

تشخیص اعتیاد با استفاده از بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری و روش آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی

زهرا درخشان زاده^{۱*}، محمد وحید دستجردی^۲، سید جبار موسوی^۳، حسن رنجبرعسکری^۱،
سید محمدرضا دربان^۳

چکیده: در این پژوهش، قابلیت روش بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری به منظور تشخیص اعتیاد به وسیله آنالیز موی سر مورد بررسی قرار گرفت. این امکان سنجی با استفاده از تجزیه و تحلیل آماری چند متغیره به روش آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی انجام شده است. ابتدا موی سر ۱۷ فرد معتاد و ۱۷ فرد سالم نمونه برداری و بیناب آنها ثبت شد. پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها، ۱۱ شدت نسبی متناظر با خطوط یونی و اتمی به عنوان ورودی روش آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی انتخاب شدند. نتایج این پژوهش، قابلیت تشخیص اعتیاد به وسیله آنالیز موی سر و همچنین پیش‌بینی نمونه‌های ناشناس مورد آزمون به روش LIBS را به خوبی نشان می‌دهد. بنابراین، روش LIBS-PLS-DA می‌تواند به عنوان یک روش جدید در کنار روش‌های مرسوم موجود برای تشخیص اعتیاد به منظور کاربردهای کلینیکی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری، آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی، اعتیاد، موی سر.

۱. مقدمه

دلایل عمده انتخاب آنها می‌باشد [۱]. مو از عناصر مفیدی نظیر منیزیم (Mg)، کلسیم (Ca)، پتاسیم (K)، فسفر (P)، نیتروژن (N)، اکسیژن (O)، آلومینیوم (Al)، آهن (Fe) و... تشکیل شده است. همچنین به واسطه وجود برخی بیماری‌ها در بدن و یا شرایط ناسالم محیطی و تغذیه‌ای، برخی عناصر مضر و سنگین نظیر سرب (Pb)، کادمیوم (Cd)، جیوه (Hg) و... می‌تواند در مو یافت شود [۱ و ۲]. یکی از راه‌های تشخیص اعتیاد در افراد مصرف‌کننده مواد مخدر تست‌های کلینیکی نمونه‌های خون، ادرار، عرق و یا بزاق فرد می‌باشد. آزمایش‌های تشخیص اعتیاد به طور معمول کیفی بوده و انجام آزمایش‌های کمی برای تشخیص مواد اعتیاد آور نیاز به

عناصر موجود در بدن انسان نقش مهمی در فرآیندهای حیاتی مرتبط با سلامت انسان ایفا کرده که می‌توانند در ارزیابی وضعیت تغذیه، سلامت بدن استفاده شوند. برخی از بافت‌های بدن که معمولاً برای این اهداف تحت آنالیز قرار می‌گیرند، مو و ناخن می‌باشند. قرارگیری این بافت‌ها در قسمت انتهایی بدن سبب تجمع و ماندگاری ترکیبات موجود در آنها شده که از

۱. گروه فیزیک، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان

۲. گروه فیزیک، دانشگاه اصفهان، اصفهان

۳. پژوهشکده علوم و فناوری اپتیک و لیزر، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، اصفهان

تشخیص اعتیاد به وسیله آنالیز موی سر مورد بررسی قرار گرفته است.

