Archive of SID

کاربرد طیف‌سنجی رامان در بررسی غیرمخرب پارامترهای کیفی گوجه فرنگی

علی محمدنیکبخت[۱]، تیمور توکلی هشجین[۲*]، رسول ملک‌فر[۳]، برات قبادیان[۲]

۱- دانشجوی دکتری تخصصی مکانیک ماشینهای کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس (هیئت علمی دانشگاه ارومیه)

۲- استاد و دانشیار گروه مهندسی مکانیک ماشینهای کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۳- دانشیار گروه فیزیک اتمی-مولکولی، دانشگاه تربیت مدرس

(تاریخ دریافت: ۸۷/۷/۳ تاریخ پذیرش: ۸۷/۹/۳)

چکیده

روشهای غیر مخرب در کشاورزی از این جهت حایز اهمیت می‌باشد که محصول مورد بررسی به چرخه عرضه و مصرف برگشته و نیز مشکلات نمونه‌گیری روشهای مخرب را ندارند. بنابراین مهمترین مساله در کیفیت سنجی روی خط (on/in line) در مقیاس صنعتی این است که نباید هیچ گونه آسیبی به میوه‌جات و سبزیجات وارد شود. کوچکترین آسیب چه مشهود و چه غیرمشهود، باعث بوجود آمدن مشکلاتی در فرآوری، انبارداری و یا گسترش بیماری خواهد شد. در سالهای اخیر پردازش تصویر، روشهای نوری مانند طیف‌بینی رامان، NMR و NIR، 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 روشهای مختلفی بکار برده می‌شود که اغلب آنها مخرب و یا کند می‌باشند ولی اندازه‌گیری سریع، غیر مخرب و دقیق عامل‌های کیفی میوه‌ها از جمله میوه گوجه فرنگی نظیر میزان مواد جامد محلول، pH و رنگ از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. برای همین منظور از روش رامان برای اندازه‌گیری غیرمخرب این خصوصیات در گوجه‌فرنگی استفاده شد. قندهای موجود در گوجه‌فرنگی نیز در آزمایش HPLC بررسی شدند و طیف‌گیری از این قندها توسط دستگاه رامان انجام شد. نتایج حاصل حاکی از اینست که طیف‌های بدست آمده از پراکندگی رامان می‌توانند نوارهای بسیار مهمی را بروز دهند. این نوارها را می‌توان به ارتعاش‌های 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 و بیانگر رنگ میوه می‌باشند. همچنین با مقایسه طیف‌های قند خالص و طیف‌های گرفته شده از میوه به صورت غیرمخرب می‌توان اثر انگشت‌های طیفی مربوط به قندها را نیز در محدوده طیفی $3000\ cm^{-1}$ و $2300\ cm^{-1}$ کاوش نمود. بطور کلی می‌توان طیف‌سنجی رامان را به عنوان روشی مطمئن، سریع و کارا در اندازه‌گیری عامل‌های کیفی میوه‌ها اعم از خصوصیات داخلی (قند) و خارجی (رنگ) پیشنهاد نمود.

کلیدواژگان: طیف‌سنجی رامان، گوجه‌فرنگی، ارزیابی غیر مخرب، عامل‌های کیفی

* مسئول مکاتبات: ttavakoli@modares.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

اندازه‌گیری پارامترهای کیفی و کمی در محصولات کشاورزی به صورتی که میوه یا محصول مورد نظر هیچ گونه آسیبی ندیده و دوباره به چرخه مصرف برگردد، را آزمون غیرمخرب گویند [۱].

آزمایش‌هایی غیرمخرب محسوب می‌شوند که اثرات مخرب فتوفیزیکی، حرارتی، شیمیایی، مکانیکی و فتوشیمیایی نداشته باشند [۲]. روش‌های متعددی تاکنون برای کیفیت سنجی غیر مخرب محصولات کشاورزی ابداع شده‌اند که تنها برخی از آنها توانسته شرایط فوق را برآورده ساخته و از لحاظ فنی و صنعتی توجیه داشته باشند (جدول ۱).

