

## 近红外光谱技术的花生产毒霉菌侵染快速检测

刘 鹏<sup>1</sup>, 蒋雪松<sup>1\*</sup>, 沈 飞<sup>2</sup>, 吴启芳<sup>2</sup>, 许林云<sup>1</sup>, 周宏平<sup>1</sup>

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

**摘 要** 为了能够快速、无损地评价花生的质量, 确保储藏与食用安全, 开发了一种基于近红外光谱技术的花生产毒霉菌污染程度的定性定量分析方法。首先对经过 Co-60 强辐射杀菌后的新鲜花生样品分别接种谷物中五种常见产毒霉菌(黄曲霉 3.17、黄曲霉 3.3950、寄生曲霉 3.395、寄生曲霉 3.0124、赭曲霉 3.6486), 并于适宜条件下(26 ℃、RH 80%)储藏 9 d。其次, 利用近红外光谱仪采集了不同时期花生样品在 12 000~4 000  $\text{cm}^{-1}$  波段范围内的漫反射光谱, 运用主成分分析(PCA)、判别分析(DA)和偏最小二乘回归(PLSR)建立了分析模型。结果显示, 接种不同霉菌的样品随着储藏时间的延长均能得到有效区分, DA 模型对储藏 0, 3, 6 与 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%, PLSR 模型对样品中的菌落总数的预测结果为: 有效决定系数( $R_p^2$ )为 0.874 1、交互验证均方根误差(RMSECV)为 0.276  $\text{Log CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 、剩余预测偏差(RPD)为 1.92。结果表明, 近红外光谱技术可以作为一种可靠的分析方法对花生受霉菌侵染的状况进行快速分析, 从而确保贮藏期间花生的质量安全。

**关键词** 近红外光谱; 花生; 快速检测; 产毒霉菌

**中图分类号**: O657.3; S379

**文献标识码**: A

**DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2017)05-1397-06

### 引 言

花生作为油料作物, 富含蛋白质与脂肪, 深受广大消费者喜爱。但花生在贮藏期易受黄曲霉、寄生曲霉<sup>[1]</sup>、赭曲霉和青霉菌<sup>[2]</sup>等有害霉菌的侵染, 从而产生次级代谢产物, 如黄曲霉毒素(aflatoxin, AFT)、赭曲霉毒素(ochratoxin, OT)等。其中, AFT 被世界卫生组织癌症研究机构(IARC)定为 I 类致癌物质<sup>[3]</sup>, OT 被列为 II 类致癌物<sup>[4]</sup>。因此, 如何准确判断花生受有害霉菌的感染程度, 对于维护人类与动物的健康具有积极的意义。

目前常见花生霉变的检测方法有薄层色谱法(TLC)、高效液相色谱法(HPLC)与酶联免疫吸附法(ELISA)等<sup>[5]</sup>, 这些方法虽然精确, 但过于费时、费力, 还需熟练的技术人员, 因此需要一种快速、便捷与有效的检测方法。近红外光谱(near infrared spectroscopy, NIR)技术由于具有快速、精确和高灵敏度等优点已得到广泛重视。它已成功用于检测大豆中蛋白质与脂肪含量<sup>[6]</sup>、水果的成熟度<sup>[7]</sup>、谷物的霉变<sup>[8]</sup>、

玉米与大麦中 AFB1 含量<sup>[9]</sup>与水稻中 AFB1 含量<sup>[10]</sup>等多方面研究。

在花生研究方面, Oh 等<sup>[11]</sup>应用 NIR 光谱检测花生中脂肪与蛋白质含量, 可快速普查大量花生质量。Zhang 等<sup>[12]</sup>采用 NIR 光谱测量五个品种的花生中蛋白质、油、油酸与亚油酸含量, 并对这些混合指标进行定量分析, 实现对不同品种花生的等级划分。Sundaram 等<sup>[13]</sup>应用 NIR 检测带壳花生中油与脂肪酸含量, 从而评判带壳花生的质量安全。Wang 等<sup>[14]</sup>应用 NIR 检测花生中蛋白质与氨基酸含量评判花生质量安全。Phan-Thien 等<sup>[15]</sup>应用 NIR 预测花生中的微量元素(Ca, K, Mg 与 P)判断花生的品质。Hirano 等<sup>[16]</sup>运用 NIR 技术检测花生中油脂含量, 评判花生是否发生霉变。黄星奕等<sup>[17]</sup>收集 258 个不同霉变程度花生样品, 通过花生表面光泽变化结合 NIR 快速检测花生是否发生霉变。综上所述, 运用 NIR 检测花生理化指标与矿物质含量的研究较多, 但对于花生霉变研究相对较少, 且主要集中于霉变状态的定性区分, 对花生受不同霉菌感染而产生的差异涉及不多。

