استفاده از طیف‌سنجی رامان برای بررسی غیرمخرب پارامترهای کیفی میوه گوجه‌فرنگی (۳۰۱)

علی محمدنیکبخت[۱] ، تیمور توکلی هشتجین[۲] ، رسول ملک‌فر[۳] ، برات قبادیان[۴]

چکیده

تنوع و فراوانی پارامترها و ویژگی های کیفی محصولات کشاورزی، مهمترین دلیل توسعه انواع روشهای غیر مخرب بوده است. در سالهای اخیر دید ماشین، روشهای اپتیکی چون اسپکتروسکوپی رامان، NMR وNIR ، انتشار صوت، روش فراصوت و غیره، در حال گسترش و توسعه می‌باشد که هر کدام برای اندازه‌گیری پارامتر کیفی خاصی کاربرد دارند. برای درجه بندی میوه‌ها روش های مختلفی به کار برده می‌شود که اغلب آن ها مخرب و یا کند می‌باشند ولی اندازه‌گیری سریع، غیر مخرب و دقیق عامل های کیفی میوه‌ها از جمله میوه گوجه فرنگی نظیر میزان مواد جامد محلول، pH و رنگ از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. برای همین منظور از روش‌های مختلفی می توان استفاده نمود. از مدرنترین روش‌های مذکور می توان به طیف‌سنجی لیزری رامان اشاره کرد. این روش با توجه به بکارگیری انواع لیزرها، بلورهای غیرخطی برای ایجاد طول موج‌های مختلف مورد نیاز، ابزار آشکار سازی و استفاده از نرم افزارهای مدرن به طور وسیعی در زمینه‌های مختلف علوم، مهندسی، پزشکی و کشاورزی کاربرد پیدا کرده است و با توجه به مزایای چشمگیر آن در قیاس با روش پرکاربرد NIR توانسته است جایگاه خاصی در تحقیقات حاضر در زمینه کشاورزی پیدا نماید. در تحقیق حاضر با استفاده از روش طیف‌سنجی رامان اندازه‌گیری غیر مخرب پارامترهای کیفی میوه گوجه‌فرنگی انجام شده است. نتایج حاصل نشان دادند که وجود کارتنوئیدهای لیکوپن و کاروتن به عنوان مهم ترین رنگدانه‌های موجود در گوجه فرنگی به خوبی توسط طیف‌های به دست‌آمده اثبات شد به طوری که هر سه منطقه مشخصه کارتنوئیدها در تمامی طیف‌ها قابل تمییز بود. همچنین طیف‌سنجی انجام شده در این تحقیق وجود کربوهیدرات‌ها را نیز با ارتعاش C-H بروز داد. بدین ترتیب با اطمینان می‌توان از روش مذکور جهت درجه‌بندی غیر مخرب پارامترهای خارجی (مانند رنگ میوه به عنوان مهمترین شاخص رسیدگی گوجه فرنگی) و داخلی (مانند میزان مواد جامد محلول) بهره جست.

کلیدواژه: طیف‌سنجی رامان، میوه گوجه‌فرنگی، ارزیابی غیر مخرب، پارامترهای کیفی

۱- دانشجوی دکتری تخصصی مکانیک ماشینهای کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، پست الکترونیک: alinikbakht87@yahoo.com
۲- استاد گروه مهندسی مکانیک ماشینهای کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
۳- دانشیار گروه فیزیک اتمی- ملکولی دانشگاه تربیت مدرس
۴- دانشیار گروه مهندسی مکانیک ماشینهای کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه

مروری بر روشهای غیرمخرب و سایر روشهای اپتیکی

آزمایشاتی غیرمخرب محسوب می‌شوند که اثرات مخرب فتوفیزیکی، حرارتی، شیمیایی، مکانیکی و فتوشیمیایی نداشته باشند [۲۱]. روشهای متعددی تاکنون برای کیفیت سنجی غیر مخرب محصولات کشاورزی ابداع ده‌اند که تنها برخی از آنها توانسته شرایط فوق را برآورده ساخته و از لحاظ فنی و صنعتی توجیه داشته باشند. روشهای اپتیکی، مکانیکی، شیمیایی و امواج الکترومغناطیسی و صوتی در توسعه آزمونهای غیرمخرب نقش اساس داشته‌اند. اما روشهای بکار رفته قادرند پارامترهای محدودی از میوه‌ها را کاوش کنند. بنابراین لازم است شرایط حاکم در این روشها به دقت بررسی شده و در گزارش یا ثبت نتایج آزمایش لحاظ شوند. برای مثال اندازه‌گیری رنگ در گوجه‌فرنگی برای تخمین رسیدگی و زمان برداشت کافی است [۴]، پس می‌توان با اندازه‌گیری یک پارامتر (رنگ) توسط طیف مرئی یا پردازش تصویر، تخمین مناسبی از وضعیت بیولوژیکی گوجه‌فرنگی حاصل نمود. همچنین در روشهای غیر مخرب ممکن است بیش از یک فاکتور بر داده بدست آمده تأثیر بگذارد که اندازه‌گیری را با خطا مواجه خواهد ساخت و به همین دلیل این سیستم‌ها نیاز به کالیبراسیون (واسنجی) قوی خواهند داشت. در ذیل، سامانه‌های غیر مخرب رایج در کشاورزی به اختصار شرح داده می‌شوند.

