

Research Article

Detection of freezing of Thomson variety orange fruit using Fourier transform-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging methods

Karim Gerami¹, Hossein Behfar^{2*}, Bahareh Jamshidi³ and Shahin Zomorodi⁴

1. Ph.D. Student, Department of Biosystems Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Biosystems Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz
3. Associate Professor, Agricultural Engineering Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
4. Associate Professor, Agricultural Engineering Research Department, West Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Urmia, Iran.

(Received 5 February 2022, Received in revised form 17 April 2023, Accepted 24 April 2023)

Introduction: Orange is a tropical and semi-tropical product sensitive to cold and freezing stress. Mostly, chilling occurs in the temperature range of 0°C and freezing occurs below 0°C. One of the most serious and significant damages to citrus fruits is freezing, which has a significant impact on the flavor and marketability of orange and orange juice. Changing the flavor of the product, even in juicing processes, can cause a sharp loss in the flavor of the produced juice. Fourier transform-infrared spectrometry (FT-IR) is known as a cost-effective method for detecting compounds in different materials. FT-IR shows the characteristics of molecular vibrations and functional groups in materials, so it can show the changes made in the structure of materials due to any temperature changes [10, 11]. In addition, the hyperspectral imaging method is also one of the non-destructive methods of examining surface defects with good accuracy, which has been the focus of various researchers today. Infrared hyperspectral imaging method was used to detect *Escherichia coli* in lettuce and the results showed that 4 different groups could be classified with more than 90% accuracy [12]. Therefore, in the present study, the aim was to investigate the ability of FT-IR and hyperspectral imaging to distinguish frozen oranges from unfrozen oranges. Despite the qualitative nature of the FT-IR method, the data of this method were also modeled quantitatively.

Materials and methods: In this study, the frozen and unfrozen orange was investigated using FT-IR and hyperspectral imaging. In the FT-IR method 20 frozen and unfrozen orange peels samples and in the hyperspectral imaging method 18 frozen and unfrozen orange samples was used. At the first, oranges were examined based on the days of freezing, but the spectroscopy results (FT-IR and Hyperspectral) showed that there is no difference between the days of freezing. Therefore, as presented below, the samples were classified based on frozen and unfrozen by the supervised pattern recognition method of linear discriminant analysis (LDA). For that, first, pre-processing of the spectra using some methods of smoothing and noise reduction (moving averaging (MA), Savitzky-Golay (SG) and median filter), and normalization (Multiplicative Scatter Correction (MSC), Standard Normal Variate (SNV)) was performed. Studying the effect of the above five methods individually and six combined methods MA+MSC, MA+SNV, SG+MSC, SG+SNV, MF+MSC, and MF+SNV on the accuracy of LDA method was investigated. In this study, 75% of unfrozen and frozen samples were selected as calibration data and 25% as evaluation data. Then, in order to implement the LDA method, three linear, quadratic and Mahalanobis functions were used and classification was done accordingly. All the above steps were done in The Unscrambler X 10.4 software.

Results and discussion: The results showed that the absorption peaks observed in different areas in all FT-IR spectra are also present in unfrozen samples, which are related to cellulose and lignin [17]. The broadest visible

* Corresponding author: behfar@tabrizu.ac.ir

peak is in the approximately 3400 cm^{-1} wave number, which indicates the stretching vibrations of O-H groups in the structure of orange peel. The peak in 1063 cm^{-1} wave number indicates the C-O-H or C-O-R bond (alcohols or esters), and the peaks in 2924 cm^{-1} and 1447 cm^{-1} respectively indicate C-H stretching vibrations and aliphatic chains (-CH₂- and -CH₃-)[19]. In addition, two peaks are observed in 1739 cm^{-1} and 1634 cm^{-1} wave number, which are respectively caused by the presence of carbonyl groups such as ester and aliphatic and/or unsaturated aromatic compounds in the structure of orange peel [19, 20]. The main compound in the structure of orange peel in the FT-IR spectrum is lignin [21]. The absorption peaks in 400 cm^{-1} to approximately 1500 cm^{-1} wave number have undergone a fundamental change and the intensity of these peaks has been greatly reduced. Because peel of citrus fruits have secretory bags or in other words, glands containing oily substances (mainly contain peel essential oil), which burst due to freezing and the oily substance spreads on the peel. Spilling these substances will burn the skin cells located in the spaces between these glands and cause them to wrinkle [23]. Freezing causes water to escape and drying of the essential oil bags in the peel and the formation of white hesperidin crystals inside the damaged fruits. Therefore, the results of the FT-IR spectrum of orange samples after 2 to 12 days of freezing show that this method is capable of detecting frost damage in orange fruit from the samples taken from its peel. The results of FT-IR spectroscopy also showed that there is a difference between frozen and unfrozen samples in the range of 400 cm^{-1} to 1500 cm^{-1} wave number. According to the results in the linear and Mahalanobis methods, only for the MF+SNV combined preprocessing method, the correctly classified samples are 100%. However, in the quadratic algorithm, it is 100% for all methods except MA, SG and MF. Considering that linear function is basically a simpler function than other functions, therefore LDA based on MF+SNV preprocessing and linear method was used as the basis of classification. The correctly classified samples (accuracy) in the evaluation category is around 92%, indicating the high ability of the model obtained from FT-IR spectroscopic data processed by the MF+SNV method to predict frozen and unfrozen of oranges.

Conclusions: According to the results obtained in this study, after freezing, the peaks in the FT-IR spectrum, in the 400 cm^{-1} to a 1500 cm^{-1} wave number, underwent a fundamental change and the intensity of these peaks decreased drastically. Moreover, by applying the preprocessing methods by median filter and standard normal distribution (MF+SNV) of FT-IR spectroscopic data, it is possible to determine the frozen and unfrozen orange with high accuracy (100% training and 92% evaluation) recognized. The results of the hyperspectral imaging method showed that by applying the smoothing pre-processing method, it is possible to detect the frozen and unfrozen of oranges with good accuracy (91.67% of training and 75% of evaluation). Therefore, the FT-IR and Hyperspectral imaging methods are able to detect frozen and unfrozen of oranges (*Thomson*) but the FT-IR spectroscopic method has a higher accuracy. Moreover, the hyperspectral imaging method provides the best results for the pre-processing of the smoothing type.

