مجله شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی
۳۲:۹ (۱۳۹۸) ۲۴-۴۲
Journal of Quantum Chemistry and Spectroscopy (JQCS)

مروری بر سنجش مایکوتوکسین ها در محصولات غذایی به کمک اسپکترسکوپی مادون قرمز و کمومتریکس (مقاله مروری)

روح الله کرمی اسبو*[۱]، محمد حسین شجاعی علی آبادی[۲]، حسن یزدان پناه[۳]

[۱]موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

[۲] آزمایشگاه علوم حیاتی فاروق، تهران، ایران

[۳]دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ ثبت اولیه:۱۳۹۹/۰۲/۰۲، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده:۱۳۹۹/۵/۲۶، تاریخ پذیرش قطعی:۱۳۹۹/۰۶/۲۵

چکیده

مایکوتوکسین ها متابولیت ثانویه قارچی هستند که در اکثرمناطق جهان و در محصولات کشاورزی متنوعی شامل خشکبار و غلات رشد می‌نمایند و ثابت شده است که مسئول بسیاری از بیماریهای غیر واگیر در جوامع انسانی و دامی بوده‌اند. روش های زیادی ازجمله کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)، روشهایی بر اساس کروماتوگرافی گازی (GC)، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، کروماتوگرافی مایع طیف سنجی جرمی(LC-MS) برای سنجش توکسین ها در زنجیره غذایی معرفی شده اند، این روش ها گرانقیمت و زمانبر هستند. علاوه بر این، نمونه اصلی تخریب گردیده و دیگر قابل استفاده نخواهند بود. بنابراین، همواره برای شناسایی مایکوتوکسین ها در محصولات غذایی به روش های جایگزین ارزان، سریع و غیر مخرب و قابل کاربرد در مزرعه نیاز است. طیف سنجی مادون قرمز سالهاست که بعنوان یک روش سریع و غیر مخرب در کنترل کیفی صنایع غذایی مورد استفاده قرار می گیرد. پتانسیل تکنیک طیف سنجی مادون قرمز برای آنالیز فوزاریوتوکسین ها، آفلاتوکسین ها، اکراتوکسین A، پاتولین و ... بررسی شده است. این مقاله با توجه به گزارشات مختلفی از آلودگی محصولات کشاورزی به مایکوتوکسین ها، به بررسی تحقیقات اخیر در مورد استفاده از طیف سنجی مادون قرمز و سنجش مایکوتوکسین ها در این محصولات می پردازد.

واژه های کلیدی: ***مایکوتوکسین ها، اسپکترسکوپی مادون قرمز، کمومتریکس.***

***عهده دار مکاتبات:** روح الله کرمی اسبو

نشانی: موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تلفن:۰۲۱۲۲۴۰۳۰۱ **پست الکترونیک:**E-mail: karamiosboo@gmail.com

۱.مقدمه

۱-۱. مایکوتوکسین ها

در حال حاضر بیش از ۱۰۰۰۰ گونه قارچ شناسایی شده است که خوشبختانه بیشتر آنها برای انسان سودمند است و در تولید نان، پنیر، آنتی‌بیوتیک ها و غیره کاربرد دارند. حدود ۵۰ گونه از این قارچ‌ها برای انسان و دام و طیور مضر هستند و اگر بر روی یک ماده غذایی رشد کنند، تحت شرایط خاص تولید سم می نمایند. سموم تولید شده توسط قارچ‌ها با نام مایکوتوکسین شناخته می-شوند و در واقع مایکوتوکسین ها محصولات متابولیکی ثانویه قارچ ها هستند، این بدان معنی است که مایکوتوکسین ها نقش خاصی در متابولیسم طبیعی و رشد قارچ ندارد و بطور معمول توسط قارچ‌های درحال رشد تولید می‌شوند. این مواد معمولا از مولکولهای متفاوتی با ساختارهای شامل یک حلقه هتروسیکلیک با وزن مولکولی کمتر از ۵۰ دالتون تا گروههایی از حلقه های نامتجانس با وزن مولکولی بیش از ۵۰۰ دالتون تشکیل می‌شوند. مدت زمان طولانی است که بشر دانسته است برخی از گونه های قارچ‌های بزرگ پس از مصرف می توانند بعنوان یک خطر برای سلامتی انسان مطرح باشند، اما حتی تا زمانهای طولانی چنین تلقی می شد که وقوع کپک زدگی بر روی غذا فقط یک مشکل زیبا شناختی است و خطری برای سلامتی محسوب نمی شود[۱]. ثابت شده است که متابولیتهای سمی قارچها یا مایکوتوکسین ها مسئول بسیاری از بیماریهای غیرواگیر در جوامع انسانی و دامی به ویژه در دوران اخیر بوده است. مهمترین شیوع بیماری مربوط به ارگوتیسم در طی هزاره گذشته میلادی بود که موجب مرگ صدها هزار نفر در اروپا گردید. مسمویت غذایی آلئوکیا موجب مرگ حداقل صد هزار نفر از مردم روسیه طی سالهای۱۹۴۲ تا ۱۹۴۸ شد، استاکی بوتریوتوکسیکوز در دهه ۱۹۳۰ موجب مرگ دهها هزار اسب در اتحاد جماهیر شوروی شد. واژه مایکوتوکسین اولین بار در سال ۱۹۶۲میلادی پس از اینکه حدود صد هزار بوقلمون در انگلیس در اثر بیماری ناشناخته ازبین رفتند، رواج یافت[۱]. این بیماری ناشی از سم تولید شده توسط قارچ آسپرژیلوس فلاوس روی خوراک پرندگان ایجاد شده بود و به دنبال این بحران دانشمندان احتمال دادند سایر متابولیت های قارچ ها نیز ممکن است کشنده باشند [۲].

مایکوتوکسین‌ها از طریق مصرف مواد غذایی آلوده به سموم قارچی و یا از طریق استنشاق وارد بدن موجودات زنده می‌شوند. علایم بیماری بستگی به نوع قارچ دارد، میزان سم، مدت تماس با آن، سن و جنس مصرف کننده، میزان سلامت، وضعیت تغذیه ای و ژنتیک در بروز علایم مسمومیت تاثیر دارند، بنابراین شدت مسمومیت می تواند تحت تاثیر عواملی مثل کمبود ویتامین، ضعف و کمبود انرژی، استفاده از مشروبات الکلی و بیماری های عفونی قرار بگیرد. توکسین های تولید شده توسط قارچ ها می توانند به صورت مستقیم باعث ایجاد بیماری در دام و پرنده گردند و به صورت حاد عوارض بیماری را می توان مشاهده کرد و یا می توانند با کاهش فعالیت سیستم ایمنی، انسان را نسبت به عوامل بیماری زا حساس کنند و یا از طریق وارد شدن به چرخه غذای انسان از طریق شیر، گوشت و تخم مرغ، باعث ایجاد خطر برای سلامت انسان گردند. مایکوتوکسین ها منجر به تضعیف سیستم ایمنی بدن گردیده و مسائل ثانویه از قبیل کاهش اثردهی واکسن ها و تضعیف جاندار در مقابله با باکتری هایی مثل سالمونلا، اشریشیا کُلای و غیره می‌گردند. تغییرات در درجه حرارت، رطوبت، اکسیژن و وجود مواد غذائی باعث افزایش مایکوتوکسین ها می گردند.آلودگی

محصول غذایی با مخلوطی از مایکوتوکسین های مختلف در سطوح آلودگی پائین، می تواند سمی تر از یک سم تنها با میزان بالای آلودگی باشد[۳].

از جمله اثرات زیان آور مایکوتوکسین ها می‌توان به سمیت‌های حاد و مزمن اولیه (مسمومیت حاد با آفلاتوکسین سبب مرگ و مسمومیت مزمن سبب سرطان و نقص سیستم ایمنی می شود)، بیماریهای ثانویه، سمیت سیستم عصبی، سمیت سلولی، سرکوب سیستم ایمنی، تاثیر بروی دستگاه تولید مثل، مهار بیوسنتز DNA (ایجاد آثار موتاژنیک و یا تراتوژنیک) و RNA در سلولهای پستانداران، مهار فرآیند پروتئین سازی در نتیجه ایجاد حساسیت پوست و نکروز، نفروز کلیوی، ناقص الخلقه زایی، سمیت ژنها، جهش زایی و سرطانزایی، تداخل در پروسه خون سازی وغیره اشاره نمود. اصلی ترین اثر مزمن بسیاری از مایکوتوکسین ها ایجاد سرطان به ویژه در کبد است. همچنین سموم قارچی قادرند آسیب پذیری فرد را در برابر بیماری های میکروبی، سوء تغذیه و حتی سموم دیگر افزایش دهند. از اثرات بیولوژیکی مایکوتوکسین‌ها میتوان به خواص ضد توموری، اثرات حشره‌کشی و خواص ضد باکتریایی آنها اشاره نمود [۴]. بنابراین معمولاً روشها و ابزار دقیق پیشرفته مورد نیاز است. اگرچه ممکن است این روش ها از دقت بالایی برخوردار باشند، اما در تهیه نمونه از جمله جداسازی آفلاتوکسین ها از ماتریس های پیچیده بیولوژیکی می توان با مشکل روبرو شد. روش تهیه نمونه اغلب بیشتر روشهای تحلیلی را پرتحرک، گران و ارزان تر می کند.

