

Identificación de Bandas Espectrales claves en Imágenes Hiperespectrales para la Detección de Aflatoxinas en Maní.

Identification of Key Spectral Bands in Hyperspectral Images for Aflatoxin Detection in Peanuts

Presentación: 12/08/2024

Doctoranda:

Maria Laura VRANIC

DOCTORADO EN INGENIERÍA MENCIÓN EN PROCESAMIENTO DE SEÑALES E IMÁGENES - Facultad Regional Buenos Aires - UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA NACIONAL- Argentina.
mvranic@frba.utn.edu.ar

Director:

Claudio DELRIEUX

Codirector:

Juan VOROBIOFF

Resumen

Las aflatoxinas son micotoxinas producidas por ciertos hongos en alimentos y productos agrícolas, como el maní, especialmente en condiciones cálidas y húmedas. De las 20 aflatoxinas que han sido identificadas, las más relevantes y tóxicas son B1, B2, G1 y G2, siendo la B1 la más peligrosa y asociada a aflatoxicosis en humanos y animales. El cambio climático afecta la producción de estas toxinas al alterar las condiciones ambientales que favorecen el crecimiento de los hongos productores. Las aflatoxinas tienen fluorescencia ultravioleta y distribución superficial, lo que facilita su detección mediante el análisis de imágenes hiperespectrales (HSI). Esta técnica no invasiva permite una evaluación exhaustiva de la calidad de los productos al capturar datos espectrales a lo largo de muchas bandas estrechas, creando hipercubos con información detallada sobre la composición química y características físicas. A pesar de sus ventajas, las HSI enfrentan desafíos como el alto costo, la complejidad de los datos y limitaciones en resolución y velocidad de captura.

Este estudio se centra en identificar las longitudes de onda más relevantes para detectar aflatoxinas en imágenes hiperespectrales de maní. Sobre 15 maníes, 5 sin contaminar, 5 contaminadas superficialmente con 2 µl de solución de standard de aflatoxina B1 0,001 µg/µl en metanol y 5 contaminados con 4 µl de un Mix de aflatoxinas en acetonitrilo. Se tomaron imágenes hiperespectrales a 194 longitudes de onda en el rango de 500 a 700 nm. Las muestras fueron preprocesadas y clasificadas con la Máquina de Soporte Vectorial (SVM), la precisión global del modelo fue del 97.98%. Para la clasificación de aflatoxina B1 se seleccionaron las longitudes arriba de 640.14 nm. El valor de la precisión global se estabiliza a partir de 104 variables (precisión global = 0,9776). La reducción de longitudes de onda no solo simplifica el proceso de medición, sino que también facilita la integración de la tecnología en líneas de producción existentes.

Palabras clave: aflatoxinas, imágenes hiperespectrales, maní, Máquina de Soporte Vectorial

Abstract

Aflatoxins are mycotoxins produced by certain fungi in foods and agricultural products, such as peanuts, especially under warm and humid conditions. Of the 20 aflatoxins that have been identified, the most relevant and toxic are B1, B2, G1, and G2, with B1 being the most dangerous and associated with aflatoxicosis in humans and animals. Climate change affects the production of these toxins by altering the environmental conditions that favor the growth of the toxin-producing fungi. Aflatoxins have ultraviolet fluorescence and surface distribution, which facilitates their detection through hyperspectral imaging (HSI) analysis. This non-invasive technique allows for a comprehensive assessment of product quality by capturing spectral data across many narrow bands, creating hypercubes with detailed information on chemical composition and physical characteristics. Despite its advantages, HSI faces challenges such as high cost, data complexity, and limitations in resolution and capture speed.

This study focuses on identifying the most relevant wavelengths for detecting aflatoxins in hyperspectral images of peanuts. Among 15 peanuts, 5 were uncontaminated, 5 were superficially contaminated with 2 μl of a 0.001 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ aflatoxin B1 standard solution in methanol, and 5 were contaminated with 4 μl of aflatoxin mix in acetonitrile. Hyperspectral images were taken at 194 wavelengths in the range of 500 to 700 nm. The samples were preprocessed and classified using Support Vector Machine (SVM), with the overall model accuracy being 97.98%. For the classification of aflatoxin B1, wavelengths above 640.14 nm were selected. The overall accuracy value stabilizes from 104 variables (overall accuracy = 0.9776). The reduction of wavelengths not only simplifies the measurement process but also facilitates the integration of the technology into existing production lines.

