

Použití FT-NIR spektroskopie pro stanovení mykotoxinů v zru ječmene

Determination of Mycotoxins in Barley Grain by FT-NIR Spectroscopy

Marta BRADÁČOVÁ, Kristýna BEZDĚKOVÁ, Pavlína SMUTNÁ

Mendelova univerzita v Brně, Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Zemědělská 1, 613 00 Brno /
Mendel University in Brno, Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Zemedelska 1, 613 00 Brno
e-mail: marta.bradacova@mendelu.cz

Recenzovaný článek / Reviewed paper

Bradáčová, M. – Bezděková, K. – Smutná, P.: Použití FT-NIR spektroskopie pro stanovení mykotoxinů v zru ječmene. Kvasny Prum. 60, 2014, č. 10, s. 254–257

Práce byla zaměřena na ověření možnosti použití spektroskopie v blízké infračervené oblasti pro rychlou detekci přítomnosti mykotoxinů v obilkách ječmene jarního. Pro analýzy byly použity vzorky zrna deseti odrůd ječmene jarního získané z polních pokusů s přirozenou a umělou infekcí *Fusarium* spp. Kalibrační modely pro dva mykotoxiny deoxynivalenol a nivalenol byly vytvořeny s použitím hodnot stanovených metodou vysokorozlišovací kapalinové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií na pracovišti Vysoké školy chemicko-technologické v Praze. Připravené kalibrační modely s korelačními koeficienty 0,85 pro nivalenol a 0,82 pro deoxynivalenol lze použít pro předběžné rozlišení jejich obsahu v zru ječmene v rozmezí hodnot stanovených analytickou metodou.

Bradáčová, M. – Bezděková, K. – Smutná, P.: Determination of mycotoxins in barley grain by FT-NIR Spectroscopy. Kvasny Prum. 60, 2014, No. 10, pp. 254–257

Our objective was to study the application of the Near Infrared Spectroscopy for determination of mycotoxins in spring barley grains. The samples of 10 spring barley cultivars from field trials with natural and artificial infection of *Fusarium* spp. were assayed. The content of mycotoxins in grains was analysed at the Institute of Chemical Technology, Prague by a reference method of ultra-high performance liquid chromatography coupled with ultra-high resolution mass spectrometry and obtained data were used for development of calibration models for two mycotoxins – deoxynivalenol and nivalenol. The models with correlation coefficient 0.85 for nivalenol and 0.82 for deoxynivalenol are applicable to preliminary screening of samples in the range of values assayed by the analytical method.

Bradáčová, M. – Bezděková, K. – Smutná, P.: Die Anwendung der FT-NIR Spektroskopie für die Bestimmung von Mykotoxinen im Gerstenkorn. Kvasny Prum. 60, 2014, Nr. 10, S. 254–257

Der Artikel befasst sich mit der Überprüfung der Anwendungsmöglichkeit der FT-NIR Spektroskopie für eine schnelle Detektion der Anwesenheit von Mykotoxinen in der Grasfrucht der Sommergerste. Für die Analysen wurden Kornmustern von zehn Sommergerstensorten, die aus den Feldversuchen mit natürlicher und künstlicher Infektion *Fusarium* spp. gewonnen wurden. Die Kalibrationsmodelle für zwei Mykotoxine Deoxynivalenol und Nivalenol wurden unter Anwendung von durch die Methode der Hochleistungsflüssigchromatographie gegebenen Werten auf dem Institut für Chemische Technologie Prag (VŠCHT Praha) zusammengefasst. Die vorbereitete Kalibrierungsmodelle mit den Korrelationskoeffizienten (0,85 für Nivalenol und 0,82 für Deoxynivalenol) können für die vorläufige Auflösung ihres Gehalts im Wertebereich angegeben durch die analytische Methode angewandt werden.

