

سنجش میزان ویتامین ث لیموشیرین با استفاده از طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک

عمار رفیعی^۱، سعید مینائی^{۲*}، بهاره جمشیدی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشگاه تربیت مدرس

۲- عضو هیئت علمی، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشگاه تربیت مدرس

۳- عضو هیئت علمی، گروه مهندسی بیوسیستم، موسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی

* ایمیل نویسنده مسئول: minaee@modares.ac.ir

چکیده

ویتامین ث یا آسکوربیک اسید یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب است. این ویتامین مهم یکی از پارامترهای کیفی در بسیاری از محصولات باغی از جمله مرکبات است. ویتامین ث به شرایط محیطی بسیار حساس است از این رو نشانگر مناسبی است به منظور نظارت بر تغییرات کیفی حین انبارمانی، فراوری و حمل‌ونقل به ویژه زمانی که محصول حاوی سطوح بالا از ترکیبات محلول در آب و آسیب‌پذیر به آنزیم و اکسیداسیون شیمیایی باشد. در این پژوهش ابتدا طیف‌های مرئی / فروسرخ میوه‌ها از روی پوست در محدوده ۳۵۰ تا ۲۵۰۰ نانومتر به منظور تشخیص و پیشگویی غیر مخرب آسکوربیک اسید تهیه شد. مدل‌های واسنجی چند متغیره رگرسیون حداقل مربعات جزئی (PLSR) بر پایه‌ی اندازه‌گیری‌های مرجع و اطلاعات طیف‌های پیش‌پردازش شده با ترکیب روش‌های مختلف نرمال‌سازی (تصحیح پخش افزاینده (MSC)، توزیع نرمال استاندارد (SNV))؛ و افزایش قدرت تفکیک طیفی (مشق‌های اول و دوم ((D₁, D₂)) برای پیشگویی ویتامین ث تدوین شدند. نتایج حاصل از مدل‌سازی (PLSR) با ترکیب شش پیش‌پردازش مختلف در محدوده NIR که طول‌موج‌های ۴۰۰ تا ۲۴۵۰ نانومتر را شامل می‌شود مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده برای مدل‌سازی (PLSR) بهترین نتیجه با پیش‌پردازش SG+D₂ و با تعداد مؤلفه‌های اصلی ۱۲ حاصل گردید که برای دسته آموزش و آزمون به ترتیب دارای ضرایب رگرسیون ۰.۹۷۳ و ۰.۹۸۵۲ و ریشه خطای میانگین ۰.۷۴۳۶ و ۰.۶۳۷۴ بوده و نشان دهنده دقت بالای مدل در پیش‌بینی میزان ویتامین ث میوه به صورت غیر مخرب هست.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی غیر مخرب، لیموشیرین، مدل‌سازی، سنجش ویتامین ث، حداقل مربعات جزئی

مقدمه

لیموشیرین^۱ با نام علمی *Citrus limetta* از تیره مرکبات^۲، یک میوه گرد با پوستی نازک به رنگ زرد کم‌رنگ و متمایل به سفید بوده و دارای گوشتی تقریباً به رنگ زرد روشن هست. این میوه دارای دو تا سه بذر بوده و طعمی شیرین دارد (فرزاد، ۱۳۸۹). مهم‌ترین ویتامین موجود در میوه‌ها و سبزی‌ها که به منظور تغذیه انسان مورد استفاده قرار می‌گیرند ویتامین ث است و بیشتر از ۹۰