Keywords: aflatoxins, hyperspectral imaging, peanuts, Support Vector Machine

Introducción

Las aflatoxinas son un tipo de micotoxina, es decir, toxinas producidas por ciertos hongos que pueden crecer en una variedad de alimentos y productos agrícolas, como el maní, especialmente en condiciones cálidas y húmedas. Hasta el momento han sido identificadas 20 aflatoxinas diferentes, sin embargo, únicamente las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 se originan de manera natural en sustratos contaminados por *Aspergillus* aflatoxigénicos. La aflatoxina B1 alcanza los niveles de contaminación más elevados y es la más tóxica. Las aflatoxinas se han asociado a varias enfermedades, tales como aflatoxicosis en ganado, animales domésticos y seres humanos. Las aflatoxinas han recibido más atención que cualquier otra micotoxina debido a su potente efecto carcinógeno demostrado en animales de laboratorio susceptibles y sus efectos toxicológicos agudos en seres humanos (Jaime & Oriolis, 2019).

Como resultado del cambio climático, los cambios en la temperatura, la humedad, la lluvia y la producción de dióxido de carbono afectan el comportamiento de los hongos y, en consecuencia, la producción de micotoxinas (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición, 2020). Las aflatoxinas poseen características de fluorescencia ultravioleta y distribución superficial, lo que facilita su detección mediante tecnología de imagen hiperespectral. En los últimos años, la detección espectral se ha convertido en un nuevo método para la detección de aflatoxinas, captando la atención de los investigadores (Han Zhongzhi, 2020).

La imagen hiperespectral (HSI, por sus siglas en inglés) es una técnica útil para la evaluación integral y no invasiva de la calidad de productos. A diferencia de las técnicas de imagen convencionales, HSI emplea una acumulación de firmas espectrales de cada ubicación espacial a lo largo de cientos de bandas estrechas. Al combinar estos extensos datos espaciales y espectrales, HSI crea hipercubos. Estos hipercubos proporcionan información cualitativa y cuantitativa relevante que puede usarse para determinar la composición química, las cualidades materiales y otras características físicas de cada objeto en una imagen. A pesar de sus enormes ventajas, el alto costo, la gran cantidad de datos y su complejidad, la baja resolución espacial, la sensibilidad al ambiente, la poca portabilidad y la baja velocidad de captura hacen que HSI sea inaccesible para algunas aplicaciones (Md. Toukir Ahmed, 2024).

El objetivo de este estudio es identificar las longitudes de onda más relevantes para la detección de aflatoxinas en datos de imágenes hiperespectrales obtenidas de maníes contaminados con aflatoxinas.

Materiales y métodos

Preparación de muestras: se utilizaron un total de 15 maníes pelados y sin tostar que fueron divididos aleatoriamente en 3 grupos con igual número de granos: SC (maníes control, sin contaminación), CB1 (maníes contaminados con un estándar de aflatoxina B1) y CMIX (maníes contaminados con un estándar de las 4 aflatoxinas: B1, B2, G1 y G2). Superficialmente y con la ayuda de una pipeta, cada una de las mitades de los maníes se contaminaron con 2 µl de solución de standard de aflatoxina B1 0,001 µg/µl en metanol o 4 µl de Mix de aflatoxinas en acetonitrilo. El MIX de aflatoxinas contiene: 0,00088 µg/µl de B1, 0,00031 µg/µl de B2, 0,00099 µg/µl de G1 y 0,00032 µg/µl de G2 (Marca: Sigma Aldrich).

Adquisición de Imágenes hiperespectrales: se utilizó una cámara hiperespectral Rikola posicionada a 20 cm de la base dentro de una caja negra, como iluminantes se utilizaron 2 lámparas UV, se registraron 194 imágenes a distintas longitudes de onda entre 500 a 700 nm. El tamaño inicial de las imágenes es de 1,99 MB.

Procesamiento de las imágenes: En total, se obtuvieron 2910 imágenes con una resolución de 1022 x 1024 píxeles. El proceso de preprocesamiento de imágenes incluyó varios pasos: recorte de la imagen a 150 x 200 píxeles, suavizado mediante un filtro gaussiano, umbralización utilizando el método de Otsu y limpieza de la imagen binaria resultante para eliminar artefactos no deseados. Se creó una máscara binaria, que luego se aplicó a todas las longitudes de onda, extrayendo los valores de los píxeles para cada maní. Además, se definió una función para encontrar los valores máximos en subregiones de la imagen. La imagen resultante se dividió en subregiones de 3x3 píxeles, registrando el valor máximo en cada subregión. Este proceso se aplicó a todas las longitudes de onda, resultando en un conjunto de datos compuesto por 6929 observaciones a 194 longitudes de onda.