Klíčová slova: ječmen, deoxynivalenol, nivalenol, FT-NIR, mykotoxiny

Keywords: barley, deoxynivalenol, nivalenol, FT-NIR, mycotoxins

1 ÚVOD

Spektroskopie v blízké infračervené oblasti s Fourierovou transformací (FT-NIR) je rychlá fyzikální nedestruktivní metoda vhodná pro analýzy obsahových látek v zemědělských produktech. Je založena na měření úbytku infračerveného záření po kontaktu se vzorkem. Tento úbytek lze měřit v režimu reflektance nebo transmittance. Fourierova transformace je matematická metoda, jejíž pomocí jsou naměřené interferogramy převáděny na spektra. Získaná spektra je nutné vždy vztáhnout k hodnotám stanoveným referenční analytickou metodou, v našem případě kapalinovou chromatografií. NIR spektroskopie se dosud používá hlavně pro stanovení obsahu vody, dusíkatých látek, škrobu, oleje atd., jež jsou ve vzorcích zastoupeny v jednotkách až desítkách procent. Jsou však vyvíjeny i kalibrace pro látky zastoupené v menším množství. Gaspardo et al. (2012) stanovovali fumonisiny B₁ a B₂ v mleté kukuřici s koncentrací 0,417–11,845 mg.kg⁻¹. Tripathi a Mishra (2009) vyvinuli metodu pro kvantifikaci aflatoxinu B₁ v chilli v rozmezí 15–500 µg.kg⁻¹, která může být využita pro odlišení kontaminovaných vzorků před dalšími úpravami.

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity hub rodu *Fusarium* a dalších. Jejich přítomnost v potravinách a krmivech může způsobovat zdravotní komplikace lidem i hospodářským zvířatům, proto je jejich výskytu věnována velká pozornost. V zru obilovin se často vyskytuje deoxynivalenol (DON) a nivalenol (NIV). Pro některé mykotoxiny, stejně jako pro další kontaminující látky v potravinách, byly stanoveny limitní hodnoty, které jsou uvedeny v Nařízení komise ES č.1881/2006. Pro infekci rostlin *Fusarium* spp. je velmi důležitý průběh povětrnostních podmínek, při-

1 INTRODUCTION

Fourier transform near-infrared spectroscopy (FT-NIR) is fast physical non-destructive method applicable to analysis of composition of various agricultural products. It is based on measurement of infrared radiation loss rate after a contact of beam with a sample. It is possible to measure the loss rate in reflectance or transmittance mode. The Fourier transformation is a mathematic method for the conversion of measured interferograms into spectra. Obtained spectra have to be always related to values determined by a reference analytical method – in case of mycotoxins it is liquid chromatography. The NIR spectroscopy is used mainly for determination of water content, proteins, starch and oil, i.e. main compounds in concentration up to tens of percents. Calibrations for substances in smaller quantities have been created as well. Gaspardo et al. (2012) assayed fumonisins B₁ and B₂ in milled corn with the concentration of 0.417–11.845 mg.kg⁻¹. Tripathi and Mishra (2009) prepared a method for quantification of aflatoxin B₁ in red chili powder in the range of 15–500 µg.kg⁻¹, which can be used for discrimination of contaminated lots before processing.

Mycotoxins are secondary metabolites produced by *Fusarium* spp. and others Fungi. An occurrence of mycotoxins in food and feed can cause severe health problems for humans and livestock, therefore high attention is given to their presence in food and feed-stuffs. Cereals are often contaminated with mycotoxins deoxynivalenol (DON) and nivalenol (NIV). For some mycotoxins as well as for other foodstuff contaminants the critical limits are set in Commission Regulation (EC) No 1881/2006. The weather conditions are very important for *Fusarium* spp. infection on cereals, especially hot and humid weather during anthesis and the early seed develop-

