

ارزیابی غیرمخرب تازگی تخم مرغ با طیف‌سنجی UV-IR و تعیین تأثیرگذارترین ناحیه طیفی

سامان آبدانان مهدی‌زاده^۱، سعید مینایی^{۲*}، عزالدین مهاجرانی^۳، محمدمیر کریمی ترشیزی^۴

۱، استادیار گروه مکانیک ماشین‌های کشاورزی، دانشگاه کشاورزی، و منابع طبیعی رامین خوزستان

۲، دانشیار گروه مکانیک ماشین‌های کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس تهران

۳، دانشیار گروه فیزیک، دانشگاه شهید بهشتی تهران

۴، استادیار گروه دام و طیور، دانشگاه تربیت مدرس تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۲۴ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۱۱/۱۷)

چکیده

صنعت مدرن طیور به‌جای روش‌های سنتی فراوری و جابه‌جایی تخم مرغ مانند candling و بازرسی چشمی، به‌دنبال روش‌های جدیدتری است. هدف از این پژوهش، ارزیابی طیف‌سنجی UV-IR به‌منظور سنجش غیرمخرب تازگی تخم مرغ به‌عنوان جایگزینی برای روش‌های سنتی بازرسی است. برای بررسی گستره وسیعی از تغییرات در تازگی، گروه‌های متشکل از ۱۰ تخم مرغ ($30 \pm 7^\circ\text{C}$ و $25 \pm 4\%$ رطوبت نسبی) به‌مدت ۳۰ روز ذخیره شدند. اندازه‌گیری‌های طیفی در برابر سه پارامتر مخرب سنجش تازگی (HU) Haugh units، pH، سفیده و زرده، و (YC) ضریب زرده) قرار داده شدند. روش‌های PLSR و PCR به‌منظور پیش‌بینی HU، pH، سفیده تخم مرغ، و YC براساس داده‌های طیفی استفاده شد. مقدار ضریب تعیین خطای پیشگویی در روش PLSR برای HU، YC، و pH سفیده به‌ترتیب ۰/۸۸، ۰/۸۶ و ۰/۷۸ و در روش PCR (برای HU، YC، و pH) سفیده به‌ترتیب ۰/۶۴، ۰/۶۲، و ۰/۴۱ به‌دست آمد. این نتایج بیانگر توانایی بیشتر PLSR در پیش‌بینی داده‌های طیفی است. درضمن بیشتر اطلاعات طیفی در بازه ۵۱۰-۸۲۰ nm قرار دارد. نتایج همچنین نشان داد که طیف‌سنجی UV-IR در ارزیابی کیفیت درونی و تازگی تخم مرغ روش موثری است.

کلیدواژه‌گان: ارزیابی غیرمخرب، شاخص‌های کیفیت و تازگی تخم مرغ، ناحیه طیفی تأثیرگذار.

مقدمه

استفاده از تخم مرغ - این بسته غذایی کامل - به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم بسیار گسترش یافته است. به همین سبب کیفیت آن از اهمیت بالایی برخوردار است. مفهوم کیفیت تخم مرغ پیچیده است و شامل اندازه تخم مرغ، رنگ و کیفیت پوسته، شکل تخم مرغ، کیفیت داخلی، و همچنین نقایصی مانند لکه خون و تکه‌های گوشت می‌شود. کیفیت سفیده ویژگی مهمی برای خواص ارگانولوژیک^۱ و ساختار تخم مرغ و فراوری در مرحله بعدی است. به‌علاوه کیفیت سفیده را می‌توان شاخص امنیت غذایی در نظر گرفت. برای مثال کیفیت نامرغوب سفیده تخم مرغ تازه (سفیده آبکی) می‌تواند ناشی از هجوم باکتری‌ها باشد (Seregely et al., 2006). کیفیت سفیده تخم مرغ‌های گوناگون بسیار متفاوت است. حتی در لحظه تخم‌گذاشتن نیز اختلاف زیادی وجود دارد. عوامل متفاوتی بر کیفیت اولیه سفیده مؤثرند که شامل ژنوتیپ^۲، سن، اندازه بدن، نژاد مرغ

مادر، ترکیبات غذایی و میزان مصرف آب، شرایط محیطی، و وجود بیماری است (Sekeroglu & Altuntas, 2009). بلافاصله بعد از تخم‌گذاری، فرایند زوال (تغییرات شیمیایی ویژگی‌های عملگر^۳ و غذایی تخم مرغ) با تولید گاز CO₂ که سبب تغییر pH می‌گردد، آغاز می‌شود. روند زوال سفیده در خلال انبارداری بسیار به شرایط نگهداری (دما و رطوبت نسبی) و ویژگی‌های پوسته بستگی دارد. زمان انبارداری عموماً برای تشخیص تخم مرغ تازه و تخم مرغ مناسب برای مصرف‌کننده، استفاده می‌شود. البته باتوجه به موارد ذکر شده نمی‌توان فقط به‌تعداد روزهای پس از تخم‌گذاری اعتماد کرد (Rossi et al., 1999). از این رو شاخص‌های شیمیایی که در خلال انبارداری تغییر می‌کنند، به‌عنوان توصیف‌گر تازگی تخم مرغ در نظر گرفته شده‌اند (Anton et al., 2003).

در گذشته روش‌های متعددی برای ارزیابی کیفیت سفیده زرده استفاده می‌شده است که می‌توان آن‌ها را به دو روش مخرب و غیرمخرب تقسیم کرد. مزیت روش‌های مخرب این است که اندازه‌گیری‌ها، مستقیماً درمورد سفیده صورت می‌گیرد.

* نویسنده مسئول: minae@modares.ac.ir

1. Organoleptic
2. Genotype

روش‌ها، سریع و دقیق نیستند.

به‌کارگیری طیف‌سنجی مرئی-فروسرخ (Vis-IR)، توانایی بالایی برای به‌دست‌آوردن اطلاعاتی درباره اجزای شیمیایی محصولات دارد. از این روش طیف‌سنجی برای اندازه‌گیری‌های فوری به‌منظور تعیین کیفیت محصولات گوناگون کشاورزی هم در مقیاس آزمایشگاهی و هم در فرآوری on-line استفاده شده است. از آن‌جمله می‌توان به طیف‌سنجی NIR و تصویربرداری برای سنجش کیفیت و ایمنی مواد غذایی (Wang & Paliwal, 2007)، اندازه‌گیری برخی از ویژگی‌های فیزیکی میوه‌ها مانند سختی (Lu et al., 2006; Ariana et al., 2006)، و ویژگی‌های شیمیایی مانند مواد جامد محلول (Moons et al., 2000; Park et al., 2003) اشاره کرد. باوجود تحقیقات گسترده در زمینه محصولات باغی، به‌کارگیری این روش‌ها در ارزیابی کیفیت تخم‌مرغ محدود است. استفاده از طیف‌سنجی NIR برای تعیین تازگی تخم‌مرغ به‌وسیله Norris (1996) مطالعه شد. در این تحقیق زمان انبارداری تخم‌مرغ به چند ساعت محدود شده است. Schmilovitch et al. (2002) طیف عبوری (۲۵۰۰-۱۱۰۰ nm) NIR را در تخم‌مرغ اندازه‌گیری کردند. نتایج تحقیق نشان داد که مدت نگهداری (تعداد روز بعد از تخم‌گذاری)، اندازه محفظه هوا، و کاهش وزن را می‌توان به‌خوبی با NIR اندازه‌گیری کرد ($R^2 > 0.9$). این ضریب تعیین بالاست، ولی به تخم‌مرغی خاص ارتباط ندارد و به میانگین گروه‌ها اختصاص دارد. Bamelis (2003) عبور طیف مرئی را در تخم‌مرغ‌ها اندازه‌گیری و تغییرات بزرگی میان طیف‌های تک‌تخم‌مرغ‌ها در دسته‌ها مشاهده کرد. این تغییرات هم وابسته به ویژگی‌های درونی و ویژگی‌های پوسته گزارش شد. پتانسیل طیف مرئی-فروسرخ عبوری به‌منظور ارزیابی تازگی تخم‌مرغ و خواص کیفی سفیده در مطالعات گوناگونی بررسی شده است (Kemps et al., 2006; Liu et al., 2007). اما، وجود مقدار زیادی آب در تخم‌مرغ در این طیف‌سنجی محدودیت بزرگی در تعبیر مولکول‌های اطراف زرده و سفیده به‌شمار می‌آیند. یقیناً، میزان آب زیاد موجود در تخم‌مرغ به‌طور عمده‌ای در میزان پراکنش نور و تداخل میان جذب باند آب و ناحیه‌ای که ویژگی‌های طیفی مهم از دیگر اجزای شیمیایی دارد، مؤثر است (Williams & Norris 2001).

