

Application of FTIR Spectroscopy Combined with Multivariate Data Analysis for Determining Aflatoxins in Peanut (*Arachis hypogaea*)

ABSTRACT

A rapid method based on FTIR spectroscopy with multivariate data analysis (MDA) was developed for the identification and quantification of aflatoxins in addition to classifying the peanut samples. This method was proposed over the chromatographic method due to faster, more practical, less reagent consumption as considered a non-destructive method. The spectra of samples were scanned using FTIR Spectrophotometer coupled with Attenuated Total Reflectance (FTIR-ATR) at the mid-infrared region ($4000\text{--}475\text{ cm}^{-1}$). Chemometric techniques for classification purposes using Principal Component Analysis (PCA) and multivariate calibrations of Partial Least Square (PLS) regression were used for establishing a quantitative model to predict the levels of aflatoxins contamination in peanuts (with accuracy is expressed by R^2 is close to 1). According to PC1 and PC2 score plots, PCA was successfully applied for the classification of peanut samples based on their similarity of physicochemical properties into three clusters, namely peanuts of the whole peanuts, peanuts without shells, and peanuts without shells and testa. Determination of aflatoxins contamination using High-Performance Liquid Chromatography coupled with Fluorescence Detector (HPLC-FD) revealed 4 out of 20 samples (20%) with $1.272\text{--}9.585\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ for AFB₁ and $0.448\text{--}2.943\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ for AFB₂ (Indonesian regulatory limit for AFB₁ of $20\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ and $35\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ of total aflatoxins in peanuts). The method performance for aflatoxins analysis by HPLC-FD was validated by high values of coefficient of determination (R^2) higher than 0.9990, low coefficient of variation (CV, 1.06–2.94%), low limit of detection (LOD, $0.32\text{--}1.32\text{ }\mu\text{g l}^{-1}$) and Quantification (LOQ, $1.06\text{--}4.39\text{ }\mu\text{g l}^{-1}$). PLS regression based on FTIR spectra at selected wavenumber region ($1800\text{--}800\text{ cm}^{-1}$) provided satisfactory prediction of aflatoxin contamination in peanut samples; Aflatoxin B₁ ($R^2 = 0.9995$; $RMSEC = 0.1180$; $RMSEP = 0.3000$); and aflatoxin B₂ ($R^2 = 0.9999$; $RMSEC = 0.0012$; $RMSEP = 0.0594$). Therefore, the developed method could be an analytical tool to identify the occurrence of aflatoxin B₁ and B₂ in peanuts in the market.

Keywords

Groundnut, FTIR-ATR, Mycotoxin, Principal Component Analysis, Partial Least Square

Aplikasi Spektroskopi FTIR yang Dikombinasikan dengan *Multivariate Data Analysis* untuk Penentuan Aflatoksin pada Kacang Tanah (*Arachis hypogaea*)

INTISARI

Pengembangan metode cepat menggunakan prinsip spektroskopi yang dikombinasikan dengan *Multivariate Data Analysis* (MDA) dalam rangka untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi adanya aflatoksin serta mengklasifikasikan sampel kacang tanah. Metode ini direkomendasikan karena lebih cepat, lebih praktis, konsumsi reagen lebih sedikit dan merupakan metode non-destruktif. Spektra sampel dipindai menggunakan Spektrofotometer FTIR yang digabungkan dengan Attenuated Total Reflectance (FTIR-ATR) pada wilayah mid-infrared ($4000\text{--}475\text{ cm}^{-1}$). Penggunaan kemometrik yang bertujuan untuk klasifikasi menggunakan teknik *Principal Component Analysis* (PCA) dan kalibrasi multivariat *Partial Least Square* (PLS) Regression digunakan untuk membangun model kuantitatif untuk memprediksi tingkat kontaminasi aflatoksin pada kacang tanah (dengan akurasi dinyatakan dengan R^2 mendekati 1). Berdasarkan plot nilai PC1 dan PC2, PCA berhasil diterapkan untuk klasifikasi kacang berdasarkan sifat fisika-kimianya menjadi tiga kelompok, antara lain kacang dengan kulit, kacang tanah tanpa kulit, dan kacang tanah tanpa kulit dan kulit ari. Penentuan kadar cemaran aflatoksin menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan Detektor Fluorescence (KCKT-FD) menghasilkan 4 dari 20 sampel (20%) dengan $1,272\text{--}9.585\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ untuk AFB₁ dan $0,448\text{--}2.943\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ untuk AFB₂ (Batas maksimal cemaran AFB₁ pada kacang di Indonesia $20\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ dan $25\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}$ untuk aflatoksin total). Kinerja metode untuk analisis aflatoksin dengan KCKT-FD divalidasi dengan nilai koefisien determinasi (R^2) yang lebih tinggi dari 0,9990, koefisien variasi rendah (CV, 1,06–2,94%), batas deteksi rendah (LOD , $0,32\text{--}1,32\text{ }\mu\text{g l}^{-1}$) dan batas kuantifikasi yang rendah pula (LOQ , $1,06\text{--}4,39\text{ }\mu\text{g l}^{-1}$). PLS Regression pada wilayah bilangan gelombang terpilih ($1800\text{--}800\text{ cm}^{-1}$) memberikan nilai prediksi yang akurat terhadap kontaminasi aflatoksin pada sampel kacang tanah, dengan hasil AFB₁ ($R^2 = 0,9995$; $RMSEC = 0,1180$; $RMSEP = 0,3000$) dan AFB₂ ($R^2 = 0,9999$; $RMSEC = 0,0012$; $RMSEP = 0,0594$). Oleh karena itu, metode yang dikembangkan dapat menjadi tools untuk mengidentifikasi adanya cemaran aflatoksin B₁ dan B₂ pada kacang di pasaran.

Kata kunci:

Kacang Tanah, FTIR-ATR, Mikotoksin, *Principal Component Analysis* (PCA), *Partial Least Square* (PLS)