

基于硒化锌薄膜法的食源性致病菌原位红外光谱检测

刘艳艳¹, 陶宁萍^{1, 2, 3}, 王锡昌^{1, 2, 3}, 卢 瑛^{1, 2, 3*}, 许长华^{1, 2, 3*}

1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306
2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306
3. 国家淡水水产品加工技术研发分中心(上海), 上海 201306

摘 要 食源性致病菌是引发和威胁公众健康的主要因素之一。由于食源性致病菌种类繁多, 常规检测方法复杂耗时要求高, 因此迫切需要一种更加快速精确的致病菌检测技术。在传统红外光谱检测致病菌的流程中, 如经典的溴化钾压片法, 除了压片本身的操作之外通常还需对样品进行冷冻干燥(约需2 d)等耗时前处理过程, 因而不利于高通量快速检测。本研究利用硒化锌薄膜法, 在硒化锌窗片上直接滴加菌液、低温(48 ℃)烘干后进行原位检测, 无需漫长的冻干处理, 整个检测过程在50 min之内。同时, 检测所需样品量少(10 μL)无需研磨等物理破坏性的制样过程, 避免了常规溴化钾压片法中研磨颗粒粗细、制片厚薄误差及易碎片、吸潮等的不利影响。四种常见食源性致病菌(大肠杆菌 DH5α; 沙门氏菌 CMCC 50041; 霍乱弧菌 SH04; 金黄色葡萄球菌 SH10)的硒化锌薄膜法与溴化钾压片法红外谱图对比分析表明: 在相同的峰值检测阈值下(透过率大于0.05%), 本研究所采用的方法获得的二阶导数图谱在900~1 500 cm⁻¹范围内可被识别的特征峰个数比溴化钾压片法明显增多(硒化锌薄膜法共计81个, 溴化钾压片法共计58个), 特征峰在多个位置强度显著增加(1 119, 1 085和915 cm⁻¹等), 且可将溴化钾压片法中较宽的单峰或不明显的双峰显示为较明显的双峰(大肠杆菌 DH5α: 1 441, 1 391和1 219 cm⁻¹等; 沙门氏菌 CMCC 50041: 1 490, 1 219和1 025 cm⁻¹; 霍乱弧菌 SH04: 1 441和1 219 cm⁻¹; 金黄色葡萄球菌 SH10: 1 491, 1 397和1 219 cm⁻¹), 说明硒化锌薄膜法可以提高图谱分辨率及信噪比。基于硒化锌薄膜法的原位红外光谱法对常见食源性致病菌整体快速高通量检测将具有巨大的应用前景。

关键词 食源性致病菌; 红外光谱; 样品前处理; 原位检测; 硒化锌薄膜法

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2021)02-0419-06

引 言

食源性致病菌可以直接或间接地污染食品和水源, 导致人类肠道传染病或禽畜传染病的流行, 是引起食品安全问题的重要来源。美国疾病控制中心报道显示, 美国平均每年约有3 000人死于食源性致病菌所引发的疾病^[1]。近年来, 我国由微生物感染引起的疾患发病率高达61.92%, 其中主要是大肠杆菌、沙门氏菌、副溶血性弧菌等^[2]。目前, 食源性致病菌常用的检测方法包括传统生化方法、分子生物学方法、免疫学方法、生物传感器技术等方法^[3]。但这些方法往往步骤繁琐、耗时耗力、有的需要专业人员, 仪器试剂费用高, 难以在常规实验室广泛应用。相反, 红外光谱技术可以

反映整个细胞组分的整体信息, 相比其他方法更加快速、无损、成本低且灵敏度高, 受到众多研究者的关注^[4]。

溴化钾压片法是比较传统且至今最为常用的固体制样方法, 其在致病菌的红外检测中已有大量报道。杨丽君等^[5]以大肠杆菌为例, 探讨了不同的细菌浓度和培养时间以及是否加热灭活等不同的前处理方式对光谱特征的影响。结果表明, 统一的样品前处理是决定检测是否成功的关键。硒化锌薄膜法是利用硒化锌窗片作为载体, 将菌液进行简单预处理后滴加至硒化锌窗片中央, 低温烘干后可直接进行红外检测的一种前处理方法。王静^[6]等利用硒化锌薄膜法对两株不同来源的大肠杆菌进行红外检测, 并对所采集的光谱进行主成分分析和层次聚类分析。结果表明红外光谱结合化学计量学可以区分不同来源的同种细菌, 但该研究并未对硒化锌薄膜