جدول ۱ روش‌های مختلف اندازه‌گیری غیر مخرب پارامترهای کیفی محصولات کشاورزی [۳]

مبنای فیزیکی	روش اندازه‌گیری	خصوصیات قابل اندازه‌گیری
نوری	پردازش و تحلیل تصویر	اندازه، 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
	ارتعاشی	سفتی، رسیدگی، ویسکوالاستیسیته
مکانیکی	صوتی و فراصوتی	سفتی، رسیدگی، ویسکوالاستیسیته، حفره‌های داخلی، قند و چگالی
الکترومغناطیس	MRI و NMR	رطوبت، قند، حفره‌های داخلی

روش‌های نوری، مکانیکی، شیمیایی و امواج الکترومغناطیسی و صوتی در توسعه آزمون‌های غیرمخرب نقش اساس داشته‌اند. اما روش‌های به‌کار 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. استفاده از تابش‌های منعکس شده، 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 تغییر می‌کند، می‌توان از طیف‌سنجی‌های مختلف برای اندازه‌گیری برخی خواص مختلف از جمله رنگ آنها استفاده نمود [۱]. 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.

در بین روش‌های یاد شده در جدول ۱، طیف‌سنجی لیزری 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 [۲و ٤].وقتی نور فرودی (که در رامان یک نوع لیزر می‌باشد) با یک مولکول دو اتمی ارتعاش کننده وارد برهم کنش می‌گردد، مدل کلاسیک پدیده پراکندگی را می‌توان با استفاده از ممان دوقطبی القایی نشان داد [۵]:

$$P=\alpha_0 E_0 \cos 2\pi\nu_0 t+\frac{1}{2}\left(\frac{\partial\alpha}{\partial q}\right)q_0 E_0[\cos\{2\pi(\nu_0+\nu_m)t\}+\cos\{2\pi(\nu_0-\nu_m)t\}] \quad (۱)$$

که در آن، P ممان دو قطبی القایی، قطبش‌پذیری مولکول مرتعش نشده، میدان الکتریکی، تغییرات قطبش پذیری نسبت به فاصله دو اتم، دامنه ارتعاش، فرکانس نور فرودی، فرکانس مولکول و t زمان است.معادله ۱ نشان می‌دهد موقعی که موج نوری با یک مولکول دو اتمی ارتعاش کننده برهم‌کنش می‌کند، ممان دوقطبی القایی (P) دارای سه جزء وابسته به زمان شامل پراکندگی رایلی، رامان استوکس و آنتی‌استوکس می‌باشد [۵]. در این تحقیق از جزء رامان استوکس جهت کاوش خصوصیات مولکولی استفاده شده است.

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 را آب تشکیل می‌دهد).
- رامان می تواند محدوده وسیعی از نواحی طیفی را (۱۰ cm^{-1} تا ٤۰۰۰ cm^{-1}) در یک بار ثبت طیفی پوشش دهد. این در حالیست که

www.SID.ir

Archive of SID

برای پوشش چنین محدوده‌ای با تکنیک IR به شبکه‌های پخش کننده، صافی‌ها و آشکارسازهای متنوعی نیاز هست و باید برای هر محدوده این تجهیزات را تغییر داد [٦].

– 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 [۷].

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 [۷]. با این توصیف تکنیک رامان، روشی رو به رشد است و هر روز ابعاد جدیدی از کاربردهای آن برای محققان روشن می‌شود [۵].

