

استفاده از شبکه عصبی-ژنتیک الگوریتم و نروفازی برای مدل سازی دینامیک جمعیت میکروبی (اشرشیا کلی ۲۹۹۹۸ ATCC) سوسیس فرانکفورتر حاوی عصاره قره قات

فریده طباطبایی یزدی^{۱*}، علی الغونه^۲، بهروز عزیزاده بهبهانی^۲، علیرضا وسیعی^۲

۱- دانشیار و عضو هیئت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۱۲)

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی تاثیر پارامترهای زمان، نوع عصاره، غلظت عصاره و دمای محیط بر دینامیک جمعیت باکتری اشرشیا کلی در یک سیستم کمپکلس غذایی (سوسیس فرانکفورتر) و مدل سازی آن به وسیله ژنتیک الگوریتم- شبکه عصبی مصنوعی و سیستم های نروفازی (CANFIS) می باشد. در این پژوهش، از روش رقت سازی در چاهک برای تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره های آبی و اتانولی قره قات استفاده شد. مدل ژنتیک الگوریتم- شبکه عصبی و سیستم نروفازی (CANFIS) دارای چهار ورودی شامل، غلظت در پنج سطح (صفر، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۶۰۰۰، ۸۰۰۰ ppm)، نوع عصاره (آبی، اتانولی)، دما در سه سطح (۵، ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد)، و زمان (صفر تا ۲۰ روز) بود. نتایج نشان داد شبکه عصبی با یک لایه مخفی، ۱۰ نورون در لایه مخفی، تابع فعال سازی از نوع تانژانت هیپربولیک، قاعده یادگیری مومنتوم، درصد داده های ۳۰، ۳۰، ۴۰ به ترتیب برای آموزش، ارزیابی و آزمون برای پیش بینی دینامیک جمعیت باکتری اشرشیا کلی به کار رود ($R^2=0/995$). همچنین همبستگی بسیار مناسبی بین پیش بینی های سیستم نروفازی و داده های تجربی وجود داشت ($R^2=0/96$). لازم به ذکر است که در این پژوهش سیستم ژنتیک الگوریتم- شبکه عصبی به شیوه مناسب تری قادر به پیش بینی دینامیک جمعیت باکتری اشرشیا کلی بود.

کلید واژگان: اشرشیا کلی، قره قات، ژنتیک الگوریتم، شبکه عصبی مصنوعی، نروفازی

۱- مقدمه

امروزه تولیدات گوشتی به دلیل داشتن ویژگی‌های حسی، بافتی و قیمت مناسب در مقایسه با گوشت تازه به صورت گسترده‌ای مورد توجه مصرف کنندگان قرار گرفته اند [۱]. اغلب فرمولاسیون فرآورده‌های گوشتی حاوی نیتريت هستند، نیتريت به عنوان جز اصلی در این محصولات شناخته می‌شود. نیتريت در ایجاد، توسعه طعم و بوی مخصوص فرآورده، جلوگیری از اکسیداسیون لیپید و ممانعت از رشد باکتری‌های پاتوژن موثر است [۲]. به تاخیر انداختن اکسیداسیون لیپید و جلوگیری از رشد باکتری‌های پاتوژن، فاکتورهایی هستند که به صورت قابل ملاحظه ای می‌توانند دوره ماندگاری فرآورده‌های گوشتی را تضمین نمایند [۳، ۴]. با وجود مزایای ذکر شده در بالا، مقدار بالای نیتريت در محصولات گوشتی از جنبه سلامتی مضر و زیان بخش است [۵، ۶]. قره قات یا قاراقات (Redcurrant) با نام علمی *Ribes rubrum* میوه‌های جنگلی است. به طور کلی میوه قره قات بومی اروپای غربی و شمال کشورهای ایتالیا، اسپانیا، لهستان و پرتغال می‌باشد. در ایران قره قات در جنگل‌های منطقه ارسباران نیز به فراوانی یافت می‌شود. ارتفاع بوته قره قات ۱ تا ۱/۵ متر است و گاهی تا به دو متر نیز میرسد [۷]. توسعه تکنیک‌های موفق مدلسازی، منجر به کاهش لزوم آزمایشات تجربی و در نتیجه صرفه جویی در زمان و هزینه توسعه مراحل فرآیند می‌گردد. یک مدل با پیش بینی مناسب به کاربر اجازه به دست آوردن خصوصیات، پیش بینی کارایی فرآیند و هم چنین بهینه سازی فرآیند را می‌دهد [۸]. شبکه‌های عصبی مصنوعی جز سیستم‌های دینامیکی-هوشمند می‌باشند، که با پردازش روی داده‌های تجربی، دانش یا قانون نهفته در ورای داده‌ها را به ساختار شبکه منتقل می‌کنند. به همین خاطر به این سیستم‌ها هوشمند می‌گویند، چرا که بر اساس محاسبات روی داده‌های عددی یا مثال‌ها، قوانین کلی را فرا میگیرند. محاسبات با شبکه‌های عصبی مصنوعی توسط پیئتس و همکاران (۱۹۳۴) آغاز گردید. از سال‌های ۱۹۸۳ به بعد با ورود کامپیوترهای پر قدرت به بازار جهانی شاهد گسترش روز افزونه این روش در زمینه‌های مختلف علوم،

نظیر هوا و فضا، هوش مصنوعی، مهندسی شیمی، کنترل، مهندسی پزشکی، اقتصاد و ... بوده ایم [۹، ۱۰].

در روش مدلسازی سیستم‌های هوشمند، برخلاف مدل‌های فیزیکی هیچ گونه اطلاعاتی درباره اتفاقات داخل سیستم در اختیار گذاشته نمی‌شود و مکانیسم‌ها و ارتباطات داخلی بین متغیرهای ورودی و خروجی مورد نظر مشخص نیست و به همین دلیل این مدل‌ها را اصطلاحاً مدل‌های جعبه سیاه نیز می‌نامند. در حقیقت این مدل‌ها تنها سیستم را توصیف می‌کنند. مدل‌های شبکه‌های عصبی مصنوعی و سیستم‌های نوروفازی از جمله مدل‌های توصیفی هستند. این مدل‌ها برای انواع مسائل خطی و غیر خطی چند متغیره قابل استفاده اند [۱۱].