Keywords: *Fourier transform-infrared spectrometry (FT-IR), Freezing, Hyperspectral imaging, Linear discriminant analysis, Orange*

How to cite this article:

Gerami, K., Behfar, H., Bahareh Jamshidi & Zomorodi.Sh., (2023). Detection of Freezing of Thomson Variety Orange Fruit Using Fourier Transform-Infrared Spectroscopy and Hyperspectral Imaging Methods. *Innov. Food Technol.*, 10(3), 203-214.

مقاله پژوهشی

شناسایی آسیب یخ‌زدگی میوه پرتقال رقم تامسون با استفاده از روش‌های

طیف‌سنجی تبدیل فوریه-فروسرخ و تصویربرداری فراطیفی

کریم گرامی^۱، حسین بهفر^{۲*}، بهاره جمشیدی^۳، شهین زمردی^۴

۱. دانش آموخته گروه مهندسی بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۲. استادیار گروه مهندسی بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز-تبریز-ایران.

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

۴. دانشیار پژوهشی، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران.

(تاریخ ارسال: ۱۴۰۱/۱۱/۱۶، تاریخ آخرین بازنگری: ۱۴۰۲/۰۱/۲۸، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۰۴)

چکیده

یخ‌زدگی از جمله آسیب‌های بسیار جدی برای میوه پرتقال محسوب می‌شود که طعم و کیفیت محصول را شدیداً تحت تأثیر قرار می‌دهد. تغییر طعم محصول حتی در فرآیندهای آرمیوه‌گیری می‌تواند سبب کاهش طعم آب‌میوه تولیدی شود. تشخیص این آسیب در هنگام ورود به بازار، از نظر تازه‌خوری و فرآوری می‌تواند نقش بسیار مهمی در بازارپسندی محصول داشته باشد. در این پژوهش، روش طیف‌سنجی تبدیل فوریه-فروسرخ (FT-IR) و تصویربرداری فراطیفی برای تشخیص یخ‌زدگی محصول پرتقال (رقم تامسون) مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور بررسی روش FT-IR ابتدا طیف FT-IR مربوط به پوست ۲۰ نمونه پرتقال سالم و یخ‌زده اخذ شد. در روش تصویربرداری فراطیفی از ۱۸ نمونه پرتقال سالم و یخ‌زده تصاویر طیفی اخذ شد. به‌منظور تفکیک پرتقال‌های سالم از یخ‌زده بر پایه داده‌های هر دو روش پس از اعمال روش‌های مختلف پیش‌پردازش، طبقه‌بندی به روش آنالیز تفکیک خطی (LDA) انجام شد. یافته‌های این پژوهش، نشان داد که پس از یخ‌زدگی پیک‌های موجود در طیف FT-IR، در نواحی 400 cm^{-1} تا تقریباً 1500 cm^{-1} دچار تغییر اساسی شدند و شدت این پیک‌ها شدیداً کاهش یافت. همچنین با اعمال روش‌های پیش‌پردازش فیلتر میانه و توزیع نرمال استاندارد (MF+SNV) روی داده‌های طیف‌سنجی FT-IR می‌توان با صحت بالا (۱۰۰٪ آموزش و ۹۲٪ ارزیابی) یخ‌زدگی و عدم یخ‌زدگی میوه پرتقال را تشخیص داد. نتایج حاصل از روش تصویربرداری فراطیفی نشان داد که با اعمال روش پیش‌پردازش از نوع هموارسازی می‌توان با صحت خوب (۹۱/۶۷٪ آموزش و ۷۵٪ ارزیابی) یخ‌زدگی و عدم یخ‌زدگی میوه پرتقال را تشخیص داد. به‌طور کلی روش طیف‌سنجی FT-IR دارای دقت بیشتری است و می‌تواند در بررسی نمونه‌هایی از پوست میوه پرتقال قادر به تشخیص یخ‌زدگی و عدم یخ‌زدگی باشد. با این حال، اگر عدم تخریب نمونه مد نظر باشد، استفاده از روش تصویربرداری فراطیفی برای تشخیص یخ‌زدگی پرتقال پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنالیز تفکیک خطی، پرتقال، تبدیل فوریه-فروسرخ، تصویربرداری فراطیفی، طیف‌سنجی، یخ‌زدگی

۱. مقدمه

گیاه خسارت می‌بیند. این دما برای گیاهان مختلف و مراحل مختلف فنولوژی متفاوت است [۴].

روش‌های مختلفی برای تشخیص آسیب یخ‌زدگی پرتقال وجود دارد که از مهم‌ترین روش‌های معمول می‌توان به فشار دادن یا زدن ضربه‌ای آرام به میوه، بویدن و چشیدن میوه، بررسی سطح خارجی میوه و برش دادن میوه اشاره کرد. از روش‌های غیرمخرب نیز می‌توان روش‌های نوری و اشعه ایکس، طیف‌سنجی‌های مختلف مانند طیف‌سنجی تشدید مغناطیسی هسته‌ای (NMR)، روش‌های مکانیکی، بینایی ماشین، بینی الکترونیکی و الکترومغناطیسی را نام برد [۵، ۶]. رحمانیان و همکاران (۲۰۲۲) از روش تصویربرداری لیزری بایواسپیکل برای تشخیص آسیب‌های یخ‌زدگی و سرمازدگی در چهار سطح دمایی، بدون سرمازدگی و یخ‌زدگی، -1°C ، -7°C و -20°C برای محصول پرتقال پرداختند. نتایج این مطالعه حاکی از موفقیت‌آمیز بودن این روش در تشخیص سریع و با دقت ۱۰۰٪ آسیب‌های سرمازدگی و یخ‌زدگی بود [۷]. در میان روش‌های مختلف استفاده شده برای تشخیص آسیب‌های سرمازدگی و یخ‌زدگی در میوه‌های مختلف روش طیف‌سنجی تبدیل فوریه-فروسرخ^۳ در یک مطالعه برای تشخیص آسیب سرمازدگی محصول کدو سبز استفاده شد که نتایج آن نشان داد، این روش قادر به تشخیص سرمازدگی است [۸].