از سال ۱۹۸۰، روش غیر مخرب NIRS در تعیین برخی خصوصیات میوه‌ها مانند سفتی، میزان مواد جامد محلول، رنگ، نشاسته و اسیدیته بکار رفته است. طیف NIRS طول موجهای بین ۷۵۰ تا ۲۵۰۰ نانومتر(cm^{-1} ۴۰۰۰، ۱۲۵۰۰) را پوشش می‌دهد. این روش برای تعیین ترکیبات شیمیایی شامل گروههای OH^- ، CH^-، NH^- مناسب است. امروزه استفاده از این فن‌آوری در بررسی خصوصیات داخلی میوه‌ها به حالت صنعتی نیز رسیده است و به عنوان مثال برای هلو، مرکبات و هندوانه سامانه‌های جداسازی[1] طراحی شده است که مبنای درجه‌بندی و یا جداسازی آنها، طیف سنجی عبوری و یا بازتابی NIR است. منبع نور اغلب طیف سنجهای NIR، لامپ‌های هالوژن می‌باشد. مشکل اصلی، نفوذ کم این نور در داخل میوه عنوان شده است. یک راه حل این مشکل استفاده از لامپ‌هایی با توان بالاست که ایجاد تأثیرات فتوشیمیایی و فتوفیزیکی بر روی میوه مشکل اصلی آن خواهد بود. اما استفاده از دیودهای لیزری راه‌حل دیگری است که در دست مطالعه است. از طرفی استفاده از طیف سنجهای قابل حمل[2] نیز رایج شده و حتی به صورت تجاری عرضه شده است که واسنجی (کالیبراسیون) و استاندارد کردن آنها موضوع مورد مطالعه سالهای اخیر بوده است [۱۱]. مقالات متعددی در زمینه کاربرد NIRS در میوه‌ها چاپ شده است.

تاکنون کاربردهای زیادی از تکنیک NMR و MRI در کشاورزی گزارش شده است. کارآیی ین تکنیک در محصولات آبدار بیشتر می باشد. زیرا هسته‌های هیدروژن پاسخ خوبی به میدانهای مغناطیسی نشان می‌دهند [۸]. اختلالات موجود در توزیع آب، صدمات ناشی از سرد شدن، لهیدگی، فساد، حضور حشرات و غیره را می‌توان با NMR کاوش نمود. به طور کلی روشهای MRI و NMR به دلیل گران بودن و پیچیدگی استفاده وسیعی نداشته و در کشاورزی توجیه صنعتی نداشته است. اما در علم پزشکی به خصوص در کاوش تومورها، تجهیزات ارزان قیمت و ساده نیز عرضه شده‌اند که تصویربرداری NMR و MRI کاربردهای تجارتی فراوانی داشته‌اند و در نتیجه به روش رایج تبدیل گشته‌اند [۱۰].

در بین روشهای غیر مخرب، روش MRI دارای بیشترین دقت است، ولی یکی از معایب مهم آن تأثیر مهم زیاد سرعت اندازه‌گیری بر دقت دستگاه است. بنابراین سرعت اندازه‌گیری، پایین خواهد بود. همچنین برای میوه‌های با درصد رطوبت پایین روش مناسبی توصیه نشده است. با این حال، روش MRI و NMR توانایی زیادی در ارزیابی کیفیت درونی میوه‌جات و سبزیجات به خصوص اندازه‌گیری رطوبت و روغن دارند [۴].

تکنیک دید ماشین (Machine Vision) یکی از نخستین روشهای ارزیابی محصولات کشاورزی بوده است و عمده کاربرد گستردهٔ آن با پیشرفت و توسعه سامانه‌های سخت‌افزاری پردازش تصویر توام شده است. در حال حاضر، دید ماشین به طور وسیعی در کشاورزی و ارزیابی محصولات استفاده می‌شود. در مجموع می‌توان گفت بیشترین کاربرد این تکنیک در سیستم‌های درجه‌بندی محصولات کشاورزی، تشخیص رنگ، عیوب ظاهری و بافت بوده است.

---

[1] - sorting systems
[2] - Portable Spectrometers

۱۵. علاوه بر میوه‌ها، انواع گوشت، پیتزا و لاشه‌های حیوانات نیز مورد مطالعه بوده است [۱۲]. از مهمترین مزایای این روش می‌توان سرعت تولید داده‌ای توصیفی از محصول، کاهش حجم کاری توسط کاربر، اقتصادی بودن و آسانی، غیر مخرب و بی‌زیان بودن، دارای سیستم کنترلی پایدار را نام برد. اما در مقابل معایبی نیز دارد. برای مثال، سیستم نورپردازی در این روش بایستی بسیار دقیق بوده و باالطبع در محیط‌های مختلف، متفاوت خواهد بود. همچمنین در نورپردازی غیرساختاری، تشخیص شی با مشکلاتی مواجه می‌باشد. علاوه براین، کار در شرایط کم‌نور و تاریک بسیار دشوار خواهد شد [۷].

با وجود اینکه می‌توان توصیف کیفی درونی محصولات با استفاده از دید ماشین را به صورت غیرمستقیم امکان‌پذیر ساخت، این روش قادر به اندازه‌گیری خصوصیات داخلی محصولات نمی‌باشد، چرا که تنها از تصویر بدست آمده از شی استفاده می‌کند [۱۰].