因此, 本研究拟以接种不同种类产毒霉菌的花生籽粒为

收稿日期: 2016-04-18, 修订日期: 2016-09-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(31301482), 江苏省科技项目合同(BK20131007), 南京林业大学青年科技创新基金项目(CX2015010)和江苏高校优势学科建设工程项目(PAPD)资助

作者简介: 刘 鹏, 1991 年生, 南京林业大学机械电子工程学院硕士研究生 e-mail: liupenguoyan@163.com

\* 通讯联系人 e-mail: xsjiang@126.com

研究对象,实时获取其不同储藏天数的近红外光谱信息,结合多变量分析建立同一霉菌及多种霉菌在不同储藏阶段(0, 3, 6, 9 d)的快速分析模型,并预测花生中菌落总数含量,同时实现有害霉菌侵染花生的定性与定量分析,为监控储藏期花生的质量安全提供技术支撑。

## 1 实验部分

### 1.1 材料

实验花生籽粒选购于当地超市,挑选表面没有破损、发霉及发芽且大小均等的花生仁,经过 Co-60 辐射(15kGy)灭菌后装入塑料密封袋放置于 4 °C 环境下,备用。

### 1.2 霉菌菌液准备

花生中感染五种常见产毒霉菌:黄曲霉(*A. flavus*) 3.17、黄曲霉(*A. flavus*)3.3950、寄生曲霉(*A. parasiticus*) 3.395、寄生曲霉(*A. parasiticus*) 3.0124 和赭曲霉(*A. ochraceus*)3.6486。霉菌选购于中国北京北纳创联研究院,置于马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基上存储。使用前,霉菌接种到 PDA 培养基上在 26 °C 培养 7~10 d,通过无菌水冲洗孢子,运用无菌塑料接种环将孢子悬浮液分离至 50 mL 锥形瓶中,通过平板计数方式,调整浓度至  $10^5$  CFU · mL<sup>-1</sup>,备用。

### 1.3 方法

使用电子天平称取 120 份 50 g 的灭菌花生,运用 10~100 μL 容积单道可调量移液器分别接种五种霉菌的孢子悬浮液 10 μL 于每粒花生表面,并放置于人工气候箱,26 °C,80%相对湿度(RH)储藏 9 d,每 3 d 对侵染五种霉菌的花生各取六份用于分析,通过平板计数测量第 0 d 样品中菌落总数均低于 2.7 Log CFU · g<sup>-1</sup>,未达到霉变状态,把第 0 d 花生样品作为对照组,并将样品放置于密封袋中于 4 °C 环境下,备用。

采用高速万能粉碎机将每份花生磨成糊状,使花生中霉菌分配更加均匀,在扫描前将冷藏花生糊置于室温[(23±1) °C]下 2 h 直至样品达到室温。运用 MB3600 型近红外光谱仪(Quebec 公司,加拿大)和 InGaAs 光电检测器(ABB-Bomem 公司,加拿大)扫描样品,光谱采集时,每份样品称取 8 g 于进样瓶中,并置于光电检测器上,收集样品的漫反射光谱。扫描波数范围为 12 000~4 000 cm<sup>-1</sup>,分辨率为 4 cm<sup>-1</sup>,扫描 64 次<sup>[18]</sup>,样品重复扫描 3 次,取平均值作为花生光谱数据。

不同储藏时期花生中菌落总数的测量参照 GB/T 4789.2 2010<sup>[19]</sup>进行操作。

### 1.4 数据分析

对培养 0, 3, 6 和 9 d 不同阶段花生进行光谱采集,采用多变量统计分析方法对 NIR 数据进行处理,为消除基线漂移、高频随机噪声等带来的误差,采用多元散射校正(multiplicative signal correction, MSC)预处理方法。先通过主成分分析(principal component analysis, PCA)提取主要数据并排除异常值,为后续分析提供最优变量;再通过判别分析(discriminant analysis, DA)对培养 4 个阶段的花生生长状况进

