See discussions, stats, and author profiles for this publication at: https://www.researchgate.net/publication/308522764

# Detection of Aflatoxin Signature with Hyperspectral Imaging

CITATIONS

CITATIONS

O

Page

READS

O

96

2 authors:

Musa AtaŞ
Siirt Üniversitesi
33 PUBLICATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



# Hiperspektral Görüntüleme ile Aflatoksin İmzasının Tespiti

# Detection of Aflatoxin Signature with Hyperspectral Imaging

Musa ATAŞ Bilgisayar Mühendisliği Siirt Üniversitesi Siirt, Türkiye musa.atas@siirt.edu.tr Yahya DOĞAN Bilgisayar Mühendisliği Siirt Üniversitesi Siirt, Türkiye yahyadogan@siirt.edu.tr

Ozetçe— Aflatoxin insanlarda birçok sağlık problemlerine, özellikle de karaciğer kanserine sebep olduğu için, hızlı ve etkin tespit edilebilmesi çok önemlidir. Birçok gıda ürünü (badem, ceviz, fındık, fıstık, buğday, darı ve baharatlar) üretim, hasat ve depolama dönemlerinde aflatoksin ile bulaşmaya maruz kalırlar. Dünyada birçok ülke gıdalar için aflatoksin limitlerini 5-10 ppb arasında belirlemiştir. Bu çalışmada java tabanlı hiperspektral görüntüleme ile bir makine görüsü analiz yazılımı geliştirilmiştir. Bu yazılım ile araştırmacılar görüntü üzerinde seçebildikleri hiperspektral alanlar ekseninde görüntü analizi yapabileceklerdir. Buna ek olarak, önerilen uygulama aflatoksin veya başka bileşikler gibi özel desenlerin öğrenilmesini de mümkün kılmaktadır.

Anahtar Kelimeler—Hipespektral görüntüleme, makina görüsü, analiz aracı, makina öğrenmesi.

Abstract— Rapid and effective aflatoxin detection in food becomes very crucial since aflatoxin itself causes various health problems specifically human liver cancer. Many foods such as diamonds, hazelnuts, nuts, pistachios, wheat, maize and spices are prone to aflatoxin contamination during the production, harvesting and storage periods. Aflatoxin content that exceeds 5-10 ppb is prohibited among many countries in the world. In this study a novel java based machine vision analysis tool is developed in order to detect aflatoxin pattern by using hyperspectral imaging. With the proposed software, researchers will able to analyze the hyperspectral images along with the special signatures of the selected region of interests. Furthermore, developed tool makes it possible to learn specific patterns such as aflatoxin or any other special compounds.

*Index Terms*—Hyperspectral imaging, machine vision, analysis tool, machine learning.

## I. Giriş

Değişik gıda ürünleri (fistik, badem, ceviz, findik, darı, buğday ve baharatlar), insan sağlığı açısından son derece olumsuz sayılabilecek Aflatoksin'e maruz kalırlar. Aflatoksin bulaşması genellikle ürünün hasat edilmesi, üretim aşaması ve

depolama dönemlerine rastlamaktadır. Buna ek olarak, kuraklık veya bitkiyi strese sokabilecek durumlar gibi mevsimsel etkiler, ortamın nem ve ısı miktarı, üründe küf oluşumu ve böcek tahribatı aflatoksinin meydana gelmesinde etkilidir. Aflatoksin, değişik Aspergillus küf türlerinin, özellikle de Aspergillus Flavus ve Aspergillus Parasiticus küflerinin oluşturduğu toksik bileşiklerdir [1]. Uluslararası kanser araştırma ajansının verilerine göre aflatoksinin, insanlarda karaciğer kanserine sebep olduğu düşünülmektedir. Bu yüzden birçok ülke, aflatoksin miktarını sert önlemler alarak kontrol etmek zorunda kalmıştır (5-10 ppb). [2].