znivé je teplé a vlhké počasí během kvetení a tvorby zrna (Xu, 2003). Klasy mohou být napadeny několika druhy rodu *Fusarium* spp., které mohou mít mírně odlišné nároky na optimální teplotu i délku doby, po kterou je potřebná zvýšená vlhkost prostředí pro jejich rozvoj. Dalším faktorem, který ovlivňuje množství mykotoxinů v obilovinách, je agrotechnika pěstování, zejména předplodina a způsob zpracování půdy. Z toho vyplývá ročníkové kolísání výskytu jednotlivých mykotoxinů a nutnost jejich pravidelného sledování (Polišenská, 2011). Přítomnost mykotoxinů je možné stanovit Elisa testy (Štočková a Chrpová, 2012; Dzuman et al., 2014a) nebo kapalinovou chromatografií s detekcí pomocí hmotnostní spektrometrie (Zachariasova et al., 2010; Vaclavikova et al., 2013). Pozornost je věnována také možnému přechodu mykotoxinů do potravin rostlinného původu i do živočišných produktů jako následek zkrmování kontaminovaného obilí. Běláková et al. (2013) sledovala výskyt deoxynivalenolu v pivech z obchodní sítě a uvádí, že obsah mykotoxinů v pivovarských surovinách a pivu nepředstavuje významné zdravotní ohrožení. Štočková a Chrpová (2012) stanovovaly obsah deoxynivalenolu a zearalenonu (ZEA) ve vejcích, přičemž vzorky obsahovaly jen nízké koncentrace ZEA a nebyla potvrzena přítomnost DON. Malachová et al. (2010) se zabývala obsahem mykotoxinů v jarním ječmeni a jejich přenosem do sladu. Ve vzorcích ječmene ze čtyř sklizňových let (2005–2008) nepřekročily hodnoty DON limity stanovené ES. Vaclavikova et al. (2013) stanovovala změny obsahu enniatinů v jednotlivých fázích výroby piva a chleba a konstatovala, že během zpracování jejich obsah klesá.

Ječmen jarní patří k významným pěstovaným obilninám, v České republice je používán zejména na výrobu sladu. Vzhledem k závažnosti mykotoxinů jako kontaminantů této potravinářské suroviny je potřebné vytvořit dostupné metody pro jejich jednoduché a rychlé stanovení. Naším cílem bylo vytvořit kalibraci pro přístroj FT-NIR Nicolet Magna pro stanovení mykotoxinů DON a NIV ze skupiny trichothecenů B ve vzorcích zrna ječmene jarního.

2 MATERIÁL A METODY

Vzorky zrna ječmene jarního byly získány ze sklizně odrůdových pokusů pěstovaných v roce 2012 na čtyřech lokalitách (Žabčice, Kroměříž, Senice a Libčany), ve variantách s přirozenou infekcí *Fusarium* spp., umělou infekcí *Fusarium culmorum* a při čtyřech způsobech ošetření fungicidy. V pokusech bylo zařazeno devět sladovnických odrůd ječmene jarního (Aksamit, Bojos, Malz, Radegast, Gladys, Kangoo, Prestige, Xanadu a Sebastian) a jedna nesladovnická odrůda (Tocada).

Obsah mykotoxinů DON a NIV v zrna byl stanoven akreditovanou referenční analytickou metodou – vysokoučinnou kapalinovou chromatografií spojenou s tandemovou hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS/MS) na Ústavu analýzy potravin a výživy VŠCHT Praha (Vaclavikova et al., 2013; Cajka et al., 2014 a Dzuman et al., 2014b).

Pro měření na NIR spektrometru byly stejné vzorky zrna rovněž pomlety na mlýnku MEZOS se sítím 1 mm. Spektra byla snímána v kompresní rotující kyvetě na integrační sféře přístroje FT-NIR Nicolet Magna v reflektančním módu, při počtu skenů 64, rozlišení 8 cm⁻¹ a vlnočtu 12 000–4 000 cm⁻¹ za použití programu Omnic. Měření každého vzorku bylo provedeno třikrát a pro vytvoření kalibrační rovnice bylo použito průměrné spektrum. Kalibrační modely byly vypočítány metodou částečných nejmenších čtverců (PLS) z první derivace spekter v programu TQ Analyst.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Kalibrační model pro DON byl vytvořen metodou PLS ze 193 spekter a pro NIV z 214 spekter vzorků s obsahem mykotoxinů nad mezí detekce HPLC. Obsah obou mykotoxinů ve vzorcích se pohyboval od 0,014 až po koncentraci přibližně 3 mg.kg⁻¹ pro NIV a od 0,016 po 13 mg.kg⁻¹ pro DON.

Kalibrační model pro NIV vykázal hodnotu korelačního koeficientu 0,85 za použití 4 faktorů. Kalibrace byla testována na stejném souboru vzorků křížovou metodou. Chyba kalibrace RMSEC byla 0,300, chyba křížové validace RMSECV 0,381 a chyba predikce RMSEP 0,292.