سیستم‌های هوشمند به طور موفقیت آمیزی برای مدل‌سازی در حوزه میکروبیولوژی مواد غذایی به کار رفته است، از جمله می‌توان به مدل‌سازی اثر ضد میکروبی پالپ و عصاره انگور بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* در سوپ سبزیجات با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی و منطق فازی [۱۲]، مدل‌سازی اثر ضد میکروبی عصاره آنانو بر جمعیت میکروبی *سالمونلا اینترتیدیس* با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی و سیستم‌های نوروفازی [۱۳]، کاربرد شبکه‌های عصبی مصنوعی برای مدل‌سازی فرایند آزادسازی پلی فنل و قند‌های احیا کننده در برگ ریخته شده کاج [۱۴] و مدل‌سازی پپتیدهای ضد میکروبی با استفاده از سیستم‌های نوروفازی اشاره نمود [۱۵].

تاکنون هیچ گونه پژوهشی مبنی بر بررسی اثر ضد میکروبی عصاره قره قات بر باکتری *اشرشیا کلی* در یک سیستم کمپلکس غذایی (سوسیس فرانکفوتر) صورت نگرفته است. لذا هدف از این پژوهش بررسی تاثیر پارامترهای، زمان (۲۰ روز)، نوع عصاره (آبی و اتانولی)، غلظت عصاره (صفر، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۶۰۰۰، ۸۰۰۰ ppm) و دمای محیط (۵، ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد) بر دینامیک جمعیت باکتری *اشرشیا کلی* در یک سیستم کمپلکس غذایی (سوسیس فرانکفوتر) و مدل‌سازی آن به وسیله ژنتیک الگوریتم- شبکه عصبی مصنوعی و سیستم‌های نوروفازی (CANFIS) می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- جمع آوری و عصاره گیری قره قات

پس از جمع آوری گیاه قره قات از مناطق محلی علی آباد کتول (گرگان) تایید جنس و گونه با همکاری با پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد صورت پذیرفت. از روش ماسراسیون^۱ (خیساندن) جهت عصاره‌گیری استفاده شد. در این روش ۱۰۰ گرم از گیاه قره قات به دقت با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین و در ارلن های جداگانه استریل که حاوی ۵۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد (مرک آلمان) و آب مقطر بودند ریخته شد. ارلن حاوی قره قات و حلال به مدت ۷۲ ساعت درون انکوباتور شیکر دار در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند تا حلال اثر خود را به نحو مطلوب اعمال نماید. سپس مخلوط حاصل از کاغذ صافی عبور داده شده و جهت شفاف سازی عمل سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm انجام گرفت. در مرحله بعد از دستگاه روتاری جهت حذف حلال استفاده گردید. جهت حذف هرگونه آلودگی میکروبی و استریل نمودن عصاره های آبی و اتانولی از فیلتر سرنگی استفاده شد [۱۶].

۲-۲- تهیه سوسیس فرانکفورتر

سوسیس فرانکفورتر جزء فرآورده های گوشتی ۶۰ درصد طبقه بندی می شود و فرمولاسیون این فرآورده طبق استاندارد ملی مربوط به فرآورده های گوشتی (۲۳۰۳) تهیه گردید. گوشت بدون چربی (۶۰٪)، ایزوله سویا (۲٪)، یخ (۲۲٪)، ادویه (۹۵٪)، روغن مایع (۵٪)، پیاز (۳٪)، نشاسته (۵٪)، اسید اسکوربیک (۰/۰۴٪)، پلی فسفات (۰/۰۳٪)، نمک (۱/۷٪)

۲-۳- آنالیزهای میکروبیولوژیکی

بعد از تهیه سوسیس طبق استاندارد ملی ایران و استریل نمودن آن، از کشت ۲۴ ساعته اشرفیا کلی میزان 10^6 cfu/ml طبق استاندارد مک فارلند به هریک از نمونه های سوسیس فرانکفورتر تلقیح شد. سپس به هریک از نمونه ها میزان (صفر، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۶۰۰۰ و ۸۰۰۰ ppm) عصاره های آبی و

اتانولی قره قات اضافه شد، سپس جهت بررسی اثر عصاره های آبی و اتانولی قره قات، هر یک از نمونه ها در دمای مشخص (۵، ۱۵ و ۲۵) درجه سانتی گراد در مدت زمان ۲۰ روز نگهداری شد. جهت بررسی روند اثر ضد میکروبی عصاره های آبی و اتانولی قره قات، هر ۲۴ ساعت (۱ روز) یک نمونه ۵ گرمی از هر تیمار با ۴۵ سی سی آب پپتونه (مرک آلمان) استریل سرد به مدت ۵ دقیقه توسط دستگاه استوماچر^۲ (Circulator400) همگن شد. رقت سازی متوالی در ۹ میلی لیتر آب پپتونه انجام می شود و تهیه رقت تا ۵-۱۰ ادامه یافت و پس از کشت رقت های مختلف بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار (مرک آلمان) و عمل انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد، شمارش میکروبی توسط کلنی کانتر (Sana SL-902) انجام گرفت، نتایج مشاهده شده به صورت واحد لگاریتمی تعداد باکتری (log cfu/g) گزارش شد. تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام پذیرفت [۱۷].

۲-۴- تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی

(MIC) عصاره های آبی و اتانولی قره قات

حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره های آبی و اتانولی قره قات با استفاده از روش رقت سازی در چاهک (میکروبراث دایلوشن) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور از پلیت های استریل ۹۶ خانه ای استفاده شد. محلول استوک عصاره در دی متیل سولفوکساید تهیه گردید و در غلظت های مختلف عصاره (از ۴۰ تا ۰/۱۵۶ میلی گرم در میلی لیتر با رقیق سازی محلول استوک با محیط کشت مولر هیتون براث تهیه شد. باکتری ها به مدت یک شبانه روز قبل از انجام آزمایش، در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد روی محیط کشت مولر هیتون براث کشت داده شدند. بعد از انجام تلقیح باکتری ها و پر کردن چاهک ها میکروپلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. بعد از طی ۲۴ ساعت میزان کدورت توسط Micro plate reader در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. اولین خانه ای که در آن کدورتی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهار کنندگی در نظر گرفته شد

(۴)

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (R_{model,i} - R_{exp,i})^2}{N}}$$

۶-۲- ارزیابی حسی

برای ارزیابی خصوصیات حسی از پانل ده نفری که نمونه‌ها را بر اساس بو، ظاهر و رنگ و پذیرش کلی مورد بررسی قرار دادند، استفاده گردید و جهت ارزیابی، سیستم نمره‌دهی هدونیک (نمره ۱ بسیار بد و نمره ۹ بسیار خوب) مورد استفاده قرار گرفت.

