

## تشخیص آفاتوکسین پسته با استفاده از تکنیک طیف‌سنجی رامان و شبکه عصبی

رضا محمدی گل<sup>۱</sup> - محمدهادی خوش تقاضا<sup>۲\*</sup> - رسول ملک فر<sup>۳</sup> - منصوره میرابوالفتحی<sup>۴</sup> - علی محمد نیکبخت<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۱

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۵

### چکیده

آلودگی ناشی از زهرابه قارچی آفاتوکسین به‌عنوان یک معضل اساسی برای صادرات پسته محسوب می‌شود. با توجه به استقبال روزافزون استفاده از تکنیک طیف‌سنجی رامان در تشخیص و تفکیک مواد مختلف و همچنین مسائل پیشروی روش‌های آزمایشگاهی سنجش سم مذکور (مانند هزینه بالا و زمان‌بر بودن)، هدف از این پژوهش بررسی امکان تشخیص و سنجش آفاتوکسین پسته با تکنیک طیف‌سنجی رامان و استفاده از شبکه‌های عصبی بوده است. نمونه‌های مورد تحقیق در ۳ سطح بدون آلودگی (سالم)، آلودگی ۲۰ و ۱۰۰ نانوگرم در گرم (ppb) از مجموع آفاتوکسین‌های (B1+B2+G1+G2) آماده شدند. بعد از طیف برداری، با توجه به نتایج، هنجارسازی داده‌های طیفی به‌عنوان روش پیش پردازش مناسب، انتخاب شد و به‌دنبال آن برای کاهش ابعاد داده‌های طیفی استخراج مؤلفه‌های اصلی صورت پذیرفت. برای طبقه‌بندی نمونه‌ها، شبکه پرسپترون با قانون یادگیری پس انتشار خطا (با ۴ مؤلفه اصلی مؤثر به‌عنوان ورودی و ۳ نرون در لایه پنهان) مورد استفاده قرار گرفت. متوسط دقت طبقه‌بندی شبکه ۹۸ درصد به‌دست آمد و بنابراین، مدل‌سازی غیرخطی داده‌های طیف رامان توسط شبکه عصبی پرسپترون در طبقه‌بندی نمونه‌ها موفقیت‌آمیز ارزیابی شد.

**واژه‌های کلیدی:** آفاتوکسین، آنالیز مؤلفه اصلی، پسته، شبکه عصبی، طیف‌سنجی رامان

### مقدمه

آفاتوکسین به‌عنوان عضو خانواده مایکوتوکسین‌ها، از متابولیت‌های ثانویه کپک‌هایی چون آسپرژیلوس فلاوس<sup>۶</sup> و آ. پارازیتیکوس<sup>۷</sup> است. قارچ‌های مذکور هم روی درخت و هم طی مراحل فراوری و انبارمانی می‌توانند محصول را آلوده کنند و در صورت آلوده شدن محصول به هاگ آن‌ها و فراهم شدن شرایط دمایی و رطوبتی مطلوب، هاگ رشد کرده و قارچ را تولید می‌کند و قارچ‌ها نیز سم تولید می‌کنند. اگر چه تعداد معدودی از پسته‌ها، آلوده به آفاتوکسین هستند ولی سرعت انتشار آلودگی زیاد بوده و توده بزرگی از پسته آلوده خواهد شد. (Boutrif, 1998). آفاتوکسین‌ها به‌دلیل فراوانی قابل ملاحظه آن‌ها در طبیعت و خاصیت سمی و سرطان‌زا بودن، به‌عنوان سردسته مایکوتوکسین‌ها شناخته شده‌اند. تاکنون چندین نوع آفاتوکسین شناسایی شده است که از بین آن‌ها آفاتوکسین‌های B1، B2، G1 و G2 دارای بیش‌ترین اهمیت هستند (Arrus et al., 2005). بیشترین حد قابل قبول آفاتوکسین B1 پسته در اتحادیه اروپا<sup>۸</sup> ۱۲ ppb (میکروگرم بر کیلوگرم) است و این مقدار در کشورهای دیگر ممکن است متفاوت باشد (۲۰-۲ ppb). البته در برخی موارد مجموع آفاتوکسین‌های B1، B2، G1 و G2 به‌عنوان محدودیت

ایران با داشتن حدود ۴۴۰ هزار هکتار سطح زیر کشت باغات پسته در حدود ۵۷ درصد تولید جهانی و متجاوز از ۶۰ درصد صادرات جهانی این محصول مهم و اقتصادی را به خود اختصاص می‌دهد و به‌عنوان بزرگ‌ترین و مهم‌ترین کشور تولیدکننده و صادرکننده پسته در جهان در بین کشورهای تولیدکننده و صادرکننده پسته (ایران، آمریکا، ترکیه، سوریه، یونان و غیره) به‌شمار می‌رود (Moghadam, 2007).

مسئله آلودگی پسته به آفاتوکسین (سمی که برای انسان و حیوانات سرطان‌زا است) یکی از مسائل مهم تحقیقاتی و یکی از معضلات ملی و منطقه‌ای این محصول با ارزش است و همواره کشورهای صادرکننده پسته در راستای رقابت در بازار بین‌المللی از این حربه علیه پسته ایران استفاده نموده‌اند (Sherafati, 2008).