收稿日期: 2020-01-13, 修订日期: 2020-04-15

基金项目: 国家科技重大专项(2018ZX10101003)资助

作者简介: 刘艳艳, 女, 1995年生, 上海海洋大学食品学院硕士研究生 e-mail: 431036615@qq.com

* 通讯作者 e-mail: y-lu@shou.edu.cn; chxu@shou.edu.cn

法和常规溴化钾压片法进行比较分析, 硒化锌薄膜法的准确性与优势并未得到揭示。以上研究均说明样品前处理是保证红外检测质量的关键, 因此, 寻找一种更加快速、合适的前处理方式仍为目前研究的热点。本研究分别采用硒化锌薄膜法和常规溴化钾压片法, 对四种食源性致病菌(大肠杆菌 DH5 α 、沙门氏菌 CMCC 50041、霍乱弧菌 SH04、金黄色葡萄球菌 SH10)进行原位红外光谱整体检测, 并对所得图谱进行详细对比分析, 为更加快速精确的致病菌检测提供技术支持。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

0.9%生理盐水(NaCl: 分析纯; 国药集团化学试剂有限公司)、超纯水(18.2 M Ω ·cm)、溴化钾(光谱纯; 自贡三川实业有限公司)、硒化锌窗片(直径 12 mm, 厚度 1 mm; 天津博天胜达科技发展有限公司)、TG16-WS 型离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司)、TDZ5-WS 小型台式离心机(上海年悦仪器有限公司)、DW-86L626 立式超低温保存箱(-80 °C; 青岛海尔特种电器有限公司)、GHP-9270 隔水式恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司)、ZQZY-70B 振荡培养箱(上海知楚仪器有限公司)、WH-2 型涡旋混合仪(成都一科仪器设备有限公司)、FD-80 型真空冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司)、DHG-9140A 型鼓风干燥箱(上海慧泰仪器制造有限公司)、DF-4 型压片机(天津市港东科技发展有限公司)、红外光谱(FT-IR)仪(英国 PerkinElmer 公司, 配置 DTGS 检测器)。

1.2 菌种与培养基

大肠杆菌 DH5 α (*Escherichia coli* DH5 α , *E. coli* DH5 α)、沙门氏菌 CMCC 50041 (*Salmonella enteritidis* CMCC 50041, *S. enteritidis* CMCC 50041)、霍乱弧菌 SH04 (*Vibrio cholerae* SH04, *V. cholerae* SH04)、金黄色葡萄球菌 SH10 (*Staphylococcus aureus* SH10, *S. aureus* SH10)。以上菌种均来自上海海洋大学食品学院微生物重点实验室; 菌株用 25%甘油保存于-80 °C 冰箱中备用; LB 琼脂培养基(北京陆桥生物技术有限公司); 胰蛋白胨大豆肉汤(TSB, 北京奥博星生物技术有限责任公司)。

1.3 样品的制备及光谱采集

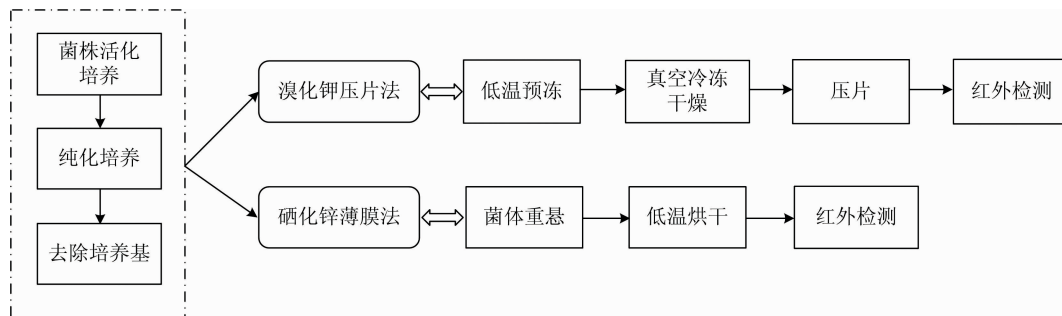


图 1 硒化锌薄膜法与溴化钾压片法(含前处理)流程图

Fig. 1 Diagram (including sample pretreatment) of ZnSe film transmission and KBr pressed pellet method

