

سنجش غیرمخرب عیار چغندر قند با بهره‌گیری از ترکیب طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک (NIR) با روش‌های

شیمی‌سنجی

مهرداد آقایی سعدی^۱، سعید مینایی^{۲*}، بهاره جمشیدی^۳، محمد عبداللهیان نوقابی^۴

۱. دانشجوی دکتری مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشگاه تربیت مدرس

۲. استاد مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشگاه تربیت مدرس

۳. استادیار، موسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۴. دانشیار موسسه تحقیقات چغندر قند، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۵/۱۷ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۶/۵/۱۹ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۷/۱

چکیده

در این پژوهش، توانایی روش طیف‌سنجی NIR بازتابی به منظور سنجش غیرمخرب میزان قند موجود در ریشه‌های چغندر قند بررسی شد. در این راستا، طیف‌گیری از ۱۲۰ نمونه چغندر قند در مد اندازه‌گیری تقابلی و در محدوده‌ی طیفی ۲۵۰۰-۳۵۰۰ nm انجام شد. داده‌های طیفی حاصل از اسپکترومتر، افزون بر اطلاعات نمونه شامل اطلاعات ناخواسته و نویز هستند. به همین دلیل، برای دستیابی به مدل‌های واسنجی دقیق، نیاز به پیش‌پردازش داده‌های طیفی پیش از تدوین مدل‌های رگرسیون است. در این راستا، مدل‌های واسنجی چندمتغیره حداقل مربعات جزئی (PLS) بر پایه‌ی اندازه‌گیری‌های مرجع و اطلاعات طیف‌های پیش‌پردازش‌شده با ترکیب روش‌های مختلف هموارسازی، نرمال‌سازی و افزایش قدرت تفکیک طیفی برای سنجش میزان قند تدوین شدند. نتایج پیش‌گویی میزان قند (SC) نمونه‌های چغندر قند با پوست، با مدل PLS بر پایه ترکیب SG+D2 بهترین تشخیص را دارا بود؛ به گونه‌ای که پیش‌پردازش SG+D2 ($R_C^2=0/973$ ، $RMSEC=0/306$ ، $R_P^2=0/977$ و $RMSEP=0/265$) با دقت عالی ($SDR=6/660$) توانست مقدار SC را پیش‌گویی نماید.

واژه‌های کلیدی: عیار قند ریشه، آنالیز چندمتغیره، طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک، روش‌های پیش‌پردازش

مقدمه

رشد روز افزون جمعیت و افزایش تقاضای محصولات غذایی، اهمیت کشاورزی مدرن را بیش از پیش نمایان ساخته است. این افزایش تقاضا باعث از میان رفتن مرزهای تجاری و حجم بالای مبادلات محصولات غذایی در جهان شده است. حضور موثر در بازار جهانی و رقابت با دیگر کشورها در صادرات محصولات نیازمند توسعه و پیشرفت بیشتر در فناوری‌های پس از برداشت می‌باشد. با توجه به این که کیفیت مواد غذایی به طور مستقیم با سلامت انسان در ارتباط است، سنجش کیفیت محصولات کشاورزی به عنوان یکی از فعالیت‌های مهم در تکنولوژی‌های پس از برداشت بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (Moghimi et al., 2010). میزان قند، اسیدیت، طعم و مزه، بافت، ارزش غذایی و عیوب از جمله ویژگی‌های درونی برخی محصولات کشاورزی می‌باشند که کیفیت محصولات بر اساس آن‌ها سنجیده می‌شود.

ارزیابی ویژگی‌های درونی تا حدودی مشکل‌تر از تعیین و اندازه‌گیری ویژگی‌های بیرونی مانند اندازه، شکل و رنگ می‌باشد (Nikbakht et al., 2011). در سال‌های اخیر، به‌کارگیری روش‌های غیرمخرب در ارزیابی کیفیت محصولات زراعی، مورد توجه بیش‌تر پژوهشگران قرار گرفته است و حجم پژوهش‌های انجام یافته در این زمینه افزایش چشم‌گیری داشته است. در دو دهه‌ی گذشته، به‌کارگیری روش‌های غیرمخرب مانند ماشین بینایی، روش‌های اپتیکی چون طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک، طیف‌سنجی رامان و طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته، انتشار صوت، روش فراصوت و غیره، کاربرد زیادی در ارزیابی کیفیت محصولات کشاورزی پیدا کرده‌اند که هر یک برای اندازه‌گیری پارامتر کیفی خاصی به‌کار گرفته شده است (Butz et al., 2005). طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک^۱ (NIR) به عنوان یک روش غیر مخرب سریع و مقرون به‌صرفه کاربرد گسترده‌ای در

1. Near Infrared Spectroscopy

* نویسنده مسئول: minaee@modares.ac.ir

سنجش کیفیت محصولات کشاورزی در مقایسه با سایر روش‌های غیرمخرب به خود اختصاص داده است. عدم نیاز به آماده‌سازی نمونه، امکان تجزیه در محل، امکان اندازه‌گیری‌های چندجزیی به طور همزمان و سازگاری بیشتر با شرایط زیست محیطی از دیگر مزایای این روش در مقایسه با سایر روش‌های غیرمخرب می‌باشد (Jamshidi et al., 2014). اسپکتروسکوپی NIR نخستین بار، در کاربردهای کشاورزی توسط نوریس در سال ۱۹۶۴ و برای اندازه‌گیری رطوبت غلات بکار برده شد. از آن پس، طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک برای آنالیزهای سریع مقدار رطوبت، پروتئین و چربی سطح گسترده‌ای از مواد غذایی و کشاورزی استفاده شد (Nicolar et al., 2007a). از نخستین پژوهش‌ها در این زمینه می‌توان به اندازه‌گیری میزان ماده خشک پیاز (Birth et al., 1985)، و مقدار آب قارچ (Roy et al., 1993) اشاره کرد. از آنجا که انتشار تابش در بافت میوه و سبزی متاثر از ریزساختار آنهاست، خیلی زود به توانایی اسپکتروسکوپی NIR برای اندازه‌گیری ویژگی‌های مرتبط با ریزساختارها مانند سفتی (Lammertyn et al., 1998)، آسیب‌های درونی (Clark et al., 2003)، و ویژگی‌های حسی (Mehinagic et al., 2004)، پی برده شد. محبوبیت طیف‌سنجی NIR به منظور استفاده در کاربردهای کنترل فرایند و برخط میوه‌ها و سبزی‌ها، با توجه به پیشرفت علم کامپیوتر، روش‌های ریاضی، آماری و شیمی‌سنجی^۱، به ویژه در سال‌های اخیر بیش تر شده است. تاکنون نتایج خوبی از به‌کارگیری اسپکتروسکوپی NIR برای سنجش غیرمخرب گستره‌ای از ویژگی‌های درونی میوه‌ها و سبزی‌ها گزارش شده است (Jamshidi et al., 2011a,b; Jamshidi et al., 2012a,b; Jamshidi et al., 2013; Mireei et al., 2010; Moghimi et al., 2010; Pan et al., 2015a,b; Magana et al., 2011; Bagherpour et al., 2015). در این راستا، پژوهش‌هایی نیز برای تعیین برخی ویژگی‌های کیفی درونی چغندر قند انجام شده است. در زمینه‌ی سنجش عیار و سایر فاکتورهای کیفی چغندر قند با طیف‌سنجی چندین پژوهش اجرا شده که البته اکثر آنها به صورت مخرب بوده و نیازمند تهیه عصاره از ریشه‌هاست. در تحقیقی که بر روی عصاره‌ی ریشه‌ها انجام شد (Roggo et al., 2004)، مقایسه‌ی روش آزمایشگاهی WCA^۲ و روش NIR در تشخیص فاکتورهایی همچون مقدار ساکاروز، مواد جامد محلول، سدیم، نیترژن و پتاسیم انجام گرفت و نتایج نشان داد که NIR توانایی خوبی در ارزیابی شاخص Brix و عیار داشته ولی در تشخیص