Aflatoksin miktarını belirlemede kitle spektroskopisi (Mass spectroscopy), ince film kromatografisi (TLC), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), ve enzim bağlantılı immunosorban tahlili (ELISA) gibi değişik kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin arasında en hassas ve doğru sonuç üreten yöntem HPLC olarak kabul edilmektedir [3]. Kimyasal yöntemler daha güvenilir ve tutarlı sonuçlar üretmesine karşılık önişlem maliyetli, pahalı ve uzun zaman aldığından, alternatif çözüm yolları üzerinde çalışmalar devam etmektedir.

Son yıllarda bilgisayarla görü tabanlı sistemlerden olan yakın kızılötesi spektroskopisi, multi-spektral ve hiper-spektral görüntüleme ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır [3-7]. Değişik ışık modaliteleri altında (uv, halojen, led, xenon) incelenecek numune üzerindeki yansıma (reflectance), geçirgenlik (transmittance) ve floresan (fluorescence) etkileri analiz gıdada aflatoksin durumu tespit çalışılmaktadır. Literatür incelendiğinde aflatoksin tespiti için en çok kullanılan sistemin uv tabanlı olduğu görülür. Temel olarak kojik asit ve peroksidaz enzimin meydana getirdiği bileşik, 365 nm uv altında, parlak yeşil ve sarımsı floresan (BGYF, Bright Green Yellowish Fluorescent) ışık yayar. Söz konusu ışığın şiddeti aflatoksin miktarı ile doğru orantılı olduğu kabul edilir. Ancak bu durum her zaman geçerli olamayabilir. Bunun nedeni ışımaya sebep olan BGYF bileşiğinin gerçekte kojik asit ve gıdadaki peroksidaz enzimlerinden meydana gelmesidirir. Kojik asit ise küflerden (Aspergillus Flavus, Aspergillus Parasiticus ve diğer türleri), hatta bakterilerden bile meydana gelebilir [8]. Yao ve ark. göre 5000 ppb üzerindeki bir aflatoksin değerine sahip mısır örneklerinde BGYF ışıması 500-515 nm arasında en belirgindir ve 10 ppb den küçük seviyelerde ışıma gözlenmeyecektir [9]. Diğer taraftan, Pearson halojen aydınlatma altında silikon fotodiyot dizili fiber optik spektrometre sistemi ile 100 ppb üzerinde aflatoksin değeri olan mısır örneklerini diğerlerinden yaklaşık %97 sınıflandırma başarısı ile ayırabilmiştir [10]. Ayrıca Atas ve ark. pul biberler üzerindeki aflatoksin tespiti çalışmasında %85 sınıflandırma başarısına ulaşmışlardır [11]. Bu çalışmalara ek olarak, Hirano ve ark. yer fistiği çalışmasında, 700nm/1100nm spektral geçirgenlik oranında %93 sınıflandırma başarısını elde etmişlerdir [12].

Bu çalışmada ileride fistık veya diğer gıdalarda (badem, ceviz, findık, bıtım vb.) aflatoksin tespitinde kullanılmak üzere, petri kabının üzerine damlatılmış farklı yoğunluktaki standart aflatoksin örneklerinin spektral imzalarını öğrenecek bir makine görüsü sistemi geliştirilmiştir. İkinci bölümde önerilen hiperspektral sistemin donanımsal ve yazılımsal bileşenleri ayrıntılı bir şekilde ele alınacaktır. Uygulamalar ve çıktıları bölümünde ilgi bölgesi (region of interest, roi) seçimi anlatılarak roi'lerin spektral görüntüleri ve aflatoksinli bölgelerle diğer bölgelerden elde edilen verilerin farklılıkları irdelenecektir. Sonuç bölümünde ise geliştirilen sistemin başarımı değerlendirilerek gelecekte yapılması düşünülen çalışmalar üzerinde durulacaktır.

#### II. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada önerilen hiperspektral görü sistemi temel olarak iki ana bileşenden meydana gelmiştir. İlerleyen alt başlıklarda söz konusu bileşenler açıklanmaktadır.