روش طیف‌سنجی تبدیل فوریه-فروسرخ به‌عنوان یک روش مقرون به‌صرفه برای تشخیص ترکیبات موجود در مواد مختلف شناخته شده است [۹]. روش طیف‌سنجی تبدیل فوریه-فروسرخ به علت اینکه نشان‌دهنده مشخصه‌های ارتعاشات مولکولی و گروه‌های عاملی موجود در مواد است، می‌تواند تغییرات ایجادشده در ساختار مواد، ناشی از هر گونه تغییرات دمایی را نشان دهد [۱۰، ۱۱]. علاوه بر این، روش تصویربرداری فراطیفی نیز یکی از روش‌های غیر مخرب بررسی عیوب سطحی با دقت خوب است که امروزه مورد توجه محققان مختلف قرار گرفته است. از روش تصویربرداری ابرطیفی فروسرخ برای تشخیص پاتوزن/شریشیاکلی در کاهو استفاده شد و نتایج این مطالعه نشان داد که روش تفکیک

ایران در سال ۲۰۱۹ رتبه هشتم سطح زیر کشت و جایگاه هفتم را از نظر تولید مرکبات (حدود ۵ میلیون تن) به خود اختصاص داده است [۱].

پرتقال جزء محصولات گرمسیری و نیمه گرمسیری حساس به تنش سرما و یخ‌بندان است. عموماً سرمازدگی^۱ آن در محدوده دمایی صفر و یخ‌زدگی^۲ در زیر صفر درجه سلسیوس به وقوع می‌پیوندد؛ بنابراین با توجه به کشت و تولید تجاری مرکبات در عرض جغرافیایی ۴۰ درجه شمالی و جنوبی، در برخی از مناطق کشت، خطر یخ‌بندان مرکبات را تهدید می‌کند که کشور ما نیز از این امر مستثنی نیست. سرما و یخ‌بندان‌های شدید نتایج زیان‌بار و ویران‌کننده‌ای را برای بسیاری از گیاهان زراعی و باغی در پی دارد. به‌طوری که در برخی از سال‌ها از جمله طی یخ‌بندان‌های سال‌های ۱۳۸۶ و ۱۳۹۲ میلیاردها ریال خسارت به کشاورزان به‌ویژه باغدارهای مرکبات شمال کشور وارد شد. در اوایل آذرماه ۱۳۹۵ نیز وقوع تنش یخ‌زدگی موجب بروز خسارت گسترده‌ای به باغ‌های مرکبات شمال به‌ویژه در شرق مازندران شد؛ بنابراین وقوع پدیده تنش سرما و یخ‌زدگی به‌صورت دوره‌ای در استان‌های شمالی کشور به اشکال مختلف قابل تصور است. اتفاقات ناگوار ناشی از سرمای زیاد و یخ‌زدگی هر ساله در طی زمستان در نواحی مهم پرورش پرتقال رخ می‌دهد که باعث افت نسبتاً زیاد محصولات می‌شود و تهدیدی بزرگ برای باغداران به شمار می‌رود [۲، ۳].

سرمازدگی عبارت از تغییرات فیزیکی و یا فیزیولوژیکی انگیخته شده در اثر روبرو شدن اندام‌های مختلف گیاه با دماهای پایین و بالاتر از نقطه انجماد (بین $0-10^{\circ}\text{C}$) است که با پیدایش علائم همراه است. به صدمات ناشی از دمای زیر صفر درجه سلسیوس یخ‌زدگی گفته می‌شود. صدمات یخ‌زدگی عمدتاً ناشی از ایجاد کریستال‌های یخ در آوندهای گیاه است که به سرعت در تمامی اندام‌ها گسترش می‌یابد. دمای بحرانی حداقل دمایی است که گیاه می‌تواند با تداوم ۳۰ min تحمل کند و در بیش از این مدت و کمتر از این دما

1. Chilling Injury & Chilling Damage
2. Freezing

3. Fourier Transform Infrared Spectroscopy

سرامیکی چینی پودر گردید. برای جلوگیری از تداخل نمونه‌ها، هر بار هاون با آب شستشو و با دستمال بدون کرک خشک شد.

۳.۱.۲. طیف‌سنجی تبدیل فوریه-فروسرخ (FT-IR)

برای اخذ طیف فروسرخ، ۰/۱g از نمونه‌های کاملاً خشک و پودر و با ۰/۵g پودر پتاسیم برماید مخلوط شدند، سپس با استفاده از دستگاه پرس دستی قرص ساز (فتردار)، قرص هر نمونه تهیه و درون دستگاه قرار داده شد و طیف مربوطه در ناحیه عدد موج 400 cm^{-1} تا 4000 cm^{-1} رسم شد. این آنالیز توسط دستگاه FT-IR (مدل TENSOR 27، ساخت کشور آلمان، کمپانی Bruker) انجام شد. در این روش عبور (TR) و جذب (AB) نمونه‌ها (cm^{-1}) در محدوده طیفی (4000- 400 cm^{-1}) با دقت 1.0 cm^{-1} اندازه‌گیری شد. به‌منظور رسم نمودارها از نرم‌افزار Origin 2018 64Bit استفاده شد. سپس با استفاده از جدول‌های مربوطه که موقعیت ارتعاش پیوندهای مختلف و یا طیف IR مواد را نشان می‌دهند، طول موج یا عدد موج گروه‌ها و پیوندها شناسایی شد.

۴.۱.۲. تصویربرداری فراطیفی

برای انجام این پژوهش از دوربین فراطیفی شرکت فناوران فیزیک نور (کاشان، ایران) استفاده شد. این سامانه از دو قسمت اصلی شامل دوربین فراطیفی مدل ۱۰۰۰ و منبع نور تشکیل شده است (شکل ۱). دوربین فراطیفی به نحوی است که نور دریافتی را به طول‌موج‌های مختلف تجزیه می‌کند و این فرآیند به‌صورت هم‌زمان برای تمام نقاط نمونه انجام می‌شود. تصویر خروجی دوربین، یک تصویر سه بعدی است که دو بعد آن مربوط به مختصات تصویر و بعد سوم آن مربوط به طول موج نقاط مختلف است. محدوده آزاد طیفی دوربین فراطیفی استفاده شده، $400 - 1000\text{ nm}$ بوده و دارای ۲۰۰ کانال طیفی و ۴۰۰ کانال مکانی است که در آن با انتخاب هر طول موجی در این محدوده، تصویر جسم به ازای طول موج انتخابی مشاهده می‌شود. همچنین با انتخاب هر نقطه از جسم می‌توان طیف مربوط به نقطه را مشاهده نمود. منبع نوری استفاده‌شده در این روش یک لامپ هالوژنی آفتابی ۷ w دارای ولتاژ کاری ۲۲۰ v ولت بود.