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. با استفاده از تصاویر طیفی (۳۹٦ تا ۷۳٦ نانومتر) درجه رسیدگی گوجه فرنگی در مراحل مختلف مورد بررسی قرار گرفته است و نتایج حاکی از آنست که روش مذکور در مقایسه با تصاویر RGB[1] (نوعی از تصویر دیجیتال که در آن مقادیر پیکسل‌ها شدت‌های سه رنگ قرمز، سبز و آبی تصویر می‌باشند) نتیجه مطلوبتری ارائه می‌دهد [۸]. 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 [۹]. 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 ۱۰٦٤ nm نتیجه قابل قبولی ارائه کرد [۷]. 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 [۱۰]. حتی طیف‌سنج‌های دستی رامان به مرحله تولید صنعتی رسیده‌اند و استفاده می‌شوند [۱۰].

میوه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* L.) منبع غنی از آنتی‌اکسیدان، ویتامین‌ها و ترکیبات غذایی می‌باشد [۱۱] و تشخیص و بررسی دقیق میزان این ترکیبات در ارزیابی کیفی محصول عرضه شده به بازار نقش عمده‌ای دارد [۱۲]. 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 واسنجی 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 [۱۳]. 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. هدف از این تحقیق بررسی طیف‌سنجی رامان در کاوش عاملهای کیفی گوجه‌فرنگی و پتانسیل سنجی کاربرد آن در تشخیص غیرمخرب این عامل‌ها می‌باشد.

۲–مواد و روشها

دستگاه طیف‌سنج Thermo Nicolet از نوع پاشنده (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 آزمایش‌ها از توان ۳۰ میلی‌وات استفاده شد. وضوح طیف های گرفته شده $2\ cm^{-1}$ بوده که در طیف‌سنجی یک وضوح ایده‌آل به شمار می‌رود، و پهنای نوار علامت‌های گرفته شده بین عدد موجهای cm^{-1}

1. Red-Green-Blue

www.SID.ir

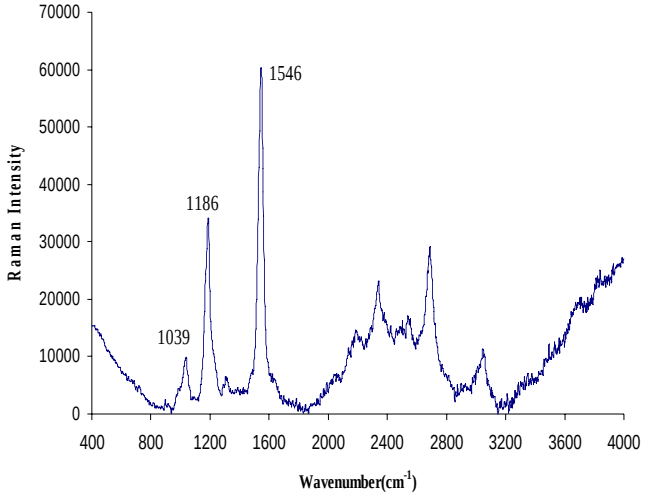
Archive of SID

۴۰۰ و cm^{-1} ۴۰۰۰ انتخاب شد که در محدوده مادون قرمز قرارگرفته و بهترین گستره جهت نمایش ترکیبات مولکولی می‌باشد. آب میوه نمونه‌های مورد آزمایش پس از انجام آزمایش های نوری به آزمایشگاه صنایع غذایی منتقل شده و آزمون‌های pH، قند محلول و رنگ بر روی آنها انجام شد. از دستگاه Metrohm (827 pH Lab, UK) برای اندازه‌گیری pH نمونه‌ها و از رفرکتومتر ATAGO مدل DR-A1(ATAGO, CO. Ltd. Japan) برای اندازه‌گیری میزان مواد جامد محلول به صورت Brix استفاده 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 به صورت علائم 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 نوارهای مهم و تعیین کننده، مشتق گیری طیف‌ها انجام شد. در نهایت اشکال بخش نتایج به صورت واضح توانستند نوارهای موثر و مهم تعیین کننده خصوصیات داخلی میوه را بروز دهند.