۱- دانش‌آموخته دکتری مکانیک ماشین‌های کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس و استادیار فعلی گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشگاه اراک  
۲- دانشیار گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشگاه تربیت مدرس  
\* - نویسنده مسئول: (Email: khoshtag@modares.ac.ir)

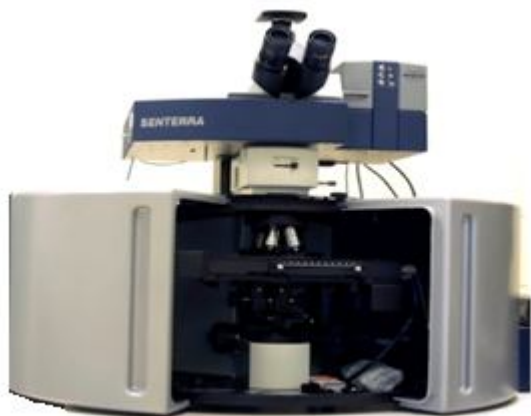
۳- استاد گروه فیزیک، دانشگاه تربیت مدرس

۴- استاد مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور

۵- استادیار گروه مهندسی بیوسیستم، دانشگاه ارومیه

6- *Aspergillus flavus*  
7- *A. parasiticus*  
8- Particle per billion

به‌عنوان منبع تهییج در طی فرآیند طیف برداری رامان علاوه بر داشتن حساسیت مناسب به‌طور معنی‌داری سبب کاهش پدیده فلورسانس در طیف حاصله می‌گردد.



شکل ۱- طیف‌سنج رامان مورد استفاده  
Fig.1. Used Raman spectrometer

البته در هر صورت وجود مقداری فلورسانس در طیف رامان اجتناب ناپذیر است که توسط نرم افزار سامانه قابل حذف است. در تحقیقات زیادی در رابطه با طیف‌سنجی رامان نمونه‌های زیستی از لیزر با طول موج ۷۸۵ نانومتر به‌عنوان منبع تهییج استفاده شده است (Dennis, 2013a; Dennis, 2013b).

### تعیین توان بهینه لیزر

توان سامانه طیف‌سنجی مورد استفاده از ۱۰ میلی‌وات تا ۱۰۰ میلی‌وات قابل تنظیم است. نظر به اهمیت کیفیت سیگنال‌های طیف رامان در تجزیه و تحلیل آن‌ها، با انجام چند پیش‌آزمایش مشخص گردید که توان ۱۰۰ میلی‌وات دارای نسبت سیگنال به نوفه بالاتر بوده و لذا از این توان لیزر برای طیف برداری استفاده شد.

### نمونه سازی

رقم پسته مورد استفاده، رقم فندقی بوده است. کشت گسترده و امکان آلودگی بالا (به‌علت خندانی بیشتر نسبت به رقم‌های دیگر) از دلایل انتخاب این رقم بودند (Tajabadipour, 2008). نمونه‌های پسته به‌صورت خمیری (Stroka et al., 2000) در ۳ سطح: c- بدون آلودگی، a- آلودگی ۲۰ ppb (B1+B2+G1+G2) هر کدام ۵ ppb و A- آلودگی ۱۰۰ ppb (B1+B2+G1+G2) هر کدام ۲۵ ppb آماده شدند. به‌منظور تهیه غلظت‌های مورد نظر از قانون بیر- لامبرت<sup>۳</sup> (رابطه ۱) استفاده شد.

مایکوتوکسین‌های واردات مواد غذایی کشورها لحاظ می‌شود (Anon, 2012).

روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا<sup>۱</sup> (HPLC) و ستون‌های ایمونوآفینیتی<sup>۲</sup> به‌طور گسترده در تشخیص آفلاتوکسین پسته و دیگر محصولات کشاورزی در عرصه‌های تحقیقاتی و تجاری استفاده می‌شود و مقالات متعددی نیز در تأیید دقت روش ذکر شده به چاپ رسیده‌اند (Dragacci et al., 2001; Pearson et al., 1999; Stroka et al., 2000). در این روش مراحل جداسازی و استخراج آفلاتوکسین پیچیده است، به‌علاوه زمان‌بر بودن و نیاز به تجربه زیاد آزمایش‌کننده از خصوصیات دیگر به‌کارگیری این تکنیک عنوان شده است (Sinha, 1999).

در سال‌های اخیر تحقیقات وسیعی در حوزه‌های گوناگون علم پزشکی و داروسازی به‌منظور به‌کارگیری طیف‌سنجی رامان و به‌خصوص تکنیک ارتقا سیگنال‌های رامان انجام شده است. عمدتاً تمرکز این تحقیقات روی شناسایی و تشخیص سریع و زود هنگام بافت‌های سرطانی، باکتری‌ها، قارچ‌ها و مواد شیمیایی دارویی بوده است. در تحقیقات مذکور عموماً از مدل‌های طبقه‌بندی یا رگرسیون چند متغیره برای نگاشت و تفسیر اطلاعات طیفی استفاده شده است (Huang et al., 2010; Teh et al., 2008; Teh et al., 2010).