将保存于-80 °C 冰箱的菌株取出, 用无菌接种环挑取一环划线至 LB 固体培养基, 并于 37 °C 恒温培养箱中培养 16 h, 挑取单菌落至盛有 10 mL TSB 的培养基, 并于 37 °C 恒温振荡培养箱中培养 5 h 左右, 使其处于对数期, 浓度约为 $10^8 \sim 10^9$ CFU·mL $^{-1}$; 分别取 5 和 1 mL 菌液于 10 和 2 mL 的离心管, 8 000 r·min $^{-1}$, 20 °C, 离心 4 min 并除去上清液, 用 0.9%生理盐水清洗一次, 超纯水清洗两次(离心条件同上), 其中 5 mL 菌液除上清后置于真空冷冻干燥机中冻干 2 d 备用, 另一份 1 mL 菌液去上清, 重悬于 100 μ L 的超纯水中备用^[7]。

取 1~1.5 mg 冻干的菌体粉末与约 100 mg 溴化钾晶体充分混合研磨, 将研磨好的粉末倒入压片模具中, 施加压力(约 8 t 左右), 1 min 后卸载压力, 即可得到半透明样品薄片, 对薄片进行光谱采集^[8]; 另吸取 10 μ L 菌液于硒化锌窗片中央, 并置于 48 °C 干燥箱, 烘干 40 min 左右, 至呈现干燥菌斑, 取出后置于红外光谱仪样品舱内进行光谱采集。分辨率 4 cm $^{-1}$; 扫描范围 4 000~600 cm $^{-1}$; 扫描次数: 32 次; 扫描过程中扣除 CO $_2$ 和 H $_2$ O 的干扰。

1.4 数据预处理

为降低噪音并提高图谱“表观分辨率”, 利用 Spectrum 10TM(PerkinElmer)对所采集的光谱进行基线校正、平滑、归一化等处理, 并利用二阶 13 点 SavitskyGolay 算法计算二阶导数图, 每个样品做六个平行, 求平均光谱, 并在不同时间段重复测试三次^[9-11]。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理对比分析

硒化锌薄膜法与溴化钾压片法的前处理流程图(图 1)显示: 两种方法均需要对菌株进行活化纯培养及离心去除培养基等处理。此外, 硒化锌薄膜法仅需要对菌体沉淀进行重悬(1 min)、低温烘干(48 °C)即可进行红外检测, 共计耗时约 50 min。而溴化钾压片法则需要对备用菌株进行低温预冻(>5 h)、冻干(2 d 左右)以及压片处理才可进行检测, 共计耗时约 54 h。结果表明, 与溴化钾压片法相比硒化锌薄膜法不仅可以简化前处理流程, 大大节省时间, 且所需样品量少(10 μ L), 对样品不须进行研磨等物理破坏, 保持了样品的完整性, 有益于检测结果的准确性。

2.2 整体红外宏观指纹图谱对比分析

四种食源性致病菌的整体红外宏观指纹图谱(图 2)不同特征峰代表了致病菌不同的组成成分。Naumann 等^[12]将细菌的中红外谱图划分为五个区域,脂质区 3 000~2 800 cm^{-1} ,即大多数食品成分(蛋白质,糖类等)包含脂肪族 C—H 键振动,但这一区域的振动主要归属于脂肪酸;蛋白质和多肽区 1 800~1 500 cm^{-1} 包含在 1 740 cm^{-1} 处的脂肪酸 C=O 伸缩振动特征峰,主要是蛋白质和多肽的酰胺 I 带和酰胺 II 带振动特征峰;混合区 1 500~1 200 cm^{-1} 提供蛋白质、脂肪酸和磷酸盐化合物的信息;多糖区 1 200~900 cm^{-1} 主要由细胞壁内碳水化合物的吸收带决定;指纹区 900~700 cm^{-1} 展示了一些还没被分配到细胞成分或官能团中的非常特殊的光谱模式(表 1),其中混合区以及多糖区为细菌的主要鉴别区域,因此利用硒化锌薄膜法与溴化钾压片法对 1 500~900 cm^{-1} 范围内四种致病菌的红外图谱做详细对比