行区分;最后通过偏最小二乘回归分析(partial least squares regression, PLSR)对花生中菌落总数进行定量分析。进行 PLSR 分析时,已获取花生光谱数据作为自变量,菌落总数作为因变量,其中取 2/3 样品作为建模集,1/3 作为预测集。评估 PLSR 建模性能指标有:有效决定系数(correlation coefficient of determination, R<sup>2</sup>)、建模均方根误差(root mean squared error of calibration, RMSEC)、预测均方根误差(root mean squared error of prediction, RMSEP)、交互验证均方根误差(root mean squared error of cross validation, RMSECV)和剩余预测偏差(residual predictive deviation, RPD)。其中 RPD 为标准偏差与预测均方根误差的比值。以上分析均在 TQ Analyst v6.2.1 (Thermo Electron Corp., Madison, WI, USA)软件中进行。

## 2 结果与讨论

### 2.1 光谱分析

图 1 为花生样品中感染五种霉菌的原始平均光谱图,可以看出样品的近红外光谱在 9 000~4 000 cm<sup>-1</sup>波段范围内整体相似,存在许多典型的共有峰谱,而健康组花生整体吸光值较强,可能是由于健康花生的油脂和水分含量较高。在 6 000~4 000 cm<sup>-1</sup>波段范围内,健康组花生波峰与波谷的波动程度弱于受霉菌侵害的花生样品,同时花生中感染赭曲霉相对于黄曲霉与寄生曲霉的吸收强度较弱。在 9 000 cm<sup>-1</sup>以后光谱噪声较大,有相关研究表明当波数达到 10 000 cm<sup>-1</sup>以后,主要由水中 O—H 键的倍频或二阶倍频伸缩振动所引起<sup>[20]</sup>,本工作主要在 9 000~4 000 cm<sup>-1</sup>范围内进行分析。

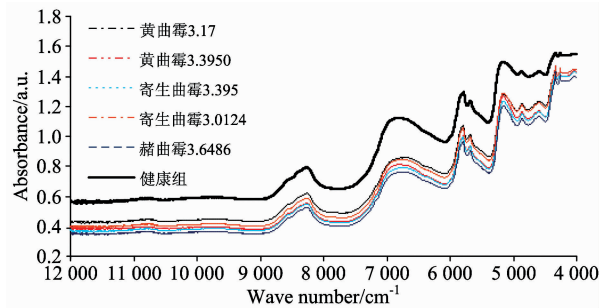


图 1 花生中感染五种霉菌的原始平均光谱图

Fig. 1 The raw averaged NIR spectra of peanut samples infected by 5 different fungal species

由于花生样品与霉菌结构的复杂性,NIR 光谱信息通过分子化学键的位置、范围、强度和化学键的特征反映。对花生进行 NIR 检测时,霉菌及其代谢产物的排放对花生光谱产生不可避免影响。表 1 概括了花生中化学键变化波段及振动模式,以黄曲霉 3.17 为代表分析不同储藏期花生光谱图的变化,如图 2 所示。储藏期花生样品的吸光值明显低于第 0 d 样品,在 9 000~4 000 cm<sup>-1</sup>范围内,储藏第 3, 6 和 9 d 样品的吸光值也有向下变动趋势。花生中霉菌滋生时,脂肪提供主要碳源,脂肪在酶降解作用下分解成游离脂肪酸和甘油<sup>[25]</sup>。花生中主要脂肪成份为甘油酯与脂肪酸,其中甘油酯

