

近红外光谱技术在微生物检测中的应用进展

田燕龙^{1, 2, 3}, 王毅³, 王箫³, 高学军³, 周加才³, 陆道礼^{1*}, 陈斌^{1*}

1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212013
2. 北京京仪集团有限责任公司, 北京 100022
3. 北京北分瑞利分析仪器(集团)有限责任公司, 北京市物质成分分析仪器工程技术研究中心、北京市企业技术中心, 北京 100095

摘要 近红外光谱作为一种无损检测技术被广泛应用于农业、制药、食品等领域的多组分品质快速监测。微生物的快速准确检测, 在临床诊断、制药和食品加工等领域一直是一个难题。微生物菌体细胞壁、细胞膜及细胞内生物大分子和水的近红外光谱具有高度特异性, 因此可以使用近红外光谱快速识别和分类不同的微生物。通过对相关文献的归纳整理与分析提炼, 对近红外光谱技术在微生物检测中的研究进展做综述。对微生物的基本知识和近红外光谱技术鉴定微生物的基本原理进行了介绍, 并重点综述了近红外光谱技术在微生物分类、食源性微生物检测和成像微生物检测等方面的国内外研究进展, 最后对近红外光谱技术目前存在的问题和未来的应用前景进行了展望, 以期在今后在微生物检测领域更好地利用近红外光谱提供参考。

关键词 微生物; 近红外光谱; 检测; 研究进展

中图分类号: O657.33 **文献标识码:** R **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2022)01-0009-06

引言

微生物是指一切肉眼看不见或看不清的微小生物, 形体微小, 结构简单, 通常要用光学显微镜和电子显微镜才能看清楚^[1]。微生物种类繁多、数目庞大, 主要包括放线菌、细菌、病毒、真菌、立克次体、支原体等。微生物无处不在, 与人类生产生活有着十分密切的关系。人们每天吃的馒头、面包、泡菜等食品和喝的酸奶, 以及各种酒类-调味品中的醋、酱油, 都是经过微生物发酵制作出来的。但是微生物在人们日常生活中也有负作用。比如肉、蛋, 水果等食物, 如果保存不当, 就会腐烂、变质; 人类感染细菌和病毒等病原微生物后就会生病乃至死亡; 药品生产过程中如果被有害微生物污染, 其有效成分会遭到破坏, 从而失去有效性。凡此种种、不胜枚举, 为了防范和控制微生物的危害, 微生物的快速、准确检测变得尤为重要。

目前常用的微生物检测技术, 主要包括传统生化方法、色谱技术、显色培养基技术、链式反应检测技术、核酸探针检测技术、电阻抗检测技术和免疫分析检测技术等^[2-3]。这

些技术虽然检测准确度很高, 但都存在一定的局限性, 或者前处理步骤复杂、时间长、检测结果假阳性率偏高, 或者仪器设备昂贵、对检测环境要求高, 均不适合快速检测。因此探寻一种准确、简便、快捷的分析技术具有重要意义。近红外光谱(NIRs)技术是指利用物质对近红外光的选择性吸收及其吸收强度来预测其成分和含量, 主要用于有机物质定性和定量分析, 具有操作简单、分析速度快、对检测人员专业要求低、分析过程无污染等优点, 已广泛应用于农业、医药、食品等多个领域, 在微生物检测领域也展现出巨大的应用潜力^[4-5]。

1 近红外光谱技术鉴定微生物的基本原理

近红外光是指位于 780~2 500 nm(12 820~4 000 cm^{-1}) 范围的电磁波, NIRs 主要测量分子振动的倍频及合频吸收, 包含了绝大多数类型有机物组成和分子结构的丰富信息。所有的生物系统都是由水、核酸、蛋白质、糖类和脂类组成的, 其中的核酸(RNA 和 DNA)、蛋白质(多肽)、糖类和脂类是由分子量小于 500 的单体通过聚合作用形成的大分子, 统称

收稿日期: 2020-12-22, 修订日期: 2021-03-26

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFE0196600), 中国博士后科学基金项目(2020M670131), 北京市博士后工作经费资助项目(2020-ZZ-045)资助

