

小麦呕吐毒素污染可见/近红外光谱快速筛查方法研究

蒋雪松¹, 张 斌², 赵天霞², 熊超平², 沈 飞^{2*}, 何学明², 刘 琴², 周宏平^{1*}, 刘兴泉³

1. 南京林业大学机械电子工程学院, 江苏 南京 210037
2. 南京财经大学食品科学与工程学院, 江苏 南京 210023
3. 浙江农林大学农业与食品科学学院, 浙江 杭州 311300

摘 要 小麦不仅是我国主要的粮食品种,也是一种重要的饲料和工业原料。小麦易受赤霉病感染从而产生呕吐毒素,学名脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON),具有一定致癌性,对人畜健康构成严重威胁。尤其近年来极端异常气候频发,小麦 DON 污染风险呈不断上升趋势,已成为影响其产品质量安全的主要因素。然而,传统 DON 检测方法过程繁琐、耗时费力,因此发展一种快速、低成本且适用于在线的检测方法对小麦安全生产及加工具有重要意义。首先从江苏各地收集不同赤霉病感染程度的小麦样品 200 份,磨粉后利用超高效液相色谱-串联质谱联用法(UPLC-MS/MS)测定小麦中 DON 含量,再利用光谱仪在线采集小麦的可见/近红外光谱。数据处理步骤为:采用多元散射校正以及二阶导数对光谱进行预处理,同时根据竞争性自适应权重取样算法提取特征波长,最后利用线性判别分析(LDA)与偏最小二乘判别分析法(PLS-DA)建立小麦粉样品的定性分析模型(以国家标准 $1\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 为界限),根据偏最小二乘回归(PLSR)建立小麦粉样品 DON 含量定量分析模型。UPLC-MS/MS 结果表明小麦 DON 污染风险较高,所测样品超标率约为 50%。可见/近红外光谱分析表明不同 DON 含量小麦样品光谱特征具有一定的差异,原始光谱和二阶导数谱图可看出 $1\ 420\ \text{nm}$ 处 DON 含量越高,吸光度越低。由于 DON 绝对含量低而光谱仪的检测限有限,通过主成分分析未能发现明显的聚类趋势,但根据全光谱以及特征光谱所构建的 LDA 与 PLS-DA 判别模型均能够对超标和未超标样品进行快速识别与筛查,最佳识别率达 87.69%。从定量分析结果来看,所构建的小麦样品 DON 含量的 PLSR 模型结果不太理想,最优模型结果:预测集相关系数(r_p)为 0.688,均方根误差(RMSEP)为 $727\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,相对分析偏差(RPD)值为 1.38,模型精度和稳健性有待进一步提升。利用可见/近红外光谱和化学计量学方法,实现小麦 DON 含量超标与否的在线判别与筛查,为我国小麦产品质量安全快速检测提供了技术参考。但对 DON 含量的定量分析还需要进一步研究,探究外部因素对模型的影响,并拟扩大样品量,收集不同地区、不同品种的小麦样品,提高模型的精度及普适性。

关键词 小麦粉;可见/近红外光谱;呕吐毒素;在线检测;快速筛查

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)12-3904-06

引 言

小麦营养丰富,是我国三大作物之一,也是我国重要的储粮品种。然而,生长于温暖潮湿地区的小麦极易感染赤霉病,例如我国的长江中下游地区、华南地区以及东北地区,均是小麦赤霉病高爆发地区^[1]。诸多研究表明,受赤霉病感染的小麦会产生呕吐毒素,其学名为脱氧雪腐镰刀菌烯醇

(deoxynivalenol, DON)^[2]。DON 的化学性质较为稳定,抗热性较强,因此一般的加工手段及储藏无法破坏其结构。DON 的存在,不仅会侵染破坏小麦的细胞组织,还会降低小麦粒的出粉率,影响产量^[3]。其次牲畜食用了受 DON 污染的饲料可导致急性胃肠道症状,如呕吐、便血和拒绝进食等^[4]。DON 也能引发人体中毒,产生厌食、呕吐等与动物类似的并发病状。此外, DON 还具有一定的致癌、致畸等潜在健康风险^[5]。为了避免 DON 对人体以及动物的危害,需对感染赤