۲. روش تجربی

در روش LIBS، ابتدا نمونه مورد آنالیز توسط یک لیزر تپی با توان بالا مورد تابش قرار گرفته و بلافاصله بعد از جذب انرژی لیزر توسط نمونه، ترکیبات آن تبخیر شده و سپس یک پلاسما با دما و چگالی بالا و حاوی تمام عناصر موجود در نمونه شکل می‌گیرد. با گسترش پلاسما و سرد شدن آن گونه‌های یونی، اتمی و مولکولی مرتبط با عناصر موجود در نمونه شروع به گسیل کرده که با ثبت این گسیل‌ها توسط بیناب‌سنج و تحلیل طول‌موج‌ها و شدت‌های گسیلی می‌توان به اطلاعات کیفی و کمی از گونه‌های موجود در نمونه دست یافت. برای انجام این پژوهش ابتدا ۳۴ نمونه موی افراد سالم و معتاد که همگی مرد بودند، جمع‌آوری گردید. نمونه افراد معتاد از کمپ محل نگهداری آنها در اصفهان تهیه شد. به منظور بدست‌آوردن اطلاعات کامل افراد معتاد پرسش‌نامه‌ای که شامل سوالاتی از جمله سن، نوع ماده‌ی مخدر مصرفی و بیماری‌های احتمالی آنها تهیه و به منظور کاهش خطا از این میان نمونه‌های موی افراد معتاد فاقد هر گونه‌ی بیماری دیگر، برای بررسی انتخاب گردید. همچنین به منظور کاهش اثرات محیطی در پاسخ‌های آزمایش و برطرف کردن هر گونه آلودگی سطحی، نمونه‌های مورد نظر با استون و الکل شست و شو و سپس در دمای اتاق خشک شدند. ابتدا نمونه‌ها با استفاده از دستگاه فشار هیدرولیکی به قرص‌های یکسان با قطر ۱۳ میلی‌متر و ضخامت ۲-۴ میلی‌متر تبدیل شدند. در این پژوهش برای آنالیز نمونه‌ها از سامانه Applied Photonics LIBSCAN100 ساخت شرکت استفاده شده است. این سامانه مجهز به یک لیزر Nd:YAG با طول موج ۱۰۶۴ نانومتر، انرژی خروجی متغیر تا 100mJ، پهنای تپ 7 ± 2 ns و فرکانس تکرار 1 تا 20Hz بوده که بیناب پلاسمای تولیدی توسط

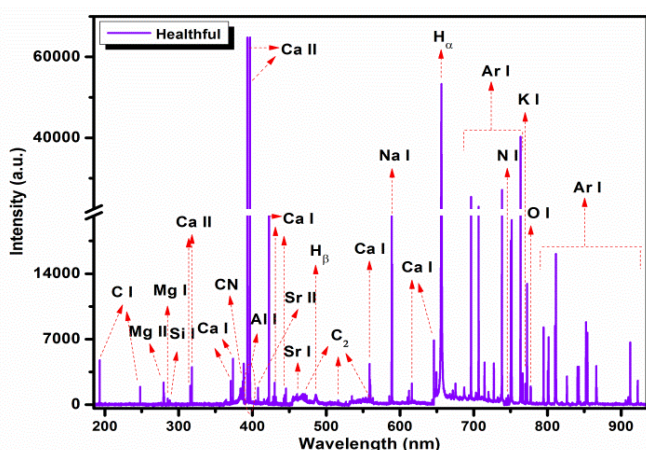
دستگاه‌های تخصصی و هزینه فراوان دارد. یکی از مشکلاتی که در آزمایش تشخیص اعتیاد در آزمایشگاه‌ها به خصوص مراکز پزشکی قانونی و آزمایشگاه‌های مرجع پاسخگو به استعلامات ادارات دولتی وجود دارد، احتمال موارد مثبت و منفی کاذب است. متأسفانه هم‌زمان با پیشرفت روش‌های آزمایشگاهی کشف اعتیاد، روش‌های نهان نمودن یا به عبارتی ایجاد نتایج منفی کاذب به طرق مختلف فیزیکی و شیمیایی نیز گسترش یافته است. مصرف کننده مواد مخدر برای گریز از نتایج مثبت آزمایش ادرار به طور کلی از سه روش رقیق‌سازی نمونه ادرار، افزایش مواد مداخله‌گر و جایجایی نمونه استفاده می‌کند. رقیق‌سازی نمونه مورد آزمایش غلظت ماده مخدر را تا زیر آستانه تشخیص کاهش می‌دهد و سبب نتایج منفی کاذب می‌شود [۳]. استفاده از مواد مداخله‌گر نیز به افزودن مستقیم مواد شیمیایی نظیر نمک و سفیدکننده‌ها برای تقلب در نتیجه آزمایش اطلاق می‌گردد [۴]. بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری^۱ (LIBS) یکی از روش‌های بیناب‌نمایی گسیل اتمی است که بر اساس آشکارسازی و آنالیز گسیل‌های پلاسمای نمونه استوار است. روش LIBS بواسطه داشتن ویژگی‌های منحصر بفردی نظیر شناسایی هم‌زمان چند عنصری، سریع و آنی بودن و عدم نیاز به آماده‌سازی و همچنین نیاز به مقدار کمی از نمونه (نانوگرم)، جهت آنالیز مواد مختلف از جمله نمونه‌های بیولوژیکی بکار گرفته شده است [۵-۸]. به عنوان نمونه شادمان و همکارانش روش LIBS را به منظور مقایسه عناصر موجود در ناخن افراد معتاد و سالم استفاده نمودند [۸]. همچنین این گروه با به کارگیری روش آماری تحلیل تابع تشخیصی (DFA) به همراه روش LIBS به تفکیک دو گروه افراد سالم و معتاد پرداختند. در این پژوهش، امکان‌سنجی استفاده از بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری و روش آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی (PLS-DA) به منظور

1. laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS)

است که بیشترین کوواریانس^۴ را با متغیرهایی دارند که عضویت نمونه‌ها در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. به زبان ساده این روش به دنبال یافتن ترکیب خطی از متغیرهای اصلی (شدت‌های گسیلی) است که بهتر می‌توانند گروهی که هر یک از نمونه‌ها باید در آن قرار گیرند را پیش‌بینی کنند. در ضمن این روش یک روش طبقه‌بندی نظارت شده^۵ است که می‌تواند به کاهش ابعاد و همچنین یافتن یک الگو در داده‌ها کمک کند [۹ و ۱۰]. منظور از طبقه‌بندی، مدلی است که ابتدا آن را با نمونه‌هایی که ماهیت آنها مشخص است، آموزش می‌دهیم سپس با استفاده از مدل طراحی شده تشخیص می‌دهیم که نمونه ناشناس متعلق به کدام دسته است.

۳. بحث و تحلیل

بیناب LIBS نوعی موی یک فرد سالم عاری از هر گونه اثر مواد مخدر به همراه عناصر شناسایی شده در موی سر، ثبت شده در اتمسفر آرگون در شکل ۲ نشان داده شده است. همچنین طول‌موج‌های متناظر با خطوط اتمی و یونی و باندهای مولکولی با استفاده از مراجع شناسایی شده و در جدول ۱ فهرست شده است [۱۱ و ۱۲].



شکل ۲: بیناب LIBS موی فرد سالم

آشکارساز مدل 20-01-13-A شرکت Avantes ثابت می‌گردد. توانایی تفکیک‌پذیری دستگاه در نواحی مختلف طول موجی بین 0.03nm تا 0.15nm بوده و قابلیت بیناب نگاری در ناحیه طول‌موجی ۱۸۰ تا ۱۰۵۷ نانومتر را دارا می‌باشد. نمایی از سامانه LIBS مورد استفاده در این پژوهش در شکل ۱ نشان داده شده است. به منظور کاهش اثرات محیطی و همچنین خطاهای اندازه‌گیری ناشی از ناپایداری انرژی لیزری و ناهماهنگی‌های احتمالی در سطح اندازه‌گیری‌ها به تعداد ۱۰ بار برای هر نمونه تکرار و از میانگین داده‌ها برای تحلیل نتایج استفاده گردید.



شکل ۱: نمایی از سامانه LIBS

۲-۱ آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی (PLS-DA)

روش‌های طبقه‌بندی چند متغیره از جمله PLS-DA تکنیک‌های کمومتریکی^۱ هستند که هدف آنها یافتن مدل‌های ریاضی به منظور تشخیص گروهی که هر یک از نمونه‌ها باید با توجه به متغیرهای اندازه‌گیری شده (در این پژوهش شدت‌های گسیلی) در آنها قرار گیرند، می‌باشد. روش PLS-DA یک روش طبقه‌بندی^۲ خطی است که بر اساس رگرسیون کمترین مربعات جزئی بنا نهاده شده است. این روش به دنبال متغیرهای پنهانی^۳