作者简介: 田燕龙, 1988年生, 北京京仪集团有限责任公司博士后工作站博士后 e-mail: tianyanlong11@163.com

* 通讯作者 e-mail: dllu@ujs.edu.cn; ncp@ujs.edu.cn

为生物大分子^[6]。NIRs 技术通过读取微生物菌体细胞壁、细胞膜及细胞内生物大分子和水的化学键振动情况,提供整个微生物菌体生化组成成分的光谱定性定量信息,因此可以区分生化信息上的差别^[7-8]。此外,由于倍频与合频吸收强度弱、吸收带较宽且重叠严重,导致 NIRs 解析困难,必须结合化学计量学技术,才能实现了对微生物的检测^[9]。

2 近红外光谱技术在微生物研究中的应用

2.1 国外近红外光谱技术检测微生物的研究发展状况

2.1.1 微生物分类

马里兰大学帕克分校的 Rodriguez-Saona 等利用氧化铝多孔膜富集细菌,在光谱信息丰富的 1 667~2 500 nm(6 000~4 000 cm^{-1})区域进行主成分分析(PCA),最早用 NIRs 实现了大肠杆菌 HB101、大肠杆菌 ATCC 43888、大肠杆菌 1224、淀粉酶芽孢杆菌、铜绿假单胞菌、蜡样芽孢杆菌、伊诺卡氏李斯特菌等细菌的鉴定^[7-8, 10]。在此基础上,他们又实现了 NIRs 对 1×10^5 CFU · mL⁻¹ 浓度大肠杆菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌、苏云金杆菌等菌株的快速检测和鉴定^[11]。

Alexandrakis 等选择 700~900 nm(14 286~11 111 cm^{-1})的波长范围进行建模,对英诺库亚氏李斯特菌 FH、乳酸乳球菌、荧光假单胞菌、门多西纳假单胞菌、恶臭假单胞菌进行鉴别,发现偏最小二乘(PLS)方法能够实现菌属水平上 5 种细菌共 127 个样本 100% 的正确判别^[12]。Feng 等采用竞争性自适应重加权采样(CARS)技术,仅选择 3 个波长就实现了对浓度为 1×10^9 CFU · mL⁻¹ 的大肠杆菌和因诺氏李斯特菌在菌种和菌株水平上的分类^[13]。Sivakesava 等分别使用傅里叶变换红外光谱(FT-IRs)和傅里叶变换近红外光谱(FT-NIRs)对 5 种不同微生物进行了鉴别,发现 FT-NIRs 的样品制备过程更加简单,但是在典型变量分析时需要更多的主成分,而且只能在菌属水平上对 5 种微生物进行分类,不能在菌种水平上对 5 种微生物进行分类^[14]。Krepelka 等提出了一种 FT-NIRs 曲线拟合方法,该算法将光谱分解为特定的吸收峰,简化了光谱,提高了对细菌种类的预测能力^[15]。Lima 等利用 FT-NIRs 方法结合多元分析快速鉴别了产碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌和不产碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌^[16]。

2.1.2 食源性微生物检测

食源性致病菌是引起食源性疾病的首要原因,全球每年发生高达 1.5 亿的腹泻病例中,有 70% 是由各种致病性微生物污染食品所引起,因而快速、简便、特异的致病微生物检测方法成为研究热点^[17]。

使用 NIRs 法可以实现对肉类腐败程度的检测^[18-22]。Alexandrakis 等利用 NIRs 和化学计量学检测和鉴定了接种在鸡胸肉上的选定细菌,发现 NIRs 可以检测和区分接种和未接种细菌的鸡胸肉,而且可以区分新鲜和不新鲜,但是却未能区分用于本研究接种的五种不同菌株^[21]。Powell 等在 1 000~1 333 nm(10 000~7 500 cm^{-1})的光谱范围内,利用 FT-NIRs 方法实现了新鲜三文鱼鱼片与 4 °C 保存 9 d 的鱼片

