

استخراج مؤثرترین طول موج‌های طیف تخم‌مرغ با استفاده از الگوریتم ژنتیک و طبقه‌بندی آن‌ها با روابط

رگرسیونی

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: ۱۳۹۲/۷/۱۶ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۲/۱۷)

چکیده

پتانسیل روش طیف‌سنجی عبوری (۱۱۰۰-۲۰۰nm) به منظور ارزیابی کیفیت داخلی (تازگی) تخم‌مرغ سالم و دست‌نخورده در طول انبارداری در دمای $30 \pm 7^\circ\text{C}$ و رطوبت $25 \pm 4\%$ درصد بررسی شد. تعداد یک‌صد تخم‌مرغ برای اندازه‌گیری تازگی و جمع‌آوری طیف در طول زمان ذخیره‌سازی (تا ۳۰ روز) استفاده شدند. دو مدل رگرسیونی میان HU و ضریب زرده (YC) نسبت به زمان ذخیره‌سازی به ترتیب با ضریب همبستگی ۰/۸۶ و ۰/۹۶ توسعه داده شد. معادلات ذکر شده حاکی از افت شدید کیفیت تخم‌مرغ در خلال نگهداری در این شرایط است. علاوه بر این، روشی برای به‌دست‌آوردن ویژگی‌های طول موج براساس الگوریتم‌های ژنتیکی شرح و بسط داده شد. این روش توانایی حل مشکل استخراج مؤثرترین اطلاعات از ماتریس داده‌های ابعادی بالا را دارد. معادلات رگرسیونی با داده‌های خام و ویژگی‌های استخراج شده با الگوریتم ژنتیک، با پردازش‌های گوناگون (SNV، MSC، FFT) و همچنین مشتقات اول و دوم، به‌دست آمد. نتایج نشان داد که معادلات رگرسیونی براساس الگوریتم ژنتیک و پردازش SNV و MSC می‌تواند طیف‌ها را در سه گروه طبقه‌بندی کند در حالی که با یکبار مشتق‌گیری، هر طیف روزانه می‌تواند در گروهی مجزا قرار گیرد.

کلیدواژگان: الگوریتم ژنتیک، کیفیت تخم‌مرغ، معادلات رگرسیونی.

مقدمه

شکسته شوند، از این رو، آزمایش برای تعداد محدودی از آن‌ها امکان‌پذیر است. گسترده‌ترین و قابل‌قبول‌ترین شاخص مخرب در ارزیابی تخم‌مرغ HU^۱ است (Kemps *et al.*, 2006). با توجه به این مطالب بررسی کیفیت تخم‌مرغ به‌منظور استفاده سالم و بی‌خطر از آن به‌صورت غیرمخرب بسیار اهمیت دارد. در روش‌های غیرمخرب هدف توسعه روشی به‌منظور تعیین ویژگی‌های وابسته به سفیده و زرده، در تخم‌مرغ سالم^۲ روی خط تولید و به‌صورت بی‌درنگ برای همه تخم‌مرغ‌هاست (Dutta *et al.*, 2006).

در میان روش‌های غیرمخرب روش‌های اپتیکی بسیار شایان توجه هستند. از کاربردهای اولیه روش‌های نوری برای بازرسی تخم‌مرغ، تشخیص لکه‌های خون بود. Lastinger & McLendon, (1976) با استفاده از نور عبوری (۸۰۰-۴۵۰nm) قابلیت رؤیت ترک را در تخم‌مرغ‌های تحت فشار هوا افزایش دادند. (Cho *et al.*, 2000) سیستمی را براساس پاسخ

تخم‌مرغ غذایی ارزان اما بسیار مغذی است. کیفیت آن به‌طور مستقیم با سلامت مصرف‌کننده در ارتباط است. یکی از عملیات عمده طاق‌فرسا در روند تولید تخم‌مرغ، بازرسی دستی توسط کارگران است که البته راهی عملی برای تعیین کیفیت ظاهری تخم‌مرغ به حساب می‌آید. با این حال تغییرات کوچک در محتوای داخلی تخم‌مرغ و یا ترک کوچک روی سطح پوسته، به‌سختی با چشم انسان قابل تشخیص است. این مسئله به‌خصوص اگر بازرسی احساس خستگی کند یا بعد از کار مداوم بی‌حوصله شده باشد، سخت‌تر می‌شود. این عقیده‌ای کلی است که روش بازرسی انسان راه مطلوبی برای اطمینان از کیفیت تخم‌مرغ در آینده خواهد بود (Lin *et al.*, 2001). ارزیابی کیفیت تخم‌مرغ به دو روش مخرب و غیرمخرب صورت می‌پذیرد. مزیت روش‌های مخرب این است که اندازه‌گیری‌ها مستقیماً روی تخم‌مرغ صورت می‌گیرد. البته تخم‌مرغ‌ها باید

1. Haugh unit
2. Intact egg

تخم‌مرغ‌های معیوب و درجه‌بندی آن‌ها براساس عیب داخلی پرداختند که البته در این تحقیق‌ها بیشتر به ویژگی‌های ظاهری تخم‌مرغ توجه شده که معیاری نامناسب برای درجه‌بندی است. (Aboonajmi Et al., 2009) به ارزیابی کیفیت‌سنجی تازگی تخم‌مرغ خوراکی به‌وسیلهٔ امواج فراصوتی پرداختند. نمونه‌ها در شرایط محیطی آزمایشگاه (C ۲۵ تا ۲۲) و نیمی دیگر در یخچال (C ۵ تا ۴) به مدت ۵ هفته نگهداری و آزمایش شدند. در روز اول و در نوبت‌های ۶ روزه آزمون غیرتخریبی با ثبت و ذخیره‌سازی سیگنال‌های حاصل از امواج فراصوتی و آزمون تخریبی شامل هواسنجی، ارتفاع سفیدهٔ غلیظ، عمق اتاقک هوایی، و شاخص زرده انجام گرفت. نتایج تحلیل واریانس با کمک آزمون چنددامنه‌ای دانکن بیانگر اختلاف معناداری در سطح ۵ درصد بین میانگین داده‌ها داشت. گزارش شد که با افزایش زمان نگهداری تخم مرغ، واحد هاو و شاخص زرده کاهش و عمق اتاقک هوایی نیز افزایش می‌یابد.

هدف از پژوهش حاضر امکان‌سنجی ارزیابی کیفیت درونی تخم‌مرغ سالم و دست‌نخورده با روش طیف‌سنجی عبوری در محدودهٔ طول موج ۱۱۰۰-۲۰۰nm در زمان‌های گوناگون ذخیره‌سازی و شرایط نگهداری خارج یخچالی^۳ و توسعهٔ مدلی در ارتباط با کیفیت داخلی تخم‌مرغ و طبقه‌بندی آن است. دلیل استفادهٔ این ناحیهٔ طیفی جذب حداکثری پروتئین در این منطقه بود (Abdanan Mehdizadeh et al., 2014).

مواد و روش‌ها

بررسی کیفیت تخم‌مرغ

تعداد ۱۰۰ عدد تخم‌مرغ در دمای 30 ± 7 و رطوبت 25 ± 4 درصد نگهداری شدند تا شرایط نگهداری تخم‌مرغ با شرایط نگهداری آن در تابستان در ایران یکسان شود (Anonymous, 2014). یک روز در میان ۱۰ عدد از نمونه‌ها بعد از پایان طیف‌سنجی که شرح آن خواهد آمد مورد آزمایش مخرب قرار گرفتند. وزن تخم‌مرغ، ضخامت، و مقاومت پوسته به‌عنوان سه فاکتور کیفیت خارجی تخم‌مرغ و HU و YC^۴ به‌عنوان فاکتورهای کیفیت داخلی تخم‌مرغ در نظر گرفته شدند.