تابش‌های با طول موج کوتاه مانند اشعه X و گاما قادرند به اغلب محصولات کشاورزی نفوذ کنند. میزان نفوذ بست ی به چگالی و ضریب جذب محصول دارد. بنابراین هر دو پرتو مذکور برای اندازه‌گیری آن دسته از پارامترهای کیفی مناسب است که وابسته به تغییرات جرم هستند، برای مثال قسمت سر کاهو با افزایش رسیدگی، چگالتر می‌شود. استفاده از اشعه X در بازرسی روی خط محصولات کشاروزی در ابعاد محدود گزارش شده است، زیرا این روش به چگالی جرمی ماده حساس است نه ترکیبات شیمیایی [۴]. تعیین رطوبت سیب،تغییرات چگالی در مراحل مختلف رسیدگی گوجه‌فرنگی و آلودگی به حشرات مواردی هستند که با اشعه X اندازه‌گیری و یا آزمایش شده‌اند [۸]. مهمترین معایب این روشها، محدودیت و مشکلات تولید این اشعه‌ها و اثرات بهداشتی آن است. اشعه گاما جزء امواج الکترومغناطیسی است که منبع تبدیل آن چشمه‌های هسته‌ای است. بنابراین تولید پیوسته‌ای دارد. اما اشعه X توسط دستگاه تولید می‌شود. گران بودن و پیچیدگی تجهیزات بکار رفته، عیب قابل توجهی است. استفاده از دوزهای بالا باعث محدودیت های فیزیولوژیکی و بهداشتی می‌شود. به عبارت دیگر این اشعه، باعث یونیزه شدن برخی مولکولهای محصولات کشاورزی می‌شود که به احتمال، بیماری مصرف کنندگان به دنبال خواهد داشت.

استفاده از امواج فراصوت نیز یکی از روش‌های مکانیکی غیر مخرب برای اندازه‌گیری کیفیت محصولات است که توسعه‌ی آن با چالش‌های جدی رو به رو است چراکه بکارگیری امواج فراصوتی[1] برای کیفیت‌سنجی، نیازمند دانستن و یا اندازه‌گیری خواص فراصوتی محصولات کشاورزی است.

یکی از کاربردهای فراصوت، آزمایش سبزی‌ها و میوه‌ها است که به دلیل غیرهمگن بودن بافت آنها، در بسامدهای زیاد برایی زیادی دارند. آشکارسازی آسیب‌های داخلی در بسامد کم مشکل است. علاوه بر آن، استفاده از بسامد تحریک کم (کمتر از ۱۰۰kHz) برای آشکارسازی آسیب‌های عمیق در روش تپ بازتاب[2] تقریباً غیر ممکن است. زیرا نوار امواج را نمی‌توان به صورت متمرکز و تیز درآورد. به طور خلاصه می‌توان کاربدهای روشهای فوق را در جدول ۱، مشاهده نمود.

[1] - Ultrasonic waves
[2] - pulse echo

جدول ۱: روشهای مختلف اندازه‌گیری غیر مخرب پارامترهای کیفی محصولات کشاورزی

مبنای علمی	روش	خصوصیات قابل اندازه‌گیری
اپتیکی	پردازش و تحلیل تصویر	سایز، شکل، رنگ، عیوب ظاهری
	طیف‌سنجی عبوری، بازتابی و جذبی	رنگ، عیوب داخلی، قند، اسیدیته، SSC، عیوب ظاهری، سفتی
	طیف سنجی لیزری	
اشعه X	اشعه X	حفره‌های داخلی، ساختار و درجه رسیدگی
مکانیکی	ارتعاشی	سفتی، رسیدگی، ویسکوالاستیسیته
	صوتی و فراصوتی	سفتی، رسیدگی، ویسکوالاستیسیته، حفره‌های داخلی، قند و چگالی
الکترومغناطیس	MRI و NMR	رطوبت، قند، حفره‌های داخلی

روش رامان به عنوان روش جدید

همانطور که دیده شد، استفاده از نور بازتابی، عبوری و پراکنده شده به منظور اندازه‌گیری خواص داخلی و خارجی میوه‌جات از دیر باز مطرح بوده است. به تازگی طبقه‌بندی میوه‌ها و برخی سبزیجات بر حسب رنگ آنها رواج پیدا کرده‌است و چون با تغییر رنگ قابلیت بازتابش و عبوردهی نور از یک محصول تغ ر می‌کند ، می‌توان از طیف‌سنجی‌های مختلف برای اندازه‌گیری برخی خواص مختلف از جمله رنگ آنها استفاده نمود [۲]. این روش به همراه روشهای دیگر در دو دهه اخیر، مبنای آزمایشهای غیرمخرب جهت تعیین و اندازه‌گیری عاملهای کیفی محصولات کشاورزی بوده و اهمیت بالایی را از نظر زمینه‌های تحقیقی کسب کرده‌اند. آزمون غیرمخرب در کشاورزی، آزمونی است که اثرات سوء شیمیایی، فتوشیمیایی، گرمایی و فتوفیزیکی بر روی میوه به جای نگذارد [۲۰]. تعداد کمی از روشهای تحلیلی که تاکنون معرفی شده‌اند، قادر به ارضاء شرایط فوق بوده و از حساسیت لازم برای آشکارسازی ترکیبات و جزئیات ساختاری میوه‌ها برخوردار می‌باشند مانند طیف‌سنجی NMR، طیف‌سنجی IR و طیف‌سنجی رامان [۲۱]. اما در بین روشهای یاد شده، طیف‌سنجی پراکندگی رامان جذابیت فوق‌العاده‌ای در میان محققان علوم پزشکی، دارویی و علوم زیستی پیدا نموده است، بطوریکه قویترین روش از بین روشهای فوق قلمداد می‌شود [۱۳ و ۲۱].

به دلیل اینکه ارتعاشات اتمها در ملکول‌ها به تغییرات و ترکیبات شیمیایی ماده حساس است، طیف ارتعاشی می‌تواند اطلاعات بسیار مفیدی راجع به خواص شیمیایی و ترکیبات تشکیل‌دهنده مواد ارائه‌دهد [۳].