的分离鉴别,并利用 PLS 回归预测模型,预测了 9 d 后的细菌数量,证明了 NIRs 检测和预测鱼类微生物腐败的可行性^[22]。

NIRs 还能够检测水果蔬菜中的微生物污染物^[23-25]。有研究发现,FT-NIRs 方法在 1 111~2 000 nm(9 000~5 000 cm^{-1})范围内可用于菠萝果肉中 1×10^8 CFU · mL⁻¹ 浓度水平大肠杆菌和肠炎链球菌的鉴别,认为该技术在食品中污染物的检测方面具有很大的潜力^[23]。在 700~1 100 nm(14 286~9 091 cm^{-1})短波区域内,NIRs 也被证明是一种快速、无损检测卷心菜细菌污染的方法^[24-25]。

此外,Cámara-Martos 等使用 FT-NIRs 方法实现了对水基食品基质中的乳酸菌以及牛奶中的大肠杆菌和铜绿假单胞菌的鉴定和定量^[26-27]。Daskalov 等发现 NIRs 可以成功区分保加利亚黄色奶酪是否被低浓度($1 \times 10^1 \times 10^3$ CFU · g⁻¹)的单核增生李斯特菌污染^[28]。Al-Qadiri 利用短波 NIRs 技术,将光谱特征的变化与细菌增殖和牛奶腐败程度相关联,实现了快速、无创地检测和监测牛奶腐败^[29]。

2.1.3 粮食中产毒真菌检测

据联合国粮农组织调查估算,全球每年受真菌毒素污染的粮食约有 25%。因污染严重而失去商业价值的农作物约有 2%,利用 NIRs 可以实现对产毒真菌的快速检测^[30-34]。Berardo 等采用 NIRs 法快速检测了玉米籽粒的腐败和霉菌毒素,发现 NIRs 可以准确预测真菌侵染果仁的发生率,特别是黄萎病菌侵染果仁的发生率,以及膳食中麦角甾醇和富马菌素 B1 的含量^[31]。Gaspardo 等研究发现 FT-NIRs 方法是检测玉米粉中富马菌素 B1 和 B2 的一种较好的方法,可用于安全食品和污染食品的鉴别^[32]。Tao 等使用 CARS-PLS 模型对黄曲霉毒素污染玉米粒和健康玉米粒进行了分类,当阈值为 20 和 100 ppm 时分类的总体准确率分别达到 86.67% 和 84.44%^[33]。Fernández-Ibañez 等分别使用 FT-NIRs 仪器和色散型 NIRs 仪器测试了玉米和大麦籽粒中的黄曲霉毒素 B1,发现在 FT-NIRs 仪器上建立的校正模型可以获得更好的光谱信息,无需数学预处理就能得到较好的统计结果^[34]。

2.1.4 近红外光谱成像微生物检测

运用常规 NIRs 技术得到的是样品某一点(或区域)的平均光谱,因而是样品组成或性质的平均结果。利用 NIRs 成像技术则可以实现样品空间各点的信息,从而进一步得到空间各点的组成和结构信息^[35]。Dubois 等利用近红外化学成像技术分别在 1 000~2 350 nm(10 000~4 255 cm^{-1})和 1 200~2 400 nm(8 333~4 167 cm^{-1})的光谱范围内对沉积在特制抛光铝卡片上的细菌细胞进行了高通量分析^[36-37]。结果表明,通过分析特定波长的强度差异可以来识别细菌,并且可以使用离散波长来区分和识别卡片中包含的各种生物体。Sun 等利用高光谱成像技术先后快速测定了鸡胸肉中假单胞菌和肠杆菌含量以及三文鱼肉中乳酸菌的腐败,证明近红外高光谱成像技术是一种不需要复杂的实验室条件就能确定食品卫生和检测食品基质上致病菌的潜在工具^[38-40]。Kimmies 等利用近红外高光谱成像和多元数据分析对食源性细菌进行鉴别,成功分离了革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌,