Análisis estadístico: se realizó un análisis exploratorio inicial para comprender la estructura y distribución de los datos. Posteriormente, se aplicaron Máquinas de Vectores de Soporte (SVM) para la clasificación, estos algoritmos de aprendizaje supervisado son eficaces para clasificar dos grupos de muestras mediante la construcción de un hiperplano separador óptimo que maximiza la distancia entre las clases. Para problemas de clasificación con más de dos clases, como en este estudio, se utilizó el enfoque One-vs-One, que entrena clasificadores SVM para cada par de clases (por ejemplo, SC vs CB1, SC vs CMIX, y CB1 vs CMIX). Dado que los datos no son linealmente separables en el espacio original, se emplearon técnicas de kernel, específicamente el kernel RBF (Radial Basis Function), para transformar los datos a un espacio de mayor dimensionalidad. Esto permite que las SVM encuentren un hiperplano separador incluso en casos de datos no linealmente separables.

Para identificar las longitudes de onda más relevantes para la detección de aflatoxinas, se realizó un proceso de selección de características utilizando la prueba chi-cuadrado. La prueba chi-cuadrado evalúa la significancia estadística de las diferencias entre los valores observados y los valores esperados para cada longitud de onda. La fórmula general para el estadístico chi-cuadrado es: $\chi^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$, donde: O_i es la frecuencia observada para la categoría i y E_i es la frecuencia esperada para la categoría i . Se utilizó la función SelectKBest de Python para aplicar esta prueba a cada longitud de onda. Esta función asigna un puntaje a cada longitud de onda basado en la fuerza de su relación con la clase objetivo. Las k longitudes de onda con los puntajes más altos se seleccionaron para ser incluidas en el modelo. Se enfocó el análisis en las longitudes de onda que tienen una relación significativa con la detección de aflatoxinas, lo cual puede mejorar la precisión y eficiencia del modelo.

Resultados

Análisis exploratorio: se graficó la media por grupos vs longitudes de onda (Figura 1), puede observarse que existen regiones de longitud de onda (zonas) donde la clase SC puede diferenciarse de las clases CB1 o CMIX y otras, donde CB1 puede diferenciarse de CS y CMIX. Para cada longitud de onda, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las medianas de los tres grupos y determinar si existen diferencias significativas entre ellos. Cuando se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la prueba de Kruskal-Wallis, se realizaron comparaciones múltiples utilizando el método de Dunn para identificar diferencias específicas entre

pares de grupos. El nivel de significación se estableció en 5%. Los resultados se muestran en la Figura 1 y en la Tabla 1.