1. Chemometrics
2. Wet Chemical Analysis

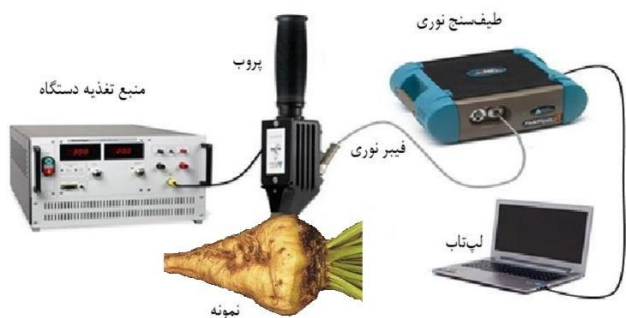
سایر فاکتورها توانایی کمتری دارد. در پژوهشی میزان ساکارز موجود در ریشه‌های چغندر قند با استفاده از طیف‌سنجی NIR در محدوده‌ی ۱۶۰۰-۴۰۰ nm تعیین گردید (Pan et al., 2015a). این محقق و همکارانش در مقاله‌ی دیگری (Pan et al., 2015b) نتایج خوبی برای تعیین رطوبت، خواص مکانیکی، ساکارز و میزان SSC گزارش کرده‌اند. در پژوهشی ویژگی‌های درونی چغندر قند مورد مطالعه قرار گرفت (Magana et al., 2011). در این پژوهش، برخی از پارامترهای کیفی ریشه‌های چغندر قند از جمله سدیم، پتاسیم، اتانول، ساکارز و غیره تعیین گردید. از دیگر پژوهش‌ها در این زمینه می‌توان به اندازه‌گیری مقدار SSC و SC (Bagherpour et al., 2015) در ریشه‌های چغندر اشاره نمود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که به‌کارگیری روش NIR در محدوده‌ی طول موج ۱۶۰۰-۹۰۰ نانومتر توانایی خوبی در تشخیص مقدار SSC چغندر قند دارد ولی در تشخیص مقدار ساکارز تا حدودی ضعیف‌تر عمل می‌کند که این ممکن است به علت غالب بودن پیوندهای جذبی O-H آب در این محدوده باشد. پیشرفت‌های اخیر در روش‌های شیمی‌سنجی، از قبیل پیش‌پردازش و آنالیزهای چندمتغیره و ترکیب این روش‌ها با طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک موجب استخراج اطلاعات مفیدی از یک طیف NIR شده است. داده‌های طیفی به دست آمده از اسپکترومتر، افزون بر اطلاعات نمونه، شامل اطلاعات ناخواسته، پس‌زمینه و نویز نیز می‌باشد. از این‌رو، پژوهش حاضر با هدف بررسی امکان تعیین میزان قند موجود در ریشه‌های چغندر قند بدون برش یا نمونه‌گیری و از روی پوست، مبتنی بر روش طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک (در محدوده‌ی ۲۵۰۰-۳۵۰ نانومتر) با به‌کارگیری روش‌های مختلف پیش‌پردازش طیفی برای دستیابی به مدل‌های واسنجی دقیق و قابل اعتماد انجام شده که می‌تواند برای تعیین ریشه‌های مناسب کشت (دارای کیفیت بهتر) و به منظور اصلاح بذر یا رقم مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌ها

برای انجام طیف‌سنجی ابتدا ۱۲۰ نمونه ریشه چغندر قند به صورت تصادفی و با اندازه‌های مختلف در اواخر بهار سال ۱۳۹۴ از کارخانه‌ی چغندر قند کرمانشاه تهیه و به موسسه تحقیقات چغندر قند کرج منتقل شد. در آزمایشگاه چغندر قند واقع در موسسه تحقیقات، پس از سرزنی و شستشوی نمونه‌ها و با توجه به هدف مورد نظر (تعیین عیار)، نمونه‌ها به صورت طولی و متقارن برش داده شده و برای جلوگیری از افت رطوبت، درون

نانومتر از نوع InGaAs با درجه‌ی حساسیت متفاوتی نسبت به تغییرات دما و رطوبت است که محدوده‌ی طیفی ۲۵۰۰-۳۵۰ nm را به خوبی پوشش می‌دهد. سرعت برداشت هر منحنی طیفی ۰/۱ ثانیه می‌باشد. این اسپکترومتر دارای اندازه تفکیک طیفی^۴ ۳، ۱۰ و ۱۰ نانومتر به ترتیب در ۷۰۰، ۱۴۰۰ و ۲۱۰۰ نانومتر می‌باشد. در این اسپکترومتر از منبع نور هالوژن-تنگستن مدل High Intensity Contact Probe A122300 (ASD, Inc. USA) دارای توان خروجی ۶/۵ وات و ولتاژ DC ۱۸-۱۲ ولت استفاده شده است. یک کاوشگر فیبر نوری تک‌شاخه مدل Ceram Optic 106622 شامل ۵۷ فیبر نوری موازی که به صورت تصادفی توزیع شده‌اند، در اندازه‌گیری‌های مد تقابلی مورد استفاده قرار گرفته است؛ به طوری که ۱۹ فیبر نوری با قطر ۱۰۰ μm، مناسب برای محدوده‌ی طیفی ۳۵۰-۱۰۵۰ nm و ۳۸ فیبر نوری با قطر ۲۰۰ μm، مناسب برای محدوده‌ی طیفی ۲۵۰۰-۱۰۰۰ می‌باشد. شکل ۱ چیدمان طیف‌سنجی مورد استفاده را نشان می‌دهد.