طیف‌سنجی پراکندگی رامان نسبت به طیف‌سنجی رایج IR (که کاربردهای وسیعی در کشاورزی پیدا کرده است) مزایای برجسته‌ای دارد از آن‌جمله:

- پدیده رامان تکنیکی ایده‌آل برای مطالعات بیولوژیکی است، چراکه آب یک پخش‌کننده رامان ضعیف به شمار می‌رود و در نتیجه تأثیر آن در ایجاد خطا بسیار اندک است. این مسأله به خصوص در مورد محصولات کشاورزی که بخش اعظمی از مواد آنها را آب تشکیل می دهد، اهمیت ویژه‌ای پیدا می کند (برای مثال بیش از ۹۰٪ از جرم گوجه فرنگی از آب تشکیل شده است).
- رامان می تواند محدوده وسیعی از نواحی طیفی را ($۱۰ cm^{-1}$ تا $۴۰۰۰ cm^{-1}$) در یک بار ثبت طیفی پوشش دهد. این در حالیست که برای پوشش چنین محدوده‌ای با تکنیک IR به شبکه‌های پخش کننده، فیلترها و آشکارسازهای متنوعی نیاز هست و بایستی برای هر محدوده این تجهیزات را تغییر داد [۳].
- قطر اشعه لیزری که به عنوان منبع نوردهی در دستگاه طیف‌سنج رامان استفاده می شود، در حدود ۰/۲ تا ۲ میلی‌متر است. به عبارت دیگر می‌توان با نمونه های بسیار ریز و با حجم کم هم کار کرد و یا مناطق کوچک روی میوه را هم کاوش نمود [۲۵].

علاوه بر آن، حساسیت بالا، زمان کوتاه آزمایش، عدم نیاز به آماده‌سازی نمونه و غیر مخرب بودن این تکنیک، مزایای دیگری هستند که بر جذابیت استفاده از طیف‌سنجی پراکندگی رامان افزوده‌اند [۲۵]. با این توصیف تکنیک رامان، روشی رو به رشد است و هر روز ابعاد جدیدی از کاربردهای آن برای محققان روشن می‌شود [۱۸].

در حیطه کاربرد طیف‌سنجی در ارزیابی مواد کشاورزی تحقیقات فراوانی بویژه با تکنیک IR انجام گرفته است، اما کاربرد روش رامان در ارزیابی غیر مخرب محصولات کشاورزی، زمینه نوینی است که همچنان رو به رشد می‌باشد. در تحقیقی تعیین سریع و غیر مخرب کارتنوئیدهای مختلف در گوجه‌فرنگی با استفاده از طیف سنجی پراکندگی رامان انجام شده است. در این تحقیق نشان داده شد که ارتعاشات کششی C-C و C=C در $1510\ cm^{-1}$ و $1156\ cm^{-1}$ به عنوان شاخصه‌ای از وجود لیکوپین در میوه است [۲۲].

همچنین وجود کارتنوئیدها در گوجه فرنگی، هویج، فلفل قرمز و زعفران توسط طیف سنجی رامان انجام شده است. طول موج تهییج 512/5 nm بود و از دوربین CCD برای آشکارسازی رامان استفاده شد. در این تحقیق نیز عدد موجهای مربوط به هر ترکیب گزارش شد. پدیده پراکندگی رامان به خوبی توانسته بود کارتنوئیدها را کاوش کند [۲۴]. لهیدگی میوه سیب با طیف‌سنجی پراکندگی رامان، در تحقیقی به صورت غیر مخرب اندازه‌گیری شده است. در این تحقیق سیب‌ها از ارتفاع معینی سقوط داده شدند تا لهیدگی ظاهر شود، سپس با استفاده از دستگاه رامان Thermo Nicolet، طیف‌های بدست آمده مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج بررسی مطلوب گزارش شده است [۱۴]. از طیف‌های رامان برای تشخیص میزان آفت‌کش‌ها بر روی سطح ظاهری میوه‌ها استفاده شده است. در این کار دو نوع لیزر در طول موج‌های مختلف بکار برده شد و تأثیر آنها در کاوش میزان آلودگی سطحی میوه بررسی شد. لیزر با طول موج ۱۰۶۴ nm نتیجه قابل قبولی ارائه کرد [۲۵]. استفاده از رامان در پزشکی به مراتب از کشاورزی وسیع‌تر بوده است بطوریکه موسسات علمی و آزمایشگاه‌های تشخیص دارویی بسیاری در حال استفاده از فن آوری پدیده رامان در تشخیص لوازم دارویی و بهداشتی می‌باشند. این فن‌آوری حتی در سازمان ناسا نیز برای تشخیص مواد در مریخ و ماه استفاده می‌شود [۵]. حتی طیف‌سنج‌های دستی رامان به مرحله تولید صنعتی رسیده‌اند و استفاده می‌شوند [۵]. در اینجا فقط به یک مورد از تحقیقات انجام گرفته در تشخیص پزشکی ذکر می‌شود که بر روی بافت پوست انسان و تشخیص سرطان پوست انجام شده است. ین تحقیق بخوبی توانسته است بافت سرطانی را از سالم با استفاده از تغییرات ساختار پروتئین و لیپید تشخیص دهد [۱۶]. همچنین Melanoma به عنوان خطرناکترین سرطان پوست در تحقیقی دیگر توسط طیف‌سنجی رامان مورد تشخیص قرار گرفت. ین روش توانست تا ۹۹٪ موارد مورد اندازه‌گیری را درست تشخیص دهد [۱۵]. مروری بر تحقیقات انجام شده توسط طیف سنجی MIR و رامان در کاربردهای پزشکی منتشر شده است [۱۹].