收稿日期: 2019-07-24, 修订日期: 2019-10-29

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC1600601), 国家自然科学基金项目(31772061), 江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(19)2005), 浙江省重点研发计划项目(2018C02050)资助

作者简介: 蒋雪松, 1979 年生, 南京林业大学机械电子工程学院副教授 e-mail: xsjiang@126.com

* 通讯联系人 e-mail: shenfei0808@163.com; hpzhou@njfu.edu.cn

霉菌的小麦进行监测与控制。

近年来随着化学计量学的快速发展,近红外光谱技术也逐渐成熟,被应用于各大行业。相对于传统的 DON 检测手段,如高效液相色谱法^[6]、薄层色谱法^[7]以及酶联免疫法^[8]等,其具有快速、低成本以及无破坏性等优点,并且有望于实现在线检测。目前国内外已经有研究者将该技术应用于粮食中的真菌毒素的快速检测中^[9-11],从大多数的研究结果来看,利用近红外光谱能够实现霉菌侵染程度的准确预测以及判别;但对于毒素的检测,大多能够实现阈值之间的区分,难以实现定量分析。诸多研究表明了近红外光谱技术在粮食的真菌毒素快速检测中拥有着巨大的潜力。然而目前大多数的研究仍以静态检测为主,在线检测粮食中毒素的报道尚未出现。因此本研究以自然感染赤霉病的小麦粉为对象,通过在线获取其可见/近红外光谱,分析不同 DON 含量小麦样品之间的光谱差异,结合化学计量法构建相应的判别模型,探索可见/近红外光谱在线检测小麦粉中 DON 侵染程度的可行性,为我国粮食的安全加工与生产提供一种检测方案。

1 实验部分

1.1 样品

2018 年新收获小麦样品,由江苏省粮食局粮油质量监测所提供,均受不同程度赤霉病感染,共计 200 份。除杂后磨粉,并储存于-20℃的冷库中待测。

1.2 仪器

阵列式漫反射光谱仪(MCS 600, Carl Zeiss, 德国),漫反射探头(OMK500-H/NIR, Carl Zeiss, 德国),动态平台(维视数字图像技术有限公司,陕西),不锈钢万能粉碎机(HK-180 型,旭朗机械设备公司,广州),电子分析天平(AR204,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司),旋涡混合器(XW-80A,上海青浦泸西仪器厂),台式高速冷冻离心机(Allegra 64R,美国贝克曼公司);液相色谱串联三重四级杆质谱联用仪(Waters-UPLC Xevo TQ,美国沃特世公司);磨粉机(100 control, IKA Tube Mill, 爱卡(广州)仪器设备有限公司)。

1.3 超高效液相色谱-串联质谱联用法测定小麦中 DON 含量

QuEChERS 前处理:称取 2.500 g 小麦粉于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 1%乙酸-水溶液,涡旋混匀后在 4℃冰箱放置 10 min。加入 10 mL 乙腈,涡旋 2 min 后加入盐包,涡旋 2 min,4℃下 6 000 r·min⁻¹离心 5 min。取 3 mL 上清液于 10 mL 净化管(内含 PSA, C18, MgSO₄ 共 0.500 g)中,涡旋 2 min,4℃下 6 000 r·min⁻¹离心 5 min。取 1 mL 上清液过 0.22 μm 有机滤膜,待测。

色谱条件:液相系统:Waters ACQUITY UPLC H-class;色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C18(1.7 μm, 2.1 mm×100 mm);柱温:40℃;检测周期:6 min;进样量:10 μL;流动相:A(0.1%甲酸-水),B(乙腈)。梯度洗脱条件如表 1 所示。

质谱条件:质谱系统:Xevo TQ MS;离子化模式:

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间/min	流速/(mL·min ⁻¹)	A/%	B/%
0	0.4	90	10
0.2	0.4	90	10
3.0	0.4	40	60
3.5	0.4	10	90
4.5	0.4	10	90
4.6	0.4	90	10
6.0	0.4	90	10

ESI+;毛细管电压:3 kV;脱溶剂温度:500℃;脱溶剂流速:1 000 L·Hr⁻¹;设置保留时间为 1.36 s,监测离子对为 297.1>231.1(定量离子对,锥孔电压 25 V,碰撞能量 13 V,驻留时间 0.052 s)和 297.1>249.1(锥孔电压 25 V,碰撞能量 10 V,驻留时间 0.052 s)。

回收率和精密度:采用基质匹配标准曲线,小麦粉中检测得到的标准曲线/线性范围、精密度(20 μg·kg⁻¹;日内、日间)及 3 个添加水平(0.2, 0.6 和 1 mg·kg⁻¹)的加标回收率进行了测定。结果显示,200 份样品中 DON 的含量在 <60~6 233.03 μg·kg⁻¹ 之间,平均值为 1 195.71 μg·kg⁻¹,超标率达 48.71%。

1.4 小麦样品可见/近红外光谱采集

利用自建的可见/近红外光谱在线检测系统^[12],取磨粉后的小麦粉样品平铺于直径为 9 cm 高为 1.5 cm 的培养皿中,刮平上表面后置于动态平台的传送带的中心线上,同时确保样品上表面距离漫反射探头约 2 cm,此时样品表面照射光斑面积约 3.14 cm²。光谱仪开机预热 30 min,设置光谱仪积分时间为 20 ms,平均次数为 3 次,传送带速度为 0.15 m·s⁻¹。启动传送带,当样品到达至漫反射探头正下方时,手动采集样品光谱;每份样品重复采集三次信息,取平均。

1.5 数据处理与模型构建

将采集的光谱利用 MATLAB 软件进行平均,将平均光谱作为样品的代表光谱。在进行模型构建之前,利用多元散射校正、二阶导数对光谱进行降噪处理,以避免噪音对模型的精度和稳定性造成影响。将预处理后的样品光谱采用竞争性自适应权重取样算法(competitive adaptive reweighted sampling, CARS)进行特征波长优选^[13]。该方法利用回归系数绝对值大小来衡量波长的重要性,将每一个波长看作个体,逐步淘汰权重较小的波长点从而达到特征波长优选的目的。

构建模型之前对光谱进行主成分分析(principal component analysis, PCA)分析样品的聚类趋势。之后利用线性判别分析(LDA)以及偏最小二乘判别分析(PLS-DA)两种方法建立小麦 DON 侵染程度的判别模型。在建立模型前,剔除 5 份异常样本,将剩余的 195 份样本利用随机法按照 2:1 的比例分成建集与预测集,两个样本集的样品分布如表 2 所示。同时按照国家标准^[14],将超过 1 000 μg·kg⁻¹的样本作为超标样本,将未超过 1 000 μg·kg⁻¹的样本作为未超标样本。在 LDA 模型中将未超标样本记为类 A,超标样本记为类

B, 通过预测类 A 与类 B 来判定模型的预测准确率。在 PLS-DA 模型中, 由于模型是基于 PLS 回归计算而开发的, 因而将未超标样本记为 +1, 超标样本记为 -1。其中若预测值 > 0 则判定为未超标, 若预测值 < 0 则判定为超标。

表 2 样本集中 DON 含量统计概述
Table 2 Statistical summary of deoxynivalenol content in the subset

样本集	样本数	范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	方差/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$
建模集	130	<60~6 233.03	999.01
预测集	65	<60~6 124.06	1 141.66

