



بیست و هشتمین کنفرانس اپتیک و
فوتونیک ایران و چهاردهمین کنفرانس
مهندسی و فناوری فوتونیک ایران،
دانشگاه شهید چمران اهواز،
خوزستان، ایران.
۱۴-۱۲ بهمن ۱۴۰۰



شناسایی آفلاتوکسین در پسته با استفاده از تصویربرداری فراطیفی فلورسانسی

فرشته زلفی^۱، پیمان سلطانی^۱، مجید پناهی^۱، احمد درودی^۱، علی دینی^۲

^۱ گروه فیزیک، دانشگاه زنجان، زنجان ^۲ مرکز تحقیقات سلامت پسته، رفسنجان، کرمان

چکیده - تصویربرداری فراطیفی ترکیبی از تصویربرداری و طیف سنجی است و برای هر نقطه از نمونه‌ی مورد مطالعه، در صدها باند طیفی یک تصویر را ثبت کرده و یک مکعب داده ایجاد می‌کند. دو بعد از این مکعب داده مربوط به اطلاعات مکانی و بعد سوم آن بیانگر اطلاعات طیفی است. تصویربرداری فراطیفی به دلیل دقت بالای طیفی و فضایی، کاربردهای بسیاری در زمینه شناسایی عناصر مختلف از طیف عبوری و یا انعکاسی دارد. در این مقاله ترکیبی از دوربین فراطیفی و پدیده فلورسانس ارائه شده است و کاربرد آن تشخیص سلامت مواد غذایی بررسی می‌شود. در همین راستا، شناسایی آلودگی آفلاتوکسین در نمونه پسته بررسی شده و تحلیل نتایج توسط روش‌های کمومتریکس وابستگی زیادی بین میزان آفلاتوکسین و تابش فلورسانس نشان می‌دهد.

کلید واژه - آفلاتوکسین، پسته، تصویربرداری فراطیفی، فلورسانس.

Detection of aflatoxin in pistachio using fluorescence hyperspectral imaging

Fereshteh Zolfi, Peyman Soltani, Majid Panahi and Ahmad Darudi

Department of Physics, University of Zanjan, Zanjan.

Email: zolfi.fereshteh@znu.ac.ir

Abstract - Spectral imaging is a combination of imaging and spectroscopy, and for each point of the sample under study, it records an image in hundreds of spectral bands and creates a data cube. Two dimensions of this data cube are related to spatial information and the third dimension represents spectral information. Hyperspectral imaging, due to its high spectral and spatial accuracy, has many applications in identifying different elements of the transient or reflective spectrum. In this paper, a combination of hyperspectral camera and fluorescence phenomenon is presented and its application in food health diagnosis is investigated. In this regard, the detection of aflatoxin contamination in pistachio samples was investigated and analysis of the results by chemometric methods shows a strong correlation between aflatoxin levels and fluorescence radiation.

Keywords: Aflatoxin, Fluorescence, Hyperspectral Imaging Camera, Pistachio.

مقدمه

ایران یکی از عمده‌ترین تولیدکنندگان و صادرکننده‌های پسته در سطح جهان می‌باشد. با توجه به اهمیت محصول پسته در صادرات و اقتصاد کشور، یافتن روشی کم هزینه و غیرمخرب نسبت به سایر روش‌های موجود برای تشخیص آفاتوکسین در میوه‌ی پسته دارای اهمیت می‌باشد.

آفاتوکسین‌های B1, B2, G1 و G2 چهار نوع از مهم‌ترین آفاتوکسین‌ها می‌باشند و توسط قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پاراسیتیکوس در شرایط مناسب از لحاظ دمایی (۲۵ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد) و رطوبت تولید می‌گردد. میزان سمیت آفاتوکسین‌ها به صورت $B1 > G1 > B2 > G2$ است که B1 بیشترین پتانسیل سرطان‌زایی را دارد [۱].

روش‌های مختلف تجزیه شیمیایی مانند کروماتوگرافی برای تعیین میزان آفاتوکسین توسعه داده شده است و اگرچه دقیق و حساس هستند، ولی به طور کلی گران، زمان‌بر و مخرب هستند. بنابراین یک روش تشخیص غیر مخرب، سریع و دقیق برای تشخیص آلودگی آفاتوکسین مورد نیاز است [۲]. یکی از این روش‌ها، تصویربرداری فراطیفی است که نوعی طیف‌سنجی از راه دور به روش کاملاً غیر تماسی و غیر تهاجمی است [۳].