میوه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* L.) منبع غنی از آنتی‌اکسیدان، ویتامین‌ها و ترکیبات غذایی می‌باشد [۶] و تشخیص و بررسی دقیق میزان این ترکیبات در ارزیابی کیفی محصول عرضه شده به بازار نقش عمده‌ای دارد [۱۷]. از طرفی ارزیابی معمول این خصوصیات در آزمایشگاه مخرب بوده و میوه مورد آزمایش از بین می‌رود. همچنین روشهای آزمایشگاهی مرسوم بسیار وقت‌گیر بوده و علاوه بر آن، به کالیبراسیون و اندازه‌گیری‌های متعدد نیازمند است. طیف‌سنجی پراکندگی رامان به عنوان یک تکنیک رو به رشد و قدرتمند می‌تواند گزینه مناسبی برای آزمون غیر مخرب خصوصیات کیفی محصول از جمله میزان قند، pH و رنگ باشد. میزان قند محلول و اسیدیته مشخصه‌های مهمی برای ارزیابی رسیدگی و کیفیت میوه‌ها به شمار می‌روند. مهمترین ویژگی ظاهری رسیدگی گوجه‌فرنگی رنگ می باشد که فاکتور مهمی در تصمیم گیری مشتری برای خرید آن است. درجه رسیدگی نیز معمولا با استفاده از چارت‌های رنگی تعیین می‌شود [۹].

مواد و روشها

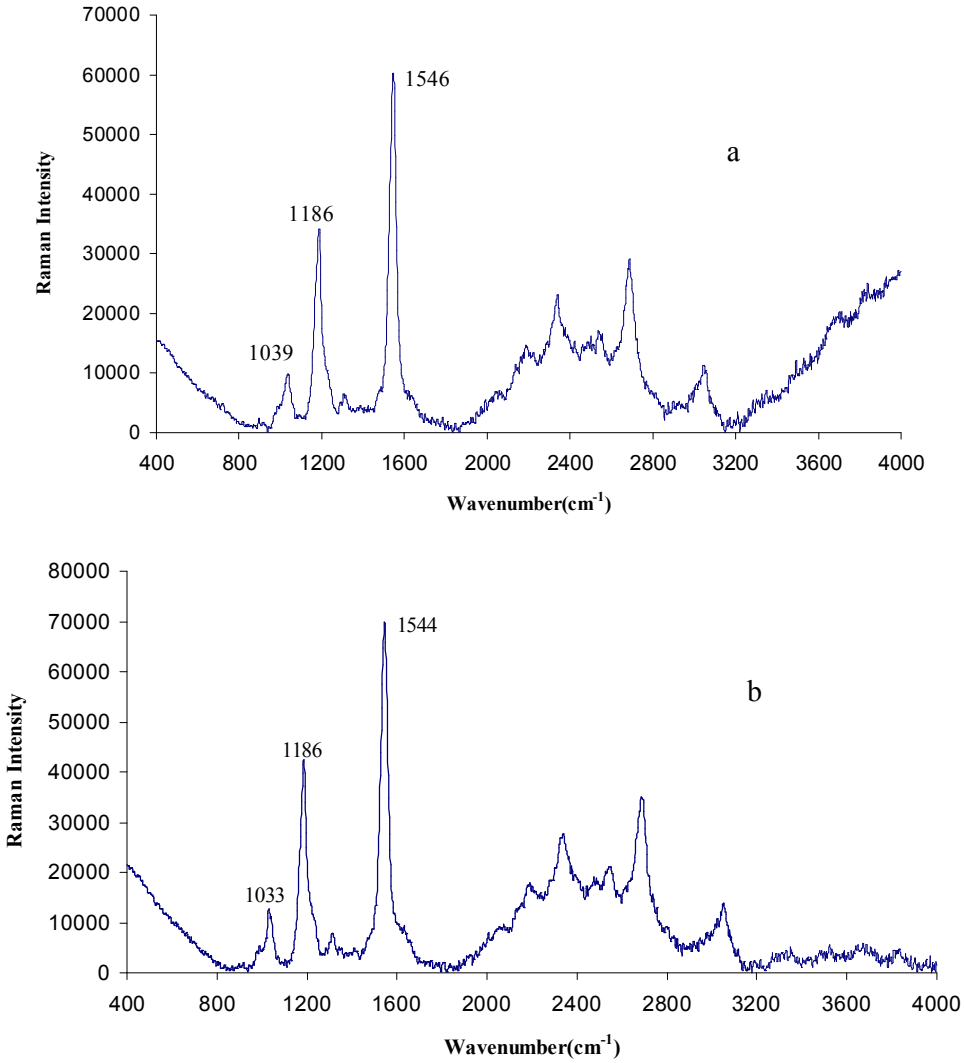
تحقیقات انجام گرفته در کشاورزی محدود به عاملهای خاصی بوده است، در حالیکه می‌توان از قابلیت‌های این تکنیک در بررسی خواص دیگر میوه‌ها از جمله فاکتورهای شیمیایی و مکانیکی نیز بهره جست. بنابراین تحقیقی مبتنی بر تعیین غیر مخرب و سریع عاملهای کیفی میوه‌ها و به طور ویژه میوه گوجه فرنگی، با استفاده از طیف‌سنجی رامان و معرفی این تکنیک به عنوان جایگزینی برای روشهای مخرب و مرسوم تدوین گشت. لازم به ذکر می‌باشد که تا بحال اندازه‌گیری بیش از یک عامل کیفی با استفاده از روشهای طیف‌سنجی به دلیل پیچیدگی تفسیر و حجم زیاد متغیرها انجام نشده‌است. همچنین استفاده از پراکندگی رامان در اندازه‌گیری خصوصیات کیفی گوجه‌فرنگی و بخصوص رنگ و قند در منابع گزارش نشده‌است. بنابراین تحقیق حاضر در نوع خود در ایران و جهان جدید می‌باشد.