(由油酸与亚油酸组成)作为未饱和脂肪酸可以加快霉菌的生长速率<sup>[26]</sup>, 过氧化脂质会诱发霉菌排放霉菌毒素<sup>[27]</sup>, 在 8 248, 5 790, 5 736~5 396 和 4 329~4 262  $\text{cm}^{-1}$  处由脂肪酸中 C—H 键(亚甲基  $\text{CH}_2$ 、甲基  $\text{CH}_3$  和亚乙烯基  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) 振动及二阶倍频作用。蛋白质和碳水化合物为霉菌提供营养源, 随着花生中霉菌的滋生, 花生中蛋白酶的活性逐渐增强<sup>[28]</sup>。在 6 975  $\text{cm}^{-1}$  附近有芳族环结构的 C—H 键出现伸缩振动并产生变形, 在 4 940~4 484  $\text{cm}^{-1}$  由于蛋白质(主要为酰胺基 amide A 和 amide II)中  $\text{C}=\text{O}$ , N—H 键的伸缩振动及二阶倍频引起。在 5 154  $\text{cm}^{-1}$  处由水分子中 O—H 键的合频引起。

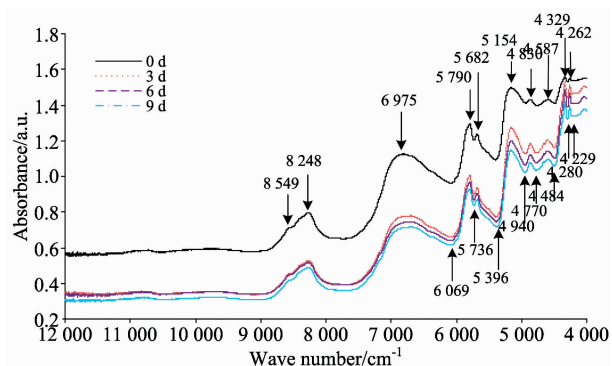


图 2 花生样品中侵染黄曲霉 3.17 后不同霉变程度的光谱图

Fig. 2 Spectral changes as *A. flavus* 3.17 grows on peanut samples during storage

表 1 NIR 光谱区的功能键及振动模式<sup>[21-24]</sup>

Table 1 Functional groups and vibration modes of NIR spectra

波数/ $\text{cm}^{-1}$	功能团	振动模式
8 549	C—H (HC=HC)	伸缩振动及二阶倍频
8 248	C—H(脂肪)	伸缩振动及二阶倍频
6 975	N—H(蛋白质)	伸缩振动及倍频
6 069	C—H( $\text{CH}_3$ , $\text{CH}=\text{CH}$ )	伸缩振动及倍频
5 790	C—H(脂肪)	伸缩振动及倍频
5 736~5 396	C—H(脂肪)	伸缩振动及倍频
5 154	O—H(水)	合频
4 940~4 484	N—H, $\text{C}=\text{O}$ (蛋白质)	伸缩振动及二阶倍频
4 329	C—H(脂肪)	弯曲振动及二阶倍频
4 280	C—H(脂肪)	伸缩振动
4 262	C—H(脂肪)	弯曲振动及二阶倍频
4 229	C—H( $\text{CH}_2$ )	组合模式

2.2 花生霉变程度的划分

陈红等<sup>[29]</sup>依照花生表面颜色、光泽和光滑度将花生分为正常、轻度霉变和重度霉变, 需要进行图像处理来判断花生的霉变程度。对灭菌花生表面接种产毒霉菌并储藏 9 d, 霉菌会不断滋生并分生出新的孢子, 即菌落总数不断增加, 以菌落总数变化范围将花生分为健康 ( $< 2.7 \text{ Log CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ )、霉变 ( $2.7 \sim 4 \text{ Log CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 和重度霉变 ( $> 4 \text{ Log CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ )<sup>[30]</sup>。花生中五种霉菌菌落总数变化如图 3 所示, 可以看出随着贮藏时间的延长, 各组花生中霉菌总数逐渐增

加。所有霉菌在前 3 d 时生长较为平缓, 从第 6 d 到第 9 d 时, 黄曲霉 3.17 与赭曲霉 3.648 6 增长较快, 菌落总数均超过  $4 \text{ Log CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ , 达到重度霉变, 而剩余三种霉菌滋生速度较慢, 仅达到  $3.5 \text{ Log CFU} \cdot \text{g}^{-1}$  左右。随着霉菌总数的增加, 霉菌所产毒素也会增加, 对应霉菌及代谢产物中蛋白质含量有所增加, 从而引起花生的特征谱带出现不同程度波动。