در نیم قرن اخیر، روش‌های زیادی برای اندازه گیری توکسین‌ها در زنجیره غذایی معرفی شده اند، کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) برای اولین بار برای اندازه گیری آفلاتوکسین‌ها استفاده شد، روشهایی بر اساس کروماتوگرافی گازی (GC)، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، کروماتوگرافی مایع طیف سنجی جرمی (LC-MS) و روش های دیگر، مانند روش های بیولوژیکی از جمله سنجش‌های ایمنی اتصال آنزیمی(ELISA) نیز در برخی از آنالیز های مایکوتوکسین ها کاربرد دارند با این حال استاندارد طلایی در میان روش های سنجش روش استفاده از تصفیه ستون ایمونوافینیتی متصل به روشهای کروماتوگرافی در نمونه های مواد غذایی می باشد [۵]. روش های ایمونولوژیکی، مانند ELISA می توانند اکثر مایکوتوکسین ها را تشخیص دهند، اما آنها عمدتاً جهت پایش یا غربالگری استفاده می‌شوند و اشکال اصلی این نوع روش ها وجود پاسخ مثبت کاذب (به دلیل واکنش متقاطع و وابستگی به ماتریس نمونه) یا منفی کاذب (به دلیل حساسیت کم) در مقایسه با روشهای کروماتوگرافی است. در واقع، روشهای کروماتوگرافی می توانند چندین مایکوتوکسین را همزمان، با حساسیت و گزینش پذیری بالایی، تجزیه و تحلیل کنند و به میزان دقیق سموم بپردازند. هرچند روش های ذکر شده به طور گسترده ای مورد استفاده قرار می گیرند اما این روش ها گران هستند و در مراحل استخراج و تصفیه، تنها پس از گذشت زمان قابل توجهی نتایج به دست خواهند آمد [۶]. علاوه بر این، در روش های ذکر شده نمونه اصلی تخریب می‌گردد و دیگر قابل استفاده نخواهند بود. بنابراین، همواره برای شناسایی مایکوتوکسین ها در محصولات غذایی به روش های جایگزین ساده، سریع و غیر مخرب و حتی قابل کاربرد در مزرعه نیاز است، بنابراین، تحقیق در

زمینه روش های سنجش نوین که قابلیت جایگزینی برای روش های متداول آنالیز توکسین ها را دارا باشد، از اهمیت بالایی برخوردار است.

طیف سنجی مادون قرمز سالهاست که بعنوان یک روش سریع و غیر مخرب در کنترل کیفیت صنایع غذایی مورد استفاده قرار می-گیرد. در حقیقت، با تعیین پارامترهای مختلفی (رطوبت، پروتئین، روغن و غیره) می توان کیفیت محصولات غذایی را با استفاده از طیف سنجی مادون قرمز کنترل کرد. این روش به دلیل سرعت، غیر مخرب بودن، و همچنین عدم استفاده از مواد شیمیایی در مرحله سنجش، بعنوان یک روش سازگار با محیط زیست بسیار مورد استفاده قرار می گیرد. تطبیق پذیری طیف سنجی مادون قرمز باعث شده است تا در زمینه های مختلف از جمله شیمی مواد غذایی، پزشکی، زیست شناسی، زمین شناسی و غیره از کاربرد آن استفاده شود. از آنجا که در این تکنیک تعامل بین پرتوهای مادون قرمز و ماده، پایش می‌گردد، طیف سنجی مادون قرمز ابزاری مناسب برای تجزیه و تحلیل مواد خام اولیه، نظارت بر فرآیندهای تولید و اعتبارسنجی محصولات نهایی است. از دید تئوری، این تکنیک محدودیت خاصی ندارد، مشروط بر اینکه یک مدل پیش بینی مناسب برای فرایند تشخیص ایجاد شود. روند فعلی نشان از افزایش پتانسیل کاربرد این تکنیک با متصل شدن آن با روشهای جدید کمومتریکس می‌دهد[۸-۷].

در استفاده از تکنیک اسپکترسکوپی مادون قرمز چهار نوع آنالیز برای محصولات غذایی را می‌توان از هم متمایز نمود: (الف) آنالیز کیفی در زمینه کیفیت تغذیه (آب، لیپیدها، پروتئین‌ها، محتوای کربوهیدرات و غیره). (ب) آنالیز کیفیت بیولوژیکی (توانایی جوانه زنی، دانسیته وزنی، و غیره)؛ (ج) آنالیز کنترل کیفی در زمینه تضمین استاندارد بودن محصول و (د) کنترل بهداشتی (آلودگی توسط سموم، حشرات و غیره). چالش مربوط به حضور مایکوتوکسین ها در دسته آخر قرار می گیرد. روش های مادون قرمز برای سنجش آلاینده ها بدلیل میزان کم آنالیت، حساسیت کمی دارند، و تفسیر طیف های مادون قرمز بدون استفاده از کمومتریکس نمی تواند براحتی انجام شود، و از سوی دیگر مدل های قابل اعتماد در کمومتریکس نیاز به داده های بزرگ از تعداد نمونه زیاد دارند. با وجود این محدودیت ها، تحقیقات زیادی بر استفاده از طیف سنجی مادون قرمز برای بررسی و آنالیز مایکوتوکسین‌ها انجام شده است. همانطور که بیان شد مایکوتوکسین ها مولکول های کوچک با وزن مولکولی کم هستند و در غلظت های بسیار کم در محصولات غذایی یافت می شوند و اکثراً در مقادیر بسیار کم می‌توانند سمی باشند. در حقیقت، میزان مایکوتوکسین ها در مقایسه با ترکیبات اصلی مواد غذایی (پروتئین، نشاسته و غیره) بسیار کم است. بنابراین، ابزارهای تحلیلی باید توان شناسایی چنین غلظت‌های اندکی را داشته باشند. با این حال، تغییر در خواص محصولات غذایی و کشاورزی مانند تغییر محتوای پروتئین، کربوهیدرات یا محتوای چربی موجود در بافت محصول غذایی در آلودگی قارچی همراه است. در حقیقت، آسیب ناشی از حضور قارچ به بافت ها، سلول ها یا حتی مولکول ها در پایش طیفی منعکس می‌گردد. به عنوان مثال، شنک و همکاران مناطق طیفی خاص مربوط به CH_3، CH_2، $CONH_2$ بدلیل حضور قارچ ها در ساختارهای، آمید، نشاسته و سلولز را شناسایی کرده اند. مایکوتوکسین ها مانند قارچ هایی که آنها را سنتز می کنند، توزیع ناهمگن در محصول غذایی ذخیره شده در انبار یا سیلو غلات دارند. بنابراین، کیفیت بهداشتی یک

نمونه معین، لزوماً نمایانگر کیفیت بهداشتی کل انبار یا سیلو نیست به همین دلیل برخی از تحقیقات به آنالیز مادون قرمز آنلاین و بدون انجام نمونه برداری های مقطعی پرداخته اند[۱۰-۹].

تنها زمانی از یک تکنیک آنالیز برای تعیین کمی مایکوتوکسین ها در محصولات غذایی می‌توان استفاده نمود که حد تشخیص و حد تعیین آن روش حداکثر میزان مجاز مایکوتوکسین‌ها در آن محصول غذایی را پوشش دهد و پاسخ بدست آمده باید حداقل میزان احتمال منفی کاذب پایین را داشته باشد، تا خطر آلودگی محصول غذایی را در زنجیره غذایی را به حداقل رساند [۱۱]. اولین کاربردهای طیف سنجی مادون قرمز برای سنجش میکروارگانیسم ها به دهه ۱۹۵۰ میلادی برمی‌گردد[۱۲]. دیویس و همکاران [۱۳] اولین گزارش در مورد استفاده از طیف سنجی NIR برای تشخیص آلودگی قارچی را منتشر نمودند مطالعات مختلفی از دهه ۱۹۹۰ تاکنون انجام شده است [۱۴]. این مقاله با توجه به استراتژیک بودن محصولاتی مانند خشکبار، غلات و لبنیات در کشور مان و گزارشات مختلفی از آلودگی این محصولات به مایکوتوکسین ها، به بررسی تحقیقات اخیر در مورد استفاده از طیف سنجی مادون قرمز و سنجش مایکوتوکسین ها در این محصولات می پردازد.

۱ -۲.طیف سنجی مادون قرمز

طیف سنجی مادون قرمز تعامل بین تشعشع الکترومغناطیسی مادون قرمز (۸۰۰-۲۵۰۰۰ نانومتر) و پیوندهای شیمیایی را نشان می-دهد که تجزیه و تحلیل پرتوهای منعکس شده یا منتقل شده توسط یک نمونه، به فرد اجازه می‌دهد انرژی سبک‌های مولکولی و ارتعاشات پیوندهای شیمیایی در نمونه را تعیین کند. انرژی این ارتعاشات ماهیت پیوندهای شیمیایی را مشخص می کند و بدین ترتیب اطلاعاتی در مورد گروه‌های عملکردی موجود در مولکول‌ها ارائه می کند. طیف سنجی مادون قرمز(۲۵۰۰ تا ۱۰۰۰۰ نانومتر) به طور گسترده ای در شیمی آلی تحلیلی استفاده می شود. ناحیه مادون قرمز نزدیک (NIR) ۸۰۰ تا ۲۵۰۰ نانومتر یا (۱۲۵۰۰ تا ۴۰۰۰ cm^{-1}) کمتر مورد استفاده قرار می گیرد زیرا شامل اورتون های نسبتاً وسیعی از ترکیباتCH ، NH، OH و SH است. اورتون های گسترده و نوارهای ترکیبی با هم همپوشانی دارند و در نتیجه یک طیف پیچیده را ایجاد می‌نمایند[۱۶-۱۵].