دستگاه طیف‌سنج Thermo Nicolet از نوع پاشندگی (dispersive) برای بدست‌آوردن طیف‌های رامان مورد استفاده قرار گرفت. لیزر ۵۳۲ نانومتر با توان حداکثر ۱۰۰ میلی‌وات به عنوان منبع نوری بکارگرفته شد اما به دلیل جلوگیری از اثرات فتوشیمیایی و

فتوفیزیکی نور تک فام لیزر، به صورت نرم افزاری از توان منبع نوری کاسته شد و در تمام آزمایشات از توان ۳۰ میلی وات استفاده شد. وضوح طیف های گرفته شده $2\ cm^{-1}$ بوده که در طیف‌سنجی یک وضوح ایده‌آل به شمار می‌رود، و پهنای باند سیگنال های گرفته شده بین عدد موجهای $400\ cm^{-1}$ و $4000\ cm^{-1}$ انتخاب شد که در محدوده مادون قرمز قرارگرفته و بهترین رنج جهت نمایش ترکیبات ملکولی می باشد. آب میوه نمونه‌های مورد آزمایش پس از انجام آزمایش های اپتیکی به آزمایشگاه صنایع غذایی منتقل شده و تست‌های pH، قند محلول و رنگ بر روی آنها انجام شد. تجزیه و تحلیل طیفهای بدست آمده ابتدا در نرم‌افزار OMNIC NICOLET انجام شد که به صورت بسته نرم‌افزاری در کنار دستگاه طیف‌سنج قرار دارد و سپس طیف‌ها با فرمت سیگنال یک‌بعدی وارد محیط Excel و Matlab شده و مورد پردازش قرار گرفتند. بدین ترتیب پیش‌زمینه فلورسانسی که به عنوان مهمترین مشکل پردازشی مطرح می باشد، حذف شد. همچنین جهت یافتن باندهای مهم و تعیین کننده مشتق گیری طیف‌ها انجام شد. در نهایت اشکال بخش نتایج به صورت واضح توانستند باندهای موثر و مهم تعیین کننده خصوصیات داخلی میوه را بروز دهند.

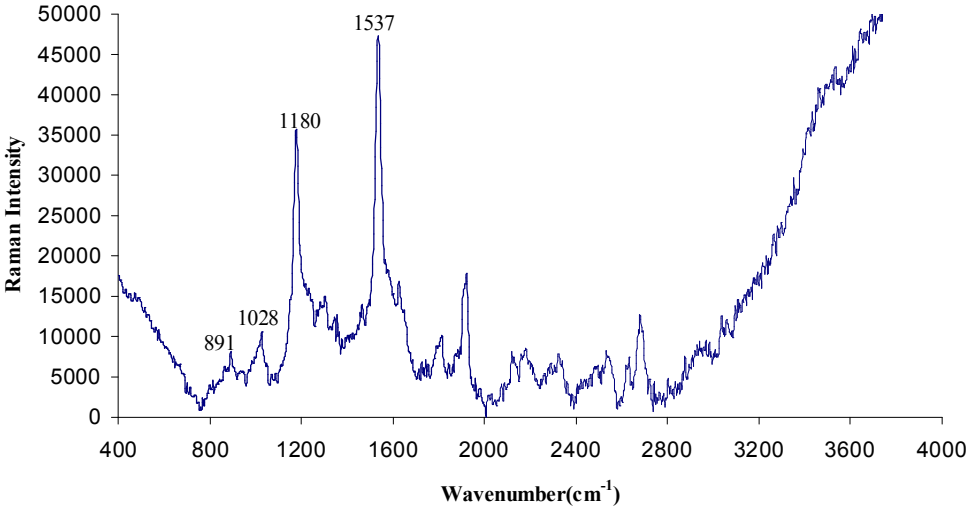
نتایج

محور افقی در تمامی طیف‌ها مانند روش نمایش استاندارد طیف‌های رامان عدد موج می‌باشد که در حقیقت معکوس طول موج بوده و در واحد cm^{-1} بیان می‌گردد. انتخاب این معیار بدین جهت است که مبین بهتری از فرکانس موج خواهد بود. محور عمودی نیز شدت پراکندگی رامان را نمایش می‌دهد و از طریق شمارش فوتون‌های پراکنده شده از محصول در کاوشگر CCD بدست می‌آید. مطابق تحقیقات قبلی که توسط طیف‌سنجی رزونانسی رامان (RRS) بر روی کارتنوئیدهای برخی محصولات کشاورزی انجام شده است، این باندها را می‌توان به ارتعاشات ν_1، ν_2 و ν_3 کارتنوئیدهای α-carotene و β-carotene نسبت داد که به دلیل ارتعاشات کششی کربن – کربن (C=C و C-C) در زنجیره اصلی بوجود می‌آیند [۲۴]. به طور کلی طیف‌های ارتعاشی کارتنوئیدها سه منطقه مشخصه ارتعاشات کششی C-C را دارا هستند. همانطور که در شکل۱ دیده می‌شود، باندهای اصلی هر سه منطقه در محدوده عدد موجهای ۱۰۳۰، ۱۱۸۰ و ۱۵۴۰ در تمامی طیف‌ها ظهور کرده است. از طرفی میوه گوجه فرنگی قرمز معمولی حاوی lycopene، β-carotene و γ-carotene می‌باشد [۲۲]. بررسی دقیق‌تر باند ν_1 در $1540\ cm^{-1}$ براساس مطالعات پیشین، حضور کاروتن‌ها را بیشتر توجیه می‌کند تا لیکوپن، در حالیکه ν_2در $1180\ cm^{-1}$ (C-C) بیانگر حضور لیکوپن می‌باشد .باند سوم نیز که ضعیفتر از بقیه عمل می‌کند به ارتعاشات کششی $C\text{-}CH_3$ نسبت داده شده است [۲۳]. نکته دیگر در مورد طیف‌ها اختلاف قابل توجه در شدت باندهاست که عمدتا مربوط به میزان رسیدگی میوه و در نتیجه مقدار کمی رنگدانه‌هاست. بدیهی است که غلظت کارتنوئیدها می‌بایست در شدت پراکندگی رامان اثرگذار باشد. با جمع‌بندی دلایل فوق، طیف‌سنجی رامان روش مناسبی است برای اندازه‌گیری کمی و کیفی رنگ موادی که حاوی رنگدانه‌های از جنس کارتنوئیدها می‌باشند. بنابراین به طور قطع می‌توان از این روش جدید در حوزه تشخیص رنگ مواد به صورت غیر مخرب بهره برد. اساسا به همین جهت است که روش طیف‌سنجی رامان در بسیاری از تحقیقات مربوط به رنگدانه‌ها حتی در مباحث غیر کشاورزی مانند نقاشی‌های هنری و پزشکی گزارش شده است [۱۹]. نکته قابل توجه دیگر این است که طیف‌های گرفته شده روی گوجه فرنگی و متعاقبا باندهای مربوط به کارتنوئیدها که نمایانگر رنگ در محصول می‌باشند، در توان‌های بالای لیزر تغییر قابل توجهی نکرده و بنابراین انتخاب پایین ترین توان لیزر مطلوب به نظر می‌رسید.