分析(图 3、图 5)。

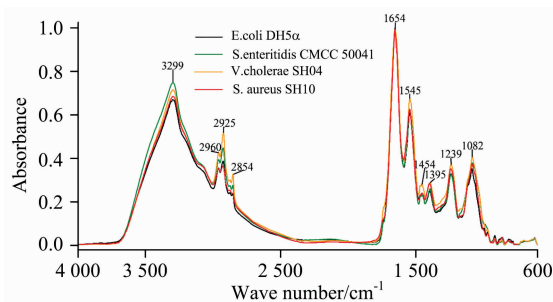


图 2 基于硒化锌薄膜法的四种食源性致病菌整体红外宏观指纹图谱

Fig. 2 Integrated infrared macroscopic fingerprint of four foodborne pathogens based on ZnSe film transmission method

表 1 四种食源性致病菌的红外特征谱带指认

Table 1 Major spectral band assignments for Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) of four foodborne pathogens

Wavenumber/ cm^{-1}	Spectral region	Band assignment
3 000~2 800	Lipids	$\nu_{\text{as/s}}(\text{CH}_3)$, $\nu_{\text{as/s}}(\text{CH}_2)$
1 800~1 500	Proteins and peptides	Amide I, Amide II
1 500~1 200	A mixed region	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$, Amide III, $\nu_{\text{as}}(\text{P=O})$
1 200~900	Polysaccharides	C—O—C, C—O ring vibrations
900~700	A fingerprint region	—