۷-۲- مدل سازی

۷-۲-۱- شبکه عصبی

تئوری شبکه های عصبی مصنوعی الهام گرفته از مدل سلول های عصبی مغز انسان است. مغز از تعداد زیادی سلول عصبی یا نورون تشکیل شده است. ورودی نورون ها در وزن های ثابت ضرب شده سپس با یک عدد ثابت به نام بایاس (Bias) جمع می شود، و نتیجه از یک تابع غیر خطی عبور می کند تا خروجی حاصل شود [۵].

(۵)

$$y = \sum_{i=1}^p F(W_{ij} x_i) + b_j$$

در معادله ۵، W_{ij} ضریب وزنی نورون شماره i که به نورون شماره j متصل است می باشد. p تعداد ورودی‌های هر نورون و b_j بردار بایاس نورون j است. f در این معادله بیانگر تابع فعال سازی می باشد.

متداولترین شبکه عصبی مورد استفاده شبکه پیشخور^۴ است. در این شبکه، اطلاعات تنها در جهت پیشخور جریان می یابد. از میان شبکه های عصبی پیشخور، شبکه پرسپترون^۵ چند لایه کاربرد گسترده تری در صنایع غذایی و مهندسی شیمی دارد. بر اساس تئوری تقریب جهانی، یک شبکه ANN با یک لایه مخفی حاوی تعداد مناسبی از نورون های مخفی، قادر است هر ورودی را با یک درجه صحت خاص، به خروجی تبدیل کند [۲۰]. ساختار یک شبکه عصبی با یک لایه مخفی و تعداد S نورون در شکل ۱، نمایش داده شده.

[۱۸]. با توجه به نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی، از تمام خانه هایی که رشد باکتری در آن ها متوقف شده بود، به پلیت های حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرم خانه گذاری شدند. غلظت‌هایی که فاقد رشد باکتری بودند، به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) گزارش شد. آزمایشات در ۳ تکرار انجام شد [۱۹].

۵-۲- طرح آماری

در این پژوهش تاثیر دما (در سه سطح ۵، ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد)، غلظت عصاره در پنج سطح (صفر، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۶۰۰۰ و ۸۰۰۰ ppm)، نوع عصاره (آبی و اتانولی)، در طی ۲۰ روز در سه تکرار، برای بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه قره قات بر باکتری اشرشیا کلی در یک سیستم کمپلکس غذایی (سوسیس فرانکفورت) انجام شد. آزمایش ها در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی طرح ریزی گردید. به طور کلی از ۶۰۰ داده در جهت فرایند مدل سازی با استفاده از ژنتیک الگوریتم- شبکه عصبی مصنوعی و سیستم های نوروفازی^۳ استفاده شده است. به منظور بررسی کارایی مدل از شاخص های مانند ضریب تبیین، ضریب تبیین اصلاح شده، میانگین مربع خطاها و ریشه میانگین مربع خطاها بر اساس معادله های (۱ تا ۴) استفاده شد [۴].

(۱)

$$R^2 = 1 - \frac{SS_{residual}}{(SS_{residual} + SS_{model})}$$

(۲)

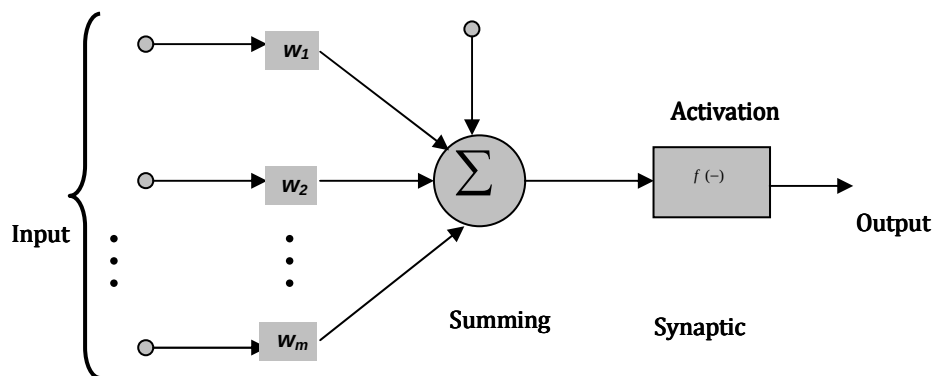
$$R_{adj}^2 = 1 - \frac{\frac{SS_{residual}}{df_{residual}}}{\left(\frac{SS_{residual}}{df_{residual}} + \frac{SS_{model}}{df_{model}}\right)}$$

(۳)

$$MSE = \frac{\sum_{i=1}^N (R_{model,i} - R_{exp,i})^2}{N}$$

4. Feedforward networks
5. perceptrons

3. CANFIS



شکل ۱ ساختار شماتیک ورودی و خروجی شبکه عصبی مصنوعی پرسپترون سه لایه به منظور پیشگویی دینامیک جمعیت اشرشیا کلی.

مقدار صفر به یک و یا بالعکس تبدیل می شود. هنگامی که برخی ضوابط مانند تعداد معینی تولید نسل و یا میانگین انحراف معیار عملکرد اشخاص جمعیت تامین شود، الگوریتم ژنتیک به پایان می رسد. برای انجام عملیات مدل سازی ژنتیک الگوریتم شبکه عصبی مصنوعی در این پژوهش از نرم افزار neuro solution 5 استفاده گردید.

۲-۷-۲- سیستم نوروفازی^{۱۲}

شبکه های فازی- عصبی در واقعه سیستم های استنتاج فازی^{۱۳} هستند که به صورت یک شبکه عصبی در آمده و به زبان شبکه عصبی ترجمه شده و با استفاده از خواص شبکه عصبی، با اطلاعات ورودی- خروجی سیستم واقعی تحت آموزش قرار گرفته و اصلاح می شود.