模型评价方法是预测值判定正确的数量来进行的, 主要有总体正确率(total accuracy, TA), 未超标样本识别正确记为阳性识别正确率(positive accuracy, PA), 超标样本识别正确记为阴性识别正确率(negative accuracy, NA), 其计算公式如下

$$TA = \frac{\text{判别正确样本数}}{\text{总体样本数}} \times 100\% \quad (1)$$

$$PA = \frac{\text{正确判定未超标样本数}}{\text{未超标样本总数}} \times 100\% \quad (2)$$

$$NA = \frac{\text{正确判定超标样本数}}{\text{超标样本数}} \times 100\% \quad (3)$$

2 结果与讨论

2.1 可见/近红外光谱分析

利用可见/近红外光谱仪在线采集的小麦粉样品光谱范围为 600~1 700 nm。图 1 是 <60~6 233.0 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围内五份不同 DON 含量的样品原始和二阶导数光谱图, 从图 1 (a) 中可以看出不同 DON 含量样品的光谱大致相似, 在 960, 1 140 以及 1 420 nm 三个波长点附近具有相同的吸收峰, 这表明小麦样品在受 DON 侵染的过程中, 主要化学结构未被破坏。其次观察 1 140 及 1 420 nm 处的吸光度可发现, 随着侵染水平的增加, 吸光度大致呈下降趋势, 为了进一步观察, 利用二阶导数对光谱进行处理, 将部分波段进行放大。从图 1(b) 中可发现经过二阶导数处理后的光谱消除了大量噪音与基线漂移, 放大了部分波长点处的吸收峰。观察可知, 在多个波峰处呈现同样的现象。禾谷镰刀菌在感染小麦样品时, 破坏了小麦的细胞壁以及直链淀粉^[15], 使得种皮出现孔状结构, 并在糊粉层处形成了空腔。此外还影响了小麦中水分和蛋白质的含量, 受侵染的小麦样品内, 大分子量的蛋白质与直链淀粉明显减少。而这些物质对于 1 140 和 1 420 nm 处的近红外光吸收尤为敏感, 因而造成吸光度的降低, 这与 Ruan 等发现的现象一致^[16]。

2.2 主成分分析

图 2 是不同 DON 侵染程度的小麦样品前三个主成分得分图, 其中第一主成分占 51.3%, 超过了 50%, 体现了样品之间的相似性; 第二主成分占 38% 贡献率, 第三主成分占 3% 贡献率, 较低的主成分能够反映出样品的差异, 因而主要观察第二主成分和第三主成分的聚类情况。从图中可以看

出根据第二第三主成分的聚类趋势并不明显, 大部分样品交叉在一起, 无法实现超标样品与未超标样品的准确区分。这可能是由于样品的毒素含量过低, 样品种类不一致, 因而需进一步建立判别分析模型来识别超标与未超标样本。

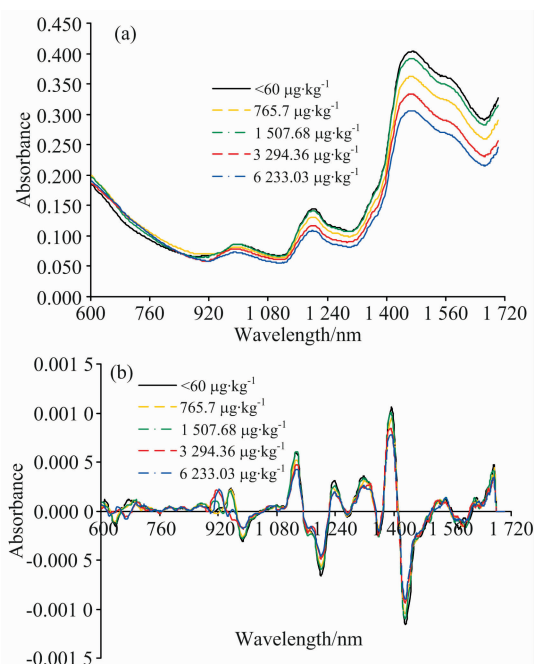


图 1 5 种不同 DON 含量 (<60~6 033.03 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 的小麦粉样品原始 (a) 与二阶导数 (b) 光谱图

Fig. 1 Average raw (a) and second derivative (b) spectra of wheat flour samples with five different levels (from < 60 to 6 033.03 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) of DON contamination

