

مدل سازی الگوریتم ژنتیک – شبکه عصبی مصنوعی جهت پیش گویی اثر ضدباکتریایی رنگ آناتو بر جمعیت *اشریشیا کلای*

محمود یلمه^{۱*}، محمدباقر حبیبی نجفی^۲، فخرالدین صالحی^۳

۱- دانشجوی دکتری دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

(تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۸)

چکیده

هدف از این مطالعه بکارگیری مدل سازی الگوریتم ژنتیک-شبکه عصبی مصنوعی به منظور پیش گویی اثر ضدباکتریایی رنگ آناتو موجود در سس مایونز بر جمعیت *اشریشیا کلای* می باشد. آناتو در مواد غذایی دارای فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی می باشد. رنگ آناتو استخراج و پس از فیلتراسیون و تغلیظ، با آن تحت خلا خشک گردید. در این مطالعه نمونه های سس حاوی ۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد رنگ آناتو تهیه و در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد. نمونه برداری و شمارش کلنی ها در طی ۱۷ روز و در سه تکرار انجام گرفت. به منظور پیش گویی جمعیت *اشریشیا کلای* از شبکه عصبی پرسپترون چند لایه پیشخور با ۳ ورودی و ۱ خروجی استفاده شد. همچنین از روش الگوریتم ژنتیک جهت بهینه سازی تعداد نرون ها در لایه مخفی شبکه عصبی مصنوعی استفاده گردید. نتایج نشان داد شبکه ای با تعداد ۷ نرون در یک لایه پنهان و با استفاده از تابع فعال سازی سیگموئیدی و درصد داده های مورد استفاده برای تربیت / آزمون / ارزیابی برابر ۵۰/۲۰/۳۰ می توان به خوبی جمعیت *اشریشیا کلای* (۲=۰/۹۹۹) در حضور رنگ آناتو را پیش گویی نمود. نتایج آنالیز حساسیت توسط شبکه عصبی بهینه، مدت زمان نگهداری را به عنوان موثرترین عامل در پیش گویی جمعیت *اشریشیا کلای* نشان داد.

کلید واژه گان: الگوریتم ژنتیک، *اشریشیا کلای*، سس مایونز، میکروبیولوژی

۱- مقدمه

مایونز نوعی امولسیون روغن در آب می‌باشد که حاصل امولسیون شدن روغن‌های خوراکی گیاهی (حداقل ۶۶ درصد) در یک فاز مایع حاوی سرکه بوده و زرده تخم مرغ به عنوان امولسیفایر آن می‌باشد. با توجه به عدم اعمال فرآیند حرارتی طی تولید این فرآورده، نیاز به استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی مثل بنزوئیک اسید و نمک‌های آن، جهت ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌ها طی نگهداری سس، می‌باشد. اما این نگهدارنده‌های سنتزی اثرات زیانباری بر سلامتی انسان دارند [۳-۱].

عصاره آناتو یک رنگ طبیعی کاروتنوئیدی و از دانه‌های درخت بیکسا/اورلان^۱ مناطق گرم و مرطوب بدست می‌آید. از دو جزء ۹'-سیس - بیکسین که جزء رنگی اصلی محلول در روغن (حدود ۸۰ درصد) در عصاره استخراج شده بوده و ۹'-سیس - نوربیکسین که محلول در آب می‌باشد، تشکیل شده است [۴]. آناتو با رنگ نارنجی تا قرمز به عنوان رنگ طبیعی و سالم در فرآورده‌های غذایی مختلف مانند فرآورده‌های قنادی و نانواپی، فرآورده‌های لبنی، فرآورده‌های گوشتی، برنج و انواع مرباها استفاده می‌شود [۵]. استفاده از رنگ آناتو در سس علاوه بر خصوصیات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی رنگ آناتو می‌تواند با ایجاد رنگی مطلوب به تنوع محصول نیز کمک کند [۶].