با عنایت به پیشرفت‌های صورت گرفته در عرصه فن‌آوری و ساخت تجهیزات اپتیکی و نانو که باعث توسعه و ارتقاء چشمگیر طیف‌سنجی‌های رامان شده است (تا آنجا که انواع قابل انتقال آن‌ها به بازار آمده است) و همچنین افزایش مطالبه جهانی برای استفاده از روش‌های سریع و دقیق تشخیص آلودگی در مواد غذایی، تحقیق حاضر با هدف بررسی امکان تشخیص و سنجش کیفی آفلاتوکسین پسته با تکنیک طیف‌سنجی رامان و استفاده از شبکه‌های عصبی انجام شده است.

### مواد و روش‌ها

#### سامانه طیف برداری

سامانه طیف‌سنج رامان مدل SENTERRA (2009) از نوع پاشنده ساخت شرکت BRUKER (آلمان) برای به‌دست آوردن طیف‌های رامان مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱). این سامانه، برداشت طیف رامان از مایعات و جامدات را فراهم کرده و سیستم کاوش میکروسکوپی آن امکان بررسی میکروسکوپی مواد و بلورها را میسر می‌کند. لیزر دستگاه دارای طول موج ۷۸۵ نانومتر و توان حداکثر ۱۰۰ میلی‌وات است. به‌کارگیری لیزر با طول موج ۷۸۵ نانومتر

1- High-performance liquid chromatography  
2- Immunoaffinity

3- Beer-lambert

طبقه‌بند خودآموز ماشینی<sup>۴</sup>، با تعداد داده‌ها (متغیرهای طیفی) توسط رابطه‌نمایی افزایش می‌یابد (Ishikawa and Gulick, 2013). لذا در اغلب تحقیقات مرتبط با طیف‌سنجی به دلیل این‌که تعداد متغیرهای طیفی بسیار زیاد است، قبل از فرآیند مدل‌سازی یا طبقه‌بندی، استخراج مؤلفه‌های اصلی (توسط الگوریتم کاهش داده) با استفاده از روش PCA انجام شده است (Sigurdsson *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2007). تحلیل مؤلفه‌های اصلی یکی از انواع روش‌های تحلیل داده‌های چند متغیره است که هدف اصلی آن تقلیل بعد مسئله مورد مطالعه است. با استفاده از تحلیل مؤلفه‌های اصلی می‌توان تعداد زیادی متغیر توضیحی (متغیر مستقل) را با تعداد محدودی متغیر توضیحی جدید که با یکدیگر وابستگی خطی ندارند و مؤلفه‌های اصلی نامیده می‌شوند، جایگزین نمود (Nicolai *et al.*, 2007). از آنجا که تمرکز روش یادگیری شبکه‌های عصبی مصنوعی بر معادل‌سازی متغیر وابسته با ورودی‌های شبکه بدون اعمال محدودیت بر پارامترهای مختلف (از جمله وزن‌ها) است، بنابراین توجیهاتی وجود دارد که شبکه عصبی در مقایسه با روش‌های PLS و PCR نسبت به Overfitting (ورآموزی) حساس‌تر است. به‌عنوان یک مصالحه پیشنهاد می‌شود که از مؤلفه‌های اصلی (PCs) به‌جای متغیرهای اصلی به‌عنوان ورودی شبکه استفاده شود (Næs *et al.*, 1993). با توجه به حجم بالای متغیرهای طیف رامن (عدد موج‌ها) از این روش برای کاهش متغیرها استفاده شد.

#### مدل‌سازی

یک شبکه عصبی این قابلیت را دارد که تمایزها و تفاوت‌های مرموز را که در شکل کلی و وضعیت نوارهای مختلف رامن وجود دارد و به‌راحتی توسط بشر درک نمی‌شوند، را فهمیده و بر مبنای آن آموزش ببیند (Ishikawa and Gulick, 2013). در بسیاری از مسائل علمی و پیچیده داده کاوی و شناسایی الگو، از شبکه عصبی پرسپترون برای جداسازی کلاس‌های مختلف بر مبنای الگوهای آموزشی استفاده می‌شود. در این موارد، معیار مناسب بودن طبقه‌بندی‌کننده عصبی، تجربی بوده و در صورتی که جواب خوبی به‌دست نیاید، سعی می‌شود با تغییر پارامترهای شبکه عصبی (تعداد نرون و لایه) و استفاده از روش سعی و خطا، جواب مطلوب گرفته شود (Moallem and Monajemi, 2007) در این تحقیق از شبکه پرسپترون یک لایه و قانون یادگیری پس انتشار خطا برای طبقه‌بندی طیف نمونه‌ها استفاده شد. به‌منظور بهبود عملکرد شبکه، داده‌های ورودی در بازه (۱، -۱) هنجارسازی شدند (Gordon *et al.*, 1998).

این قانون تجربی ارتباط شدت نور جذب شده در اثر عبور از ماده همگن بدون پراکندگی را با خصوصیات مواد بیان می‌کند (Parnis and Oldham, 2013).

$$\log\left(\frac{I_0}{I}\right)=A \quad (1)$$

که در آن،  $I_0$  شدت نور اولیه،  $I$  شدت نور عبوری و  $A$  مقدار جذب ماده (بدون واحد) است که به‌صورت رابطه (۲) تعریف می‌شود.

$$A=abc \quad (2)$$

در رابطه (۲)،  $a$  ضریب جذب ماده ( $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )،  $b$  ضخامت (cm) و  $c$  غلظت ( $\text{mol L}^{-1}$ ) آن است.