بررسی کیفیت محتویات تخم مرغ

برای بیان کیفیت درونی از HU و YC رابطهٔ ۱ استفاده شد. شاخص HU تا روز شانزدهم پس از انبارمانی با دستگاه egg multi tester (Model 5200-Japan) اندازه‌گیری شد. در روز

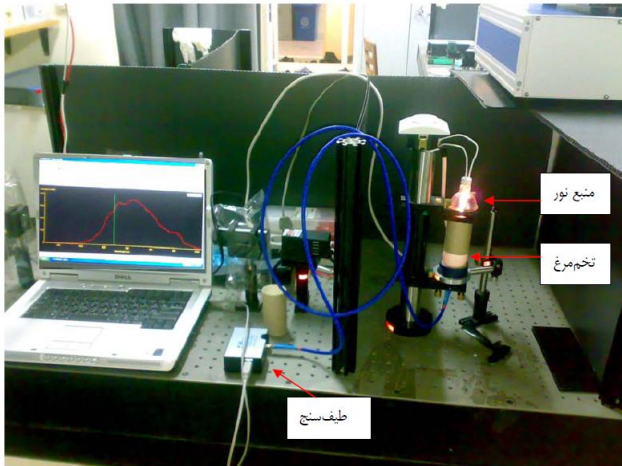
آکوستیکی پوسته برای بازرسی ترک‌های سطحی پوستهٔ تخم‌مرغ توسعه دادند. (Schwagele et al., 2001) از طیف‌سنجی NMR با وضوح پایین برای کیفیت‌سنجی درون تخم‌مرغ استفاده کردند. در این روش تخم‌مرغ‌ها در یک حوزهٔ مغناطیسی یکنواخت قرار می‌گیرند و هستهٔ هیدروژن در تخم‌مرغ‌ها تحریک می‌شود. در این پژوهش طیف‌سنجی‌ها در دو جهت طولی و عرضی صورت گرفتند که آسایش عرضی^۱ در هفتهٔ اول انبارداری در تمام دماها به‌صورت نمایی کاهش پیدا کرد. (Karoui et al., 2006) ویتامین A را به‌عنوان کاوشگری مناسب معرفی کردند. ایشان توانایی طیف‌سنجی فلورسانس را در تشخیص سریع تازگی تخم‌مرغ تا ۲۹ روز نشان دادند. نویسندگان دریافتند که فلورسنت تولیدی واکنش قهوه‌ای‌شدن^۲ در سفیدهٔ نازک و ضخیم و ویتامین A درون زرده می‌تواند به‌عنوان ابزاری قوی برای تعیین تازگی تخم‌مرغ استفاده شوند. اما در این دو پژوهش تخم‌مرغ‌ها در دمای اتاق به مدت ۲۹ روز ذخیره شدند. به‌علاوه فقط تعداد محدودی تخم‌مرغ (۷۹ عدد) آنالیز شدند. اخیراً (Karoui et al., 2007) در پژوهشی، تازگی تخم‌مرغ‌های ذخیره‌شده در دمای $12/2^{\circ}\text{C}$ و در رطوبت نسبی ۸۷ درصد را تا ۵۵ روز ارزیابی کرده‌اند. نویسندگان گزارش کردند که فقط طیف فلورسانس ویتامین A شاخص خوبی برای تازگی تخم‌مرغ است. در هر ۳ پژوهش صورت‌گرفته توسط آنان تخم‌مرغ‌ها شکسته می‌شدند و بعد طیف‌سنجی صورت می‌گرفت که اشکال عمدهٔ این پژوهش‌هاست. زیرا پوسته از عوامل تأثیرگذار بر طیف عبوری در فرایند طیف‌سنجی تخم‌مرغ محسوب می‌شود (2003 Bamelis).

(Giunchi et al., 2008) به بررسی تازگی تخم‌مرغ با کمک طیف‌سنجی FT-NIR پرداختند. در این پژوهش نمونه‌ها در دمای 20°C به مدت ۱۶ روز ذخیره گردیدند. مدل‌های توسعه‌یافته براساس روش PCA توانایی پیشگویی پارامترهای عمق اتاقک هوایی، ارتفاع سفیده غلیظ، و واحد هاو را به ترتیب با R^2 ۰/۷۷۲، ۰/۷۸۹، و ۰/۶۷۶ داشتند. در ایران تاکنون تحقیق عمده‌ای در زمینهٔ جداسازی و درجه‌بندی تخم‌مرغ صورت نگرفته است. در پژوهش صورت‌گرفته توسط Aghkhani & Poureza, (2007) از فناوری ماشین بینایی برای جداسازی تخم‌مرغ‌های معیوب و درجه‌بندی آن‌ها از نظر اندازه و جرم استفاده شده است. در پژوهشی دیگر (et al., 2010) Dehrouyeh به‌کمک فناوری ماشین بینایی به جداسازی

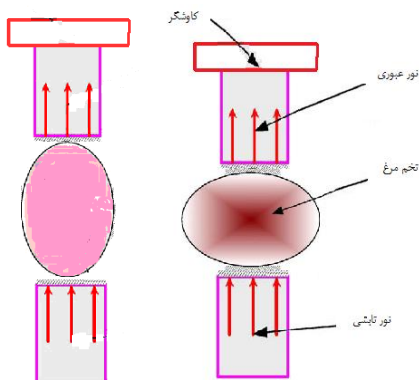
3. Unrefrigerated
4. Yolk Coefficient

1. Transversal Relaxation
2. Maillard

طول موج ۱۱۰۰-۲۰۰ nm صورت پذیرفت و بهترین جهت طیفسنجی بررسی شد (شکل ۲). شایان ذکر است که (Liu et al. 2007). نمونه‌ها را به صورت افقی بررسی کردند حال آنکه (Kemps al. 2006) به صورت عمودی به طیفسنجی نمونه‌ها پرداختند.



شکل ۱. سامانه طیفسنجی تخم مرغ



شکل ۲. نحوه قرارگیری نمونه‌ها در دستگاه طیفسنج

تئوری بحث

زمانی که نور بر هر تخم‌مرغی می‌تابد اغلب چهار پدیده اتفاق می‌افتد. بخشی از نور ممکن است منعکس شود، بخشی دیگر از درون جسم عبور کند، بخشی پراکنده، و مابقی جذب آن شود. میزان هر یک از این پدیده‌ها به خواص تخم‌مرغ‌ها و طول موج خاصی از امواج الکترومغناطیس که استفاده شده است، وابسته است. در حالت کلی، طبق قانون بقای انرژی باید میزان امواج انعکاس یافته (R)، عبور کرده (T)، پراکنده شده (S)، و جذب شده (A) برابر با انرژی نور تابشی (I) باشد (Demtröder, 2008).

$$I = R + T + A + S$$

(رابطه ۳)

میزان عبور T به صورت رابطه ۴ تعریف می‌شود (Demtröder, 2008).

نوزدهم سفیده ضخیم بسیار رقیق شد به گونه‌ای که دستگاه egg multi tester دیگر قادر به خواندن HU نبود. در نتیجه با رابطه ۲ و به صورت دستی HU محاسبه گردید. (رابطه ۱)

$$\text{Yolk Coefficient} = \frac{\text{Yolk weight}}{\text{Yolk height}} \times 100$$

(رابطه ۲)

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

که در آن H ارتفاع سفیده به mm و W وزن تخم‌مرغ به g است.

اندازه‌گیری کیفیت خارجی تخم‌مرغ

برای تعیین ضخامت پوسته از دستگاه ضخامت‌سنج فراصوتی (Echometer 1061-Japan) استفاده شد. برای این منظور به دلیل اختلاف ضخامت بین قسمت‌های گوناگون پوسته چهار قسمت پوسته (دو انتها و دو قسمت وسط) اندازه‌گیری و میانگین به دست آمده ثبت شد. برای تعیین استحکام پوسته از دستگاه تعیین نیرو (Force Gauge model II Robotmation-Japan) استفاده شد.