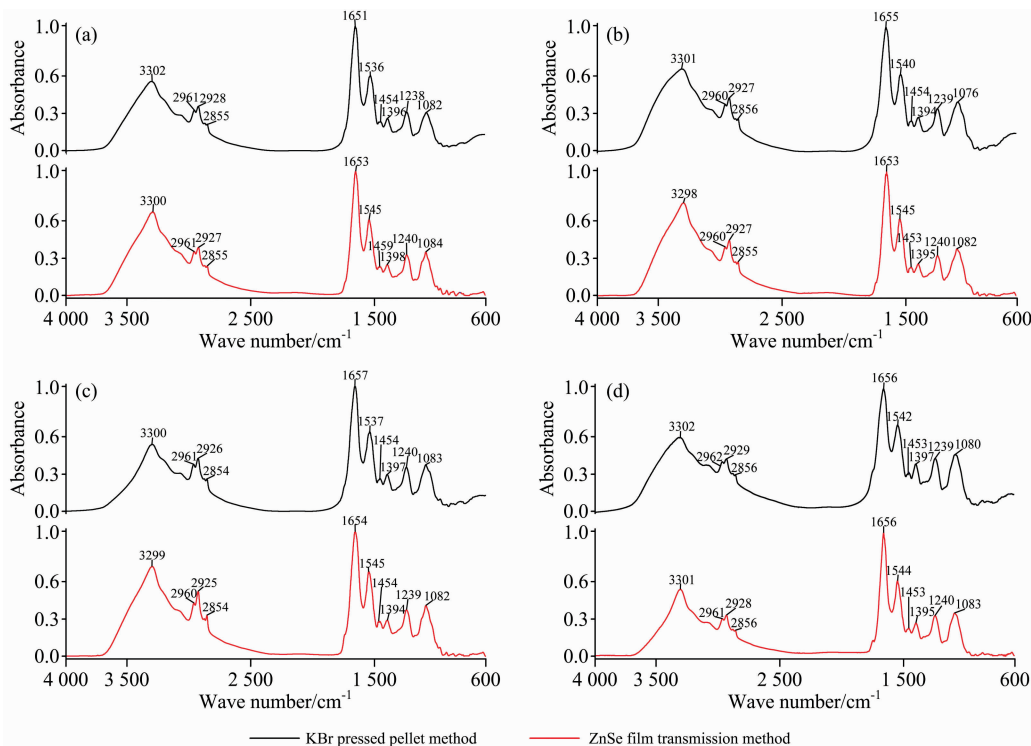


图 3 基于硒化锌薄膜法与溴化钾压片法的四种食源性致病菌整体红外宏观指纹对比图
(a): 大肠杆菌 DH5 α ; (b): 沙门氏菌 CMCC 50041; (c): 霍乱弧菌 SH04; (d): 金黄色葡萄球菌 SH10

Fig. 3 Comparison of IR spectra in four foodborne pathogens based on ZnSe film transmission and KBr pressed pellet method

(a): *E. coli* DH5 α ; (b): *S. enteritidis* CMCC 50041; (c): *V. cholerae* SH04; (d): *S. aureus* SH10

四种食源性致病菌利用硒化锌薄膜法与溴化钾压片法的全波段(4 000~600 cm^{-1})红外谱图(图 3)基本一致,特征峰的位置、强度以及峰形总体没有明显差异。然而,硒化锌薄膜法的特征峰在 4 000~2 500 cm^{-1} 更为尖锐,较溴化钾压片法更为明显。

2.3 二阶导数整体红外宏观指纹图谱

以大肠杆菌 DH5 α 的全波段二阶导数图为例(图 4),从整体上看,硒化锌薄膜法所测得的图谱特征峰强度比压片法强,特别是在主要特征识别区 1 500~900 cm^{-1} ,说明薄膜法所得图谱的分辨率更高。将峰值检测阈值调为透过率大于 0.05%时,主要吸收峰均可被标记,并对四种致病菌的指纹识别区 1 500~900 cm^{-1} 进行详细对比分析[图 5(a-d)]。其中,硒化锌薄膜法的强峰个数是指:在相同的峰值检测阈值下,薄膜法所测峰强高于压片法的个数;硒化锌薄膜法的双峰个数是指:在相同的峰值检测阈值下,薄膜法可将压片法中较宽的单峰或不明显双峰表现为较明显双峰的个数(溴化钾压片法的强峰个数与双峰个数与之相反)。两种方法所测得的二阶导数图谱比较(表 2)显示,四种致病菌利用薄膜法能被识别的特征峰个数均大于压片法(硒化锌薄膜法共计:81 个,溴化钾压片法共计:58 个),一定程度上说明薄膜法信噪比压片法效果好。硒化锌薄膜法在较多位置的特征峰均强于压片法。如图 5(a)中:*E. coli* DH5 α 共计 12 个强峰(1 491, 1 441, 1 219, 1 119, 1 102, 1 086, 1 060, 1 040, 994, 967, 936 和 915 cm^{-1}),其中最为明显的特征峰如

1 119 cm^{-1} [$\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C}, \text{C}-\text{O})$ 碳水化合物]、1 086 cm^{-1} [$\nu(\text{P}=\text{O})$ 磷酸二酯中 PO_2^-]、915 cm^{-1} [$\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C}, \text{C}-\text{O})$ 碳水化合物];沙门氏菌 *S. enteritidis* CMCC 50041 共计 8 个强峰(1 490, 1 469, 1 394, 1 219, 1 118, 1 085, 1 059 和 915 cm^{-1}),其中最为明显的特征峰如 1 394 cm^{-1} (脂类)、1 085 cm^{-1} [$\nu(\text{P}=\text{O})$ 磷酸二酯中 PO_2^-]、1 059 cm^{-1} [$\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C}, \text{C}-\text{O})$ 碳水化合物];*V. cholerae* SH04 共计 7 个强峰(1 469, 1 441, 1 290, 1 219, 1 119, 1 027 和 915 cm^{-1}),其中最为明显的特征峰如 1 469 cm^{-1} [$\delta(\text{C}-\text{H})$]、1 119 cm^{-1} [$\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C}, \text{C}-\text{O})$ 碳水化合物]、1 027 cm^{-1} [$\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C}, \text{C}-\text{O})$ 碳水化合物];*S. aureus* SH10 共计 11