غلظت‌های فوق‌الذکر در آزمایشگاه مایکوتوکسین‌های مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور به این روش تهیه شدند. از آنجا که آفاتوکسین‌ها جزو سموم خطرناک هستند در کلیه مراحل تحقیق سعی شد ملاحظات ایمنی آزمایشگاهی رعایت شود همچنین برای پاک‌سازی، ظروف و ابزارهای استفاده شده در محلول هیپو کلریت سدیم قرار داده شدند.

#### پیش پردازش طیف‌ها<sup>۱</sup>

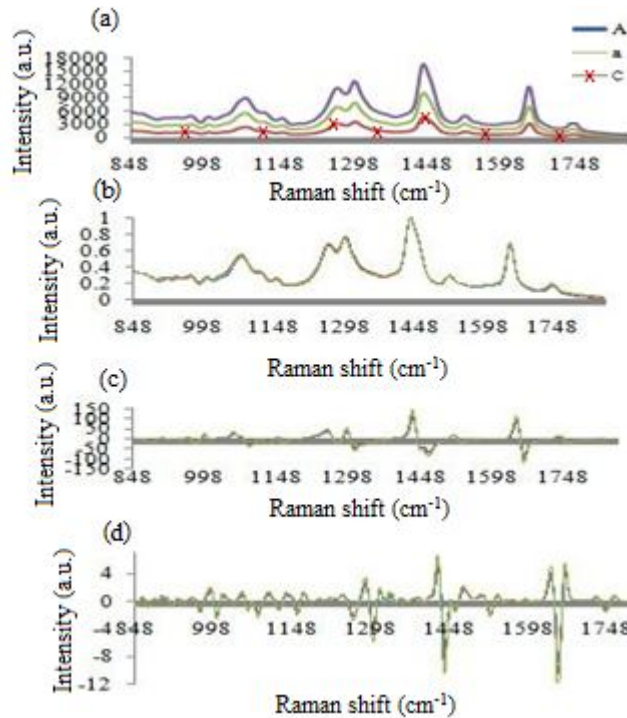
طیف‌های رامن اخذ شده علاوه بر اطلاعات نمونه، حامل اطلاعات ناخواسته از قبیل نوفه و نور پس زمینه است. لذا برای رسیدن به مدل واسنجی دقیق و قابل اعتماد، پیش پردازش داده‌های طیفی قبل از مدل‌سازی ضرورت دارد. روش‌های پیش پردازش بسیار متنوع هستند که معمولاً هر یک از آن‌ها برای منظور خاصی ابداع شده‌اند و با توجه به شرایط متفاوت نمونه‌ها و روش‌ها و ابزار آزمایشگاهی ارائه یک روش پیش پردازش مشخص امکان ندارد. از این رو معمولاً در تحقیقات طیف‌سنجی روش‌های رایج برتر مورد ارزیابی قرار گرفته و بهترین روش مورد استفاده قرار می‌گیرد (Jamshidi, 2012). در این تحقیق تأثیر روش‌های هموارسازی<sup>۲</sup>، هنجارسازی<sup>۳</sup>، مشتق اول و مشتق دوم، Detrending، توزیع نرمال استاندارد (SNV) و تصحیح پراکنش افزاینده (MSC) به‌صورت انفرادی یا ترکیبی (هموارسازی و هنجارسازی، هموارسازی و تصحیح پراکنش افزاینده، هموارسازی و توزیع نرمال استاندارد، مشتق اول و هموارسازی و هنجارسازی) در تفکیک و تمایز طیف‌های اخذ شده مورد بررسی قرار گرفتند (Ishikawa and Gulick, 2013).

#### کاهش ابعاد داده‌های طیفی

به‌طور کلی تعداد مشاهدات (طیف‌ها) برای آموزش موفق یک

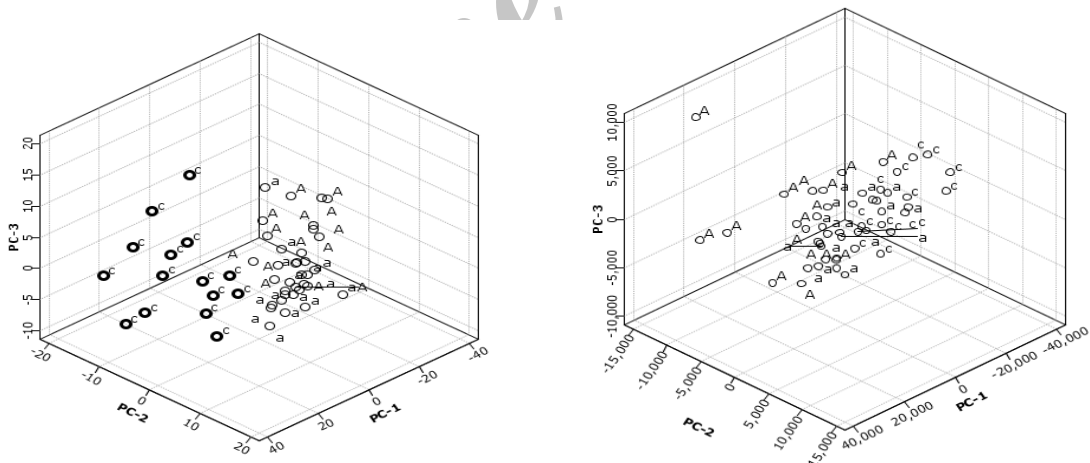
- 1- Preprocessing
- 2- Smoothing
- 3- Normalization