یک شبکه عصبی مصنوعی^۲ از ترکیب واحدهایی به نام نرون تشکیل شده است. ورودی این نرون در وزن‌ها^۳ ضرب شده و سپس با یک عدد ثابت که بایاس^۴ نامیده می‌شود جمع می‌گردد، نتیجه نیز از یک تابع غیر خطی عبور می‌کند تا خروجی ساخته شود. از شبکه‌های عصبی مصنوعی به طور گسترده‌ای به منظور تخریب میکروب‌ها در طی زمان و همچنین پارامترهای مورد نظر در طراحی و توسعه سیستم‌ها استفاده شده است. شبکه‌های عصبی قادر به مدل‌سازی فرایندهایی صنایع غذایی به منظور پیش‌گویی انتقال حرارت و جرم، استخراج مواد، بررسی خواص ضد میکروبی و نیز به مدل‌سازی سیستم‌های غیر خطی و پیچیده با تعداد زیادی داده ورودی و خروجی می‌باشند [۷].

اهمیت استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی در پیشگویی‌های میکروبیولوژی به عنوان یک روش جایگزین برای تکنیک‌های رگرسیونی، توسط محققان بررسی و استفاده از آن به انعطاف پذیری و دقت بالای آن، توصیه شده است [۸-۱۱].

کوتسومانیز و همکاران (۱۹۹۹) از مدل‌سازی ریاضی جهت پیشگویی غیر فعال سازی غیر حرارتی سالمونلا انترتیدیس توسط ترکیبات ضد میکروبی طبیعی در سالاد استفاده نمودند. این محققان یک تابع درجه دوم را به عنوان یک مدل مناسب توصیه نمودند، اما مدل بدست آمده به طور کامل قادر به پیشگویی جمعیت میکروبی باقی مانده نمی‌باشد [۱۱]. فرناندز و همکاران (۲۰۱۰) از شبکه‌های عصبی مصنوعی جهت بررسی رشد میکروبی استفاده نموده و این روش را به عنوان یک روش مناسب جهت پیش‌گویی جمعیت میکروبی، معرفی نمودند [۸]. گارسیا و همکاران (۲۰۰۵) با استفاده از روش شبکه عصبی مصنوعی رشد لئوکونستوک مزنتروئیدس را مدل‌سازی نمودند. مدل‌های پیشگویی رشد شبکه عصبی مصنوعی یک ابزار مناسب جهت تخمین پارامترهای رشد لئوکونستوک مزنتروئیدس معرفی شده اند [۹].

تعداد مطالعات محدودی در خصوص کاربرد مدل‌سازی الگوریتم ژنتیک - شبکه عصبی برای مدل‌سازی و کنترل فرآیندهای میکروبیولوژیکی گزارش شده است. لذا در این پژوهش به مدل سازی اثر ضدباکتریایی رنگ آناتو بر جمعیت /شیرشیا کلای موجود در سس مایونز به عنوان تابعی از دمای نگهداری، غلظت آناتو و مدت زمان نگهداری با استفاده از مدل‌سازی الگوریتم ژنتیک - شبکه عصبی مصنوعی پرداخته شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

حلال‌های آلی استون و هگزان و نیز محیط‌های کشت مورد استفاده از شرکت مرک آلمان و دانه آناتو از شهر حیدرآباد کشور هند، سوش خالص /شیرشیا کلای (ATCC 25922) از گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد.

1. Bixa Orellana L.
2. Artificial Neural Network (ANN)
3. Weights
4. Bias

۲-۲- استخراج رنگ آناتو

استخراج رنگ آناتو مطابق روش کاستلو و همکاران (۲۰۰۴) به انجام رسید و طی آن ابتدا مقداری دانه آناتو در هگزان به مدت ۶ ساعت به منظور روغن‌زدایی^۵ خیسانده می‌شود و سپس دانه‌های روغن‌زدایی شده جهت استخراج رنگ در حلال آلی استون قرار داده می‌شوند [۱۲]. عصاره رنگی پس از فیلتراسیون، ابتدا بوسیله روتاری اوپراتور تغلیظ، سپس توسط آن تحت خلا خشک شد. جهت جلوگیری از آسیب حرارتی باندهای دوگانه کنژوگه، طی خشک کردن از دمای پائین (۴۰ درجه سانتی‌گراد) استفاده گردید.