هدف از این پژوهش بررسی چگونگی ارتباط میان طیف عبوری در محدوده (۱۱۰۰-۲۰۰ nm) و پارامترهای شیمیایی مخرب برای تخم‌مرغ سالم و پیشگویی تازگی آن است. در این روش میان اندازه‌گیری‌های غیرمخرب طیفی با ۳ پارامتر مخرب متداول برای سنجش تازگی یعنی HU، pH سفیده تخم‌مرغ، و

البته تخم‌مرغ‌ها باید شکسته شوند، از این‌رو، آزمایش برای تعداد محدودی از آن‌ها امکان‌پذیر است. گسترده‌ترین و مناسب‌ترین روش ارزیابی سفیده (HU) Haugh unit است. HU براساس هر دو عامل وزن تخم‌مرغ دست‌نخورده و ارتفاع سفیده تخم‌مرغ شکسته‌شده است. در این روش زمانی که تخم‌مرغ تازه روی سطحی صاف بادقت شکسته شود، زرده در مرکز با سفیده ضخیم احاطه می‌شود. اما در صورتی که تخم‌مرغ مانده شکسته شود، زرده معمولاً در وسط نیست و به سمتی متمایل است. در ضمن سفیده نازک‌تر می‌شود که نتیجه‌اش گسترش ناحیه سفیده است که کاهش ارتفاع آن و متعاقباً کاهش HU را در پی دارد (Kemps et al., 2006). در روش غیرمخرب، ویژگی‌های وابسته به سفیده و زرده در تخم‌مرغ سالم^۱ اندازه‌گیری می‌شود و این عمل روی خط تولید و به‌صورت on-line برای همه تخم‌مرغ‌ها به‌کمک روش‌های متفاوت غیرمخرب مانند طیف‌سنجی امکان‌پذیر است. افزون بر آن کنترل کیفیت سفیده تضمینی برای کیفیت محصولات غذایی مرتبط با آن است (Dutta et al., 2003).

مقدمه

نخستین کاربرد روش‌های نوری در تخم‌مرغ، تشخیص لکه خون (متداول‌ترین نقص در تخم‌مرغ) بود و ساده‌ترین روش استفاده‌شده به‌صورت گسترده candling است. از جمله موارد دیگر کاربرد این روش، ارزیابی حرکت زرده است که به‌عنوان شاخصی برای گرانروی سفیده در تخم‌مرغ به‌شمار می‌آید. به‌کمک این روش، Tsarenko (1973) با استفاده از photo-element و گالوانومتر، می‌توان درجه قابلیت حرکت زرده را تخمین زد. در پژوهشی دیگر Lastinger & McLendon, (1976) دریافته‌اند که استفاده از خواص نور عبوری از تخم‌مرغ (۴۵۰-۸۰۰ nm) تشخیص ترک را در خلال آزمایش فشار هوا بیشتر آشکار می‌سازد. Narushin (1997) برخی از روش‌های غیرمخرب موجود را آزمایش کرد. نتایج تحقیق نشان داد که هدایت الکتریکی سفیده شاخصی برای تعیین کیفیت درونی تخم‌مرغ است. Campo et al. (2000) از تغییرات اندازه محفظه هوا برای تخمین تازگی تخم‌مرغ استفاده کردند. Schwagele et al. (2001) به‌کمک طیف‌سنجی NMR با وضوح پایین کیفیت‌سنجی درون تخم‌مرغ را انجام دادند. در این روش، طیف‌سنجی در دو جهت طولی و عرضی صورت گرفت که آسایش جانبی^۲ در هفته اول انبارداری در تمام دماها به‌صورت نمایی کاهش پیدا کرد. روش‌های فوق خلاصه‌ای از تکنیک‌های غیرمخرب به‌منظور ارزیابی کیفیت سفیده بوده‌اند، اگرچه این

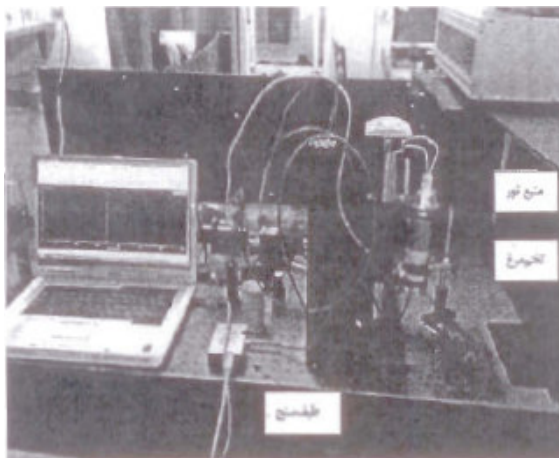
1. Intact Egg

2. Transversal Relaxation

میانگین به دست آمده، ثبت گردید. برای تعیین استحکام پوسته، از دستگاه تعیین نیروسنج (Force Gauge model II Robotmation - Japan) استفاده گردید.

طیفسنجی UV-IR

دستگاه طیفسنج UV-IR (مدل USB2000 Fiber Optic Spectrometer ساخت شرکت Ocean Optics) برای به دست آوردن طیفهای UV-IR استفاده شد. شکل ۱ سامانه استفاده شده برای اندازه گیری طیف عبوری را نشان می دهد. تخم مرغ روی حلقه ای اسفنجی در مقابل منبع نور (halogen lamp, Osram HLX 64 635, 150W) قرار می گیرد. فیبر نوری زیر تخم مرغ جایگزین می شود، نور عبوری از آن را به طیفسنج انتقال می دهد. از این طریق، فقط نور عبوری از درون تخم مرغ به آشکارساز زیر تخم مرغ می رسد. طیفسنج دارای طول موج ۱۱۰۰-۲۰۰ nm با دقت در حد نانومتر است. به منظور جلوگیری از به اشباع رسیدن طیفسنج از دیمر برای تنظیم شدت لامپ استفاده شد. زمان اندازه گیری ۲۵۰ ms و طول موج به دست آمده میانگینی از ۵ تکرار است. به منظور تعیین بهتر کیفیت داخلی جسم مرجع، پوسته تخم مرغ در نظر گرفته شد و بعد از هر اندازه گیری طیفهای به دست آمده از طیف عبوری پوسته تفریق گردید که این عمل سبب به دست آوردن پیکهای تیزتر با بزرگی بیشتر شد.



شکل ۱. سامانه طیفسنجی تخم مرغ

عملیات ریاضی روی داده ها

به منظور تصحیح داده های طیفسنجی تغییر مقیاس و جابه جاشدگی از تصحیح پراکندگی فزاینده^۲ (MSC) (Osborne *et al.*, 1993)، تغییرات در تخم مرغ به سبب تفاوت

ضریب زرده، ارتباط برقرار می گردد. با این تفاوت که در تحقیقات گذشته یا تخم مرغها شکسته می شدند که روشی مناسب نیست (Karoui *et al.*, 2006 a, b) یا از روش های ساده آماری مانند رگسیون خطی بادقت بسیار پایین استفاده می شد (Liu *et al.*, 2007).