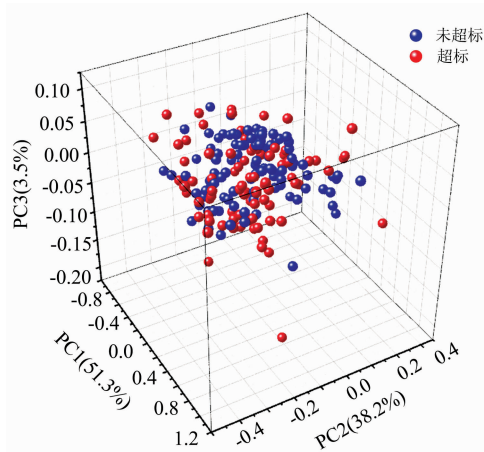


图 2 小麦粉样品前三主成分得分图
Fig. 2 Score plot of first three PCs of wheat flour samples

2.3 小麦粉 DON 超标与否的定性判别分析

据上所述, 按照国家食品中真菌毒素限量标准, 将含量超过 1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的小麦粉样品划分为超标样品, 将含量低于 1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的小麦粉样品划分为未超标样品。分别

采用 LDA 和 PLS-DA 两种判别分析方法建立小麦 DON 超标与否的定性分析模型,以判别小麦粉中 DON 含量超标与否。由于 LDA 模型的变量需要小于样本量,因此对光谱提取主成分,利用主成分作为变量建立相应的模型。表 3 是根据样品全波段光谱以及特征波长光谱信息建立的 LDA 和 PLS-DA 模型结果。从表 3 中可以看出利用全波段光谱建模的 LDA 模型结果略低于 PLS-DA 模型结果,其建模集总体准确率分别为 84.62% 和 89.23%,预测集总体准确率分别为 83.08% 和 86.15%;从预测集中可以看出 LDA 和 PLS-

DA 两种模型的阳性识别率 PA(83.87%, 87.10%)均大于阴性识别率 NA(82.35%, 85.29%)。Girolamo^[17]等利用 FT-NIR 对小麦样品中的 DON 侵染程度进行判别,所建立的 LDA 模型对低于 1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的样品识别正确率为 80.70%,对大于 1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的样品识别正确率为 76.42%,与本结果类似。这表明两种模型利用全光谱均能够实现小麦粉中 DON 超标与否的在线判别;而且模型对于未超标的样本能够较准确的识别,而对于超标样本的识别能力还需进一步提升。

表 3 小麦样品的 LDA 和 PLS-DA 分类模型结果
Table 3 Results of the LDA and PLS-DA classification models of wheat samples

变量数	模型	测量值	建模集			预测集		
			未超标	超标	准确率/%	未超标	超标	准确率/%
全谱段	LDA	未超标	59	10	85.51	26	5	83.87
		超标	10	51	83.61	6	28	82.35
		总体准确率/%			84.62			83.08
	PLS-DA	未超标	63	6	91.30	27	4	87.10
		超标	8	53	86.89	5	29	85.29
		总体准确率/%			89.23			86.15
CARS	LDA	未超标	65	4	94.20	28	3	90.32
		超标	11	50	81.97	6	28	82.35
		总体准确率/%			88.46			86.15
	PLS-DA	未超标	66	3	95.65	28	3	90.32
		超标	11	50	81.97	5	29	85.29
		总体准确率/%			89.23			87.69

为了满足在线应用的需要,采用全光谱建模会在一定程度上降低运算速度,因而探讨了利用 CARS 提取特征波长后的 LDA 和 PLS-DA 模型。从表 3 中可以看出,利用特征波长建立的模型整体准确率有一定的提升,建模集的正确率分别从 84.62% 和 89.23% 提升到 88.46% 和 89.23%,预测集的正确率分别从 83.08% 和 86.15% 提升到 86.15% 和 87.69%,这可能是由于提取特征变量消除了部分噪音,优化了模型的结果。此外,两种模型的识别正确率同样略高于

