMHOF H K, et al. Analysis of microplastics of a broad size range in commercially important mussels by combining FTIR and Raman spectroscopy approaches[J]. *Environ Pollut*, 2021, 269: 16147.
- [29] 杨云斌, 许月琴. 不同选择性培养基中沙门氏菌和干扰菌的分离鉴定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(4): 15-18.  
YANG Y B, XU Y Q. Isolation and identification of *Salmonella* and interfering strains in different selective medium[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2019, 10(4): 15-18.
- [30] 代群威, 董发勤. FTIR技术在几株细菌鉴定中的应用[J]. *西南科技大学学报*, 2009, 24(1): 114-118.  
DAI Q W, DONG F Q. The application study of FTIR technology in microbial classification[J]. *Journal of Southwest University of Science and Technology*, 2009, 24(1): 114-118.

### Rapid Differentiation and Identification of Three Subspecies of *Salmonella paratyphi* by FT-IR Spectroscopy

Chen Kun<sup>1</sup>, Wang Ying<sup>1</sup>, Wang Jing<sup>2</sup>, Gong Fang<sup>3</sup>, Lan Dongxue<sup>1,4</sup>, Qu Xinan<sup>1,4</sup>, Li Zhaojie<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, Shandong

<sup>2</sup>Weihai Customs, Weihai 264205, Shandong

<sup>3</sup>The CPC Qingdao West Coast New Area Working Committee Military and Civilian Integration Office, Qingdao 266000, Shandong

<sup>4</sup>Qingdao Special Food Research Institute, Qingdao 266109, Shandong

**Abstract** Efficient method for differentiation and identification of pathogenic bacteria was important to ensure food safety and human health. Infrared spectral technology has the advantages of comprehensive information, high resolution, and fast identification. In this study, FT-IR fingerprint absorption spectra of three subspecies of *Salmonella paratyphi* were collected, and a standard spectral derivatives library was created. Combined with chemometrics methods, two cluster models of PCA and HCA were established. It was found that three subspecies of *Salmonella paratyphi* could be well differentiated and identified. Spiked assays proved that the standard spectral derivatives library and the cluster models could be used to differentiate and identify the three subspecies of *Salmonella paratyphi*. As a rapid, easy-to-use, accurate, and low cost technique, FT-IR spectroscopy is an effective tool to differentiate and identify three subspecies of *Salmonella paratyphi*.

**Keywords** Fourier transformation infrared spectroscopy (FT-IR); *Salmonella paratyphi*; subspecies; PCA; HCA; differentiation; identification