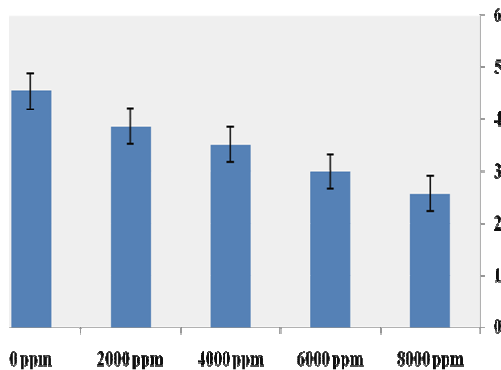
تکنیک های نوروفازی دارای یک ساختار با انعطاف پذیری بیشتری نسبت به شبکه های عصبی مصنوعی می باشند، و به شیوه ساده تری می توانند ارتباط بین ورودی و خروجی را در سیستم های کمپلکس غیر خطی ایجاد کنند. سیستم های نوروفازی از قدرت یادگیری شبکه عصبی برای تصحیح ضرائب توابع عضویت که مهمترین عضو سیستم های استنتاج فازی می باشند استفاده می کند. از جمله مزیت های این

تخمین تعداد نورون های لایه پنهان عموماً به وسیله آزمون و خطا انجام می شود که وقت گیر بوده و دارای خطا می باشد. لذا استفاده از روش های بهینه سازی از جمله الگوریتم ژنتیک جهت به دست آوردن تعداد نورون های لایه مخفی برای از بین بردن این مشکل ذاتی شبکه های عصبی مصنوعی ضروری به نظر می رسد. الگوریتم ژنتیک از تئوری انتخاب طبیعی الهام گرفته شده است که مبتنی بر بقاء بهترین ها می باشد. مفاهیم اصلی الگوریتم ژنتیک شامل عملگرهای کد گذاری^۶، انتخاب^۷، جهش^۸، آمیزش^۹ و رمز گشایی^{۱۰} است. مرحله کد گذاری را شاید بتوان مشکل ترین مرحله در حل مساله در این الگوریتم دانست. مهمترین عملگر در الگوریتم ژنتیک عملگر آمیزش می باشد. با در نظر گرفتن نرخ ثابت پیوند^{۱۱} به ترتیب برابر هر کروموزوم یک عدد تصادفی در نظر گرفته می شود. اگر عدد تصادفی از نرخ پیوند کمتر باشد کروموزوم انتخاب می شود تا با کروموزوم دیگر که همچنین شرایطی را دارد آمیزش کند. در انجام فرآیند جهش، با انتخاب مقدار ثابت نرخ جهش، برای کلیه بیت های کروموزوم های جمعیت، عدد تصادفی تولید می شود. اگر عدد تصادفی تولید شده از نرخ جهش کوچکتر باشد، مقدار آن بیت عوض می گردد، یعنی

6. Coding
7. Selection
8. Mutation
9. Crossover
10. Decoding
11. cross over rate

12. co- active neuro fuzzy logic system (CANFIS)
13. Fuzzy inference system

یابد [۲۵]، این در حالی است که ژیا فنگ و همکاران (۲۰۱۰) بیان داشتند که افزایش غلظت تاثیریری در افزایش اثر ضد میکروبی ندارد [۲۶]. وجود اختلاف در نتایج ممکن است به دلیل تفاوت در شرایط انجام آزمایش باشد.



شکل ۲ اثر غلظت عصاره قره قات بر جمعیت باکتری اشرشیا کلی در یک سیستم کمپلکس غذایی (سوسیس فرانکفورتر)

۳-۱-۲- اثر نوع عصاره

نتایج پژوهش حاضر (شکل ۳) نشان داد، که اثر ضد میکروبی بسته به نوع عصاره متفاوت می باشد به گونه ای که اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی قره قات اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به عصاره آبی قره قات نشان داد. طباطبایی یزدی و همکاران (۱۳۹۳) بیان نمودند که عصاره اتانولی گیاه چویل دارای فعالیت بازدارندگی و کشندگی بیشتری نسبت به عصاره آبی گیاه چویل است. این محققان دلیل این امر را افزایش وزن خشک عصاره بیان نمودند [۲۷]. نتایج به دست آمده از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره های آبی و اتانولی قره قات (شکل ۱) نشان داد که حلال اتانول به طور موثرتری نسبت به حلال آبی توانسته است با اجزا و مواد تشکیل دهنده قره قات بر همکنش ایجاد کند و باعث افزایش خروج مواد موثره از گیاه و بالا رفتن غلظت این مواد در عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی قره قات شود تا آنجایی که نتایج این مطالعه نشان داد که تغییر نوع حلال باعث افزایش اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی قره قات می شود. تحقیقات مشابهی در این زمینه بر روی تعدادی از گیاهان دارویی نیز انجام شده که تئوری ذکر شده را تایید می کند. ابوابا و همکاران (۲۰۰۶) اثر ضد میکروبی عصاره های آبی و اتانولی ۴ گونه گیاهی مختلف را بر تعدادی از باکتری های بیماری زا را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران

سیستم را می توان کاهش دادن زمان لازم برای آموزش و ... نام برد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اثر پارامترهای فرآیند بر روند دینامیک

رشد اشرشیا کلی در سیستم کمپلکس غذایی

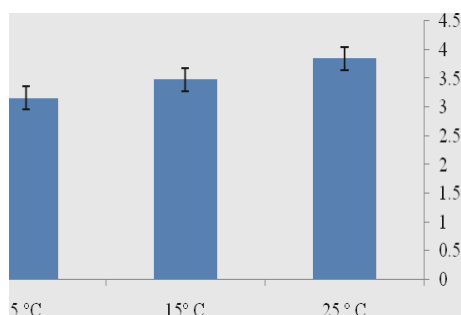
(سوسیس فرانکفورتر)

۳-۱-۱- اثر غلظت

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت هریک از عصاره های آبی و اتانولی قره قات اثر ضد میکروبی عصاره ها در سیستم کمپلکس غذایی (سوسیس فرانکفورتر) افزایش پیدا می کند (شکل ۲).

خان و همکاران (۲۰۰۱) اثر ضد میکروبی عصاره *Cassia alata* را بر تعدادی از گونه های باکتری گرم مثبت و گرم منفی در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که با افزایش غلظت های عصاره، اثر ضد میکروبی افزایش پیدا نمود، این محققان دلیل این امر را افزایش ترکیبات موثر موجود در عصاره *Cassia alata* عنوان نمودند [۲۱]. غلظت های متفاوت عصاره در افزایش اثر ضد میکروبی مؤثر است و در مطالعات متعددی با تغییر میزان غلظت عصاره، اثرات ضد میکروبی گیاه تغییر کرده است. پنا و همکاران (۲۰۰۱)، اثر ضد میکروبی *Sebastiania brasiliensis* را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این محققان نشان داد که با افزایش غلظت، اثر ضد میکروبی افزایش پیدا می کند [۲۲]. کیزیلی و همکاران (۲۰۱۰) اثر ضد میکروبی گیاه زوفا را مورد بررسی قرار دادند، نتایج این محققان مویید این مطلب بود که با افزایش غلظت اثر ضد میکروبی افزایش پیدا نمود [۲۳]. مارینو و همکاران (۲۰۱۰) اثر ضد باکتریایی اسانس زوفا را علیه ۶ سوش باکتریایی گرم مثبت و ۹ گونه باکتریایی گرم منفی در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار داد. این محققان بیان نمودند که اثر ضد باکتریایی بسته به شرایط فیزیکی شیمیایی، از جمله غلظت، pH، دما و ... دارد، بنحوی که با افزایش غلظت اثر ضد میکروبی افزایش پیدا می کند [۲۴]. در مورد اثر ضد میکروبی با افزایش غلظت آن، نظرات متفاوتی وجود دارد. به عنوان مثال کائو و همکاران (۲۰۰۹) بیان نمودند که با افزایش غلظت اثر ضد میکروبی افزایش می