Kalibrační model pro DON byl vytvořen s hodnotou korelačního koeficientu 0,82 za použití 7 faktorů. Kalibrace byla testována na stejném souboru vzorků křížovou metodou, přičemž hodnota

ment period (Xu, 2003). Ears can be infected by various species of *Fusarium* genus, which require slightly different temperature and humidity conditions during development. Farming practice, particularly fore-crop and soil cultivation, is also a factor influencing mycotoxin contamination in grains. Due to annual differences in *Fusarium* spp. occurrence the regular screening of mycotoxins levels in grain is obligatory (Polišenská, 2011). Various mycotoxins can be determined by immuno-assay kits (Elisa) (Štočková a Chrpová, 2012; Dzuman et al., 2014a) or by more accurate ultra-high performance liquid chromatography coupled with ultra-high resolution mass spectrometry (Zachariasova et al., 2010; Vaclavikova et al., 2013). The transfer of mycotoxins from crops to food products (plant-based and animal food source) is also studied. Běláková et al. (2013) analysed the occurrence of DON in beers available on the market and found that common levels of mycotoxins in brewing raw materials and in beer did not represent any significant health risk. Štočková a Chrpová (2012) assessed the levels of deoxynivalenol and zearalenon (ZEA) toxins in eggs and found only low concentration of ZEA and none of DON. Malachová et al. (2010) paid attention to the mycotoxin occurrence in barley grain and the risk of malt contamination. In barley samples from four years (2005–2008) levels of DON did not exceed the EC limits. Vaclavikova et al. (2013) studied the changes in enniatins levels during beer and bread making and concluded that during processing the enniatins concentration decreased.

Spring barley is one of the staple crops; in the Czech Republic it is important mainly for malt production. Due to the risk of mycotoxins contaminations in barley grain and consequently in malt and beer it is necessary to develop methods for their simple and quick determination. Our work was aimed at developing of calibration models for FT-NIR spectrometer Nicolet Magna for analyses of mycotoxins DON and NIV from type B trichothecenes group in barley grains.

2 MATERIAL AND METHODS

The barley grain samples were obtained from field trials established at four testing stations (Zabčice, Kromeriz, Senice and Libčany) in 2012 under two variants (artificial inoculation with *Fusarium culmorum* control) and four fungicides treatments. Nine malting cultivars of spring barley (Aksamit, Bojos, Malz, Radegast, Gladys, Kangoo, Prestige, Xanadu and Sebastian) and one cultivar of feed barley (Tocada) were tested.

The content of DON and NIV was assayed by accredited reference analytical method – ultra high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) at the Institute of Chemical Technology, Prague, Department of Food Analysis and Nutrition (Vaclavikova et al., 2013; Cajka et al., 2014; Dzuman et al., 2014b).

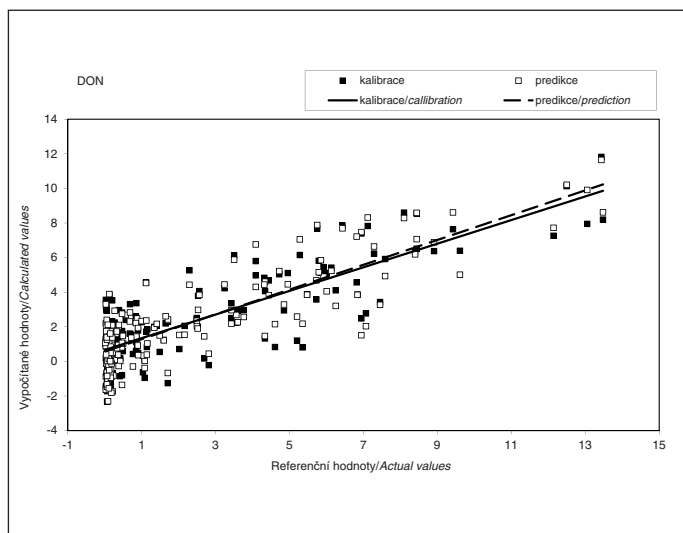
The identical samples of grain were milled the same way on the MEZOS mill with the 1 mm sieve. The spectra were taken in the compressive revolving cuvette on an integrating sphere of Nicolet Magna FT-NIR device in the reflectance mode, wavenumber 12 000–4 000 cm⁻¹, resolution 8 cm⁻¹, number of scans 64 using OMNIC programme. Each sample spectrum was taken three times and average spectra were used for creating of calibration equations. Calibration models were calculated by partial least squares method (PLS) from the first derivation of spectra in TQ Analyst programme.