تفسیر طیف های مادون قرمز متوسط(MIR) به دلیل ویژگی قله های جذب، آسان است. در مقابل، تفسیر طیف های NIR پیچیده تر است، زیرا طیف ها در این منطقه شامل پیک های طیفی سرپوشیده هستندکه برای به دست آوردن حداکثر اطلاعات ممکن از داده های شیمیایی در این منطقه طول موجی نیاز به استفاده از کمومتریکس است.

تهیه یک مدل نیاز به کالیبره کردن طیف سنج با داده های مرجع به دست آمده در آزمایشگاه دارد. این داده ها (محتوای پروتئین، رطوبت و غیره) با طیف مادون قرمز نمونه ها در ارتباط هستند. یک مدل پیش بینی از طریق پنج مرحله اصلی ایجاد می شود: (۱) ابتدا نمونه های کالیبراسیون انتخاب می شوند. این نمونه ها باید نماینده نمونه هایی باشند که بطور معمول پس از تهیه مدل مورد تجزیه و تحلیل قرار می گیرند و باید با استفاده از یک روش مرجع شیمیایی (به عنوان مثال، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا یا کروماتوگرافی گازی-طیف سنجی جرمی) آنالیز شوند [۱۷]. دامنه میزان آنالیت باید در محدوده نمونه های کالیبراسیون قرار گیرد و

عمدتا نمونه ها به طور تصادفی به دو مجموعه کالیبراسیون و اعتبارسنجی (به ترتیب حدود ۷۵٪ و ۲۵٪ از نمونه ها را شامل می-شوند) تقسیم می شوند[۱۸]، (۲) طیف های مادون قرمز نمونه مرجع یا با طیف سنجی حالت بازتاب یا انتقال به دست می آیند. در حالت بازتاب، طیف سنج شدت نور منعکس شده توسط نمونه را تشخیص می دهد، در حالی که در حالت انتقال، طیف سنج شدت نور منتقل شده از طریق نمونه را ثبت می کند. (۳) پردازش ریاضی برای از بین بردن نویز یا نوفه پایه انجام می شود. (۴) یک مدل برای ایجاد ارتباط بین مقادیر طیفی و مقادیر مرجع ایجاد می‌گردد (۵) در آخر، مدل معتبر و قابل استفاده خواهد بود و پس از تهیه و اعتبار سنجی مدل، می توان از آن به طور معمول استفاده کرد.

۱-۳. پردازش داده های طیفی

پردازش داده های طیفی به محاسبات ریاضی داده های طیف خام اشاره دارد و برای حذف یا کاهش تغییرات شدید مربوط به عواملی که نباید در مدل در نظر گرفته شوند، استفاده می شود. انتخاب درست پیش پردازش ممکن است برای توسعه مدل بسیار مهم باشد. معمولاً روش های مختلف پردازش در طیف سنجی مادون قرمز استفاده می شود: مشتق گیری[۱] [۲۰-۱۹]، نرم کننده[۲] [۲۱]، دفع (که اغلب پس از یک پخش طبیعی نرمال[۳] [۲۰]، اصلاح پراکندگی ضربی[۴] [۲۲] و غیره استفاده می شود. روش مشتقات بیشتر در مطالعات مایکوتوکسین مورد استفاده قرار می گیرند. دو روش طبقه بندی[۵] و رگرسیون[۶] جزو روشهای اصلی کمومتریکس میباشند که در طیف سنجی مادون قرمز نیز استفاده می گردند [۲۳].

مدلهای طبقه بندی این امکان را می دهند که نمونه ها را بر اساس ویژگی های طیفی متمایز به گروه (کلاس) های مختلف طبقه بندی کنیم. دو روش نظارت شده[۷] و بدون نظارت[۸] برای طبقه بندی وجود دارد که در طبقه بندی بدون نظارت، از شباهت ها و اختلافات طیفی نمونه ها برای ایجاد گروه ها استفاده می شود، در حالی که در طبقه بندی نظارت شده، عضویت گروه در ابتدای مدل سازی (آنالیز تفکیکی) تعریف شده است [۲۵-۲۴]. برای مرتبط ساختن طیف‌ها به مقادیر شیمیایی از روشهای رگرسیون استفاده می‌شود که روشهای خطی و غیرخطی را شامل می شود. سه روش رگرسیون خطی شناخته شده عبارتند از: رگرسیون خطی چندگانه، رگرسیون مؤلفه اصلی و رگرسیون حداقل مربعات جزئی (PLS) که روش رگرسیون حداقل مربعات جزئی متداول ترین روش در طیف سنجی مادون قرمز بوده [۱۵]، و به ویژه در آنالیزهای مربوط به مایکوتوکسین ها کاربرد دارد [۲۷-۲۶]. این روش توسط والد در سال ۱۹۶۶ معرفی شد و در اوایل دهه ۱۹۸۰ توسط مارتینز محبوبیت یافت که شامل ایجاد یک رگرسیون متغیر بوده و به عنوان تابعی از متغیرهای نهفته پیش بینی می شود، درنتیجه ترکیبی خطی از متغیرهای پیش بینی کننده اصلی (یعنی طول موج)

[1] Derivative
[2] smoothing
[3] detrending
[4] multiplicative scatter correction
[5] classification
[6] regression
[7] supervised
[8] unsupervised

هستند، که با لحاظ نمودن متغیرهای اصلی و متغیر قابل پیش بینی و به حداقل رساندن مجموع مربعات باقیمانده ها تعیین می شوند [۲۵]. پرکاربردترین روش غیرخطی شبکه عصبی مصنوعی (ANN) است که در اواخر دهه ۱۹۸۰ و اوایل دهه ۱۹۹۰ توسعه یافته است[۲۸]. اصول شبکه عصبی مصنوعی مشابه نورونهای بیولوژیکی است و از نورون های متصل تشکیل شده است، که هر کدام یک کار واحد را انجام می دهند و نتیجه را به یک یا چند نورون با اعمال قوانین دقیق ارتباط می دهند [۲۵].

برای اعتبارسنجی و عملکرد مدل باید توانایی مدل برای پیش بینی دقیق مشخصات نمونه های جدید با استفاده از مدل بروی مجموعه‌ای از نمونه هایی که برای تهیه مدل استفاده نشده اند، تعیین گردد. چنین روش اعتبار سنجی خارجی یک مجموعه آزمایشی بحساب می آید. گاهی اوقات مجموعه داده به اندازه کافی بزرگ نیست تا آن را به دو مجموعه تقسیم کند، بنابراین در این حالت از روش اعتبار سنجی متقاطع استفاده میشود.

عملکرد یک مدل عمدتا با ضریب تعیین (r^2) و خطای استاندارد کالیبراسیون (SEC) ارزیابی می شود. ارزیابی مدل را می‌توان بر اساس باقیمانده ها[1] نیز انجام داد، که تفاوت بین مقادیر پیش بینی شده و مقادیر واقعی n نمونه از مجموعه کالیبراسیون را نشان میدهند. باقیمانده ها اطلاعات موجود در داده های n نمونه مرجع را نشان می دهند که توسط مدل توضیح داده نشده اند، با این حال اعتبار سنجی کامل مدل، نیاز به بررسی و مطالعه مجموعه داده های اعتبارسنجی دارد. جهت محاسبه کیفیت پیش بینی مدل، از محاسبه خطای انحراف استاندارد پیش بینی(SEP) و میانگین ریشه مربعات خطای پیش بینی (RMSEP) حاصل میگردد.

برای اعتبارسنجی متقابل[2]، جمعیت مجموعه کالیبراسیون به زیر گروههای t تقسیم می شوند. معادله کالیبراسیون بر اساس (t -1) گروه ها تعیین گردیده و سپس در گروه باقی مانده اعتبار می یابد. این عملیات با جایگشت در زیر گروههای دیگر تکرار می شود و انحراف استاندارد محاسبه شده نیز خطای استاندارد اعتبارسنجی متقابل (SECV) خواهد بود که اغلب خوش بینانه است [۱۵]. آخرین پارامتر تعیین کننده عملکرد در گزارش، پیش بینی نسبی (RPD) است، که با توجه به تغییر پذیری مجموعه آموزش، توانایی مدل در پیش بینی نمونه های مجهول را نشان می دهد. ویلیامز از آستانه RPD برای آگاهی از پتانسیل استفاده از کالیبراسیون در نمونه های جدید استفاده کرد و بیان نمود اگر RPD کمتر از ۲/۳ باشد، از مدل کالیبراسیون برای پیشگویی نمی توان استفاده کرد، در حالی که اگر بیش از ۸ باشد، بدون تردید می توان از مدل کالیبراسیون استفاده نمود[۲۹].

بزرگترین r^2 با بهترین مدل مطابقت دارد، و بهترین مدل کوچکترین SEPc را دارد [۱۵]. مطالب کوتاه ذکر شده، روشی را برای توسعه یک مدل پیش بینی بر اساس طیف سنجی مادون قرمز توصیف می کند. این پارامترها صرف نظر از نوع طیف سنج مورد استفاده نیز معتبر هستند [۱۵].