۲-۳- تهیه سوسپانسیون میکروبی

از کشت ۲۴ ساعته در محیط کشت نوترینت آگار شیب‌دار بمنظور تهیه سوسپانسیون میکروبی استفاده شد. بعد از کشت و ۲۴ ساعت انکوباتور گذاری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، سوسپانسیون میکروبی معادل با نیم مک‌فارلند به روش مک‌فارلند تهیه شد.

۲-۴- تهیه تیمارها

سس مایونز در شرایط آزمایشگاهی بصورت استریل تهیه و سپس به هر ظرف حاوی سس وزن مشخصی از رنگ آناتو و نیز سوسپانسیون میکروبی اضافه شد. نمونه‌های سس حاوی ۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد رنگ آناتو تهیه شد. نمونه‌های سس در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بلافاصله پس از تهیه تیمارها و نیز بصورت روزانه تا ۱۷ روز، کشت میکروبی انجام شد.

ارزیابی بقای باکتری در سس مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۳۵۶ بررسی و طی آن ۱ میلی‌لیتر از هر رقت به پلیت افزوده و با افزودن محیط کشت، کشت بصورت پورپلیت انجام گرفت. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس تعداد کلنی‌ها شمارش گردید و نتایج به صورت \log_{10} CFU/g گزارش شد (۱۳).

۲-۵- مدل‌سازی

توانایی پیش‌گویی یک شبکه عصبی به ساختار آن وابستگی کامل دارد (نوع تابع انتقال، تعداد لایه‌ها و تعداد نرون‌های لایه پنهان).

تخمین تعداد نرون‌های لایه پنهان عموماً به وسیله آزمون و خطا انجام می‌شود که وقت گیر بوده و دارای خطا می‌باشد. لذا روش‌های بهینه‌سازی از قبیل الگوریتم ژنتیک^۶ در جهت غلبه بر این مشکل ذاتی شبکه‌های عصبی و به دست آوردن تعداد بهینه نرون‌ها در لایه پنهان مورد استفاده قرار می‌گیرند. مدل‌سازی اثر ضدباکتریایی رنگ آناتو بر جمعیت *اشریشیا کلای* موجود در سس مایونز توسط شبکه‌های عصبی چند لایه پرسپترون پیش‌خور که یکی از پرکاربردترین شبکه‌های عصبی می‌باشد، انجام پذیرفت. میزان پیچیدگی شبکه عصبی وابسته به تعداد لایه‌های پنهان و تعداد نرون‌ها در هر لایه پنهان است. بر اساس تئوری تقریب جهانی یک شبکه عصبی مصنوعی با یک لایه پنهان با تعداد نرون کافی قادر به پیش‌گویی هر نوع خروجی با صحت بالا می‌باشد لذا در این پژوهش از شبکه عصبی سه لایه استفاده گردید [۱۴، ۱۵]. نرون‌ها در این نوع شبکه در سه لایه ورودی، پنهان و خروجی دسته‌بندی می‌شوند. پردازش اطلاعات درون نرون‌ها صورت می‌گیرد. یک نرون در یک شبکه می‌تواند ورودی‌های مختلفی را نه فقط از یک نرون، بلکه از چند یا حتی تعداد زیادی نرون دریافت نماید. خروجی نرون‌های لایه پنهان و خروجی (Y) از طریق افزایش بایاس به مجموع ورودی‌های وزن دار شده با استفاده از رابطه ۱ محاسبه می‌شود (۱۶).

[۱]

$$y_j = \sum_{i=1}^p W_{ij} X_i + b_j$$

در معادله فوق W_{ij} ضریب وزنی نرون شماره i که به نرون شماره j متصل است، می‌باشد. p تعداد ورودی‌های هر نرون و b_j بردار بایاس نرون j است.