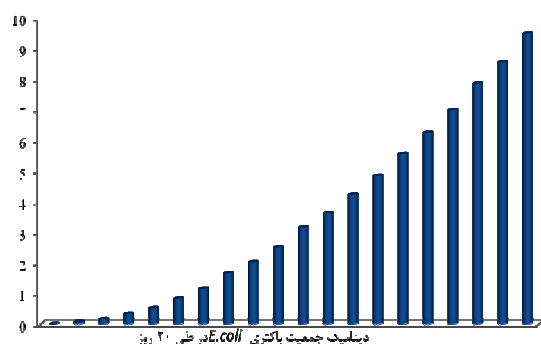
است، این موضوع نشان دهنده وجود رابطه مستقیم بین دما و اثر ضد میکروبی عصاره قره قات می باشد. یلمه و همکاران (۲۰۱۴) اثر ضد میکروبی دانه آناتو را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نیز نشان داد که با افزایش درجه حرارت اثر ضد میکروبی افزایش پیدا می کند [۱۳].



شکل ۴ اثر دماهای ۵، ۱۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد بر جمعیت باکتری اشرشیا کلی در یک سیستم کمپلکس غذایی (سوسیس فرانکفورتر)

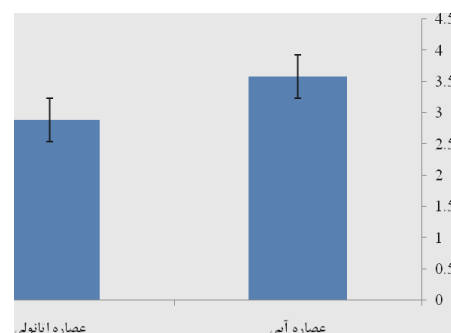
۳-۱-۴- اثر زمان

نتایج مربوط به اثر زمان بر رشد باکتری اشرشیا کلی در شکل ۵، آورده شده است. نتایج نشان داد که نرخ کاهش رشد باکتری در ۱۰ روز اول بیشتر از ۱۰ روز دوم آزمایش بود، دلیل این امر را می توان این گونه تفسیر نمود که جمعیت باکتری در ۱۰ روز اول آزمایش، حساسیت بیشتری نسبت به مواد ضد میکروبی داشته اند، سپس با گذر زمان شاهد آداپته شدن میکروارگانیسم مذکور با عصاره های آبی و اتانولی قره قات بودیم. یلمه و همکاران (۲۰۱۴) اثر ضد میکروبی دانه آناتو را بر باکتری سالمونلا اینترتیدیس در سس آناتو مورد بررسی قرار دادند و به نتایج مشابه ای دست یافتند [۱۳].



شکل ۵ اثر زمان بر جمعیت باکتری اشرشیا کلی در یک سیستم کمپلکس غذایی (سوسیس فرانکفورتر)

نشان داد که اثر ضد میکروبی هر ۴ گونه گیاهی وابسته به نوع حلال می باشد به طوری که اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی بر باکتری های پاتوژن به مراتب بیشتر از عصاره آبی بود [۲۸].



شکل ۳ اثر نوع عصاره قره قات (آبی و اتانولی) بر جمعیت باکتری اشرشیا کلی در یک سیستم کمپلکس غذایی (سوسیس فرانکفورتر)

نتایج مربوط به حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد و حداقل غلظت کشندگی در جدول ۱، آورده شده است. نتایج نشان می دهد که از لحاظ حساسیت به عصاره های آبی و اتانولی در باکتری مورد مطالعه اختلاف معنی دار وجود دارد. به عبارت دیگر باکتری مورد مطالعه حساسیت بیشتری نسبت به عصاره اتانولی قره قات نشان داد. بنابراین همانطور که در جدول ۱، آورده شده است حداقل غلظت مهار کنندگی در باکتری مورد بررسی در این پژوهش مربوط به عصاره آبی و اتانولی به ترتیب ۵ و ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر و حداقل غلظت کشندگی عصاره های آبی و اتانولی نیز به ترتیب ۵ تا ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش شد.

جدول ۱ نتایج حداقل غلظت مهار کنندگی رشد (MIC) و

حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره های آبی و اتانولی

قره قات

نوع عصاره	MIC	MBC
اتانولی	۰/۶۲۵	۱/۲۵
آبی	۲/۵	۵

۳-۱-۳- اثر دما

با توجه به شکل ۴، می توان این گونه بیان نمود که با افزایش دما از ۵ درجه سانتی گراد تا ۲۵ درجه سانتی گراد میزان جمعیت میکروبی باکتری اشرشیا کلی کاهش پیدا کرده

۳-۲- بررسی ویژگی‌های حسی (بو، رنگ و پذیرش کلی)

از جنبه‌های موثر در موفق بودن و قابل اجرا بودن نوآوری‌ها و دستکاری فرمولاسیون‌های متداول محصولات غذایی، فاکتور قابلیت پذیرش این محصولات است، به صورتی که اگر تغییرات اعمال شده در فرمولاسیون‌های غذایی از جنبه نتایج آزمون‌های مختلف موفق باشند اما نتوانند در آزمون‌های حسی نمرات قابل قبولی کسب کنند، در حقیقت قابلیت اجرایی نخواهند داشت. در ارزیابی حسی انجام شده در این پژوهش بر روی نمونه‌های سوسیس فرانکفورتر مشخص شد، تیمارهای که در سطوح مختلف حاوی عصاره قره قات (صفر، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۶۰۰۰، ۸۰۰۰ ppm)، تهیه شده بودند علاوه بر اینکه از نظر رنگی و روشنایی برای ارزیاب‌ها قابل قبول بودند. از جنبه طعم و مزه هم قابلیت پذیرش خوبی داشتند، نمونه‌های تهیه شده از مخلوط عصاره قره قات با غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام از نظر ارزیاب‌ها نسبت به نمونه‌های دیگر به صورت قابل ملاحظه‌ای از جنبه رنگ و طعم موفق‌تر بودند و بیشترین امتیازها را کسب نمود.