برای هر ۱۰۰ گرم میوه گوجه فرنگی، منابع صنایع غذایی ترکیبات مختلفی را گزارش نموده‌اند که البته تفاوت چندانی با همدیگر نداشته و می‌توان به طور تقریبی از آنها استفاده نمود. بر این اساس، باید در میوه موردنظر و طیف‌های گرفته شده، در جستجوی نوارهای مربوط به کربوهیدرات‌ها (که در گوجه‌فرنگی همان قندها گزارش شده است) نیز بود. از این‌رو در یک آزمایش جداگانه، با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) میزان این قندها (فروکتوز، ساکاروز، گلوکز) تعیین شدند. با توجه به حساسیت این روش و به منظور به حداقل رساندن خطا در اندازه گیری نمونه ها، باید نمونه تا حد ممکن شفاف باشد . به این منظور جهت حذف ذرات معلق ، ابتدا آب نمونه تهیه شده با سانتریفوژ یخچال دار مدل SIGMA 4 K 15 .کشور آلمان در rpm۱۰۰۰ سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ، نمونه‌ها در دو مرحله کاملا صاف شده و در نهایت ۲۰ میکرولیتر از این نمونه صاف شده به دستگاه HPLC (WATERS 600, E USA) با ستون Bondapack^{TM} C18 (250mm×4.6 mm) تزریق شد. حلال استونیتریل/آب (۷۵-۲۵) و سرعت جریان ۱ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان فاز متحرک استفاده شد. عمل جداسازی در دمای اتاق و با آشکارساز RI (Refractive Index) از شرکت WATERS انجام شد. تزریق استانداردها در غلظتهای ppm ۲۰۰۰ تا ppm ۱۰۰۰۰،انجام شد و سطح زیر پیکهای مربوطه به عنوان شاخص اصلی محاسبه گردید. منحنی استاندارد بر اساس این مقدار برای غلظتهای مختلف رسم شد و در نهایت نمونه های تهیه شده در سه تکرار به دستگاه HPLC تزریق شد و با توجه به زمان بازداری، سطح زیر پیک هر قند، نوع و غلظت هر کدام تعیین گردید.

۳-نتایج و بحث

مطابق تحقیقات قبلی که توسط طیف‌سنجی رزونانسی رامان (RRS[1]) بر روی کارتنوئیدهای برخی محصولات کشاورزی انجام شده است، این نوارها را می‌توان به ارتعاش‌های 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 [۱۴]. به طور کلی طیف‌های ارتعاشی کارتنوئیدها سه منطقه مشخصه ارتعاش‌های کششی C-C را دارا هستند. همانطور که در شکل‌های ۱و۲ دیده می‌شود، نوارهای 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 [۱۵].

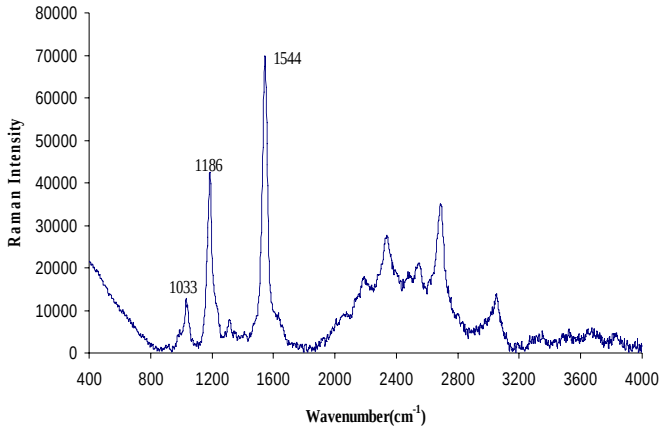


شکل ۱ طیف‌های رامان در گوجه‌فرنگی، میوه در مرحله رسیدگی قرمز شدن (صورتی)