مواد و روش ها

بررسی کیفیت تخم مرغ

برای این منظور ۱۰۰ عدد تخم مرغ در دمای $30 \pm 7^\circ C$ و رطوبت 25 ± 4 درصد نگهداری در روزهای ۱، ۴، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۹، ۲۱، ۲۵، ۲۹ آزمایش شدند. این شرایط مشابه وضعیت نگهداری تخم مرغ در ایران در طول دوره تابستان است. هر روز ۱۰ نمونه بعد از طیفسنجی، که شرح آن خواهد آمد، تحت آزمایش مخرب قرار گرفتند. وزن تخم مرغ، ضخامت، و مقاومت پوسته به عنوان سه فاکتور کیفیت خارجی تخم مرغ و HU، pH، سفیده و زرده، و YC به عنوان فاکتورهای کیفیت درونی تخم مرغ تعیین شد.

بررسی کیفیت محتویات تخم مرغ

برای بیان کیفیت درونی از HU، pH، سفیده و زرده، و ضریب زرده^۱ (رابطه ۱) استفاده شد. شاخص HU تا روز شانزدهم پس از انبارمانی با دستگاه egg multi tester (Model 5200-Japan) اندازه گیری شد. در روز نوزدهم سفیده ضخیم بسیار رقیق شد، به گونه ای که دستگاه egg multi tester دیگر قادر به خواندن مقدار HU نبود. در نتیجه از رابطه ۲ برای محاسبه استفاده گردید.

(رابطه ۱)

$$\text{Yolk Coefficient} = \left(\frac{\text{Yolk weight}}{\text{Yolk height}} \right) \times 100$$

$$\text{Haugh Unit} = 100 \log_{10}^{(H-1.7W^{0.37}+7.6)} \quad (\text{رابطه ۲})$$

که در آن H ارتفاع سفیده و W وزن تخم مرغ است. دستگاه (Metrohm (827 pH Lab, UK) با دقت ۱ درصد برای اندازه گیری pH نمونه ها به کار گرفته شد.

اندازه گیری کیفیت خارجی تخم مرغ

برای تعیین ضخامت پوسته از دستگاه ضخامتسنج فراصوتی استفاده شد (Echometer 1061-Japan). برای این منظور به دلیل اختلاف ضخامت بین قسمت های گوناگون پوسته، چهار قسمت پوسته (دو انتها و دو قسمت وسط) اندازه گیری شد و

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های کیفی تخم‌مرغ

MS							
اثر اصلی	درجه آزادی	pH زرده	pH سفیده	HU	وزن کل	وزن زرده	ارتفاع زرده
مدت نگهداری	۶	YC	ضخامت پوسته	مقاومت پوسته			
		۱۶۴۳/۳**	۰/۱ ^{NS}	۲/۱۷ ^{NS}			
		۰/۰۷ ^{NS}	۰/۲۵**	۱۲۸۱/۱**	۸/۸۶ ^{NS}	۳/۷۶ ^{NS}	۳۶/۱**

** در سطح احتمال ۱ درصد و * در سطح ۵ درصد معنی‌دار است. NS معنی‌دار نیست.

جدول ۲. بررسی اثر زمان نگهداری بر pH سفیده، HU و YC براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($\alpha=0.05$)

زمان نگهداری	pH سفیده	HU	YC
۱	۹/۰۷ ^c	۷۵/۱۶ ^a	۹۱/۵۴ ^a
۴	۹/۵۳ ^d	۴۸/۲ ^b	۷۹/۶۱ ^b
۷	۹/۶۰ ^c	۴۴/۴ ^b	۷۳/۲۵ ^b
۱۰	۹/۶۵ ^{bc}	۴۳/۸۲ ^b	۵۸/۷۰ ^c
۱۳	۹/۷۲ ^a	۳۶/۸۶ ^{bc}	۵۸/۱۸ ^c
۱۶	۹/۶۶ ^{bc}	۲۹/۲۵ ^c	۴۴/۱۰ ^d
۱۹	۹/۶۸ ^{ab}	۲۷/۲۲ ^c	۴۳/۳۶ ^d

براساس تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های به‌دست‌آمده از آزمون‌های مخرب مشخص گردید که pH سفیده، ارتفاع زرده، شاخص‌های HU و YC به‌صورت معنی‌داری با زمان تغییر می‌کنند (جدول ۱). در نتیجه این پارامترها را می‌توان به‌طور مؤثر در بررسی‌های غیرمخرب استفاده کرد.

همان‌گونه که در جدول (۲) مشخص است، روز اول انبارمانی برای هر ۳ شاخص (pH سفیده، HU، و YC) شرایط ویژه‌ای داشت و دارای اختلاف معنی‌داری در مقایسه با سایر روزها است ($P < 0.05$)، و بقیه کیفیت تخم‌مرغ‌ها روزهای ۴، ۷، ۱۰ گروه ۲ و روزهای ۱۳، ۱۶، و ۱۹ گروه ۳ را تشکیل می‌دهند که به‌ترتیب گروه کم‌کیفیت و بی‌کیفیت خوانده می‌شوند.

نمودارهای شکل ۲a و ۲b تغییرات pH در زرده و سفیده را برحسب انبارمانی نشان می‌دهند. باتوجه به نوسانات pH در زرده و ثابت‌گردیدن آن در سفیده، HU و YC تأثیرپذیرترین پارامترها در انبارمانی تخم‌مرغ به‌شمار می‌آیند. در نتیجه بیشتر تحلیل‌های داده‌های طیفی به این دو پارامتر بستگی دارد.

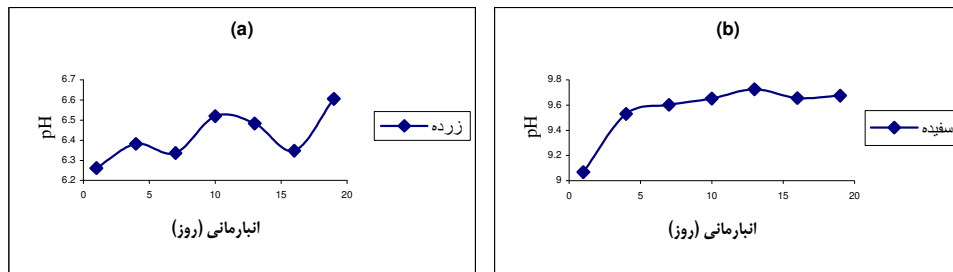
طیف‌های عبوری در ناحیه ۴۵۰-۲۰۰ nm و همچنین از ۹۰۰-۱۱۰۰ nm به‌دلیل وجود نویز شدید، در تجزیه و تحلیل‌ها استفاده نشدند. پس از نرمال‌سازی داده‌ها با مقدار بیشینه و میانگین‌گیری ۱۰ نمونه در هر روز تا روز نوزدهم، طیف نمونه‌ها به‌صورت شکل ۳ درآمد.

در اندازه و ویژگی‌های پوسته SNV¹ (Dhanoa et al., 1994) و کاهش داده‌های طیفی و استخراج مؤلفه‌های تحلیل از مؤلفه‌های اصلی (Haykin, 1999; Hu & Hwang, 2001) استفاده گردید.