شکل ۱. چیدمان طیف‌سنجی مورد استفاده

آزمایش‌های تعیین عیار نمونه‌ها

پس از انجام آزمون‌های اسپکتروسکوپی، نمونه‌ها به منظور انجام اندازه‌گیری مرجع، در همان روز به آزمایشگاه چغندر قند موسسه تحقیقات کرج منتقل و سنجش عیار قند^۵ انجام شد. متعاقب طیف‌گیری از نمونه‌ها، ابتدا خمیر هر یک از نمونه‌ها با بهره‌گیری از اره‌ی مخصوص تهیه شد. سپس خمیر تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در فریزر قرار داده شد تا کاملاً منجمد شود. درصد ساکاروز نمونه‌ها با بهره‌گیری از دستگاه BETALYZER (Kernchen, Inc. Germany) اندازه‌گیری شد. برای تهیه نمونه ۲۶ گرم خمیر (۲۳ میلی‌لیتر عصاره) با ۱۷۷ cc مخلوط استات سرب قلیایی مخلوط شده و ترکیب حاصل (۲۰۰ میلی‌لیتر

کیسه نایلونی قرار داده شد. نیمی از هر نمونه‌ی برش داده شده طی چهار روز متوالی برای طیف‌سنجی به دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شد و نیمه‌ی دیگر هر نمونه برای انجام اندازه‌گیری‌های مرجع در آزمایشگاه چغندر قند موسسه تحقیقات باقی ماندند. این نمونه‌ها تا زمان طیف‌سنجی در یخچال نگهداری شد. هم‌چنین، پیش از طیف‌سنجی، وزن، طول و قطر استوایی بیشینه و کمینه‌ی نمونه‌ها به ترتیب با ترازوی دیجیتال و کولیس‌ورنیه^۱ اندازه‌گیری شدند.

طیف‌گیری نمونه‌های چغندر قند

پس از انتخاب تجهیزات لازم، چیدمان مناسب اسپکتروسکوپی به منظور دستیابی به طیف‌های نوری مشخص، مناسب و با کم-ترین مقدار نویز برای تفسیر و شناسایی اورتون‌ها و جذب‌های ترکیبی در مد اندازه‌گیری تقابلی ایجاد شد. طیف‌گیری از نمونه‌ها به صورت تماسی انجام گرفت، به این ترتیب که ابتدا نواحی مورد نظر برای طیف‌گیری به صورت تصادفی تعیین شده و سپس با استفاده از پروب بازتابشی مدل A122300 (ASD, Inc. USA) طیف‌گیری از نمونه‌ها انجام شد. پس از ایجاد چیدمان و پیش از اسپکتروسکوپی، ابتدا طیف‌های تیره^۲ (D) و سفید مرجع^۳ (Ref) تعریف و ذخیره شدند. به این ترتیب که نخست با بستن درپوش فیبر نوری و خاموش کردن منبع نور، طیف تیره گرفته شد. سپس در حالی که منبع نور روشن بود، یک دیسک استاندارد از جنس تفلون مدل USP1119 (ASD, Inc. USA) برای دستیابی به طیف مرجع در مد تقابلی به کار گرفته شد. به این ترتیب، پس از طیف‌گیری از نمونه‌ها با بکارگیری پروب بازتابشی در حالت منبع نور روشن و با داشتن طیف‌های تیره و مرجع، نرم‌افزار اسپکترومتر (View Spec Pro) میزان بازتاب را در مدهای اندازه‌گیری مختلف نمایش می‌دهد. بر این اساس، طیف‌سنجی از نمونه‌های چغندر قند از نواحی ذکر شده و با ۴ تکرار در مد تقابلی انجام شد و میانگین^۴ طیف از هر ناحیه، به عنوان طیف معرف آن ناحیه در نمونه‌ی مورد آزمایش، در نظر گرفته شد. در این پژوهش از دستگاه طیف‌سنج FieldSpec3 (ASD, Inc. USA) ساخت کشور آمریکا استفاده شد. این اسپکترومتر بسیار کوچک، سبک، قابل حمل، دارای تکفام‌ساز نوع پاشنده و شامل سه آشکارساز در دامنه‌های طول موج ۳۵۰-۱۰۰۰ دارای ۵۱۲ عنصر از نوع آرایه‌ی سیلیکونی، ۱۸۳۰-۱۰۰۰ از نوع InGaAs و ۲۵۰۰-۱۸۳۰

1. Vernier Caliper
2. Dark
3. White Reference

4. Spectral Resolution
5. Sugar Content

نمونه) برای اندازه‌گیری درصد قند به ساکرومات (SUCROMAT (MCP200, Inc. Germany)) منتقل و درصد قند قرائت شد.

پیش‌پردازش داده‌ها و مدل‌سازی

هدف از پیش‌پردازش طیف‌ها، حذف هر گونه اطلاعات غیرمفیدی است که امکان تاثیر منفی بر نتایج حاصل از طیف-سنجی را دارد. این اطلاعات غیرمفید موجب ایجاد مدل رگرسیونی نامناسبی بین طیف‌ها و پارامتر مورد اندازه‌گیری می‌شود. این اطلاعات می‌تواند در اثر عواملی مانند تغییر فاصله آشکارساز با نمونه، اثر پراکنش نور، تغییر در اندازه نمونه و یا نویزهای ناشی از خود دستگاه حاصل گردند. برای حذف این عوامل از روش‌های مختلف پیش‌پردازش یا ترکیبی از این روش‌ها استفاده می‌شود. بدین منظور، نخست طیف‌های بازتابی حاصل از نمونه‌های چغندر قند برای ایجاد یک ارتباط خطی با غلظت نمونه به طیف‌های جذبی تبدیل و سپس روش‌های پیش‌پردازش روی طیف‌ها اعمال گردید. به منظور آماده‌سازی و پیش‌پردازش طیف‌ها، از ترکیب روش‌های مختلف هموارسازی^۱ و کاهش نویز، نرمال‌سازی^۲ و افزایش قدرت تفکیک طیفی^۳ بهره‌گیری شد. به منظور هموارسازی و حذف نویزهای تصادفی موجود در طیف‌ها از یک فیلتر میانگین‌گیر متحرک (MA)^۴ با عرض پنجره ۳ و هم‌چنین هموارسازی ساویتزکی-گولای بر پایه‌ی الگوریتم SG^۵ با تعداد نقطه‌های همسایگی و درجه چند جمله‌ای به ترتیب برابر با ۳ و ۲ استفاده شد. انتخاب صحیح عرض پنجره فیلتر، تعداد نقطه‌های همسایگی و درجه‌ی چندجمله‌ای به منظور افزایش نسبت سیگنال به نویز بدون از دست دادن اطلاعات پیک‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Jamshidi et al., 2014; Heise & Winzen, 2006). نرمال‌سازی طیف‌ها نیز برای تصحیح اثرهای جمعی^۶ (جابه‌جایی خط پایه^۷) و افزایش (انحراف^۸) ناشی از عوامل فیزیکی مانند پراکنش غیریکنواخت در کل طیف (که میزان پخش بستگی به طول موج تابش دارد)، اندازه‌ی نمونه و ضریب شکست نور با به‌کارگیری روش‌های تصحیح پراکنش افزایش‌دهنده (MSC) و توزیع نرمال استاندارد (SNV) انجام شد (Fu et al., 2007). به منظور افزایش قدرت تفکیک طیفی و آشکار کردن پیک‌های ضعیف، حذف پس‌زمینه

1. Smoothing
2. Normalizing
3. Spectral Resolution
4. Moving Average
5. Savitzky-Golay
6. Additive Effects
7. Baseline Shift
8. Tilt