^۱Citrus limetta

^۲Rutaceae



درصد ویتامین ث مورد نیاز رژیم غذایی انسان توسط همین میوه‌ها و سبزی‌ها تأمین می‌شود (Wills *et al.*, 1984). ویتامین ث یا آسکوربیک اسید یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های کمی محلول در آب است (Pallauf *et al.*, 2013). این ویتامین یکی از مهم‌ترین کیفیت‌ها در بسیاری از محصولات باغی از جمله مرکبات است و دربرگیرنده بسیاری از فعالیت‌های بیولوژیکی در بدن انسان است. ویتامین ث به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی که دارد در جریان خون قرار گرفته و اثر موادی که به بافت‌های بدن آسیب می‌رسانند را خنثی می‌کند. این ویتامین موجب محافظت پوست در مقابل آثار مخرب اشعه ماورای بنفش نور خورشید می‌شود و همچنین به افزایش قدرت ایمنی بدن و استحکام لته‌ها و دندان‌ها کمک می‌کند (Lee and Kader, 2000). ویتامین ث به شرایط محیطی بسیار حساس است لذا نشانگر مناسبی به منظور نظارت بر تغییرات کیفی حین انبارمانی، فرآوری و حمل‌ونقل به خصوص زمانی که محصول حاوی سطوح بالا از ترکیبات محلول در آب و آسیب‌پذیر به آنزیم و اکسیداسیون شیمیایی باشد (Favell, 1998). میوه مرکبات به ویژه پرتقال و لیموشیرین منبع غنی از ویتامین ث هستند (Kumar Reddy *et al.*, 2010). آسکوربیک اسید که معمولاً با نام ویتامین ث شناخته می‌شود فعالیت‌های قابل توجه در بدن انسان دارد، هر چند که عملکرد آن در سطح سلولی بسیار روشن نیست... این ویتامین کبد را در سم‌زدایی بدن از مواد سمی و همچنین خون را در مبارزه با عفونت کمک می‌کند. آسکوربیک اسید برای عملکرد صحیح سیستم ایمنی^۱ بدن بسیار مهم است. ویتامین ث به عنوان یک آنتی‌اکسیدان با ترکیباتی مثل هیستامین‌ها^۲ و پروکسیدها^۳ به منظور کاهش علائم التهابی واکنش نشان می‌دهد. خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ویتامین با کاهش بروز سرطان همراه است. در حال حاضر با توجه به اطلاعات اپیدمیولوژیکی^۴ با افزایش مصرف مواد غذایی غنی از ویتامین ث، میزان سرماخوردگی کاهش پیدا می‌کند. با توجه به فوایدی که ویتامین ث برای سلامتی جسمانی دارد، مردم به استفاده بیشتر این ویتامین وسوسه می‌شوند. افزایش جزئی در میزان ویتامین ث خون، میزان خطر مرگ را برای انسان از همه جهت کاهش می‌دهد. ویتامین ث بافت‌ها را در برابر آسیب‌های اکسایشی محافظت کرده و از تشکیل مواد سرطان‌زا همچون نیتروسامین‌ها^۵ جلوگیری به عمل می‌آورد. سطح بالای سرم آسکوربیک اسید^۶ در خون باعث کاهش فشارخون به خصوص فشارخون سیستولیک^۷ می‌گردد. کمبود پلاسما ویتامین ث با افزایش خطر سکته مغزی همراه است. غلظت بالای ویتامین ث در خون باعث افزایش سطوح آنتی‌بادی‌هایی^۸ می‌گردد که مقابل عفونت‌ها مبارزه می‌کنند (Walingo, 2005). هدف از این پژوهش پیش‌پردازش داده‌های حاصل از طیف‌سنجی به منظور تدوین مدل مناسب برای اندازه‌گیری میزان ویتامین ث در لیموشیرین و ارزیابی مدل تدوین شده برای پیش‌گویی میزان ویتامین ث در لیموشیرین است.

¹ Immune System

² Histamine

³ Peroxide

⁴ Epidemiological Data

⁵ Nitrosamine

⁶ Serum Ascorbic Acid

⁷ Systolic Blood Pressure

⁸ Antibody

از جمله پژوهش‌های انجام گرفته به وسیله طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک بر روی میوه‌ها و سبزی‌ها می‌توان به تعیین میزان مواد جامد محلول و شناسایی لکه‌های داخلی در گلابی به وسیله طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک (Travers *et al.*, 2014). تعیین سفتی در سیب (Kumar., 2015). تعیین مزه پرتقال به صورت غیر مخرب (جمشیدی، ۱۳۹۱). سنجش میزان عیار چغندر قند (آقایی، ۱۳۹۴). رطوبت و خواص مکانیکی چغندر قند (Pan *et al.*, 2015). تعیین جرم هلو (Guo *et al.*, 2016) اشاره کرد.