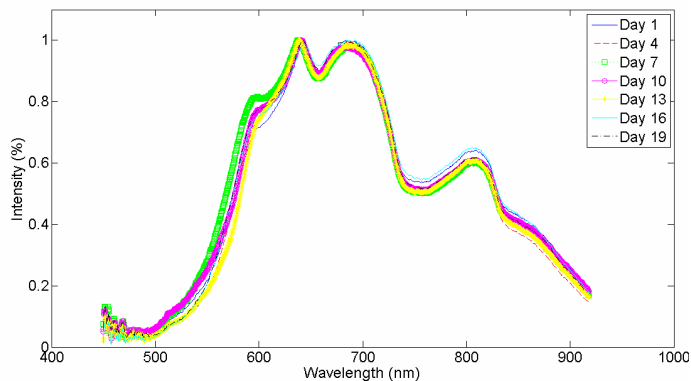
نتایج و بحث

طیف‌سنجی و آزمون‌های مخرب تا روز شانزدهم پس از انبارمانی ادامه یافتند. در روز نوزدهم سفیده ضخیم بسیار رقیق شد به‌گونه‌ای که دستگاه egg multi tester دیگر قادر به خواندن Haugh Unit (HU) نبود. در ضمن ضخامت غشای نگهدارنده زرده بسیار نازک و حساس شده بود و هنگام شکستن تخم‌مرغ‌ها حتی با دقت بسیار، به‌راحتی از هم می‌گسست. این پدیده باتوجه به جذب آب به‌وسیله زرده و ضعیف‌شدن غشای آن به‌دلیل افزایش pH تفسیرشدنی است (Heath, 1975). از این‌رو برای اندازه‌گیری HU از کولیس استفاده شد و با به‌کارگیری رابطه ۲ مقدار آن محاسبه گردید (AOAC, 1996). در روز بیست‌ودوم فقط ۲ عدد از تخم‌مرغ‌ها پس از شکستن، حالت خود را حفظ کردند و زرده و سفیده آن‌ها با یکدیگر مخلوط نشد. روز بیست‌وپنجم اولاً به‌دلیل زوال بیش از حد تخم‌مرغ‌ها و رقیق‌شدن سفیده و ثانیاً به‌دلیل ترکیب زرده اندازه‌گیری ضخامت سفیده غیرممکن بود. در نتیجه به‌ناچار اندازه‌گیری‌ها در این روز متوقف و گزارشات و تحلیل‌ها فقط تا روز نوزدهم پس از انبارداری ارائه گردید.

1. Standard Normal Variate.



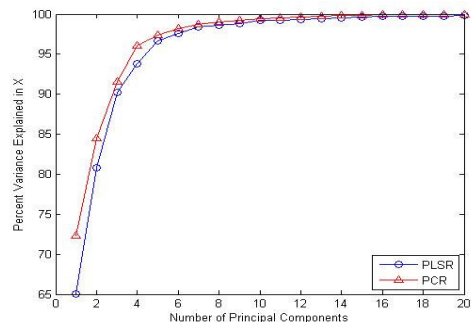
شکل ۲. تغییرات pH در زرده (a) و سفیده (b)



شکل ۳. هفت طیف عبوری از نمونه‌ها تا روز نوزدهم

همان‌گونه که در شکل ۴ مشخص است، پس از مؤلفه ۱۰ نمودار تقریباً همگرا شد و بیش از ۹۵ درصد واریانس داده‌ها را دارد.

واضح است که هر دو روش PLSR و PCR با تعداد مؤلفه‌های بیشتر جواب دقیق‌تری به‌دست می‌دهند، ولی تعداد مؤلفه‌های بیشتر در عمل سبب بیش‌برازش^۳ و تعداد کم آن‌ها سبب کم‌برازش^۴ می‌گردد. از این رو در عمل باید برای انتخاب تعداد مؤلفه‌های اصلی، دقت بیشتری صورت پذیرد، زیرا سبب بالا رفتن صحت مدل می‌گردد. از روش‌های متداول در تعیین صحت مدل اعمالی و کارآمدترین تعداد مؤلفه‌های اصلی، می‌توان به روش‌های cross-validation، hold-out و bootstrap اشاره کرد (Xiaobo *et al.*, 2007). از این روش‌ها به‌وفور در شیمی‌سنجی استفاده می‌شود. با توجه به پژوهش‌های انجام‌شده تمامی روش‌های یادشده به یک جواب منتهی می‌شوند، با این تفاوت که روش cross-validation (که شامل روش‌های Monte-Carlo، k-fold و Leave-One-Out است) در مقایسه با روش bootstrap دارای واریانس تئوری بالاتری است. این در حالی



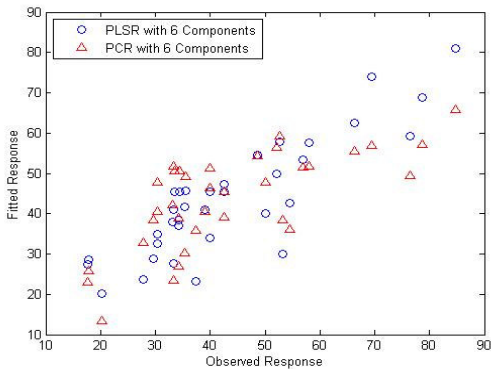
شکل ۴. نمودار ۲۰ مؤلفه اصلی برحسب درصد واریانس داده‌ها به دو روش PLSR و PCR

طیف‌ها بعد از تصحیح با MSC و SNV، به‌منظور استخراج مؤلفه‌های اصلی به نرم‌افزار تدوین‌شده در فضای MatLab منتقل شدند. شایان ذکر است که در برنامه نوشته‌شده در فضای MatLab از دو روش PLSR^۱ و PCR^۲ استفاده گردید. راه ساده برای تعیین تعداد مؤلفه‌های اصلی، ترسیم نمودار مؤلفه‌های اصلی برحسب درصد واریانس داده‌هاست. از این رو ۲۰ مؤلفه اصلی برای طیف‌های داده‌شده، استخراج گردیدند (شکل ۴).

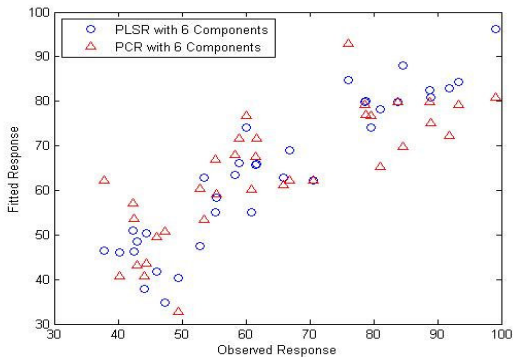
3. overfitting
4. underfitting

1. Partial Least Squares Regression
2. Principal Components Regression

مؤلفه اصلی برای ضریب زرده و HU به ترتیب ۲/۷ و ۲/۲ است که باتوجه به پژوهش‌های فوق پذیرفتنی است. به‌منظور کاهش عملیات و زمان محاسبات و باتوجه به شکل ۶، شش مؤلفه اصلی که بیش از ۹۵ درصد واریانس را دارد، انتخاب شد و نمودار مقدار پیشگویی برحسب پارامتر مشاهده‌شده، ترسیم گردید (شکل‌های ۴ و ۵).



شکل ۶. نمودار مقدار اندازه‌گیری‌شده برحسب محاسبه‌شده برای شاخص HU



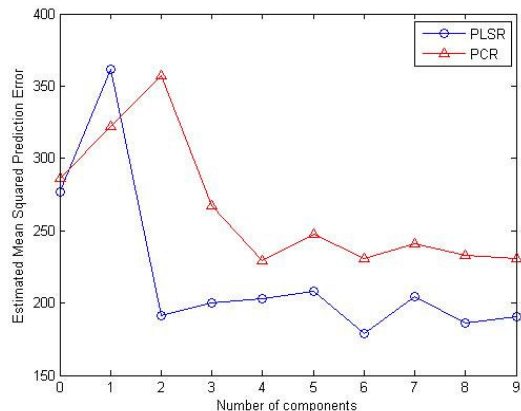
شکل ۷. نمودار مقدار اندازه‌گیری‌شده برحسب محاسبه‌شده برای شاخص YC

همان‌گونه که در شکل‌های ۶ و ۷ مشاهده می‌شود، میزان پراکندگی داده‌ها در روش PCR از روش PLSR بیشتر است که این پراکندگی حاکی از ناتوانایی روش PCR در پیشگویی دقیق داده‌ها است. البته این ضعف با مقدار R^2 به‌دست‌آمده برای خطا که در روش‌های PLSR و PCR به ترتیب ۰/۸۸ و ۰/۶۴ است برای HU و ۰/۸۶ و ۰/۶۲ برای YC به‌وضوح توجیه‌پذیر است و قدرت روش PLSR را در پیشگویی نشان می‌دهد. به‌رغم اینکه مقدار واریانس برای ۶ مؤلفه اصلی در روش PCR از روش PLSR بیشتر است (شکل ۴)، اما روش PLSR پیشگوی بهتری برای پارامتر شده است. البته باتوجه به اینکه در روش PCR فقط پارامتر اندازه‌گیری‌شده در نظر گرفته شده است و مقدار

است که زمان محاسبات در روش cross-validation طولانی‌تر است (Lendasse *et al.*, 2003). بنابراین روش cross-validation به‌دلیل واریانس بالاتر در اینجا استفاده شد.