کمترین مربعات جزئی نشان داد که ۴ گروه متفاوت با دقت بیش از ۹۰٪ و خطای کمتر از ۰/۰۰۸ قابل طبقه‌بندی هستند [۱۲]. استفاده از تصویربرداری ابرطیفی برای تشخیص دو گونه مختلف از کپک *آسپرژیلوس فلاووس* در پسته بررسی شد. در این مطالعه از دو روش تحلیل تفکیک خطی و تحلیل تفکیک درجه دوم استفاده و نتایج طبقه‌بندی میان نمونه‌های سالم و آلوده با دقت بالای ۹۱/۷٪ برای روش تحلیل تفکیک درجه دوم حاصل شد [۱۳]. بنابراین در پژوهش حاضر هدف، بررسی توانایی روش‌های طیف‌سنجی تبدیل فوریه-فروسرخ و تصویربرداری فراطیفی برای تشخیص پرتقال‌های یخ‌زده از پرتقال‌های سالم بود. علی‌رغم کیفی بودن روش طیف‌سنجی تبدیل فوریه اما داده‌های این روش به‌صورت کمی نیز مدل‌سازی شدند [۱۴].

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. روش طیف‌سنجی تبدیل فوریه-فروسرخ (FT-IR)

۱.۱.۲. آماده کردن تیمارها

در این مطالعه ابتدا تعداد ۲۰ نمونه پرتقال رقم تامسون شمال از میدان تره‌بار شهرستان ارومیه تهیه شد. سپس پرتقال‌های سالم برچسب زده شد. به‌منظور یخ‌زدگی پرتقال‌ها تمامی نمونه‌ها در دمای 3°C به مدت ۴ h قرار داده شد [۱۵]. پس از اعمال شوک دمایی، نمونه‌ها در شرایط محیطی قرار گرفتند (شرایط بازار فروش). سپس در بازه‌های زمانی ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۴ روز پس از یخ‌زدگی مورد آزمایش قرار گرفتند.

۲.۱.۲. آماده‌سازی نمونه‌ها برای آزمایش

به‌منظور آماده‌سازی نمونه‌ها برای اخذ طیف FT-IR، از پوست پرتقال‌های مورد بررسی (یخ‌زده و شاهد)، نمونه‌هایی به مساحت حدود 0.25 cm^2 با چاقو برداشت شد و در دمای محیط به دور از نور مستقیم آفتاب به مدت ۱ روز خشک گردید. سپس نمونه‌ها با هاون آزمایشگاهی از جنس



شکل (۱) دستگاه تصویربرداری فراطیفی
Figure 1. The hyperspectral imaging device

مشخصات نمونه‌های مورد بررسی با استفاده از این سامانه در جدول (۱) آورده شده است.

جدول (۱) مشخصات نمونه‌های مورد بررسی با طیف‌سنجی فراطیفی

Table 1. Characteristics of the samples in hyperspectral imaging study

Samples	Treatments	Time (day)
T1-T2-T11-T12	Unfreeze	-
T3-T4-T13-T14	Freeze	6 days after freezing
T5-T6-T15-T16	Freeze	5 days after freezing
T7-T8-T17-T18	Freeze	4 days after freezing
T9-T10	Freeze	3 days after freezing

نرمال‌سازی^۶ (تصحیح پراکنش افزاینده^۷ (MSC)، توزیع نرمال استاندارد^۸ (SNV)) انجام شد. مطالعه اثر پنج روش فوق به صورت تکی و شش شیوه ترکیبی MA+MSC، MA+SNV، SG+MSC، SG+SNV، MF+MSC و MF+SNV بر دقت روش LDA بررسی شد. در این بررسی ۷۵٪ از نمونه‌های سالم و یخ‌زده به‌عنوان داده‌های واسنجی و ۲۵٪ به‌عنوان داده‌های ارزیابی انتخاب شد. سپس به‌منظور اجرای روش LDA سه تابع خطی، درجه دوم^۹ و ماهالانوبیس^{۱۰} استفاده و طبقه‌بندی بر این اساس انجام شد. تمامی مراحل فوق در محیط نرم‌افزار The Unscrambler X 10.4 انجام شد [۱۶].

طیف‌های به‌دست‌آمده از طیف‌سنجی برای مراحل بعد در لپ‌تاپ ذخیره شدند.

۵.۱.۲. طبقه‌بندی پرتقال‌های یخ‌زده و سالم برای هر دو روش انجام‌شده

در این بررسی ابتدا پرتقال‌ها بر اساس روزهای یخ‌زدگی بررسی شدند. نتایج طیف‌سنجی (FT-IR و فراطیفی) نشان داد که تفاوتی میان روزهای یخ‌زدگی وجود ندارد؛ بنابراین در ادامه، نمونه‌ها بر اساس یخ‌زدگی و سالم با روش بازشناسی الگوی نظارت‌شده آنالیز تفکیک خطی^۱ (LDA) طبقه‌بندی شدند. بدین منظور ابتدا پیش‌پردازش طیف‌ها با استفاده از برخی روش‌های هموارسازی^۲ و کاهش نویز (میانگین‌گیری متحرک^۳ (MA)، ساویتزکی-گولای^۴ (SG) و فیلتر میانه^۵) و

6. Normalizing
7. Multiplicative Scatter Correction
8. Standard Normal Variate
9. Quadratic
10. Mahalanobis

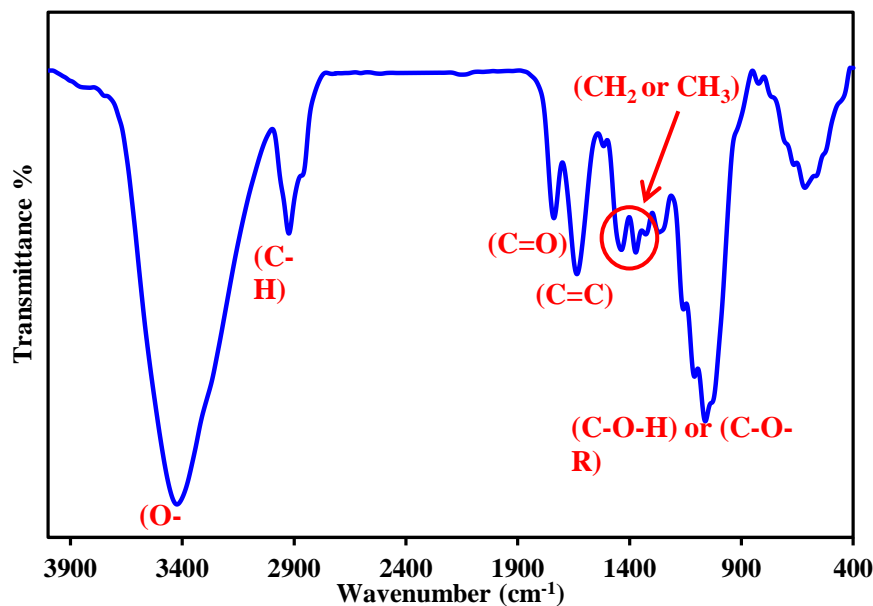
1. Linear Discriminant Analysis
2. Smoothing
3. Moving Average
4. Savitzkey Golay
5. Median Filter