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 اندازه‌گیری طیف عبوری را نشان می‌دهد. تخم‌مرغ روی حلقه‌ای اسفنجی در مقابل منبع نور (halogen lamp, Osram HLX 64 635, 150W) قرار می‌گیرد. فیبر نوری زیر تخم‌مرغ قرار دارد، نور عبوری از آن را به طیفسنج انتقال می‌دهد. از این طریق، فقط نور عبوری از درون تخم‌مرغ به آشکارساز می‌رسد. به منظور جلوگیری از به اشباع رسیدن طیفسنج از یک دیمر برای تنظیم شدت لامپ استفاده شد. طیفسنج دارای طول موج ۱۱۰۰-۲۰۰ nm با دقت در حد نانومتر است. زمان اندازه‌گیری ۲۵۰ ms و طول موج به دست آمده میانگینی از ۵ تکرار است. به منظور تعیین بهتر کیفیت داخلی جسم مرجع پوسته تخم‌مرغ در نظر گرفته شد و بعد از هر اندازه‌گیری طیف‌های به دست آمده از طیف عبوری پوسته کم شد که این عمل سبب دریافت پیک‌های تیزتر با بزرگی بیشتر شد.

بعد از تعیین فاصله مناسب نمونه‌ها تا منبع نور با توجه به اینکه در محصولات بیولوژیک برخلاف مواد مهندسی ناهمگنی وجود دارد، تعیین بهترین جهت طیفسنجی، بسیار اهمیت دارد. بدین منظور طیفسنجی در دو جهت طولی و عرضی در

ویژگی‌های داخلی و استخراج بیشترین اطلاعات طیفی، طیف‌سنجی عبوری بهترین گزینه است که در این پژوهش از آن استفاده می‌شود.

جمع آوری طیف‌ها و پردازش آن‌ها

با پردازش داده‌های نوری می‌توان نویز حاصل از خطاهای سیستم و اتفاقی را خارج ساخت. داده‌های نوری بعد بالا^۲ با نویزهای با فرکانس بالا مخلوط می‌شوند. این نویزها سبب تغییر خط پایه و چرخش طیف‌ها می‌شوند. به‌منظور به‌دست‌آوردن سیگنال با نویز بالا از اطلاعات، پردازش‌هایی مانند MSC^۳، SNV^۴، میانگین‌گیری، تبدیل فوریه، مشتق اول و دوم روی داده‌های طیفی اعمال شد. از MSC به‌طور گسترده برای نرمال‌سازی داده‌های طیف‌سنجی و تصحیح تغییر مقیاس و جابه‌جاشدگی استفاده می‌شود (Osborne *et al.*, 1993). این تغییرات در تخم‌مرغ بیشتر به سبب تفاوت در اندازه و ویژگی‌های پوسته است تا تفاوت در کیفیت داخلی. روش تصحیح SNV به‌صورت انفرادی و مجزا بدون در نظر گرفتن مجموعه داده‌ها، به‌صورت مرجع پیاده‌سازی می‌شود. در این روش ابتدا داده‌ها به‌صورت مرکزی مرتب می‌شوند (یعنی میانگین هر طیف از مقدار طیف کم می‌شود). مقادیری که به‌صورت مرکزی مرتب شده‌اند، با استفاده از انحراف معیار (σ) هر طیف، مقیاس‌بندی^۵ می‌شوند. طیف تیمار شده به این روش دارای میانگین صفر و انحراف معیار ۱ می‌شود که البته سبب استقلال طیف از مقداربندی اولیه، که شاید به‌دلیل تغییرات در اندازه نمونه و شدت نور عبوری حاصل شده، می‌شود (Dhanoa *et al.*, 1994). علاوه بر پردازش داده‌های مذکور، از تبدیل فوریه^۶ گسسته که یکی از پرکاربردترین تکنیک‌ها برای هموارسازی، فیلتر کردن، و پردازش سیگنال‌های شیمیایی است، استفاده شد. بدین ترتیب سیگنال $x(n)$ از حوزه n به حوزه فرکانس منتقل شد. این عمل امکان حذف و فیلتر کردن فرکانس‌های بالای طیف مورد نظر و در نتیجه هموارسازی بیشتر آن را فراهم می‌کند (Weeks, 2007). مشتق‌گیری داده‌ها سبب حذف اثر تغییرات خط مبنا می‌شود و نویز متغیرها را به‌صورت ملایمی تقویت می‌کند (Ye *et al.*, 2008).

میزان طیف خام عبوری تخم‌مرغ در شکل ۳a نشان داده شده است. شکل به‌دست‌آمده با طیف‌های گزارش شده^۷ Kemps *et al.* (2006) همخوانی دارد. طیف‌های پردازش‌شده با SNV،

$$T = e^{-kl} = I_t / I_0 \quad (\text{رابطه ۴})$$

که I_t شدت نور عبوری و I_0 شدت منبع نور هر دو برحسب $W \cdot m^{-2}$ هستند.

میزان جذب A به‌صورت رابطه ۵ تعریف می‌شود (Demtröder, 2008).

$$A = \log_{10} \frac{1}{T} \quad (\text{رابطه ۵})$$

میزان نور عبوری از تخم‌مرغ سالم مرکب از ۲ جزء است: بخش عبوری از پوسته و بخش عبوری از محتویات تخم‌مرغ. فرض شود نور عبوری از تخم‌مرغ سالم T_e و قابلیت جذب^۸ آن OD_e و نور عبوری از محتویات تخم‌مرغ T_c و قابلیت جذب آن OD_c است. نور عبوری از پوسته‌ها به ترتیب T_1 و T_2 و قابلیت جذب آن به ترتیب OD_1 و OD_2 است. در نتیجه معادلات ریاضی خواص نوری مدل تحقیقی به‌صورت زیر قابل شرح و بسط است (Demtröder, 2008).

$$T_e = T_c \cdot T_1 \cdot T_2 \quad (\text{رابطه ۶})$$

$$OD_e = OD_c + OD_1 + OD_2 \quad (\text{رابطه ۷})$$

مسلّم است که:

$$T_s = (1 - \rho) \cdot T_1 \cdot T_2 \quad (\text{رابطه ۸})$$

$$OD_s = (1 - \rho) \cdot (OD_1 + OD_2) \quad (\text{رابطه ۹})$$

در نتیجه:

$$T_e = T_c \cdot T_s \quad (\text{رابطه ۱۰})$$

$$OD_e = OD_c + OD_s \quad (\text{رابطه ۱۱})$$

که T_s نور عبوری از پوسته سالم، OD_s قابلیت جذب آن، و ρ ضریب اتلاف هستند.

معادلات ۱۰ و ۱۱ معادلات ریاضی مدل تئوری نور عبوری و قابلیت جذب تخم‌مرغ هستند. این مدل نشان‌دهنده همبستگی میان شفافیت تخم‌مرغ سالم، محتویات تخم‌مرغ، و پوسته آن است.