۳-۳- نتایج مدل سازی

۳-۳-۱- الگوریتم ژنتیک-شبکه عصبی مصنوعی

با توجه به میزان خطای کمتری که با استفاده از تابع فعال سازی تانژانت هیپر بولیک (معادله ۶) به دست آمد، این تابع به عنوان تابع فعال سازی در لایه خروجی و پنهان در نظر گرفته شده است. در مدل‌سازی شبکه عصبی مصنوعی هر چه درصد داده‌های مورد استفاده برای تربیت شبکه بیشتر باشد، شبکه‌ای با قدرت پیشگویی بالاتری به دست خواهد آمد. اما با توجه به این نکته که حصول داده‌های بیشتر مستلزم صرف زمان و هزینه بیشتر است و از آنجایی که یکی از اهداف مدل‌سازی، کاهش زمان و هزینه آزمایشات است لذا به دست آوردن شبکه‌ای که با حداقل درصد داده‌های مورد استفاده برای فرآیند تربیت که قادر به پیشگویی قابل قبولی در مورد خروجی‌های مورد نظر باشد، ما را به اهداف مدل‌سازی نزدیکتر خواهد نمود [۲۹، ۳۰]. پیرو این استدلال، درصدهای متفاوتی از کل داده‌های موجود برای فرآیند تربیت مورد استفاده قرار گرفت (۶۰-۱۵٪) و میزان میانگین مربعات خطا، میانگین مربعات خطای نرمالیزه شده، میانگین خطای مطلق و ضریب تبیین را برای

پیشگویی جمعیت میکروبی باکتری اشرشیا کلی مورد بررسی قرار گرفت.

بر اساس نتایج تجربی مشخص شد، در صورتی که ۳۰ درصد داده‌ها برای آموزش استفاده گردد، شبکه به خوبی قادر به یادگیری روابط بین ورودی و خروجی‌ها می‌باشد. همچنین از ۳۰ درصد داده‌ها برای ارزیابی (cross validation) شبکه آموزش دیده استفاده گردید. به منظور آزمون شبکه نیز از باقی مانده داده‌ها (۴۰ درصد) استفاده گردید.

برای رسیدن به ترکیبی مناسبی از تعداد نورون‌های در لایه پنهان شبکه عصبی از فرایند بهینه‌سازی با استفاده از روش الگوریتم ژنتیک استفاده گردید. جمعیت اولیه برای تولید نسل‌ها ۱۰۰ و حداکثر تعداد نسل‌ها ۵۰ در نظر گرفته شد. احتمال آمیزش و جهش بر اساس توصیه راهنمای نرم افزار ۰/۹ و ۰/۱ انتخاب گردید.

مقادیر بهینه پارامترهای شبکه عصبی مصنوعی مورد استفاده جهت پیشگویی جمعیت میکروبی باکتری اشرشیا کلی به طور خلاصه در جدول (۲) گزارش شده است. نتایج این پژوهش نشان داد که شبکه عصبی مصنوعی دارای ۱۰ نورون در لایه پنهان می‌تواند به خوبی جمعیت باکتری اشرشیا کلی را پیشگویی نماید (جدول (۳)). مقادیر وزن‌ها و بایاس‌های متناظر با هر نورون برای شبکه عصبی دارای ۱۰ نورون در لایه پنهان در جدول (۴) آورده شده است، با استفاده از یک برنامه کامپیوتری مناسب می‌توان از آن برای پیش بینی دینامیک جمعیت میکروبی باکتری اشرشیا کلی در یک سیستم کمپکلس غذایی استفاده نمود.

مقادیر آزمایشگاهی داده‌های ارزیابی (۴۰٪) مربوط به جمعیت باکتری اشرشیا کلی در برابر مقادیر پیشگویی شده به روش الگوریتم ژنتیک - شبکه عصبی مصنوعی در شکل (۶) آورده شده است. نتایج به دست آمده گویای این مطلب است که از مدل سازی به روش الگوریتم ژنتیک - شبکه عصبی مصنوعی می‌تواند به عنوان یک روش مناسب برای پیش بینی دینامیک جمعیت میکروبی باکتری اشرشیا کلی در یک سیستم کمپکلس غذایی استفاده نمود.

$$f(x) = \frac{e^x - e^{-x}}{e^x + e^{-x}}$$

جدول ۲ مقادیر بهینه پارامترهای بهینه شبکه عصبی مورد استفاده جهت پیشگویی پیشگویی جمعیت میکروبی اشرشیا کلی

تعداد لایه های مخفی	تعداد لایه های مخفی	درجه مومتوم	تابع فعال سازی	تعداد نرون های لایه مخفی	تعداد لایه های آموزش	درصد داده های ارزیابی	تعداد لایه های آموزش
۱	۱	مومتوم	تانژانت هیپر بولیک	۱۰	۳۰	۳۰	۴۰

جدول ۳ پارامترهای اماری جهت سنجش کفایت مدل ژنتیک الگوریتم شبکه عصبی مصنوعی جهت پیش بینی دینامیک جمعیت

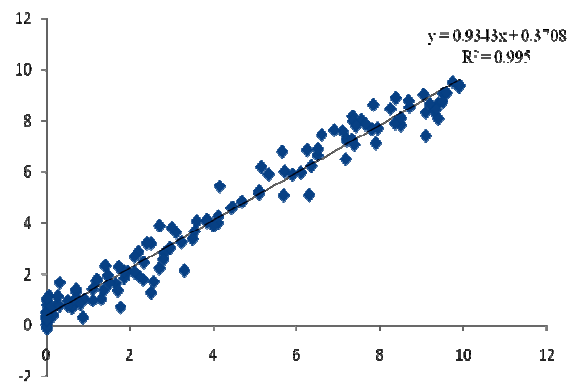
میکروبی اشرشیا کلی	
شاخص هایی کارایی مدل	
۰/۰۰۷	میانگین مربعات خطا
۰/۰۸۳	ریشه دوم میانگین مربعات خطا
۰/۹۹۵	ضریب تبیین
۰/۹۸۷	ضریب تبیین اصلاح شده

جدول ۴ مقادیر وزن ها و بایاس ها متناظر به دست آمده از شبکه عصبی بهینه برای پیشگویی جمعیت میکروبی اشرشیا کلی