و جابه‌جایی خط پایه، از مشتق اول و دوم (D_1 و D_2) استفاده شد. در این روش، برای حذف نویز، ابتدا طیف‌ها باید هموار شوند. الگوریتم ساویتزکی-گولای (SG) از معمول‌ترین روش-های هموارسازی است که پیش از مشتق‌گیری به‌کار می‌رود. با هر بار مشتق‌گیری از طیف (افزایش درجه‌ی مشتق)، پیک‌های تیز نسبت به پیک‌های پهن بیش‌تر می‌شوند. به همین دلیل، D_2 نسبت به D_1 به منظور افزایش قدرت تفکیک طیفی بهتر است. در ضمن D_2 همانند روش MSC اثرهای جمعی و افزایش‌دهی طیفی را نیز برطرف می‌کند (Jamshidi et al., 2014). با این حال، مشتق‌گیری سبب کاهش نسبت سیگنال به نویز (به ویژه در مشتق‌های با درجه‌ی بالاتر) می‌شود که مطلوب نیست. از این رو، تعداد نقطه‌های همسایگی و درجه‌ی چندجمله‌ای به ترتیب برابر با ۳ و ۲ در نظر گرفته شد. در این پژوهش از ترکیب روش‌های مختلف پیش‌پردازش برای سنجش عبار چغندر قند به صورت غیرمخرب بهره‌گیری شد. شیوه‌های ترکیبی استفاده شده در این پژوهش عبارتند از: MA+MSC؛ MA+SNV؛ SG+MSC؛ SG+SNV؛ SG+D₂؛ SG+D₁؛ SG+D₂. برای اجرای این روش‌ها نرم‌افزارهای Unscrambler X 10.4 (CAMO Software AS, Norway) و View Spec Pro 6.0.15 (ASD, Inc. USA) و excel 2013 به‌کار گرفته شد.

به منظور ایجاد ارتباط بین ویژگی‌های کیفی اندازه‌گیری شده (متغیرهای وابسته) و داده‌های طیفی (متغیرهای مستقل) از روش‌های مدل‌سازی رگرسیون چندمتغیره بهره‌گیری شد. به دلیل خطی بودن روش طیف‌سنجی NIR، شیوه‌های رگرسیون خطی سازگاری بیشتری با کاربردهای NIR نشان داده‌اند (Jamshidi et al., 2014). به همین دلیل، در پژوهش حاضر از روش مدل‌سازی رگرسیون چندمتغیره‌ی خطی حداقل مربعات جزئی^۹ (PLS) بر پایه‌ی کاهش تعداد متغیرهای طیفی بهره‌گیری شد. در این راستا، ابتدا نمونه‌های پرت از نظر آزمایش-های تعیین عیار (۵ نمونه) با بهره‌گیری از نمودار پراکندگی در نرم‌افزار Excel و داده‌های طیفی (۶ نمونه) با بهره‌گیری از روش تجزیه‌ی مولفه‌های اصلی^{۱۰} (PCA)، مشخص و حذف شدند، به این ترتیب که نمونه‌های بیرون از محدوده‌ی نرمال پراکندگی در نمودار امتیازهای^{۱۱} PCA، به عنوان داده‌های پرت در نظر گرفته شدند (شکل ۲). سپس نمونه‌های باقی‌مانده به صورت تصادفی به دو دسته‌ی واسنجی (۷۵٪ نمونه‌ها) و آزمون (۲۵٪ نمونه‌های باقی‌مانده) به ترتیب برای تدوین مدل واسنجی و پیش‌گویی

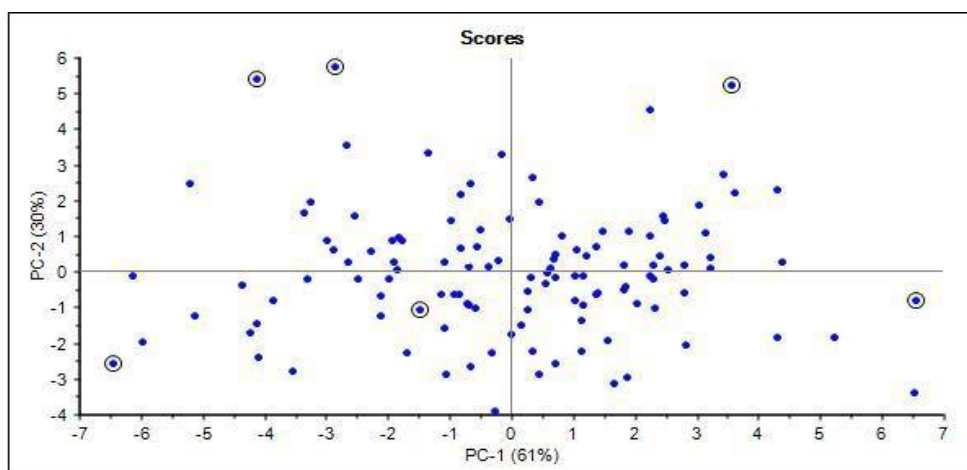
9. Partial Least Squares
10. Principal Component Analysis
11. Scores Plot

و ضریب همبستگی پیش‌گویی^۴ (r_p) و شاخص SDR^۵ اعتبارسنجی شدند (Nicolar et al., 2007b). به دلیل ایجاد نویز در ابتدا و انتهای محدوده‌ی طیفی از ناحیه ۲۴۰۰-۴۰۰ nm استفاده گردید.

تقسیم گردید و در نهایت مدل‌های تدوین شده با استفاده از خطای مدل‌ها به صورت ریشه‌ی میانگین مربعات خطای واسنجی^۱ (RMSEC) و ریشه‌ی میانگین مربعات خطای پیش‌گویی^۲ (RMSEP) و هم‌چنین ضریب همبستگی واسنجی^۳ (r_c)

4. Correlation Coefficient of Prediction
5. Standard Deviation Ratio

1. Root Mean Square Error of Calibration
2. Root Mean Square Error of Prediction
3. Correlation Coefficient of Calibration



شکل ۲. تشخیص داده‌های پرت از نظر طیفی با بهره‌گیری از روش تجزیه‌ی مولفه‌های اصلی (PCA)

جدول ۱. داده‌های آماری مشخصات فیزیکی نمونه‌های چغندر قند

| نمونه‌های آزمون (۲۸ نمونه) | | | | | نمونه‌های واسنجی (۸۱ نمونه) | | | | |
|----------------------------|------|---------|--------|-------|-----------------------------|------|---------|--------|-------|
| CV (%) | SD | میانگین | حداکثر | حداقل | CV (%) | SD | میانگین | حداکثر | حداقل |
| ۱۳/۱۰ | ۱/۳۱ | ۱۰/۰۲ | ۱۲/۰۷ | ۷/۵۴ | ۱۳/۸۵ | ۱/۴۴ | ۱۰/۴۴ | ۱۴/۵۴ | ۷/۷۱ |
| ۳۲/۹۶ | ۰/۴۳ | ۱/۳۱ | ۲/۰۸ | ۰/۷۴ | ۳۸/۳۵ | ۰/۴۷ | ۱/۲۴ | ۲/۶۳ | ۰/۵۵ |
| ۱۴/۷۵ | ۲/۸۷ | ۱۹/۴۸ | ۲۴/۷۶ | ۱۴/۸۳ | ۱۳/۲۵ | ۲/۶۳ | ۱۹/۹۰ | ۲۵/۵۱ | ۱۴/۲۲ |
| ۱۲/۱۰ | ۱/۷۶ | ۱۴/۵۸ | ۱۹/۶۰ | ۱۲/۱۵ | ۱۳/۶۸ | ۱/۹۲ | ۱۴/۰۵ | ۲۰/۲۵ | ۱۰/۷۵ |