4- Machine-learning classifier



شکل ۲- مقایسه عملکرد روش‌های پیش پردازش اعمال شده روی متوسط طیف‌های هر گروه نمونه در نوار  $848-2000 \text{ cm}^{-1}$ : (a) حذف خط زمینه و هموارسازی، (b) هنجارسازی، (c) اعمال مشتق اول، (d) اعمال مشتق دوم

**Fig.2.** Performance comparison of preprocessing methods on samples group spectrums average at  $848-2000 \text{ cm}^{-1}$  band; (a) Base line correction and Smoothing, (b) Normalization, (c) First derivative, (d) Second derivative



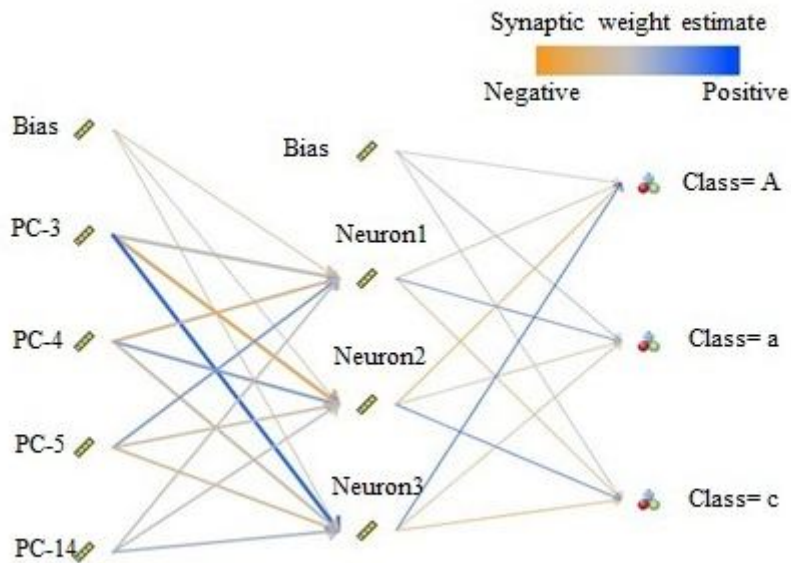
شکل ۳- اثر پیش پردازش مشتق دوم بر پراکندگی طیف‌ها در مختصات مؤلفه اصلی اول، دوم و سوم

**Fig.3.** Effect of second derivative preprocessing methods on spectra's scattering at first 3 principal components coordinate

داده‌های طیفی از آن جمله است (Nicolai *et al.*, 2007). در این تحقیق نرم افزارهای IBM Modeller و Unscrambler به ترتیب برای مدل سازی شبکه عصبی و تجزیه و تحلیل داده‌های طیفی مورد استفاده قرار گرفتند.

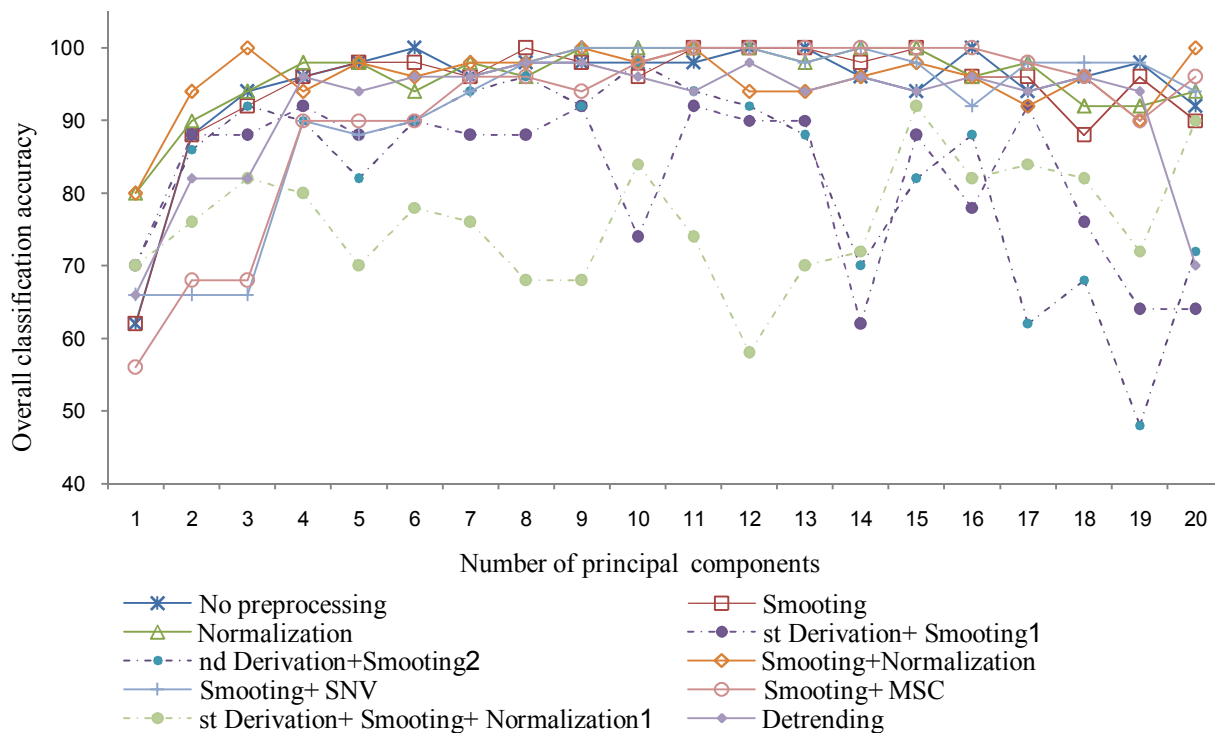
برای مدل سازی، نرم افزارهای متعددی وجود دارد. بسته نرم افزاری Unscrambler با سهولت کارکرد و امکان انتخاب عملیات از لیست<sup>۱</sup> و همچنین قابلیت انجام پیش پردازش روی