به‌طور کلی تازگی تخم‌مرغ وابسته به میزان نور عبوری از محتویات آن است. براساس معادله ۱۰، میزان نور عبوری از محتویات تخم‌مرغ با معادله ۱۲ قابل محاسبه خواهد بود.

$$T_c = T_e / T_s = T_e / (1 - \rho) \cdot T_1 \cdot T_2 \quad (\text{رابطه ۱۲})$$

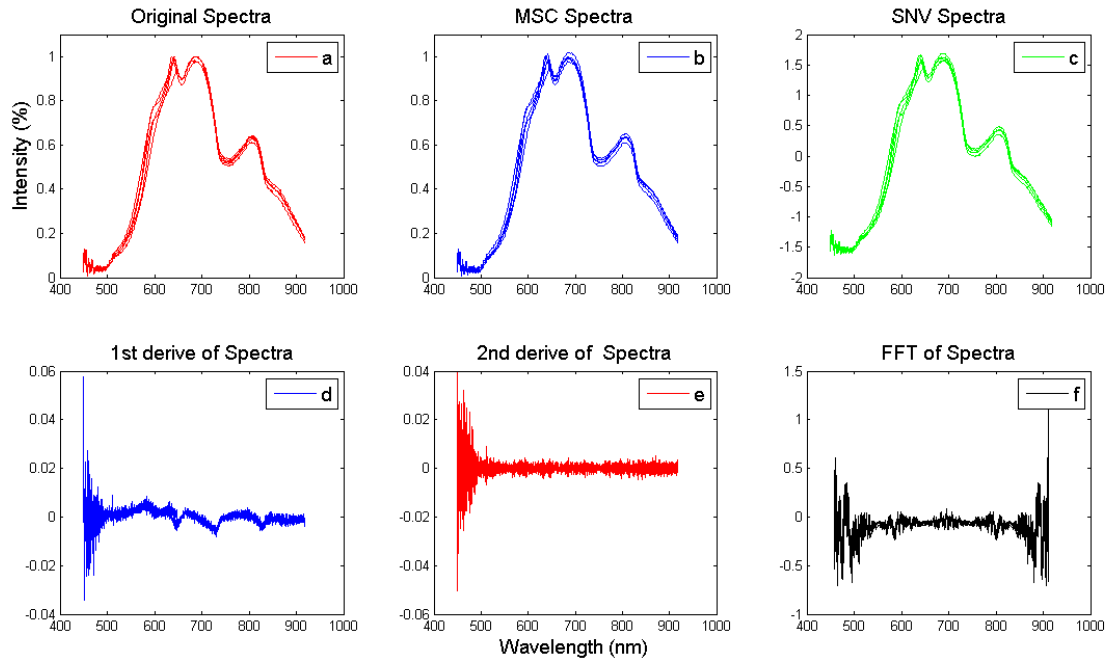
در نتیجه میزان عبور از تخم‌مرغ سالم وابسته به نور عبوری از محتویات تخم‌مرغ و پوسته آن است. عبور نور از تخم‌مرغ سالم می‌تواند منعکس‌کننده تازگی تخم‌مرغ باشد. با توجه به روابط ارائه‌شده در تئوری بحث، به‌منظور بررسی

2. High Dimensional Data
3. Multiplicative scatter correction
4. Standard normal variate
5. Scaling

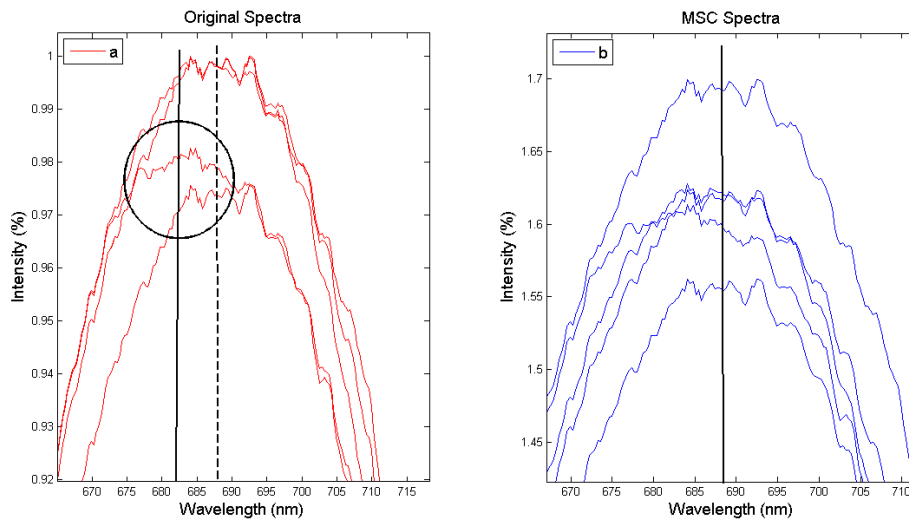
1. Absorbency

ناحیه درون بیضی) به وضوح مشخص است که جابه‌جاشدگی طیف‌ها اصلاح شده است و پیک‌ها به محل اصلی خود انتقال یافته‌اند.

تبدیل فوریه، مشتق اول و دوم به ترتیب در شکل‌های ۳ b-f نشان داده شده‌اند. مطابق شکل ۳b و به صورت بزرگتر در شکل ۴a طیف‌ها به راحتی از یکدیگر قابل تمییز نیستند. اما همان‌گونه که در شکل ۴b آمده است طیف‌ها قابل تمییزتر و درضمن (در



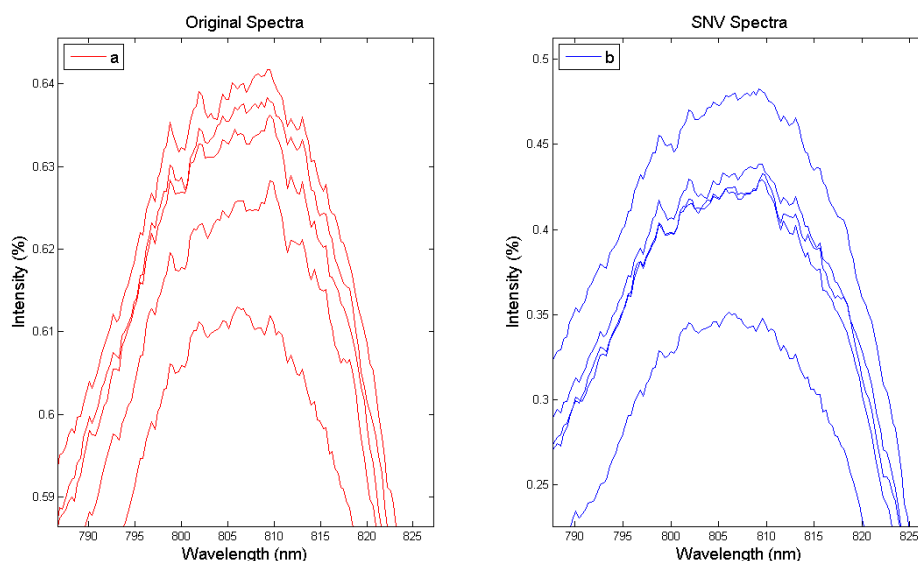
شکل ۳. طیف عبوری تخم‌مرغ: طیف خام (a)، پردازش شده با MSC (b)، SNV (c)، مشتق اول (d)، مشتق دوم (e)، و FFT (f)



شکل ۴. طیف بعداز MSC (a) و طیف اصلی (b) در طول موج ۶۶۰-۷۲۰nm

متفاوتی می‌گردد درضمن به خوبی در جایگاه خود قرار نمی‌گیرد و با وجود تاریکی محیط، نور اطراف بر طیف تأثیر می‌گذارد که مطلوب نیست و باید در صورت امکان این تغییرات حذف گردند). از این رو بعداز اعمال فرایند SNV، پردازش‌های بیشتر طیف که همان طبقه‌بندی طیف‌ها است، کم‌خطا تر می‌گردد.

همانطور که از شکل ۳c مشخص است طیف به دست آمده در بازه $[-1/5 \ 1/5]$ قرار گرفته است. با توجه به شکل ۵a و مقایسه آن با شکل ۵b کاملاً مشخص است که روش SNV نویزهای حاصل از نوسانات احتمالی منبع نور و اندازه نمونه‌ها را به خوبی فیلتر می‌کند (در صورتی که اندازه نمونه‌ها متفاوت باشد علاوه بر اینکه نمونه مورد نظر با منبع دارای فاصله



شکل ۵. طیف بعد از SNV (a) و طیف اصلی (b) در طول موج ۸۳۰-۷۸۵ nm

رمزگذاری کروموزوم: روش باینری برای رمزگذاری استفاده شد. هر کروموزوم n ژن دارد که نشان دهنده n طول موج است. اگر مقدار ژن ۱ شد نشان از تطبیق طول موج انتخاب شده است. در غیر این صورت طول موج از دایره تحول خارج می‌گردد.