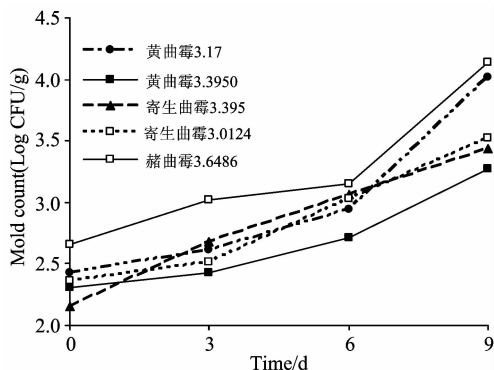


图 3 花生中五种霉菌菌落总数变化范围

Fig. 3 Mold count of 5 fungal species in peanuts

2.3 PCA 分析

PCA 作为多变量分析技术, 通过降维方式提取 NIR 主要数据, 消除数据中随机噪声保留主要光谱特征。利用 PCA 对花生中多种霉菌在储藏期间的光谱数据进行分析如图 4, 4 个储藏阶段的花生存在一定变化规律, 花生储藏到第 3 d 时数据点分布较为分散, 并且与第 0, 6 和 9 d 都存在部分重叠, 但是第 0, 6 和 9 d 的样品之间区分较为明显, 第 0 d 样品主要分布在左侧, 第 6 和 9 d 分布较为集中, 分别处于右侧偏上与偏下位置。在当对单一霉菌在储藏期间进行 PCA 分析与图 3 存在相同变化规律, 在第 3 d 时样品分布较为分散, 可能由于在前 3 d 储藏时, 花生中霉菌为适应温湿度的变化而呈现不同生长状况。

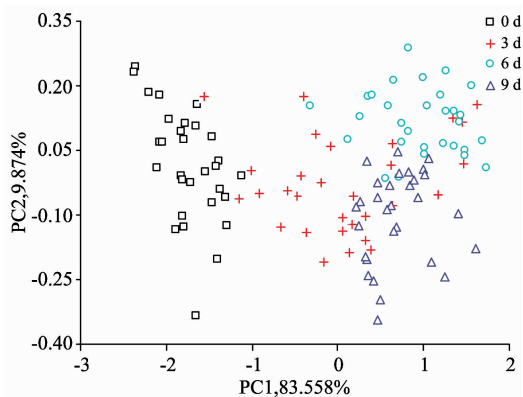


图 4 花生中多种霉菌的光谱数据主成分分析结果

Fig. 4 PCA analysis of spectral data of total fungal species in peanuts

2.4 DA 分析

花生中不同霉菌生长速率各不相同。表 2 为感染五种霉

菌花生在储藏期间 NIR 光谱 DA 分析结果。对感染五种单一霉菌花生进行 DA 分析时, 没有样品被错误区分, 但进行留一交叉验证时黄曲霉 3.395 0 与寄生曲霉 3.395 组均有 1 个样品被错误区分。从菌落总数来看, 赭曲霉 3.648 6 与黄曲

霉 3.17 从第 6 d 到 9 d 时滋生较快, 而黄曲霉 3.395 0 与寄生曲霉 3.395 相对较慢, 但进行 DA 分析时可完全区分, 可能由于代谢产物的产生成为区分特征。

表 2 花生侵染的五种霉菌在储藏不同天数下 DA 分析及其验证结果  
Table 2 Discrimination of training and testing sets of DA analysis model of 5 fungal species of peanuts during storage of different days

霉菌种类	建模组				验证组			
	总样本量/组	正确分类量/组	错误分类量/组	准确率/%	总样本量/组	正确分类量/组	错误分类量/组	准确率/%
黄曲霉 3.17	24	24	0	100.0	24	24	0	100.0
黄曲霉 3.395 0	24	24	0	100.0	24	23	1	95.8
寄生曲霉 3.395	24	24	0	100.0	24	23	1	95.8
寄生曲霉 3.012 4	24	24	0	100.0	24	24	0	100.0
赭曲霉 3.648 6	24	24	0	100.0	24	24	0	100.0
总菌株	120	119	1	99.17	120	119	1	99.17