4 covariance
5 Supervised

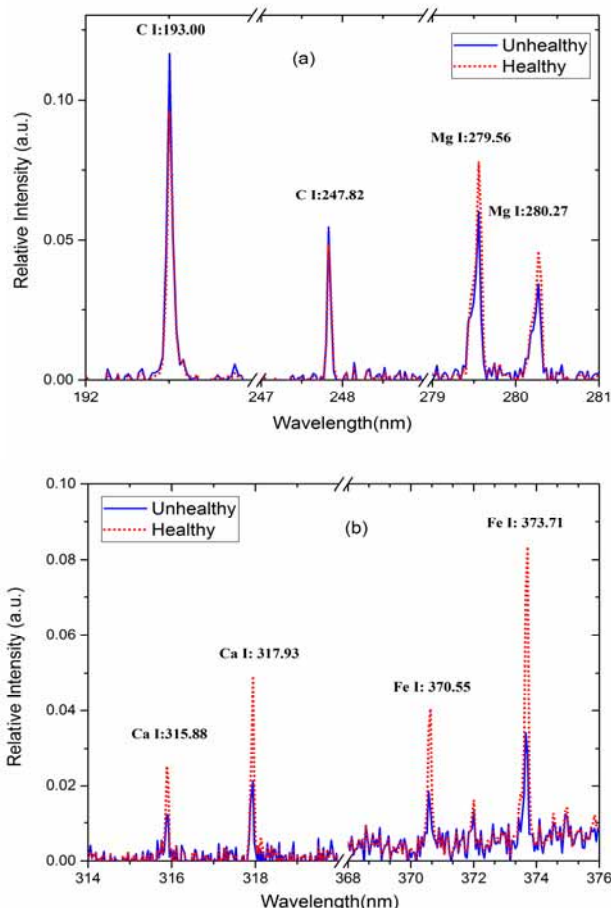
1 chemometric techniques
2 linear classification method
3 latent variables

جدول ۱: طول موج‌های مورد استفاده برای آشکارسازی

عنصر (با مولکول) مورد تحلیل	طول موج مورد استفاده برای آشکارسازی عنصر و مولکول مورد تحلیل (nm)
Ca II	۳۱۵/۸۸; ۳۱۷/۹۳; ۳۹۳/۳۶; ۳۹۶/۸۴
Ca I	۴۲۲/۶۷; ۴۳۰/۲۵; ۴۴۲/۵۴; ۴۴۳/۴۹; ۴۴۵/۴۷; ۵۵۸/۸۷; ۶۱۰/۲۷; ۶۱۲/۲۲; ۶۱۶/۲۱; ۶۴۶/۲۵; ۶۴۹/۳۷
Al I	۳۹۶/۴۰; ۳۹۶/۱۵
Mg II	۲۷۹/۵۵; ۲۸۰/۲۷
Mg I	۲۸۵/۲۱
Na I	۵۸۸/۹۹; ۵۸۹/۵۹
K I	۷۶۶/۴۹; ۷۶۹/۸۹
C I	۱۹۳/۰۹; ۲۴۷/۸۵
H	۴۸۶/۱۵; ۶۵۶/۲۸
Si I	۲۸۸/۱۵
Sr II	۴۰۷/۷۷
Sr I	۴۶۰/۷۳
N I	۷۴۲/۳۶; ۷۴۴/۲۲; ۷۴۶/۸۳
O I	۷۷۷/۱۹
C ₂	۴۶۷-۴۷۴; ۵۱۶/۴۲; ۵۵۰-۵۶۴
CN	۳۸۵-۳۸۹

۱۱ شدت نسبی مرتبط با بیناب LIBS نمونه‌های مورد آنالیز به عنوان ورودی روش PLS-DA استفاده شد. برای آموزش مدل و ارزیابی آن بر روی داده‌های آزمایش از نرم افزار MATLAB استفاده شده است. برای ایجاد مدل PLS-DA، داده‌ها به دو دسته آموزش و آزمون تقسیم‌بندی شدند. از مجموع داده‌های ثبت شده از نمونه‌های مختلف مورد مطالعه ۷۰٪ برای آموزش و ۳۰٪ برای آزمون کارایی مدل، مورد استفاده قرار گرفتند. نمودار مربوط به تفکیک دو گروه سالم و معتاد در شکل ۴ نشان داده شده است. همچنین در این نمودار می‌توان تفکیک کامل و بدون همپوشانی بین گروه سالم و معتاد را مشاهده کرد.