وزن و طول، هم‌چنین عیار قند نمونه‌ها را در دسته‌های واسنجی و آزمون (پس از حذف داده‌های پرت) نمایش می‌دهد. قطر هندسی، وزن و طول نمونه‌ها به ترتیب در محدوده‌های ۱۴/۵۴-۷/۷۱ سانتی‌متر و ۲/۶۳-۰/۵۵ کیلوگرم و ۱۴/۲۲-۷/۵۴ سانتی‌متر و ۲/۰۸-۰/۷۴ کیلوگرم و ۲۴/۷۶-۱۴/۸۳ سانتی‌متر برای دسته‌ی واسنجی و ۱۲/۰۷-۷/۵۴ سانتی‌متر و ۲/۰۸-۰/۷۴ کیلوگرم و ۲۴/۷۶-۱۴/۸۳ سانتی‌متر برای دسته‌ی آزمون قرار داشتند و آن بیانگر تنوع نمونه‌ها از نظر مشخصات مورفولوژیک می‌باشد. هم‌چنین، میزان عیار قند موجود در ریشه‌های چغندر قند برای دسته‌های واسنجی و آزمون به ترتیب در محدوده‌ی ۲۰/۲۵-۱۰/۷۵ درصد و ۱۹/۶۰-۱۲/۱۵ درصد به دست آمد.

مشخصات و تفسیر طیف‌ها

طیف‌های خام اولیه نمونه‌های چغندر قند در محدوده‌ی طیفی ۲۴۰۰-۴۰۰ nm در شکل ۳ نشان داده شده است.

در این پژوهش، انتخاب مدل بهینه از بین مدل‌های تدوین شده برای پیش‌گویی عیار چغندر قند بر پایه‌ی داشتن RMSEC و RMSEP کمتر، r_c ، r_p و SDR بیش‌تر انجام شد. کم‌تر بودن اختلاف بین RMSEC و RMSEP نیز در مرحله‌ی بعد مد نظر قرار گرفت. هم‌چنین با ترسیم نمودار PCs در مقابل RMSE، تعداد بهینه PCS به گونه‌ای انتخاب شد که در آن‌ها مدل، کم‌ترین مقدار RMSEP را داشته باشد. کم‌تر بودن اختلاف RMSEC و RMSEP نیز در این نمودارها در مرحله‌ی بعد مد نظر قرار گرفت.

نتایج و بحث

مشخصات نمونه‌ها

جدول ۱ داده‌های آماری (حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات) مشخصات فیزیکی شامل قطر هندسی،

مطابق شکل ۳، طیف جذبی نمونه‌های چغندرقد در ناحیه‌ی طیفی ۴۰۰-۹۰۰ nm روند کاهشی دارد و از ۹۰۰-۲۴۰۰ nm ضمن داشتن روند افزایشی شامل پیک‌های پهنی در نواحی مختلف طیفی می‌باشد. طیف‌های NIR به ترکیب‌های آلی تشکیل شده از پیوندهای مولکولی C-H، O-H و N-H که در آب، مواد جامد محلول و ساکارز وجود دارد، حساس هستند. از این رو، تفسیر طیف‌ها به منظور مطالعه‌ی ساختاری بر اساس شناسایی اورتون‌ها و جذب‌های ترکیبی گروه‌های عاملی (O-H، C-H و N-H) انجام می‌شود. در ناحیه‌ی ۹۰۰-۲۴۰۰ nm، پیک‌های جذبی بارزی در اطراف طول موج ۹۸۰، ۱۱۹۰، ۱۴۵۰ و ۱۷۹۰ و ۱۹۰۰ نانومتر وجود داشت که آن‌ها را می‌توان به ترتیب ناشی از اورتون‌های دوم O-H و یا NH₂، اورتون دوم H و یا اورتون‌های چهارم C-H، CH₂ و یا CH₃، و سومی را به اورتون‌های سوم O-، اورتون‌های سوم C-H، CH₂ و یا CH₃، و یا کارگیری روش‌های نرمال‌سازی SNV و MSC باعث نزدیکی طیف‌ها به یکدیگر و وضوح تفاوت طیف‌ها در محل طیف‌های جذبی شد.

مدل PLS برای سنجش عیار نمونه‌ها

نتایج واسنجی و پیش‌گویی مدل PLS بر پایه‌ی ترکیب روش‌های مختلف پیش‌پردازش و طیف‌های NIR برای مقدار SC در جدول ۲ آمده است. یافته‌ها نشان داد که در میان روش‌های پیش‌پردازش مختلف، مشتق‌های اول و دوم نسبت به روش‌های MA و SG مناسب‌ترند. هم‌چنین، برای سنجش عیار چغندرقد، مشتق دوم (D2) نسبت به مشتق اول (D1) نتایج بهتری را ارائه داد.

مطابق شکل ۳، طیف جذبی نمونه‌های چغندرقد در ناحیه‌ی طیفی ۴۰۰-۹۰۰ nm روند کاهشی دارد و از ۹۰۰-۲۴۰۰ nm ضمن داشتن روند افزایشی شامل پیک‌های پهنی در نواحی مختلف طیفی می‌باشد. طیف‌های NIR به ترکیب‌های آلی تشکیل شده از پیوندهای مولکولی C-H، O-H و N-H که در آب، مواد جامد محلول و ساکارز وجود دارد، حساس هستند. از این رو، تفسیر طیف‌ها به منظور مطالعه‌ی ساختاری بر اساس شناسایی اورتون‌ها و جذب‌های ترکیبی گروه‌های عاملی (O-H، C-H و N-H) انجام می‌شود. در ناحیه‌ی ۹۰۰-۲۴۰۰ nm، پیک‌های جذبی بارزی در اطراف طول موج ۹۸۰، ۱۱۹۰، ۱۴۵۰ و ۱۷۹۰ و ۱۹۰۰ نانومتر وجود داشت که آن‌ها را می‌توان به ترتیب ناشی از اورتون‌های دوم O-H و یا NH₂، اورتون دوم H و یا اورتون‌های چهارم C-H، CH₂ و یا CH₃، و سومی را به اورتون‌های سوم O-، اورتون‌های سوم C-H، CH₂ و یا CH₃، و یا کارگیری روش‌های نرمال‌سازی SNV و MSC باعث نزدیکی طیف‌ها به یکدیگر و وضوح تفاوت طیف‌ها در محل طیف‌های جذبی شد.