1- Menu-driven



شکل ۴- دیاگرام شبکه عصبی مورد استفاده در این تحقیق

Fig.4. Diagram of using a three-layer feed-forward artificial neural network



شکل ۵- دقت متوسط طبقه‌بندی شبکه به‌ازای تعداد ۲۰ مؤلفه اصلی اول با اعمال پیش پردازش‌های مختلف

Fig.5. Plots demonstrating the effects of various pre-processing on the overall classification accuracy percentage of the neural network at first 20 principal components

## نتایج و بحث

## کاوش در طیف‌ها

که شامل مشتق‌گیری (اول یا دوم) هستند بر خلاف روش‌های دیگر، علی‌رغم برتری در تفکیک طیف‌ها در مختصات مؤلفه‌های اصلی (شکل ۳) دارای روند بسیار ناپایدار بوده و بیشینه دقت متوسط طبقه‌بندی حاصل از آن‌ها در مقایسه با پیش‌پردازش‌های دیگر کمتر است و به‌طور کلی در این پژوهش مطلوب ظاهر نشده‌اند. علت این امر، تقویت نویزها در کنار تقویت پیک‌های اصلی طیف نمونه‌ها است، نتیجه تحقیق (Ishikawa and Gulick, 2013) نیز این مطلب را تأیید می‌نماید. با توجه به شکل ۵، دقت متوسط طبقه‌بندی شبکه در غالب پیش‌پردازش‌ها تا ۴ ورودی (مؤلفه‌های اصلی) افزایش و سپس با روند نسبتاً پایداری در بازه بین ۹۰ و ۱۰۰ درصد ادامه می‌یابد. از این‌رو تعداد ۴ مؤلفه اصلی به‌عنوان ورودی بهینه شبکه و پیش‌پردازش هنجارسازی (شکل ۶) برای اعمال روی داده‌های طیفی در نوار  $2000-848 \text{ cm}^{-1}$  انتخاب شدند. در معماری شبکه مورد استفاده تعداد نرون‌های خروجی سه (۳ کلاس) و تعداد نرون بهینه لایه پنهان (که توسط نرم‌افزار محاسبه گردید) سه عدد بوده است (شکل ۴).

## خلاصه عملکرد شبکه عصبی

ماتریس اغتشاش<sup>۲</sup> دقت الگوریتم‌های طبقه‌بندی را نمایش می‌دهد و خلاصه عملکرد طبقه‌بندی با شبکه‌های عصبی در قالب این ماتریس ارائه می‌شود (Hagan et al., 1996). در شکل ۷ ماتریس اغتشاش عملکرد شبکه عصبی مورد استفاده به ازای پیش‌پردازش هنجارسازی و ۴ ورودی (مؤلفه‌های اصلی مؤثرتر) در طبقه‌بندی طیف نمونه‌ها مشاهده می‌شود.

## نتیجه‌گیری

نوار  $2000-848 \text{ cm}^{-1}$  از کل بازه طیفی به‌دلیل دارا بودن تمایز بین نمونه‌ها مورد تحلیل و بررسی قرار گرفت. روش‌های پیش‌پردازش مورد استفاده در تحلیل داده‌های طیفی اثر داشته و در بین ۱۰ روش پیش‌پردازش بررسی شده، اعمال روش هنجارسازی به‌علت عملکرد بهتر (از لحاظ دقت متوسط طبقه‌بندی) و پایداری انتخاب شد. در بین مؤلفه‌های اصلی با انتخاب مؤثرترین آن‌ها در تعیین کلاس نمونه‌ها و همچنین اعمال پیش‌پردازش هنجارسازی، میانگین دقت طبقه‌بندی شبکه مورد استفاده (با ۴ مؤلفه اصلی به‌عنوان ورودی) ۹۸ درصد به‌دست آمد. بنابراین مدل‌سازی غیر خطی داده‌های طیف رامان توسط شبکه پرسپترون با الگوی پس انتشار خطا در جداسازی نمونه‌ها موفقیت آمیز ارزیابی شد.

پس از بررسی شکل ظاهری طیف‌ها استنباط شد که در نوار  $2000-848 \text{ cm}^{-1}$  شدت<sup>۱</sup> پراکندگی فوتون‌های نمونه‌های گروه A بیشتر از گروه a و آن هم بیشتر از گروه c است (شکل ۲). با توجه به این مطلب و همچنین مقایسه آنالیز مؤلفه‌های اصلی کل محدوده طیف، نوار مذکور در مراحل بعدی مورد تحلیل و بررسی قرار گرفت.