۱-٤. استفاده از طیف سنجی مادون قرمز در سنجش فوزاریوتوکسین ها

[1] residual
[2] cross-validation

فوزاریوتوکسین ها از مهمترین مایکوتوکسین های تولید شده توسط قارچ های خانواده فوزاریوم می باشند که عمدتاً سبب ایجاد نکروز و خونریزی در دستگاه گوارش و نیز تغییراتی در اندام های تناسلی و تضعیف سیستم ایمنی می‌گردند.حداقل ۵۰ نمونه از فوزاریوتوکسین ها شناخته شده است[۳۱-۳۰]. در حیوانات، مصرف جیره های آلوده به این توکسین ها منجر به پائین آمدن دامنه رشد، اختلالات سیستم عصبی، تحریک دستگاه گوارش و خونریزی مشخص می‌شود. همچنین نازائی در برخی حیوانات گزارش شده است. میزان مصرف کم آنها در طولانی مدت، تضعیف سیستم ایمنی میزبان را به همراه دارد. حضور فوزاریوم های توکسین زا در دانه های ذرت استان های مختلف ایران به اثبات رسیده است[۳۲]. فوزاریوتوکسین هایی مانند تی-تو توکسین که حادترین تریکوتسن سمی است، داکسی‌نیوالنول، نیوالنول و اچ تی- تو توکسین بیشترین خطرات و نگرانی‌ها را در دسته خانواده قارچ های فوزاریوم به دنبال دارند [۳۳]. زیرالنون عضو دیگر فوزاریوتوکسین ها، یک مایکوتوکسین استروژنیک است. هر چند سمیت حاد آن بسیار کم است اما این ترکیب در غلاتی نظیر ذرت و گندم و جو متداول بوده و به وسیله فوزاریومها تولید میشود. نگرانی هایی در مورد تماس طولانی انسان با چنین ترکیبات مولد استروژن وجود دارد[۳۴].

عمده تحقیقات مربوط به بیماری فوزاریوم سنبله ی گندم(FHD)و مایکوتوکسین داکسی‌نیوالنول است و شامل مدل های کمی یا مدل های درجه بندی در نمونه های آلوده است. برای داکسی‌نیوالنول، مدل های کمی عملکرد متغیر دارند[۳۷-۳۵]. تیبولا و همکاران بروی دانه های گندم که به طور طبیعی با قارچ فوزاریوم و سم داکسی‌نیوالنول آلوده شده بودند (۱۹۶ نمونه) تحقیق کرده و نمونه گندم به صورت دانه های کامل مورد بررسی قرار گرفت و سپس به اندازه ۱ میلی متر آسیاب و غربال شد. روش مرجع مورد استفاده نیز کروماتوگرافی مایع متصل به طیف سنج جرمی (LC-MS) بود. آنها با استفاده از آن مدلی با r^2 =۰/۸۹ برای پیش بینی داکسی‌نیوالنول بدست آوردند[۳۸]. دووراسک و همکاران برای تعیین میزان داکسی‌نیوالنول بر روی نمونه های گندم کامل تحقیق نمودند. آنها نتیجه می گیرند که ترکیبی از دو ابزار، آنالیز تمایزی (DA) و به دنبال آن یک رگرسیون PLS، صحت مدل ها را بهبود می بخشد. کیفیت مدل ها از نظر میزان داکسی‌نیوالنول به شدت به انتخاب محدودیت های کلاس بستگی دارد[۳۹]. بالوت و همکاران روشهای پیش بینی سطح داکسی‌نیوالنول و FHD در گندم را بررسی کردند [۴۰]. همبستگی بین هسته های آسیب دیده توسط قارچ فوزاریوم و بیماری FHD پیش بینی شده توسط طیف سنجی NIR به ترتیب ۰/۷ و ۰/۷۳ است و همبستگی بین داکسی‌نیوالنول و FHD پیش بینی شده توسط طیف سنجی NIR به ترتیب برای سالهای ۲۰۱۰ و ۲۰۱۱ به ترتیب ۰/۵۶ و ۰/۶۳ است [۴۰].

براداکووا از FT-NIR برای تعیین محتوای داکسی‌نیوالنول و نیوالنول در جو استفاده کردند. نمونه های جو نه تنها به طور طبیعی آلوده نه تنها مصنوعی تلقیح شد بلکه شد. د گیرولاموو همکاران از FT-NIR برای مطالعه داکسی‌نیوالنول در نمونه های گندم استفاده کرد. نویسندگان مدلهای طبقه بندی را ارائه می دهند که درصد جالبی از طبقه بندی صحیح (۷۵-۹۰٪) را بدست آوردند[۳۶-۳۵].

جین و همکاران یک مطالعه مشابه بر روی نمونه های گندم تلقیح شده مصنوعی انجام دادند. نویسندگان ارتباط معنی داری بین سطح آلودگی داکسی‌نیوالنول که با روش مرجع GC-MS محاسبه شده بود و پیش بینی های مدل مادون قرمز آنها ($R^2 = 0.46$، $P<0.001$)، و همچنین ارتباط معنی داری بین تعداد FHD های بصری ارزیابی شده و با طیف سنجی مادون قرمز تخمین زده شده است ($R^2 = 0.52$، $P <0.001$). از لحاظ عملی در این مطالعه ایراد اساسی وجود دارد زیرا محتوای داکسی‌نیوالنول تعیین شده توسط GC-MS برای نمونه های فله بود، در حالی که طیف ها از دانه های جداگانه جمع آوری می شدند[۴۱]. میدانیر و همکاران با نمونه ذرت با آلودگی مصنوعی با قارچ فوزاریوم تلقیح شده است. آنها سطح داکسی‌نیوالنول را با استفاده از طیف های NIR پیش بینی کرده و $R^2 = 0.80$ بدست آوردند. اطلاعاتی در مورد خطاهای مدل داده نشده است. مدل های سنجش داکسی‌نیوالنول در پیش بینی میزان آلودگی عمدتا ضعیف هستند. با این حال، این مدل‌ها می توانند برای طبقه بندی دانه های غلات با توجه به میزان آلودگی به داکسی‌نیوالنول مورد استفاده قرار گیرند[۳۷].

پیریس و همکاران از روش دانه به دانه برای شناسایی دانه های گندم آلوده به فوزاریوم و پیش بینی میزان داکسی‌نیوالنول استفاده نمودند یافته های آنها حاکی از آن است که می توان غلظت داکسی‌نیوالنول را بیش از ۶۰ ppm پیش بینی کرد، هرچند مدل ایجاد شده می‌تواند پایش انجام دهد ولیکن حد مجاز داکسی نیوالنول ۱ ppm بوده در نتیجه این مدل قابلیت زیادی ندارد[۴۲].

کاتزمن و همکاران مدلی را براساس نشانه غیرمستقیم از وجود مایکوتوکسین‌ها یعنی سطح پروتئین خام ایجاد کردند. آنها با طبقه بندی دانه ها بر اساس این شاخص و طبقه بندی آنها به بخش های مختلف، مقدار داکسی‌نیوالنول و درصد FHD ها را (برای بهترین دسته ها) کاهش دادند [۴۳]. گارسیا و همکاران مدلهای مختلفی را برای شناسایی دانه ذرت آلوده به داکسی‌نیوالنول یا فومونیزین ارائه دادند که بر اساس حدود مجاز اتحادیه اروپا، صحت اعتبار مدل ها را با میزان ۶۰٪ و ۸۴٪ به ترتیب در اعتبار خارجی ارائه داد[۴۴]. کوس و همکاران در نمونه ذرت آلوده به داکسی‌نیوالنول تحقیق نمودند آنها از تصمیم گیری بر اساس طبقه بندی شاخه ای استفاده کردند، و روی یک پنجره طیفی مربوط به ۸۰۰–۱۸۰۰ cm^{-1} متمرکز شدند. این پنجره حاوی اطلاعات مربوط به کربوهیدرات ها و پروتئین‌ها است. میزان رتبه بندی صحیح اعتبار سنجی متقابل، بسته به حد آلودگی به داکسی‌نیوالنول مورد استفاده در ایجاد کلاس ها، بین ۷۹ تا ۸۵ درصد متغیر بود[۴۵]. سیگر و همکاران تجزیه و تحلیل مایکوتوکسین را با ترکیب طیف سنجی لیزر کوانتومی قابل تنظیم مادون قرمز (QCL) با موجهای فیلم نازک GaAs / AlGaAs برای طبقه بندی نمونه های ذرت و گندم آلوده به داکسی نوالنول و بادام زمینی آلوده به آفلاتوکسین B1 در اتحادیه اروپا پیشنهاد کرد. محدودیت های نظارتی اتحادیه اروپا به ترتیب ۱۲۵۰ گرم بر کیلوگرم و ۸ گرم برکیلوگرم بود. تکنیک های بسیار کمی برای آنالیز در محل[1] وجود دارد. بنابراین، تکنیک اخیر، به لطف مینیاتوراسیون، فرصت بسیار جالبی را برای استفاده در مزرعه فراهم می آورد[۴۶]، برای فومونیزین نیز نتایج مشابهی به دست آمده است [۴۴]. بهترین مدل ها قابلیت غربالگری با آستانه های مربوط به حدود قانونی دارند. گاسپاردو و همکاران