并实现了颜色相似细菌的区分和致病菌与非致病菌的区分^[41]。

2.1.5 其他微生物检测

除了上述应用外, NIRs 技术在微生物检测领域还有一些其他的应用。Quintelas 等在 1 667~1 852 nm(6 000~5 400 cm^{-1})的光谱区域内使用 FT-NIRs 技术对药品中的细菌污染进行了检测和定量, 结果表明在 3 种药物制剂(隐形眼镜液、止咳糖浆和主题消炎液)中, FT-NIRs 能够对所有细菌的无菌溶液和污染溶液进行鉴别, 对枯草杆菌、大肠杆菌、荧光假单胞菌、肠沙门氏菌、表皮葡萄球菌的检测限分别为 9.0, 5.1, 5.7, 7.8 和 5.7 $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[42]。铜绿假单胞菌是医院感染的主要原因, 并且在治疗的 3~4 d 后就会产生耐药性, Marques 等利用线性判别分析(LDA)和遗传算法(GA)对铜绿假单胞菌进行 FT-NIRs 分析, 根据耐药和敏感性实现了对临床标本中铜绿假单胞菌的分离^[43]。Sikul-Lord 等利用 NIRs 检测和鉴定了实验室饲养的雄性和雌性埃及伊蚊中两种沃尔巴克氏体菌株(wMelPop 和 wMel), 发现 NIRs 可以将感染 wMelPop 和 wMel 的埃及伊蚊与未感染的野生样本区分开, 鉴别准确率最低也达到了 84.5%^[44]。此外, Pesala 等利用红外光谱和 NIRs 对结核分枝杆菌进行无创检测; Saranwong 等设计了一种生牛奶化学成分和总需氧菌计数的无损近红外光谱分析系统^[45]。

2.2 国内近红外微生物检测研究发展状况

和国外相比, 国内关于 NIRs 微生物检测的研究起步较晚, 2008 年刘建学等使用 NIRs 快速预测了原料乳中大肠菌群^[46]。目前国内关于 NIRs 微生物检测的文献主要集中在不同细菌分类、食源性致病菌检测以及粮食中产毒真菌检测等三方面。

2.2.1 微生物分类

河南科技大学的刘建学等在基于 NIRs 技术的细菌分型和鉴别方面做了大量工作。该课题组利用基于 PCA 的投影判别技术, 检测和识别了大肠杆菌、单增李斯特菌和沙门氏菌, 54 个样本的判别正确率达到 100%^[47]; 以 NIRs 结合支持向量机(SVM)实现了对大肠杆菌 O157:H7、单增李斯特菌、金黄色葡萄球菌(90 个样本)的 100%分类鉴别^[48]; 采用改进的贝叶斯判别模型(BDA)实现了对大肠埃希氏菌 O157:H7、单增李斯特菌和金黄色葡萄球菌 3 种细菌(80 个样本)100%的正确分类^[49]。最近, 马凯旋等研究了大肠埃希氏菌 O157:H7、金黄色葡萄球菌、单增李斯特菌 3 种致病菌的不同浓度和不同培养阶段的光谱数据, 发现在 10 $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的低浓度下仍然能够实现对细菌的识别; 此外在对致病菌检测时, 应对样品的前处理进行统一, 以提高鉴别的准确度^[50]。

西北农林科技大学的相关研究通过采集 1 株酵母和 5 株细菌标准菌株的近红外漫反射光谱, 在 1 852~2 500 nm(5 400~4 000 cm^{-1})的光谱范围内采用 PCA 对光谱数据进行了分析, 构建了基于 FT-NIRs 的微生物快速鉴定模型, 这是国内较早进行的基于 NIRs 技术的细菌分型和鉴别工作。随后, 该课题组又基于 FT-NIRs 技术实现了脂环酸芽孢杆菌种间的分类鉴定。

第三军医大学马宁等进行了 NIRs 鉴别耐甲氧西林金葡菌和甲氧西林敏感金葡菌的研究, 发现在 900~2 200 nm(11 111~4 545 cm^{-1})光谱范围内使用 NIRs 结合 SVM 的分析方法具有精确区分耐甲氧西林金葡菌和甲氧西林敏感金葡菌的能力^[51]。Mu 等研究了 FT-NIRs 技术在不同菌种中对单个菌株进行分类的潜力, 结果表明, SVM 和径向基函数神经网络(RBF)等非线性分类方法的分类正确率均在 96%以上, 优于 PLS 判别分析^[52]。福州大学的相关研究使用 FT-NIRs 技术对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌进行鉴别, 结果表明反向传播神经网络(BP-ANN)算法具有最佳预测效果, 预测集 60 个样品的预测精度达到 100%。