تعداد نرون‌های لایه‌های ورودی و خروجی براساس تعداد متغیرهای ورودی به شبکه و تعداد متغیرهای خروجی مورد نظر تعیین می‌شود. در این تحقیق سه ورودی شامل دمای نگهداری، غلظت آناتو و زمان نگهداری و یک خروجی شامل جمعیت *اشریشیا کلای* در نظر گرفته شد (شکل ۱). فرآیند بهینه‌سازی تعداد نرون‌ها در لایه پنهان شبکه عصبی به روش الگوریتم ژنتیک انجام گرفت. جمعیت اولیه برای تولید نسل‌ها ۱۰۰ و حداکثر

خطی؛ تعداد داده‌های استفاده شده جهت یادگیری، آزمون و ارزیابی و قاعده یادگیری لیونبرگ-مارکت^{۱۳}، بهترین توپولوژی^{۱۴} شبکه جهت دست یابی به شبکه بهینه بررسی شد.

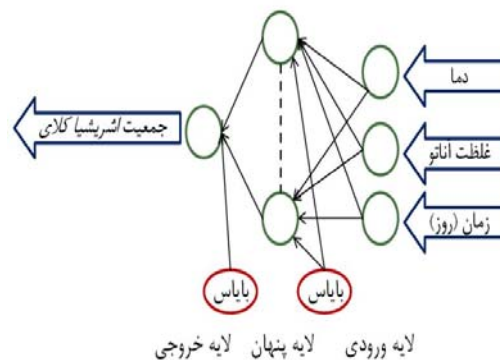
۳- نتایج و بحث

مطابق نتایج، افزایش درصد رنگ آناتو از صفر تا ۴ درصد در سس منجر به کاهش معنی دار در تعداد باکتری اشریشیا کلای در طی زمان نگهداری شد. کاهش جمعیت اشریشیا کلای در دمای ۲۵°C نسبت به دمای ۴°C اختلاف معنی داری داشت بطوری که جمعیت باکتری ها در دمای ۲۵°C پس از ۱۷ روز به مقدار حداقل خود رسیدند در حالی که در دمای ۴°C پس از ۱۷ روز نیز به رشد خود ادامه دادند.

در این مطالعه به منظور پیشگویی جمعیت اشریشیا کلای از مدل سازی الگوریتم ژنتیک - شبکه عصبی مصنوعی استفاده گردید. دمای نگهداری، غلظت آناتو و زمان نگهداری به عنوان ورودی شبکه در نظر گرفته شدند و جمعیت اشریشیا کلای به عنوان خروجی شبکه انتخاب گردید. با توجه به مقدار خطای کمتری که با استفاده تابع فعال‌سازی سیگموئیدی بدست می‌آید، این نوع تابع به عنوان تابع فعال‌سازی در لایه پنهان و خروجی انتخاب شد.

بر اساس روش آزمون و خطا مشخص شد در صورتی که ۳۰ درصد داده‌ها (۸۲ سری داده) برای آموزش استفاده گردد، شبکه به خوبی قادر به یادگیری روابط بین ورودی‌ها و خروجی‌ها می باشد. ۲۰ درصد داده‌ها (۵۴ سری داده) هم برای آزمون شبکه آموزش دیده استفاده گردید. به منظور ارزیابی شبکه هم از باقی مانده داده‌ها (۵۰ درصد یا ۱۳۶ سری داده) استفاده گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که شبکه عصبی مصنوعی دارای ۷ نرون در لایه پنهان کمترین میزان میانگین مربعات خطا، میانگین مربعات خطای نرمالیزه و میانگین خطای مطلق برای پیش‌گویی جمعیت اشریشیا کلای (به ترتیب ۰/۰۱۹، ۰/۰۰۲ و ۰/۱۰۴) را دارد (جدول ۱).

تعداد نسل‌ها نیز ۵۰ نسل در نظر گرفته شده است. احتمال آمیزش و جهش بر اساس توصیه راهنمای نرم افزار، ۰/۹ و ۰/۰۱؛ و تعداد نرون‌ها جهت بهینه‌سازی ۱ تا ۲۰ عدد در نظر گرفته شد.



شکل ۱ ساختار شماتیک ورودی و خروجی های شبکه عصبی مصنوعی پرسپترون سه لایه (۳/۱/۱) به منظور پیشگویی جمعیت اشریشیا کلای عملکرد اساسی نرون مصنوعی شامل جمع زدن سیگنال‌های ورودی وزن‌دار آن و اعمال تابع خروجی یا تابع فعال‌سازی^۷ است. از توابع فعال‌سازی خطی، سیگموئیدی و تانژانت هیپربولیک که متداول‌ترین نوع توابع فعال‌سازی هستند، در لایه پنهان و خروجی استفاده گردید [۱۶، ۱۷].