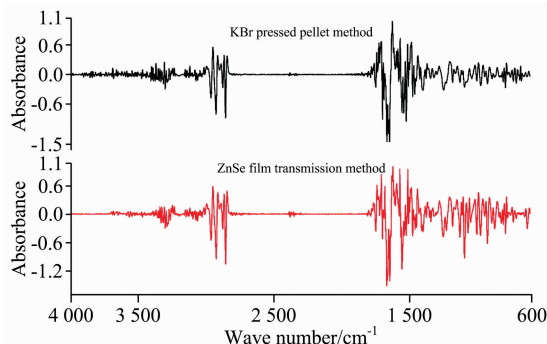


图 4 大肠杆菌 DH5 α 二阶导数整体红外宏观指纹图谱
Fig. 4 SD-IR spectra of *E. coli* DH5 α in the region of 4 000~600 cm^{-1}

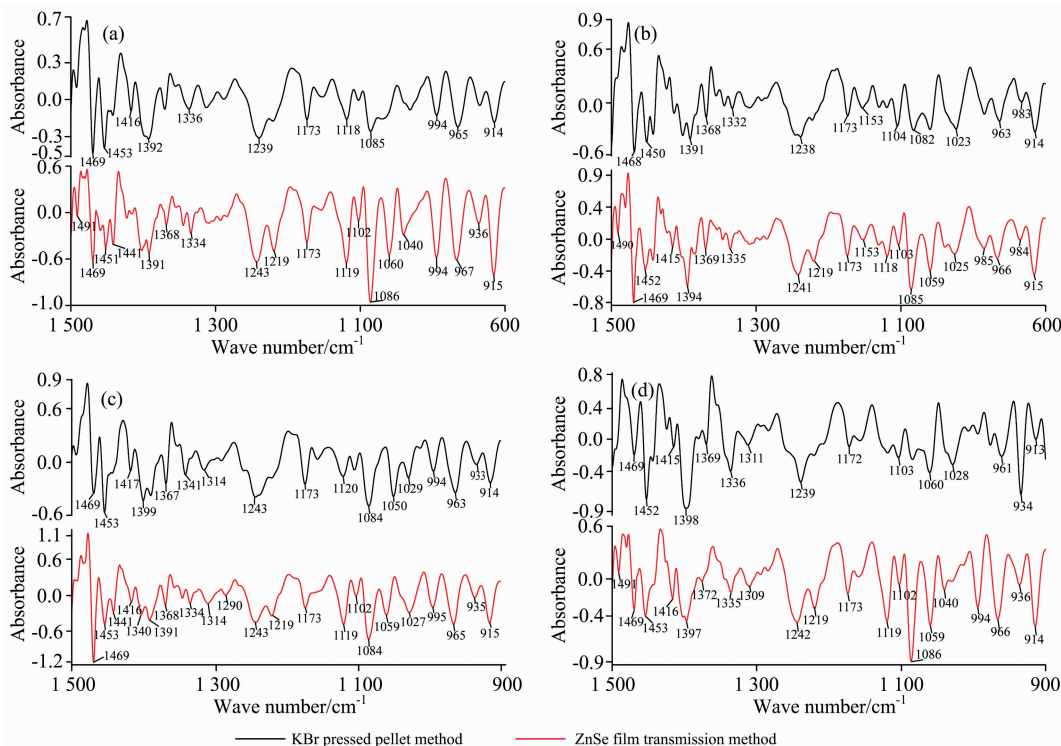


图 5 基于硒化锌薄膜法与溴化钾压片法的四种食源性致病菌二阶导数红外宏观指纹对比图(1 500~900 cm^{-1})

(a): 大肠杆菌 DH5 α ; (b): 沙门氏菌 CMCC 50041; (c): 霍乱弧菌 SH04; (d): 金黄色葡萄球菌 SH10

Fig. 5 Comparison of SD-IR comparison spectra in four foodborne pathogens based on ZnSe film transmission and KBr pressed pellet method (1 500~900 cm^{-1})