در سال‌های اخیر طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک^۱ (NIR) به‌عنوان یک روش غیر مخرب و سریع به صورت گسترده در ارزیابی کیفیت مواد غذایی استفاده شده است. با استفاده از این روش می‌توان با تدوین یک مدل کالیبراسیون، تعداد زیادی نمونه را بررسی کرد و نمونه‌ها احتیاج به هیچ‌گونه آماده‌سازی قبل از انجام آزمایش ندارند. طیف‌سنجی NIR می‌تواند اطلاعات زیادی در مورد کیفیت مواد غذایی در اختیار قرار دهد، همچنین می‌توان میزان ترکیباتی با ۰.۱٪ غلیظ‌ترند به کمک این روش به صورت غیر مخرب و سریع تعیین نمود (Cen and He, 2007).

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی و طیف‌گیری از نمونه‌ها

در این پژوهش طیف‌گیری بر روی ۱۲۱ نمونه لیموشیرین انجام گرفت که از سه ناحیه روی خط استوایی لیمو-شیرین در موقعیت‌های ۱۲۱ درجه نسبت به هم قرار دارند با تکرار سه مرتبه طیف‌گیری شد (جمشیدی، ۱۳۹۱). میانگین نه طیف گرفته شده برای هر یک از نمونه‌ها به عنوان طیف معرف نمونه مورد نظر در نظر گرفته شد. در این پژوهش از دستگاه طیف‌سنج FieldSpec 3 با دامنه‌ی طول‌موج طیفی کامل (۲۵۰۰-۳۵۰۰ نانومتر) با مد طیف‌سنجی بازتابی استفاده گردید.

پیش‌پردازش طیف‌ها

داده‌های طیفی به دست آمده از اسپکترومتر، افزون بر اطلاعات نمونه، شامل اطلاعات ناخواسته، پس زمینه و نوفه نیز هستند. از این رو، برای دستیابی به مدل‌های واسنجی پایدار، دقیق و قابل اعتماد، نیاز به پیش‌پردازش داده‌های طیفی پیش از تدوین مدل‌های رگرسیون است. برای این منظور، روش‌های پیش‌پردازش بسیاری بر پایه شیوه‌های ریاضی و آماری گسترش یافته و یا در حال توسعه‌اند که هر یک برای هدف ویژه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این حال، انتخاب یک روش پیش‌پردازش مشخص به عنوان بهترین روش که منجر به بهترین نتایج مدل‌های پیش‌گویی متغیرهای مختلف در نمونه‌های مختلف شود، امکان‌پذیر نیست و بستگی به شرایط و امکانات آزمایش‌ها، نوع و ویژگی‌های نمونه، متغیر مورد اندازه‌گیری و غیره دارد (جمشیدی، ۱۳۹۱). بر این اساس، در این بخش پس از طیف‌گیری از همه نمونه‌ها، به منظور آماده‌سازی و پیش‌پردازش طیف‌ها، از ترکیب برخی روش‌های مختلف هموارسازی و کاهش نوفه، نرمال‌سازی و افزایش قدرت تفکیک طیفی بهره‌گیری شد.

¹Near-infrared spectroscopy



با توجه به این که قسمت ابتدایی و انتهایی طیف‌ها دارای نویز زیادی هست لذا قبل تجزیه و تحلیل داده‌ها ۵۰ نانومتر ابتدایی و انتهایی طیف‌ها حذف می‌شوند (Clément et al., 2008).

پیش‌پردازش داده‌های NIR شامل مجموعه عملیات ریاضی و آماری بر روی طیف‌ها به منظور تصحیح طیف‌ها حذف نویزها و اطلاعات ناخواسته هست. ابتدا از پیش‌پردازش ساویتزکی گولای (SG) با تعداد نقطه‌ی همسایگی ۳ و درجه چندجمله‌ای ۲، به منظور هموارسازی طیف‌ها استفاده گردید در این روش الگوریتم ساویتزکی گولای بر هر بخش متوالی طیف یک چندجمله‌ای برازش و مقدارهای اصلی طیف را با مقدارهای برازش داده جایگزین می‌کند. از پیش‌پردازش‌های توزیع نرمال استاندارد (SNV)، تصحیح پخشی افزاینده (MSC)، مشتق اول (D_1) و مشتق دوم (D_2) نیز استفاده گردید.