به منظور مدل‌سازی توسط شبکه عصبی مصنوعی، داده‌ها به سه دسته داده‌های آموزش، آزمون و ارزیابی تقسیم شدند. تعداد سیکل‌های یادگیری برابر ۱۰۰۰ انتخاب شد و برای جلوگیری از یادگیری بیش از حد، فرآیند یادگیری در صورتی که میانگین مربعات خطای^۸ یادگیری پس از ۱۰۰ سیکل یادگیری تغییری نمی کرد، متوقف می‌شد.

جهت ارزیابی شبکه های عصبی و انتخاب بهترین توپولوژی شبکه برای پیشگویی پارامترهای مورد بررسی، از شاخص میانگین مربعات خطا، میانگین مربعات خطای نرمالیزه^۹، میانگین خطای مطلق^{۱۰} و ضریب همبستگی^{۱۱} استفاده گردید.

نرم افزار نروسولوشن^{۱۲} نسخه ۶ جهت مدل‌سازی شبکه عصبی استفاده گردید. در این نرم افزار با تغییر تعداد نرون‌ها در لایه پنهان؛ نوع تابع فعال‌سازی (تانژانت هیپربولیک، سیگموئیدی و

7. Activation function

8. Mean squared error (MSE)

9. Normalized mean squared error (NMSE)

10. Mean absolute error (MAE)

11. Correlation coefficient (r)

12. Neurosolution software (Excel software release 6.0)

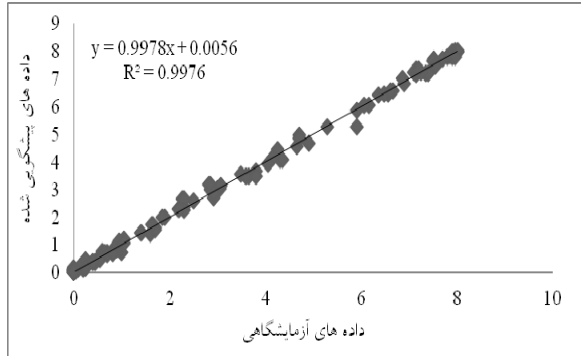
presented by NeuroDimension, Inc., USA

13. Levenberg-Marquardt (LM)

14. Topology

جدول ۱ مقادیر بهینه پارامترهای شبکه عصبی مصنوعی مورد استفاده جهت پیش‌گویی جمعیت اشریشیا کلای

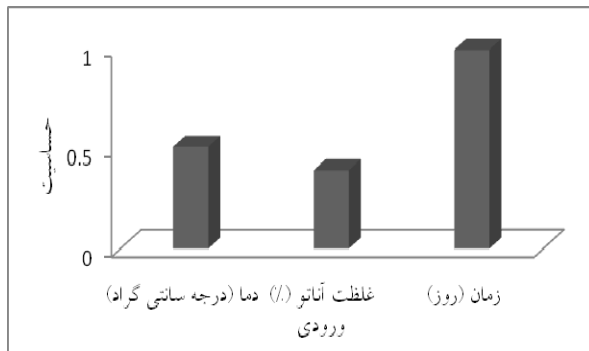
درصد داده های ارزیابی	درصد داده های آزمون	درصد داده های یادگیری	تعداد نرون لایه پنهان	نوع تابع فعال سازی	قاعده یادگیری	تعداد لایه های پنهان
۵۰	۲۰	۳۰	۷	سیگموئیدی	لیونبرگ-مارکت	۱