تصویربرداری فراطیفی

با اندازه‌گیری طیف نوری ساطع‌شده، پراکنده‌شده و منعکس شده از یک نمونه، می‌توان اطلاعات فیزیکی و شیمیایی آن را به دست آورد [۴]. تصویربرداری فراطیفی، از ترکیب تصویربرداری معمولی و طیف‌سنجی حاصل می‌شود و به طور همزمان اطلاعات مکانی و طیفی نمونه را ثبت می‌کند [۳]. این روش قدرتمند برای طیف وسیعی از مطالعات بنیادی و کاربردی در زمینه‌های مختلف مانند سنجش از راه دور، کشاورزی، صنایع غذایی و ... مناسب است [۴]. تصویربرداری فراطیفی یک رویکرد غیرتهاجمی جدید برای غربالگری قارچ‌های سمی‌زا و وجود سموم مرتبط با آن‌ها در

یک نمونه است و اطلاعات مکانی و طیفی یک ناحیه خاص را در یک تصویر معین ارائه می‌دهد [۵].

طیف‌سنجی فلورسانسی

روش‌های نوری پتانسیل بالایی را برای تشخیص سریع آلودگی آفاتوکسین در محصولات کشاورزی نشان داده است. در میان روش‌های مورد بررسی، فلورسانس تحت تحریک نور ماوراء بنفش (UV) معمولاً برای تشخیص آفاتوکسین در محصولات مختلف کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد. فلورسانس در برخی از مواد معدنی یا ارگانیک، زمانی که با تابش طول‌موج کوتاه UV و با شدت زیاد تحریک می‌شود، اتفاق می‌افتد [۲]. از ترکیبات فلورسنت به عنوان برچسب‌هایی استفاده می‌شود که اجزای نمونه را قابل تشخیص می‌کند و طیف سنجی، عکاسی و فتومتری برای ثبت نتایج تجزیه و تحلیل استفاده می‌شود [۶].

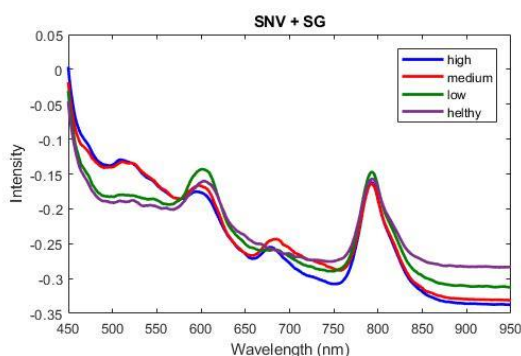
سیستم تصویربرداری فراطیفی فلورسانسی

سیستم تصویربرداری فراطیفی فلورسنت از یک دوربین فراطیفی رو میزی و یک منبع نور UV تشکیل شده است. نمونه مورد مطالعه با نور UV روشن شده و سپس دوربین فراطیفی نور فلورسانس ساطع شده را ثبت می‌کند. تصویر فراطیفی ثبت شده، نقشه‌ای از نمونه ایجاد می‌کند که مکان‌های ساطع‌کننده فلورسانس از نمونه در آن مشهود است.

تصویربرداری فراطیفی مورد استفاده (HYSPIM) ساخت شرکت پرتو افزار صنعت)، از یک سیستم اسکن خطی و روش پوش بروم برای ثبت تصویر فراطیفی استفاده می‌کند. با حرکت نمونه مورد مطالعه، خطوط نقاط مختلف نمونه طیف‌سنجی می‌شود و در نهایت یک تصویر فراطیفی از نمونه خواهیم داشت که هر پیکسل از تصویر حاوی طیف نمونه می‌باشد. در شکل ۱ سیستم تصویربرداری فراطیفی، مورد استفاده نشان داده شده است. این دوربین قابلیت تصویربرداری در بازه طول موجی ۴۰۰ تا ۹۵۰ نانومتر را دارد.