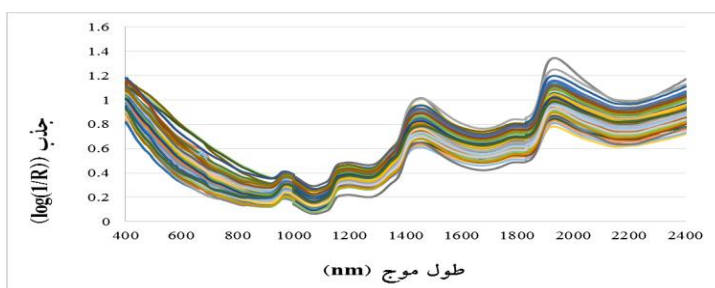
پیش‌پردازش طیف‌ها

شکل ۴، طیف‌های جذبی NIR نمونه‌های چغندرقد را پس از پردازش با شش ترکیب مختلف روش‌های پیش‌پردازش شامل MA+MSC، MA+SNV، SG+MSC، SG+SNV، SG+D1 و SG+D2

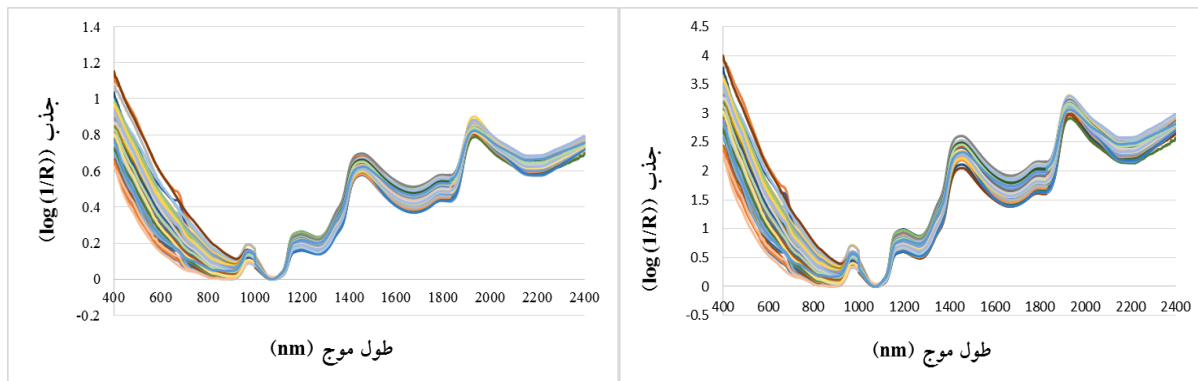
جدول ۲- نتایج واسنجی و پیش‌گویی مدل PLS بر پایه‌ی ترکیب روش‌های مختلف پیش‌پردازش و طیف‌های NIR برای SC نمونه‌های چغندرقد

| پیش‌پردازش | مدل | PCs | RMSEC (%) | r _c | RMSEP (%) | r _p | SDR |
|-----------------|------------|-----------|--------------|----------------|--------------|----------------|--------------|
| بدون پیش‌پردازش | PLS | ۱۵ | ۱/۲۷۹ | ۰/۷۳۲ | ۱/۰۳۶ | ۰/۸۱۲ | ۱/۷۰۴ |
| MA+MSC | PLS | ۱۳ | ۱/۳۷۸ | ۰/۶۸۰ | ۱/۲۰۶ | ۰/۷۳۴ | ۱/۴۶۳ |
| MA+SNV | PLS | ۱۴ | ۱/۳۶۳ | ۰/۶۸۸ | ۱/۲۰۳ | ۰/۷۳۵ | ۱/۴۶۷ |
| SG+MSC | PLS | ۱۳ | ۱/۳۷۲ | ۰/۶۸۳ | ۱/۲۰۰ | ۰/۷۳۶ | ۱/۴۷۰ |
| SG+SNV | PLS | ۱۴ | ۱/۳۵۷ | ۰/۶۹۲ | ۱/۲۰۰ | ۰/۷۳۶ | ۱/۴۷۰ |
| SG+D1 | PLS | ۱۴ | ۰/۳۷۶ | ۰/۹۷۹ | ۰/۳۶۱ | ۰/۹۷۸ | ۴/۸۸۹ |
| SG+D2 | PLS | ۱۰ | ۰/۳۰۶ | ۰/۹۸۶ | ۰/۲۶۵ | ۰/۹۸۸ | ۶/۶۶۰ |

مقدارهای پررنگ نشان دهنده‌ی بهترین مدل تدوین شده (با توجه به معیارهای اعتبارسنجی) برای پیش‌گویی SC در نمونه‌های چغندرقد است.

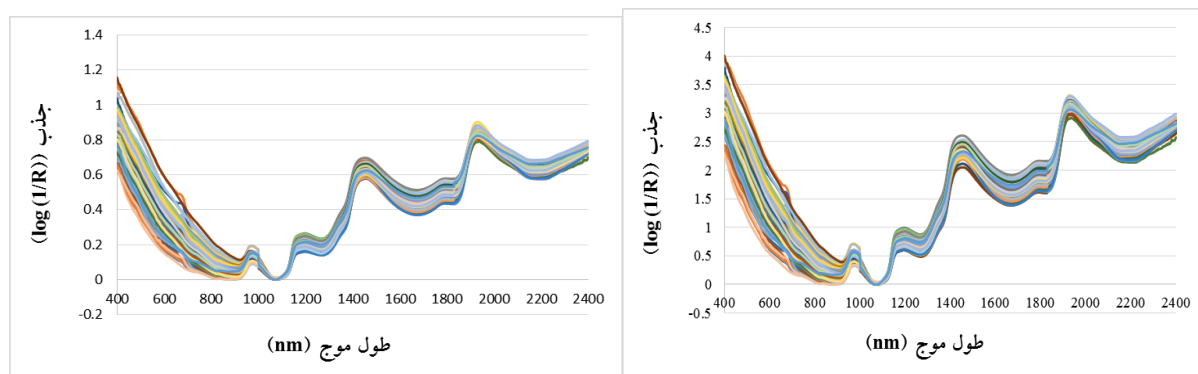


شکل ۳. طیف خام اولیه از نمونه‌های چغندرقد



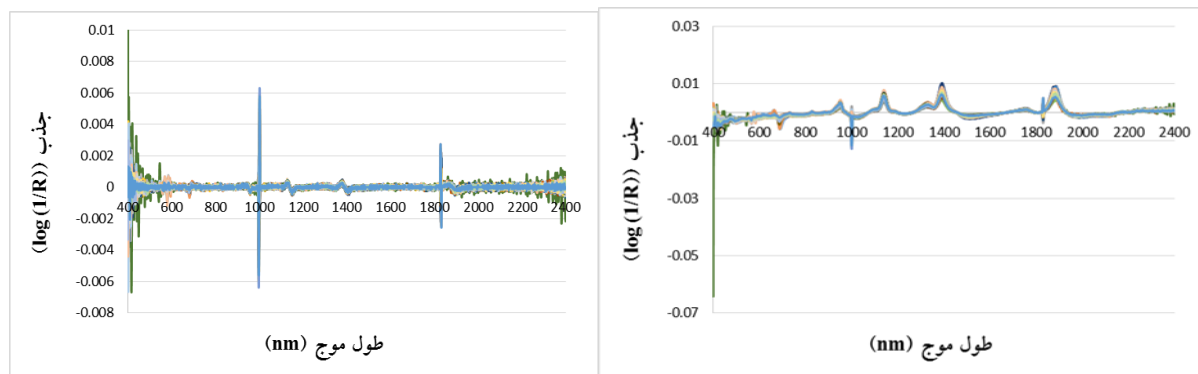
(ب)