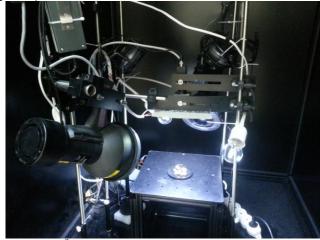
# A. Sistemin Donanımsal Yapısı

Şekil 1'de görüldüğü gibi önerilen sistem ayrıtları 150 cm ve ön tarafında kapağı olan bir küp (karanlık oda), çeşitli enstrümanları sabitlemek için çelik dikey çubuklar ve vidalı tutucular, yüksekliği ayarlanabilir sehpa, soğutucu fanlar, simetrik olarak yerleştirilmiş iki adet spectroline 150 watt uv ışık kaynağı, GigE endüstriyel kamera, 8 mm odak uzaklığı olan lens ve varispec elektronik ayarlanabilir spektral filtreden oluşmaktadır.

Uv ışık kaynakları, endüstriyel kamera ve fanların ihtiyacı olan elektrik enerjisi dışarıdan karanlık odaya güç hattı çekilerek sağlanmıştır. Ayrıca varispec ve endüstriyel kameranın veri kabloları, kutudan dışarıya çıkış verilerek bilgisayarla bağlantısı sağlanmıştır. Varispec filtrenin dışarıda kontrol ünitesi bulunmaktadır. Geliştirilen hiperspektral görüntüleme yazılımı söz konusu kontrol ünitesine usb veri kablosu ile bağlanıp kontrolleri sağlamaktadır. Endüstriyel kamera GigE tabanlı olduğundan yerel ağdaki herhangi bir bilgisayar üzerinden kameraya erişim sağlanabilmektedir.

Karanlık odanın boyutlarının büyük olmasının gerek setup'ın hazırlanmasında gerekse de ortamın daha geç ısınması ve büyük cisimleri incelemeye olanak sağlaması açısından çok büyük faydaları olmuştur. Varispec elektronik ayarlanabilir

spektral filtre uv ışınına maruz kaldığında ısınmakta ve ısıdan kaynaklanan elektronik gürültüler elde edilen hiperspektral görüntülerin kalitesini azaltmaktadır. Bu problemleri azaltmak için varispec filtrenin dış yüzeyi ısıyı dağıtabilmesi ve yansıtması için alüminyum folyo ile kaplanarak fanlarla soğutulması sağlanmıştır. Geliştirilen yazılımla varispec filtrenin kritik 30 santigrat derecesi sürekli kontrol edilerek filtrenin kabul edilebilir sınırlar içerisinde çalışması sağlanmıştır.



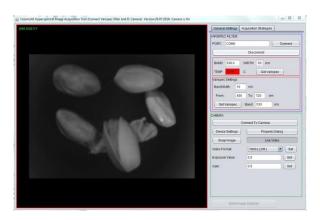
Şekil 1. Önerilen hiperspektral görü sisteminin önemli parçaları.

#### B. Sistemin Yazılımsal Yapısı

Hiperspektral görü sistemi yazılımı Netbeans IDE 8.0.2 geliştirme editöründe java programlama dili kullanılarak geliştirilmiştir. Uygulamada çeşitli görüntü işleme ve görselleştirme unsurları için geliştirdiğimiz Open Cezeri Library (OCL) kütüphanesinden faydalanılmıştır [13]. Yazılım Sistemi temel olarak iki ana grafiksel ara yüzden meydana gelmiştir. Söz konusu grafiksel ara yüzler Şekil 2 ve Şekil 3 de gösterilmektedir.