MSC و SNV دو روش برای نرمال‌سازی طیف‌ها بوده که می‌تواند اثرهای جمعی افزاینده‌ی پخش نور ناشی از اثرهای فیزیکی در داده‌های طیفی، مانند پخش غیریکنواخت در کل طیف (درجه‌ی پخش بستگی به طول موج تابش دارد)، اندازه‌ی نمونه و ضریب شکست نور را برطرف کند. تمام پیش‌پردازش‌های اشاره شده با نرم‌افزار UNSceTambler X 10.3 انجام شد.

اندازه‌گیری ویتامین ث

سید آسکوربیک، با فرمول بسته $C_6H_8O_6$ و به جرم مولکولی ۱۷۶/۱۳ هست که به صورت پودر یا بلوره سفید، یا کمی زرد رنگ و بی‌بو بوده و به صورت محلول در اتانل، محلول ۲ و ۶ دی کلروفنل ایندوفنل را بی‌رنگ می‌کند. این روش بر اساس استخراج اسید آسکوربیک آزمونه، با استفاده از محلول اسید متافسفوریک، همراه با اسید استیک که عیارسنجی با ماده رنگی ۲ و ۶ دی کلروفنل ایندوفنل تا ظهور رنگ صورتی روشن انجام می‌گیرد. تمام واکنشگرهای شیمیایی از نوع خالص ویژه آزمایش از شرکت مرک آلمان تهیه گردید که عبارت‌اند از: آب مقطر، اسید متافسفوریک، اسید استیک خالص، بی‌کربنات سدیم، معرف ۲ و ۶ دی کلروفنل ایندوفنل، استاندارد ویتامین ث.

تهیه محلول استخراج

در یک بالن اندازه دار ۵۰۰ میلی‌لیتری، ۱۵ گرم اسید متافسفوریک را در ۴۰ میلی‌لیتر اسید استیک خالص و ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و به حجم رسانده شد و بی‌درنگ با کاغذ صافی در یک ظرف شیشه‌ای، صاف گردید. این محلول می‌تواند به مدت ۷ تا ۱۰ روز در یخچال پایدار بماند.

تهیه محلول رنگی ۲ و ۶ دی کلروفنل ایندوفنل

۵۰ میلی‌گرم نمک سدیم ۲ و ۶ دی کلروفنل ایندوفنل در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر گرم (به دمای ۵۰ تا ۶۰ درجه سلسیوس) که دارای ۴۲ میلی‌گرم بی‌کربنات سدیم هست، حل کرده و به بالن اندازه دار ۲۰۰ میلی‌لیتری منتقل گردیده و پس از خنک شدن با



آب مقطر به حجم رسانده شد و صاف گردید. به دلیل این که محلول رنگی بعد از مدتی فاسد می‌شود، محلول تهیه شده درون ظرف شیشه‌ای قهوه‌ای تیره در یخچال نگهداری گردید و در فواصل معین به صورت تازه تهیه شد.

تهیه محلول استاندارد اسید آسکوربیک یک گرم در لیتر

در یک بالن اندازه دار ۵۰ میلی‌لیتری، با دقت ۰/۰۱ میلی‌گرم، ۵۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک که قبلاً رطوبت آن با قرار دادن در دیسکاتور دور از نور گرفته شده است ریخته و با محلول استخراج به حجم رسانده شد.

استاندارد کردن محلول رنگی

۲ میلی‌لیتر از محلول استاندارد اسید آسکوربیک با ۵ میلی‌لیتر محلول استخراج رقیق کرده و بی‌درنگ با محلول رنگی تا ظهور رنگی صورتی روشن عیارسنجی گردید. رنگ حاصل حداقل باید تا ۵ ثانیه پایدار بماند. عیارسنجی با سه بار تکرار انجام گرفت و حجم‌های مصرفی محلول رنگی در هر مرحله با دقت ۰/۱ میلی‌لیتر یادداشت گردید، سپس برای تصحیح محلول استاندارد فوق، محلول شاهد به شرح زیر تهیه گردید:

به‌جای ۲ میلی‌لیتر محلول استاندارد اسید آسکوربیک، ۲ میلی‌لیتر محلول استخراج برداشته و عیارسنجی گردید. عدد به دست آمده از تیتراژ محلول شاهد از میانگین حجم‌های مصرفی محلول رنگی کم کرده و باقی مانده به عنوان میزان محلول رنگی مصرفی تصحیح شده برای محلول استاندارد یادداشت گردید.