تولید جمعیت اصلی: جمعیت تولید شده ۱۰۰ عدد بود.

عملیات ژنتیک: معمولاً این بخش شامل سه عمل می‌شود: انتخاب^۱، جهش^۲، و ادغام^۳. عملگر انتخاب براساس نظریه حیات که در آن بهترین کروموزومها انتخاب می‌شود و به نسل بعدی راه می‌یابد، عمل می‌کند. عملگر ادغام با هدف تولید رشته‌های بهتر بر mating pool با روش تک‌نقطه‌ای اعمال می‌شود. احتمال ادغام ۰/۵ در نظر گرفته شد. عملگر تصادفی جهش از نظر حفظ تنوع جمعیت و جلوگیری از ظهور پدیده بلوغ خیلی زود بسیار مهم است. احتمال جهش در این پژوهش ۰/۱ در نظر گرفته شد.

قضاوت همگرایی: معیار قضاوت همگرایی اساساً ابتکاری

است. اما چند روش وجود دارد که می‌تواند درباره همگرایی الگوریتم قضاوت کند مانند زمان محاسبه، کیفیت حل، تعداد تکرار الگوریتم، و مانند اینها. در این پژوهش از وجود اختلاف معنی‌دار بین واریانس متغیرهای انتخاب شده با F-test استفاده گردید.

همانطور که در شکل ۳a مشخص است پیک‌هایی در محدوده‌های ۶۰۰-۵۸۰، ۶۵۰-۶۲۰، ۷۲۰-۶۸۰، ۸۱۰-۷۹۰ و ۸۳۰-۸۵۰ نانومتر دیده می‌شوند که این پیک‌ها به خوبی در مشتق اول شکل ۳d نمایان هستند. در شکل ۳e بیشترین شدت در بخش ابتدایی است که به دلیل عمل مشتق‌گیری نویز در این ناحیه بر طیف‌ها اعمال شده است. در شکل ۳f همانطور که مشخص است سیگنال فشرده شده یا به عبارت دیگر، فرایند کاهش داده اتفاق افتاده است که این پدیده از سرعت پردازش داده‌ها و فضای اشغالی می‌کاهد. اما تبدیل فوریه در قیاس با روش‌های دیگر کاهش داده مثل تحلیل مؤلفه‌های اصلی روش مطمئنی برای کاهش داده‌ها محسوب نمی‌شود (Miller & Miller, 2005).

تعیین مؤثرترین طول موج‌ها

در این مقاله به منظور انتخاب طول موج مؤثر از روش الگوریتم ژنتیک استفاده گردید. طول موج‌های مؤثر به‌عنوان متغیرهای ورودی برای مدل‌سازی رگرسیونی و طبقه‌بندی طیف‌ها استفاده گردید.

نظریه الگوریتم ژنتیک و تحقق آن

الگوریتم ژنتیک فناوری جستجوی سراسری تصادفی بر پایه تئوری تکامل داروین و تنوع ژنتیکی مندل است. معیار در این روش بقای اصلح‌ترین نامزدها است که روی برخی کاندیدها اعمال می‌شود. هر معیار به صورت جداگانه ارزیابی و مناسب‌ترین آن‌ها به نسل بعدی وارد می‌شود. این روند تا هدف مورد نظر تأمین شود، ادامه دارد. مراحل به‌کارگیری الگوریتم ژنتیک در این تحقیق را می‌توان به شرح زیر بیان کرد:

1. Selection
2. Mutation
3. Crossover

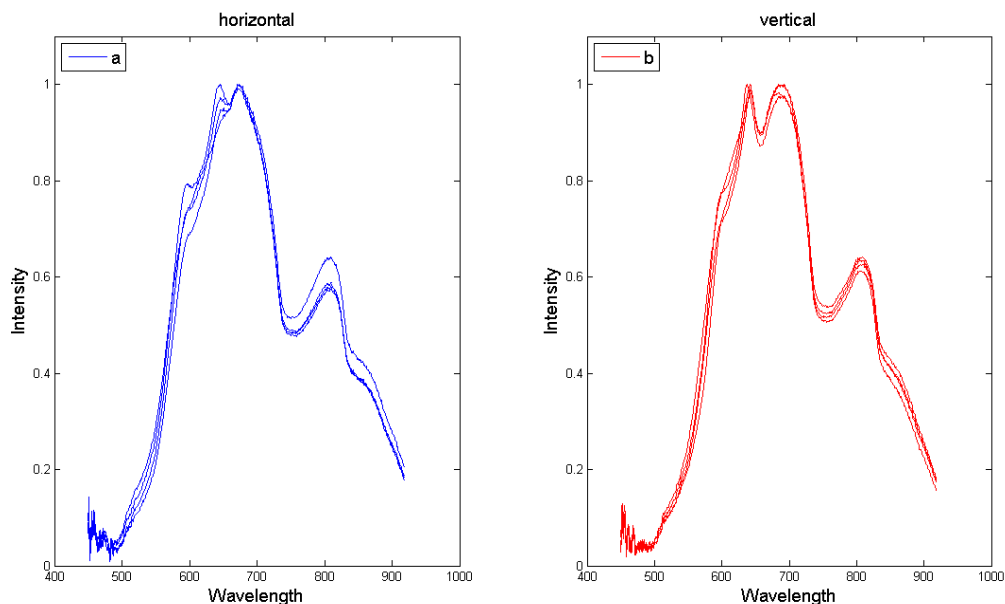
نتایج و بحث

تعیین بهترین جهت طیفسنجی

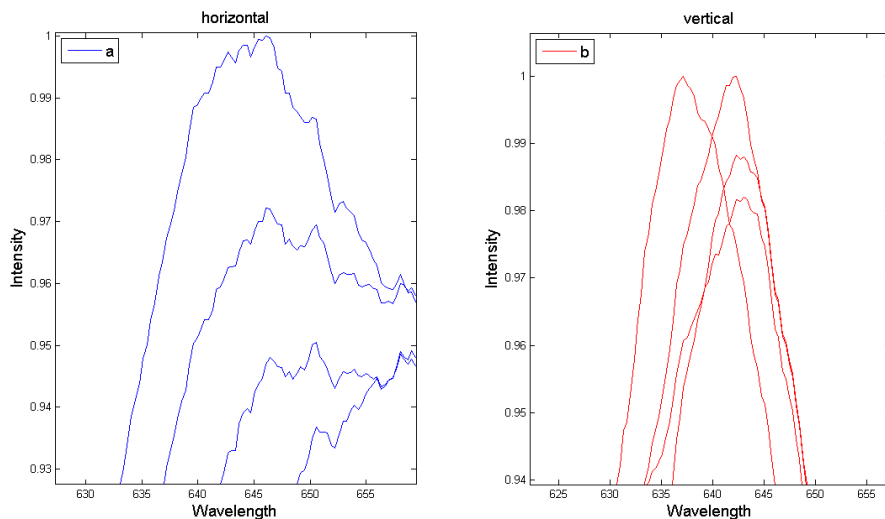
پس از طیفسنجی نمونه‌ها در دو جهت طولی و عرضی و نرمال‌سازی آن‌ها (شکل ۶) مشخص شد که طیفسنجی در جهت طولی دارای طیف یکنواخت‌تر و میزان سیگنال به نویز بیشتری است (شکل ۷). در ضمن میزان شدت در پیک‌های دارای طول موج یکسان در یک نمونه در طیفسنجی طولی بالاتر است که این پدیده نشانگر بهتر بودن طیفسنجی طولی نسبت به عرضی است. در نتیجه مابقی طیفسنجی‌ها در جهت طولی صورت پذیرفت.