تعیین تعداد مؤلفه‌های اصلی با روش cross-validation

باتوجه به توضیحات فوق، بار دیگر به استخراج مؤلفه‌های اصلی پرداخته شد، ولی این‌بار از روش cross-validation و زیر مجموعه k-fold برای کارآمدترین تعداد مؤلفه‌های اصلی کمک گرفته می‌شود. مقدار k در اینجا به‌روش آزمون و خطا و باتوجه به کمترین خطای پیش‌بینی میانگین مربعات ($MSEP^1$) ۱۰ انتخاب گردید. همان‌طور که در شکل ۵ مشخص است، ۶ مؤلفه اصلی خطای پیشگویی کمتری در مقایسه با دیگر مؤلفه‌های اصلی دارد. از این‌رو ۶ مؤلفه اصلی اول مدل پیشگو انتخاب می‌شوند. دیگر بار مشاهده می‌شود که مقدار خطای پیشگویی در روش PCR از روش PLSR بیشتر است



شکل ۵. نمودار تعداد مؤلفه‌های اصلی برحسب $MSEP$ برای YC

توانایی پیشگویی PLSR را می‌توان با RPD (نسبت عملکرد به انحراف) بررسی کرد. این ضریب از طریق تقسیم انحراف معیار بر RMSE پیشگویی به‌دست می‌آید (McGlone *et al.*, 2002). این در حالی است که (Kemps *et al.*, 2006) ضریب RPD حدود ۲ را برای HU و pH به‌دست آوردند. آن‌ها گزارش کردند که این عدد بدین معنی است که تخم‌مرغ‌ها را می‌توان به ۲ گروه مجزا تقسیم‌بندی کرد. از سوی دیگر Williams & Sobering (1993) و Huang *et al.* (2008) RPD بالای ۲/۵ را دلیل پیشگویی مناسب می‌دانند. اما مطابق جدول ۱ مقدار RPD به‌دست‌آمده را می‌توان به‌عنوان شاخصی برای طبقه‌بندی HU نیز در نظر گرفت. مقدار RPD حاصل در پژوهش حاضر با ۶

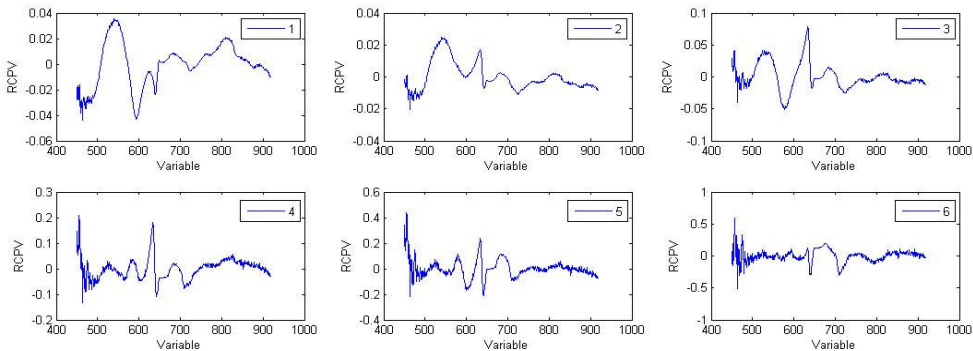
1. Mean squared prediction error
2. Ratio of Performance to Deviation (RPD)

و PCR به ترتیب ۰/۷۸ و ۰/۴۱ است (شکل آن گزارش نشده است).

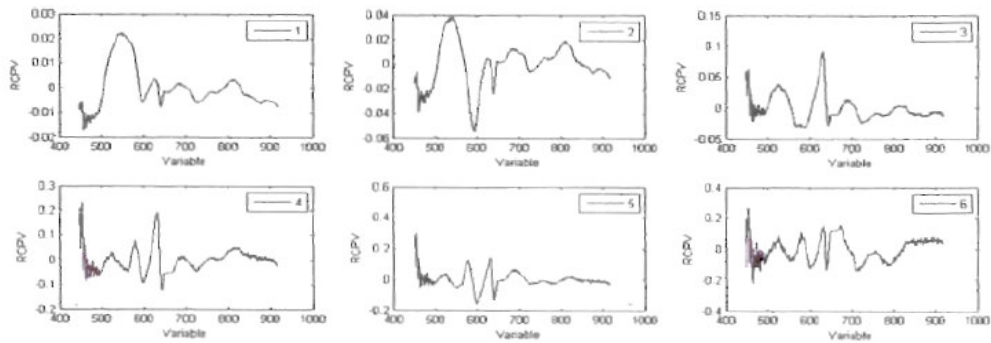
انتخاب ناحیه مؤثر بر ویژگی‌های کیفی تخم مرغ

با استفاده از ضرایب رگرسیون در روش‌های PLSR و PCR می‌توان اطلاعات طیفی که حاوی بیشترین ارتباط با آزمون مخرب است را به دست آورد^۱ (شکل‌های ۸ تا ۱۱).

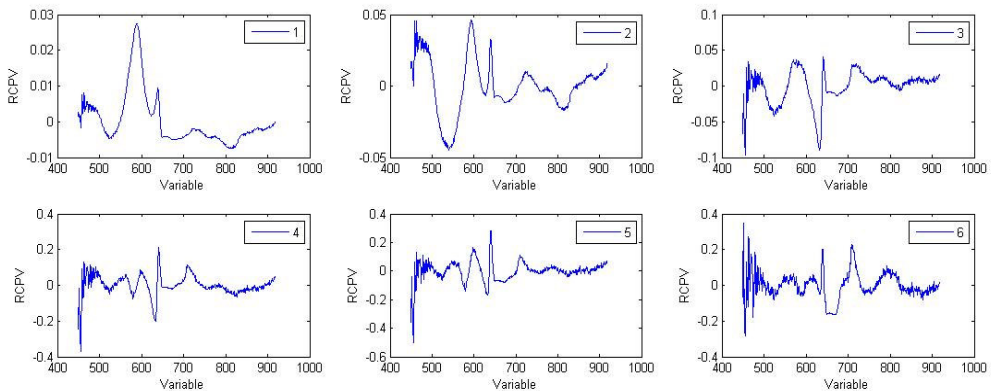
خروجی در محاسبات در نظر گرفته نمی‌شود، این امر توجیه پذیر است. یافته‌های به دست آمده از دو روش PLSR و PCR که نشان از توانایی بالاتر PLSR در پیشگویی داده‌های حاصل از آزمایش دارد با یافته‌های Frank & Friedman (1993) و Persson & Wedborg (2001) در یک راستا است. مقدار R^2 به دست آمده برای خطای پیش‌بینی pH در روش‌های PLSR



شکل ۸. نمودار مشارکت نسبی طول موج برای پیشگویی شاخص HU با روش PLSR برای ۶ مؤلفه اصلی