阴性识别正确率。表明采用特征波长进行建模分析一定程度上能够简化模型,降低模型的复杂程度,此外还能提高模型的对超标和未超标样本判别的准确性。图 3 是全波段与特征波段 LDA 的第一第二判别函数得分图,从中可以看出,超标样品和未超标样品呈现明显的聚类效果,仅有部分重叠,结果明显优于 PCA;此外还可以观察到利用 CARS 提取特征波段的 LDA 得分图相比全波段的 LDA 得分图聚类效果更优。利用可见/近红外光谱结合化学计量学能够实现小麦

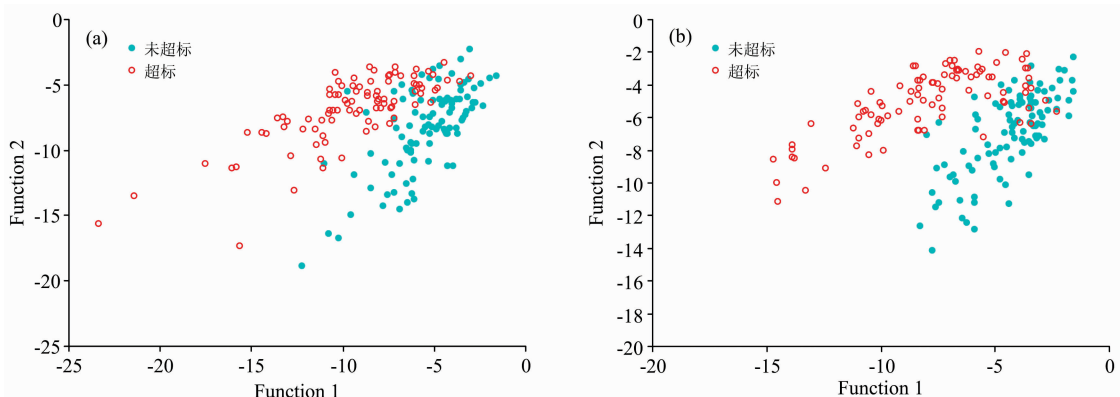


图 3 小麦粉样品 LDA 得分图

(a): 全波段; (b): CARS 特征波段

Fig. 3 LDA Score plot of wheat flour samples

(a): Full spectrum; (b): Characteristic wavelength by CARS

粉 DON 超标与否的在线判别。

2.4 小麦粉 DON 侵染程度的定量分析

为了进一步表征小麦粉中 DON 的具体侵染程度,建立了基于全光谱与特征光谱的 PLS 模型,并探讨了不同预处理方法对模型的影响。从表 4 中可以看出基于全光谱的 PLS 模型结果略优于基于特征波长的 PLS 模型,其最佳模型的预处理分别是二阶导数和无预处理,建模集相关系数 r_c 分别为 0.772 和 0.651; r_p 分别为 0.727 和 0.626。此外两种模型的预测集均方根误差分别为 727 和 626 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, RPD 值分别为 1.38 和 1.25。结果表明模型不可靠,不能用于准确的定量预测。Girolamo 等^[18]利用 FT-NIR 进行小麦 DON 含量的定量分析,在 $<50 \sim 16\ 000 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围内,建立 PLS 模型,其模型的预测集 R_p^2 为 0.630,均方根误差为 1 977 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,RPD 为 1.72。分析技术原理以及考虑到检测条件,有以下两个主要原因影响了本研究的检测精度。一方面近红外光谱技术检测小麦中 DON 含量是一种间接测量方法,其依赖 DON 对小麦侵染造成的蛋白以及淀粉的变化^[19];其次,本研究是利用在线平台动态获取小麦粉样品的光谱,受到震动、速度、积分时间等因素的影响,导致模型精度欠缺。因

表 4 基于可见/近红外光谱的小麦样品 DON 侵染程度的 PLSR 模型结果

Table 4 Results of PLS model for wheat flour samples contaminated with DON by Vis/NIR spectroscopy