图 5 为花生中感染多种霉菌在 9 d 储藏期间进行分析, 花生在刚接种霉菌与后期储藏 9 d 时有明显差异。花生在第 0 d 时都聚集在一起, 到第 3 d 时样品相对较为分散, 第 6 和 9 d 样品聚集较近, 但仍可以区分开。共有 120 个样品用于 DA 建模, 只有 1 个样品被错误区分, 通过交互验证时有 1 个样品被错误区分, 准确率达到 99.17%, 表明 DA 分析可以对花生受霉菌感染情况进行区分。

### 2.5 PLSR 分析

PLSR 分析具有很强的预测能力, 对一系列自变量中提取潜在在变量从而预测因变量, 以花生中菌落总数 ( $\text{Log CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 为基准进行建模, 表 3 列出花生中侵染五种霉菌在 9 d 储藏期间 PLSR 分析结果。较大的  $R^2$  值和较小的 RMSEP 值反映模型较好, 从表 3 可以看出两种黄曲霉组的  $R^2$  值相对其余三种霉菌组较小, 寄生曲霉 3.395 组的 RMSEP 值为  $0.107 \text{ Log CFU} \cdot \text{g}^{-1}$  明显优于其余四种菌组, 而花生中赭曲霉 3.648 6 与黄曲霉 3.17 的菌落总数偏高, 但赭曲霉 3.648 6 组预测集结果明显优于黄曲霉 3.17 组。PLSR 因子用于计算光谱吸收值的线性模型, 较大的因子反映出 PLSR 分析模型较好, 赭曲霉 3.648 6 组的建模集与预测集因子均为 7, 但赭曲霉 3.648 6 组的 RMSEP 值仍低于寄生曲

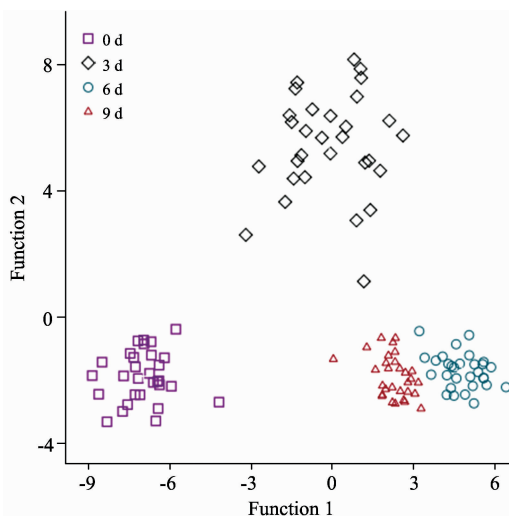


图 5 花生中多种霉菌在储藏不同天数下的 DA 分析  
Fig. 5 Total fungal species of peanuts using DA analysis during storage of different days

霉 3.395 组。斜率与截距也是评判线性模型的优劣, 当斜率接近于 1 而截距接近于 0 时, 则线性相关性越好。RMSECV

表 3 花生样品感染五种霉菌的菌落总数的近红外光谱区预测分析结果  
Table 3 NIR spectra prediction results for mold count of peanut samples infected by 5 different fungal species

霉菌种类	建模集					预测集					RMSEC/( $\text{Log CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ )	RPD
	$R^2$	RMSEC/( $\text{Log CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ )	斜率	截距	因子	$R^2$	RMSEC/( $\text{Log CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ )	斜率	截距	因子		
黄曲霉 3.17	0.737 7	0.310 0	0.737 7	0.776 1	4	0.674 9	0.357 0	0.733 4	0.695 2	2	0.414 0	1.67
黄曲霉 3.395 0	0.889 3	0.147 0	0.874 2	0.334 0	5	0.872 3	0.161 0	0.907 2	0.254 0	4	0.229 0	2.62
寄生曲霉 3.395	0.947 2	0.102 0	0.946 8	0.151 5	5	0.944 0	0.107 0	0.985 5	0.043 8	5	0.169 0	4.01
寄生曲霉 3.012 4	0.912 9	0.130 0	0.914 0	0.245 9	5	0.900 6	0.141 0	0.976 7	0.083 6	5	0.187 0	3.04
赭曲霉 3.648 6	0.975 6	0.093 8	0.976 2	0.077 6	7	0.968 0	0.161 0	0.931 9	0.242 7	7	0.181 0	3.87
总菌株	0.923 7	0.152 0	0.923 9	0.222 4	12	0.874 1	0.285 0	0.885 6	0.346 5	12	0.276 0	1.92