طبقه‌بندی داده‌های طیفی به روش استخراج معادلات رگرسیونی

استخراج مؤثرترین طول موج‌ها به دو روش روش الگوریتم ژنتیک و طول موج‌های حساس (۵۲۰، ۶۰۵، ۶۴۰، ۶۵۸، ۶۸۵، ۸۰۵ nm) به انبارمانی صورت پذیرفت. در این طول موج‌ها طیف اخذ شده به شدت کاهش و افزایش از خود نشان می‌دهد که در شکل ۳a کاملاً مشهود هستند. البته شایان ذکر است که طول موج‌های استخراج شده با روش الگوریتم ژنتیک با طول موج‌های مذکور متفاوت بودند. سپس روابط رگرسیونی میان این طول موج‌ها با شدت استخراج و بهترین برازش برای تعیین میزان انبارمانی تخم‌مرغ به دست آمد. برای اجرای آنالیزها از نرم‌افزار MatLab استفاده شد.



شکل ۶. طیف تخم‌مرغ در جهت عرضی (a) و طولی (b)



شکل ۷. طیف تخم‌مرغ در جهت عرضی (a) و طولی (b) در طول موج ۶۲۰-۶۴۰nm

بررسی انبارمانی و اعمال آزمون‌های مخرب و غیرمخرب
 پس از تعیین بهترین جهت طیف‌سنجی، نمونه‌ها در دمای اتاق برای بررسی اثر انبارمانی و طیف‌سنجی ذخیره شدند. طیف‌سنجی و آزمون‌های مخرب تا روز شانزدهم پس از انبارمانی توأمان ادامه یافتند. در روز نوزدهم سفیده ضخیم بسیار رقیق شد به گونه‌ای که دستگاه egg multi tester دیگر قادر به خواندن HU نبود. در ضمن ضخامت غشاء نگهدارنده زرده بسیار نازک و حساس شده بود و هنگام شکستن تخم‌مرغ‌ها حتی با دقت بسیار به راحتی از هم می‌گسست. البته این مسئله با توجه به جذب آب توسط زرده و ضعیف شدن غشاء آن به دلیل افزایش pH توجیه‌پذیر است (Heath, 1975). این ناپایداری و جذب آب با دمای نگهداری و سن تخم‌مرغ در ارتباط است (Karoui *et al.*, 2007). از این رو برای اندازه‌گیری

HU از کولیس استفاده شد و با به‌کارگیری رابطه ۲ مقدار آن محاسبه شد (AOAC, 1996). در روز بیست‌ودوم فقط ۴ عدد از تخم‌مرغ‌ها بعد از شکستن حالت خود را حفظ کردند و زرده و سفیده آن‌ها با یکدیگر مخلوط نشد. روز بیست‌وپنجم اولاً به دلیل زوال بیش از حد تخم‌مرغ‌ها و رقیق شدن سفیده و ثانیاً به دلیل ترکیب زرده اندازه‌گیری ضخامت سفیده غیرممکن بود. در نتیجه به‌ناچار اندازه‌گیری‌ها در این روز متوقف و گزارش‌ها و تحلیل‌ها فقط تا روز ۱۹ بعد از انبارداری انجام شد. براساس تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های به‌دست‌آمده از آزمون‌های مخرب مشخص شد که شاخص‌های HU و YC به صورت معنی‌داری تغییر می‌کنند (جدول ۱). در نتیجه از این پارامترها می‌توان به‌طور مؤثر در بررسی‌های غیرمخرب استفاده کرد.

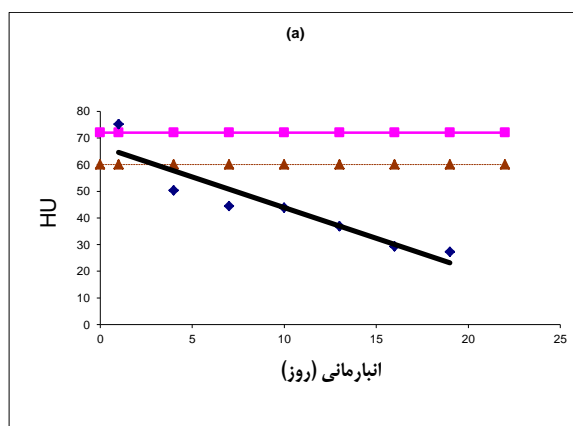
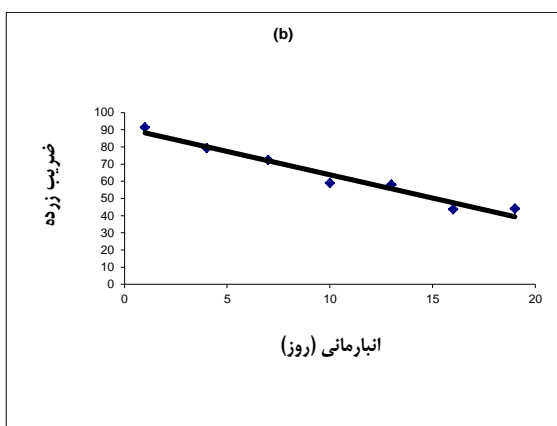
جدول ۱. نتایج حاصل از تجزیه واریانس ویژگی‌های کیفی تخم‌مرغ

MS							
اثر اصلی	درجه آزادی	HU	وزن کل	وزن زرده	YC	ضخامت پوسته	مقاومت پوسته
روز نگهداری	۶	**۱۲۸۱/۱	ns۸/۸۶	ns۳/۷۶	**۱۶۴۳/۳	ns۰/۱	ns۲/۱۷

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

مطابق شکل ۸a و ۸b تغییرات دو شاخص HU و YC به صورت خطی به ترتیب با ضریب همبستگی ۰/۸۶ و ۰/۹۶ با افزایش انبارمانی کاهش می‌یابند (رابطه ۱۳ و ۱۴). یافته‌های مذکور با نتایج پژوهش Liu *et al.* 2007 که تغییرات HU را با افزایش انبارمانی کاهش و خطی گزارش کردند در یک راستاست. این در حالی است که (Karoui *et al.* 2007) تغییرات HU را با افزایش انبارمانی کاهش ولی غیرخطی گزارش کردند.

در شکل ۸a دو خط یکی با مربع (تخم‌مرغ با کیفیت بالا) و دیگری منقطع و با مثلث (میان دو تخم‌مرغ با کیفیت و زیر خط تخم‌مرغ بی‌کیفیت) رسم شده است. از میان روزهای گوناگون انبارمانی فقط تخم‌مرغ‌های روز اول در محدوده تخم‌مرغ‌های با کیفیت بالا قرار دارند. این در حالی است که مابقی آن‌ها در محدوده تخم‌مرغ بی‌کیفیت قرار می‌گیرند.



شکل ۸. تغییرات دو شاخص HU (a) و ضریب زرده (b) بر حسب انبارمانی

روز بعد از انبارمانی دشوار و نیازمند تعریف پارامترهای رابط به منظور معتبرسازی روابط است. از این رو روابط جدول ۲ به شکل تعریف شده فقط توانایی تشخیص روز اول را به نسبت روزهای دیگر دارد که مطلوب نیست.

پس از آن با مشتق گیری از داده های طیفی شدت های متناظر با طول موج های حساس استخراج می شوند. مطابق جدول ۳ روابط درجه ۲ با ضریب همبستگی جدول ۲ نشان از سادگی روابط دارد ولی کماکان با این روش نیز فقط می توان روز اول را از مابقی روزها تمیز داد. تنها حسن روابط جدول ۳ نسبت به ۲ سادگی آنها است. اما اگر به صورت تک پارامتری مثلاً ۷ نقطه اول بررسی شوند می توان میان گروه ها بهتر جدایی ایجاد کرد.