Hiperspektral görüntü alımı ara yüzü Şekil 2 de görünmektedir. Bu ara yüzde, genel ayarlar ve görüntü alımı stratejileri adında iki ana sekme bulunur. İncelenecek obje petri kaba yerleştirildikten sonra karanlık oda kapatılır ve uv ışık kaynakları açılır. Genel ayarlamalar sekmesinin üst bölümünde yer alan port kısmına varispec in aktif bağlantısının gerçekleştiği com portu yazılır ve hemen yanındaki "Connect" tuşuna basılarak yazılımın filtreyi kontrol etmesi sağlanır. Filtre ile ilgili spektral bant numarası, genisliği ve filtrenin sıcaklığı gibi anlık bilgiler ara yüz üzerinden takip edilebilir. Kullanıcı eğer isterse filtrenin bant genişliğini, spektral tarama aralığını veya aktif spektral bandı yine bu ara yüz üzerinden değiştirebilir. Alt bölümde bulunan kamera kısmında, yazılımın GigE endüstriyel kameraya bağlantısını sağlayacak düğme ve kamera ile ilgili parametrelerin (pozlama süresi, açıklık, kazanç ve görüntü formatı vb.) değiştirilmesine olanak tanıyan bileşenler bulunur. Sıradan bir hiperspektral görüntü alımı için kullanıcının varispec kısmında "connect" tuşuna bastıktan sonra kamera bölümünde de "Connect to Camera" butonuna basması gerekir. Zikredilen butonlara basıldıktan sonra kameranın "live mode" dediğimiz canlı görüntü alımı aktif olur ve pozlama süresine göre çekilen görüntüler sol

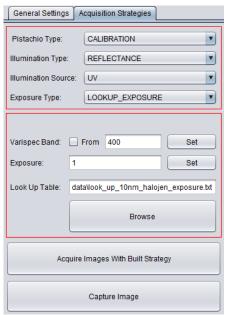
taraftaki pencerede izlenir. İncelenen obje ve spektral banda göre pozlama sürelerinde değişikliğe gidilmesi, ideal ve kaliteli bir görüntü alımı için gereklidir. Bu nedenle, kullanıcının daha önceden tarayacağı spektral bantların her birisi için en uygun pozlama süresini bir txt dosyasında (lookup table) tutması faydalıdır. Aksi takdirde görüntü alımı işlemi uzayacaktır. Unutulmamalıdır ki, kameranın ideal pozlama süresini kestirmek için oto pozlama özelliği yerine manuel veya makine öğrenmesi tabanlı yazılımların [14] kullanılması daha uyarlanabilir ve kaliteli çıktılar üretecektir. Yaptığımız oto denevlerde kameranın kendi pozlama özelliği kullanıldığında alınan görüntülerde büyük oranda bilgi kaybına neden olan aşırı pozlanmış (over-exposed) ve düşük pozlanmış (under-exposed) durumlar gözlemlenmiştir.



Şekil 2. Hiperspektral görüntü alımı ara yüzü.

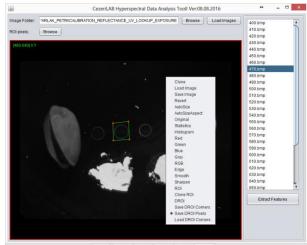
Görüntü alımı stratejileri sekmesinde, Şekil 3 te de görüldüğü gibi kullanıcının hiperspektral görüntüleri oluştururken kullanacağı stratejileri belirtecek seçenekler bulunur. Örneğin, fistik tipi olarak, iç, dış, öğütülmüş veya bu çalışmada olduğu gibi kalibrasyon seçilebilir. Diğer taraftan aydınlatma türünde yansıma ve geçirgenlik, aydınlatma kaynağı olarak ta uv, led veya halojen seçilebildiği gibi, pozlama seçeneği olarak oto-pozlama, adaptif pozlama (makine öğrenmesi tabanlı), tablodan pozlama (önceden her band için ideal pozlama süresi manuel olarak belirlenmiş lookup tablosu) ve yüksek dinamik aralık [15] seçilebilir.

Lookup tablosu seçilmişse ilgili dosya "browse" butonuna basılarak dosya yolu seçilir ve yüklenir. Alt kısımda bulunan "Acquire Images with Built Strategies" düğmesine basılması durumunda varispec belirlenen spektral bant aralığında çalışmaya başlayacak, endüstriyel kameranın ilgili bant için gerekli pozlama süresi kadar beklemesi sağlanarak canlı görüntü sol pencerede gözlemlenecektir. En kararlı görüntü alındığında kullanıcı manuel olarak en alttaki "Capture Image" düğmesine basarak ilgili bandın görüntüsünün hard-diskte kullanılan stratejilerden oluşturulan özel bir klasörün içerisine kaydedilmesini gerçekleştirir. Örnek olması açısından Şekil 3 teki gibi bir strateji deseninin üreteceği klasör ismi "CALIBRATION\_REFLECTANCE\_UV\_LOOKUP\_EXPOS URE" olacaktır.