变量数	预处理方法	建模集(130)		预测集(65)		RPD
		r_c	RMSEC/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	r_p	RMSEP/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	
全谱段	None	0.649	764	0.616	899	1.26
	MSC	0.647	766	0.563	936	1.22
	2st	0.772	679	0.688	727	1.38
CARS	None	0.651	847	0.626	626	1.25
	MSC	0.629	781	0.618	871	1.22
	2st	0.693	806	0.598	824	1.21

References

- [1] Miller J D. Journal of Stored Products Research, 1995, 31(1): 1.
- [2] Jin Z, Zhou B, Gillespie J, et al. Food Control, 2018, 85: 6.
- [3] Bellesi F J, Arata A F, Martínez M, et al. Journal of Stored Products Research, 2019, 83: 1.
- [4] Savard C, Provost C, Alvarez F, et al. Veterinary Microbiology, 2015, 176(3-4): 257.
- [5] Raiola A, Tenore G C, Manyes L, et al. Food and Chemical Toxicology, 2015, 84: 169.
- [6] Zhang Y, Pei F, Fang Y, et al. Food Chemistry, 2019, 275: 763.
- [7] Cendoya E, Chiotta M L, Zchetti V, et al. Journal of Cereal Science, 2018, 80: 158.
- [8] Coronel M B, Vicente S, Resnik S L, et al. Food Control, 2016, 67: 285.
- [9] Tao F, Yao H, Zhu F, et al. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(18): 5230.
- [10] De Girolamo A, von Holst C, Cortese M, et al. Food Chemistry, 2019, 282: 95.
- [11] Hossain M Z, Goto T. World Mycotoxin Journal, 2014, 7(4): 507.
- [12] JIANG Xue-song, ZHAO Tian-xia, LIU Xiao, et al(蒋雪松, 赵天霞, 刘 潇, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2018, 38(12): 3729.
- [13] Li H, Liang Y, Xu Q, et al. Analytica Chimica Acta, 2009, 648(1): 77.
- [14] GB 2761—2017, Limits of Mycotoxins in Food(食品中真菌毒素限量). National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准).

此下一步的研究将会针对这些影响因素进行深入讨论。图 4 是全光谱二阶导数 PLS 模型的测量值与预测值相关性图。

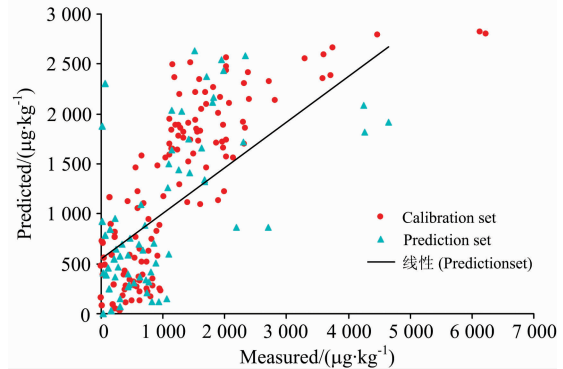


图 4 全光谱的小麦粉样品测量值与预测值的相关性

Fig. 4 Correlation between measured and predicted values for wheat samples by full spectrum

3 结 论

不同 DON 侵染程度的小麦粉光谱具有一定的差异,通过主成分分析无法直接准确区分超标与未超标样本,因而需要进一步构建判别分析模型来识别超标与未超标样本。本研究结果表明采用 LDA 与 PLS-DA 建立的小麦粉 DON 含量超标与否的判别模型具有较好的精确度,且根据 CARS 提取的特征波长建模不仅能够简化模型,还能略微提高模型的精确度。但根据在线获取的小麦粉可见/近红外光谱无法进行准确的定量分析,所构建的采用全波段以及特征波段建立的 PLS 模型均不可靠。因此利用可见/近红外光谱技术,能够较好的实现小麦粉样品中 DON 超标与否的在线判别,实现小麦质量安全的在线快速筛查,但目前无法准确预测其 DON 含量。因而可以考虑开发一定的台式或者便携式设备,采集稳定的光谱信息,建立稳健的模型,从而实现 DON 含量的准确预测。