۳. نتایج و بحث

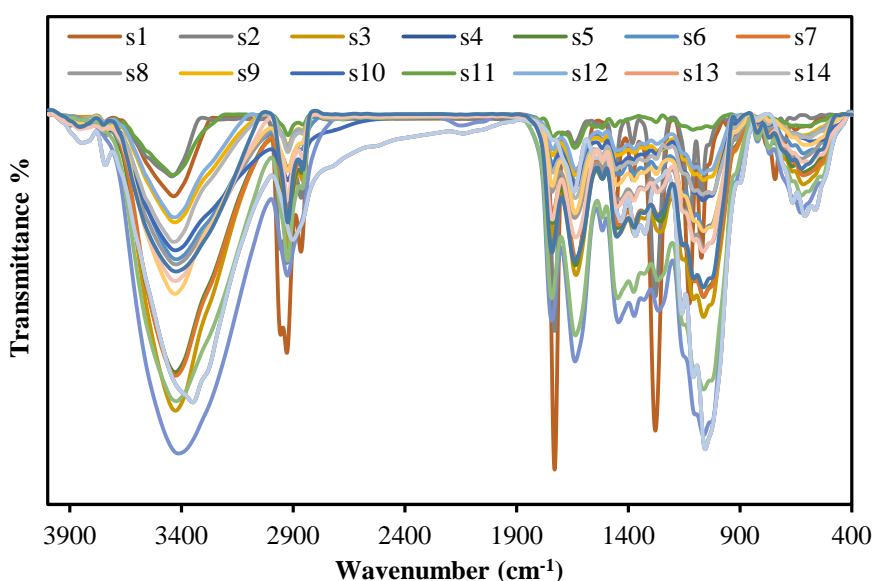
گروه‌های عاملی O-H در ساختار پوست پرتقال است. پیک موجود در ناحیه 1063 cm^{-1} نشان‌دهنده پیوند C-O-H یا C-O-R (الکل‌ها یا استرها) است، همچنین پیک‌های در نواحی 2924 cm^{-1} و 1447 cm^{-1} به ترتیب نشان‌دهنده ارتعاشات کششی C-H و زنجیره‌های آلیفاتیک (CH_2 - و CH_3 -) است [۱۸]. علاوه بر این در نواحی 1739 cm^{-1} و 1634 cm^{-1} دو پیک مشاهده می‌شود که به ترتیب ناشی از حضور گروه‌های کربونیل مانند استر و ترکیبات آروماتیک آلیفاتیک و/یا غیراشباع موجود در ساختار پوست پرتقال است [۲۰، ۱۹]. در شکل (۴) طیف FT-IR عبوری مربوط به لیگنین آورده شده است همان‌طور که مشاهده می‌شود طیف لیگنین بسیار شبیه به طیف پوست پرتقال است؛ بنابراین اصلی‌ترین ترکیبی که در ساختار پوست پرتقال در طیف FT-IR می‌تواند قابل مشاهده و بررسی باشد لیگنین (یک ترکیب آلی معطر غیر کربوهیدراتی) است [۲۱].

۱.۳. نتایج طیف‌سنجی تبدیل فوریه-فروسرخ (FT-IR)

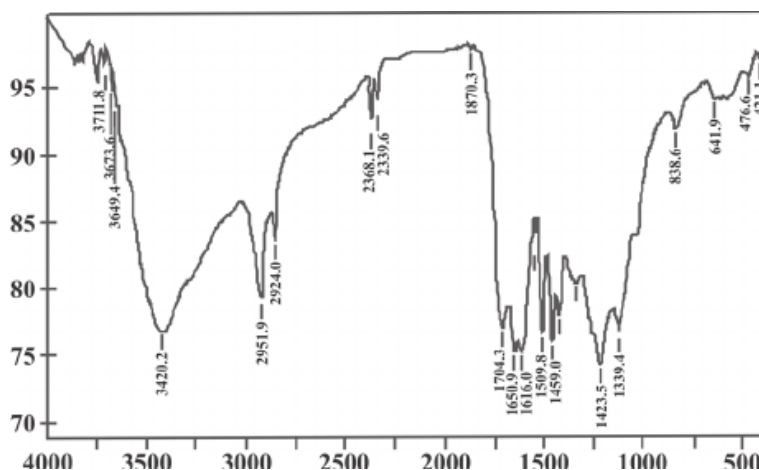
به منظور بررسی توانایی روش تبدیل فوریه-فروسرخ در تشخیص یخ‌زدگی پرتقال رقم تامسون ابتدا طیف FT-IR مربوط به پوست خشک‌شده پرتقال‌های سالم مورد بحث و بررسی قرار گرفت. در شکل (۲) نمونه طیف FT-IR عبوری برای پوست پرتقال سالم نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود پیک‌های جذبی در نواحی مختلف در این طیف قابل مشاهده شد که مربوط به ترکیبات ساختاری پوست پرتقال هستند. این پیک‌های مشخص شده در تمامی طیف‌های FT-IR نمونه‌های سالم وجود داشت (شکل ۳). طیف FT-IR دارای پیک‌های مربوط به هم سلولز و هم لیگنین است [۱۷]. پهن‌ترین پیک قابل مشاهده در ناحیه تقریباً 3400 cm^{-1} بوده که نشان‌دهنده ارتعاشات کششی



شکل (۲) طیف FT-IR عبوری مربوط به پوست پرتقال سالم
Figure 2. Transmittance FT-IR spectrum of healthy orange peel



شکل (۳) طیف‌های FT-IR عبوری مربوط به تمام نمونه‌های پرتقال قبل از یخ‌زدگی
Figure 3. Transmittance FT-IR spectrum of healthy orange peel (all samples)