3 RESULTS AND DISCUSSION

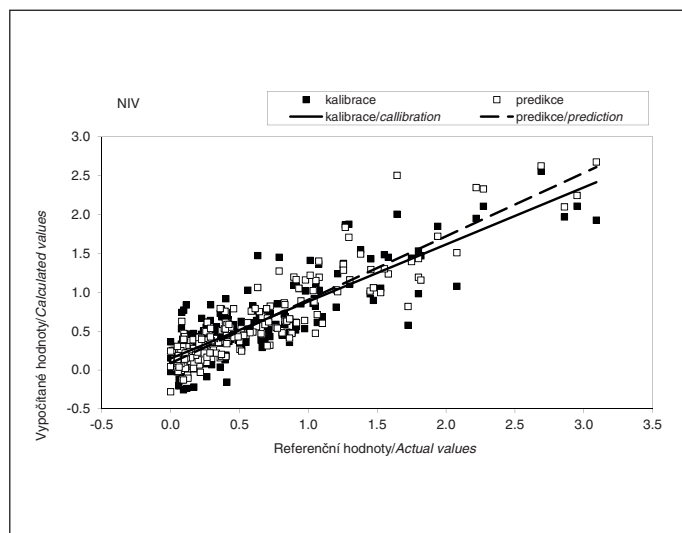
The calibration model for DON was created by PLS method from 193 spectra and for NIV from 214 spectra of samples with mycotoxins levels above limits of HPLC quantification. Contents of NIV were from 0.014 to 3 mg.kg⁻¹ and contents of DON were from 0.016 to 13 mg.kg⁻¹.

The value of the correlation coefficient reached 0.85 for the NIV calibration model using 4 factors. The calibration was tested with the same set of samples by the cross validation method. Root Mean Square Error of Calibration (RMSEC) was 0.300, Root Mean Square Error of Cross Validation (RMSECV) was 0.381 and Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP) was 0.292.

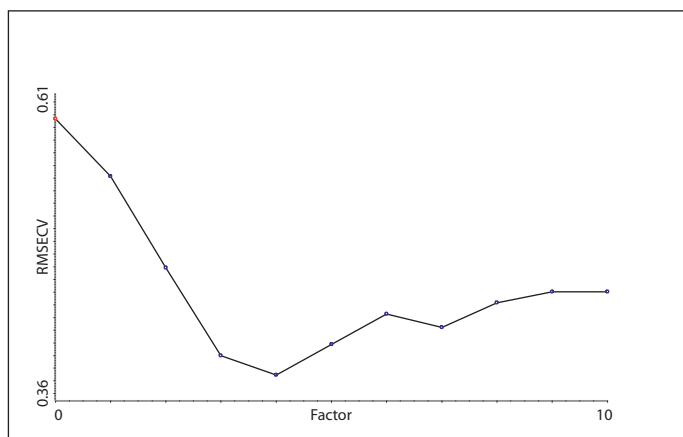
The calibration model for DON was developed using 7 factors, with the value of correlation coefficient of 0.82. The cross validation method with the same samples gave following values: RMSEC 1.72, RMSECV 2.29, and RMSEP 2.16. The calibration for NIV seems to be more accurate than the DON calibration due to the high correlation coefficient. The applicability of calibrations models can be veri-