(رابطه ۱۳)

$$Y(a) = -2.30x + 66.85 \quad (R^2 = 0.86)$$

(رابطه ۱۴)

$$Y(b) = -2.71x + 90.91 \quad (R^2 = 0.96)$$

x روز انبارمانی، Y(a) و Y(b) به ترتیب HU و YC است.

استخراج معادلات رگرسیونی میان میزان نور عبوری و طول موج در پیکها

روابط رگرسیونی میان این طول موج ها با شدت استخراج شد، که بهترین برازش برای داده های خام چندجمله ای مرتبه ۳ بود. مطابق جدول ۲ روابط درجه ۳ با ضریب همبستگی بالا برازش خوبی با طول موج های حساس به تغییرات دارند. اما با توجه به نزدیک بودن ضرایب این چندجمله ای ها تشخیص تعداد

جدول ۲. معادلات رگرسیونی میان میزان نور عبوری و طول موج های گوناگون برای داده های خام

روز انبارمانی	روابط	ضریب همبستگی
۱	$y = -9E-08x^3 + 0.0002x^2 - 0.108x + 23.2$	$R^2 = 0.996$
۴	$y = -1E-07x^3 + 0.0002x^2 - 0.121x + 26.0$	$R^2 = 0.995$
۷	$y = -1E-07x^3 + 0.0002x^2 - 0.128x + 27.6$	$R^2 = 0.996$
۱۰	$y = -1E-07x^3 + 0.0002x^2 - 0.113x + 24.1$	$R^2 = 0.996$
۱۳	$y = -1E-07x^3 + 0.0002x^2 - 0.122x + 26.1$	$R^2 = 0.996$
۱۶	$y = -1E-07x^3 + 0.0002x^2 - 0.107x + 23.1$	$R^2 = 0.996$
۱۹	$y = -1E-07x^3 + 0.0002x^2 - 0.113x + 24.3$	$R^2 = 0.996$

جدول ۳. معادلات رگرسیونی میان میزان نور عبوری و طول موج های گوناگون بعد از مشتق اول

روز انبارمانی	روابط	ضریب همبستگی
۱	$y = -2E-07x^2 + 0.0002x - 0.0473$	$R^2 = 0.945$
۴	$y = -1E-07x^2 + 0.0001x - 0.0394$	$R^2 = 0.934$
۷	$y = -1E-07x^2 + 0.0002x - 0.0564$	$R^2 = 0.932$
۱۰	$y = -1E-07x^2 + 0.0001x - 0.0366$	$R^2 = 0.934$
۱۳	$y = -1E-07x^2 + 0.0002x - 0.0428$	$R^2 = 0.928$
۱۶	$y = -1E-07x^2 + 0.0001x - 0.0307$	$R^2 = 0.956$
۱۹	$y = -1E-07x^2 + 0.0002x - 0.0444$	$R^2 = 0.943$

موج هم نوسان زیادی دارند که این پدیده سبب ایجاد خطای بالا می شود که در طراحی برنامه هوشمند مطلوب نیست. از آنجا که در روش ارائه شده روابط رگرسیونی فقط توانایی تمیز روز اول انبارمانی را با دیگر روزها داشتند، در نتیجه از این روش نمی توان در برنامه هوشمند تشخیص کیفیت بهره جست.

بعد از اعمال مشتق دوم و تبدیل فوریه روند داده ها بسیار متفاوت و پیچیده شد و فقط چندجمله ای درجه ۵ بهترین برازش را داشت. از این رو از آوردن روابط رگرسیونی آن در این بخش صرف نظر شد. با مشتق گیری مجدد و تبدیل فوریه و بررسی مجزا در یک طول موج خاص می توان داده های طیفی را بهتر از یکدیگر تمیز داد. البته این نوسانات حتی در یک طول

جدول ۴. مؤثرترین طول موجها با پردازشهای متفاوت

روش	پردازش	مؤثرترین طول موجها (nm)
الگوریتم ژنتیک	خام	۶۳۷/۸۷، ۶۳۸/۲۱، ۹۱۵/۰۵، ۹۱۵/۳۵، ۹۱۷/۱۵ و ۹۱۷/۴۵
	SNV	۶۳۸/۲۱، ۹۱۴/۷۵، ۹۱۵/۰۵، ۹۱۵/۳۵، ۹۱۷/۱۵ و ۹۱۷/۴۵
	MSC	۶۳۷/۱۸، ۶۳۷/۵۳، ۹۰۱/۱۸، ۹۱۴/۷۵، ۹۱۷/۱۵ و ۹۱۷/۴۵
	FFT	۴۵۰/۱، ۴۵۰/۴۷، ۴۵۱/۱، ۴۵۲/۹۶، ۵۹۲/۹۱ و ۶۳۵/۱۲
	مشق اول	۴۶۷/۲۲، ۷۵۱/۱۶، ۷۵۲/۴۹، ۹۱۵/۶۵، ۹۱۵/۹۵ و ۹۱۶/۲۵
	مشق دوم	۵۳۹/۰۶، ۵۳۹/۴۲، ۹۱۵/۶۵، ۹۱۵/۹۵، ۹۱۶/۵۵ و ۹۱۶/۸۵

جدول ۵. معادلات رگرسیونی میان میزان نور عبوری و طول موجهای گوناگون بعد از پردازش با روش MSC

روز انبارمانی	روابط	ضریب همبستگی
۱	$y = -0.0027x + 2.74$	$R^2 = 0.98$
۴	$y = -0.003x + 2.88$	$R^2 = 0.98$
۷	$y = -0.003x + 2.87$	$R^2 = 0.98$
۱۰	$y = -0.0029x + 2.80$	$R^2 = 0.98$
۱۳	$y = -0.0029x + 2.80$	$R^2 = 0.98$
۱۶	$y = -0.0029x + 2.79$	$R^2 = 0.98$
۱۹	$y = -0.0029x + 2.78$	$R^2 = 0.98$

جدول ۶. معادلات رگرسیونی میان میزان نور عبوری و طول موجهای گوناگون بعد از پردازش با روش SNV

روز انبارمانی	روابط	ضریب همبستگی
۱	$y = -0.0093x + 7.76$	$R^2 = 1$
۴	$y = -0.0098x + 7.85$	$R^2 = 0.98$
۷	$y = -0.0098x + 7.86$	$R^2 = 1$
۱۰	$y = -0.0096x + 7.78$	$R^2 = 0.97$
۱۳	$y = -0.0096x + 7.69$	$R^2 = 1$
۱۶	$y = -0.0096x + 7.68$	$R^2 = 1$
۱۹	$y = -0.0096x + 7.69$	$R^2 = 1$

تعیین مؤثرترین طول موجها

الگوریتم ژنتیک برای انتخاب مؤثرترین طول موجها به عنوان ورودی روابط رگرسیونی برای طبقه‌بندی تخم‌مرغها استفاده شد. تعداد طول موجهای مؤثر در اجراهای گوناگون برنامه و همچنین تیمارهای گوناگون طیفها متفاوت بود. اما بهترین حالت براساس مقدار واریانس، آزمون F-test، $RSMECV^1$ ، مشاهدات عملی، تعداد پیکها (۶ عدد)، و یکسانی تعداد ورودیها برای استخراج روابط رگرسیونی ۶ عدد در نظر گرفته شد. مؤثرترین طول موجها با پردازشهای گوناگون در جدول ۴ آمده است.