1. Resonance Raman Spectroscopy

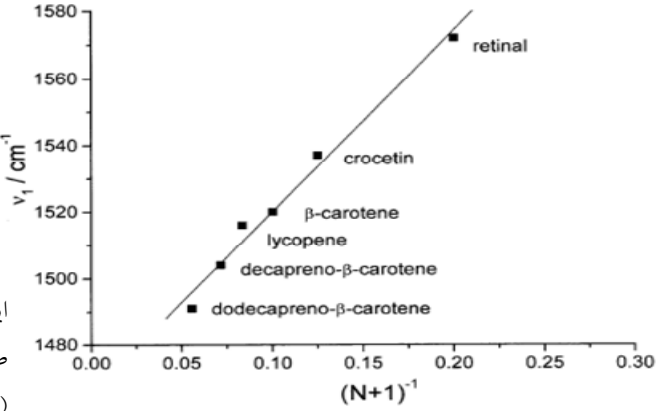
www.SID.ir

Archive of SID



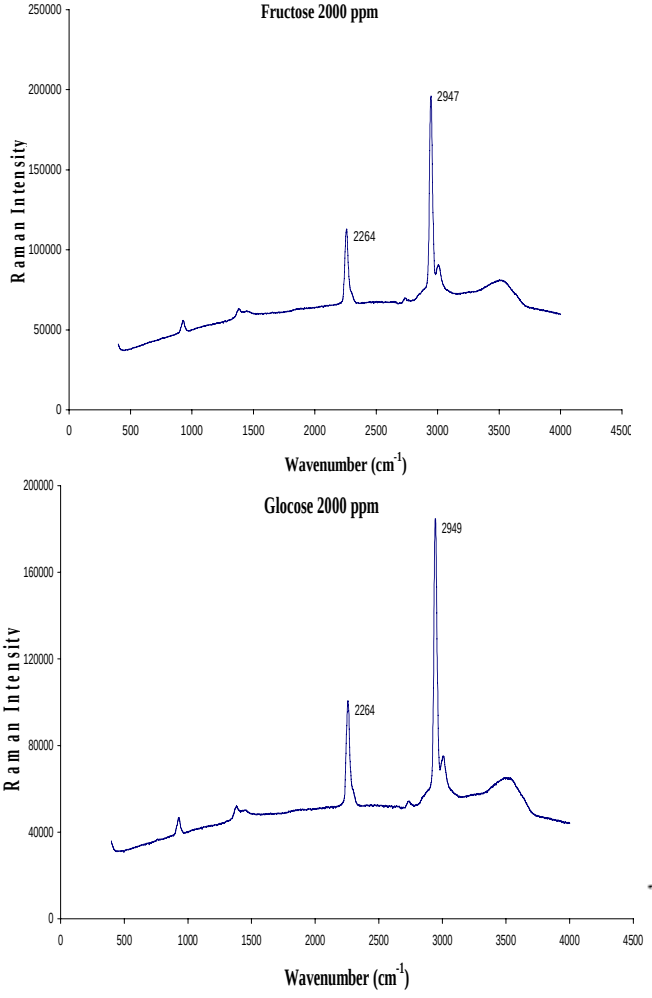
شکل ۲ میوه کاملا رسیده، ارتفاع پیک‌های مربوط به کارتنوئیدها قابل توجه است

در شکل ۳ مشاهده می شود که عدد موج ν_1 در کارتنوئیدها با افـزایش تعداد پیوندهای دوگانـه C=C در زنجیـره اصـلی ایـن ترکیبـات (N) کاهش می یابد که این کـاهش سـیر نـسبتا خطـی نیـز دارد [١٤]. ایـن راهنمـای خـوبی اسـت بـرای کـاوش موقعیـت بانـدهای مربـوط بـه کارتنوئیدها در این تحقیق. چراکه مطابق رسم تحقیقات طیف‌سنجی یـا باید از آزمایش استانداردهای موجـود بـا اسـتفاده از روشـهای تجزیـه دستگاهی و سپس بررسی طیفی این استانداردها به موقعیت باندها پـی برد، و یا اینکه از روش‌های دیگر از جمله پایگاه طیفی بهره جـست. از طرفی می دانیم که لیکوپن در زنجیره اصلی خود حاوی تعداد بیـشتری پیوندهای دوگانه کربن می باشد تا کاروتن‌ها. بنابراین بررسی دقیـق‌تـر نوار ν_1 در ۱۵٤۰ cm^{-1}، حضور کاروتن‌ها را بیشتر توجیه مـی‌کنـد تـا لیکوپن، در حالیکه ν_2 در ۱۱۸۰ cm^{-1} (C-C) بیانگر حـضور لیکـوپن می‌باشد .باند سوم نیز که ضعیفتر از بقیه عمل می‌کند بـه ارتعـاش‌هـای کششی $C\text{-}CH_3$ نسبت داده شده است [۳].