(a): *E. coli* DH5 α ; (b): *S. enteritidis* CMCC 50041; (c): *V. cholerae* SH04; (d): *S. aureus* SH10

表 2 硒化锌薄膜法与溴化钾压片法二阶导数图谱(1 500~900 cm^{-1})特征峰比较
Table 2 Comparison of characteristic peak in SD-IR spectra (1 500~900 cm^{-1}) based on ZnSe film transmission and KBr pressed pellet method

Bacterial strains	ZnSe film transmission method			KBr pressed pellet method		
	Number of labeled peaks	Number of strong peaks	Number of twin peaks	Number of labeled peaks	Number of strong peaks	Number of twin peaks
<i>E. coli</i> DH5 α	19	12	4	12	—	—
<i>S. enteritidis</i> CMCC 50041	20	8	3	14	—	—
<i>V. cholerae</i> SH04	22	7	2	17	3	1
<i>S. aureus</i> SH10	20	11	3	15	3	—

个强峰(1 491, 1 416, 1 219, 1 173, 1 119, 1 102, 1 086, 1 059, 994, 966 和 914 cm^{-1}), 其中最为明显的特征峰如 1 119 cm^{-1} [$\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C}, \text{C}-\text{O})$ 碳水化合物]、1 086 cm^{-1} [$\nu(\text{P}=\text{O})$ 磷酸二脂中 PO_2^-]、914 cm^{-1} [$\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C}, \text{C}-\text{O})$ 碳水化合物]^[13]。此外, 薄膜法可将压片法中较宽的单峰或不明显双峰显示为较明显的双峰, 如 *E. coli* DH5 α 在 1 441, 1 391, 1 219 和 1 060 cm^{-1} ; *S. enteritidis* CMCC 50041 在 1 490, 1 219 和 1 025 cm^{-1} ; *V. cholerae* SH04 在 1 441 和 1 219 cm^{-1} ; *S. aureus* SH10 在 1 491, 1 397 和 1 219 cm^{-1} ; 然而, *V. cholerae* SH04 利用压片法在 1 011 cm^{-1} 附近表现为小的双峰, 而薄膜法却显示为单峰, 可能是测试中某环境因素所致。由此表明, 硒化锌薄膜法可以提高信噪比以及光谱分辨率, 推测与其温和的前处理有关, 而压片法中冻干及研磨操作均致使病菌细胞遭到长时间破坏, 且压片过程极易受到空气中水的影响, 没有很好保持细胞的完整性,

因此效果欠佳。

3 结 论

四种食源性致病菌的硒化锌薄膜法与溴化钾压片法对比分析表明: 薄膜法的综合效果更好。其中, 在前处理流程中, 硒化锌薄膜法不仅大幅度简化操作步骤, 缩短处理时间(共计 50 min 以内), 且不需冻干与研磨, 极大降低对样品的破坏程度以及外界引入的干扰。此外, 两种方法所测得的红外原始图谱及二阶导数图谱的详细比对分析表明: 硒化锌薄膜法所测得的图谱信噪比较好且分辨率高, 信息丰富稳定。因此, 基于硒化锌薄膜法的食源性致病菌原位红外光谱整体检测技术对于快速、无损的致病菌红外检测具有重要的应用价值。