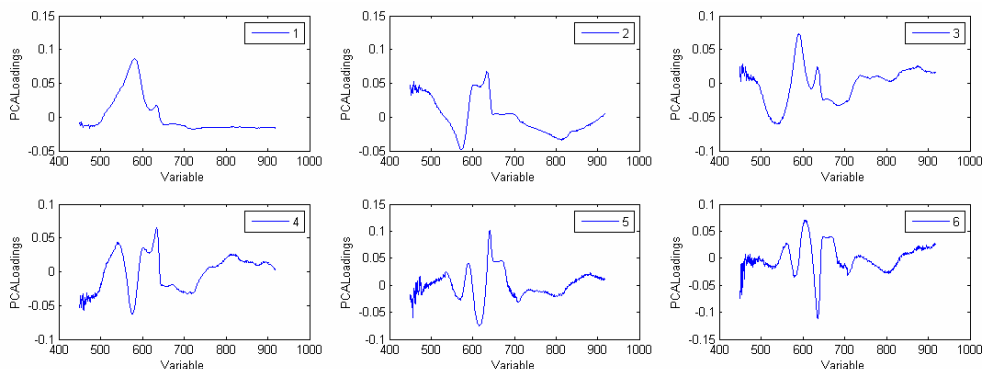


شکل ۹. نمودار مشارکت نسبی طول موج برای پیشگویی ضریب زرده با روش PLSR برای ۶ مؤلفه اصلی



شکل ۱۰. نمودار مشارکت نسبی طول موج برای پیشگویی pH سفیده با روش PLSR برای ۶ مؤلفه اصلی

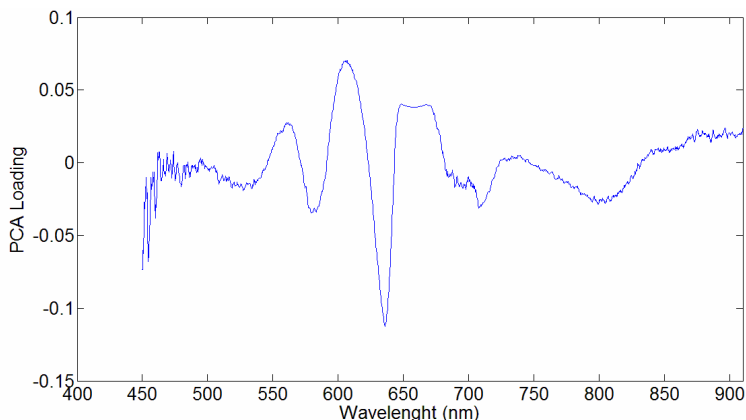
۱- به دلیل کمبود فضا در شکل‌های ۸ تا ۱۱ از مخفف RCPV به جای Relative contribution to predicted value استفاده شد.



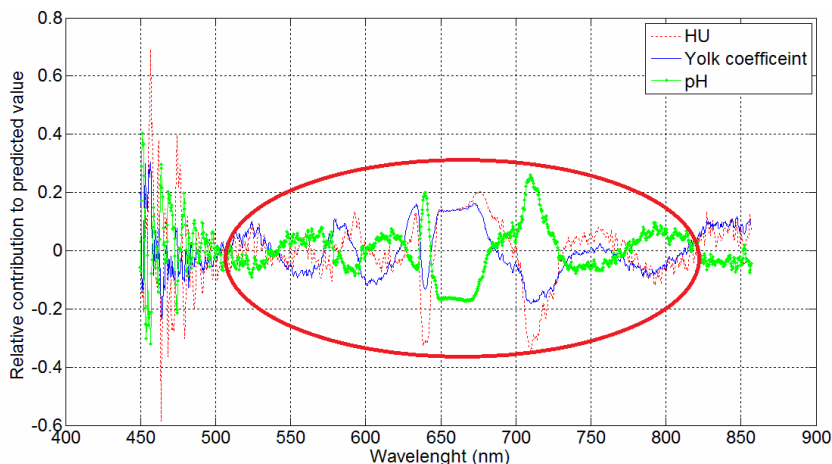
شکل ۱۱. نمودار مشارکت نسبی طول موج برای پیشگویی با روش PCR برای ۶ مؤلفه اصلی

مذکور نمودار رسم شده یکسان است. برای بررسی دقیق نمودارها مؤثرترین طول موج در HU، YC و pH، ۳ شاخص مذکور در شکل ۱۳ ترسیم گردیدند. شایان ذکر است که نمودار ترسیم شده فقط برای ۶ مؤلفه اصلی است.

شکل‌های ۸ تا ۱۰ برای مشخص کردن مؤثرترین طیف در پیشگویی پارامترهای HU و ضریب زرده و pH برای اولین تا ششمین مؤلفه اصلی با روش PLSR به دست آمد و ترسیم شدند. همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد در روش PCR خروجی دراستخراج مؤلفه‌ها بی‌اثر است از این رو برای هر ۳ پارامتر

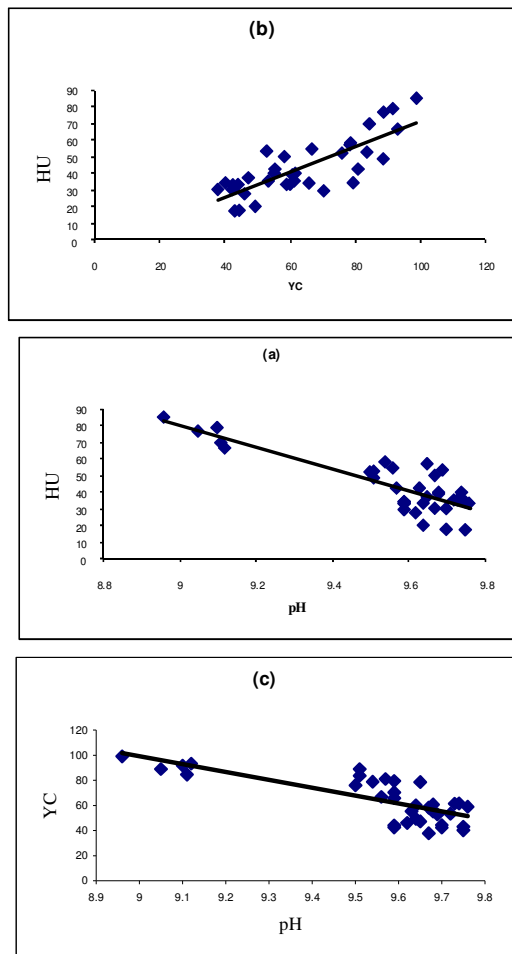


شکل ۱۲. نمودار بارگذاری ۶ مؤلفه اصلی برحسب طول موج به روش PCR



شکل ۱۳. نمودار مشارکت نسبی طول موج برای پیشگویی HU و ضریب زرده و pH با روش PLSR

ناپایدار می‌شود و سبب نازک‌شدن سفیده و در پی آن کاهش HU می‌شود (Robinson & Monsey, 1972). این ضریب میان pH و YC کمتر می‌شود و به مقدار ۰/۷۴-- کاهش می‌یابد. از سوی دیگر، برخلاف انتظار ترسیم HU برحسب pH این همبستگی بالا را نشان نمی‌دهد (شکل ۱۴ و رابطه‌های ۴، ۵، و ۶).



شکل ۱۴. تغییرات HU با pH (a)، HU با YC (b)، و YC برحسب pH

رابطه ۴) $Y(a) = -65.20x + 666.7 \quad (R^2 = 0.70)$
 رابطه ۵) $Y(b) = 0.76x - 5.19 \quad (R^2 = 0.65)$
 رابطه ۶) $Y(c) = -62.91x + 665.4 \quad (R^2 = 0.58)$
 محور X در رابطه‌های ۴، ۵، و ۶ به ترتیب pH، YC، و pH است.