مقایسه بیناب LIBS موی فرد سالم و فرد معتاد در شکل ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود شدت خطوط اتمی کلسیم و آهن و همچنین خطوط یونی منیزیم، در افراد سالم در مقایسه با افراد معتاد بیشتر می‌باشد. از طرفی شدت خطوط اتمی کربن در افراد معتاد نسبت به سالم بیشتر و شدت سایر خطوط بینایی در آنها تفاوت چشمگیری نداشت. نتایج بدست آمده با مطالعه انجام شده با استفاده از روش LIBS به منظور مقایسه عناصر موجود در ناخن افراد معتاد و سالم همخوانی خوبی دارد [۸].



شکل ۳: مقایسه بیناب LIBS نمونه‌های موی فرد سالم با فرد معتاد. a: خطوط اتمی کربن و یونی منیزیم، b: خطوط اتمی کلسیم و آهن

جدول ۲: نتایج طبقه‌بندی نمونه‌ها با استفاده از مدل

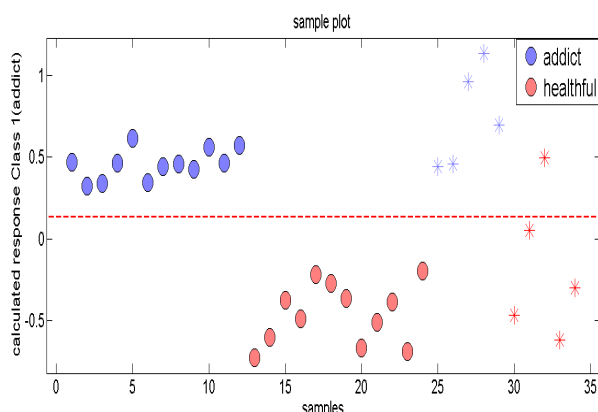
PLS-DA

		group	Predicted Group Membership		Total
			Addict	Healthful	
train	Count	addict	12	0	12
		healthful	0	12	12
	%	addict	100.0	.0	100.0
		healthful	.0	100.0	100.0
Cross Validate	Count	addict	10	2	12
		healthful	1	11	12
	%	addict	83	17	100.0
		healthful	8.4	91.6	100.0
Test	Count	addict	5	0	5
		healthful	1	4	5
	%	addict	100	0	100.0
		healthful	20	80	100.0

لیزر متغیرهای ثبت شده در بیناب یک نمونه با سایر هم گروهی‌های خود متفاوت باشد و نمونه به اشتباه در گروه دیگری دسته‌بندی شود (همانگونه که برای یکی از نمونه‌های مورد آنالیز در این تحقیق رخ داده). البته با افزایش تعداد بیناب ثبت شده از هر نمونه می‌توان عملکرد سیستم را به مراتب افزایش داد ولی این کار مستلزم صرف زمان بیشتری خواهد بود.

۴. نتایج

در این پژوهش روش بیناب‌نمایی فروشکست القایی لیزری و روش آنالیز تفکیکی حداقل مربعات جزئی به منظور تفکیک و شناسایی فرد معتاد و سالم به وسیله آنالیز موی سر این افراد مورد بررسی قرار گرفت. خطوط بینایی متعلق به عناصر Sr, Na, K, Fe, C, Mg, Ca, O, Ti و H در بیناب هر دو گروه مشاهده شد. با مقایسه طیف فرد سالم و معتاد مشاهده شد که شدت خطوط Ca, Mg و Fe در نمونه افراد سالم و خطوط C اتمی در نمونه افراد معتاد به مواد مخدر بیشتر بودند



شکل ۴: نمودار PLS-DA مربوط به تفکیک نمونه‌های مو مربوط به افراد سالم و معتاد و پیشگویی نمونه‌های ناشناس