تعیین میزان ویتامین ث نمونه‌های لیموشیرین

در یک ارلن مایر اندازه دار مناسب، ۲ میلی‌لیتر آب لیموشیرین با ۵ میلی‌لیتر از محلول استخراج مخلوط گردید؛ و به‌وسیله محلول رنگی تا ظهور رنگی صورتی روشن عیارسنجی گردید.

برای اندازه‌گیری مقدار ویتامین ث برحسب میلی‌لیتر ویتامین ث در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب لیموشیرین، ابتدا میانگین محلول رنگی مصرف شده برای استاندارد کردن محلول رنگی طبق رابطه (۱) محاسبه گردید.

$$\bar{X} = \frac{\sum_{j=1}^n X_j}{n} \quad (1)$$

که در آن؛

\bar{X} ؛ میانگین محلول رنگی مصرف شده

X_j ؛ مقدار محلول مصرف شده برای تکرار j

l : تعداد تکرارها

طبق رابطه (۲) مقدار عدد به دست آمده از تیتراژ محلول شاهد از میانگین حجم‌های مصرفی محلول می‌گردد.

$$\hat{X} = \bar{X} - Y \quad (۲)$$

که در آن

\hat{X} : میزان محلول رنگی مصرفی تصحیح شده،

Y : میزان محلول مصرف شده برای محلول شاهد.

طبق رابطه (۳) میزان ویتامین ث بر حسب میلی‌لیتر ویتامین ث در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب لیموشیرین محاسبه گردید.

$$VC_i = \frac{(X_i \times Q)}{\hat{X}} \times 100 \quad (۳)$$

که در آن؛

VC_i : میزان ویتامین ث برای نمونه i ،

X_i : میزان محلول مصرفی برای نمونه i ،

هست (ISO, 1984; FAO, 1990).

اعتبار سنجی مدل تدوین شده

پس از تدوین مدل‌های واسنجی به وسیله‌ی نمونه‌های دسته آموزش و ارزیابی توانمندی آن‌ها در ایجاد ارتباط بین داده‌های طیفی

و ویژگی‌های مورد نظر، از نمونه‌های دسته آزمون برای بررسی دقت پیش‌گویی مدل‌های واسنجی تدوین شده استفاده شد. در این

راستا خطای مدل‌ها به صورت ریشه میانگین مربعات خطای واسنجی (RMSEC)^۱ و ریشه میانگین مربعات خطای پیش‌گویی

(RMSEP)^۲ با توجه به روابط (۴) و (۵) محاسبه خواهند شد (Nicolăiet al. 2007a):

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - y_i)^2}{n_c}} \quad (۴)$$

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - y_i)^2}{n_p}} \quad (۵)$$

^۱Root Mean Square Error of Calibration

^۲Root Mean Square Error of Prediction

که در آنها،

y_i مقدار اندازه‌گیری شده ویژگی برای نمونه i ام در دسته آموزش یا آزمون؛

\hat{y}_i مقدار پیش‌گویی شده ویژگی برای نمونه i ام در دسته آموزش یا آزمون؛

n_c تعداد نمونه‌های دسته آموزش؛

n_p تعداد نمونه‌های دسته آزمون؛

هم‌چنین، ضریب هم‌بستگی واسنجی (r_c)^۱ و ضریب هم‌بستگی پیش‌گویی (r_p)^۲ به ترتیب با توجه به روابط (۶) و (۷) محاسبه گردیدند.

$$r_c = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_c} (\hat{y}_i - y_m)^2}{\sum_{i=1}^{n_c} (\hat{y}_i - y_m)^2}} \quad (۶)$$

$$r_p = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_p} (\hat{y}_i - y_m)^2}{\sum_{i=1}^{n_p} (\hat{y}_i - y_m)^2}} \quad (۷)$$

y_m میانگین مقدارهای اندازه‌گیری شده ویژگی در دسته آموزش یا آزمون؛

نتایج

آمار نمونه‌ها

نتایج مربوط به میزان ویتامین نمونه‌های لیموشیرین برای دسته آموزش و دسته آزمون در جدول (۱) آورده شده است.