شکل ۳ رابطه بین موقعیت عدد موج و تعداد پیوندهای دوگانه C=C در زنجیره اصلی کارتنوئیدها

نتایج حاصل از آزمایش HPLC نشان داد که عمده ترکیبات قنـدی در میوه گوجه فرنگی مربوط است به گلوکز و فروکتوز، بطوریکـه در هـر ۱۰۰ گرم میوه کامل به طور متوسط ۳ تا ٤ گرم گلوکز و فروکتـوز (بـه صورت مجموع) وجود دارد. به منظور یافتن اثـر انگـشت‌هـای طیفـی مربوط به این ترکیبات، استانداردهای تهیه شده بـا غلظـت‌هـای ۲۰۰۰، ٤۰۰۰، ٦۰۰۰، ۸۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ ppm از هـر سـه قنـد مـورد آزمـایش طیف‌سنجی به صورت خالص قرار گرفتند. در نهایت طیف‌های بدست آمده مطابق شکل ٤ (به عنوان نمونه) مورد بررسی قرار گرفتند.



شکل ٤ طیف رامان بدست آمده از فروکتوز و گلوکز با غلظت ۲۰۰۰ ppm

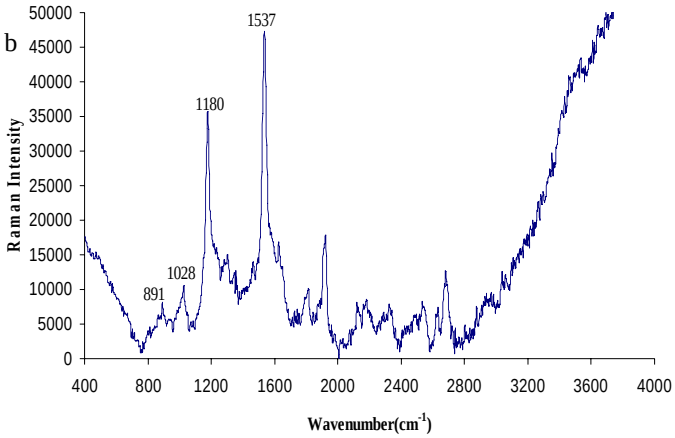
این طیف‌ها اطلاعات بسیار مفیدی در اختیار گذاشت. بـا مقایـسه ایـن طیـف‌هـا و طیـف‌هـای گرفتـه شـده از میـوه بـه صـورت غیرمخـرب (شکل‌های ۱و۲)، می‌توان اثر انگشت‌های طیفی مربوط به قندها را نیـز در طیف‌ها پیدا کرد. از جمله در محـدوده طیفـی ۳۰۰۰ cm^{-1} و ۲۳۰۰ cm^{-1} می‌توان باندهای مربوط به قندها را نیـز کـاوش نمـود. موقعیـت

www.SID.ir

Archive of SID

باند اول و دوم تفاوت معنی‌داری در طیف‌های بدست آمده از دو نوع قند نشان ندادند.