[1] online

مدلی را پیشنهاد نمودند که از طیف سنجی NIR (FT-NIR) برای پیش بینی سطح فومونیزین B1 و فومونیزین B2 در نمونه های ذرت استفاده کردند[۴۷]. دلاریکیا و دل زوتو یک مدل PLS را برای پیش بینی میزان فومونیسین نمونه های ذرت تهیه کردند. آنها با تأکید بر آستانه ۴ میلی گرم در کیلوگرم مقرر در آیین نامه اتحادیه اروپا، مدل های پیش بینی کننده را برای طبقه بندی ارائه می-دهند[۴۸]. استاسیویچ و همکاران تکنیک NIR را برای مرتب کردن دانه های ذرت آلوده به فومونیزین استفاده نمودند. با استفاده از مرتب سازی دو مرحله ای، آنها دانه های آلوده و و آلودگی کم را با موفقیت نزدیک به ۸۰٪ از یکدیگر جداسازی نمودند[۴۹]. کار شناسایی سطح آلودگی توسط چندین قارچ عملکرد خوبی در مورد هسته ذرت آلوده به فوزاریوم دارد [۵۹]. آنها طیف سنجی مرئی و NIR را با هم ترکیب کردند و از روشهای طبقه بندی متنوعی مانند مدل سازی نرم مستقل از قیاس کلاس (SIMCA) و شبکه های عصبی استفاده کردند. طیف هر دانه از دو طرف جوانه و طرف مقابل جمع آوری شد که بهترین نتیجه از طرف مقابل جوانه حاصل می شود. دانه های سالم و آلوده به ترتیب با میزان ۹۹/۳٪ و ۹۸/۷٪ درجه بندی می شوند. این نتایج از یک مجموعه تست به دست آمد[۵۰]. تالادا و همکاران از طیف سنجی NIR و در طول موجهای بین ۹۰۴ الی ۱۶۸۵ نانومتر، برای شناسایی دانه ذرت آلوده به هشت سویه قارچی با درجه های مختلف استفاده نمودند. آنها از آنالیز تفکیک خطی (LDA) به همراه شبکه عصبی (ANN) استفاده کردند. هدف از این کار، تفکیک دانه های سالم از دانه های آلوده به قارچ بود. مدل ANN (LDA) با صحت ۸۴٪ از دانه های سالم و ۸۳٪ از دانه های آلوده تفکیک را انجام داد [۴۷]. علاوه بر این، از آنجا که مایکوتوکسین ها و قارچ ها به دلیل عدم حساسیت دستگاه های مادون قرمز، به طور مستقیم در ماتریس دانه قابل تشخیص نیستند، از اطلاعات غیرمستقیم آلودگی در مدل ها می‌توان استفاده نمود. در واقع، محققین مختلف با مشخص نمودن مناطق طیفی که نشان دهنده تغییرات دانه به دلیل حمله قارچی یا وجود مایکوکسین‌ها است میزان آلودگی را مرتبط با تغییرات طیفی دانسته اند، بعنوان مثال تغییرات مربوط به میزان کربوهیدرات (۹۰۰-۱۲۰۰ cm^{-1}) و پروتئین‌ها (گروههای آمید I و II، ۱۷۵۰-۱۲۰۰ cm^{-1}) کاربردهای زیادی در بررسی مایکوتوکسین ها از خود نشان داده اند [۴۹-۴۸].

موضوع مهم دیگر در مورد روشهای سنجش همزمان چند مایکوتوکسین است، این امر به خوبی توسط کروماتوگرافی مایع با طیف سنجی جرمی پشت سر هم حاصل می شود، اما در زمان کنونی، مطالعه ای براساس ابزار مادون قرمز، آنالیز همزمان چند توکسین گزارش نشده است[۵۰].

۱-۵. استفاده از طیف سنجی مادون قرمز در سنجش آفلاتوکسین ها و اکراتوکسین A

آفلاتوکسین ها و اکراتوکسینA جزء مهمترین مایکوتوکسین های قارچ خانواده آسپرژیلوس ها می باشند. آفلاتوکسین ها از نظر قدرت سرطانزایی قوی تر از سایرمایکوتوکسین ها بوده و خطرات آفلاتوکسین ها در سالهای ۱۹۷۶،۱۹۷۲، ۱۹۸۷، ۱۹۹۳ و ۲۰۰۳ توسط آژانس تحقیق بر روی سرطان (IARC) مورد بررسی قرار گرفته و این آژانس آفلاتوکسین ها را جز مواد سرطانزای انسانی (سرطانزاهای گروه۱)طبقه بندی نموده است [۵۱]. براساس مطالعات در طبیعت چهار نوع آفلاتوکسین اصلی شامل B_1 (مهم ترین

ماده سرطانزای طبیعی و بیشترین سم تولیدی توسط گونه های مولد سم)، B_2، G_1 و G_2و دو نوع محصولات متابولیکی به نامهای M_1 و M_2وجود دارند که می توانند خوراکهای دام و انسان مانند ذرت، خوشه ذرت، گندم، سویا، کنجاله پنبه دانه، بادام زمینی، آجیل ها و خشکبار را آلوده سازند. آفلاتوکسین های M_1 و M_2برای اولین بار از شیر دامهائی که با خوراک آلوده تغذیه شده بودند، جدا شدند. این سموم دارای ساختمان مولکولی مشابهی بوده و یک گروه از ترکیبات اکسیژن دار هتروسیکلیک را تشکیل می دهند (در صورت کپک زدگی خوراک دام و تولید آفلاتوکسین B_1 در آن، مشتق هیدروکسی آن یعنی آفلاتوکسین M_1 در شیر مشاهده می-شود که همانند آفلاتوکسینB_1 اثرات سرطان زایی دارد). آفلاتوکسیتها بر اساس فلوئورسنس آنها در برابر نور اشعه ماوراء بنفش آبی یا سبز و حرکت آنها در کروماتوگرافی لایه نازک قابل تفکیک هستند. آفلاتوکسین هایG_2، B_2 مشتقاتی ازG_1 و B_1 وآفلاتوکسین های M_2 و M_1 به ترتیب از آفلاتوکسینهای B_2 و B_1 حاصل می گردند. یکی از خواص سموم قارچی، خاصیت تجمعی آنها می باشد، در نتیجه فردی که در طولانی مدت میزان کمی از سم را دریافت می کند، پس از مدتی به عوارض تجمعی آن دچار می شود. در بحث سرطانزایی نیز بیشترین خطر آفلاتوکسین ها متوجه سلول های کبدی است. چین، فیلیپین، تایلند و کشورهای آفریقایی بیشترین آمار سرطان کبد ناشی از مصرف غذای آلوده به آفلاتوکسین را دارند. آفلاتوکسین ها به علت ایجاد سمیت های کبدی شدید در حیوانات آزمایشگاهی مختلف و وقوع طبیعی آن در محصولات گوناگون کشاورزی به عنوان آلوده کننده محیط زیست به خوبی شناخته شده اند [۵۲]. اکراتوکسین A یک ماده محلول در چربی است که در بافتهای چربی تجمع می یابد و یک نفروتوکسین بالقوه شناخته می‌شود، اولین بار در آفریقای جنوبی از آسپرژیلوس اکراسئوس جداسازی گردید، اما این ترکیب غالبا به عنوان یک ماده آلوده کننده غلاتی نظیر جو آلوده به قارچ پنی سیلیوم وروکوسوم در کشورهای معتدله نظیر کشورهای اروپای شمالی مورد مطالعه قرار گرفته است. یک بیماری ضعیف کننده در انسان که به نام نفروپاتی اندمیک بالکان ممکن است با حضور مقادیر کم مایکوتوکسین های نفروتوکسیک نظیر اکراتوکسین A در رژیم غذایی افرادی که از محصولات غذایی آلوده به قارچ به مدت طولانی استفاده می نمایند مرتبط شناخته شده است. حضور اکراتوکسین A در مواد غذایی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری نظیر ذرت، دانه های قهوه، کاکائو و لوبیای سویا معمولا در نتیجه آلودگی آنها توسط گونه های آسپرژیلوس می باشند. ارزیابی های توکسیکولوژی جدید در مورد اکراتوکسین A نشان می دهد که این ترکیب نه تنها یک نفروتوکسین حاد می باشد بلکه ممکن است موجب ایجاد سرطان کلیه گردد[۵۳].

تکنیک FTIR-ATR در تشخیص آفلاتوکسین ها در بادام زمینی استفاده شده است و طیف عصاره استخراجی این محصول آنالیز گردید که برای بدست آوردن مدل های کالیبراسیون برای هر سم، از رگرسیون حداقل مربعات جزئی استفاده شد. ضرایب تعیین (R^2) مدل کالیبراسیون برای طیف سنجی FTIR مقادیر پیش بینی شده در مقابل مقادیر واقعی آفلاتوکسین ها در حد یک قسمت آلودگی در بیلیون محاسبه شد. پتانسیل تکنیک طیف سنجی مادون قرمز نزدیک برای آنالیز فلفل قرمز برای آفلاتوکسین B1، اکراتوکسین A و کل آفلاتوکسین ها بررسی شده است. برای اندازه گیری NIR ، از فیبر نوری بازتاب از راه دور به طور مستقیم بر