جدول ۱- نتایج مربوط به میزان ویتامین نمونه‌های لیموشیرین برای دسته آموزش و دسته آزمون

محصول	تعداد (دسته)	ویژگی	کمینه	بیشینه	میانگین	انحراف معیار
لیموشیرین	۹۱ (دسته آموزش)	ویتامین ث	۳۲.۸۱	۵۳.۱۲	۴۲.۴۲	۴.۲۶
لیموشیرین	۳۰ (دسته آزمون)	ویتامین ث	۳۱.۹۶	۵۲.۲۴	۴۰.۲۵	۵.۰۷۵

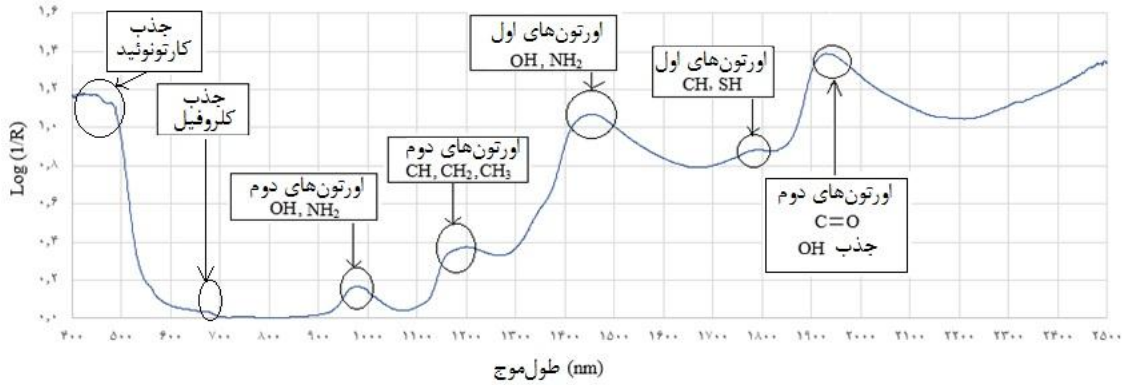
¹ Correlation Coefficient of Calibration

² Correlation Coefficient of Prediction



تفسیر طیف‌های NIR

شکل (۱) طیف جذبی میانگین به دست آمده از اسپکتروسکوپی NIR برای ۱۰ نمونه میوه لیموشیرین نشان داده شده است. با توجه به شکل (۱) پیک اول و دوم از سمت چپ به ترتیب متعلق به جذب کارتونوئیدها و کلروفیل‌ها هستند. کارتونوئیدها نشان دهنده رنگ‌دانه‌های زرد و کلروفیل‌ها نشان دهنده رنگ‌دانه‌های سبز هستند. طی پژوهشی طول‌موج‌های ۴۸۰ و ۴۵۵ نانومتر به کارتونوئیدها نسبت داده شده است (Merzlyak *et al.*, 2003) و در پژوهشی دیگر طول‌موج ۶۷۰ نانومتر به کلروفیل نسبت داده شده است (Clément *et al.*, 2008) که با طول‌موج‌های اشاره شده در شکل (۱) مطابقت دارند. این دو شاخص در تعیین رسیدگی میوه‌ها توسط طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک بسیار به کار گرفته می‌شوند. با افزایش رسیدگی میوه از میزان رنگ‌دانه‌های سبز میوه کاسته شده و بر میزان کارتونوئیدها افزوده می‌شود. با توجه به اینکه لیمو شیرین‌های مورد استفاده در این پژوهش کاملاً رسیده می‌باشند و رنگ‌دانه‌های غالب در میوه لیموشیرین رسیده، رنگ‌دانه‌های زرد هستند، پیک معرف رنگ‌دانه‌های زرد یا همان کارتونوئیدها نشان دهنده میزان جذب بیشتری نسبت به پیک مربوط به رنگ‌دانه‌های سبز هستند. با توجه به پیک مربوط به رنگ‌دانه‌های سبز یا همان کلروفیل‌ها، مشاهده می‌گردد که میزان رنگ‌دانه‌های سبز در نمونه‌های مورد استفاده بسیار کم هستند. با توجه به گزارش‌های پژوهش‌های پیشین و طیف جذبی میانگین برای چند نمونه می‌توان نتیجه گرفت که پیک سوم در طول موج ۹۸۰ نانومتر به اورتون دوم NH_2 و OH ، پیک چهارم در ۱۲۰۰ نانومتر به اورتون دوم CH ، CH_3 و CH_3 ، پیک پنجم در ۱۴۵۰ نانومتر به اورتون دوم OH و NH_2 ، پیک ششم در طول موج ۱۷۸۰ نانومتر به اورتون اول CH و SH که می‌تواند بیانگر میزان قند محصول باشند و پیک هفتم در طول موج ۱۹۳۰ نانومتر به اورتون دوم $\text{O}=\text{C}$ و جذب قوی OH نسبت داده شده است که می‌تواند بیانگر رطوبت محصول باشد. با توجه به شکل (۱) مشاهده می‌گردد که پیک بیانگر جذب قوی OH یا رطوبت دارای میزان جذب بیشتری نسبت به سایر ترکیبات میوه هستند که نشان دهنده این واقعیت است که بخش عمده میوه را رطوبت تشکیل می‌دهد. با توجه به اینکه در ساختار مولکولی آسکوربیک اسید چهار پیوند OH و یک پیوند $\text{O}=\text{C}$ وجود دارد لذا پیک مربوط به طول موج ۱۹۳۰ نانومتر علاوه بر موثر بودن در تعیین رطوبت محصول، نقش مهمی را در تعیین میزان ویتامین ث ایفا می‌کند. از پیک‌های موثر دیگر در تعیین میزان آسکوربیک اسید می‌توان به پیک سوم در طول موج ۹۸۰ نانومتر و پیک پنجم در ۱۴۵۰ نانومتر اشاره کرد.