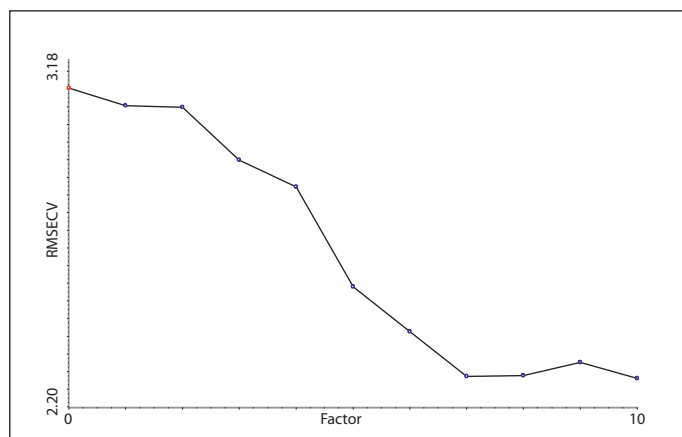
Obr. 1 Kalibrace stanovení koncentrace NIV v mg.kg^{-1} a predikce těchto hodnot / Fig. 1 Calibration for NIV concentration in mg.kg^{-1} and prediction of the values



Obr. 2 Kalibrace stanovení koncentrace DON v mg.kg^{-1} a predikce těchto hodnot / Fig. 2 Calibration for DON concentration in mg.kg^{-1} and prediction of the values



Obr. 3 Funkce PRESS pro NIV (4 faktory) / Fig. 3 PRESS function for NIV (4 factors)



Obr. 4 Funkce PRESS pro DON (7 faktorů) / Fig. 4 PRESS function for DON (7 factors)

RMSEC byla 1,72, RMSECV 2,29 a RMSEP 2,16. Vzhledem k nižší hodnotě korelačního koeficientu pro DON lze kalibraci pro NIV vyhodnotit jako přesnější. Chybami RMSEC, RMSECV a RMSEP je ověřována použitelnost kalibračních modelů. Malý rozptyl hodnot všech tří chyb svědčí o vhodnosti obou kalibračních modelů pro měření. Rovněž ze směrnice grafů kalibrací (korelace zadané a vypočtené hodnoty použitých standardů pro vytvoření kalibrace) a predikcí (korelace zadané a vypočtené hodnoty standardů po snížení jejich počtu přibližně o 20 % pomocí náhodného výběru) pro NIV (obr. 1)

$$y_{\text{cal}} = 0,1484 + 0,7338 \times x$$

$$y_{\text{pre}} = 0,0895 + 0,8157 \times x$$

i pro DON (obr. 2)

$$y_{\text{cal}} = 0,6638 + 0,6824 \times x$$

$$y_{\text{pre}} = 0,5699 + 0,7167 \times x$$

Lze odvodit použitelnost vytvořených kalibračních modelů.

Indikátorem chyby kalibrační metody PLS je funkce PRESS (predikovaná zbytková chyba sumy čtverců). Optimální počet PLS faktorů je spojen s minimální hodnotou funkce PRESS. Vysoký počet faktorů snižuje předpovědní schopnost modelu, protože PRESS také zahrnuje spektrální šum. Pokud funkce PRESS ostře klesá, lze kalibrační model považovat za dostatečně robustní (Šustová et al., 2007). Z tvaru funkce PRESS vytvořených kalibračních modelů lze vyvodit, že kalibrační model pro NIV (4 faktory a strmější pokles, obr. 3) poskytuje přesnější odhady hodnot v porovnání s kalibračním modelem pro DON (7 faktorů a volnější pokles v porovnání s PRESS funkcí pro NIV, obr. 4).

fied by the RMSEC, RMSECV and RMSEP errors. According to very similar values of all three errors, both calibration models are acceptable for estimations.

Also the slopes from graphs for the calibration (the correlation between actual and calculated values of all standards for calibration) and for prediction (calibration between actual and calculated values of standards after random reduction of their numbers approximately about 20 %) indicate good applicability of developed models.