## ارزیابی روش‌های پیش‌پردازش

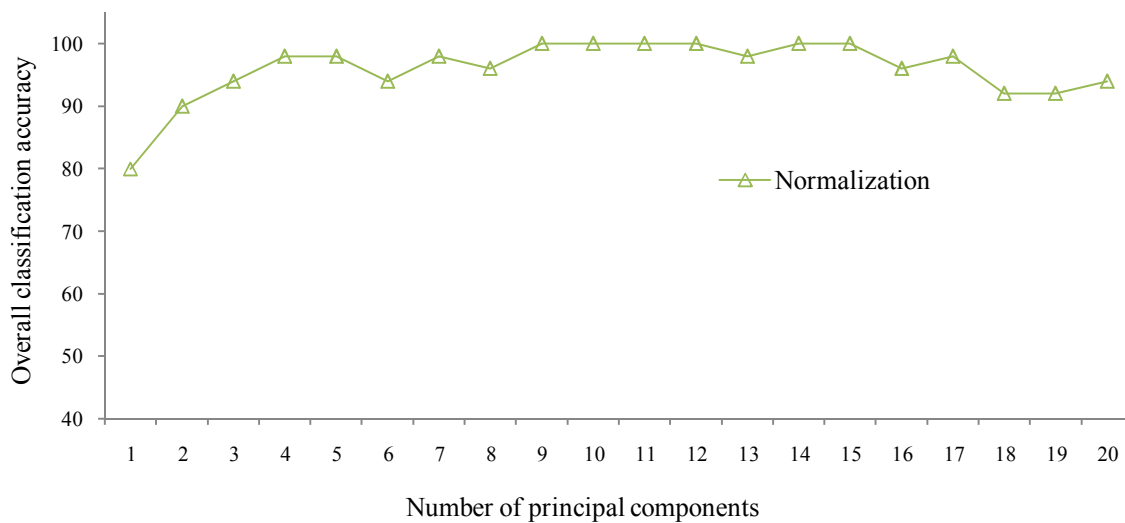
در شکل ۲ اثر روش‌های پیش‌پردازش حذف خط زمینه و هموارسازی، هنجارسازی، مشتق اول و مشتق دوم روی طیف‌های متوسط هر گروه نمونه مشاهده می‌شود. محققان دیگر نیز از این روش‌ها در تحقیقات مرتبط با طیف‌سنجی رامان استفاده نموده‌اند (Ishikawa and Gulick, 2013). در شکل ۲ صرفاً نحوه عملکرد این روش‌ها نشان داده شده است و روش‌های پیش‌پردازش روی همه نمونه‌ها اعمال شده‌اند.

## آنالیز مؤلفه‌های اصلی PCA

محاسبه مؤلفه‌های اصلی از طیف‌های رامان و به‌کارگیری آن‌ها، در تحقیقات گوناگون مشاهده می‌شود (Sigurdsson et al., 2004). در شکل ۳ پراکندگی طیف‌ها در مختصات مؤلفه‌های اصلی اول، دوم و سوم قبل و بعد از اعمال مشتق دوم روی داده‌های طیفی مشاهده می‌شود، همان‌گونه که مشهود است پیش‌پردازش طیف‌ها می‌تواند در واریانس بین کلاس‌ها و واریانس داده‌ها درون کلاس‌ها (با توجه به وضعیت قرارگیری طیف‌ها) اثر گذار باشد. در این تحقیق مؤلفه‌های اصلی از نظر اهمیت در تعیین کلاس طیف نمونه‌ها توسط نرم‌افزار اولویت بندی شده و سپس به‌ترتیب اولویت اثرگذاری در تعیین کلاس طیف‌ها، به‌عنوان ورودی شبکه لحاظ شدند. استفاده از مؤلفه‌های مؤثرتر باعث افزایش دقت شبکه می‌شود (Feng et al., 2010).

## تعیین تعداد بهینه ورودی‌های شبکه

همان‌گونه که قبلاً گفته شد ابعاد داده‌های طیفی به مؤلفه‌های اصلی کاهش داده شدند. به‌منظور به‌دست آوردن تعداد بهینه مؤلفه‌های اصلی (و مؤثر) ورودی شبکه، میانگین دقت طبقه‌بندی شبکه در مقابل تعداد مؤلفه‌های اصلی (۲۰ عدد) به ازای پیش‌پردازش‌های مختلف ترسیم شد. در شکل ۵ پیش‌پردازش‌هایی



شکل ۶- دقت متوسط طبقه‌بندی شبکه به‌ازای تعداد ۲۰ مؤلفه اصلی اول با اعمال پیش پردازش هنجارسازی

Fig.6. Plot demonstrating the effect of normalization pre-processing on the overall classification accuracy percentage of the neural network at first 20 principal components

Overall percent correct = 98%

Observed	Predicted			Row percent
	A	a	c	
A	18	0	0	100
a	0	17	0	100
c	0	1	14	100

شکل ۷- ماتریس اغتشاش خلاصه عملکرد شبکه عصبی پرسپترون در طبقه‌بندی نمونه‌ها

Fig.7. Confusion matrix summarizing the classification performance of used perseptron neural network