شکل۱: طیف‌های رامان در میوه گوجه‌فرنگی، (a) میوه در مرحله رسیدگی قرمز شدن (صورتی) (b) میوه کاملا رسیده، ارتفاع پیک‌های مربوط به کارتنوئیدها قابل توجه است

باند $۸۹۱\ cm^{-1}$ که در شکل ۲ ظاهر شده است، را می‌توان به ارتعاش CH نسبت داد که مبین کربوهیدرات‌های موجود در میوه می‌باشد. همانطور که ملاحظه شد، این باند ضعیف بوده و در شکل ۱ به طور واضح قابل تشخیص نمی‌باشد (هرچند در تحلیل سیگنالی طیف با استفاده از مشتق‌گیری ظاهر می‌شود) و دلیل آن هم وجود باند قویتر در محدوده کارتنوئیدهاست ($۱۰۳۰\ cm^{-1}$) که باندهای مجاور را پوششش می‌دهد. اما بطور کلی می‌توان از همین طیف ضعیف نیز برای اندازه‌گیری مواد کربوهیدراتی از جمله قنده بهره جست.



شکل ۲: طیف رامان در گوجه‌فرنگی کاملا رسیده. در این طیف علاوه بر طیف‌های قوی مربوط به رنگدانه‌های لیکوپن و کاروتن، پیک متوسطی از کربوهیدرات‌ها هم قابل شهود می‌باشد

لازم به توضیح است که کالیبراسیون و اعمال روشهای مدرن شیمی‌سنجی (chemometrics) بر روی طیف‌های بدست‌آمده و در نتیجه اندازه‌گیری کمی و مدلینگ داده‌ها مورد تحقیق بوده و نتایج آن در آینده نزدیک ارائه می‌گردد. بدیهی است که با اعمال چنین روشهایی می‌توان با در دست داشتن باندهای ارتعاشی حتی ضعیف‌تر از باندهای مذکور به مقایسه کمی و کیفی میوه‌ها و به طور کلی محصولات کشاورزی اقدام نموده و در نهایت با روشی غیر مخرب، سریع و مطمئن میوه‌ها را درجه‌بندی نمود.

نتی‌جه‌گی‌ری

جدول ۱ نشانگر جایگاه هرکدام از روشهای مورد بحث و پارامترهای کیفی قابل اندازه‌گیری توسط هرکدام از آنها را نمایش می‌دهد. طیف‌سنجی رامان به عنوان روشی کارا و سریع و با ملاحظه برتریهای آن نسبت به روشهای دیگر غیر مخرب می‌تواند ابزاری سودمند در اندازه‌گیری غیرمخرب پارامترهای کیفی محصولات کشاورزی محسوب شود. تجزیه و تحلیل طیف‌های بدست آمده در این تحقیق و مقایسه با تحقیقات پیشین، نشان داد که طیف‌سنجی رامان می‌تواند به خوبی جهت بررسی کیفی پارامترهای میوه گوجه‌فرنگی استفاده شود. هر سه منطقه مشخصه کارتنوئیدها به عنوان شاخصه‌های رنگی در میوه‌جات در طیف‌های بدست‌آمده به طور واضح نشان داده شد و همچنین آزمایشات انجام شده توانست ثابت کند که میزان مواد جامد محلول و کربوهیدرات‌های موجود را نیز می‌توان اندازه‌گیری نمود.

پیشنهادها

نتایج حاصله در این تحقیق به خوبی نشان داد که با اعمال روشهای پردازشی سیگنالهای طیفی و نیز اعمال شیمی‌سنجی به طور یقین قادر خواهیم بود اندازه‌گیری‌های کیفی و کمی ترکیبات داخلی محصولات کشاورزی را در سریعترین زمان و بدون تخریب میوه انجام داد. این روند در ادامه تحقیق مورد بحث بوده و امید است نتایج آن در آینده نزدیک ارائه گردد. بدیهی است که توسعه چنین روشی به ویژه در حوزه سخت‌افزاری گام بزرگی در جهت بهینه کردن کیفی میوه‌جات و به طور کلی محصولات کشاورزی و در نهایت سود اقتصادی بیشتر می باشد.

فهرست منابع

۱-سی ان بنول. ۱۳۸۱. مبانی طیف‌سنجی مولکولی. ترجمه اسلامپور، ر. و حسن‌پور، م. مشهد. انتشارات آستان قدس رضوی، ۴۲۲ صفحه.