طبقه‌بندی تخم‌مرغ‌ها براساس تغییرات pH

باتوجه به اینکه پژوهشگران قبلی، pH را پارامتر مؤثری به‌عنوان شاخصی برای کیفیت سفیده معرفی می‌کنند، به بررسی و طبقه‌بندی آن پرداخته می‌شود. باتوجه به اینکه در pH زرده

مطابق شکل‌های ۱۲ و ۱۳ در بازه ۴۰۰-۵۰۰ nm تغییرات در طول موج تأثیری بر روند پیشگویی پارامترهای بررسی‌شده نداشت. روند تأثیرگذاری در طول موج از ۵۱۲ nm شروع و تا حدود طول موج ۸۲۰ ادامه می‌یابد. این مسئله نشان می‌دهد که بیشترین اطلاعات در بازه ۵۱۰-۸۲۰ nm قرار دارند. در پژوهش Liu *et al.* (2007) بیشترین تغییرات در ناحیه طیفی ۴۰۰-۵۲۰ nm مشاهده شد. در این ناحیه با افزایش انبارمانی نور عبوری از تخم‌مرغ کاهش داشته و ارتباط بالایی میان طیف عبوری با HU مشاهده شده است. اما این نکته نیز شایان ذکر است که این پژوهش، در بازه طیفی محدود ۴۰۰-۵۸۰ nm انجام پذیرفته است. در ضمن، واکنش قهوه‌ای‌شدن نیز بر طیف عبوری از تخم‌مرغ تأثیر می‌گذارد. این واکنش که به‌عنوان شاخص زوال است سبب تولید ملانوئیدینس^۱ قهوه‌ای می‌شود که در ناحیه ۶۰۰-۷۰۰ nm بیشترین جذب را دارد (Burley & Vadehra, 1989). این نکته حاکی از این مسئله است که ناحیه به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر ارتباط بالاتری با شیمی زوال در مقایسه با تحقیق Liu *et al.* (2007) دارد. پیک‌های قرارگرفته در ناحیه بالاتر از ۷۵۰ nm (۹۶۰-۷۶۰) مربوط به مشارکت آب (پیوند O-H است (Matcher *et al.*, 1994). در این ناحیه تشابه دو نمودار HU و ضریب زرده بسیار شایان توجه است. در ضمن دو نمودار ذکرشده با pH نیز دارای روند مشابهی هستند، با این تفاوت که نمودار pH قرینه دو نمودار HU و YC است. با نگاهی به ماتریس ضرایب همبستگی^۲ سه نمودار این مسئله بیشتر واضح می‌گردد (شکل ۱۴).

(رابطه ۳)

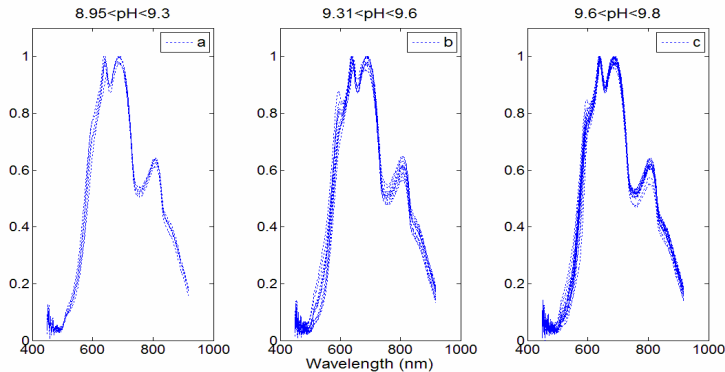
	HU	YC	pH
correlation coefficient=	1	0.82	-0.89
	0.82	1	-0.74
	-0.89	-0.74	1

مطابق ماتریس ضرایب همبستگی^۳ مشخص می‌گردد که میان HU و ضریب زرده همبستگی بالایی وجود دارد (۰/۸۲) ولی این ضریب میان HU و pH بالاتر است که حاکی از ارتباط بیشتر این دو پارامتر با یکدیگر است. دلیل وجود علامت منفی هم این است که با افزایش انبارمانی میزان HU کاهش می‌یابد، درحالی‌که pH افزایش می‌یابد. دلیل این پدیده آن است که با افزایش pH در طول انبارمانی کمپلکس ovomucin-lysozyme

1. melanoidins
 2. correlation coefficient

است که در چند روز نخست انبارداری روی می‌دهد (Kemps *et al.*, 2006). این پدیده در پژوهش حاضر به‌طور کامل مشاهده نشد، زیرا pH نمونه‌ها بلافاصله بعد از تخم‌گذاری در کمترین حالت ۸/۹۵ به‌دست آمد و تا ۱۹ روز بعد از انبارمانی به ۹/۷۷ افزایش یافت. باتوجه به جدول ۲ pH به ۳ گروه ۲ تقسیم‌بندی گردید و برنامه‌ای برای اساس تدوین و به طبقه‌بندی طیف‌ها با توجه به ۳ بازه مذکور پرداخته شد (شکل ۱۵).

تغییر معنی‌داری مشاهده نشد، فقط به pH سفیده پرداخته می‌شود. در پژوهش‌ها گزارش شده است که pH تخم‌مرغ در زمان تخم‌گذاری حدود ۷/۶ است و در هنگام انبارداری تا حدود ۹/۵ افزایش می‌یابد که البته این تغییرات با گذشت زمان ثابت شده است و یا حتی بعد از یک دوره انبارداری طولانی، اندکی کاهش می‌یابد (Lapao *et al.*, 1999). همچنین میانگین تغییرات pH سفیده در کمترین حالت بین ۷/۵ تا ۸/۵



شکل ۱۵. دسته‌بندی تخم‌مرغ برحسب pH به ۳ گروه تخم‌مرغ با کیفیت (a)، کم کیفیت (b)، و بی کیفیت (c)

- ضریب زرده شاخص مناسبی برای بیان کیفیت تخم‌مرغ است؛
- pH سفیده، ارتفاع زرده، شاخص‌های HU و YC به‌صورت معنی‌داری در طول زمان تغییر می‌کنند ($P < 0.05$). در نتیجه این پارامترها را می‌توان به‌طور مؤثر در بررسی‌های غیرمخرب تازگی تخم‌مرغ استفاده کرد؛
- HU و YC تأثیرپذیرترین شاخص در انبارمانی تخم‌مرغ به‌شمار می‌آیند؛
- مؤلفه اصلی داده‌های طیفی، بیش از ۹۵ درصد واریانس را در خود جای می‌دهد؛
- میزان پراکندگی داده‌ها در روش PCR از روش PLSR بیشتر است که این پراکندگی حاکی از ناتوانایی روش PCR در پیشگویی دقیق روند تغییرات پارامترهاست؛
- در ناحیه طیف‌سنجی UV-IR مؤثرترین طول موج بر پارامترهای مخرب از ۵۱۰ nm شروع شد و تا حدود طول موج ۸۲۰ nm ادامه می‌یابد.

REFERENCES

Anton M., Martinet, V., Dalgalarondo, M., Beaumal, V., David-Briand, E., & Rabesona, H. (2003). Chemical and structural characterization of low-density lipoproteins purified from hen egg yolk. *Food Chem.*, 83, 175–83

AOAC (1996). *Official methods of analysis*. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

Ariana, D. P., Shrestha, B. P., & Guyer, D. E. (2006). Integrating reflectance and fluorescence imaging

- مطابق شکل ۱۵ گروه ۱ که دارای کمترین میزان pH بود تخم‌مرغ با کیفیت، گروه ۲ با pH میانه کم کیفیت، و در پایان گروه ۳ با pH بالا تخم‌مرغ بی کیفیت خوانده شد. از میان کل نمونه‌ها ۱۴ درصد آن در گروه اول، ۳۱ درصد در گروه دوم، و ۵۴ درصد آن در گروه سوم جای داشتند. شایان ذکر است که فقط تخم‌مرغ‌های روز اول در گروه تخم‌مرغ‌های با کیفیت قرار گرفتند. این مسئله نشان می‌دهد که در دمای $23-37^{\circ}\text{C}$ و رطوبت ۲۵ درصد بعد از گذشت ۴ روز، pH شدیداً افزایش می‌یابد و این امر سبب کاهش کیفیت تخم‌مرغ‌ها می‌شود.