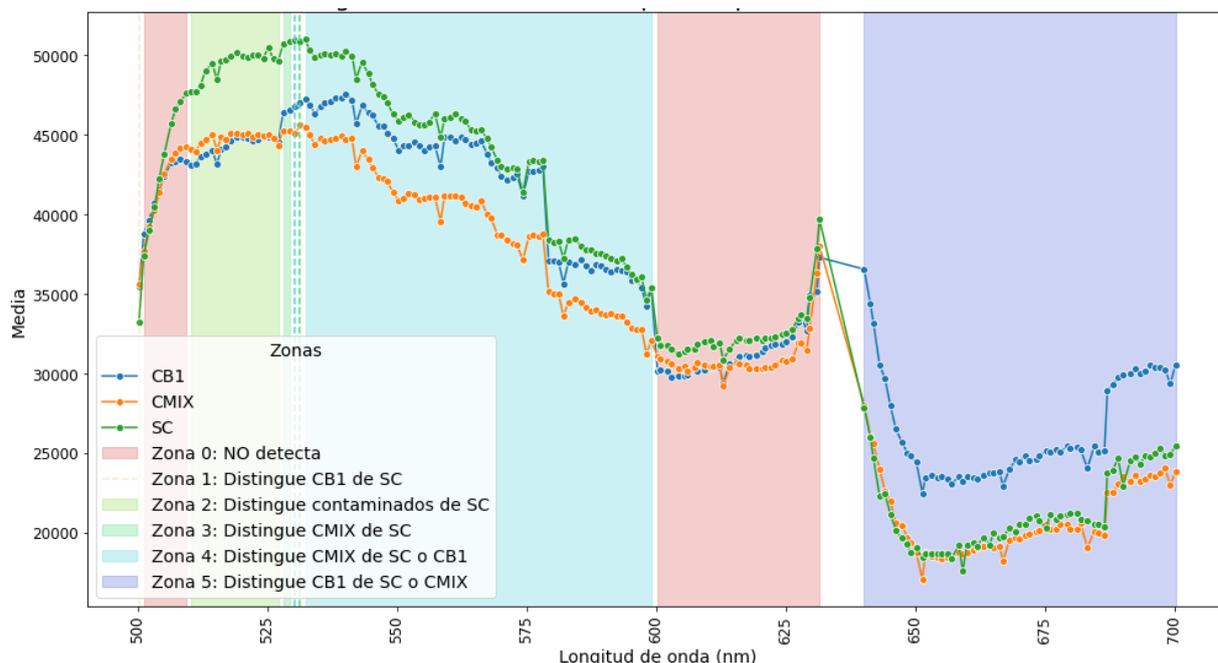


Figura 1: Medias de las variables por grupo de contaminación

Zona	Diferencias estadísticamente significativas	Longitud de onda (nm)
0	No diferencia medianas	501.22 a 509.49 unión 600.27 a 631.51
1	Diferencia CB1 de SC, no se diferencia CMIX de CB1, ni CB1 de SC	500.31
2	Diferencia Contaminación (CB1 o CMIX) de SC	510.27 a 527.17
3	Diferencia CMIX de SC, no se diferencia CMIX de CB1, ni CB1 de SC	528.12 a 529.28 unión 531.39
4	Diferencia CMIX de SC o CB1, estas últimas no se diferencian entre si	530.39 unión 532.43 a 599.11
5	Diferencia CB1 de SC o CMIX, estas últimas no se diferencian entre si	640.14 a 700.15

Tabla 1: Identificación zonas de interés.

Clase	Precisión	Sensibilidad	Puntuación F1	Soporte
CB1	0.97	1.00	0.98	425
CMIX	1.00	0.96	0.98	455
SC	0.97	0.99	0.98	506
Promedio Métricas	0.98	0.98	0.98	1386
Promedio ponderado	0.98	0.98	0.98	1386

Tabla 2: Informe de Clasificación. $Precisión = \frac{VP}{VP+FP}$ donde VP es el número de verdaderos positivos y FP es el número de falsos positivos. $Sensibilidad = \frac{VP}{VP+FN}$ donde FN es el número de falsos negativo.

$Puntuación F1 = 2 \times \frac{Precisión \times Sensibilidad}{Precisión + Sensibilidad}$. Soporte: número de ocurrencias de cada clase en el conjunto de datos de prueba.

Promedio Métricas: El promedio de las métricas (precisión, sensibilidad, puntuación F1) calculadas para cada clase, sin considerar el número de instancias en cada clase. Promedio Ponderado: El promedio de las métricas calculadas para cada clase, ponderado por el número de instancias en cada clase.

Se aplicó el algoritmo de Máquina de Soporte Vectorial (SVM) con un kernel RBF para abordar el problema de clasificación. El modelo fue entrenado con los datos seleccionados (5542 observaciones de las 194 variables) y evaluado utilizando métricas como precisión, matriz de confusión y el informe de clasificación sobre los

datos de prueba (1386 observaciones de las 194 variables). La precisión global del modelo fue del 97.98% (la *Precisión Global* se define como la proporción de todas las predicciones correctas (tanto positivas como negativas) sobre el total de las observaciones. El modelo SVM ha mostrado un excelente desempeño en términos de precisión, sensibilidad y puntuación F1 para cada clase. Las métricas de clasificación indican que el modelo es robusto y confiable para el problema de clasificación (Ver Tabla 2).