شکل ۱- طیف جذبی خام از میوه لیموشیرین

نتایج مدل‌سازی رگرسیونی حداقل مربعات جزئی (PLSR)

نتایج حاصل از مدل‌سازی (PLSR) با ترکیب شش پیش‌پردازش مختلف در محدوده NIR که طول‌موج‌های ۴۰۰ تا ۲۴۵۰ نانومتر را شامل می‌شود در جدول (۲) آورده شده است. نتایج نشان دهنده این هست که بهترین نتیجه با پیش‌پردازش $SG+D_2$ و با تعداد مؤلفه‌های اصلی ۱۲ حاصل می‌گردد که به صورت پررنگ در جدول (۲) مشخص شده هست. با توجه به مدل تدوین شده، مقدار ضریب رگرسیونی به ترتیب برای دسته آموزش و آزمون ۰.۹۷۳ و ۰.۹۸۵۲ بوده و ریشه خطای میانگین نیز به ترتیب برای دسته آموزش و آزمون ۰.۷۴۳۶ و ۰.۶۳۷۴ به دست آمد که نشان دهنده دقت بالای مدل در پیش‌بینی میزان ویتامین ث میوه لیموشیرین به صورت غیر مخرب هست.

جدول ۲- نتایج حاصل از مدل‌سازی (PLSR) در محدوده NIR

پیش‌پردازش	PCs	R		RMSE	
		Cal	Val	Cal	Val
		SG+D ₁	۱۵	۰.۹۵۸۴	۰.۹۶۳۴
SG+D ₂	۱۲	۰.۹۷۳	۰.۹۸۵۲	۰.۷۴۳۶	۰.۶۳۷۴
SG+D ₁ +SNV	۱۵	۰.۹۶۳۳	۰.۹۷۰۱	۰.۸۶۸۶	۰.۹۰۶۵

SG+D ₂ +SNV	۱۲	۰.۹۷۲۷	۰.۹۸۷	۰.۷۴۸۳	۰.۵۹۶۴
SG+D ₁ +MSC	۱۵	۰.۹۶۳۲	۰.۹۶۹۳	۰.۸۶۹۴	۰.۹۱۸۸
SG+D ₂ +MSC	۱۲	۰.۹۷۲۴	۰.۹۸۶۷	۰.۷۵۲۴	۰.۶۰۳۵

با توجه به جدول (۲) در تدوین مدل رگرسیون حداقل مربعات جزئی (PLSR)، پیش‌پردازش مشتق دوم نسبت به مشتق اول نتایج بهتری دارد. به‌طور کلی استفاده از الگوریتم‌های هموارسازی SNV و MSC، اختلاف زیادی در نتایج حاصل از مدل‌سازی ندارند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، مدل تدوین شده به‌وسیله مدل رگرسیونی خطی چند متغیره حداقل مربعات جزئی (PLSR) همراه با پیش‌پردازش SG+D₂ می‌تواند با دقت خیلی خوب میزان ویتامین ث لیموشیرین را به صورت غیر مخرب به وسیله طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک در محدوده ۲۴۵۰ - ۴۰۰ نانومتر پیش‌گویی بکند.