Şekil 3. Görüntü alımı stratejileri sekmesi.

Yazılım sisteminin ikinci ana bileşeni Şekil 4'te gösterildiği gibi hiperspektral görüntü analizi (HGA) aracıdır.



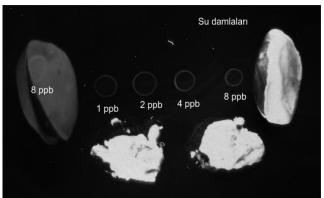
Şekil 4. Hiperspektral görüntü analizi aracı.

HGA uygulamasında kullanıcı analizi yapılacak hiperspektral görüntülerin tutulduğu klasörün adresini browse butonu yardımıyla bularak yükler. Ara yüzdeki görüntü paneli üzerinde sağ tıklandığında açılır menüden dinamik roi (DROI) seçilerek analizi yapılacak bölge hassas bir şekilde belirlenir ve daha sonra da kullanılabilmesi için bilgisayara kaydedilir. Önceden kaydedilmiş DROI pikselleri üst kısımda ROI Pixels yazan yerin yanındaki Browse butonuna basılarak sisteme yüklenir. Son işlem olarak ta sağ tarafta bulunan "Extract Features" düğmesine basılarak DROI piksellerinin spektral imzası OCL'de bulunan görsellestirme aracı ile analiz edilir.

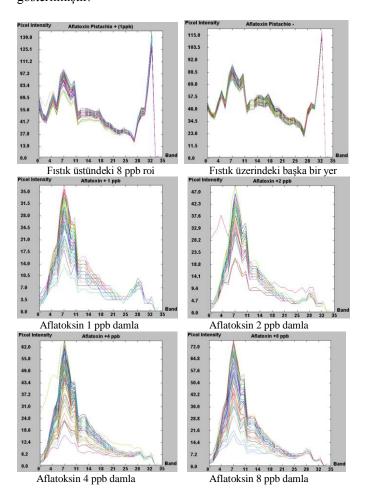
#### III. UYGULAMALAR VE CIKTILARI

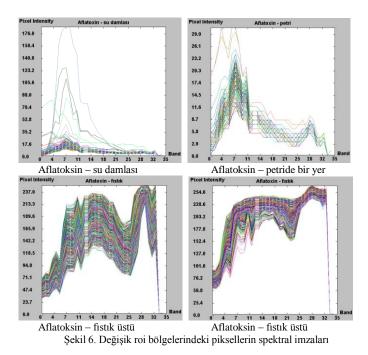
Bu çalışmada aflatoksin deseninin, aflatoksin olmayan desenlere göre farkları gösterilmeye çalışılmıştır. Bunun için

aflatoksin derişimleri sırasıyla 1ppb, 2ppb, 4ppb ve 8ppb olan dört adet damla Şekil 5'te görüldüğü gibi arka yüzeyi siyah boya ile kaplanmış petrinin üzerine şırınga ile damlatılmıştır. Ayrıca 4 adet su damlası yine petri üzerine aflatoksin damlalarının hemen üzerine gelecek şekilde damlatılmıştır. Bunun dışında 8ppb aflatoksin içeren solüsyon kabuklu fistığın üzerine damlatılmıştır. Şekil-5, 470nm görüntüsünü temsil etmektedir.



Şekil 5. 470 nm de alınmış hiperspektral görüntü. Şekil 5'te gösterilen 5 adet aflatoksinli bölge ve dışarıdan seçilen 5 adet aflatoksinli bölgenin spektral imzaları Şekil 6 da gösterilmiştir.