۲- توکلی هشجین، ت. ۱۳۸۲. مکانیک محصولات کشاورزی. ترجمه. تهران، نشر خدمات فرهنگی سالکان. ۵۲۸ صفحه.
۳-پی آر کری. ۱۳۷۹. کاربرد بیوشیمیایی اسپکتروسکوپیهای رامان و رزونانس رامان. ترجمه قیامتی یزدی، ا. مشهد، نشر مشهد. ۲۵۱ صفحه.

4-Abbott, J.A., Lu, R., Upchurch, B.L. and Stroshine, R.L. 1997. Technologies for nondestructive quality evaluation of fruits and vegetables. Horticulture Review, 20: 1-120.

5-Anonymous. 2006. Raman spectroscopy: a complex technology moving from lab to the clinic ? and before too long, the marketplace. Available on-line at: http://www.opticsreport.com/content/

6-Anonymous 1999. Tomatoes: *Licopersicon esculentum*. USDA nutrient database for standard reference, release 13.

7-Brosnan, T. and Sun, D.W. 2002. Inspection and grading of agricultural and food products by computer vision systems-a review. Computers and Electronics in Agriculture 36: 193- 213.

8-Butz, P., Hofmann, C. and Tauscher, B. 2005. Recent developments in noninvasive techniques for fresh fruit and vegetable quality analysis. Journal of Food Science, 70(9): 131-141.

9-Camelo, A.F.L. and Gomez, P.A. 2004. Comparison of color indexes for tomato ripening. Horticultura Brasileira, Brasília,22 (3):.534-537.

10-Chen, H C., Chen, X D. and Lu, Q P. 2006. BP-ANN Application to the Model Establishment of Determination Wheat Protein Using Near Infrared Spectroscopy. Journal of Physics: Conference Series, 48: 29–35.

11-Dardenne, P., Cowel, A., Berzaghi, P., Flinn, P.C., Lagerholm, M., Shenk, J.S. and Westerhaus, M.O. 2002. Standarisation of near infrared instruments, influence of the calibration methods and the size of the cloning set. In: Davies, A.M.C. and Cho, R.K., editors. Near infrared spectroscopy: Proceedings of the 10th Intl. Conference. Charlton, Chichester. U.K.: NIR Publications, 23-28.

12-Du, C.J. and Sun, D.W. 2004. Recent developments in the application of image processing techniques for food quality wvaluation. Foof Science & Technology, 15: 230-249.

13-Edwards, H.G.M., Munshi, T. and Anstis, M. 2005. Raman spectroscopic characterisations and analytical discrimination between caffeine and demethylated analogues of pharmaceutical relevance. Spectrochimica Acta, Part A, 61: 1453–1459

14-Gao, X., Heinemann, P.H. and Irudayaraj, J. 2003. Non-destructive apple bruise on-line test and classification with raman spectroscopy. American Society of Agricultural and Biological Engineers, ASAE Annual Meeting, St. Joseph, Michigan. Paper No: 033025.

15-Gniadecka, M., Philipsen, P. A., Sigurdsson, S., Wessel, S., Nielsen, O. F., Christensen, D. H., Hercogova, J., Rossen, K., Thomsen, H. K., Gniadecki, R., Hansen, L. K. and Wulf, H. C. 2004. Melanoma Diagnosis by Raman Spectroscopy and Neural Networks: Structure Alterations in Proteins and Lipids in Intact Cancer Tissue. Journal of Investigative Dermatology ,122 (2): 443-449(7).

16-Gniadecka, M. Wulf, H. C. Mortensen, N. N. Nielsen, O. F. Christensen, D. H. 1998. Diagnosis of Basal Cell Carcinoma by Raman Spectroscopy. Journal of Raman Spectroscopy, 28(2-3): 125-129.

17-Lai, A., Santangelo, E., Soressi, G.P. and Fantoni, R. 2007. Analysis of the main secondary metabolites produced in tomato (Lycopersicon esculentum, Mill) epicarp tissue during fruit ripening using florouscence techniques. Postharvest Biology and Technology, 43: 335-342.

18-Lewis, I.R. and Edwards, H.G.M. 2001. Handbook of raman spectroscopy, from the research laboratory to the process line. Marcel Dekker, Inc. USA.

19-Petrich, W. 2001. Mid-infrared and raman spectroscopy for medical diagnostics. Applied Spectroscopy Review, 36 (2-3): 181-237.

20-Schrader, B., Klumpb, H.H., Schenzelc, K. and Schulz, H. 1999a. Non-destructive NIR FT Raman analysis of plants. Journal of Molecular Structure, 509: 201–212.

21-Schrader, B., Dippel, B., Erb, I., Keller, S., Lochte, T., Schulz, H., Tatsch, E. and Wessel, S. 1999b. NIR Raman spectroscopy in medicine and biology: results and aspects. Journal of Molecular Structure, 480–481: 21–32

22-Schulz, H., Schutze, W. and Baranska, M. 2006. Fast determination of cartenoids in tomatoes and tomato products by raman spectroscopy. ISHS Acta Horticulture, 712. IV International Conference on managing Quality in Chains.

23-Schulz, H. and Baranska, M. 2007. Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. Vibrational Spectroscopy, 43: 13-25.

24-Withnall, R., Chowdhry, B.Z., Silver, J., Edwards, H.G.M. and de Oliveira, L.F.C. 2003. Raman spectra of carotenoids in natural products. Spectrochimica Acta, Part A, 59: 2207_ 2212.

25-Zhang, P.X., Zhou, X., Cheng, A.Y.S. and Fang, Y. 2006. Raman spectra from pesticides on the surface of fruits. Journal of Physics: Conference Series, 28: 7-11.