نورون های لایه مخفی	بایاس		نورون های ورودی		نورون های خروجی
	دما	غلظت	زمان	نوع عصاره	
۱	۱/۹۱	۰/۲۷	۰/۲۸	۰/۲۳	-۰/۱۶
۲	۲/۶۲	-۰/۱۸	۰/۸۵	۰/۲۴	-۰/۱۳
۳	-۱/۱۶	-۱/۲۴	۰/۱۳	۰/۷۵	-۰/۱۲
۴	۱/۴۱	-۰/۱۱	۰/۰۷	-۰/۹۳	-۰/۲۳
۵	-۰/۸۴	۰/۰۷	۰/۵۶	-۰/۵۷	-۰/۱۷
۶	۱/۹۴	۰/۰۵	۰/۵۸	-۰/۱۴	۰/۵۷
۷	۱/۷۸	۰/۸۵	۰/۰۵	-۰/۳۲	۰/۴۷
۸	-۱/۳۶	۰/۸۶	-۰/۵۵	۰/۰۵	-۰/۳۶
۹	-۲/۰۸	۰/۰۴	-۰/۹۲	۰/۹۱	-۰/۲۹
۱۰	-۱/۲۱	۰/۰۸	-۰/۰۱	۰/۵۴	-۰/۴۰
بایاس					۱/۵۱

۳-۳-۳- سیستم نوروفازی (CANFIS)

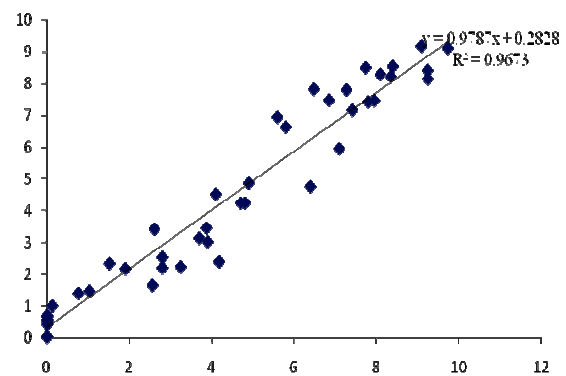
آخرین سیستم هوشمند مورد استفاده در این پژوهش، روش CANFIS می باشد. در این سیستم، دما، غلظت عصاره، نوع عصاره و زمان فرایند به عنوان ورودی شبکه و میزان جمعیت باکتری اشرشیا کلی به عنوان خروجی شبکه در نظر گرفته شده است. بر اساس نتایج تجربی مشخص شد، در صورتی که ۵۰ درصد داده ها برای آموزش استفاده گردد، شبکه به خوبی قادر به یادگیری روابط بین ورودی و خروجی ها می باشد. همچنین از ۳۰ درصد داد ها برای آزمون شبکه (cross validation error) آموزش دیده استفاده گردید. به منظور ارزیابی شبکه



شکل ۶ مقادیر آزمایشگاهی جمعیت میکروبی اشرشیا کلی در برابر مقادیر پیشگویی شده توسط روش الگوریتم ژنتیک- شبکه عصبی مصنوعی (Rsquare= ۰/۹۹۵)

پنهان و ۱۰ نورون در لایه پنهان با تابع فعال سازی از نوع تانژانت هیپربولیک و قاعده یادگیری مومنتوم به طور موفقیت آمیزی قادر به به پیش بینی جمعیت باکتری اشرشیا کلی می باشد. همچنین CANFIS با استفاده از مدل فازی TSK، و قاعده یادگیری لیونبرگ مارکوئت و ۲ تابع عضویت (از نوع گوسین (معادله ۷)) به ازای هر نورون ورودی استفاده گردیده است. همچنین به منظور جلوگیری از Over fitting فرایند آموزش دادن بعد از ۱۰۰۰ تکرار یا در صورت بهبود پیدا نکردن MSE در داده های مربوط به cross validation error بعد از ۱۰۰ تکرار پایان پذیرفت. میزان خطای محاسبه شده توسط سیستم CANFIS در طی مرحله testing در جدول (۵) آورده شده است. بنابر نتایج این پژوهش میزان صحت مدل CANFIS نسبت به روش الگوریتم ژنتیک - شبکه عصبی مصنوعی به میزان اندکی کمتر می باشد (شکل ۷ و جدول ۵).

$$y = a \times \exp\left(\frac{(x - \bar{x})}{\sigma}\right)$$



شکل ۷ مقادیر آزمایشگاهی جمعیت میکروبی اشرشیا کلی در برابر

مقادیر پیشگویی شده توسط روش سیستم نورو فازی

جدول ۵ پارامترهای آماری جهت سنجش کفایت مدل

نروفازی جهت پیش بینی دینامیک جمعیت میکروبی اشرشیا

کلی	
شاخص هایی کارایی مدل	
۰/۰۱۵۵	میانگین مربعات خطا
۰/۱۲۲	ریشه دوم میانگین مربعات خطا
۰/۹۶۰	ضریب تبیین
۰/۹۴۰	ضریب تبیین اصلاح شده

۴- نتیجه گیری

برای شبیه سازی دینامیک جمعیت باکتری اشرشیا کلی، از روش های ژنتیک الگوریتم-شبکه عصبی استفاده شد. نتایج نشان داد که ژنتیک الگوریتم-شبکه عصبی مصنوعی با یک لایه

۵- تشکر و قدردانی

مقاله علمی _ پژوهشی حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۲/۳۰۷۱۳ مصوب در دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت های مالی جهت اجرای این طرح پژوهشی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

۶- منابع

- [1] Leistner L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. 2000. International Journal of Food Microbiology. 55(1): 181-6.
- [2] Marco A, Navarro JL, Flores M. 2006. The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. Meat Science. 73(4): 660-73.
- [3] Giatrakou V, Ntzimani A, Savvaidis I. 2010. Effect of chitosan and thyme oil on a ready to cook chicken product. Food Microbiology. 27 (1):132-6..
- [4] Petrou S, Tsiraki M, Giatrakou V, Savvaidis I. 2012. Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken

- inference system application. *Peptide Science*. 98(4):280-7.
- [16] Rajeev S, Krishnamoorthy C. 1992. Discrete optimization of structures using genetic algorithms. *Journal of Structural Engineering*. 118(5):1233-50.
- [17] Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi A, Zendeboodi F, Gholian MM, Vasiee A. 2014. Antimicrobial effect of Carboxy Methyl Cellulose (CMC) containing aqueous and ethanolic *Eucalyptus camaldulensis* L. leaves extract against *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Paramedical Sciences*. 5(2): 59-69.
- [18] Kim JM, Kim JS, Kim N, Jung HC, Song IS. 2005. Distribution of fluoroquinolone MICs in *Helicobacter pylori* strains from Korean patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 56(5): 965-7.
- [19] Thiem B, Goslinska O. 2004. Antimicrobial activity of *Rubus chamaemorus* leaves. *Fitoterapia*. 75(1):93-5.
- [20] Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Mortazavi A. 2014. Investigating the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the *Lavandula stoechas* L. and *Rosmarinus officinalis* L. extracts on pathogen bacterias "in vitro". *Journal of Paramedical Sciences*; 5(2): 91-101.
- [21] Lei Y, He Z, Zi Y, Hu Q. 2007. Fault diagnosis of rotating machinery based on multiple ANFIS combination with GAs. *Mechanical Systems and Signal Processing*. 21(5):2280-94.
- [22] Khan M, Kihara M, Omoloso A. 2001. Antimicrobial activity of *Cassia alata*. *Fitoterapia*. 72(5):561-4.
- [23] Penna C, Marino S, Vivot E, Cruanes M, De D Munoz J, Cruanes J. 2001. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. *Journal of Ethnopharmacology*. 77(1):37-40.
- [24] Kizil, S., Hasimi, N., Tolam, V., Kilinc, E. and Karatas, H. 2010. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) essential oil. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 38 (3):99-103.
- [25] Marino M, Bersani C, Comi G. 2001. Impedance measurements to study the breast meat. *International Journal of Food Microbiology*. 156(3):264-71.
- [5] Honikel K-O. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*. 78 (1):68-76.
- [6] Jo C, Ahn H, Son J, Lee J, Byun M. 2003. Packaging and irradiation effect on lipid oxidation, color, residual nitrite content, and nitrosamine formation in cooked pork sausage. *Food Control*. 14 (1):7-12.
- [7] Benvenuti S, Pellati F, Melegari Ma, Bertelli D. 2004. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of *Rubus*, *Ribes*, and *Aronia*. *Journal of Food Science*. 69 (3): 164-9.
- [8] Bechtler H, Browne M, Bansal P, Kecman V. 2001. New approach to dynamic modelling of vapour-compression liquid chillers: artificial neural networks. *Applied Thermal Engineering*. 21(9):941-53.
- [9] Van Riel NA. 2006. Dynamic modelling and analysis of biochemical networks: mechanism-based models and model-based experiments. *Briefings in Bioinformatics*. 7 (4):364-74.
- [10] Razavi MA, Mortazavi A, Mousavi M. 2003. Dynamic modelling of milk ultrafiltration by artificial neural network. *Journal of Membrane Science*. 220(1):47-58.
- [11] Garson GD. *Neural networks: An introductory guide for social scientists*: Sage; 1998.
- [12] Sagdic O, Ozturk I, Kisi O. 2012. Modeling antimicrobial effect of different grape pomace and extracts on *S. aureus* and *E.coli* in vegetable soup using artificial neural network and fuzzy logic system. *Expert Systems with Applications*. 39(8):6792-8.
- [13] Yolmeh M, Habibi Najafi MB, Salehi F. 2014. Genetic algorithm-artificial neural network and adaptive neuro-fuzzy inference system modeling of antibacterial activity of annatto dye on *Salmonella enteritidis*. *Microbial Pathogenesis*. 67:36-40.
- [14] Vats S, Negi S. 2013. Use of artificial neural network (ANN) for the development of bioprocess using *Pinus roxburghii* fallen foliages for the release of polyphenols and reducing sugars. *Bioresource Technology*. 140: 392-8.
- [15] Fernandes FC, Rigden DJ, Franco OL. 2012. Prediction of antimicrobial peptides based on the adaptive neuro - fuzzy

- [28] Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Heidari Sureshjani M. 2014. The comparison of antimicrobial effects of Chevil (*Ferulago angulata*) extract with a variety of common therapeutic antibiotics in vitro. Arak Medical University Journal (AMUJ). 17(84): 35-46.
- [29] Aboaba O, Smith S, Olude F. 2006. Antibacterial effect of edible plant extract on *Escherichia coli* 0157: H7. Pakistan Journal of Nutrition. 5(4): 325-7.
- [30] Takagi H, Hayashi I. 1991. Neural Network driven fuzzy reasoning. International Journal of Approximate Reasoning. 5(3): 191-212.
- antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. International Journal of Food Microbiology. 67 (3):187-95.
- [26] Cao, R., Xue, C. & Liu, Q. 2009. Changes in microbial flora of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) during refrigerated storage and its shelf-life extension by chitosan. International Journal of Food Microbiology. 131: 272-6.
- [27] Xiao Fang, L., Xiao Qiang, F., Sheng, Y. & Ting Pu, W. 2010. Effects of molecularweight and concentration of chitosan on antifungal activity against *Aspergillus niger*. Iranian Polymer Journal. 17: 843-852.

The use of ANN-GA and Neuro fuzzy for modeling the population dynamics of bacterial (*Escherichia coli* ATTC 29998) in the frankfurter sausage containing of Redcurrant extract

Tabatabaei Yazdi, F. ^{1*}, Alghooneh, A. ², Alizadeh Behbahani, B. ², Vasiee, A. R. ²

1. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

2. Ph.D Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

(Received: 93/4/17 Accepted: 93/6/12)

The purpose of this study was to evaluate the effect of time, kind of extract, extract concentration and temperature on the dynamically the population of *Escherichia coli* (infectious agents) in the complex food system (frankfurter sausage) and Genetic Algorithm - Artificial neural network and neuro fuzzy system (CANFIS) were used for dynamic modeling of population of *E.coli*. At this research laboratory, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of aqueous and ethanolic extracts were studied using the micro broth dilution method. GA-ANN, neuro fuzzy (CANFIS) were fed with four inputs: concentration at the five level (0, 2000, 4000, 6000, 8000 ppm), kind of extract (watery, ethanol), temperature at the three level (5,15, 25 °C) and time (1-20). The results showed that the ANN with 1 hidden layer comprising 10 neurons, Tangent hyperbolic function, momentum training rule and percent of used data 30/30/40 for training/cross validation/testing respectively gives the best fitting with the experimental data, which made it possible to predict with high determination coefficient (R^2 equal to 0.995). Also the correlation between CANFIS predictions and experimental data was very good (R^2 equal to 0.96). It's worth to mention that in this research GA- ANN was better approach to simulation dynamically the population of *E.coli*.

Key words: *Escherichia coli*, Redcurrant, Genetic algorithm, Artificial Neural Network, Neuro fuzzy

* Corresponding Author E-Mail Address: tabatabai@um.ac.ir