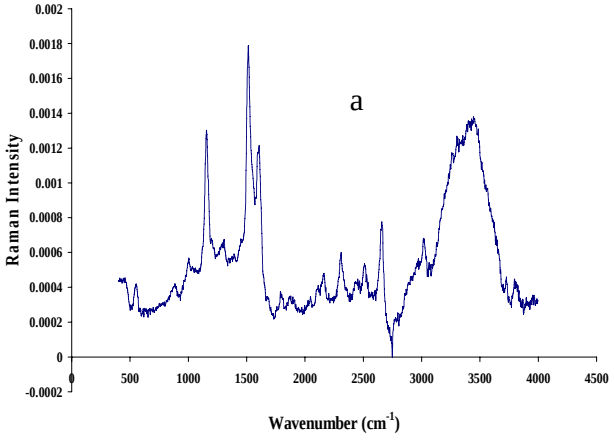
باند $891\ cm^{-1}$ که در شکل ۵ ظاهر شده است، را می‌توان به ارتعاش CH نسبت داد که مبین کربوهیدرات‌های موجود در میوه می‌باشد [٤]. همانطور که ملاحظه شد، این باند ضعیف بوده و در شکل ۱ به طور واضح قابل تشخیص نمی‌باشد (هرچند در تحلیل سیگنالی طیف با استفاده از مشتق‌گیری ظاهر می‌شود) و دلیل آن هم وجود باند قویتر در محدوده کارتنوئیدهاست ($1030\ cm^{-1}$) که باندهای مجاور را پوششش می‌دهد. اما احتمالا می‌توان از همین طیف ضعیف نیز برای اندازه‌گیری مواد کربوهیدراتی بهره جست.

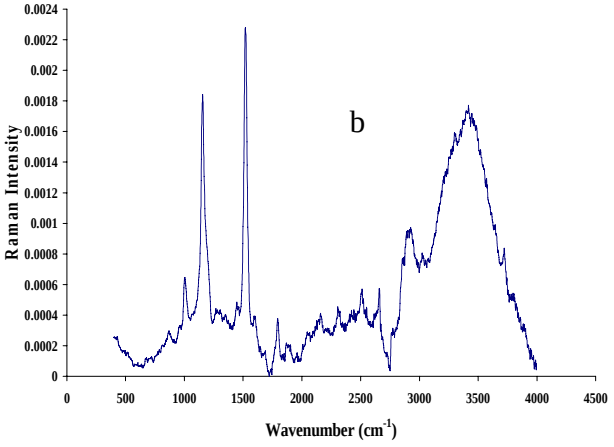


شکل۵ طیف رامان در گوجه‌فرنگی کاملا رسیده. در این طیف علاوه بر طیف‌های قوی مربوط به رنگدانه‌های لیکوپن و کاروتن، پیک متوسطی از کربوهیدرات‌ها هم قابل مشاهده می‌باشد

۳-۱-قابلیت تحلیل کمی

نکته دیگر در مورد طیف‌ها اختلاف قابل توجه در شدت باندهاست که عمدتا مربوط به میزان رسیدگی میوه و در نتیجه مقدار کمی رنگدانه هاست. البته این مقایسه کمی بعد از تغییرات گوناگون و پردازش سیگنالهای طیفی صورت گرفته است. نرمالیزاسیون طیفی با استفاده از روش تقسیم شدت باندها به 1-norm انجام گرفت تا اثرات مختلف آزمایش و دستگاه که عمدتا در شدت پیک‌ها ظاهر می‌شود، از بین رفته و بتوان تحلیل کمی نیز انجام داد (شکل ٦). بدیهی است که غلظت کارتنوئیدها می‌بایست در شدت پراکندگی رامان اثرگذار باشد، این نکته را به وضوح می‌توان در شکل ۵ مشاهده نمود.





شکل ٦ مقایسه کمی دو میوه نیمه رسیده (a) و بیش رسیده (b). اختلاف شدت باندها بعد از نرمالیزاسیون داده‌ها کاملا مشهود است

به طور مثال شدت باند اول در میوه نیمه رسیده ۰/۰۰۱۷۸ و در میوه بیش رسیده ۰/۰۰۲۲٦ می باشد (اعداد نشان داده شده بعد از اعمال نرمالیزاسیون بوده و بنابراین مقدارشان کاهش یافته است). 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 غیرمخرب 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 [١٦]. 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

www.SID.ir

Archive of SID

لیزر تغییر قابل توجهی نکرده و بنابراین انتخاب پایین ترین توان لیزر مطلوب به نظر می‌رسید.