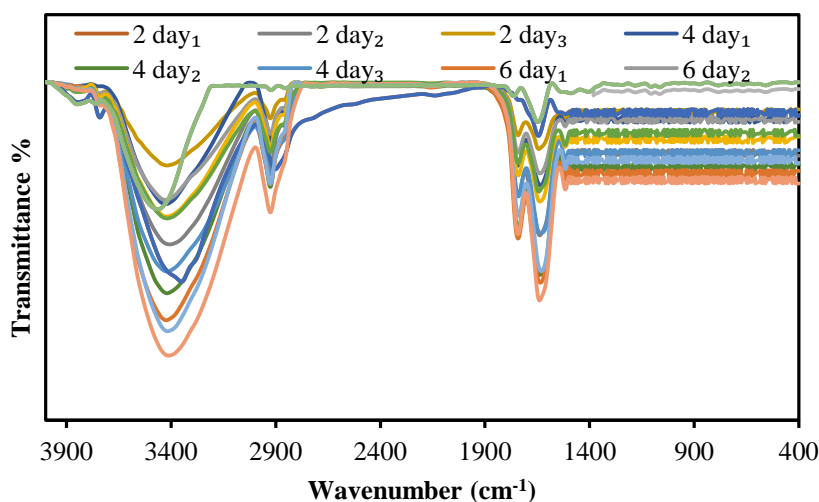


شکل (۴) طیف FT-IR مربوط به لیگنین [۲۲]
Figure 4. Transmittance FT-IR spectrum of lignin

است، در پوست مرکبات کیسه‌های ترشحی یا به عبارت دیگر غدد حاوی مواد روغنی (اساساً اسانس پوست را در بردارند) وجود دارد که در اثر سرمازدگی و یخ‌زدگی این غدد ترکیده و مواد روغنی روی پوست پخش می‌شود. ریختن این مواد موجب سوختگی سلول‌های پوست واقع در فواصل بین این غدد و سبب چروکیدگی آنها خواهد شد [۲۳]. سرمازدگی موجب خروج آب و خشک شدن کیسه‌های اسانس در پوست و تشکیل کریستال‌های سفید هسپریدین در داخل میوه‌های

تمامی نمونه‌های پرتقال بعد از یخ‌زدگی در بازه‌های زمانی ۲ تا ۱۴ روز بعد از یخ‌زدگی با استفاده از روش طیف‌سنجی FT-IR بررسی شدند. نتایج مربوط به تمامی نمونه‌های یخ‌زده در شکل (۵) نشان داده شده است، همان‌طور که مشاهده می‌شود پیک‌های جذبی موجود در نواحی cm^{-1} ۴۰۰ تا تقریباً 1500 cm^{-1} دچار تغییر اساسی شده‌اند و شدت این پیک‌ها شدیداً کاهش یافته است. علت این امر را می‌توان این‌گونه شرح داد، بنابر آنچه در منابع آورده شده

آسیب دیده می‌شود؛ بنابراین نتایج طیف FT-IR مربوط به پرتقال از روی نمونه‌های اخذ شده از پوست آن است. که این روش قادر به تشخیص آسیب یخزدگی در میوه نمونه‌های پرتقال بعد از ۲ تا ۱۲ روز یخزدگی نشان می‌دهد



شکل (۵) طیف‌های FT-IR عبوری مربوط به تمام نمونه‌های پرتقال بعد از یخزدگی

Figure 5. Transmittance FT-IR spectrum of freezing orange peel

نتایج مربوط به طیف‌سنجی تبدیل فوریه-فروسرخ نشان داد که بین نمونه‌های یخ‌زده و یخ‌نزده در ناحیه 400 cm^{-1} تا تقریباً 1500 cm^{-1} تفاوت وجود دارد. برای بررسی بیشتر این روند، داده‌های حاصل از طیف‌سنجی در این ناحیه با روش LDA مدل‌سازی شدند و نتایج حاصل در جدول (۲) گزارش شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در روش‌های خطی و ماهالانوبیس تنها برای روش پیش‌پردازش ترکیبی

۱۰۰ درصد نمونه‌های درست طبقه‌بندی شده، ۱۰۰ است؛ اما در الگوریتم درجه دوم برای تمامی روش‌ها غیر از MA، SG و MF، ۱۰۰٪ است. با توجه به اینکه تابع خطی اساساً تابع ساده‌تری نسبت به سایر توابع است، بنابراین LDA مبتنی بر پیش‌پردازش MF+SNV و روش خطی مبنای طبقه‌بندی قرار گرفت.

جدول (۲) نتایج واسنجی مدل‌های LDA بر اساس روش‌های مختلف پیش‌پردازش و ترکیب آن‌ها به‌منظور تفکیک پرتقال‌های تامسون یخ‌زده و سالم بر اساس روش FT-IR

Table 2. Results of calibration of LDA models based on different pre-processing methods and their combination in order to distinguish between freezing and healthy Thomson oranges (FT-IR)

Pre-processing	Percentage of correctly classified samples (percentage)		
	Linear	Quadratic	Mahalanobis
MA	60	56	60
SG	60	56	60
MF	60	56	60
MSC	84	100	92
SNV	84	100	92
MA+MSC	80	100	96
MA+SNV	80	100	96
SG+MSC	80	100	96
SG+SNV	80	100	96
MF+MSC	68	100	44
MF+SNV	100	100	100

بنابراین، درصد نمونه‌های درست طبقه‌بندی شده (صحت^۵) در دسته ارزیابی، مطابق رابطه ۱، بیش از ۹۰٪ (۹۲٪) است که نشان‌دهنده توانایی بالای مدل حاصل از داده‌های طیف‌سنجی تبدیل فوریه- فروسرخ پردازش شده به روش MF+SNV برای پیش‌بینی یخ‌زدگی و عدم یخ‌زدگی میوه پرتقال است.

$$\text{Accuracy} = (TP+TN) / (TP+FN+FP+TN) \quad (1)$$

۲.۳. نتایج تصویربرداری فراطیفی

جدول (۴) نتایج حاصل از اعمال پیش‌پردازش‌های مختلف روی داده‌های فراطیفی برای پرتقال‌های یخ‌زده و سالم گزارش شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بهترین نتایج برای پیش‌پردازش‌ها از نوع هموارسازی است. لذا این پیش‌پردازش‌ها انتخاب شد و مدل‌سازی و طبقه‌بندی بر اساس آن‌ها برای داده‌های ارزیابی انجام گرفت.