نتایج و نتیجه‌گیری

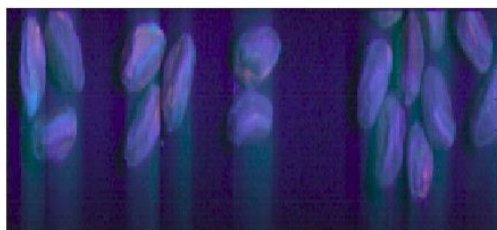
نمودار طیفی مربوط به چهار نوع پسته به ترتیب با آلودگی بالا، آلودگی متوسط و آلودگی پایین و پسته سالم با استفاده از تصویربرداری فراطیفی فلورسانسی در شکل ۲ رسم شده است. در این تصویربرداری از منبع نور UV با طول موج ۳۶۰ نانومتر استفاده گردید و شدت نور ساطع شده توسط تصویربردار فراطیفی ثبت گردید.



شکل ۲: نمودار طیفی مربوط به چهار نوع پسته به ترتیب با آلودگی بالا، آلودگی متوسط و آلودگی پایین و پسته سالم.

همان‌طور که مشاهده می‌شود در بازه ۴۹۰ تا ۵۴۰ نانومتر و همچنین ۶۹۰ نانومتر تفاوت قله‌ها نشان‌دهنده تمایز بین نمونه‌های آلوده و شاهد است. که بازه ۴۹۰ تا ۵۴۰ نانومتر مربوط به آلودگی و قله ۶۹۰ نانومتر مربوط به تفاوت رنگدانه‌های موجود در پسته به دلیل حضور کلروفیل است.

در شکل ۳ تصویر رنگی از نمونه‌های پسته از چپ به راست به ترتیب آلودگی بالا، آلودگی متوسط، آلودگی کم و سالم چیده شده، بعد از تابش نور UV نشان داده شده است.



شکل ۳: تصویر RGB ثبت شده از نمونه‌های مختلف پسته.

پس از انجام پیش پردازش، اقدام به شناسایی آلودگی موجود در سطح پسته و مختصات قسمت‌های آلوده با استفاده از رویکرد آنالیز مولفه اصلی شد و در نهایت سه مولفه اصلی شناسایی شد. اولین مولفه اصلی مربوط به



شکل ۱: تصویربردار فراطیفی همراه با اسکنر خطی.

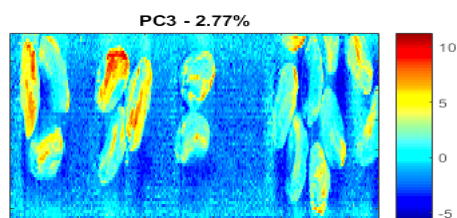
نمونه‌های استفاده شده در آزمایش

نمونه‌های پسته مورد مطالعه در آزمایشگاه مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان آماده‌سازی شده است. پسته سالم ($AFT=0$)، پسته آلوده آزمایشگاهی در سه نوع آلودگی بالا (فقط مغز پسته آلوده به ۲۰۰۰ نانوگرم سم آفلاتوکسین)، آلودگی بالا کل پسته (مغز و پوست آلوده به ۲۰۰۰ نانوگرم سم) و آلودگی خیلی بالا (مغز پسته آلوده به ۴۰۰۰ نانوگرم سم) نمونه‌های مورد بررسی هستند.

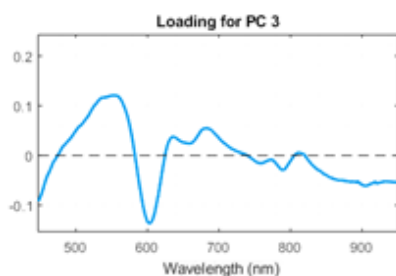
سم آفلاتوکسین استفاده شده برای آلوده کردن نمونه‌های پسته، نوع B1 بوده که به شکل بلورهای کریستال بی‌رنگ بوده و در مقابل نور ماوراء بنفش (۳۶۲ – ۳۶۳ نانومتر) فلورسانس آبی نسبتاً قوی از خود نشان می‌دهد [۱].

روش‌های تحلیل تصاویر فراطیفی

روش‌های مختلفی برای تحلیل و آنالیز داده‌های فراطیفی شامل هوش مصنوعی، روش‌های کمومتریکس و ... وجود دارد. روش استفاده شده در مقاله حاضر روش کمومتریکس PCA است که از روش‌های ریاضی آماری و علوم رایانه‌ای جهت دستیابی به حداکثر اطلاعات به کمک تفسیر و تحلیل داده‌ها بهره می‌برد. پردازش طیفی و تحلیل مدل با استفاده از نرم افزار MATLAB 2017b انجام شد. همچنین به منظور افزایش وضوح پاسخ‌های طیفی از روش smoothing استفاده می‌شود. متداول‌ترین روش هموارسازی، فیلتر ساوتیزکی-گولای است که این فیلتر به نوعی جایگزین هر نقطه با میانگین نقاط اطراف است [۷].