与 RPD 值为反映 PLSR 模型主要因素, RMSECV 值越小, RPD 值偏大则表明模型较优。综合以上参数, 寄生曲霉 3.395 组相对最优, 而黄曲霉 3.17 组模型相对较为不理想, 可能由于花生中霉菌未能充分混匀。

对花生中感染多种霉菌建立 PLSR 分析模型, 共 120 个样品参与建模, 通过计算光谱数据中心平均值与一阶微分排除 2 个异常值, 其中 80 个样品作为校正集, 38 个样品作为预测集, 图 5 为多种霉菌感染花生后 PLSR 预测模型, 所有样品都分布于中心线两侧。对所有霉菌建立 PLSR 分析, 共 12 个因子用于计算, 预测集的  $R^2$  值达到 0.874 1, RMSECV 与 RPD 值分别为  $0.276 \text{ Log CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ , 1.92, 结果显示通过 PLSR 分析预测花生中菌落总数含量, 从而可以判断花生是否发生霉变。

### 3 结 论

论证了近红外光谱可以作为一种快速、便捷的技术, 对花生的霉变状态进行准确判定。通过 DA 分析对 0, 3, 6 与 9 d 储藏下的花生感染同一霉菌和多种霉菌的总体判别正确率分别达到 100% 和 99.17%; 运用 PLSR 分析预测花生中霉菌总量, 预测集的  $R^2$  值为 0.874 1, RMSECV =  $0.276 \text{ Log}$

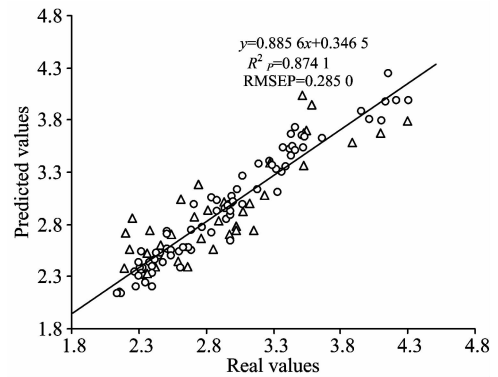


图 6 花生样品中菌落总数与近红外光谱预测值的相关关系

○: 建模集; △: 预测集

Fig. 6 Mold count of peanut samples using PLSR prediction models on the NIR spectra

○: Calibration set, △: Prediction set

$\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ , RPD = 1.92。因此, 通过近红外光谱对贮藏期间花生的霉变情况进行监控具有可行性, 为快速评估花生安全质量提供一种新的思路。

### References

- [1] Horn B W. *Mycologia*, 2005, 97(1): 202.
- [2] Cabanes F J, Sahgal N, Bragulat M R, et al. *Mycotoxin Research*, 2009, 25(4): 187.
- [3] Fleckenstein B. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 1997, 286(4): 560.
- [4] Sedmíková M, Reisnerová H, Dufková Z, et al. *Vet Med-Czech*, 2001, 46(6): 169.
- [5] Iqbal S Z, Asi M R, Zuber M, et al. *Food Control*, 2013, 32(1): 83.
- [6] Zhu D Z, Wang K, Zhang D, et al. *Sensor Letters*, 2011, 9(3): 1144.
- [7] Tiwaria G, Slaughtera D C, Cantwellb M. *Postharvest Biology and Technology*, 2013, 86: 221.
- [8] Pettersson H, Åberg L. *Food Control*, 2003, 14(4): 229.
- [9] Fernández-Ibañez V, Soldado A, Martínez-Fernández A, et al. *Food Chemistry*, 2009, 113(2): 629.
- [10] Zhang Q, Jia F G, Liu C H, et al. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 2014, 7(4): 127.
- [11] Oh K W, Choung M G, Pae S B, et al. *Korean Journal of Crop Science*, 2000, 45(5): 339.
- [12] Zhang J C, Wang C T, Tang Y Y, et al. *Frontiers of Agriculture in China*, 2009, 3(3): 291.
- [13] Sundaram J, Kandala C V, Holser R A, et al. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2010, 87(10): 1103.
- [14] Wang L, Wang Q, Liu H Z, et al. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(1): 118.
- [15] Phan-Thien K Y, Golic M, Wright G C, et al. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2011, 5(1): 43.
- [16] Hirano S, Okawara N, Narazaki S. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1998, 62(1): 102.
- [17] 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.
- [18] Ferreira D S, Pallone J A L, Poppi R J. *Food Research International*, 2013, 51(1): 53.
- [19] Ministry of Health of the PRC(中华人民共和国卫生部). GB/T4789.2 2010. Beijing: China Standard Press(北京: 中国标准出版社), 2010.
- [20] Cen H Y, He Y. *Trends in Food Science and Technology*, 2007, 18(2): 72.
- [21] Ferreira D S, Galão O F, Pallone J A L, et al. *Food Control*, 2014, 35(1): 227.
- [22] Liu Y L, Cho R K, Sakurai K, et al. *Applied Spectroscopy*, 1994, 48(10): 1249.
- [23] Sirisomboon C D, Putthang R, Sirisomboon P. *Food Control*, 2013, 33(1): 207.
- [24] Carles C, Pere G, Jacint A, et al. *Food Chemistry*, 2012, 135(3): 1750.
- [25] Smart M G, Wicklow D T, Caldwell R W. *Phytopathology*, 1990, 80(12): 1287.
- [26] Fanelli C, Fabbri A A. *Transactions of the British Mycological Society*, 1980, 75(3): 371.