نتایج طبقه‌بندی برای بررسی یخ‌زدگی و عدم یخ‌زدگی پرتقال‌های دسته ارزیابی با استفاده از طیف‌سنجی تبدیل فوریه- فروسرخ در قالب ماتریس اغتشاش، در جدول (۳) آورده شد. این نتایج برای LDA با تابع خطی با استفاده از روش پیش‌پردازش MF+SNV است. TP، تعداد نمونه‌های یخ‌زده در دسته ارزیابی است که به درستی به کلاس پرتقال‌های یخ‌زده تعلق گرفته‌اند (مثبت صحیح^۱). TN، تعداد نمونه‌های سالم در دسته ارزیابی است که به درستی به کلاس پرتقال‌های سالم تعلق گرفته‌اند (منفی صحیح^۲). FP، تعداد نمونه‌های سالم در دسته ارزیابی است که به اشتباه به کلاس پرتقال‌های یخ‌زده تعلق گرفته‌اند (مثبت کاذب^۳). FN، تعداد نمونه‌های یخ‌زده در دسته ارزیابی است که به اشتباه به کلاس پرتقال‌های سالم تعلق گرفته‌اند (منفی کاذب^۴). همان‌طور که مشاهده می‌شود در میان ۱۲ نمونه مربوط به ارزیابی، تنها یک مورد از پرتقال‌های یخ‌زده با استفاده از این روش در طبقه اشتباه یعنی سالم قرار گرفته است (FN=1)؛

جدول (۳) نتایج طبقه‌بندی برای ارزیابی LDA مبتنی بر پیش‌پردازش MF+SNV برای کلاس‌بندی پرتقال رقم تامسون در دو دسته یخ‌زده و سالم (ماتریس اغتشاش)

Table 3. Classification results for LDA evaluation based on MF+SNV preprocessing for classification of Thomson variety oranges in freezing and healthy categories (confusion matrix).

		Predicted	
		Freezing	Healthy
Actual	Freezing	TP=5	FN=1
	Healthy	FP=0	TN=6

جدول (۴) نتایج واسنجی مدل‌های LDA بر اساس روش‌های مختلف پیش‌پردازش و ترکیب آن‌ها به منظور تفکیک پرتقال‌های تامسون یخ‌زده و سالم بر اساس داده‌های فراطیفی

Table 4. Results of calibration of LDA models based on different pre-processing methods and their combination in order to distinguish between freezing and healthy Thomson orange (hyperspectral data)

Pre-processing	Correctly classified samples (%)		
	Linear	Quadratic	Mahalanobis
MA	91.67	91.67	91.67
SG	91.67	91.67	91.67
MF	91.67	91.67	91.67
MSC	75	75	75
SNV	75	75	75
MA+MSC	75	75	75
MA+SNV	75	75	75
SG+MSC	75	75	75
SG+SNV	75	75	75
MF+MSC	75	75	75
MF+SNV	75	75	75

1. True Positive
2. True Negative
3. False Positive
4. False Negative

شده است. همان طور که مشاهده می شود هر سه نمونه یخزده به درستی طبقه بندی شدند اما یک نمونه سالم در دسته یخزده طبقه بندی شد؛ بنابراین درصد نمونه های درست طبقه بندی شده (صحت) در دسته ارزیابی مطابق رابطه ۱، ۷۵٪ است.

۴.۳. نتایج طبقه بندی پرتقال های سالم و یخزده بر اساس روش تصویربرداری فراطیفی

بر اساس روش های پیش پردازش انتخاب شده، طبقه بندی انجام شد. نتایج طبقه بندی برای بررسی یخزدگی و عدم یخزدگی پرتقال های دسته ارزیابی با استفاده از داده های فراطیفی در قالب ماتریس اغتشاش در جدول (۵) نشان داده

جدول (۵) نتایج طبقه بندی برای ارزیابی LDA به منظور کلاس بندی پرتقال رقم تامسون در دو دسته یخزده و سالم بر اساس داده های فراطیفی (ماتریس اغتشاش)

Table 5. Classification results for LDA evaluation for classification of orange (*Thomson*) in freezing and healthy categories based on hyperspectral data (confusion matrix).

		Predicted	
		Freezing	Healthy
Actual	Freezing	TP=3	FN=0
	Healthy	FP=1	TN=0

روش LDA مبتنی بر الگوریتم خطی می توان یخزدگی و عدم یخزدگی میوه پرتقال را با صحت بالایی پیش بینی (واسنجی، ۱۰۰٪ و ارزیابی، تقریباً ۹۲٪) کرد. در روش تصویربرداری فراطیفی همان طور که ذکر شد عیوب سطحی قابل ردیابی هستند بنابراین ترکیب گدغد حاوی اسانس در اثر یخزدگی در نتایج این روش قابل تشخیص هستند. نتایج روش تصویربرداری فراطیفی با اعمال روش پیش پردازش از نوع هموارسازی دارای بالاترین دقت بود (واسنجی ۹۱/۶۷٪ و ارزیابی ۷۵٪). مقایسه نتایج حاصل از دو روش نشان داد که روش طیفسنجی تبدیل فوریه فرسورخ برای تشخیص پرتقال یخزده نسبت به روش تصویربرداری فراطیفی دارای دقت بالاتری است. با این حال، اگر عدم تخریب نمونه مد نظر باشد، استفاده از روش تصویربرداری فراطیفی برای تشخیص یخزدگی پرتقال قابل پیشنهاد است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از مدیریت پژوهشی دانشگاه تبریز کمال تشکر را دارند.