#### IV. SONUC

Şekil 6 daki 10 adet grafik incelendiğinde aflatoksin + roi'lerin aflatoksin – roi'lere göre farklı spektral davranış sergilediği görülecektir. Fıstık üzerinde damlatılan aflatoksin + roi spektral deseninin aflatoksin – olanlara göre 4. ile 25.bantlar arasında daha geniş bir dağılım gösterdiği izlenir. Aynı şekilde diğer grafikler incelendiğinde genellikle aflatoksin + pikseller uv ışınımı altında daha yüksek parlaklık değerine sahip oldukları anlaşılır. Dahası, aflatoksin konsantrasyonuna göre maksimum parlaklık değeri doğrusal olarak artış eğilimi sergilemektedir. İleride yapacağımız çalışmalarda roi sinyallerini makine öğrenmesi algoritmaları ile istatistiksel olarak öğretmeye çalışarak aflatoksinli bölgelerin otomatik olarak tespit edilmesini hedefliyoruz.

## BİLGİLENDİRME

Bu çalışma Siirt Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (SİÜBAP) tarafından SİÜMÜH-M6 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

## KAYNAKÇA

- [1] H.J. Zeringue and B. Y. Shih. "Extraction and Separation of the BGYF Material from Aflatoxigenic Aspergillus spp. Infected Cotton Lint by HPLC-UV/FL", *J.Agric.Food Chem..*, 46(3),pp. 1071-1075, 1998.
- [2] Ataş, Musa, Alptekin Temizel, and Yasemin Yardımcı. "Classification of aflatoxin contaminated chili pepper using hyperspectral imaging and artificial neural networks." 2010 IEEE 18th Signal Processing and Communications Applications Conference. IEEE, 2010.
- [3] Yao, H., Z. Hruska, and J. Diana Di Mavungu. "Developments in detection and determination of aflatoxins." World Mycotoxin Journal 8.2 (2015): 181-191.

- [4] Huang, Hui, Li Liu, and Michael O. Ngadi. "Recent developments in hyperspectral imaging for assessment of food quality and safety." Sensors14.4 (2014): 7248-7276.
- [5] Wu, Di, and Da-Wen Sun. "Hyperspectral imaging technology: a nondestructive tool for food quality and safety evaluation and inspection." Advances in food process engineering research and applications. Springer US, 2013. 581-606.
- [6] Feng, Yao-Ze, and Da-Wen Sun. "Application of hyperspectral imaging in food safety inspection and control: a review." Critical reviews in food science and nutrition 52.11 (2012): 1039-1058.
- [7] Ataş M., Yardimci Y, and A. Temizel. "A new approach to aflatoxin detection in chili pepper by machine vision." Computers and electronics in agriculture 87 (2012): 129-141.
- [8] D. Jardine, M.L. Peter, "Black Light Test for Aflatoxin Is QuestionableProcess", http://www.ksre.ksu.edu/news/sty/2003/blacklight\_test082803.h tm , last visit:17 Jan. 2010.
- [9] Yao, Haibo, et al. "Hyperspectral bright greenish-yellow fluorescence (BGYF) imaging of aflatoxin contaminated corn kernels." Optics East 2006. International Society for Optics and Photonics, 2006.

- [10] Pearson, T. C., et al. "Detecting aflatoxin in single corn kernels by transmittance and reflectance spectroscopy." Transactions of the ASAE 44.5 (2001): 1247.
- [11] Ataş, M, Yasemin Y. and Temizel, A. "Aflatoksinli Biberlerin Hiperspektral Görüntülerinin Siniflandirilmasi Için Yeni Yaklaşimlar." Dokuz Eylül Mühendislik Dergisi, Cilt:12, Sayı:3, (2010).
- [12] Hirano, S., Noriyuki O., and Shuichirou N. "Near infra red detection of internally moldy nuts." Bioscience, biotechnology, and biochemistry 62.1 (1998): 102-107.
- [13] Ataş, Musa. "Open Cezeri Library: A novel java based matrix and computer vision framework" Computer Applications in Engineering Education (2016).
- [14] Doğan, Yahya, and Musa Ataş. "Prediction of adaptive exposure time in hyperspectral bands for industrial cameras." 2015 23nd Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU). IEEE, 2015.
- [15] Ataş, Musa, and Yahya Doğan. "Adaptive High Dynamic Range." 2015 23nd Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU). IEEE, 2015.

.