شکل ۳ مقادیر تجربی داده های ارزیابی در برابر مقادیر پیش‌گویی شده

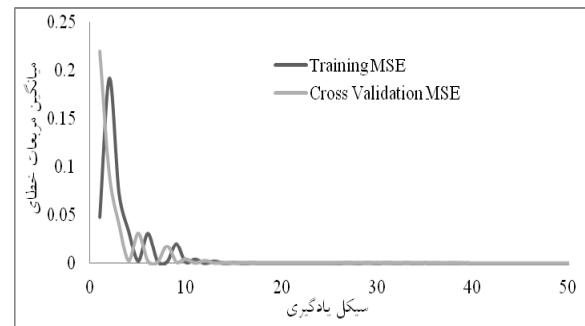
برای جمعیت اشریشیا کلای توسط شبکه عصبی بهینه مقادیر بالای ضریب همبستگی (۰/۹۹۹) نشان دهنده کارایی بالای شبکه عصبی مصنوعی می‌باشد. نتایج بدست آمده گویای این مطلب است که از مدل‌سازی شبکه عصبی مصنوعی می‌توان به عنوان یک روش مناسب جهت پیش‌گویی جمعیت اشریشیا کلای در حضور ترکیبات ضد میکروبی، در دماها و زمان‌های مختلف استفاده نمود.

به منظور بررسی مقدار تاثیر گذاری پارامترهای ورودی و شناسایی تاثیر گذارترین عامل، تست آنالیز حساسیت^{۱۵} بر روی شبکه بهینه انجام شد. همانطوری که در شکل ۴ مشاهده می‌شود در میان متغیرهای ورودی، مدت زمان نگهداری موثرترین عامل در هنگام پیش‌گویی جمعیت اشریشیا کلای می‌باشد.



شکل ۴ نتایج آنالیز حساسیت توسط شبکه عصبی بهینه

در این پژوهش روش بهینه‌سازی لئونبرگ-مارکوت که یکی از پر کاربردترین قوانین یادگیری است، به منظور یادگیری شبکه مورد استفاده قرار گرفت [۷]. مقدار میانگین مربعات خطا در طی فرآیند یادگیری، آزمون و ارزیابی در برابر سیکل‌های یادگیری شبکه بهینه در شکل ۲ به نمایش در آمده است.



شکل ۲ میانگین مربعات خطا به عنوان تابعی از تعداد سیکل‌های یادگیری

کاهش سریع در نمودار میانگین مربعات خطا در سیکل‌های اولیه آموزش نشان از یادگیری سریع شبکه می‌باشد که این از ویژه گی های شناخته شده روش بهینه سازی لیونبرگ-مارکت می‌باشد [۱۵].

هدف از فرآیند آموزش الگوریتم ژنتیک - شبکه عصبی مصنوعی به دست آوردن بردارهای وزن و بایاس شبکه عصبی بهینه است. در جدول ۲، مقادیر وزن‌ها و بایاس‌های متناظر با هر نرون برای شبکه عصبی دارای ۷ نرون در لایه پنهان آورده شده است. مقادیر واقعی داده‌های ارزیابی (۵۰ درصد داده استفاده نشده توسط شبکه) و پیش‌گویی شده جمعیت اشریشیا کلای توسط شبکه عصبی بهینه (۳/۷/۱) در شکل ۳ نشان داده شده است.

جدول ۲ مقادیر وزن‌ها و بایاس‌های متناظر با هر نرون در شبکه عصبی مصنوعی بهینه برای پیش‌گویی جمعیت اشریشیا کلای

تعداد نرون لایه پنهان	نرون های ورودی			نرون های خروجی	
	بایاس	دما	غلظت آناتو	زمان نگهداری	جمعیت اشریشیا کلای
۱	۰/۱۲۳۵	۱/۱۲۳۵	۱/۱۲۳۶۵	۰/۲۵۸۶	۱/۶۳۶۲
۲	۰/۱۲۶۵	-۱/۲۸۶۶	۰/۹۹۱۰	۱/۳۵۲۷	-۱/۷۶۸۹
۳	۰/۹۵۶۸	۱/۱۲۶۵	-۰/۰۶۵۹	۰/۳۴۹۶	۰/۱۲۳۶
۴	۰/۱۲۶۵	۱/۳۶۵۹	۰/۱۳۴۹	۰/۲۳۵۶	۰/۰۶۵۸
۵	۱/۰۶۵۸	۱/۳۳۵۸	۰/۱۲۶۵	-۱/۲۳۵۶	۰/۲۳۶۵
۶	۱/۱۲۳۵	۰/۱۵۵۲	۰/۹۶۵۸	۱/۲۳۶۵	۱/۳۶۵۲
۷	-۱/۳۶۹۸	-۳/۵۷۱۶	-۱/۲۳۶۵	۰/۳۶۲۵	۱/۲۵۶۴
بایاس					-۱/۰۹۸۵