(الف)



(د)

(ج)



(و)

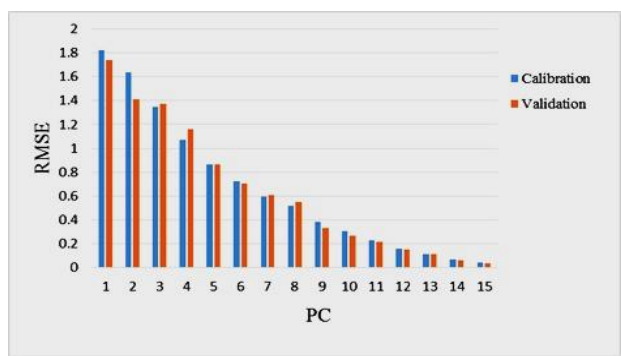
(ه)

شکل ۴. طیف‌های جذبی NIR نمونه‌های چغندر قند پردازش شده با ترکیب روش‌های (الف) MA+SNV، (ب) MA+MSC، (ج) SG+SNV، (د) SG+MSC، (و) SG+D1 و (ه) SG+D2

تشخیص و پیش‌گویی مقدار SC با مدل PLS و ترکیب روش-های پیش‌پردازش SG+D1 نیز با دقت خوب امکان‌پذیر بود ولی با ترکیب روش‌های پیش‌پردازش MA+SNV، MA+MSC و SG+SNV (به دلیل دارا بودن SDR نزدیک به ۱/۵) نتایج چندان مناسبی به دست نیامد. نتایج سنجش میزان قند نمونه‌های چغندر قند با مدل PLS تدوین شده بر پایه‌ی روش پیش‌پردازش SG+D2 از نظر خطای RMSEC و RMSEP

با توجه به جدول ۲ و مقدار شاخص‌های SDR، r_p ، r_c ، RMSEC و RMSEP مدل‌های تدوین شده، نتایج پیش‌گویی مقدار SC نمونه‌های چغندر قند، با مدل PLS بر پایه ترکیب SG+D2 بهترین تشخیص را دارا بود؛ به گونه‌ای که پیش-پردازش SG+D2 ($r_c=0/986$ ، $r_p=0/988$ ، $RMSEC=0/306$ و $RMSEP=0/265$) با دقت عالی ($SDR=6/660$) توانست مقدار SC را تشخیص داده و پیش‌گویی نماید. این درحالی است که

شکل ۶ نمودارهای RMSEP و RMSEC در هر PC را برای مدل PLS تدوین شده بر پایه ترکیب روش‌های پیش‌پردازش SG+D2 به منظور پیش‌گویی میزان SC بر اساس طیف‌های NIR برای نمونه‌های چغندر قند نشان می‌دهد. همان گونه که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، مدل رگرسیون تدوین شده مذکور کم‌ترین مقدار RMSEP و کم‌ترین اختلاف RMSEP با RMSEC را در PC=۱۰ دارد که منجر به ارائه بهترین نتایج پیش‌گویی مقدار SC نمونه‌ها و عدم بیش‌برازش مدل شد. بنابراین مقدار بهینه مولفه‌ی اصلی ۱۰ در نظر گرفته شد.



شکل ۶. نمودارهای RMSEP و RMSEC در هر PC برای مدل PLS تدوین شده بر پایه طیف‌های NIR و پیش‌پردازش SG+D2 برای پیش‌گویی SC نمونه‌های چغندر قند

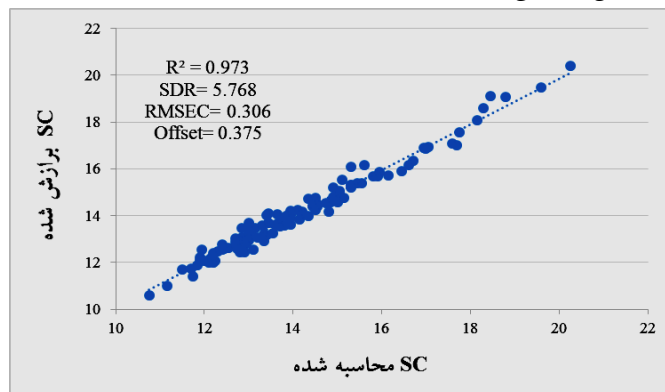
نتیجه‌گیری

تفسیر و بررسی طیف‌های NIR نمونه‌های چغندر قند نشان داد که از روش اسپکتروسکوپی NIR بازتابی (در محدوده‌ی طیفی ۲۵۰۰-۳۵۰۰ نانومتر) در ترکیب با انواع روش‌های پیش‌پردازش و مدل‌سازی رگرسیون چندمتغیره خطی PLS می‌توان برای تشخیص و پیش‌گویی عیار چغندر قند بهره برد. اعتبارسنجی مدل‌های PLS تدوین شده بر پایه ترکیب انواع روش‌های مختلف پیش‌پردازش طیفی نیز نمایان‌گر این بود که این روش‌ها بر نتایج پیش‌بینی اثر مستقیم دارند. همچنین، نتایج آنالیزهای کمی نشان داد که پیش‌پردازش SG+D2 ($r_c=0/986$) مقدار SC را در نمونه‌های چغندر با پوست با دقت عالی ($SDR=6/660$) پیش‌گویی نماید. از طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک می‌توان برای سنجش میزان عیار ریشه‌های چغندر قند در هنگام تحویل محصول به کارخانه‌های چغندر قند بهره گرفت

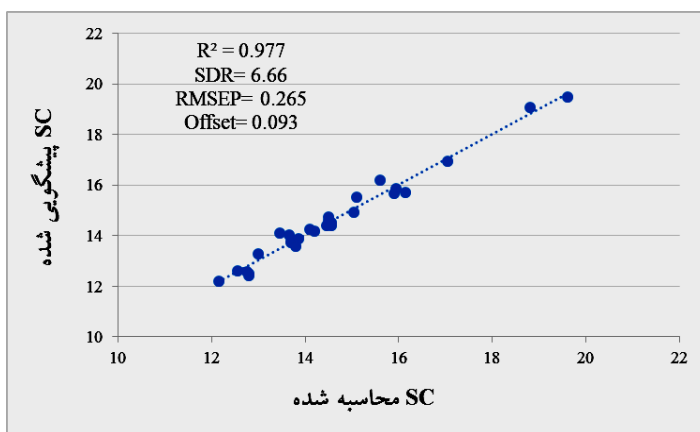
REFERENCES

Bagherpour, H., Minaei, S., Abdollahian, N. M., and Khorasani Fardvani, M. E. (2015). Non-Destructive Determination of Sugar Content in Root Beet by Near Infrared Spectroscopy (NIRS).