- [27] Fabbri A A, Fanelli C, Panfili G, et al. *Journal of General Microbiology*, 1983, 129(11): 3447.
- [28] Achar P N, Sreenivasa M Y, Galdo G. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 2012, 45(2): 220.
- [29] CHEN Hong, WU Mou-cheng, XIONG Li-rong, et al(陈红, 吴谋成, 熊利荣, 等). *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery(农业机械学报)*, 2008, 39(1): 110.
- [30] Kaya-Celikera H, Mallikarjunan P K, Kaayab A. *Food Control*, 2015, 52: 103.

## Rapid Detection of Toxigenic Fungal Contamination in Peanuts with Near Infrared Spectroscopy Technology

LIU Peng<sup>1</sup>, JIANG Xue-song<sup>1\*</sup>, SHEN Fei<sup>2</sup>, WU Qi-fang<sup>2</sup>, XU Lin-yun<sup>1</sup>, ZHOU Hong-ping<sup>1</sup>

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

**Abstract** The quality of peanut products were rapidly and non-destructively assessed for storage and edibility safety. Near infrared spectroscopy (NIRS) was applied to develop qualitative and quantitative methods to determine the toxigenic fungal contamination levels in peanuts. Firstly, clean and fresh peanuts were sterilized with Co-60 and inoculated individually with five common toxigenic fungal species in grains, namely *A. flavus* 3.17, *A. flavus* 3.3950, *A. parastiticus* 3.395 0, *A. parastiticus* 3.012 4, and *A. ochraceus* 3.648 6. The samples were then incubated for 9 days under suitable conditions (26 °C, RH 80%). Secondly, diffuse reflectance spectra were collected from peanut samples in the wavenumber range 12 000 to 4 000 cm<sup>-1</sup> at different time during the inoculation. Analysis models were developed with principal component analysis (PCA), discriminant analysis (DA) and partial least squares analysis (PLSR), respectively. The results showed that the inoculated different fungal species of peanuts can be effectively distinguished during different storage periods. After peanuts samples were incubated for 0, 3, 6 and 9 days, the overall classification accuracy would be 100% and 99.17% for the treatment of individual fungal and total fungal species by using DA analysis models. PLSR models were also developed to predict the number of colonies of peanut samples with the coefficient of determination of the validation set ( $R_p^2$ ) of 0.874 1, root mean square error of cross-validation (RMSECV) of 0.276 Log CFU · g<sup>-1</sup> and residual predictive deviation (RPD) of 1.92. The results indicated that the NIR technology could be used as a reliable and rapid analytical method for determination of fungal contamination in peanuts, which could realize quality and safety control in the process of storing of peanuts.

**Keywords** Near infrared spectroscopy; Peanut; Rapid detection; Toxigenic fungal

(Received Apr. 18, 2016; accepted Sep. 21, 2016)

\* Corresponding author