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش اثر ضدباکتریایی رنگ آناتو بر جمعیت اشریشیا کلای موجود در سس مایونز در دو دمای نگهداری یخچال و محیط (۴ و ۲۵ درجه سانتی گراد) طی مدت زمان ۱۷ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. در هر دو دمای نگهداری ۴ و ۲۵ درجه سانتی گراد متناسب با افزایش غلظت رنگ آناتو، تعداد باکتری اشریشیا کلای در سس کاهش یافت. مدل‌سازی اثر ضدباکتریایی رنگ آناتو بر جمعیت اشریشیا کلای (خروجی شبکه) به عنوان تابعی از دمای نگهداری، غلظت آناتو و زمان نگهداری (ورودی های شبکه) به روش الگوریتم ژنتیک - شبکه عصبی مصنوعی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مدل‌سازی به روش الگوریتم ژنتیک - شبکه عصبی مصنوعی نشان داد که ترکیب شبکه عصبی مصنوعی با الگوریتم ژنتیک نتیجه بهتری را ارائه می‌کند و با ترکیب آنها سرعت تحلیل و دقت فرآیند مدل‌سازی افزایش می‌یابد. شبکه عصبی مصنوعی دارای ۷ نرون در یک لایه پنهان و با استفاده از تابع فعال‌سازی سیگموئیدی در لایه‌های پنهان و خروجی، و با استفاده از روش بهینه‌سازی لیونبرگ-مارکوت، به خوبی قادر به پیش‌گویی جمعیت اشریشیا کلای با ضریب همبستگی بالا (۰/۹۹۹) می‌باشد. نتایج آنالیز حساسیت، مدت زمان نگهداری را به عنوان موثرترین عامل در پیش‌گویی جمعیت اشریشیا کلای معرفی نمود.

۵- منابع

- [1] Boonmar, S., Bangtrakulnonth, A., Pornrunangwong, S., Terajima, J., Watanabe, H., Kaneko, K. and Ogawa, M., 1998, Epidemiological analysis of *Salmonella enteritidis* isolates from humans and broiler chickens in Thailand by phages typing and pulsed-field gel electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology*, 36 (4), 971-974.
- [2] Smittle, R.B. 2000. Microbiological safety of mayonnaise, salad dressing and sauces produced in the United States. *Journal food prot.*; 63 (8), 1144-1153.
- [3] Zhang, H., Kong, Y. and Xiong, X., 2009, Antimicrobial activity of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C. *Journal of Meat science*, 81, 686-692.
- [4] Preston, H.D. and Rickard, M.D., 1980, Extraction and chemistry of Annatto. *Food Chemistry*, 5, 47-56.
- [5] Chowdhury, A.I., Molla, A.I., Sarker, M., Rana, A.A., Ray, S.K., Nur. H.P. and Karim, M.M. 2006. Preparation of edible grade dye and pigments from natural source *Bixa Orellana* Linn. *International Journal of Basic & Applied Sciences*, 10 (4), 7-22.
- [6] Galindo-Cuspinera, V., Westhoff, D.C. and Rankin, S.A. 2003. Antimicrobial properties of commercial annatto extracts against selected pathogenic lactic acid and spoilage