منابع

آقائی سعدی، م. (۱۳۹۴). سنجش میزان عیار چغندر قند به صورت غیر مخرب با استفاده از طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک. پایان‌نامه ارشد مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس،

جمشیدی، ب. (۱۳۹۱). تشخیص و تفکیک غیر مخرب مزه پرتقال با اسپکتروسکوپی مرئی / فروسرخ نزدیک (Vis / Nir). رساله دکتری مکانیک ماشین‌های کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۶۲ ص.

فرزاد، م. (۱۳۸۹). پرورش و باغداری مرکبات (کاشت، داشت و برداشت)، انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی، چاپ اول.

Cen. H and He. Y (2007). Theory And Application of Near Infrared Reflectance Spectroscopy in Determination of Food Quality. Trends in Food Science & Technology, 18: 72-83.

Clément, A., Dorais, M., & Vernon, M. (2008). Nondestructive measurement of fresh tomato lycopene content and other physicochemical characteristics using visible–NIR spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 9813–9818

FAO: 1990 Food and agriculture Organization of the united nations, paper 52/2.

Favell, D. J (1998). A Comparison of the Vitamin C Content of Fresh and Frozen Vegetables. *Food chem*, 62: 59-64.

Guo, W., Gu, J., Liu, D and Shang, L. (2016). Peach Variety Identification Using Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy. *Computers and Electronics in Agriculture*. 123: 297–303.

ISO /6557/2: 1984 Fruits, vegetables and derived products- Determination of ascorbic acid content. Part 2: Routine methods

Kumar Reddy. C. V., Sreeramulu. D., Raghunath. M (2010). Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. *Food Research International*, 43: 285-288.

Kumara, S., McGloneb, A., Whitwortha, C and Volza, R. (2015). Postharvest Performance of Apple Phenotypes Predicted by Near-Infrared (NIR) Spectral Analysis. *Postharvest Biology and Technology*. 100: 16-22.

Lee. S and Kader. A (2000). Preharvest and Postharvest Factors Influencing Vitamin C Content of Horticultural Crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20: 207-220.

Merzlyak, M., Solovchenko, A and Gitelson, A. (2003). Reflectance spectral features and non-destructive estimation of chlorophyll, carotenoid and anthocyanin content in apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 27: 197 - 211

Nicolai, B. M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K. I. and Olarewajua, O., Bertlinga, I., Magwazab, L. (2016). Non-Destructive Evaluation of Avocado Fruit Maturity Using Nearinfrared Spectroscopy and PLS Regression Models. *Scientia Horticulturae*. 199: 229–236.

Pallauf. K., Bendall. J. K., Scheiermann. C., Watschinger. K., Hoffmann. J., Roeder. T and Rimbach. G (2013). Vitamin C and Lifespan in Model Organisms. Food and Chemical Toxicology, 58:255-263.

Pan, L., Lu, R., Zhu, Q., McGrath, J., Kang Tu, K. (2015). Measurement of Moisture, Soluble Solids, Sucrose Content and Mechanical Properties in Sugar Beet Using Portable Visible and Near-Infrared Spectroscopy. Postharvest Biology and Technology. 102: 42–50.

Pan, L., Zhu, Q., Lu, R and McGrath, J. (2015). Determination of Sucrose Content in Sugar Beet by Portable Visible And Near-Infrared Spectroscopy. Food Chemistry. 167: 264–271

Travers, S., G. Bertelsen, M., K. Petersen, K and V. Kucheryavskiy, S. (2014). Predicting Pear (cv. Clara Frijs) Dry Matter and Soluble Solids Content With Near Infrared Spectroscopy. Food Science and Technology. 59: 1107-1113.

Wills. R. B. H., Wimalasiri. P and Greenfield. H (1984). Dehydroascorbic Acid Levels in Fresh Fruit and Vegetables in Relation to Total Vitamin C Activity. Agricultural and Food Chemistry, 32: 836-838.