بهرتر و از نظر ضریب تبیین r_p مشابه نتایج پژوهشی است (Bagherpour *et al.*, 2015) که با مدل PLS تدوین شده بر پایه‌ی پیش‌پردازش MSC در محدوده‌ی طیفی ۱۶۰۰-۹۰۰ نانومتر برای نمونه‌های چغندر قند که برش داده شده بودند ($RMSEC=1/6$, $r_p=0/950$ و $RMSEP=1/7$) ارائه شده است. همچنین، نتایج به‌دست آمده از این پژوهش در پیش‌بینی SC برای نمونه‌های چغندر قند بهتر از نتایج پژوهشی است (Pan *et al.*, 2015a) که با مدل‌های PLS تدوین شده بر پایه‌ی SNV+SG در محدوده‌ی طیفی ۱۶۰۰-۴۰۰ نانومتر ($r_c=0/92$, $RMSEC=0/59$, $r_p=0/88$ و $RMSEP=0/69$) گزارش شده است. نتایج پیش‌گویی عیار نمونه‌های چغندر قند (نمودار مقدارهای برآزش و پیش‌گویی شده SC در مقابل مقدارهای محاسبه‌شده آن) با بهترین مدل رگرسیون تدوین شده در شکل ۵ نشان داده شده است.



(الف)



(ب)

شکل ۵. منحنی مقدارهای پیش‌گویی شده و محاسبه شده‌ی SC برای نمونه‌های چغندر قند (الف) نمونه‌های واسنجی، (ب) نمونه‌های آزمون

Iranian Journal of Food Science and Technology, 12(46), 219-228.

Birth, G. S., Dull, G. G., Renfro, W. T. and Kays, S. J. (1985). Nondestructive spectrophotometric

- determination of dry matter in onions. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 110(2), 297-303.
- Butz, P., C. Hofmann, and B. Tauscher. (2005). Recent developments in noninvasive techniques for fresh fruit and vegetable internal quality analysis. *Journal of Food Science*. 70 (9), 131-141.
- 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(2), 72-83.
- Clark, C. J., McGlone, V. A. and Jordan, R. B. (2003). Detection of brownheart in 'Braeburn' apple by transmission NIR spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 28(1), 87- 96.
- Fu, X., Ying, Y., Lu, H., Xu, H. and Yu, H. (2007). FT-NIR diffuse reflectance spectroscopy for kiwifruit firmness detection. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, 1(1), 29-35.
- Heise, H. M. and Winzen, R. (2006). Chemometrics in Near-Infrared Spectroscopy. In: Siesler, H. W., Ozaki, Y., Kawata, S. and Heise, H. M. (Eds.) *Near-Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments, Applications*. 3rd Reprint. Wiley-VCH. Germany.
- Jamshidi, B., Minaei, S., Mohajerani, E. and Ghassemian, H. (2011a). Analysis of citrus peel for nondestructive determination of fruit composition by reflectance Vis/NIR spectroscopy. Proceeding of the XXXIV CIOSTA CIGR V Conference on Efficient and Safe Production Processes in Sustainable Agriculture and Forestry. June 29 - July 1. Vienna. Austria.
- Jamshidi, B., Minaei, S., Mohajerani, E. and Ghassemian, H. (2012a). Multivariate analysis of reflectance Vis/NIR spectra based on wavelet transform for non-destructive and detection of orange color and pH simultaneously. Proceeding of the 7th National Congress on Agricultural Machinery Engineering and Mechanization. Sep. 4-6. Shiraz. Iran. (in Farsi)
- Jamshidi, B., Minaei, S., Mohajerani, E. and Ghassemian, H. (2012b). Vis/NIR spectroscopy for nondestructive classification of orange varieties. Proceeding of the 7th National Congress on Agricultural Machinery Engineering and Mechanization. Sep. 4-6. Shiraz. Iran. (in Farsi)
- Jamshidi, B., Minaei, S., Mohajerani, E. and Ghassemian, H. (2013). Linear multivariate model based on NIR spectroscopy for non-destructive internal quality prediction of orange. Proceeding of the 19th Iranian Conference on Optics and Photonics, and 5th Iranian Conference on Photonics Engineering. Jan. 22-24. Zahedan. Iran. (in Farsi)
- Jamshidi, B., Minaei, S., Mohajerani, E. and Ghassemian, H. (2014). Effect of Spectral Pre-Processing Methods on Non-Destructive Quality Assessment of Oranges Using NIRS. *Journal of Agricultural Engineering Research*. 15(2), 27-44. (in Farsi)
- Jamshidi, B., Minaei, S., Mohajerani, E., Ghassemian, H. and Afkhami Ardakani, H. (2011b). Reflectance spectra analysis of citrus by Vis/NIR spectroscopy for nondestructive determining of inner chemical compositions. Proceeding of the 17th Iranian Conference on Optics and Photonics, and 3rd Iranian Conference on Photonics Engineering. Feb. 8-10. Kerman. Iran. (in Farsi)
- Lammertyn, J., Nicolai, B. M., Ooms, K., De Smedt, V. and De Baerdemaeker, J. (1998). Non-destructive measurement of acidity, soluble solids, and firmness of Jonagold apples using NIR spectroscopy. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 41(4), 1089-1094.
- Magana, C., Núñez-Sánchez, N., Fernández-Cabanás, V. M., García, P., Serrano, A., Pérez-Marín, D., and Alcalde, E. (2011). Direct prediction of bioethanol yield in sugar beet pulp using Near Infrared Spectroscopy. *Bioresource Technology*, 102(20), 9542-9549.
- Mehinagic, E., Royer, G., Symoneaux, R., Bertrand, D. and Jourjon, F. (2004). Prediction of the sensory quality of apples by physical measurements. *Postharvest Biology and Technology*, 34(3), 257-269.
- Mireei, S. A., Mohtasebi, S. S., Massudi, R., Rafiee, S. and Arabanian, A. S. (2010). Feasibility of near infrared spectroscopy for analysis of date fruits. *International Agrophysics*, 24, 351-356.
- Moghimi, A., Aghkhani, M. H., Sazgarnia, A. and Sarmad, M. (2010). Vis/NIR spectroscopy and chemometrics for the prediction of soluble solids content and acidity (pH) of kiwifruit. *Biosystems Engineering*, 106(3), 295-302.
- Nicolai, B. M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K. I. and Lammertyn, J. (2007a). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology*, 46(2), 99-118.
- Nicolai, B. M., Theron, K. I. and Lammertyn, J. (2007b). Kernel PLS regression on wavelet transformed NIR spectra for prediction of sugar content of apple. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 85(2), 243-252.
- Nikbakht, A. M., Tavakkoli Hashtjin, T., Malekfar, R., and Ghobadian, B. (2011). Nondestructive determination of tomato fruit quality parameters using Raman spectroscopy. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13(4), 517-526.
- Pan, L., Lu, R., Zhu, Q., McGrath, J. M., and Tu, K. (2015b). 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. M. (2015a). Determination of sucrose content in sugar beet by

- portable visible and near-infrared spectroscopy. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 167, 264-271.
- Roggo Y., Duponchel, L., and Huvenne, J.P. (2004). Quality Evaluation of Sugar Beet (*Beta vulgaris*) by Near-Infrared Spectroscopy. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52(5), 1055-1061.
- Roy, S., Anantheswaran, R., Shenk, J., Westerhaus, M. O. and Beelman, R. (1993). Determination of moisture content of mushrooms by VIS-NIR-spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 63(3), 355-360.