لازم به توضیح است که واسنجی و اعمال روش‌های مدرن شیمی‌سنجی (chemometrics) بر روی طیف‌های بدست‌آمده و در نتیجه اندازه‌گیری کمی و مدل‌سازی 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.

٤-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.

٥-پیشنهادها

نتایج حاصله در این تحقیق به خوبی نشان داد که با اعمال روشهای پردازشی علائم 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 می‌باشد.

٦- منابع

[1]Tavakoli Hashtjin, T. (1382). Mechanics of Agricultural Products. Translation. Khadamate Farhangie Salekan. Tehran, Iran. Pp: 528.

[2]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.

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

[4]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.

[5]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.

[6]Ghiamati Yazdi, E. (1379). Biochemical Applications of Raman and Resonance Raman Spectroscopies. Translation. Mashhad, Iran. Pp: 251.

[7]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.

[8]Polder, G., VanDerHeijden, G.W.A.M and Young, I.T. (2002). Spectral image analysis for measuring ripeness of tomatoes. Transactions of the ASAE, 45(4): 1155-1161.

[9]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.

[10]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/

www.SID.ir

Archive of SID

[11]Anonymous (1999). Tomatoes: *Licopersicon esculentum*. USDA nutrient database for standard reference, release 13.

[12]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.

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

[14]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.

[15]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.

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

www.SID.ir

Archive of SID

Application of Raman Spectroscopy for Non-Destructive Determination of Qualitative Parameters of Tomato

Nikbakht, A.M.[1], Tavakoli Hashjin, T. [2*], Malekfar, R.[3], Ghobadian, B.[4]

1- PhD student, Department of Farm Machinery Engineering, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. (Staff Member of Urmia University)
2- Professor, Department of Farm Machinery Engineering, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
3- Associate Professor, Department of Atomic and Molecular Physics, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
4- Associate Professor, Department of Farm Machinery Engineering, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
(Received: 87/7/3 Accepted: 87/9/3)

Non-destructive methods yield a great deal of importance in agriculture since the tested product can return to the market process, together with simplicity compared to destructive ones. Therefore, the major challenge in industrial on/in line quality evaluation is to eliminate damages in fruits and vegetables. Every visible or invisible damage can be followed by problems in storage, processing and diseases. During recent years, machine vision, optical techniques such as Raman, NIR, NMR spectroscopies, acoustics and ultrasonic techniques are the main methods which have gained worldwide attention. In order to sort and grade fruits, several methods are implemented which are mostly slow, time consuming, and destructive. Yet, a rapid, non-destructive and precise measurement of qualitative factors including pH, SSC and color in tomato fruit yields a great deal of importance. For such a purpose, Raman spectroscopy is implemented to measure qualitative parameters in tomato non-destructively. Sugar components in tomato were investigated with HPLC test and spectroscopy was conducted on pure sugars. Results showed that Raman spectra highlight the major bands related to the fruit components. Lycopene and Carotene as the major cartenoeids in tomato fruit were detected explicitly through the spectra, in the way that all the three characteristic regions indexing such pigments (C-C and C=C stretching vibrations) are peaked as strong bands. Also carbohydrates could be shown by a medium band assigned to C-H vibration together with strong bands in 2300 cm^{-1} – 3000 cm^{-1} range. Thus it can be concluded that the technique is capable enough to be used in recognizing non-destructively both the external factors (e.g. color) and internal parameters (e.g. SSC) in tomato fruit.

Keywords: Raman Spectroscopy, Tomato Fruit, Non-Destructive Tests, Qualitative Parameters

* Corresponding Author E-Mail address: ttavakoli@modares.ac.ir

www.SID.ir