روی نمونه های فلفل استفاده شد و در این تکنیک نیازی به اماده سازی یا دستکاری نمونه نبود. الگوریتم حداقل مربعات جزئی (MPLS) اصلاح شده به عنوان یک روش رگرسیون استفاده شد. برای آفلاتوکسین B1، اکراتوکسین A و کل آفلاتوکسین ها به ترتیب ضرایب همبستگی چندگانه (RSQ) و خطای استاندارد تصحیح پیش بینی (SEPc) به ترتیب ۰/۹۵۵ و ۰/۲ میکروگرم برکیلوگرم، ۰/۸۵۳ و ۳/۳ میکروگرم بر کیلوگرم، ۰/۹۳۸ و ۰/۳ میکروگرم بر کیلوگرم بود. ظرفیت پیش بینی مدل توسعه یافته به عنوان انحراف عملکرد (RPD) برای آفلاتوکسین (۵/۲) B1 ، اکراتوکسینA (۲/۸) و کل آفلاتوکسین ها (۴/۴) اندازه گیری شده است که نشان می دهد که تکنیک NIRS با استفاده از فیبر نوری برای تعیین این سه پارامتر در فلفل، با هزینه کمتر و سرعت بالاتر در مقایسه با روش شیمیایی یک جایگزین مناسب بحساب می آید. تکنیک FTIR برای تخمین آفلاتوکسین B1 در فلفل قرمز نشان دادند که مناطق طول موج مشخصی از ۱۴۴۹ تا ۲۰۰۰ نانومتر و ۲۰۳۹ تا ۲۵۰۰ نانومتر و یک روش پیش پردازش تفریق خط مستقیم، آفلاتوکسینB1 را با همبستگی بالا ($R^2 = 0.98$) و با حداقل ریشه میانگین خطای مربع اعتبار سنجی(RMSECV) (۰.۶۵٪)شناسایی کرده و محققین پیشنهاد دادند که این روش می تواند برای پایش نمونه های فلفل بصورت فله در مقادیر آلودگی بالا استفاده شود[۵۴]. سیریسمبون و همکاران از طیف سنجی مادون قرمز نزدیک ، با طول موج بین ۹۵۰ تا ۱۶۵۰ نانومتر، برای تعیین درصد آلودگی قارچی موجود در نمونه های برنج استفاده نمودند. طیف ۱۰۶ نمونه برنج، با روش بازتاب، از جمله ۹۰ نمونه آلوده طبیعی، و ۱۶ نمونه آلوده مصنوعی به دست آمد. مدل های کالیبراسیون برای کل آلودگی قارچی با استفاده از طیف جذبی اصلی و طیف پردازش شده با رگرسیون حداقل مربعات جزئی (PLSR) تهیه شد. مدل آماری توسعه یافته از طیف های پردازش نشده بیشترین دقت را در پیش بینی، با ضریب همبستگی۰/۶۶۸ و خطای استاندارد پیش بینی۲۸/۸۷۴٪ و خطای ۱/۱٪ ارائه داد. برای آلودگی به قارچ آسپرژیلوس، دقیق ترین مدل پیش بینی آماری با استفاده از طیف NIR (حداکثر نرمال شدن) با خصوصیات آماری ($R = 0.437$، $SEP = 18.723$٪) تهیه شد. بنابراین، نتیجه آنها نشان داد که تکنیک NIR می تواند برای تشخیص آلودگی قارچی آسپرژیلوس های مولد آفلاتوکسین در برنج استفاده شود[۵۵]. فرناندز و همکاران (۲۰۰۹) از طیف سنجی NIR وFT-NIR برای تشخیص سریع آفلاتوکسین در ذرت و جو استفاده نمودند. تمامی نمونه های اعتبار سنجی خارجی آفلاتوکسین به درستی توسط FT-NIR طبقه بندی شدند ، در حالی که تنها ۷۵٪ به طور صحیح توسط NIR طبقه بندی شدند. علاوه بر این ، در مقایسه با NIR ، طیف FT-NIR نسبتاً پایدار بود. بهترین مدل پیش بینی در ذرت توسط NIR (r^2 =0.80 ؛ SECV = 0.21 میکروگرم بر کیلوگرم) و در FT-NIR، (r^2 = 0.82 ؛ SECV = 0.21 میکروگرم بر کیلوگرم) یافت شد. برای نمونه های جو، مدل اعتبارسنجی نتایج همبستگی تقریباً مشابهی با NIR (r^2 = 0.85؛ SECV = 0.17 میکروگرم بر کیلوگرم) وFT-NIR ، r^2 = 0.84، SECV = 0.18 میکروگرم بر کیلوگرم) به دست آورد. این تحقیق نشان داد، تکنیک NIR یک روش غربالگری سریع برای تشخیص آفلاتوکسین در مقادیرآلودگی بالای ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم بود که می تواند در حین برداشت و ذخیره سازی غلات مورد استفاده قرار گیرد [۵۶]. در تحقیق دیگری ۱۳۲ نمونه برنج قهوه ای آلوده به آفلاتوکسین در محدوده غلظت ۰–۲۴۳۵ ug / kg توسط تلقیح مصنوعی با

گونه های *A. flavus* و *A. parasiticus* قارچ تهیه شد. برای طبقه بندی نمونه ها در سطوح مختلف آفلاتوکسین B1 ، مدل آنالیز تفکیک خطی مورد استفاده قرار گرفت که به ترتیب از نظر صحت طبقه بندی ۹۶/۹ و ۹۰/۶ درصد برای طیف سنجی NIR و MIR بدست آمد. برای تعیین همزمان آفلاتوکسین های B1، B2، G1، G2 و کل آفلاتوکسین ها، رگرسیون حداقل مربعات جزئی نیز دقت پیش بینی خوبی را برای هر دوتکنیک NIR و طیف سنجی MIR نشان داد. در تحقیق ذکر شده، نتایج کلی مشخص کرد که امکان استفاده از دو روش طیف سنجی فوق به عنوان ابزار جایگزین برای تشخیص سریع آلودگی های آفلاتوکسین موجود در دانه برنج را دارند [۵۷].

آفلاتوکسین M1 (AFM1)، یک ترکیب بالقوه سرطان زا است که در شیر به دست آمده از حیواناتی که خوراک آلوده به آفلاتوکسین B1 مصرف می کنند، یافت می شود، طیف‌های شیر آلوده به آفلاتوکسین M1 تفاوت معنی داری را با نمونه های غیر آلوده در مناطق طیفی ۱۸۰۰-۶۵۰ cm^{-1} و ۳۶۸۹-۳۴۹۹ cm^{-1} نشان داد که به ساختار شیمیایی پیچیده AFM1 نسبت داده شود. تجزیه و تحلیل مؤلفه اصلی (PCA)خوشه بندی نمونه ها نشان داد، این مدل ها می توانند با موفقیت طبقه بندی شیر آلوده و غیر آلوده را انجام دهند (> ۸۶٪) و حتی در آلودگی هایی در حد ۰/۰۲ میکروگرم بر لیتر AFM1 در شیر را با استفاده از SIMCA تشخیص دهند. رگرسیون حداقل مربعات جزئی (PLS) برای کالیبراسیون و اعتبارسنجی ، به ترتیب با ضریب تعیین(R^2) ۰/۹۹ و ۰/۹۸ بدست آمد[۵۸]. از طیف سنجی مادون قرمز از نوع ATR برای تعیین اکراتوکسین در کشمش استفاده شده است. نمونه هایی با سطح آلودگی زیاد به اکراتوکسین (۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و نمونه های غیر آلوده با استفاده از مدل PCA به درستی تشخیص داده شدند. از مدل PLS برای سنجش کمی نمونه های آلوده جمع آوری شده از شیلی مورد استفاده قرار گرفت و همبستگی بالایی را نشان داد. با استفاده از این روش ، نمونه هایی با سطح اکراتوکسین بالا (۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم) می توانند از نمونه هایی با سطح اکراتوکسین پایین (۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم) متمایز شوند، روش مذکور یک روش غربالگری مناسب برای اکراتوکسین در کشمش معرفی شده است[۵۹].

۱-۶. استفاده از طیف سنجی مادون قرمز در سنجش پاتولین

پاتولین توسط چند گونه از پنی سیلیوم و آسپرژیلوس به ویژه پنی سیلیوم اکسپانسوم تولید می گردد. اولین بار در سال ۱۹۴۲ به عنوان یک آنتی بیوتیک بالقوه مناسب با طیف ضد میکروبی وسیع توصیف گردید[۶۰]. در سال ۱۹۵۹ شیوع یک مورد مسمومیت گاو در اثر تغذیه با جوانه های جو جوانه زده موجب تغییر نظر دامپزشکان و شناسایی پاتولین به عنوان یک مایکوتوکسین گردید. در موارد مربوط به انسان، حضور پنی سیلیوم اکسپانسوم بر روی سیب و افزایش مصرف آب سیب تازه به عنوان آشامیدنی موجب بروز نگرانی می شود. اثبات حضور پاتولین در آب میوه شاخص مناسبی جهت نشان دادن استفاده از میوه با کیفیت بسیار نامناسب در تهیه آب میوه می باشد. تمام روشهای فعلی مورد استفاده برای تعیین کمیت پاتولین بسیار وقت گیر بوده و نیاز به پرسنل ماهر

دارد. در این تحقیق، یک روش فلورسانس بر اساس استفاده از روبشگر های فلورسانس نزدیک به مادون قرمز (NIR) بکاربرده شد. استفاده از این فلوئوروفورها همراه با آنتی بادی های ضد پاتولین، تشخیص پاتولین را به طور مستقیم در آب سیب و بدون هیچ گونه پیش آماده سازی قبلی امکان پذیر نمود. حد تشخیص روش ۰/۰۶ میکروگرم بر لیتر است ، مقداری که پایین تر از حداکثر حد باقی مانده پاتولین است که در ۵۰ میکروگرم بر لیتر از آیین نامه اتحادیه اروپا ثابت شده است [۶۱].