استخراج معادلات رگرسیونی میان میزان نور عبوری و طول

موج با روش الگوریتم ژنتیک

روابط استخراجی با داده‌های خام و داده‌های تیمار شده با روش MSC بسیار به یکدیگر شبیه بودند. از این رو فقط روابط داده‌های تیمار شده با روش MSC گزارش می‌شوند. مطابق جدول ۵ و ۶ می‌توان با این روابط تخم‌مرغها را به ۳ گروه مجزا طبقه‌بندی کرد (گروه ۱ تخم‌مرغ با کیفیت، گروه ۲ کم‌کیفیت، و نهایتاً گروه ۳ بی‌کیفیت خوانده شد). از میان کل نمونه‌ها ۱۴ درصد آن در گروه اول، ۲۹ درصد در گروه دوم، و ۵۷ درصد آن در گروه سوم جای داشتند. شایان ذکر است که فقط تخم‌مرغهای روز اول در گروه تخم‌مرغهای باکیفیت قرار گرفتند. این مسئله نشان‌دهنده آن است که دمای $30 \pm 7^\circ C$ و

1. Root mean squared error variance

بعد از اعمال مشتق دوم و تبدیل فوریه روند داده‌ها غیرخطی و بسیار پیچیده شد و فقط با چندجمله‌ای درجه ۵ و بالاتر بهترین برازش‌ها حاصل شد. از این رو از آوردن روابط رگرسیونی آن‌ها در این بخش صرف نظر گردید. اما برخلاف روش‌های قبل، در میزان شدت عبور در طول موج‌های استخراج شده به روش الگوریتم ژنتیک در روزهای گوناگون اختلاف بسیار آشکاری مشاهده گردید (داده‌ها به علت کثرت گزارش نشدند). با مشتق‌گیری مجدد و تبدیل فوریه و بررسی مجزا در یک طول موج خاص می‌توان داده‌های طیفی را بهتر از یکدیگر تمیز داد.

رطوبت 25 ± 4 درصد بعد از گذشت ۴ روز، سبب کاهش شدید کیفیت تخم مرغ‌ها می‌شود.

بعد از محاسبه روابط رگرسیونی برای مشتق اول بهترین حالت در بعضی روزها چندجمله‌ای مرتبه ۳ بود. اما با توجه به اینکه میان روابط حاصل و حالت خطی از نظر مقدار R^2 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت فقط به بیان روابط خطی اکتفا شد. همانطور که در جدول ۷ مشخص است این روابط برخلاف روابط موجود در جداول ۵ و ۶ در روزهای گوناگون متفاوت هستند. این مسئله نشان از حساسیت مشتق‌گیری و توانایی بالاتر آن در طبقه‌بندی طیف‌ها دارد.

جدول ۷. معادلات رگرسیونی میان میزان نور عبوری و طول موج‌های گوناگون بعد از مشتق اول

ضریب همبستگی	روابط	روز انبارمانی
$R^2 = 0.83$	$y = -6E-04x + 0.0086$	۱
$R^2 = 0.75$	$y = -7E-04x + 0.0056$	۴
$R^2 = 0.75$	$y = -1E-04x + 0.0096$	۷
$R^2 = 0.44$	$y = -3E-04x + 0.0019$	۱۰
$R^2 = 0.71$	$y = -6E-04x + 0.005$	۱۳
$R^2 = 0.80$	$y = -9E-04x + 0.0069$	۱۶
$R^2 = 0.68$	$y = -4E-04x + 0.0051$	۱۹

معادلات رگرسیونی داده‌های خام فقط توانایی تشخیص تخم مرغ‌های یک‌روزه را به نسبت روزهای دیگر دارد. حال آنکه پردازش داده‌ها طبقه‌بندی داده‌های طیفی را حتی به صورت روزانه به آسانی امکان‌پذیر می‌سازد. مشتق دوم و تبدیل فوریه روند داده‌ها را بسیار متفاوت و پیچیده کرد و فقط چندجمله‌ای درجه ۵ بهترین برازش را داشت.

جمع‌بندی

طیف‌سنجی UV-IR را می‌توان پس از پردازش مکفی برای کیفیت‌سنجی غیرمخرب به کار برد.

ذخیره‌سازی تخم مرغ در دمای 30 ± 7 و رطوبت 25 ± 4 درصد (شرایط متداول در ایران در سوپری‌ها در تابستان) سبب زوال بسیار شدید در کیفیت تخم مرغ‌ها بعد از گذشت ۳ روز می‌شود.

تصحیح طیف‌ها با روش MSC و SNV آن‌ها را به راحتی از یکدیگر قابل تمیز کرد.

REFERENCES

- Abdanan Mehdizadeh S., Minaei, S., Karimi Torshizi M. A. & Mohajerani, E. (2014). Effect of UV irradiation, sample thickness and storage temperature on storability, bacterial activity and functional properties of liquid egg. *International Journal of Food Technology*, 1-9.
- Aboonajmi m., Akram A., Setarehdan S.K., & Rajabipour A. (2009). Freshness assessment of poultry egg by ultrasound signal processing. *iranian journal of biomedical engineering*, 3(1), 55-66.
- Aghkhani, M. H., & Poureza, A. R. (2007). Egg grading using machine vision techniques. *Agricultural Engineering Research*, 8(3), 141-150.
- Anonymous. (2014). I.R. of Iranian Metrological Organization, <http://www.irimo.ir/far/>.
- AOAC (1996). *Official methods of analysis*. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Bamelis, F. (2003). Non invasive assessment of eggshell conductance and different developmental stages during incubation of eggs. PhD thesis, No. 587, FLTWB, KU Leuven.
- Cho, H. K., Choi, W. K., & Paek, J. H. (2000). Inspection of surface cracks in shell eggs by acoustic impulse method. *Transactions of the ASAE*, 43(6), 1921-1926.

- 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.
- Dehrouyeh, M. H., Omid, M., Ahmadi, H., Mohtasebi, S. S., & Jamzad, M. (2010). Grading and quality inspection of defected eggs using machine vision. *International Journal of Advanced Science and Technology*, 17, 23-31.
- Demtröder, W. (2008). *Laser Spectroscopy 4st edn*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- 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.
- Heath, J. L. (1975). Investigation of Changes in Yolk Moisture. *Poultry Science*, 54, 2007-2014.
- Karoui, R., Kemps, B., Bamelis, F., De Ketelaere, B., Mertens, K., Schoonheydt, R., Decuypere, 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., Decuypere, 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.
- Karoui, R., Schoonheydt, R., Decuypere, E., Nicolai, B., & De Baerdemaeker, J. (2007). Front face fluorescence spectroscopy as a tool for the assessment of egg freshness during storage at a temperature of 12.2 °C and 87% relative humidity. *Analytica Chimica Acta*, 582, 83-91.
- Kemps, B., Bamelis, F., De Ketelaere, B., Mertens, K., Tona, K., Decuypere, 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.
- Lastinger, A.W., & McLendon, B.D. (1976). Inspection of light transmission as a measure of egg fertility. ASAE Paper. No: 76- 3032.
- Lin, J., Lin, Y., Hsieh, M., & Yang, C., (2001). An automatic system for eggshell quality monitoring. ASAE Paper Number: 01-6032 Joseph, Mich.: ASAE.
- 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.
- Miller, J. N., & Miller, J. C. (2005). *Statistics and Chemometrics for analytical chemistry*. Pearson Education Limited. UK. Pp:268.
- Osborne, B.G., Fearn, T., & Hindle, P. H. (1993). Near infrared calibration II. In "Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis". (David Browning ed.). Harlow: Longman Scientific and Technical.
- 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
- Weeks, M. (2007). *Digital signal processing using MATLAB and Wavelets*. Infinity Science Press LLC.
- Ye, S. F., Wang, D., & Min, S.G. (2008). Successive projections algorithm combined with uninformative variable elimination for spectral variable selection, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 91, 194-199.