En la matriz de confusión (Ec. 1) cada fila representa una clase, CB1: Clase 1, CMIX: Clase 2 y SC: Clase 3, mientras que, cada columna representa las predicciones para cada clase. La diagonal principal: representa las predicciones correctas (verdaderos positivos) y los elementos fuera de la diagonal: representan las predicciones incorrectas (falsos positivos y falsos negativos). El modelo predijo correctamente 423 observaciones como CB1, 436 como CMIX y 499 como SC.

$$\text{Matriz de confusión (MC)} = \begin{bmatrix} mc_{11} & mc_{12} & mc_{13} \\ mc_{21} & mc_{22} & mc_{23} \\ mc_{31} & mc_{32} & mc_{33} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 423 & 0 & 2 \\ 7 & 436 & 12 \\ 5 & 2 & 499 \end{bmatrix} \quad (\text{Ec. 1})$$

La matriz de confusión muestra que el modelo comete muy pocos errores y maneja bien la separación entre las clases. Ninguna observación que era CB1 fue incorrectamente clasificada como CMIX (mc_{12}), 2 observaciones que en realidad eran CB1 fueron incorrectamente clasificadas como SC (mc_{13}) y 12 observaciones que eran CMIX fueron incorrectamente clasificadas como SC (mc_{23}). Siete observaciones que eran CMIX fueron incorrectamente clasificadas como CB1 (mc_{21}) y otras 4 observaciones que eran SC fueron clasificadas como CB1 (mc_{31}) y 2 como CMIX (mc_{32}). Los valores por encima de la diagonal principal representan un riesgo alto para el consumidor porque mc_{12} representan las muestras contaminadas con B1 que fueron clasificadas como MIX (la aflatoxina B1 es cancerígena pertenece al Grupo I de la clasificación de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer y tiene un límite máximo permitido mucho menor que el del MIX); las posiciones mc_{13} y mc_{23} son muestras contaminadas que han sido clasificadas como no contaminadas. Los valores por debajo de la diagonal principal están asociados a pérdidas económicas, pero no representan un riesgo para el consumidor mc_{21} contiene MIX y es clasificada como contaminada con B1, mc_{31} y mc_{32} son muestras no contaminadas que son clasificadas como B1 o MIX. Definamos: *riesgo para el consumidor (RC)* = $mc_{12} + mc_{13} + mc_{23}$, y *pérdidas económicas (PE)* = $mc_{21} + mc_{31} + mc_{32}$.

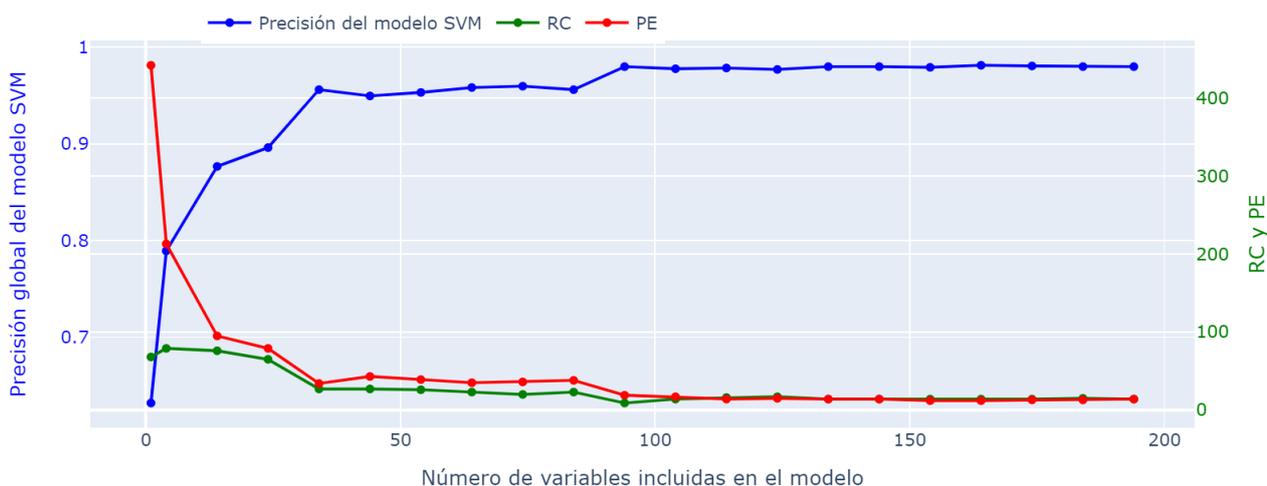


Figura 2: Precisión global del modelo SVM, RC y PE versus variables incluidas en el modelo.