۴. نتیجه گیری

نتایج حاصل نشان داد که این روش ها قادر به تشخیص یخزدگی با عدم یخزدگی پرتقال رقم تامسون هستند. در روش تشخیصی طیفسنجی FT-IR آنچه موجب امکان تشخیص می شود ترکیب لیگنین در ساختار پوست پرتقال است؛ زیرا لیگنین یک ماده آلی معطر است که در پوست پرتقال وجود دارد. زمانی که میوه پرتقال و یا به طور کلی مرکبات دچار یخزدگی می شوند در سطح خارجی پوست آن ها غدد حاوی اسانس ترکیده و اسانس از آن ها خارج می شود؛ بنابراین به مرور زمان پس از یخزدگی اسانس از بین می رود و در نتیجه لیگنین موجود در پوست پرتقال از دست می رود و به تبع آن طیف FT-IR پوست پرتقال های یخزده و غیر یخزده از نظر کیفی و حضور پیک های در ناحیه عدد موجی 400 cm^{-1} تا تقریباً 1500 cm^{-1} به شدت تقلیل پیدا می کند و این امر می تواند مبنایی برای تشخیص یخزدگی از عدم یخزدگی میوه پرتقال رقم تامسون در نظر گرفته شود؛ بنابراین با اعمال روش پیش پردازش MF+SNV روی داده های طیفسنجی تبدیل فوریه- فرسورخ و استفاده از

منابع

[1] FAO (Food Agriculture Organization). Citrus Fruit Statistical Compendium, (2021). URL <https://www.fao.org/3/cb6492en/pdf>

[2] Tajvar, Y., Ghasemi, Y., & Fiffaei, R. (2014). Cold stress and control methods in citrus. Ramsar, Iran: *Iran Citrus Res. Inst. Public. Comm.*, [In Persian]

- [3] Hashempour, A., Tajvar, Y., SheikhAshkevari, A., Ebadi, H., FatahiMoghadam, J., FaghihNasiri, M., & Golmohammadi, M. (2017). Evaluation of cold and frost damage in citrus and kiwifruit of Mazandaran province citrus. *Ramsar, I.R. Iran: Iran Citrus Res. Inst. Public. Comm.*, [In Persian]
- [4] Feridoni, H., (2016). Methods of dealing with frost in fruit tree orchards. *I.R. Iran:Golestan Agri. Nat. Res. Educ. Cent.*, (In Persian)
- [5] Gambhir, P.N., Choi, Y.J., Slaughter, D.C., Thompson, J. F. & McCarthy, M.J. (2005). Proton spin-spin relaxation time of peel and flesh of navel orange varieties exposed to freezing temperature. *J. Sci. Food Agric.*, 85, 2482-2486.
- [6] Moomkesh, SH., Mireei, S.A., Sadeghi, M., & Nazeri, M. (2017). Non-destructive prediction of quality parameters of sweet lemon (*Citrus limetta*) by Vis/SWNIR spectroscopy. *Iran. J. Biosyst. Eng.*, 47, 603-613. (In Persian).
- [7] Rahmanian, A., Mireei, S.A., Sadri, S., Gholami, M. and Nazeri, M. (2020). Application of biospeckle laser imaging for early detection of chilling and freezing disorders in orange. *Postharvest Bio. Technol.*, 162, 111118.
- [8] Buta, J.G., Qi, L. & Wang, C.Y. (1997). Fourier transform infrared spectra of zucchini squash stored at chilling or non-chilling temperatures. *Environ. Exp. Bot.*, 38, 1-6.
- [9] Sherazi, S.T.H., Bhutto, A.A. Mahesar, S.A. & Bhangar, M.I. (2017). Application of fourier-transform infrared (ft-ir) spectroscopy for determination of total phenolics of freeze dried lemon juices. *J. Chem. Soc. Pakistan.*, 39(6), 955-961.
- [10] Oldenhof, H., Akhoondi, M., Sieme, H. & Wolkers, W. (2013). Use of Fourier transform infrared spectroscopy to determine optimal cooling rates for cryopreservation of cells. *Biomed. Spectrosc. Imaging*, 2(2), 83-90.
- [11] Wolkers, W.F. & Oldenhof, H. (2015). Use of in situ Fourier transform infrared spectroscopy to study freezing and drying of cells. W.F. Wolkers, & H. Oldenhof, *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols* (pp.147-161). Springer Science+Business Media New York.
- [12] Rahi, S., Mobli, H., Jamshidi, B., Azizi, A., & Sharifi, M. (2020). Microbial contamination assessment of lettuce using NIR hyperspectral imaging: case study on escherichia coli. *Iran J Biosyst Eng*, 51(3), 599-610. (In Persian).
- [13] Kheiralipour, K., Ahmadi, H., Rajabipour, A., Rafiee, S., Javan-Nikkhah, M., Jayas, D., & Siliveru, K. (2016). Detection of fungal infection in pistachio kernel by long-wave near-infrared hyperspectral imaging technique. *Qual. Assu.r Saf. Crop. Food*, 8 (1), 129 - 135.
- [14] Nunes, A., Martins, J., Barros, A.S., Galvis-Sánchez, A.C. & Delgadillo, I. (2009). Estimation of olive oil acidity using FT-IR and partial least squares regression. *Sen. Instrum. Food Qual. Saf.*, 3 (3), 187-191.
- [15] Ebadi, H., gholamian, E., FatahiMoghaddam, J., Golein,B., GolMohammadi, M., & Moradi, B. (2019). Guide to planting, growing, harvesting and supply of citrus fruits. *I.R. Iran Agric. Educ. Promote. Public.*, (In Persian)
- [16] Jamshidi, B., Minaei, S., Mohajerani, E. & Ghassemanian, H. (2014). Effect of spectral pre-processing methods on non-destructive quality assessment of oranges using NIRS. *J. Agric. Eng. Res.*, 15(2), 44-27. (In Persian)
- [17] Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D.H. & Zheng, C. (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*, 86 (12-13), 1781-1788.
- [18] McKendry, P. (2002). Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresour.Technol.*, 83, 37-46.
- [19] Demirbaş, A. (2000). Mechanisms of liquefaction and pyrolysis reactions of biomass. *Energy Convers. Manag.*, 41, 633-646.
- [20] Zapata, B., Balmaseda, J., Fregoso-Israel, E. & Torres-Garcia, E. (2009). Thermo-kinetics study of orange peel in air. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 98, 309-315.
- [21] Chaudhari, A. (2016). Nitrobenzene oxidation for isolation of value added products from industrial waste lignin. *J. Chem. Biolo. Physic. Sci.*, 6, 501-513.
- [22] Mohamed, S.E., Khalifi, M.G., Sayed, S.A., Kamel, A.M., & Shalabi, M. (2009). Removal of lignin from pulp waste water's black liquor via bypass cement dust. *Eurasian. Chem-Technol. J*, 11, 51-59.
- [23] Rafiei, M. & Rajabi, H., (2017). Differentiation of essential oil cavities in developing lemon (*Citrus limon* (L.) *Burm. F.*) flower and fruit. *IR. Iran. Iran J. Plant Biol.*, 3(8), 59-68. (In Persian)