۲. نتیجه گیری

در سالهای اخیر، مطالعات متعددی در مورد استفاده از روش های طیف سنجی مادون قرمز برای تشخیص مایکوتوکسین ها انجام شده است. این روش ها سریع، ارزان و غیر مخرب هستند و پس از تهیه مدل، به آماده سازی نمونه کمی نیاز دارند و به تعداد پرسنل اندکی جهت انجام آنالیز و پاسخدهی نیاز دارند و در واقع این روش نیاز به آزمایشگاه پیشرفته برای انجام آنالیز طیف سنجی ندارد. با این حال، استفاده از ابزارهای طیف سنجی مادون قرمز برای تشخیص و تعیین مایکوتوکسین ها، گاها آنالیز در حدود مجاز را براساس استاندارد های ثبت شده لازم ارائه نمی دهند و از سوی دیگر برای افزایش دقت نیاز به آنالیز نمونه های مرجع دقیق، و مجموعه داده های کالیبراسیون بزرگ و به روز شده دارند، از سوی دیگر به دلیل محدودیت های ذاتی روش های مادون قرمز به وجود آب در مواد مورد بررسی، این مدل های اندازه گیری، به اندازه کافی برای برآورده کردن الزامات قانونی مناسب نیستند. از آنجا که محصولات آلوده به مایکوتوکسین در مقدار مشخص و به صورت مساوی توزیع نمی شوند، باید حجم زیادی از محصول اسکن شود تا حاشیه امن در پاسخ دهی افزایش یابد. امیدوار کننده ترین کاربردها تکنیک اسپکترسکوپی مادون قرمز توانایی این تکنیک درآنالیز محصولات کشاورزی در مزرعه یا باغ (آنالیز بر خط) است، که منجر به تولید مواد غذایی تجاری (خوراک دام، مواد غذایی انسان و غذای کودک) با استفاده نمودن از مواد اولیه مطلوب و مرغوب می شود. در زمینه مایکوتوکسین ها، این تکنیک ها عمدتا تغییرات ایجاد شده در محصول را بدلیل فعالیت قارچ ها بر روی آنها را تشخیص می دهند. یکی از تحقیقاتی که میتوان بر روی آن متمرکز گردید تحقیق برروی مایکوتوکسین های نقاب دار شده است، که خطر حضور آنها در مواد غذایی سالهای متمادیست که مورد بحث قرار می گیرد. بنظر میرسد استفاده از توان بسیار بالای سایر روشهای طیف سنجی(طیف سنجی رامان یا تکنیک های اسپکترسکوپی تصویربرداری[1] نیز باید در نظر گرفته شود و توسعه یابد. پیشرفت های اخیر در محاسبات ریاضی میتواند باعث افزایش حساسیت و دقت مدل ها شود. این ابزارهای محاسباتی می توانند برای دسته بندی و جداسازی محصولات غذایی حاوی مواد مضر با استفاده از تکنیک های "تمایز، مرتب سازی و غربالگری نظارتی" با سطح برش مناسب، استفاده شوند. در صورت عملیاتی شدن استفاده از ابزار مادون قرمز در تشخیص سم، این تکنیک جزء لاینفک کنترل کیفیت

[1] hyperspectral imaging

محصولات کشاورزی خواهد بود و می تواند بخشی از آنالیز چند پارامتری غلات، در عرض چند ثانیه و بدون آماده سازی نمونه باشند

۳. مراجع

[1] Mirabolfathy, M. and Karami Osboo, R. Important Mycotoxins, Iran Status. *Annals of Reviews and Research*, 5 (**2019**) 1–10.
[2] Sprando, R. L. , Collins, T. F. X. , Black, T. N. , Olejnik, N. , Rorie, J. I. , Eppley, R. M. , and Ruggles, D. I. Characterization of the effect of deoxynivalenol on selected male reproductive endpoints. *Food and Chemical Toxicology*, 43 (**2005**) 623–635.
[3] Eriksen, G. S. and Pettersson, H. Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 114 (**2004**) 205–239.
[4] Stoev, S. D. Food Safety and Increasing Hazard of Mycotoxin Occurrence in Foods and Feeds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53 (**2013**) 887–901.
[5] Karami-Osboo, R. , Miri, R. , Javidnia, K. , Kobarfard, F. , AliAbadi, M. H. S. , and Maham, M. A validated dispersive liquid-liquid microextraction method for extraction of ochratoxin A from raisin samples. *Journal of food science and technology*, 52 (**2015**) 2440–5.
[6] Karami-Osboo, R. , Mirabolfathy, M. , Kamran, R. , Shetab-Boushehri, M. , and Sarkari, S. Aflatoxin B1 in maize harvested over 3 years in Iran. *Food Control*, 23 (**2012**) 271–274.
[7] Osborne, B. G. , Fearn, T. , and Hindle, P. H. Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis. *Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis*. **1993**
[8] Cozzolino, D. An overview of the use of infrared spectroscopy and chemometrics in authenticity and traceability of cereals. *Food Research International*, 60 (**2014**) 262–265.
[9] Levasseur-Garcia, C. Infrared Spectroscopy Applied to Identification and Detection of Microorganisms and Their Metabolites on Cereals (Corn, Wheat, and Barley), **2012**.
[10] McMullin, D. , Mizaikoff, B. , and Krska, R. Advancements in IR spectroscopic approaches for the determination of fungal derived contaminations in food crops. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407 (**2015**) 653–660.
[11] Cheli, F., Campagnoli, A., and Dell'Orto, V. Fungal populations and mycotoxins in silages: From occurrence to analysis. *Animal Feed Science and Technology*, 183 (**2013**) 1–16.
[12] Miguel Gomez, M. A. , Bratos, M. A. , Marti , Gil, F. J. , Duenas, D. , ez, A. , n, R. , guez, J. F. , Gutierrez, R. , guez, P. , Orduña-Domingo, A. , Rodri , and guez, T. A. Identification of species of Brucella using Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Microbiological Methods*, 55 (**2003**) 121–131.
[13] Davies, A. M. C. , Dennis, C. , Grant, A. , Hall, M. N. , and Robertson, A. Screening of tomato purée for excessive mould content by near infrared spectroscopy: A preliminary evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 39 (**1987**) 349–355.
[14] Levasseur-Garcia, C. Infrared Spectroscopy Applied to Identification and Detection of Microorganisms and Their Metabolites on Cereals (Corn, Wheat, and Barley). *In Agricultural Science*; InTech, **2012**.
[15] Agelet, L. E. and Hurburgh, C. R. A tutorial on near infrared spectroscopy and its calibration. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 40 (**2010**) 246–260.
[16] Burns, D.A., Ciurczak, E.W., Anderson, C.A., and Drennen, J.K. Handbook of Near-Infrared Analysis Third Edition 30 Pharmaceutical Applications of Near-Infrared Spectroscopy, **2008**.
[17] Sun, D.-W. Infrared spectroscopy for food quality analysis and control. Academic Press/Elsevier: **2009**.
[18] Roggo, Y., Chalus, P., Maurer, L., Lema-Martinez, C., Edmond, A., and Jent, N. A review of near infrared

spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. , 44(3 SPEC. ISS.) (**2007**) 683–700.
[19] Xiaobo, Z., Jiewen, Z., Povey, M.J.W., Holmes, M., and Hanpin, M. Variables selection methods in near-infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*. , 667(1–2) (**2010**) 14–32.
[20] Luypaert, J. , Heuerding, S. , Jong, S. De , and Massart, D. L. An evaluation of direct orthogonal signal correction and other preprocessing methods for the classification of clinical study lots of a dermatological cream. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30 (**2002**) 453–466.
[21] Bertrand, D. Near infrared spectroscopy and its applications in the food industries animal. (**2002**).
[22] MacDougall, D. , Martens, H. , and Geladi, P. Linearization and Scatter-Correction for Near-Infrared Reflectance Spectra of Meat. *Applied Spectroscopy*, 39 (**1985**) 491–500.
[23] Dardenne, P. , Sinnaeve, G. , and Baeten, V. Multivariate Calibration and Chemometrics for near Infrared Spectroscopy: Which Method? *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 8 (**2000**) 229–237.
[24] Massart, D. L. , Vandeginste, B. G. M. , Byudens, L. M. C. , Jong, S. De , Lewi, P. J. , and Smeyers-Verbeke, J. Chapter 26 Other optimization methods. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics Part A, 32* (**1997)** 771–804.
[25] Tufféry, S. Data Mining and Statistics for Decision Making. John Wiley and Sons: Chichester, UK **2011**.
[26] Garon, D. , Kaddoumi, A. El , Carayon, A. , and Amiel, C. FT-IR Spectroscopy for Rapid Differentiation of Aspergillus flavus, Aspergillus fumigatus, Aspergillus parasiticus and Characterization of Aflatoxigenic Isolates Collected from Agricultural Environments. *Mycopathologia*, 170 (**2010**) 131–142.
[27] McGoverin, C. M. , Engelbrecht, P. , Geladi, P. , and Manley, M. Characterisation of non-viable whole barley, wheat and sorghum grains using near-infrared hyperspectral data and chemometrics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401 (**2011**) 2283–2289.
[28] Borggaard, C. and Thodberg, H. H. Optimal Minimal Neural Interpretation of Spectra. *Analytical Chemistry*, 64 (**1992**) 545–551.
[29] Williams, P.; Norris, K. H.; and American Association of Cereal Chemists. Near-infrared technology : in the agricultural and food industries. American Association of Cereal Chemists: **2001**.
[30] Karami-Osboo, R. , Maham, M. , Miri, R. , AliAbadi, M. H. S. , Mirabolfathy, M. , and Javidnia, K. Evaluation of Dispersive Liquid–Liquid Microextraction–HPLC–UV for Determination of Deoxynivalenol (DON) in Wheat Flour. *Food Analytical Methods*, 6 (**2013**) 176–180.
[31] Bennett, J.W. and Klich, M. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*., 16(3) (**2003**) 497–516.
[32] Karami-Osboo, R. , Mirabolfathy, M. , and Aliakbari, F. Natural deoxynivalenol contamination of corn produced in Golestan and Moqan areas in Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12 (2010) 154-163.
[33] Mirabolfathy, M., Karami-Osboo, R.-I. J. of P., Fumonisin B1 contamination of Golestan corn product.*cabdirect.org*, **2006**.
[34] Karami-Osboo, R. and Mirabolfathy, M. Natural zearalenone contamination of wheat from Golestan Province, Northern Iran. *Iranian journal of plant pathology*, 44 (**2008**) 60–65.
[35] Bezděková K and Bradáčová M A verification of the possibility of mycotoxin determination in barley caryopses by near-infrared spectroscopy, **2015**.
[36] Girolamo, A. de , Lippolis, V. , Nordkvist, E. , and Visconti, A. Rapid and non-invasive analysis of deoxynivalenol in durum and common wheat by Fourier-Transform Near Infrared (FT-NIR) spectroscopy. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 26 (**2009**) 907–917.
[37] Miedaner, T. , Han, S. , Kessel, B. , Ouzunova, M. , Schrag, T. , Utz, F. H. , and Melchinger, A. E. Prediction of deoxynivalenol and zearalenone concentrations in *Fusarium graminearum* inoculated backcross