جمع‌بندی

- انبارمانی تخم‌مرغ‌ها در شرایط محیط در تابستان (در دمای $30 \pm 7^{\circ}\text{C}$ و رطوبت 25 ± 4 درصد) توصیه نمی‌شود و تخم‌مرغ‌ها باید به‌منظور کاهش سرعت زوال در یخچال نگهداری شوند؛

for apple disorder classification. *Comput. Electron. Agric.*, 50, 148–161.

Bamelis, F. (2003). *Non invasive assessment of eggshell conductance and different developmental stages during incubation of eggs*. PhD thesis, No. 587, FLTWB, KU Leuven.

Burley, R., & Vadehra, D.V. (1989). *The albumen: chemistry, in The Avian Egg*. Chemistry and Biology. Wiley, New York, pp. 65–128

- Campo, J. L., Gil, M. G., Munoz, I., & Alonso, M. (2000). Effects of breed, hen age and egg storage on the indirect prediction of the albumen quality, *Arch Geflügelkd*, 64, 109–114.
- Dhanoa, M. S., Lister, S. J., Sanderson, R., & Barnes, R. J. (1994). The link between Multiplicative Scatter Correction (MSC) and Standard Normal Variate (SNV) transformations of NIR spectra. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2, 43–47.
- Dutta, R., Hines, E. L., Gardner J. W., Udrea, D. D, & Boilot, P. (2003). Non-destructive egg freshness determination: an electronic nose based approach. *Measurement Science Technology*, 14, 190–198.
- Frank, I., & Friedman, J. (1993). A statistical view of some chemometrics regression tools, *Technometrics*, 35, 109–135.
- Karoui, R., Kemps, B., Bamelis, F., De Ketelaere, B., Mertens, K., Schoonheydt, R., Decuyper, E., & Baerdemaeker, J. D. (2006a). Development of a rapid method based on front face fluorescence spectroscopy for the monitoring of egg freshness: 1-evolution of thick and thin albumens. *European Food Research and Technology*, 223, 303–312.
- Karoui, R., Kemps, B., Bamelis, F., De Ketelaere, B., Mertens, K., Schoonheydt, R., Decuyper, E., & De Baerdemaeker, J. (2006b). Development of a rapid method based on front face fluorescence spectroscopy for the monitoring of egg freshness: 2-evolution of yolk. *European Food Research and Technology*, 223, 180–188.
- Haykin, S. (1999). *Neural Networks a Comprehensive Foundation*. Prentice-Hall, Inc.
- Heath, J. L. (1975). Investigation of Changes in Yolk Moisture. *Poultry Science*, 54, 2007–2014.
- Hu, H. Y., & Hwang, J. N. (2001). *Handbook of neural network signal processing*. CRC Press LLC.
- Huang, A., Li, G., Fu, F., & Fei, B. (2008). Use of Visible and Near Infrared Spectroscopy to Predict Klason Lignin Content of Bamboo, Chinese Fir, Paulownia, and Poplar. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 28(3), 194–206
- Kemps, B., Bamelis, F., De Ketelaere, B., Mertens, K., Tona, K., Decuyper, E., G De Baerdemaeker, J. (2006). Visible transmission spectroscopy for the assessment of egg freshness. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 1399–1406.
- Lapão, C., Gama, L. T., & Chaveiro Soares, M. (1999). Effects of broiler breeder age and length of egg storage on albumen characteristics and hatchability. *Poultry Science*, 78, 640–645.
- Lastinger, A. W., & McLendon, B. D. (1976). Inspection of light transmission as a measure of egg fertility. *ASAE Paper*. No: 76- 3032.
- Lendasse, A., Wertz, V., & Verleysen, M. (2003). Model Selection with Cross-Validations and Bootstraps – Application to Time Series Prediction with RBFN Models. *Artificial Neural Networks and Neural Information Processing — ICANN/ICONIP 2003*, Istanbul, Turkey, 573–580.
- Liu, Y., Ying, Y., Ouyang, A., & Li, Y. (2007). Measurement of internal quality in chicken eggs using visible transmittance spectroscopy technology. *Food Control*, 18, 18–22.
- Lu, R., & Peng, Y. (2006). Hyperspectral scattering for assessing peach fruit firmness. *Biosyst. Eng.* 96, 161–171.
- Matcher, S. J., Cope, M., Delpy, D.T. (1994). Use of the water absorption spectrum to quantify tissue chromophore concentration changes in near infrared spectroscopy. *Physical Medical Biology Journal*, 39 , 177 – 196.
- McGlone, V.A., Jordan, R. B., & Martinson, P. J. (2002). Vis/NIR estimation at harvest of pre- and post-storage quality indices for “Royal Gala” apple. *Postharvest Biology and Technology*, 25, 135–44.
- Moons, E., Sinnaeve, G., & Dardenne, P. (2000). Nondestructive visible and NIR spectroscopy measurement for determination of apple internal quality. *Acta Hort.* 517, 441–448.
- Narushin, V. G. (1997). Non-destructive measurements of egg parameters and quality characteristics. *World's Poult. Sci. J.*, 53, 141–153
- Norris, K. H. (1996). History of NIR, *Journal of Near Infrared Spectroscopy.*, 4, 31–37.
- Osborne, B.G., Fearn, T., & Hindle, P. H. (1993). Near infrared calibration II. *In* “Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis”. (DDavid Browning ed.). Harlow: Longman Scientific and Technical.
- Park, B., Abbott, J. A., Lee, K. J., Choi, C. H., & Choi, K. H. (2003). Near-infrared diffuse reflectance for quantitative and qualitative measurement of soluble solids and firmness of Delicious and Gala apples. *Trans. ASAE*, 46, 1721–1731.
- Persson, T., & Wedborg, M. (2001). Multivariate evaluation of the fluorescence of aquatic organic matter. *Analytica Chimica Acta.*, 434, 179–192.
- Robinson, D. S., & Monsey, J. B. (1972). Change in the composition of ovomucin during liquefaction of thick egg white. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23, 29–38.
- Rossi, M., Casiraghi, P., Primavesi, L., Pompei, C., & Hidalgo, A. (2009). Functional properties of pasteurised liquid whole egg products as affected by the hygienic quality of the raw eggs. *LWT - Food Science and Technology*, 1–6.
- Schmilovitch, Z., Hoffman, A., Egozi, H., & Klein, E. (2002). Determination of egg freshness by NNIRS (near-near infrared spectroscopy), presented at EurAgEng, Budapest, paper No. 02-AP-023.
- Schwagele, F., Poser, R., & Krockel, L. (2001). Application of low-resolution NMR spectroscopy of intact eggs – measurement of quality determining physical characteristics, *Fleischwirtschaft*, 81, 103–106
- Sekeroglu, A., & Altuntas, E. (2009). Effects of egg weight on egg quality characteristics. *J. Sci. Food Agric.*, 89, 379–383
- Seregely, Z., Farkas, J., Tuboly, E., & Dalmadi, I. (2006). Investigating the properties of egg white pasteurised by ultra-high hydrostatic pressure and gamma irradiation by evaluating their NIR

- spectra and chemosensor array sensor signal responses using different methods of qualitative analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 82, 1–2 (special issue).
- Tsarenko, P. P. (1973). Apparatus for determination of egg quality. USSR Patent 390- 439
- Wang, W., & Paliwal, J. (2007). Near-infrared spectroscopy and imaging in food quality and safety. *Sens. & Instrumen. Food Qual.*, 1, 193–207.
- Williams, P. C., & Sobering, D. C. (1993). Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for the analysis of whole grains and seeds. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 1, 25–33.
- Williams, P., & Norris, K. (2001). Near infrared technology in the agricultural and food industries. Saint Paul, USA: ACCC.
- Xiaobo, Z., Jiewen, Z., Xingyi, H., & Yanxiao, L. (2007). Use of FT-NIR spectrometry in non-invasive measurements of soluble solid contents (SSC) of 'Fuji' apple based on different PLS models. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 87, 43–51