NIV (Fig. 1)

$$y_{\text{cal}} = 0.1484 + 0.7338 \times x$$

$$y_{\text{pre}} = 0.0895 + 0.8157 \times x$$

DON (Fig. 2)

$$y_{\text{cal}} = 0.6638 + 0.6824 \times x$$

$$y_{\text{pre}} = 0.5699 + 0.7167 \times x$$

The PRESS value (Predicted Residual Error Sum of Squares) is the basic indicator of the error of the PLS calibration method. This value indicates how the predicted residual error of the sum of squares changes with the number of factors used for the calibration of each component. If the PRESS function is optimal, a scree plot shows a sharp drop, followed by a slow decrease, which is an evidence of considerable robustness of the calibration model. The optimal number of PLS factors will be found if the PRESS value is minimal. A high number of PLS factors reduces the predictive accuracy of the model because PRESS also includes the spectral noise. (Šustová et al., 2007). The PRESS function developed for both calibration models indicated that the model for NIV (4 factors, sharp drop, Fig. 3) provided more robust results in comparison with the model for DON (7 factors,

Vzhledem k hodnotám obou mykotoxinů v použitých vzorcích, korelačním koeficientům a chybám kalibrace lze připravené kalibrační modely použít pro předběžné rozlišení úrovně obsahu DON a NIV v rozmezí hodnot stanovených analytickou metodou HPLC-MS/MS. Pro dosažení větší robustnosti obou vytvořených kalibračních modelů by bylo přínosné zvýšit počet kalibračních standardů o vzorky zrna z dalších ročníků.

K podobným výsledkům dospěli např. Gaspardo et al. (2012), kteří stanovovali obsah fumonisinu B₁ a B₂ v kukuřici rovněž na FT-NIR spektroskopu, kalibraci pro měření kukuřičného šrotu připravili metodou PLS s hodnotami RMSEC a RMSECV 0,432 a 2,005 a doporučují toto stanovení jako rychlý způsob určení kontaminace. Tripathi a Mishra (2009) analyzovali aflatoxin B₁ v mletém chilli. V jejich kalibraci byla chyba RMSECV 0,65–1,88 při počtu faktorů 5–10 v závislosti na vybrané části spektra a počtu faktorů. Hodnoty chyb a počty faktorů u výše zmíněných kalibračních modelů jsou srovnatelné s námi připravenými kalibračními modely.

4 ZÁVĚR

Byla ověřena možnost použití FT-NIR spektroskopie pro rychlou detekci mykotoxinů v zru ječmene. Byla připravena kalibrace pro DON s korelačním koeficientem 0,82 a chybou kalibrace RMSEC 1,72 v rozmezí hodnot od 0,016 do 13 mg.kg⁻¹, které byly stanoveny akreditovanou analytickou metodou HPLC-MS/MS. Kalibrace pro NIV vykazovala hodnotu korelačního koeficientu 0,85, chybu RMSEC 0,30 a je použitelná v rozmezí vložených hodnot od 0,014 do 3 mg.kg⁻¹. FT-NIR spektroskopii lze považovat za vhodnou metodu pro rychlou orientační detekci mykotoxinů, kterou by bylo možné použít k vyhledání partií zrna obilovin kontaminovaných mykotoxiny.

PODĚKOVÁNÍ

Děkujeme pracovníkům Ústavu analýzy potravin a výživy VŠCHT Praha za poskytnuté hodnoty stanovených mykotoxinů a pracovištím v Kroměříži, Libčanech, Senici a Žabčicích za poskytnutí vzorků zrna. Práce byla podpořena projekty IGA TP4/2013 a NAZV QI111B044.

LITERATURA/ REFERENCES

- Běláková, S., Benešová, K., Mikulíková, R., Svoboda, Z., Časlavský, J., 2013: Monitoring of the occurrence of deoxynivalenol in beers from outlet shops in 2009–2012. *Kvasny Prum.* 59(10–11): 292–295.
- Cajka, T., Vaclavikova, M., Dzuman, Z., Vaclavik, L., Ovesna, J., Hajslova, J., 2014: Rapid LC–MS-based metabolomics method to study the *Fusarium* infection of barley. *J. Sep. Sci.* 37: 912–919.
- Dzuman, Z., Vaclavikova, M., Polisenka, I., Veprikova, Z., Fenclova, M., Zachariasova, M., Hajslova J., 2014 a: Enzyme-linked immunosorbent assay in analysis of deoxynivalenol: investigation of the impact of sample matrix on results accuracy. *Anal. Bioanal. Chem.* 406: 505–514.
- Dzuman, Z., Zachariasova, M., Lacina, O., Veprikova, Z., Slavikova, P., Hajslova, J., 2014b: A rugged high-throughput analytical approach for the determination and quantification of multiple mycotoxins in complex feed matrices. *Talanta* 121: 263–272.
- EU, 2006: Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December, 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of European Union*, L364, 5–24.
- Gaspardo, B., Del Zotto, S., Torelli, E., Cividino, S. R., Firrao, G., Della Riccia, G., Stefanon, B., 2012: 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 Chem.* 135: 1608–1612.
- Malachová, A., Hajslová, J., Ehrenbergerová, J., Kostelanská, M., Zachariášová, M., Urbanová, J., Cerkal, R., Šafránková, I., Marková, J., Vaculová, K., Hrstková, P., 2010: Fusariové mykotoxiny v zru ječmene jarního a jejich přenos do sladu. *Kvasny Prum.* 56(3): 131–137.