منابع

1. Anon. 2012. Mycotoxins legislation worldwide european mycotoxins awareness network. Available from: <http://services.leatherheadfood.com/eman/FactSheet.aspx?ID=79>. Accessed 2 December 2013.
2. Arrus, K., G. Blank, D. Abramson, R. Clear, and R. Holley. 2005. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in Brazil nuts. *Journal of Stored Products Research* 41: 513-527.
3. Boutrif, E. 1998. Prevention of aflatoxin in pistachios. Available from: <http://www.fao.org/docrep/w9474t/w9474t06.htm>. Accessed 2 December 2013.
4. Dennis, A. 2013a. Photo-bleaching and automatic baseline correction for raman spectroscopy. Technical note. Available from: <http://www.perkinelmer.com/lasoffices>. Accessed 11 November 2013.
5. Dennis, A. 2013b. Automatic baseline correction perkinelmer company. Technical note. Available from: <http://www.perkinelmer.com/lasoffices>. Accessed 11 November 2013.
6. Dragacci, S., F. Grosso, and J. Gilbert. 2001. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography for determination of aflatoxin M1 in liquid milk: collaborative study. *Journal of AOAC International* 84: 437-443.
7. Feng, S., R. Chen, J. Lin, J. Pan, G. Chen, Y. Li, M. Cheng, Z. Huang, J. Chen, and H. Zeng. 2010. Nasopharyngeal cancer detection based on blood plasma surface-enhanced Raman spectroscopy and multivariate analysis. *Biosensors and Bioelectronics* 25: 2414-2419.
8. Gordon, S. H., B. C. Wheeler, R. B. Schudy, D. T. Wicklow, and R. V. Greene. 1998. Neural network pattern recognition of photoacoustic FTIR spectra and knowledge-based techniques for detection of mycotoxigenic fungi in food grains. *Journal of Food Protection* 61: 221-230.
9. Hagan, M. T., H. B. Demuth, and M. H. Beale. 1996. *Neural network design*. Pws Publication. Boston.
10. Huang, Z., S. K. Teh, W. Zheng, K. Lin, K. Y. Ho, M. The, and K. G. Yeoh. 2010. In vivo detection of epithelial neoplasia in the stomach using image-guided Raman endoscopy. *Biosensors and Bioelectronics* 26: 383-389.
11. Ishikawa, S., and V. Gulick. 2013. An automated mineral classifier using Raman spectra. *Computers and Geosciences* 54: 259-268.
12. Jamshidi, B. 2012. Non-destructive taste characterization and classification of oranges using Vis/NIR spectroscopy. Tarbiat Modares University. (In Farsi).
13. Moallem, P., and A. Monajemi. 2007. A heuristic criterion for goodness of multi layer perceptron as a classifier. First Data Mining Conference. Amir Kabir University, Tehran, Iran. (In Farsi).
14. Moghadam, M. M. 2007. Study of pistachio contamination in processing terminals of Semnan province and evaluation of resistance of pistachio cultivars to *Aspergillus flavus* and aflatoxin B. Iranian Pistachio Research Institute (IPRI). (In Farsi).
15. Næs, T., K. Kvaal, T. Isaksson, and C. Miller. 1993. Artificial neural networks in multivariate calibration. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 1: 1-11.
16. Nicolai, B. M., K. Beullens, E. Bobelyn, A. Peirs, W. Saeys, K. I. Theron, and J. Lammertyn. 2007. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology* 46: 99-118.
17. Parnis, J. M., and K. B. Oldham. 2013. Beyond the beer-lambert law: The dependence of absorbance on time in photochemistry. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 267: 6-10.
18. Pearson, S., A. Candlish, K. Aidoo, and J. Smith. 1999. Determination of aflatoxin levels in pistachio and cashew nuts using immunoaffinity column clean-up with HPLC and fluorescence detection. *Biotechnology techniques* 13: 97-99.
19. Sherafati, A. 2008. *Pistachio application (challenges and solutions)*. Sarva Publication. (In Farsi).
20. Sigurdsson, S., P. A. Philipsen, L. K. Hansen, J. Larsen, M. Gniadecka, and H. C. Wulf. 2004. Detection of skin cancer by classification of Raman spectra. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 51: 1784-1793.
21. Sinha, K. K. 1999. Testing methods for aflatoxins in foods. *Food and Nutrition Bulletin* 20: 458-464.
22. Stroka, J., E. Anklam, U. Jorissen, and J. Gilbert. 2000. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste, and paprika powder: collaborative study. *Journal of AOAC International* 83: 320-340.
23. Tajabadipour, A. 2008. Evaluation of the effectiveness of different devices in the process of separation



- phase in the garden of nuts to aflatoxin contamination suspected. Iranian Pistachio Research Institute (IPRI). (In Farsi).
24. Teh, S. K., W. Zheng, K. Y. Ho, M. Teh, K. G. Yeoh, and Z. Huang. 2008. Diagnosis of gastric cancer using near-infrared Raman spectroscopy and classification and regression tree techniques. *Journal of Biomedical Optics* 13: 034013-034018.
  25. Teh, S. K., W. Zheng, K. Y. Ho, M. Teh, K. G. Yeoh, and Z. Huang. 2010. Near-infrared Raman spectroscopy for optical diagnosis in the stomach: Identification of helicobacter-pylori infection and intestinal metaplasia. *International Journal of Cancer* 126: 1920-1927.
  26. Wu, D., S. Feng, and Y. He. 2007. Infrared spectroscopy technique for the nondestructive measurement of fat content in milk powder. *Journal of Dairy Science* 90: 3613-3619.

Archive of SID