最近, 江苏大学 Shi 等研究了利用 NIRs 特征结合化学计量学快速鉴定乳酸菌种类的可行性, 发现当选取 10 个特征波数(4 119, 4 428, 4 316, 4 914, 5 905, 6 193, 6 526, 6 969, 8 373 和 8 659 cm^{-1})时, 利用最小二乘支持向量机(LS-SVM)可以建立最优识别模型, 对实验中所用的 4 个菌种 11 个菌株的识别率在 80%~95%之间^[53]。

2.2.2 食源性微生物检测

中国海洋大学相关研究针对鱼类在低温贮藏过程中的微生物变化, 利用便携式 NIRs 仪器结合 GA 和 BP-ANN 系统方法建立了三文鱼和比目鱼菌落总数的预测和检测模型^[58-59]。三文鱼模型与传统平板计数方法的相关系数为 0.981, 均方根误差为 0.097, 验证模型的相关系数为 0.960, 均方根误差为 0.098; 比目鱼模型与传统平板计数方法的相关系数为 0.985, 均方根误差为 0.095, 验证模型的相关系数为 0.966, 均方根误差为 0.083, 两种模型都具有良好精密度和准确度。

有研究利用 FT-NIRs 技术快速、准确、无损地识别了鸡肉中分离的 4 种致病假单胞菌单菌种及其混合菌种菌液, 从而实现了鸡肉中假单胞菌的 NIRs 快速识别^[56]。浙江工商大学曹海燕等利用 FT-NIRs 结合 PLS、马氏距离等分析方法实现了对紫薯半干面新鲜程度的鉴别以及紫薯半干面中菌落总数含量的定量检测, 其中检测紫薯半干面菌落总数含量范围为 40~1 $\times 10^8$ $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$, 已经可以满足行业标准 NY/T 1512—2007《绿色食品 生面食、米粉制品》中菌落总数($\leq 3 \times 10^5$ $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$)的检测要求^[57]。

2.2.3 粮食中产毒真菌检测

东北农业大学的张强等基于 SVM 进行了稻谷黄曲霉毒素 B1 的 NIRs 无损检测研究, 所建模型的校正集决定系数达到 0.913, 表明 NIRs 可准确检测稻谷中的黄曲霉毒素 B1^[58]。基于多元线性回归(MLR)和逐步回归算法(SRA), 他们又构建了基于 NIRs 的稻谷霉菌和毒素检测数学模型, 实现了稻谷表面霉菌菌落总数的快速预测^[59]。中国农业大学的袁莹等利用 FT-NIRs 对霉变玉米进行了检测, SVM 分类模型对训练集和测试集的预测准确率分别达到 93.3%和 91.7%^[60]。相关研究利用 PCA, LDA 和 PLSR 方法建立了稻谷霉菌污染的快速分析模型, 该模型不仅可以用于感染不同霉菌稻谷样品的快速鉴别, 还可有效区分不同霉变程度的稻谷。

利用 NIRs 技术还可以检测花生的真菌病害。有研究开

发了一种基于 NIRs 技术的花生产毒霉菌污染程度的定性定量分析方法,对储藏 0, 3, 6 和 9 d 花生的感染单一霉菌和多种霉菌的总体判别正确率分别达到 100% 和 99.17%。江苏大学的黄星奕等建立了一种基于 FT-NIRs 技术和 K 最近邻 (KNN) 模式识别方法的霉变和出芽花生识别方法,训练集与预测集识别率均为 98.84%^[61]。

3 结论和展望

NIRs 技术作为一种新型的分析技术,目前已经可以实现 10 CFU · mL⁻¹ 的极低浓度水平下食源性致病菌的检测^[28, 50, 57],满足部分食品安全国家或行业标准中 100 CFU · mL⁻¹ (CFU · g⁻¹) 微生物限量的检测需求,在食品安全领域具有广阔的应用前景。NIRs 技术结合化学计量学软件可以实现食品生产和加工中微生物的在线检测,缩短检测时间,提高生产效率。NIRs 用于微生物鉴别和分类时,在将来的临床检测中,可以节约大量的人力、物力和财力,并为