در شکل ۴ نمونه‌هایی که برای آموزش مدل مورد استفاده قرار گرفتند و مربوط به افراد سالم با دایره‌های قرمز رنگ و برای افراد معتاد با دایره‌های آبی نشان داده شده‌اند. همچنین ستاره‌های قرمز و آبی نشان دهنده‌ی نمونه‌های ناشناسی است که از مدل خواسته شده معتاد یا سالم بودن آنها را مشخص کند. نتایج مربوط به آموزش^۱ و آزمایش^۲ مدل در جدول ۲ خلاصه شده است. همانطور که در جدول ۲ و شکل ۴ مشخص است از ۱۰ نمونه ناشناس که از مدل خواسته شده معتاد بودن یا معتاد نبودن آنها را پیش‌بینی کند، ۹ نمونه به درستی پیش‌بینی شده‌اند و فقط یک نمونه سالم به اشتباه معتاد تشخیص داده شده است. این نمونه در شکل ۴ ستاره قرمز رنگی است که در بالای خط چین قرمز رنگ که مرز بین دو گروه را مشخص می‌کند، قرار گرفته است. در ضمن باید توجه شود که میزان طبقه‌بندی صحیح ذکر شده (۹۰ درصد) مربوط به کل سیستم مورد استفاده در این تحقیق است و فقط مربوط به مدل PLS-DA نیست. برای مثال ممکن است به علت ناپایداری

1 train
2 test

ویژگی‌های همچون آنالیز سریع و قابلیت سیار بودن می‌تواند به عنوان یک روش جدید در کنار روش‌های مرسوم موجود برای تشخیص اعتیاد مورد استفاده قرار گیرد.

و شدت سایر خطوط بینایی تفاوت چشمگیری نداشت. نتایج پژوهش نشان داد با استفاده از روش LIBS - PLS DA می‌توان این دو گروه را به خوبی از هم تفکیک کرد و در نتیجه روش مورد بررسی در این پژوهش با

مراجع

- [1] M. Corsi, G. Cristoforetti, M. Hidalgo, S. Legnaioli, V. Palleschi, A. Salvetti, E. Tognoni and C. Vallebona, "Application of laser-induced breakdown spectroscopy technique to hair tissue mineral analysis", *Appl. Opt.*(2003),-6137-6133.
- [2] F. Garry, M. D. Gordon, "Sex and age related differences in trace element concentrations in hair", *Sci. Total Environ.* 42(1985), 133-147.
- [3] S. Mikkelsen, and K. Ash, "Adulterants causing false negatives in illicit drug testing" *Clinical Chemistry* 34(1988), 2333-2336.
- [4] S. George, and R. Braithwaite, *Journal of analytical toxicology* 20, 195-196 (1996).
- [5] Musazzi S, Perini U., "Laser-induced breakdown spectroscopy. *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*", Theory and Applications, Springer Series in Optical Sciences, Volume 182. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2014. 2014; 1.
- [6] S. J. Rehse, H. Salimnia and A. W. Miziolek; "Laser induced breakdown spectroscopy (LIBS) an overview of recent progress and future potential for biomedical applications", *J. Med. Eng. Technol.* 36 (2012), 77-89.
- [7] Z. Hosseini makarem, S. H. Tavassoli, "Analysis of human nails by laser-induced breakdown spectroscopy", *J. Biomed. Opt.* 16 (2011), 0570021-8.
- [8] S. Shadman, M. Bahreini, and S. H. Tavassoli; "Comparison between elemental composition of human fingernails of healthy and opium-addicted subjects by laser-induced breakdown spectroscopy", *Applied optics* 51, no. 12 (2012), 2004-2011.
- [9] S. Schröder, S. Pavlov, I. Rauschenbach, E. Jessberger, and H.-W. Hübers; "Detection and identification of salts and frozen salt solutions combining laser-induced breakdown spectroscopy and multivariate analysis methods: A study for future martin exploration", *Icarus* 223, 61-73 (2013).
- [10] R. Rosipal, and N. Krämer; "Overview and recent advances in partial least squares", in *Subspace, latent structure and feature selection* (Springer, 2006), pp. 34-51.
- [11] NIST, "Atomic spectra database," <http://www.nist.gov/pml/data/asd.cfm>.
- [12] S. J. Mousavi, M. Hemati Farsani, S. M. R. Darbani, N. Asadorian, M. Soltanolkotabi, and A. Eslami Majd; "Identification of atomic lines and molecular bands of benzene and carbon disulfide liquids by using LIBS", *Applied Optics*, 54(7) (2015). 1713-1720.