- [12] Zurera-Cosano, G., García-Gimeno, R.M., Rodríguez-Pérez, M.R., Hervás-Martínez, C., 2005, Validating an artificial neural network model of *Leuconostoc mesenteroides* in vacuum packaged sliced cooked meat products for shelf-life estimation. *European Food Research and Technology*, 221 (5), 717-724.
- [13] Iranian National Standards Organization, chemical tests of mayonnaise, Standard NO. 2454.
- [14] Castello, M., Chandra, N., Phatak, A. and Madhuri, S., 2004, Estimation of bixin in seeds of *Bixa orellana* L. from different locations in Western Maharashtra. *Indian J. Plant Physiol.* 9 (2), 185-188.
- [15] Abbas, A. and Al-Bastaki, N., 2005, Modeling of an RO water desalination unit using neural networks. *Chemical Engineering Journal*, 114, 139-143.
- [16] Darwish, N.A., Hilal, N., Al-Zoubi, H. and Mohammad, A.W., 2007, Neural networks simulation of the filtration of sodium chloride and magnesium chloride solutions using nanofiltration membranes. *Institution of Chemical Engineers*, 85, 417-430.
- [17] Liu, Q., Kim, S. and Lee, S., 2009, Prediction of microfiltration membrane fouling using artificial neural network models. *Separation and Purification Technology*, 70, 96-102.
- [18] Rapetto, M.P., Almqvist, A., Larsson, R. and Lugt, P.M., 2009, On the influence of surface roughness on real area of contact in normal, dry, friction free, rough contact by using a neural network. *Wear*, 266, 592-595.
- microorganisms. *Journal of Food Protection*, 66, 1074-1078.
- [7] Salehi, F. and Razavi, S.M.A., 2012. Dynamic modeling of flux and total hydraulic resistance in nanofiltration treatment of regeneration waste brine using artificial neural network. *Desalination and Water Treatment*, 41, 95-104.
- [8] Fernández, F., Valero, A. Hervás-Martínez, C., Gutiérrez, P.A., García-Gimeno, R.M., Zurera-Cosano, G. 2010. Development of a multi-classification neural network model to determine the microbial growth/no growth interface, *International Journal of Food Microbiology*, 141, 203-212.
- [9] Garcia-Gimeno, R.M., Hervas-Martinez, C., Rodriguez-Perez, R., Zurera-Cosano, G., 2005. Modelling the growth of *Leuconostoc mesenteroides* by artificial neural networks. *International Journal of Food Microbiology*, 105 (3), 317-332.
- [10] Hervás-Martínez, C., Garcia-Gimeno, R.M., Martínez-Estudillo, A.C., Martínez-Estudillo, F.J., Zurera-Cosano, G., 2006. Improving microbial growth prediction by product unit neural networks. *Journal of Food Science* 71 (2), 31-38.
- [11] Koutsoumanis, K., Lambropoulou, K. and Nychas, G-J.E., 1999, A predictive model for the non-thermal inactivation of *Salmonella enteritidis* in a food model system supplemented with a natural antimicrobial. *International Journal of Food Microbiology*, 49, 63-74.

Genetic Algorithm– Artificial Neural Network Modeling for Prediction the Antibacterial effect of Annatto Dye on *Escherichia coli*

Yolmeh, M. ^{1*}, Habibi Najafi, M. B. ², Salehi, F. ³

1. PhD Student, Department of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2. Prof, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

(Received: 93/2/23 Accepted: 93/7/8)

The goal of this study was applying the genetic algorithm–artificial neural network (GA-ANN) modeling to predict the antibacterial effect of annatto dye on *Escherichia coli* population in mayonnaise. Annatto has antimicrobial and antioxidant properties in foods. Annatto dye was extracted and after filtration and concentration, was dried by vacuum oven. In this study, sauce samples containing 0, 0.1, 0.2 and 0.4 percent of annatto dye were prepared and stored at 4 and 25 °C. Sampling and colony counting were performed during 17 days and in triplicate. In order to predict the *Escherichia coli* population multi-layer perceptron neural network with 3 inputs and 1 output were used. Genetic algorithm method was used to optimization number of neurons in ANN hidden layer. The results showed a network with 7 neurons in hidden layer and using a Sigmoid tangent transfer function and the Levenberg–Marquardt (LM) optimization technique and 30%-20%-50% for training/ testing/ validating process can be well predict the *Escherichia coli* population ($r=0.999$) in the presence of annatto dye. Sensitivity analysis results by optimum ANN showed the storage time as the most factor for the predicting the *Escherichia coli* population.

Keywords: Genetic algorithm, Mayonnaise, Microbiology, *Escherichia coli*.

* Corresponding Author E-Mail Address: mahmud.yolmeh@yahoo.com