寻找合适的抗菌药物提供了依据,缩短对病人的确诊时间,减缓病人的痛苦。

然而,开展 NIRs 技术在微生物检测领域的应用研究,还任重道远。(1) 必须制定规范化和标准化的样品制备和操作流程,这样才能实现不同微生物实验室的数据互通和实验重现性,进而实现 NIRs 技术在微生物检测领域的大规模应用;(2) 目前还没有一个成熟的关于微生物检测的 NIRs 模型数据库,而 NIRs 定性和定量分析几乎完全依赖于数据库;(3) 由于传统红外仪器设计理念的问题,处于近红外和中红外结合区域的 2 000~3 000 nm (5 000~3 333 cm⁻¹) 范围的电磁波,FT-NIRs 仪器和 FT-IRs 仪器在这一区域受到光源种类、分光器件基础材料、探测器类型等诸多因素的影响,仪器的信噪比都非常低,而 2 000 nm 以上波长区域恰恰是生物大分子光谱信息最丰富的区域,因此如果有专门针对这一波段优化设计的光谱仪器,相信会有助于微生物的定性和定量分析。

References

- [1] XU Ya-kun, MA Yue, HU Xiao-qian, et al(许亚昆, 马越, 胡小茜, 等). Biodiversity Science(生物多样性), 2019, 27(5): 534.
- [2] CUI Qiang, ZHAO Zhi-guo, LI Jing-wen, et al(崔强, 赵治国, 李菁雯, 等). Food Research and Development(食品研发与开发), 2018, 39(21): 211.
- [3] GAO Chen-yi, WANG Chen-chen(高晨怡, 王晨晨). Modern Food(现代食品), 2018, (9): 101.
- [4] ZOU Tao, LAN Shu-ming, YAN Wei, et al(邹涛, 兰树明, 阎巍, 等). Analytical Instrumentation(分析仪器), 2019, (3): 94.
- [5] Fu X P, Ying Y B. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2016, 56(11): 1913.
- [6] Nauman D. Infrared Spectroscopy in Microbiology. Theory and Instrumentation, 2000, 102: 1.
- [7] Rodriguez-Saona L E, Khambaty F M, Fry F S, et al. Proceedings of SPIE, 2002, 4574: 108.
- [8] Rodriguez-Saona L E, Khambaty F M, Fry F S, et al. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(2): 574.
- [9] XIONG Ying(熊英). Journal of the Graduates Sun Yat-Sen University(中山大学研究生学刊), 2013, 34(2): 16.
- [10] Rodriguez-Saona L E, Khambaty F M, Fry F S, et al. Proceedings of SPIE, 2001, 4206: 22.
- [11] Rodriguez-Saona L E, Khambaty F M, Fry F S, et al. Journal of Food Protection, 2004, 67(11): 2555.
- [12] Alexandrakis D, Downey G, Scannell A G M. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(10): 3431.
- [13] Feng Y Z, Downey G, Sun D W, et al. Journal of Food Engineering, 2015, 149: 87.
- [14] Sivakesava S, Irudayaraj J, Debroy C. Transactions of the ASAE, 2004, 47(3): 951.
- [15] Krepelka P, Hynstova I, Pytel R, et al. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 2017, 25(3): 151.
- [16] Marques A S, Moraes E P, Júnior M A A, et al. Talanta, 2015, 134: 126.
- [17] ZHANG Hong-bo(张红波). China Safety Science Journal(中国安全科学学报), 2004, 14(1): 15.
- [18] Lin M, Al-Holy M, Mousavi-Hesary M, et al. Letters in Applied Microbiology, 2004, 39(2): 148.
- [19] Giron J, Ivorra I, Fernández-Segovia I, et al. Czech Journal of Food Sciences, 2014, 32(4): 376.
- [20] Daskalov H, Atanassova S, Stoyanchev T, et al. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 2011, 14(3): 150.
- [21] Alexandrakis D, Downey G, Scannell A G M. Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety, 2011, 5(2): 57.
- [22] Tito N B, Rodemann T, Powell S M. Food Microbiology, 2012, 32(2): 431.
- [23] de Sousa Marques A, Nicácio J T N, Cidral T A, et al. Journal of Microbiological Methods, 2013, 93(2): 90.
- [24] Suthiluk P, Saranwong S, Kawano S, et al. International Journal of Food Science & Technology, 2008, 43(1): 160.
- [25] Matulaprungsan B, Wongs-Aree C, Penchaiya P, et al. AgriEngineering, 2019, 1(2): 246.
- [26] Cámara-Martos F, Zurera-Cosano G, Moreno-Rojas R, et al. Food Analytical Methods, 2012, 5(1): 19.
- [27] Cámara-Martos F, Lopes J A, Moreno-Rojas R, et al. International Journal of Dairy Technology, 2015, 68(3): 357.
- [28] Daskalov H, Atanasova S, Stoyanchev T, et al. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 2010, 13(1): 31.
- [29] Al-Qadiri H M, Lin M, Al-Holy M A, et al. Journal of Dairy Science, 2008, 91(3): 950.
- [30] ZHOU Bing-gu, HUA Zhen-xin, YANG Rong, et al(周冰谷, 花振新, 杨荣, 等). Journal of Food Safety and Quality(食品安全质量检测学报), 2019, 10(16): 5393.