References

- [1] CHEN Xiu-qin, HUANG Mei-qing, ZHENG Min, et al(陈秀琴, 黄梅清, 郑敏, 等). Fujian Journal of Agricultural Sciences(福建农业学报), 2018, 33(4): 43.
- [2] Zhao X H, Li M, Xu Z B. Front Microbiol, 2018, 9: 1236.
- [3] Hameed S, Xie L J, Ying Y B. Trends Food Science & Technology, 2018, 81: 62.
- [4] ZHANG Yu, LI Jie-qing, LI Tao, et al(张钰, 李杰庆, 李涛, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2019, 39(2): 449.
- [5] YANG Li-jun, WANG Jing, LI Zhao-jie, et al(杨丽君, 王静, 李兆杰, 等). Food Science(食品科学), 2013, 34(8): 190.
- [6] WANG Jing, YANG Li-jun, LI Zhao-jie, et al(王静, 杨丽君, 李兆杰, 等). Microbiology China(微生物学通报), 2012, 39(2): 1846.
- [7] Carlos C, Maretto D A, Poppi R J, et al. Microchemical Journal, 2011, 99(1): 16.
- [8] SUN Su-qin(孙素琴). ACT 009 Infrared Spectroscopy Analysis Technology(ATC 009 红外光谱分析技术). Beijing: China Quality Inspection Press(北京: 中国质检出版社), 2013. 93.
- [9] Johler S, Stephan R, Althaus D, et al. Syst. Appl. Microbiol., 2016, 39(3): 190.
- [10] Salman A, Shufan E, Sharaha U, et al. Vib. Spectrosc., 2019, 100: 7.
- [11] Hu X Z, Liu S Q, Li X H, et al. Sci. Rep., 2019, 9(1): 8255.
- [12] Novais A, Freitas A R, Rodrigues C, et al. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 2019, 38(3): 432.
- [13] Lu X N, Hamzah M, Al-Qadiri, et al. Food and Bioprocess Technology, 2011, 4(6): 922.

Integrated Detection of Foodborne Pathogens by *In-Situ* Infrared Spectroscopy Based on ZnSe Film Transmission Method

LIU Yan-yan¹, TAO Ning-ping^{1,2,3}, WANG Xi-chang^{1,2,3}, LU Ying^{1,2,3*}, XU Chang-hua^{1,2,3*}

1. College of Food Sciences & Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

2. Shanghai Engineering Research Center of Aquatic-Product Processing & Preservation, Shanghai 201306, China

3. Ministry of Agriculture, National R & D Branch Center for Freshwater Aquatic Products Processing Technology (Shanghai), Shanghai 201306, China

Abstract Foodborne pathogens are predominant factors affecting human health. Due to the species diversity of foodborne pathogens and the complicity and time-consuming of traditional techniques, a rapid and accurate foodborne pathogen detecting technology is urgently needed. For the traditional infrared spectroscopic techniques, samples need to be lyophilized (about 2 days) before being pressed into a KBr pellet. Therefore, it is not conducive to fast and high-throughput detection. In this study, a developed ZnSe film transmission method was employed to drop samples on the ZnSe window directly, and an in-situ detection was carried out after low-temperature drying without long lyophilization process. The whole detection process was completed within 50 min. Meanwhile, only small sample volume (10 μ L) was needed and the adverse effects of KBr pressed pellet method (e. g. , size of abrasive particles, thickness error, easy fragmentation and moisture absorption) were avoided. In the meantime, by comparing the four foodborne pathogens (*Escherichia coli* DH5 α , *Salmonella enteritidis* CMCC 50041, *Vibrio cholerae* SH04, *Staphylococcus aureus* SH10) with the conventional KBr pressed pellet method, the number of peaks in second derivative infrared (SD-IR) spectroscopy obtained by the ZnSe film transmission method (1 500~900 cm^{-1}) significantly increased (ZnSe film transmission method: 81, KBr pressed pellet method: 58) under the same peak threshold detection (transmittance $>0.05\%$) and broad single peaks or inconspicuous double peaks in the KBr pressed pellet method could be split into two or more peaks (*Escherichia coli* DH5 α : 1 441, 1 391, 1 219 cm^{-1} etc; *Salmonella enteritidis* CMCC 50041: 1 490, 1 219, 1 025 cm^{-1} ; *Vibrio cholerae* SH04: 1 441, 1 219 cm^{-1} ; *Staphylococcus aureus* SH10: 1 491, 1 397, 1 219 cm^{-1}) with higher peak intensity (1 119, 1 085, 915 cm^{-1} etc.). Therefore, it had been demonstrated that spectral resolution and the signal to noise ratio in the ZnSe film transmission method were significantly improved. The in-situ infrared spectroscopy based on ZnSe film transmission method has great potential for the rapid and high-throughput detection of common foodborne pathogens in food.

Keywords Foodborne pathogens; Infrared spectroscopy; Sample pretreatment; *In-situ* detection; ZnSe film transmission method

(Received Jan. 13, 2020; accepted Apr. 15, 2020)

* Corresponding authors