- [15] Horvat D, Spanic V, Dvojkovic K, et al. *Cereal Research Communications*, 2014, 43(1): 61.
- [16] Ruan R, Li Y, Lin X, et al. *Applied Engineering in Agriculture*, 2002, 18(5): 549.
- [17] De Girolamo A, Cervellieri S, Cortese M, et al. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(4): 1946.
- [18] De Girolamo A, Cervellieri S, Visconti A, et al. *Toxins*, 2014, 6(11): 3129.
- [19] Jackowiak H, Packa D, Wiwart M, et al. *International Journal of Food Microbiology*, 2005, 98(2): 113.

Screening of DON Contamination in Wheat Based on Visible/Near Infrared Spectroscopy

JIANG Xue-song¹, ZHANG Bin², ZHAO Tian-xia², XIONG Chao-ping², SHEN Fei^{2*}, HE Xue-ming², LIU Qin², ZHOU Hong-ping^{1*}, LIU Xing-quan³

1. College of Mechanical and Electronic Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

2. College of Food Science and Engineering, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210023, China

3. School of Agriculture and Food Science, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China

Abstract Wheat is not only the main grain in China, but also is an important feed and industrial raw material. Wheat is susceptible to scab, which can produce vomitoxin whose scientific name is Deoxynivalenol (DON). Vomitoxin is carcinogenic and pose a serious threat to human and animal health. In recent years, due to the frequent occurrence of extreme and abnormal weather, the risk of DON infection is on the rise, which has become the main factor affecting the quality and safety of wheat products. However, traditional methods for detecting DON content have obvious problems such as cumbersome and time-consuming detection process. Therefore, developing a fast, low-cost and online detection method is of great significance for the safe production and processing of wheat. Firstly, 200 wheat samples with different degrees of scab infection were collected from all parts of Jiangsu. After milling, the content of DON in wheat was determined by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS), and then the visible/near-infrared spectral of wheat were collected online. The data processing steps are: pre-processing the spectrum by multi-scattering correction and second derivative, and extracting the characteristic wavelength according to the competitive adaptive reweighted sampling algorithm, then using linear discriminant analysis (LDA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) was used to establish a qualitative analysis model of wheat flour samples (with a national standard of $1\ 000\ \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), and a quantitative analysis model of DON content in wheat flour samples was established according to partial least squares regression (PLSR). UPLC-MS/MS results showed that the risk of wheat DON contamination was higher, and the over-standard rate of the tested samples was 50%. Visible/near-infrared spectroscopy analysis showed that the spectral characteristics of different DON content wheat samples had some differences. The original spectrum and the second derivative spectrum showed that the higher the DON content, the lower the absorbance at 1 420 nm. Due to the low absolute content of DON and the limited detection limit of spectroscopy, the obvious clustering trend could not be found by principal component analysis. However, the LDA and PLS-DA discriminant models constructed according to the full spectrum and the characteristic spectrum can quickly identify and screen sound and infection samples, and the best recognition rate was 87.69%. According to the quantitative analysis results, the PLSR model of DON content in wheat samples was not ideal. The optimal model results: the correlation coefficient (r_p) of the prediction set was 0.688, the root mean square error (RMSEP) was $727\ \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, and the relative analysis deviation (RPD) was 1.38. The accuracy and robustness of the model needed to be further improved. It is feasible to use visible/near-infrared spectroscopy and chemometrics methods to achieve on-line discrimination and screening of wheat DON content exceeding the standard, which provides a technical reference for the rapid and quality detection of wheat products in China. However, the quantitative analysis of DON content needs further research to explore the influence of external factors on the model, and it is planned to expand the sample size, collect wheat samples from different regions and different varieties, and improve the accuracy and universality of the model.

Keywords Wheat flour; Visible/near spectroscopy; Deoxynivalenol; On-line detection; Rapid screening

* Corresponding authors

(Received Jul. 24, 2019; accepted Oct. 29, 2019)