- [31] Berardo N, Pisacane V, Battilani P, et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(21): 8128.
- [32] Gaspardo B, Del Zotto S, Torelli E, et al. *Food Chemistry*, 2012, 135(3): 1608.
- [33] Tao F, Yao H, Zhu F, et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67: 5230.
- [34] Fernández-Ibañez V, Soldado A, Martínez-Fernández A, et al. *Food Chemistry*, 2009, 113: 629.
- [35] CHU Xiao-li, LU Wan-zhen(褚小立, 陆婉珍). *Analytical Instrumentation(分析仪器)*, 2008, (4): 1.
- [36] Dubois J, Lewis E N, Fry Jr F S, et al. *Food Microbiology*, 2005, 22(6): 577.
- [37] Dubois J, Lewis E N, Fry Jr F S, et al. *NIR news*, 2007, 18(8): 4.
- [38] Feng Y Z, Sun D W. *Talanta*, 2013, 109: 74.
- [39] Feng Y Z, ElMasry G, Sun D W, et al. *Food Chemistry*, 2013, 138(2-3): 1829.
- [40] He H J, Sun D W, Wu D. *Food Research International*, 2014, 62: 476.
- [41] Kammies T L, Manley M, Gouws P A, et al. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(21): 9305.
- [42] Quintelas C, Mesquita D P, Lopes J A, et al. *International Journal of Pharmaceutics*, 2015, 492(1-2): 199.
- [43] Marques A S, Castro J N F, Costa F J M D, et al. *Microchemical Journal*, 2016, 124: 306.
- [44] Sikulu-Lord M T, Maia M F, Milali M P, et al. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 2016, 10(6): e0004759.
- [45] Saranwong S, Kawano S. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2007, 16(4): 389.
- [46] LIU Jian-xue, ZHONG Li-juan, ZHONG Xian-feng, et al(刘建国, 钟莉娟, 钟先锋, 等). *Journal of Food Science and Biotechnology(食品与生物技术学报)*, 2008, 27(3): 99.
- [47] LIU Jian-xue, ZHANG Ya-qi, ZHAO Bing-lin, et al(刘建国, 张雅琪, 赵冰琳, 等). *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology(中国食品学报)*, 2011, 11(8): 159.
- [48] BAI Feng-nü, LIU Jian-xue, HAN Si-hai, et al(栢凤女, 刘建国, 韩四海, 等). *Food Science(食品科学)*, 2014, 35(12): 179.
- [49] LIU Jian-xue, MA Kai-xuan, HAN Si-hai, et al(刘建国, 马凯旋, 韩四海, 等). *Farm Products Processing(农产品加工)*, 2018, (6): 22.
- [50] MA Kai-xuan, LIU Jian-xue, HAN Si-hai, et al(马凯旋, 刘建国, 韩四海, 等). *Food Research and Development(食品研究与开发)*, 2019, 40(6): 156.
- [51] MA Ning, LI Yong-ming, YIN Mei-fang, et al(马 宁, 李勇明, 尹美芳, 等). *Medical Journal of Chinese People's Liberation Army(解放军医学杂志)*, 2016, 41(12): 1005.
- [52] Mu K X, Feng Y Z, Chen W, et al. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2018, 179: 46.
- [53] Shi J, Hu X, Zou X, et al. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2019, 27(4): 302.
- [54] DUAN Cui, CHEN Chun-guang, LIU Yong-zhi, et al(段 翠, 陈春光, 刘永志, 等). *Food Safety and Quality Detection Technology(食品安全质量检测学报)*, 2014, 5(3): 889.
- [55] Duan C, Chen C, Khan M N, et al. *Food control*, 2014, 42: 18.
- [56] CHEN Quan-sheng, WANG Ming-xing, GUO Zhi-ming, et al(陈全胜, 王名星, 郭志明, 等). *Transactions of The Chinese Society of Agricultural Machinery(农业机械学报)*, 2017, 48(8): 328.
- [57] CAO Hai-yan, PAN Wang-ying, SHI Yong-qing, et al(曹海燕, 潘王盈, 施永清, 等). *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology(中国食品学报)*, 2016, 16(10): 160.
- [58] ZHANG Qiang, LIU Cheng-hai, SUN Jing-kun, et al(张 强, 刘成海, 孙井坤, 等). *Journal of Northeast Agricultural University(东北农业大学学报)*, 2015, 46(5): 84.
- [59] JIN Chang-fu, ZHANG Qiang, ZHENG Xian-zhe(金昌福, 张 强, 郑先哲). *Journal of Agricultural Mechanization Research(农机化研究)*, 2016, (10): 160.
- [60] YUAN Ying, WANG Wei, CHU Xuan, et al(袁 莹, 王 伟, 褚 璇, 等). *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association(中国粮油学报)*, 2015, 30(5): 143.
- [61] HUANG Xing-yi, DING Ran, SHI Jia-chen(黄星奕, 丁 然, 史嘉辰). *Journal of Agricultural Science and Technology(中国农业科技导报)*, 2015, 17(5): 27.