populations of maize by symptom rating and near-infrared spectroscopy. *Plant Breeding*, 134 (**2015**) 529–534.
[38] Salete Tibola, C. , Mauricio Cunha Fernandes, J. , Maria Guarienti, E. , and Nicolau, M. Distribution of Fusarium mycotoxins in wheat milling process. *Food Control*, 53 (**2015**) 91–95.
[39] Dvořáček, V. , Prohasková, A. , Chrpová, J. , and Štočková, L. Near infrared spectroscopy for deoxynivalenol content estimation in intact wheat grain. *Plant, Soil and Environment*, 58 (**2012**)196–203.
[40] Balut, A. VALIDATION OF Fhb1 AND QFhs.nau-2DL IN SEVERAL SOFT RED WINTER WHEAT POPULATIONS. *Theses and Dissertations--Plant and Soil Sciences* **2012.**
[41] Jin, F. , Bai, G. , Zhang, D. , Dong, Y. , Ma, L. , Bockus, W. , and Dowell, F. Fusarium-damaged kernels and deoxynivalenol in fusarium-infected U.S. winter wheat. *Phytopathology*, 104 (**2014**) 472–478.
[42] Peiris, K. H. S. , Pumphrey, M. O. , and Dowell, F. E. NIR Absorbance Characteristics of Deoxynivalenol and of Sound and *Fusarium* -Damaged Wheat Kernels. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 17 (**2009**) 213–221.
[43] Kautzman, M. E. , Wickstrom, M. L. , and Scott, T. A. The use of near infrared transmittance kernel sorting technology to salvage high quality grain from grain downgraded due to Fusarium damage. *Animal Nutrition*, 1 (**2015**) 41–46.
[44] Levasseur-Garcia, C. and Kleiber, D. A Method for the Allotment of Maize Contaminated by Toxins. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 23 (**2015**) 255–265.
[45] Kos, G. , Sieger, M. , McMullin, D. , Zahradnik, C. , Sulyok, M. , Öner, T. , Mizaikoff, B. , and Krska, R. A novel chemometric classification for FTIR spectra of mycotoxin-contaminated maize and peanuts at regulatory limits. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 33 (**2016**) 1596–1607.
[46] Sieger, M. , Kos, G. , Sulyok, M. , Godejohann, M. , Krska, R. , and Mizaikoff, B. Portable infrared laser spectroscopy for on-site mycotoxin analysis. *Scientific Reports*, 7 (**2017**) 114-129.
[47] Gaspardo, B. , Zotto, S. Del , Torelli, E. , Cividino, S. R. , Firrao, G. , Riccia, G. Della , and Stefanon, B. A rapid method for detection of fumonisins B1 and B2 in corn meal using Fourier transform near infrared (FT-NIR) spectroscopy implemented with integrating sphere. *Food Chemistry*, 135 (**2012**) 1608–1612.
[48] Giacomo, D. R. and Stefania, D. Z. A multivariate regression model for detection of fumonisins content in maize from near infrared spectra. *Food Chemistry*, 141 (**2013**) 4289–4294.
[49] Stasiewicz, M. J. , Falade, T. D. O. , Mutuma, M. , Mutiga, S. K. , Harvey, J. J. W. , Fox, G. , Pearson, T. C. , Muthomi, J. W. , and Nelson, R. J. Multi-spectral kernel sorting to reduce aflatoxins and fumonisins in Kenyan maize. *Food Control*, 78 (**2017**) 203–214.
[50] Draganova,T , Daskalov, P., Tsonev, R. An Approach for Identifying of Fusarium Infected Maize Grains by Spectral Analysis in the Visible and Near Infrared Region, SIMCA Models, Parametric and Neural Classifiers. *International journal bioautomation*, 14(2) (**2010**) 119-128.
[51] Karami-Osboo, R. and Maham, M. Pre-concentration and Extraction of Aflatoxins from Rice Using Air-Assisted Dispersive Liquid–Liquid Microextraction. *Food Analytical Methods*, 11 (**2018**) 2816–2821.
[52] Karami-Osboo, R. and Mirabolfathy, M. Effect of different strains of saccharomyces cerevisiae on reduction of Aflatoxin B1, B2, G1 and G2. *Journal of food hygiene*, 6 (**2016**) 43–53.
[53] Karami-Osboo, R. Nanofluid extraction of Ochratoxin A in food. *Journal of Food Composition and Analysis*, 87 (**2020**) 103-125.
[54] Tripathi, S. and Mishra, H. N. A rapid FT-NIR method for estimation of aflatoxin B1 in red chili powder. *Food Control*, 20 (**2009**) 840–846.
[55] Dachoupakan Sirisomboon, C. , Putthang, R. , and Sirisomboon, P. Application of near infrared spectroscopy to detect aflatoxigenic fungal contamination in rice. *Food Control*, 33 (**2013**) 207–214.
[56] Fernández-Ibañez, V. , Soldado, A. , Martínez-Fernández, A. , and la Roza-Delgado, B. de Application of

near infrared spectroscopy for rapid detection of aflatoxin B1 in maize and barley as analytical quality assessment. *Food Chemistry*, 113 (**2009**) 629–634.
[57] Shen, F. , Wu, Q. , Shao, X. , and Zhang, Q. Non-destructive and rapid evaluation of aflatoxins in brown rice by using near-infrared and mid-infrared spectroscopic techniques. *Journal of Food Science and Technology*, 55 (**2018**) 1175–1184.
[58] Jaiswal, P. , Jha, S. N. , Kaur, J. , Borah, A. , and Ramya, H. G. Detection of aflatoxin M1 in milk using spectroscopy and multivariate analyses. *Food Chemistry*, 238 (**2018**) 209–214.
[59] Galvis-Sánchez, A. , Barros, A. , and Delgadillo, I. FTIR-ATR infrared spectroscopy for the detection of ochratoxin A in dried vine fruit. *Food Additives and Contaminants*, 24 (**2007**) 1299–1305.
[60] Maham, M. , Karami-Osboo, R. , Kiarostami, V. , and Waqif-Husain, S. Novel Binary Solvents-Dispersive Liquid-Liquid Microextraction (BS-DLLME) Method for Determination of Patulin in Apple Juice Using High-Performance Liquid Chromatography. *Food Analytical Methods*, 6 (**2013**) 452-466.
[61] Pennacchio, A. , Varriale, A. , Esposito, M. G. , Staiano, M. , and D'Auria, S. A near-infrared fluorescence assay method to detect patulin in food. *Analytical Biochemistry*, 481 (**2015**) 55–59.

Review on mycotoxins determination by infrared spectroscopy and chemometrics in food stuff

Rouhollah Karami-Osboo[*1], Mohammad Hossein Shojaee[2], Hassan Yazdanpanah [3]

[1]Mycotoxins Research Laboratory, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

[2]Faroogh Life Sciences Research Laboratory No81, No: 81; East Niayesh Street, Tohid Square; 1457834491 Tehran, Iran

[3]Toxicology and Pharmacology Dept., School of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Submited: 21 April 2020, Revised: 16 August 2020, Accepted: 15 September 2020

Abstract

Mycotoxins are toxic secondary fungi metabolites and grow in most parts of the world and a variety of agricultural products, including dried fruits and cereals, and the toxic metabolites of fungi (mycotoxins) are responsible for many non-communicable diseases in humans and livestock communities. Many methods for measuring toxins in the food chain have been introduced; thin-layer chromatography (TLC), methods based on gas chromatography (GC), high-performance liquid chromatography (HPLC), mass spectrometry liquid chromatography (LC-MS) have been used for mycotoxins determination, these methods are widely used, but they are expensive, time consumable and besides, the original sample will destroy. Therefore, it is very important to identify mycotoxins in food products, by cheap, simple, fast, and non-destructive alternative methods that can even be used in the field. Infrared spectroscopy has been used in quality control of the food industry as a fast and non-destructive method. The potential of the infrared spectroscopy technique has been investigated for the analysis of Fusariotoxins, Aflatoxins, Ochratoxin A, patulin, etc. Due to the various reports of contamination of agriculture products with mycotoxins in Iran, this article review recent studies on the application of infrared spectroscopy and the measurement of the mycotoxins.

Keywords: *Mycotoxins, Infrared spectroscopy, Chemometrics.*

[*]**Corresponding author:** Rouhollah Karami-Osboo

Adress: Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

Tel: 0212240301 **E-mail:** karamiosboo@gmail.com