slower decline than the PRESS function for NIV, Fig. 4). Considering concentrations of DON and NIV mycotoxins in our samples, values of correlation coefficients and errors, both calibration models are appropriate for preliminary estimations of DON and NIV levels in barley grains within the range of standard samples assayed by the analytical method. For even better robustness of the developed DON and NIV calibration models it will be reasonable to extend the number of calibration standards and include samples from several harvests.

Similar results were reported by Gaspardo et al. (2012) for FT-NIR analyses of fumonisins B₁ and B₂ in corn meal. The PLS calibration method which produced RMSEC of 0.432 and RMSECV of 2.005, was suggested as applicable for quick discrimination of contaminated samples. Tripathi and Mishra (2009) estimated the concentration of aflatoxin B₁ in red chili powder. The RMSECV of their calibrations was in a range of 0.65–1.88 and the number of factor varied from 5 to 10 according to the selected part of spectra. The parameters of above mentioned calibration models were comparable with our results.

4 CONCLUSIONS

The applicability of FT-NIR spectroscopy for rapid detection of mycotoxins in barley grains was studied. The calibration for DON with the correlation coefficient of 0.82 and RMSEC 1.72 was developed using samples with DON level from 0.016 to 13 mg.kg⁻¹ analysed by a reference method of HPLC-MS/MS. The calibration for NIV showed the correlation coefficient of 0.85 and RMSEC 0.30 and is suitable for detection of NIV level from 0.014 to 3 mg.kg⁻¹. Both models can be considered as acceptable for detection of mycotoxins and FT-NIR spectroscopy can be used for approximate rapid screening of contaminated grain lots.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to the colleagues from the Institute of Chemical Technology, Prague, Department of Food Analysis and Nutrition for supplying the data from mycotoxin analyses. We also thank testing stations in Kromeriz, Libčany, Senice and Zábčice for providing barley grain samples. The research was supported by the projects IGA TP4/2013 and NAZV QI111B044.

- Políšenská, I. 2011: Fuzariové mykotoxiny v obilovinách sklizně 2010. *Obil. Listy* 19(1): 9–12.
- Štočková, L., Chrpová, J., 2012: Deoxynivalenol a zearalenon v produktech živočišné výroby jako důsledek kontaminace krmiv. *Obil. Listy* 20(4): 87–89.
- Šustová, K., Růžicková, J., Kuchník, J., 2007: Application of FT near spectroscopy for determination of true protein and casein in milk. *Czech J. Anim. Sci.* 52(9): 284–291.
- Tripathi, S., Mishra, H. N., 2009: A rapid FT-NIR method for estimation of aflatoxin B₁ in red chili powder. *Food Control* 20: 840–846.
- Vaclaviková, M., Malachova, A., Vepriková, Z., Dzuman, Z., Zachariasová, M., 2013: 'Emerging' mycotoxins in cereals processing chains: Changes of enniatins during beer and bread making. *Food Chem.* 136: 750–757.
- Xu, X., 2003: Effects of environmental conditions on the development of *Fusarium* ear blight. *Eur. J. Plant Pathol.* 109: 683–689.
- Zachariasova, M., Lacina, O., Malachova, A., Kostelanska, M., Poustka, J., Godula, M., Hajslova, J., 2010: Novel approaches in analysis of *Fusarium* mycotoxins in cereals employing ultra performance liquid chromatography coupled with high resolution mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 662: 51–61.