Advances in Detection of Microorganisms Using Near-Infrared Spectroscopy

TIAN Yan-long^{1, 2, 3}, WANG Yi³, WANG Xiao³, GAO Xue-jun³, ZHOU Jia-cai³, LU Dao-li^{1*}, CHEN Bin^{1*}

1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

2. Beijing Instrument Industry Group Co., Ltd., Beijing 100022, China

3. Beijing Beifen-Ruili Analytical Instrument (Group) Co., Ltd., Beijing Engineering Research Center of Material Composition Analytical Instrument, Beijing Enterprise Technology Center, Beijing 100095, China

Abstract Near-infrared spectroscopy (NIRs) has been widely applied to rapid multi-component quality monitoring in the field of agriculture, pharmaceutical and food as a nondestructive testing method. Rapid and accurate detection of microbes is a challenging issue in clinical diagnosis, pharmaceutical and food processing technology. Biomacromolecules and water existing in cell walls, membranes and cells of microorganisms possess highly specific NIR spectra that can distinguish, identify and classify different microbes. In this paper, the research progress of NIRs in microorganism detection was reviewed by summarizing, sorting, analyzing and refining published literature. We first briefly introduced basic knowledge of microbiology and the fundamental NIRs for microbial detection. Then research progress at home and abroad of NIRs on microbe classification, foodborne microbial detection and microbial imaging detection was reviewed respectively. Finally, the existing problems and future application prospects of NIRs were also discussed to provide a reference for better use of NIRs in the field of microbial detection in the future.

Keywords Microbes; Near infrared spectroscopy; Detection; Research progress

(Received Dec. 22, 2020; accepted Mar. 26, 2021)

* Corresponding authors