شکل ۸: نمایش مکانی سومین مولفه اصلی تشخیص داده شده.

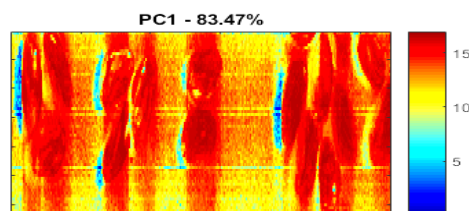


شکل ۹: نمودار طیفی مولفه اصلی سوم.

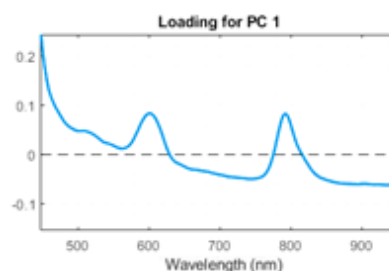
مرجع‌ها

- [1] سید محمد مرتضوی و همکاران، بررسی میزان آفلاتوکسین پسته و تاثیر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، *مجله نوآوری در علوم فناوری غذایی*، سال ششم، شماره اول، بهار ۹۳.
- [2] Q. Wu, J. Xu, H. Xu, "Discrimination of aflatoxin B1 contaminated pistachio kernels using laser induced fluorescence spectroscopy", *Bio systems Engineering*, Vol. 179, pp. 22-34, 2019, 2000.
- [3] M. Kamruzzaman, and D.W. Sun, "Introduction to hyperspectral imaging technology. In Computer vision technology for food quality evaluation", *Academic Press*, pp. 111-139, 2016.
- [4] A. Perri, BE. de Faria, and et al. "Hyperspectral imaging with a TWINS birefringent interferometer", *Opt Express*. 27(11), pp. 15956-15967, 2019.
- [5] H. Yao, Z. Hruska, R.L. Brown, T. E. Cleveland, "Hyperspectral Bright Greenish-Yellow Fluorescence (BGYF) Imaging of Aflatoxin Contaminated Corn Kernels", *Optics for Natural Resources, Agriculture and Foods*, Vol. 6381, pp. 63810B, 2006.
- [6] Razzaghi-Abyaneh M, editor. Aflatoxins: recent advances and future prospects. *BoD-Books on Demand*, 2013.
- [7] L. Ravikanth, D. Jayas, N. White, "Extraction of Spectral Information from Hyperspectral Data and Application of Hyperspectral Imaging for Food and Agricultural Products", *Food Bioprocess Technol*, 10(1), pp. 1-33, 2016.

قسمت سالم پسته است که نمایش مکانی و نمودار طیفی آن به ترتیب در شکل‌های ۴ و ۵ آمده است.

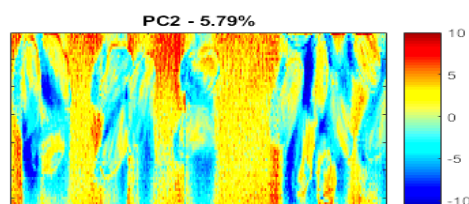


شکل ۴: نمایش مکانی اولین مولفه اصلی تشخیص داده شده.



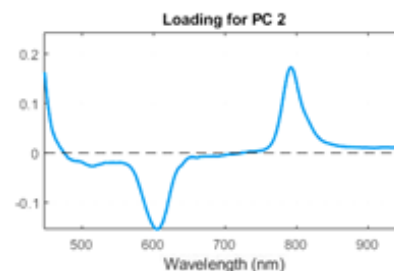
شکل ۵: نمودار طیفی مولفه اصلی اول.

مولفه اصلی دوم مربوط به قسمت پس زمینه است. در شکل ۶ و ۷ شماتیک حاصل و نمودار طیفی آن رسم شده است.



شکل ۶: نمایش مکانی دومین مولفه اصلی تشخیص داده شده.

مولفه اصلی سوم مربوط به آلودگی است که در شکل ۸ نمایان شده است. همچنین نمودار طیفی حاصل (شکل ۹) نیز قله‌ای در ۵۵۰ نانومتر ثبت کرده است که این نشان‌دهنده وجود آلودگی آفلاتوکسین در پسته است.



شکل ۷: نمودار طیفی مولفه اصلی دوم.