La función SelectKBest de Python evalúa cada característica utilizando la prueba chi-cuadrado y asigna un puntaje basado en la fuerza de la relación entre la característica y la clase. Las k características con los puntajes más altos son seleccionadas para ser incluidas en el modelo. Al final, selecciona las características que tienen una relación significativa con la variable objetivo, permitiendo que el modelo se enfoque en las características más relevantes y posiblemente mejorando su rendimiento. Modificando el número de variables incluidas en el modelo se construyó el gráfico de la Figura 2. Los modelos con muy pocas variables incluyen variables de la zona 5 y como es de esperar clasifican mucho mejor a la clase B1 que a las otras dos. Observemos en la figura 2

que un modelo con solo 34 variables tiene una precisión global de 0.956 con un valor de 34 observaciones para las pérdidas económicas y 27 para el riesgo del consumidor. El valor de la precisión global se estabiliza a partir de 104 variables (precisión global = 0,9776), inicialmente se elimina las variables incluidas en la zona "0" de la Figura 1. Con 94 variables la precisión global es de 0.9798, con un valor de pérdidas económicas de 19 y de riesgo para el consumidor de 9.

Conclusiones

El análisis exploratorio y la aplicación de métodos de clasificación han demostrado ser efectivos para reducir el número de longitudes de onda necesarias para detectar la presencia de aflatoxinas en muestras de maní. La reducción de longitudes de onda no solo simplifica el proceso de medición, sino que también facilita la integración de la tecnología en líneas de producción existentes. Los resultados encontrados coinciden con una de las bandas reportadas en estudios previos. Han & Deng seleccionaron las siguientes longitudes de onda 440, 380, 410, 460, 420, 370, 450, 490, 700 y 600 nm, para detectar aflatoxina B1 logrando una tasa de reconocimiento integrada promedio del 94.5% con el mejor modelo de clasificación: Random Forest.

La utilización de menos longitudes de onda permite una optimización significativa en la industria, tanto desde el punto de vista técnico como operativo. Esto incluye la posibilidad de emplear cámaras hiperespectrales más simples o personalizadas, lo que conlleva una reducción en los costos del equipo y del almacenamiento, así como una menor capacidad computacional para el procesamiento de imágenes. La adquisición más rápida de imágenes, crucial en entornos industriales con requisitos de tiempo de procesamiento estrictos, también se logra mediante esta simplificación. La disminución de longitudes de onda no solo mejora la eficiencia operativa, sino que también simplifica los algoritmos de análisis, haciéndolos más robustos y menos propensos a errores. Adicionalmente, se facilita la adaptación a tecnologías de imagen multiespectral más económicas. La disminución de dimensiones contribuye a modelos más precisos y confiables al eliminar variabilidad innecesaria, y reduce el consumo energético al disminuir el procesamiento y almacenamiento de datos, favoreciendo una operación más sostenible.

Agradecimientos

Se agradece a Steven Martínez Vargas por colaborar en la adquisición de imágenes. Al área de Protección de Alimentos del INTA: Diego Sebastián y Natalia Victoria Pesquero por proporcionar el laboratorio para la contaminación de muestras y la adquisición de imágenes. Esta investigación fue financiada por el Instituto Nacional de Tecnología Alimentaria a través del Proyecto INTA (PE 088 P03 A09).

Referencias

- Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. (2020). Aflatoxinas. Obtenido de https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/gestion_riesgos/Aflatoxinas_ficha.pdf
- Han Zhongzhi, D. L. (2020). Aflatoxin contaminated degree detection by hyperspectral data using band index. *Food and Chemical Toxicology*, 137. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111159>
- Han, Z., & Deng, L. (2018). Application driven key wavelengths mining method for aflatoxin detection using hyperspectral data. *Computers and Electronics in Agriculture*, 153, 248-255. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.08.018>
- Jemes, G., Witten, D., Hastie, T., Tibshirani, R., & Taylor, J. (2023). *An Introduction to Statistical Learning with Applications in Python*. Springer Nature Switzerland: Springer. doi:<https://doi.org/10.1007/978-3-031-38747-0>
- Md. Toukir Ahmed, O. M. (2024). Deep learning-based hyperspectral image reconstruction for quality assessment of agro-product. *Journal of Food Engineering*, 382. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2024.112223>
- Scikit Learn. (5 de Agosto de 2024). (Python, Editor) Obtenido de Support Vector Machines: <https://scikit-learn.org/stable/modules/svm.html#svm-classification>.